

## 四季成り性イチゴ MAGIC 集団における EGGS 解析を用いた果実硬度上昇効果

田崎公久・飯村一成・鈴木恵美子<sup>1)</sup>・永野聡一郎<sup>2,3)</sup>・中谷明弘<sup>4)</sup>・植木正明<sup>5)</sup>・大橋幸雄<sup>6)</sup>・  
鶴見理沙・小島夏実<sup>7)</sup>・若柵睦子<sup>8)</sup>・森香織<sup>1)</sup>・磯部祥子<sup>2)</sup>・大橋隆<sup>9)</sup>・生井潔<sup>10)</sup>

**摘要** 四季成り性 MAGIC 集団は、栃木県育成四季成り性系統を含むイチゴ 6 品種・系統を用いて育成した。本研究は果実硬度を高めることにより、輸送適性の向上を目的とした。IC<sub>2</sub> 世代 600 個体は 665 SSR マーカーでジェノタイプングし、果実形質調査を行った。EGGS 解析はこれらの結果を用いて行い、IC<sub>3</sub> 世代作製および実生選抜のため果実硬度に関与した 13 アレルを予測した。その後、1222 SNP マーカーを用いて同様の育種手順で選抜 IC<sub>4</sub> 世代まで作出した。果実硬度は、IC<sub>2</sub> 世代で 0.57 N/φ 2mm、選抜 IC<sub>3</sub> 世代で 0.61 N/φ 2mm、選抜 IC<sub>4</sub> 世代で 0.71 N/φ 2mm と世代を経るごとにつれて増加し、EGGS 解析による予測が交配親の選定および実生選抜に効果があることを示した。同一条件で栽培したランナー苗の果実硬度は、実生苗と同様に IC<sub>2</sub> 世代で 0.65 N/φ 2mm、選抜 IC<sub>4</sub> 世代で 0.77 N/φ 2mm となり、上記予測の有効性を裏付けた。

**キーワード** : イチゴ, 果実硬度, 四季成り性, EGGS 解析, MAGIC 集団

## Effect of EGGS Analysis for MAGIC Population of Everbearing Strawberry on Increasing Fruit Firmness

Kimihisa TASAKI, Kazunari Iimura, Emiko SUZUKI, Soichiro NAGANO, Akihiro NAKAYA, Masaaki UEKI, Yukio OHASHI,  
Risa TSURUMI, Natsumi KOJIMA, Mutsuko WAKAMASU, Kaori MORI, Sachiko ISOBE, Takashi OHASHI and Kiyoshi NAMAI

**Summary:** A multiparent advanced generation intercross (MAGIC) population of everbearing strawberry was derived from an intercross among six cultivars and breeding lines including everbearing breeding lines which Tochigi Prefectural Agricultural Experiment Station has possessed. The present study was carried out with the aim of increasing fruit firmness, resulting in the excellent transportability. The genotyping of the inter-cross second (IC<sub>2</sub>) generation consisted of 600 plants was carried out using 665 simple sequence repeat (SSR) markers. Additionally, fruit quality traits were measured. Ensemble-based genetic and genomic selection (EGGS) analysis based on the above results predicted 13 alleles related fruit firmness for the inter-cross third (IC<sub>3</sub>) generation, leading to the selection of seedlings. Thereafter, we proceeded to make up to the selected inter-cross fourth (SIC<sub>4</sub>) generation through the similar procedures except for using 1222 single nucleotide polymorphism (SNP) markers. The values of fruit firmness increased with the elapse of generation; 0.57N/φ 2mm for IC<sub>2</sub> generation, 0.61N/φ 2mm for SIC<sub>3</sub> generation and 0.71N/φ 2mm for SIC<sub>4</sub> generation, indicating that the prediction by EGGS analysis was effective for the selection of seedlings and parents for intercross. Similarly to seedlings, the corresponding values of runner seedlings cultivated in the same conditions were 0.65 N/φ 2mm for IC<sub>2</sub> generation and 0.77 N/φ 2mm for SIC<sub>4</sub> generation. This result confirmed the above effectiveness of prediction.

**Keyword:** EGGS analysis, Everbearing, Fruit firmness, MAGIC population, Strawberry

1) 現栃木県農政部経済流通課, 2) カズサ DNA 研究所, 3) 現森林総合研究所林木育種センター, 4) 大阪大学大学院医学系研究科, 5) 元栃木県農業試験場, 6) 現栃木県上都賀農業振興事務所, 7) 現栃木県下都賀農業振興事務所, 8) 現栃木県芳賀農業振興事務所, 9) 現栃木県塩谷南那須農業振興事務所, 10) 現栃木県農業大学校 (2019.9.9 受理)

## I 緒言

栃木県のイチゴは、2017 年産で栽培面積 554ha、生産量 25100t、産出額 271 億円に達し（農林水産省、2018・2019）、本県における最も重要な園芸品目である。栽培品種は、女峰（赤木ら、1985）以降、本県育成品種が作付されており、現在、とちおとめ（石原ら、1996）、栃木 i27 号（商標登録名：スカイベリー；重野ら、2015）、四季成り性である夏秋採りイチゴ なつおとめ（小林ら、2015）、観光摘み取り直売用の とちひめ（栃木ら、2001）で大部分を占める。なお、2018 年には促成用で新たに白イチゴ 栃木 iW1 号（商標登録名：ミルキーベリー、中西ら、2018）、多収および萎黄病耐病性である 栃木 i37 号（小林ら、2018）を育成し、出願公表している。

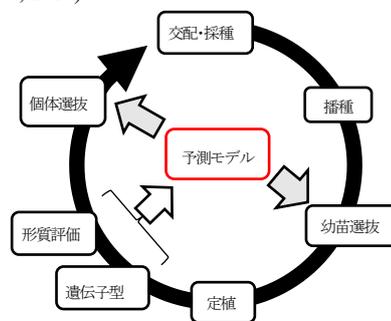
イチゴにおける育種は、他の品目と同様に交雑育種により行われる。本県では、毎年約 1 万株の実生を圃場に展開し、生育調査・選抜を実施しており、その労力軽減および効率化が常に望まれている。その際、DNA マーカーの利用は、圃場に定植する前の苗の段階で選抜を実施できることから、有力な解決手段の一つである。本県では、萎黄病抵抗性（飯村ら、2011）や四季成り性（鈴木ら、2015）については DNA マーカーの開発を進めていたが、果実形質に連鎖した DNA マーカーについては、量的形質（QTL: quantitative trait locus）であることから、開発が困難であると想定され、開発を進めていなかった。

育種に活用できる新たな DNA マーカーを開発するためには、主に①ゲノム情報の収集または構築、②解析材料の育成、③解析手法の選択が重要となる。ゲノム情報に関しては、栽培イチゴ（*Fragaria × ananassa*）が 8 倍体（ $2n=8x=56$ ）であることから、イネ等と比較してゲノム解析が遅れていた。しかし、2000 年代に入り、分子生物学的手法の発達により、栽培イチゴは、異質倍数体と同様に 2 倍体的な挙動を示すことが示唆され（Lerceteanu-Kähler *et al.*, 2003; Kumihisa *et al.*, 2005; 飯村ら、2012）、28 連鎖群に収束する連鎖地図が作製されている（Isobe *et al.*, 2013）。さらに、次世代シーケンスおよび SNP アレイの利用によりゲノム解析がさらに加速化し、ゲノムシーケンス（Hirakawa *et al.*, 2014）や SNP による高密度連鎖地図作製（Bassil *et al.*, 2015; Nagano *et al.*, 2017）が報告され、着実に DNA マーカーが利用できる情報基盤が整いつつある。

ゲノムマッピングにおける遺伝解析材料については、一般的に遺伝的に離れており、正逆形質を持つ 2 つの親を交配して材料を育成するが、複数の遺伝子座が複雑に関与する QTL に関しては検出感度が劣ることが知られている。そのため、近年、複数の親による交配によりゲノム全体がシャッフリングされた MAGIC（multiparent advanced generation intercross）集団の作出が行われている。作物では、イネ（Bandillo *et al.*, 2013）、トウモロコシ（Dell'Acqua *et al.*, 2015）、コムギ（Mackay *et al.*, 2014）、園

芸品目ではトマト（Pascual *et al.*, 2015）で研究が行われている。栽培イチゴにおいても Wada *et al.* (2017) が MAGIC 集団を作出しており、果皮色の QTL を検出している（和田ら、2015; 坪根ら、2018）。

解析手法については、次世代シーケンス等の大量なジェノタイプ情報を活用した新たな MAS（marker-assisted selection）法として、ジェノタイプデータから形質値を予測化するゲノミックセレクション（GS: genomic selection）法（第1図）が注目されている（Iwata *et al.*, 2016; 林、2018）。この方法は、実際に調査をせずに形質を予測化できることから、品種育成の高速化が期待され、園芸品目では果樹でナシ（Iwata *et al.*, 2013）やカンキツ（Minamikawa *et al.*, 2017）、果菜類でトマト（Yamamoto *et al.*, 2017）等において研究が行われている。また、栽培イチゴにおいても、果重、初期収量、酸度等の GS 解析が報告されている（Gezan *et al.*, 2017）。



第 1 図 GS 法の概略図

本県では、次世代型イチゴの一つとして、周年栽培用の四季成り性品種育成を目標としている。日本における四季成り性イチゴ育種は、1970 年育成の大石四季成りに始まるが、一季成り性品種に比べて果実形質や収量の面で劣り、登録された品種も少ない。夏秋採りイチゴの産地を持つ研究機関においては、四季成り性イチゴの育種が行われているが、四季成り性遺伝資源に限られることから、生理生態がまだ十分に解明されていない。このことから、従来の育種手法を用いた場合、一季成り性イチゴと同等の果実形質を持つ品種の育成にはまだ長い年月がかかることが想定される。

そこで、四季成り性イチゴの育種の高速化を目的としてゲノム情報を活用した新たな育種方法について検討を行った。解析材料として四季成り性イチゴの MAGIC 集団を作出し、GS 法の一つである EGGs（ensemble-based genetic and genomic selection）法を用いて果実形質の向上、特に輸送適性に寄与する果実硬度向上効果を検討したので報告する。

なお、本研究は、農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業シーズ創出ステージ「イチゴの輸送適性に優れた品種育成を迅速に実現するゲノム育種法開発」においてかずさ DNA 研究所、香川大学、大阪大学、農研機構、福岡県、千葉県と共同で実施した。

## II 試験方法

試験は、2012 年度から 2017 年度に実施した。各年度の試験経過概要を第 2 図に示す。試験開始当初は、集団の遺伝的多様性をもたせるため、IC<sub>2</sub> 集団までは、ヘテロかつレアなアレルを持つ個体を種子親と選定して集団を育成した。それ以降は、EGGS 解析による予測マーカーにより、交配親の選定および幼苗選抜を実施した。集団育成方法の詳細は II-1~5 に示す。なお、2017 年度には同一条件下での選抜効果を確認するため、IC<sub>2</sub> 集団と選抜 IC<sub>4</sub> 集団のランナー苗において果実形質を比較した。

### 1. 供試材料

四季成り性 MAGIC 集団の作製のため、四季成り性 2 系統 (栃木素材 3 号および 08-58-5)、一季成り性 2 系統 (栃木 26 号および 98-7-3)、一季成り性 2 品種 (古都華 (西本ら, 2010) およびかおり野 (北村ら, 2015)) 合計 6 品種・系統を用いた。本 6 品種・系統の果実形質特性については第 1 表に示す。

### 2. Inter-cross 第 1 世代 (IC<sub>1</sub>) の作製

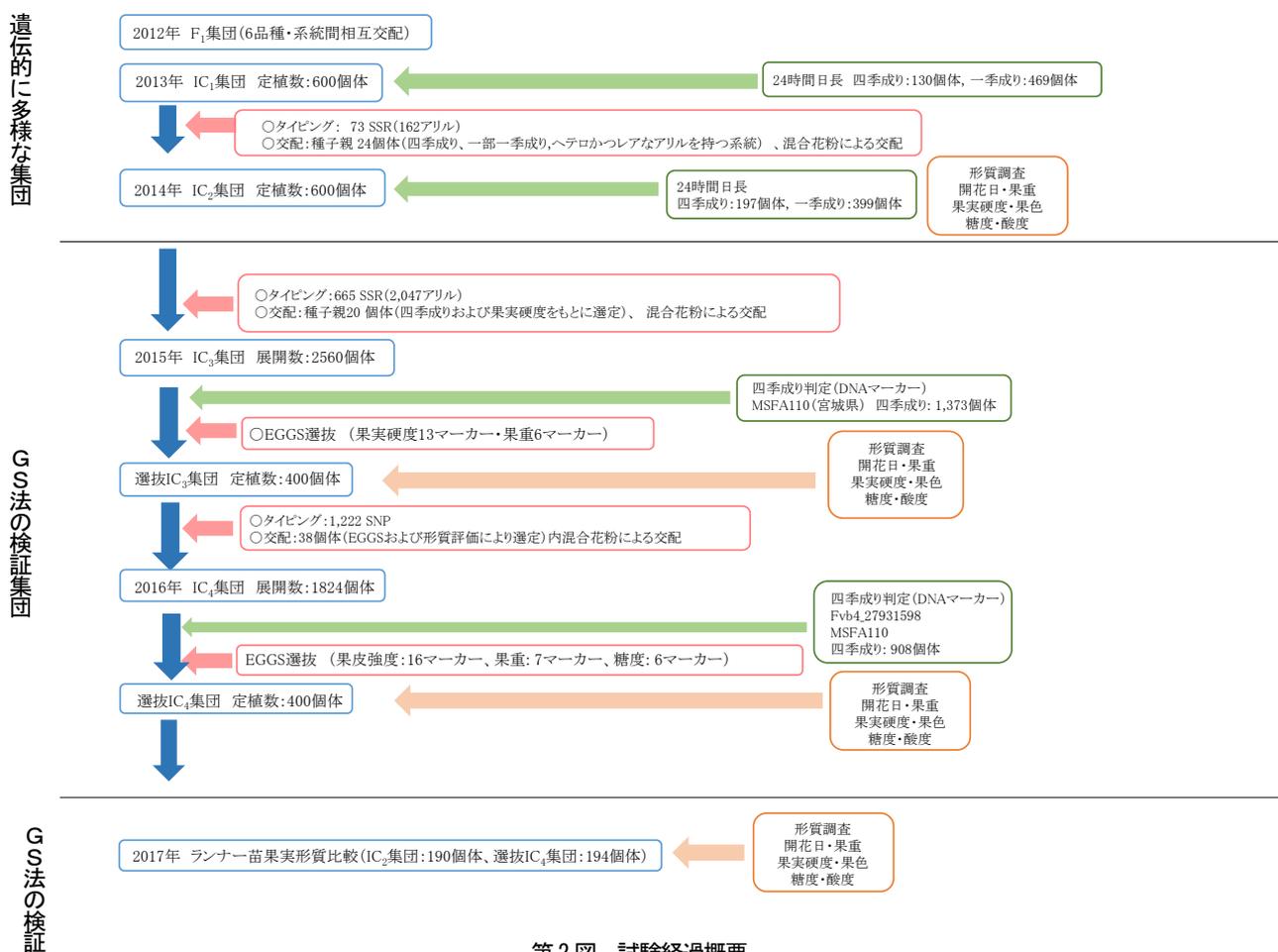
IC<sub>1</sub> 集団の作製は、栃木素材 3 号×古都華、かおり野×08-58-5、栃木 26 号×98-7-3 の交配により得られた F<sub>1</sub> 個体を、更に 6 組合せの混合花粉により相互交配を行った (第 2 表)。得られた種子

は、パーミキュライト培地に播種・発芽後、128 穴トレー (鹿沼土: くん炭=3:1) に仮植育苗し、各交配組合せ合計 1694 個体の実生苗を展開した。育苗後、無作為に各交配組合せ 100 個体、合計 600 個体を IC<sub>1</sub> 集団として選抜し、定植した。ほ場管理はいちご研究所慣行の方法で行った。四季成り性の判定は定植後の 24 時間日長処理 (2013 年 9 月 2 日~2013 年 11 月 22 日) により行った。IC<sub>2</sub> 集団の種子親選定のため、小葉 100mg より飯村ら (2012) の polyclar-VT を添加した CTAB 法により DNA 抽出を行い、Isobe *et al.* (2013) の SSR マーカーおよび方法よりシーケンサー (ABI PRISM 3730, Applied biosystems) を用いて 73 SSR (162 アレル) を検出した。検出アレルは、Gene Marker (Softgenetics) によりジェノタイプピングを行った。

第 1 表 四季成り性 MAGIC 集団 6 交配親の果実形質特徴

	栃木素材 3 号	08-58-5	栃木 26 号	98-7-3	古都華	かおり野
季性	四季成り	四季成り	一季成り	一季成り	一季成り	一季成り
硬さ	軟	やや軟	硬	硬	硬	やや硬
大きさ	特大	大	大	やや小	やや小	やや大
糖度	高	やや高	やや高	高	高	やや高
果皮色	淡赤	淡赤	淡赤	赤	赤	橙赤
果肉色	淡桃	橙赤	淡桃	淡赤	橙赤	橙赤

色枠は四季成りを示す。



第 2 図 試験経過概要

第 2 表 IC<sub>1</sub> 集団作製における交配組合せ

組合せ名	種子親	花粉親
GS1	(栃木26号×98-7-3)	× (栃木素材3号×古都華)
GS2	(栃木26号×98-7-3)	× (かおり野×08-58-5)
GS3	(かおり野×08-58-5)	× (栃木26号×98-7-3)
GS4	(かおり野×08-58-5)	× (栃木素材3号×古都華)
GS5	(栃木素材3号×古都華)	× (栃木26号×98-7-3)
GS6	(栃木素材3号×古都華)	× (かおり野×08-58-5)

四季成り性系統：栃木素材 3 号, 08-58-5

### 3. Inter-cross 第 2 世代 (IC<sub>2</sub>) の作製

IC<sub>2</sub> 集団の作製の模式図を第 3 図に示す。IC<sub>2</sub> 集団作製における交配は、①四季成り性、②IC<sub>1</sub> 集団におけるジェノタイプングの結果から、検出頻度が低いアリルおよびヘテロなローカスが多い個体を種子親として 24 個体選定し、集団全体の混合花粉により行った。播種育苗は II-2 と同様に行った。ほ場への展開は、1 種子親 25 個体、合計 600 個体を無作為に選抜し、定植した。

四季成り性の判定は、24 時間日長処理(2014 年 9 月 3 日～2014 年 11 月 30 日)で行い、2015 年 1 月 9 日まで開花を四季成り性と判定した。また、次世代において四季成り性連鎖 DNA マーカーによる実生苗選抜を行うため、MSFA110 (千葉ら, 2006) の適合性確認を行った。マーカー検出は、飯村ら (2012) による変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動で行った。

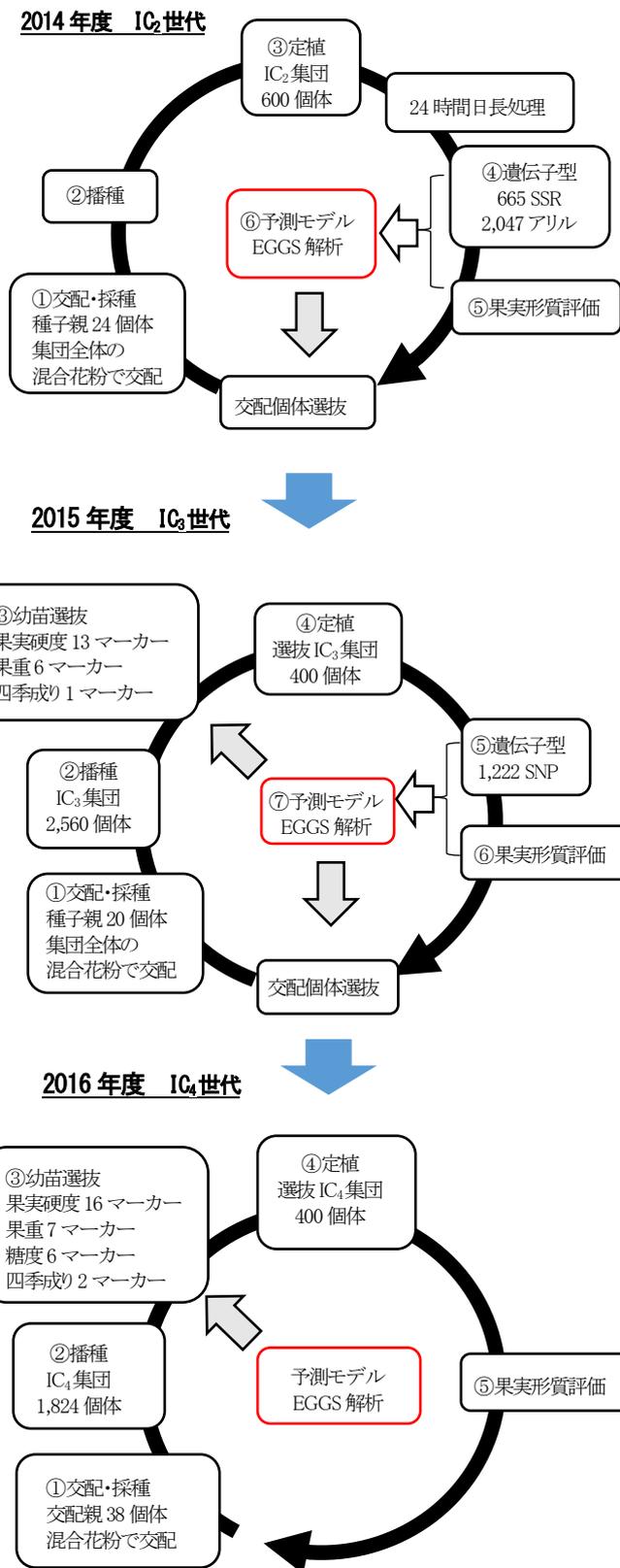
果実形質調査は、①果実硬度 (N/φ 2mm, CREEP METER RE2-3305C, Yamaden), ②果重 (g), ③糖度 (° Brix, Brixmeter RA410, Kyoto electronics manufacturing), ④酸度 (% , Coulometric acidity meter CAM-500 , Kyoto electronics manufacturing), ⑤果皮色 (L\*, a\*, b\*, Chroma meter CR-200, Minolta) とした。なお、サンプリングは、頂花房における第 2 果を基本とし、1 果実より各項目を測定した。なお、果実硬度については、2 か所測定を行った。ジェノタイプングは、665 SSR (2047 アリル) について II-2 と同様に行った。

EGGS 解析は、ジェノタイプングデータおよび果実硬度・果重形質データを用いて行った。機械学習のための訓練データは無作為抽出の 100 サンプル×1000 回とし、上位 20% に関与するアリルの予測 (MAX20%) で解析した。選抜用 DNA マーカーは、関与が推測されたマーカーのうち重み付け (weigh 値) 上位のマーカーを選定した。

### 4. Inter-cross 第 3 世代 (IC<sub>3</sub>) の作製

IC<sub>3</sub> 集団の作製の模式図は第 3 図に示す。IC<sub>3</sub> 集団作製における交配は、①四季成り性、②果実形質調査により果実硬度を重点として種子親 20 個体を選定、集団全体の混合花粉により交配を行った。播種育苗は II-2 と同様に行った。ただし、実生苗選抜を行うため、各種子親 128 個体、合計 2560 個体を育苗した。

実生苗選抜は、小葉 2mm×2mm を 96PCR プレートにサンプリング後、DNA は、アルカリポイル法 (Lee *et al.*, 2017) により抽出



第 3 図 IC<sub>2</sub>～IC<sub>4</sub> 集団作製模式図

2014 年度に IC<sub>2</sub> 集団、2015 年度に選抜 IC<sub>3</sub> 集団、2016 年度に選抜 IC<sub>4</sub> 集団を作製した。

し、EGGS 解析により果実形質に關与が推測されたアレルを II-2 と同様に検出した。同時に四季成り性個体の選抜のため、II-3 の MFSA110 による検出を行った。

検出された果実形質關与アレルは、選抜のため得点付けを行った。得点付けの基準は、EGGS 解析における weight 値が高い順を基本とし、果実硬度、果重の順に得点付けを行った。なお、2000 個体以上でアレルが検出された場合は得点付けを低くした。各個体合計得点数上位個体を選抜個体として 400 個体を定植した。果実形質調査は II-3 と同様にを行った。ただし、果実硬度に關しては、果皮強度 (N/φ2mm)、果肉硬度(N/φ2mm)も測定した。

ジェノタイプピングについても SNP マーカーに変更し、1222 SNP について TAS (Target Amplocon Sequencing) 法 (Shirasawa *et al.*, 2016) により検出した。果実形質データおよびジェノタイプピングデータは、II-3 と同様に EGG5 解析を行った。

### 5. Inter-cross 第 4 世代 (IC<sub>4</sub>) の作製

IC<sub>4</sub> 集団の作製の模式図は第 3 図に示す。IC<sub>4</sub> 集団作製における交配は、①EGGS 解析をもとにしたマーカー得点付け合計値が上位 20% の個体、②果実形質調査における上位 20% の個体、③クラスター解析 (R, UPGMA 法) をもとに行い、交配親 38 個体を選定し、交配親内で混合花粉による交配を行った。播種育苗は II-1 と同様にを行った。ただし展開規模は、各種子親 48 個体、合計 1824 個体とした。

実生苗選抜時の選抜 DNA マーカーは、EGGS 解析による weight 値が上位であった果皮強度、果重、糖度のそれぞれに關与する SNP マーカーを用いた。サンプリングおよび DNA 抽出は II-4 と同様にを行い、TAS 法によりマーカーの検出を行った。四季成り性個体の選抜は MFSA110 と新たに IC<sub>2</sub> 集団の一部を用いた SNP データ (データ未公表) から得られた Fvb4\_27931598 を用いた。MFSA110 は、II-2 と同様にシーケンサーによる検出を行い、Fvb4\_27931598 については TAS 法による検出を行った。選抜のための得点付けは果皮強度、果重、糖度の順にした以外、II-4 と同様にを行い、合計得点上位 400 個体を定植した。定植後の果実形質調査は II-4 と同様にを行った。

### 6. EGG5 解析による果実形質向上効果

実生苗における IC<sub>2</sub> 集団、選抜 IC<sub>3</sub> 集団、選抜 IC<sub>4</sub> 集団における果実形質 (果実硬度、果重、糖度) について比較検討した。また、IC<sub>2</sub> 集団および選抜 IC<sub>4</sub> 集団については採苗を行い、ランナー一苗による果実形質を比較した。各集団における果実形質は、平均値および標準偏差で表し、Tukey-kramer 法により有意差検定を行った (P<0.05)。

## III 結果

### 1. IC<sub>1</sub> 集団のジェノタイプピングおよび IC<sub>2</sub> 集団作製時種子親

### 選定

IC<sub>1</sub> 集団における 73 SSR によるジェノタイプピング結果は、交配組合せ GS1 で 25 マーカー、GS2 で 25 マーカー、GS3 で 27 マーカー、GS4 で 29 マーカー、GS5 で 23 マーカー、GS6 で 27 マーカーにおいて頻度の低いアレルが検出された。また、IC<sub>1</sub> 集団における四季成り個体については、GS1 で 5 個体、GS2 で 11 個体、GS3 で 28 個体、GS4 で 53 個体、GS5 で 13 個体、GS6 で 20 個体であった。集団全体の四季成り個体は、130 個体 (13.0%) であった。ジェノタイプピングおよび四季成り性を考慮し、選定した種子親を第 3 表に示す。GS1、GS2、GS4、GS5 の 4 交配組合せにおける種子親はすべて四季成り性を選定できた (第 3 表)。一方、GS3 および GS6 の 2 交配組合せについては、24 時間日長の影響により四季成り性個体の心止まりが発生したため、GS3 の 4 個体 (No.16, No.54, No.63, No.88)、GS6 の 3 個体 (No.41, No.66, No.88) が一季成り性個体の種子親となった (第 3 表)。

第 3 表 IC<sub>2</sub> 集団作製時における種子親および季性

グループ名	種子親		グループ名	種子親	
	個体No. <sup>1)</sup>	季性 <sup>2)</sup>		個体No. <sup>1)</sup>	季性 <sup>2)</sup>
GS1	No.15	四季成り	GS4	No.27	四季成り
	No.69	四季成り		No.38	四季成り
	No.73	四季成り		No.40	四季成り
	No.76	四季成り		No.93	四季成り
GS2	No.18	四季成り	GS5	No.18	四季成り
	No.34	四季成り		No.50	四季成り
	No.58	四季成り		No.76	四季成り
	No.85	四季成り		No.84	四季成り
GS3	No.16	一季成り	GS6	No.41	一季成り
	No.54	一季成り		No.51	四季成り
	No.63	一季成り		No.66	一季成り
	No.88	一季成り		No.83	一季成り

<sup>1)</sup> 種子親の個体 No. は IC<sub>2</sub> 集団の交配組合せ内の番号を示す。種子親の交配由来は GS1 ( (栃木 26 号×98-7-3) × (栃木素材 3 号×古都華) )、GS2 ( (栃木 26 号×98-7-3) × (かおり野×08-58-5) )、GS3 ( (かおり野×08-58-5) × (栃木 26 号×98-7-3) )、GS4 ( (かおり野×08-58-5) × (栃木素材 3 号×古都華) )、GS5 ( (栃木素材 3 号×古都華) × (栃木 26 号×98-7-3) )、GS6 ( (栃木素材 3 号×古都華) × (かおり野×08-58-5) )。

<sup>2)</sup> 色樹は四季成りを示す。

### 2. IC<sub>2</sub> 集団における四季成り性の確認

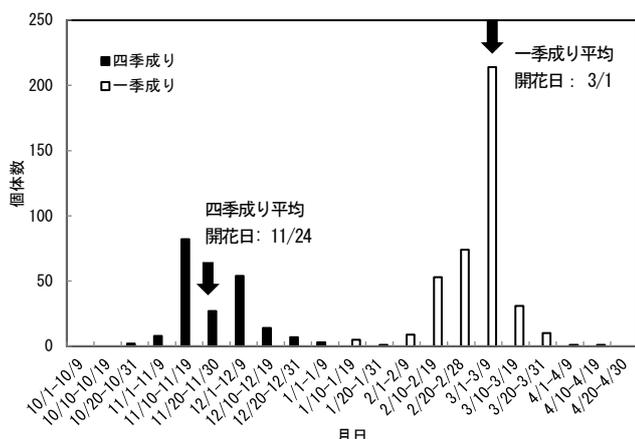
IC<sub>2</sub> 集団 600 個体における定植後 24 時間日長下で四季成り性個体を判定した結果を第 4 表に示す。IC<sub>2</sub> 集団のうち 596 個体で開花が判定できた (4 個体枯死)。四季成り性個体は 197 個体 (33.1%)、一季成り性個体は 399 個体 (66.9%) であった。各交配組合せにおける四季成り性個体は、GS1 で 30 体 (30.6%)、GS2 で 51 個体 (51.5%)、GS3 で 3 個体 (3.0%)、GS4 で 47 個体 (47.5%)、GS5 で 49 個体 (49.0%)、GS6 で 17 個体 (17.0%) であった。一季成り性個体を種子親に用いた GS3 および GS6 は、作出された四季成り性個体が少なかった。一季成り性個体の開花ピークは 2015 年 3 月 1 日～2015 年 3 月 9 日 (214 個体) であったが、四季成り性については 2014 年 11 月 10 日～2014 年 11 月 19 日 (82 個体) および 2014 年 12 月 1 日～2014 年 12 月 9 日 (54 個体) の二つのピークが確認できた (第 4 図)。四季成り

および一季成りの平均開花日については四季成りで 2014 年 11 月 24 日、一季成りで 2015 年 3 月 1 日であった (第 4 図)。四季成り性連鎖マーカー MFSA110 を用いて季性が判定された IC<sub>2</sub> 集団 596 個体を用いて、マーカーの適合率を判定した結果、四季成り性個体で 83.8%、一季成り性個体で 91.7%、合計で 89.1% の適合率であった (第 5 表)。本結果から MFSA110 は本集団における四季成り性判別に使用できると判断し、IC<sub>3</sub> 集団より本マーカーによる選抜を行うこととした。

第 4 表 IC<sub>2</sub> 集団における四季成り性と一季成り性の個体数

	個体数	開花 個体数	四季成り性 個体数	一季成り性 個体数
GS1	100	98	30	68
GS2	100	99	51	48
GS3	100	100	3	97
GS4	100	99	47	52
GS5	100	100	49	51
GS6	100	100	17	83
合計	600	596	197	399

電照による 24 時間日長処理は、定植後 (2014 年 9 月 3 日) から 2014 年 11 月 30 日まで実施した。四季成り性個体は、2015 年 1 月 9 日までに開花した個体とした。調査期間は 2014 年 10 月 22 日～2015 年 4 月 13 日とした。



第 4 図 IC<sub>2</sub> 集団における開花日の度数分布

調査個体：596 個体。24 時間日長処理および調査期間は第 4 表と同じ。

第 5 表 IC<sub>2</sub> 集団における MFSA110 の季性適合率

	個体数	MFSA110			適合率 (%) <sup>1)</sup>
		有	無	増幅不良	
四季成り性	197	165	32		83.8
一季成り性	399	33	364	2	91.7
合計	596	198	396	2	89.1

<sup>1)</sup> 増幅不良個体は適合率計算から除いた。

### 3. IC<sub>2</sub> 集団における EGGS 解析

IC<sub>3</sub> 集団 600 個体における 665 SSR (2024 アリル) のジェノタイプデータおよび果実形質 (果実硬度および果重) データを用いて EGGS 解析を行った結果、weight 値が算出されたアリルは、果実硬度で 533 アリル、果重で 402 アリルであった。そのうち weight 値上位の 19 アリル (果実硬度:13 アリル、果重:6 アリル) を実生苗選抜アリルとして選定した (第 6 表)。果実硬度 13 アリ

ルの染色体上の位置は、第 1 染色体および第 4 染色体が 3 アリル、第 5 染色体および第 6 染色体が 2 アリル、第 2 染色体および第 3 染色体が 1 アリル、不明が 1 アリルであった (第 6 表)。果重 6 アリルについては、第 1 染色体、第 2 染色体、第 3 染色体、第 5 染色体、第 7 染色体、不明が 1 マーカーであった (第 6 表)。なお、果重選抜アリルである FVES3198\_523、FVES0862\_175、FVES0391\_242 については、果実硬度においても関与が低いながら検出されたアリルであった (第 6 表)。

### 4. IC<sub>3</sub> 集団作製における種子親選定

IC<sub>3</sub> 集団作製時の選定した種子親 20 個体を第 7 表に示す。全て四季成り性個体とし、果実硬度に関してはすべて上位 20% に入る個体を選定した。また、この選定により、果重 4 個体、糖度 7 個体、果皮色 1 個体で上位 20% に入る個体が選定された。種子親における果実硬度および糖度の平均値は集団全体に対して有意に高い値であったが、果重については有意差が認められなかった (第 7 表)。酸度の平均値については種子親において有意に低かった (第 7 表)。一方、果皮色については、 $L^* \times b^*/a^*$  値が種子親において有意に高くなった。

### 5. 選抜 IC<sub>3</sub> 集団の作製

IC<sub>3</sub> 集団 2560 個体より選抜を行った結果、四季成り性連鎖マーカーである MFSA110 を持つ個体は、1374 個体 (53.7%) であった (第 8 表)。GS2-88 由来実生が 124 個体 (96.9%) 選抜であり、それ以外は、ほぼ半数の個体が選抜された (第 8 表)。EGSG 解析による果実硬度および果重に関与するマーカーによる選抜は、GS2-84 由来が 60 個体、GS2-88 由来が 56 個体であった (第 8 表)。なお、GS2-84 は果実硬度、果重、糖度のいずれも上位 20% に入る個体であった (第 7 表)。定植個体の上位は、GS2-84 由来が 42 個体、GS2-88 由来が 39 個体、GS4-73 由来が 31 個体と多かった (第 8 表)。

### 6. 選抜 IC<sub>3</sub> 集団における EGGS 解析

IC<sub>3</sub> 集団のジェノタイプデータおよび形質 (果実硬度、果重、糖度) データを用いて EGGS 解析を行った結果、weight 値が算出されたアリルは、果実硬度 1049 アリル (果実硬度 1:700 アリル、果実硬度 2:675 アリル、重複除く)、果皮強度アリル 1101 アリル (果皮強度 1:773 アリル、果皮強度 2:624 アリル、重複除く)、果肉硬度 1060 アリル (果肉硬度 1:754 アリル、果肉硬度 2:704 アリル、重複除く)、果重 630 アリル、糖度 613 アリルであった。そのうち、weight 値上位の 28 アリル (果皮強度:15 アリル、果重:7 アリル、糖度:6 アリル) を実生苗選抜アリルとして選定した (第 9 表、第 10 表)。果皮強度選抜 15 アリルにおける染色体上の位置は、第 6 染色体が 6 アリル、第 2 染色体が 3 アリル、第 5 染色体が 3 アリル、第 4 染色体が 2 アリル、第 3 染色体が 1 アリルであった (第 9 表)。果重 7 アリルについては、第 5 染色体が 3 アリル、第 1 染色体が 2 アリル、第 3 染色体および第 7 染色体はそ

第6表 IC<sub>2</sub>集団における EGGS 解析により果実硬度および果重において関与が推定されたアリル

選抜形質	アリル	連鎖地図 <sup>1)</sup>		<i>F. vesca</i> ゲノム <sup>1)</sup>		選抜 <sup>2)</sup> アリル	EGGS <sup>3)</sup>		実生選抜 <sup>4)</sup> 得点付け
		連鎖群	位置 (cM)	染色体	位置 (Mb)		Count	Weight	
果実硬度	FVES3680_249	4A	16.8	4	0.1	1	33	14.2	19
果実硬度	FVES0662_532			1	2.2	0	27	11.8	18
果実硬度	FAES0105_147	4D	29.0	4	26.7	0	14	10.5	17
果実硬度	FAES0378_166	1A	49.6						
		1A	65.4	1	6.6	0	24	10.2	16
		1D	16.2						
果実硬度	FVES1657_291	3A	44.0			1	21	9.3	15
		3D	29.1						
果実硬度	FVES2514_300			2	21.8	1	19	8.4	14
果実硬度	FVES0601_298			4	22.0	1	18	8.1	4
果実硬度	FVES1125_289	6D	45.6	6	38.6	0	17	7.8	2
果実硬度	FAES0440_299			5	13.1	1	17	7.7	5
果実硬度	FVES0237_349			3	2.2	0	18	7.5	13
果実硬度	FAES0070_309	6B	51.6	6	30.4	1	17	7.4	3
		6D	40.6						
果実硬度	FVES2587_121			1	2.3	0	17	7.4	12
果実硬度	FVES1816_299	5A	74.4	5	20.7	0	12	5.4	11
果重	FVES0326_199	1A	110.1	1	17.0	0	22	22.0	1
果重	FAES0085_241					1	18	10.8	7
果重	FVES0814_198	7B	0.0						
		7B	12.8	7	0.8	0	9	10.4	6
		7B	13.6						
		7D	37.7						
果重	FVES3198_523	5A	54.3	5	13.6	0	15	9.8	10
果重	FVES0862_175			2	1.9	0	16	9.6	9
果重	FVES0391_242			3	31.9	1	15	8.5	8

<sup>1)</sup> Strawberry GARDEN (<http://strawberry-garden.kazusa.or.jp/>) より抜粋した。

<sup>2)</sup> 選抜アリル型を示す (1 : アリル有, 0 : アリル無)。

<sup>3)</sup> EGGS 解析には果実形質調査データ (586 個体) および 665 SSR (2047 アリル, 599 個体) を用い、MAX20%により行った。Count はトレーニング解析 (抽出 100 サンプル×1000 回) で検出された数を示し、weight はアリルに対する重み付け (係数) を示す。

<sup>4)</sup> 実生苗選抜時に使用したマーカーは weight 値上位かつアリルピークが良好なものを選定した。得点付けは weight 値が高いものを高得点とした。また、実生苗のタイピングにおいて全個体数の 80%以上検出されたアリルは低得点とした。

第7表 IC<sub>3</sub>作製時における種子親<sup>1)</sup>の果実形質値および季性

個体名	開花日	果実硬度 (N)	果重 (g)	糖度 (°Brix)	酸度 (%)	果皮色 (L* × b*/a*)	季性	IC <sub>1</sub> 種子親 由来
GS1-10	11.24	0.76	17.8	8.4	0.49	47.8	四季成り	1-No.15
GS1-25	11.24	0.74	25.0	9.2	0.36	33.5	四季成り	1-No.15
GS1-72	11.24	0.69	21.7	8.2	0.60	36.0	四季成り	1-No.76
GS1-75	11.17	0.67	18.8	9.2	0.41	40.7	四季成り	1-No.76
GS2-43	11.10	0.77	14.6	9.4	0.49	37.4	四季成り	2-No.34
GS2-45	11.17	0.69	16.9	7.9	0.30	44.9	四季成り	2-No.34
GS2-48	11.10	0.71	22.6	8.1	0.47	43.5	四季成り	2-No.34
GS2-65	12.1	0.67	27.6	9.4	0.29	29.6	四季成り	2-No.58
GS2-75	12.8	0.77	18.6	10.0	0.44	31.4	四季成り	2-No.58
GS2-76	12.1	0.70	22.8	7.4	0.40	34.0	四季成り	2-No.85
GS2-84	12.1	0.76	30.6	10.2	0.42	41.9	四季成り	2-No.85
GS2-88	12.8	0.89	20.7	10.5	0.45	26.9	四季成り	2-No.85
GS3-11	11.17	0.69	24.1	9.2	0.44	50.8	四季成り	3-No.16
GS4-68	12.8	0.69	23.9	7.6	0.44	23.0	四季成り	4-No.40
GS4-73	12.1	0.69	18.2	10.8	0.40	26.7	四季成り	4-No.40
GS4-74	11.10	0.72	20.6	8.8	0.47	39.0	四季成り	4-No.40
GS4-96	11.17	0.67	22.8	9.3	0.40	58.6	四季成り	4-No.93
GS5-17	12.1	0.82	16.5	8.8	0.45	28.8	四季成り	5-No.18
GS6-64	11.17	0.78	24.6	9.2	0.61	44.8	四季成り	6-No.66
GS6-75	12.1	0.71	21.0	10.5	0.43	38.7	四季成り	6-No.66
種子親 <sup>2)</sup>		0.73±0.06	21.5±3.9	9.1±1.0	0.44±0.08	37.9±9.0		
集団全体 <sup>2)</sup>		0.57±0.10	20.2±6.0	8.1±1.6	0.52±0.14	33.3±9.2		
有意差 <sup>3)</sup>		**	ns	**	**	*		

<sup>1)</sup> 種子親の選定は果実形質を総合的に判断して選定した。各形質の色相は上位 20%の値を示す。

<sup>2)</sup> 種子親および集団全体の数値は、平均値±標準偏差を示す。

<sup>3)</sup> 有意差は t-検定により行った (\*\*: p<0.01, \*: p<0.05, ns: 有意差なし)。

第 8 表 IC<sub>3</sub> 集団における実生苗選抜結果

種子親	実生苗 (A)	四季成 <sup>1)</sup> マーカー選抜 (B)	A/B (%)	果実形質関与 <sup>2)</sup> マーカー選抜 (C)	C/A (%)	定植 個体 (D)	D/A (%)
GS1-10	128	66	51.6	36	28.1	29	22.7
GS1-25	128	69	53.9	24	18.8	21	16.4
GS1-72	128	65	50.8	4	3.1	4	3.1
GS1-75	128	63	49.2	17	13.3	15	11.7
GS2-43	128	70	54.7	19	14.8	17	13.3
GS2-45	128	63	49.2	19	14.8	13	10.2
GS2-48	128	69	53.9	37	28.9	26	20.3
GS2-65	128	75	58.6	18	14.1	16	12.5
GS2-75	128	63	49.2	20	15.6	15	11.7
GS2-76	128	74	57.8	23	18.0	18	14.1
GS2-84	128	70	54.7	60	46.9	42	32.8
GS2-88	128	124	96.9	56	43.8	39	30.5
GS3-11	128	72	56.3	31	24.2	29	22.7
GS4-68	128	51	39.8	27	21.1	20	15.6
GS4-73	128	59	46.1	40	31.3	31	24.2
GS4-74	128	50	39.1	11	8.6	10	7.8
GS4-96	128	68	53.1	15	11.7	11	8.6
GS5-17	128	75	58.6	17	13.3	16	12.5
GS6-64	128	61	47.7	16	12.5	9	7.0
GS6-75	128	67	52.3	21	16.4	19	14.8
合計	2,560	1,374	53.7	511	12.5	400	15.6

<sup>1)</sup> MFS110 を使用した。

<sup>2)</sup> 果実形質関与マーカーによる選抜は、定植本数 (400 個体) + α とした。不良苗および枯死苗を除き合計得点上位より定植した。

それぞれ 1 アリルであった (第 10 表)。糖度 6 アリルについては、第 6 染色体が 2 アリル、第 2 染色体が 2 アリル、第 1 染色体および第 3 染色体はそれぞれ 1 アリルであった (第 10 表)。

また、果皮強度選抜アリル Fvb6\_28585061\_C は、果実硬度および果肉硬度におも上位検出アリル、Fvb2\_27698779\_Y, Fvb4\_8178306\_G, Fvb5\_13150539\_C, Fvb6\_6197764\_C, Fvb6\_10286638\_R については果実硬度において上位検出アリルであったため選定した (第 9 表)。

### 7. IC<sub>4</sub> 集団作製における交配親の選定

IC<sub>4</sub> 集団作製における交配親の選定には EGGS 解析結果と果実形質調査結果を考慮して 38 個体を選定した。EGGS 解析後の得点付け合計値の結果は、果実硬度 21 個体、果皮強度 26 個体、果肉硬度 20 個体、果重 10 個体、糖度 8 個体が上位 20% に入った (第 11 表)。GS2-43-120, GS2-84-038, GS6-75-009 については上位 20% 以内の項目はなかったが、形質測定値では GS2-43-120 が果実硬度、果皮強度、糖度、果皮色、GS2-84-038 が果実硬度および果皮強度、GS6-75-009 が果皮強度および果重で上位 20% 以内であったため交配親に選定した (第 11 表、第 12 表)。形質測定値における上位 20% 以内の個体は、果実硬度 24 個体、果皮強度 25 個体、果肉硬度 14 個体、果重 19 個体、糖度 6 個体、果皮色 7 個体であった (第 12 表)。GS2-84-022 および GS2-88-020 については 20% 以内の項目はなかったが、EGGS 解析の結果から GS2-84-022 が果実硬度、果皮強度、糖度、GS2-88-020 が果実硬度および果肉硬度において上位 20% 以内であったため選定した (第 11 表、第 12 表)。また、GS2-88-020

については、良食味であり、後代のことを考慮して交配親とした (第 12 表)。交配親における果実形質の平均値は、集団全体と比較して、果実硬度、果皮強度、果肉硬度、果重において有意に高かった (第 12 表)。果皮色については、L\*b\*/a\*値が有意に低くなり、果皮色が濃いものが選定された (第 12 表)。糖度および酸度については、集団全体との有意差はなかった (第 12 表)。また、他の形質における遺伝的多様性を維持するため実施したクラスター解析の結果は、10 のクラスターに分類された (第 12 表)。

### 8. 選抜 IC<sub>4</sub> 集団の作製

IC<sub>3</sub> 集団 1,824 個体より選抜を行った結果、四季成り性連鎖マーカーである MFS110 および Fvb4\_27931598 を持つ個体は、919 個体 (50.4%) であった (第 13 表)。合計マーカー得点 148 点以上で 400 個体が選抜されたが、生育不良苗および枯死苗を除くと 400 個体が確保できなかつたため、最終的に合計マーカー得点 138 点以上の 493 個体から 400 個体を定植した (第 13 表)。種子親別に定植苗割合を比較した結果、5-17\_041 が 25 個体 (52.1%)、2-84\_009 および 2-88\_017 が 23 個体 (47.9%) と多かった (第 13 表)。一方、4-73\_038 について選抜基準に達する個体が得られなかった (第 13 表)。

### 9. EGGS 解析による果実硬度選抜効果

#### (1) 実生苗における世代間果実硬度比較

3 世代 (IC<sub>2</sub> 集団, 選抜 IC<sub>3</sub> 集団, 選抜 IC<sub>4</sub> 集団) における実生苗の果実硬度度数分布を第 5 図、各果実形質調査比較を第 14 表に示す。果実硬度は、世代が進むごとに上昇を示した (第 5 図)。果実硬度の平均値は、IC<sub>2</sub> 集団 0.57 N/φ2mm (硬度については以下 N で表示)、選抜 IC<sub>3</sub> 集団 0.62 N、選抜 IC<sub>4</sub> 集団 0.71 N とで世代が進むごとに有意に向上した。果皮強度および果肉硬度に関しては、選抜 IC<sub>3</sub> 集団および選抜 IC<sub>4</sub> 集団にて測定した。果皮強度の平均値は、選抜 IC<sub>3</sub> 集団 0.41 N、選抜 IC<sub>4</sub> 集団 0.49 N と有意に上昇した。果肉硬度の平均値についても選抜 IC<sub>3</sub> 集団 0.21 N、選抜 IC<sub>4</sub> 集団 0.22 N と若干な上昇であったが有意差を示した。また、選抜 IC<sub>4</sub> 集団では、選抜 IC<sub>3</sub> 集団との比較において、果肉硬度よりも果皮強度の上昇が大きい傾向があった (第 14 表)。MAGIC 集団親 6 品種・系統との対比は、果実硬度が IC<sub>2</sub> 集団で 0.88、IC<sub>3</sub> 集団で 0.95、IC<sub>4</sub> 集団で 1.09 であった (表 14 表)。果皮強度については、IC<sub>3</sub> 集団で 0.87、IC<sub>4</sub> 集団で 1.04 であった (表 14 表)。果実硬度および果皮強度は、IC<sub>4</sub> 集団で MAGIC 親と同等の水準となった。果肉硬度については、IC<sub>3</sub> 集団で 1.17、IC<sub>4</sub> 集団で 1.22 となり、親品種・系統より向上を示した。一方、果重および糖度については、果重の平均値が IC<sub>2</sub> 集団 20.2 g、選抜 IC<sub>3</sub> 集団 18.5 g、選抜 IC<sub>4</sub> 集団 22.6 g と世代が進むことには向上を示さず、選抜効果は認められなかった (第 14 表)。同様に糖度についても IC<sub>2</sub> 集団 8.1 °Brix、選抜 IC<sub>3</sub> 集団 8.8 °Brix、選抜 IC<sub>4</sub> 集

第9表 選抜 IC<sub>3</sub>集団において推測された果実硬度, 果皮強度, 果肉硬度関与アリル<sup>1)</sup>

マーカー <sup>2)</sup>	選抜 <sup>2)</sup> アリル	EGGS <sup>3)</sup>		交配親 <sup>4)</sup> 得点付け	実生選抜 <sup>5)</sup> 得点付け	マーカー <sup>2)</sup>	選抜 <sup>2)</sup> アリル	EGGS <sup>3)</sup>		交配親 <sup>4)</sup> 得点付け	実生選抜 <sup>5)</sup> 得点付け
		Count	Weight					Count	Weight		
果実硬度1						果実硬度2					
Fvb6_10286638	R	18	8.53	10		Fvb1_1620443	A	7	5.22	10	
Fvb7_14946675	A	15	7.13	9		Fvb7_7046059	Y	11	5.13	9	
Fvb2_27698779	Y	16	7.10	8		Fvb2_23401320	R	10	4.66	8	
Fvb6_28585061	C	13	6.20	7		Fvb1_3313280	A	9	4.56	7	
Fvb6_6197764	C	12	6.01	6		Fvb1_6240900	C	10	4.46	6	
Fvb2_27818475	T	11	5.17	5		Fvb7_19707698	A	10	4.37	5	
Fvb1_3313280	A	9	4.94	4		Fvb7_14946675	A	9	4.31	4	
Fvb6_34920655	Y	10	4.83	3		Fvb6_34544700	R	10	4.27	3	
Fvb4_8178306	G	9	4.31	2		Fvb6_19141973	Y	9	4.23	2	
Fvb3_6577170	K	9	4.13	1		Fvb2_27698779	Y	9	3.91	1	
Fvb5_5503129	M	9	4.12			Fvb6_6197764	C	9	3.81		
Fvb7_14121741	G	6	3.98			Fvb6_33267136	Y	9	3.76		
Fvb5_13150539	C	8	3.90			Fvb7_16491158	Y	8	3.43		
Fvb4_32458766	A	6	3.76			Fvb1_5921068	Y	7	3.27		
Fvb3_27633852	T	8	3.46			Fvb4_3351922	K	7	3.23		
果皮強度1						果皮強度2					
Fvb6_28585061	C	19	9.34	10	22	Fvb6_10839343	A	14	6.23	10	22
Fvb4_8178306	G	18	8.03	9	21	Fvb3_4794044	C	10	4.86	9	21
Fvb6_6197764	C	12	5.70	8	20	Fvb2_15096163	Y	8	3.88	8	20
Fvb2_27698779	Y	12	5.46	7		Fvb5_16499181	K	6	3.15	7	19
Fvb7_16080143	R	10	4.77	6	19	Fvb6_5359591	Y	7	3.12	6	
Fvb4_32094743	R	10	4.65	5	18	Fvb6_11175081	C	7	3.09	5	
Fvb5_13150539	C	10	4.62	4	17	Fvb2_2694083	Y	7	2.94	4	18
Fvb2_24977751	C	9	4.29	3	16	Fvb3_22697267	C	4	2.90	3	
Fvb2_16719923	C	6	4.21	2		Fvb1_6063346	G	6	2.76	2	
Fvb5_10528262	R	9	3.88	1	15	Fvb5_9272984	G	6	2.75	1	
Fvb6_10286638	R	8	3.68		14	Fvb6_3721544	G	6	2.69		17
Fvb7_4960091	T	8	3.58			Fvb7_22017056	Y	4	2.69		
Fvb7_2471080	M	8	3.47			Fvb5_5694210	G	6	2.60		
Fvb7_13300296	C	7	3.46			Fvb1_18244957	A	6	2.55		
Fvb7_14946675	A	7	3.34			Fvb2_19713361	R	6	2.48		
果肉硬度1						果肉硬度2					
Fvb1_1620443	A	10	7.09	10		Fvb7_5247751	R	15	6.91	10	
Fvb5_8532203	R	12	5.47	9		Fvb1_21216303	T	8	5.57	9	
Fvb7_5930276	R	10	4.23	8		Fvb2_7604863	C	10	4.52	8	
Fvb2_27818475	T	9	3.83	7		Fvb7_14946675	A	9	4.21	7	
Fvb5_6115663	T	5	3.77	6		Fvb6_34920655	Y	10	4.15	6	
Fvb1_4222175	A	6	3.75	5		Fvb2_27818475	T	9	4.04	5	
Fvb1_3313280	A	8	3.63	4		Fvb6_28585061	C	9	4.04	4	
Fvb5_5503129	M	8	3.54	3		Fvb3_5345060	Y	8	3.62	3	
Fvb6_28585061	C	7	3.44	2		Fvb5_510371	G	8	3.54	2	
Fvb2_24205316	G	8	3.41	1		Fvb1_13714386	A	5	3.53	1	
Fvb5_44691	T	7	3.31			Fvb1_11129760	Y	7	3.51		
Fvb1_18244957	A	7	3.08			Fvb3_1938204	A	7	3.17		
Fvb6_14684763	T	7	3.08			Fvb1_5921068	Y	7	3.16		
Fvb2_15687347	G	7	3.01			Fvb2_3354305	Y	7	3.07		
Fvb3_20345596	A	4	2.91			Fvb2_2856399	R	6	2.75		

<sup>1)</sup> 各マーカーはEGGS解析におけるweight値上位15マーカーを示す。果実硬度, 果皮強度, 果肉硬度は2測定値を解析に用いた。  
<sup>2)</sup> マーカー名は, *F. vesca*上の染色体および位置を示す(例: Fvb6\_10286638は第6染色体の10286638bpを示す)。色枠は果実硬度, 果皮強度, 果肉硬度間で共通に2個以上検出されたマーカーを示す。枠は1および2で共通に検出されたアリルを示す。  
<sup>3)</sup> EGGS解析には果実形質調査データ(370個体)および1222SNPデータ(399個体)を用い, MAX20%により行った。Countはトレーニング解析(抽出100サンプル×1000回)で検出された数を示し, weightはアリルに対する重み付け(係数)を示す。  
<sup>4)</sup> 交配親の得点付けは, weight値上位個体より順に点数を付けた。  
<sup>5)</sup> 実生苗選抜時に使用したマーカーは, weight値上位かつプライマーが設計可能なものを選定し, 得点付けした。実生苗の得点付けは, ①weight値順, ②果皮強度を上位次に果重, その次に精度とした。

第10表 選抜 IC<sub>3</sub>集団において推測された果重および糖度関与マーカー<sup>1)</sup>

果重マーカー <sup>2)</sup>	選抜アリル	EGGS <sup>3)</sup>		交配親 <sup>4)</sup> 得点付け	実生選抜 <sup>5)</sup> 得点付け	糖度マーカー <sup>2)</sup>	選抜アリル	EGGS <sup>3)</sup>		交配親 <sup>4)</sup> 得点付け	実生 <sup>5)</sup> 選抜
		Count	Weight					Count	Weight		
Fvb1_6812083	C	8	6.21	10	13	Fvb6_36319009	A	11	5.27	10	6
Fvb6_3721544	R	10	4.58	9		Fvb6_19977153	A	8	5.10	9	5
Fvb5_10861758	T	9	4.49	8	12	Fvb6_10286638	G	6	4.47	8	
Fvb7_11925737	G	10	4.39	7	11	Fvb2_13624719	T	9	4.30	7	4
Fvb5_11151236	A	9	4.35	6	10	Fvb3_13737684	G	9	4.21	6	3
Fvb3_27396126	M	9	4.24	5	9	Fvb7_11925737	R	9	3.99	5	
Fvb1_443755	Y	9	4.17	4	8	Fvb6_26226633	C	8	3.74	4	
Fvb5_8559060	G	9	3.86	3	7	Fvb6_10666816	A	6	3.69	3	
Fvb2_20488958	Y	8	3.84	2		Fvb7_18535233	Y	8	3.53	2	
Fvb6_34106252	G	5	3.76	1		Fvb1_13714386	A	5	3.42	1	
Fvb2_7604863	M	8	3.65			Fvb2_27843552	R	7	3.33		2
Fvb3_23115684	G	5	3.59			Fvb1_14324924	Y	7	3.31		1
Fvb6_32716282	Y	8	3.51			Fvb5_23931654	G	7	3.1		
Fvb7_3535406	A	7	3.34			Fvb6_19141973	C	6	2.9		
Fvb3_11814319	T	7	3.25			Fvb3_29327870	K	6	2.83		

<sup>1)</sup> 各マーカーはEGGS解析におけるweight値上位15マーカーを示す。

<sup>2)</sup> マーカー名は、*F. vesca*上の染色体および位置を示す(例: Fvb1\_6812083は第1染色体の6812083bpを示す)。

<sup>3)</sup> EGGS解析には果実形質調査データ(370個体)および1222SNPデータ(399個体)を用い、MAX20%により行った。Countはトレーニング解析(抽出100サンプル×1000回)で検出された数を示し、weightはアリルに対する重み付け(係数)を示す。

<sup>4)</sup> 交配親の得点付けは、weight値上位個体より順に点数を付けた。

<sup>5)</sup> 実生苗選抜時に使用したマーカーは、weight値上位かつプライマーが設計可能なものを選定した。実生苗の得点付けは、①weight値順、②果皮強度を上位、次に果重、その次に糖度とした。

第11表 IC<sub>4</sub>集団作製時における交配親のEGGS解析による得点付け合計値<sup>1)</sup>

個体名	果実硬度1(N)	果皮強度1(N)	果肉硬度2(N)	果実硬度2(N)	果皮強度2(N)	果肉硬度2(N)	果重(g)	糖度(Brix)
GS1-10-026	38	31	5	29	34	25	15	34
GS1-10-112	30	29	18	32	42	23	38	17
GS1-25-033	22	30	1	18	36	6	27	15
GS1-25-063	27	40	27	12	25	19	3	18
GS1-75-065	19	33	13	17	19	8	15	22
GS1-75-074	15	14	19	9	32	19	27	17
GS2-43-120	17	11	9	16	27	14	19	27
GS2-48-075	22	40	23	29	26	7	22	19
GS2-76-035	28	39	26	17	27	33	7	23
GS2-84-009	20	34	19	16	16	18	19	30
GS2-84-019	34	37	21	34	34	41	21	30
GS2-84-022	32	33	20	22	19	22	7	44
GS2-84-030	29	33	40	37	38	27	28	6
GS2-84-033	42	22	28	24	19	36	32	21
GS2-84-038	1	7	21	17	29	3	6	8
GS2-84-053	14	14	20	26	43	5	31	21
GS2-84-066	17	33	25	16	0	15	7	14
GS2-84-088	5	10	37	32	45	23	2	8
GS2-84-117	19	33	23	20	5	13	38	23
GS2-88-017	18	19	34	18	20	14	30	23
GS2-88-020	13	9	35	39	7	19	21	19
GS2-88-021	16	37	19	13	10	6	15	30
GS2-88-022	19	25	31	23	11	9	37	16
GS2-88-088	21	17	19	29	28	23	45	25
GS2-88-099	18	31	32	23	8	16	7	31
GS3-11-020	16	27	36	21	30	13	42	5
GS3-11-117	32	44	33	26	26	9	27	12
GS4-68-105	32	30	11	18	43	14	12	23
GS4-73-023	32	41	29	5	21	12	17	19
GS4-73-038	24	15	35	28	30	13	1	20
GS4-73-040	51	41	31	33	33	37	19	15
GS4-73-056	8	16	24	5	39	5	48	15
GS4-96-116	34	31	3	38	7	25	26	26
GS5-17-001	34	37	18	10	26	23	16	26
GS5-17-041	15	21	20	19	23	20	20	31
GS5-17-073	46	43	27	23	25	24	10	11
GS6-64-073	12	14	9	7	18	12	17	29
GS6-75-009	24	28	8	9	28	7	13	18

<sup>1)</sup> 色枠は、EGGS解析におけるweight値順に得点付けした合計値上位20%を示す。

第 12 表 IC<sub>4</sub> 集団作製時における交配親の果実形質値<sup>1)</sup>

個体名	果実硬度 (N)	果皮強度 (N)	果肉硬度 (N)	果重 (g)	糖度 (°Brix)	酸度 (%)	果皮色 (L* × b*/a*)	食味 <sup>2)</sup>	クラスター No. <sup>3)</sup>
GS1-10-026	0.85	0.58	0.27	16.4	8.0	0.39	19.7		1
GS1-10-112	0.82	0.61	0.21	26.0	8.7	0.55	30.3		1
GS1-25-033	0.74	0.54	0.20	17.9	7.8	0.58	39.0		3
GS1-25-063	0.88	0.59	0.29	15.3	8.6	0.64	41.3		2
GS1-75-065	0.76	0.58	0.19	15.3	9.2	0.47	29.2		7
GS1-75-074	0.58	0.43	0.15	18.5	10.7	0.52	42.6		8
GS2-43-120	0.88	0.67	0.21	19.5	10.4	0.31	27.1		1
GS2-48-075	0.74	0.54	0.20	26.1	7.9	0.37	46.7		1
GS2-76-035	1.01	0.67	0.35	17.9	9.8	0.57	36.4		5
GS2-84-009	0.70	0.44	0.26	23.0	10.7	0.43	40.0	○	4
GS2-84-019	0.82	0.47	0.35	28.3	8.9	0.42	44.0		4
GS2-84-022	0.62	0.42	0.20	17.3	9.2	0.45	31.2		4
GS2-84-030	1.02	0.59	0.43	20.4	9.1	0.55	42.1		4
GS2-84-033	0.77	0.59	0.18	38.4	8.8	0.49	40.0		4
GS2-84-038	0.75	0.57	0.19	22.6	8.0	0.41	32.6		4
GS2-84-053	0.73	0.56	0.17	29.3	8.2	0.44	27.5		4
GS2-84-066	0.72	0.47	0.25	19.0	10.4	0.42	46.5		4
GS2-84-088	0.88	0.59	0.29	33.0	9.5	0.65	39.7		4
GS2-84-117	0.67	0.48	0.19	31.9	8.7	0.52	49.4		4
GS2-88-017	0.69	0.43	0.26	27.7	8.6	0.49	43.5		9
GS2-88-020	0.66	0.45	0.21	20.2	9.5	0.37	41.6	○	4
GS2-88-021	0.68	0.45	0.23	25.0	9.9	0.40	26.8		1
GS2-88-022	0.84	0.57	0.27	31.2	5.6	0.35	21.9		9
GS2-88-088	0.76	0.46	0.31	24.7	10.6	0.57	31.6		9
GS2-88-099	0.83	0.55	0.28	25.9	9.8	0.45	20.1		9
GS3-11-020	0.76	0.53	0.23	24.8	7.8	0.41	44.8		3
GS3-11-117	0.89	0.62	0.27	21.0	8.8	0.48	40.5		3
GS4-68-105	0.69	0.52	0.18	23.8	9.2	0.40	32.6		5
GS4-73-023	0.76	0.57	0.20	21.0	9.6	0.39	31.0		5
GS4-73-038	0.74	0.52	0.22	16.4	8.7	0.45	30.0		5
GS4-73-040	0.85	0.59	0.26	24.0	9.6	0.60	34.8		6
GS4-73-056	0.83	0.62	0.21	27.1	9.5	0.55	29.7		5
GS4-96-116	0.66	0.47	0.20	27.6	7.9	0.34	45.9		3
GS5-17-001	0.79	0.56	0.23	18.9	8.5	0.45	33.3		3
GS5-17-041	0.72	0.50	0.23	15.7	10.9	0.65	25.5		3
GS5-17-073	0.90	0.55	0.35	18.0	7.1	0.34	35.6		3
GS6-64-073	0.67	0.48	0.19	33.4	9.8	0.48	32.1		10
GS6-75-009	0.71	0.54	0.17	27.5	9.5	0.54	49.0		10
交配親 <sup>4)</sup>	0.77±0.10	0.53±0.07	0.24±0.06	23.4±5.8	9.0±1.1	0.47±0.09	35.7±8.1		
集団全体 <sup>4)</sup>	0.62±0.15	0.41±0.11	0.21±0.06	18.5±6.3	8.8±1.4	0.48±0.10	36.1±7.8		
有意差 <sup>5)</sup>	**	**	**	**	ns	ns	**		

<sup>1)</sup> 色相は、調査した 370 個体における形質値上位 20%を示す (食味は 4 個体のうちの 2 個体)。

<sup>2)</sup> ○は食味調査で良食味の個体を示す。

<sup>3)</sup> クラスター解析は R1 における UPGMA 法により行った (10 クラスター)。

<sup>4)</sup> 交配親および集団全体の値は、平均値±標準偏差を示す。

<sup>5)</sup> 有意差は t-検定により行った (\*\*: p<0.01, ns: 有意差なし)。

団 8.4° Brix と世代が進むごとには向上を示さなかった (第 14 表)。MAGIC 集団親 6 品種・系統との対比は、果重が IC<sub>2</sub> 集団で 0.72, IC<sub>3</sub> 集団で 0.66, IC<sub>4</sub> 集団で 0.80, 糖度が IC<sub>2</sub> 集団で 0.82, IC<sub>3</sub> 集団で 0.89, IC<sub>4</sub> 集団で 0.85 であり、親品種・系統の水準に達しなかった (第 14 表)。

## (2) ランナー苗における世代間果実硬度比較

ランナー苗における果実硬度は、実生苗と同様に IC<sub>4</sub> 集団で向上を示した (第 6 図)。果実硬度の平均値は IC<sub>2</sub> 集団 0.65 N, 選抜 IC<sub>4</sub> 集団 0.77 N, 果皮強度の平均値は IC<sub>2</sub> 集団 0.46 N, 選抜 IC<sub>4</sub> 集団 0.55 N, 果肉硬度の平均値は IC<sub>2</sub> 集団 0.18 N, 選抜 IC<sub>4</sub> 集団 0.22 N と有意な上昇を示し、向上効果が確認できた (第 15 表)。果重については IC<sub>2</sub> 集団 23.0 g, 選抜 IC<sub>4</sub> 集団 22.7 g と同等であり選抜効果が認められなかったが (第 15 表)、糖度について

は IC<sub>2</sub> 集団 9.3° Brix, 選抜 IC<sub>4</sub> 集団 9.7° Brix と有意な上昇を示した (第 15 表)。MAGIC 集団親 6 品種・系統との対比では、IC<sub>2</sub> 集団では 1 以下であった (第 15 表)。選抜 IC<sub>4</sub> 集団では、果実硬度が 1.01, 果肉硬度が 1.21 となった (第 15 表)。果皮強度に関しては 0.94 であった (第 15 表)。四季成り性親 2 系統のみ対比では、選抜 IC<sub>4</sub> 集団で、果実硬度が 1.10, 果肉硬度が 1.53 と向上し、果皮硬度はほぼ 1 であった (第 15 表)。果重については IC<sub>2</sub> 集団で 0.79 および選抜 IC<sub>4</sub> 集団で 0.77, 糖度については IC<sub>2</sub> 集団で 1.11, 選抜 IC<sub>4</sub> 集団で 1.14 と変化を示さなかった (第 15 表)。

## IV 考察

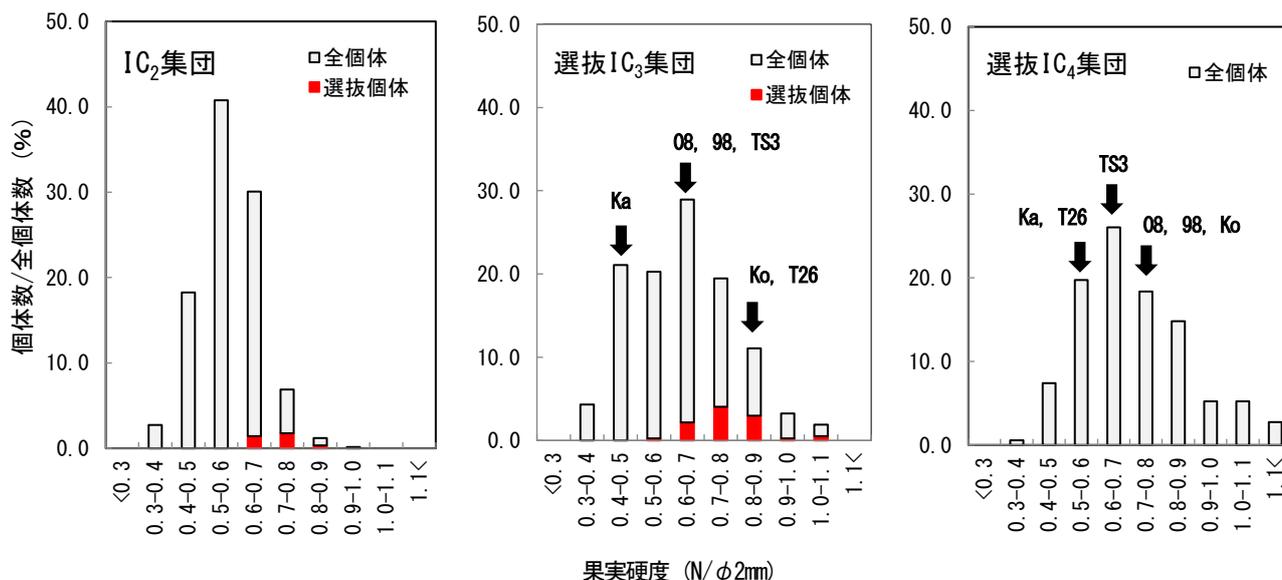
本研究は、四季成り性 MAGIC 集団を育成後、GS 法の一つである EGGS 法により果実硬度向上効果について検討を行った。

第13表 IC<sub>4</sub>集団における実生苗選抜結果

種子親	実生苗 (A)	四季成り個体 (B)	B/A (%)	EGGS選抜 (C) <sup>1)</sup>	C/A (%)	定植個体数 (D) <sup>2)</sup>	D/A (%)
1-10_026	48	17	35.4	4	8.3	4	8.3
1-10_112	48	18	37.5	5	10.4	4	8.3
1-25_033	48	29	60.4	21	43.8	19	39.6
1-25_063	48	20	41.7	10	20.8	8	16.7
1-75_065	48	17	35.4	7	14.6	6	12.5
1-75_074	48	26	54.2	17	35.4	12	25.0
2-43_120	48	18	37.5	1	2.1	1	2.1
2-48_075	48	13	27.1	9	18.8	5	10.4
2-76_035	48	31	64.6	21	43.8	16	33.3
2-84_009	48	36	75.0	26	54.2	23	47.9
2-84_019	48	35	72.9	13	27.1	13	27.1
2-84_022	48	18	37.5	10	20.8	7	14.6
2-84_030	48	16	33.3	14	29.2	11	22.9
2-84_033	48	30	62.5	15	31.3	12	25.0
2-84_038	48	27	56.3	16	33.3	10	20.8
2-84_053	48	33	68.8	20	41.7	12	25.0
2-84_066	48	24	50.0	8	16.7	6	12.5
2-84_088	48	25	52.1	10	20.8	8	16.7
2-84_117	48	21	43.8	17	35.4	16	33.3
2-88_017	48	38	79.2	25	52.1	23	47.9
2-88_020	48	24	50.0	14	29.2	11	22.9
2-88_021	48	23	47.9	20	41.7	17	35.4
2-88_022	48	22	45.8	10	20.8	7	14.6
2-88_088	48	11	22.9	4	8.3	3	6.3
2-88_099	48	10	20.8	1	2.1	1	2.1
3-11_020	48	28	58.3	16	33.3	14	29.2
3-11_117	48	28	58.3	5	10.4	4	8.3
4-68_105	48	29	60.4	15	31.3	13	27.1
4-73_023	48	18	37.5	4	8.3	2	4.2
4-73_038	48	15	31.3	1	2.1	0	0.0
4-73_040	48	26	54.2	12	25.0	11	22.9
4-73_056	48	17	35.4	6	12.5	6	12.5
4-96_116	48	33	68.8	10	20.8	10	20.8
5-17_001	48	26	54.2	21	43.8	18	37.5
5-17_041	48	36	75.0	29	60.4	25	52.1
5-17_073	48	27	56.3	24	50.0	20	41.7
6-64_073	48	24	50.0	8	16.7	6	12.5
6-75_009	48	30	62.5	24	50.0	16	33.3
合計・平均	1,824	919	50.4	493	27.0	400	21.9

<sup>1)</sup> 生育不良および枯死苗を含む個体数

<sup>2)</sup> 生育不良および枯死苗を除いた個体数



第5図 IC<sub>2</sub>集団, 選抜IC<sub>3</sub>集団, 選抜IC<sub>4</sub>集団における果実硬度の度数分布 (実生苗)

調査個体数および期間は、IC<sub>2</sub>集団 586 個体 (2014/12/9~2015/5/9), 選抜IC<sub>3</sub>集団 370 個体 (2015/11/25~2016/3/7), 選抜IC<sub>4</sub>集団 365 個体 (2017/1/6~2017/3/31)。なお、IC<sub>2</sub>集団については、四季成り性の判定のため、定植後 (2014/9/3) から2014/11/30まで24時間日長下で栽培した。赤色は選抜個体 (種子親および交配親) を示す (IC<sub>2</sub>集団: 20 個体, 選抜IC<sub>3</sub>集団: 38 個体)。矢印は、MAGIC 集団親 (栃木素材3号: TS3, O8-58-5: O8, 栃木26号: T26, 98-7-3: 98, 古都華: Ko, かおり野: Ka) を含む。

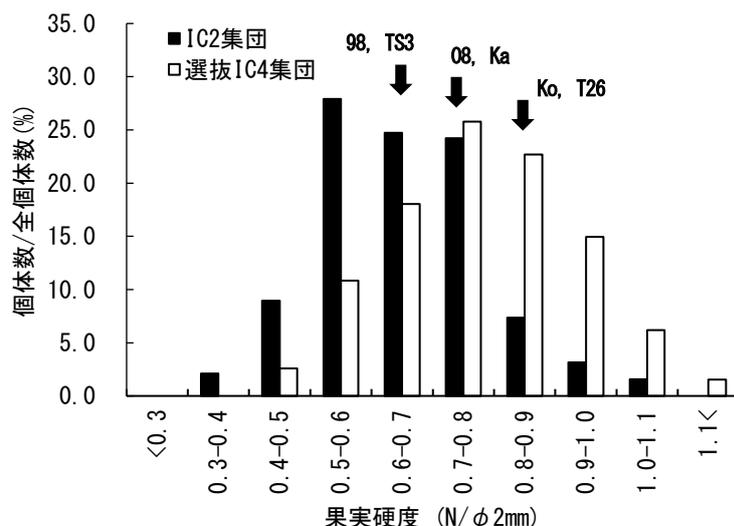
第 14 表 IC<sub>2</sub>集団, 選抜 IC<sub>3</sub>集団, 選抜 IC<sub>4</sub>集団における果実形質比較 (実生苗)<sup>1)</sup>

果実形質	MAGIC 集団親 <sup>2)</sup>	IC <sub>2</sub> 集団 <sup>3)</sup>	MAGIC 親 対比	選抜 IC <sub>3</sub> 集団 <sup>3)</sup>	MAGIC 親 対比	選抜 IC <sub>4</sub> 集団 <sup>3)</sup>	MAGIC 親 対比
果実硬度 (N/φ2mm)	0.65±0.10	0.57±0.10 <sup>a</sup>	0.88	0.62±0.15 <sup>b</sup>	0.95	0.71±0.17 <sup>c</sup>	1.09
果皮強度 (N/φ2mm)	0.47±0.10	-		0.41±0.11 <sup>a</sup>	0.87	0.49±0.14 <sup>b</sup>	1.04
果肉硬度 (N/φ2mm)	0.18±0.03	-		0.21±0.06 <sup>a</sup>	1.17	0.22±0.06 <sup>b</sup>	1.22
果重 (g)	28.2±8.0	20.2±6.0 <sup>b</sup>	0.72	18.5±6.3 <sup>a</sup>	0.66	22.6±7.0 <sup>c</sup>	0.80
糖度 (°Brix)	9.9±1.2	8.1±1.6 <sup>a</sup>	0.82	8.8±1.4 <sup>c</sup>	0.89	8.4±1.5 <sup>b</sup>	0.85

<sup>1)</sup> 調査個体数および期間は第 5 図と同じ。

<sup>2)</sup> 数値は、MAGIC 集団親 (栃木素材 3 号, 08-58-5, 栃木 26 号, 98-7-3, 古都華, かおり野) の 2015 年度および 2016 年度の平均値±標準偏差を示す。

<sup>3)</sup> 数値は平均値±標準偏差を示す。同一のアルファベットは各世代間で有意差がないことを示す (tukey-kramer 法, p<0.05)。



第 6 図 IC<sub>2</sub>集団および選抜 IC<sub>4</sub>集団における果実硬度度数分布 (ランナー苗)

調査個体数および期間: IC<sub>2</sub> 集団 190 個体 (2017/12/4~2018/2/13), 選抜 IC<sub>4</sub> 集団 194 個 (2017/12/8~2018/2/9)。

黒バーは IC<sub>2</sub> 集団, 白バーは選抜 IC<sub>4</sub> 集団を示す。矢印は、MAGIC 集団親 (栃木素材 3 号: TS3, 08-58-5: 08, 栃木 26 号: T26, 98-7-3: 98, 古都華: Ko, かおり野: Ka) を含む。

第 15 表 IC<sub>2</sub>集団および選抜 IC<sub>4</sub>集団における果実形質比較 (ランナー苗)<sup>1)</sup>

果実形質	IC <sub>2</sub> 集団	6MAGIC 親 対比	MAGIC 親 (四季成り) 対比	選抜 IC <sub>4</sub> 集団 <sup>2)</sup>	6MAGIC 親 対比	MAGIC 親 (四季成り) 対比	有意差 <sup>3)</sup>
果実硬度 (N/φ2mm)	0.65±0.14	0.84	0.92	0.77±0.16	1.01	1.10	**
果皮強度 (N/φ2mm)	0.46±0.11	0.80	0.84	0.55±0.12	0.94	0.99	**
果肉硬度 (N/φ2mm)	0.18±0.05	0.99	1.25	0.22±0.06	1.21	1.53	**
果重 (g)	23.0±8.6	0.86	0.79	22.7±8.5	0.85	0.77	ns
糖度 (°Brix)	9.3±1.7	0.95	1.11	9.7±1.5	0.99	1.14	*

<sup>1)</sup> 調査個体数および期間は第 6 図と同じ。

<sup>2)</sup> 数値は平均値±標準偏差を示す。対比は、MAGIC 集団親系統の平均値に対する比を示す (各集団の平均値÷MAGIC 集団親系統の平均値)。

<sup>3)</sup> 有意差は IC<sub>2</sub> 集団と IC<sub>4</sub> 集団間で行った (t-検定, \*\*: p<0.01, \*: p<0.05, ns: 有意差なし)。

四季成り性 MAGIC 集団の作製では、遺伝的多様性を維持しつつ、四季成り性個体の割合を増やしていくことが重要であると考えられる。IC<sub>1</sub> 集団作製において 6 組合せの交配を行っているが、そのうち、GS1 の四季成り性個体は 5 個体、GS2 の四季成り性個体は 11 個体と出現が少なかった。種子親は栃木 26 号×98-7-3 における F<sub>1</sub> であり、一季成り性であった。また、IC<sub>2</sub> 集団作製においても一季成り性の種子親を用いている GS3 では 3 個体、

GS6 で 17 個体と他の組合せと比較して四季成り性個体は少なかった。このことは、集団における四季成り性維持には、種子親に四季成り性個体を用いることが重要であることを示している。また、交配の種子親に四季成り性個体を用いることができない、あるいは、混合花粉内に四季成り性の花粉が少ない原因としては、24 時間日長処理の影響が大きいと考えられた。24 時間日長処理は、四季成り性個体を判別するには極めて有効であるが、心止まり

が発生し、次世代育成のための交配親に用いることができない個体が発生した。また、果実形質調査においても生育が旺盛となるため、花梗折れが発生し、IC<sub>2</sub> 集団における調査にも影響があった。この問題を解決するためには、本試験で用いた DNA マーカーによる四季成り性個体選抜が有効であると考えられる。本試験では、四季成り性連鎖マーカーである MFSA110 が本集団において適応可能であったため、IC<sub>3</sub> 集団より実生苗選抜を開始した。MFSA110 については、本集団における適合率は 89.1% であり、集団で維持していくためには問題にならないと思われた。しかし、今後、世代が進み、品種や中間母本候補を育成していく場合には、より適合性の高い DNA マーカーが必要になると考えられる。本集団のジェノタイプングの過程において、四季成り性判別マーカーとして Fvb4\_27931598 が見出された。しかし、本マーカーは、本集団の親である一季成り性品種・系統である 98-7-3 および古都華がマーカーを有しているため、本集団においては本マーカーのみの使用では判別できなかった。四季成り性 DNA マーカーについては各国の研究機関で研究されているが (Honjyo *et al.*, 2016; Verma, *et al.*, 2017), 四季成り性系統を完全に識別できるマーカーはない。今後、ゲノム全体がシャッフルされた本 MAGIC 集団を用いることにより、SNP 等による高密度タイプングの組合せで、更に四季成り性遺伝子近傍にマーカーが開発できると考えられる。

本 MAGIC 集団は、遺伝的多様性をもたせるため、IC<sub>2</sub> 集団まで無選抜で育成した。そのため、果実形質は多様なものとなった。果実硬度については、ランナー苗における IC<sub>2</sub> 集団における平均値で 0.65 N と集団親で 6 品種系統と対比で 0.84 と果実が軟らかい集団となった。門馬・上村 (1985) は、硬い品種と軟らかい品種を交配した場合、軟らかい品種が多く出現し、軟らかい形質が優性と判断されると報告しており、本集団も同様の結果となった。しかし、EGGS 解析による選抜マーカーの選定と交配親の選定により 2 世代すすめた選抜 IC<sub>4</sub> 集団では、ランナー苗で果実硬度平均値が 0.77 N、集団親 6 品種系統対比 1.01 となり、交配親と同等の集団となった。また、果肉硬度が軟らかい四季成り性親である栃木素材 3 号および 08-58-5 との対比では果実硬度 1.10、果肉硬度 1.53 であり、本集団の四季成り性個体は同 2 系統より硬い集団になった。

果皮強度に関しては、集団間の比較では果肉硬度と比較して増加の幅が大きかったが、選抜 IC<sub>4</sub> 集団の平均値は親品種・系統と同等の水準であった。森 (2000) は、果皮強度は、果肉硬度と比較して遺伝率が低いとしている。果皮強度に関与する有望なマーカーの選定が必要で不可欠だと考えられる。一方、果肉硬度に関して増加の幅は小さいが、親品種・系統より硬い個体が多くなった。選抜 IC<sub>4</sub> 集団の作製には、果皮強度に関与するマーカーにより選抜を行ったが、weight 値上位アリルにおいても果実硬度や果肉硬度と共通なものが多く見出された。その結果、

果肉硬度が高まったと考えられた。門馬・上村 (1985) は果実硬度と果皮強度の遺伝は独立しているとしていることから、副次的な因子は共通なのかもしれない。望月 (2000) は、流通適性において、果皮強度は日持ち性、また果肉硬度は輸送性と関わりが深いとされ、両方に配慮した選抜が必要としている。一方、果実硬度は食味と関係しており、果実硬度を高めることは食味低下につながりやすい (森下ら, 1997)。今後 GS 解析においては、日持ち性や輸送性、食味に適合する果実硬度を予測することも重要であると考えられる。

EGGS 解析により多数の関与マーカーが推測されたが、IC<sub>2</sub> 集団では SSR マーカー、IC<sub>3</sub> 集団では SNP マーカーで選抜を行っているため、詳細なマーカー解析は行っていない。Lerceteau-Köhler *et al.*, (2012) は、果実における 19 形質の QTL 解析を行っており、そのうち、果実硬度は、第 3、第 4、第 5 染色体に 7QTL を検出したと報告している。ゲノムワイドなジェノタイプングデータから GWAS 解析を行い、果実硬度に関与する領域を推定する必要があると思われる。

果重および糖度については、選抜効果が認められなかった。これは、今回、果実硬度向上における EGGS 解析の効果をみるため、果実硬度重視のアリル集積を行ったことが要因であると考えられる。育種の効率化のためには、果重や糖度等の複数の果実形質を同時に高められる同等の得点付けや新たな方法を構築していくことも重要であると考えられる。

## 謝辞

本研究を遂行するにあたり、かずさ DNA 研究所植物ゲノム・遺伝学研究室の職員の皆様には DNA タイピングに多大なご協力をいただいた。分析チームの田村茂子氏ならびに阿久津操氏にはサンプリング、試料調製、DNA 抽出に協力いただいた。いちご研究所の稲葉正雄氏、堀井和己氏、松本一義氏、浅川利子氏、鈴木和吉氏には材料育成および圃場管理に協力いただいた。また、生物工学研究室およびいちご研究所の職員の皆様には、サンプリング、実験補助および研究計画のご助言いただいた。ここに記して深く感謝申し上げます。

## 引用文献

- 赤木博・大和田常晴・川里宏・野尻光一・安川俊彦・長修・加藤昭 (1985) イチゴ新品種「女峰」について。栃木農試研報 31:29-41.
- Bandillo N., Raghavan C., Muycol P.A., Sevilla M.A.L., Lobina I.T., Dilla-Ermita C.J., Tung C., McCouch S., Thomson M., Mauleon R., Singh R.K., Gregorio G., Redoña E. and Leung H. (2013) Multi-parent advanced generation inter-cross (MAGIC) populations in rice: progress and potential for

- genetics research and breeding. *Rice* (N. Y.) 6: 11.
- Bassil N.V., Davis T.M., Zhang H., Ficklin S., Mittmann M., Webster T., Mahoney L., Wood D., Alperin E.S., Rosyara U.R., Koehorst-Vanc Putten H., Monfort A., Sargent D.J., Amaya I., Denoyes B., Bianco L., van Dijk T., Pirani A., Iezzoni A., Main D., Peace C., Yang Y., Whitaker V., Verma S., Bellon L., Brew F., Herrera R. and van de Weg E. (2015) Development and preliminary evaluation of a 90 K Axiom® SNP array for the allo-octoploid cultivated strawberry *Fragaria × ananassa*. *BMC Genomics* 16: 155.
- 千葉直樹・足立陽子・中村茂雄・鹿野弘 (2006) イチゴの四季成り性を検定する DNA マーカー. 特開 2006-42622.
- Dell'Acqua M., Gatti D.M., Pea G., Cattonaro F., Coppens F., Magris G., Hlaing A.L., Aung H.H., Nelissen H., Baute J., Frascaroli E., Churchill G.A., Inzé D., Morgante M. and Pèl M.E. (2015) Genetic properties of the MAGIC maize population: a new platform for high definition QTL mapping in *Zea mays*. *Genome Biol.* 16: 167.
- Gezan S.A., Osorio L.F., Verma S. and Whitaker V.M. (2017) An experimental validation of genomic selection in octoploid strawberry. *Hortic Res.* 4: 16070.
- 林武司 (2018) ゲノミックセレクションの作物育種への展開. 動物遺伝育種研究 46: 73-86.
- Hirakawa H., Shirasawa K., Kosugi S., Tashiro K., Nakayama S., Yamada M., Kohara M., Watanabe A., Kishida Y., Fujishiro T., Tsuruoka H., Minami C., Sasamoto S., Kato M., Nanri K., Komaki A., Yanagi T., Guoxin Q., Maeda F., Ishikawa M., Kuhara S., Sato S., Tabata S. and Isobe S.N. (2014) Dissection of the octoploid strawberry genome by deep sequencing of the genomes of *Fragaria* species. *DNA Res.* 21: 169-181.
- Honjo M., Nunome T., Kataoka S., Yano T., Hamano M., Yamazaki H., Yamamoto T., Morishita M. and Yui S. (2016) Simple sequence repeat markers linked to the everbearing flowering gene in long-day and day-neutral cultivars of the octoploid cultivated strawberry *Fragaria × ananassa*. *Euphytica* 209: 291-303.
- 飯村一成・中澤佳子・天谷正行 (2011) イチゴ‘アスカウェイブ’における萎黄病耐病性に関する連鎖解析. 育学研 13(1): 295.
- 飯村一成・田崎公久・中澤佳子・天谷正行 (2012) QTL 解析によるイチゴ炭疽病耐病性遺伝子領域の検索. 育種学研究 15: 90-97.
- 石原良行・高野邦治・植木正明・栃木博美 (1996) イチゴ新品種「とちおとめ」の育成. 栃木農試研報 44: 109-123.
- Isobe S.N., Hirakawa H., Sato S., Maeda F., Ishikawa M., Mori T., Yamamoto Y., Shirasawa K., Kimura M., Fukami M., Hashizume F., Tsuji T., Sasamoto S., Kato M., Nanri K., Tsuruoka H., Minami C., Takahashi C., Wada T., Ono A., Kawashima K., Nakazaki N., Kishida Y., Kohara M., Nakayama S., Yamada M., Fujishiro T., Watanabe A. and Tabata S. (2013) Construction of an integrated high density simple sequence repeat linkage map in cultivated strawberry (*Fragaria × ananassa*) and its applicability. *DNA Res.* 20: 79-92.
- Iwata H., Minamikawa M.F., Kajiya-Kanegae H., Ishimori M. and Hayashi T. (2016) Genomics-assisted breeding in fruit trees. *Breeding Science* 66: 100-115.
- 北村八祥・森利樹・小堀純奈・山田信二・清水秀巳 (2015) 極早生性を有するイチゴ炭疽病抵抗性品種‘かおり野’の育成と普及. 園学研 14: 89-95.
- 小林泰弘・重野貴・大橋隆・畠山昭嗣・飯村一成・中西達郎・植木正明・豊田明奈・永嶋麻美・齋藤容徳・鶴見理沙・小島夏実・大橋幸雄 (2018) 栃木 i37 号. 品種登録出願 33245.
- 小林泰弘・植木正明・須永哲央・直井昌彦・癸生川真也・稲葉幸雄・家中達広・岡村昭子・重野貴・畠山昭嗣・永嶋麻美・豊田明奈 (2015) 四季成り性イチゴ新品種「なつおとめ」の育成. 栃木農試研報 73: 77-84.
- Kunihisa M., Fukino N. and Matsumoto S. (2005) CAPS markers improved by cluster-specific amplification for identification of octoploid strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) cultivars, and their disomic inheritance. *Theor. Appl. Genet.* 110: 1410-1418.
- Lee S., Noh Y.-H., Roach J.A., Mangandi J., Verma S., Whitaker V.M. and Cearley K.R. (2017) A high-throughput genotyping system combining rapid DNA extraction and high-resolution melting analysis in allo-octoploid strawberry. *Acta Hortic.* 1156: 89-94.
- Lerceteau-Kähler E., Guérin G., Laigret F. and Denoyes-Rothan B. (2003) Characterization of mixed disomic and polysomic inheritance in the octoploid strawberry (*Fragaria × ananassa*) using AFLP mapping. *Theor. Appl. Genet.* 107: 619-628.
- Lerceteau-Köhler E., Moing A., Guérin G., Renaud C., Petit A., Rothan C. and Denoyes R. (2012) Genetic dissection of fruit quality traits in the octoploid cultivated strawberry highlights the role of homoeo-QTL in their control. *Theor. Appl. Genet.* 124: 1059-77.
- Mackay I.J., Bansept-Basler P., Barber T., Bentley A.R., Cockram

- J., Gosman N., Greenland A.J., Horsnell R., Howells R., O'Sullivan D.M., Rose G.A. and Howell P.J. (2014) An eight-parent multiparent advanced generation inter-cross population for winter-sown wheat: creation, properties, and validation. *G3 (Bethesda)* 4: 1603–1610.
- Minamikawa M.F., Nonaka K., Kaminuma E., Kajiya-Kanegae H., Onogi A., Goto S., Yoshioka T., Imai A., Hamada H., Hayashi T., Matsumoto S., Katayose Y., Toyoda A., Fujiyama A., Nakamura Y., Shimizu T. and Iwata H. (2017) Genome-wide association study and genomic prediction in citrus: Potential of genomics-assisted breeding for fruit quality traits. *Sci. Rep.* 7: 4721.
- 望月龍也 (2000) わが国におけるイチゴ育種研究の成果と展望. *育種研究* 2:155-163.
- 森利樹 (2000) イチゴの果実硬度に関する遺伝率と選抜効果. *園学雑* 69:90-96.
- 森下 昌三・望月 龍也・野口 裕司 (1997) 促成栽培用イチゴ新品種「さちのか」の育成経過とその特性. *野菜・茶業試験場研究報告* 12:91-115.
- 門馬 信二・上村 昭二 (1985) イチゴ果実における果皮及び果肉の硬さの遺伝. *野菜試験場報告* B5:49-59.
- Nagano S., Shirasawa K., Hirakawa H., Maeda F., Ishikawa M. and Isobe S.N. (2017) Discrimination of candidate subgenome-specific loci by linkage map construction with an S1 population of octoploid strawberry (*Fragaria* × *ananassa*). *BMC Genomics* 18: 374.
- 中西達郎・鶴見理沙・大橋隆・石原良行 (2018) 栃木 iW1 号. 品種登録出願 32822.
- 西本登志・信岡尚・前川寛之・後藤公美・東井君枝・泰松恒男・木矢博之・吉村あみ叫・平山喜彦・峯岸正好・佐野太郎・米国祥二 (2010) イチゴの新品種「古都華」の育成とその特性. *奈良農総七研報* 41:1-10.
- 農林水産省 (2018) 平成 29 年生産農業所得統計
- 農林水産省 (2019) 平成 30 年産野菜生産出荷統計.
- Pascual L., Desplat N., Huang B.E., Desgroux A., Bruguier L., Bouchet J., Le Q.H., Chauchard B., Verschave P. and Causse M. (2015) Potential of a tomato MAGIC population to decipher the genetic control of quantitative traits and detect causal variants in the resequencing era. *Plant Biotechnol. J.* 13: 565-577.
- Rakshit S., Rakshit A. and Patil J.V. (2012) Multiparent intercross populations in analysis of quantitative traits. *J Genet.* 91: 111-117.
- 重野貴・直井昌彦・植木正明・家中達広・岡村昭子・須永哲央・小林泰弘・永嶋麻美・稲葉幸雄・畠山昭嗣・癸生川真也・豊田明奈・中西達郎 (2015) 極大果イチゴ品種「栃木 i27 号」の育成. *栃木農試研報* 73:85-100.
- Shirasawa K., Kuwata C., Watanabe M., Fukami M., Hirakawa H. and Isobe S. (2016). Target amplicon sequencing for genotyping genome-wide single nucleotide polymorphisms identified by whole-genome resequencing in peanut. *Plant Genome* 9: doi:10.3835/plantgenome2016.06.0052.
- 鈴木恵美子・藤本里美・植木正明・重野貴・若柳睦子・田崎公久・中澤佳子・生井潔 (2015) イチゴ品種「なつおとめ」の四季成り性に連鎖する DNA マーカーの作出. *園学研* 14(1):148.
- 栃木博美・石原良行・高野邦治・植木正明・高際英明 (2001) イチゴ新品種「とちひめ」の育成. *栃木農試研報* 50: 27-37.
- 坪根正雄・和田卓也・磯部祥子・永野聡一郎・森美幸・平田千春・永松志朗・下村克己・平島敬太 (2018) イチゴの多元交雑集団を用いた果実色に関するゲノムワイド関連解析. *育学研* 20(1):166.
- Verma, S., Zum J.D., Salinas N., Mathey M.M., Denoyes B., Hancock J.F., Finn C.E., Bassil N.V. and Whitaker V.M. (2017) Clarifying sub-genomic positions of QTLs for flowering habit and fruit quality in U.S. strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) breeding populations using pedigree-based QTL analysis. *Hortic Res.* 4: 17062.
- 和田卓也・磯部祥子・森美幸・奥幸一郎・平田千春・高田衣子・下村克己・平島敬太・池上英利・内村要介 (2015) 多元交雑集団を用いた栽培イチゴの果実色に関する GWAS 解析. *園学研* 14(2):156.
- Wada T., Oku K., Nagano S., Isobe S., Suzuki H., Mori M., Takata K., Hirata C., Shimomura K., Tsubone M., Katayama T., Hirashima K., Uchimura Y., Ikegami H., Sueyoshi T., Obu K., Hayashida T. and Shibato Y. (2017) Development and characterization of a strawberry MAGIC population derived from crosses with six strawberry cultivars. *Breed Sci.* 67: 370-381.
- Yamamoto E., Matsunaga H., Onogi A., Ohyama A., Miyatake K., Yamaguchi H., Nunome T., Iwata H. and Fukuoka H. (2017) Efficiency of genomic selection for breeding population design and phenotype prediction in tomato. *Heredity* 118: 202-209.