

カンキツ育種におけるDNAマーカーの利用

和歌山県果樹試験場 栽培部 田嶋皓

1. 目的

ウンシュウミカンなどの多胚性カンキツを種子親にした交雑育種は、交雑胚実生の獲得率が低いことや、交雑胚実生と珠心胚実生の外観での区別が難しいといった問題があり、これまであまり実施されていません。しかし、これらを効率的に判別することができれば、今後多胚性カンキツを種子親に用いた多様な新品種の育成が期待できます。

そこで多胚性カンキツである晩生ウンシュウミカン‘丹生系’を種子親として交配を行い、得られた実生について外観による評価で選抜した後に、(独)農研機構果樹研究所で開発されたDNAマーカー(※)を利用して交雑胚の判別および早期選抜を試みました。

(※DNAマーカーとは生物の種によって異なるDNA塩基配列の違いのことで、品種や個体を識別する際の目印として利用されています。)

2. 方法

2012年にウンシュウミカン‘丹生系’に、‘ハッサク’および‘タチバナ’を交配しました。果実を収穫して得られた種子を播種し、実生を獲得しました(以下それぞれ「×ハッサク個体」、「×タチバナ個体」)。それらを外観(葉の色、形、大きさ、翼葉の有無)により評価し、交雑胚である可能性がある個体を選抜しました。

また、選抜した個体の葉からDNAを抽出し、DNAマーカー9種を用いてPCR(DNA断片の増幅)を行いました。増幅産物はDNAシーケンサーにより遺伝子型(品種によって異なる塩基配列部位の長さ。通常対になっている。)を解析しました。それらを評価し、2種類以上のマーカーで種子親と遺伝子型が異なるものを交雑胚として選抜しました。

3. 結果の概要

1) 交配により「×ハッサク個体」では429個の種子を播種し431の実生を得た。「×タチバナ個体」では404個の種子を播種し372の実生を得た(表1、2、図1、2)。

2) 得られた実生について外観の評価を行い、「×ハッサク個体」で108、「×タチバナ個体」で71の個体を選抜しました(表2)。

3) 2)で選抜した個体についてDNAマーカーで遺伝子型を解析した結果、種子親と遺伝子型が異なり(表3)、交雑胚と判別された個体数および全実生数に対する割合は、「×ハッサク個体」で38(8.8%)、「×タチバナ個体」で26(7.0%)でした(表2)。

4) 外観により選抜した個体のうち、実際に交雑胚であった個体の割合は「×ハッサク個体」で35.3%、「×タチバナ個体」で36.6%でした(データ略)。

4. まとめ

以上の結果から、DNAマーカーを用いることで多数の実生の中から交雑胚を早期に選抜することができました。今後は選抜した交雑胚を育苗し特性調査を行うとともに、他の多胚性カンキツでも同様の手法で交雑胚を選抜できるか試みたいと思います。

表1 多胚性カンキツを種子親にして獲得した種子数

種子親	花粉親	獲得果実数	獲得した種子数	
			計	1果あたり
丹生系	ハッサク	86	429	5.0
丹生系	タチバナ	111	404	3.6



図1 獲得実生 (×ハッサク個体)



図2 獲得実生 (×タチバナ個体)

表2 外観およびDNAマーカー解析による交雑胚選抜の結果

	全実生数	外観による選抜 ^z	交雑胚 実生数 ^y	交雑胚の割合 (%) ^x
×ハッサク個体	431	108	38	8.8
×タチバナ個体	372	71	26	7.0

z: 外観により交雑胚である可能性が高いと判断した実生数

y: 外観により選抜した実生のうちDNAマーカー解析により交雑胚と判定した実生数

x: 全実生に対する交雑胚の割合

表3 各実生におけるDNAマーカー遺伝子型および評価の一例

サンプル名	DNAマーカー遺伝子型※1				評価
	marker No.11	marker No.19	marker No.23	marker No.21	
丹生系×ハッサクNo.10	117/125	94/94	264/272	130/136	交雑胚
丹生系×ハッサクNo.42	125/125	94/97	267/272	130/139	珠心胚
丹生系×ハッサクNo.247	117/125	94/94	264/272	136/139	交雑胚
丹生系×ハッサクNo.319	117/125	94/97	272/272	130/136	交雑胚
丹生系	125/125	94/97	267/272	130/139	-
ハッサク	117/117	91/94	264/272	130/136	-

サンプル名	DNAマーカー遺伝子型※1				評価
	marker No.2	marker No.17	marker No.13	marker No.1	
丹生系×タチバナ No.8	170/176	166/169	117/119	125/125	交雑胚
丹生系×タチバナ No.25	170/176	166/169	119/120	125/125	交雑胚
丹生系×タチバナ No.48	170/176	166/169	120/122	119/125	交雑胚
丹生系×タチバナ No.82	176/176	166/166	117/120	125/125	珠心胚
丹生系	176/176	166/166	117/120	125/125	-
タチバナ	170/176	169/178	119/122	119/125	-

※1 遺伝子型とは品種によって異なる塩基配列部位の長さ。通常対になっている。

※2 斜線部分は「丹生系」と異なる遺伝子型を示し、花粉親独自の遺伝子型を半分持っている。

※3 2種類以上のマーカーで「丹生系」と異なる遺伝子型を示し、花粉親の遺伝子型を持っている実生を交雑胚として評価した。