

培養変異を利用したいちご「とちおとめ」の萎黄病耐病性個体作出法

1. 試験のねらい

イチゴ萎黄病は、最重要病害であり、本病の耐病性品種育成は重要な育種目標の一つであるが、果実品質が優れた本病耐病性品種は作出されていない。しかし、カルス培養を経由すると突然変異の誘発が期待できる。そこで、実用品種由来の培養変異を利用して耐病性個体を作成するために、効率的なカルス培養系および再分化系の確立を行う。また、耐病性が付与された培養変異系統を効率的に選抜するための簡易選抜法を確立する。

2. 試験方法

(1) 再分化試験：供試品種は、「とちおとめ」および「女峰」を用いた。外植体は、無菌培養植物の葉片、葉柄、根、ポット苗ランナーの生長点および養液栽培苗の葯を用いた。葉片、葉柄および根のカルス培養は、1.0mg/l TDZ (チジアズロン) および0.1mg/l 2,4-Dを添加した1/3MS培地で30日間行った。その後、1.0mg/l TDZ添加MS培地へ移植し、再分化を行った。生長点培養は、2.0mg/l BA (ベンジルアデニン) および0.2mg/l NAA (ナフタレン酢酸) を添加したLS培地で、カルス培養および再分化を行った。葯培養は、2.0mg/l BAおよび0.02mg/l NAAを添加し、シヨ糖濃度を3g/lに改変したLS培地でカルス培養および再分化を行った。

(2) 簡易選抜試験：72穴セルトレイに「とちおとめ」再分化個体を順化後、イチゴ萎黄病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*) を、 10^5 個/mlレベルで接種した。接種後は、人工気象器内で、28°C、18時間日長で管理した。接種55日後まで無病徴で生存した個体を簡易選抜系統とし、その生存率を調査した。対照として、抵抗性品種の「アスカウェイブ」、罹病性品種の「宝交早生」および「とちおとめ」を供試した。

3. 試験結果および考察

(1) 再分化試験：「とちおとめ」は、生長点、葯および葉片を用いてカルス培養、再分化を行った結果、再分化率は、それぞれ73.3、73.1および15.3%であった (表-1、図-1)。さらに、これらのシュートは発根培地で順調に発根して順化可能な個体となった (図-2)。「女峰」に比較して再分化率は低いものの、「とちおとめ」で再分化個体を得ることが可能になった (表-1)。なお、葉片培養は、無菌培養植物を利用するために、年間を通して再分化個体を得ることが可能である。

(2) 簡易選抜試験：「とちおとめ」再分化個体に本病菌を接種する簡易選抜により、4個体 (葉片由来3個体、葯由来1個体) を選抜した (表-2)。なお、対照とした罹病性品種の「宝交早生」および「とちおとめ」は、生存率0%であり、抵抗性品種の「アスカウェイブ」は生存率32%であった。この結果から、本法は萎黄病耐病性個体の一次選抜として有効と考えられた。

4. 成果の要約

「とちおとめ」の再分化個体は、生長点、葯および葉片を外植体として用いることにより得られる。また、セルトレイを用いた簡易選抜法により、年間を通して人工接種が可能になった。

これらの技術により、通年で萎黄病耐病性個体を作成できるシステムが確立できた。

(担当者 生物工学部 応用生物研究室 高野純一)

表-1 「とちおとめ」および「女峰」における供試部位のカルス形成率および再分化率

品種	供試部位	供試数	カルス形成数	カルス形成率(%)	再分化カルス数	再分化率(%)
とちおとめ	葉片	98	98	100.0	15	15.3
	葉柄	105	80	76.2	10	9.5
	根	43	24	55.8	0	0.0
	生長点	45	44	97.8	33	73.3
	葯	52	49	94.2	38	73.1
女峰	葉片	100	92	92.0	77	77.0
	葉柄	160	142	88.8	80	50.0
	根	37	20	54.1	4	10.8

注) 葉片、葉柄および根のカルス形成数は、培養開始30日後に調査した。再分化カルス数は、60日後に調査した。

生長点のカルス形成数は、培養開始50日後に調査した。再分化カルス数は、100日後に調査した。

葯培養のカルス形成数は、培養開始80日後に調査した。再分化カルス数は、130日後に調査した。

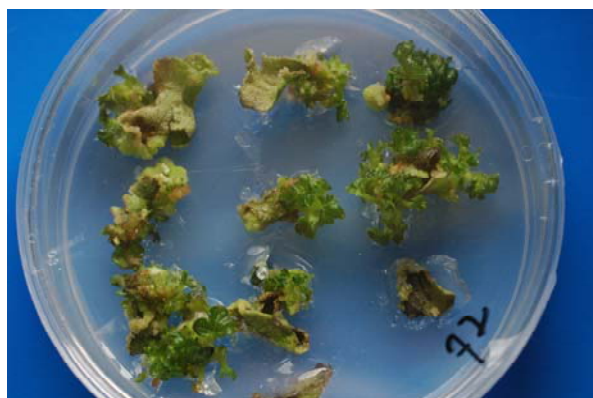


図-1 とちおとめ葉片からの再分化状況



図-2 とちおとめ再分化個体の発根状況

表-2 イチゴ萎黄病菌 (*Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae*) に対するセルトレイを用いたとちおとめ再分化個体の簡易選抜結果

品種	再分化誘導	供試数	生存数	生存率(%)
とちおとめ	葉片培養	42	3	7.1
	葯培養	15	1	6.7
(対照)				
宝交早生	-	26	0	0.0
とちおとめ	-	25	0	0.0
アスカウェイブ	-	25	8	32.0

注) 宝交早生、とちおとめは罹病性品種である。アスカウェイブは、抵抗性品種である。対照植物は、ランナーの生長点を培養して育成。