

## 【成果の概要】

熊本県農業研究センター（現 熊本県産業技術センター）の野田孝博、佐賀大学の永野幸生らの研究グループは、カンキツの交雑育種を効率的に行う方法を開発しました。

交雑育種（異なる品種間の交雑（母系と父系の遺伝子が混ざること）により新しい品種を作ること）は、新品種育成において、最も重要な方法です。しかし、ウンシュウミカンなどの優良なカンキツを、母植物（雌親）にした場合、この交雑育種が簡単ではありませんでした。その理由は多胚性という特性のためです。ウンシュウミカンのような多胚性の品種を雌親に使うと、1つの種の中には1つの交雑した胚（植物のもとになる組織）と多数の交雑していない胚ができます（多胚性）。これを普通に土に蒔く（イン・ソイル法と呼ぶことにします。In-soilは「土壌内」を意味します）と、1つの種からいくつもの芽が出てきます。これまで交雑胚は交雑していない胚よりも生育が劣ると考えられていました。つまり、種の成熟過程で交雑胚は淘汰されてしまい、普通に種を蒔いても交雑育種で目的とする交雑個体はほとんど芽生えず、芽生える個体のほとんどは交雑していない個体（雌親のクローン）と考えられていたのです。そのために、未熟な種子から交雑胚が淘汰されてなくなる前に取り出して試験管で培養し、植物体を得る方法（胚救出培養法；イン・ビトロ法。In-vitroは「試験管内」を意味します）が開発・活用されています。とはいえ、稀ですがイン・ソイル法によって多胚性品種を雌親とした品種も実在します。

それではイン・ソイル法とイン・ビトロ法の一体どちらが交雑個体を得るのに効率的か？を実験的に確認することにしました。このような研究ができるのも研究グループは過去に交雑判定を容易にする技術（新型コロナウイルスの検査でお馴染みのPCR法）を開発していたためです（関連論文1,2）。この技術を使ってイン・ソイル法とイン・ビトロ法を詳細に比較しました。その結果、驚くべきことに交雑胚は交雑していない胚と比較し、決して生育は劣らない、むしろ交雑していない胚よりも淘汰されにくいことが明らかになりました。このことはこれまでの常識を覆す発見です。そして、これまで有効と考えられていたイン・ビトロ法よりも、イン・ソイル法の方が数倍効率的に交雑個体を得られることが分かりました。

イン・ソイル法はみなさんお馴染みの、種を土に蒔くだけの方法です。ですが多胚性雌親の場合はイン・ソイル法では交雑個体を得ることはとても難しいと考えられていたために積極的に行われていませんでした。本研究の成果は多胚性雌親を使用した交雑育種のハードル（高コストで手間のかかるイン・ビトロ法に加え交雑判別の困難さ）を大きく下げる技術開発になりました。本研究で示した「イン・ソイル法で発芽した芽をPCR法で交雑判定する方法」は十分な設備を持たない研究機関においても実施可能な簡易な方法です。本研究成果は今後のカンキツ新品種育成の基礎技術となると期待されます。

## 【本研究の意義と展望】

イン・ソイル法と、PCR法による判定法を組み合わせることで、公設試験場等が行うカンキツの交雑育種の効率化が期待できます。また、研究設備への投資が比較的少なく済む方法であるため、民間企業や個人がカンキツの交雑育種に参入する際も本方法は有望な方法です。

ひいては、本研究を、環境に優しいカンキツの開発に繋げて、持続可能な開発目標SDGsの目標15「陸の豊かさを守ろう」に貢献することが期待されます。



## 留意事項

本研究は、母植物（雌親）として、ウンシュウミカン（今村温州）を用いた結果です。他の品種のカンキツを用いて、本研究と同様な結果が得られることを保証するものではありません。

## 【関連する成果】

今回の成果は私たちが開発した InDel マーカーという個々の DNA の特徴を区別する技術を基に得られた成果です。この InDel マーカー開発に関しては関連論文 1 で公表しています。また、このマーカーを使った柑橘品種の識別技術も開発しています（関連論文 2）。（図 1）

## 関連論文

1. Noda, T., Daiou, K., Mihara, T., & Nagano, Y. (2020). Development of Indel markers for the selection of Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) hybrids that can be used for low-cost genotyping with agarose gels. *Euphytica*, 216(7), 1-13.
2. Noda, T., Daiou, K., Mihara, T., & Nagano, Y. (2021). Potential application of simple easy-to-use insertion-deletion (InDel) markers in citrus cultivar identification. *Breeding science*, 71(5), 601-608.

## 【本件に関する問い合わせ先】

### 佐賀県内から問い合わせ先

佐賀大学総合分析実験センター 永野幸生

電話 0952(28)8898

電子メール [nagano@cc.saga-u.ac.jp](mailto:nagano@cc.saga-u.ac.jp)

### その他の場合の問い合わせ先

熊本県産業技術センター 野田孝博

電話 096(368)2101

電子メール [noda-t-dw@pref.kumamoto.lg.jp](mailto:noda-t-dw@pref.kumamoto.lg.jp)

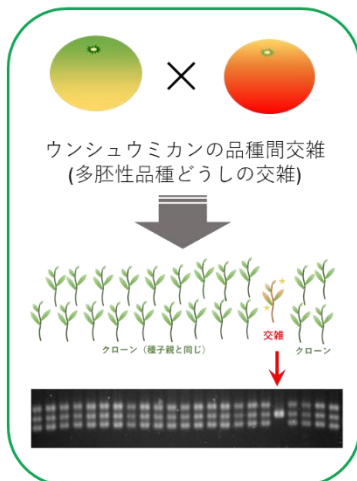
図1. 成果の概要

# 開発したInDelマーカー※で出来ること

（※ある対立遺伝子座において挿入（Insertion）や欠損（Deletion）の有無を区別できるDNAマーカーの一種です。）

## ①交雑検定

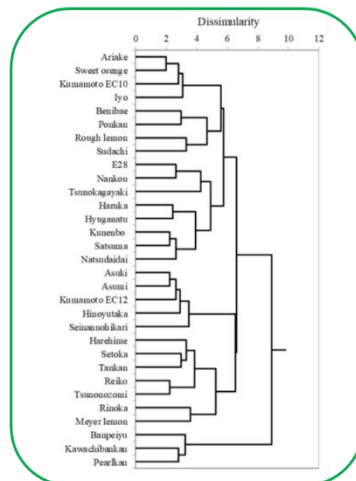
これまでの技術より簡単明瞭



Noda, T., Daiou, K., Mihara, T., & Nagano, Y. (2020). Development of Indel markers for the selection of Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) hybrids that can be used for low-cost genotyping with agarose gels. *Euphytica*, 216(7), 1-13.

## ②品種識別

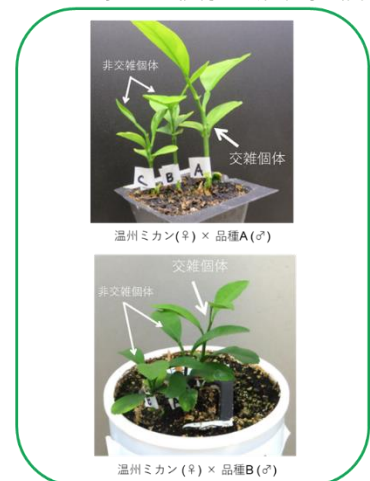
これまでの技術より簡単迅速



Noda, T., Daiou, K., Mihara, T., & Nagano, Y. (2021). Potential application of simple easy-to-use insertion-deletion (InDel) markers in citrus cultivar identification. *Breeding science* 71(5), 601-608.

## ③交雑育種の効率化

土から芽生えた植物から効率的に雑種獲得



Noda T., Daiou K., Mihara T., Murakami H., & Nagano Y. (2022). Efficient method for generating citrus hybrids with polyembryonic Satsuma mandarin as the female parent. *Molecular Breeding* 42(5), 1-15.

公表論文