

## ビワ品種のアイソザイム分析

長門 潤・松下由紀子<sup>1</sup>・佐藤 義彦

Isozyme Analysis of Loquat (*Eriobotrya spp.*) cultivars

Jun NAGATO, Yukiko MATSUSHITA<sup>1</sup> and Yoshihiko SATO

### 緒 言

我が国には‘茂木’、‘田中’、‘長崎早生’などの主要栽培品種以外にもそれらの交配種、突然変異種など数多くのビワ品種が存在する。現在、長崎県果樹試験場には日本、中国、イスラエル、ギリシャ等から収集した約200種類の品種及び系統が保存されているが、これらの中には樹体及び果実の形質が類似しているものも多く、また、個体内のばらつきが比較的大きい形質もあり、これらの形質により品種・系統を正確に同定することは難しい。

アイソザイム(同位酵素)組成の分析は、そのパターンにより種あるいは品種・系統の同定法及び分化・成立過程を実験的に追求する手法として、多くの作物で利用されている。果樹ではアーモンド<sup>1,6)</sup>、ライチ<sup>4)</sup>、ビワ<sup>2)</sup>、マンゴー<sup>3)</sup>、リンゴ<sup>17,18)</sup>、パイナップル<sup>5)</sup>、アボカド<sup>13)</sup>、オリーブ<sup>14)</sup>、ブドウ<sup>10)</sup>、クリ<sup>7)</sup>、ナシ<sup>8)</sup>、チェリモヤ<sup>11)</sup>等の品種同定にこの手法が応用されている。また、アイソザイムは次世代へ遺伝することから、親子判定及び系統進化の解析<sup>4,8,9,11)</sup>にも非常に有効なマーカーとして用いられている。また、カンキツでは珠心胚実生と雑種実生

の識別にアイソザイム分析を利用した報告<sup>15)</sup>がある。

このようにして品種間の類縁関係などを明確にすることは交配親選定の根拠となるから、交雑育種を効率的に行うために非常に重要なことである。

本報では、アイソザイム分析を利用してビワの種及び品種の分類・同定を行うとともに、品種間の類縁関係について検討を行った。

### 材料及び方法

#### 1. 供試材料

長崎県果樹試験場に保存されているビワ属植物の中で、*Eriobotrya japonica* Lindl.に属する82品種・系統の他に2種(*E. deflexa* (Hemsl.) Nakai 及び *E. prinoidea* Rehd. & Wils.)の合計84個体を用いて実験を行った。*E. japonica*の国別の内訳は、日本の品種・系統が38、中国が23、イスラエルが7、ギリシャが5、メキシコが、由来不明であるがアメリカから導入したもの(以下由来不明)が6個体であった。

#### 2. 抽出方法

展葉直後の葉0.3gを6ml抽出緩衝液及び0.3gポリビニルポリピロリドン(MW=40,000)とともに

<sup>1</sup> 現長崎県諫早農業改良普及センター

乳鉢で磨砕した。抽出緩衝液は7 mM クエン酸, 0.1 % (w/v) アスコルビン酸, 1.0 % (w/v) ポリエチレングリコール及び1 mM 2-メルカプトエタノールを含む0.05M トリス-塩酸緩衝液 (pH8.0) である。この懸濁液を4°C, 25,000G で20分間遠心分離し, 上清液を3 ml取り出し, 比重による勾配をつけるためショ糖を0.6g 添加した。

### 3. 電気泳動法

パーオキシダーゼ (以下PX), アスパラギン酸アミノ転移酵素 (以下GOT) 及びシキミ酸デヒドロゲナーゼ (以下SkDH) の3酵素のアイソザイムは, ポリアクリルアミドゲル電気泳動により分析された。なお, PX及びGOTのアイソザイム分析には5.4% (w/v), SkDHの分析には8% (w/v) のアクリルアミドゲルを使用した。泳動緩衝液として0.004M トリス (ヒドロキシメチル) アミノメタンに0.038M グリシン (アミノ酢酸) を加えた溶液を用い, 15~20mA 定電流下で電気泳動を行った。

### 4. 活性染色法

アイソザイムの活性染色の方法は以下のとおりである。

#### 1) パーオキシダーゼ (PX)

2 mM 塩化カルシウム及び10mg/ml 3-Amino-9-ethylcalbazole を溶解した0.05% Dimethyl Formamide 溶液並びに0.06% 過酸化水素水を50mM 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH5.0) に添加した染色液を使用し, 室温で活性染色反応を行った。

#### 2) アスパラギン酸アミノ転移酵素 (GOT)

0.2% 1-アスパラギン酸, 0.1%  $\alpha$ -ケトグルタル酸, 1.5% Diazotized 4'-amino-2',5'-diethoxy-benzanilidezinc chloride 塩及び0.05mg/ml Pyridoxal-5-phosphate を0.1M トリス-塩酸緩衝液 (pH7.5) に添加した染色液を使用し, 暗黒下, 30°Cで活性染色反応を行った。

#### 3) シキミ酸デヒドロゲナーゼ (SkDH)

0.05% シキミ酸, 0.02mg/ml Phenazine methosulfate, 0.01% NADP<sup>+</sup>及び0.015% 3-[4,5-Dimethylthiazole-2-yl]-2,5-diphenyl-tetra-

zolium bromide を0.1M トリス-塩酸緩衝液 (pH 8.0) に添加した染色液を使用し, 暗黒下, 30°Cで活性染色反応を行った。

## 結 果

ビワの幼葉から抽出されたPX, GOT及びSkDHのアイソザイムパターンを第1図に示し, 供試した品種の各アイソザイム表現型を第1表にまとめた。

### 1. パーオキシダーゼアイソザイムパターン

PXには2種類のアイソザイム (a 及び b) が検出され, aa, ab 及び bb の3種の表現型が認められた。aa は大部分の日本あるいは中国の品種, イスラエルの 'アッコ13' など3品種及び *E. deflexa* 及び *E. prinoides* で観察された。ab は由来不明の 'アドバンス' など3品種, イスラエルの 'アッコ1' など3品種, メキシコの '系統 No. 2' 及び日本の野生種 ('あまみ白') で示された。また, bb はギリシャの系統, メキシコの '系統 No. 1' と '系統 No. 3' 及び由来不明の 'ストロベリー' で見られた。

以上のように, イスラエル及び由来不明の品種群においてはアイソザイムパターンに品種間差異がみられたが, 日本, 中国などの品種群ではほとんど認められなかった。

### 2. アスパラギン酸アミノ転移酵素アイソザイムパターン

GOTでは遺伝子座と考えられる2つの領域において多型が観察され, 移動度の高いアイソザイム群をGOT-1, 低いアイソザイム群をGOT-2とした。

#### 1) GOT-1

GOT-1には3種類のアイソザイム (a, b 及び c) が検出され, ab, bb, bc 及び cc の4種の表現型が認められた。

ab は由来不明の 'ゴールドナゲット' 及びメキシコの '系統 No. 1' と '系統 No. 2' で見られ, bb は上記の3品種・系統以外の *E. japonica* で見られた。bc は *E. prinoides* で, また, cc は *E. deflexa*

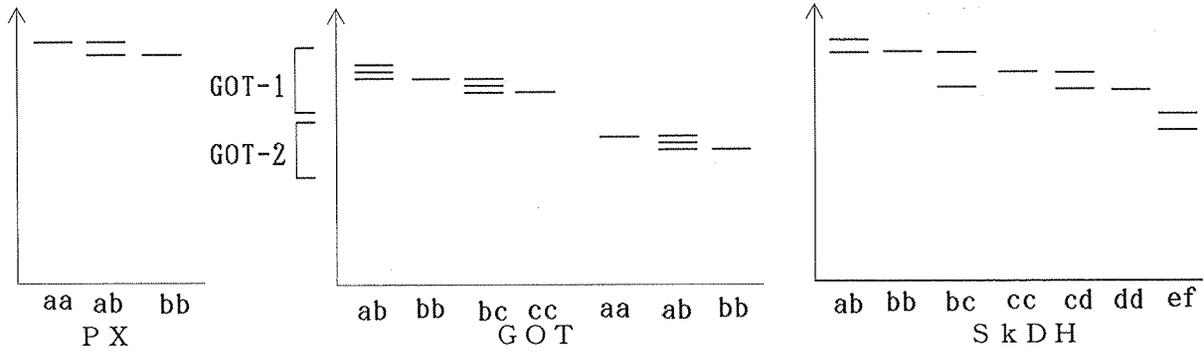


Fig.1. Schematic zymograms of phenotype for Peroxidase (PX), Glutamate oxalacetate transaminase (GOT), and Shikimate dehydrogenase (SkDH) isozymes in young leaves of loquat.

Table 1. Phenotypes for four polymorphic isozymes in *Eriobotrya spp.*

Cultivar	Source	Isozyme pattern				Isozyme class
		PX <sup>z</sup>	GOT <sup>y</sup> -1	GOT-2	SkDH <sup>x</sup>	
<i>E. deflexa</i>	Taiwan	aa	cc	aa	ab,ef	—
<i>E. prinooides</i>	China	aa	bc	aa	bb	—
Amamishiro	Japan	ab	bb	bb	cd	1
Advance	Unknown	ab	bb	bb	cd	1
Shang hai pi ba	China	ab	bb	bb	bd	2
Akko 1	Israel	ab	bb	bb	bd	2
Yehuda	Israel	ab	bb	bb	bd	2
Zikim	Israel	ab	bb	bb	bd	2
Hondawase	Japan	aa	bb	bb	dd	3
Togoshi	Japan	aa	bb	bb	dd	3
Tomifusa	Japan	aa	bb	bb	dd	3
Bao zhu	China	aa	bb	bb	dd	3
Bi qi bai	China	aa	bb	bb	dd	3
Da hong pao	China	aa	bb	bb	dd	3
Xia lou	China	aa	bb	bb	dd	3
Akko 13	Israel	aa	bb	bb	dd	3
Success	Israel	aa	bb	bb	dd	3
Amakusagokuwase	Japan	aa	bb	bb	cd	4
Amakusawase	Japan	aa	bb	bb	cd	4
Chikawa	Japan	aa	bb	bb	cd	4
Kuratawase	Japan	aa	bb	bb	cd	4
Kusunoki-maru	Japan	aa	bb	bb	cd	4

Table 1. Continued.

Cultivar	Source	Isozyme pattern				Isozyme class
		PX <sup>z</sup>	GOT <sup>v</sup> -1	GOT-2	SkDH <sup>x</sup>	
Mogi	Japan	aa	bb	bb	cd	4
Moriowase	Japan	aa	bb	bb	cd	4
Murotowase	Japan	aa	bb	bb	cd	4
Nagaowase	Japan	aa	bb	bb	cd	4
Nagasakiwase	Japan	aa	bb	bb	cd	4
Nishiyama	Japan	aa	bb	bb	cd	4
Onowase	Japan	aa	bb	bb	cd	4
Satomi	Japan	aa	bb	bb	cd	4
Shiromogi	Japan	aa	bb	bb	cd	4
Taisho	Japan	aa	bb	bb	cd	4
Tanigawawase	Japan	aa	bb	bb	cd	4
Tsukumo	Japan	aa	bb	bb	cd	4
Wasedai	Japan	aa	bb	bb	cd	4
Yamazaki	Japan	aa	bb	bb	cd	4
Bai sha	China	aa	bb	bb	cd	4
Bai yu	China	aa	bb	bb	cd	4
Chang hong 3 hao	China	aa	bb	bb	cd	4
Da ye xiang dun	China	aa	bb	bb	cd	4
Hua bao 2 hao	China	aa	bb	bb	cd	4
Mei hau xia	China	aa	bb	bb	cd	4
Champagne	Unknown	aa	bb	bb	cd	4
Tanimasaru	Unknown	aa	bb	bb	cd	4
Fukuharawase	Japan	aa	bb	bb	bd	5
Fusahikari	Japan	aa	bb	bb	bd	5
Ikeda	Japan	aa	bb	bb	bd	5
Isuzu	Japan	aa	bb	bb	bd	5
Kusunoki	Japan	aa	bb	bb	bd	5
Mizuho	Japan	aa	bb	bb	bd	5
Morimoto	Japan	aa	bb	bb	bd	5
Nojuuwase	Japan	aa	bb	bb	bd	5
Obusa	Japan	aa	bb	bb	bd	5
Satsuma	Japan	aa	bb	bb	bd	5
Tanaka	Japan	aa	bb	bb	bd	5
Toi	Japan	aa	bb	bb	bd	5
Yukawa	Japan	aa	bb	bb	bd	5
Ban hong	China	aa	bb	bb	bd	5

Table 1. Continued.

Cultivar	Source	Isozyme pattern				Isozyme class
		PX <sup>z</sup>	GOT <sup>y</sup> -1	GOT-2	SkDH <sup>x</sup>	
Jia jiao	China	aa	bb	bb	bd	5
Kan ton	China	aa	bb	bb	bd	5
Qing zhong	China	aa	bb	bb	bd	5
Xi ye xiang dun	China	aa	bb	bb	bd	5
Zrifin 8	Israel	aa	bb	bb	bd	5
Bigjim	Unknown	ab	bb	bb	dd	6
Da zhong	China	bc	bb	ab	cc	7
Goldnugget	Unknown	bc	ab	bb	bd	8
Heads Mamuth	Israel	bb	bb	bb	cd	9
Greece Loquat Col.No.87-58	Greece	bb	bb	bb	cd	9
Greece Loquat Col.No.87-67	Greece	bb	bb	bb	cd	9
Greece Loquat Col.No.87-68	Greece	bb	bb	bb	cd	9
Greece Loquat Col.No.87-69	Greece	bb	bb	bb	cd	9
Greece Loquat Col.No.87-70	Greece	bb	bb	bb	cd	9
Mexican Loquat No.3	Mexico	bb	bb	bb	cd	9
Hong gan ben	China	aa	bb	ab	bb	10
Hou shan wan shou	China	aa	bb	ab	bb	10
Mamebiwa	Japan	aa	bb	bb	bb	11
Nojimawase	Japan	aa	bb	bb	bb	11
Su zhou bai	China	aa	bb	bb	bb	11
Wan hong	China	aa	bb	bb	bb	11
Mexican Loquat No.1	Mexico	bb	ab	bb	bd	12
Mexican Loquat No.2	Mexico	ab	ab	bb	cd	13
Strawberry	Unknown	bb	bb	bb	bd	14
Xia lou bai mi	China	aa	bb	aa	bd	15
Zao huang	China	aa	bb	ab	bd	16

<sup>z</sup> Peroxidase<sup>y</sup> Glutamate oxalacetate transaminase<sup>x</sup> Shikimate dehydrogenase

で見られた。

このように、メキシコ及び由来不明の品種群のアイソザイムパターンにおいて、わずかに品種間差がみられた。

## 2) GOT-2

GOT-2には2種類のアイソザイム(a及びb)が検出され、aa, ab及びbbの3種の表現型が認められた。

aaは*E. prinoides*, *E. deflexa*及び中国の‘霞棲白蜜(Xia lou bai mi)’で、abは中国の‘大鐘(Da zhong)’などの4品種で見られ、中国の品種群においてのみアイソザイムパターンに品種間差異が観察された。

## 3. シキミ酸デヒドロゲナーゼアイソザイムパターン

SkDHには6種類のアイソザイム(a, b, c, d, e及びf)が検出され、ab, bb, bd, cc, cd, dd及びefの7種の表現型が認められた。

ab及びefは*E. deflexa*で、bbは*E. prinoides*, 中国の‘后山晩熟(Hou shan wan shou)’など4品種及び日本の‘マメビワ’と‘野島早生’で見られた。bdは中国の‘坂紅(Ban hong)’など7品種、イスラエルの‘アッコ1’など4品種、メキシコの‘系統No.1’、由来不明の‘ゴールドナゲット’と‘ストロベリー’及び日本の‘田中’など14品種で示された。ccは中国の‘大鐘’で、cdは日本の‘茂木’など20品種、中国の‘白沙(Bai sha)’など6品種、ギリシャの5系統、イスラエルの‘Heads Mamuth’及びメキシコの‘系統No.2’と‘系統No.3’で観察された。さらに、ddは中国の‘宝珠(Bao zhu)’など4品種、イスラエルの‘アッコ13’と‘サクセス’、由来不明の‘ビッグジム’及び日本の‘本田早生’など3品種で見られた。

さらに詳細に分類するため、PX, GOT-1, GOT-2及びSkDHのアイソザイム表現型が同一の品種をグループ化したところ、*E. japonica*で16パターン、*E. deflexa*及び*E. prinoides*で各1パターンずつの計18パターンのグループ(アイソザイムクラス)にまとめることができた(第1表)。

## 考 察

Deganiら<sup>2)</sup>はイスラエルの栽培品種である‘アッコ1’、‘アッコ13’及び‘ジキム’の3品種についてPX, SkDH及びホスホグルコースイソメラーゼ(PGI)のアイソザイム分析を行い、SkDH及びPXのアイソザイムパターンにより、‘アッコ1’及び‘ジキム’と‘アッコ13’を識別している。今回の試験でも、この3品種のPXアイソザイムについては同一のバンドパターンが得られたが、SkDHアイソザイムでは‘アッコ13’のバンドがDeganiら<sup>2)</sup>の結果とは異なる位置にみられた。この違いは、供試した葉の葉齢の違いによるものであるか、電気泳動に使用した分離ゲルの組成の違いによるものかは明らかではない。しかし、本実験の結果でも‘アッコ13’と‘アッコ1’及び‘ジキム’はアイソザイムを利用して識別することができた。

各アイソザイムクラス(3酵素のアイソザイムパターンをグループ化したもの)の品種数を国別に整理したところ(第2表)、大部分の日本の品種は‘茂木’と同一パターンを示すアイソザイムクラス4及び‘田中’と同一パターンを示すアイソザイムクラス5に大別され、遺伝的変異の幅が狭いことが示された。一方、中国原産の品種群は9クラスに分類されることから遺伝的変異の幅が広く、ビワ(*E. japonica*)が中国を中心とする地域を起源として、世界各地に分布してきたことを反映していると推察された。また、ギリシャ及びメキシコ原産の品種群が中国の品種群とは別のアイソザイムクラスに分類されたことについて、供試品種数が少ないため両者間の遺伝的関係について論じることはできなかった。

親品種のアイソザイムは後代へ遺伝することが知られている。張ら<sup>3)</sup>は、PXアイソザイム分析によるナシの類縁関係について検討しているが、交配品種とそれらの両親のアイソザイム表現型を比較し、親品種のアイソザイムバンドを高い確率で受け継いでいることを報告している。日本のビワ品種で親がほぼ判明している21品種について系統樹(第2図)を作成し、これらの品種間に多型が認められたSkDHアイソザイムパターンで親子関係の確認を行っ

Table 2. The number of cultivar each sources in isozyme classes.

Isozyme class	Source					
	Japan	China	Israel	Greece	Mexico	Unknown
1	1	0	0	0	0	1
2	0	1	3	0	0	0
3	3	4	2	0	0	0
4	18	6	0	0	0	2
5	14	5	1	0	0	0
6	0	0	0	0	0	1
7	0	1	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	1
9	0	0	1	5	1	0
10	0	2	0	0	0	0
11	2	2	0	0	0	0
12	0	0	0	0	1	0
13	0	0	0	0	1	0
14	0	0	0	0	0	1
15	0	1	0	0	0	0
16	0	1	0	0	0	0

た。‘長崎早生’(S k D Hの表現型は cd, 以下括弧内は同意)は‘茂木’(cd)と‘本田早生’(dd)の交配種, ‘津雲’(cd), ‘湯川’(bd)及び‘戸越’(dd)は‘茂木’(cd)と‘田中’(bd)の交配種, ‘房光’(bd)は‘瑞穂’(bd)と‘田中’(bd)の交配種, ‘富房’(cd)は‘津雲’(cd)と‘瑞穂’(bd)の交配種, ‘長生早生’(cd)は‘田中’(bd)と‘室戸早生’(cd)の交配種である。今回の試験では, 張ら<sup>8)</sup>の報告と同様, 交配品種は必ず両親のどちらかのアイソザイムを持っていることが確認され, S k D Hアイソザイム表現型だけで判断する限りでは, 従来から言われている親子関係と矛盾する結果は得られなかった。また, ‘室戸早生’(cd)は‘田中’(bd)と‘楠’の混植園で発見されたとされているが, ‘楠’には長実種(今回の試験では‘楠’と記述)と丸実種(今回の試験では‘楠一丸’と記述)の2つの系統があり, どちらの‘楠’が交配に関与したかは不明である。しかし, 本実験のS k D Hアイソザイムパターンの解析結果では, ‘田中’は bd, ‘楠一丸長実種’は bd, ‘楠一丸実種’は cd であり, その混植園から発見された‘室戸早生’は cd であった。したがって, ‘室戸早生’

は‘田中’と‘楠一丸実種’の交雑実生, 或いは‘楠一丸実種’の自殖実生と推察された。

Taoら<sup>12)</sup>はカキの葉のグルコースリン酸イソメラゼ及びリンゴ酸脱水素酵素アイソザイムにより, Vinterhalter<sup>16)</sup>はリンゴ樹皮のP Xアイソザイムにより類縁関係を調査し, 突然変異種は原品種と同一の表現型を示し, 両者を識別することが出来なかったことを報告している。本実験においても‘茂木’の突然変異種である‘森尾早生’並びに‘田中’の突然変異種である‘森本’の3酵素のアイソザイムパターンは親と同一のバンドパターンを示し, 原品種と異なる表現型を示す突然変異種は確認されなかった。

これらのことから, ビワにおけるアイソザイム分析は, 種を同定する上では非常に有効な手段であるが個々の品種を特定することは困難である。しかし, S k D Hのアイソザイム分析ではグループ別に分類することができ, ある程度の品種同定及び類縁関係推定的手段としても利用できることが明らかになった。ただし, 活性の低いバンドが不明瞭で解析が難しいことや, S k D Hのバンドパターンのように,

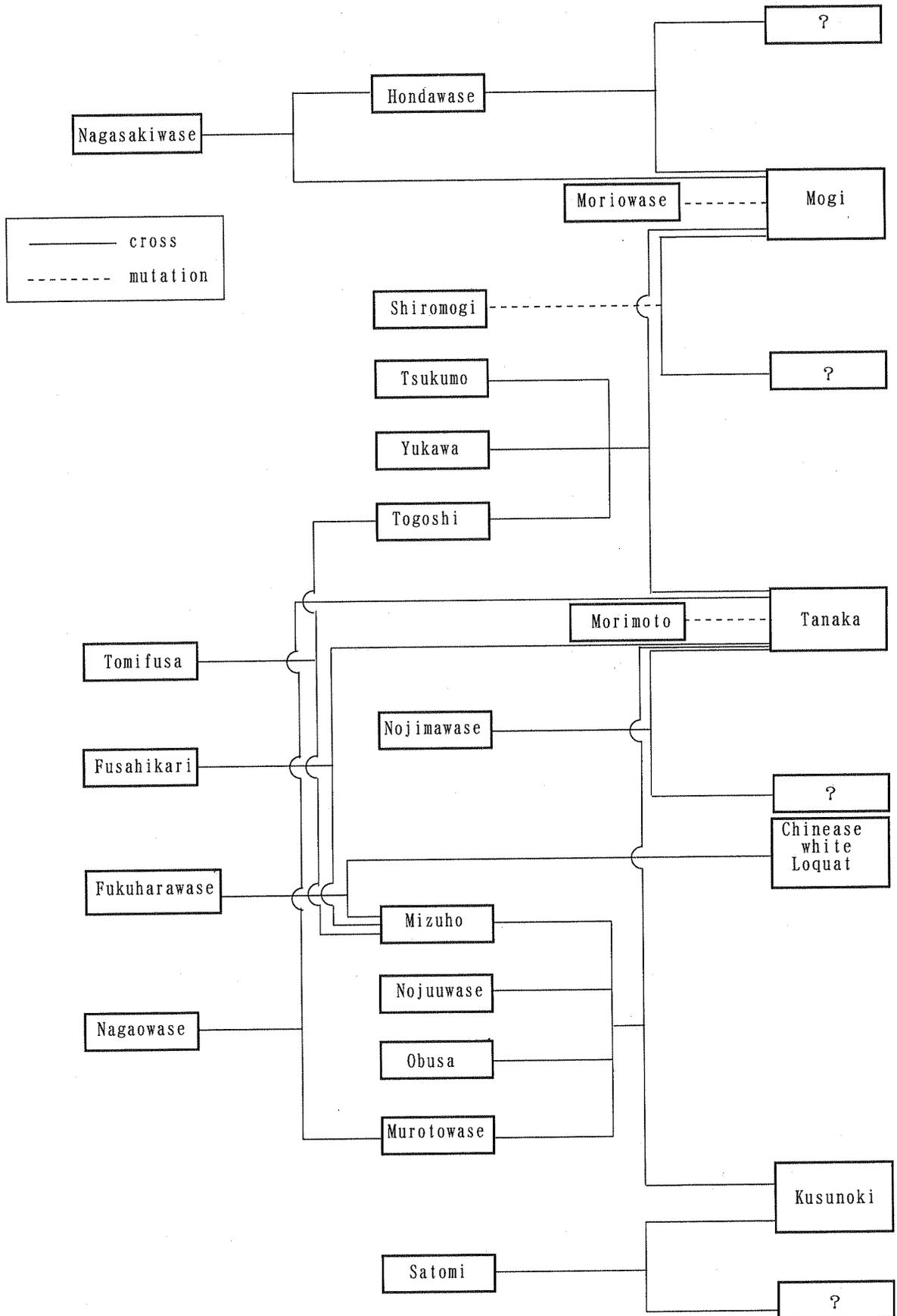


Fig.2. Genealogical tree of Loquat in Japan.

バンドの間隔が狭く、バンドパターンの判定が非常に困難であることなど、ピワのアイソザイム分析には、かなりの経験と熟練が必要と考えられる。

今後は、アイソザイム分析ではできなかった各品種の同定をRAPDやRFLPなどの手法を用いて行い、品種の識別が可能なデータベースを構築する必要がある。

## 摘 要

84種類のピワの種・品種・系統を供試し、GOT、PX及びSkDHのアイソザイム分析を行った。

1. 3種 (*E. japonica*, *E. deflexa*, *E. prinoidea*) のGOT及びSkDHアイソザイムバンドパターンに多型が認められ、種間の分類・同定は可能である。
2. 日本の品種群では、SkDHアイソザイムバンドパターンにのみ多型が認められ、4グループに分類することができた。
3. 3酵素のアイソザイム分析の結果を総合し、*E. japonica* に属す82品種・系統を同一表現型により16のアイソザイムクラスに分類した。日本の品種は分類されるアイソザイムクラスが少なく、遺伝的変異の幅が狭いことが示唆された。一方、中国から導入した品種は、その他の国の品種より多いアイソザイムクラスに分類され、遺伝的変異の幅が広いことが示唆された。
4. SkDHアイソザイムパターンを用いて各交配品種の親を検証したところ、いずれの品種も両親のアイソザイムが遺伝しており、親子関係の矛盾は確認されなかった。また、'楠'には長実種と丸実種の2系統あるが、'室戸早生'の片親は丸実種であることが推察された。
5. 突然変異種は原品種と同一のアイソザイムパターンを示し、この手法では識別できなかった。

## 引用文献

- 1) Cerezo, M., R. Socias i Company and P. Arus. 1989. Identification of Almond Cultivars by

Pollen Isozymes. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 114 : 164-169.

- 2) Degani, C. and A. Blumenfeld. 1986. The Use of Isozyme Analysis for Differentiation Between Loquat Cultivars. HortScience. 21 : 1457-1458.
- 3) Degani, C. and R. El-Batsri. 1990. Enzyme Polymorphism in Mango. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 115 : 844-847.
- 4) Degani, C., A. Beiles, R. El-Batsri, M. Goren and S. Gazit. 1995. Identifying Lychee Cultivars by Isozyme Analysis. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 120 : 307-312.
- 5) DeWald, M. G., G. A. Moore and W. B. Sherman. 1992. Isozymes in *Ananas* (Pineapple) : Genetics and Usefulness in Taxonomy. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 117 : 491-496.
- 6) Hauagge, R., D. E. Kester, S. Arulsekhar, D. E. Parfitt and L. Liu. 1987. Isozyme Variation Among California Almond Cultivars : II. Cultivar Characterization and Origins. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 112 : 693-698
- 7) Huang, H., F. Dane and J. D. Norton. 1994. Genetic Analysis of 11 Polymorphic Isozyme Loci in Chestnut Species and Characterization of Chestnut Cultivars by Multi-locus Allozyme Genotypes. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 119 : 840-849.
- 8) 張浚澤・田辺賢二・田村文男・伴野潔. 1992. 葉のペルオキシダーゼアイソザイム分析によるナシ属種の類別. 園学雑. 61 : 273-286.
- 9) 大久保敬・藤枝國光. 1989. ワケギ (*Allium Wakegi* Araki) の種内分化とアイソザイムパターン. 園学雑. 58 : 401-406.
- 10) Parfitt, D. E. and S. Arulsekhar. 1989. Inheritance and Isozyme Diversity for GPI and PGM among Grape Cultivars. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 114 : 486-491.
- 11) Pascual, L., F. Perfectti, M. Gutierrez and A. M. Vargas. 1993. Characterizing Isozymes of

- Spanish Cherimoya Cultivars. HortScience. 28 : 845-847.
- 12) Tao, R. and A. Sugiura.1987.Cultivar Identification of Japanese Persimmon by Leaf Isozymes. HortScience. 22 : 932-935.
- 13) Torres, A. M. and B. O. Bergh.1980.Fruit and Leaf Isozymes as Genetic Markers in Avocado. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 105 : 614-619.
- 14) Trujillo, I. and L. Rallo.1995. Identifying Olive Cultivars by Isozyme Analysis. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 120 : 318-324.
- 15) 上野勇・西浦昌男. 1976. ザイモグラフィのコンキツ育種への応用. I パーオキシダーゼアイソザイムによる珠心はい実生と雑種実生の識別. 果樹試報. B3 : 1-8.
- 16) Vinterhalter, D. V. and D. J. James.1983. The Use of Peroxidase Polymorphism in the Identification of Apple Scion Cultivars. Scientia Hort. 18 : 253-261.
- 17) Weeden, N. F. and R. C. Lamb.1985. Identification of Apple Cultivars by Phenotypes. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 110 : 509-515.
- 19) Weeden, N. F. and R. C. Lamb.1987. Genetics and Linkage Analysis of 19 Isozyme Loci in Apple. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 112 : 865-872.

## Isozyme Analysis of Loquat(*Eriobotrya spp.*) cultivars

Jun NAGATO, Yukiko MATSUSHITA<sup>1</sup> and Yoshihiko SATO

Section of Breeding, Nagasaki Fruit Tree Experiment Station, 1370 Onibashi-cho  
Omura, Nagasaki, 856

### Summary

Leaf extract of 82 loquat (*Eriobotrya japonica*) cultivars and two other *Eriobotrya* species (*E. prinoidea*, *E. deflexa*) were analyzed for isozyme variation of peroxidase (PX), glutamate oxalacetate transaminase (GOT) and shikimate dehydrogenase (SkDH).

*E. prinoidea* and *E. deflexa* were separated by GOT or SkDH isozyme phenotypes that were definitely different from *E. japonica*. Of three enzyme systems examined, SkDH isozyme seemed to be particularly useful in discriminating among cultivars of *E. japonica*, and 38 Japanese cultivars were classified into four groups by this system. When three enzyme systems were taken together, 82 loquat (*E. japonica*) cultivars were classified into 16 isozyme classes with identical phenotype. Japanese cultivars and Chinese cultivars separated respectively into four and nine isozyme classes. These results suggested that Japanese loquats were narrow and Chinese loquats were wide in the range of genetic variation. Analysis of parental relationships based on SkDH isozyme banding pattern showed that progenies correctly contained only the bands derived from their parents. Vegetative mutations could not be distinguished from their original cultivars using SkDH polymorphism.