

## 課題名：クワイのウイルスフリー苗\*<sup>1</sup>作成における最適な培養手法の

### 検討

1. 目的 越谷市の特産品の一つであるクワイは栄養繁殖性の植物である。一般に栄養繁殖性の植物は、アブラムシ等ウイルスを媒介する害虫が汁吸することでウイルスに感染すると、感染株より増えた子株もウイルスに感染してしまう。

クワイはマイナー作物であるためクワイに関する試験・研究が少なく、クワイに感染するウイルスの存在は明らかにされていない。しかしながら、圃場の大半のクワイが何らかのウイルスに感染している可能性は非常に高く、生長点培養によりウイルスを除去することで、クワイの生長・発育・収穫量・品質が飛躍的に向上する可能性をもつ。

当センターでは、平成18年度よりクワイのウイルスフリー苗の作成試験に取り組んでいる。平成20年度は1株、平成21年度は3株、平成22年度は12株で発根まで生長が見られたが、成功率は昨年度で4%と、かなり低くウイルスフリー苗の作成技術が確立されたとは言い難い。

そこで本試験では、成功率10%を目標に昨年度からの継続課題として、生長点切出しから植物体形成までの最適培養条件を確立させる。

2. 期間 平成23年6月～平成24年3月

3. 場所 無菌作業室、培養室

#### 4. 試験方法

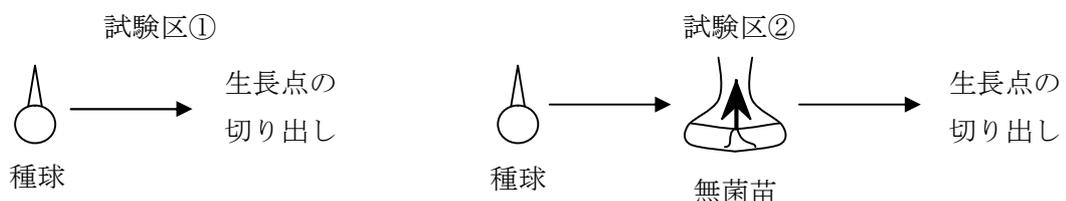
##### (1) 試験概要

次の2つの試験区で試験を行なう

試験区①種球から生長点を切り出す。

試験区②無菌苗から生長点を切り出す。

①は従来の切り出しの方法で種球から直接生長点を切り出す。②は現在培養中の無菌苗から生長点を切り出す。この場合、無菌である株からの切り出しであるため、種球から切り出す時に行なう次亜塩素酸ナトリウム溶液による滅菌処理を行なう必要がなく、生長点へのダメージを回避することができ、成功本数の増加が期待できる。ただし、一度種球から無菌苗を作成し、その無菌苗を用いて生長点を切り出すという、2工程作業を行なう必要がある。



成功本数・作業効率の両方を踏まえてどちらの試験区が効率的であるか検討する。

また、培養条件は表1のとおりとした。

表1：培養条件

・培地	基礎成分	ハイポネックス (1/2 倍希釈)	
	シヨ糖濃度	20 g/l	
	pH	7.0	
	ゲル化剤	ジェランガム (2.0 g/l)	
	分注量	10ml/vessel	
・培養器	試験管	ガラス製、直径 3cm、高さ 12cm	
	栓	半透明プラスチックキャップ	
・培養環境	室温	25℃	
	照度	70lux (弱光)	16 時間照明

## (2) 前処理条件

- ①冷蔵庫で保管している種球を軽く水洗いする。
- ②種球付きで水に浸して25℃の環境に7～10日置いておく（芽が大きく伸びるまで）
- ③種球付きで次亜塩素酸ナトリウム溶液（濃度 1000ppm）で2～3日浸す
- ④種球から芽の部分だけ折る
- ⑤中性洗剤等でよく洗う
- ⑥アルコール（99%エタノール等）で手早くすすぐ
- ⑦有効塩素濃度3%程度の次亜塩素酸ナトリウムとツイーンを混ぜた溶液で15分殺菌する。
- ⑧クリーンベンチ内で滅菌水を用い3回程度すすぐ
- ⑨滅菌したろ紙の上で余分な水分をとる

## 5. 結果

### (1) 試験区別での成績

試験区① 7本/89本（成功率7.9%）

試験区② 7本/26本（成功率26.9%）

※無菌苗の切り出し結果 12本/23本（成功率52.2%）

### (2) コンタミネーション\*2率

試験区① 14本/89本（コンタミネーション率15.7%）

試験区② 0本/26本（コンタミネーション率0.0%）

※無菌苗の切り出し結果 1本/23本（コンタミネーション率4.3%）

### (参考) これまでの成功率

平成22年度・・・12本/297本（成功率4.0%）

平成21年度・・・3本/232本（成功率1.3%）

平成20年度・・・1本/480本（成功率0.2%）



図1：2ヵ月後の培養苗

## 6. 考 察

試験区①では種球から直接生長点を切り出すので作業工程は1回で済むが、試験区②では無菌苗の切り出しの前に一度種球から無菌苗を作成する工程が生じてしまい、種球から無菌苗を作成し、その無菌苗から生長点を切り出すという2工程の作業を要する。これら作業効率やコンタミネーション率を考慮し、どちらの試験区が効率的に成功率を高められるか考察する。

試験区①の成功率は7.9%と昨年度までと比較してかなり上がってきた。しかし、試験区②での成功率はさらに高く、26.9%という非常に高い結果であった。また、無菌苗の作成の成功率は52.2%であった。これらの結果を踏まえると、切り出しの成功率の点では試験区②の手法のほうが作業工程は増えるが成功率が高いため、ウイルスフリーの作出には最適な方法であると考えられる。

さらにコンタミネーション率についても考えてみる。試験区①では15.7%、試験区②では0%（無菌苗の切り出しでは4.3%）であった。コンタミネーション率の観点からみても、試験区①より試験区②の方がよい結果が得られた。これは、試験区②では無菌苗から切り出しを行っているため、植物体からの雑菌の持込みは理論的には考えにくく、その分コンタミネーション率が低く抑えられたのは必然の結果であると思われる。

これらの考察より、クワイのウイルスフリー苗の作出については試験区②の方が、最適な手法であると考えられる。

### \*1 ウイルスフリー苗の定義：

現在までに知られているウイルスには感染していない苗のこと。

植物の芽の最先端部（生長点や茎頂）は、ウイルスが存在していないため、この部分を取り出し、培養・再分化（植物体形成）させて作った苗はウイルスフリー苗になる。

ウイルスフリー苗は、生育が良く、形状が揃うなど良質の作物ができ、収量が多い。このため、農家からの需要が高い。

### \*2 コンタミネーション：培養を行う際に、しばしば見られるカビや細菌などによる汚染のこと