

カンキツのゲノム編集利用に向けた培養技術の開発

1. はじめに

カンキツの新品種開発は、交雑育種法が一般的であるが、無核化や無棘化などの形質改善が困難であることや、育成期間が長期化するという課題を抱えている。近年、ゲノム編集技術による品種開発が注目されており、カルスを介した再生系はその有力な手法とされる。植物組織をホルモン含有培地で培養することでカルス、不定胚、シュート・根の形成が可能であるが、この技術の国内品種への適応例は限られている。そこで、主要品種である‘今津ポンカン’の成熟種子を材料として植物体再生系を確立し、将来的なゲノム編集素材として評価する。

2. 試験方法

‘今津ポンカン’の成熟果実から種子を採取し、70 %エタノール(10 分)および1 %次亜塩素酸ナトリウム(10 分)で表面を殺菌処理後、滅菌水で3 回洗浄処理した。その後、種皮を除去し、3 % (w/v) スクロースを含むMS 培地に播種した(図1)。処理区は以下の試験①～③とし、各50～60 個体用いた。

試験① 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(2,4-D) 1 mg L^{-1}

試験② 6-ベンジルアミノプリン(BA) 1 mg L^{-1}

試験③ 無添加

すべての胚を 25°C の暗所で静置培養し、7 日後にカルス形成を確認した(図2)。得られたカルスをホルモン無添加培地および $\text{NAA } 0.5 \text{ mg L}^{-1} + \text{GA}_3 \text{ } 0.5 \text{ mg L}^{-1}$ 添加培地へ移植し、60 日間培養して不定胚形成およびシュート・根形成率を評価した。なお、ホルモン濃度については、Nito et al. (1990) および Hossein et al. (2015) の報告をもとに選定した。

3. 結果

試験①ではカルス形成率が 88.3% となり、試験③の 48.0% を有意に上回り、試験②ではカルス形成がみられなかった(表)。得られたカルスをホルモン無添加の培地へ移植した結果、移植から 60 日後に不定胚の形成が確認できた(図3)。しかし、 $\text{NAA } 0.5 \text{ mg L}^{-1} + \text{GA}_3 \text{ } 0.5 \text{ mg L}^{-1}$ に移植した後の誘導過程においてシュート・根の形成率が低く、多くの個体が再生完

了(図4)前に枯死した。

表 種子のカルス培養における培地への植物ホルモン添加とカルス形成率

処理区	培地に添加した植物ホルモン	カルス形成率 (%)
試験①	2,4-D	88.3 a
試験②	BA	0.0 b
試験③	無添加	48.0 c

n=50～60

異符号間にカイニ乗検定 (x²検定) 5%水準で有意差あり



図1 培養開始時の種子

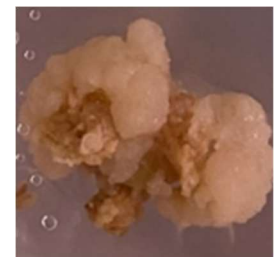


図2 培養開始7日目のカルス



図3 不定胚



図4 シュート・根

4 まとめ

2,4-D 添加培地は、‘今津ポンカン’ 成熟種子由来のカルス形成に有効であった。一方で、シュート・根誘導培地については形成率が低かったため、ホルモン濃度や条件の再検討を行い、再生率の向上を図る必要がある。

さらには、異なる組織を対象にカルスの誘導条件を検討することにより、植物体再生の効率を高めていきたい。

(みかん研究所 研究員 木下 佳)