

# ウイルス除去を目的としたランキュラスの再茎頂培養法

再茎頂培養によりランキュラス微斑モザイクウイルス陰性苗が確保できる

## 背景・目的

- 本農試では、ランキュラスの県オリジナル品種や県先行販売品種を育成・選抜し、茎頂培養により得た培養物を維持しています。
- これらの培養物について、既存の手法より検出感度の高い手法でウイルス検定を実施したところ、ランキュラス微斑モザイクウイルス（以下、RanMMV）の感染が確認されたため、再度成長点を切り出して培養する「再茎頂培養」により陰性苗の作出を試みました。

## 成果の内容

- “宝石シリーズ”、“サンキュラスシリーズ”、“ひなたモロッコシリーズ”、“ひむかラックスシリーズ”の培養物を鉢上げし、再茎頂培養を行うことでRanMMV陰性苗を作出できます（図1）。
- 作出した各シリーズの再茎頂培養系統は、ウイルスが増殖するとされる球根養成後もRanMMV陰性です（図2）。

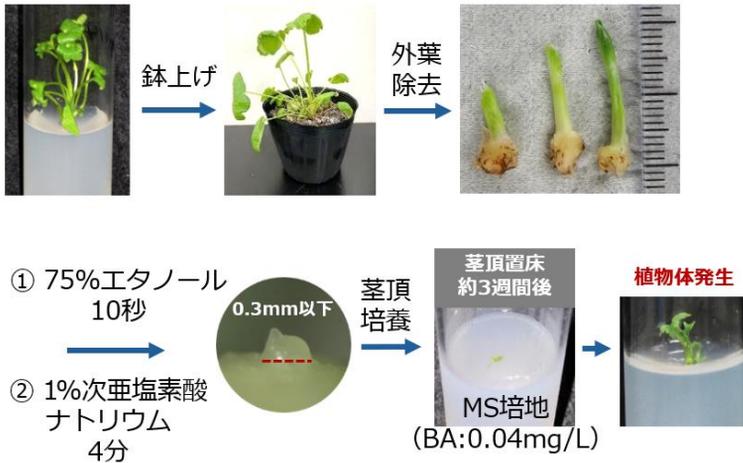


図1 ランキュラスの再茎頂培養法

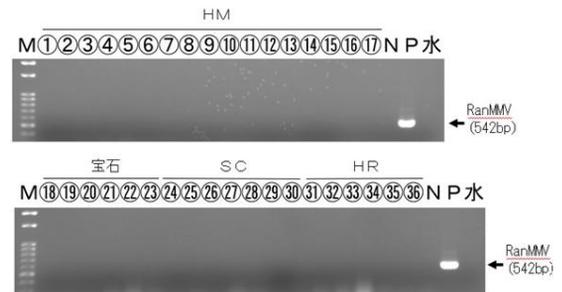


図2 再茎頂培養系統の球根養成後のウイルス検定（電気泳動写真）

※供試サンプルは、検定可能であった個体のみ抜粋（複数個体を供試した品種あり）。【HM】：マーズレッド、ラブ、ブラッドオレンジ、レモンイエロー、クラシック、ダークパープル、カーマイン、【宝石】：ローズクォーツ、【SC】：ピーチ、ロゼフリル、シュガー、【HR】：チェリーピンク、ブライトパープル、パールホワイト

※M：100bp ladder、N：健全株、P：RanMMV陽性コントロール、水：抽出RNAの代替で滅菌水を使用。内在性コントロールとしてnad5のバンドも確認（データ略）。RNA抽出・RT-PCRも正常に実施。

## 成果の活用方法（又は期待される効果）

- 県内で栽培されるランキュラス主要品種のRanMMV陰性苗が作出できます。
- 普及対象：宮崎県総合農業試験場・生物工学部

## 留意点

- 再茎頂培養には、ベンジルアミノプリンを0.04mg/L添加したムラシゲ・スクーグ培地を使用しました。ウイルス検定は、Kamikawa et al., 2021のプライマーを使用し、RT-PCR（35サイクル）、電気泳動（35分）、エチジウムブロマイド染色（20分）を行いました。
- 染色後、542bp付近にバンドが検出されない場合を陰性としました。
- 再茎頂培養により得た培養物は、栽培試験等で形質変異の有無を確認する必要があります。

関連研究成果カード：2025年度整理番号12

関連事業名：中山間地における種苗安定供給を含めた野菜花きの産地育成・拡大技術確立  
ランキュラス等の健全メリクロン苗の確保

研究期間：2020～2024年度