

イチゴ培養増殖苗に及ぼすサイトカイニンの影響

岡田恵子・荒井 滋・浅尾浩史

Effect of Cytokinin on Strawberry Plantlets Micropropagated by Axillary Buds

Keiko OKADA, Shigeru ARAI and Hiroshi ASAO

Summary

The effect of cytokinin in the propagation medium on mutation of strawberries micropropagated by axillary buds and on growth in the field were investigated. Other conditions, such as cytokinin concentration suitable for propagation, were examined.

1. The rate of the mutation of leaf characteristics increased concomitant with micropropagation period for plantlets of *Fragaria x Ananassa* Duch cv. Hokowase that were micropropagated for some time on the MS medium with BA 0.5 mg/l and KIN 1.0 mg/l.
2. Leaves in the micropropagated 'Hokowase' were abundant compared with plantlets propagated with runners, but plant height was low and the leaf area index was small. Moreover, there was a problem in quality: the yield was smaller than normal and the average weight of individual fruit was small.
3. The effect of cytokinin on field growth differed according to variety. Cytokinin adversely influenced micropropagated plantlets and the next generation of 'Hokowase' compared with 'Toyonoka' and 'Nyoho'.
4. A MS medium with BA 0.125 mg/l and KIN 0.25 mg/l would be adequate for micropropagation by axillary buds because the propagation ratio is equivalent. That condition would be more amenable to growth than the conventional medium with BA 0.5 mg/l and KIN 1.0 mg/l. In addition, when propagated at this concentration, 'Toyonoka' were acclimated without transplantation to the rooting medium, so labor reduction is possible.

Key words : strawberry, micropropagation, cytokinin, growth, yield, mutation

緒 言

イチゴは、栄養繁殖性のため、一度親株がウイルス病に感染すると後代に伝わり、草勢が減退し生産力が低下する⁵⁾。ウイルス病に一度感染すると防除法がなく、アブラムシの媒介による感染で容易に広がるため、イチゴ栽培では重要病害である。

奈良県では、1974年以来毎年、農業技術センター高原農業振興センターでランナー増殖した原々種苗を奈良県いちご原々種優良親苗増殖協議会を通じて配布することにより、イチゴ生産農家はウイルス病等に感染していない親株を確保している。

イチゴの親株の増殖には、アブラムシの媒介によるウイルス病の感染を防ぐため広面積の網室等の施設を必要とし、他の病害虫を含め厳重な管理と細心の注意が必要である。これらの負担を解消するために、無病苗のより安全で効率的な大量増殖法の確立が望まれている。

その一手法として、組織培養による大量増殖法が考えられる。イチゴの培養による大量増殖法は、Boxus²⁾が茎頂由来個体から多数のクローンを得ており、他にもいくつかの報告例がある^{3, 11-13)}。当県においても、藤本ら⁴⁾が変異が少ないと考えられる茎頂由来植物の腋芽増殖法の効率的な条件を検討してきた。しかし、この方法で増殖した

苗でも、変異個体の発生や、培養中に添加したホルモンが順化後の生育に影響を与える可能性が考えられる³⁾。そこで、腋芽増殖苗の変異の有無や増殖培地中のサイトカイニンが圃場での生育と収量に及ぼす影響について1986年から1994年にかけて検討したので報告する。

材料および方法

実験1 ‘宝交早生’ 培養苗の生育に及ぼす培養期間の影響

‘宝交早生’の腋芽増殖培養苗において、培養期間が、草丈、葉面積、葉数及び収量に及ぼす影響を検討した。

茎頂由来‘宝交早生’を1年間に5回継代した個体3,851株と2年間に13回継代した個体1,240株を供試材料とした。なお腋芽増殖は、Murashige and Skoog(MS)培地⁸⁾を基本とし、シヨ糖3%、寒天0.8%、6-ベンジルアミノプリン(BA)0.5mg/l及びカイネチン(KIN)1.0mg/lを添加した増殖培地(pH5.8)で行った。増殖個体は、粉末ハイポネックス0.3%、シヨ糖3%及び寒天0.8%を含む培地(pH5.8)で発根させた。培養は25℃、3,000 lux、16時間照明で行った。対照として、空中採苗によるランナー増殖苗389株を用いた。培養苗は1986年6月中旬に順化し、ランナー増殖苗は同年7月10日に砂挿しを行った。その後、8月下旬に株間12×15cmに仮植し、10月中旬に畝幅1.2m、株間20cm、2条植えで定植した。圃場での管理は慣行法に従った。

生育調査は、定植前(10月上旬)に草丈及び葉の特性[中央小葉のうち最大葉の葉形(葉身の長・短)、きょ歯(鋭・鈍)、葉先(尖・丸)]を全株で、葉面積指数(中央小葉のうち最大葉の葉身長×葉幅)を各区300株で調査した。さらに、収穫前(5月中旬)、収穫後(6月中旬)に草丈、葉数及び葉面積指数を各区36~37株で調査した。また、収量調査は各区9株で、果数、収量及び奇形果の発生を5月17日~6月10日に8回に分けて調査した。

実験2 培養苗の増殖と順化に及ぼすサイトカイニンの影響

‘とよのか’、‘女峰’及び‘宝交早生’の茎頂由来の培養保存個体を用いて、増殖培地のサイトカイニン濃度が増殖率と順化後の生育に及ぼす影響について検討した。

MS培地を基本とし、シヨ糖3%、寒天0.8%及びサイトカイニン(BA 0.031~2.0mg/l + KIN 0.063~4.0mg/l)を添加した増殖培地(pH5.8)で56~66日間培養後、ホルモンフリー培地に移植し、22~30日間培養して発根させた。‘とよのか’についてはホルモンフリー培地に移植せず、ホルモン添加培地で90日間培養した後直接順化させる無移植区を設けた。

増殖培養後に2株からの増殖シュート数を調査し、増殖シュート各区8~54株で発根後に草丈、根数及びガラス化(葉が水浸化してもろくなった状態)率を調査した。また、1992年10月20日にガラス室内で用土にパーミキュライトを用い、数日間濡れた新聞紙で覆い順化を行った。順化後40日に順化率及び草丈を調査した。

実験3 圃場での生育と収量に及ぼすサイトカイニンの影響

実験2と同様の3品種の培養苗を用いて、増殖培地のサイトカイニン濃度が圃場での生育と収量に及ぼす影響について検討した。

MS培地を基本とし、シヨ糖3%、寒天0.8%及びサイトカイニン(BA 0.063~2.0mg/l + KIN 0.125~4.0mg/l)を添加及び無添加の増殖培地(pH5.8)で60日間培養後、ホルモンフリー培地に移植して20日後の1991年5月に順化し、11月12日に定植した。試験区ごとの増殖率が異なるため、供試株数は2~18株とした。

収量調査は収穫果数及び収量を1992年5月12日~6月3日に、子苗発生調査は発生数を5月19日~7月4日に、生育調査は葉柄長及び葉面積指数を6月25日に調査した。

実験4 培養苗と次代苗の比較

実験2、3と同様の3品種において、培養苗とそれらを親株としてランナー増殖した次代苗の圃場での生育と収量に及ぼす影響について検討し

た。

MS培地を基本とし、ショ糖3%、寒天0.8%及びサイトカイニン (BA 0.063~2.0mg/l + KIN 0.125~4.0mg/l) を添加及び無添加の増殖培地 (pH5.8) で60日間培養後、直接1992年10月に順化、1993年5月に親株床に定植し、発生した子苗を次代苗として供試した。培養苗及び次代苗は仮植後1993年11月に定植した。供試株数は各区10株とした。

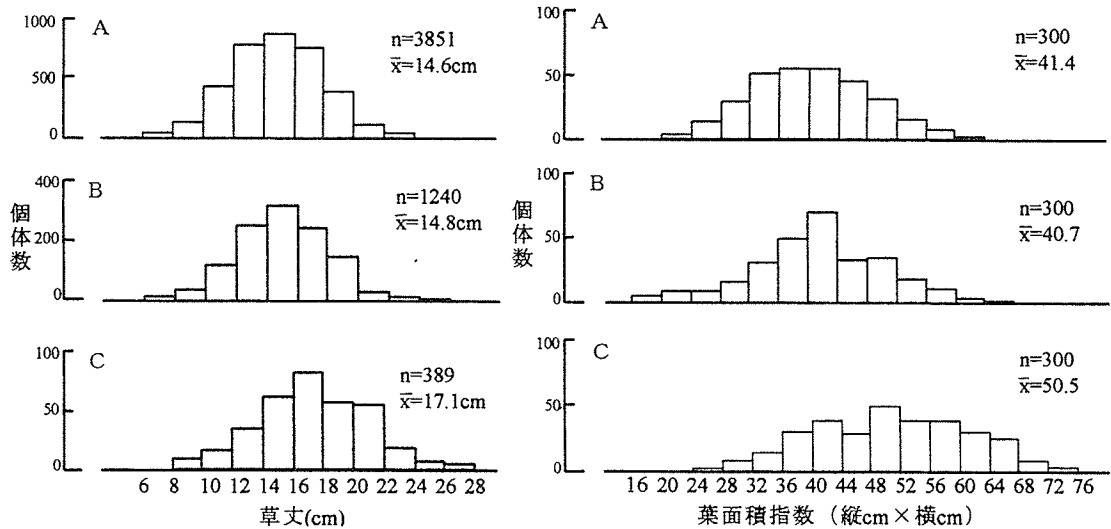
収量調査は収穫果数及び収量を1994年5月13日~5月26日に、生育調査は葉柄長及び葉面積指数を収穫終了後に調査した。

結 果

実験1 ‘宝交早生’ 培養苗の生育に及ぼす培養期間の影響

定植前において、1年間培養増殖区と2年間培養増殖区はともにランナー増殖区と比較して草丈は低く、葉面積指数は小さかった(第1図)。また、1年間培養増殖区ではやや縦長の葉を持つ個体(3/3851個体)が、2年間培養増殖区では葉先の尖った個体(11/1240個体)の発生が見られた。

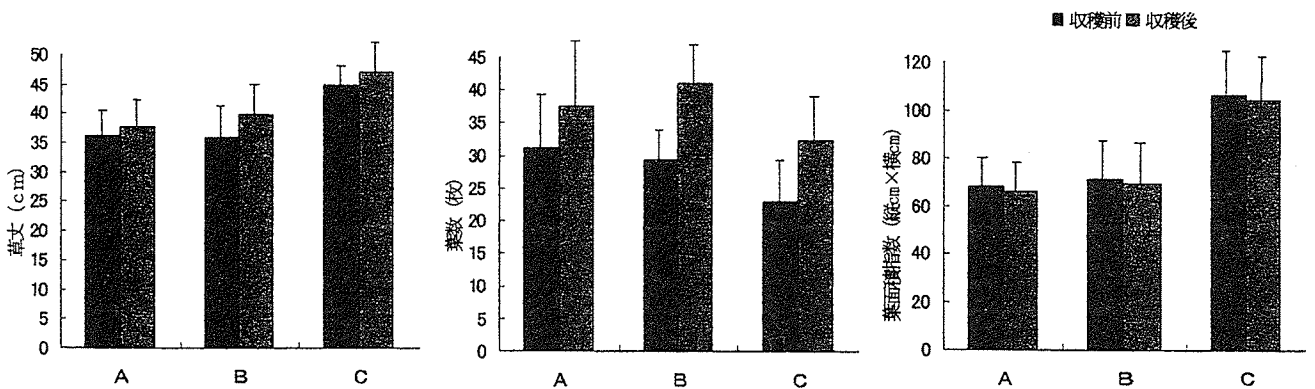
株の生育は収穫前後とも、培養増殖区はランナー増殖区と比較して草丈は低く葉面積指数は小



A : 1年間培養増殖、B : 2年間培養増殖、C : ランナー増殖

第1図 ‘宝交早生’ 培養苗の定植前の生育に及ぼす培養期間の影響

Fig.1. The effect of micropropagation period on the growth of the ‘Hokowase’ plantlets before planting



A : 1年間培養増殖、B : 2年間培養増殖、C : ランナー増殖

第2図 ‘宝交早生’ 培養苗の収穫前後の生育に及ぼす培養期間の影響

Fig.2. The effect of micropropagation period on the growth of the micropropagation ‘Hokowase’ plantlets in pre- and post- harvest

第1表 '宝交早生' 培養苗の収量に及ぼす培養期間の影響

Table 1. The effect of micropropagation period on the yield of the micropropagated 'Hokowase' plantlets

試験区	正常果収穫量*			奇形果率(%)**		
	果数(個/株)	収量(g/株)	果平均重(g)	果数	収量	
1年間培養増殖	1	36.2	296.5	8.2	15.2	10.5
	2	30.3	247.9	8.2	17.7	13.5
	3	34.8	287.2	8.3	18.1	12.7
	4	33.8	296.0	8.8	19.2	14.0
	平均	33.8	281.9	8.4	17.6	12.7
2年間培養増殖	1	24.0	213.9	8.9	16.3	12.0
	2	21.4	175.3	8.2	20.6	15.6
	3	30.2	272.6	9.0	16.4	11.1
	4	23.6	202.3	8.6	21.0	17.4
	平均	24.8	216.0	8.7	18.6	14.0
ランナー増殖	1	15.4	144.4	9.4	16.4	13.4
	2	23.1	212.6	9.2	10.9	9.7
	3	25.2	229.0	9.1	17.2	12.0
	4	24.0	227.6	9.5	18.2	15.4
	平均	21.9	203.4	9.3	15.7	12.6

*全収穫量 - (奇形果+病果) 収穫量、調査株数: 9

** (奇形果+病果) 収穫量/全収穫量×100

第2表 培養苗の増殖に及ぼすサイトカニンの影響

Table 2. The effect of cytokinin on number of micropropagated plantlets

BA (mg)	KIN (mg)	シュート数(本/株)*		
		とよのか	女峰	宝交早生
2.0	4.0	8	6	27
1.0	2.0	20	8	24
0.5	1.0	21	16	18
0.25	0.5	16	21	26
0.125	0.25	14	21	33
0.063	0.125	17	9	11
0.031	0.063	4	13	6

*調査株数: 2 培養期間: 増殖培地56~66日間

さかった(5%有意)(第2図)。しかし、培養期間による生育差は認められなかった。葉数は個体間のばらつきが大きかったが、培養増殖区の方が高い傾向であった。1年間培養増殖区の果数と収量は他の2区と比較して多かったが、一果平均重は小さかった(5%有意)(第1表)。2年間培養増殖区の果数はランナー増殖区を上回ったが(5%有意)、収量に差はなく一果平均重は小さかった。奇形果の発生については増殖方法による差は認められなかった。

第3表 培養苗の発根培地での生育とガラス化に及ぼす増殖培地のサイトカニンの影響

Table 3. The effect of cytokinin in the propagation medium on the growth and the vitrification of the micropropagated plantlets in the rooting medium

BA (mg/l)	KIN (mg/l)	とよのか*			女峰*			宝交早生*			とよのか無移植**		
		草丈 (mm)	根数 (本)	ガラス化 (%)	草丈 (mm)	根数 (本)	ガラス化 (%)	草丈 (mm)	根数 (本)	ガラス化 (%)	草丈 (mm)	根数 (本)	ガラス化 (%)
2.0	4.0	18.7	4	0	11.2	2	0	26.7	5	27.8	9.6	0	100.0
1.0	2.0	24.8	6	0	18.9	2	0	31.1	6	2.1	18.0	2	87.9
0.5	1.0	32.3	6	0	19.2	3	0	29.2	5	2.9	32.9	6	52.9
0.25	0.5	31.4	7	0	26.5	4	0	27.7	5	9.6	46.0	5	6.7
0.125	0.25	30.0	8	0	27.4	4	0	23.2	4	0	45.2	6	0
0.063	0.125	24.4	6	0	28.1	5	0	42.6	4	0	50.8	9	0
0.031	0.063	26.9	8	0	28.2	5	0	37.1	3	0	41.5	9	0

*培養期間: 増殖培地56~66日間、発根培地22~30日間

**培養期間: 増殖培地90日間

第4表 順化後の培養苗の生育に及ぼすサイトカイニンの影響

Table 4. The effect of cytokinin on the growth of the micropropagated plantlets after acclimation

BA (mg/l)	KIN (mg/l)	とよのか		女峰		宝交早生		とよのか無移植	
		順化率(%)	草丈(mm)	順化率(%)	草丈(mm)	順化率(%)	草丈(mm)	順化率(%)	草丈(mm)
2.0	4.0	100.0	25.5	66.7	26.1	92.6	19.2	66.7	14.7
1.0	2.0	100.0	39.8	93.3	33.8	100.0	25.5	60.3	18.4
0.5	1.0	93.9	29.4	96.9	33.9	97.1	29.0	67.6	21.9
0.25	0.5	91.2	33.4	100.0	32.2	90.4	25.0	90.0	26.3
0.125	0.25	100.0	33.7	97.6	34.6	89.2	15.6	87.9	25.3
0.063	0.125	100.0	26.4	94.4	39.1	100.0	31.0	96.6	24.1
0.031	0.063	100.0	30.1	96.0	30.6	100.0	23.2	100.0	27.3

第5表 ‘とよのか’ 培養苗の生育と収量に及ぼすサイトカイニンの影響

Table 5. The effect of cytokinin on the growth and the yield of the micropropagated 'Toyonoka' plantlets

BA (mg/l)	KIN (mg/l)	葉柄長 (cm)	葉面積指数 (縦cm×横cm)	子苗発生数 (本/株)	収穫果数 (個/株)	収量 (g/株)	一果平均重 (g)
2.0	4.0	27.6	125.3	36	7.7	110.3	14.3
1.0	2.0	28.4	132.6	23	9.5	133.2	14.0
0.5	1.0	32.0	141.3	29	8.9	133.8	15.0
0.25	0.5	31.9	142.4	34	8.4	134.9	16.1
0.125	0.25	32.9	144.7	27	8.6	135.7	15.8
0.063	0.125	32.6	123.0	31	8.0	130.4	16.3
0	0	29.2	133.5	21	8.2	126.3	15.4

第6表 ‘女峰’ 培養苗の生育と収量に及ぼすサイトカイニンの影響

Table 6. The effect of cytokinin on the growth and the yield of the micropropagated 'Nyoho' plantlets

BA (mg/l)	KIN (mg/l)	葉柄長 (cm)	葉面積指数 (縦cm×横cm)	子苗発生数 (本/株)	収穫果数 (個/株)	収量 (g/株)	一果平均重 (g)
2.0	4.0	30.4	131.6	25	10.5	146.5	14.0
1.0	2.0	32.8	136.6	31	11.5	151.0	13.1
0.5	1.0	33.0	137.9	26	10.3	153.4	14.9
0.25	0.5	33.5	139.1	22	9.0	155.8	17.3
0.125	0.25	34.3	132.4	21	9.5	143.0	15.1
0.063	0.125	32.8	145.9	34	10.0	143.4	14.3
0	0	32.3	139.5	21	9.0	132.0	14.7

第7表 ‘宝交早生’ 培養苗の生育と収量に及ぼすサイトカイニンの影響

Table 7. The effect of cytokinin on the growth and the yield of the micropropagated 'Hokowase' plantlets

BA (mg/l)	KIN (mg/l)	葉柄長 (cm)	葉面積指数 (縦cm×横cm)	子苗発生数 (本/株)	収穫果数 (個/株)	収量 (g/株)	一果平均重 (g)
2.0	4.0	20.2	64.4	26	21.3	158.5	7.4
1.0	2.0	19.5	63.9	22	20.4	167.9	8.2
0.5	1.0	18.8	63.4	19	20.5	177.2	8.6
0.25	0.5	17.6	54.6	21	28.3	218.9	7.7
0.125	0.25	20.0	56.8	18	27.0	240.6	8.9
0.063	0.125	20.0	67.5	20	25.4	244.8	9.6
0	0	21.1	69.7	25	24.2	230.8	9.5

実験2 培養苗の増殖と順化に及ぼすサイトカイニンの影響

増殖シュートは‘とよのか’ではBA 0.063~1.0mg/l + KIN 0.125~2.0mg/l 添加区、‘女峰’ではBA 0.125~0.5mg/l + KIN 0.25~1.0mg/l 添加区、‘宝交早生’ではBA 0.125~2.0mg/l + KIN 0.25~4.0mg/l 添加区で多く発生した(第2表)。発根培地での生育は、増殖培養時のサイトカイニンが‘とよのか’ではBA 0.5mg/l + KIN 1.0mg/l 添加区以下の低濃度区で、‘女峰’ではBA 0.25mg/l + KIN 0.5mg/l 添加区以下の低濃度区で良く、‘宝交早生’では高濃度サイトカイニン添加区でも良かった(第3表)。しかし、‘宝交早生’では高濃度サイトカイニン添加区ほどガラス化個体の発生率が増加した。また、‘とよのか’の無移植区でも高濃度区でガラス化個体が高頻度で発生し、特にBA 2.0mg/l + KIN 4.0mg/l 添加区では100%であった。

‘女峰’ではBA 2.0mg/l + KIN 4.0mg/l 添加区で順化率が低下したが、‘とよのか’と‘宝交早生’では増殖培養時のサイトカイニン濃度に関係なく順化率が高かった(第4表)。しかし、‘とよのか’と‘宝交早生’の草丈はBA 2.0mg/l + KIN 4.0mg/l 添加区で若干低かった。‘とよのか’無移植区ではBA 0.5mg/l + KIN 1.0mg/l 添加区以上の高濃度区で順化率は低下し草丈は低かった。

実験3 圃場での生育と収量に及ぼすサイトカイニンの影響

圃場で生育した個体の葉柄長及び葉面積指数は、‘とよのか’では高濃度サイトカイニン添加区で抑制される傾向を示し(第5表)、‘宝交早生’では低濃度区でも抑制された(第7表)。しかし、‘女峰’ではサイトカイニンの影響はほとんど見られなかった(第6表)。子苗発生数は、3品種ともサイトカイニンによる影響は見られなかった。‘とよのか’の収穫果数と収量はBA 2.0mg/l + KIN 4.0mg/l 添加区で減少し、一果平均重は高濃度サイトカイニン添加区で、ホルモンフリー区より若干減少する傾向を示した。‘宝交早生’では収穫果数はBA 0.5mg/l + KIN 1.0mg/l 添加区以上の高濃度区で、収量と一果平

均重はBA 0.25mg/l + KIN 0.5mg/l 添加区以上の高濃度区で減少した。‘女峰’ではサイトカイニンによる影響は見られなかった。

実験4 培養苗と次代苗の比較

‘とよのか’では培養苗の生育は、葉柄長、葉面積指数ともに、培養時のサイトカイニンに影響されず、次代苗も同様の結果であった(第8表)。培養苗の高濃度サイトカイニン添加区で一果平均重は増加したが、収穫果数と収量はサイトカイニン濃度が高いほど減少傾向であった。しかし、次代苗ではその傾向は認められず、サイトカイニン濃度による差はなかった。

‘女峰’では、培養苗の生育においては、葉柄長では差は認められなかったが、葉面積指数では高濃度サイトカイニン添加区で減少する傾向だった(第9表)。しかし、次代苗ではその傾向は認められなかった。培養苗の収穫果数はサイトカイニン濃度による影響はなかったが、収量は濃度が高いほど減少した。しかし、次代苗では差は認められなかった。

‘宝交早生’では培養苗の生育は葉柄長、葉面積指数ともにサイトカイニン濃度が高いほど減少し、抑制されたが、次代苗では影響はほとんど認められなかった(第10表)。培養苗の一果平均重はサイトカイニン添加区で小さくなり、収穫果数と収量は高濃度サイトカイニン添加区で減少する傾向だった。次代苗でもサイトカイニン高濃度区で影響が見られた。

考 察

組織培養技術を用いた大量増殖法のひとつに、カルスを経由して莖葉を分化させるカリクロン植物誘導法があり、イチゴでは莖頂由来¹⁶⁾や葉由来^{9, 15)}カルスからの再分化の条件が検討されている。当県でも、岡山ら¹⁰⁾が莖頂を、荒井ら¹¹⁾が培養個体の葉を用いて再分化を行ってきた。しかし、カルスを経由すると変異しやすく、逆に変異を誘発させ新品種の作出を試みる方法として利用される場合もあり⁷⁾、イチゴでは高橋ら¹⁴⁾がこの方法を用いて黒斑病菌抵抗性品種を育成している。そのため、均一性が求められる大量増殖に

第8表 ‘とよのか’ 培養苗と次代苗の生育と収量に及ぼすサイトカイニンの影響

Table 8. The effect of cytokinin on the growth and the yield of the micropropagated plantlets and the next generation plantlets of 'Toyonoka'

苗の種類	BA (mg/ℓ)	KIN (mg/ℓ)	葉柄長 (cm)	葉面積指数 (縦cm×横cm)	収穫果数 (個/株)	収量 (g/株)	一果平均重 (g)
培養苗	2.0	4.0	27.0	118.2	8.3	139.3	16.8
	1.0	2.0	29.5	117.9	9.4	145.5	15.4
	0.5	1.0	28.5	110.0	9.7	162.2	16.7
	0.25	0.5	28.0	121.0	10.5	181.9	17.3
	0.125	0.25	28.3	112.7	14.3	170.2	11.9
	0.063	0.125	28.0	110.0	13.7	163.9	12.0
	0	0	28.0	110.0	15.2	160.5	10.6
培養次代苗	2.0	4.0	28.6	116.5	10.8	145.6	13.5
	1.0	2.0	29.3	125.4	11.0	147.2	13.4
	0.5	1.0	27.0	117.5	12.7	150.2	11.8
	0.25	0.5	28.5	126.1	10.0	153.4	15.3
	0.125	0.25	28.5	108.0	12.0	145.5	12.1
	0.063	0.125	29.0	112.6	11.3	142.0	12.6
	0	0	27.0	117.4	9.0	136.2	15.1

第9表 ‘女峰’ 培養苗と次代苗の生育と収量に及ぼすサイトカイニンの影響

Table 9. The effect of cytokinin on the growth and the yield of the micropropagated plantlets and the next generation plantlets of 'Nyoho'

苗の種類	BA (mg/ℓ)	KIN (mg/ℓ)	葉柄長 (cm)	葉面積指数 (縦cm×横cm)	収穫果数 (個/株)	収量 (g/株)	一果平均重 (g)
培養苗	2.0	4.0	27.6	93.3	11.9	157.0	13.2
	1.0	2.0	27.0	89.2	12.3	145.7	11.8
	0.5	1.0	27.6	105.0	12.5	196.6	15.7
	0.25	0.5	27.0	100.8	9.3	163.4	17.6
	0.125	0.25	26.0	105.9	10.8	161.4	14.9
	0.063	0.125	27.3	97.4	12.6	209.0	16.6
	0	0	29.0	100.0	12.6	205.7	16.3
培養次代苗	2.0	4.0	27.3	105.3	12.0	140.0	11.7
	1.0	2.0	28.3	94.7	11.5	151.3	13.2
	0.5	1.0	26.0	110.3	11.8	162.2	13.7
	0.25	0.5	27.0	103.5	13.0	156.3	12.0
	0.125	0.25	26.7	105.7	12.5	155.7	12.5
	0.063	0.125	26.7	105.1	11.7	149.5	12.8
	0	0	28.0	101.0	8.0	136.6	17.1

第10表 ‘宝交早生’ 培養苗と次代苗の生育と収量に及ぼすサイトカイニンの影響

Table 10. The effect of cytokinin on the growth and the yield of the micropropagated plantlets and the next generation plantlets of 'Hokowase'

苗の種類	BA (mg/ℓ)	KIN (mg/ℓ)	葉柄長 (cm)	葉面積指数 (縦cm×横cm)	収穫果数 (個/株)	収量 (g/株)	一果平均重 (g)
培養苗	2.0	4.0	14.8	41.6	11.2	94.2	8.4
	1.0	2.0	17.2	42.6	18.3	168.4	9.2
	0.5	1.0	18.0	50.2	21.3	188.5	8.8
	0.25	0.5	16.0	45.5	22.7	189.9	8.4
	0.125	0.25	17.0	52.3	22.0	177.2	8.1
	0.063	0.125	16.0	59.5	18.7	193.7	10.4
	0	0	20.0	55.3	18.5	196.8	10.6
培養次代苗	2.0	4.0	20.0	69.0	23.8	252.8	10.6
	1.0	2.0	20.7	69.3	28.3	312.1	11.0
	0.5	1.0	21.0	67.5	27.8	346.6	12.5
	0.25	0.5	20.3	69.4	28.0	330.0	11.8
	0.125	0.25	21.0	70.4	30.5	344.2	11.3
	0.063	0.125	21.5	70.0	30.0	331.0	11.0
	0	0	22.7	69.0	30.0	328.9	11.0

は、茎頂由来植物から多数の腋芽を誘導する変異の少ない増殖方法が試みられている。

本研究において、BA 0.5mg/ℓとKIN 1.0mg/ℓを添加した培地で腋芽増殖を繰り返した‘宝交早生’の培養苗を調査したところ、異なる葉形を示す株が培養期間が長くなれば出現頻度は高くなった。この結果から、培養期間の長さが変異の出現に影響を及ぼすと考えられる。

‘宝交早生’培養増殖苗は慣行のランナー増殖苗に比べ葉数は増加し草丈と葉面積指数は低下した。また、一果平均重は小さくなって果実の品質に問題があった。Galiettaらの報告³⁾でも、BA 0.5mg/ℓを添加した培地で増殖した培養増殖苗は果数が増加し、競合が生じ果実が小さくなるのが指摘されている。これらは、培養中のサイトカイニンの影響によると考えられる。このため、生育と収量に及ぼすサイトカイニンの影響を調査したところ、BA 0.125mg/ℓ + KIN 0.25mg/ℓ 添加区以下の低濃度サイトカイニン添加区の培養苗で生育抑制、減収及び果実の小型化など増殖培地のサイトカイニンの悪影響が小さくなり、サイトカイニン無添加区と同等であった。

本研究を開始した当初、ランナー増殖に代わる増殖法として腋芽増殖による培養苗の利用を考えたが、主要品種であった‘宝交早生’では生育抑制、減収及び果実の小型化など増殖培地のサイトカイニンの悪影響が大きかった。また、サイトカイニン濃度を低下すると悪影響は小さく無添加の場合と同等の生育だったが、峰岸ら⁶⁾の報告ではサイトカイニン無添加の培養苗は従来のランナー増殖苗と比べてやや収量が減少したため、無病苗の親株として採用しなかった。これらのことから、従来のランナー増殖形式を継続した。

一方、‘宝交早生’のような果数型品種に代わって果重型品種の‘とよのか’と‘女峰’が生産面積を増加させていたので、これらの品種との生育と収量の比較を行った。サイトカイニンに対する反応には品種間差異が認められ、‘とよのか’と‘女峰’ではBA 2.0mg/ℓ + KIN 4.0mg/ℓ 添加区のような高濃度サイトカイニン添加培地を用いると生育抑制、減収及び果実の小型化など増殖培地のサイトカイニンの悪影響があったが、低濃度添加区ではほとんど影響がなかった。また、培

養苗を親苗としてランナー増殖した次代苗を用いると増殖培地のサイトカイニンの影響は小さくなり、‘宝交早生’では次代苗でも高濃度サイトカイニン添加区で影響が残ったが、‘とよのか’と‘女峰’では影響は見られなかった。一方、培養時に増殖培地で約60日間培養し発根培地に移植した場合、‘とよのか’と‘女峰’ではガラス化個体は発生しなかったが、‘宝交早生’ではガラス化個体が発生し高濃度サイトカイニン添加区ほど増加した。これらは、元のイチゴ個体内における内生サイトカイニン濃度の品種間差異、あるいは、外生サイトカイニンに対する反応の品種間差異のいずれかによるものだと考えられる。このように、大量増殖中のサイトカイニンが収量や果実の大きさに影響を及ぼせば、生産現場では大きな問題になる。そのためにも、大量増殖における品種の適応性を考慮しなければならない。

当県では、従来、藤本ら⁴⁾による方法に従いBA 0.5mg/ℓとKIN 1.0mg/ℓを添加した培地で腋芽増殖を行ってきたが、サイトカイニン濃度を検討したところ、従来の1/4の濃度のBA 0.125mg/ℓとKIN 0.25mg/ℓを添加した低濃度培地でも同程度の増殖率と生育を示した。また、サイトカイニン濃度が低いほど圃場での生育が良好だったことから、今後イチゴ腋芽増殖にはBA 0.125mg/ℓとKIN 0.25mg/ℓの添加が適当であると考えられる。また、‘とよのか’を増殖培地で90日間培養すると高濃度サイトカイニン添加区でガラス化個体が高頻度で発生し順化率も低下したが、BA 0.125mg/ℓ + KIN 0.25mg/ℓ 添加培地ではガラス化個体は発生せず順化率も高かった。このため、この濃度の増殖培地で増殖を行えば、‘とよのか’は発根培地への移植を行わなくても順化率は高く省力化にもなる。

以上のことから、培養苗を直接利用する場合、あるいはそれを親株として次代苗を用いる場合には、増殖培地中のサイトカイニン濃度を下げ、増殖培養期間を短くすれば生育への悪影響を抑えられることがわかり、組織培養による大量増殖法の実用化の可能性が高まった。また、品種によって増殖培地のサイトカイニンによる影響が異なるため、‘宝交早生’のようにサイトカイニンに対する反応が敏感な品種については増殖条件を慎重に

設定する必要があるが、現在の主要品種の‘とよのか’では、サイトカイニンによる生育への悪影響が小さく、発根培地へ移植を行わない省力的な増殖も可能である。今後、当県育成品種‘アスカルビー’のサイトカイニンに対する反応を確認し、影響が小さければ経済性の検討も行いたい。

摘 要

増殖培地中のサイトカイニンがイチゴの腋芽増殖培養苗の変異や、圃場での生育に及ぼす影響について調査し、増殖に適したサイトカイニン濃度等の条件を検討した。

1. BA 0.5mgとKIN 1.0mgを添加したMS培地で増殖を繰り返した‘宝交早生’の培養苗で、葉の特性の異なる個体が培養期間が長くなれば出現頻度は高くなった。
2. ‘宝交早生’の培養増殖苗はランナー増殖苗と比べ、葉数は多いが草丈は低く葉面積指数は小さかった。また、収量は同程度以上だが一果平均重は小さく、品質に問題があった。
3. サイトカイニンによる圃場での生育に及ぼす影響は品種により異なり、‘とよのか’、‘女峰’と比較して‘宝交早生’で影響が大きく次代苗でも影響が残った。
4. イチゴ腋芽増殖時のサイトカイニン濃度は従来のBA 0.5mg+KIN 1.0mg添加区と比較して増殖率が同程度で、生育に影響が出にくいBA 0.125mgとKIN 0.25mg添加MS培地が適当であると考えられる。また、この濃度で増殖すれば‘とよのか’の場合、発根培地への移植を行わなくても順化が行え、省力化が可能である。

引用文献

1. 荒井滋・浅尾浩史. 1993. イチゴ葉組織からのカルス誘導と植物体再生. 奈良農試研報. 24: 19-24.
2. Boxus, P. 1974. The production of strawberry plants by in vitro micropropagation. J. Hort. Sci. 49: 209-210.
3. Galletta, G. J. and R. H. Zimmerman. 1981. Field performance and phenotypic

stability of tissue culture-propagated strawberries. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 106: 667-673.

4. 藤本まなみ・浅尾浩史・小島博文・小玉孝司. 1987. 茎頂部の腋芽増殖によるイチゴの効率的な大量増殖. 奈良農試研報. 18: 65-71.
5. 小島博文・杉浦哲也・峰岸正好. 1981. 奈良県におけるアブラムシ伝搬性イチゴウイルス病の発生とその防除対策. 奈良農試研報. 12: 94-108.
6. 峰岸正好・服部まなみ・西岡和代・浅尾浩史・久富時男. 1986. 異なる栽培地及びメリクロン苗に由来するイチゴ品種‘宝交早生’の比較. 奈良農試研報. 17: 29-37.
7. 森川隆久・島生誠二. 2001. カルス培養変異を活用したサトイモの品種改良. 愛媛農試研報. 36: 39-43.
8. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.
9. Nehra, N. S., C. Stushnoff and K. K. Kartha. 1990. Regeneration of plants from immature leaf-derived callus of strawberry (*Fragaria* × *Ananassa*). Plant Sci. 66: 119-126.
10. 岡山健夫・大沢勝次. 1984. 組織培養によるイチゴ・サトイモの大量増殖. 奈良農試研報. 15: 1-9.
11. 大沢勝次・戸田幹彦・西貞雄. 1974. 薬培養の利用に関する研究Ⅲ. イチゴ薬培養によるウイルスフリー株の大量育成. 野菜試報. A1: 41-57.
12. ————・栗山尚志・菅原祐幸. 1981. 組織培養による栄養繁殖性野菜の大量増殖と利用に関する研究 1. 植物体の大量増殖に及ぼす培養部位及び培地組成の影響. 野菜試報. A9: 1-46.
13. 鈴木柳子・川村邦夫・佐久間裕. 1985. イチゴウイルスフリー苗の育成に関する研究. 宮城農七研報. 52: 1-10.
14. Takahashi, H., T. Takai and T. Matumoto. 1992. Resistant plants selected from

- calliclones of strawberry cultivar Morioka-16 and their characteristics. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 61 : 323-329.
15. Toyoda, H., K. Horikoshi, K. Inaba and S. Ouchi. 1990. Plant regeneration of callus tissues induced from leaf explants of strawberry. Plant Tissue Cult. Lett. 7 : 38-41.
 16. 吉原利一・羽生広道. 1989. 組織培養による種苗大量増殖技術の開発(1). 電力中央研研報. U89041.
-