

## ビタミンCおよび凍結処理を用いた

### アスパラガスからの効率的なウイルス除去法の確立

作物生産生物学講座 園芸緑地学分野 園芸学研究室 松尾 典之

#### 1. 背景および目的

アスパラガス連作障害の要因の一つとして *Asparagus virus 1*(AV-1)および *Asparagus virus 2*(AV-2)の重複感染が考えられる。一般的に植物体からウイルスを除去するためには成長点培養が用いられるが、ウイルス除去率の低さ、および植物体再生率の低さが課題となる。そこで本研究では、近年になってウイルス除去効果が報告されたビタミンC(アスコルビン酸,AsA)処理, および凍結処理を用いて、アスパラガスの効率的なウイルス除去法を検討した。

#### 2. 材料および方法

材料には北大研究圃場より採集したアスパラガス若茎, および市販のアスパラガス若茎を用いた。まず若茎から核酸を抽出し, RT-PCR法によるウイルス検定を行ってAV-1とAV-2の重複感染を確認した。次に成長点を0.2-0.5mmの大きさに切り取って成長点培養を行い, 培養後に再びウイルス検定を行い, 重複感染しているものを材料とした。AsA処理はアスコルビン酸2-グルコシド(AsG)およびアスコルビン酸硫酸エステル2-ナトリウム(AsSNa)の2種類の誘導体を用い, それぞれ培地に異なる濃度(0,200,500,1000,1500ppm)で添加した処理区を設定して培養を行った。凍結処理には緩速凍結処理を用い, 2,5,8mmの異なる大きさの切片を用い, -40℃まで0.5℃/分の速度で冷却を行い, その後完全に凍結させた後に切片を融解して培養した。各処理とも, 処理60日後にウイルス検定を行い, ウイルス検定を行って感染率を調査した。また, AV-2については処理後に免疫組織染色を行い, ウイルスの局在を確認した。

#### 3. 結果及び考察

AsA処理, および凍結処理において, AV-1, AV-2の両ウイルスに対する除去効果が得られた。それぞれの処理区において明確な差は生じなかったが, 系統間でウイルスの除去率に差が生じた。これは, RNAサイレンシングの強度や耐凍性などで系統間差が生じた可能性が考えられる。また, いずれの処理においてもAV-2の除去率がAV-1に比べて低いものであったことから, AV-1よりもAV-2の方が, 除去が困難であることが示唆された。この要因として, それぞれのウイルスが持つRNAサイレンシングサプレッサーの特性が異なることが考えられる。また, 凍結処理においてAV-2に対して除去効果が得られた系統では, シュートの伸長, およびシュート形成の増加が確認された。免疫組織染色では, AV-2は維管束および成長点付近の細胞に局在することが示唆された。これより, AV-2はRNAサイレンシングを回避する能力が高く, 成長点周辺でもウイルスが残存しやすいため, AV-2除去率が低率であると考えられる。

以上, 本研究で得られた結果より, アスパラガスの効率的なウイルス除去法の可能性が示唆された。