

## イチゴの葉外植片培養変異カルス由来の再生個体からの 四季成性個体の選抜

我 妻 尚 広

Ever-bearing regenerants obtained from leaf explant-derived  
strawberry calli (*Fragaria* × *ananassa* Duch.)

Takahiro WAGATSUMA  
(June 2002)

### 緒 言

現在のイチゴ品種は短日・冷涼期に花芽が誘導される‘とよのか’、‘女峰’や‘宝交早生’などの一季成性品種が主流となっている。これらの生態特性は11月から5月頃まで収穫する促成作型や半促成作型に適し、多くの収穫を上げることができる。しかし、長日・高温期には花芽が誘導されず、夏秋期にはほとんど収穫できない。近年、この夏秋期に業務用を中心に需要が増加し、国内で安定供給できる品種や作型の開発が望まれている。これまでに、一季成性品種を利用した夏秋期収穫の技術としては長期株冷蔵栽培、短日処理栽培や寒冷地における遅出し露地栽培などが開発されてきた。しかし、いずれも労働生産性が低い。また、四季成性品種を利用した栽培法も検討されているが、四季成性品種は一季成性品種に比べ育種が大きく立ち遅れているため、果実の大きさ、食味、外観や日持ち性などの流通形質が劣る品種が多く、その普及は限られている。

他方、Larkin と Scowcroft<sup>2)</sup> が植物の培養細胞中に多数の体細胞変異が生じることを報じ、植物体の形態、開花期間や収量など農業上重要な形質の変異個体が作出できることを示唆した。以来、イチゴでは体細胞変異を利用し耐病性系統など多くの有用系統が作出されている<sup>8,10)</sup>。

現在、四季成性品種の育種は四季成性品種と流通形質の優れた一季成性品種とを交雑して、その実生から優れた四季成性個体を選抜する方法で行われているが、それには多くの年月が必要である。そこで、本研究では流通形質の優れた四季成性品種を体細胞変異を利用して短期間で育成することを目標に、果

形や日持・輸送性に優れ、寒冷地に適応する一季成性品種‘ベルルージュ’を母本とし、この品種の葉外植片培養変異カルス由来の再生個体から四季成性個体を選抜し、諸形質を親品種と比較した。

### 材料および方法

#### 1. 葉外植片培養変異カルス由来の再生個体からの四季成性個体の選抜

材料には寒冷地向きの日持性・輸送性に優れたイチゴ品種‘ベルルージュ’<sup>4)</sup>を用い、我妻ら<sup>11)</sup>の方法で葉外植片培養変異カルス由来の再生個体を作成した。すなわち、‘ベルルージュ’の茎頂培養で得られた幼植物の未展開葉を供試し、シャーレ(φ90 mm×20 mm)に供試材料を5葉置床し、カルスを誘導した。培地には2.4-D(0.1 mg・liter<sup>-1</sup>)とBA(1 mg・liter<sup>-1</sup>)を添加したMS基本培地<sup>5)</sup>を用い、暗条件、25℃で90日間培養した。誘導したカルスは葉外植片から切り離し、同条件で60日間、継代培養した。その後、MS基本培地に移植し、25℃、明条件(2000 lx、蛍光灯による連続照明)で90日間培養し、再生個体を得た。これら再生個体は1990年5月15日に6 cmポリエチレン製ポットに鉢上げ・順化し、同年8月5日に露地に仮植した。鉢上げ・順化中および9月5日までに花芽分化した株を一次選抜し、9月5日に圃場定植した。栽植距離は90 cm×25 cmの高畝一条植えとした。また、白黒ダブルマルチを使用し、基肥は定植の10日前にa当たりN:1.2 kg, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:1.68 kg, K<sub>2</sub>O:1.32 kgを施用し、越冬後にa当たりN:0.1 kg, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:0.12 kg, K<sub>2</sub>O:0.09 kgを数回に分けて灌水時に追肥した。

1991年に花房発生期間が長く、発生した子株に花

芽分化が認められた個体を二次選抜した（第1図）。二次選抜個体は1992年に前年と同様の調査を行い、四季成性形質の安定性を調べた。それらの中で四季成性が安定した個体を選び、茎頂培養で20個体に増殖し選抜系統とした。

## 2. 選抜系統と‘ベルルージュ’の比較

1993年8月に選抜系統および‘ベルルージュ’を前述の方法で定植し、越冬前と収穫後に特性を調査した。越冬前の1993年10月15日には展開葉数、草丈、クラウン径およびえき芽数を調査した。また、1994年8月20日の収穫後に展開葉数、草丈、花房長および花房数を調査した。また、収量は1994～1996



Fig. 1 Ever-bearing plants were selected from regeneration plants on the condition that those differentiated runner plantlets also produced flower-buds.

年に収穫時期、収穫日数、一果重、一株あたりの平均収量、果肉および果皮硬度を調査した。果皮および果肉硬度の測定にはプッシュプルゲージ（SIN-KODENSI MFG-5K 芯径2mm）を用いた。硬度測定はそう果をさけ果実の皮層部まで、プッシュプルゲージの針が垂直になるよう突き刺した。また、果皮を含む果実硬度と果皮を除いた果肉硬度は1個体当たり、10果を供試した。果皮硬度は果実硬度から果肉硬度を引いて算出した。

## 結 果

### 1. 葉外植片培養変異カルス由来の再生個体からの四季成性個体の選抜

1990年に6,024個体から、育苗過程で花芽分化した637個体を一次選抜した。1991年に一次選抜した637個体から花房発生期間が長く、発生した子株に花芽分化の認められた2個体を二次選抜した（第1図）。1992年に前年と同様の調査を行い、いずれの個体も四季成性が安定していたので、それらを茎頂培養で各20個体に増殖し、選抜系統BR-cv1とBR-cv2とした（第2図）。

### 2. 選抜系統と‘ベルルージュ’の比較

1993年の越冬前調査では、‘ベルルージュ’の展開葉数が6.4枚に対し、選抜系統では5.7～7.1枚と差がなかった。また、草丈、クラウン径およびえき芽数でも‘ベルルージュ’と選抜系統の間には差がなかった。1994年の収穫後調査では、‘ベルルージュ’の展開葉数が28.6枚に対し、選抜系統も28.9～29.3枚と差がなかった。また、草丈、花房長および花房数についても‘ベルルージュ’と選抜系統の間には差

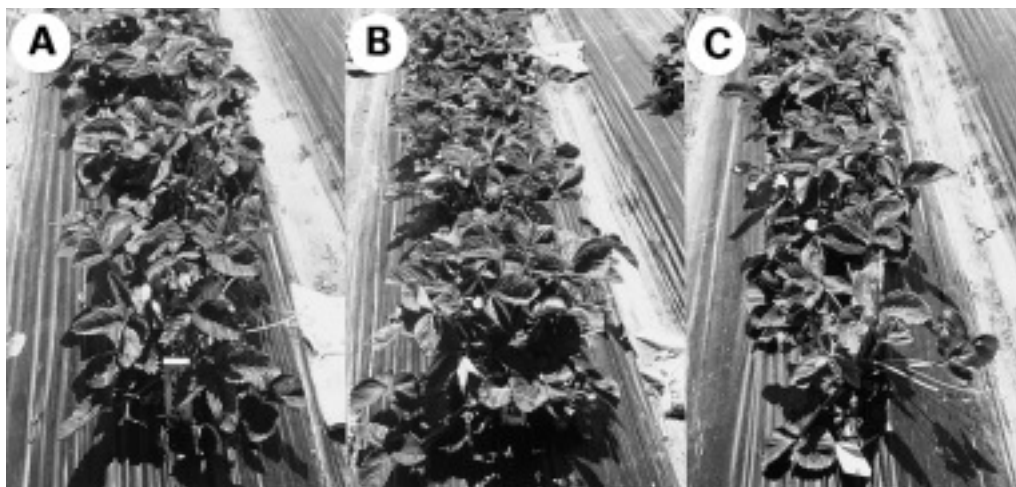


Fig. 2 Comparison of plant conformation among the ever-bearing lines (A) BR-cv1 and (B) BR-cv2 and (C) their parent cv. Belle-rouge.

がなかった(第1表)。1994~1996年の収穫日数は‘ベルルージュ’の22~28日に対し、選抜系統は2倍以上の50~57日と長くなった(第2表)。1994~1996年の平均一果重は‘ベルルージュ’の14.5gに対し、選抜系統はBR-cv1で12.2, BR-cv2で12.8gと12%以上小さくなった。また、一株あたりの平均収量は‘ベルルージュ’の500.7gに対し、選抜系統はBR-cv1, BR-cv2でそれぞれ756.7, 785.6gと51%以上増加した。果肉硬度は‘ベルルージュ’の75.9  $\text{kg} \cdot \text{m} \cdot \text{s}^{-2}$ に対し、BR-cv1は88.2  $\text{kg} \cdot \text{m} \cdot \text{s}^{-2}$ , BR-cv2は80.7  $\text{kg} \cdot \text{m} \cdot \text{s}^{-2}$ と差がなかった。果皮硬度も‘ベルルージュ’が63.9  $\text{kg} \cdot \text{m} \cdot \text{s}^{-2}$ , BR-cv1は58.2  $\text{kg} \cdot \text{m} \cdot \text{s}^{-2}$ , BR-cv2は68.5  $\text{kg} \cdot \text{m} \cdot \text{s}^{-2}$ と差がなかった(第3表)。また、果形はBR-cv1とBR-cv2とも‘ベルルージュ’と同じ円錐形であった。

## 考 察

本研究では日持性・輸送性に優れた‘ベルルージュ’の特性を持った四季成性系統を短期間で得ることを目標とした。育成されたBR-cv1とBR-cv2は‘ベルルージュ’と比較し、四季成性以外の日持性・輸送性を左右する果実・果皮硬度や果形に差が認められず、所期の目標を達したものと考える。このことは、網本<sup>1)</sup>, Takahashiら<sup>9)</sup>や豊田<sup>10)</sup>が交雑育種法に比べ体細胞変異を利用した育種が短期間で目的とする個体が得られること、親品種の特性がほとんど失われないことなどのその有効性を示唆した結果と一致した。重ねて、本研究ではこれまでの体細胞変異を利用した新系統の選抜方法とは異なる新たな方法で四季成性系統の選抜に成功した。すなわち、葉外植片カルス由来の再生個体から、発生した子株

**Table 1** Growth characteristics of Belle-rouge plants and the ever-bearing lines, BR-cv1 and BR-cv2.

		No. of leaves	Plant height (cm)	Crown width (mm)	No. of axillary buds	Length of flower cluster (cm)	No. of flower clusters
Oct 10	Belle-rouge	6.4 a <sup>2</sup>	18.5 a	16.6 a	2.4 a	—	—
1993	BR-cv1	5.7 a	16.9 a	17.2 a	2.2 a	—	—
	BR-cv2	7.1 a	18.2 a	18.3 a	2.2 a	—	—
Aug 20	Belle-rouge	28.6 a	19.9 a	—	—	28.4 a	4.8 b
1994	BR-cv1	29.3 a	18.5 a	—	—	17.9 b	8.6 a
	BR-cv2	28.9 a	20.6 a	—	—	20.4 b	7.2 a

<sup>2</sup>Values with the same letter in a column are not significantly different at 5% level according to Duncan's multiple range test.

**Table 2** Picking periods of Belle-rouge strawberries and ever-bearing lines, BR-cv1 and BR-cv2 during the three seasons 1994 to 1996.

	Picking periods (days)		
	1994	1995	1996
Belle-rouge	July 5 - Aug. 1(28)	June 30 - July 21(22)	July 8 - Aug. 2(25)
BR-cv1	June 29 - Aug. 18(50)	June 28 - Aug. 18(51)	July 4 - Aug. 30(53)
BR-cv2	June 29 - Aug. 25(57)	June 26 - Aug. 18(53)	July 5 - Aug. 31(54)

**Table 3** Fruit quality of Belle-rouge strawberries and ever-bearing lines, BR-cv1 and BR-cv2 during the three seasons 1994 to 1996.

	Single fruit weight (g)	Fruit weight per stock (g)	Firmness of fruit flesh ( $\text{kg} \cdot \text{m} \cdot \text{s}^{-2}$ )	Firmness of fruit peel ( $\text{kg} \cdot \text{m} \cdot \text{s}^{-2}$ )
Belle-rouge	14.5b <sup>2</sup>	500.7a	75.9a	63.9a
BR-cv1	12.8a	756.7b	88.2a	58.2a
BR-cv2	12.2a	785.6b	80.7a	68.5a

<sup>2</sup>Values with the same letter in a column are not significantly different at 5% level according to Duncan's multiple range test.

に花芽分化の認められる個体を選抜する方法である。今後、この方法を用いて一季成性の優良品種から四季成性個体の作出が可能と考えられ、さらに優良な四季成性品種の育成が期待される。

他方、BR-cv1 と BR-cv2 の特性を‘ベルルージュ’と比較すると、花房数が増加し、一果重は軽くなったが、収穫期間が長くなったことから一株あたりの平均収量は多くなった。これらの結果は露地栽培における四季成性品種の特性を調査した門馬ら<sup>3)</sup>の報告に一致した。植物体の大きさや葉柄長は一季成性品種に比較し、四季成性品種で小さいとされているが<sup>6)</sup>、BR-cv1 と BR-cv2 は‘ベルルージュ’と同等の草勢であり、異なる傾向を示した。また、低温遭遇時間と花房発生に関し、施山・今田<sup>7)</sup>は四季成性品種では一季成性品種と同様に低温遭遇時間が少ない場合、連続的に開花したが、十分な低温に遭遇した場合、花房の発生が抑制されたと報告している。本研究における栽培条件では BR-cv1 と BR-cv2 は12月中旬から5月上旬までの約5ヶ月間積雪下にあり、十分な低温に遭遇し、低温遭遇時間は十分であったものと考えられる。しかし、6月上旬から8月下旬まで安定的かつ連続的に開花し、花房発生は抑制されていないと考えられた。このことから BR-cv1 と BR-cv2 は低温遭遇時間の多少に関わらず、連続的に花房を発生させる開花特性を有し、これまで報告されている四季成性品種とは異なる開花特性を持つ可能性が推測された。

### 摘 要

イチゴ品種‘ベルルージュ’の葉外植片培養変異カルス由来の再生個体における四季成性個体の選抜を試みた。

再生個体からの四季成性個体の選抜は子株に花芽が分化することを条件とした。その結果、6,024の再生個体から四季成性の安定している2個体が選抜された。それらの四季成性は安定していた。四季成性の2個体を増殖し、四季成性系統 BR-cv1 と BR-cv2 とした。

四季成性系統 BR-cv1, BR-cv2 と親品種の‘ベルルージュ’の特性を比較した。その結果、BR-cv1 と BR-cv2 は‘ベルルージュ’より収穫期が2倍以上長くなり、一株あたりの平均収量も多くなった。しかし、一果重は軽くなった。また、果実硬度や果形は‘ベルルージュ’と同程度であった。

### 引用文献

- 1) 網本邦広. 1993. 子房培養を利用した疫病耐性イチゴの作出. イチゴ, 1993 最近の研究・技術と世界の動き, 13-20.
- 2) Larkin, P.J. and W. Scowcroft. 1981. Somaclonal variation A novel source of variability from cell cultures for plant improvement. Theor. Appl. Genet, 60: 197-214.
- 3) 門馬信二・興津伸二・高田勝也. 1985. 四季成性イチゴとその品種特性. 農業及び園芸, 60: 443-449.
- 4) 門馬信二・藤野雅丈・高田勝也・興津伸二. 1990. 寒冷地向きイチゴの品種‘ベルルージュ’の育成経過とその特性. 野菜・茶業試験場研究報告 C (盛岡), 1: 1-9.
- 5) Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant, 15: 473-497.
- 6) Nicoll, M.F. and G.J. Galletta. 1987. Variation in growth and flowering habits of June-bearing and everbearing strawberries. J. Amer. Society Hort. Sci., 112: 872-880.
- 7) 施山紀男・今田成雄. 1990. イチゴ品種の生態特性に関する研究. 第5報 低温遭遇前歴が四季成り性イチゴの生育と開花に及ぼす影響. 園学雑, 59 (別2): 478-479.
- 8) Shoemaker, N.P. and H.J. Swartz. 1985. Cultivar dependent variation in pathogen resistance due to tissue culture-propagation of strawberries. Hort. Sci., 20(2): 253-254.
- 9) Takahashi, H., T. Takai and T. Matsumoto. 1992. Resistant plants to *Alternaria alternata* strawberry pathotype selected from calliclones of strawberry cultivar Morioka-16 and their characteristics. J. Japan. Soc. Hortic. Sci., 61(2): 323-329.
- 10) 豊田秀吉. 1993. 植物組織培養系を用いたイチゴ炭そ病ならびに萎黄病抵抗性系統の作出. イチゴ, 1993 最近の研究・技術と世界の動き, 21-32.
- 11) 我妻尚広・海野芳太郎・土橋慶吉. 1993. イチゴの葉外植片からの効率的な個体再生法について. 育種・作物学会北海道談話会会報, 34: 82-83.

### Summary

I studied the possibility of using ever-bearing regenerants obtained from leaf explant-derived calli of the Belle-rouge strawberry. Ever-bearing plants were taken from 6,024 regeneration plants on the condition that those differentiated runner plantlets also produced flower-buds. Two plants that showed ever-bearing stability were selected and propagated, lines BR-cv1 and BR-cv2. Comparison was then made between the characteristics of these two ever-bearing lines and the Belle-rouge strawberry. The ever-bearing lines BR-cv1 and BR-cv2 had longer picking periods than the Belle-rouge strawberry, and while the individual fruit weighed less than the Belle-rouge strawberry, the fruit weight per stock was greater. No difference was noted in the firmness and shape of the fruit in the two ever-bearing lines and the Belle-rouge strawberry.