

ウンシュウミカン Indel マーカー は多様なカンキツ種の交雑検定に利用可能

ウンシュウミカングenom情報を活用し開発した Indel マーカー は、ウンシュウミカンに限らず多様なカンキツにおいて遺伝子型の判定が可能であり、遺伝子型の変化を指標に多胚性カンキツの交雑検定に利用可能である。

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)

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個の種子内に数個から多いものは40個程度の胚を形成するが、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enomを基に交雑識別が可能な Indel マーカーを開発した(熊本県研究成果情報 No.891)。

そこで、本研究では開発した Indel マーカーについて他の多胚性カンキツ種等への交雑検定に対する応用の可能性について検証する。

研究の成果

1. ウンシュウミカン4品種においては、119種のマーカーで同じヘテロ接合性(LS)の遺伝子型を示し、ウンシュウミカンでは品種によらず保存性の高いゲノム領域であることが認められる。(表1)。
2. ウンシュウミカン以外のミカン属9品種、キンカン属1種、カラタチ属1種についても、ほとんど Indel マーカーで遺伝子型の判定が可能である(表1)。
3. これらのことから今回供試した品種全てで、交雑判定が可能である。

両親が異なるタイプのホモ接合型遺伝子型(LL又はSS)となる Indel マーカーを用いれば、交雑により遺伝子型はLSとなるため1種類のマーカーのみで交雑判定が可能である。片親がヘテロ接合型遺伝子型(LS)である場合、交雑により遺伝子型は2種類(LS及びLLもしくはSS)となり検出確率は50%となる。検出確率を向上させるためには複数のマーカーを用いる必要があり、たとえば異なる染色体由来の独立した4種のマーカーを用いれば検出確率は93.75%に向上する。

普及上の留意点

表1 Indel マーカーによる多様なカンキツ品種における遺伝子型 判定

LG ^a マーカー	ミカン属													キンカン属	カラタチ属	
	ウンシュウミカン品種				ウンシュウミカン以外のミカン属品種									Fortunella sp.	カラタチ	
	青島	今村	白川	川田	単胚性品種				多胚性品種							
					EC10	あすき	はれひめ	ありあけ	肥の豊	あすみ	百寿のひかり	津之輝	せとか			
1	LG1-4	LS	LS	LS	LS	LL	LS	LS	LL	LS	LL	LS	LS	LL	LL	LL
	LG1-5	LS	LS	LS	LS	LS	LS	X	LL	LS	LS	LL	SS	LS	LL	N.D.
	LG1-6	LS	LS	LS	LS	SS	SS	LS	SS	SS	SS	LS	LS	SS	LL	LL
	LG1-7	LS	LS	LS	LS	LS	LS	LL	SS	LL	LS	LL	LL	LS	LL	LL
	LG1-8	LS	LS	LS	LS	LL	X	LL	LS	LL	X	LL	LL	X	SS	LL
	LG1-9	LS	LS	LS	LS	SS	SS	LS	LS	SS	SS	SS	LS	LS	LL	LL
	LG1-11	LS	LS	LS	LS	LL	LL	LL	LL	LL	LL	LL	LL	LL	LL	LL
	LG1-12	LS	LS	LS	LS	LL	LL	LS	LS	LL	LL	LL	LS	LS	LS	X
	LG1-14	LS	LS	LS	LS	LL	LL	LL	LL	X	LL	X	LL	LL	LL	LL
	LG1-15	LS	LS	LS	LS	SS	SS	LS	LS	SS	SS	SS	N.D.	LS	SS	X
2	LG2-3	LS	LS	LS	LS	LL	LL	LS	LL	LL	LL	LS	LS	LL	LL	LL
	LG2-4	LS	LS	LS	LS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	LS	SS	SS	LL	LL
	LG2-6	LS	LS	LS	LS	LS	LS	LS	LS	LS	LS	LL	LS	LS	LL	LL
	LG2-7	LS	LS	LS	LS	LS	LL	LL	LL	LS	LS	SS	LS	LL	LL	N.D.
	LG2-9	LS	LS	LS	LS	LS	LL	LS	LS	LS	LS	LS	LL	LL	LL	X
	LG2-10	LS	LS	LS	LS	X	LL	X	X	LS	X	X	LL	LL	LL	X
	LG2-11	LS	LS	LS	LS	X	LL	X	X	LL	LL	X	LL	LL	LL	LL
	LG2-12	LS	LS	LS	LS	LS	SS	LS	LS	LS	LS	LS	SS	SS	X	LL
	LG2-13	LS	LS	LS	LS	LS	LS	LS	LS	SS	LS	LS	LL	LL	LL	LL
	LG2-14	LS	LS	LS	LS	LS	LS	LS	SS	SS	LS	LS	X	LS	SS	X
	LG2-15	LS	LS	LS	LS	LL	X	LS	LL	X	LL	X	X	LL	SS	X
	LG2-18	LS	LS	LS	LS	LL	LL	LL	LL	LL	LL	LL	LL	SS	LL	LL

遺伝子型の表記

LS(ヘテロ接合性) : PCR 増幅において2種の本鎖とヘテロ2本鎖の3種が検出.

LL(ホモ接合性) : 遺伝子型LSにおける2種の本鎖バンドのうち長い断片1種のみが検出.

SS(ホモ接合性) : 遺伝子型LSにおける2種の本鎖バンドのうち短い断片1種のみが検出.

上記のいずれにも該当しない場合は ' X ' とし、3回の異なる実験においてPCR増幅が認められなかったものを ' N.D. ' と表記した.

^a リンケージグループ:

カンキツ染色体数と同じ9種のリンケージグループ (LG1~LG9) から119種のIndelマーカーを開発.

LG1及びLG2から得られたIndelマーカー22種のみ例示.

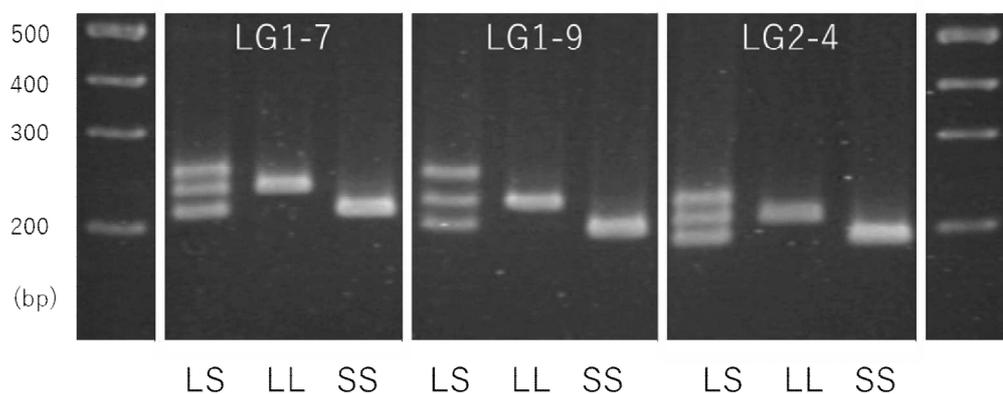


図1 3種のIndelマーカーによる遺伝子型判定の具体例

LG1-7による遺伝子型 : LS「青島温州」、LL「肥の豊」、SS「ありあけ」

LG1-9による遺伝子型 : LS「青島温州」、LLカラタチ、SS「熊本EC10」

LG2-4による遺伝子型 : LS「青島温州」、LLカラタチ、SS「熊本EC10」