

## 大根における酵素タンパクによる練馬群と宮重群の多型的変異について

朴 相龍<sup>1</sup>・泉 健司<sup>1</sup>・高木千明<sup>2</sup>・君塚祐子<sup>2</sup>

1. 東京農業大学育種学研究室

2. (株)みかど育種農場

### 무우에 있어서의 酵素 단백질에 의한 練馬群 및 宮重群의 多型的 變異에 관하여

#### 要 約

育種の基礎, 應用研究에 기여할 目的으로, 가을무우의 宮重무우 群 6品種 및 練馬무우 群 4品種에 관하여, Acp, NDH 및 IDH의 多型的 變異를 調査하였다.

1. Acp에서는 7개의 Band가 (pH 7.0~8.0), NDH에서는 2개의 Band가 (pH 7.5~8.0) IDH에서는 3개의 Band가 (pH 5.0~6.0) 檢出되었다.
2. Acp-1, -2, -3, -5 및 -6番의 Band, NDH-2番의 Band 및 IDH-2番의 Band가 全品種에서 固定的인 Band로 檢出되었다.
3. 宮重群에서는 NDH-1, Acp-4番의 Band가 전혀 檢出되지 않았다.
4. 多型的인 變異가 보여진 Acp-4 및 -7番, NDH-1番, IDH-1 및 -3番의 5가지의 Band에서 品種判別의 Marker로 活用할 수 있음이 밝혀졌다.

#### 緒 言

大根は世界でも最も古い野菜の一つで、品種間交雜が盛んに行われてた作物である。8-9月に蒔いて10-12月に收穫されるもので一番古い型と考えられる秋大根は大きく分けると宮重大根群と練馬大根群に分けられる。

アイソザイムは遺伝育種学の分野で、品種・系統間の差異に關与する遺伝子のマーカーとしても注目され、多くの植物について調べられ利用されてきた。すでに報告された植物における酵素タンパクは60酵素前後で、大根だけでも22の檢出可能な酵素タンパクが報告されている(朴ら, 1989)。F1純度檢定だけでもKIM and PARK (1984), 松浦ら(1988)および 朴ら(1989)などの報告があり、一部の種苗会社では種子の品質管理に使われている。

本研究は育種の基礎、應用研究に資することを目的として、秋大根の宮重大根群6品種と練馬大根群4品種について、Acp, NDH および IDH の酵素タンパクを用い、多型的變異を調査したので報告する。

## 材料および方法

材料は、予め15-30種子よりの子葉を用い、Acp, IDH および NDH の酵素タンパクにつき夫々の固定の程度を調査し、純度が高いと認められた秋大根の2品種群10品種を用いた(表1)。発芽5日後の子葉に等量の Buffer(100mM MOPs, 0.05M EDTA(Na<sub>2</sub>), 50mM  $\beta$ -Mercaptoethanol, 1% PVP(40))を加えて液体窒素中で破碎したのち、15,000rpm(4°C)で30分間遠心して得た上清をサンプルとした。泳動はアガロース等電点電気泳動法(Saravis. et al, 1979)にほぼ準拠し、pH3.5-10 または pH5-8 の勾配を用いて 800Vで5分、1000Vで60分(4°C)の計 65分間行った。各酵素の染色はほぼ定法に従ったが、NDH は Bufferの濃度を改良して行った。(表2)

得られた泳動像は酵素によりpH勾配の上端または下端においてバンドの再現性が極端に低いものも見られたので、分離の安定した部分についてのみ比較検討を行った。また、太いバンドについては、2本以上のバンドからなる可能性が高く、更に検討する必要はあるが、今回は1本のバンドとして見なし、アルカリ側から順に番号をつけ調査した。

## 結果および考察

Acp では全品種において Acp-1, -2, -3, -5, および-6 が共通して検出された。また、練馬尻細・大蔵・理想・秋つゝまり・三浦および白首宮重では Acp-7のバンドが共通して見られ、Acp-4は練馬系の練馬丸尻と三浦のみで見られた。

NDH では練馬丸尻と秋つゝまりで NDH-1のバンドのみが見られ、NDH-2は全品種で見られた。

IDH では練馬尻細・三浦・青首宮重総太および青首宮重長太で IDH-1, -2および-3のバンドが、練馬丸尻・理想・青首宮重切太および白首宮重で IDH-2のバンドが見られた。

以上の結果より、Acp, NDHおよびIDHで検出されたバンドの数は品種全体を通して見ると、各々 Acpでは7本(pH7.0-8.0)、NDHでは2本(pH7.5-8.0)および IDHでは3本(pH5.0-6.0)であった。これらのバンドのうち全品種に固定的に認められたバンドは

表 1. 供試材料の品種群・品種名

品 種 群	品 種 名
練 馬	練馬丸尻      NERIMAMARUJIRI
	練馬尻細      NERIMASIRIBOSO
	大 蔵          OKURA
	理 想          RISO
	三 浦          MIURA
	秋つまり      AKIZUMARI
宮 重	青首宮重総太    AOKUBI MIYASIGE SOBUTO
	青首宮重切太    AOKUBI MIYASIGE KIRIBUTO
	青首宮重長太    AOKUBI MIYASIGE NAGABUTO
	白首宮重        SHIROKUBI MIYASIGE

表 2. 染色液の組成

Acid Phosphatase	0.5M Na Acetate pH5.0	10ml
	0.1M 2-Naphthyl acid phosphate	1ml
	Past Garnet GBC Salt	50mg
NADH-Dehydrogenase	0.1M Tris-HCl pH8.5	100ml
	MTT	15mg
	NADH	20mg
	Phenolindo-2,6-dichlorophenol	5mg
Iso-citric Dehydrogenase	Iso-citric acid	20mg
	0.1M Tris-HCl pH7.1	100ml
	10% MgCl <sub>2</sub>	0.5ml
	NADP	5mg
	MTT	15mg
	PMS	4mg

表3. 大根の酵素タンパクにおける多型的変異

品種群	品 種	A c p							N D H		I D H		
		1	2	3	4	5	6	7	1	2	1	2	3
練馬群	練馬丸尻	+	+	+	+	+	+	+	+	+			+
	練馬尻細	+	+	+		+	+	+		+	+	+	+
	大 蔵	+	+	+		+	+	+		+	+	+	
	理 想	+	+	+		+	+	+		+			+
	三 浦	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+
	秋つまり	+	+	+		+	+	+	+	+			+
宮重群	青首宮重総太	+	+	+		+	+		+	+	+	+	
	青首宮重切太	+	+	+		+	+		+			+	
	青首宮重長太	+	+	+		+	+		+	+	+	+	
	白首宮重	+	+	+		+	+		+			+	

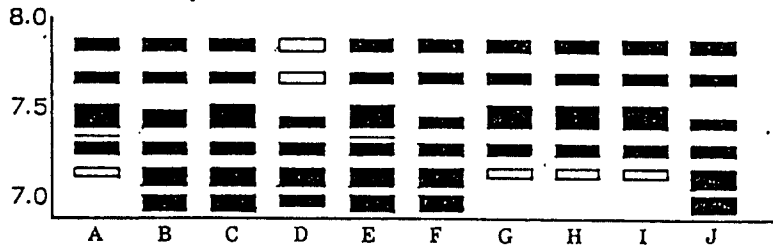


図1. 大根におけるA c p泳動像のIsozyme Band Pattern

A.練馬丸尻, B.練馬尻細, C.大蔵, D.理想, E.三浦  
 F.秋つまり, G.青首宮重総太, H.青首宮重切太  
 I.青首宮重長太, J.白首宮重

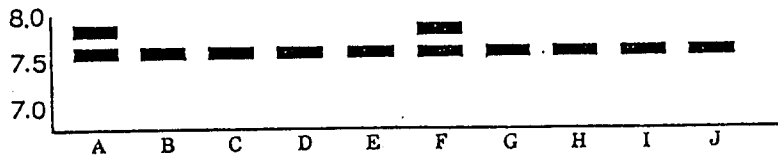


図 2. 大根におけるNDH泳動像のIsozyme Band Pattern  
 A.練馬丸尻, B.練馬尻細, C.大蔵, D.理想, E.三浦  
 F.秋つまり, G.青首宮重総太, H.青首宮重切太  
 I.青首宮重長太, J.白首宮重

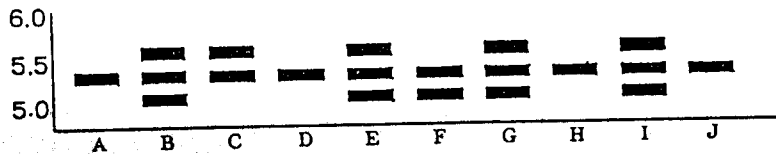


図 3. 大根におけるIDH泳動像のIsozyme Band Pattern  
 A.練馬丸尻, B.練馬尻細, C.大蔵, D.理想, E.三浦  
 F.秋つまり, G.青首宮重総太, H.青首宮重切太  
 I.青首宮重長太, J.白首宮重

Acp-1,-2,-3,-5および-6の5本、NDH-2の1本とIDH-2の1本のみで、宮重群はNDH-1、Acp-4のバンドが全く検出されなかった。これらは品種群の特徴である可能性も考えられる。すなわち、多型的な変異が見られたAcp-4および-7、NDH-1、IDH-1および-3の五つのバンドを組み合わせるることによって練馬丸尻・練馬尻細・大蔵・理想・三浦・秋つまり・青首宮重切太・白首宮重の8品種につき品種判別に利用できることが明らかになった。

今後は更に多くの秋大根群の品種を用い、さらに多くの酵素多型の調査を行うとともに春大根群、夏大根群および冬大根群について検討を加え、大根における育種の基礎、応用研究に資することの可能性を検討したい。

## 摘 要

育種の基礎、応用研究に資することを目的として、秋大根の宮重大根群6品種と練馬大根群4品種について、Acp,NDHおよびIDHの多型的変異を試みた。

1. Acpでは7本(pH7.0-8.0)、NDHでは2本(pH7.5-8.0)およびIDHでは3本(pH5.0-6.0)のバンドが検出された。
2. Acp-1,-2,-3,-5および-6の5本、NDH-2の1本とIDH-2の1本が全品種で固定的なバンドと認められた。
3. 宮重群ではNDH-1,Acp-4のバンドは全く検出されなかった。
4. 多型的な変異が見られたAcp-4および-7、NDH-1、IDH-1および-3の五つのバンドで品種判別に利用できることが明らかになった。

## 謝 辞

本研究に当たって、格別に御指導下さった東京農業大学 育種学研究室の山本三夫・平井八十一 両先生を始め、始終御協力下さった(株)みかど育種農場 越部平八郎社長に深く感謝の意を表します。

## 参 考 文 献

1. ENDO, T., 1966. SABCO J., 2, 120-126.
2. IZUMI, K., T. MOTOHASHI and M. AMANO, 1988. Genetic Variants of Leaves Leucine Aminopeptidase in the Aloe bellatula. J. Agri. Sci. Tokyo Nogyo Daigaku, 33(2), 123-126
3. KIM, HUN JOONG and PARK, HYU GUEN 1984. Application of Electrophoresis in Testing the Genetic Purity of F1 Hybrid Seeds of Radish (Raphanus sativus) J. Kor. Soc. Hort. Sci. 25(4) 256-262
4. 松浦誠司・高橋克宗・藤田幸雄(1988)。ダイコンにおけるアイソザイムの遺伝的変異。育種学雑誌 38巻 別冊 1
5. 朴 相龍・泉 健司・高木千明・染谷孝夫・君塚祐子・山本三夫(1989)。酵素タンパクによる大根の遺伝育種学的研究。I、アイソザイムの検出について。育種学雑誌 39巻 別冊 2
6. 朴 相龍・泉 健司・高木千明・染谷孝夫・君塚祐子・山本三夫(1989)。酵素タンパクによる大根の遺伝育種学的研究。II、アイソザイム多型について。育種学雑誌 39巻 別冊 2
7. 朴 相龍・泉 健司・高木千明・染谷孝夫・君塚祐子・山本三夫(1989)。酵素タンパクによる大根の遺伝育種学的研究。III、アイソザイム多型の遺伝様式について。育種学雑誌 39巻 別冊 2
8. SARAVIS, C. A., M. O'BRIEN and N. ZAMCHECK. 1979, J. of Immunol. Methods, 66, 393-399
9. 新野菜全書、ダイコン・ニンジン・カブ・ゴボウ編。農文協、pp 15-119.
10. Tanksley, S. D. and T. J. Orton. 1983. Isozymes, -in Plant Genetics and Breeding. Part A, Elsevier Science Publishers, pp 469-516.