

## カンキツウイルス病無毒樹育成のための茎頂接ぎ木法の改良

森田 昭<sup>1)</sup>・小泉 銘冊<sup>2)</sup> (<sup>1)</sup>長崎県果樹試験場・<sup>2)</sup>果樹試験場興津支場)

**An improved shoot-tip grafting method for virus free citrus plants.** Akira MORITA<sup>1)</sup> and Meisaku KOIZUMI<sup>2)</sup> (<sup>1)</sup>Nagasaki Fruit Tree Experiment Station, Omura, Nagasaki 856. <sup>2)</sup>Okitu Branch, Fruit Tree Research Station, Simizu, Sizuoka 424-02)

The shoot-tip grafting (denoted to STG) method developed by Navarro was improved to establish a method for further enhancing the seedling maturation rate. At first, a method for enhancing the rate of successful grafts by STG was investigated. As a result, Troyer citrange seedlings were suitable for the rootstock of STG because this rootstock had a high rate of successful grafts throughout the year. Especially, the rate of successful grafts was highest when this rootstock was used 12 days after sowing. The rate of successful grafts was improved by using a silicon plug as the cap for the vessel containing medium for growing the STG seedling. Further, the rate of successful grafts was increased by applying heat-treatment to the scion for STG. A method for enhancing the rate of successful grafts by side grafting was also investigated. As a result, seedlings of Roughlemon as a rootstock for side grafting had the highest rate of successful grafts throughout the year. The scions obtained at different growth stages of plants made virus-free by STG were used for side grafting. A high rate of successful grafts was shown when the side grafting was carried out using scions which were obtained from plants just after a successful take of STG. *Botrytis* sp. bud rot frequently occurred after the take of side grafting. If a method to control this disease is developed, virus-free plants can be obtained using this improved STG at the ratio of 90% or higher.

従来から栽培されているわが国のカンキツ樹のほとんどはカンキツトリステザウイルス (CTV) を保毒しているといわれているが、その中でもこれまでわが国で主に栽培されてきたカラタチ温州ミカンには CTV 耐性であるため、栽培上問題となることは少なかった。しかし、近年温州ミカンの生産過剰による価格低迷のために、中晩生カンキツ、極早生温州、及び高糖度系温州ミカンへの更新が盛んに行われた。その手法として高接ぎによる方法が多く用いられたため、それまでは局地的にしか発生していなかった温州萎縮ウイルス (SDV)、カンキツモザイクウイルス (CiMV)、タターリーフウイルス (CTLV) 及びエクソコーティスウイルス (CEV) が全国に拡散し、現在では各カンキツ品種の産地形成に大きな障害となっている。

これらのウイルス・ウイルス病 (以下ウイルス病と略記) の対策は、無病苗木が得られればほぼ問題が解決する SDV, CiMV, CTLV, CEV のウイルス群と媒介昆虫 (ミカンクロアブラムシ) が広く分布するため解決が困難な CTV とで大きく異なってくる。CTV の場合

もその弱毒ウイルスを利用するに当たっては、まず無病苗木を育成する必要がある。このように、カンキツウイルス病の対策は無病苗木の作出が出发点である。そこで、いかに確実に、効率よく、大量に無病苗木を育成するかが大きな課題となってきた。

これらの目的を達成するために、本研究では茎頂接ぎ木によってウイルスを効率的に無毒にするための茎頂接ぎ木法の改良法を検討し、いくつかの知見を得たので、その概要を報告する。

本研究を行うに当たり終始御教授と論文の校閲を賜った佐賀大学名誉教授野中福次博士及び長崎県果樹試験場長一瀬 至氏に厚く御礼申し上げる。

### 材料及び方法

#### 1. 茎頂接ぎ木の活着率を高める方法の検討

茎頂接ぎ木法: NAVARRO の方法<sup>1)</sup>に成苗率の向上と成長促進のために簡易茎頂接ぎ木法で行われている<sup>2)</sup>腹接ぎ法を取り入れた方法で行った。供試培地は Navarro and Jurazc 培地<sup>3)</sup>を用いた。

供試植物：台木は穂木品種と判別が容易な三つ葉の品種であるトロイヤーシトレンジ及びカラタチを、穂木は宮内伊予柑及び森田ネーブルを供試した。

莖頂接ぎ木用のキャップの種類：通常はシリコン栓を用いた。しかし、キャップの種類と活着率との関連の検討にはシリコン栓とアルミホイルを用いた。

熱処理温度：昼間16時間35℃、夜間8時間30℃にセットしたコイトトロンで40日間処理して、この間に伸びた若芽を用いた。一方、熱処理の有無と活着率の検討では熱処理区と非熱処理区を設けた。

莖頂接ぎ木成功苗の判定法：供試芽から2葉以上発生した苗を莖頂接ぎ木成功苗とした。

2. 腹接ぎの活着率を高める方法の検討

供試台木品種：ラフレモン1年生実生苗を用いた。しかし、腹接ぎの時期とカンキツ台木品種との検討ではラフレモン1年生実生苗以外にカラタチ2年生実生苗を用いた。

腹接ぎ用穂木：接ぎ穂はトロイヤーシトレンジ台木に莖頂接ぎ木した宮内伊予柑を用いた。莖頂接ぎ木で成功した個体の中から2葉発生個体を用いた。しかし、腹接ぎ時の葉数と腹接ぎ成功率の検討は莖頂接ぎ木で成功した個体の中から2葉、3葉、4葉発生個体並びに活着直後の無葉個体を用いた。

腹接ぎ後の処理：接ぎ木後は穂木を含めて多湿状態に保つため、ビニールフィルムで覆い、昼間16時間30℃、夜間8時間27℃のコイトトロンの中に置いた。接ぎ木7日目から徐々にビニールフィルムを切り開いて馴化を行

い、接ぎ木14日目には完全にビニールフィルムを除去した。

腹接ぎ成功の判定法と時期：接ぎ木後14日目のビニールフィルム除去時点で活着し、生育の認められる個体を腹接ぎ成功苗とした。

芽枯れ部位から分離される苗の検索法：芽枯れ部位から検出される菌を検鏡によって調べた。

3. ウイルス無毒化の判定

ウイルス無毒化処理によって得られた各苗木のウイルス保毒の検定はCTV、CiMV及びSDVではELISA法で、CTLVはラスクシトレンジに、CEVはエトログシトロンに接ぎ木し、それぞれのウイルス病固有の症状の出現の有無で判定した。

結 果

1. 莖頂接ぎ木の活着率を高める方法の検討

莖頂接ぎ木用の台木品種の検討をカラタチとトロイヤーシトレンジについて比較した。その結果、第1表に示すように、トロイヤーシトレンジの方がカラタチより高い活着率を示した。

次に、莖頂接ぎ木苗育成用容器のキャップの検討を行った。その結果、第2表に示すとおり、調査個体数は少ないが、活着率はアルミホイルでは14%であるのに対し、シリコン栓では96%で非常に高かった。

莖頂接ぎ木に用いる採穂樹の熱処理の有無と活着率との関係は第3表に示すとおり、非熱処理では活着率が24%であったが、熱処理では100%活着した。

台木品種の培地上での育成日数と莖頂接ぎ木活着率と

第1表 台木用カンキツ品種と莖頂接ぎ木の活着率との関係

穂木品種	台 木 品 種					
	カラタチ			トロイヤーシトレンジ		
	供試芽	活着数	活着率 (%)	供試芽	活着数	活着率 (%)
宮内伊予柑	30	19	63.3	30	24	80.0
森田ネーブル	30	17	56.7	30	25	83.3
合 計	60	36	60.0	60	49	81.7

第2表 莖頂接ぎ木苗育成用容器のキャップの種類と莖頂接ぎ木活着率

キャップの種類	莖頂接ぎ木数	活着数	活着率 (%)
シリコン栓	50	48	96
アルミホイル	50	7	14

第3表 採穂樹の熱処理の有無と莖頂接ぎ木の活着率

処 理	莖頂接ぎ木数	活着数	活着率 (%)
熱 処 理	50	50	100
非熱処理	50	12	24

第4表 台木用品種播種後の経過日数と莖頂接ぎ木の活着

項 目	播 種 後 の 経 過 日 数							合 計
	11	12	13	14	16	18	20	
接ぎ木数	29	42	31	16	29	5	5	157
活着数	20	40	21	7	9	1	0	98
活着率 (%)	70.0	95.2	67.7	48.3	31.0	20.0	0	62.4

第5表 接ぎ木の活着率に及ぼす年間における腹接ぎの時期とカンキツ台木品種との関係

接ぎ木時期	台 木 品 種					
	カ ラ タ チ			ラ フ レ モ ン		
	茎頂接ぎ木苗数	活着数	活着率 (%)	茎頂接ぎ木苗数	活着数	活着率 (%)
1987年4月8日	30	24	80.0	30	25	83.3
1987年7月23日	30	12	40.0	30	22	73.3
1987年9月21日	30	13	43.3	30	22	73.3
1987年11月12日	30	21	70.0	30	23	76.7
1988年1月20日	30	19	63.3	30	23	76.7

第6表 腹接ぎ時の穂木の葉数と腹接ぎ成功率

項 目	腹接ぎ時の穂木の葉数			
	0	2	3	4
供試苗数	9	8	7	10
腹接ぎ成功苗数	9	5	3	4
腹接ぎ成功苗率 (%)	100.0	62.5	42.8	40.0

第7表 腹接ぎ苗の芽から検出された糸状菌の種類と芽枯れの状況

菌 名	芽枯れの状況		感染苗数
	軟腐	乾腐	
<i>Botrytis</i> sp.	7	0	7
<i>Penicillium</i> sp.	0	4	4
<i>Alternaria</i> sp.	0	1	1
不 明	1	6	7
合 計	8	11	19

第8表 カンキツ茎頂接ぎ木苗の腹接ぎ苗におけるウイルス無毒化率

品種名	検定苗数	各ウイルスの無毒苗数				4ウイルスの無毒苗数
		CTV	SDV	CTLV	CEV	
宮内伊予柑	81	80	81	77	73	73
森田ネーブル	68	65	68	65	62	62
合 計	149	145	149	142	135	135
無毒苗率 (%)		97.3	100.0	95.3	90.6	90.6

の関係は第4表に示すように、播種後12日目最も活着率が高く、95.2%に達した。

## 2. 腹接ぎの活着率を高める方法の検討

腹接ぎ用台木の検討としてカラタチ、ラフレモンを用い、接ぎ木時期の適期について検討した。その結果、第5表に示すように、ラフレモンは年間を通じて活着率が高く、カラタチは時期によって活着率に差があり、4月が最も高く、次いで11月で、7月と9月は低かった。また、両品種を通じて、4月が最も活着率は良好であった。

茎頂接ぎ木の成功によって伸長してきた穂木を腹接ぎに用いる場合、この穂木の生育ステージと腹接ぎ活着率との関係を検討した結果が第6表である。茎頂接ぎ木した茎頂が台木に活着して葉が出現する前に、これを腹接ぎした方が活着率は高く、穂木の葉数が増すにつれて活着率は低下した。

腹接ぎの活着率を高めるために腹接ぎ後ビニールフィルムで被覆すると茎頂部位に芽枯れ症状の発生がみられる場合がある。その部位から菌の分離を行うと、第7表に示すように、*Botrytis* sp., *Penicillium* sp. 及び *Alternaria* sp. その他が検出された。*Penicillium* sp., *Alternaria* sp. は茎頂部位から分離され、軟腐症状を呈することはなく、*Botrytis* sp. は茎頂部位の葉以外に茎や台木からも分離され、軟腐症状を呈した。

## 3. ウイルス保毒の有無の検定

第8表に示すように、SDV に対しては100%無毒化され、最も無毒化率の低かった CEV でも90.6%であった。また、全調査個体 (149) の無毒化率は90.6% (135) で、CEV の無毒化率と一致し、本方法では CEV を無毒化すれば他のウイルスも無毒化されることが分った。いずれにせよ、この方法により90%以上の高率でカンキツウイルスを無毒化できることが判明した。

## 考 察

カンキツウイルス無毒苗を育成する方法には珠心胚実生利用法<sup>6)</sup>、熱処理法<sup>2)</sup>、茎頂接ぎ木法<sup>1, 3, 4)</sup>、簡易茎頂

接ぎ木法<sup>3)</sup>等がある。珠心胚実生利用法は多胚性品種に限られること、熱処理法ではCEVの無毒化は困難であること、簡易茎頂接ぎ木法は無毒化率が低いこと等の欠点がある。これらの方法のなかで、茎頂接ぎ木法は試験管の中で無菌的に育成した実生苗に茎頂組織を接ぎ木する方法で、無菌操作が十分でないとき雑菌の混入があり、また、試験管から外に出すときの馴化が難しく、必ずしも成苗率は高くはない。しかし、試験管の中で長く育成させず、早い時期にラフレモンに腹接ぎを行う腹接ぎ併用法は雑菌の混入が少なく、馴化も簡単で、育成期間も短縮できるなどの利点がある。その結果、この方法ではウイルス無毒苗の成苗率が向上した。本試験はこの方法を更に改良し、成苗率及び無毒化率が高くなる方法を検討したものである。

茎頂接ぎ木用の台木品種はトロイヤースイトレンジがカラタチに比べ活着力が良く、トロイヤースイトレンジを使用することによって成苗率が上がるものと思われる。

茎頂接ぎ木の苗木育成用容器のキャップはアルミホイルよりシリコン栓の方が高い活着率を示したのは、後者は試験管内の湿度調整が可能のためではないかと考えられる。また、接ぎ木用の茎頂を熱処理すると活着率が高くなるが、その原因については今後検討する必要がある。

茎頂接ぎ木用台木の育成日数と接ぎ穂の活着率との関係は、播種後12日目の台木が最も活着率が高く、NAVARRO<sup>4)</sup>の結果と一致した。12日目より早い台木では茎頂を置くのが技術的に難しく、一方、それより遅いと台木の発育が茎頂に比べて早くなり、茎頂が生育する前に台木の芽が出て茎頂の発育を遅らせ、茎頂をカルスが覆ってしまうために活着率が低下するものと思われる。

茎頂接ぎ木後成苗率を高めたり、その後の生育を早めるために、カラタチ2年生実生苗に腹接ぎを行うことは簡易茎頂接ぎ木法で高原等によって報告されている<sup>3)</sup>。本実験では、腹接ぎ用台木品種、腹接ぎ時期について検討した。その結果、ラフレモン1年生実生苗はカラタチ2年生実生苗に比べて年間を通じて活着率が高く、また、1年で台木として供することが可能であるため育苗期間が短く、腹接ぎ用台木に適しているものと思われる。腹接ぎへの茎頂の活着率は茎頂が台木に活着した直後にラフレモンへ腹接ぎした方が高い。葉が出てから腹接ぎを行うと葉が一度落ち、活着率の低下や活着後の生育が著しく遅れる。そこで、腹接ぎは茎頂が活着したすぐ後に行い、腹接ぎを活着させながら芽を伸ばすようにするこ

とが、健苗を育成する点から大切であるように考えられる。

腹接ぎ後ビニールフィルムで長期間被覆すると茎頂部位が枯れ込む場合がある。この枯れ込み部位からは*Botrytis* sp., *Alternaria* sp., *Penicillium* sp. 等が分離される場合が多い。このように、枯れ込み部位にこれらの菌が寄生することからも、出葉前に腹接ぎすることが望ましい。また、今後は被覆期間並びにその方法の検討が必要である。

以上のことから、腹接ぎ法を併用した茎頂接ぎ木法はウイルス無毒苗を得るために有効であり、これを更に改良することにより活着率、無病苗率を高くし、多量の無毒苗の育成が可能となることが期待される。

## 摘 要

NAVARRO<sup>4)</sup>が開発した茎頂接ぎ木法を改良し、成苗率を更に高める方法を検討した。

まず、茎頂接ぎ木の活着率を高める方法の検討を行った。その結果、茎頂接ぎ木用台木品種はトロイヤースイトレンジが、茎頂接ぎ木の台木の生育ステージは播種後12日目の幼苗が、茎頂接ぎ木苗木育成用容器のキャップはシリコン栓が、また、茎頂接ぎ木用の穂を熱処理すると高い活着率を示した。

腹接ぎの活着率を高める方法の検討を行った結果、腹接ぎ用台木品種はラフレモンが年間を通じて高い活着率を示した。茎頂接ぎ木で作出した接ぎ穂の生育ステージと腹接ぎ活着率との関係は茎頂が台木に活着した直後の穂が高い活着率を示した。腹接ぎ活着後に発生する芽枯れは*Botrytis* sp.による場合が多かった。

これらの点の改良によって90%以上のウイルス無毒苗の育成が可能となった。

## 引 用 文 献

- 1) 細井寅三・町田英夫・大石 惇・三浦 務 (1979) 静大農報 29:11-17.
- 2) 家城洋之・山田峻 (1984) 果樹試報 B 11:71-87.
- 3) NAVARRO, L., ROISTARCHER, C. N. and MURASHIGE, T. (1975) J. Amer. Soc. Hort. Sci. 100:471-447.
- 4) NAVARRO, L. (1981) A review. Proc. Int. Soc. Citriculture 452-456.
- 5) 高原利雄・奥代直己・久原重松 (1986) 果樹試報 D 8:13-24.
- 6) WEATHER, L. G. and CALAVAN, E. C. (1957) Citrus virus diseases (J. M. WALLACE ed.) Univ. Calif. Div. Agr. Sci. Berkeley: 197-202.

(1995年4月30日 受領)