

## ニンニクのウイルス・フリー株の 生産性及び花床培養による増殖

松原幸子・陳 典<sup>a)</sup>・榊田正治<sup>b)</sup>・村上賢治  
(生物機能・遺伝資源開発学講座)

Received November 1, 1989

### Production and Proliferation of Bulbs from Receptacles of Virus Free Garlic Plant

Sachiko MATSUBARA, Dzen CHEN<sup>a)</sup>,  
Masaharu MASUDA<sup>b)</sup> and Kenji MURAKAMI  
(Division of Biological Function and Genetic Resources Science)

*Production of bulbs in virus free and infected plants*: Size and yield of bulbs between virus free plants and plants infected with virus were compared. The former plants produced bulbs as heavy as 1.4 times of the latter plants. One bulb of virus free plants was composed of much bulblets in number and each bulblets were heavier. Aerial bulblets on a flower disc from virus free plants were also much in number.

*Receptacle culture*: Each receptacle cut into 8 sections was cultured on the MS medium containing NAA and BA. Normal shoot growth was obtained on the medium containing  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  NAA, and bulblets were formed from leaf bases by transferring onto the MS medium. About forty bulblets were regenerated from one receptacle.

### 緒 言

ニンニクは2倍体植物であるが、自然条件では不稔で、その原因として花粉が四分子形成以降に退化するためと言われている。それ故種子繁殖ができず、通常側球による栄養繁殖を行う。栄養繁殖なのでほとんどの種球がウイルスに罹病し、近年生産力が落ちて来ている<sup>2)</sup>。しかしニンニクのウイルス・フリー株の育成は茎頂培養により可能であり<sup>6,10,11)</sup>、それにより生産力の回復が考えられる。ところがウイルス・フリー株を育成してもその増殖には多くの問題があり、カルス培養<sup>1,3,4,10)</sup>や多芽体培養が試みられているが、その手法においても効率的方法が確立されておらず、かつ遺伝的変異の起こる可能性も高い<sup>9)</sup>。茎頂培養では1茎頂から2,3植物体しかできない<sup>12)</sup>。一方、同じネギ属のタマネギでは花床培養による増殖が可能である<sup>5)</sup>。そこで本実験ではニンニクのウイルス・フリー株の生産性、及び花床培養による増殖を試みた。

### 材料及び方法

本実験を通じて5月に香川県で収穫されたニンニクの栽培種“嘉定”の球根を用いた。  
**ウイルス・フリー株の生産性**: ウイルス・フリー株の育成のために、1985年9月、室温貯蔵していた球根の側球の生長点を0.2-0.3mmの大きさに切り取り、それぞれ $0.01 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ のNAAとBAを添加した基本培地に植え付け、2ヵ月毎にホルモン無添加の基本培地に移植した。基本培地は、本実験を通じて修正 Murashige and Shoog(1962)<sup>7)</sup>培地を用いた。1年間培養し順化後、ガラス室に植え付け、株養成をした。1987年9月22日にウイルス罹病球とフリー球

a) 中国東北農学院 (North East Agricultural College, P. R. China)

b) 作物機能調節学 (Division of Eco-physiology for Crop Production)

を圃場に植え付け、慣行法に従って栽培した。頂花形成後、1988年6月7日に球を掘り上げ、球の収量・頂花の珠芽形成状態を観察した。収量は各区10個体ずつを無作為に抽出し、1個体当たりの球の生体重・側球数を調査した。頂花の珠芽形成は、各区から3個体を無作為に抽出し、苞を除去後、花床上の小花・小葉・珠芽の数を測定した。珠芽は球高・球径も測定した。

**花床培養：**秋に植え付けたニンニクは翌春に抽台し、頂花を形成する。頂花の苞を除去すると珠芽形成が観察される。珠芽が形成されるのは花床上である。この花床から多くの苗条を再生する為に培養を試みた。

1986年9月23日に圃場へ植え付けた球根から伸長した植物体の、珠芽形成以前の花床を材料として1987年4月27日に培養を試みた。花床についている小花を切り除いた後、花床組織を8分割し、まとめて50ml培地を含むフラスコ内に置床した。1培地当たり1フラスコとした。培地は基本培地に0, 0.01, 0.1mg・l<sup>-1</sup>NAAと0, 1, 10, 50mg・l<sup>-1</sup>BAを組み合わせた16種の植物ホルモンを添加した培地上に、上述のように外植体を植え付け、105日間培養後、形成された苗条を1本ずつホルモン無添加培地を入れた試験管に移植して60日間培養した。いずれの培養も25℃人工気象室で1500lxの人工光で16日間日長とした条件下で行った。

## 結 果

**ウイルス・フリー株の生産性：**ウイルス・フリー株と罹病株について、1個体当たりの球の生体重と側球数を測定した結果をTable 1に示した。ウイルス・フリー株ではどの株も球の生体重が100g前後で、平均93.5gであったのに対して、罹病株では60g前後のものが多く、平均64.6gであった。側球数は、ウイルス・フリー株は平均8.4であり、罹病株より多く、かつ個々の側球も重くなった。次に、小花・小葉・珠芽の発育程度をTable 2に示した。珠芽数はウイルス・フリー株と罹病株の間で大きな差は認められなかったが、前者では明らかに大きく、肥大していた。小葉は両者共枯れ上がっていた。小花は珠芽の間から伸長していたが、罹病株でより多く観察された。

Table 1 Bulbulet production from a virus free plant and a plant infected with virus

Plant	Fresh weight of total bulbulets(g)	No. of bulbulets per plant	Mean fresh weight of bulbulet(g)
Virus free	93.5	8.4	11.1
Infected	64.6	6.8	9.5

Table 2 Aerial bulbils and florets on receptacles of virus free and virus infected plants

Plant	No. of florets	Aerial bulbil per one receptacle			
		Number	Length(mm)	Diameter(mm)	Length/Diameter
Virus free	11.3	14.7	14	13	1.89
Infected	15.3	12.0	12	10	0.82

**花床培養：**NAAとBA添加培地上での培養105日後の苗条再分化の状態をFig. 1に示した。この写真により明らかなように、これらの濃度のBA添加培地上では正常な苗条生長が見られなかった。しかしNAA単独添加培地上では正常な生育が見られ、特に0.1mg・l<sup>-1</sup>NAA添加区で非常に増殖率が高かった。Fig. 2に1/8に分割した花床よりこの培地上で再分化した苗条を示した。NAA添加培地上での苗条生長の結果をTable 3に示した。植え付け105日

後の生育調査では、NAA  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  添加区の苗条数及び葉長が他の処理より有意によかった。しかし、葉数はホルモン無添加区で最も多かった。105 日間培養後、基本培地に移植して 60 日間培養した後の生育を見ると、 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  添加区の生体重が重いように見えるが、ばらつきが見られたことにより 3 区の間には有意差がなく、球径にも有意差が見られなかった。そのときの状態は Fig. 3 に示した。

以上の結果から、分割した花床を  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  NAA 添加培地上で培養することにより、1 花床から 3.5 か月後には 40 の苗条が得られることが明らかになった。Table 3 に示したように、これらの苗条は総て球を形成すると考え

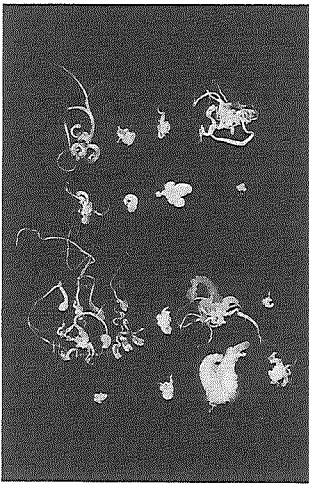


Fig. 1 Shoot formation from receptacle segments cultured on the MS medium containing NAA and BA, at 105 days after planting. From left to right: supplement of BA at 0, 1, 10 and  $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . From upper to lower: supplement of NAA at 0, 0.01, 0.1 and  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ .



Fig. 2 Shoot formation from receptacle segments cultured on the MS medium containing  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  NAA, at 105 days after planting.

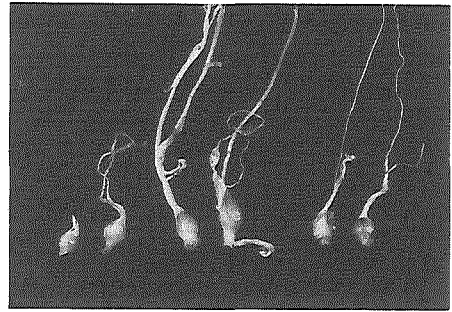


Fig. 3 Bulblet formation from leaf bases subcultured on the MS medium. Initial culture for 105 days, followed by 60 days subculture. The initial media are composed of the MS medium containing 0 (left 2), 0.01 (middle 2) and 0.1 (right 2)  $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$  NAA.

Table 3 Effect of NAA on aerial bulbil production from receptacles

NAA conc. ( $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ )	Mean shoot No. per receptacle	Mean longest leaf length (mm)	Mean No. of leaf	Mean bulbil diameter (mm)	Mean fresh weight of shoot (mg)
Culture for 105 days					
0	32.0 <sub>b</sub> *	2.7 <sub>c</sub>	4.6 <sub>a</sub>		
0.01	26.4 <sub>b</sub>	5.3 <sub>b</sub>	3.5 <sub>b</sub>		
0.1	40.0 <sub>a</sub>	7.6 <sub>a</sub>	2.4 <sub>c</sub>		
Culture for 105 days followed by 60 days on MS basal medium					
0	—**	—	—	3.5	80.5
0.01	—	—	—	3.6	140.0
0.1	—	—	—	3.6	89.3

\* Mean separation in columns by Duncan' multiple range test ( $P=0.05$ ).

\*\* Leaves were withered.

られるので、1花床から最大40球を得る事になる。

## 論 議

ニンニクのウイルスフリー株の生産性については、今まではっきりしたデータが得られていない。本実験において、フリー株は罹病株と比較して球重は1.4倍になり、それは側球数の増加のみならず各側球重の増加にも依存していることが分かった。この結果より球の収量、形態的な品質の向上が得られたことは、フリー株が今後のニンニク栽培に大きな意義をもつことを示唆する。実際にウイルスフリー株を栽培していく場合、栽培当初はウイルスフリー株であっても、何年も栽培を続けるにつれてウイルス罹病率が高くなり、収量が低下して行くことは容易に推察され得る。ウイルス感染を出来るだけ低くするような栽培環境の整備も必要であるが、同時に種球を定期的にウイルスフリー株に更新していくことも必要になる。ウイルスフリー株をいつでも生産者に供給するためには、それらの大量増殖法の確立が必要である。ニンニクの増殖のためには茎頂培養<sup>2,6,8)</sup>、カルス培養<sup>1,3,4,10,11)</sup>などが試みられているが、いずれもそれほど増殖率が高いものではない。またカルス培養では遺伝的な変異の可能性も指摘され<sup>9)</sup>、まだ確立された技術とは言いがたい。茎頂培養では1茎頂から2、3本の苗条再生の可能性も見られているが<sup>12)</sup>、多芽体とは言いがたい。実際栽培で増殖のためには側球を用いるが、また抽台茎の先端につく花の、花床上の球芽を用いることも可能である。Table 2で示したように、自然状態でも1花床からフリー株で14.7、罹病株では12個の珠芽が形成される。更に珠芽形成の予備軍として小花も10数花つく。タマネギでは、小花を切り戻すことにより小花の基部から珠芽が分化する<sup>5)</sup>。本実験で両者を合計すると、26前後となる。更に未発達の珠芽や小花もあると考えられ、これらを能率良く珠芽にする目的で培養を試みた訳である。その結果、花床を8分割して培養することにより1花床より40珠芽を得ることが出来た。この結果から本来珠芽になる定芽のみならず、潜在的に珠芽形成能をもつ器官をも、培養により苗条に再生したのではないかと思われるが、正確には組織学的な観察を待たねばならない。また培養によりこれらの苗条を早く球にすることも可能であると考えられる。いずれにしても側球増殖の際、抽台茎は切り捨てるもので、それらを早い時期に増殖用の材料として用いることにより、有効利用を図ることができる。

## 謝 辞

本研究を行うに当たり、ウイルスフリー株の栽培にご尽力戴いた奥野かおりさんに、厚く御礼申し上げる。

## 摘 要

ニンニクの茎頂培養によるウイルスフリー株の育成を試み、フリー株と罹病株の球の生産性の比較を行った。またフリー株の増殖を目的とした花床培養を試みた。

**生産性の比較：**茎頂培養により育成したウイルスフリー株からの球根と、罹病株からの球根を、圃場に植え付け翌年6月に掘り上げて球の収量を比較した。フリー株の球重は罹病株と比較して1.4倍、球数は1.2倍となった。抽台茎上の花床に形成された珠芽も多かった。

**花床培養：**花床を8分割して培養したところ、NAAを添加したMS基本培地に植え付けた区で正常な苗条が再生し、特に $0.1\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  NAA添加区で苗条の再生数が多く、それらをホルモン無添加培地に移植することにより球となった。1花床から約40球が再生された。

## 引 用 文 献

- 1) Abo-El-Nil, M. M. : Organogenesis and embryogenesis in callus cultures of garlic (*Allium sativum*

- L.). *Plant Sci. Lett.* **9**, 259-264 (1977)
- 2) Bhojwani, S. S. : *In vitro* propagation of garlic by shoot proliferation. *Scientia Hort.* **13**, 47-52 (1980)
  - 3) Havranek, P. and F. J. Novak: The bud formation in the callus cultures of *Allium sativum* L. *Z. Pflanzenphysiol.* **68**, 308-318 (1973)
  - 4) Kehr, A. E. and G. W. Schaeffer: Tissue culture and differentiation of garlic. *HortScience* **11**, 422-423 (1976)
  - 5) Matsubara, S. and H. Hihara: Onion bulblet regeneration on receptacles *in vivo* and *in vitro*. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* **46**, 479-486 (1978)
  - 6) Matsubara, S. and D. Chen: *In vitro* production of garlic plants and field acclimatization. *Hort Science* **24**, 677-679 (1989)
  - 7) Murashige, T. and F. Skoog: A revised medium for the rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* **914**, 473-497 (1962)
  - 8) Nome, S. F., A. Abril and R. Racca: Obtencion de plantas de ajo (*Allium sativum* L.) libres de virus mediante el cultivo de meristemas apicales. *Phyton* **41**, 139-151 (1981)
  - 9) Novak, F. J. : The changes of karyotype in callus cultures of *Allium sativum* L. *Caryologia* **27**, 45-54 (1974)
  - 10) Osawa, K., H. Kuriyama and H. Sugawara: Studies on large scale proliferation and utilization of vegetative propagated vegetables by tissue culture. *Bul. Veg. & Orn. Crop. Sta., Jpn. Ser. A* **9**, 1-46 (1981)
  - 11) Osawa, K. and H. Sugawara : Studies on techniques of tissue culture : I. Experiment on the method of acclimatization of *in vitro* plants of vegetables. *Bul. Dept. Breeding Veg. and Orn. Crops Res. Sta., Jpn.* **7**, 22-25 (1980)
  - 12) 高樹英明・水上克朗・柴田千鶴子：ニンニクの莖頂の生長と不定芽発生に及ぼすオーキシンとサイトカイニンの影響。園学雑 **58** 別2, 234-235 (1989)