

## カンキツ類のアイソザイム解析による分類学的研究 ： 2. カンキツのアスパラギン酸アミノ転移酵素 (Aspartate aminotransferase, AAT)の遺伝

白石, 眞一  
九州大学農学部附属農場

<https://doi.org/10.15017/23372>

---

出版情報：九州大学農学部学藝雑誌. 46 (3/4), pp.113-118, 1992-02. 九州大学農学部  
バージョン：  
権利関係：

# カンキツ類のアイソザイム解析による分類学的研究

## 2. カンキツのアスパラギン酸アミノ転移酵素 (Aspartate aminotransferase, AAT) の遺伝

白石 眞一

九州大学農学部附属農場

(1991年9月9日受理)

### Taxonomic Studies on *Citrus*, *Fortunella* and *Poncirus* Using Isozyme Analysis.

#### 2. Genetic Analysis of Leaf Isozyme in *Citrus*.

Shin-ichi SHIRAIISHI

University Farm, Faculty of Agriculture, Kyushu University, Harumachi,

Kasuyamachi Kasuya-gun, Fukuoka 811-23

### 緒 論

カンキツの分類, 類縁関係などのマーカーとして注目されている AAT 酵素の遺伝様式を検討するために, 数種のカンキツ, カラタチについて交配を行い, 雑種一代の実生について AAT 酵素のアイソザイム分析を行った。

### 材料及び方法

**材料:** 1985年5月カンキツ遺伝資源保存用品種を用い, 12組合せの交配実験を行った。翌年春播種し, 発芽三ヶ月後交雑実生を分析材料に供した。交配組合せは次のとおり。

1. 晩白柚×座橙
2. 八朔×晩白柚
3. 八朔×日向夏
4. 日向夏×八朔
5. 八朔×福原オレンジ
6. 日向夏×座橙
7. 日向夏×カラタチ
8. 川野なつだいたい×カラタチ
9. クレメンチン×川野なつだいたい
10. 晩白柚×江上文旦
11. 晩白柚×土佐
12. 日向夏×晩白柚。

**方法:** 抽出, 泳動条件は前報に準じた。

### 結果及び考察

第1図から第7図に12交配組合せのカンキツ実生の葉における AAT 酵素のザイモグラムと供試固体数を図示した。今回供試したカンキツ品種中多胚品種は'川野だいたい'のみでその他は単胚であった。多胚性の'川野なつだいたい'にカラタチの花粉を交配したものは, 優性形質であるカラタチの三出葉が現われたものを交雑実生と見做して分析に供した。

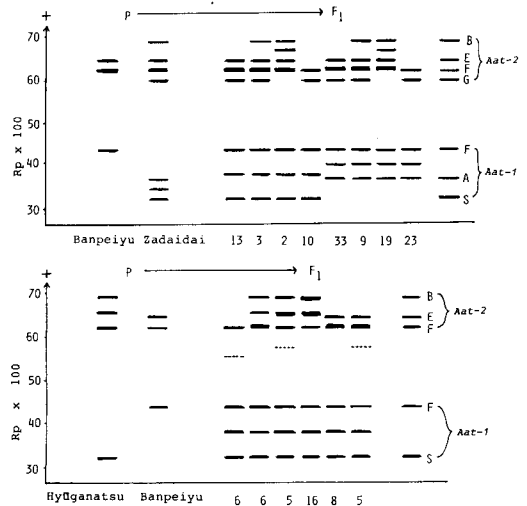


Fig. 1. Diagram of the segregation in AAT isozyme pattern

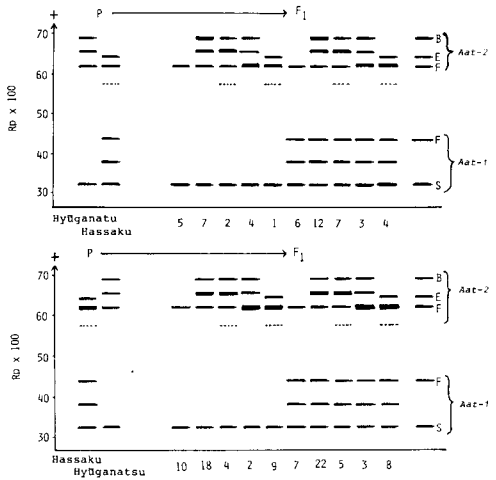


Fig. 2. Diagram of the segregation in AAT isozyme pattern.

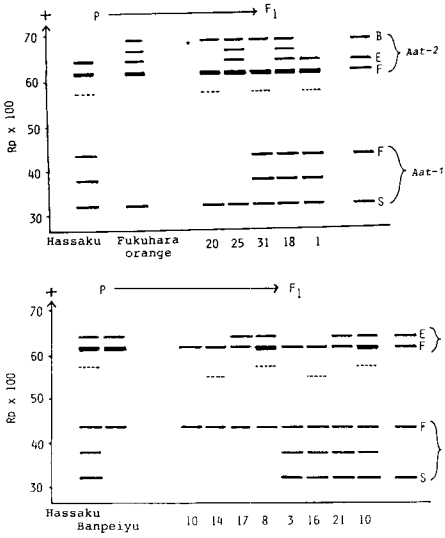


Fig. 3. Diagram of the segregation in AAT isozyme pattern

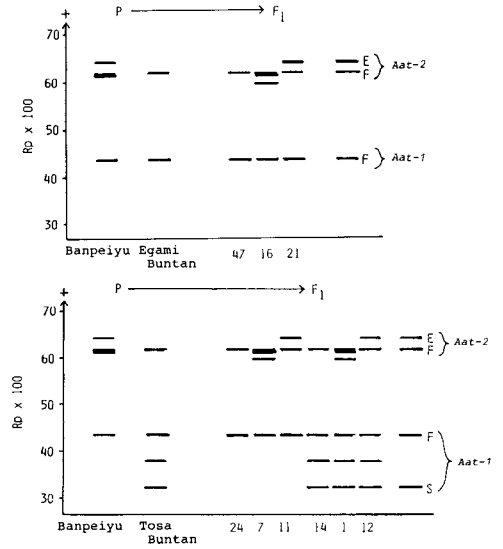


Fig. 4. Diagram of the segregation in AAT isozyme patterns

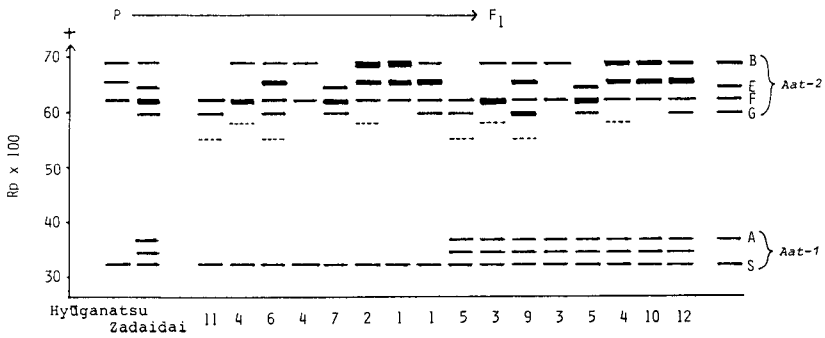


Fig. 5. Diagram of the segregation in AAT isozyme pattern.

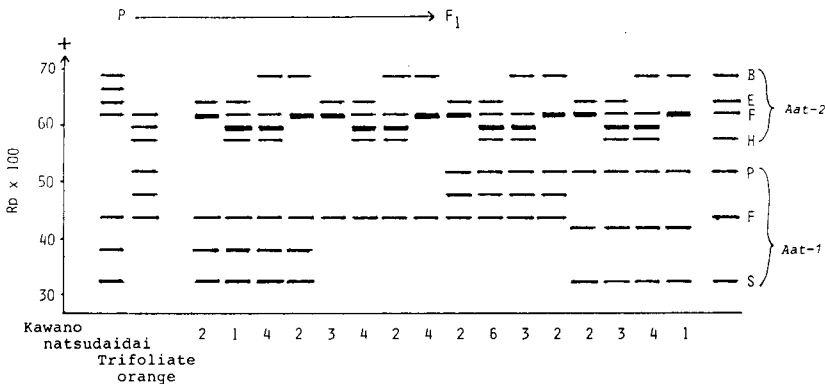


Fig. 6. Diagram of the segregation in AAT isozyme pattern.

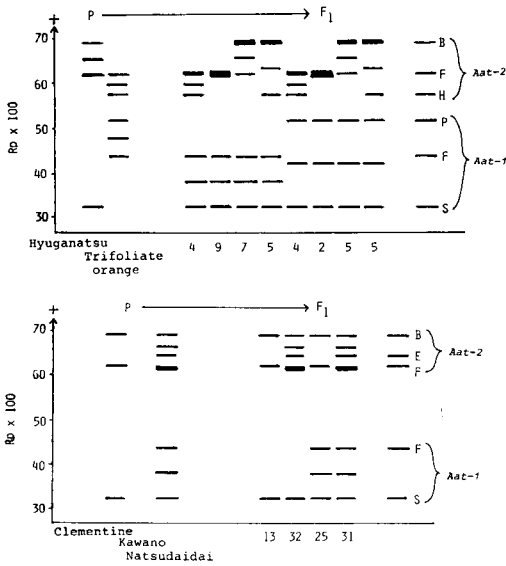


Fig. 7. Diagram of the segregation in AAT isozyme pattern.

*Aat-1* について代表的な遺伝子型の分離様式を第8図に示した。第8図の(A)に'日向夏'×'晚白柚'の実生における'日向夏'のS遺伝子と'晚白柚'のF遺伝子でのFSのバンドを図示した。'日向夏'×カラタチの実生では、'日向夏'のS遺伝子とカラタチのF遺伝子でFS、'日向夏'のS遺伝子とカラタチのP遺伝子でPSとなる(第8図のB)。'川野なつだいだい'×カラタチでは、'川野なつだいだい'のS遺伝子とカラタチのF

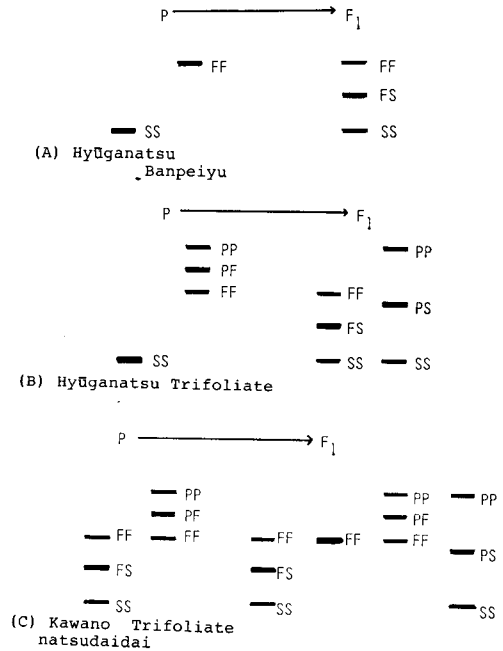


Fig. 8. Diagram of the segregation in AAT isozyme pattern.

遺伝子でFS、'川野なつだいだい'のF遺伝子とカラタチのF遺伝子でFF、'川野なつだいだい'のF遺伝子とカラタチのP遺伝子でPF、'川野なつだいだい'のS遺伝子とカラタチのP遺伝子でPSのバンドパターンを示した(第8図のC)。*Aat-1* についての遺伝子型が推定どおり交雑実生に出現することを確認した。

Table 1. Goodness-fit tests for segregation patterns at *Aat-1*.

♀	♂	Parental genotypes	Offspring genotypes(N)*	Expected ratio	$\chi^2$ **	P
Banpeiyu	Za daidai	FF×SA	Fs(28) : SA(84)	1 : 1	28.00	< 0.005
Hassaku	Hyūganatsu	FS×SS	SS(43) : FS(45)	1 : 1	0.05	0.900-0.750
Hyūganatsu	Hassaku	SS×FS	SS(19) : FS(32)	1 : 1	3.31	0.100-0.050
Hassaku	Banpeiyu	FS×FF	EE(49) : FS(50)	1 : 1	0.01	> 0.900
Hassaku	Fukuhara orange	FS×SS	SS(45) : FS(50)	1 : 1	0.17	0.750-0.500
Banpeiyu	Tosabuntan	FF×FS	FF(42) : FS(27)	1 : 1	3.26	0.100-0.050
Banpeiyu	Egamibuntan	FF×FF	FF(84)	1 : 0	0.00	1.000
Hyūganatsu	Za daidai	SS×SA	SS(36) : SA(51)	1 : 1	2.59	0.250-0.100
Hyūganatsu	Banpeiyu	SS×FF	FS(46)	1 : 0	0.00	1.000
Kawano natsudaidai	Karatachi	FS×PF	FS : FF : PF : PS (9) (13) (13) (10)	1 : 1 : 1 : 1	1.13	0.900-0.750
Hyūganatsu	Karatachi	SS×PF	FS(25) : PS(16)	1 : 1	1.98	0.250-0.100
Clementine	Kawano natsudaidai	SS×FS	SS(45) : FS(56)	1 : 1	1.20	0.500-0.250

\* Number of cultivars examined.

\*\* Calculated with 1, 3 degrees of freedom for 1 : 1, 1:1:1:1 ratios respectively.

アイソザイムの表現型はメンデルの遺伝の法則に従い分離することが *Wendel et al.* (1982) によって報告されている。 *Aat-1* についてこの理論値と実験によって得られた観察値の間の  $\chi^2$  値を算出し、メンデルの遺伝の法則への適合性の検定を行った(第1表)。12の交配組合せの内、適合性検定で有意な差異が現われたのは‘晚白柚’×‘座橙’のみで、その他の交雑実生に表現された観察値は全てメンデルの遺伝の分離の法則に合致することを認めた。

*Aat-2* における遺伝子の重複 (Ennos 1972, 木南 1986) について検討した。第9図に‘クレメンティン’×‘川野なつだいたい’の組合せ交雑実生のバンドパターンを示した。遺伝子が重複しているならば、‘クレメンティン’の相同染色体上にいずれも *F* 遺伝子と *B* 遺伝子が乗っており、*F* 遺伝子と *F* 遺伝子、*B* 遺伝子と *B* 遺伝子が対応したものと考えられる。一方、‘川野なつだいたい’では相同染色体上に *FB*, *FE* という形で遺伝子が乗っていると考えられる。両者の交雑一代雑種では、‘クレメンチン’の *FB* と‘川野なつだいたい’の

*FE* で *FF/BB*, ‘クレメンティン’の *FB* と‘川野なつだいたい’の *FE/BE* の遺伝子型を示した。この結果から、カンキツでは *Aat-2* において遺伝子が重複しているといえる。

第10図に‘日向夏’×カラタチの一代雑種実生のバンドパターンを示した。四つのバンドパターンが現われたことから、カラタチでは遺伝子座 *Aat-2* で遺伝子が重複しておらず、*FH* であることが明らかとなった。他方、‘日向夏’は、相同染色体上に各々 *FE*, *BB* という形で遺伝子が重複して乗っていることが明らかとなった。すなわち、両者の一代雑種実生において、‘日向夏’の *FF* とカラタチの *F* で *FF/F*, ‘日向夏’ *BB* とカラタチの *F* で *BF/B*, ‘日向夏’の *BB* とカラタチの *BB* とカラタチの *H* で *BH/B*, という遺伝子型を示すものと考えられる。

第11図に‘川野なつだいたい’×カラタチの一代雑種のバンドパターンを示した。両者の一代雑種実生では、‘川野なつだいたい’の *FB* のカラタチの *F* で *FF/B*, ‘川野なつだいたい’の *FE* とカラタチの *F* で *FF/E*, ‘川野なつだいたい’の *FB* とカラタチの *H* で *FH/B*, ‘川野なつだいたい’の *FE* とカラタチの *H* で *FH/E* という遺伝子型を示した。

以上のことから、遺伝子座 *Aat-2* においてカンキツ属では遺伝子の重複があることが明らかとなり、カラタチ属では遺伝子の重複は見られなかった。 *Soost et al.* (1981) はカンキツ近縁属のアトランティア属及びマイクロシトラス属で、遺伝子座 *Aat-2* における遺伝子の重複を報告している。このことからカラタチ属は、カンキツ属、アトランティア属、マイクロシトラス属よりも遠い類縁関係にある可能性が指摘される。

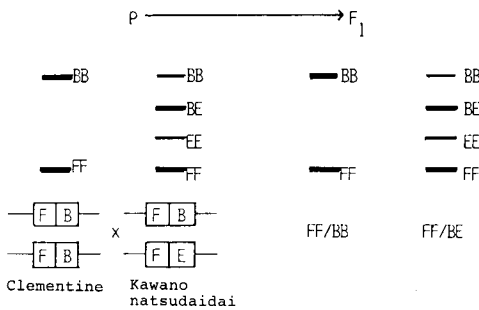


Fig. 9. Diagram of the segregation in AAT isozyme pattern in *Aat-2* region.

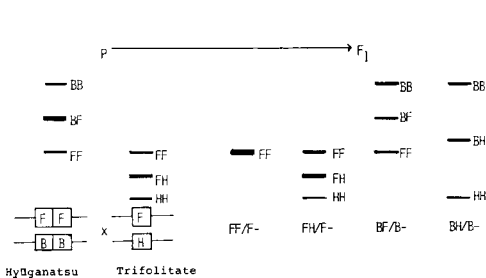


Fig. 10. Diagram on the segregation in AAT isozyme pattern in *Aat-2* region.

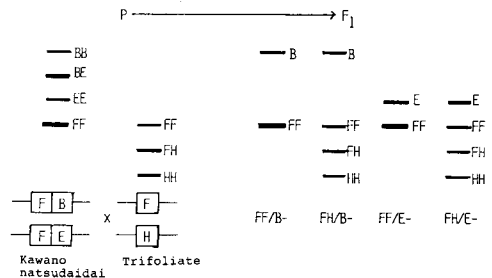


Fig. 11. Diagram of the segregation in AAT isozyme pattern in *Aat-2* region.

次に、*Aat-2*と同様に*Aat-2*についてもメンデルの遺伝の法則への適合性の検定を行った。遺伝子解析を行うことができた三つの交配組合せについて検定を行った結果、5%水準で‘クレメンティン’×‘川野なつだいだい’の交配実生では有意な差異が認められたが、残りの二つの組合せでは有意差を認めなかった(第2表)。

第3表に‘クレメンティン’×‘川野なつだいだい’、第4表に‘日向夏’×‘カラタチ’、5表に‘川野なつだいだい’×‘カラタチ’、5表に‘川野なつだいだい’×‘カラタチ’の交配組合せについて、それぞれ遺伝子座*Aat-1*と

*Aat-2*の間で遺伝子の乗り換えを起こしていないか検討した。遺伝子の乗り換えは、Gottlieb(1987)によって報告されており、 $\chi^2$ 値を算出して検定を行った。検定の結果、‘クレメンティン’×‘川野なつだいだい’では遺伝子座*Aat-1*と*Aat-2*の遺伝子が連鎖している可能性も考えられたが、‘日向夏’×‘カラタチ’、‘川野なつだいだい’×‘カラタチ’では両遺伝子座の遺伝子は独立に遺伝しているといえる。このことから、*Aat-1*と*Aat-2*は連鎖していない可能性が強い。Torres *et al.*(1985)も*Aat-1*と*Aat-2*について連鎖の無いことを認めている。

Table 2. Goodness-fit tests for segregation patterns at *Aat-2*.

♀	♂	Parental genotypes	Offspring genotypes (N)*	Expected ratio	$\chi^2$ **	P
Kawano natsudaidai	× Karatachi	BE/FF×FH	FF/B:FH/B:FF/E:FH/E (9) (13) (9) (14)	1 : 1 : 1 : 1	1.84	0.750-0.500
Hyūganatsu	× Karatachi	BF/BF×FH	FF/F:FH/F:BF/B:BH/B (11) (8) (12) (10)	1 : 1 : 1 : 1	0.85	0.900-0.750
Clementine	× Kawano natsudaidai	BB/FF×BE/FF	FF/BB:FF/BE (38) (63)	1 : 1	6.19	0.025-0.010

\* Number of cultivars examined.

\*\* Calculated with 1, 3 degrees of freedom for 1:1, 1:1:1:1 ratios respectively.

Table 3. Progeny segregations for two-way test cross for AAT [Clementene (SS, FF/BB) × Kawano natsudaidai (FS, FF/BE)]. The expected segregation for independently assorting genes is 1:1:1:1. The  $\chi^2$  value of 9.06 is significant ( $P \leq 0.05$ ) but not significant ( $P \leq 0.01$ ); N=101.

<i>Aat-1</i>	SS	SS	FS	FS
<i>Aat-2</i>	FF/BB	FF = BE	FF/BB	FF/BE
	13	32	25	31

Table 4. Progeny segregations for two-way test cross for AAT [Hyūganatsu (SS, BF/BF) × Karatachi (PF, FH)]. The expected segregation for independently assorting genes is 1:1:1:1:1:1:1. The  $\chi^2$  value of 6.02 is not significant ( $P \leq 0.05$ ); N=41.

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

Table 5. Progeny segregations for two-way test cross for AAT Kawano natsudaidai (FS, FF/BE) × Karatachi (PF, HF)]. The expected segregation for independently assorting genes is 1:1:1:1:1:1:1:1:1:1:1:1:1:1. The  $\chi^2$  value of 9.40 is not significant ( $P \leq 0.05$ ); N=45.

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

## 摘 要

推定した遺伝子型を確認するために交配を行い、 $F_1$  の AAT アイソザイム分析を行った結果、遺伝子座 *Aat-1* においては推定どおりの遺伝子座が確認された。遺伝子座 *Aat-2* については、カンキツ属では遺伝子座の重複がみられるのに対し、カラタチ属には遺伝子の重複がみられないことを明らかにした。

## 文 献

Ennos, F. A. 1986 Allozyme variation, linkage, and duplication in the perennial grass, *Cynosurus*

*cristatus*. *J. Hered.*, 77 : 61-62

Gottlieb, L. D. 1987 Phosphoglucumutase and isocitrate dehydrogenase gene duplications in *Layia* (*Compositae*). *Amer. J. Bot.*, 74 (1) 9-15

木南凌 1986 遺伝子の構造再編；バイオサイエンスのための新しい分子遺伝学。南江堂，東京

Soost, R. K. and A. M. Torres. 1981 Leaf isozymes as genetic markers in *Citrus*. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, Vol. 1 : 7-10

Torres, A. M., Mau-Lastovicka, T. E. Willdams, and R. K. Soost. 1985 Segregation distortion and linkage of *Citrus* and *Poncirus* isozyme genes. *J. Hered.*, 76 : 289-294

## Summary

The AAT isozymes of  $F_1$  hybrids synthesized from inbred *Citrus* and *trifoliata* were analyzed in order that might clarify the estimated genotypes of species and cultivars. The results analyzed AAT isozyme showed to recognize the genotypes of *Aat-1* in *Citrus* and its relatives, and that clarified gene duplication *Aat-2* had acquired distinctive functions in *Citrus*, but the duplication of gene locus in *Poncirus* was not confirmed.