

奄美群島在来シクワサー (*Citrus depressa*) における 葉緑体 DNA の多型

山本雅史

Polymorphisms of Chloroplast DNA in Shiikuwasha (*Citrus depressa*) Grown on the Amami Islands

YAMAMOTO Masashi

鹿児島大学農学部

Faculty of Agriculture, Kagoshima University

要旨

奄美群島の在来シクワサーを供試し、CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) 法によって葉緑体 DNA 分析を実施した。その結果、供試した 13 系統のうち奄美大島および与論島のシクワサー各 1 系統の葉緑体 DNA が他の 11 系統と区別できた。以上のことから、奄美群島在来シクワサーにおける葉緑体 DNA の多型の存在を明らかにすることができた。

はじめに

有史以前に我が国に自生していたカンキツはタチバナ (*Citrus tachibana*) およびシクワサー (*C. depressa*) のみであり、後者は南西諸島に広く分布している。特にシクワサーは果実に健康増進・維持に有効な機能性成分が含まれており (十一 2005) 需要が多い。シクワサーは系統間における果実特性等の多様性が高く、利用の面からも各系統の特性を明らかにする必要がある。そのため、DNA 分析による系統識別・同定、多様性の解明は極めて重要であり、著者はこれらに関する研究を進めてきた (山本ら 1998, YAMAMOTO *et al.* 2011, 2013)。しかし、これらの研究においては主に沖縄のシクワサーを供試しており、奄美群島在来シクワサーについては供試点数が十分でなかった。本研究においては、奄美群島に分布する 5 島の在来シクワサーを供試して、結果の信頼性が高い CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) 法によって葉緑体 DNA 分析を実施し、その多様性について検討した。

方法

奄美群島在来シクワサー13 系統を供試した。対照として、沖縄在来シクワサー3 系統およびシクワサー以外のマンダリン6 系統も供試した (表 1)。

DNA は葉から抽出し、葉緑体 DNA の *trnL-trnF* 領域を PCR を用いて増幅した。増幅した DNA を制限酵素の *Sau3AI* を用いて切断してアガロースゲル電気泳動を実施した。ゲルは GelRed で染色し、紫外線照射下で出現バンドを確認した。

表 1 供試した奄美群島の在来シクワサーおよび対照系統

系 統	学 名	分 布	葉緑体 DNA のタイプ
奄美群島在来シクワサー			
シクワサー#14	<i>Citrus depressa</i> Hayata	奄美大島	1
シクワサー#15	<i>C. depressa</i> Hayata	奄美大島	2
シクワサー#11	<i>C. depressa</i> Hayata	加計呂麻島	2
シークニン (甘)	<i>C. depressa</i> Hayata	徳之島	2
シークニン (辛)	<i>C. depressa</i> Hayata	徳之島	2
シークリブ (上城)	<i>C. depressa</i> Hayata	沖永良部島	2
シークリブ (余多)	<i>C. depressa</i> Hayata	沖永良部島	2
シークリブ (屋子母)	<i>C. depressa</i> Hayata	沖永良部島	2
キンカン#4	<i>C. depressa</i> Hayata	与論島	2
キンカン#7	<i>C. depressa</i> Hayata	与論島	2
キンカン#13	<i>C. depressa</i> Hayata	与論島	1
キンカン#15	<i>C. depressa</i> Hayata	与論島	2
キンカン#17	<i>C. depressa</i> Hayata	与論島	2
対照系統：沖縄在来シクワサー			
大宜味クガニー	<i>C. depressa</i> Hayata	沖縄	1
伊豆見クガニー	<i>C. depressa</i> Hayata	沖縄	1
イシクニブ	<i>C. depressa</i> Hayata	沖縄	2
対照系統：その他マンダリン			
タチバナ	<i>C. tachibana</i> (Makino) Tanaka	日本	1
スンキ	<i>C. sunki</i> (Hayata) hort. ex Tanaka	中国	2
クレオパトラ	<i>C. reshni</i> hort. ex Tanaka	インド	2
キシウミカン	<i>C. kinokuni</i> hort. ex Tanaka	中国	3
ウンシュウミカン	<i>C. unshiu</i> Marccow.	日本	3
ポンカン	<i>C. reticulata</i> Blanco	インド	3

結果と考察

CAPS 分析の結果、供試系統は3タイプに区別できた(表1)。このうちタイプ3は対照のシクワサー以外のマンダリンで確認されたのみであり、奄美群島在来シクワサーではタイプ1および2が確認できた。沖縄在来シクワサーでもタイプ1および2が出現した。シクワサー以外ではタチバナがタイプ1、スンキとクレオパトラがタイプ2であった。

既報においては(YAMAMOTO *et al.* 2011, 2013)、沖縄在来シクワサーではタイプ1および2の存在を確認したが、奄美群島在来シクワサーではタイプ2しか認めることができなかった。このため、奄美群島在来シクワサーの多様性が沖縄在来シクワサーよりも低い可能性を推察した。しかし、本研究の結果、奄美大島および与論島の各1系統はタイプ1であり、奄美群島在来シクワサーにおいても沖縄在来シクワサーと同様の葉緑体DNAの多型の存在を確認することができた。今後は、核DNAについても同様の研究を進め、奄美群島在来シクワサーの識別・同定および多様性の解明を実施する必要がある。

引用文献

- 十一元晴 2005. カンキツ類の化学成分とがん予防物質に関する研究. 薬学雑誌, 125:231-254.
- YAMAMOTO, M., KOUNO, R., NAKAGAWA, T., USUI, T., KUBO, T. and TOMINAGA, S. 2011. Isozyme and DNA Analyses of Local *Citrus* Germplasm on Amami Islands, Japan. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 80: 268-273.
- 山本雅史・松尾洋一・國賀 武・松本亮司・山田彬雄 1998. シクワサー類のアイソザイム及びRAPD分析. 果樹試験場報告, 30/31: 339-351.
- YAMAMOTO, M., TSUCHIMOCCHI, Y., NINOMIYA, T., KOGA, T., KITAJIMA, A., YAMASAKI, A., INAFUKU-TERAMOTO, S., YANG, X. H., YANG, X. L., ZHONG, G. Y., NASIR, N., KUBO, T. and TOMINAGA, S. 2013. Diversity of Chloroplast DNA in Various Mandarins (*Citrus* spp.) and Other Citrus Demonstrated by CAPS Analysis. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 82: 106-113.