
碩士學位論文

柑橘葉에 있어서 數種 同位酵素의 遺傳機作

濟州大學校 大學院

園藝學科



1988年 12月

GENETICS OF SOME ISOZYMES IN *Citrus* LEAF

Jeong-Hwan Ko
(Supervised by professor Doo-Khil Moon)

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF AGRICULTURE

DEPARTMENT OF HORTICULTURE

GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

1988. 12.


柑橘葉에 있어서 數種 同位酵素의 遺傳機作

指導教授 文 斗 吉

高 禎 環

이 論文을 農學 碩士學位 論文으로 提出함.

1988年 12月 日

 제주대학교 중앙도서관
高禎環의 農學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 _____

委 員 _____

委 員 _____

濟州大學校 大學院

1988年 12月 日

目 次

Summary	1
I. 緒 論	3
II. 研 究 史	5
III. 材 料 및 方 法	7
1. 分析對象植物 및 試料調製	7
2. 電氣泳動	9
2-1. Hexokinase (HK)	9
2-2. Leucine aminopeptidase (LAP)	9
2-3. Superoxide dismutase (SOD)	10
3. 同位酵素의 解析과 統計分析	10
IV. 結 果 및 考 察	11
1. Hexokinase (HK)	11
2. Leucine aminopeptidase (LAP)	12
3. Superoxide dismutase (SOD)	14
4. 同位酵素 遺傳型 分離	16
5. 同位酵素의 連關	22
6. 交雜實生의 判別	26
V. 摘 要	29
參 考 文 獻	31

Summary

Leaf extracts of *Citrus* growing in Cheju island were analyzed by starch gel electrophoresis for isozymes of hexokinase (HK), leucine aminopeptidase (LAP) and superoxide dismutase (SOD). Gene segregation and linkage of 7 enzymes, glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), isocitrate dehydrogenase (IDH), phosphoglucose isomerase (PGI), phosphoglucomutase (PGM), HK, LAP and SOD, were tested in two zygotic populations of *C. iyo* x 'Hongkyool' and *C. tamurana* x 'Byungkyool' crosses.

The results obtained are summarized as follows :

1. Phenotypes of HK were controlled by a gene named *Hk* having four alleles, *F*, *I*, *M* and *S*.
2. LAP zymograms consisted of one or two pairs of bands depending on species. A pair of bands was interpreted to be specified by a single allele of *Lap* gene with *F*, *M* and *S* alleles.
3. Phenotypes of SOD appeared to be controlled by a gene with two alleles of *F* and *S* in *Citrus* spp and *Poncirus trifoliata*.
4. In the progeny of monoembryonic *C. iyo* x 'Hongkyool' and *C. tamurana* x 'Byungkyool', genes controlling seven isozyme systems seperated as theoretically expected, with exceptions of *Idh*, *Lap* and *Pgi-1* distorted in a few families.
5. For 4 gene pairs of *Got-1/Lap*, *Got-1/Pgm*, *Idh/Lap* and *Lap /Pgm*, significance of *G*- statistics for independence test turned out to vary with crosses test. These gene pairs were assumed not to be linked.
6. *Lap/Pgi-1* pair appeared to be linked in two cross combinations ($P < 0.001$),

with intrachromosomal recombination frequency of 10% in *C. iyo* and 3% in *C. tamurana*.

7. Three genes of *Pgm/Hk/Sod* turned out to exist on the same chromosome, and the intrachromosomal recombination frequencies were computed to be 9, 30 and 38 in *Pgm/Hk*, *Hk/Sod* and *Pgm/Sod*, respectively.
8. For 76 combinations among 253 possible cross combinations of 23 *Citrus* spp or cvs, all zygotic seedlings were considered to be identified by the isozyme analysis of an appropriate single enzyme system of HK, LAP or SOD.



I. 緒 論

1960年初를 基點으로 急成長하기 시작한 濟州道 柑橘産業은 1987年 현재 栽培面積 17,000여ha, 生産量 46만여톤(%)⁴⁾으로 우리나라 제2의 果樹로 浮上되었다. 柑橘은 옛부터 濟州道에 自生하여 온 것으로 推定되고 있으며, 古文獻上에 나타나는 柑橘의 種類는 20餘種에 달하고 있으나 別名等 同種異名이 混同使用되고 生態學的인 記述의 부족으로 확실한 類別이 곤란하다.²⁷⁾

在來柑橘은 오랜기간 地域環境 條件에 適應하여 왔기 때문에, 최근 도입되고 있는 優良品質의 系統에 地域適應性을 賦與시키기 위하여 이들 새로운 系統과 在來柑橘과의 交配育種이 試圖되고 있다.¹⁷⁾

柑橘屬의 대부분 種들은 珠心胚를 형성하기 때문에⁸⁾ 分類에 어려움이 있을 뿐만 아니라, 交配育種時 交雜實生과 珠心胚實生을 구별해야 하는 문제에 부딪치게 된다. 열매가 달린 다음 交雜實生과 珠心胚實生을 구별하게 되면 母系와 遺傳的 組成이 동일한 珠心胚實生도 5~10년 동안 재배해야 하기 때문에 柑橘의 交配育種은 그 効率が 매우 낮다. 따라서 적절한 遺傳標識을 이용하여 早期에 珠心胚實生을 淘汰할 수 있으면 珠心胚實生을 키우는데 소요되는 時間을 短縮시켜 交配育種 効率을 크게 향상시킬 수 있을 것이다. 特히 交雜實生 獲得率을 높이기 위한 胚培養 育種技術¹⁸⁾의 實用的 開發을 위해서는 交雜實生의 早期識別 方法을 確立하는 것이 先決課題라고 생각된다.

本 研究의 目的은 柑橘葉內 同位酵素의 遺傳型을 밝혀 濟州 在來 柑橘의 生化學的 特性을 밝혀나가는 한편 交配 育種時 交雜實生과 珠心胚實生의 早期識別 方法을 確立하는 데 있었다. 濟州 在來 柑橘에 대해 報告되지 않은 hexokinase (HK), leucine aminopeptidase (LAP) 및 superoxide dismutase (SOD) 등 3개 酵素의 多型을 分析하여 同位酵素 遺傳型을 밝혔다. 또한 人爲交雜集團에 대해 上記 3개 酵素와 더불어 濟州 在來 柑橘에 대해 遺傳型이 보고된²²⁾바 있는 phosphoglucose isomerase (PGI),

phosphoglucomutase (PGM), glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) 및 isocitrate dehydrogenase (IDH) 등 모두 7개 효소의 同位酵素 遺傳型 分離比를 檢定 하고 나아가 이들 同位酵素를 支配하는 遺傳子의 連關狀態를 分析하였다.



II. 研究 史

分子水準에서의 形質分析技術의 발달은 植物의 進化를 研究하고 種間 또는 個體間的 相互關係를 究明하는 데 重要な 役割을 하고 있다. 그 中 電氣泳動法을 利用한 同位酵素 分析法은 주로 種 또는 그 이하 水準의 分類學的 研究에 有用하다.^{9, 39)}

同位酵素를 遺傳標識로 利用하려는 研究가 많은 植物集團을 대상으로 여러가지 酵素에 대하여 이루어져 왔다.^{24, 31)} 園藝作物에 있어서 同位酵素에 관한 研究의 例는 사과⁴¹⁾ 키네이선²¹⁾, 아보카도³⁵⁾, 딸기¹⁾, 찔레나무¹⁹⁾ 및 개암⁵⁾ 등의 品種區分을 위한 수단으로서 뿐만 아니라 오얏과 복숭아²⁵⁾, 그리고 복숭아와 아몬드³⁾의 種間交雜에서 交雜與否를 확인하기 위한 遺傳標識로서 활용할 수 있음이 보고되어 있다.

柑橘에 있어서 同位酵素의 存在는 莖頂部位의 esterase (EST), leucine aminopeptidase (LAP), peroxidase (PX) 및 amylase의 同位酵素 組成에 미치는 日長効果에 대한 Warner와 Upadhy⁴⁰⁾의 研究에서 처음 報告되었다. 柑橘屬의 種 또는 系統 사이의 類緣關係를 검토하기 위하여 Esen과 Soost⁷⁾ 그리고 上野³⁷⁾는 PX, Esen과 Scora⁶⁾는 amylase 同位酵素를 分析比較한 바 있는데, 이들 酵素는 同位酵素數가 많아 遺傳的 機作이 밝혀지지 않은 상태에서 同位酵素 組成의 類似性을 가지고 類緣關係를 추적하였다.

同位酵素를 利用하여 柑橘 育種時 交雜實生과 珠心胚實生을 早期에 識別하려는 試圖는 Iglesias 等¹³⁾에 의하여 이루어졌는데, 發芽後 20일 된 幼苗의 잎을 供試하여 PX와 EST를 分析하여 遺傳的 機作을 밝혀지지 않은 상태에서 다만 母系에는 없고 父系에만 存在하는 同位酵素가 나타나는 實生은 雜種으로 判別하였다. 上野·西浦³⁸⁾는 珠心胚實生은 母系와 같은 PX 組成을 갖는다는 것을 확인하고, 溫州蜜柑 × 八朔, 溫州蜜柑 × 탕자 및 日向夏 × 福原오렌지 等の 交雜集團을 分析한 결과 이들의 雜種中 약 절반은 母系와 동일한 PX 組成을 보인 반면 伊豫柑 × 溫州蜜柑 組合의 雜種은 30개중 23個體가 母系와 같았다고 報告하였다. 分析對象材料을 잎 대신 뿌리를 利用할 경우^{2, 20, 30)}

더욱 많은 PX 同位酵素들이 관찰되었으며 대부분의 交雜實生을 識別할 수 있었다고 하였다. 柑橘에 있어서 PX 同位酵素에 대해서는 다른 어느 酵素 보다도 많은 研究報告가 있지만, 그 遺傳型이 아직 밝혀지지 않아 PX 同位酵素에 의한 交雜實生の 判別効率は 분명치 않다고 한다.³²⁾ Torres 等^{34, 35, 36)}은 band pattern이 비교적 간단한 PGI와 PGM을 비롯한 9종의 酵素 表現型에 대해 12개의 遺傳子를 부여하여 그 遺傳型을 밝힘과 아울러 遺傳子의 分離 및 連關狀態의 검토를 통하여 柑橘의 遺傳育種에의 應用을 論議하였으며, Soost 等²³⁾은 PGI와 PGM의 同位酵素를 遺傳標識로 하여 'King' tangor × 'Parson Special' 만다린의 組合에서 交雜實生の 判別法을 實證하고 遺傳子 分離化가 理論値와 잘 일치함을 보여주었다. 日本의 柑橘類에 대해서는 GOT를 비롯한 4種의 酵素系를 分析하여 8개의 遺傳子座로 解析한 結果가 最近에 發表되었다.^{19, 11)}

柑橘類의 台木試驗에 있어서 Roose와 Traugh²⁶⁾는 台木이 珠心胚에서 由來된 것인지 交雜胚에서 由來된 것인지를 확인하는데 同位酵素를 이용했으며, Khan과 Roose¹⁵⁾는 台木으로 利用되고 있는 放任受粉된 3개의 橙자 品種을 가지고 4개 同位酵素를 分析해서 交雜實生の 出現率을 算出하였다. 또한 Moore와 Castle²³⁾은 自然狀態下에서 受粉된 감귤대목의 15 品種 集團을 대상으로 形態的인 方法과 同位酵素 遺傳型을 이용한 交雜實生の 判別効率을 比較하였는데 形態的으로 분명치 않거나 交雜實生과 珠心胚 實生을 잘못 판단한 경우에 있어서도 同位酵素의 分析에 의해서 정확히 判別할 수 있었다고 하였다.

우리나라에서의 柑橘類에 대한 同位酵素分析은 文²²⁾에 의해서 처음으로 報告되었는데, 在來柑橘을 中心으로 濟州柑橘의 PX 表現型을 밝히는 한편 PGI, PGM, GOT, MDH 및 IDH 등 5種의 酵素系를 分析하여 7개의 遺傳子座로 解析하였으며, 나아가 23種 또는 品種으로 이루어지는 253個의 可能 交配組合에 대해 交雜實生 判別効率을 推定하였는데 그 중 74個 交配組合에 대해서는 單一酵素系의 分析으로 100% 判別이 可能하다는 結論을 얻고 交雜實生判別을 위하여 여러개의 酵素系를 分析하는 것은 많은 時間과 勞力이 要求되므로 새로운 酵素系를 分析해 나감으로써 이러한 交配組合數를 增加시켜나갈 필요성을 지적하였다.

Ⅲ. 材料 및 方法

1. 分析對象植物 및 試料調製

濟州 在來 柑橘로 알려진 15種 또는 品種^{12, 16)}과 8種의 導入柑橘 그리고 탕자와 丸實 金柑에 대해 HK, LAP 및 SOD 等の 同位酵素를 分析했는데 分析對象植物의 名稱은 表 1에 나타난 바와 같다. 農村振興廳 濟州試驗場 遺傳資源 保存圃에 栽植되어 있는 나무의 健全한 當年度 春葉을 供試하였다.

同位酵素의 遺傳機作을 究明하기 위하여 單胚性인 伊豫柑과 日向夏를 母本으로 하고 在來柑橘을 花粉親으로 한 人工交配에서 얻어진 伊豫柑 × 紅橘, 日向夏 × 瓶橘의 두 雜種集團에 대하여 GOT-1, HK, IDH, LAP, PGI-1, PGM 및 SOD-1 等の 表現型 (遺傳型) 分離를 檢討하였다. 同一 果實內에 있는 種子들로부터 얻어진 個體들을 하나의 小集團 (family)으로 하여 伊豫柑 × 紅橘에서는 9개의 小集團으로 구성된 總 121個體, 日向夏 × 瓶橘에서는 5개의 小集團으로 구성된 164個體를 供試하였다. 交雜幼植物體에 대한 分析은 發芽後 30日부터 本葉이 3~4枚 되었을 때의 어린 잎을 試料로 사용했다.

圃場에서 잎을 採取하여 實驗室에서 軟性洗劑 (PonPon)와 水돛물로 씻었다. 이것을 脫鹽水로 行구고 나서 吸紙로 물기를 깨끗이 닦아내고 플라스틱 봉지에 넣어 4℃에 보관하였다. 잎 採取後 72시간 이내에 전기영동을 실시하였다.

試料調製는 두가지 方法으로 하였는데, 첫번째의 간편한 方法으로는 主葉脈을 除外한 葉身을 여러겹으로 말아 뻗찌 사이에 넣어 눌러 흘러나오는 汁液을 4 × 8mm 또는 적절한 크기의 濾紙 (Toyo No. 2) 切片에 吸着시켰다. 두번째 方法은 葉身 10mg과 해당 緩衝液 20μℓ를 미리 冷藏시켜 두었던 乳鉢에서 갈아 濾紙 切片에 吸着시키는 것이었는데, 交雜幼植物體를 分析하기 위해 少量의 試料를 다룰 경우에 應用되었다.

Table 1. *Citrus* spp or cvs and the related genera used for isozyme analysis in the present study.

Common or local name	Scientific name
Native spp or cvs	
Binkyool (檳橘)	<i>C. leiocarpa</i> Hort. ex Tanaka
Byungkyool (甌橘)	<i>C. platymamma</i> Hort. ex Tanaka
Cheongkyool (靑橘)	<i>C. nippokoreana</i> Tanaka
Cheju lemon (濟州 레몬)	Hybrid ?
Choongmoonkyool (中文橘)	Hybrid ?
Dangyooja (唐柚子)	<i>C. grandis</i> Osbeck
Dongjeongkyool (洞庭橘)	<i>C. suavissima</i> Hort. ex Tanaka
Hongkyool (紅橘)	<i>C. tachibana</i> Tanaka
Jikak (枳殼, 廣橘)	<i>C. aurantium</i> L.
Jinkyool (陳橘, 산물)	<i>C. sunki</i> Hort. ex Tanaka
Kamja (柑子)	<i>C. benikoji</i> Hort. ex Tanaka
Nabeupkyool (納邑橘)	Hybrid ?
Pyunkyool (扁橘)	<i>C. tangerina</i> Hort. ex Tanaka
Sadookam (獅頭柑)	<i>C. pseudogulgul</i> Hort. ex Tanaka
Soyooja (小柚子, 柚子, 柑)	<i>C. junos</i> Sieb. ex Tanaka
Recently introduced spp and the related genera	
Hassaku (八朔)	<i>C. hassaku</i> Hort. ex Tanaka
Iyo (伊豫柑)	<i>C. iyo</i> Hort. ex Tanaka
Lisbon lemon (리스본 레몬)	<i>C. limon</i> Burm. f. 'Lisbon'
Natsudaikai (夏橘)	<i>C. natsudaikai</i> Hayata
Hwangkeum hakyool (黃金夏橘)	<i>C. natsudaikai</i> Hayata 'Hwangkeum'
Duncan grapefruit (던칸 그레이프후룻트)	<i>C. paradisi</i> Macf. 'Duncan'
Sweet orange (스윗트 오렌지)	<i>C. sinensis</i> Osbeck ^{z)}
Hyuganatsu (日向夏)	<i>C. lamurana</i> Hort. ex Tanaka
Satsuma mandarin (溫州蜜柑)	<i>C. unshiu</i> Marc. ^{y)}
Trifoliate orange (탱자)	<i>Poncirus trifoliata</i> L.
Round kumquat (丸實金柑)	<i>Fortunella japonica</i> (Thumb.) Swing.

z) Two cultivars, 'Valencia' and 'Washington Navel', were analyzed.

y) Three cultivars, 'Shinik (新益)', 'Miyagawa (宮川)' and 'Aoshima (青島)', were analyzed.

2. 電氣泳動

160(w) × 200(l) × 8(h) mm 크기의 12% 전분 겔을 만들어 2~5°C의 冷蔵庫內에서 水平式으로 電氣泳動하였다. 陰電極쪽에서 4cm 되는 위치에서 겔을 垂直으로 잘라, 앞의 汁液을 吸着시켜둔 濾紙切片을 끼워 넣었다. 겔의 乾燥와 汚染을 防止하기 위하여 겔 표면을 kitchen wrap 으로 덮고 定電流를 通電하였다. GOT, IDH, PGI 및 PGM 등의 緩衝液, 電氣泳動 方法 및 發色 方法은 文²²⁾에 準하였으며, 本 研究에서 재래감귤에 대해 遺傳型을 밝힌 HK, LAP 및 SOD의 分析 方法은 다음과 같았다.

2-1. Hexokinase (HK)

電極 緩衝液은 0.3M tris-citrate (pH 7.2)를 이용하였고, 이 電極 緩衝液을 10倍로 稀釋한 0.03M tris-citrate (pH 7.2)를 겔 緩衝液으로 하였다. 겔 斷面積 cm 당 4.7mA의 定電流를 6~8시간 동안 通電시켰는데 電壓은 처음 120V에서 잠시동안 감소하다가 다시 상승하여 電氣泳動이 끝날 즈음에는 처음과 같거나 약간 높은 水準에 도달하였다.

染色液은 0.05M tris-HCl (pH 8.0) 50ml, dextrose 50mg, adenosine 5-triphosphate (ATP) 15mg, β-nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (β-NADP⁺) 10mg, 0.1M MgCl₂ · 6H₂O 1ml, nitro blue tetrazolium (NBT) 10mg 및 phenazine methosulfate (PMS) 2mg의 混合液에 使用直前 glucose-6-phosphate dehydrogenase 40 units 를 添加하였다. 電氣泳動이 끝난 겔을 30°C의 暗條件에서 120~180분간 發色시킨 다음 50% 에탄올에서 固定시키고 gel dryer 에서 乾燥시켜 保管하였다가 同位酵素 表現型을 判讀하였다.

2-2. Leucine aminopeptidase (LAP)

0.3M lithium borate (pH 7.9)를 電極 緩衝液으로 하고 이 電極 緩衝液 65ml와 0.07M tris-citrate (pH 8.1) 935ml를 混合해서 겔 緩衝液으로 사용하였다. 겔 斷面積 cm 당 3.5mA의 定電流로 8시간 동안 電氣泳動하였는데 電壓은 처음 250V에서 계속 상승하다가 나중에는 약간 감소하였다.

染色은 Torres 等³⁶⁾의 方法에 따라서 N,N-dimethylformamide 1ml에 溶解시킨 fast black K salt 10mg과 L-leucine- β -naphthyl-amide HCl 10mg을 0.05M phosphate buffer (pH 6.0) 60ml에 混合하여 만든 染色液에 30°C의 暗狀態에서 60~90분 간 發色시켰다. 發色된 겔을 50% 에탄올에서 固定시킨 다음 5% glycerin 液과 함께 플라스틱 봉지에 넣어 4°C에 保管하였다가 同位酵素 表現型을 判讀하였다.

2-3. Superoxide dismutase (SOD)

電極 緩衝液은 0.048M tris-citrate (pH 7.2)를 사용하였고, 이 電極 緩衝液을 3배로 稀釋한 0.016M tris-citrate (pH 7.2)를 겔 緩衝液으로 하였다. 電氣泳動은 처음 30분 동안은 겔 斷面積 cm 당 1.6mA의 定電流를 通電시켜 濾紙 切片 속의 蛋白質을 겔 속으로 흘러가게 한 다음 濾紙 切片을 겔에서 除去하고 겔 斷面積 cm 당 2.3mA의 定電流에서 8~10시간 동안 實施하였다.

0.5M tris-HCl (pH 8.5) 10ml, NBT 20mg, PMS 5mg, 脫鹽水 90ml 및 octanol 2ml로 組成된 染色液에 겔을 넣고 明條件 (100W 백열전등下)에서 120분 동안 發色시켰다. 겔을 50% 에탄올에서 固定시킨 다음 5% glycerin 液과 함께 플라스틱 봉지에 넣어 冷蔵 保管하였다가 同位酵素 表現型을 判讀하였다.

3. 同位酵素的 解析과 統計分析

同位酵素的 表現型 解析은 Torres 등^{34, 35, 36)}의 方法으로 遺傳子 및 對立因子를 命名하였다.

遺傳子의 分離比에 대한 適合度 및 獨立性 檢定은 χ^2 -分布에 近接值를 얻기 위하여 윌리엄 補正 (William's correction)을 加한 G 統計量²⁸⁾을 算出해서 χ^2 -分布表와 比較하여 有意性을 檢定하였다.

IV. 結果 및 考察

1. Hexokinase (HK)

HK (E. C. 2. 7. 1. 1)의 同位酵素들은 겔상의 한 部分에서만 나타났는데, 種 또는 品種에 따라 하나 또는 두개의 bands 를 形成하였다 (그림 1). 관찰된 表現型들은 金柑 및 탕자와 柑橘屬의 모든 種에 있어서 Torres 등³⁶⁾이 報告한 *F*, *I*, *M* 및 *S* 4개의 對立因子로 설명되는 *Hk* 單一遺傳子에 의해 지배되는 것으로 나타났는데 *F* 因子는 탕자에서만 관찰되었다 (表 2).

本 試驗에서 던칸 그레이프후룻트와 바렌시아 오렌지의 遺傳型은 각각 *MI* 및 *II*로 나타났는데 Torres 등³⁶⁾은 각각 *II* 및 *MM*으로 보고하였다. 이러한 차이는 植物材料의

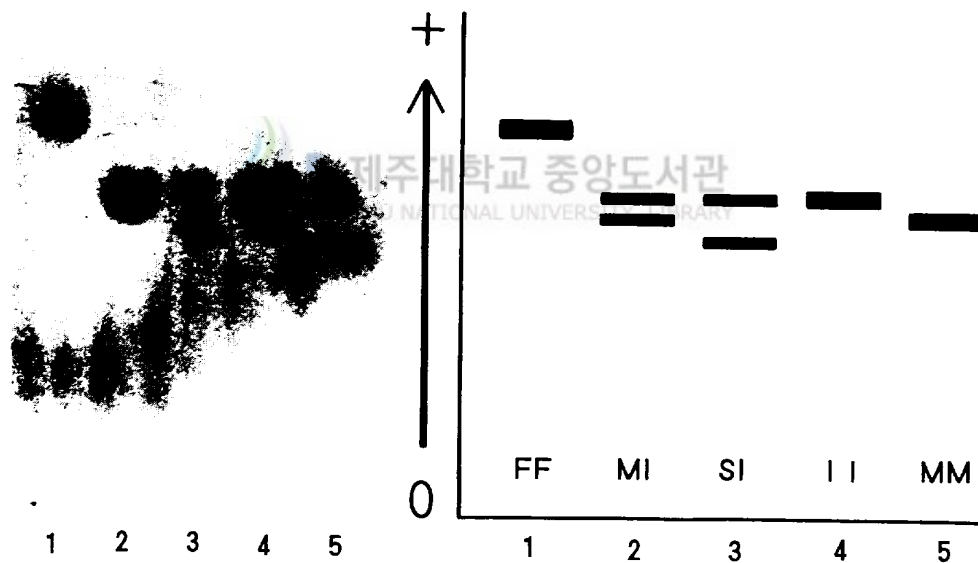


Figure 1. HK zymograms and their schematic illustrations with the genotypes.
 Channel 1, *Poncirus trifoliata*: channel 2, 'Pyunkyool': channel 3, *C. tamurana*: channel 4, 'Sadookam': channel 5, *C. hassaku*.

차이인지 實驗條件의 차이에서 기인된 것인지는 알 수 없었다. 리스본 레몬과 탕자의 遺傳型은 각각 *II* 와 *FF*로서 既報告³⁶⁾와 같았다. *I*, *M* 그리고 *S* 因子들로 이루어질 수 있는 6 遺傳型들 가운데 *MM*과 *SS*의 遺傳型은 在來柑橘에서 찾아볼 수가 없었다. 遺傳型이 분명치 않은 檳橘과 靑橘을 제외한 13종의 在來柑橘의 遺傳型은 *II*, *MI* 및 *SI*가 각각 6, 5 및 2개로 나타났다.

2. Leucine aminopeptidase (LAP)

LAP (E. C. 3. 4. 1. 1)의 同位酵素들은 그림 2에 提示된 바와 같이 쌍을 지어 種 또는 品種에 따라 한쌍 또는 두쌍으로 나타났다. 同位酵素 表現型이 쌍을 이루어 나타나는 현상은 野生보리⁴¹⁾에서도 報告된 바 있는데 한쌍의 同位酵素가 하나의 對立因子에 의해 支配되는 것으로 가정하여 한쌍인 경우는 同型接合體이고 두쌍인 경우는 異型接合體로 判讀하였다. *F*, *M* 및 *S* 세개의 對立因子를 갖는 *Lap* 單一遺傳子로 모든 表現型을 설명할 수 있었다 (表 2). 리스본 레몬, 던칸 그레이프후르트, 바렌시아 오렌지 및 탕자의 *Lap* 遺傳型은 각각 *FF*, *FS*, *FS*, *FF*로 보고³⁵⁾된 바 있는데 本 試驗結果도 마찬가지로 나타났다. *F*, *M* 및 *S* 세개의 因子로 이루어질 수 있는 遺傳型 가운데 다섯개가 在來柑橘에서 관찰되었으며 發生頻度は $6FF : 3FS : 3MS : 2FM : 1MM$ 이었다. 在來柑橘에서는 관찰되지 않았던 *SS*의 遺傳型은 伊豫柑 (*FS*) × 紅橘 (*MS*)의 雜種에서 나타났다.

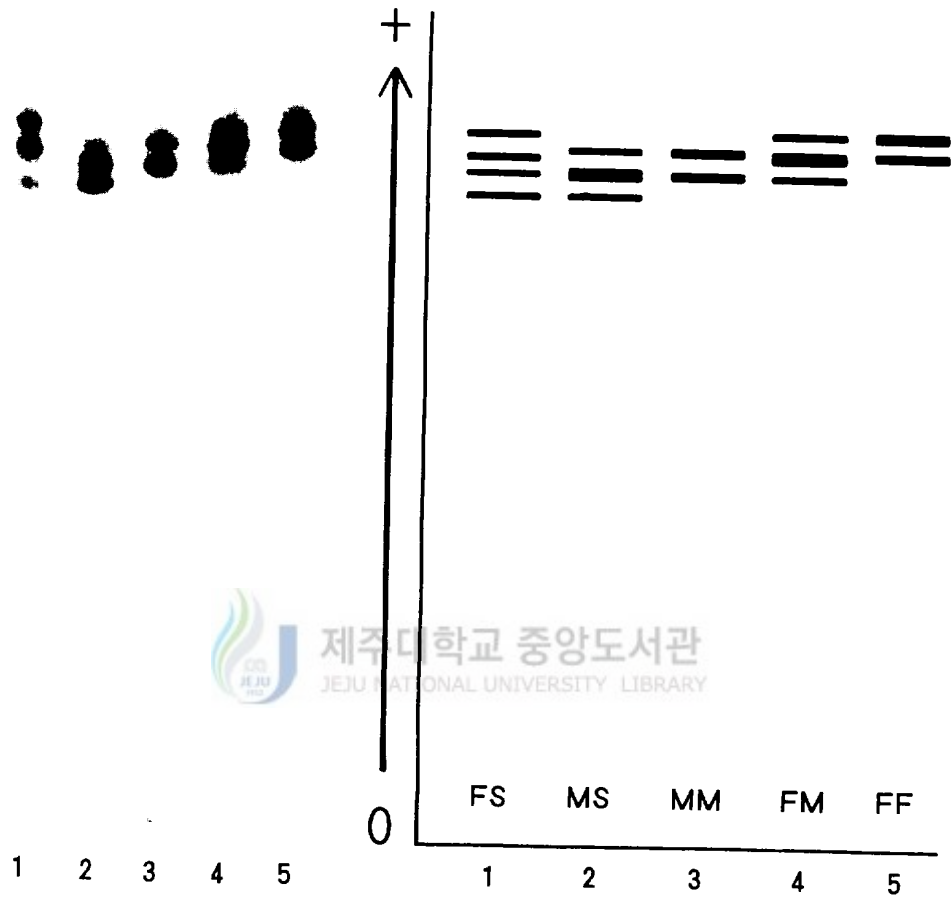


Figure 2. Zymograms of LAP and their schematic illustrations with the genotypes. Channel 1, *C. sinensis* 'Valencia': channel 2, 'Hongkyool': channel 3, 'Soyooja': channel 4, 'Dangyooja': channel 5, *Poncirus trifoliata*.

3. Superoxide dismutase (SOD)

SOD (E. C. 1. 15. 1. 1) 酵素의 發色狀態는 다른 同位酵素들과는 달리 진한 靑色바탕에 酵素가 있는 部分은 白色帶로 나타났다 (그림 3). 陽電極쪽으로 보다 빨리 이동하는 部分에 약하게 나타나는 의심스러운 band가 隨伴되었지만, 同位酵素의 分離는 報告되지 않았는데 本 研究에서도 의미있는 多型은 관찰되지 않았다. 이전의 報告³⁴⁾와 마찬가지로 좀더 느리게 이동하는 部分의 *Sod-1* 遺傳子에 의해 規定되는 同位酵素만이 判讀되었는데, *Sod-1*의 表現型은 이동속도가 가장 느린 *R* 因子로 설명되는 同位酵素를 가진 金柑의 경우를 제외한 分析對象의 모든 種 또는 品種에 있어서 *F*와 *S* 두개의 對立因子에 의해 支配되는 것으로 나타났다 (表 2).

在來柑橘의 *Sod-1* 組成의 觀察頻度는 *8FS* : *6SS* : *1FF*로 나타나 *FF*인 獅頭柑을 除外하고는 모든 種 또는 品種이 *S* 因子를 갖고 있는 것으로 判明되었다.

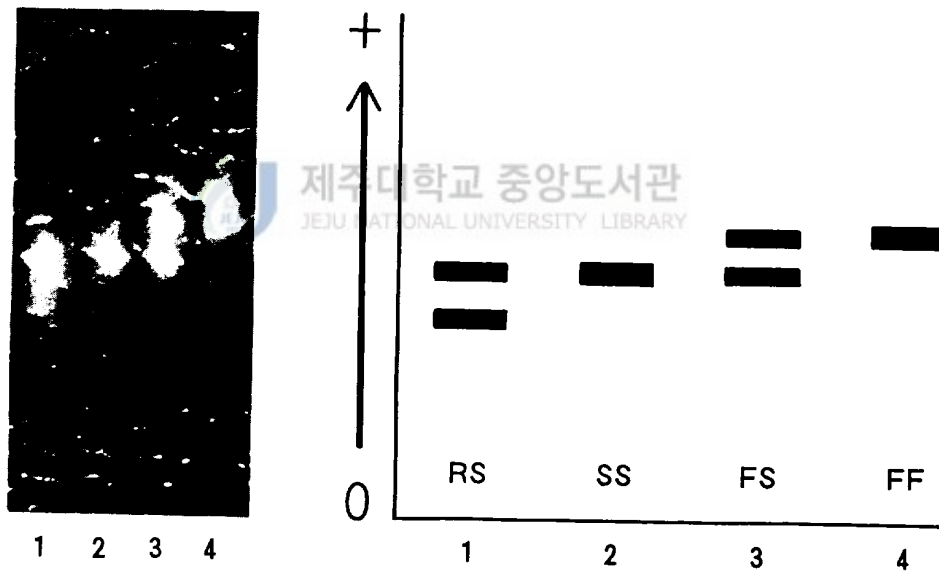


Figure 3. SOD-1 zymograms and their schematic illustrations with the genotypes. Channel 1, *Fortunella japonica*: channel 2, 'Dongjeongkyool': channel 3, *C. limon* 'Lisbon': channel 4, *Poncirus trifoliata*.

Table 2. Genotypes for HK, LAP and SOD of *Citrus* spp and the related genera growing in Cheju island.

Species or cultivars	Genotypes		
	<i>Hk</i>	<i>Lap</i>	<i>Sod-1</i>
Native spp or cvs			
Binkyool	<i>II</i> ?	<i>FF</i>	<i>FS</i>
Byungkyool	<i>II</i>	<i>FF</i>	<i>FS</i>
Cheongkyool	<i>II</i> ?	<i>MS</i>	<i>FS</i>
Cheju lemon	<i>SI</i>	<i>FF</i>	<i>FS</i>
Choongmoonkyool	<i>MI</i>	<i>FF</i>	<i>FS</i>
Dangyooja	<i>MI</i>	<i>FM</i>	<i>FS</i>
Dongjeongkyool	<i>SI</i>	<i>FS</i>	<i>SS</i>
Hongkyool	<i>II</i>	<i>MS</i>	<i>SS</i>
Jikak	<i>MI</i>	<i>FF</i>	<i>FS</i>
Jinkyool	<i>II</i>	<i>FS</i>	<i>SS</i>
Kamja	<i>MI</i>	<i>FF</i>	<i>SS</i>
Nabeupkyool	<i>II</i>	<i>MS</i>	<i>FS</i>
Pyunkyool	<i>MI</i>	<i>FS</i>	<i>SS</i>
Sadookam	<i>II</i>	<i>FM</i>	<i>FF</i>
Soyooja	<i>II</i>	<i>MM</i>	<i>SS</i>
Recently introduced spp and related genera			
<i>C. hassaku</i>	<i>MM</i>	<i>FS</i>	<i>FS</i>
<i>C. iyo</i>	<i>MI</i>	<i>FS</i>	<i>FF</i>
<i>C. limon</i> 'Lisbon'	<i>II</i> *	<i>FF</i> *	<i>FS</i>
<i>C. natsudaidai</i>	<i>II</i>	<i>FM</i>	<i>FS</i>
<i>C. natsudaidai</i> 'Hwangkeum'	<i>II</i>	<i>FM</i>	<i>FS</i>
<i>C. paradisi</i> 'Duncan'	<i>MI</i> ^{z)}	<i>FS</i> *	<i>FS</i>
<i>C. sinensis</i> 'Valencia' & 'Washington Navel'	<i>II</i> ^{y)}	<i>FS</i> *	<i>FF</i>
<i>C. tamurana</i>	<i>SI</i>	<i>MS</i>	<i>FS</i>
<i>C. unshiu</i> 'Aoshima'	<i>MI</i>	<i>FM</i>	<i>FF</i>
<i>Poncirus trifoliata</i>	<i>FF</i> *	<i>FF</i> *	<i>FF</i>
<i>Fortunella japonica</i>	<i>II</i>	<i>FM</i>	<i>RS</i>

Genotypes followed by an asterisk(*) are the same as those previously reported by Torres *et al* (1982).

z) Torres *et al* (1982) reported *II* instead of *MI*

y) Torres *et al* (1982) reported *MM* instead of *II*

4. 同位酵素 遺傳型 分離

伊豫柑 × 紅橘 및 日向夏 × 瓶橘 交配組合에서 양친의 GOT-1 遺傳型은 각각 $FS \times SS$ 및 $SS \times FS$ 로서 어느 경우에도 그 雜種은 FS 와 SS 가 1:1로 分離될 것이다. 表 3에서 보는 바와 같이 두 交配組合의 모든 小集團에서 각각 分離比를 따르고 있는데 이러한 分離現象은 組合內 小集團間에 同質的인 것으로 나타났으며 小集團을 交配組合

Table 3. Homogeneity tests by use of G -statistics for combinability of individual family single-gene segregation data GOT-1 system.

Cross ^{z)}	Family	Nos.		G		
		FS	SS			
IH ($FS \times SS$)	01	4	6	0.4027	ns	
	03	8	6	0.2867	ns	
	04	3	6	1.0194	ns	
	06	8	9	0.0589	ns	
	07	6	6	0.0000	ns	
	08	8	6	0.2867	ns	
	09	4	10	2.6566	ns	
	10	8	5	0.6986	ns	
	12	10	8	0.2227	ns	
	Comb IH		59	62	0.0744	ns
	Total				5.6322	ns
	Heterogeneity				5.5578	ns
TB ($SS \times FS$)	01	18	13	0.8100	ns	
	02	22	12	2.9851	ns	
	06	13	20	1.4962	ns	
	09	18	17	0.0286	ns	
	10	19	12	1.5944	ns	
	Comb TB		90	74	1.5635	ns
	Total				6.9142	ns
Heterogeneity				5.3508	ns	

z) IH is *C. iyo* x 'Hongkyool'.

TB is *C. tamurana* x 'Byungkyool'.

$FS \times SS$ and $SS \times FS$ indicate the genotypes of parents.

별로 중합했을 때도 分離比를 따랐다.

表 4에서 보는 바와 같이 HK의 遺傳型은 伊豫柑 (*MI*) × 紅橘 (*II*) 組合에서 *MI*와 *II* 그리고 日向夏 (*SI*) × 瓶橘 (*II*) 組合에서 *SI*와 *II*가 각각 1:1로 分離되었다.

그러나 IDH의 遺傳型은 伊豫柑이 *II*, 紅橘이 *MI*로서 그 雜種은 *MI*와 *II*가 1:1로 分離될 것으로 예상할 수 있는데 表 5에서 보는 바와 같이 #06 小集團에서 *MI*가 많이 나타나는 쪽으로 偏倚되었으며 비록 統計的 有意性은 없었지만 #12 小集團에서도 *MI*가 많이 관찰되어 組合全體로 볼때 分離比를 따르지 않고 *MI*쪽으로 偏倚되었다. 그러나

Table 4. Homogeneity tests by use of *G*-statistics for combinability of individual family single-gene segregation data for HK.

Cross ²⁾	Family	Nos.		<i>G</i>		
		<i>MI</i>	<i>II</i>			
IH (<i>MI</i> × <i>II</i>)	01	5	5	0.0000	ns	
	03	8	6	0.2867	ns	
	04	4	5	0.1113	ns	
	06	6	11	1.4926	ns	
	07	6	6	0.0000	ns	
	08	7	7	0.0000	ns	
	09	6	8	0.2867	ns	
	10	6	7	0.0770	ns	
	12	13	5	3.6830	ns	
	Comb IH		61	60	0.0083	ns
	Total				5.9373	ns
	Heterogeneity				5.9290	ns
TB (<i>SI</i> × <i>II</i>)	01	17	14	0.2908	ns	
	02	12	22	2.9851	ns	
	06	17	16	0.0303	ns	
	09	19	16	0.2575	ns	
	10	18	13	0.8100	ns	
	Comb TB		83	81	0.0244	ns
	Total				4.3736	ns
Heterogeneity				4.3493	ns	

z) See table 3.

위 두 小集團을 제외한 나머지 小集團에서는 分離比를 따르는 것으로 分析되었으며, 日向夏 (*MI*) × 瓶橘 (*II*) 組合에서는 모든 小集團에서 *MI*와 *II*가 1:1의 分離比를 따랐다.

Table 5. Homogeneity tests by use of *G*-statistics for combinability of individual family single-gene segregation data for IDH.

Cross ^{z)}	Family	Nos.		<i>G</i>		
		<i>MI</i>	<i>II</i>			
IH (<i>II</i> × <i>MI</i>)	01	7	3	1.6457	ns	
	03	7	7	0.0000	ns	
	04	5	4	0.1113	ns	
	06	13	4	5.0168	*	
	07	8	4	1.3592	ns	
	08	5	9	1.1589	ns	
	09	6	8	0.2867	ns	
	10	8	5	0.6986	ns	
	12	13	5	3.6830	ns	
	Comb IH		72	49	4.3986	*
	Total				13.9602	ns
	Heterogeneity				9.5616	ns
TB (<i>MI</i> × <i>II</i>)	01	15	16	0.0323	ns	
	02	20	14	1.0644	ns	
	06	17	16	0.0303	ns	
	09	18	17	0.0286	ns	
	10	18	13	0.8100	ns	
	Comb TB		88	76	0.8788	ns
	Total				1.9655	ns
	Heterogeneity				1.0867	ns

z) See table 3.

* Significant at the 5% level.

表 6은 LAP의 遺傳型 分離比를 檢討한 결과이다. 伊豫柑은 *FS*, 紅橘은 *MS*이므로 그 雜種은 *FM*, *FS*, *MS* 및 *SS*가 1:1:1:1로 分離될 것으로 기대되는데 교배조합 전반적으로 分離比를 따랐으나 *06 小集團에서는 *FS*가 많고 *SS*가 적은 쪽으로

偏倚되었다. 그러나 日向夏 (*MS*) × 瓶橘 (*FF*) 組合에서는 모든 小集團에서 *FS*와 *FM*이 1 : 1로 分離되었다.

PGI-1의 遺傳型은 伊豫柑 (*FS*) × 紅橘 (*FF*) 交配組合에서는 *FF*와 *FS*가 1 : 1의 分離化를 따랐으나 日向夏 (*FS*) × 瓶橘 (*WF*) 組合에서는 小集團別로는 "06에서만 *WF*가 많은 쪽으로 5% 水準에서 有意하게 偏倚되었으되 다른 小集團에서도 有意하지는 않았지만 이러한 偏倚傾向이 累積되어 組合 綜合에서는 1% 水準에서 有意한 結果가

Table 6. Homogeneity tests by use of *G*-statistics for combinability of individual family single-gene segregation data for LAP.

Cross ^{z)}	Family	Nos.				<i>G</i>		
		<i>FM</i>	<i>FS</i>	<i>MS</i>	<i>SS</i>			
(<i>FS</i> × <i>MS</i>)	01	4	2	1	3	2.1288	ns	
	03	6	2	4	2	3.0593	ns	
	04	2	2	3	2	0.3127	ns	
	06	3	9	4	1	8.0368	*	
	07	3	4	4	1	2.4057	ns	
	08	2	3	5	4	1.4716	ns	
	09	6	3	1	4	4.1058	ns	
	10	2	5	5	1	4.3163	ns	
	12	1	6	6	5	4.9498	ns	
	Comb IH		29	36	33	23	3.2207	ns
	Total						30.7868	ns
	Heterogeneity						27.5662	ns
(<i>MS</i> × <i>FF</i>)			<i>FS</i>		<i>FM</i>			
	01		13		18	0.8100	ns	
	02		20		14	1.0644	ns	
	06		14		19	0.7605	ns	
	09		13		22	2.3405	ns	
	10		17		14	0.2908	ns	
	Comb TB		77		87	0.6101	ns	
Total					5.2661	ns		
Heterogeneity					4.6560	ns		

z) See table 3.

* Significant at the 5% level.

나왔다 (表 7).

伊豫柑 × 紅橘과 日向夏 × 瓶橘 두 交配組合에서 모두 兩親의 遺傳型이 $FS \times FF$ 였던 PGM 은 모든 小集團과 組合別 綜合에서 FF 와 FS 가 1:1로 分離되었다 (表 8).

伊豫柑의 $Sod-1$ 遺傳型은 FF 이고 紅橘은 SS 이므로 그 交雜에서 얻은 實生은 FS 만이 기대되는데 분석한 121個體가 모두 FS 임을 확인하였다. 日向夏 (FS) × 瓶橘 (FS)

Table 7. Homogeneity tests by use of G -statistics for combinability of individual family single-gene segregation data for PGI-1 system.

Cross ^{z)}	Family	Nos.				G		
		FF	FS	WF	WS			
IH ($FS \times FF$)	01	6	4			0.4027	ns	
	03	8	6			0.2867	ns	
	04	5	4			0.1113	ns	
	06	12	5			2.9699	ns	
	07	7	5			0.3349	ns	
	08	5	9			1.1589	ns	
	09	8	6			0.2867	ns	
	10	6	7			0.0770	ns	
	12	9	9			0.0000	ns	
	Comb IH		66	55			1.0014	ns
	Total						5.6282	ns
	Heterogeneity						4.6268	ns
TB ($FS \times WF$)	01	12	8	4	7	4.2850	ns	
	02	8	10	7	9	0.5911	ns	
	06	15	9	4	5	8.7022	*	
	09	12	9	7	7	1.8395	ns	
	10	9	10	5	7	1.9819	ns	
	Comb TB		56	46	27	35	11.8723	**
	Total						17.3997	ns
Heterogeneity						5.5273	ns	

z) See table 3.

* Significant at the 5% level.

** Significant at the 1% level.

Table 8. Homogeneity tests by use of G -statistics for combinability of individual family single-gene segregation data for PGM.

Cross ^{z)}	Family	Nos.		G		
		<i>FF</i>	<i>FS</i>			
IH (<i>FS</i> × <i>FF</i>)	01	6	4	0.4027	ns	
	03	4	10	2.6566	ns	
	04	7	2	2.9419	ns	
	06	10	7	0.5322	ns	
	07	6	6	0.0000	ns	
	08	6	8	0.2867	ns	
	09	7	7	0.0000	ns	
	10	7	6	0.0770	ns	
	12	6	12	2.0388	ns	
	Comb IH		59	62	0.0744	ns
	Total				8.9359	ns
	Heterogeneity				8.8615	ns
TB (<i>FS</i> × <i>FF</i>)	01	13	18	0.8100	ns	
	02	17	17	0.0000	ns	
	06	15	18	0.2731	ns	
	09	15	20	0.7167	ns	
	10	14	17	0.2908	ns	
	Comb TB	74	90	1.5635	ns	
	Total			2.0906	ns	
	Heterogeneity			0.5271	ns	

z) See table 3.

交配組合에서는 *FF*, *FS* 및 *SS*가 1 : 2 : 1의 分離比를 따랐다 (表 9).

두개의 交雜集團에 대해 분석한 7 酵素系의 遺傳型은 대체로 分離比를 따르고 있으나 *Idh*와 *Lap*는 伊豫柑 × 紅橘의 *06 小集團에서 그리고 *Pgi-1*은 日向夏 × 瓶橘의 *06 小集團에서 偏倚되었다. Torres 등³⁴⁾은 *Idh*, *Lap* 및 *Pgm* 分離가 *C. grandis* × *C. jambhiri*와 *C. grandis* × 탕자의 交雜集團中 일부의 小集團에서 그리고 文²²⁾은 伊豫柑 × 瓶橘 交雜集團에서 *Pgm* 分離가 偏倚됨을 報告하였다. 特定 小集團에서 特定 同

位酵素 遺傳子의 分離가 偏倚되는 이유는 금후 연구되어야 할 것이다.

Table 9. Homogeneity tests by use of G -statistics for combinability of individual family single-gene segregation data for SOD-1 system.

Cross ^{z)}	Family	Nos.			G	
		<i>FF</i>	<i>FS</i>	<i>SS</i>		
TB (<i>FS</i> × <i>FS</i>)	01	5	17	9	1.4497	ns
	02	8	17	9	0.0589	ns
	06	7	20	6	1.5732	ns
	09	10	16	9	0.3101	ns
	10	9	17	5	1.4497	ns
	Comb TB	39	87	38	0.6231	ns
	Total				4.8416	ns
	Heterogeneity				4.2185	ns

z) See table 3.

5. 同位酵素的 連關

同位酵素 遺傳子의 分離比가 偏倚된 것으로 보이는 小集團을 除外하여 交配 組合別로 綜合한 集團에 대해 7개의 遺傳子로 이루어지는 21개의 유전자쌍에 대한 分離比의 獨立性檢定 結果는 表 10에 나타난 바와 같다. 13개쌍은 두 交配組合에서 모두 독립적인 分離를 한것으로 나타났으며 *Got-1/Lap*, *Got-1/Pgm*, *Idh/Lap* 및 *Lap/Pgm* 등 4개 유전자쌍은 交配組合에 따라서 連關이 인정되는 경우와 인정되지 않은 경우로 나타나 일정한 경향을 보이지 않았다. 이들 유전자쌍은 連關이 있는 것처럼 나타난 경우도 再組合頻도가 모두 35이상으로 높았는데 (表 11), 실제로 이들이 連關狀態에 있다면 *Got-1*, *Lap*, *Pgm*, *Idh* 등 4 酵素가 同一染色體上에 있게 되어 *Got-1/Idh*, *Idh/Pgm* 쌍도 連關을 보일 것이다. 그러나 관찰결과 이 두 효소쌍은 連關이 인정되지 않았다. 따라서 *Got-1/Lap*, *Got-1/Pgm*, *Idh/Lap* 및 *Lap/Pgm*은 連關狀態에 있다고 판단되지는 않았다.

Lap/Pgi-1 유전자쌍은 두 交配組合에서 0.1% 水準에서 有意하여 連關된 것으로

Table 10. Gene pairs analyzed for linkage and the *G*-statistics for the test of independence in IH (upper) and TB (lower) crosses. Figures in parentheses are degree of freedom.

Genes	<i>Got-1</i>	<i>Hk</i>	<i>Idh</i>	<i>Lap</i>	<i>Pgi-1</i>	<i>Pgm</i>
<i>Hk</i>	0.0949(1) 1.8368(1)					
<i>Idh</i>	0.2205(1) 0.2502(1)	0.0009(1) 2.9151(1)				
<i>Lap</i>	10.6341(3)* 0.0042(1)	3.1772(3) 0.0012(1)	5.1899(3) 7.4502(1)**			
<i>Pgi-1</i>	1.0864(1) 1.2384(3)	0.3882(1) 2.7463(3)	0.7904(1) 6.4173(3)	78.6516(3)*** 108.5811(3)***		
<i>Pgm</i>	0.0002(1) 4.2046(1)*	62.7704(1)*** 97.9286(1)***	0.7487(1) 1.3493(1)	8.0440(3)* 2.7714(1)	1.8810(1) 2.2621(1)	
<i>Sod</i>						
	0.6246(2)	10.2267(2)**	1.7238(2)	1.7319(2)	2.8984(2)	7.4665(2)*

* Significant at the 5% level.

** Significant at the 1% level.

*** Significant at the 0.1% level.

Table 11. Number of joint segregation progeny for pairs of genes with apparent linkage of inconsistent results and recombination frequencies (RF).

Gene Pairs	Cross	N	Genotypic numbers	P	RF(%)
<i>Got-1 / Lap</i>	IH	90	<i>7FS / FM : 15FS / FS : 19FS / MS : 5FS / SS :</i> <i>13SS / FM : 9SS / FS : 9SS / MS : 13SS / SS</i>	< 0.05	49
<i>Got-1 / Pgm</i>	TB	130	<i>24FS / FF : 44FS / FS : 33SS / FF : 29SS / FS</i>	< 0.05	41
<i>Idh / Lap</i>	TB	129	<i>43MI / FM : 27MI / FS : 22II / FM : 37II / FS</i>	< 0.01	38
<i>Lap / Pgm</i>	IH	63	<i>13FM / FF : 4FM / FS : 9FS / FF : 8FS / FS :</i> <i>6MS / FF : 10MS / FS : 4SS / FF : 9SS / FS</i>	< 0.05	35

보였는데 (表 10), 染色體內 再組合頻度は 伊豫柑에서 10%, 日向夏에서 3%로 計算되어 (表 12) 이들 酵素는 同一染色體上에 있는 것으로 結論되었다.

Hk/Pgm, *Hk/Sod* 및 *Pgm/Sod*는 각각 連關 狀態에 있는 것으로 나타났는데 *Hk/Pgm*의 染色體內 再組合頻度は 伊豫柑과 日向夏에서 다같이 9%로 算出되었다. 伊豫柑 × 紅橋 組合의 雜種에서는 *Sod*가 모두 *FS*였기 때문에 *Hk/Sod*와 *Pgm/Sod*의 連關 狀態를 檢討할 수 없었는데 日向夏 × 瓶橋 組合에서 染色體內 再組合頻度は *Hk/Sod*가 30, *Pgm/Sod*가 35였으므로 이들 세 遺傳子는 同一染色體上에 *Pgm*, *Hk*, *Sod*順으로 배열되어 있다고 推定되었다. 따라서 *Pgm/Sod*의 경우 二重交叉에 의한 誤差를 補正한 結果 再組合頻度は 38이 되었는데 이러한 計算結果에 立脚하여 遺傳子地圖를 작성한 것은 그림 4에 나타냈다.

Torres 등³⁴⁾은 *C. jambhiri*에서 *Got-1/Mdh-1* 그리고 탱자에서 *Mdh-2/Me-2/Me-1*의 遺傳子들이 同一染色體上에 있음을 밝혔으며 檢討된 탱자에서 *Pgi-1*과 *Lap*는 連關이 인정되지 않았다고 하였는데 本 研究에서는 伊豫柑과 日向夏 두 種에서 다같이 高度의 連關 ($P < 0.001$) 이 인정되었으며 染色體內 再組合頻도가 모두 10% 이내로 이 두 遺傳子는 同一染色體上에서도 가까운 거리에 있는 것으로 판단되었다. Torres 등³⁴⁾은 *Hk*와 *Sod*는 分離되지 않은 交配組合을 供試했기 때문에 이들 遺傳子와 다른 同位酵素 遺傳子와의 連關은 檢討되지 않았다.

그러나 本 研究에서는 *Pgm/Hk/Sod*가 同一染色體上에 있음을 확인하므로써 새로운 結果를 얻었다.

Table 12. Analysis of linkage for *Lap/Pgi-1* gene pair in IH and TB crosses.

Conformation of gene pair on the parental chromosome		Genotype of progeny		No. of seedlings
		<i>Lap/Pgi-1</i>		
<u><i>Lap F</i></u>	<u><i>Pgi-1 F</i></u>	Parental types	<i>FM / FF</i>	24
<u><i>Lap S</i></u>	<u><i>Pgi-1 S</i></u>		<i>FS / FF</i>	25
			<i>SM / SF</i>	26
<i>C. iyo</i> (♀)			<i>SS / SF</i>	19
X			Subtotal	94
<u><i>Lap M</i></u>	<u><i>Pgi-1 F</i></u>	Recombinant types	<i>FM / FS</i>	2
<u><i>Lap S</i></u>	<u><i>Pgi-1 F</i></u>		<i>FS / FS</i>	2
			<i>SM / FF</i>	3
'Hongkyool' (♂)			<i>SS / FF</i>	3
			Subtotal	10
Grand total				104
<i>G</i> for independence				78.6516***
Recombination frequency (%)				10
<u><i>Lap M</i></u>	<u><i>Pgi-1 F</i></u>	Parental types ^{z)}	<i>MF / FW</i>	29
<u><i>Lap S</i></u>	<u><i>Pgi-1 S</i></u>		<i>MF / FF</i>	15
			<i>SF / SW</i>	27
<i>C. tamurana</i> (♀)			<i>SF / SF</i>	22
X			Subtotal	93
<u><i>Lap F</i></u>	<u><i>Pgi-1 W</i></u>	Recombinant types ^{y)}	<i>MF / SW</i>	1
<u><i>Lap F</i></u>	<u><i>Pgi-1 F</i></u>		<i>MF / SF</i>	1
			<i>SF / FW</i>	0
'Byungkyool' (♂)			<i>SF / FF</i>	1
			Subtotal	3
Grand total				96
<i>G</i> for independence				108.5811***
Recombination frequency (%)				3

*** Significant at the 0.1% level.

z) Including the recombinants occurred in male gametes.

y) Consisting of the recombinants occurred only in female gametes and concomitantly both in male and female gametes.

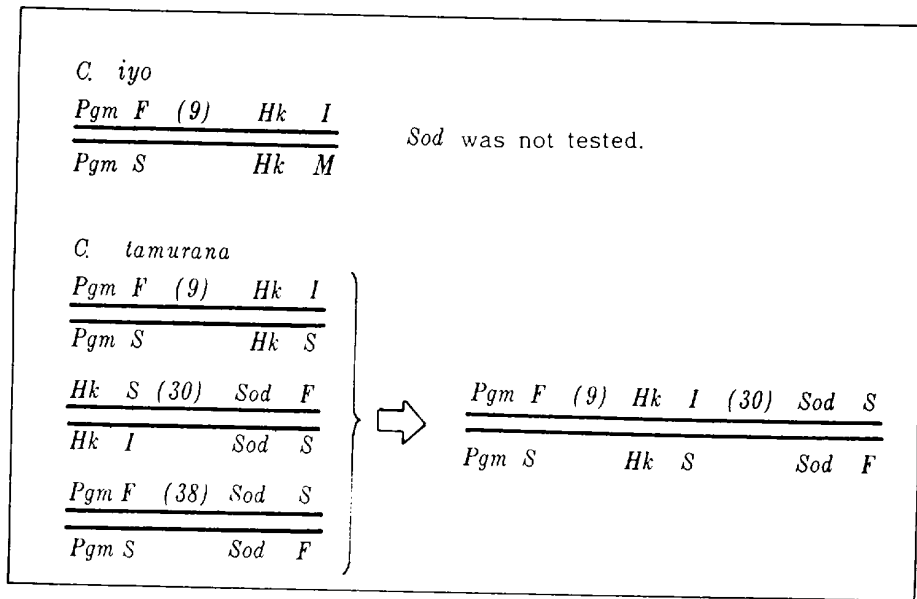


Figure 4. Conformation of three genes, *Pgm*, *Hk* and *Sod* on the same chromosome in *C. iyo* and *C. tamurana*.
Map unit for the distance between *Pgm* and *Sod* was corrected for double cross-over.

6. 交雜實生の 判別

兩親의 어떤 同位酵素 遺傳子型이 $FS \times WS$ 이면 그 雜種은 WF , FS , WS , SS 가 1 : 1 : 1 : 1로 分離되어 雜種중 25%가 珠心胚實生과 같은 遺傳型 (FS) 을 갖게 되므로 交雜實生の 判別効率は 75%가 된다. 그러나 兩親의 遺傳型이 $FF \times SS$ 와 같은 경우 雜種은 모두 FS 로 되어 珠心胚實生과는 다른 遺傳子型을 가지므로 交雜實生の 判別効率は 100%가 된다.

濟州 在來 柑橘을 중심으로 한 23種 또는 品種으로 이루어지는 253個의 交配組合에 대해 HK, LAP 와 SOD 중 單一酵素系의 分析으로 交雜實生을 100% 判別할 수 있는 組合은 76 개였다 (表 13). GOT, IDH, MDH, PGI 와 PGM 중 單一酵素系의 分析으로 交雜實生을 100% 判別할 수 있는 組合은 74개로 보고되었다.²²⁾ 本 研究에서 찾아낸 76 組合中 上記 74 組合과 중복되고 있는 27 개의 組合을 제외한 49개 組合이 追加되어

이러한 組合은 모두 123개가 되었다. 그러나 아직도 130개의 組合에서는 單一酵素系의 分析으로 交雜實生을 모두 찾아낼 수 없는 狀態이므로 今後 더 많은 酵素系를 分析해 나가야 할 것으로 생각된다.



Table 13. Cross combinations in which all zygotic seedlings could be distinguished from nucellar ones by isozyme analysis of a single enzyme system among HK (h), LAP (l) and SOD (s).

Crosses	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23																						
	1. Binkyool	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2. Byungkyool	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3. Cheongkyool	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4. Cheju lemon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5. Choongmoonkyool	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6. Dangyooja	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7. Dongjeongkyool	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8. Hongkyool	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9. Jikak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10. Jinkyool	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11. Kamja	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12. Nabeupkyool	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13. Pyunkyool	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14. Sadookam	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15. Soyooja	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16. <i>C. hassaku</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17. <i>C. igo</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18. <i>C. limon</i> 'Lisben'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19. <i>C. natsudaidai</i> 'Hwangkenun'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20. <i>C. paradisi</i> 'Duncan'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21. <i>C. sinensis</i> 'Valencia' & 'Washington Navel'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22. <i>C. tamara</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23. <i>C. unshiu</i> 'Yoshima'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

V. 摘 要

濟州 在來 柑橘을 중심으로 감귤잎의 抽出物에 대해 수평식 전분 겔 電氣泳動法으로 hexokinase (HK), leucine aminopeptidase (LAP) 및 superoxide dismutase (SOD) 등의 同位酵素를 分析하여 그 遺傳型을 밝히고, 또한 單胚性을 母系로 한 伊豫柑 × 紅橘 및 日向夏 × 瓶橘의 두 人爲交雜集團에 대해 上記 3개 酵素와 glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), isocitrate dehydrogenase (IDH), phosphoglucose isomerase (PGI) 및 phosphoglucomutase (PGM) 등 모두 7酵素系의 同位酵素 遺傳機作을 檢討한 結果를 要約하면 다음과 같다.

1) HK의 表現型은 금감 및 탕자와 감귤속의 모든 種에 있어서 *F*, *I*, *M* 및 *S* 4개의 對立因子로 說明되는 *Hk* 單一遺傳子에 의해 지배되는 것으로 나타났다.

2) LAP의 同位酵素들은 쌍을 지어 種에 따라 한쌍 또는 두쌍으로 나타나 한쌍의 同位酵素가 하나의 對立因子에 의해 지배되는 것으로 判讀하였는데 *F*, *M* 및 *S* 세개의 對立因子로 모든 表現型을 說明할 수 있었다.

3) SOD의 表現型은 이동속도가 가장 느린 *R* 인자로 說明되는 同位酵素를 가진 金柑의 경우를 제외한 탕자와 감귤속의 모든 種에 있어서 *F*와 *S* 두개의 對立因子에 의해 支配되는 것으로 나타났다.

4) 人爲交雜集團에 대해 分析한 7개의 酵素系를 支配하는 遺傳型은 대체로 理論的인 分離를 따랐다. 다만 IDH, LAP 및 PGI-1은 일부 小集團에서 遺傳型 分離가 偏倚되었다.

5) *Got-1/Lap*, *Got-1/Pgm*, *Idh/Lap* 및 *Lap/Pgm* 등 4개의 유전자쌍은 교배조합에 따라 독립성 여부의 결과가 달랐는데 서로 連關狀態는 아니라고 추측되었다.

6) *Lap/Pgi-1*은 두 交配組合에서 다같이 連關된 것으로 나타났는데 ($P < 0.001$) 染色體內 再組合頻度는 伊豫柑에서 10%, 日向夏에서 3%로 計算되었다.

7) *Pgm/Hk/Sod* 세 유전자는 서로 連關을 보여 同一染色體上에 있는 것으로 判明되었는데 染色體內 再組合頻度는 *Pgm/Hk* 가 9, *Hk/Sod* 30, *Pgm/Sod* 38로 算出되었다.

8) 濟州 在來 柑橘을 중심으로 한 23種 또는 品種으로 이루어지는 253개의 交配組合中 76組合에 대해서는 HK, LAP 또는 SOD 中 單一酵素系의 分析으로 交雜實生을 100% 判別할 수 있을 것으로 생각되었다.



參 考 文 獻

1. Bringhurst, R. S., S. Arulsekhar, J. F. Hancock Jr., and V. Voth. 1981. Electrophoretic characterization of strawberry cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 106(5) : 684-687.
2. Button, J., A. Vardi, and P. Spiegel-Roy. 1976. Root peroxidase isoenzymes as an aid in *Citrus* breeding and taxonomy. *Theor. Appl. Genet.* 47 : 119-123.
3. Chaparro, J. X., R. E. Durham, G. A. Moore, and W. B. Sherman. 1987. Use of isozyme techniques to identify peach x 'Nonpareil' almond hybrids. *Hortscience* 22(2) : 300-302.
4. 제주도. 1988. 제주통계연보.
5. 趙顯模. 1987. 韓國 自生 柑橘의 分類 및 몇가지 形質의 遺傳에 關한 研究. 서울 大學校 大學院 博士學位論文.
6. Esen, A. and R. W. Scora. 1977. Amylase polymorphism in *Citrus* and some related genera. *Amer. J. Bot.* 64(3) : 305-309.
7. Esen, A. and R. K. Soost. 1976. Peroxidase polymorphism in *Citrus* J. *Hered.* 67 : 199-203.
8. Frost, H. B. and R. K. Soost. 1968. Seed reproduction : development of gametes and embryos. p.290-324. *In* W. Reuther, L. D. Batchelor, and H. J. Webber(eds.) *The Citrus industry (Revised ed.) Vol. II.* Univ. Calif. Div. Agri. Sci., Berkley, Calif.
9. Harborne, J. B. and B. L. Turner. 1984. *Plant chemosystematics.* Academic Press, London.
10. 平井正志, 梶浦一郎. 1986. 칸킥스類의 아이소자임分析. *日育種學雜誌* 36卷

別冊 2 : 4-5.

11. 平井正志, 小崎 格, 梶浦一郎. 1986. カンキツのアイソザイム分析. 昭和 61年度春季大會研究 發表 要旨. 日本園藝學會.
12. 홍순범, 오성도, 한해룡, 김한용, 권혁모. 1976. 감귤 육종에 관한 연구, 제주 재래 감귤 수집조사. 농진청 제주시험장 1976년도 시연보 159-170.
13. Iglesias, L., H. Lima, and J. P. Simon. 1974. Isoenzyme identification of zygotic and nucellar seedlings in *Citrus*. J. Hered. 65 : 81-84.
14. Kahler, A. L., M. I. Morris, and R. W. Allard. 1981. Gene triplication and fixed heterozygosity in diploid wild barley. J. Hered. 72 : 374-376.
15. Khan, I. A. and M. L. Roose. 1988. Frequency and characteristics of nucellar and zygotic seedlings in three cultivars of trifoliate orange. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 113(1) : 105-110.
16. 金暎鏞. 1988. 濟州 在來 柑橘 (*Citrus* spp)의 分類와 有用形質 및 遺傳標識에 關한 研究. 全南大學校 大學院 博士學位論文.
17. 김한용, 전승중. 1987. 감귤 육종에 관한 연구, 감귤 품종 개량에 관한 시험. 농진청 제주시험장 1987년도 시연보 137-146.
18. 김한용, 전승중, 김광식. 1985. 감귤 육종에 관한 연구, 감귤 배배양에 관한 시험. 농진청 제주시험장 1985년도 시연보 160-167.
19. 李貞植, 金暎來. 1982. 多變量解析과 同位酵素分析에 依한 절레나무의 集團遺傳學的 研究. 韓國誌 23(2) : 49-70.
20. Manzocchi, L. A., N. Tusa, and G. Geraci. 1981. Correlation between phenotypic and biochemical genetic markers in offsprings of sour orange x *P. trifoliata*. Genet. Agr. (Italy) 35 : 367-376.
21. Messeguer, R. and P. Arús. 1985. Electrophoretic identification of carnation cultivars. HortScience 20(3) : 372-373.
22. 文斗吉. 1987. 濟州 在來 柑橘의 同位酵素 分析과 交雜實生의 早期識別 方法에

- 關한 研究. 서울大學校 大學院 博士學位論文.
23. Moore, G. A. and W. S. Castle. 1988. Morphological and isozymic analysis of open-pollinated *Citrus* rootstock populations. *J. Hered.* 79 : 59-63.
 24. Nelson Jr., O. E. and B. Burr. 1973. Biochemical genetics of higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24 : 493-518.
 25. Parfitt, D. E., S. Arulsekhar, and D. W. Rammings. 1985. Identification of plum x peach hybrids by isoenzyme analysis. *HortScience* 20(2) : 246-248.
 26. Roose, M. L. and S. N. Traugh. 1988. Identification and performance of *Citrus* trees on nucellar and zygotic rootstocks. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 113(1) : 100-105.
 27. 申瑾澈. 1972. 古書에 依한 濟州柑橘의 史的 考察. 農村振興廳.
 28. Sokal, R. R. and F. J. Rohlf. 1981. *Biometry*. W. H. Freeman and Co. San Fransisco.
 29. Soost, R. K., T. E. Williams, and A. M. Torres. 1980. Identification of nucellar and zygotic seedlings of *Citrus* with leaf isozymes. *HortScience* 15(6) : 728-729.
 30. Spiegel-Roy P., A. Vardi, and A. Shani. 1977. Peroxidase isoenzymes as a tool for early separation of nucellar and zygotic *Citrus* seedlings. *Proc. Int'l. Soc. Citriculture.* 2 : 619-624.
 31. Tanksley, S. D. and T. J. Orton (eds.). 1983. *Isozymes in plant genetics and breeding (Part A and B)*. Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York.
 32. Torres, A. M. 1983. Fruit trees. p. 401-421. *In* S. D. Tanksley and T. J. Orton (eds.) *Isozymes in plant genetics and breeding (Part B)*. Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York.
 33. Torres, A. M., U. Diedenhofen, B. O. Bergh, and R. J. Knight. 1978. Enzyme polymorphisms as genetic markers in the avocado. *Amer. J. Bot.*

- 65(2) : 134-139.
34. Torres, A. M., T. Mau-Lastovicka, T. E. Williams, and R. K. Soost. 1985. Segregation distortion and linkage of *Citrus* and *Poncirus* isozyme genes. *J. Hered.* 76 : 289-294.
 35. Torres, A. M., R. K. Soost, and U. Diedenhofen. 1978. Leaf isozymes as genetic markers in *Citrus*. *Amer. J. Bot.* 65(8) : 869-881.
 36. Torres, A. M., R. K. Soost, and T. Mau-Lastovicka. 1982. *Citrus* isozymes, genetics and distinguishing nucellar from zygotic seedlings. *J. Hered.* 73 : 335-339.
 37. 上野 勇. 1976. ザイモグラフィ-のカンキツ育種への應用 II. カンキツ類の種, 品種, 系統間におけるパーオキシダーゼアイソザイムの差異について. 果樹試報 B (興津) 3 : 9-24.
 38. 上野 勇, 西浦昌男. 1976. ザイモグラフィ-のカンキツ育種への應用 I. パーオキシダーゼアイソザイムによる珠心はい實生と雜種實生の 識別. 果樹試報 B (興津) 3 : 1-8.
 39. Vaughan, J. G. 1975. Proteins and taxonomy. p. 281-298. *In* J. B. Harborne and C. F. van Sumerc (eds.) *The chemistry and biochemistry of plant proteins*. Academic Press, London.
 40. Warner, R. M. and M. D. Upadhy. 1968. Effect of photoperiod on isoenzymic composition of *Citrus* and *Poncirus*. *Physiol. Plantarum* 21 : 941-948.
 41. Weeden, N. F. and R. C. Lamb. 1985. Identification of apple cultivars by isozyme phenotypes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 110(4) : 509-515.

謝 辭

本 論 文 의 着 想 에 서 完 成 되 기 까 지 始 終 熱 과 誠 을 다 하 여 보 살 펴 주 시 고 指 導 하 여 주 신 文 斗 吉 教 授 님 께 衷 心 으 로 感 謝 드 립 니 다. 또 한 平 素 에 많 은 助 言 과 도 움 을 아 끼 시 지 않 았 던 韓 海 龍, 白 子 勳, 張 田 益, 李 宗 錫, 朴 庸 奉, 蘇 寅 燮 教 授 님 들 께 深 甚 한 謝 意 를 表 하 며, 本 試 驗 의 遂 行 을 爲 하 여 實 驗 材 料 뿐 만 아 니 라 全 試 驗 過 程 에 서 物 心 兩 面 으 로 積 極 도 와 주 신 濟 州 試 驗 場 金 東 睦 場 長 님 을 비 롯 하 여 文 德 永 園 藝 科 長 님, 金 漢 鍾 博 士 님, 그 리 고 모 든 研 究 士 님 들 과 園 藝 科 職 員 여 러 분 들 께 感 謝 드 립 니 다. 아 울 러 電 氣 泳 動 實 驗 過 程 에 서 많 은 도 움 을 준 許 英 珍 씨 에 게 도 고 마 음 을 表 합 니 다. 끝 으 로 오 빠 를 위 하 여 온 갖 어 려 움 과 고 통 을 참 아 내 민 서 묵 묵 히 뒷 바 라 지 해 준 막 내 동 생 叔 希 에 게 이 작 은 結 實 을 전 하 고 자 합 니 다.

