

## シロサポテ (*Casimiroa edulis* La Llave & Lex.) のアイソザイム分析

山本雅史<sup>\*1, \*2†</sup>・中川剛志<sup>\*1</sup>・遠城道雄<sup>\*3</sup>・米本仁巳<sup>\*4</sup>・

石畑清武<sup>\*3, \*5</sup>・久保達也<sup>\*1</sup>・富永茂人<sup>\*1</sup>

(<sup>\*1</sup>果樹園芸学研究室, <sup>\*2</sup>附属農場唐湊果樹園, <sup>\*3</sup>附属農場指宿植物試験場,

<sup>\*4</sup>国際農林水産業研究センター沖縄支所)

平成17年8月10日 受理

### 要 約

シロサポテ (*Casimiroa edulis* La Llave & Lex.) 26品種を供試して, グルタミン酸オギザル酢酸トランスアミナーゼ (Got) およびスーパーオキシドデヒドロゲナーゼ (Sod) アイソザイム分析を実施した. Got分析においては, バンドはRF=0.35付近で観察され, ザイモグラムは5種類に区分できた. 各々A~E型とした. A型には'Florida'等14品種が含まれた. 'Max Golden'および'Walton'はB型であった. C型は'Cate'のみで, D型は'Vernon'を含む6品種, 'Mexico'等3品種がE型であった. SodではRF=0.6付近に4本のバンドが確認できた. 全ての供試品種が同一のバンドパターンを示し, 品種間差異は認められなかった.

キーワード: アイソザイム, Sod, シロサポテ, Got, 品種識別

### 緒 言

シロサポテ (*Casimiroa edulis* La Llave & Lex.) はメキシコ地方原産の亜熱帯果樹である. 果実は糖度が高く, 200g以上にもなるので, その商品性は高い. そのため, カリフォルニア, フロリダ, オーストラリア, イスラエル等で経済栽培されている. 亜熱帯果樹の中では耐寒性が比較的に強い[7], わが国においても新規の暖地果樹として期待されており, 多数の品種がカリフォルニアから導入され[6], その花や果実特性が明らかにされつつある[12]. これらの品種の大半はカリフォルニアおよびフロリダで選抜されたものであるが, 偶発実生由来のものもある[7]など, 来歴や品種の遺伝的背景が明確でないものが多い. 今後, シロサポテを遺伝的あるいは栽培的な面から改良する上で, 正確な系統分類および品種識別は極めて重要である.

アイソザイム分析は品種識別や系統分類に極めて有効な技術であり, 熱帯・亜熱帯果樹においてもバインアップル[1], チェリモヤ[2], アボカド[9],

ドラゴンフルーツ[11]での報告がある. しかし, シロサポテにおいてアイソザイム分析はまだ行われていない. そのため, 本研究でシロサポテにおけるアイソザイム分析の有効性を検討したところ, 若干の知見が得られたので, その結果について報告する.

### 材料および方法

鹿児島大学農学部附属農場指宿植物試験場(鹿児島県指宿市)で露地栽培されている約10年生の接木樹を供試し, 葉を材料とした. その採取は7月上旬(未硬化葉)と4月上旬(硬化葉)の2度実施した(発芽は5月頃である). 26品種を用いた.

葉は抽出液(95mMトリス, 9.5mMジチオスレイトール, 4.3mM EDTA, 1%トリトンX100, pH7.5)で摩砕して4℃, 15,000回転/分で10分間遠心分離した上清を試料とし, 7.5%ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行った[8]. グルタミン酸オギザル酢酸トランスアミナーゼ(Got)の染色はHirai et al.[4]に, スーパーオキシドデヒドロゲナーゼ

†: 連絡責任者: 山本雅史 (鹿児島大学農学部 果樹園芸学研究室)

Tel: 099-285-8553 E-mail: yamasa@agri.kagoshima-u.ac.jp

\*4 907-0002 石垣市真栄里

\*5 鹿児島大学名誉教授

(Sod) の染色はVallejos et al.[10]に準じた。なお、硬化葉ではGotおよびSodの両者を、未硬化葉ではGotのみを分析した。

### 結果および考察

Got分析の結果の模式図をFig. 1に示した。バンドはRF=0.35付近で観察され、ザイモグラムは5種類に区分できた。各々A~E型とした。RF=0.42のバンドは何れの品種においても出現したが、若干不明瞭なものもあった。未硬化葉と硬化葉との間で得られた結果には差異がなかった。しかし、硬化葉ではザイモグラムが得られたのにも関わらず、未硬化葉ではそれが不明瞭なものもあった。そのため、Table 1には硬化葉で得られた結果を示した。A型には‘Florida’等14品種が含まれた。‘Max Golden’および‘Walton’はB型であった。C型は‘Cate’のみであった。D型は‘Vernon’を含む6品種であった。‘Mexico’等3品種がE型であった。SodではRF=0.6付近に4本のバンドが確認できた (Fig. 1)。全ての供試品種が同一のバンドパターンを示し、品種間差異は認められなかった (Table 1)。

系統分類や品種識別のためのアイソザイム分析においては、葉を材料とすることが多いが、採取時期によってザイモグラムが異なることがある [3, 5]。その検討のため、Gotにおいては発芽から2カ月未満の未硬化葉と、発芽からほぼ11カ月の硬化葉を用いたが、得られた結果に大差なく、シロサポテのGotアイソザイムの安定性が確認できた。ただし、品種によっては未硬化葉ではザイモグラムの観察が困難なものもあり、硬化葉の方が材料として適していると思われた。予備的にパーオキシダーゼ分析を行っても、未硬化葉よりも硬化葉でザイモグラムが明瞭に観察できた [未発表]。これらから、シロサポテにおいてアイソザイム分析を実施する場合には、硬化葉を材料とすることが適切であると判断した。

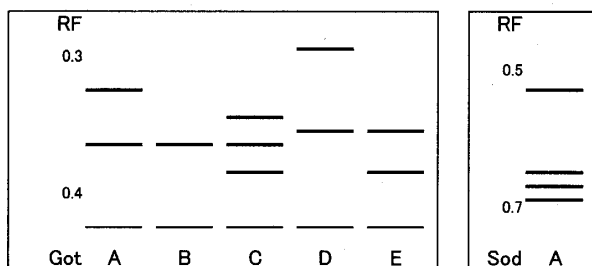


Fig. 1 Schematic zymograms of Got and Sod in white sapote

そのため、Sodにおいては硬化葉のみを材料とした。供試26品種ではザイモグラムの差異を認められなかった。さらに供試品種を増やせば、Sodのザイモグラムにおいても多型が観察できる可能性は否定できないが、葉に毛じを備え、*C. tetrameria* Millsp.と一般のシロサポテとは別種とされることもある‘Max Golden’ [7]においてもザイモグラムの差異が見出せなかったことから、シロサポテにおけるSod分析は系統分類および品種識別には有効では無いと考えられた。

Got分析では、供試26品種のうち‘Cate’だけは識別できたが、それ以外は同じザイモグラムを示すものが2品種以上あり、Gotだけでは品種識別はできなかった。しかし、系統分類の面からはこれらを5種類に区分できた。供試品種の約6割がA型を示した。残りの約4割がB~E型であった。これだけでは系統分類のデータとしては不完全であるが、シロサポテにおける確実な系統分類の指標としてGot分析が有効であることが確認できた。今後は、さらに多数の酵素種の結果を組み合わせることで、系統分類および品種識別の精度を向上させることが必要である。

Table 1. Isozyme patterns<sup>1)</sup> of white sapote used in this study

Cultivar	Got	Sod
Cuccio	A	A
Edgehill	A	A
Fallbrook	A	A
Florida	A	A
Fournoy	A	A
Lammertz	A	A
Lamsey large	A	A
Malibue#1	A	A
Malibue#3	A	A
Nies	A	A
Pike	A	A
Selk	A	A
Snider	A	A
White	A	A
Max Golden	B	A
Walton	B	A
Cate	C	A
Charls early	D	A
Chestnut	D	A
Rainbow	D	A
Suebelle	D	A
Vernon	D	A
Vista	D	A
Gwin	E	A
Mexico	E	A
Rixford	E	A

<sup>1)</sup>See Fig. 1.

謝辞：本稿のご校閲を賜った生物生産学科助教授の一谷勝之博士に謝意を表す。

### 文 献

- [1] DeWald, M.G., Moore, G.A. and Sherman, W.B.: Identification of pineapple cultivars by isozyme genotypes. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 113, 935-938 (1988)
- [2] Ellstrand, N.C. and Lee, J.M.: Cultivar identification of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) using isozyme markers. Scientia Hort., 32, 25-31 (1987)
- [3] Handa, T. and Kajiura, I.: Isozyme analysis of Yamamomo (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) cultivars. Japan. J. Breed., 41, 203-209 (1991)
- [4] Hirai, M., Kozaki, I. and Kajiura, I.: The rate of spontaneous inbreeding of trifoliate orange and some characters. Japan. J. Breed., 36, 138-146 (1986)
- [5] Hirai, M. and Kajiura, I.: Genetic analysis of leaf isozymes in citrus. Japan. J. Breed., 37, 377-388 (1987)
- [6] 石畑清武・遠城道雄・野村哲也・福留紘二・福村和則・長野幸男：シロサポテの栽培。1. 導入と増殖法について。鹿大農場研報, 20, 21-33 (1995)
- [7] Morton, J.F.: Fruits of warm climate. p. 191-196, Creative Resource Systems, Inc., Winterville, North Carolina (1987)
- [8] 津村義彦：スギのアイソザイムの遺伝分析に関する研究。筑波農林学研, 5, 1-63 (1989)
- [9] Torres, A.M. and Bergh, B.O.: Fruit and leaf isozymes as genetic markers in avocado. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 105, 614-619 (1980)
- [10] Vallejos, C.E.: Enzyme activity staining. In Tanksley, S.D. and Orton, T.J. (eds.), Isozymes in plant genetics and breeding. p. 469-516, Elsevier, Amsterdam (1983)
- [11] 山本宗立・井上裕嗣・米本仁巳・樋口浩和・縄田栄治：沖縄におけるドラゴンフルーツのアイソザイム分析。熱帯農業, 48, 115-119 (2004)
- [12] 米本仁巳・樋口浩和・石畑清武・池田 稔・富田栄一：シロサポテ (*Casimiroa edulis* Llave and Lex.) の花器および果実形態における品種間差異。熱帯農業, 45, 38-44 (2001)

### Isozyme analysis of white sapote (*Casimiroa edulis* La Llave & Lex.)

Masashi YAMAMOTO<sup>\*1, \*2†</sup>, Tsuyoshi NAKAGAWA<sup>\*1</sup>, Michio ONJO<sup>\*3</sup>, Yoshimi YONEMOTO<sup>\*4</sup>,  
Kiyotake ISHIHATA<sup>\*3</sup>, Tatsuya KUBO<sup>\*1</sup> and Shigeto TOMINAGA<sup>\*1</sup>

(\*<sup>1</sup>Laboratory of Fruit Science, \*<sup>2</sup>Toso Orchard, \*<sup>3</sup>Ibusuki Experimental Botanical Garden,

\*<sup>4</sup>Okinawa Subtropical Station, Japan International Research Center for Agricultural Sciences)

### Summary

The glutamate oxaloacetate aminotransferase (Got) and superoxide dismutase (Sod) isozymes of white sapote (*Casimiroa edulis* La Llave & Lex.) cultivars were analyzed using native polyacrylamide gel electrophoresis. A few bands were observed at approximately RF=0.35, and the 26 cultivars used in this study were classified into five types (A, B, C, D and E) in Got. There were 14 A cultivars, 2 B, 1 C, 6 D and 1 E. Four bands at approximately RF=0.6 were observed in Sod. All cultivars showed an identical isozyme pattern.

**Key words** : cultivar identification, Got, isozyme, Sod, white sapote

†: Corresponding to: Masashi YAMAMOTO (Laboratory of Fruit Science)