

喜界島（鹿児島県）の在来カンキツであるケラジミカン（*Citrus keraji*）の来歴の検討

山本雅史*・福田麻由子・古賀孝徳・久保達也・冨永茂人

鹿児島大学農学部 890-0065 鹿児島市郡元

Examination of the Origin of Keraji (*Citrus keraji*), Local Citrus of Kikaijima Island, Kagoshima Prefecture

Masashi Yamamoto*, Mayuko Fukuda, Takanori Koga, Tatsuya Kubo and Shigeto Tominaga

Faculty of Agriculture, Kagoshima University, Korimoto, Kagoshima 890-0065

Abstract

We studied the origin of Keraji (*Citrus keraji* hort. ex Tanaka), which is a local cultivar mainly grown on Kikaijima island located on the east side of Amami-oshima, Kagoshima prefecture. The proportion of common bands was calculated based on the results of inter simple sequence repeat (ISSR) analysis. For Keraji, that value was highest for Kunenbo (*C. nobilis* Lour.) (0.823), followed by Kikaimikan (*C. keraji* hort. ex Tanaka) (0.688). Of the 16 polymorphic markers that appeared in Keraji, all bands were shared with Kunenbo and/or Kikaimikan, and no extra bands were detected in Keraji. Therefore we can assume that Keraji originated from Kunenbo and Kikaimikan. Since Keraji, Kunenbo and Kikaimikan always showed identical banding patterns on chloroplast DNA analysis, those three accessions were not distinguished from each other. Since both self-incompatible Keraji and Kikaimikan were cross-incompatible on reciprocal crossing, the incompatible genotype of those two accessions was considered identical. However, cross-incompatibility was not found between those two accessions and self-incompatible Kunenbo. When Kikaimikan and Kunenbo, which are both candidates for parental accessions of Keraji, carry the same incompatible gene, Keraji and its pollen parent are cross incompatible. In accordance with this theory, there is a possibility that Keraji originated from Kunenbo and Kikaimikan as the seed and pollen parent, respectively.

Key Words : DNA analysis, Kabuchii, Kikaimikan, Kunenbo, incompatibility

キーワード : DNA 分析, 不和合性, カブチー, キカイミカン, クネンボ

緒 言

ケラジミカン (*Citrus keraji* hort. ex Tanaka) は奄美大島の東側に位置する喜界島の特産カンキツで、無核性であること、減酸が早生ウンシュウと同程度と極めて早いこと、機能性成分であるポリメトキシフラボノイドを比較的多く含有すること、芳香を備えることなど、優秀な果実品質を備える (山本ら, 2005, 2008; Yamamoto・Tominaga, 2002)。本種は 18 世紀末に喜界島の花良治 (けらじ) 集落で発見されたとされており (郡山, 1964), それに基づけば本種の成立から 200 年強となる。筆者らの奄美諸島における在来カンキツ類の調査では (山本ら, 2006), 複数の島に分布する多くの他のカンキツと異なりケラジミカンは喜界島でのみ現在在来カンキツとして栽培されており、発生からの歴史の短さをうかがい知ることができた。

優れた果実品質を備えるケラジミカンの来歴の解明は、無核性の優秀なカンキツ新品種の育種を推進する上での重

要な情報となるものと考えられる。また、喜界島においては、ケラジミカンが島を代表するカンキツとして極めて重要視されており、その来歴を明らかにすることが宿願である (郡山, 1964) ことなどから、筆者らはケラジミカンの両親の解明に着手した。そのために、類縁関係にあると考えられる種を供試して、類縁関係や親子関係の解明に有効な手法である DNA 分析 (Nicolosi ら, 2000) を行った。DNA 分析には簡便であるものの再現性の高い Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) 分析 (Fang・Roose, 1997; Pradeep Reddy ら, 2002) および種子親の解明に有効な葉緑体 DNA 分析 (Asadi Abkenar ら, 2004b) を実施した。併せて、ケラジミカンと他種との交雑不和合性関係を調査した。それらの結果から、ケラジミカンの来歴に関して若干の知見を得ることができたので、ここに報告する。

材料および方法

1. ISSR 分析

ISSR 分析ではケラジミカンなど 13 種類のカンキツを供試した (第 1 表)。ケラジミカンの原産地および特性から、喜界島を中心とした奄美諸島在来のマンダリンを選んだ。カブチー (*C. keraji* hort. ex Tanaka) 類については喜界島以

2009 年 3 月 12 日 受付。2009 年 6 月 24 日 受理。

本報告の一部は園芸学会平成 20 年度春季大会で発表した。

* Corresponding author. E-mail: yamasa@agri.kagoshima-u.ac.jp

Table 1 *Citrus* accessions used in this study and their distribution.

Common name (Latin name)	Accession	Distribution
Keraji (<i>C. keraji</i> hort. ex Tanaka)	Keraji	Kikaijima
Kabuchii (<i>C. keraji</i> hort. ex Tanaka)	Kikaimikan (Shimanaka)	Kikaijima
	Kikaimikan (Gusuku) ^z	Kikaijima
	Natsukunin ^z	Tokunoshima
	Kabocha ^z	Okinoerabujima
Kunenbo (<i>C. nobilis</i> Lour.)	Kunenbo ^y	Yoronjima
Shiikuwasha (<i>C. depressa</i> Hayata)	Shiikunin (Kara)	Tokunoshima
	Shiikuribu (Yakomo)	Okinoerabujima
	Shiikuribu (Kamishiro)	Okinoerabujima
	Katsuyamakugani	Okinawa
Kabishi	Kabishi	Okinawa
Tachibana (<i>C. tachibana</i> (Makino) Tanaka)	Tachibana ^y	

^zNot used for cpDNA analysis.^yPreserved trees at Faculty of Agriculture, Kagoshima University.**Table 2** List of primers and their sequence demonstrating polymorphic fragments in this study.

Primer number ^z	Sequence ^y
801	ATA TAT ATA TAT ATA TT
807	AGA GAG AGA GAG AGA GT
810	GAG AGA GAG AGA GAG AT
812	GAG AGA GAG AGA GAG AA
835	AGA GAG AGA GAG AGA GYC
840	GAG AGA GAG AGA GAG AYT
856	ACA CAC ACA CAC ACA CYA
857	ACA CAC ACA CAC ACA CYG
866	CTC CTC CTC CTC CTC CTC
873	GAC AGA CAG ACA GAC A
880	GGA GAG GAG AGG AGA

^zUBC Set#9, 801–900.^yY = (C, T).

外にも各島に分布しているので、それらも材料とした。シクワサー (*C. depressa* Hayata) は数回の喜界島における遺伝資源調査で在来のものを見つけることはできなかった (山本ら, 2006), 徳之島, 沖永良部島および沖縄に分布しているものを材料とした。喜界島を含めた奄美諸島で栽培されているクネンボ (*C. nobilis* Lour.) は, 形態的特性から鹿児島大学農学部保存樹と同種と考えられたので, その保存樹を供試した。筆者らの調査 (山本ら, 2006) では奄美諸島でタチバナ (*C. tachibana* (Makino) Tanaka) を見つけることはできなかったが, 我が国原産であることから材料に含めた。

DNA は葉から ISOPLANTII (ニッポンジーン) を用いて抽出した。プライマーはブリティッシュ・コロンビア大学 (カナダ) の UBC801, 807, 810, 812, 835, 840, 856, 857,

866, 873 および 880 の 11 種類を用いた (第 2 表)。これらは予備実験の結果, 再現性の高い多型が得られることを確認して選抜した。PCR 反応は PC320 (アステック) を用いて, 94°C 5 min, その後 94°C 1 min, 52°C 45 s, 72°C 2 min を 40 サイクル, 最後に 72°C 10 min とした。反応は 12.5 μL の系で行い, その組成は 10 mM トリス塩酸 (pH 9.0), 40 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 10 ng 鋳型 DNA, 2 mM dNTP, 10 pmol プライマーおよび 1.25 unit Taq polymerase (Bioneer) である。増幅産物は 1.5% アガロースゲル電気泳動後, Mupid-Blue (アドバンス) で染色した。多型の得られたバンドを選び, 各種類におけるそれらバンドの出現の有無から共有バンド率を算出した。

2. 葉緑体 DNA 分析

葉緑体 DNA 分析においてはケラジミカンなど 9 種類を用いた (第 1 表)。ISSR 分析においてカブチー類内の変異は極めて小さかったため, カブチー類ではキカイミカン (島中) のみを供試した。

DNA は ISSR 分析の際に抽出したものをを用いた。2 か所の葉緑体 DNA 領域, すなわち *rbcL*(5'-ATGTCACCACAAACA GAACTAAAGCAAGT-3')-ORF106(5'-ACTACAGATCTCAT ACTACCCC-3')および *trnL*(5'-GGTCAAGTCCCTCTATCCC-3')-*trnF*(5'-ATTTGAACTGGTGACACGAG-3') をプライマーとした PCR を行った (Arnold ら, 1991; Taberlet ら, 1991)。PCR 反応には PC320 (アステック) を用いた。条件は以下の通りである。94°C 1 min, その後 94°C 1 min, 55°C 1 min, 72°C 2 min を 35 サイクル, 最後に 72°C 10 min。反応は 12.5 μL の系で行い, その組成は 10 mM トリス塩酸 (pH 9.0), 40 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 10 ng 鋳型 DNA, 2 mM dNTP, 10 pmol 各プライマーおよび 1.25 unit Taq polymerase (Bioneer) とした。*rbcL*-ORF106 の増幅産物は, 制限酵素である *Hinf*I または *Hha*I で, *trnL*-*trnF* の増幅産物は *Sau*3AI で各々切断した (Asadi Abkenar ら, 2004a; Urasaki ら, 2005)。制限酵素反応は 37°C 4 時間とした。制限酵素処理した DNA は, 1.5% アガロースゲル電気泳動の後, Mupid-Blue (アドバンス) で染色して, 出現バンドを確認した。

3. 交雑不和合性の検定

交雑不和合性の検定においては, ケラジミカン, キカイミカンおよびクネンボを材料とした。除雄した開花直前の花に人工受粉して袋を掛け, 自然受粉を妨げた。6 または 7 日後に花を採取し, 固定液 (メタノール: 酢酸 (3:1)) に浸漬して -20°C で保存した。その後, Martin (1958) の方法に従い, 雌ずいをアニリンブルーで染色し, 押しつぶし法で試料を作製して蛍光顕微鏡 (UV) 観察により花柱内の花粉管数を計数した。

結 果

ISSR 分析における 11 種類の UBC プライマーから, 供試したカンキツ間で再現性の高い多型バンドが 34 本確認できた。カブチー類のキカイミカン (島中および城久), ナツク

Table 3 Proportion of common bands based on ISSR data.

Accession	Accession											
	Keraji	Kikai- mikan (Shima- naka)	Kikai- mikan (Gusuku)	Natsu- kunin	Kabocha	Irabuoto	Kunenbo	Shii- kunin (Kara)	Shii- kuribu (Yakomo)	Shii- kuribu (Kamishiro)	Katsu- yama- kugani	Kabishi
Kikaimikan (Shimanaka)	.688											
Kikaimikan (Gusuku)	.688	1.00										
Natsukunin	.688	1.00	1.00									
Kabocha	.688	1.00	1.00	1.00								
Irabuoto	.667	.970	.970	.970	.970							
Kunenbo	.823	.647	.647	.647	.647	.629						
Shiikunin (Kara)	.467	.467	.467	.467	.467	.452	.500					
Shiikuribu (Yakomo)	.467	.467	.467	.467	.467	.452	.500	1.00				
Shiikuribu (Kamishiro)	.467	.467	.467	.467	.467	.452	.500	1.00	1.00			
Katsuyamakugani	.452	.516	.516	.516	.516	.500	.485	.759	.759	.759		
Kabishi	.516	.516	.516	.516	.516	.500	.485	.828	.828	.828	.867	
Tachibana	.143	.143	.143	.143	.143	.138	.200	.462	.462	.462	.444	.444

Table 4 Relationships of polymorphic bands appeared in ISSR analysis among Keraji, Kikaimikan and Kunenbo.

	Number of bands appeared
All polymorphic bands appeared in Keraji	16
Polymorphic bands appeared in Keraji, Kikaimikan and Kunenbo	9
Polymorphic bands appeared in both Keraji and Kikaimikan	2
Polymorphic bands appeared in both Keraji and Kunenbo	5
Polymorphic bands appeared only in Keraji	0

Table 5 Types of cpDNA of accessions used in this study.

Type	Accession	<i>rbcL</i> -ORF106 ^z		<i>trnL-trnF</i>
		<i>Hinf</i> I ^y	<i>Hha</i> I	<i>Sau</i> 3AI
I	Keraji, Kikaimikan, Kunenbo	a ^x	a	a
II	Katsuyamakugani, Tachibana	b	a	a
III	Shiikunin (Kara), Shiikuribu (Yakomo), Shiikuribu (Kamishiro), Kabishi	b	a	b

^z Primers.^y Restriction enzyme.^x Same letter indicates the same banding pattern.

ニンおよびカボチャは常に同一のバンドパターンを示した。シクワサー類においてもシークニン（辛）とシークリブ（屋子母および上城）の出現バンドには差異が認められなかった。

多型が認められたバンドを用いて共有バンド率を算出した（第3表）。ケラジミカン、クネンボと最も共有バンド率が高く（0.823）、次いでキカイミカンなどカブチー類との共有バンド率が高かった（0.667ないし0.688）。シクワサー類との共有バンド率は0.452～0.516、タチバナとは0.143と低かった。カブチー類内ではイラブオートーのみが出現バンドが他とは一致しなかったが、共有バンド率は0.970と高かった。カブチー類とクネンボとの間には0.629ないし0.647の共有バンド率が得られた。シクワサー類内での共有バンド率は0.759～1.00であった。シクワサー類と他のカンキツとの共有バンド率はほぼ0.5であった。全体のなかでタチバナが最も共有バンド率が低かった。

ケラジミカンに認められた16本のバンドのうち、9本はクネンボおよびキカイミカン（ナツクニン、カボチャ）にも出現し、各々2および5本はキカイミカンおよびクネンボと同じバンドであった。この3者間でケラジミカンのみに出現する独自のバンドは無かった（第4表）。一方、クネンボ、シクワサー類全体およびケラジミカンでは、ケラジミカン独自のバンドが1本、キカイミカン、シクワサー類全体およびケラジミカンでは、ケラジミカン独自のバンドが2本出現した。また、シクワサー類全体に出現しなかったバンドがケラジミカンには7本出現した。

プライマーと制限酵素の3組み合わせにおける葉緑体DNA分析においては*rbcL*-ORF106の増幅産物を*Hinf*Iで、*TrnL-TrnF*の増幅産物を*Sau*3AIで切断したときに多型が確認できた。ケラジミカン、クネンボおよびキカイミカンは常に同一のバンドパターンを示し、区別できなかった。一方、これらとシクワサー類およびタチバナは明確に区

Table 6 Relationships of cross-incompatibility/compatibility among Keraji, Kikaimikan and Kunenbo.

Cross combination	No. of days after pollination	No. of flowers observed	No. of pollen tubes ²			CI or CC ³
			Top of the style	Middle of the style	Base of the style	
Keraji × Kikaimikan	7	4	19.5	2.8	0.8	CI
Kikaimikan × Keraji	7	5	7.8	1.6	0.4	CI
Keraji × Kunenbo	6	4	100<	68.3<	22.8	CC
Kunenbo × Keraji	6	4	100<	77.5<	27.0	CC
Kikaimikan × Kunenbo	7	6	100<	100<	100<	CC
Kunenbo × Kikaimikan	6	4	100<	100<	22.8	CC

² When numbers of observed pollen tubes were more than 100, we recorded the value as 100<. In such cases, we could not calculate the exact mean number. We calculated mean number of 100< using 100, and added <.

³ CI: cross-incompatibility, CC: cross-compatibility.

別できた (第5表)。

いずれも自家不和合性である (Yamamoto ら, 2006) ケラジミカン, クネンボおよびキカイミカン間の交雑では, ケラジミカンとキカイミカンの正逆交雑において, 受粉7日後の花柱基部において観察された花粉管が1.0本未満で, 不和合関係が認められた。このことから, 両者の不和合性に関する遺伝子型が一致することが確認できた。この両者はクネンボとは交雑和合性であった (第6表)。

考 察

本研究の結果, ケラジミカンとクネンボおよびキカイミカン (カブチー) との近縁性を明らかにできた。以下に示す理由から, ケラジミカンがクネンボを種子親, キカイミカンを花粉親とする可能性を提案することが可能である。なお, カブチー類である喜界島のキカイミカン, 徳之島のナツクニンおよび沖永良部島のカボチャは, ISSR 分析において区別できなかったが, ケラジミカンが喜界島で発生した (郡山, 1964) ことから, これらカブチー類の中でキカイミカンがケラジミカンの発生に関与した可能性が最も強いと考えられた。

本研究の親子関係の解明には, ISSR 分析を用いた。ISSR は原則として優性マーカーであるため (Pradeep Reddy ら, 2002), 親子鑑定には共優性マーカーである Simple Sequence Repeat (SSR) 分析の方が適している (Sawamura ら, 2004)。しかし, ISSR 分析は Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) 分析と同様, 高額機器および高い実験技術を必要としないうえ, 結果の再現性が高い優れた DNA 分析手法である (Pradeep Reddy ら, 2002)。カンキツにおいても品種識別などで有効性が示されている (Siragusa ら, 2008) こと, ハナハスでは ISSR 分析の結果が親子鑑定に用いられていること (黄ら, 2004) から, 本研究の結果は親子関係の推定に十分な価値を持つものと判断した。優性マーカーの特性上, ケラジミカンにおいてキカイミカンおよびクネンボに無いバンドが出現した場合, ケラジミカンとキカイミカンおよびクネンボとの間の親子関係が否定される。しかし, そのようなバンドは出現せず, ケラジミカン

とキカイミカンおよびクネンボの親子関係は否定されなかった。一方, その他の組み合わせではケラジミカンに独自のバンドが出現して, それらが両親であるとの仮定が否定された。さらに, ケラジミカンとクネンボとの間の共有バンド率は0.8以上で, 場合によってはシクワサー類間における共有バンド率よりも高かった。ケラジミカンとキカイミカンの共有バンド率も, 他種間の共有バンド率と比較すると低いものでなかった。これらの結果を総合するとケラジミカンはキカイミカンとクネンボを両親とする雑種である可能性があるものと推察できた。

カンキツ類において母性遺伝することが証明されている葉緑体 DNA 分析 (Asadi Abkenar ら, 2004b) においては, カンキツ属内で多型が得られることが報告されているプライマーと制限酵素の組み合わせを用いた (Asadi Abkenar ら, 2004a; Urasaki ら, 2005)。ケラジミカン, キカイミカンおよびクネンボとシクワサー類およびタチバナとの識別はできたが, 前3種の識別はできなかった。クネンボはマンダリンに分類されることが多いが, マンダリン類とは明確に識別可能なブンタン型の葉緑体 DNA を備えることが解明されており, これは同じくブンタン型葉緑体 DNA を持つスイートオレンジに由来するものだと考えられている (Yamamoto・Kobayashi, 1996)。ケラジミカンおよびキカイミカンが形態的にはマンダリンであるにも関わらず, ブンタン型細胞質を示したことは, この両者の細胞質がクネンボに由来する可能性を強く示唆するものである。カブチー類はクネンボに類似する香りを備えており (田中, 1948), 葉緑体 DNA 分析の結果と併せて, カブチー類の発生にもクネンボが関与した可能性が強いものと考えられる。そうすると, キカイミカンとクネンボとの交雑は, クネンボの戻し交雑となり, ケラジミカンとクネンボとの近縁性は強く, ISSR 分析における高い共有バンド率とも一致する。

カンキツでは類縁関係にある自家不和合性品種間で交雑不和合関係が認められることがある (Soost, 1969; Yamamoto ら, 2006)。キカイミカンとクネンボの組み合わせでケラジミカンとキカイミカンが交雑不和合性であるのは, キカイミカンとクネンボが同じ不和合性遺伝子を1つ共有

し、クネンボを種子親とする場合のみである。配偶体型不和合性のカンキツでは、 $SaSb \times SaSc$ (Sa, Sb, Sc : 不和合性遺伝子型)の後代は $SaSc$ または $SbSc$ となり、50%の割合で花粉親と後代の不和合性の遺伝子型が同じになる。本研究においては、幸いケラジミカンとキカイミカンが同一の遺伝子型であると考えられたので、花粉親と種子親候補を推定することが可能であった。

前述の通り、カブチー類の発生にはクネンボが関わっているようである。そのため、キカイミカンにはクネンボ由来の不和合性遺伝子が存在しており、上記の結果が得られたのであろう。さらに、葉緑体DNA分析からキカイミカンはクネンボが種子親となった可能性が高い。花粉親の確定はできないが、キカイミカンはクネンボに無い日本原産のマダラマンを特徴付けるアイソザイム遺伝子および染色体を備えることが分かっている (Yamamoto・Tominaga, 2003; 山本・富永, 2003)。これらのことから、キカイミカンはクネンボにシクワサー類など日本原産カンキツが交雑して出現した可能性があると考えることができた。しかし、本研究におけるISSR分析のカブチー類とシクワサー類の共有バンド率は約0.5と高くなく、クネンボ、シクワサー類全体およびキカイミカン間において、キカイミカン独自のバンドが出現した (データ略)。以上の結果およびシクワサー類には幅広い多様性が存在すること (山本ら, 1998) から、花粉親の推定には一層の研究が必要である。

南西諸島におけるカンキツ類の地理的、歴史的分布と本研究の結果に矛盾はなかった。この地域にはシクワサーが自生しており、クネンボは江戸時代以前に渡来した (田中, 1948; 吉田, 1995)。多数の在来カンキツは自生種や渡来種をもとに発生した偶発実生由来である (吉田, 1995)。ケラジミカンが発見されたとされる18世紀末 (郡山, 1964) は、クネンボの導入から長年月が経過しており、その栽培は盛んであったと考えられる。キカイミカンの来歴の詳細は明らかでないが、カブチー類は南西諸島全体に分布しており、その呼称が各島によって異なることから (山本ら, 2006)、クネンボ導入以降の早い時期に発生して分布域を拡大していったものと考えられる。現在でも喜界島では庭先果樹としてキカイミカンおよびクネンボが多数栽培されている。おそらくケラジミカンが発生したとされる江戸時代でも同様の状況であったであろう。クネンボは多胚性で胚数は12.7個である (上野ら, 1967)。奥代ら (1981) は胚数が約10個の‘今村温州’から一定の割合で交雑実生が出現することを報告している。クネンボは自家不和合性のため、原則として偶発実生はすべて他家交雑由来となる。江戸時代には実生樹を庭先果樹として利用しており (郡山, 1964)、それらのクネンボ実生の中からケラジミカンが発生して、選抜されたと推察できた。また、ケラジミカンの果皮の香りはクネンボに類似していることも (吉田, 1995)、ケラジミカンの発生へのクネンボの関与を

裏付けるものである。

以上、本研究の結果、喜界島特産の在来カンキツであるケラジミカンの来歴に関する知見を得ることができた。キカイミカンを含め、奄美諸島には他にも偶発実生由来と考えられる多数の在来カンキツが存在するので、これらの来歴の解明にも着手する予定である。また本研究では両親の推定にISSR分析を行ったが、既にカンキツではSSR分析の知見があるので (Ruizら, 2000)、今後はその適用も検討したい。

摘 要

奄美大島の東側に位置する喜界島特産の在来カンキツであるケラジミカン (*C. keraji hort. ex Tanaka*) の来歴について検討した。Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) 分析において、多型が認められたバンドを用いて共有バンド率を算出した。ケラジミカンはクネンボ (*C. nobilis Lour.*) と最も共有バンド率が高く (0.823)、次いでキカイミカン (*C. keraji hort. ex Tanaka*) との共有バンド率が高かった (0.688)。ケラジミカンに認められた16本のバンドはすべてキカイミカンまたはクネンボにも出現した。この3者間でケラジミカンのみに出現する独自のバンドは無かった。この結果から、ケラジミカンがクネンボとキカイミカンとの交雑種である可能性は否定できなかった。葉緑体DNA分析においてはケラジミカン、クネンボおよびキカイミカンは常に同一のバンドパターンを示し、識別できなかった。いずれも自家不和合性であるケラジミカン、キカイミカンおよびクネンボ間の交雑では、ケラジミカンとキカイミカンの正逆交雑において不和合関係が認められ、両者の不和合性に関する遺伝子型が一致することが確認できた。この両者はクネンボとは交雑和合性であった。クネンボとキカイミカンがケラジミカンの親であると仮定した場合、キカイミカンが花粉親の場合に、ケラジミカンはキカイミカンと不和合性になる。以上から、ケラジミカンはクネンボを種子親、キカイミカンを花粉親として発生した可能性があることがわかった。

引用文献

- Arnold, M. L., C. M. Bucker and J. J. Robinson. 1991. Pollen-mediated introgression and hybrid speciation in Louisiana irises. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 1398-1402.
- Asadi Abkenar, A., S. Isshiki and Y. Tashiro. 2004a. Phylogenetic relationships in the "true citrus fruit trees" revealed by PCR-RFLP analysis of cpDNA. *Sci. Hort.* 102: 233-242.
- Asadi Abkenar, A., S. Isshiki and Y. Tashiro. 2004b. Maternal inheritance of chloroplast DNA in intergeneric sexual hybrids of "true citrus fruit trees" revealed by PCR-RFLP analysis. *J. Hort. Sci. Biotech.* 79: 360-363.
- Fang, D. Q. and M. L. Roose. 1997. Identification of closely related citrus cultivars with inter-simple sequence repeat markers. *Theor. Appl. Genet.* 95: 408-417.

- 黄 健成・田辺賢二・板井章浩. 2004. ISSR マーカーによるハナハス品種の親子鑑定と花粉親の推定. 園学研. 3: 251-256.
- 郡山元正. 1964. 花良治蜜柑由来記. p. 1-17. 花良治蜜柑振興会. 鹿児島.
- Martin, F. W. 1958. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technol.* 34: 125-128.
- Nicolosi, E., Z. N. Deng, A. Gentile, S. La Malfa, G. Continella and E. Tribulato. 2000. Citrus phylogeny and genetic origin of important species as investigated by molecular markers. *Theor. Appl. Genet.* 100: 1155-1166.
- 奥代直巳・生山 巖・高原利雄. 1981. 多胚性カンキツ類における雑種実生獲得率の向上に関する研究. I 品種, 系統間の胚数及び雑種実生獲得率の差異について. 果樹試報. D3: 9-21.
- Pradeep Reddy, M., N. Sarla and E. A. Siddiq. 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica* 128: 9-17.
- Ruiz, C., M. Paz Breto and M. J. Asins. 2000. A quick methodology to identify sexual seedlings in citrus breeding programs using SSR markers. *Euphytica* 112: 89-94.
- Sawamura, Y., T. Saito, N. Takada, T. Yamamoto, T. Kimura, T. Hayashi and K. Kotobuki. 2004. Identification of parentage of Japanese pear 'Housui'. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 73: 511-518.
- Siragusa, M., F. De Pasquale, L. Abbate, L. Martorana and N. Tusa. 2008. The genetic variability of Sicilian lemon germplasm revealed by molecular marker fingerprints. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 133: 242-248.
- Soost, R. K. 1969. The incompatibility gene system in citrus. *Proc. First Int. Citrus Symp.* vol. 1: 189-190.
- Taberlet, P., L. Gielly, G. Pautou and J. Bouvet. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Mol. Biol.* 17: 1105-1109.
- 田中諭一郎. 1948. 日本柑橘図譜 (下巻). p. 417-418. 424-427. 養賢堂. 東京.
- 上野 勇・岩政正男・西浦昌男. 1967. カンキツ属および近縁属品種の胚数. 園試報. B7: 11-21.
- Urasaki, N., K. Yoshida, T. Uehara, H. Inoue, S. Onda, H. Kinjyo and S. Kawano. 2005. Single nucleotide polymorphism in shiikuwasha (*Citrus depressa* Hayata) chloroplast DNA, *trnL-trnF*. *Jpn. J. Trop. Agr.* 49: 246-251.
- Yamamoto, M. and S. Kobayashi. 1996. Polymorphism of chloroplast DNA in citrus. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 65: 291-296.
- 山本雅史・河野留美子・上野景子・橋本文雄・小橋謙史・松本亮司・吉岡照高・富永茂人. 2005. ケラジ (*Citrus keraji*) における果実品質の時期別変化とそれらの相互関係. 熱帯農業. 49: 280-287.
- Yamamoto, M., T. Kubo and S. Tominaga. 2006. Self- and cross-incompatibility of various *Citrus* accessions. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 75: 372-376.
- 山本雅史・松本亮司・上地義隆・伊地智 告・久保達也・富永茂人. 2008. 喜界島における在来カンキツのポリメトキシフラボノイド含量. 鹿大農学術報告. 58: 1-7.
- 山本雅史・松尾洋一・國賀 武・松本亮司・山田彬雄. 1998. シイクワシャー類のアイソザイム及びRAPD分析. 果樹試報. 30・31: 339-351.
- 山本雅史・松島健一・伊地智 告・上地義隆・川口昭二・中野八伯・野村哲也・谷村音樹・久保達也・富永茂人. 2006. 奄美諸島における在来カンキツ遺伝資源の調査とその保存. 鹿大農場研報. 29: 5-11.
- Yamamoto, M. and S. Tominaga. 2002. Relationship between seedlessness of keraji (*Citrus keraji* hort. ex Tanaka) and female sterility and self-incompatibility. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 71: 183-186.
- Yamamoto, M. and S. Tominaga. 2003. High chromosomal variability of mandarin (*Citrus* spp.) revealed by CMA banding. *Euphytica* 129: 267-274.
- 山本雅史・富永茂人. 2003. 奄美諸島在来のマンダリン (*Citrus* spp.) であるケラジとカブチーとの混同について. 鹿大農学術報告. 53: 15-19.
- 吉田俊雄. 1995. I. 概論. II. 品種の特性. p. 1-26. 特産のくだもの マンダリン類1. 日本果樹種苗協会. 東京.