

一般報文

イチゴの莖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

我妻尚広*・海野芳太郎**

* 幌加内町農業研究センター

(〒074-04 北海道雨竜郡幌加内町)

** 酪農学園大学酪農学部

(〒069 北海道江別市文京台)

(1996年1月19日受付)

(1996年8月5日受理)

イチゴ‘ベルルージュ’の莖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。

その結果、幼植物の生長はランナー採取期間によって異なり、ランナー発生期の前期(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。また、アペナテストにより母株莖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ていくことが明らかになった。これらの結果から、莖頂培養ではランナー発生前期の材料を用いる方がより適していることが明らかになった。

1. 緒言

イチゴでは莖頂培養に供する生長点はランナーと呼ばれる栄養繁殖器官から摘出する。このランナーが発生する期間(ランナー発生期)ではランナーを含む母株をとりまく環境条件が変化するとともに母株のオーキシンやジベレリン活性等の生理状態は変動している¹⁾。

一方、木本類のハイブッシュブルーベリー²⁾、エゾヤマザクラ³⁾では摘出材料の採取日が異なるとその生理状態が変動し、莖頂の生存率や幼植物の生長に影響をおよぼしている。これらの報告からイチゴにおいても母株に生じた生理状態の変動が莖頂の生存率や幼植物の生長に影響する可能性が示唆される。しかし、これまでのイチゴの莖頂培養に関する報告⁴⁻¹²⁾ではランナーの採取時期に関する記述が少なく、これらの時期と幼植物の生長の関係を論じた報告はない。

そこで、本報告ではイチゴの莖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。

2. 材料および方法

本実験は1993年と1995年に実施した。供試品種は‘ベルルージュ’とした。供試ランナーは先端の子葉が展開していないものを幌加内町農業研究センターの試験ほ場で栽培した定植1年目の株から採取した。1993年のランナーの採取はその発生が始まった6月23日から新

たな発生が認められなくなった9月21日までの間にほぼ2週間間隔で計7回行った。供試ランナー数は各採取日とも50本とした。1995年のランナーの採取は1993年と同じ日に行い、供試ランナー数は20本とした。莖頂の摘出は実体顕微鏡下で行い、葉原基1枚を含む0.2～0.5 mmの大きさに調整した。培地はHyponex(2.5 g/l)を基本培地とし、これにキレート鉄(FeSO₄・7 H₂O 27.8 mg/l, Na₂-EDTA 37.8 mg/l)およびビタミン類(塩酸チアミン0.1 mg/l, 塩酸ピリドキシン0.5 mg/l, ニコチン酸0.5 mg/l, グリシン2.0 mg/l, ミオイノシトール100 mg/l)を添加した。ショ糖濃度は3%とし、ゲランガム濃度は0.2%とした。培地のpHは5.8に調整した。培養は25±1°C, 2,000 lux, 16時間照明で行った。

コンタミ数、生存数の調査は両年とも培養4週目に、草丈の調査は培養12週目に行った。展開葉数は1993年には2週間間隔で6回調査したが、1995年には培養12週目に1回だけ行った。また、1993年には摘出時における莖頂の形態や培養12週目における葉柄の表皮細胞も観察した。1995年には各採取日における母株の若い展開葉の葉柄長、ランナー長、発生ランナー数およびオーキシン活性を調査した。オーキシン活性の調査はアペナテスト(25°C, 20時間インキュベイト)¹³⁻¹⁴⁾で行った。

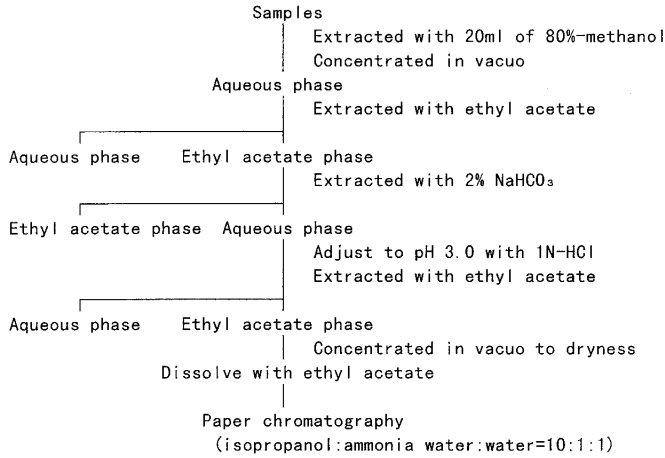


Fig. 1 Flow chart of auxin extraction.

サンプルとしては各採取日に同一ほ場の調査株以外の10株からクラウン部の生長点とその下約7mmの部分を取り取って用いた。サンプルは採取後、直ちに乳鉢ですりつぶし80%メタノールで抽出を行った。その後、Fig. 1の手順に従って精製を行い、酸性酢酸エチル可溶画分をペーパークロマトグラフィーにより分離し、インドール酢酸(Rf 0.25)に相当するRf 0.1-0.4の部分蒸留水で抽出しオーキシン活性の試験に供した。

3. 結果および考察

1993年の実験では培養時の茎頂の生存率はいずれも80%以上と高く、ランナーの採取日による差は見られ

なかった。1995年でも茎頂の生存率はいずれも75%以上と高く、1993年と同様の傾向が見られた(Table 1)。幼植物の生長はランナー採取日により異なり、1993年の実験では培養12週目の展開葉数は6月23日~8月4日では4.9~5.3枚を示すのに対し、8月18日~9月21日では展開葉数の減少が認められ3.7~4.0枚にとどまった。草丈は6月23日~8月4日では7.3~7.5mmを示すのに対し、8月18日以降は8.2~11.3mmと高くなった。また、1995年の場合、展開葉数は6月23日~7月20日では5.4~6.0枚を示すのに対し、8月4日~9月21日では展開葉数の減少が認められ3.5~4.2枚

Table 1. Influence of sampling dates of runners on survival rate in shoot apex culture of strawberry.

No. examined		Sampling dates of runners(Day/Month)						
		23/6	7/7	20/7	4/8	18/8	1/9	21/9
		Survival rate(%)						
1993	50	80	86	84	86	82	86	82
1995	20	85	80	90	80	85	85	75

Shoot apex was cultured for 4 weeks on hyponex medium.

Table 2. Influence of sampling dates of runners on plantlet growth in shoot apex culture of strawberry.

		Sampling dates of runners(Day/Month)						
		23/6	7/7	20/7	4/8	18/8	1/9	21/9
1993	No. examined	40	43	42	43	41	43	41
	No. of leaves developed	5.3a*	5.2a	5.3a	4.9a	3.7b	4.0b	3.8b
	Plant height(mm)	7.5a	7.3a	7.7a	7.3a	8.4b	8.2b	11.3b
1995	No. examined	17	16	18	16	17	17	15
	No. of leaves developed	5.5a	6.0a	5.4a	3.7b	4.2b	3.9b	3.5b
	Plant height(mm)	8.2a	8.5a	8.6a	10.7ab	13.4b	12.2b	12.6b

Shoot apex was cultured for 12 weeks on hyponex medium.

* Duncan's multiple range test ($p < 0.05$)

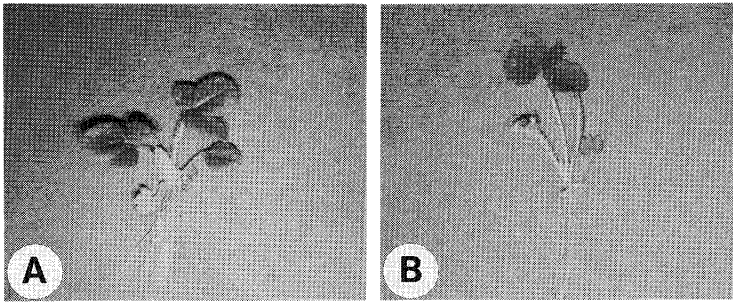


Fig. 2 Comparison of two types of plantlets.

A : The early term.

B : The late term.

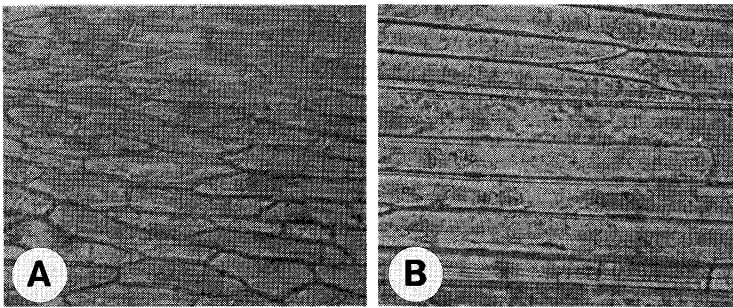


Fig. 3 Comparison of two types of Cells.

A : Short cell type of the early term.

B : Long cell type of the late term.

にとどまった。草丈は6月23日～7月20日では8.2～9.6 mmを示すのに対し、8月4日以降は11.7～13.4 mmと高くなり、展開葉数、草丈ともに1993年と同様の傾向が認められた(**Table 2**)。このように、1993年と1995年では多少前後するものの、ランナー採取日の前半と後半で幼植物の生長に有意な差が認められた。そこで、これらの期間を前期および後期と定め、それらの形態を比較したところ、前期では展開葉数が多く葉柄が短く(**Fig. 2-A**)、後期では展開葉数が少なく葉柄が長く(**Fig. 2-B**)、前期と後期で異なった形態を示した。また、培養12週目における幼植物の葉柄の表皮細胞では細胞の長径の短いタイプ(**Fig. 3-A**)と長いタイプ(**Fig. 3-B**)が観察された。これらの細胞タイプはランナー採取日で

観察される割合に違いが見られ、6月23日～8月4日では短いタイプの割合が高く、8月18日～9月21日では長いタイプが高くなった。8月18日以降に草丈が高くなった要因は幼植物の草丈が高くなった期間と長いタイプの細胞が多く観察された期間が一致することから葉柄の徒長と考えられた。

一方、前期と後期の展開葉数には培養4週目から有意な差が生じ、前期では展開葉数が多かった(**Table 3**)。さらに、摘出時の茎頂はその形態に違いが認められ、葉原基の分化が顕著でないAタイプ(**Fig. 4-A**)と葉原基の生長が進み3葉に分化したBタイプ(**Fig. 4-B**)に大別された。両タイプの違いを明らかにするため、ドーム状組織の直径を測定した結果、ほとんど差が認められず

Table 3. Comparison of the number of leaves developed on plantlets between two sampling terms of runner.

	Culture period(weeks)					
	2	4	6	8	10	12
	No. of leaves developed (average \pm s. d.)					
The early term	0	0.5 \pm 0.9	0.9 \pm 1.2	2.0 \pm 1.9	3.4 \pm 1.6	5.2 \pm 1.1
The late term	0	0.3 \pm 0.7	0.6 \pm 1.7	1.4 \pm 2.2	2.5 \pm 2.0	3.8 \pm 1.6
Difference of No. of leaves between two terms (by <i>t</i> -test)	—	*	*	**	***	***

*, ** and *** significant at 5, 1 and 0.1% level

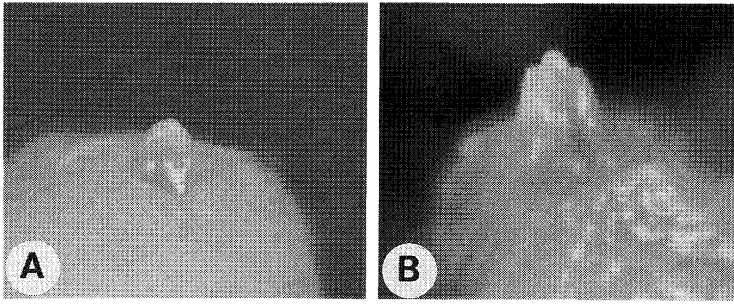


Fig. 4 Comparison of two types of shoot apex.

A : June 23-September 21.

B : August 4-September 21.

Table 4. Comparison of two types of diameters of shoot apices.

	No. examined	Diameter of shoot apices (mm)
Type A	10	0.26 ± 0.051*
Type B	10	0.27 ± 0.048

* Standard deviation

(Table 4), 両タイプの差は葉原基の形態の違いだけであった。これらの違いは葉原基の分化速度の差によって生じたものと考えられ、BタイプはAタイプに比較し、ドーム状組織から葉原基の分化する速度が遅いため、先

に分化した葉原基の生長が進んだものと推測できる。また、Aタイプはいずれの摘出(ランナーの採取)日においても観察されたものの、Bタイプは8月4日~9月21日にかぎられ、茎頂の形態は茎頂の摘出日で差が生じた。Bタイプが観察された期間は培養時の幼植物の生長が抑制された期間、すなわち後期にほぼ一致し、幼植物の生長と茎頂の形態には密接な関係があるものと思われる。これらのことは前期と後期で生じた幼植物の生長の差が生育初期の段階から、さらには摘出前の茎頂の段階から生じていたことを明らかにした。

また、母株の諸形質では葉柄長は6月23日~8月18

Table 5. Comparison of petiole length, runner length and number of runners developed in strawberry plants at developing term of runners.

	Examining dates (Day/Month)						
	23/6	7/7	20/7	4/8	18/8	1/9	21/9
Petiole length (cm)	20.9a*	19.4a	19.1a	18.4a	17.0a	13.9ab	8.8b
Runner length (cm)	45.9a	46.5a	42.7a	39.9a	40.4a	46.8a	25.4b
No. of runners developed	5.9a	5.3a	6.5a	5.3a	6.3a	5.9a	3.0b

* Duncan's multiple range test ($p < 0.05$)

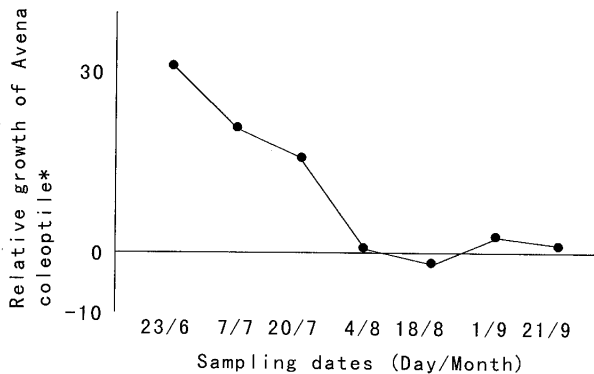


Fig. 5 Seasonal changes of Auxin activities measured by Avena bioassay in strawberry meristems excised from developing term of runners.

* Relative growth of Avena coleoptile was presented as the percentage of growth deviation of the sample from that of the control.

日まで17.0~20.9 cmと差が見られないものの、9月1日以降伸長が抑制された。ランナー長は6月23日~9月1日まで39.9~46.8 cmと差は見られないが、9月21日に25.5 cmと伸長が抑制された。また、ランナーの発生は6月23日~9月1日まで5.3~6.5本と差は見られないが、9月21日に3.0本と減少した(Table 5)。このように9月21日には母株の葉柄長の伸長などが抑制されたものの、それ以前では形態的变化は認められなかった。しかし、アベナテストの結果、母株のオーキシン活性は6月23日に+31%の値を示した後低下し、8月4日以降の活性がほとんど認められなくなった(Fig. 5)。このことは、内生生長物質の季節変動を調査した施山ら¹⁵⁾の報告に一致し、外見的には同一と考えられるランナー発生期でも、生理的には変動の認められることが明らかになった。母株のオーキシン活性が低下した時期と幼植物の生長が抑制された時期はほぼ一致したことから、母株のオーキシン活性の低下が茎頂の形態や幼植物の生長の差異を誘引したものと推測され、摘出材料を採取する母株の生理状態が茎頂培養由来の幼植物の生長に影響をおよぼすことが示唆された。

本実験の結果は茎頂培養を効率的に行うために母株のオーキシン活性の高い前期のランナーを材料に使用するべきであることを示唆している。茎頂培養効率の向上はウイルスフリー苗の配布事業などで大量の茎頂培養を行

う場合、非常に重要であるものの、茎頂の摘出期間が限定されることは作業員の確保などの問題も引き起こす。

文 献

- 1) 木村雅行, 1988. 野菜園芸大百科 3. イチゴ, p. 55-71, 農文協, 東京.
- 2) 福井博一, 村上保之, 原田 隆, 田村 勉, 1985. 北大農邦紀, 15(1): 1-6.
- 3) 佐藤孝夫, 1991. 日林北支論, 39: 17-19.
- 4) Adams, A. N., 1972. J. Hort. Sci., 47: 263-264.
- 5) Boxus, P., 1974. J. Hort. Sci., 49: 209-210.
- 6) 庄子孝一, 川村邦夫, 高橋 伸, 1980. 宮崎原種苗研報, 1: 1-51.
- 7) Swartz, H. J., 1981. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 106: 667-673.
- 8) 岡山健夫, 大沢勝次, 1984. 奈良農試研報, 15: 1-9.
- 9) 横田一郎, 藤重宣昭, 1984. 園学要旨, 昭59春: 240-241.
- 10) 鈴木柳子, 川村邦夫, 佐久間 裕, 1985. 宮城県農業センター研報, 52: 1-9.
- 11) 高野邦治, 赤木 博, 1988. 農業及び園芸, 63: 159-162.
- 12) 野田裕司, 山川 理, 望月龍也, 1991. 園学雑, 60 別2: 218-219.
- 13) 田崎忠良, 田口亮平, 1968. 実験植物生理生態学実習, p. 141-143, 養賢堂, 東京.
- 14) 倉石 晋, 1976. 植物ホルモン, p. 22, 東大出版会, 東京.
- 15) 施山紀男, 高井隆次, 1986. 野菜試報, B6: 31-77.

Summary

Effects of Sampling Dates of Runners on Plantlet Growth in Shoot Apex Culture of Strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duchesne)

Takahiro WAGATSUMA* and Yoshitaro UN-NO**

* Horokanai-cho Agriculture Research Center, Horokanai-cho, Uryuu-gun, Hokkaido 074-04, Japan

** Rakunou Gakuen University, Ebetu-city, Hokkaido 069, Japan

The effects of sampling timing of runners on plantlet growth were examined in shoot apex culture of strawberry 'Belle rouge'.

Those plantlets sampled from June 23 to Aug. 4 differed in development from those plantlets sampled from Aug. 18 to Sept. 21. The plantlets sampled at the late term had fewer developed leaves and greater plant heights than those sampled at the early term.

Auxin activities of apical meristems of stock plants were examined using Avena bioassay. The auxin activity was highest on the first date of sampling and then declined. These results suggested that shoot apex excised at the early term would be desirable for *in vitro* culture.