

# 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

誌名	九州農業研究
ISSN	04511581
著者	松尾, 洋一 山本, 雅史 小原, 誠 松本, 亮司
巻/号	59号
掲載ページ	p. 187-187
発行年月	1997年5月

## 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  $\mu$  l (20ng/l) にプライマー 10pM/0.5  $\mu$  l, DNA ポリメラーゼ (Tth) 0.5 ユニットおよび dNTP200  $\mu$  M を加え、最終容量を 12.5  $\mu$  l 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

オペ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, オペロン社製の 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 (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。

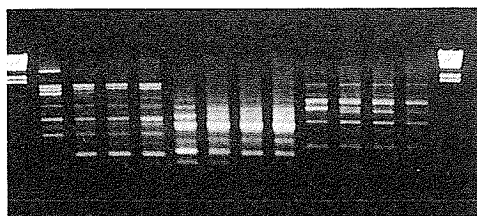


写真 1 展開葉における PCR 増幅パターン

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

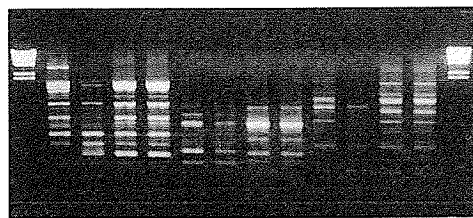


写真 2 砂じょうにおける PCR 増幅パターン

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

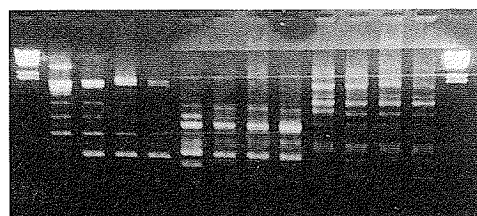


写真 3 種子における PCR 増幅パターン

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

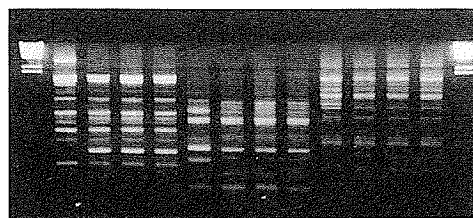


写真 4 木部および維管束における PCR 増幅パターン

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