

氏 名 (本 籍)	はん だ たかし 半 田 高 (神奈川県)
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	博 甲 第 359 号
学 位 授 与 年 月 日	昭 和 61 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
審 査 研 究 科	農 学 研 究 科
学 位 論 文 題 目	ミカン亜科植物とくにカンキツ類の数量ならびに化学分類に関する研究
主 査	筑波大学教授 農学博士 大 垣 智 昭
副 査	筑波大学教授 農学博士 菊 池 文 雄
副 査	筑波大学教授 農学博士 大 庭 喜 八 郎
副 査	筑波大学教授 農学博士 安 井 恒 男

論 文 の 要 旨

カンキツ類に対する分類学は従来手法では混乱を生じてきた。そこで著者は多くのカンキツ類 (*Citrus*, *Poncirus*, *Fortunella* 3 属) ならびにミカン亜科植物について、化学分類と形態形質ならびに化学成分を基にした数量解析とを行ない、総合的な考察に基づいたカンキツ類の分類と類縁関係とを研究した。

(1) 形態形質による多変量解析

42 の種、品種を材料とし、多変量解析の 4 法を扱って、まずそれらの最適計算条件と各計算法の損失を論じた。すなわち、Q モードクラスター分析法では入力データとなる距離行列に x^2 値を用いた場合が、主成分分析法併用 Q モードクラスター分析法では、距離行列を主成分分析の主成分得点に重みづけせずクラスター分析した場合が、非線形マッピング法では標準化した値を用いた計算が、それぞれ良い結果をえた。

次に、上記のカンキツ類における各解析法の最適計算条件で多変量計算を行った結果、とくに数量化理論第 3 類が最もよい結果が得られる解析法であった。これにより、マンダリンとキンカン属は互いに近い関係になり、マンダリン内の雑駁性や、グレープフルーツ・ハッサクとブンタンの近縁関係が類推された。またベルガモットはライムとは遠い位置関係にあり、ヒメレモンとレモンとは遠い関係となり、これらの分類の再検討が望まれた。キンカン属の中ではマメキンカンのみが他のキンカンとは離れ、原始キンカン亜属の特徴を現した。数量化理論第 3 類において

カンキツ属のうち、シトロン・ブontan・マンダリンが起源的な種である可能性を示したが、シトロンは他の種とかなり離れて位置する。

(2) アイソザイム、メタノール可溶性成分による化学分類

パーオキシダーゼアイソザイムについて品種、種に関する実験の結果、本アイソザイムはカンキツ類では系統レベルの差は検出できないが、品種以上のマーカーとして使うことが判った。そして、マンダリンとスイートオレンジ、グレープフルーツとブontanの近縁性や、ハッサクとナツダイダイがブontanに近い関係にあることなどが、(1)でえられた結果に加えて指摘できた。高品質デンブengelを用いて分析法を改良したところ、陰極側からも再現性の高い情報がえられ、コバヤシミカンのキメラ性やシキキツの雑種性が明確になった。

カンキツ類およびミカン亜科 10 属を含めてメタノール可溶性成分をマーカーとする化学分類研究を行なった。2次展開ベークロにより得られたスポットをもとに、近縁性の指標となるPA値と数量化理論第3類の計算を行った。現在のミカン亜科内の分類を支持する結果を得、ワンプ亜連やトリファシア亜連の原始性やカンキツ亜連内セベリニア属の原始性を明らかにした。また、キンカン属内におけるマメキンカンの特殊性、カンキツ属内のパペダ亜属の原始性を確認、シトロン・ブontan・マンダリンが起源種であることも確認しえた。さらに、起源不明の品種、種の起源親の考察、種々の種の近縁性を確認し、雑種のライムカット、ファウストリメディン、シトレンジ、タンゴール、タンゼロの中から両親の明らかな品種とその両親とを共に分析することで、メタノール可溶性成分の化学分類マーカーとしての妥当性や限界を知ることができた。

(3) 可溶性タンパク質による化学分類より遺伝子に直接的な段階で結論をうるために、新しいマーカーとしてタンパク質の内、可溶性総タンパク質とFraction I Proteinに注目した。

葉の可溶性総タンパク質のSDS電気泳動によるパターンを調べた。硫酸沈澱し、透析した後に得られた試料液には白色のタンパク質と思われる沈澱物がみられた。SDS電気泳動の結果、2本の濃く太いバンドが確認され、その分子量からFIPであると考えられた。さらに白色沈澱物を除いた試料液でSDS電気泳動を行った結果、泳動像を明瞭化し細かいバンドも観察できるようになった。25~40本のバンドが検出され、細いものは不安定で、地理的に異なった所から採取の同じクローンでもバンド数や濃度に差を生じた。また系統間においても同様の差異がみられた。一方、雑種のパターンでは新しい雑種バンドが形成されなかったり、タカゼロではバンドパターンが分離したりした。わずかにキメラ品種といわれるもののキメラ性の確認、中国原生のマンキツとホンジソウがウンシュウミカンと近い関係にあるとの結果がえられた。種、品種の違いをSDS電気泳動パターンから比較するには、バンド数の過多と不安定さからかなり困難であった。

(4) Fraction Protein (FIP)による化学分類

FIPの小サブユニット(SS)が核DNAに、大サブユニット(LS)が葉緑体DNAに支配されているFIPをマーカーとして、木本植物としては初めて分析法を確立しながら分析を行った。分析法の改良は抽出段階でフェノール化合物を除去する方法、操作や、ゲル電気泳動法と等電点電機泳動法とを組み合わせる方法に数種の改良を加えたものである。

その結果、ミカン亜科では3種類のLS (I, II, III) と6種類のSS (a, b, c, d, e, f) がいずれも高い等電点で確認された。LS Iはカラタチ属、キンカン属とほとんどのカンキツ属の種、品種がもち、LS IIはセベリニア属、マイクロシトラス属とカンキツ属のシトロンのみがもち、LS IIIは最も遠縁のゲッキツ属がもっていた。LSからみた場合、カンキツ類中シトロンは原始的な特徴をもつ種であるといえる。LLとSSの組み合わせから6種のパターンに分かれ、パターン1はカンキツ属のほとんどの種、品種と雑種が、同2はカンキツ属のマダリリンが、同3はキンカン属全種とカンキツ属のプルット、ラティペス、レモン、ブンタンが、同4はカンキツ属のイーチャンシーが、同5はカラタチ属が、同6はカンキツ属のシトロンがもっているパターンであった。以上からカンキツ属の起源種はシトロン、ブンタン、マダリリンの3種であり、その後の交雑により他の種が生じたものと考えた。

FIPのSSの遺伝性を調べるため、属間雑種、種間雑種、種内雑種を用いてFIP分析を行った結果、ほとんど雑種パターンであるパターンIになったが、いくつかの品種は同じ交雑にかかわらずパターンの分離を生じ、これらは親品種の小サブユニットを支配する核遺伝子がヘテロの状態にあると思われた。なお、起源不明の32品種についてFIPを分析し、その結果から、すでに得ている結果、および従来の諸説との比較考察を行なった。

審 査 の 要 旨

カンキツ類の品種レベルからミカン亜科植物の連レベルに至る多くの情報を化学分類学的研究と、多変量解析4法による形態形質の数量分類学的研究を総合して、ミカン亜科内におけるカンキツ類3属の分類、起源、さらには類縁関係を、従来の説と比較検討しながら、独自の考察を行ない、進歩的な仮説を提唱している。

従来の形態形質による分類や細胞学的な分類を基礎として、Fraction I Protein分析にいたる各種の化学物質をマーカーとしての化学分類の成果は、その過程における分析法の改良とあいまって、カンキツ類ならびにミカン亜科植物の分類、とくに起源種3種の確認や、カンキツ属内の両亜属の種・品種における類縁関係について多くの情報を提供しえている。雑種カンキツの遺伝様式の解明とあいまって、今後のカンキツ育種の基礎資料として極めて重要な成果であり、混乱しているカンキツ類分類に大きな光明をかかげたといえることができる。

よって、著者は農学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。