

#### 第4章 総合考察

本研究結果の細部についての考察はそれぞれの項において述べたので，ここでは本研究の実用的な事項について総括的に述べる。

ウイルスフリー苗の生産では，茎頂培養によってウイルスフリー化した苗を作出し，その苗を圃場で栽培してランナーを増殖させ，配布している<sup>22, 34, 99, 144</sup>。この方法では生産期間が長くかかり，多くの管理を必要とすることや圃場での増殖過程で再汚染の可能性があることなどの問題を抱えている<sup>123</sup>。さらに，寒冷地ではランナーを増殖できる期間がイチゴの主要産地に比べて短いため，圃場のランナー増殖で増やせる苗数が主要産地より少なく，増殖効率の悪いことが問題である。組織培養技術によりウイルスフリー苗を必要な数だけ増殖できれば，生産期間が短く，増殖過程での再汚染の心配もない。また，苗の増殖を施設内で行うため，気象条件や耕作期間の影響を受けないので寒冷地であっても主要産地と同じ増殖効率が得られ，寒冷地に適した方法と考えられる。一方，この方法でウイルスフリー苗を大量増殖するには多くの無菌操作の設備や培養施設が必要となるため，施設を効率よく利用できる生産量や，苗の出荷時期を異にする対象植物を扱える一部の企業や組織が実用化しているにすぎない<sup>123</sup>。

本研究では第2章第1節でイチゴ品種‘ベルルージュ’を用いて茎頂培養および大量増殖におよぼす培地組成と培養条件の影響を検討し，適正な培地組成と培養条件を明らかにした。また，第2章第2節ではイチゴの茎頂培養由来の幼植物の生長におよぼすランナー採取日の影響を検討した結果，幼植物の生長はランナーの採取時期によって異なり，茎頂培養には発生前期のランナーを用いるのが良いことを明らかにした。さらに，この結果は茎頂の摘出時期がこれまで以上に制限され，各種作業が一時

期に集中することを示唆した<sup>134, 138)</sup>。これらの結果をふまえて、第3章第1節では茎頂培養の作業を分散するため、ランナーの低温貯蔵が茎頂の生長にあたえる影響について調査した。その結果、低温貯蔵が茎頂の生長にあたえる影響は品種によって異なるが、休眠が中程度か深い品種では茎頂の生長はランナーの低温貯蔵によって悪影響を受けず、低温貯蔵が利用できることを示した<sup>129, 130, 131, 133)</sup>。しかし、‘ベルルージュ’の低温貯蔵の可能な期間は11日間と短かった。そこで第3章第2節では茎頂培養により作出される幼植物の生長におよぼすランナーの前処理と低温処理の影響を検討したところ、ショ糖を含まない1/10MS液体培地で前処理することにより、生存率や生長に悪影響をおよぼさず、5週間の貯蔵が可能であることを明らかにした<sup>136, 139)</sup>。一方、第3章第3節ではウイルスフリー苗を効率的に生産するための組織培養作業の簡略化を検討した。茎頂培養によって得られた幼植物のクラウン部分に生長調節物質溶液を滴下することで慣行法と同様の多芽体を誘導することができ、移植作業を簡略化することができることを明らかにした<sup>137)</sup>。また、多芽体を分割せずに発根させることで、無菌操作を簡略にすることができた。さらに、多芽体を直接順化することで、順化時のスペースを少なくすることに成功した。これらの方法で生産したウイルスフリー苗は生育および収量において慣行法の苗とは差が認められず、実用的な方法であることが明らかとなった。

つまり、茎頂培養と大量増殖で1万本の苗配布が可能な組織培養施設で、本研究の成果を利用すると、同じ施設で20倍の20万本の苗生産が可能になる。20万本という苗の数は圃場増殖を1年間行って得られる苗の数を越えている。この生産体制では、培養時の茎頂生長が良好な発生期前期（北海道では6月下旬～8月上旬）のランナーを採取し、1/10MS液体培地で常温、24時間吸収させ、

その後低温（4℃）で貯蔵し，順次，約2,000本の茎頂を摘出する．約12週間培養し，幼植物の展開葉数が3～4枚になった時に滴下法で大量増殖を行う．幼植物は約6週間で10倍程度に増加する滴下法で1回増殖し，移植を伴う増殖法で1回増殖させると約20万本の苗が得られる計算になる．この間，増殖に約12週間かかるので，4月下旬に発根培地へ移植するには1月下旬から増殖を開始すれば良いことになる．それまでの間，茎頂培養で得られた幼植物は低温培養<sup>19, 73, 74)</sup>で生長を抑制し，4月下旬に無分割法で発根させ，6月上旬にバットに寄植えして順化を行う (Fig. 20)．前述した生産体制は一例であり，生産場所や現有施設の規模で多少異なるが，これらの作業分散法，簡略化法および省スペース化法をうまく組み合わせることで，必要苗数を組織培養で生産することが可能である．

通年化したイチゴの需要に対応し，北海道では短日処理による夏秋どりの作型が検討された．現在，夏秋どりには‘宝交早生’や‘夏秋77号’が栽培されている．しかし，短日処理に多くの労力を必要とする割に夏秋どりだけでは収量が少ないため，この作型の栽培面積は増加していない．また，北海道では春どり栽培も夏秋どり同様，収量が少ないという問題を抱えている<sup>91)</sup>．そこで，収量を増加させるために，同一の株で夏秋どりと春どりの2回収穫する二季どりが考案された．しかし，現在夏秋どりに利用されている‘宝交早生’では果実が柔らかいため，高温期の収穫と輸送に耐えず，‘夏秋77号’は食味が悪く春どりの生食用には利用できない．また，春どりに利用されている‘ベルルージュ’は短日処理では安定的な花芽分化を誘導できない．このように，二季どりに適した品種は見あたらない<sup>26, 83)</sup>．また，短日処理を必要とせず，長日期に花芽分化する現存の四季成り性品種は一季成り性品種にくらべて，果実硬度が劣り，収量

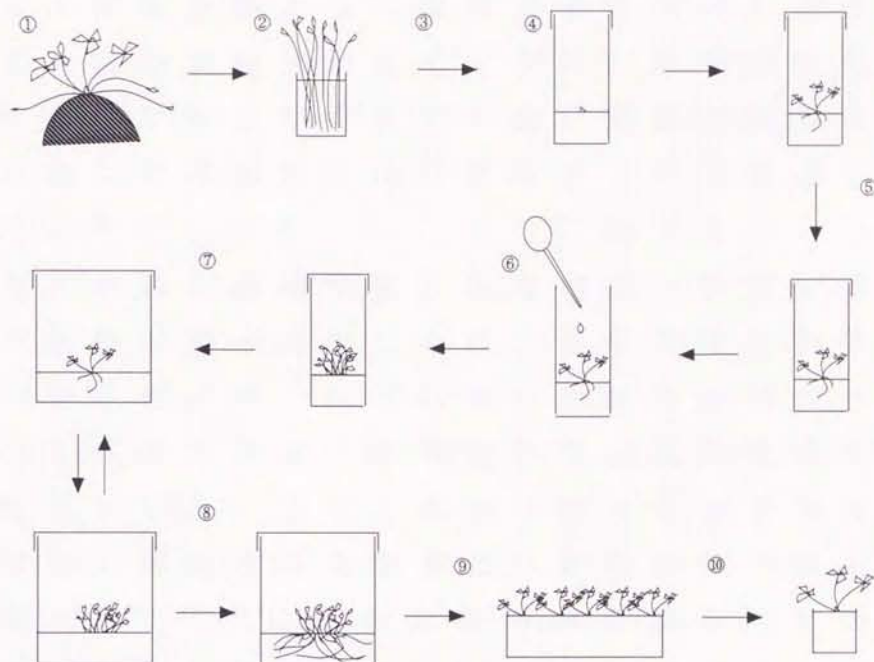


Fig. 20. Schematic diagram of steps used in the saving propagation process for strawberry by tissue culture.

- ① Sampling term of runner at late June - early August
- ② The solution of 1/10 MS liquid medium without sucrose was absorbed by runners for 24 hr at 20°C
- ③ Shoot apex culture
- ④ Low-temperature storage
- ⑤ Low-temperature culture
- ⑥ Propagation of dropping method
- ⑦ Dividing and transplanting in propagation medium
- ⑧ Rooting of no-divide method
- ⑨ Dividing and transplanting in soil and acclimating
- ⑩ Transplanting in 6cm poly-pot

も少なく実用栽培には至っていない。そこで、本研究では‘ベルルージュ’のクローン植物の中から四季成り性個体の選抜を試みた。その結果、‘ベルルージュ’と同等の果実硬度を持つ四季成り性系統が得られた<sup>135)</sup>。この四季成り性系統は花房数の増加により、果実が小形化したことから、直接品種として実用化できないものの、既存の品種よりは果実硬度が高く、今後の四季成り性品種の育成母材として利用が可能である。果実硬度の高い四季成り性品種の育成は省力的な夏秋どりや二季どりに貢献するものと考えられる。

本研究において組織培養技術を利用した選抜育種で四季成り性品種が得られたことは、近年育成された‘キタエクボ’や‘北の輝’などの優れた特性を持つ一季成り性品種から同様の手法で四季成り性品種を育成することの可能性を示した。このことは今後のイチゴの四季成り性品種育成に貢献するとともに、体細胞突然変異を利用した育種<sup>3, 95, 107, 108, 122)</sup>に新たな成功例を加えたものと思われる。

現在、組織培養に関する研究は形質転換やゲノム分析など農業の生産現場からかけ離れたところで行われている。バイオテクノロジーが叫ばれた時代に多くの市町村や農協に培養施設が導入され、種苗の供給が行われている。しかし、生産コストや技術者の不足から、運営は難しい状態である。今後、本研究のような生産現場に密着した研究がなされ、培養施設の運営が円滑に進むことを期待したい。

以上、本研究の目的および結果は寒冷地、とくに北限地帯のイチゴ生産にとって極めて意義深いものと考えられる。また、組織培養技術が生産現場に近い部分で発展することを期待するものである。

## 摘 要

北海道におけるイチゴ生産は国内生産の端境期にあたり、安定した国内生産を図るうえで重要な作型となっている。しかし、北海道のイチゴ生産には育苗と果実生産作業の重複、適応品種の不在、低収量など主要産地と異なる問題がある。これらの問題は北海道のイチゴ作付面積の拡大や産地形成の障害となっており、とくに北限地帯では深刻であり、その改善が強く望まれている。

本研究では北限地帯のイチゴ生産の諸問題を解決するために、組織培養を利用する観点から試験を行った。はじめにイチゴの組織培養に関する基礎的な研究を行い、つぎに育苗と栽培の分業化を図るため、現行のウイルスフリー苗の生産体制を改善した。最後に栽培の省力化と作型の拡大を図るため、四季成り性品種の作出を試みた。

1 寒冷地向け品種‘ベルルージュ’を用いて茎頂培養および大量増殖におよぼす培地組成と培養条件の影響を検討した結果、茎頂培養には Hyponex 修正培地を用い、25℃、16または24時間照明で培養すると幼植物の生育が良好となることが明らかになった。生長調節物質の添加の必要性は認められなかった。

2 Hyponex 修正培地に BAP 0.5 mg/ℓ と Kin 0.1 mg/ℓ を添加した培地を用いて、25℃、16時間照明で培養することにより良好な幼植物を大量に増殖できた。

大量増殖された幼植物の発根は1/2MS培地を用い、25℃、16時間照明で培養すると良い結果が得られた。

3 ‘ベルルージュ’の茎頂培養由来の幼植物の生長はランナー採取時期によって異なり、ランナー発生の前期（6月23日～8月4日）と後期（8月18日～9月21日）に大別できた。後期の幼植物は前期に比較し、展開葉数が少なく、草丈は高くなる傾向を示した。

アベナテストにより母株茎頂付近のオーキシン活性を調べたところ，初回採取日をピークに活性が低下した．これらの結果から，茎頂培養ではランナー発生前期の材料を用いるのが好ましいことが明らかになった．

4 茎頂培養の作業を分散するため，ランナーの低温貯蔵が茎頂の生長にあたえる影響について調査したところ，休眠が深い‘ベルルージュ’では11日間の低温貯蔵（4℃）で生存率の低下は認められず，展開葉数が増加した．

5 休眠特性の異なる7品種では‘宝交早生’など休眠が中程度か深い品種で‘ベルルージュ’と同じ傾向が見られた．一方，‘とよのか’など休眠が浅い品種では生育が低下する傾向を示した．

6 低温貯蔵が茎頂の生長にあたえる影響は品種によって異なり，休眠が中程度および深い品種は低温貯蔵によって悪影響を受けないことが示された．

7 前処理としてランナーに蒸留水，ショ糖を含まないMS液体培地，1/10MS液体培地，30g/lショ糖および30g/lブドウ糖の各溶液を常温（20℃）で24時間吸収させた．その結果，ショ糖を含まない1/10MS液体培地で前処理することによって茎頂の生存率や幼植物の生長に悪影響をおよぼさず，5週間の低温貯蔵が可能であった．

8 ウイルスフリー苗生産の効率化のために，組織培養作業の省力化を検討した．茎頂培養によって得られた幼植物のクラウン部分に生長調節物質溶液を滴下することで慣行法と同様に多芽体を誘導することができた．

9 多芽体を分割せずに発根させても，慣行法とくらべて発根率と発根数には差が見られず，無菌操作の省力化が可能であった．直接，多芽体を順化すると慣行法に比べ発根率と順化率は低下するものの，限られたスペースでの順化効率は高まった．

10 滴下法，無分割法および無発根法のいずれの方法でも，得られた苗の生育と収量には差が認められず，これらの方法は目的に応じて実用可能であることが示された。

11 ‘ベルルージュ’のクローン植物の中から四季成り性個体の選抜を試みた。カルス誘導と増殖を暗所で行うことによって高い個体再生率を得ることができ，その中から‘ベルルージュ’と同等の果実硬度を持つ四季成り性系統が得られた。

12 これらの成果は寒冷地における作型の拡大や産地形成に寄与するであろう。さらに，本研究の目的と結果は今後の寒冷地におけるイチゴ生産にとって極めて意義深いものと考えられる。



## 謝 辞

本研究は1989年から1996年にわたって北海道幌加内高等学校および幌加内町農業研究センターにおいて実施されたものである。

本研究の推進上、有益なるご指導を賜り、また本論文をまとめるに当たり、懇切なるご指導と貴重なご教示を賜わり、ご校閲の労をとられた帯広畜産大学 沢田壮兵教授と三浦秀穂助教授に衷心より深く感謝申し上げます。

さらに本論文に対して有益なご助言とご校閲を賜った山形大学農学部 笹原健夫教授、岩手大学農学部 高畑義人教授、弘前大学農学部 嵯峨紘一助教授に対して深く謝意を表す。

また、本研究の端緒を与えられ、終始懇切なるご指導とご鞭撻を賜った北海道文理科短期大学 土橋慶吉名誉教授と海野芳太郎助教授に対し、謹んで深くお礼申し上げます。

また、本研究に対し数々のご助言をいただいた、元幌加内町専門員 川瀬清博士（北海道大学名誉教授）、野菜・茶業試験場野菜育種部上席研究官 五十嵐勇氏、野菜・茶業試験場（盛岡）野菜育種部夏秋野菜育種研究室研究官 沖村誠氏ならびに北海三共株式会社特別研究員 今野寛氏に対して深く感謝の意を表す。

また、本研究の遂行にあたり多大なるご理解とご配慮をいただいた幌加内町長 峰岸政義氏を始め、幌加内町産業課諸氏に深く感謝の意を表す。さらに、本研究の遂行にあたりご協力をいただいた幌加内町農業研究センター 山田靖子女史、杉坂波枝女史、石原紅子女史および研究実施期間中に酪農学園大学植物育種学研究室に在室した学生諸氏に深く感謝の意を表す。

## 引用文献

- 1 赤木博, 大和田常晴, 川里宏, 野尻光一, 安川俊彦, 長修, 加藤昭: イチゴ新品種「女峰」について. 栃木県農業試験場研究報告. 31:29-41. 1985
- 2 秋山賢一: イラストさくもつ事典. 富民協会. p6-8. 1979
- 3 網本邦広: 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. 1993:13-20. 1993
- 4 穴田幸男, 下山淳, 牛尼正道: 茎頂培養による、コンニャクのウイルス・フリーと大量増殖. 群馬農業研究 A. 総合8:1-10. 1991
- 5 Anderson, H.M., A.J. Abbott and S. Wiltshire: Micro-propagation of strawberry plants in vitro. - Effect of growth regulators on incidence of multi-apex abnormality. *Sci. Hortic.* 16:331-341. 1982
- 6 浅平端, 加納恭卓: イチゴの果実組織の培養における葉条形成. 園芸学会雑誌. 46(3): 317-324. 1977
- 7 浅尾浩史, 荒井滋, 佐藤隆徳, 平井正志, 日比忠明: *Agrobacterium tumefaciens*によるイチゴ形質転換体の作出. 植物組織培養. 11(1):19-25. 1994
- 8 Badawi, M.A., M. Alphonse, A.Z. Bondok and Y.A. Hosni: Propagation of some strawberry cultivars by means of tissue culture technique. *Egypt. J. Hortic.* 17(1):9-16. 1990
- 9 Bolton, A.T.: The inactivation of veinbanding and latent C viruses in strawberries by heat treatment. *Can. J. Plant Sci.* 47:375-380. 1967
- 10 Boxus, Ph.: The production of strawberry plants by in vitro micro-propagation. *J. Hortic. Sci.* 49:209-210. 1974
- 11 Boxus, Ph., M. Quoirin and J.M. Laine: Large scale propagation of strawberry plants from tissue culture. In: J. Reinert and Y.P.S. Bajaj (eds.) applied and fundamental aspects of plant cell, tissue, and organ culture. Springer-Verlag. p.130-143. 1977
- 12 Bringhurst, R.S. and V. Voth: Strawberry virus transmission by grafting excised leaves. *Plant Dis. Rpt.* 40(7):596-600. 1956
- 13 FAO: FAO Production Year Book. 1995
- 14 福井博一, 村上保之, 原田隆, 田村勉: ハイブッシュブルーベリーの茎頂の成長に及ぼす生長調節物質の影響とその季節的变化. 北海道大学農学部邦文紀要. 15(1):1-6. 1983
- 15 藤目幸擴, 山崎昇: イチゴの休眠誘導と打破に及ぼす前処理, 日長並びに温度の影響. 園芸学会雑誌. 56(4):444-451. 1988

- 16 藤目幸擴, 工藤りか, 奥田延幸: ニンニクの *in vitro* 培養でのシュート並びに小球形質. 植物組織培養. 10(1):9-16. 1993
- 17 藤本まなみ, 浅尾浩史, 小島博文, 小玉孝司: 茎頂部のえき芽増殖によるイチゴの効率的  
大量増殖. 奈良県農業試験場研究報告. 18:65 - 71. 1987
- 18 後藤忠則: 北海道におけるイチゴのウイルス病. 北農. 46(3):22-28. 1979
- 19 後藤隆子, 宮崎正則, 奥正和, 佐藤宏: イチゴの茎頂および植物体の *in vitro* 保存. 東洋  
食品工業短期大学東洋食品研究所研究報告書. 19:9 - 14. 1992
- 20 羽生広道, 吉原利一: 組織培養による種苗大量増殖技術の開発(2) 液体培養におけるイ  
チゴ培養組織の生育に及ぼす浸透ポテンシャルの影響. 電力中央研究所我孫子研究所  
研究報告. U90006:1-21. 1990
- 21 原田宏: 植物細胞組織培養. 理工学社. p15-25. 1979
- 22 速水正弘: 野菜・花きのウイルスフリー苗実用化の現状と今後の産地戦略(下).  
農業技術研究. 47(2):42-45. 1993
- 23 本多藤雄, 岩永喜裕, 山川理, 成河智明, 野口裕司, 佐藤裕: イチゴ新品種 'ひのみね' の  
育種に関する研究. 野菜・茶業試験場研究報告 D. 1:1-15, 17. 1988
- 24 Hong, Y.C., P.E. Read, S.K. Harlander and T.P. Labuza: Development of a tissue  
culture system from immature strawberry fruits. J. Food Sci.. 54(2):388-392.  
1989
- 25 五十嵐勇, 藤野雅丈, 穴戸良洋, 熊倉裕史, 山下正隆, 古谷茂貴, 山崎篤: イチゴにおける  
花芽分化条件感受性の増大に関与する体内成分的要因の解析. (農林水産省農林水産技  
術会議事務局S) 重点基礎研究成果報告書(上). 昭和63年度:19-1-19-11. 1989
- 26 五十嵐勇: イチゴの作型及び品種と果実の成熟及び品質. 園芸学会平成3年度秋季大会  
シンポジウム講演要旨:236-247. 1991
- 27 池田敬, 野並浩, 橋本康: 環境ストレス下における組織培養植物体の成長を制御する水  
ポテンシャル場. 生物環境調節. 34(2):141-146. 1996
- 28 稲川裕: 短日処理による北海道における夏秋季どり作型の開発. 野菜・茶業試験場 課  
題別研究会資料. 平成5年度:31-38. 1993
- 29 石井勝: ウイルスフリー苗の増殖とウイルス検定 II. 農業および園芸. 63(2):279-  
282. 1988
- 30 石川正久: 輸入苺の変遷と将来. イチゴ, 1996 最近の研究・技術と世界の動き. 1996:  
41-43. 1996
- 31 岩瀬利己: 四季成り性品種の利用による夏秋季どりの開発. 野菜・茶業試験場 課題別  
研究会資料. 平成5年度:49-53. 1993

- 32 十鳥秀樹, 渡辺二郎, 清水康司:ブドウ茎頂における培地組成および置床時期が外植体の生育に及ぼす影響. 香川県農業試験場研究報告. 42:15-26. 1991
- 33 香川彰:寒冷地におけるイチゴの株冷抑制栽培上の問題点. 北農. 46(1):6-14. 1979
- 34 嘉儀隆:大阪特産園芸作物の無病優良株育成技術の開発. 大阪農業. 28(1):2-4. 1990
- 35 金指信夫, 佐田稔, 池谷保緒:イチゴ‘しずのか’‘しずたから’の育成経過と特性. 静岡県農業試験場研究報告. 27:21-30. 1982
- 36 金指信夫:カリフォルニアのイチゴ生産の現状と日本のイチゴ生産への提言. イチゴ, 1993 最近の研究・技術と世界の動き. 1993:37-47. 1993
- 37 金子学, 鈴木卓, 原田隆, 八鍬利郎, 白澤茂明:アスパラガス若茎小側枝茎端部の凍結保存における前培養の効果. 北海道園芸研究談話会会報. 25:50-51. 1992
- 38 Kano,K.: Studies on the media for orchid seed germination. Mem. Fac. Agr. Kagawa Univ..20:1-68.1965
- 39 Kartha,K.K.,N.L.Leung and K.Pahl: Cryopreservation of strawberry meristems and mass propagation of plantlets. J. Amer. Soc. Hortic. Sci..105(4):481-484.1980
- 40 河原林和一郎, 浅平端:ウイルスフリー・ユリ球根の in vitro における増殖. 園芸学会雑誌. 58(1):195-209. 1989
- 41 Kender,W.J.,S.Carpenter and J.W.Braun: Runner formation in everbearing strawberry as influenced by growth-promoting and inhibiting substances. Ann. Bot. (London).35:1045-1052.1971
- 42 木村雅行:野菜園芸大百科3. イチゴ. 農文協. p55-71. 1988
- 43 北宅喜昭, 富士原和宏, 古在豊樹:植物組織培養苗生産における物理環境調節. 生物環境調節. 33(1):1-6. 1995
- 44 小室康雄:野菜のウイルス. 誠文堂新光社. p300. 1963
- 45 今野寛:短日育苗によるイチゴの夏秋どり. 北農. 46(1):2-5. 1979
- 46 越川兼行:イチゴの新作型「周年穫り」技術の開発. 野菜・茶業試験場 課題別研究会資料. 平成5年度:39-48. 1993
- 47 熊倉裕史:秋どり促成栽培技術の確立. 野菜・茶業試験場 課題別研究会資料. 平成5年度:23-30. 1993
- 48 倉石晋:植物ホルモン. 東大出版会. p22. 1976
- 49 李永馥, 金暎来:イチゴの葉柄および葉切片の組織培養における葉条分化. 園芸学研究集録. 9:78-82. 1979

- 50 Lopez-Aranda, J.M., F. Pliego-Alfaro, I. Lopez-Navidad and M. Barcelo-Munoz: Micropropagation of strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.). Effect of mineral salts, benzyladenine levels and number of subcultures on the in vitro and field behaviour of the obtained microplants and the fruiting capacity of their progeny. *J. Hortic. Sci.*. 69(4):625-637. 1994
- 51 松本英紀, 松沢光: 茎頂培養によるヤマイモ (*Dioscorela opposita*) のウイルスフリー株の育成及び特性. 愛媛県農業研究場研究報告. 31:55-61. 1992
- 52 松本英紀: 組織培養による大量増殖のための茎頂の摘出法と消毒法. 愛媛県農業試験場研究報告. 32:53-54. 1993
- 53 松本工, 難波一郎, 渡辺義明: 組織培養によるウイルス無毒化試験 I バレイショ・オランダイチゴについて. 植物防疫所調査研究報告. 25:31-34. 1989
- 54 松本理, 原田泰彦, 吉山久雄: イチゴの冷蔵苗に関する研究(第1報)冷蔵処理後の花芽分化と生育. 山口農業試験場研究報告. 30:1-7. 1981
- 55 松本理: イチゴの冷蔵苗に関する研究(第2報)生育周期におよぼす低温の役割. 山口農業試験場研究報告. 34:21-29. 1982
- 56 松本理: イチゴの冷蔵苗に関する研究(第3報)低温効果の品種間差異. 山口県農業試験場研究報告. 37:43-51. 1985
- 57 松本理: イチゴの冷蔵苗に関する研究(第4報)長期株冷蔵栽培における育苗方法と入庫期. 山口県農業試験場研究報告. 37:53-59. 1985
- 58 松本理: イチゴの株冷蔵栽培をめぐる生態的諸問題(1). 農業および園芸. 62(1):57-62. 1987
- 59 Miller, P.W. and R.O. Belkengren: Elimination of yellow edge, crinkle, and veinbanding viruses and certain other virus complexes from strawberries by excision and culturing of apical meristems. *Plant Dis. Rpt.*. 47(4):298-300. 1963
- 60 峰岸正好, 服部まなみ, 西岡和代, 浅尾浩史, 久富時男: 異なる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. 奈良農業試験場研究報告. 17:29-37. 1986
- 61 宮崎正則, 美谷誠一, 藪内一雄: 加工用イチゴのウイルスフリー株育成に関する研究 II. 各地の加工用品種「アメリカ」のウイルス病の検定およびやく培養によるウイルスフリー株の育成. 東洋食品工業短期大学東洋食品研究所研究報告書. 13(1976/1977):41-47. 1978
- 62 宮崎正則, 美谷誠一, 藪内一雄: 加工用イチゴのウイルスフリー株育成に関する研究 III. 加工用イチゴ「アメリカ」の生長点培養によるウイルスフリー株の育成およびその栽培条件の検討. 東洋食品工業短期大学東洋食品研究所研究報告書. 14(1978/1981):31-40. 1981

- 63 門馬信二, 藤野雅丈, 高田勝也, 興津伸二: 寒冷地向きイチゴの新品種 '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. 1:1-9. 1990
- 64 森寛一, 浜屋悦次, 下村徹, 池上雍春: 組織培養法によるウイルス罹病植物の無害化. 農事試験場研究報告. 13:45-110. 1969
- 65 Mullin, R.H. and D.E. Schlegel: Cold storage maintenance of strawberry meristem plantlets. Hortscience. 11(2):100-101. 1976
- 66 Murasige, T. and F. Skoog: A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiol. plant.. 15:473-497. 1962
- 67 Murashige, T.: Plant propagation through tissue cultures. Ann. Rev. Plant Physiol.. 25:135-166. 1974
- 68 成川昇, 石橋光治, 荻原佐太郎, 土岐知久: イチゴ新品種「麗紅」の育成経過と特性. 千葉県農業試験場研究報告. 22:45-55. 1981
- 69 Nehra, N.S., K.K. Krtha, C. Stushnoff and K.L. Giles: The influence of plant growth regulator concentrations and callus age on somaclonal variation in callus culture regenerants of strawberry. Plant Cell Tissue Organ Cult.. 29(3):257-268. 1992
- 70 Nehra, N.S., K.K. Kartha, C. Stushnoff and K.L. Giles: Effect of in vitro propagation methods on field performance of two strawberry cultivars. Euphytica. 76(1-2):107-115. 1994
- 71 Nishi, S., K. Ohsawa: Mass production method of virus-free strawberry plants through meristem callus. JARQ. 7(3):189-194. 1973
- 72 西沢正洋, 西泰道: 組織培養法によるウイルス罹病ユリの無毒化に関する研究. 九州農業試験場彙報. 12(1, 2):139-157. 1966
- 73 野口裕司: イチゴ品種の組織培養による長期保存技術. 今月の農業 農薬・資材・技術. 34(6):104-107. 1990
- 74 野口裕司, 山川理, 望月龍也: 低温培養によるイチゴ植物体の長期保存. 園芸学会雑誌. 60(別2):218-219. 1991
- 75 野並 浩: 植物生体計測と生物環境調節. 生物環境調節. 32(4):203-217. 1994
- 76 農林水産省北海道情報統計事務所: 北海道農林水産統計年報(青果物編)平成7年. 農林統計協会. p90-91. 1995
- 77 農林水産省統計情報部: 平成6年産野菜生産出荷統計. 農林統計協会. p95. 1994
- 78 農林水産省統計情報部: 農林水産省統計表(71). 農林統計協会. 1995
- 79 農林水産省統計情報部: 農林水産省統計表(72). 農林統計協会. 1996

- 80 織田弥三郎:世界のイチゴ生産. イチゴ, 1991 最近の研究・技術と世界の動き. 1991: 4-21. 1991
- 81 織田弥三郎: *Fragaria*属野生植物の遺伝資源としての収集, 評価と培養増殖に関する研究. 環境科学総合研究所年報. 12:43-54. 1993
- 82 岡山健夫, 大澤勝次:組織培養によるイチゴ・サトイモの大量増殖. 奈良農業試験場研究報告. 15:1-9. 1984
- 83 沖村誠:カリフォルニア品種群の特性と育種利用. 野菜・茶業試験場 課題別研究会資料. 平成5年度:64-75. 1993
- 84 大澤勝次, 戸田幹彦, 西貞夫:やく培養の利用に関する研究. II. イチゴやく培養によるウイルスフリー株の大量育成. 野菜試験場報告 A. 1:41-57. 1974
- 85 大澤勝次, 栗山尚志, 菅原祐幸: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. I 植物体の大量誘導に及ぼす培養部位及び培地組成の影響. 野菜試験場報告 A. 9:1-46. 1981
- 86 斉藤明彦:石垣イチゴの歴史と栽培. イチゴ, 1991 最近の研究・技術と世界の動き. 1991:77-84. 1991
- 87 斉藤明彦:イチゴ栽培省力化の動向. イチゴ, 1994-1995 最近の研究・技術と世界の動き. 1994-1995:44-49. 1995
- 88 Sakai,A.,M.Yamakawa,D.Sakata,T.Harada and T.Yakuwa: Development of a whole plant from an excised strawberry runner apex frozen to  $-196^{\circ}\text{C}$ . Low Temp. Sci. Ser. B. 36:31-38.1978
- 89 酒井昭:植物遺伝資源の長期保存法とその現状. 北海道の林木育種. 29(1):1-5. 1986
- 90 桜井擁三, 鈴木智博, 飯田孝則, 菅原眞治, 高瀬尚明, 伊藤克己:促成用イチゴ新品種「リンドモール」の育成. 愛知県農業総合試験場研究報告. 20:150-162. 1988
- 91 佐々木丈夫:各地域における夏秋季どりを中心としたイチゴ品種・作型の動向や諸問題及び育種の状況. 1北海道・東北. 野菜・茶業試験場. 平成5年度:1-6. 1993
- 92 佐藤孝夫:エゾヤマザクラの組織培養における茎頂の採取時期と増殖率. 日本林学会北海道支部論文集. 39:17-19. 1991
- 93 施山紀男, 高井隆次:イチゴの発育とその周期性に関する研究. 野菜試験場報告 B. 6:31-77. 1986
- 94 施山紀男, 竹内直和, 木下達之, 佐々木恭助, 大塚高秋:流水式夜冷育苗によるイチゴの花芽分化促進. 三菱重工技術報告. 27(3):273-276. 1990
- 95 Shoemaker,N.P.and H.J.Swartz: Cultivar dependent variation in pathogen resistance due to tissue culture-propagation of strawberries. Hortscience. 20(2):253-254.1985

- 96 Shuto,H.,T.Abe and T.Sasahara: In vitro propagation of plants from root apex-derived calli in Chinese Chive (*Allium tuberosum* Rottler) and Garlic (*Allium sativum* L.). *Japan. J. Breed.* 43:349-354.1993
- 97 鈴木柳子, 川村邦夫, 佐久間裕: イチゴウイルスフリー苗の生育に関する研究. 宮城県農業センター研究報告. 52:1-9. 1985
- 98 Swartz,H.J.,G.J.Galletta and R.H.Zimmerman: Field performance and phenotypic stability of tissue culture-propagated strawberries. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 106(5):667-673.1981
- 99 庄子孝一, 川村邦夫, 高橋伸: 園芸植物の無病苗育成・増殖に関する研究. 宮崎県原種苗研究報告. 1:1-51. 1980
- 100 高樹英明, 曲英華: ニンニクの茎頂培養における小植物の栄養成長と球の形成・肥大に及ぼす培養光源の影響. *山形大学紀要(農学)*. 11(3):523-527. 1992
- 101 高橋春實, 高井隆次, 松本勤: わが国のイチゴ黒斑病に対する感受性品種. *園芸学会雑誌*. 59(3):539-544. 1990
- 102 高橋春實, 高井隆次, 松本勤: イチゴ黒斑病に対するイチゴ品種の感受性の遺伝. *園芸学会雑誌*. 60(1):113-118. 1991
- 103 Takahashi,H.,T.Takai and T.Matsumoto: 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):323-329.1992
- 104 Takahashi,H.,T.Takai and T.Matsumoto: Gene analysis of mutants resistant to *Alternaria alternata* strawberry pathotype selected from calliclones of strawberry cultivar Morioka-16. *J. Japan. Soc. Hortic. Sci.* 61(2):347-351. 1992
- 105 高橋春實: イチゴの黒斑病抵抗性株の育成に関する研究. 秋田県立農業短期大学研究報告. 19:1-44. 1993
- 106 高橋春實, 高井隆次, 松本勤: 寒冷地の半促成栽培及び露地栽培におけるイチゴ黒斑病抵抗性系統M16-AR1, 2および3の適応性. *園芸学会雑誌*. 62(1):129-134. 1993
- 107 高橋春實: 体細胞変異を利用したイチゴの黒斑病抵抗性株の作出. *イチゴ, 1993 最近の研究・技術と世界の動き*. 1993:4-12. 1993
- 108 高橋春實: 培養変異を利用したイチゴ黒斑病抵抗性品種の育成. *今月の農業 農薬・資材・技術*. 37(11):59-63. 1993
- 109 高井隆次: 我が国におけるイチゴウイルス病に関する研究. *園芸試験場報告 C*. 8:59-104. 1973
- 110 高井隆次, 施山紀男, 北村信夫: 低温制御によるイチゴの寒冷地向き半促成栽培の確立. III 盛岡16号の適応性について. *野菜試験場報告 B*. 6:79-91. 1986



- 111 高野邦治, 赤木博: 茎頂培養によるイチゴの大量増殖法. 農業及び園芸. 63:159-162. 1988
- 112 Takayama, S. and M. Misawa: Differentiation in liliun bulb scales grown in vitro. Effects of activated charcoal, physiological age of bulbs and sucrose concentrating on differentiation and scale leaf formation in vitro. *Physiol. Plant.* 48:121-125. 1980
- 113 高山真策, 天羽孝子, 深野真弓, 大澤勝次: ジャーファーマンターによるイチゴの大量増殖に関する研究. (第1報) 無菌培養系の確立と低温培養による系統保存. 園芸学会大会研究発表要旨: 218-219. 1985
- 114 高山真策, 元川寛子, 天羽孝子, 深野真弓, 大澤勝次: ジャーファーマンターによるイチゴの大量増殖に関する研究. (第2報) 液体培養法の検討ならびにジャーファーマンターによる大量増殖法の確立. 園芸学会大会研究発表要旨: 220-221. 1985
- 115 Takayama, S., T. Toyomasu, H. Yamane, N. Murofushi and H. Yajima: Identification of gibberellins and abscisic acid in bulbs of *Lilium elegans* Thunb. and their quantitative changes during cold treatment and the subsequent cultivation. *J. Japan. Soc. Hortic. Sci.* 62(1):189-196. 1993
- 116 玉置学, 松本英紀: イチゴの未成熟胚培養による再分化個体の作出. 愛媛県農業試験場研究報告. 28:71-76. 1988
- 117 田辺賢二, 林真二, 伴野潔: イチゴの休眠に関する生理学的研究. III 低温要求期における温度条件が休眠打破およびクラウン, 根中の生長調節物質におよぼす影響. 鳥取大学農学部研究報告. 37:1-7. 1985
- 118 田崎忠良, 田口亮平: 実験植物生理生態学実習. 養賢堂. p141-143. 1968
- 119 豊田秀吉: 植物の大量培養—変異個体の大量増殖を目的として—. *植物組織培養*. 15(8):273-277. 1989
- 120 Toyoda, H., K. Horikoshi, K. Inaba and S. Ouchi: Plant regeneration of callus tissues induced from leaf explants of strawberry. *Plant Tissue Culture Letters*. 7(1):38-41. 1990
- 121 豊田秀吉, 嘉美千歳, 住谷一樹, 索建政, 細井好之, 大内成志: *Agrobacterium rhizogenes* による主要イチゴ品種の形質転換. *植物組織培養*. 10(1):92-94. 1993
- 122 豊田秀吉: 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. 1993:21-32. 1993
- 123 土下信人: 苗分業時代を迎える, 組織培養苗の行方. *植物組織培養の実用化小史*. 小さな企業のささやかな取り組み. *日本農薬学会誌*. 20(1):93-98. 1995
- 124 植松徳雄: やく培養によってイチゴのウィルスフリー株を大量育成したときの変異個体の出現頻度. 静岡県農業試験場研究報告. 25:7-10

- 125 海野芳太郎, 我妻尚広: 試験管内における食用ユリ子球の肥大. 酪農学園大学紀要 (自然科学編). 19(2):423-427. 1994
- 126 海野芳太郎, 我妻尚広: 試験管内での食用ユリ増殖に及ぼす生長調節物質と照明時間の影響. 酪農学園大学紀要 (自然科学編). 19(2):429-434. 1994
- 127 海野芳太郎, 我妻尚広: 食用ユリの子球形成・肥大と順化後出葉に対する培養時日長の影響. 酪農学園大学紀要 (自然科学編). 21(1):73-77. 1996
- 128 Waithaka, K., A.C. Hildebrandt and M.N. Dana: Hormonal control of strawberry axillary bud development in vitro. J. Amer. Soc. Hortic. Sci., 105(3):428-430. 1980
- 129 我妻尚広, 山田靖子, 海野芳太郎: 低温前歴がイチゴの茎頂培養に与える影響. 北海道園芸研究談話会会報. 24:54-55. 1990
- 130 我妻尚広, 山田靖子, 三浦依理子, 海野芳太郎: 低温前歴がイチゴの茎頂培養に与える影響 (第2報). 低温処理における品種間差. 北海道園芸研究談話会会報. 25:46-47. 1992
- 131 我妻尚広, 海野芳太郎, 土橋慶吉: イチゴランナーの低温保存が茎頂培養に与える影響. 育種学雑誌. 42(別2):34-35. 1992
- 132 我妻尚広, 海野芳太郎, 土橋慶吉: イチゴ茎頂培養時の低温処理効果. 北海道園芸研究談話会会報. 26:32-33. 1992
- 133 我妻尚広: イチゴ茎頂培養におけるランナーの低温貯蔵の可能性. 植物組織培養. 10(2):160-162. 1993
- 134 我妻尚広, 海野芳太郎, 土橋慶吉: イチゴ茎頂培養における茎頂生長の季節的变化. 園芸学会雑誌. 62(別2):406-407. 1993
- 135 我妻尚広, 海野芳太郎, 土橋慶吉: 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. 1993
- 136 我妻尚広, 海野芳太郎: イチゴ茎頂培養におけるランナーの低温貯蔵性と培養時の茎頂生長の向上に及ぼす2, 3の諸条件. 育種学雑誌. 44(別2):79. 1994
- 137 我妻尚広, 海野芳太郎: イチゴの試験管内増殖における省力化. 北海道園芸研究談話会会報. 28:78-79. 1994
- 138 我妻尚広, 海野芳太郎: イチゴの茎頂培養由来の幼植物の生長におよぼすランナー採取日の影響. 植物組織培養. 13(3):273-277. 1996
- 139 我妻尚広: イチゴの茎頂培養における幼植物体の生長におよぼすランナーの前処理と低温貯蔵の影響. 生物環境調節. 35(2):85-90. 1997
- 140 White, P.R.: A handbook of plant tissue culture. J. Cattell, Lancaster, Pa. 1943

- 141 矢部和則, 桜井擁三, 鷺田純彦, 飯田孝則, 景山幸二, 宮川壽之: 熱処理と茎頂培養によるイチゴの優良無病苗の育成. 愛知県農業総合試験場研究報告. 18:110-120. 1986
- 142 山田員人, 春木和久: ワサビの茎頂培養による大量増殖法. 島根県農業試験場研究報告. 26:85-95. 1992
- 143 山川理, 野口裕司: 短日夜冷処理によるイチゴ実生苗の花芽分化促進効果. 野菜・茶業試験場研究報告 D. 2:127-132. 1989
- 144 山本保: 香川県地域特産の園芸作物栽培におけるバイオテクノロジー導入の現状と問題点. 研究ジャーナル. 10(5):18-23. 1987
- 145 梁燦錫, 古在豊樹, 富士原和宏: 光独立栄養培養条件下におけるイチゴ培養小植物の純光合成速度および成長に及ぼす培地の初期無機イオン組成および初期総無機イオン濃度の影響. 生物環境調節. 33(1):71-77. 1995
- 146 泰松恒男, 吉田直司: 四季成性イチゴのランナーおよび子苗の発生生態とそれらの増殖について. 奈良県農業試験場研究報告. 20:49-58. 1989
- 147 泰松恒男: 四季成り性品種の育種の現状と展望. 農林水産省野菜・茶業試験場 課題別研究会資料. 平成5年度:76-85. 1993
- 148 横田一郎, 藤重宣昭: イチゴの茎頂組織培養による大量増殖の原苗としての利用(第2報). 大量増殖培地と増殖率の検討. 園芸学会雑誌別冊. 昭59(春):240-241. 1984
- 149 吉野旭, 実川三朗, 山本二美, 湯浅三男: イチゴ“宝交早生”のやく培養カルスから得られた一変異株の特性. 千葉県原種農場研究報告. 7:1-7. 1985
- 150 吉武貞敏, 大場支征, 伏原肇, 室園正敏: イチゴ新品種“福岡エース”, “紅宝満”の育成経過と特性(品種名仮称). 福岡県農業総合試験場研究報告 B. 3:37-42. 1984

Studies on application of tissue culture for production of strawberry in the north-marginal area in Japan

Takahiro WAGATSUMA

Production of strawberry in Japan has a period of short supply in summer to autumn seasons. Improvement of cropping type in Hokkaido has a potential for the summer season production. However, overlapping of raising seedlings with cultivation practices, absence of adapted cultivars and low yield due to limited growing season are major obstacles to successful production in Hokkaido, especially in the north-marginal area with cold climate. To overcome these problems, application of tissue culture technology was studied using 'Belle-rouge' strawberry which is a cultivar released for cold climate areas in northern Honshu. At first, the components of the culture medium and culture conditions were screened to get an effective propagation system *in vitro*. Secondly, the current system for production of virus-free plants was reinvestigated and improved to break off overlapping of raising seedlings with cultivation practices. The third was an attempt of breeding of ever-bearing lines by selecting clone plants to reduce the labour requirement in strawberry production. The results obtained were as follows.

1. The effects of components of the culture medium and culture conditions on shoot apex culture were examined. Compared to several kind of medium, Hyponex modified medium combined with the conditions of 25°C and 16--24 hr illumination yielded a higher performance of the shoot culture. This medium was supplemented by Hyponex basal medium with organic components of MS medium and the addition of growth regulators to the medium was not necessary.

2. The propagation was favoured when Hyponex modified medium was supplemented with 0.5 mg/ℓ of BAP and 0.1 mg/ℓ of Kin under the conditions of 25°C and 16-hr illumination. The rooting of plantlets in propagation was favoured when 1/2 MS medium under conditions of 25°C and 16-hr illumination was used.

3. The effects of sampling time of field-grown runners on plantlet growth were examined in shoot apex culture. The plantlets growth was distinct between runners sampled during late June to early August (early term) and those sampled in middle August to late September (late term). The plantlets sampled in the later term were taller with less number of leaves. Using *Avena* bioassay, auxin activity of apical meristems of stock plants were examined. The auxin activity was highest on the first date of sampling and then declined with time. These results suggested that shoot apex excised at the early term would be desirable for in vitro culture.

4. The effects of low-temperature storage of runners on shoot apex growth were compared in seven strawberry cultivars. In 'Belle-Rouge', a deep dormancy type, no decrease in the survival rate was observed in low temperature storage(4°C) for 11 days, and production of leaves developed after in vitro culture was enhanced by the storage.

5. The same tendency was found in other cultivars with middle and deep dormancy, such as 'Houkouwase'. On the other hand, growth retardation was observed in the cultivars with shallow dormancy, such as 'Toyonoka'.

6. These results indicate that the effect of low temperature storage of runners on shoot apex growth is different among the cultivars and that close correlation exists between the depth of dormancy and the growth rate of shoot apex. As there was no negative effect of low temperature storage on the shoot apex growth of runners in the cultivars with middle and deep dormancy, the possibility to utilize low temperature storage before in vitro shoot apex culture was suggested in cultivars with such dormancy.

7. For pre-treatment, five solutions, distilled water, MS liquid medium without sucrose, 1/10 MS liquid medium without sucrose, 30g/ℓ sucrose solution and 30g/ℓ glucose solution were absorbed by runners for 24 hr at 20 °C. It was found that following pre-treatment with 1/10 MS liquid medium, runners can be stored at low-temperature for five weeks without any decrease in the survival rate and the plantlet growth.

8. To produce virus-free plants efficiently, a possibility of labour reduction in tissue culture work was studied. When a growth regulation solution was dropped onto the crown part in the plantlets derived from the shoot apex culture, the multi-bud form could be induced with a similar frequency by the transplanting method.

9. When the roots were made without dividing the multi-bud form, the rooting rate and the number of roots made were not different from those by the conventional method. Thus, labour reduction in aseptic procedures was achieved. Although the rooting rate and the acclimatization rate decreased in comparison with those by the conventional method when the multi-bud form was acclimatized directly, the acclimatization efficiency could be increased in a limited space.

10. On the other hand, there were no differences in plants growth and yield among the dropping method, the no-divide method, and the no-rooting method, suggesting that these methods can be used practically according to the purposes.

11. An attempt was made to select ever-bearing strawberry lines from clone plants of 'Belle-rouge'. A high redifferentiation rate was obtained when callus induction and growth were conducted in a darkness. The ever-bearing lines whose fruit hardness was equivalent to that of 'Belle-rouge' were obtained.

12. Finally, the results of these studies would help in increasing strawberry production areas in cold climatic regions.