

カンキツにおけるアイソザイム対立遺伝子の構造及び進化と系統発生に関する研究

一色, 司郎
九州大学大学院農学研究科

若菜, 章
九州大学農学部

白石, 眞一
九州大学農学部

<https://doi.org/10.15017/12679>

出版情報：九州大学農学部農場研究資料. 12, pp.23-42, 1990-03. 九州大学農学部附属農場
バージョン：
権利関係：

カンキツにおけるアイソザイム対立遺伝子の構造及び

進化と系統発生に関する研究

一色 司郎・若菜 章・白石 眞一

I GOTアイソザイム, 特に *Got-2*, における対立遺伝子, 遺伝子重複及び連鎖

1. 目的

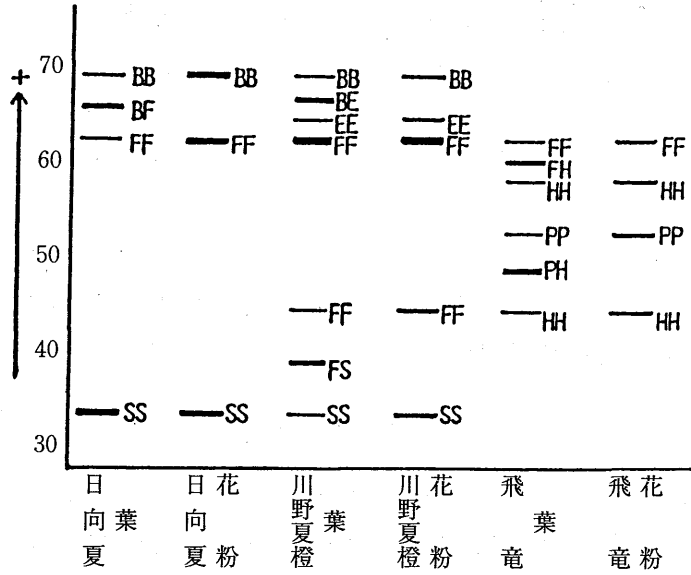
近年, 多くの酵素のアイソザイム分析が可能となり, 多くの植物で試みられている。アイソザイムを決定する遺伝子は共優性として発現するため, ヘテロ性が高く, 育種年限の長い果樹についても両親とF₁の解析により1年に対立遺伝子の決定が可能となる。遺伝子の詳細な解析は果樹の進化, 分類, 品種同定及び育種に多大の貢献をするものと思われる。カンキツにおけるアイソザイム遺伝子の分析はトレスら並びに平井らによって進められているが, 不明瞭な点も残されている。本報においてはグルタミン酸オキザロ酢酸アミノ転移酵素 (GOT) についてさらに検討を加えた。

2. 材料及び方法

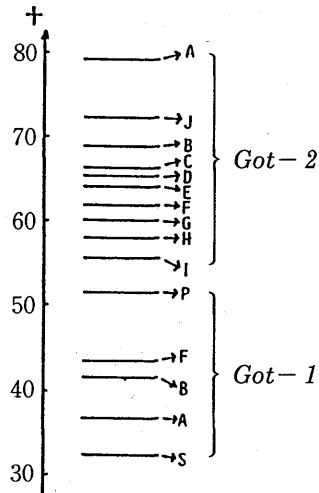
約300のカンキツ種, 品種および近縁属を供試し, 葉に含まれるGOTのアイソザイムバンディングパターンを調査した。さらに特定のバンディングパターンを持つ親のF₁を作成し, そのバンディングパターンを調査した。また花粉のGOTアイソザイムも同様に調査した。葉は1g, 花粉は20mgを供試し, 抽出用緩衝液2.5mlを加え磨砕した。この粗抽出液20mlをセファデックスG-25で濾過し, 泳動試料(-50℃で凍結保存)とした。電気泳動は試料20 μ lを用い, ポリアクリルアミドゲル(5.4%分離ゲル:pH 8.9, 4.2%濃縮ゲル:pH 6.9)で100V(30分)→250V(2時間)行った。

3. 結果及び考察

葉と花粉のバンディングパターンを比較してみると, *Got-1*および*Got-2*の両者において特定のバンド(2本の淡いバンドの中間に位置するやや濃いバンド)の消失がみられ, これが2つの異なるサブユニットによるバンドであり*Got-1*および*Got-2*の支配する酵素がダイマーであること



第1図 葉と花粉のGOTの電動泳動パターン

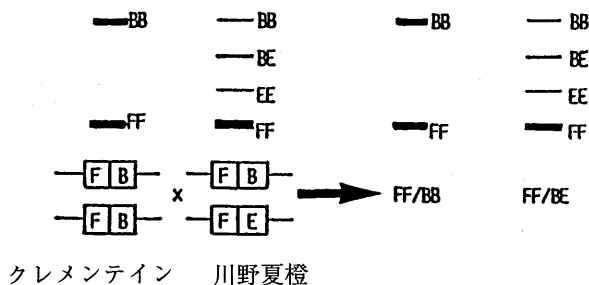


第2図 対立遺伝子に対するバンドの位置

が確認された (第1図)。Got-1においては全供試品種に1本 (ホモ) または3本 (ヘテロ) のバンドが認められ、5つの遺伝子 (F, S, A, B) が関与している (第2図)。これは平井らの報告と一致した。これらは一組合せを除き全ての交配F₁においてメンデル遺伝を示した (第1表)。Got-2においては1~5本のバンドが観察され、バンドの数の多い材料ではバンド間に染色程度の段階的な差が認められた。これらのバンドは比較的接近しており、泳動において高い分離が要求される。F₁における表現型の分離と両親の表現型、及び全ての供試材料における表現型の多様性を考慮にいと、カンキツの Got-2 では遺伝子が重複しているものと考えられる (第3図)。カンキツにカ

第1表 Got-1における遺伝子型の分離

♀	♂	両親の 遺伝子型	F ₁ の遺伝子型 (実生数)	期待値	χ ₂	P
晩白柚	× 座 橙	FF × SA	FS(28):SA(84)	1 : 1	28.00	<0.005
ハッサク	× ヒュウガナツ	FS × SS	SS(43):FS(45)	1 : 1	0.05	0.900-0.750
ヒュウガナツ	× ハッサク	SS × FS	SS(19):FS(32)	1 : 1	3.31	0.100-0.050
ハッサク	× 晩白柚	FS × FF	FF(49):FS(50)	1 : 1	0.01	>0.900
ハッサク	× 福原オレンジ	FS × SS	SS(45):FS(50)	1 : 1	0.17	0.750-0.500
晩白柚	× 土佐文旦	FF × FS	FF(42):FS(27)	1 : 1	3.26	0.100-0.050
晩白柚	× 江上文旦	FF × FF	FF(84)	1 : 0	0.00	1.000
ヒュウガナツ	× 座 橙	SS × SA	SS(36):SA(51)	1 : 1	2.59	0.250-0.100
ヒュウガナツ	× 晩白柚	SS × FF	FS(46)	1 : 0	0.00	1.000
川野夏橙	× カラタチ	FS × PF	FS:FF:PF:PS (9) (13) (13) (10)	1:1:1:1	1.13	0.900-0.750
ヒュウガナツ	× カラタチ	SS × PF	FS(25):PS(16)	1 : 1	1.98	0.250-0.100
クレメンティン	× 川野夏橙	SS × FS	SS(45):FS(56)	1 : 1	1.20	0.500-0.250



第3表 川野夏橙×カラタチの F₁ における連鎖テスト

連鎖のない時の期待値 (1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1)

<i>Got - 1</i>	FS	FS	FS	FS	FF	FF	FF	FF
<i>Got - 2</i>	FF/E	FH/E	FH/B	FF/B	FF/E	FH/E	FH/B	FF/B
	2	1	4	2	3	4	2	4
<i>Got - 1</i>	PF	PF	PF	PF	PS	PS	PS	PS
<i>Got - 2</i>	FF/E	FH/E	FH/B	FF/B	FF/E	FH/E	FH/B	FF/B
	2	6	3	2	2	3	4	1

$$\chi_2 = 9.04 (P \leq 0.05)$$

第4表 日向夏×カラタチの F₁ における連鎖テスト

連鎖のない時の期待値 (1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1)

<i>Got - 1</i>	FS	FS	FS	FS	PS	PS	PS	PS
<i>Got - 2</i>	FH/-	FF/-	BF/-	BH/-	FH/-	FF/-	BF/-	BH/-
	4	9	7	5	4	2	5	5

$$\chi_2 = 6.02 (P \leq 0.05)$$

II GOTアイソザイム, *Got-2* における重複構造と対立遺伝子の対応関係

1. 目的

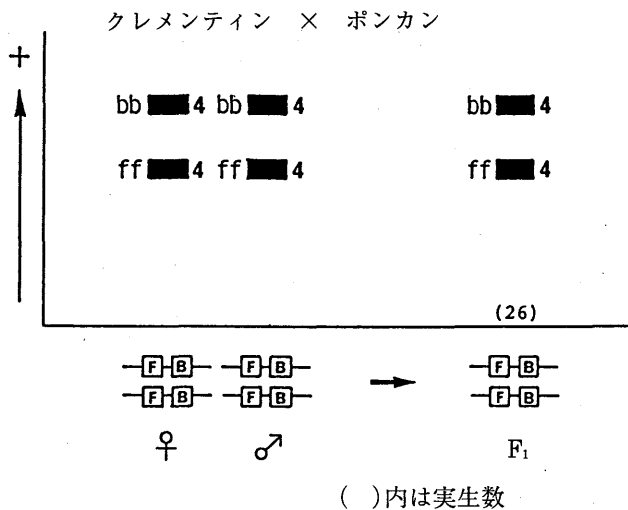
前章では遺伝子座 *Got-1* と *Got-2* に関して対立遺伝子, 遺伝子重複, 及び連鎖について 2~3 の知見を報告した。そこで, 本研究では *Got-2* における対立遺伝子の対応関係及び重複構造についてさらに検討を加えた。

2. 材料及び方法

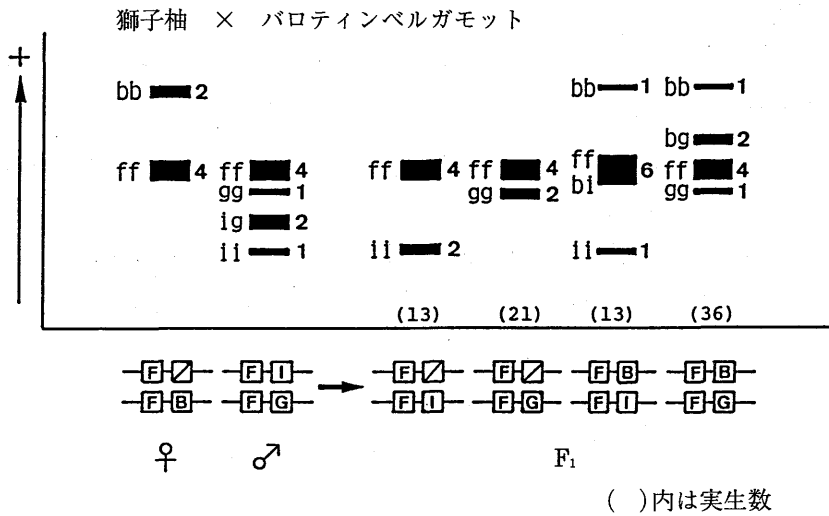
カンキツ属の種, 品種, 並びに交配実生を供試し, 葉に含まれる GOT アイソザイムのバンドニングパターンを調査した。抽出法並びに電気泳動法は前章と同様に行った。

3. 結果及び考察

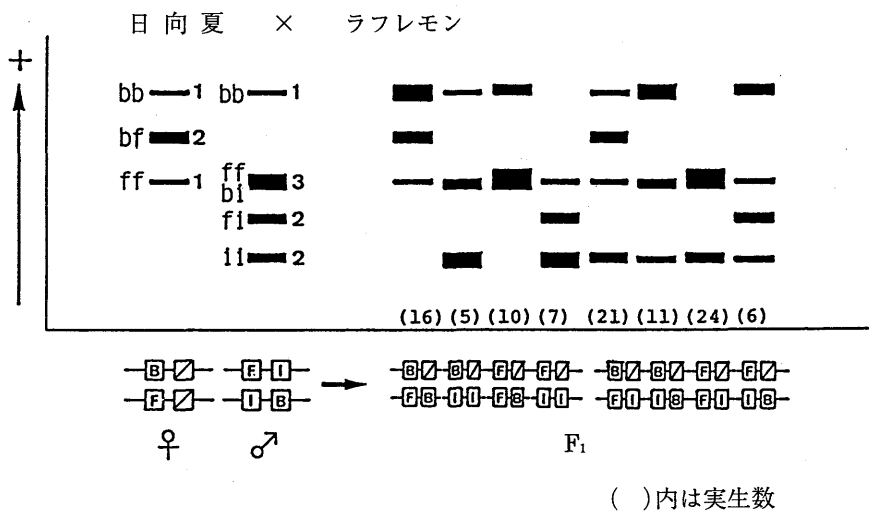
クレメンティン, ポンカン及びそれらの F_1 において, 同様な染色程度を持つ 2 本のバンドがそれぞれ認められた。このことから, クレメンティン, ポンカンともに相同染色体上で F と F, 同いつの



第5図 クレメンティン×ポンカンの F_1 の *Got-2* における表現型と遺伝子型



第6図 獅子柚×パロティンベルガモットの F₁ の Got-2 における表現型と遺伝子型



第7図 日向夏×ラフレモンの F₁ の Got-2 における表現型と遺伝子型

または異なる相同染色体上でBとBが対応しているものと考えられる(第5図)。獅子袖×バロティンベルガモット(第6図)では、F₁の一部と獅子袖において染色程度の異なる2本のバンドが認められた。また、F₁において4つのバンディングパターンに分離した。これらのことは、対立遺伝子の乗っている獅子袖の相同染色体の一方において欠失があることを示している。すなわち、獅子袖とバロティンベルガモットの *Got-2* における対立遺伝子の対応は、それぞれ、FF、B欠失とFF、IGである。日向夏×ラフレモン(第7図)の場合では、F₁において4種類ではなく8種類のバンディングパターンがみられた。このことは、*Got-2* を支配する重複部において乗り換えが起こっているか、または重複部との間に連鎖がないことを示唆する。すなわち、日向夏及びラフレモンの対立遺伝子の対応はそれぞれ、BF、欠失・欠失とFI、IBとなる。なお、重複部との間に連鎖があるのかどうかについてはさらに検討が必要である。以上のことから、*Got-2* は2つの遺伝子座に重複進化していると考えられる。

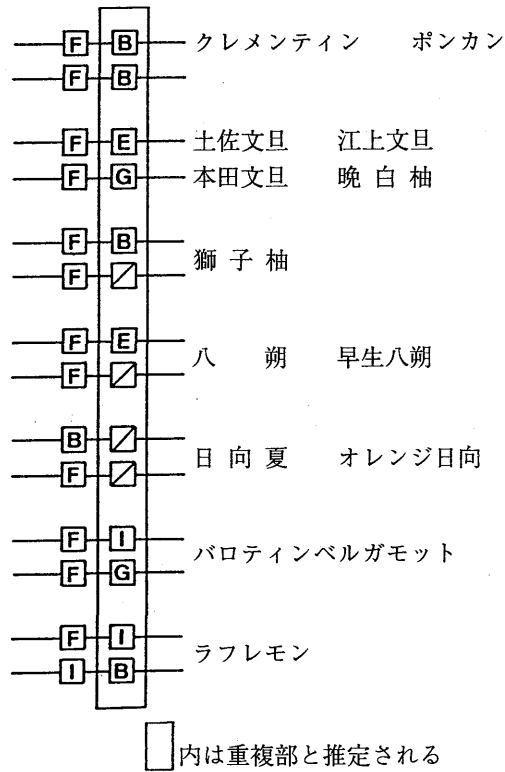
次に、乗り換えを考慮にいれる必要のない組合せのF₁について、メンデル遺伝に対する適合性の検定を行った(第5表)。土佐文旦×川野なつだだい、獅子袖×バロティンベルガモット、早生八

第5表 *Got-2* における遺伝子型の分離

♀	♂	両親の 遺伝子型	F ₁ の遺伝子型 (実生数)	期待値	χ ₂	P
土佐文旦	川野 なつだだい	$\frac{EG}{FF} \times \frac{BE}{FF}$	$\frac{BE}{FF} : \frac{EE}{FF} : \frac{BG}{FF} : \frac{EG}{FF}$ (19) (32) (14) (35)	1:1:1:1	12.28	0.010-0.001
早生八朔	日向夏	$\frac{E-}{FF} \times \frac{-}{BF}$	$\frac{E-}{FB} : \frac{E-}{FF} : \frac{-}{FB} : \frac{-}{FF}$ (17) (17) (21) (12)	1:1:1:1	2.42	0.500-0.300
早生八朔	紀州ミカン	$\frac{E-}{FF} \times \frac{BB}{FF}$	$\frac{EB}{FF} : \frac{-B}{FF}$ (22) (8)	1:1	6.53	0.020-0.010
日向夏	バロティン ベルガモット	$\frac{-}{BF} \times \frac{IG}{FF}$	$\frac{-I}{BF} : \frac{-G}{BF} : \frac{-I}{FF} : \frac{-G}{FF}$ (13) (11) (10) (5)	1:1:1:1	3.86	0.300-0.200
獅子袖	バロティン ベルガモット	$\frac{B-}{FF} \times \frac{IG}{FF}$	$\frac{BI}{FF} : \frac{BG}{FF} : \frac{-I}{FF} : \frac{-G}{FF}$ (13) (36) (13) (21)	1:1:1:1	17.00	<0.01
クレメンティン	ボンカン	$\frac{BB}{FF} \times \frac{BB}{FF}$	$\frac{BB}{FF}$ (26)	1:0	0.00	1.000
クレメンティン	ラングプール ライム	$\frac{BB}{FF} \times \frac{BI}{FF}$	$\frac{BB}{FF} : \frac{BI}{FF}$ (16) (10)	1:1	1.38	0.300-0.200

朔×紀州ミカンでは5%水準で有意差がみられた。

第8図に数種のカンキツにおける *Got-2* 対立遺伝子の対応関係を示した。一方の遺伝子座では一部B, I 遺伝子も見られるがF 遺伝子が多く、他方の遺伝子座ではB, E, G, I, 欠失がみられた。後者の遺伝子座ではブンタン系を中心として、欠失が数多く確認され、また、両遺伝子座に共通する対立遺伝子 (B, I) が存在することから、後者が重複によって新しくできた遺伝子座である可能性が強く示唆された。



第8図 数種のカンキツにおける *Got-2* 対立遺伝子の対応関係

III GOTアイソザイム遺伝子の連鎖ならびに欠失

1. 目的

GOTアイソザイムは *Got-1*, *Got-2*, *Got-3* の3遺伝子座に支配されており (平井, 1987), *Got-2* と *Got-3* は遺伝子重複の可能性が高いことを明らかにした。本研究では, これら3遺伝子座の連鎖関係, ならびに *Got-3* における対立遺伝子の変異, 特に欠失 (または零遺伝子) について検討を加えた。

2. 材料及び方法

カンキツ属の種, 品種, 及びカラタチ, 並びにこれらの交雑実生を供試し, 葉に含まれるGOTアイソザイムのバンディングパターンを調査した。抽出並びに電気泳動は前報と同様に行った。

3. 結果と考察

第6表 遺伝子座 *Got-1* と *Got-3* の連鎖テスト

♀	♂	両親の 遺伝子型	F ₁ の遺伝子型 (実生数)	χ ₂	P
早生八朔	日向夏	$\frac{FS}{E-} \times \frac{SS}{---$	$\frac{FS}{E-} : \frac{SS}{---} : \frac{FS}{E-} : \frac{SS}{E-}$ (13) (18) (15) (21)	2.26	0.75-0.50
土佐文旦	エトログ	$\frac{FS}{EG} \times \frac{FF}{II}$	$\frac{FF}{EI} : \frac{FS}{GI} : \frac{FF}{GI} : \frac{FS}{EI}$ (21) (17) (21) (17)	0.84	0.90-0.75
土佐文旦	クレオパトラ	$\frac{FS}{EG} \times \frac{SS}{BB}$	$\frac{FS}{EB} : \frac{SS}{GB} : \frac{FS}{GB} : \frac{SS}{EB}$ (14) (26) (23) (22)	3.71	0.50-0.25
獅子柚	パロティン ベルガモット	$\frac{FF}{B-} \times \frac{FA}{GI}$	$\frac{FF}{GB} : \frac{FF}{G-} : \frac{FA}{IB} : \frac{FA}{I-}$ (19) (13) (8) (8)	19.27	<0.01
日向夏	パロティン ベルガモット	$\frac{SS}{---} \times \frac{FA}{GI}$	$\frac{FF}{IB} : \frac{FF}{I-} : \frac{FA}{GB} : \frac{FA}{G-}$ (5) (5) (17) (8)	2.24	0.75-0.50
			$\frac{FS}{G-} : \frac{AS}{G-} : \frac{FS}{I-} : \frac{AS}{G-}$ (9) (8) (13) (7)		

Got-1とGot-3の連鎖テストにおいて、5交配組合せ中、獅子柚×パロテインベルガモットを除いて、いずれも5%水準で有意差が認められなかったことから両者の間には連鎖はないものと考えられる(第6表)。Got-2とGot-3の場合においても、5交配組合せ中、クレメンティン×黄金柑を除いて5%水準で有意差が認められなかったことから両者の間には連鎖はないものと考えられる(第7表)。以上の結果、並びにGot-1とGot-2の間に連鎖がなかった既報(第1章)の結果から、Got-1、Got-2、Got-3の間には連鎖は存在せず、それぞれ独立に遺伝することが示唆された。

第7表 遺伝子座Got-2とGot-3の連鎖テスト

♀	♂	両親の 遺伝子型	F ₁ の遺伝子型 (実生数)	χ ₂	P	
花	柚 ×	マイヤー レモン	$\frac{BC}{B-} \times \frac{FF}{I-}$	$\frac{BF}{BI} : \frac{BF}{B-} : \frac{CF}{I-} : \frac{CF}{--} :$ (9) (3) (4) (9)	10.69	0.25-0.10
			$\frac{CF}{BI} : \frac{CF}{B-} : \frac{BF}{I-} : \frac{BF}{--} :$ (6) (5) (9) (13)			
早生八朔	×	六月ミカン	$\frac{FF}{E-} \times \frac{FB}{B-}$	$\frac{FF}{EB} : \frac{FB}{E-} : \frac{FF}{B-} : \frac{BF}{--} :$ (16) (4) (15) (13)	13.12	0.10-0.05
			$\frac{FF}{E-} : \frac{FB}{EB} : \frac{FF}{--} : \frac{FB}{B-} :$ (19) (7) (13) (13)			
清	見 ×	小 柚	$\frac{FF}{B-} \times \frac{FB}{JB}$	$\frac{FF}{JB} : \frac{FF}{J-} : \frac{FB}{BB} : \frac{FB}{B-} :$ (13) (11) (7) (5)	8.25	0.25-0.10
			$\frac{FF}{BB} : \frac{FF}{B-} : \frac{FB}{JB} : \frac{FB}{J-} :$ (4) (9) (9) (6)			
瓢	柑 ×	小 柚	$\frac{FF}{EG} \times \frac{FB}{JB}$	$\frac{FF}{EJ} : \frac{FB}{EB} : \frac{FF}{GJ} : \frac{FB}{GB} :$ (10) (5) (10) (8)	10.25	0.25-0.10
			$\frac{FB}{EJ} : \frac{FF}{EB} : \frac{FB}{GJ} : \frac{FF}{GB} :$ (15) (4) (6) (9)			
クレメンティン	×	黄金柑	$\frac{FF}{BB} \times \frac{BF}{JC}$	$\frac{FB}{JB} : \frac{FF}{BC} : \frac{FB}{BC} : \frac{FF}{JB} :$ (18) (12) (4) (9)	9.56	0.03-0.01

前章で *Got-3* における欠失がブタン系を中心として認められると報告したが、今回の調査で、この欠失がかなり広範に及んでいることが判明した。第8表に示したように、ユズ類、マンダリン類、レモン類、サワーオレンジ類、雑柑類、カラタチにおいて欠失しが確認された。調査数は少ないが、カラタチでは *Got-3* において形質発現する対立遺伝子が認められないことから、遺伝子の欠失というよりも、むしろ、遺伝子座 *Got-3* が存在しなかったこと、すなわち、遺伝子重複が起こっていないことも考えられる。このことについては、さらにカンキツ近縁属を含めて調査数を増やして検討することが必要と思われる。Soost ら (1981) はアタランティア属、及びミクロシトラス属において、遺伝子重複の存在を報告しており、遺伝子重複の有無という観点からカンキツとその近縁属との関係を見ると、系統発生学的に非常に興味深い結果が得られるものと思われる。また *Got-3* に関しては平井ら (1987) は酵素のローカリゼーションが異なり、粒画分に存在することを報告している。*Got-1*、*Got-2* がサイトゾルで、*Got-3* がプラスチド等で発現するアイソザイムを支配するとすれば、*Got-2* と *Got-3* において同一移動距離にあるバンドをコードする対立遺伝子の構造が異なり、また、*Got-2* 及び *Got-3* の重複進化の始まった時期も相当古いものと思われるので、今後さらに、カンキツ近縁属を詳細に調査する必要があると考えられる。

第8表 欠失をもつカンキツ及び近縁属の *Got-3* 遺伝子型の代表例

種及び品種名	<i>Got-3</i> の遺伝子型	種及び品種名	<i>Got-3</i> の遺伝子型
ブタン		レモン	
獅子柚	B-	リスボン	I-
ベトナム文旦	G-	マイヤー	I-
谷川文旦	E-	サワーオレンジ	
ユズ近縁種		六月ミカン	B-
ユズ	B-	雑柑	
カボス	B-	日向夏	--
スダチ	B-	八朔	E-
ユコウ	--	三宝柑	B-
餅柚	--	カラタチ	
マンダリン		カラタチ	--
ピキシーマンダリン	B-	飛龍	--
上田温州	B-		

IV カンキツのGOTアイソザイム遺伝子型と系統発生

1. 目的

本研究ではGOTアイソザイムの遺伝、対立遺伝子の対応関係、遺伝子重複、連鎖ならびに欠失についての知見に基づき、GOTアイソザイムの遺伝子型を決定し、カンキツの系統発生、分類及び育種への応用について検討を行った。

2. 材料及び方法

多数のカンキツ種・品種を供試し、前報までと同様の方法で調査を行った。*Got-2*、*Got-3*における遺伝子型は交雑実生における遺伝確認を行った上で決定した。

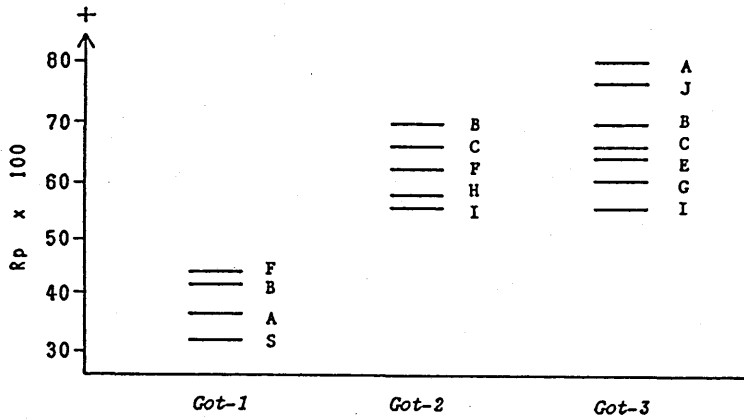
3. 結果及び考察

第9表にGOTアイソザイム遺伝子型の一部を、第9図に対立遺伝子に対するバンドの位置を示した。*Got-1*では、対立遺伝子FとSによってシトロン・パペダ類 (F) とマンダリン・ユズ・スイートオレンジ・サワーオレンジ類 (S)、及びライム・レモン・ブント類 (F・S) に分けられた。対立遺伝子Aはライム・レモン・ブント・サワーオレンジに、対立遺伝子Bはパペダにみられた。*Got-2*では、対立遺伝子IとFによって、シトロン類 (I) とブント・サワーオレンジ・スイートオレンジ・ユズ・マンダリン類 (F)、及びパペタ・ライム・レモン類 (F・I) に分けられた。対立遺伝子Cはユズ類に認められ、対立遺伝子Bは雑柑類を中心に、雑種性が高いと思われる六月ミカン、花柚、カブチ、ケラジ、及びシークワーシャに認められた。また、タチバナにおいても認められた。*Got-3*では、対立遺伝子I・B・E・Gによって、シトロン・パペダ類 (I)、ライム、レモン類 (I・G)、ブント類 (E・G)、サワーオレンジ類 (B・G)、スイートオレンジ類 (B・E) とユズ・マンダリン類 (B) に分けられた。対立遺伝子J・A・Cは雑柑類において認められた。

*Got-1*と*Got-2*におけるアイソザイム対立遺伝子変異に基づき系統発生を考えると、カンキツは大きくシトロン群とマンダリン群の2群に分かれ、*Got-3*のそれを考慮にいと、さらに、シトロン群、ブント群、及びマンダリン群の3群に分かれる。このことから、カンキツはまず、原始シトロンと原始マンダリンが分派し、これらから原始ブントが出現したものと推察される。パペタ・ライム・レモン類は原始シトロンから派生した雑種群と考えられ、その成立には、原始ブント及び原始マンダリンの関わりが考えられる。サワーオレンジ類はブント群の一つとマンダリン群の一つとの雑種起源と思われる。また、スイートオレンジ類はブント群の一つとマンダリン群の一つとの

第9表 カンキツの種および品種におけるGOTアイソザムの遺伝子型

種および品種名	遺伝子型			種および品種名	遺伝子型		
	Got-1	Got-2	Got-3		Got-1	Got-2	Got-3
シトロン類				チャップマンバレンシアオレンジ	SS	FF	BE
エトログ	FF	II	II	フロリダオレンジ	SS	FF	BE
パペダ類				ジャパンオレンジ	SS	FF	BE
カーシー	FF	FF	I-	ユズ類			
カプヤオ	BB	FI	I-	花 柚	SS	BC	B-
ライム類				カ ボ ス	SS	FC	--
スイートライム	FS	FF	GI	ス ダ チ	SS	FC	B-
田中ベルガモット	FA	FF	GI	瑞 松 柚	FS	FC	--
レモン類				白 酢 柚	FF	FF	BG
リスボンレモン	FS	FI	I-	餅 柚	SS	FC	--
クサイライム	FS	FF	BI	柚 柑	SS	FC	--
プライヤーレモン	FS	FI	I-	マンダリン類			
リモニア	FS	FF	BI	ボ ワ ー	SS	FF	BB
マイヤーレモン	FS	FF	I-	クレメンティン	SS	FF	BB
ラングプールライム	FS	FF	BI	フ ル ア	SS	FF	BB
ラフレモン	FS	FI	BI	大 紅 ミ カ ン	SS	FF	BB
スイートレモン	FS	FF	GI	ク レ オ パ ト ラ	SS	FF	BB
ユーレカレモン	FS	FI	I-	キ ン グ	SS	FF	BB
パロティンベルガモット	FA	FF	GI	ピ キ シ ー	SS	FF	B-
コモンルミーカルナ	FA	FF	BI	上 田 温 州	SS	FF	B-
カルナカタ	FS	FF	GI	タ チ バ ナ	SS	BB	BB
オタハイトオレンジ	FS	FF	BI	カ ブ チ	SS	FB	BB
ポンドローサ	FF	FF	GI	ケ ラ ジ	SS	FB	BB
ペリンレモン	FA	FI	BI	シ ー ク ワ ー シ ャ	SS	FB	BB
ブタン類				タ ロ ガ ヨ	SS	FB	BB
晩 白 柚	FF	FF	EG	小 根 占	SA	FF	BG
江 上 文 旦	FF	FF	EG	雑 柑 類			
土 佐 文 旦	FS	FF	EG	川野ナチダイダイ	FS	FF	BE
石 頭 柚	FF	FF	EG	糸 島 晩 柑	FS	FF	EG
カ オ フ ァ ン	FF	FF	EE	黄 金 柑	SS	FB	CJ
水 晶 文 旦	SA	FF	GG	香 橘	SS	FB	CJ
谷 川 文 旦	FS	FF	E-	南 庄 ダ イ ダ イ	FS	FF	AC
獅 子 柚	FF	FF	B-	小 柚	SS	FB	BJ
ベトナム文旦	FF	FF	G-	日 向 夏	SS	FB	--
グレープフルーツ類				八 朔 橘	FS	FF	E-
トライアンフグレープフルーツ	FS	FF	EG	黄 金 橘	FS	FF	BE
レッドブラッシュグレープフルーツ	FS	FF	EG	寿 橘	FS	FF	BG
サワーオレンジ類				瓢 柑	FS	FF	EG
臭 橙 (カブス)	SA	FF	BG	虎 頭 柑	FS	FF	BG
潮州ダイダイ	SA	FF	BG	ス ム ー ス セ ビ ル	FS	FF	B-
ザダイダイ	SA	FF	BG	三 宝 柑	FS	FF	B-
六月ミカン	SS	FB	B-	宇 和 プ メ 口	FS	FF	EG
スイートオレンジ類				舟 床	FS	FF	EE
ベルナオレンジ	BS	FF	BB	岩 井 柑	FS	FF	BE



第9図 対立遺伝子に対するバンドの位置

雑種起源と思われる。ユズ類はパペタ類の一つとマンダリン類の一つの雑種起源と言われているが、特異的な対立遺伝子C (Got-2) を持つため、原始マンダリンから派生した祖先の関与も考えられる。雑柑には以上の9類にはみられない対立遺伝子A・J・C (Got-3) が認められ、遺伝的変異が拡大しつつあるものと思われる。なお、欠失 (Got-3) は特にユズ類、レモン類に多くみられたが、系統発生との関係は現在不明である。また、サワーオレンジ類、ユズ類、マンダリン類及び雑柑類に存在する対立遺伝子B (Got-2) は日本在来カンキツに特異的なものであり、古来から日本に自生するタチバナの関与が考えられる。

V GOT以外のアイソザイムについて

1. 目的

これまで、GOTアイソザイム遺伝子をマーカーとしてカンキツの類縁関係、系統発生、分類及び、その育種の利用について報告してきた。

本研究では、GOT以外の酵素について分析したので、その結果を報告する。

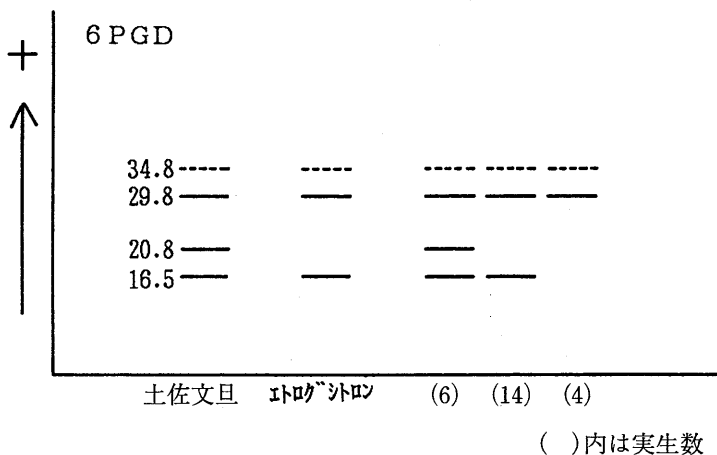
2. 材料及び方法

カンキツ属の種、品種並びに土佐文旦×エトログシトロンの交雑実生を供試した。電気泳動はWendel と Parks (1982), 及び Wendel (1983) の報告に従い、水平式デンブゲル法を用いて行った。6Phosphoglucose dehydrogenase (6PGD), Leucine aminopeptidase (LAP), Phosphoglucose isomerase (PGI), Malate dehydrogenase (MDH), Isocitrate dehydrogenase (IDH) の5種の酵素について分析を行った。

3. 結果及び考察

6PGD (第10図)

土佐文旦、エトログシロンにおいて認められた泳動距離 34.8 mm の淡いバンド、29.8 mm の濃



第10図 土佐文旦×エトログシロンの F₁ の 6PGD における表現型

いバンドが、すべてのF₁においても出現した。泳動距離 20.8 mm, 16.5 mm のバンドはF₁において単量体（モノマー）の分離を示した。一般に6PGD は二量体（ダイマー）であるといわれているが、本実験では異なる結果となった。このことについてはさらに検討する必要があるものと思われる。

LAP（第11図）

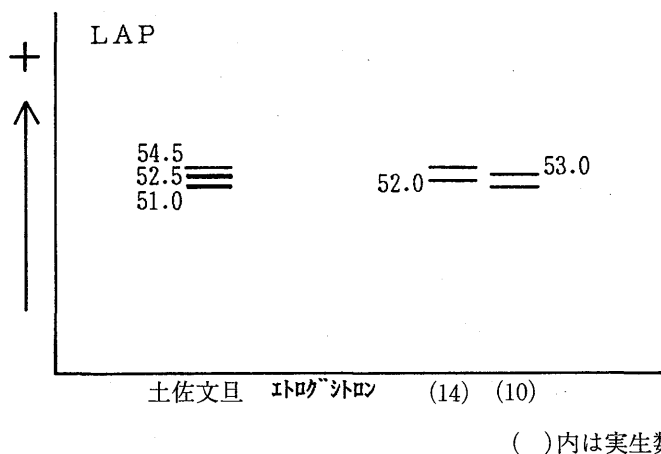
土佐文旦では泳動距離54.5 mm, 52.5 mm, 51.0 mm の位置にバンドが出現した。特に、52.5 mm のバンドは濃染した。エトログシトロンではバンドは認められなかった。F₁において、54.5 mm, 52.0 mm の位置にバンドが出現するタイプと53.0 mm, 51.0 mm の位置に出現するタイプの2つに分離した。このことから、LAP アイソザイムはモノマーで、その対立遺伝子は1つで2本のバンドを支配し、また、エトログシトロンでは欠失（あるいは零遺伝子）の可能性が示唆される。

MDH（第12図）

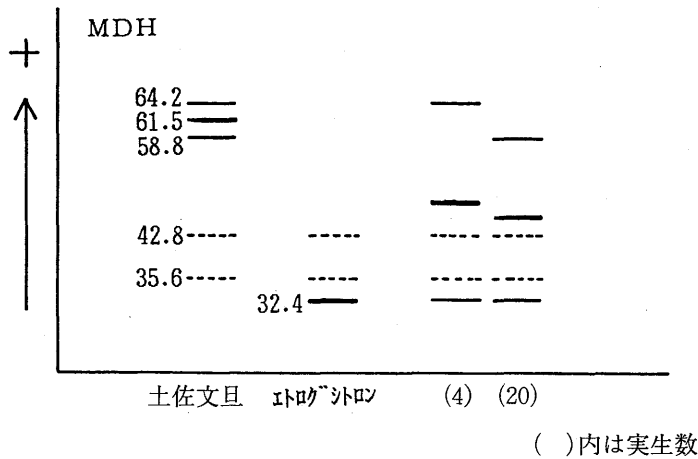
泳動距離42.8 mm, 35.6 mm の位置のバンドが土佐文旦、エトログシトロン、F₁の全てにおいて出現し、分離は認められなかった。土佐文旦における64.2 mm, 61.5 mm, 58.8 mm の位置のバンド、並びにエトログシトロンの32.4 mm のバンドはF₁において分離が認められた。すなわち、64.2 mm, 32.4 mm とその中間の位置にバンドが出現するタイプと58.8 mm, 32.4 mm とその中間にバンドが出現するタイプの2つに分離した。このことから分離が認められた MDH アイソザイムはダイマーであると考えられる。

IDH（第13図）

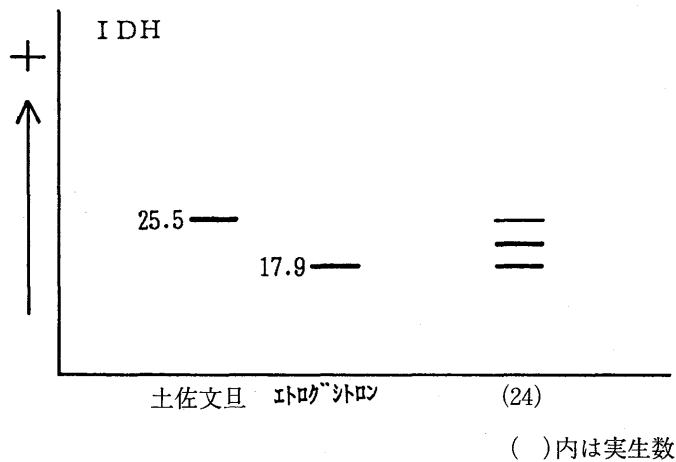
土佐文旦では25.5 mm, エトログシトロンでは17.9 mm の位置にバンドが認められた。すべてのF₁において土佐文旦のバンド（25.5 mm）とエトログシトロンのバンド（17.9 mm）とそれらの中



第11図 土佐文旦×エトログシトロンのF₁のLAPにおける表現型



第12図 土佐文旦×エトログシロンの F₁ の MDH における表現型



第13図 土佐文旦×エトログシロンの F₁ の IDH における表現型

間の位置バンド (21.1 mm) の計 3 本が出現した。このことから IDH アイソザイムはダイマーであると思われる。

以上の 4 つ酵素についてカンキツ類の遺伝解析を試みたが、いずれも供試交雑実生数が少なく、また 1 交配組合せしか供試していないため今後さらに分析する必要があるものと思われる。

第10表に数十のカンキツの種及び品種の PGI, MDH, IDH アイソザイム遺伝子の遺伝子型を示した。遺伝子型の命名は Torres ら (1978) の報告に従って行った。

第10表 カンキツの種および品種におけるアイソザムの遺伝子型

種および品種名	遺伝子型			種および品種名	遺伝子型		
	Pgi	Mdh	Idh		Pgi	Mdh	Idh
シ ト ロ ン 類				チャップマンバレンシアオレンジ	FS	DD	MI
エ ト ロ グ	SS	AA	MM	フロリダオレンジ	FS	DD	MI
ラ イ ム 類				ジャパンオレンジ	FS	DD	MI
ベルガモットカスターニヤーロ	WS	AG	MM	ユ ズ 類			
イタリアンベルガモット		AG	II	花 柚	WF?		II
レ モ ン 類				ユズ(山根系)	FT		II
リスボンレモン	WS	AD	MM	白 酢	WW	DG	II
クサイライム	FS		MM	餅 柚	FS		II
リ モ ニ ア	FS	AD	MM	柚 柑	FF		II
マイヤーレモン	FS		MM	マンダリン類			
ラ フ レ モ ン	FS	AD	MI	ボ ワ ー	FS	DD	II
スイートレモン	FS	AD	GI	クレメンテテン	WS	DD	MI
ユーレカレモン	WS	AD	MM	ピ キ シ ー	FF	DD	II
パロテインベルガモット	FS	AG	MI	タ チ バ ナ	FF	BD	MI
コモンルミー		AG	MI	カ ブ チ		BD	II
オタハイトオレンジ		AD	MM	ケ ラ ジ	FF		II
ブ ン タ ン 類				小 根 占	FT		II
晩 白 柚	SS		MM	雑 柑 類			
江 上 文 旦	FS	GG	II	糸 島 晩 柑	FS	DG	II
本 田 文 旦	SS		II	黄 金 柑	FS	DD	II
チャンドラープメロ	SS	GG	MM	日 向 夏		BD	MI
雷 柚	SS	DG	II	八 朔	FS	DG	II
水 晶 文 旦	SS		II	黄 金 橘	FS	DG	MI
谷 川 文 旦	SS		II	寿 橘	FS	DG	II
ベトナム文旦	SS	DG	II	瓢 柑	FS	DG	II
ベトナム文旦	SS		II	虎 頭 柑	FS	DG	II
グレープフルーツ類				ス ム ー ス セ ビ ル	FS	DG	
トライアンフグレープフルーツ		DG	II	舟 床	FS	DG	MI
レッドブラッシュグレープフルーツ		DG	II				
サワーオレンジ類							
臭 橙 (カブス)	FS	DG	II				
潮州ダイダイ	WS		II				
ザダイダイ	WS						
六月ミカン	FS		II				
スイートオレンジ類							
ベルナオレンジ	FS	DD	MI				

PGIではS, W, F, Tの4つの対立遺伝子が確認された。S遺伝子はシトロン類, ブンタン類, F遺伝子はマンダリン類, W, T遺伝子はユズ類, マンダリン類において認められた。

MDHでは, A, G, D, Bの4つの対立遺伝子が確認された。A遺伝子はシトロン類, ライム類, レモン類を中心に, G遺伝子はブンタン類, D遺伝子はマンダリン類を中心に認められた。B遺伝子はタチバナ及びその極近縁種において特異的に認められた。

IDHではM, Iの2つの対立遺伝子が確認された。M遺伝子はシトロン系を中心に, また, I遺伝子はマンダリン系を中心に認められた。

以上からGOT以外の酵素のアイソザイムにおいても, 遺伝解析が可能であること, また, 多くの変異が存在することが明らかとなった。これらアイソザイム遺伝子もGOTの場合と同様, 遺伝マーカーとして十分利用できるものと思われる。現在, より詳細なデータを得るために, 他のカンキツの種, 品種, そのF₁並びに, 他の酵素についても調査を進めている。