

筑波大学農林技術センター集植のツバキ属70品種における アイソザイム変異と花形との関係

鄧 曉安*・戸丸 信弘**・内田 煌二**・大庭喜八郎**

Relationship between isozyme variation and flower types in 70 *Camellia* cultivars collected
in Agriculture and Forestry Reserch Center, University of Tsukuba

Xiaoan DENG*, Nobuhiro TOMARU**, Kohji UCHIDA** and Kihachiro OHBA**

目 次

I. はじめに……………	127	2. アイソザイム変異と花形との関係……………	133
II. 材料及び方法……………	128	引用文献……………	136
III. 結果及び考察……………	131	Summary ……………	137
1. アイソザイム変異……………	131		

I. はじめに

ツバキ属 (*Camellia* L.) 植物を観賞のために植栽した事例は奈良時代にさかのぼり、16世紀後半室町時代の末にはツバキの観賞が盛んになった¹⁾。それ以来、ツバキ (*C. japonica* L.)、サザンカ (*C. sasanqua* Thunb. ex Murr.) 等のツバキ属植物は重要な園芸品種として扱われてきた。ツバキに関しては、日本で約2,000品種が観賞用に栽培されている²⁾。それらの品種は主に、(1)天然の実生個体からの選抜、(2)種間、亜種、変種あるいは品種間の交雑、(3)栽培品種の枝変わり等の突然変異によって形成されてきた。

アイソザイムは植物を対象とした基礎的あるいは応用的学問分野、例えば系統分類学、進化生物学や植物育種学等の研究において有力な遺伝マーカーである³⁾。ツバキ属植物では長戸⁴⁾、Nagato and Hakoda⁵⁾ および箱田⁶⁾ がアイソザイムのバンドパターンを用いてサザンカ品種とツバキ属の数種との類縁関係を調査している。また、Wendel and Parks⁷⁾ がツバキでアイソザイムの遺伝

*中国・広西林業科学研究所

**筑波大学農林学系

*Forestry Research Institute of Guangxi, China

**Institute of Agriculture and Forestry, University of Tsukuba, Ibaraki, 305

子支配を解明したことによりツバキ品種の同定⁸⁾、種内変異と集団の遺伝的構造の解明⁹⁾、さらにツバキ属植物における種の成立と文化の解明^{10,11)}等の研究がアイソザイム遺伝子を遺伝マーカーとして行われてきた。しかし、現在までツバキの形態形質を支配する遺伝子とアイソザイム遺伝子との関係について研究した報告はない。

ツバキ品種の花形には一重咲き、八重咲きおよび千重咲き等があるが、その遺伝様式は解明されていない。したがって花形を支配する遺伝子とアイソザイム遺伝子との連鎖関係も明らかでない。そこで本研究では筑波大学農林技術センターに集植されているツバキ属の70品種について、まず基礎調査として花形等の形態的特性を調査し、次に各品種についてアイソザイム分析を行い、アイソザイム変異と花形との関係を調べた。

なお、多数の園芸品種を含むツバキ属の分類に関してはいくつかの議論があるが、本論文では園芸植物大辞典¹²⁾にならい学名を記した。

本研究に際し、筑波大学農林技術センターの渡部弘講師にはツバキの実験材料を快く提供していただき、また本論文の取りまとめにおいては日本ツバキ協会理事桐野秋豊氏に貴重なご助言をいただいた。両氏に心から厚く感謝申し上げる。

II. 材料及び方法

供試個体は筑波大学農林技術センターに集植されているツバキ属70品種の15年生さし木クローンであった(表-1)。この内訳はツバキ(*C. japonica* L.)系品種が62品種、ユキツバキ(*C. rusticana* Honda)系品種が1品種、ワビスケ(*C. wabisuke* Kitam.)が3品種であり、残りはサルウィンツバキ(*C. saluensis* Stapf ex Bean)×ツバキ、サルウィンツバキ×トウツバキ(*C. reticulata* Lindl)および*C. cuspidata* (Kochs) Wright ex Gard. ×サルウィンツバキの種間雑種がそれぞれ1品種であった。

各品種の形態的特性調査は埼玉県植物見本園の昭和54年度種苗特性分類調査報告書ツバキ¹³⁾に従い、樹性、葉、花の形質を調べた。また、2月上旬に各個体から採取した冬芽を試料として、アイソザイム分析を津村ら¹⁴⁾の方法に準じ、以下に示す手順で行った。冬芽100 mgを乳鉢を用いて液体窒素中で摩砕し、ついで予め調製しておいた抽出液(93 mM pH 7.5 トリス塩酸緩衝液, 23.4 %グリセリン, 0.6 %ツィーン80, 2.3 mM DTT, 2.8 mM EDTA, 0.6 mM NAD, 0.5 mM NADP, 0.05 % 2-メルカプトエタノール, 0.08 %アルブミン)を1 mlとポリクラルールATを70 mg加えた。それを0 °C, 15,000 rpmで30分間遠心分離し、得られた上清液10 μ lを試料としてポリアクリルアიდゲル電気泳動を4 °C, 12.3 mA/cm², 150分間の条件で行った。予備実験では津村ら¹⁴⁾が報告した26酵素種の染色法でアイソザイムの検出を試み、そのうち明瞭なバンドパターンが得られた4酵素種、アルコール脱水素酵素(ADH)、グルタチオンレダクターゼ(GR)、ジアホラーゼ(DIA)、ホスホグルコースイソメラーゼ(PGI)を本実験で分析した。そしてそれらを支配する5遺伝子座について各品種の遺伝子型を推定した。

表-1. 調査したツバキ属70品種の花形と5遺伝子座の遺伝子型

No.	品 種 名	系統*	花形	遺 伝 子 座				
				<i>Adh</i>	<i>Gr</i>	<i>Dia</i>	<i>Pgi-1</i>	<i>Pgi-2</i>
1.	新月見車	j	一重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
2.	横 雲	j	一重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>c/e</i>
3.	旭 の 湊	j	一重	<i>a/a</i>	<i>a/a</i>	<i>a/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
4.	草 紙 洗	j	一重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
5.	雪 見 車	j	一重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
6.	抜 筆	j	一重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
7.	白重金魚葉椿	j	一重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
8.	中部月見車	j	一重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>a/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
9.	黒 佗 助	j	一重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>c/c</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
10.	細 枝 薔	j	一重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/d</i>	<i>a/a</i>	<i>c/d</i>
11.	白牡丹金魚葉椿	j	一重	<i>a/a</i>	<i>a/b</i>	<i>a/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
12.	関東月見車	j	一重	<i>a/a</i>	<i>a/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/e</i>
13.	井 荻 梨 地	j	一重	<i>a/a</i>	<i>a/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>a/c</i>
14.	中部綾錦	j	一重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>a/c</i>
15.	肥後白雪	j	一重	<i>a/a</i>	<i>a/a</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
16.	白 八 朔	j	一重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/e</i>
17.	曙 錦	j	一重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
18.	紅妙蓮寺	j	一重	<i>a/b</i>	<i>b/b</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>c/g</i>
19.	大 和 姫	j	一重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>a/c</i>
20.	白 鳳	j	一重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
21.	天 が 下	j	一重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
22.	匂 吹 雪	j	一重	<i>a/a</i>	<i>a/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>a/e</i>
23.	紅 佗 助	w	一重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/d</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
24.	蝴蝶佗助	w	一重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>c/d</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
25.	初 雁	w	一重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/d</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
26.	鹿 児 島	j	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>a/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/f</i>
27.	プリンセスラベンダー	j	八重	<i>a/b</i>	<i>b/b</i>	<i>c/c</i>	<i>a/a</i>	<i>b/c</i>
28.	花 車	j	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/e</i>
29.	淀の朝月	j	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>a/c</i>
30.	見 驚	j	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/e</i>
31.	フロスティー・モーン	j	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
32.	ジューン・マッカスキル	j	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>c/e</i>
33.	サンセット・グロリー	j	八重	<i>a/b</i>	<i>b/b</i>	<i>c/c</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
34.	明 石 瀉	j	八重	<i>a/b</i>	<i>b/b</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>a/c</i>
35.	白 拍 子	j	八重	<i>a/b</i>	<i>b/b</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>a/c</i>
36.	釣 篝	j	八重	<i>a/b</i>	<i>b/b</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
37.	小 紅 葉	j	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>c/e</i>

表-1. (つづき)

No.	品 種 名	系統*	花形	遺 伝 子 座				
				<i>Adh</i>	<i>Gr</i>	<i>Dia</i>	<i>Pgi-1</i>	<i>Pgi-2</i>
38.	肥後蜀紅錦	j	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>a/c</i>
39.	錦 重	j	八重	<i>a/b</i>	<i>b/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
40.	沖 の 浪	j	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>c/e</i>
41.	春 曙 紅	j	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>a/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/e</i>
42.	金 猩 猩	j	八重	<i>a/a</i>	<i>a/b</i>	<i>a/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/e</i>
43.	大 虹	j	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
44.	東京君ヶ代	j	八重	<i>a/b</i>	<i>b/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
45.	都 鳥	j	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/e</i>
46.	乱 拍 子	j	八重	<i>a/b</i>	<i>b/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>a/c</i>
47.	白 雁	j	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>a/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/e</i>
48.	江 戸 錦	j	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
49.	サンダイヤル	j	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>a/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
50.	グランド・スラム	j	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>c/e</i>
51.	ビク・ビュウティ	j	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
52.	ハ ワ イ	j	八重	<i>a/b</i>	<i>b/b</i>	<i>c/c</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
53.	エリザベス・レ・ベイ	j	八重	<i>a/b</i>	<i>b/b</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>b/c</i>
54.	エミリー・ウィルソン	j	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>b/c</i>
55.	村 娘	j	八重	<i>a/a</i>	<i>a/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
56.	覆輪江戸錦	j	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
57.	カーターズ・サンバースト	j	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>a/c</i>	<i>a/a</i>	<i>b/c</i>
58.	エンゼル	j	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
59.	弓 場 綾	j	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/f</i>
60.	ブリガドーン	h1	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
61.	バーバラ・クラーク	h2	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/d</i>	<i>a/a</i>	<i>e/e</i>
62.	シルビア・メイ・ウィルズ	h3	八重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
63.	桃色ト伴	j	千重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
64.	一 筋	j	千重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/e</i>
65.	白 角 倉	j	千重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>b/c</i>
66.	紅 車	j	千重	<i>a/c</i>	<i>b/b</i>	<i>c/c</i>	<i>a/a</i>	<i>a/c</i>
67.	白 菊	j	千重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/c</i>
68.	オランダ紅	j	千重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>a/b</i>	<i>a/a</i>	<i>c/e</i>
69.	パール・マックスウエル	j	千重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>c/f</i>
70.	碁 石	r	千重	<i>a/a</i>	<i>b/b</i>	<i>b/c</i>	<i>a/a</i>	<i>c/e</i>

* jはツバキ (*C. japonica* L.) 系品種, wはワビスケ (*C. wabisuke* Kitam.), h1, h2, h3は種間雑種でそれぞれサルウィントンツバキ (*C. saluensis* Stapf ex Bean) × ツバキ, サルウィントンツバキ × トウツバキ (*C. reticulata* Lindl), *C. cuspidata* (Kochs) Wright ex Gard. × サルウィントンツバキである。またrはユキツバキ (*C. rusticana* Honda) 系品種である。

ツバキ品種におけるアイソザイム変異と花形との関係を明らかにするため以下に示す3つの統計解析を行った。

（1）形態的特性調査で明らかにした花形（一重咲き、八重咲き、千重咲き）で対象品種を群に分け、5遺伝子座の対立遺伝子頻度を群毎に算出した。次いで一重咲きと八重咲きの品種群間における対立遺伝子頻度の不均一性に関するカイ2乗検定を行い、対立遺伝子頻度の差が統計的に有意であるか否かを調べた。なお、千重咲きの品種に関しては個体数が少なかったためこの検定から除外した。

（2）各品種がある対立遺伝子を保有するときを1とし、保有しないときを0とする数量化を行い、この値を用いて数量化理論第Ⅲ類¹⁵⁾の方法に従って解析し、対象品種がいくつの群を構成するかを調べた。そして群を構成した場合、群構成と花形との関係を調べた。

（3）花形で対象品種を群に分けた場合、群がアイソザイムの遺伝子型によって判別できるか否かを知るために正準判別分析¹⁶⁾を行った。遺伝子型の数量化については、例えば1遺伝子座に2対立遺伝子(a , b)の場合、遺伝子型は a/a , a/b , b/b の3種類のいずれかであり、それらをそれぞれ1, 0.5, 0とした¹⁷⁾。

Ⅲ. 結果および考察

1. アイソザイム変異

1) アルコール脱水素酵素 (ADH)

ADHでは活性の高いゾーン (Rf 23~33) とともに、それよりもわずかに移動度が大きく低活性のゾーンを観察した。Wendel and Parks⁷⁾は、種子の胚と芽生えの葉組織を電気泳動用試料として用い、ADHを支配する2遺伝子座を明らかにしている。彼らは、(1) これら2遺伝子座のアイソザイムがそれぞれダイマー型の遺伝様式を示し、さらに2遺伝子座間でヘテロダイマーを形成する、(2) 組織特異性がみられ、芽生えの葉組織を試料とした場合、移動度が大きい方のゾーンのアイソザイムが出現しない、と報告している。したがって本研究で観察した後者のゾーンのアイソザイムは、1遺伝子座によって支配されるアイソザイムか、あるいは異なる遺伝子座間で形成されるアイソザイムのどちらかであると考えられた。しかしバンドの活性が低く不安定であったため、これ以上の分析は取りやめた。一方前者のゾーン (Rf 23~33) については、観察したバンドパターンから判断すると (図-1), それらは1遺伝子座 (Adh) によって支配されたと考えられた。この遺伝子座では3種類の対立遺伝子 (Adh^a , Adh^b , Adh^c) を検出し、3種類の遺伝子型を確認した。供試した70品種のうち a/a のホモ接合型は58品種 (82.9%), a/b と a/c のヘテロ接合型がそれぞれ11品種 (15.7%) と1品種 (1.4%) であった。(表-1, 図-1)。

2) グルタチオンレダクターゼ (GR)

GRではRf 9~16の位置に、1本のバンドからなる2種類のバンドパターンと5本のバンドからなる1種類のバンドパターンが観察された (図-1)。これらのバンドパターンから、これらは1

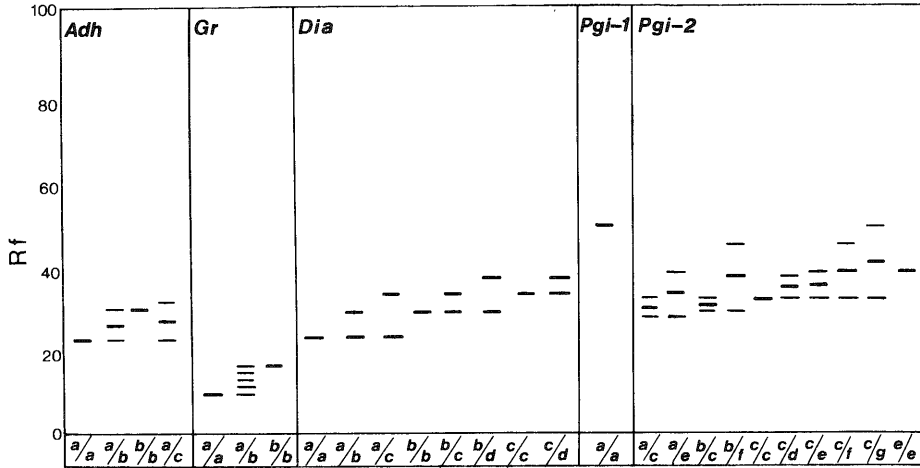


図-1. 4 酵素種の 5 遺伝子座におけるアイソザイムのバンドパターンとそれらに対応する遺伝子型
Rf は原点 (試料を添加した位置) から B.P.B. マーカーまでの距離に対するバンドの相対移動距離である。

遺伝子座 (*Gr*) によって支配される 4 量体のアイソザイムであると考えて遺伝子型を推定した。この遺伝子座では 2 種類の対立遺伝子 (Gr^a , Gr^b) からなる 3 種類の遺伝子型を確認し、供試した 70 品種中 2 品種 (2.9%) が a/a , 62 品種 (88.6%) が b/b のホモ接合型であり、残りの 6 品種 (8.6%) が a/b のヘテロ接合型であった (表-1, 図-1)。

3) ジアホラーゼ (DIA)

DIA において, Wendel and Parks⁷⁾ はモノマー型の遺伝様式を示す 1 遺伝子座を報告している。本研究でもそれと相同であると考えられる *Dia* 遺伝子座を確認した。この遺伝子座では, Rf 24 ~ 39 の位置に 4 種類の対立遺伝子 (Dia^a , Dia^b , Dia^c , Dia^d) によって支配されるバンドを観察した (図-1)。合計 8 種類の遺伝子型を確認し、供試した 70 品種中 1 品種 (1.4%) が a/a , 26 品種 (37.1%) が b/b , 5 品種 (7.1%) が c/c のホモ接合型であり, 9 品種 (12.9%) が a/b , 1 品種 (1.4%) が a/c , 23 品種 (32.9%) が b/c , 4 品種 (5.7%) が b/d , 1 品種 (1.4%) が c/d のヘテロ接合型であった (表-1, 図-1)。

4) ホスホグルコースイソメラーゼ (PGI)

Wendel and Parks⁷⁾ は, PGI アイソザイムを支配する 2 遺伝子座を明らかにしている。そのうち移動度の比較的小さいゾーンのバンドは細胞質ゾルのアイソザイムであり, 移動度が比較的大きく, 変異が全くないバンドは葉緑体のアイソザイムであると報告している。今回の分析においても, それらと相同であると考えられる 2 遺伝子座 ($Pgi-1$, $Pgi-2$) のアイソザイムを観察した。 $Pgi-1$ 遺伝子座では, Wendel and Parks⁷⁾ の報告と同じように常に 1 本のバンドを観察した (図-1)。これは $Pgi-1^a$ のホモ接合型 (a/a) のバンドパターンであると推定した。一方 $Pgi-2$ 遺伝

子座では, Rf 27~48の位置に7種類の対立遺伝子 ($Pgi-2^a$, $Pgi-2^b$, $Pgi-2^c$, $Pgi-2^d$, $Pgi-2^e$, $Pgi-2^f$, $Pgi-2^g$) によって支配されるバンドを観察した (図-1)。合計9種類の遺伝子型を確認し, 供試した70品種のうちホモ接合型については c/c が33品種 (47.1%), e/e が1品種 (1.4%) であった。またヘテロ接合型では a/c が9品種 (12.5%), a/e が1品種 (1.4%) であり, さらに b/c が5品種 (7.1%), c/e が16品種 (22.9%), c/f が3品種 (4.3%), c/d と c/g がそれぞれ1品種 (1.4%) であった (表-1, 図-1)。

2. アイソザイム変異と花形との関係

形態的特性調査によって70品種のうち25品種が一重咲き, 37品種が八重咲きおよび8品種が千重咲きであることが明らかとなった (表-1)。この結果を基に花形によって品種を群に分け, 得られた群毎に5遺伝子座の対立遺伝子頻度を算出した。また一重咲きと八重咲きの品種群間については, 変異のみられた4遺伝子座 (Adh , Gr , Dia , $Pgi-2$) の対立遺伝子頻度の不均一性に関する検定を行った (表-2)。その結果, Dia 遺伝子座の対立遺伝子頻度は群間にはほとんど差がなかった。しかし3遺伝子座 (Adh , Gr , $Pgi-2$) では, 一重咲きの品種群の対立遺伝子頻度は八重咲きと千重

表-2. 花形で対象品種を群分けした場合の5遺伝子座の対立遺伝子頻度

遺伝子座	対立遺伝子	花 形			χ^2 *(df)	P
		一重	八重	千重		
<i>Adh</i>	<i>a</i>	0.980	0.865	0.938	4.89(1)	<0.05
	<i>b</i>	0.020	0.135	0.000		
	<i>c</i>	0.000	0.000	0.063		
<i>Gr</i>	<i>a</i>	0.160	0.027	0.000	7.12(1)	<0.01
	<i>b</i>	0.840	0.973	1.000		
<i>Dia</i>	<i>a</i>	0.100	0.081	0.063	0.13(2)	0.94
	<i>b</i>	0.620	0.635	0.625		
	<i>c</i>	0.200	0.270	0.313		
	<i>d</i>	0.080	0.014	0.000		
<i>Pgi-1</i>	<i>a</i>	1.000	1.000	1.000	—	—
<i>Pgi-2</i>	<i>a</i>	0.080	0.068	0.063	2.73(2)	0.26
	<i>b</i>	0.000	0.054	0.063		
	<i>c</i>	0.800	0.689	0.625		
	<i>d</i>	0.020	0.000	0.000		
	<i>e</i>	0.080	0.162	0.188		
	<i>f</i>	0.000	0.027	0.063		
	<i>g</i>	0.020	0.000	0.000		

* 一重咲きと八重咲きの品種群間における対立遺伝子頻度の不均一性に関するカイ2乗検定。千重咲きの品種に関しては個体数が少ないためこの検定から除外した。

咲きの品種群のものから異なった。特に *Adh* と *Gr* 遺伝子座において、一重咲きと八重咲きの品種群間にみられた対立遺伝子頻度の差は統計的に有意であった。

数量化理論第Ⅲ類による解析で得られた第 1 軸と第 2 軸における各品種の散布図を図-2 に示した。供試した 70 品種のうち 65 品種が原点付近で、群を構成し、他の 5 品種はその群から離れた第一象限に位置した。これら 5 品種のうち 3 品種がワビスケであり、残りの 2 品種はツバキ系品種の細枝数およびサルウィーンツバキ×トウツバキの種間雑種であるバーバラ・クラークであった。これら 5 品種には *Dia* 遺伝子座で *Dia^d* をもつ共通点があった。ワビスケの 3 品種とも原点付近のツバキ品種から分かれる傾向がみられたが、花形によって品種が分かれる傾向はみられなかった。

正準判別分析の結果、第 1 正準変数において全分散の 30.5% ($0.634^2 \times 0.758 \times 100$) が群間の判別に寄与し、群間に差が全くないとする帰無仮説は確率 0.01 で棄却された (表-3)。そこで第 1 正準変数と第 2 正準変数の判別得点を直交軸の平面上にプロットした (図-3)。第 1 正準変数の軸において一重咲きの品種は正の領域に集まり、八重咲きと千重咲きの品種は負の領域に集まる傾向がみられた。第 1 正準変数と元データの相関係数から *Adh^a*, *Gr^a*, *Pgi-2^c*, *Pgi-2^d* の対立遺伝子頻度が判別得点に正の寄与を、逆に *Adh^b*, *Pgi-2^b*, *Pgi-2^e* および *Pgi-2^f* の対立遺伝子頻度が判別得点に負の寄与をしていることがわかった (表-3)。

津村ら¹⁸⁾ はウメ (*Prunus mume*) 品種において、アイソザイムのバンドの有無を数量化し、そのデータを用いて数量化理論第Ⅲ類の方法で解析したところ、花形によって品種が分かれる傾向があ

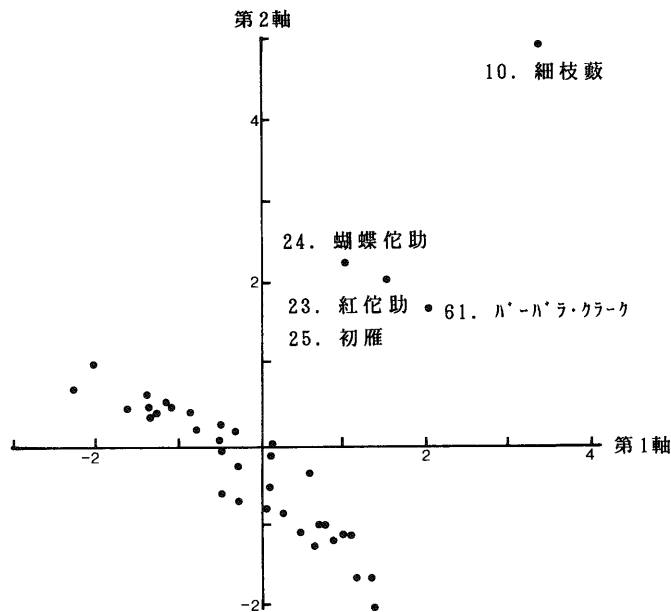


図-2. 4 遺伝子座の遺伝子型を基に数量化理論第Ⅲ類をして得られたツバキ属 70 品種の散布図

表-3. ツバキ属70品種の正準判別分析による
2正準変数と元データの相関係数

遺伝子座	対立遺伝子	正準変数	
		1	2
<i>Adh</i>	<i>a</i>	0.386	-0.349
	<i>b</i>	-0.335	0.602
<i>Gr</i>	<i>a</i>	0.495	0.008
	<i>Dia</i>	<i>a</i>	0.086
<i>Pgi-2</i>	<i>b</i>	-0.029	0.028
	<i>c</i>	-0.194	-0.065
	<i>a</i>	0.059	0.011
	<i>b</i>	-0.328	0.009
	<i>c</i>	0.346	0.111
	<i>d</i>	0.253	-0.044
	<i>e</i>	-0.280	-0.030
	<i>f</i>	-0.267	-0.210
固有値		0.671	0.216
分散の割合*(%)		75.77	24.34
正準相関		0.634	0.421
<i>P</i>		<0.01	0.364

* 各正準変数の分散が全分散に占める割合

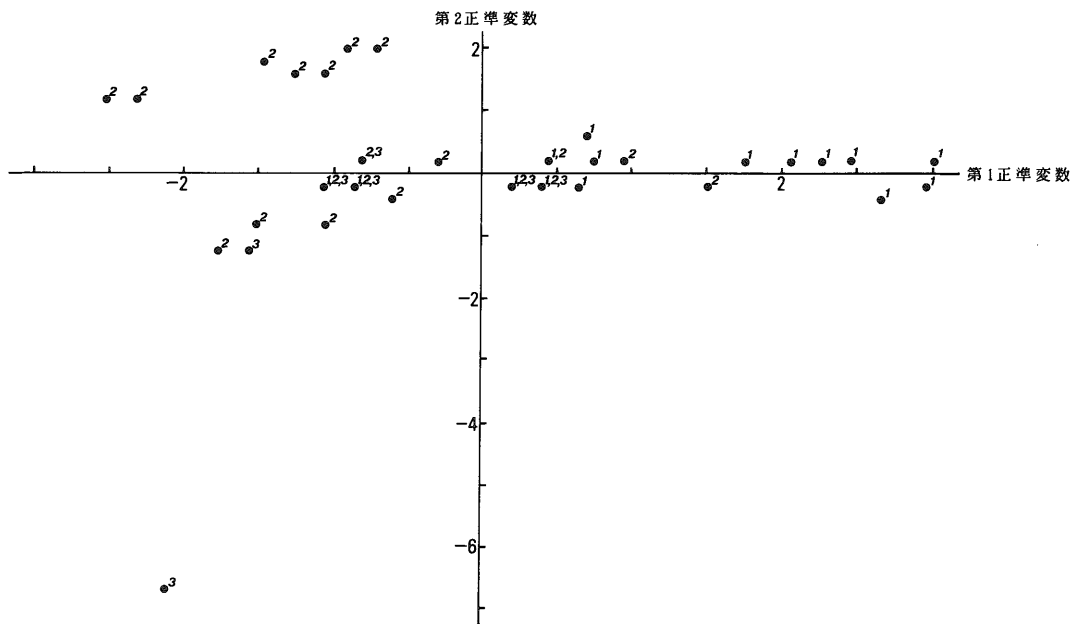


図-3. 4遺伝子座の遺伝子型を基に正準判別分析をして得られたツバキ属70品種の散布図
1: 一重咲き, 2: 八重咲き, 3: 千重咲き

ったと報告している。本研究の数量化理論第Ⅲ類による結果は花形によって品種が分かれなことを示した。しかし対立遺伝子頻度の不均一性に関する検定および正準判別分析によって、アイソザイム変異 (*Adh*, *Gr* さらに正準判別分析では *Pgi-2* も) が花形と統計的に有意な関係にあることが示された。この理由として、(1) 利用したアイソザイム遺伝子座の近傍に花形に関与する遺伝子座が連鎖していること、(2) 単なる偶然が考えられる。この理由を明らかにするためには他の多くの品種について分析する必要がある。

本研究のような解析で得られたデータは、花形を支配する遺伝子とアイソザイム遺伝子との連鎖関係を調べる上での基礎データになるものと考ええる。

引用文献

- 1) 安藤芳顕：ツバキ属 *Camellia* L. (ツバキの園芸栽培史)。園芸植物大辞典 3, 289~290, 小学館, 東京, 1989
- 2) 横山三郎・桐野秋豊：日本の椿花。420 pp, 淡交社, 東京, 1989
- 3) Tanksley, S. D. and T. J. Orton (eds.): Isozymes in plant genetics and breeding, Part A and B. 516 and 472 pp, Elsevier, Amsterdam, 1983
- 4) 長戸かおる：アイソザイム変異に基づく我が国のツバキ属植物の種間および種内関係。育雑 29 : 49~58, 1979
- 5) Nagato, K. and N. Hakoda: Interrelationships of *Camellia sasanqua*, *C. hiemalis*, *C. vernalis* and *C. japonica* based on esterase isozyme variation. Japan. J. Breed. 34 : 439~444, 1984
- 6) 箱田直紀：パーオキシダーゼ・アイソザイムによるサザンカ品種とツバキ属の種との類縁関係について。園学雑 56 : 339~343, 1987
- 7) Wendel, J. F. and C. R. Parks: Genetic control of isozyme variation in *Camellia japonica* L. J. Hered. 73 : 197~204, 1982
- 8) Wendel, J. F. and C. R. Parks: Cultivar identification in *Camellia japonica* L. using allozyme polymorphisms. J. Amer. Soc. Hort. Sci 108 : 290~295, 1983
- 9) Wendel, J. F. and C. R. Parks: Genetic diversity and population structure in *Camellia japonica* L. (Theaceae). Amer. J. Bot. 72 : 52~65, 1985
- 10) 江口壽彦・上本俊平：ツバキ (*Camellia*) 属植物における GDH アイソザイム変異。園芸学会昭和63年度秋季発表要旨 : 432~433, 1989
- 11) Eguchi, T., H. Okubo, K. Fujieda, and S. Uemoto: Genetic divergence among intraspecific taxa of *Camellia japonica* L. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 59 : 803~814, 1991
- 12) 田村輝夫・萩屋 薫・箱田直紀：ツバキ属 *Camellia* L. 園芸植物大辞典 3, 267~275, 小学館, 東京, 1989

- 13) 埼玉県植物見本園：昭和54年度種苗特性分類調査報告書ツバキ。263 pp, 埼玉県植物見本園, 埼玉, 1980
- 14) 津村義彦・戸丸信弘・陶山佳久・モハマド=ナイム・大庭喜八郎：アイソザイム実験法。筑大演報 6 : 63~95, 1990
- 15) 田中 豊・垂水共之・脇本和昌：パソコン統計解析ハンドブック, II 多変量解析編。403 pp, 共立出版, 東京, 1984
- 16) SAS Institute Inc.: SAS user's guide: statistics, version 5 edition. 956 pp, SAS Institute Inc., Cary, NC, 1985
- 17) Smouse, P. E. and J. V. Neel.: Multivariate analysis of gametic disequilibrium in the Yanomama. Genetics, 85 : 733~752, 1977
- 18) 津村義彦・大庭喜八郎・海上道雄：ウメ品種のアイソザイムによる分類方法について。日林誌, 69 : 105~108, 1987

Summary

Relationship between isozyme variation at five loci and flower types was studied in 70 *Camellia* cultivars, which were planted in Agriculture and Forestry Research Center, University of Tsukuba. From heterogeneity tests in allele frequencies, it is found that the cultivar group of single flower types differed significantly from that of semi double flower types in allele frequencies at two loci (*Adh* and *Gr*). Also, canonical discriminant analysis, using the genotype data, indicated that the former was significantly discriminated from the latter, with positive contribution on first canonical variable by alleles such as *Adh^a*, *Gr^a*, *Pgi-2^c*, and *Pgi-2^d*, and reversely, negative contribution by *Adh^b*, *Pgi-2^b*, *Pgi-2^e*, and *Pgi-2^f*. This can occur because that the genes controlling the expression of flower types can be linked to the isozyme genes analyzed, or because of chance alone. Results from such an analysis as in this survey become the basis of linkage analysis between a gene controlling the expression of morphological character and an isozyme gene.