

茎頂培養による巨峰のウイルスフリー化個体の育成

押金健吾・池田佳子

信州大学繊維学部附属農場

長野県における基幹果樹の一つである巨峰の栽培は、須高、中高および上小地域を中心に急速な進歩を遂げ、その面積も結果樹において1,530 ha、収穫量は18,200 tにおよび、長野県果樹類の中でも主要な位置を占めている。県下での生産面積および収穫量の総合的な面から、北信地域について上小地域は栽培面積および収穫量がそれぞれ約20、16%を占め、恵まれた立地条件も加わり今後更に拡大の方向にあると思われる。

しかしながら、巨峰生産の骨格である質、量ともに優良形質を備えた高生産能苗木の普及化が栽培意欲の増進に連なる決め手でもある。この高生産能苗木の具備すべき条件の第一はウイルスのフリー化である。近年バイオテク技法の茎頂培養によるウイルスフリーの研究は野菜、花卉および果樹の分野を通じ行われ、農業に果す役割は極めて高いものがある。

ブドウにおけるウイルスフリーの研究成果^{1,3,4,5,6,7)}から高品質の形質を保持した苗木の生産も数多く行われその実績も高い。長野県巨峰栽培に関するウイルスフリー化苗の生産は次第に増加しているが、先進県である山梨県より導入されたものが多い。しかし地場産業を支える巨峰の普及化にはフリー化苗の地域内生産が最も望ましくその研究成果が期待されていた。しかも東信地域における浅間テクノポリス構想の実現が進行している現状から、バイオテクノロジーの技術的所産としてのウイルスフリー巨峰苗の育成は焦眉の課題であった。

筆者は、信州大学繊維学部の改組に伴う応用生物科学科の発足を機に、1985年より巨峰のウイルスフリー化を目指した茎頂培養実験に着手し、その幼苗（原木）の育成に成功することができ、その生産、普及の段階にまで至った。

本報告は、フリー化巨峰の育成経過の概要と育成原木の2、3実用形質について調査し、今後巨峰における育種的研究を行うための資料とした。

本研究を行うに当り多大のご支援とご協力を頂いた長野県農協中央会並びに経済連のご当局と、関係各位に対し深甚なる謝意を表します。

材料および方法

本研究に供試した材料は、1985年東部町の2地点、上田市の1地点で栽培されている巨峰の新梢を用いた。

これらの伸長旺盛な新梢(図1.A)の先端3 cmをとり20分水洗後70%アルコールで2~3回すすぎ、滅菌水で洗ったのち、2%次亜塩素酸ソーダ液中に約15分浸漬滅菌(フラスコ内で振とうを行う場合は約5分)を行い、再び滅菌水で充分洗い直ちにクリーンベンチ内に搬入し、実体顕微鏡下で成長点組織の摘出を行った。摘出組織の大きさは0.2~0.4 mmの葉原基1~2枚を含むものとし(図1.B)、100 mlフラスコ内のMS培地に置床した。初代培地は、MS+NAA 0.1 mg/l+BA 1.0 mg/l (A)、 $\frac{1}{2}$ MS+NAA 0.1 mg/l+BA 1.0 mg/l (B)、継代培地にはMS+BA 1.0 mg/lを、さらに発根促進培地は $\frac{1}{2}$ MS+1BA 0.02 mg/lをそれぞれ用いた。培養条件は温度 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 、照度3,000 Lux、16L8D(16時間明、8時間暗)とし、人工気象器内で培養を続行させた。発根個体はパーミキュライト+パーライトの等量混合養土に移植し、プラントルックス下で十分な順化を行った後、培養土に鉢上げし温室内でハイポネクス養液を施し伸長を促進させた。この育成個体を繊維学部附属農場の実験圃場に移植をし、ブドウ栽培基準により肥培管理を行った。この間ウイルスの検定を農水省名古屋植物防疫所に依頼し、フリー化の有無を検査するとともに、枝条、葉形、葉色、果実などの形態的性状並びに果実の着色、糖度、食味など実用的形質について調査した。育成原木(母樹)については、1988年春信大繊維学部附属農場、東部町および上田市農協の原木選抜試験圃に移植を行ない、実用化試験を続行させた。

結 果

1. 茎頂培養による幼苗の育成

MS培地A(NAA 0.1 mg/l+BA 1.0 mg/l)およびB($\frac{1}{2}$ 無機塩+NAA 0.1 mg/l+BA 1.0 mg/l)に置床した移植体は、置床後15日目頃より次第に生長し始め、約35~40日で約2~3 mmの球状体となった。しかしA培地では培地に接した部分より柔軟状のFカルス(friable callus)が形成され、培養の進行とともに移植体を被うようになり、その生長をかなり阻害したため個体の育成には至らなかった。B培地では比較的移植体の生長も良好で、約7~8 mmの突起状の植物塊を形成した(図1.C)。この植物塊を $\frac{1}{2}$ MS+BA 1.0 mg/lの継代培地に移植を行うと、多芽状の幼植物(図1.D)となる。その後この幼植物を発根培地($\frac{1}{2}$ MS+1BA 0.02 mg/l)に移植し発根を促進させた幼植物(図1.E)を、パーミキュライト+パーライト混合培土のポットに移植を行ない順化させた(図1.F)。この順化幼苗を通常の培養土に鉢上げたものを温室内で保護育苗させた(図1.G)。これらの育成幼苗については仮称SK No.1~No.4とした。



図1. 茎頂培養による幼苗の育成

- A: 新梢の供試部位
- B: 茎頂 (生長点) 組織
- C: 突起状の植物塊形成 (置床50日目)
- D: 多芽状の幼植物 (置床65日目)
- E: 発根培地における発根状態
- F: 順化状態 (パーミキュライト+パーライト)
- G: 鉢上げ培養個体

以上の培養結果から、1985年初年度において東部町の上記SK系4株、1986年東部町および上田市の2地点より2株ずつ4株、両年度にわたって計8株の原木母樹を育成することができた。なお、本研究はまずフリー化母樹の育成を主としたため、多芽体幼植物の分割増殖培養は一部で行ったが、本格的な増殖実験は実施しなかった。

2. フリー化原木 (母樹) の圃場管理

1986年4月、鉢上げ後温室内で育成させた東部町SK系4株 (いずれも草丈1.5 m) を、繊維学部附属農場の実験圃場に約3 mの正方形に植付、仮設の支柱棚を設け巨峰栽培の基準による肥培および農薬撒布について1986、1987年の両年にわたり行った。移植された原木の新梢は極め

て良好な伸長を示し（図2.A, B, C, D, F）、株とのスペースも秋末にはその枝条で被蔽の状態となった（図2.E）。移植2年目（1987年）にこれらの成木から計18個の果実を収穫した。

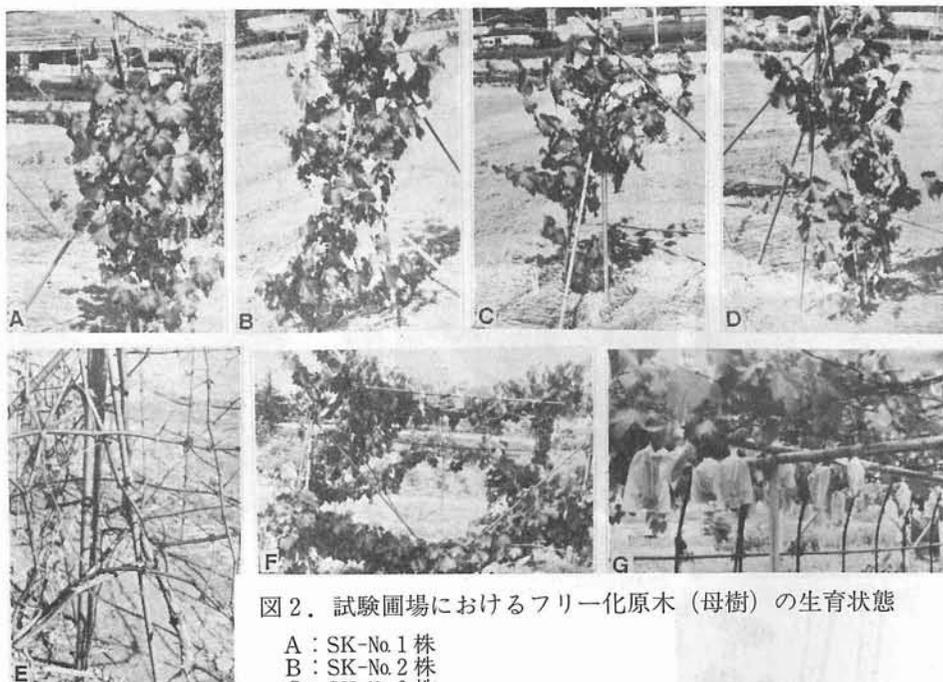


図2. 試験圃場におけるフリー化原木（母樹）の生育状態

- A : SK-No.1 株
- B : SK-No.2 株
- C : SK-No.3 株
- D : SK-No.4 株
- E : 発育枝条の状態 (No.3 株)
- F : SK-No.1 ~ No.4 株の植付け初年度秋期状態
- G : 定植3年目の生育と結果（袋掛）状態

1988年4月、長野県経済連の指示のもと、育成SK系No.1～4の4株中3株と東部町、上田市の各1地点より育成した原木4株を東部町および上田市農協の試験圃にそれぞれ移管した。

またSK系の残り1株は信大繊維学部附属農場実験圃場の鉄パイプ棚試験圃に定植を行い実用形質の調査用として各種の管理を行った結果、整形した優良果実を1989年20果、1990年に100果それぞれ収穫した（図2.G）。

3. 育成原木（母樹）の形質とフリー化の検定

繊維学部附属農場実験圃場に移植したSK系の母樹について2、3の実用形質を調査し次の結果を得た。

(1) 枝条の伸長は極めて良く（図2.E）、葉は3、4の欠刻を持つ巾広い掌状形で、葉色濃く、切れ込みの深い鋭鋸歯形の葉縁を有する。また葉柄は赤色を帯びたいわゆるウイルスフリー樹の特色が認められた（図3.A, B, C, D）。

(2) 果実の着色度、糖度、粒重、果芯長、種子などについてSK系No.1～No.4を対象に調査（1990年度）を行ない、他系統と比較した（表1）。

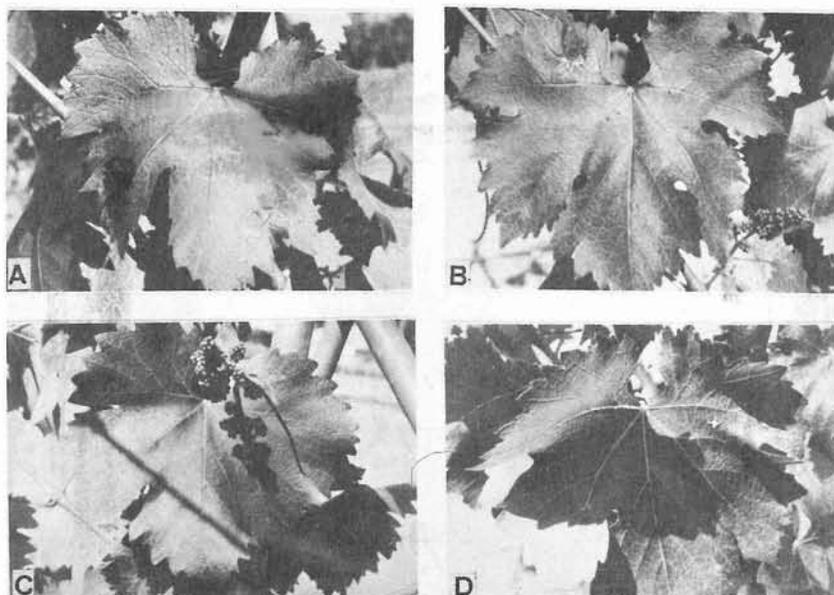


図3. フリー化原木の葉形

A : SK-No. 1 株
 B : SK-No. 2 株
 C : SK-No. 3 株
 D : SK-No. 4 株

表1. 果実における系統別形質比較 (1990調)

項目	バイテク SK-No. 1	バイテク SK-No. 2	バイテク SK-No. 3	バイテク SK-No. 4	エレガンス(塩田)	シルキー(上田市)	山梨フリー 台木3309
着色度	10	8	9	10	10	11	11
粒重(房重/粒数)	12.2g	12.6	12.3	13.1	11.2	13.1	13.2
粒形 縦径×横径	やや長い	〃	〃	やや丸い	やや長い	丸い	やや長い
糖度	18.8	18.9	18.7	19.8	18.0	17.7	18.8
果芯長	7.0mm	12.1	9.1	4.3	8.0	9.8	9.1
種子	成熟(1-3粒含)	成熟(1~4粒)	成熟(1~4粒)	成熟(1-3粒)	ほぼ成熟	成熟	成熟
果肉の硬さ	外周やや白い 果肉は中	外周は中 果肉は中	〃	外周はやや濃い 果肉はややしまる	外周はやや淡い 果肉は中	外周は濃く厚い 果肉はしまる	外周は濃く厚い 果肉は中
果軸の老化	やや老化	〃	〃	〃	〃	良い	〃
果軸の色	緑黄色	淡緑色	〃	緑黄色	〃	やや濃緑色	〃

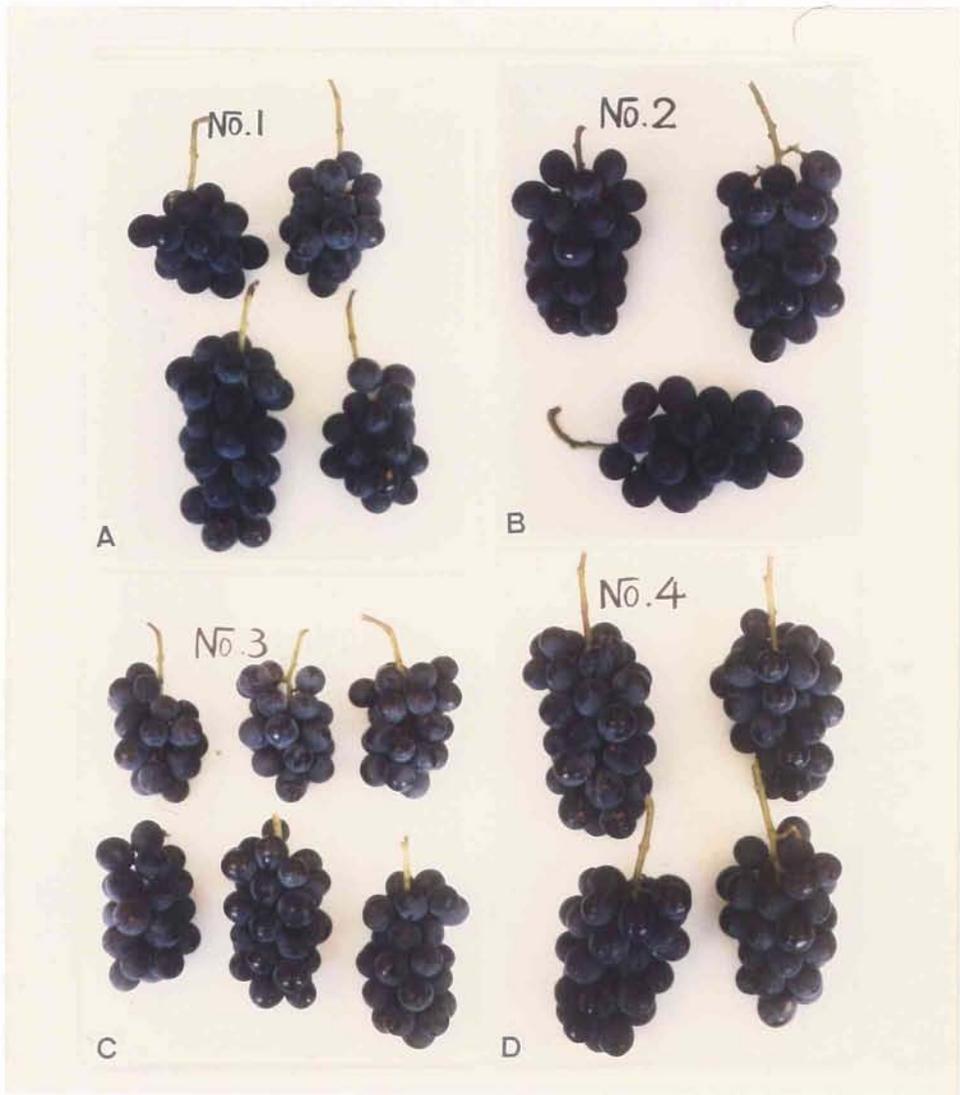


図4. 初結果時 (1987年) におけるフリー化果実の形と色調

- A : SK-No. 1 株
- B : SK-No. 2 株
- C : SK-No. 3 株
- D : SK-No. 4 株

着色度は No. 2、No. 3 はやや劣る傾向がみられたが、No. 1、4 とともに他系に比べ遜色はなく、1988、1989 両年の調査でも着色度は良好であった。粒重は SK 系の中では No. 4 が勝り、他系との比較でも上位にあった。糖度は各系統間に大差は認められなかったが、SK No. 4 は 19.8 を示し、1～2 度高い状態にある。果実中の種子の状態をみると、SK 系は 1 粒中に 1～4 個の成熟した種子を有し、果実の熟化に好適なものとして評価された。また果肉、果軸の状態には差異は認められなかったが、果芯長では SK No. 4 が他に比べ約 1/2 と短かった。なお、1987 年植付 2 年目において初結実をみた SK 系の各株から収穫した果実の形と色調を図 4 (A、B、C、D) に示した。No. 1 および No. 3 に形のバラツキがみられるが、1990 年の結果では大差は認められなかった。

(3) 名古屋植物防疫検査所によるウイルス検定の結果、リーフロール (GLRV)、コーキークバーク (GCBV) およびファンリーフ (GFLV) の 3 種ウイルスについては、SK 系 4 株ともフリーであることが認められたが、1986 年に育成し、1988 年東部町、上田市に移管した原木については未検定であり今後を期待したい。

考 察

長野県上小地域における巨峰栽培振興策の一環として、1985 年茎頂培養によるウイルスのフリー化苗の育成を目標として実験に着手した。まず東部町および上田市の果樹栽培者の提供による材料を供試し、茎頂組織 0.2-0.4 mm の摘出と MS 培地の組成を検討し行った。

初代培養を MS 培地は無機塩濃度を 1/2 とし NAA 0.1 mg/l + BA 1.0 mg/l + スクロース 3% + 寒天 0.6%、pH 5.7 に調整したものは、他の常法無機塩濃度の培地に比較し良好で、他種ブドウによる従来の研究成果^{4,5,7)}に準じた。継代培養は MS + BA 1.0 mg/l 培地が多芽体を形成させ、1/2 MS + 1BA 0.02 mg/l 培地では発根を促進させた。

これらの培養結果から、東部町由来の 1985 年着手のものから 4 株、1986 年着手のものより 2 株、および上田市由来の 1986 年着手のものから 2 株、計 8 株の原木 (母樹) を育成することに成功した。これらの原木のうち東部町由来の 4 株を SK 系とし、信州大学組織学部附属農場実験圃に 1 株、他の 3 株は東部町農協栽培試験園に移植を行い、原木における枝条、葉部の形状および果実の糖度、着色度、粒重などの実用形質について既成の栽培巨峰と比較調査し、良好な成績が得られた。また巨峰栽培上、樹勢と果実の品質に影響を及ぼすウイルスについて検査を行った結果、リーフロール、コーキークバークおよびファンリーフの 3 種のウイルスはともにフリーであることが認められた。

県下の東信地域における浅間テクノポリス構想の実現化が進められている中で、バイオテクノロジーの農業に果す役割は大きく、野菜、花卉および果樹の分野での成果に期待が寄せられてい

る。なかでも果樹産業中巨峰の占める割合は一般消費者のニーズからも今後とも増加の傾向にあると思われる。

今回実施した茎頂培養によるウイルスフリー巨峰の原木育成は、地元の研究機関から呱呱の声を上げた最初のもので、この苗木の大量増殖により巨峰の生産性向上に連る実用化試験として、さらにこの研究成果が研究室と農家とを結ぶいわゆる開かれた大学としてのイメージアップに一石を投じたものの二面性から評価したい。

今後はフリー化樹の適切な肥培管理と増殖普及に関する諸問題の総合的検討を図ることが重要な課題である。また巨峰のイメージチェンジにも連る新しい巨峰の出現を企図したバイオ技術による育種的研究の推進も必要なものと考えられる。

摘 要

特産果樹巨峰のウイルスフリー化に関する一連の試験を行ない、つぎの結果を得た。

1. 茎頂培養における効果的な培地は、初代培養に $\frac{1}{2}$ MS+NAA 0.1 mg/l+BA 1.0 mg/lが、継代培養にMS+BA 1.0 mg/l、そして発根培地は $\frac{1}{2}$ MS+1BA 0.02 mg/lの組合せが良好であった。
2. 茎頂培養の結果、1985、1986両年にわたって計8株の原木(母樹)が育成された。
3. 育成原木の形態的性状や果実の糖度、着色度、粒重などはフリー化の様相を呈し、優良な諸形質を示した。
4. ウイルス検定の結果、リーフロール、コーキークォークおよびフアンリーフの3種ウイルスはともにフリーであることが認められた。
5. 育成フリー化苗の増殖、栽培、普及上の諸要件が今後の課題である。

文 献

1. 樋口春三(1988):植物組織培養の世界、柴田ハリオ硝子、P. 253-255.
2. 関東農政局長野統計情報事務所(1989):長野県農林業市町村別統計書、131-137.
3. 難波成任・山下修一・土居養二・與良 清(1979):日本植物病理学会講要、VI-28.
4. 笹原宏之・多田邦雄・井理正彦・竹沢泰平・田崎三男(1981):J. Japan. Soc. Hort. Sci., 50, 2, 169-175.
5. 佐藤俊彦・西島 隆・原田 昭・矢野 龍(1985):園芸学会春季講要、124-125.
6. 寺井康夫・矢野 龍(1979):日本植物病理学会講要、VI-27.
7. 山家弘士(1981):園芸学会春季講要、104-105.