

# 新見市特産品事業（ニンニクのウイルスフリー 苗増殖に関する研究）報告書

岡山県立新見高等学校

中 川 陽 介

## 1. 概 要

平成17年に新たな特産品として新見市に産地化を目指してニンニクが導入された。生産者も増え平成22年には30戸以上の生産者で栽培が行われるようになった。ニンニクは9月下旬から10月にかけて植え付けを行い、翌年6月ごろ収穫し、乾燥・調整して出荷を行う。冬の寒さが厳しい新見の気候に適しており、農閑期に栽培でき、さらに害虫防除等の栽培期間中の管理の負担が比較的軽いことから高齢者でも取り組みやすい品目である。

しかし、いったんウイルスに感染すると優良種苗を得ることが難しい。このため、ウイルスフリー種苗の大量増殖技術の確立が産地で要望されている。そこで、茎頂培養、根端培養、及びウイルス検定を組み合わせた効率的なウイルスフリーのニンニク種苗の大量増殖体系の確立に向けて検討を行う。

## 2. 実施計画

H23年度 組織培養法の検討及び茎頂培養

H24年度 根端培養及び順化方法の検討

H25年度 順化及び大量増殖

## 3. 研究材料および方法

(1) 供試品種 ホワイト六片

(2) 培養条件

Murashige&Skoog (MS培地) ホルモンフリーを培地 (pH5.6) を基本培地とする。ショ糖は3% および寒天0.7%とする。培養はいずれも25℃、16時間日長で行う。

(3) 茎頂培養

表面殺菌したりん片の茎頂 (0.2~0.3mm) を基本培地に置床し培養する。その後、得られた植物体を基本培地に移植し、さらに培養を続ける。

(4) 根端培養による増殖

茎頂培養で得られた植物体の根端5mmの部分をカルス誘導培地 (基本培地に2, 4-D及びBAを

各1ppm添加) に置床して培養する。得られたカルスを基本培地で培養し、得られたシュート塊を切り分けて再び基本培地で培養する。

(5) 順化・育苗

植物体を水洗後、ポリポットに移植し、ミスト装置下で順化を行う。順化後生育に応じて鉢替えを行い、ガラス温室で栽培する。

(6) ウイルス検定

検定は2種の抗ニンニクウイルスモノクローン抗体を用いたDIBA法により行う。

## 4. 実施及び結果

本年度の計画にあげている組織培養法の検討及び茎頂培養と根端培養を実施した。

休眠中のニンニクを用いた培養は成功率が低いいため、休眠打破することによって培養をスムーズに行うことができるため、9月26日から培養を実施した。

(1) 培養部位と殺菌方法

殺菌方法は、側球の保護用を除去し、99%のアルコールに2~3秒間浸漬してから、1%次亜塩素酸ナトリウム液で10分間程度殺菌し、その後滅菌水で3回水洗いした。培養部位は、側球内の普通葉を小さく剥いていって茎頂を取り出せばよいのであるが、茎頂が乾かないように短時間に切り出すことに注意した。

(2) 茎頂の置床サイズ

茎頂サイズが0.3mm以下であればほとんど100%ウイルスフリーになり、0.4mmでは60%がフリーで、0.5mmでは約50%がフリーとなるが、0.6mm以上になるとウイルスはほとんど抜けなくなる報告がある。従って、0.3mm以下がウイルスフリー化にはよいのであるが、培養成功率が低いので、0.4~0.5mmくらいで置床した。

(3) 培地

基本培地には、変異の生じるのを避けるために

植物ホルモン無添加培地を使用した。培地組成はMurashige&Skoog (MS培地)の基礎培地にショ糖を3%と寒天を0.7%加え、pHを5.6に調整して使用した。

#### (4) 培養条件

直径21mm、高さ90mmの培養チューブに約7mlの培地を入れ、1チューブ当たり1個の茎頂を入れて培養した。培養温度は、休眠との関係から23℃の培養室で行い、日長は約3,000luxで12時間日長とした。光源としては蛍光灯を使用した。



写真1 11/8茎頂培養の様子



写真2 12/3生育に差がある培養状態

#### (5) 根端培養

カルスは根端分裂組織からのみ誘導されるので、得られたカルスを基本培地に移植してシュート塊を形成させ、このシュート塊を小さく切り分け、再び基本培地で培養して馴化可能な植物体を再生する。この一連の増殖で植物体1個体から平均で100個体が得られる報告がある。

茎頂培養で得られた16本の植物体の根端5mmの部分をカルス誘導培地に置床して培養した。

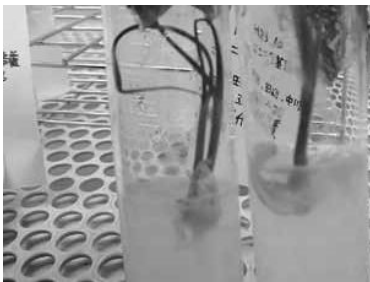


写真3 根端培養に使用した植物体



写真4 置床した根端

#### (6) 結果

9月26日に茎頂を16培養チューブ、10月3日に茎頂を29培養チューブに置床して合計45本を培養した。12月26日に4本をコンタミネーションにより処分した。これは無菌操作が十分でないために起きたと考えられる。また、生育に差が見られたのは、茎頂サイズの差によるもの大きいと思われる。サイズの大きいものほど生育が大勢である

が、ウイルスフリー化には成功率が低いと考えられる。

12月26日に根端培養を実施した。茎頂培養で得られた16本の植物体の根端5mmの部分をカルス誘導培地に置床して培養した。1月11日に培養状態の確認をしたところ、4本にカルス誘導が行われ、残り12本は変化が無かった。

#### 5. まとめ及び考察

本研究は継続研究であり、組織培養法の検討および茎頂培養と根端培養を実施することができた。来年度は、現在の培養中の植物体がウイルスフリー化されているかウイルス検定を行い。その後大量増殖と馴化の研究を実施したい。

本研究に対して新見市より研究助成金をいただき感謝の意を表します。また、阿新農業協同組合、農業普及指導センターにはご指導、ご協力をいただき併せてお礼申し上げます。

#### 引用文献

- 1) 森憲昭・小川勉・松原德行：ニンニクのウイルスフリー株育成法
- 2) 新井正善：茎頂培養及び根端培養を利用したニンニクのウイルスフリー種苗大量増殖技術