

調査・研究

サツマイモ茎頂培養によるウイルスフリー化技術の確立

宮崎県総合農業試験場
生物工学部 部長

長田龍太郎

サツマイモは、宮崎県畑作地帯での重要な作物である。この青果用サツマイモ（高系14号の派生系統である“宮崎紅”）に1975年頃から塊根表皮が横しま状に退色する症状（带状粗皮症状）や肌あれ、ひび割れなどの症状が多発し、商品価値の低下を招き、大きな問題になってきていた（図1右）。この症状について、新海ら⁵⁾は鹿児島県と宮崎県のサツマイモの早掘り地帯における調査で、Russet-crack症と類似した症状であると報告した。九州の他県においてもその発生が確認され、その後全国的に発生が認められた。带状粗皮症状が発症したサツマイモ茎葉を電子顕微鏡で観察すると高頻度で長さ820～940nmのひも状ウイルス粒子（図2）が見いだされ、本症状の原因がウイルスである可能性が考えられた²⁾。なお、带状粗皮症状の病原ウイルスについて、宇杉らは1994年にサツマイモ斑紋モザイクウイルス強毒系（SPFMV-s）であると報告し⁶⁾、同時に病名もサツマイモ带状粗皮病となった。

1. 茎頂培養法の開発

研究を開始した当初、サツマイモの茎頂培養法が記載されている文献は、森らの農事試験研報¹⁾のみであった。しかし、2種



図1 青果用サツマイモのウイルスフリー化の効果
左：ウイルスフリー株、右：SPFMV感染株

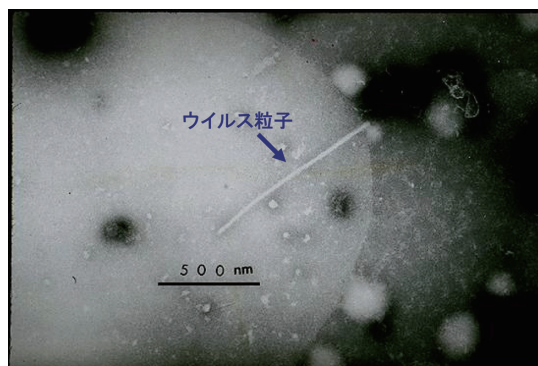


図2 サツマイモ斑紋モザイクウイルス（SPFMV）のnegative染色
矢印がウイルス粒子、バーの長さは500nmを示す。

類の培地で植え替えを伴う方法は煩雑なため、1種類の培地で可能な方法を求めて研究を開始した²⁾。

材料として、サツマイモ塊根より萌芽させた芽を使用し、使用した植物ホルモンの種類と濃度が植物体分化に及ぼす影響等について調査した。その結果、オーキシンであるナフタレン酢酸ナトリウム (NAA) とサイトカイニンであるベンジルアミノプリン (BA) の組合せでは、茎葉分化率は NAA0.01mg/l、BA1.0 または2.0mg/l の組合せで、それぞれ68.2、71.4%と良く、特にNAA0.01mg/l、BA1.0mg/lの組合せの培地では、茎葉分化とともに速やかに発根も伴った。植物ホルモン類を含まない培地では、茎葉の分化は認められず、多くの個体が枯死するか、生存していても小さい芽の状態のままであった。BA 単独添加では、茎葉分化は認められたもののカルス化も多く認められる傾向にあった。これ以降サツマイモの茎頂培養には、Murashige & Skoog (MS) 基本培地に NAA0.01mg/L、BA1.0mg/L 添加した培地を用いた。また、試験管内での増殖には、節差しが適しており、節差し用培地としては MS 基本培地に NAA0.01mg/L、BA0.1mg/L 添加した培地で充分であった。带状粗皮病に感染した塊根の萌芽から作成した茎頂培養苗を栽培した結果、ウイルスフリー化された全ての株で本病は認められず、塊根部の表皮が滑らかになり、同時に皮色も濃くなる傾向 (図 1 左) が認められた。

2. ウイルス検定技術の開発

当初、茎頂培養後のウイルス検定は、電子顕微鏡による検定、または *Ipomoea* 属を用いた接ぎ木による植物検定が行われたが、その作業は煩雑で長時間を要した。そのため、逆転写反応を利用した PCR によ

る高感度なウイルス検定技術のサツマイモへの応用を試みた⁴⁾。

サツマイモ葉を用い、3 種類の RNA 抽出法で比較した結果、抽出された RNA 量には差が認められ、生葉 0.1g から Guanine thiocyanate-phenol 法で平均 39.0 mg と最も効率よく抽出された。また、各 RNA 濃度を 100 ng/ml に調製し、段階希釈を行い、*rTth* DNA 合成酵素を用いた RT-PCR を試みた結果、同法で総 RNA 量 2.0pg/ml の濃度までウイルス由来 DNA 断片が検出された。さらに *rTth* DNA 合成酵素、AMV 逆転写酵素と *rTaq* DNA 合成酵素との組み合わせ、MuLV 逆転写酵素と *rTaq* DNA 合成酵素との組合せで比較を行った結果、AMV 逆転写酵素と *rTaq* DNA 合成酵素の組合せで最も感度が高く、総 RNA 量 0.2 pg/ml まで検出可能であった。

3. ウイルスフリー株のウイルス再感染の影響及び普及

青果用サツマイモウイルスフリー株が SPFMV に再感染した場合、何作目でウイルスの症状が認められるか調査を行った。その結果、再感染後 1 作目には症状は認められず、2 作目から 80% の株に認められた。しかし、発病程度としては低く、ウイルスに再感染後 3 作目付けしても商品化には大きな影響を及ぼさないことが明らかとなった²⁾ (図 3)。青果用サツマイモのウイルスフリー化により、それまで土壌が原因であると考えられていた带状粗皮病の病徴が消失し、塊根皮色が濃く、滑らかとなったことは驚きであった。現地も速やかにフリー株を受け入れ、その普及を全国に先駆け、

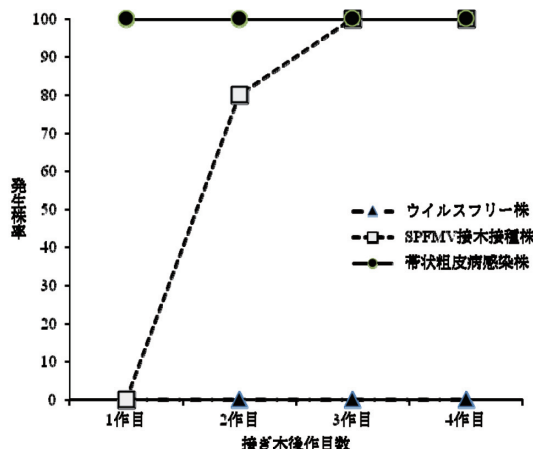


図3 接ぎ木接種によるサツマイモ帯状粗皮病の伝染
縦軸は帯状粗皮病病徴の発生株率を表し、横軸は接ぎ木後作付年次を表す。

1984年より開始した。1988年からは、(社)宮崎県バイオテクノロジー種苗増殖センターを通じて供給を開始した³⁾。当初は塊根での出荷が主であったが、現在では合計4品種のウイルスフリー苗が、差し苗や

ポット苗として、年間60～70万本宮崎県内産地の80%以上に供給されている(図4)。

4. おわりに

筆者は、1980年からサツマイモのウイルスフリー化に取り組み、その成果を(社)宮崎県バイオテクノロジー種苗増殖センターを通じて県内一般農家へ普及を図ってきた。その過程で様々な問題が発生した。ウイルスフリー化技術は、茎頂培養技術、ウイルス検定技術、ウイルス再感染防止技術が集大成されたシステムと考えられる。そのため、今後発生するであろう様々な問題を解決しつつ、より一層そのシステムに磨きをかけ研究を行いたいと考えている。最後に、これまでの試験研究やその普及に関して、多大なご協力をいただいた多くの関係者の皆様に深謝いたします。

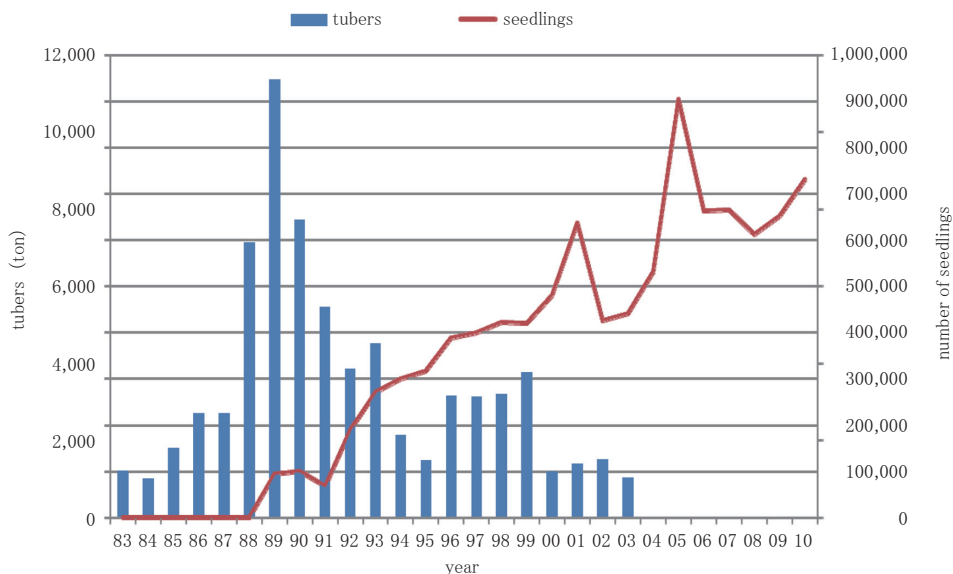


図4 バイオテクノロジー種苗増殖センターにおけるウイルスフリーサツマイモ出荷の推移

棒グラフは塊根での合計出荷数量(縦軸左)を示す。折れ線グラフは挿し芽苗、ポット苗での合計出荷数量(縦軸右)を示す。横軸は年度(西暦)を示す。各値は、高系14号系の派生系統である「宮崎紅」、「ことぶき」および「コガネセンガン」の合計値で示している。2004年度から「コガネセンガン」ウイルスフリー苗出荷による増加が認められる。

引用文献

- 1) 森寛一・沢田肇・池上雍春 (1969). 組織培養法によるウイルス罹病植物の無毒化. 農事試験研報13 : 45-110
- 2) 長田龍太郎 (1990). 食用カンショウイルスフリー苗の作出と効果. 宮崎総農試報 25 : 77-90.
- 3) 長田龍太郎・長友 誠・蓑毛 政任 (1998). An example of spread of virus free sweet potatoes : The process and the present situation in Miyazaki Pref. 園芸学雑誌 67別1
- 4) Nagata, R., M. Mori, K. Hanada and M. Nishiguchi. (2001) An Improved Method of Reverse Transcription and Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) to Efficiently Detect Potyvirus, *Sweet Potato Feathery Mottle Virus* (SPFMV) RNA in Sweet Potato. J Gen Plant Pathol. 67 : 164-168.
- 5) 新海昭・松田鋤男・岩橋哲彦 (1980). サツマイモの Russet crack 様症状の発生. 日植病報46 : 67 (講要)
- 6) Usugi, T., M.Nakano, M.Onuki, T. Maoka and T.Hayashi. (1994). A new strain of *sweet potato feathery mottle virus* that causes russet crack on fleshy roots of some Japanese cultivars of sweet potato. Ann. Phytopath. Soc. Jpn. 60 : 545-554.