

## アイソザイムからみた欧米と中国の アルファルファ品種の比較

田中 義則・ハースン・堀川 洋  
(帯広畜産大学)

### Comparison of peroxidase isozyme variability in European and Chinese alfalfa varieties

Yoshinori TANAKA, HASEN and Yho HORIKAWA  
(Obihiro Univ. of Agric. and Vet. Med., Obihiro, 080 Japan)

#### 緒 言

植物の遺伝・育種の分野において、アイソザイムにみられる酵素多型は種内分化や品種間の類縁関係を調べることに利用されている。アルファルファについては、形態形質や生育特性による研究は多いが、アイソザイム分析によるものは今のところ数例しか報告されていない<sup>1, 3)</sup>。

本研究は、中国と欧米のアルファルファ品種についてポリアクリルアミドゲル電気泳動法によりパーオキシダーゼ・アイソザイム変異の比較を行った。

#### 材料および方法

供試材料は、I群からV群<sup>4)</sup>までの欧米11品種と、北京農業大学より譲与された中国8品種である。中国品種は、新疆ウイグル自治区から、北海道より高緯度の東北区までの広い範囲にわたり分布していたものである。

分析には1品種あたり50個体の種子を、ろ紙を敷いたシャーレに播種し、2週間目の幼植物を用いた。試料の調製は個体ごとに行い、10 mM トリス塩酸緩衝液 (pH 6.8) を 60  $\mu$ l 加え乳鉢で磨砕後、その抽出液約 20  $\mu$ l を泳動ゲルに添加した。

電気泳動には 2 mm 厚のスラブ型ポリアクリルアミドゲル法を用いた<sup>5)</sup>。ゲル濃度およびゲル用緩衝液は、分離用が 7% ゲル、1.5 mM トリス塩酸緩衝液 (pH 8.8) で、濃縮用が 5% ゲル、0.5 mM トリス塩酸緩衝液 (pH 6.8) である。泳動槽用緩衝液は、トリス・グリシン系緩衝液 (Laemmli 法 pH 6.8) を用いた。泳動は、+4°C の恒温、20 mA の定電流条件で行った。パーオキシダーゼ・アイソザイムの染色は、オルト-ジアニシジンによる方法を用いた<sup>6)</sup>。

また、供試品種の播種当年における一般形質の調査は畜大の試験圃場で条播により行われた。

#### 結果および考察

##### 1. ザイモグラムおよび一般形質の比較

泳動・染色の結果、全品種で合計 14 本のパーオキシダーゼ・アイソザイムバンドを分離できた。それらを一から十の電極側に向かって、P 1 から P 14 とした。

分析の結果、ある品種に特異的に存在するバンドは見いだされなかったが、品種内の個体間にバンドの

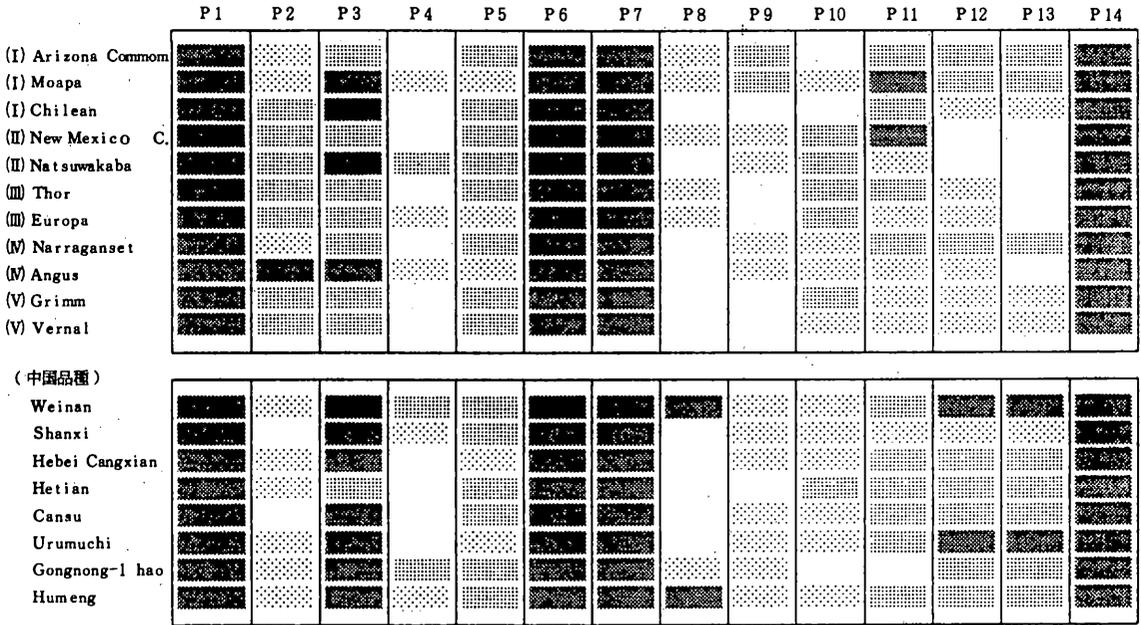


図1 アルファルファ品種におけるパーオキシダーゼ・アイソザイムバンドの出現頻度

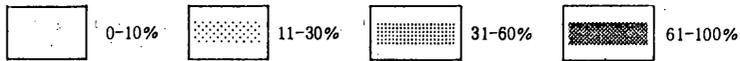


表1 欧米と中国品種におけるバンド出現頻度の平均値と変動係数 (C. V.)

品 種	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 6	P 7	P 8	P 9	P 10	P 11	P 12	P 13	P 14
欧 米 平 均	44.8	21.5	32.4	5.3	17.3	40.9	45.6	5.6	8.6	13.8	19.0	11.6	10.4	50.0
11品種 C. V. (%)	10.4	32.2	20.6	106.6	26.4	12.4	5.4	80.4	92.1	51.8	51.9	38.5	52.7	0
中 国 平 均	45.8	9.3	35.3	6.8	17.0	40.1	48.1	9.6	9.8	10.1	17.9	24.0	24.0	50.0
8品種 C. V. (%)	3.6	31.5	13.1	98.2	33.9	9.5	4.6	106.1	36.7	50.8	36.6	35.1	35.1	0

有無により差がみられ、またバンドによっては出現頻度に品種間差がみられた。

各品種について14本のバンドの出現頻度を4段階に分け、図1に示した。また、欧米品種と中国品種におけるバンド出現頻度の平均値および変動係数 (C. V.) を表1に示した。

P 1, 6, 7, 14のバンドは、全品種とも極めて高い頻度で出現したが、それらの品種間差は極めて小さかった。したがって、これらのバンドは供試品種に基本的に存在するものと考えられる。またP12, 13のバンドは、すべての品種で常に対をなして出現していることから、この2本のバンドは連鎖関係にあることが示唆される。P 3-5, 8-11バンドは、頻度が比較的低いながらも大きな品種間変異があったが、これらには欧米と中国品種を特徴づけるバンドは見られなかった。一方、P 2の出現頻度だけは他のバンドと異なり、中国品種の方が欧米品種に比べて明らかに低かった。

表2 欧米と中国品種における一般形質の平均値と変動係数(C.V.)

品 種	草 丈 (cm)	茎の太さ (mm)	さやの巻数 (回)	葉 長 (mm)	葉 幅 (mm)	地上部生重 (g/2m・条)	根部生重 (g/2m・条)
欧 米 平 均	57.8	3.8	4.2	22.3	7.2	2615	1029
11 品 種 C. V. (%)	5.3	6.4	11.8	5.8	9.2	20	29
中 国 平 均	51.5	3.8	4.1	20.0	6.0	2525	1055
8 品 種 C. V. (%)	11.6	6.8	12.1	8.6	10.2	19.3	36.7

昭和61年5月22日 条播, 10月1日調査。

以上の結果から, 特定のアイソザイムバンドを指標にしてアルファルファ品種を区分することは困難であった。

なお, 一般形質についての調査結果を表2に示した。欧米品種は中国品種に比べて草丈, 葉長, 葉幅地上部重の平均値が大きく, 欧米品種の生産力が高いことを示していた。しかし, 草丈, 葉長, 根部重の変動係数は中国品種の方が大きく, 一般形質については中国品種間の変異が大きい傾向にあった。

2. 主成分分析による比較

以上のように, アルファルファにおけるパーオキシダーゼのザイモグラムは, 品種により複雑な様相を示していた。そこで, 中国と欧米品種の関係を明らかにするため, 全品種共通に出現する3本のバンドと連鎖的な関係にあった一方のバンドを除き, 残り10本のバンドの出現頻度を変量とした主成分分析を行った。

表3 固有値と固有ベクトル

主成分 バンド	Z1	Z2	Z3
	固 有 ベクトル	固 有 ベクトル	固 有 ベクトル
P 2	0.29	0.23	0.61
P 3	0.37	0.18	0.36
P 4	0.36	0.20	-0.08
P 5	0.31	0.33	-0.22
P 6	0.36	0.29	-0.14
P 8	0.33	0.02	-0.57
P 9	0.30	-0.39	0.24
P 10	0.33	-0.26	-0.18
P 11	0.21	-0.51	0.44
P 12	0.24	-0.45	0.01
固 有 値	5.62	1.95	0.91
累積寄与率(%)	56.22	75.74	84.80

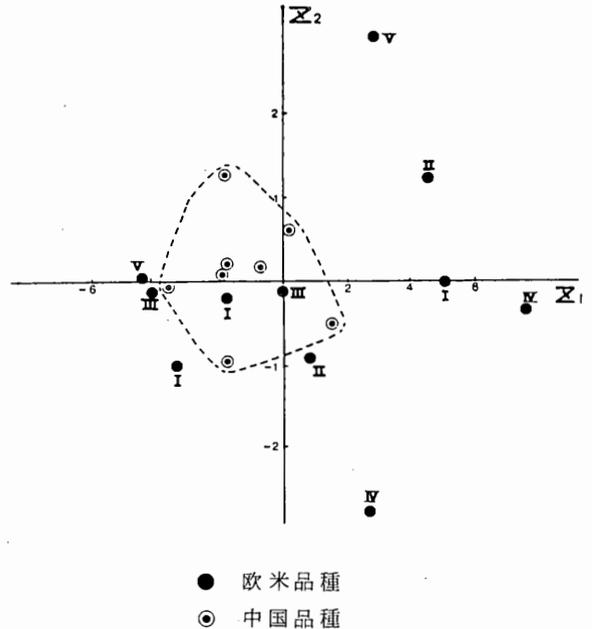


図2 主成分分析による品種スコアの分布図

第3主成分までの固有値，寄与率と各バンドの固有ベクトルを表3に示した。第1主成分の固有ベクトルは全バンドにほぼ同じ大きさであったが，第2主成分の固有ベクトルはP2-8までと9-12までを区分するものであった。第2主成分までで全情報量の75%を説明できたので，二つの主成分による供試品種のスコアの散布を図2に示した。

その結果，中国品種は欧米品種に比べてまとまった分布を示していた。一方，欧米品種の群間には一定の関係はみられなかった。

このように，パーオキシダーゼ・アイソザイム変異に限定してみると，一般形質における変異性とは異なった結果となった。つまり，遺伝子のより直接的な生産物であるアイソザイムの変異は，遺伝子の最終生産物である表現型の変異とは必ずしも一致しないことが示唆された。

今後は，パーオキシダーゼのほかアイソザイムの種類を変え，また供試材料を増やしてさらに検討を加えて行きたい。

#### 引用文献

- 1) 照井義宣・鈴木 茂(1982) 育種 32(別1): 274-275.
- 2) Quiros, C. F. (1980) Crop Sci. 20: 262-264.
- 3) ————— (1983) Isozymes in plant genetics and breeding, Part. B. (Eds. Tanksley, S. D. and T. J. Orton). Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam 253-294.
- 4) 鈴木信治・稲波 進・桜井康雄(1969) 日草誌 15: 33-41.
- 5) 鈴木勝彦(1977) 遺伝 11: 43-50.
- 6) 山本多聞・桃谷好英(1971) 植化調 6: 187-189.

#### Summary

Peroxidase isozyme variability of alfalfa (*Medicago sativa* L.) varieties was studied using polyacrylamide-gel electrophoresis.

Fourteen isozyme bands of peroxidase were observed, and the Principal Component Analysis (PCA) was applied for the frequencies of the detected isozyme bands to characterize two groups of alfalfa varieties in Europe and China.

Alfalfa varieties of the European group were seemed to possess larger variability in peroxidase isozyme than those of the Chinese group.