

29. 四倍性細胞をもつカンキツキメラ個体の三倍体育種への活用

1. 背景とねらい

カンキツ類では無核性品種の育成手法として三倍体の活用が有効である。茎頂のコルヒチン処理では、四倍体と共に二倍性（2x）と四倍性（4x）細胞を併せ持つキメラ個体（以下「キメラ個体」という）が多く出現すると同時に、四倍体作出の困難な品種がある。そのため、これらのキメラ個体を育種に活用することを試みる。

2. 技術の内容

- 1) コルヒチン処理で得られたキメラ個体のうち、葉の四倍性細胞割合が 63.0～83.9% の個体の葉脈は、四倍性細胞から構成されている（表 1）。
- 2) 用いた ‘不知火’、‘安芸タンゴール’、‘農間紅八朔’、‘安政柑’ のキメラ 4 個体の葉脈およびフラベドとアルベドは、四倍性の細胞のみで構成されており、茎頂の第 2 層と第 3 層が、四倍性と推定できる（表 2）。
- 3) キメラ個体の花粉稔性は二倍体に比較してやや低いが、花粉量は同等なので花粉親として利用できる。また、花粉の栄養細胞、生殖細胞の倍数性は、四倍体（表 3 参考個体）と同様に、二倍性（栄養細胞と推定）と四倍性（生殖細胞と推定）が検出される。花粉は、茎頂の第 2 層から分化することから、茎頂の第 2 層が四倍性と推定できる（表 3）。
- 4) キメラ個体を種子親に二倍体と交配した場合は、発芽した全ての個体が三倍体となる。また、キメラ個体を花粉親として二倍体を交配した場合は、不完全種子から発芽した個体がすべて三倍体となる（表 4）。
- 5) 以上の結果、キメラ個体は、葉、果実、あるいは花粉の細胞の倍数性調査により、茎頂分裂組織の第 2 層が四倍性であると推定した個体は、完全な四倍体と同様に三倍体育成の交配親として活用できる。

3. 今後の計画

キメラ個体は、生育中にキメラ構造が変化する可能性があるため、定期的に茎頂の第 2 層の倍数性が判断できる組織（葉脈、フラベド+アルベド、花粉など）の倍数性を確認し、育種素材として活用する。

（生物工学研究部）

4. 具体的データ

表1 2x+4x キメラ個体¹⁾における葉の四倍性細胞割合と葉脈の倍数性

葉の四倍性細胞割合 (%) (L1+L2+L3) ²⁾	個体数	葉脈 (L2+L3) の倍数性 ³⁾
63.0~83.9	13	4x
34.1	1	2x, 4x
12.9~15.6	3	2x

1) コルヒチン処理 (0.1%, 2時間, 25°C, 又は0.05%, 20時間, 10°C) と茎頂接ぎ木の併用 (生山, 1992) で作出。

2) 茎頂起源層の第1層 (L1), 第2層 (L2), 第3層 (L3)

3) 中央葉脈から表皮を除いたものを調査。

表2 2x+4x キメラ個体における組織別の四倍性細胞割合

キメラ個体 ¹⁾	コルヒチン 処理後 育苗年数	四倍性細胞割合 (%)		
		葉		果実
		葉全体 ²⁾ (L1+L2+L3) ⁴⁾	葉脈 ³⁾ (L2+L3) ⁴⁾	フラベド [*] +アルベド [*] (L2+L3) ⁴⁾
2x+4x 不知火	7	63.0±1.2	100	100
2x+4x 安芸タンゴール	5	73.4±2.3	100	100
2x+4x 農間紅八朔	5	65.4±1.7	100	100
2x+4x 安政柑	5	65.7±1.7	100	100

1) 葉全体の四倍性細胞割合が60%以上で、葉脈が四倍性細胞のみ有する個体。

2) 数値は平均値±標準偏差。春枝10枝から各1葉を採取し計10葉を調査。

3) 中央脈から表皮を除いたものを調査。

4) 茎頂起源層第1層 (L1), 第2層 (L2), 第3層 (L3) (菅原ら, 2002)

表3 キメラ個体の育種素材としての花粉特性と花粉を構成する細胞の倍数性

供試個体	花粉量 ¹⁾	花粉稔性(%) ²⁾	花粉の倍数性細胞割合 (%) ³⁾		
			x	2x	4x
2x+4x 不知火	少	57.3	0.0	64.0	36.0
2x 不知火 (対照)	少	59.0	-	-	-
2x+4x 農間紅八朔	多	67.0	0.0	54.1	45.9
2x 農間紅八朔 (対照)	多	97.1	46.0	54.0	0.0
2x+4x 安政柑	中	76.9	0.0	46.7	53.3
2x 安政柑 (対照)	多	97.1	51.5	48.5	0.0
4x 大橘 (参考)	多	84.8	0.0	53.7	46.3
2x 大橘 (対照)	多	78.9	52.7	47.3	0.0

1) 種苗特性分類調査報告 (審査基準) による。

2) 1%アセトカーミンにより染色して調査。

3) 倍数性は、フローサイトメトリーにより調査。 -: 検出できず。

表4 2x+4x キメラ個体と二倍体の交配における種子形成および雑種実生の倍数性

交配親		調査 果実数	種子数		倍数性 ¹⁾			
種子親	花粉親		完全種子	不完全種子	完全種子数			不完全種子数
					2x	3x	4x	3x
2x+4x 農間紅八朔	CRC2240 ²⁾	1	7	3	0	5	0	-
2x+4x 安芸タンゴール	CRC2240 ²⁾	5	6	63	0	4	0	1
大橘	2x+4x 不知火	50	8	387	7	0	1	26
清見	2x+4x 安政柑	75	4	648	0	0	4	30

1) 倍数性は、根端分裂細胞の染色体数により判定。発芽した全ての実生を調査。

2) CRC2240は独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構果樹研究所より分譲を受けた。