

胚培養と Indel マーカー※による ウンシュウミカン品種間交雑苗の作出

農業研究センター 農産園芸研究所バイオ育種研究室
担当者：野田孝博、大王かおる

※Indel マーカー：ゲノムの挿入/欠損(insertion/deletion)を有するヘテロ接合性領域（以下遺伝子型 LS と定義する）を検出できる DNA マーカー

研究のねらい

多胚性種子であるウンシュウミカンの育種手法は、芽条変異等自然に発生する突然変異現象を利用したものや珠心胚実生変異が主流である。

多胚性種子では1個の種子内に多数の胚を形成するが、交配しても交雑胚は1つのみである。その他は珠心胚として種子親と同じ形質のクローンであり、交雑胚よりも生育が早いため、外観等の形質だけで交雑苗を選抜するには多大な労力と時間が必要であり、これまで多胚性の品種間交雑による育種はほとんど行われていない。

このような中、当研究室では公開されているウンシュウミカングゲノムを基に交雑識別が可能な Indel マーカーを開発した。（成果情報 No. 891）

そこで、未熟種子からの胚培養と Indel マーカーを用いた検定を併用することにより、ウンシュウミカン品種間の交雑苗を作出する。

研究の成果

1. ウンシュウミカンの品種間交雑によって結実した未熟果実の種子から未熟胚をすべて摘出し、胚培養により植物体を再生した。その中から複数の Indel マーカーにより14系統の交雑系統を選抜した（表1、写真1）。接木・順化を経て、最終的に交雑胚由来苗を3系統作出した（写真2）。
2. 作出した3系統の交雑胚由来苗については、複数の Indel マーカーで、ヘテロ接合型（遺伝子型 LS: 3本バンド）がホモ接合型（遺伝子型 LL 又は SS: 1本バンド）の塩基配列に変化していることが認められ、交雑していることが確認された（図1）。

普及上の留意点

1. 平成29年（2017年）と平成30年（2018年）に、種子親「今村温州」に「熊本EC11」の花粉を交配した結果である。「熊本EC11」は温室環境下で花粉を形成させ、冷凍保存後交配に使用した。交配後約100日後に形成された未熟種子からすべての胚を摘出し、培養して植物体を再生した後カラタチ台に接木して苗を育成した（写真1）。
2. 交配の組合せによっては、有胚種子数や交雑胚の割合は異なってくることが考えられる。

[具体的データ]

熊本県農林水産部

表1 ウンシュウミカン品種間交配以降の交雑胚の選抜と苗の育成数

交配花数	1,300
結実果実数	360
有核果実数	112
平均種子±S.D./果実	1.83±1.28
有胚種子数	205
平均胚数±S.D./種子	8.64±4.72
胚培養数	1,772
DNA検定数	1,227
交雑胚数	14
珠心胚数	1,213
順化に成功した苗数	3

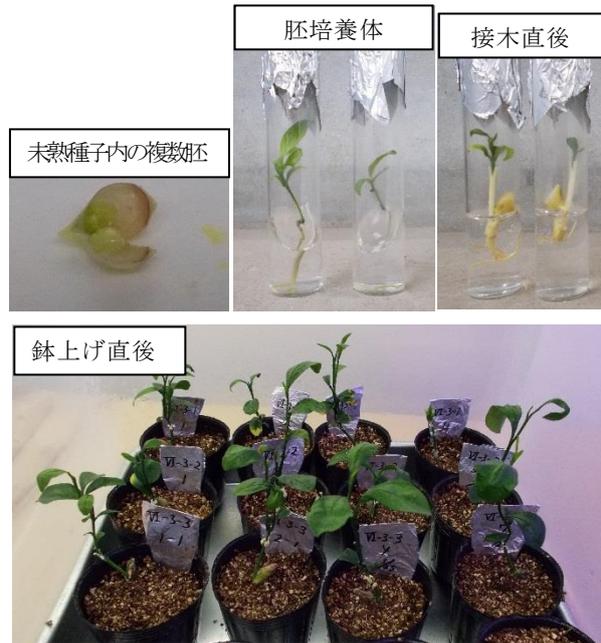


写真1 胚培養による苗育成

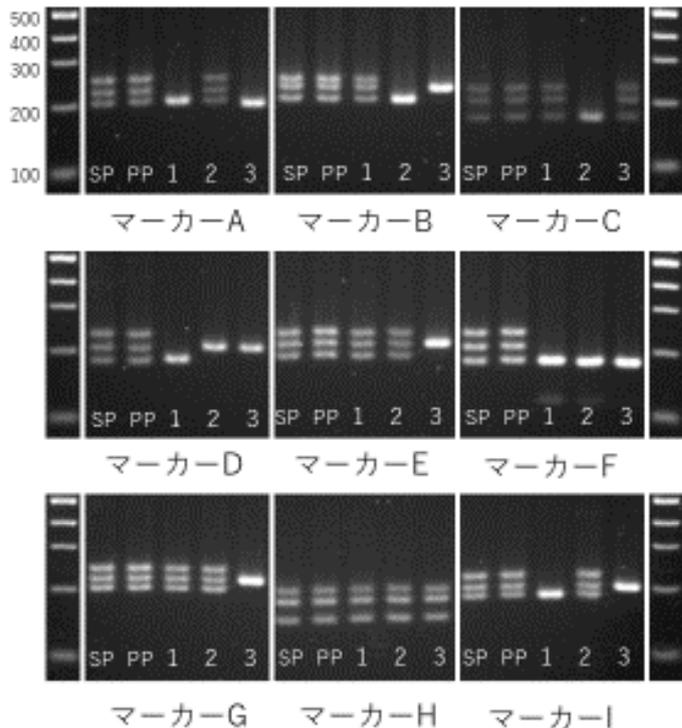


図1 順化に成功した交雑胚由来植物3系統のIndelマーカーによる交雑検定
各染色体由来の独立した9種のIndelマーカーを使用。
SP: 種子親「今村温州」, PP: 花粉親「熊本 EC11」,
1-3: 交雑胚由来植物



写真2 順化に成功した交雑胚由来苗3系統