

## PCR マーカーによる偶発周縁キメラ ‘ミカンカボス’ の層別組織のキメラ性判別

松尾洋一・山本雅史<sup>1)</sup>・小原 誠<sup>2)</sup>・松本亮司<sup>3)</sup>(佐賀県果樹試験場・<sup>1)</sup>果樹試験場・<sup>2)</sup>大分県柑橘試験場津久見分場・<sup>3)</sup>果樹試験場カンキツ部口之津)Youichi MATSUO, Masashi YAMAMOTO, Makoto OHARA and Ryoji MATSUMOTO :  
Identification of Its Origins from Coincidentally Periclinal Chimera  
‘Mikan-kabosu’ Organs Using PCR Markers

大分県で発見された偶発キメラ ‘ミカンカボス’ はカボスの起源層第I層が温州ミカンと置換されたキメラであるといわれている。本試験では各層別の組織よりDNAを抽出し、ランダムプライマーを利用したPCR (RAPD) 法で得られるバンドを利用してキメラ性の判別を行ったので報告する。

## 1. 材料および方法

供試材料は10月上旬に採取し、それぞれ大分県柑橘試験場津久見分場に保存してある ‘カボス’ と ‘ミカンカボス’、‘ミカンカボス珠心胚実生’ および旧果樹試口之津支場の ‘林温州’ を用いた。層別抽出を行うため結果母枝の木部および維管束、幼果の種子、砂じょう、展開葉をそれぞれSDS法により全DNAを抽出した。このDNA 0.5 μℓ (20ng/ℓ) にプライマー 10pM/0.5 μℓ, DNAポリメラーゼ (Tth) 0.5 ユニットおよびdNTP 200 μ M を加え、最終容量を 12.5 μℓ とした。

PCR反応を行い、増幅したDNAバンドはアガロースゲルで電気泳動後、エチジウムブロマイドで染色し、UV照射下で観察を行った。

## 2. 結果および考察

オベロン社製のランダムプライマー (キットC, キットM) と温州ミカンおよびカボスに特徴のあるバンドが出現することが事前に確認されているワコー社製のA1, A12, B6, B12, オベロン社製のA1, A4, A8, A12,

A19のプライマーを使用した。40種のプライマーのスクリーニングを行った中で、カボスの特徴があるバンドがみられたものが9種類、温州ミカンの特徴があるバンドがみられたものが5種類発見された。また、両方の品種のバンドに特徴のあるプライマーが4種類発見された。しかし、両品種の識別が可能なプライマーの中でも展開葉から抽出したDNAについては、第I層は表皮のみであるため、第I層がキメラ化した品種については、明確なバンドが出現しなければ判別が困難となる。

上記のプライマー OPA12, WAB12 および OPC4 を用いて、それぞれ4品種の層別抽出を行いキメラ性の確認を行った。‘ミカンカボス’ のバンドは、展開葉では温州ミカンとカボスの両品種のバンドを示し、両品種がキメラ化したものと確認できた (写真1)。第I層由来である砂じょうでは、温州ミカンのバンドを示した (写真2)。第II層由来である種子では、カボスのバンドを示した (写真3)、第III層由来である木部および維管束でも同様にカボスのバンドを示した (写真4)。また、‘ミカンカボス’ の珠心胚実生は、全組織において、カボスのバンドと完全に一致していた。これは珠心組織より発生したため、カボス自身に戻ったものと推察される。

以上の結果より、‘ミカンカボス’ の由来は偶発実生ではなく、起源第I層が温州ミカン、第II, III層がカボスの偶発周縁キメラであると考えられる。

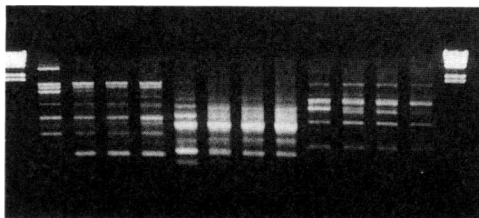


写真1 展開葉におけるPCR増幅パターン  
注) M: マーカー, 1: 林温州, 2: ミカンカボス, 3: カボス,  
4: ミカンカボス珠心胚実生

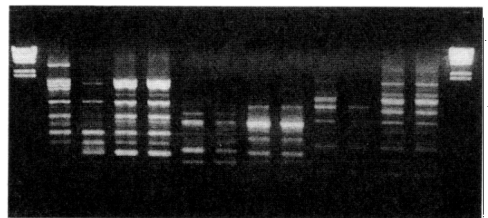


写真2 砂じょうにおけるPCR増幅パターン  
注) M: マーカー, 1: 林温州, 2: ミカンカボス, 3: カボス,  
4: ミカンカボス珠心胚実生

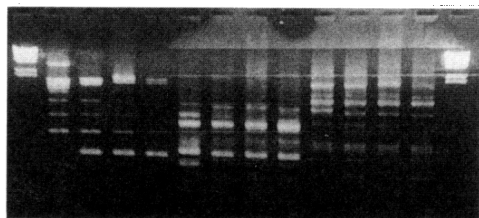


写真3 種子におけるPCR増幅パターン  
注) M: マーカー, 1: 林温州, 2: ミカンカボス, 3: カボス,  
4: ミカンカボス珠心胚実生

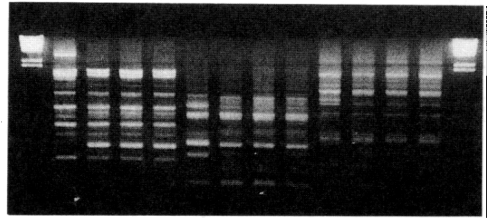


写真4 木部および維管束におけるPCR増幅パターン  
注) M: マーカー, 1: 林温州, 2: ミカンカボス, 3: カボス,  
4: ミカンカボス珠心胚実生