

## ビタミンC前駆体や誘導体を利用したアスパラガスウイルスフリー化の改良

生物資源科学専攻 作物生産生物学講座 園芸学 武井 俊大

### 1. はじめに

アスパラガスには *Asparagus virus 1* および *Asparagus virus 2* (AV-1, AV-2) が感染し、若茎の収量や品質の低下を引き起こすとされる。アスパラガスのウイルスフリー化を目的として、先行研究により *in vitro* においてアスパラガス培養体にビタミンC(アスコルビン酸: AsA)を利用する手法が検討されてきた。AsAには酸化型と還元型があり、RNAサイレンシングサプレッサー阻害を通じた抗ウイルス効果があるとされている。その中で、AsA誘導体にはAV-1, AV-2除去効果がある一方で、植物体の生育が悪化する場合もあることが分かった。本研究では、AsA誘導体を利用したウイルスフリー化の改良として、AsA誘導体をより短時間で処理する方法やAsA前駆体を処理する方法を用い、AsA処理による薬害が起きないようなAV-1, AV-2の効果的な除去方法を検討した。また、AsA処理後の植物体におけるAsA蓄積量やAsA代謝遺伝子群の発現について解析を行った。

### 2. 方法

北大研究圃場で維持しているアスパラガスおよび市販種子を発芽させて得られた実生を採取して滅菌処理を行い、得られた無菌培養物を以後の材料に用いた。まず、アスパラガス培養体はRT-PCRによりウイルス検定を行い、AV-1, AV-2の重複感染個体を選抜した。AsA処理にはアスコルビン酸-2-グルコシド(AsG), アスコルビン酸硫酸エステル-2-ナトリウム(AsSNa), 酸化型AsA(DHA)およびAsA前駆体(L-Galactose:L-Gal)を使用した。それぞれのAsA処理には、濃度を変えた添加培地で培養する試験区や培養前に浸漬させる試験区を設定した。各処理から20日後、生存率の観察および伸長したシュートを用いたAV-1, AV-2検定を行った。また、培養期間におけるAsA蓄積量をヒドラジン比色法により測定した。さらに、AsA代謝経路におけるAscorbate oxidase(AO), Ascorbate peroxidase(APX), Dehydroascorbate oxidase(DHAR), L-Galactose dehydrogenase (GalDH)遺伝子の経時的な発現量を定量RT-PCRにより解析した。

### 3. 結果と考察

AsSNaおよびL-Galは培養前浸漬処理と培地添加処理の全試験区で生育阻害を起こさずにAV-1, AV-2に対する抗ウイルス効果を示すことが確認できた。一方、AsGおよびDHAは処理時間が長い場合に植物体の生育に対して毒性があることを確認した。これらの結果から、より短時間の浸漬処理の方が生育阻害を起こさずにウイルス除去効果が得られることが分かった。L-Gal処理は培養期間に還元型AsA量が著しく増加する傾向がみられたが、その他の処理区では還元型AsA量に大きな変化はなく、酸化型AsA量が培養期間に増減していた。また、AsSNa培養前浸漬処理では処理1日後に還元型AsAの割合が増加する傾向が確認された。この結果から、培養期間における還元型AsA蓄積量の増加およびAsA処理直後に還元型AsAの割合が増加することがウイルス抑制に寄与しているのではないかと考えられた。以上より、外来のビタミンC処理は内生AsA量に影響し、これが抗ウイルス効果をもたらすことが分かった。