

## ブドウにおけるアイソザイム多型と系統発生並びに 品種分化に関する研究

白石, 眞一  
九州大学農学部

若菜, 章  
九州大学農学部

嬉野, 健次  
九州大学農学部

大見, 千枝

<https://doi.org/10.15017/12700>

---

出版情報 : 九州大学農学部農場研究資料. 16, pp.11-49, 1994-03. 九州大学農学部附属農場  
バージョン :  
権利関係 :

## I、ブドウにおけるアイソザイムの遺伝

### 1、目的

ブドウは、通常2～4年の幼若性があること、染色体数が多い ( $2n=2x=38$ ) こと、胚のう稔性が低いこと、種子発芽が低いことなどの理由により、遺伝解析が困難な植物である。このために、ほんの僅かな形質 (耐病性、雌雄性、偽単為結果、果色など) についてのみ一部遺伝子の推定がなされているに過ぎない。しかし、これらの僅かな遺伝子さえも遺伝的マーカーとして育種的に活用するのは困難な現状である。

最近、制限酵素を用いたデオキシリボ核酸 (DNA) の断片長の多型 (restriction fragment length polymorphism: RFLP) や同位酵素 (アイソザイム) の多型が明らかになっている。さらに、共優位 (co-dominance) である場合が多い。これらの遺伝解析が進み、標識形質として有用であることが明らかとなり、ブドウにおいても数多くの研究が始められている。現在までに、ブドウにおける多数のアイソザイムの研究から、アイソザイムの特性、即ち一量体 (モノマー) であるか多量体 (ポリマー) であるか、どの細胞器官に存在するのかなどについて解明が進み、さらにアイソザイムを支配する対立遺伝子が次々に明らかにされつつある。しかし、現在のところアイソザイムをブドウの標識形質として活用するには十分な成果が得られておらず、さらに多くのアイソザイムのデータが必要と考える。そこで、本研究ではブドウの系統発生と品種分化を追究するために、多数のアイソザイムについて電気泳動分析を試みた。

### 2、材料及び方法

(1) 材料: 約70種類の欧州種、米国種、アジア種及びそれらの雑種を供試するとともに十数組合せの交配を行なって得られた実生群を供試した。また 'Mills' の自家受粉を行なって得られた種子の胚乳を供試した。交配実験は開花前に除雄して、柱頭をよく水洗した後、開花当日のものか予め貯蔵しておいた花粉を用いて行い、交配後被袋を行なった。(2) 酵素の抽出: 主に酵素活性が高い茎頂部を供試したが、十分に展葉したもの、成熟葉、緑枝、熟枝、若い根、花粉、胚乳も必要に応じて酵素抽出用の材料として供試した。材料は直ちに抽出に用いたが、一部については1～4週間4℃で貯蔵したものをを用いた。

花粉と胚乳においては5mg、その他の材料は0.2gを供試し、WendelとParks (1982) の方法に準じて抽出緩衝液1.0～0.5mlを加えた後、磨砕した。この粗抽出物を濾紙で作ったウイック (ワットマン No. 3, 11 x 3 mm) に吸収させ、デンブンゲル電気泳動用試料とした。他方、アクリルアミドを支持体として電気泳動を行なう場合には、Benin (1988) の方法に従って抽出を行なった。

(2) 本研究においては、以下の酵素について検討を進めた: alcohol dehydrogenase (ADH; EC 1.1.1.1)、asparatate aminotransferase (AAT; EC 2.6.1.1)、isocitrate dehydrogenase (IDH; EC 1.1.1.41)、diaphorase (DIA; EC 1.8.1.4)、fluorescent esterase (FEST; EC 3.1.1.), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH; EC 1.1.1.49)、glucose-6-phosphate isomerase (GPI; EC 5.3.1.9)、glutamate dehydrogenase (GDH; EC 1.4.1.2)、isocitrate dehydrogenase (IDH; EC 1.1.1.42)、leucine amino-peptidase (LAP; EC 3.4.11.1)、malate dehydrogenase (MDH; EC 1.1.1.37)、phosphoglucomutase (PGM; EC 5.4.2.2)、phosphogluconate dehydrogenase (PGD; EC 1.1.1.43)、shikimate dehydrogenase (SKD; EC 1.1.1.25)、superoxide dismutase (SOD; EC 1.15.1.1)、triose-phosphate isomerase (TPI; EC 5.3.1.1) 及びformate dehydrogenase (FDH; EC 1.2.1.2)。これらの酵素は4種類の緩衝液 (Wendel and Parks 1982) を用いた。

GDH、PGD、SKDなどでは、電気泳動像上のバンドは極めて薄く染色されるか、あるいは確認できなかった。AATのバンドは強く染色されていたが、バンディング・パターンの十分な解明ができなかった。ADH、FEST、LAPなどのバンドは比較的鮮明に染色されたが、ときには不明瞭なケースもあって遺伝的解析は十分に行なえなかった。また、DIAとMDHは鮮明なバンディング・パターンが認められたが、複雑で現在までに遺伝解析が完了していない。明瞭なバンディング・パターンはGPI、PGM、IDH、FDH及びSODで認められた。そこで以後、これらの5つのアイソザイムについて検討を行なう。GPI、PGM及びIDHのアイソザイム分析は、水平式デンブンゲル電気泳動法を用いた。

他方、FDHとSODのアイソザイム分析には、スラブ式アクリルアミド法を用いた。デンブングゲルの場合、トリス/クエン酸緩衝液 (Wendel and Parks 1982) を用い、ゲル中に粗抽出液を含んだウイックを挿入した。電気泳動はGPI、PGM酵素については、10ワットで8時間、IDH酵素については15時間、4℃の泳動条件下で行なった。陽極側のゲルを1mmの厚さにスライスしたあとで、各々の酵素について活性染色を行った。アクリルアミドゲルの場合、4℃でゲル1枚当たり20mAの定電流条件で終点まで約7時間泳動を行なったのち、各々の酵素について染色を行なった。

### (3) 推定遺伝子座の命名 (GPI、PGM、IDH、SOD、FDH)

最も陽極側に移動するバンド群 (アイソザイム) を支配する推定遺伝子座 (putative gene locus) を1とし、以下陰極側に向かって2、3とした。同様に、個々の推定遺伝子座において、最も陽極側に移動するアイソザイムを支配する対立遺伝子をaとし、以下順次に陰極側に向かってb、c、d、・・・とした。

## 3. 結果及び考察

多彩な種、品種及び交配した雑種実生を供試して、電気泳動を行なった結果、明瞭なバンディング・パターンが得られた5酵素、GPI、PGM、IDH、FDH、SODについて多型を示すことと1~3遺伝子座にアイソザイム変異があることが明らかになった。同一品種内においては、これらのアイソザイムには季節的変化も栽培地域における変化も認められなかった。以下、各酵素について得られた結果を記述する。

### (1) GPI

最初に二倍体を供試してアイソザイム解析を行なったところ、二つの酵素活性領域が認められた。そこでこの活性領域をそれぞれPGI-1とPGI-2と命名した。PGI-1は供試品種間に変異が認められず、全て原点から9cmの位置にバンドが出現した。茎頂部の二倍体組織でアイソザイム分析調査を行なった場合、PGI-2には明確な変異が認められ、1本または3本のバンディング・パターンを確認した。3本のバンドの中間に位置するバンドは、両端の2本バンドより濃く染色される酵素活性を認めており、花粉の粗抽出液には中間のバンドは出現しなかった。また、3倍体胚乳の粗抽出液を電気泳動した場合、PGI-2領域には1本または3本のバンドが出現し、3本のバンディング・パターンにはさらに二つのバンディング・パターン、すなわち陽極側のバンドが濃く染色される場合と、陰極側のバンドが濃く染色する場合に分けられた。これらはPGI-2が二量体の酵素であることを示唆する。なお、PGIには各々のバンドから陽極側に向かって約5mmの間隔で淡いバンドが出現した (図1)。このバンドがブドウ樹の中で比較的老化した組織において濃く出現する傾向を認め、花粉、胚乳、茎頂部組織のアイソザイム分析ではほとんどバンドを確認できなかったことから、組織の老化あるいは抽出過程において生じるアイソザイムの副産物であると考えられる。100種類以上のブドウについて電気泳動分析調査した結果、PGI-2に関しては13のホモダイマーのアイソザイムを確認した。これらのアイソザイムの泳動距離とそれらを支配する遺伝子を図2に示す。交雑実生を用いたPGI-2の表現型の解析により、PGI-2は1遺伝子座 *Pgi-2* に支配されていることが明らかになった (表1)。いずれの交配組合せにおいても表現型の分離比と期待値とが、5%水準で有意差がなかったことから、*Pgi-2* には少なくとも13の対立遺伝子があることが確認された。

### (2) PGM

PGIと同様に二倍体のブドウ品種を用いてアイソザイム分析調査した場合、陽極側に全てのブドウ品種で二つの活性領域が認められ、同一品種におけるブドウ樹の組織部位による変異や季節的変異は認められなかった。陽極側の領域 (PGM-1) には3~5本の不明瞭なバンドが出現し、陰極側に近い領域 (PGM-2) には1本または2本のバンドが出現し (図3)、両領域ともブドウ品種によってバンディング・パターンが異なった。同一品種の花弁と二倍体ブドウ品種組織には全く同じバンディング・パターンを認めた。胚乳には1本または2本のバンドを認めたが、2本のバンディング・パターンは陽極側のバンドが濃く染色する場合と陰極側のバンドが濃く染色する場合との二つのパターンに分けられた。これらはPGMが単量体酵素であることを示唆する。

ブドウ品種をPGIと同様に電気泳動によるアイソザイム分析調査した結果、PGM-2に関して11のホモのアイソザイムが認められた (図4)。しかし、PGM-1は解析が困難であった。PGM-2におけるアイソザイムの泳動距離と想定した対立遺伝子を図4に示す。各交配組合せのF<sub>1</sub>及び胚乳における表現型の分離から、PGM-2はWeedenら (1988) が示唆したように *pgm-2* に支配されていることが明らかになった (表2)。なお、連鎖テストから *Pgm-2* と *Gpi-2* は連鎖していないことを確認した。

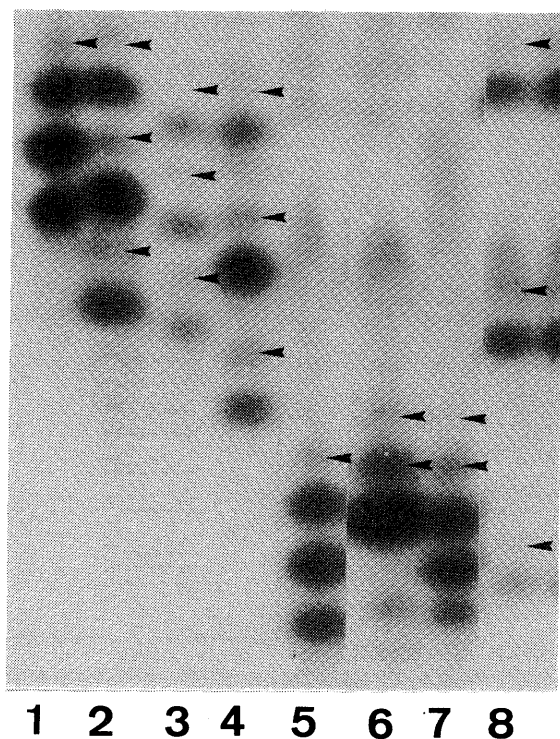


図1 二倍体品種におけるGPIの泳動写真 1. 'Jessica'; 2. 'Alicante-Bouschet'; 3. 'Mills'; 4. 'Russkij Concord'; 5. 'Empire State'; 6. 'St. George'; 7. 'Salt Creek'; 8. 'Delaware'  
矢印は陰影バンドを表わす

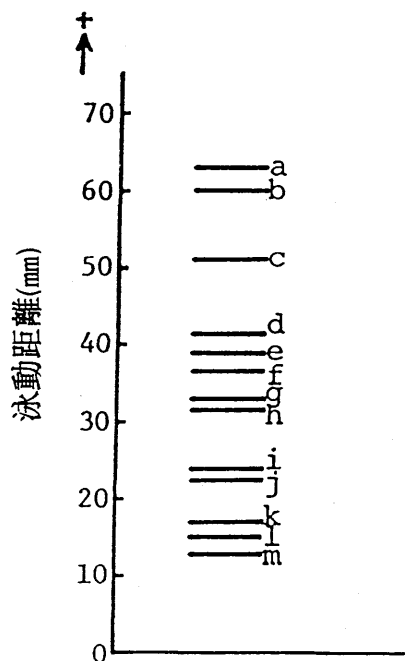


図2 *Gpi-2*におけるホモダイマーバンドのゲル上での位置とそれに対応する対立遺伝子

表1 *Gpi-2* におけるF1実生のメンデル遺伝への適合性の検定

交配組合せ	推定した 交配親の遺伝子型	F1実生の 遺伝子型	期待比	$\chi^2$	P
Alicante Bouschet × Flame Tokay	ad × bb	24ab : 34bd	1 : 1	1.72	0.20-0.10
Alicante Bouschet × Schuylar	ad × bi	10ab : 11ai : 11bd : 17di	1 : 1 : 1 : 1	2.51	0.50-0.30
Chasslas Rose × Schuylar	aa × bi	24ab : 34ai	1 : 1	1.72	0.20-0.10
Queen × Thompson Seedless	aa × ad	25aa : 28ad	1 : 1	0.17	0.70-0.50
マスカットベリー-A × マスカットベリー-A	aj × aj	25aa : 44aj : 20jj	1 : 2 : 1	0.57	0.80-0.70
マスカットベリー-A × Russkij Concord	aj × bg	20ab : 24ag : 16bj : 23gj	1 : 1 : 1 : 1	1.87	0.70-0.50
Mills × Mills	be × be	12bbb : 15bbe : 13bee : 10eee*	1 : 1 : 1 : 1	1.04	0.80-0.70
ベリーアlicantA × SO4	hi × ii	60hi : 51ii	1 : 1	0.72	0.50-0.30
Campbell Early × <i>V. aestivalis</i>	ci × jj	37cj : 39ij	1 : 1	0.05	0.90-0.70
北カヤマ × <i>V. coriacea</i>	ad × dj	22ad : 20dd : 15aj : 12dj	1 : 1 : 1 : 1	3.59	0.30-0.20

\* 胚乳

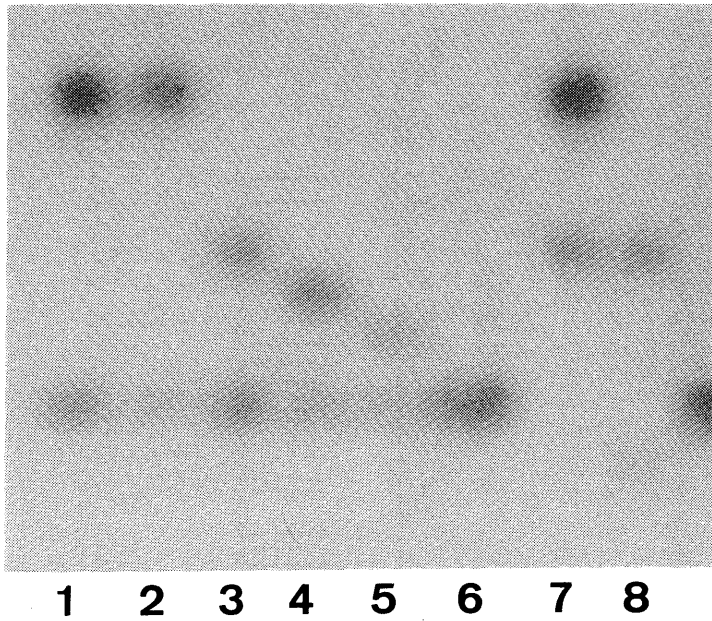


図3 二倍体品種におけるPGMの泳動写真 1. 'Wayne'; 2. 'Diana'; 3. 'Jessica'; 4. 'Dr. Collier'; 5. 'Portland'; 6. 'Schuyler'; 7. 'Malbec'; 8. 'Scarlet'

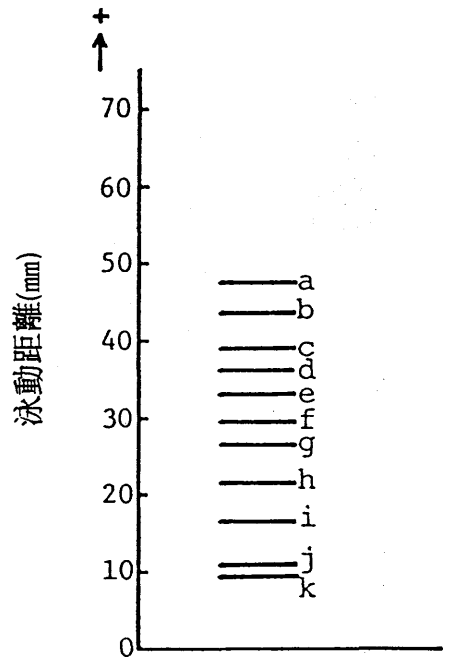


図4 Pgm-2におけるホモモノマーバンドのゲル上での位置とそれに対応する対立遺伝子

表2 Pgm-2 におけるF1実生のメンデル遺伝への適合性の検定

交配組合せ	推定した 交配親の遺伝子型	F1実生の 遺伝子型	期待比	$\chi^2$	P
Alicante Bouschet × Flame Tokay	bd × bi	14bb : 16bd : 18bi : 10di	1 : 1 : 1 : 1	2.41	0.50-0.30
Alicante Bouschet × Schuyler	bd × hh	22bh : 27dh	1 : 1	0.51	0.50-0.30
Chasslas Rose × Schuyler	be × hh	29bh : 29eh	1 : 1	0.00	0.99
Queen × Thompson Seedless	ii × ii	53ii	—	—	—
マスカット・リ-A × マスカット・リ-A	fi × fi	29ff : 42fi : 18ii	1 : 2 : 1	3.00	0.30-0.20
マスカット・リ-A × Russkij Concord	fi × ch	17cf : 24ci : 22fh : 20hi	1 : 1 : 1 : 1	1.29	0.80-0.70
Mills × Mills	bi × bi	19bbb : 11bbi : 12bii : 8iii*	1 : 1 : 1 : 1	5.20	0.20-0.10

\* 胚乳

### (3) IDH

ブドウ品種によるバンディング・パターンの相違が認められ、2本と4本、または6本のバンドが出現した(図5)。6本のバンディング・パターンを認めたブドウ台木品種‘Couderc 1202’の自家交配の場合 $F_1$ は2本または6本のバンディング・パターンを認め、4本のバンディング・パターンの‘Delaware’と‘Empire State’との交配組合せの場合、 $F_1$ は2本あるいは4本のバンディング・パターンを認めた。

また、2本のバンディング・パターンの‘ベリ-アlicant A’に4本のバンディング・パターンの疫性台木品種‘SO4’を交配した場合、 $F_1$ は6本のバンディング・パターンを認め、種子親の2本のバンドを全ての実生が有していた。また、これらの $F_1$ には花粉親の4本のバンドのうち陽極側の2本あるいは陰極側の2本バンドが出現し、中間領域に交配親の2品種には認められなかった2本のバンドが出現した。これらのことから、IDHアイソザイムはホモ固体でホモダイマーバンドを2本持つ二量体酵素であることが明らかになり、この領域を $Idh-1$ と命名した。なお、4本のバンディング・パターンを認める‘Delaware’、‘Empire State’及びそれらの $F_1$ では、ホモダイマーバンドが1本とヘテロダイマーバンド2本とが重複しているものとする。

また、100種類以上のブドウ品種及び野生種について分析調査した結果、IDH-1は8本のホモダイマーバンドが存在することが明らかになった。各交配組合せの $F_1$ における表現型の分離から、IDH-1は1遺伝子座( $Idh-1$ )に支配されていることが明らかになった(表3)。これらのホモダイマーバンドの位置と対応する対立遺伝子を図6に示す。

### (4) SOD

供試した全てのブドウ品種に3活性領域が認められ、それぞれの領域で1本または3本のバンディング・パターンが認められた(図7)。ただし、3本あるいは1本のバンドのさらに陽極側に近い領域現することから、陰影バンドであると考え。1本あるいは3本のバンディング・パターンを確認したブドウ品種間の交配によって作出された $F_1$ が、三つの活性領域のいずれの領域においても1本あるいは3本のバンディング・パターンを認めたことから、SODは二量体酵素であることが明らかとなった。また、それぞれ二量体をつくるこれらの領域を、SOD-1、SOD-2、SOD-3と命名した。各交配組合せの $F_1$ における表現型の分離からSOD-1、SOD-2及びSOD-3は、それぞれ遺伝子座( $Sod-1$ ,  $Sod-2$ ,  $Sod-3$ )に支配されていることが明らかになった(表4)。

100種類以上のブドウ品種において分析調査した結果、 $Sod-1$ には3個、 $Sod-2$ には4個、そして $Sod-3$ には3個のホモダイマーバンドの存在を確認した。これらのホモダイマーバンドの相対移動度と対応する対立遺伝子を図8に示す。

### (5) FDH

電気泳動分析調査に供試したブドウ品種によるバンディングパターンの相違が認められ、1本あるいは3本のバンドを泳動像上に認めた(図9)。 $F_1$ の交雑実生においても1本あるいは3本のバンドが分離することから、FDHは二量体酵素であることが明らかになった。各交配組合せの $F_1$ における表現型の分離からFDHは、1遺伝子座( $Fdh-1$ )に支配されていることが明らかになった(表5)。

100種類以上のブドウについて分析調査した結果、 $Fdh-1$ には6個のホモダイマーバンドの存在を確認した。これらのホモダイマーバンドの相対移動度と対応する対立遺伝子を図10に示す。

## II、ブドウ品種の遺伝子型と品種同定

### 1. 目的

ブドウ栽培の歴史はかなり古く、5,000 ~ 6,000年前に始まった。この長い栽培期間に2万数千にのぼる品種が選抜・育成されている。これらの中には優秀な品種をもとにした育種が行なわれたために、形態的に類似する品種群が多数存在し、形態のみでは識別不可能な品種群も多い。しかも、形態的特色は、環境条件により変異するものもある。従来、ブドウ品種は主に形態的特徴によって区別されてきたが、識別困難な場合が多くなりより正確な識別方法の確立が望まれている。アイソザイムによる品種や固体の識別は多くの作物で成果を得ているが、特にブドウの場合、栄養繁殖作物であり、より有効な識別手段になることが期待されている。また、アイソザイムによるブドウ遺伝子型の解明は、品種の同定のみならず、育種的並びに系統発生的研究にも有効な手段となるものとする。そこで、本研究では明らかにした2酵素の2遺伝子座及び3酵素の5活性領域について数多くのブドウ品種の遺伝子型を解析した。

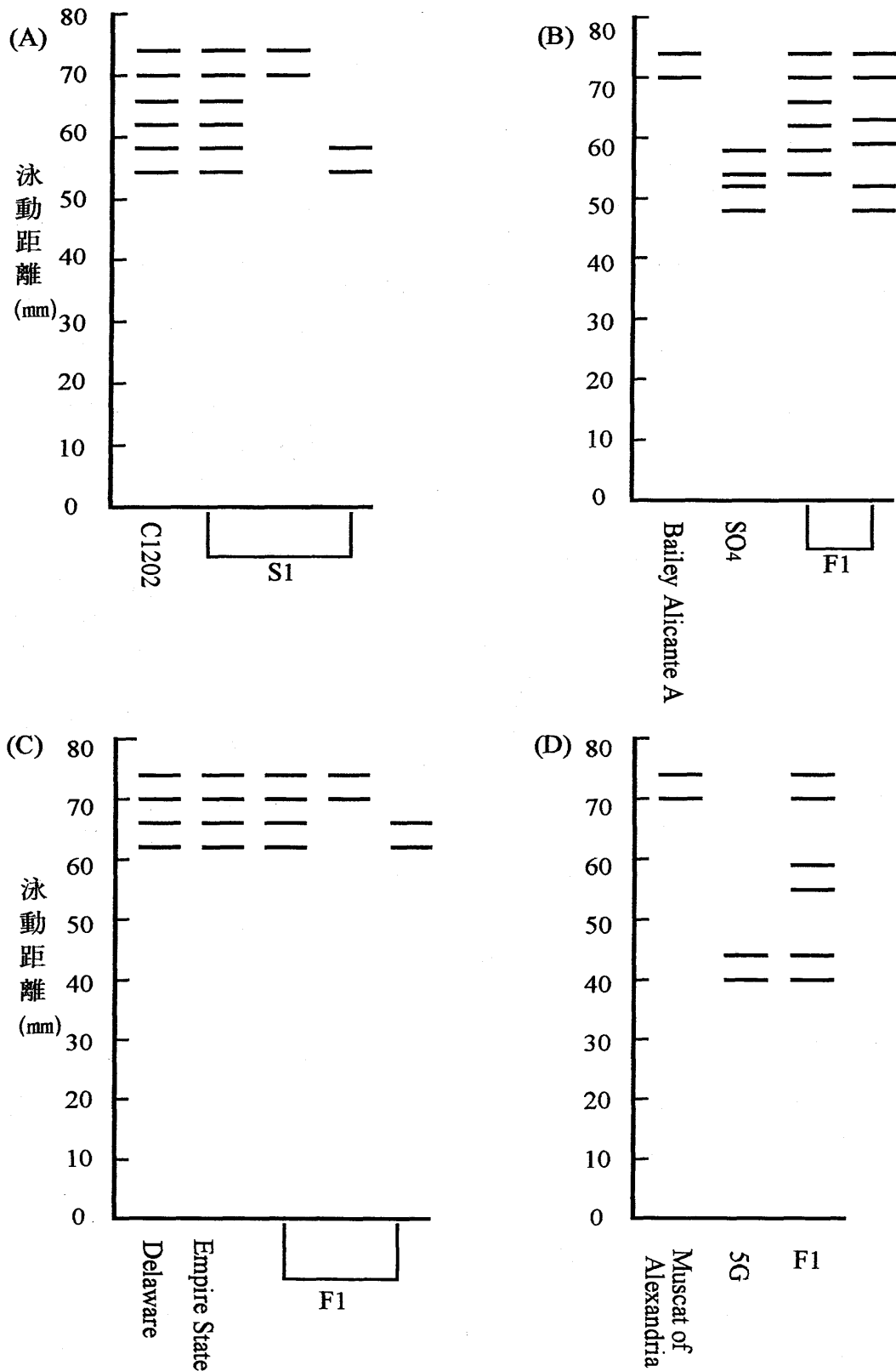


図5 交配親及び交雑実生におけるIDHの泳動像  
 A, 'C1202'の自家交配; B, 'Bailey Alicante A' × 'SO4';  
 C, 'Delaware' × 'Empire State'; 'Muscat of Alexandria' × '5G'

表3 *Idh-1* に関する表現型の分離検定

交配組合せ	両親の表現型*	F1個体の表現型			期待値	$\chi^2$	P
		(実生の個体数)					
Delaware×Empire State	74,70/66,62×74,70/66,62	74,70:74,70/66,62:66,62	1:2:1	3.48	0.30—0.10		
		(16) (18) (15)					
C1202×C1202	74,70/58,54×74,70/58,54	74,70:74,70/58,54:58,54	1:2:1	1.37	0.70—0.50		
		(12) (18) (7)					
ペリリカントA×SO4	74,70×58,54/52,48	74,70/58,54:74,70/52,48	1:1	1.06	0.30—0.10		
		(42) (52)					
Campbell Early×V.aestivalis	74,70×49,45/44,40	74,70/49,45:74,70/44,40	1:1	0.01	0.99—0.90		
		(37) (38)					
Muscat of Alexandria×5G	74,70×44,40	74,70/44,40	—	—	—		
		(51)					

\*数値はホモダイマーと推定したバンドのみの移動距離を表わし、異なるホモダイマーバンド間に出現するヘテロダイマーと推定したバンドの移動距離は表現型から省略した。

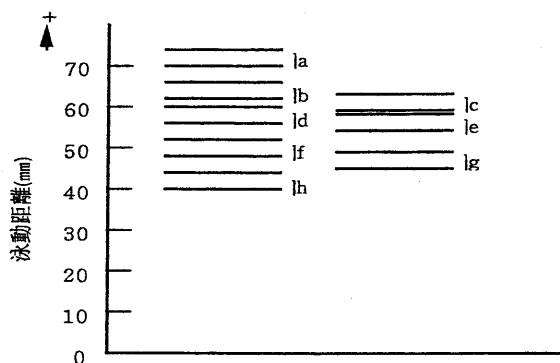


図6 *Idh-1* におけるホモダイマーバンドのゲル上での位置とそれに対応する対立遺伝子

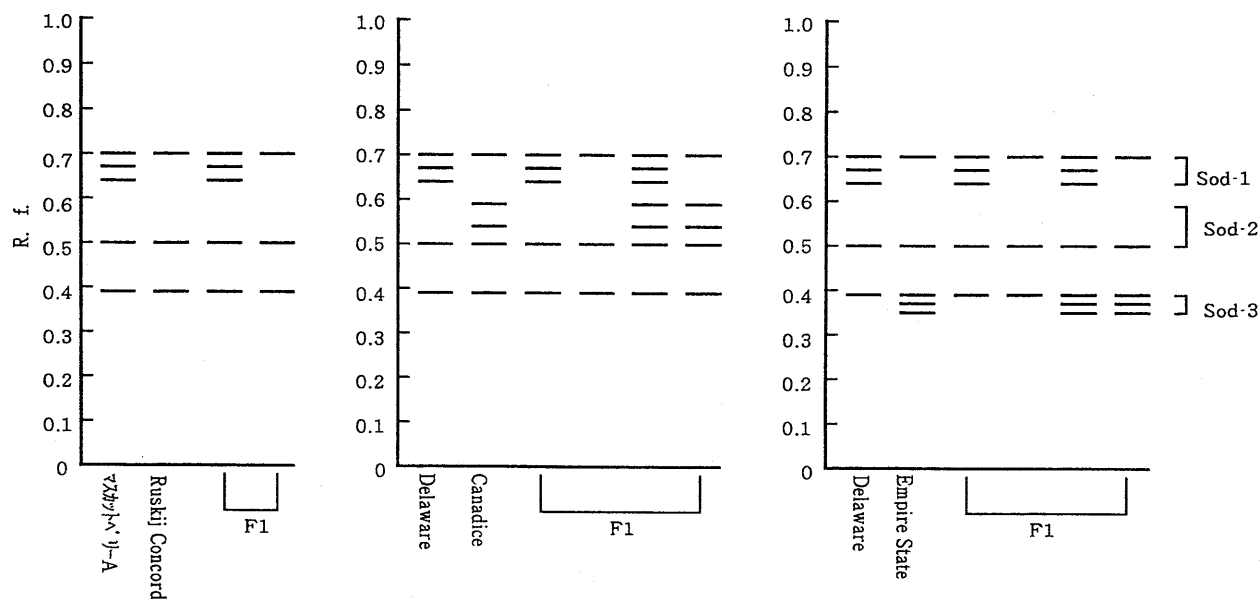


図7 交配親及び交雑実生におけるSODの泳動像



表4 Sod-1, Sod-2, Sod-3 に関する表現型の分離検定

遺伝子座	交配組合せ	両親の表現型*	F1個体の表現型		$\chi^2$	P
			(実生の個体数)	期待値		
Sod-1	マスカット <sup>+</sup> リ-A×Russkij Concord	0.70/0.64×0.70	0.70/0.64 : 0.64 (41) (30)	1 : 1	1.70	0.30—0.10
	Delaware×Canadice	0.70/0.64×0.70	0.70/0.64 : 0.64 (17) (15)	1 : 1	0.12	0.90—0.70
	Delaware×Empire State	0.70/0.64×0.70	0.70/0.64 : 0.64 (14) (11)	1 : 1	0.36	0.70—0.50
	Delaware×スターレド <sup>+</sup>	0.70/0.64×0.70	0.70/0.64 : 0.64 (17) (19)	1 : 1	0.11	0.90—0.70
Sod-2	Delaware×Canadice	0.50×0.59/0.50	0.59/0.50 : 0.50 (18) (14)	1 : 1	0.50	0.50—0.30
Sod-3	Delaware×Empire State	0.39×0.39/0.35	0.39/0.35 : 0.35 (13) (12)	1 : 1	0.04	0.90—0.70

\* 数値はホモダイマーと推定したバンドのみのR.f値を表わし、ヘテロと推定したダイマーバンドのR.f値は表現型から省略した。

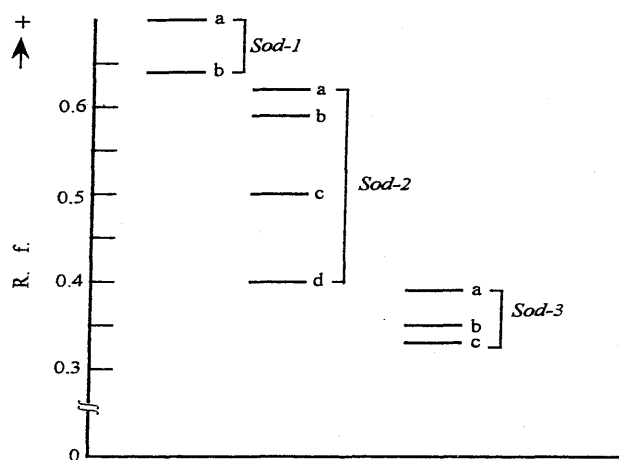


図8 Sod-1, Sod-2, Sod-3におけるホモダイマーバンドのゲル上での位置とそれに対応する対立遺伝子

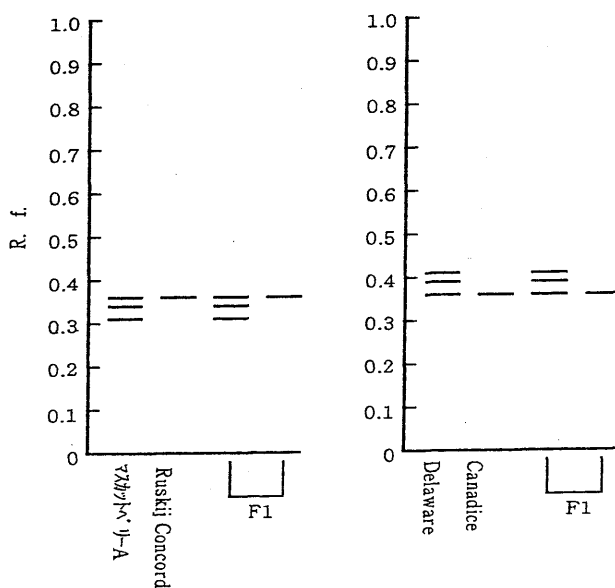


図9 交配親及び交配実生におけるFDHの泳動像

表5 *Fdh-1* に関する表現型の分離検定

交配組合せ	両親の表現型*	F1個体の表現型 (実生の個体数)	期待値	$\chi^2$	<i>P</i>
マスカットベリーA×Russkij Concord	0.36/0.31×0.36	0.36/0.31 : 0.36 (17) (13)	1 : 1	0.53	0.50—0.30
Delaware×Canadice	0.41/0.36×0.36	0.41/0.36 : 0.36 (14) (18)	1 : 1	0.50	0.50—0.30
Delaware×Empire State	0.41/0.36×0.36	0.41/0.36 : 0.36 (14) (11)	1 : 1	0.36	0.70—0.50
Delaware×スターレッド	0.41/0.36×0.36	0.41/0.36 : 0.36 (20) (16)	1 : 1	0.44	0.70—0.50

\*数値はホモダイマーと推定したバンドのみのR.f.値を表わし、異なるホモダイマーバンド間に出現するヘテロダイマーと推定したバンドのR.f.値は表現型から省略した。

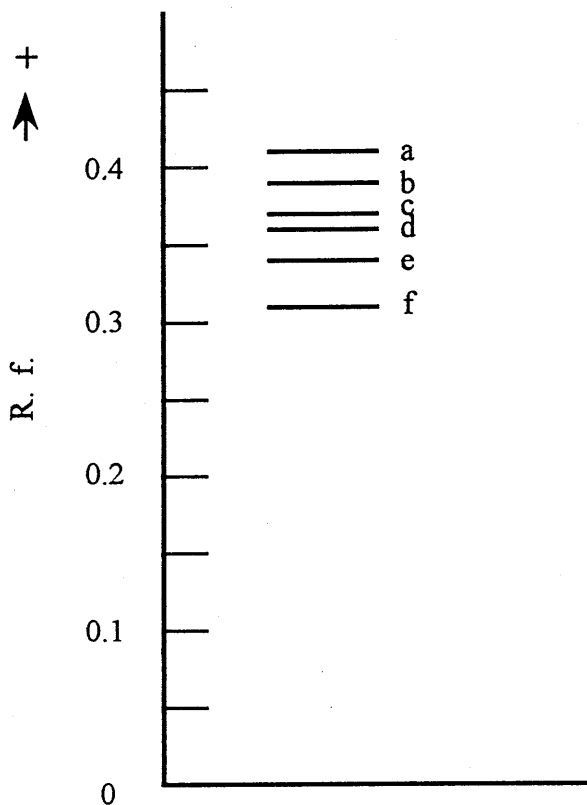


図10 *Fdh-1*アイソザイムにおけるホモダイマーバンドのゲル上での位置とそれに対応する対立遺伝子

## 2. 材料及び方法

九州大学農学部附属農場、福岡県総合農業試験場園芸研究所及び農林水産省果樹試験場安岐津支場に栽植保存されているブドウ品種151種類を供試した。複雑なバンディング・パターンを示す四倍体品種については、二倍体品種と交配して得られた三倍体実生を解析材料として供試した。これら全ての材料の茎頂部を採取し、上述5酵素のアイソザイム分析に用いた。

## 3. 結果及び考察

(1) 二量体酵素； a. 二倍体品種 約200のブドウ品種・系統について調査をおこなったところ、異なるバンディング・パターンは GPI-2 で32、PGM-2 で23、IDH-1 で10、SOD-1 で 2、SOD-2で4、SOD-3 で 3、FDH-1 で 4出現した。図 2,4,6,8,10に示すアイソザイムの電気泳動距離を基準にしてこれらのバンディング・パターンから各遺伝子座における遺伝子型を読み取った。解読の困難な場合は再泳動分析を行うことと、指標となるアイソザイムを含む品種の粗抽出液と混合して電気泳動を行い、正確な遺伝子座の解読に努めた。

b. 三倍体及び四倍体品種 四倍体品種の場合、1本、6本及び10本のバンドが出現する場合は、零式型、三対立遺伝子型及び四対立遺伝子型の遺伝子型を有すると考える。一方、3本のバンディング・パターンは単式型あるいは複式型の三倍体品種のダイマー酵素で1本、3本及び6本のバンドが出現する場合、これらは順次零式型、単式型及び三対立遺伝子型の遺伝子型を有すると考える。

Gpi-2に関して、bb の遺伝子型を持つ ‘Muscat of Alexandria’ と8本のバンディング・パターンを示す ‘巨峰’ を交配した三倍体の F<sub>1</sub> において、1個体は単式の遺伝子型を示す3本のバンディング・パターンを、他の1個体は5本のバンディング・パターンを示した (図11)。アイソザイムバンドの移動距離と遺伝子の遺伝子量効果を考慮に入れると、ホモダイマーバンド dd とヘテロダイマーバンド bi がゲルで重複していることが明らかとなった。このために三倍体の1個体は5本のバンディング・パターンを示し、‘巨峰’ は8本のバンディング・パターンを示したことが明らかになり、‘巨峰’ の Gpi-2 の遺伝子型は bcdi と決定された。

以上の結果を1～8本のバンディング・パターンを示す四倍体 (図12) 及び三倍体品種に応用し、それぞれの品種の二量体酵素の遺伝子型を決定した。なお、四倍体品種の花粉の電気泳動像が葉の電気泳動像のものと同じ濃度比を持つ3本のバンドを示す場合、容易に複式の遺伝子型を有することが確認された。

(2) 単量体酵素； a. 二倍体品種 単量体酵素の場合、重複が全くないために容易に遺伝子型が決定された。 b. 三倍体及び四倍体品種 四倍体品種に出現する1本、3本及び4本のバンディング・パターンは、それぞれ零式、3対立遺伝子式及び4対立遺伝子式の遺伝子型を示し、一方、2本のバンディング・パターンを示す場合、2本が同じ濃度ならば複式、異なる場合ならば単式の遺伝子型を示すと考える。Pgm-2 で bi の遺伝子型を持つ ‘Muscat of Alexandria’ と2本のバンディング・パターンを持つ ‘巨峰’ の F<sub>1</sub> 個体 (三倍体) の一つは3対立遺伝子式の遺伝子型を示す3本のバンディング・パターンを、他の一つは単式の遺伝子型を示す濃度の異なる2本のバンディング・パターンを示した (図13)。これらのことから、三倍体 F<sub>1</sub> 実生遺伝子型は bhi と bhh、‘巨峰’ の遺伝子型は bbhh と決定した。同様な手順で、他の四倍体と三倍体についても、遺伝子型を決定した。

(3) ブドウ品種の遺伝子型： 以上の結果から、決定したブドウ品種の遺伝子型を表6に示した。芽条変異から選抜された品種は、全て同じ遺伝子型を有していた。分析調査した 218 品種中、他の品種には見当たらない独自の遺伝子型を持つ品種は Gpi-2で13、Pgm-2で9、Idh-1で3、Sod-1で0、Sod-2で1、Sod-3で0、Fdh-1で1であった。また、これらの7遺伝子座を通じてみた場合、他の品種と識別可能な独自の遺伝子型を有する品種は145であった。

今後、現在追究中の酵素を支配する推定遺伝子座や対立遺伝子について明らかにすることができれば、アイソザイムの遺伝子型による品種の同定はさらに可能性が高くなるものと考えられる。

## Ⅲ. 雑種性と倍数性の同定

### 1. 目的

前章において、二倍体、三倍体及び四倍体のアイソザイム遺伝子型が、電気泳動距離やドーセイジフェクトにより決定できることを示した。本研究では低頻度で二倍体と四倍体の交配から得られる三倍体雑種のアイソザイムを用いた同定法を明らかにする。

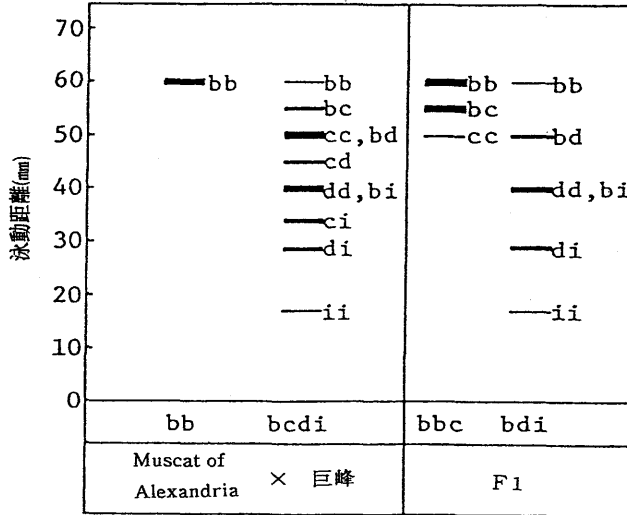


図11 'Muscat of Alexandria'(2X)、'巨峰'(4X)及びこれらの交配によって作出されたF<sub>1</sub>実生(3X)のGPI-2の泳動像及びそれらの遺伝子型

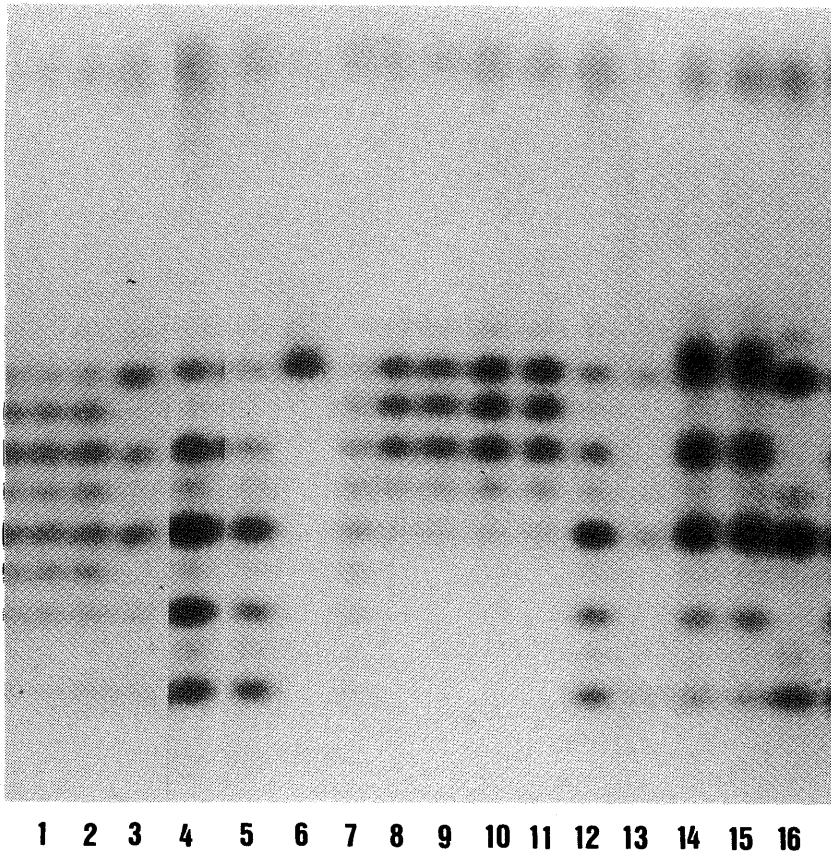


図12 四倍体品種におけるGPIの泳動写真 1. '巨峰'; 2. '高墨';  
3. '白峰'; 4. 'オリーブ'; 5. 'レッドクイーン'; 6. 'Cannon Hall Muscat'; 7. 'くろしお';  
8. 'ピオーネ'; 9. '甲斐あかね'; 10. '伊豆錦'; 11. '紅やまびこ'; 12. 'ジャスミン'; 13.  
'紅富士'; 14. '紅伊豆'; 15. '竜宝'; 16. '紅瑞宝'

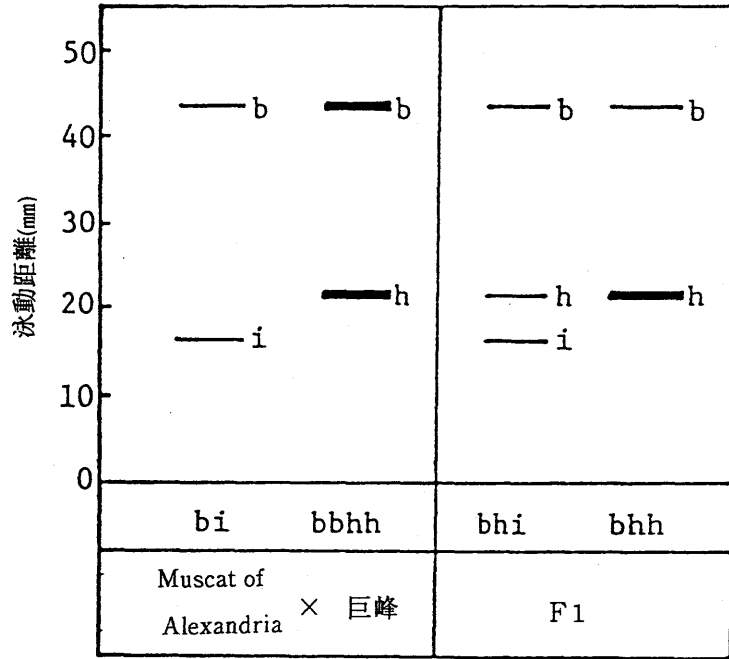


図13 'Muscat of Alexandria'(2X)、'巨峰'(4X)及びこれらの交配によって作出された F<sub>1</sub>実生(3X)のPGM-2の泳動像及びそれらの遺伝子型

表6 ブドウ品種及び選抜系統の遺伝子型

品種及び選抜系統	遺伝子型*							種名***
	<i>Gpi-2</i>	<i>Pgm-2</i>	<i>Idh-1</i>	<i>Sod-1</i>	<i>Sod-2</i>	<i>Sod-3</i>	<i>Fdh-1</i>	
欧州系								
Semillon	—	—	—	—	—	—	df	Vin.
京早昌	aa	aa	bb	aa	—	—	—	Vin.
Orange Muscat	ab	bb	aa	aa	bb	aa	—	Vin.
Rose Shiota	ab	bf	ab	—	—	—	—	Vin.
Ispisar	ad	be	ab	aa	cc	aa	df	Vin.
Karauzium ashabadskij	ad	hi	aa	—	—	—	dd	Vin.
太玉露	bd	bb	af	aa	cc	aa	dd	Vin.
Petite Verdot	bd	be	bf	—	—	—	df	Vin.
Matrasa	bd	ei	ab	—	—	—	dd	Vin.
Konigin der Weingarten	dd	bb	aa	aa	cc	aa	dd	Vin.
Kara Kaltok	dd	bb	ab	aa	cc	aa	dd	Vin.
Kuldzinskij	dd	ei	ab	aa	bc	aa	df	Vin.
和田紅	dd	ei	ab	aa	bc	aa	df	Vin.
Hongniunai	dd	ii	aa	aa	cc	aa	dd	Vin.
Glenora	di	hi	bb	—	—	—	dd	Vin.
Festviee	ij	bi	ab	aa	cc	aa	df	Vin.
Cabernet Sauvignon	—	—	—	—	—	—	dd	Vin.
京大昌	—	—	—	aa	cc	aa	ad	Vin.
CG 102295(Moscatel)	—	—	—	aa	cc	aa	dd	Vin.
Syrah	—	—	—	aa	cc	aa	dd	Vin.
Venus	—	—	ab	aa	bc	aa	dd	Vin.
Poroj Ozy	—	hh	ab	aa	bc	aa	dd	Vin.
Sabas	—	be	af	aa	bc	aa	dd	Vin.
Chasslas Rose	aa	be	aa	aa	bc	aa	ad	Vin.
Mission	aa	bi	af	aa	cc	aa	dd	Vin.
Avasirrhva	aa	ee	ab	aa	bc	aa	dd	Vin.
Muscat Flame	aa	ii	aa	aa	cc	aa	dd	Vin.
Colombard	ab	bb	aa	aa	cc	aa	dd	Vin.
Black Prince	ab	bb	af	aa	bb	aa	df	Vin.
Sante Million	ab	bh	ab	aa	cc	aa	df	Vin.
July Muscat	ab	bi	aa	aa	bc	aa	dd	Vin.
Muscat Hamburg Seedlir	ab	bi	aa	aa	cc	aa	df	Vin.
Muscat Hamburg	ab	bi	aa	aa	cc	aa	df	Vin.
Muscat Rose	ab	bi	aa	aa	cc	aa	df	Vin.
Almeria	ab	ei	aa	aa	bc	aa	df	Vin.
Gold	ab	ii	ab	aa	bc	aa	dd	Vin.

表6 続き

品種及び選抜系統	遺伝子型							種名
	<i>Gpi-2</i>	<i>Pgm-2</i>	<i>Idh-1</i>	<i>Sod-1</i>	<i>Sod-2</i>	<i>Sod-3</i>	<i>Fdh-1</i>	
Black Baharosa	ad	bb	aa	aa	cc	aa	dd	Vin.
Alicante Bouschet	ad	bd	aa	aa	bc	aa	df	Vin.
Bajansirey	ad	be	aa	aa	bc	aa	dd	Vin.
Bujan sirej	ad	be	aa	aa	bc	aa	dd	Vin.
Ciliaki cernij	ad	be	ab	aa	bc	aa	ad	Vin.
Puhijakoiuskij	ad	be	ab	aa	bc	aa	df	Vin.
Merlot	ad	be	af	aa	bc	aa	ad	Vin.
Muscat de Frontignan	ad	bh	aa	aa	cc	aa	dd	Vin.
Zhengzhouzaosheng	ad	bi	aa	aa	bc	aa	dd	Vin.
CG 90396	ad	bi	aa	aa	cc	aa	dd	Vin.
CG 91560 (Aurora)	ad	bi	aa	aa	cc	aa	dd	Vin.
Nehelescol	ad	bi	aa	aa	cc	aa	dd	Vin.
Cabernet Franc	ad	ee	af	aa	cc	aa	df	Vin.
Monukka	ad	ei	ab	aa	bc	aa	ad	Vin.
Tajifi rozovji	ad	ei	ab	aa	cc	aa	df	Vin.
Muscat Uzbekistankij	ad	hi	aa	aa	cc	aa	df	Vin.
Ruby Okuyama	ad	hi	aa	aa	cc	aa	df	Vin.
太妃	ad	hi	bb	aa	bc	aa	dd	Vin.
Tompson Seedless	ad	ii	bb	aa	bb	aa	dd	Vin.
Chenine Blanc	ah	bb	aa	aa	bc	aa	dd	Vin.
Madeline Angevine	ah	be	ab	aa	cc	aa	dd	Vin.
Malbec	ah	be	af	aa	cc	aa	dd	Vin.
Baco Blanc	ai	be	ab	aa	cc	aa	dd	Vin.
Golden Muscat	ai	hi	ab	aa	cc	aa	dd	Vin.
Red Ohanes	bb	bb	ff	aa	bc	aa	dd	Vin.
Ali tok	bb	be	aa	aa	bc	aa	dd	Vin.
Muscat of Alexandria	bb	bi	aa	aa	bc	aa	df	Vin.
Roode Hanepoot	bb	bi	aa	aa	bc	aa	df	Vin.
呀' 利托' 了コ	bb	bi	aa	aa	bc	aa	df	Vin.
Flame Tokey	bb	bi	aa	aa	cc	aa	dd	Vin.
Emperor	bb	bi	aa	aa	cc	aa	df	Vin.
Ribier	bb	bi	ab	aa	cc	aa	df	Vin.
Alphonse lavallee	bb	bi	ab	aa	cc	aa	df	Vin.
Alexandrouli	bb	bi	af	aa	bc	aa	dd	Vin.
Huangkalasi	bb	ei	aa	aa	cc	aa	dd	Vin.
Black Rose	bb	ii	aa	aa	cc	aa	dd	Vin.
阿布交西	bd	—	af	aa	bc	aa	dd	Vin.

表6 続き

## 遺伝子型

品種及び選抜系統	<i>Gpi-2</i>	<i>Pgm-2</i>	<i>Idh-1</i>	<i>Sod-1</i>	<i>Sod-2</i>	<i>Sod-3</i>	<i>Fdh-1</i>	種名
Dattier	bd	bb	af	aa	cc	aa	dd	Vin.
Rosaki	bd	bb	af	aa	cc	aa	dd	Vin.
Perle von Chaba	bd	be	aa	aa	bb	aa	dd	Vin.
Budesri Tetri	bd	be	aa	aa	bc	aa	ad	Vin.
Anab-e-shabi	bd	be	aa	aa	cc	aa	df	Vin.
Early Muscat	bd	be	ab	—	—	aa	—	Vin.
Katta kurgan	bd	bh	aa	aa	cc	aa	dd	Vin.
Citronnel	bd	bh	ab	aa	bc	aa	dd	Vin.
Borga don	bd	bi	aa	aa	bc	aa	dd	Vin.
Parkent	bd	bi	aa	aa	cc	aa	—	Vin.
CG 88435	bd	bi	ab	aa	bc	aa	dd	Vin.
Cornichon	bd	bi	ab	aa	bc	aa	dd	Vin.
Tavriz	bd	bi	ab	aa	bc	aa	dd	Vin.
白鷄心	bd	bi	ab	aa	bc	aa	dd	Vin.
Soxibi	bd	bi	ab	aa	cc	aa	dd	Vin.
Hussiene	bd	bi	af	aa	bc	aa	dd	Vin.
Borgar	bd	bi	af	aa	cc	aa	dd	Vin.
ルベ・ルマスカト	bd	be	aa	aa	cc	aa	—	Vin.
Hihvi	bd	ee	aa	aa	bc	aa	ad	Vin.
Rose d'Italy	bd	ee	aa	aa	cc	aa	dd	Vin.
Rubired	bd	eh	aa	aa	cc	aa	dd	Vin.
Agadai	bd	ei	ab	aa	bb	aa	ad	Vin.
Black Cornithon	bd	ei	ab	aa	bc	aa	dd	Vin.
Itckimar	bd	ei	ab	aa	cc	aa	ad	Vin.
Kishumishu Rozobij	bd	ei	ab	aa	cc	aa	ad	Vin.
Ruby Seedless	bd	ii	aa	aa	bc	aa	dd	Vin.
Emerald Seedless	bd	ii	ab	aa	bb	aa	dd	Vin.
Argentine Seedless	bd	ii	bb	aa	bc	aa	dd	Vin.
ニコーン	bd	ii	bb	aa	cc	aa	dd	Vin.
Black Damascus	bh	hi	aa	—	—	aa	df	Vin.
Pannonia Kincse	dd	be	aa	aa	bb	aa	dd	Vin.
黒鷄心	dd	be	aa	aa	cc	aa	dd	Vin.
Kali sahebi	dd	be	ab	aa	bc	aa	dd	Vin.
Husaine	dd	be	ab	aa	cc	aa	dd	Vin.
牛ない	dd	be	ab	aa	cc	aa	dd	Vin.
Rish Baba	dd	be	ab	aa	cc	aa	dd	Vin.
竜眼	dd	be	af	aa	bc	aa	dd	Vin.



表6 続き

品種及び選抜系統	遺伝子型							種名
	<i>Gpi-2</i>	<i>Pgm-2</i>	<i>Idh-1</i>	<i>Sod-1</i>	<i>Sod-2</i>	<i>Sod-3</i>	<i>Fdh-1</i>	
ルベカベルネ	dd	bi	aa	aa	bc	aa	dd	Vin.
Acma	dd	bi	bb	aa	bb	aa	dd	Vin.
Delight	dd	bi	ab	aa	cc	aa	—	Vin.
Gudung	dd	ei	ab	aa	bc	aa	ad	Vin.
馬ない	dd	ee	aa	aa	cc	aa	dd	Vin.
Pusa Seedless	dd	ei	aa	aa	bb	aa	dd	Vin.
Baladi	dd	ei	aa	aa	bc	aa	dd	Vin.
ヤトミローザ	dd	ei	aa	aa	bc	aa	df	Vin.
Fenhongtaifei	dd	ei	ab	aa	cc	aa	df	Vin.
Rizamat	dd	ii	aa	aa	cc	aa	dd	Vin.
Khandahar	dd	ii	ab	aa	bc	aa	dd	Vin.
Pinot Noir	dh	be	aa	aa	bb	aa	df	Vin.
Madeline Celine	dh	bh	aa	aa	bc	aa	df	Vin.
Iracema	dh	hi	ab	aa	bc	aa	dd	Vin.
Melon	hh	bb	ab	aa	bc	aa	df	Vin.
Pinot Blanc	hh	bb	ab	aa	bc	aa	df	Vin.
Cannon Hall Muscat	bbbb	bbbi	aaaa	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Vin.
Centennial	bbdd	bbbb	aaff	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Vin.
Ribier 4X	bbbb	bbcc	aabb	aaaa	cccc	aaaa	ddff	Vin.
米国系								
Salt Creek	jl	hk	eh	ab	bc	aa	dd	Champ.
Concord	ij	hh	ab	aa	cc	aa	dd	Lab.
Concord Seedless	ij	hh	ab	aa	cc	aa	dd	Lab.
Portland	ai	gh	aa	aa	cc	aa	dd	Lab. ?
Fredonia	ce	gh	—	—	—	—	—	Lab.
Van Buren	ej	bh	—	—	—	—	—	Lab.
St. George	jj	hh	—	—	—	—	—	Rup.
Wine King	—	—	bh	—	—	—	dd	Aest. Lin. Rup.
Telegraph	—	—	ab	aa	cc	aa	—	Lab. Aest.
Janesville	aa	hh	ab	aa	cc	aa	dd	Lab. Rip.
Dr. Collier	di	fh	ab	ab	cc	aa	dd	Lin., Lab.
Baco Blanc	ai	be	ab	aa	cc	aa	dd	Lab. Rip.
Dog Ridge	ij	hk	fh	ab	cc	aa	dd	Rup. Cand.
C1616	ij	jk	fh	aa	bc	bb	dd	Lon. Rip.
C3306	ij	hj	ff	aa	ac	bb	dd	Rip. Rip.

表6 続き

品種及び選抜系統	遺伝子型							種名
	<i>Gpi-2</i>	<i>Pgm-2</i>	<i>Idh-1</i>	<i>Sod-1</i>	<i>Sod-2</i>	<i>Sod-3</i>	<i>Fdh-1</i>	
SO4	jj	hj	ef	aa	cc	bb	bd	Ber.Rip.
5BB	jj	hh	fh	aa	cc	bb	bd	Ber.Rip.
欧米雑種系								
Hartford	ac	hh	ab	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin.
Ontario	ai	hh	—	aa	cc	aa	—	Lab. Vin.
Iona	ej	bh	bb	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin.
レッド ミルニウム	bj	hi	aa	—	—	—	dd	Lab. Vin.
Adirondac	ac	hh	ab	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin.
Isabella	ad	bh	ab	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin.
Pierce	ad	bh	ab	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin.
笛吹	ae	ii	ab	aa	bc	aa	dd	Lab. Vin.
Athens	ai	gh	ab	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin.
Hanover	aj	bh	aa	aa	cc	aa	—	Lab. Vin.
川上2号	bc	bh	aa	aa	cc	aa	df	Lab. Vin.
Urbana	bd	bb	ab	—	—	aa	—	Lab. Vin.
長竜	bd	ii	aa	aa	cc	aa	df	Lab. Vin.
Triumph	bi	bh	aa	aa	bc	aa	dd	Lab. Vin.
タレット	bi	bh	aa	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin.
Suffolk Red Seedless	cd	hi	ab	aa	bc	aa	dd	Lab. Vin.
Campbell Early	ci	hh	aa	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin.
Brighton	dd	ei	ab	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin.
Highland	di	hh	aa	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin.
Sheridan	di	hh	ab	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin.
Prima Seedless	di	hh	ab	aa	bc	aa	dd	Lab. Vin.
Niagara Rosada	dj	bh	aa	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin.
Bronx Seedless	dj	hi	bb	aa	bc	aa	dd	Lab. Vin.
Niagara	ej	bh	aa	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin.
Red Niagara	ej	bh	aa	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin.
Scarlet	aa	ei	aa	aa	cc	aa	—	Lab. Vin. ?
レッドボート	ac	gh	aa	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin. ?
Patricia	ad	bh	aa	aa	bc	aa	dd	Lab. Vin. ?
Catawba	ae	bh	ab	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin. ?
New Niagara	ai	hh	aa	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin. ?
Seneca	aa	bh	ab	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin. Aest.
Himrod Seedless	ad	hi	—	—	—	—	—	Lab. Vin. Aest.
Romulus	ad	hi	ab	aa	bc	aa	dd	Lab. Vin. Aest.

表6 続き

品種及び選抜系統	遺伝子型							種名
	<i>Gpi-2</i>	<i>Pgm-2</i>	<i>Idh-1</i>	<i>Sod-1</i>	<i>Sod-2</i>	<i>Sod-3</i>	<i>Fdh-1</i>	
Buffalo	bd	bh	ab	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin. Aest.
Canadice	bd	gi	ab	aa	bc	aa	dd	Lab. Vin. Aest.
Wayne	bi	bh	aa	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin. Aest.
Alden	bi	bh	aa	aa	cc	aa	df	Lab. Vin. Aest.
Schuyler	bi	hh	aa	aa	bc	aa	ad	Lab. Vin. Aest.
スターレット	ci	gh	aa	aa	cc	aa	dd	Lab. Aest. Vin.
Winchell	di	bh	bb	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin. Aest.
Steuben	di	bh	aa	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin. Aest.
Yates	di	hi	aa	aa	cc	aa	—	Lab. Vin. Aest.
安芸シードレス	dj	fh	ab	aa	bc	aa	df	Lab. Vin. Aest.
Diana	ej	bh	ab	aa	bc	aa	dd	Lab. Vin. Aest. ?
Muscade Toparse	di	bh	aa	ab	bb	aa	dd	Lab. Vin. Aest. Linc.
紅南陽	ak	eh	ab	ab	cc	aa	ad	Lab. Vin. Bourq.
Delaware	ak	eh	ab	ab	cc	aa	ad	Lab. Vin. Bourq.
献上デラ	ak	eh	ab	ab	cc	aa	ad	Lab. Vin. Bourq.
太平デラ	ak	eh	ab	ab	cc	aa	ad	Lab. Vin. Bourq.
Headlight	ak	hh	ab	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin. Bourq.
間瀬70B	di	hi	bb	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin. Bourq.
ネオアリカント	jk	ef	ab	aa	bc	aa	dd	Lab. Vin. Bourq. Linc.
マスクットベリーA	aj	fi	aa	ab	cc	aa	df	Lab. Vin. Linc.
Big Extra	bd	gh	ab	aa	bc	aa	dd	Lab. Vin. Linc.
ブラックウイン	bj	gh	ab	aa	bc	aa	dd	Lab. Vin. Linc.
ベリーアリカントA	hi	bf	aa	aa	bb	aa	df	Lab. Vin. Linc.
Jessica	ac	eh	bb	aa	cc	aa	dd	Lab. Vin. Rip.
Empire State	im	hh	ab	aa	cc	ab	dd	Lab. Vin. Vulp.
S 9110	aj	hi	ab	aa	cc	aa	df	Lab. Rip. Rup. Linc. Cine. Vin.
SV-20-365	—	—	aa	aa	bc	aa	df	Lab. Rip. Rup. Linc. Cine. Vin.
SV-12-375	—	—	ab	aa	cc	aa	df	Lab. Rip. Rup. Linc. Cine. Vin.
S-8745	dj	bb	ab	—	—	—	—	Lab. Rip. Rup. Linc. Cine. Vin.
S-2653	dj	bh	—	—	—	—	dd	Lab. Rip. Rup. Linc. Cine. Vin.
S-10076	dd	hh	ab	aa	bc	aa	dd	Lab. Rip. Rup. Linc. Cine. Vin.
S 13053	ij	hh	ah	aa	cc	bb	dd	Lab. Rip. Rup. Linc. Cine. Vin.
キングデラ	abk	beh	aab	aab	ccc	aaa	aaf	Lab. Vin. Bourq.
ホワイトシードレス	—	—	—	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Lab. Vin.
黒瞳	—	—	—	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Lab. Vin.

表6 続き

品種及び選抜系統	遺伝子型							種名
	<i>Gpi-2</i>	<i>Pgm-2</i>	<i>Idh-1</i>	<i>Sod-1</i>	<i>Sod-2</i>	<i>Sod-3</i>	<i>Fdh-1</i>	
ハニーレッド	aadi	bhhh	aaaa	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Lab. Vin.
紅伊豆	abdi	bhhi	abfb	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Lab. Vin.
竜宝	abdi	bhhi	abfb	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Lab. Vin.
伊豆錦	bbcd	bbhh	aaaa	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Lab. Vin.
ピオネ	bbcd	bhhh	aaaa	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Lab. Vin.
甲斐あかね	bbcd	bhhh	aaaa	aaaa	cccc	aaaa	—	Lab. Vin.
高尾	bbci	bbbh	aaaa	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Lab. Vin.
くろしお	bbdi	bbhh	aaaf	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Lab. Vin.
白鳳	bbdi	bbhh	aaff	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Lab. Vin.
紅瑞宝	bbii	bhhi	aabb	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Lab. Vin.
紅富士	bbii	bhhi	abfb	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Lab. Vin.
ブラックオリンピア	bcdi	bbhh	aaaf	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Lab. Vin.
巨峰	bcdi	bbhh	aaaf	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Lab. Vin.
Niagara Maraberha	bcdi	bbhh	aaaf	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Lab. Vin.
高墨	bcdi	bbhh	aaaf	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Lab. Vin.
オリンピア	bdi	bbbh	aaaf	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Lab. Vin.
紅十和田	bdi	bbhh	aaaa	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Lab. Vin.
ジャズミン	bdi	bhhh	aaaa	aaaa	cccc	aaaa	aaaa	Lab. Vin.
早生キャンベルアーリー	ccii	hhhh	aaaa	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Lab. Vin.
Niabell	ceij	bhhh	aaaa	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Lab. Vin.
紅やまびこ	bbcd	bbhh	aaaa	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Lab. Vin.
レッドクイン	bdi	bbbh	aaaf	aaaa	cccc	aaaa	dddd	Lab. Vin.
マスカットベリーA 4X	aaaj	ffii	aaaa	aabb	aabb	aaaa	ddff	Lab. Vin. Linc.
欧州-東アジア雑種系								
Bujtar	ad	be	aa	aa	bc	aa	dd	Vin. Amur.
Beichun	bd	bc	—	—	—	—	—	Vin. Amur.
米国-東アジア雑種系								
Ruskij Concord	bg	ch	ad	aa	cc	aa	dd	Lab. Amur.
未確認雑種**								
材マスカット	ab	bb	ad	aa	cc	aa	df	Vin. ?
甲州ルシャン	ad	bc	ad	aa	cc	aa	dd	Vin. ?
甲州三尺	ae	bb	ad	aa	cc	aa	dd	Vin. ?
甲州	ae	bc	ad	aa	cc	aa	dd	Vin. ?
リースクングフォルテ	ah	bb	ad	aa	cc	aa	df	Vin. ?

表6 続き

品種及び選抜系統	遺伝子型							種名
	<i>Gpi-2</i>	<i>Pgm-2</i>	<i>Idh-1</i>	<i>Sod-1</i>	<i>Sod-2</i>	<i>Sod-3</i>	<i>Fdh-1</i>	
甲州セミヨシ	ah	be	aa	aa	cc	aa	df	Vin. ?
リースリク'リオン	ah	be	aa	aa	cc	aa	df	Vin. ?
甲斐路	bb	bb	aa	aa	cc	aa	dd	Vin. ?
赤嶺	bb	bb	aa	aa	cc	aa	dd	Vin. ?
マスカット甲府	bb	bb	aa	aa	cc	aa	df	Vin. ?
マリア	bd	bi	aa	aa	cc	aa	dd	Vin. ?
紅三尺	be	bb	ad	aa	cc	aa	dd	Vin. ?
カベルネリオン	eh	be	aa	aa	cc	aa	dd	Vin. ?
巨磨セミヨシ	eh	bb	aa	aa	cc	aa	dd	Vin. ?
巨磨光	eh	be	aa	aa	cc	aa	dd	Vin. ?
モルゲンシェーン	bd	bi	aa	aa	cc	aa	dd	Vin. ?
ヒロハンブルク	bb	bb	—	aa	bc	aa	dd	Vin. ?
不詳								
白玉	ab	be	aa	aa	cc	aa	dd	
Seibian	ae	bb	ab	aa	cc	aa	—	
Summit	—	—	ab	aa	cc	aa	df	
Profusion	ac	bh	ab	aa	cc	aa	dd	
Favorite	ad	bb	ab	aa	bc	aa	df	
Serecsija	ad	bb	af	aa	bc	aa	ad	
Pottedole	ae	bh	ab	aa	cc	aa	dd	
希望	bb	bb	aa	aa	cc	aa	dd	
Pobeda	bb	bi	aa	aa	bc	aa	df	
Halili sev	bb	bi	ab	aa	cc	aa	df	
Hardzy	bd	bi	aa	aa	bc	aa	dd	
Mcvane	bj	be	af	aa	cc	aa	dd	
Gibrid 217	dj	be	aa	aa	cc	aa	dd	
Siegfridrebe	gi	eg	ah	aa	cc	ab	df	
Arbfa	ji	hh	af	aa	cc	aa	dd	

\* —は未調査

\*\* 甲州又は甲州三尺及びそれらを交配親に用いた品種群を表わす

三倍体雑種の判別は、二倍体雑種と同様に形態形質による判断は難しく、困難である。果実が得られる樹齢(播種後2~4年目)に達すれば極低稔性を示すことにより三倍体であることが推定し得るが、雑種性の判断は難しい。また、三倍体であることは、若い実生の染色体調査により、早期に判断できるが、この方法でも雑種性までは言及できないし、染色体調査そのものも熟練と時間を要する。従って、アイソザイムによる交配実生の雑種性と倍数性の同定は有効な方法として期待される。

## 2. 材料及び方法

三倍体雑種作出のために二倍体6品種、'Delaware'、'マスカットベリー A'、'Muscat of Alexandria'、'ネオマスカット'、'Rizamat'、'赤嶺'と四倍体4品種、'Cannon Hall Muscat'、'巨峰'、'レッドパール'、'由布'を用いた。これらの二倍体と四倍体品種間で15組合せについて、常法により交配実験を行なった。交配後、成熟果実から成熟種子を取出し、100 mg/l のカザミノ酸 または 250 mg/l の麦芽抽出物を添加したMS培地に種子から摘出した不発育胚を置床して生育促進を行い、実生化した。これらの実生の茎頂部を前述した手順に従って電気泳動し、GPIとPGMに関して調査した。また、同時に実生の根端を8-MD II材料(0.002M; 10℃で24時間)で前処理し、加水分解後、乳酸プロピオン酸オルセインで染色を行い染色体数を調査した。

## 3. 結果

調査した交配実生において、Gpi-2では以下のサブユニット蛋白質において電気泳動像上で重複が認められた。即ちaa、abとbb; acとbc; ad、bdとcc; ddとai; ddとaj; ddとbi; ddとbj; akとbk; ciとcl; diとdj; ii、ijとjjである。特に、'マスカットベリー A'と'巨峰'の交雑実生では、しばしば重複が見られ、3本、5本または6本のバンディング・パターンが出現した(図14)が、アイソザイムの電気泳動距離と量的効果により比較的容易に遺伝子型を決定できた。他の組合せにおける交雑実生群では、さらに容易に遺伝子型の決定が可能である。98個の交雑実生中、89個の実生は三倍体特有の遺伝子型を持つこと、3個の実生は二倍体の遺伝子型を持つこと、残りの5個の実生は花粉親の対立遺伝子を持っていないために、目的の雑種ではないことが明らかになった。単量体酵素であるPGMの場合、実生におけるPgm-2の遺伝子型は容易に決定された。98個の交雑実生中、91個の実生は三倍体の遺伝子型を示し、3個体が二倍体の遺伝子型を有したが、残りの5個体が花粉親からの対立遺伝子を受け継いでいないため、目的の雑種ではないことが判明した。

GPIとPGMの分析結果を総合考察すると、97個体の交雑実生中、92個体の交雑実生は目的の三倍体雑種であると決定することが可能で、残り6個体の交雑実生は二倍体であり、しかも目的の雑種ではないことが明らかとなった(表7)。二倍体実生は交配実験の失敗によるものと考えられ、しかもその遺伝子型から種子親の自家受粉の結果、出現したことが推定された。

以上の経緯から、高度のアイソザイム多型を示す酵素の場合、倍数性や雑種性の決定や同定に極めて有効な手段になり得るものと結論される。

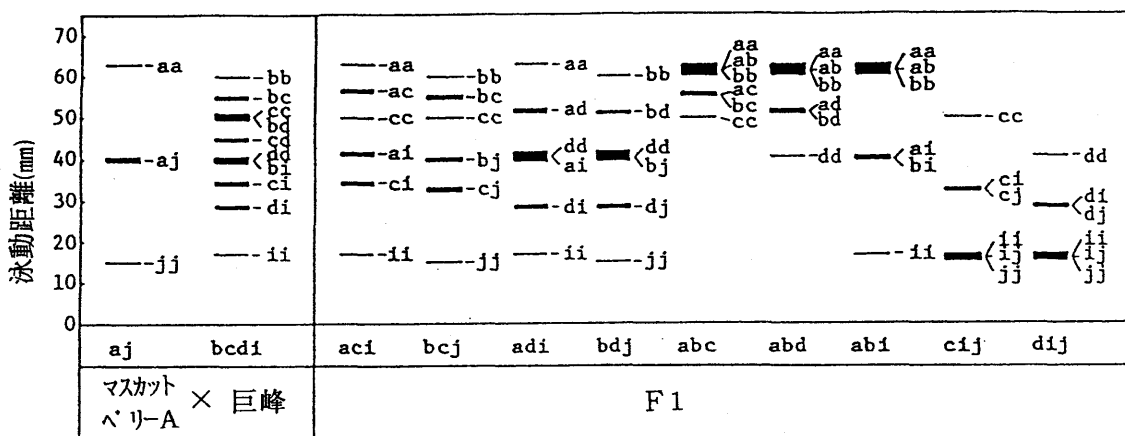


図14 'マスカットベリーA'(2X)、'巨峰'(4X)及びこれらの交配によって作出されたF1実生(3X)のGPI-2の泳動像及びそれに対応する遺伝子型

表7 四倍体品種と二倍体品種の交配によって得た実生の *Gpi-2* / *Pgm-2* 遺伝子型

交配組合せ	交配親の		交雑した 実生の遺伝子型 (実生数)	混入花粉より生じた 実生の遺伝子型 (実生数)
	<i>Gpi-2</i> / <i>Pgm-2</i> 遺伝子型	供試実生数		
マスカットペリー-A × 巨峰	aj/fi × bc di/bbhh	15	abc/bbi (1) abd/bfh (1) abi/bhi (1) aci/bhi (1) adi/bfi (1) bcj/bfh (1) bcj/bhi (1) bcj/fhh (1) bdj/bfh (1) cij/bhi (1) dij/bbi (1) dij/bhi (2) dij/hhi (1)	aj/ii (1)
マスカットペリー-A × Red Pearl	aj/fi × aakk/eehh	22	aaa/efh (1) aaa/ehi (1) aaa/hhi (1) aaj/efh (1) aaj/ehi (1) aak/eei (1) aak/efh (3) aak/ehi (2) aak/fhh (1) aak/hhi (1) ajk/efh (2) ajk/ehi (2) jkk/efh (1)	aa/fi (1) aj/fi (1) aj/ii (1) jj/fi (1)
Red Pearl × マスカットペリー-A	aakk/eehh × aj/fi	27	aak/eef (1) aak/eei (2) aak/efh (2) aak/ehi (3) aak/fhh (1) aak/hhi (1) ajk/eef (1) ajk/efh (3) ajk/ehi (6) ajk/fhh (1) akk/efh (2)	— (0)

表7 続き

交配組合せ	交配親の		交雑した	混入花粉より生じた
	<i>Gpi-2</i> / <i>Pgm-2</i> 遺伝子型	供試実生数	実生の遺伝子型 (実生数)	実生の遺伝子型 (実生数)
			jkk/eii (1) jkk/efh (1) jkk/ehi (1) jkk/fhh (1)	
Delaware × 由布	ak/eh × aajj/ffii	7	aaj/eii (1) aak/efi (1) ajj/eii (1) ajk/efi (2) ajk/ffh (1) jjk/fhi (1)	— (0)
由布 × Delaware	aajj/ffii × ak/eh	4	aaj/efi (1) aaj/fhi (1) aaj/hii (1) ajk/fhi (1)	— (0)
マスカット・リー-A × Cannon Hall Muscat	aj/fi × bbbb/bbbi	2	bbj/bbf (1) bbj/bfi (1)	— (0)
Delaware × Cannon Hall Muscat	ak/eh × bbbb/bbbi	6	abb/bbe (1) bbk/bbh (1) bbk/bhi (4)	— (0)
Delaware × 巨峰	ak/eh × bcdi/bbhh	1	abc/bbe (1)	— (0)
Muscat of Alexandria × 巨峰	bb/bi × bcdi/bbhh	2	bbc/bhi (1) bdi/bhh (1)	— (0)
Muscat of Alexandria × Red Pearl	bb/bi × aakk/eehh	1	bkk/hhi (1)	— (0)
Rizamat × 由布	dd/ii × aajj/ffii	2	adj/iii (1)	dd/ii (1)
赤嶺 × Red Pearl	bb/bi × aakk/eehh	4	aab/bee (1) aab/beh (1) abk/beh (2)	— (0)
Red Pearl × Rizamat	aakk/eehh × bb/bi	3	abk/eii (1) abk/ehi (1)	— (0)



表7 続き

交配組合せ	交配親の		交雑した 実生の遺伝子型 (実生数)	混入花粉より生じた 実生の遺伝子型 (実生数)
	<i>Gpi-2</i> / <i>Pgm-2</i> 遺伝子型	供試実生数		
			abk/hhi (1)	
Red Pearl × 材マスカット	aakk/eehh × ab/bb	1	aak/beh (1)	— (0)
由布 × 赤嶺	aaji/ffii × bb/bi	1	aab/bii (1)	— (0)

#### IV. 交配親の確認

##### 1. 目的

欧州ブドウを用いて行なうブドウ育種は、1928年にヨーロッパにおいて開始された。欧州ブドウと米国ブドウの種間交雑育種は、1850年代に米国で、1860年代にフランスで、そして1910年代には日本においても開始された。その後、現在に至までの100余年の育種期間において夥しい数の品種が誕生している。交配による育種が開始される以前の品種や偶発実生由来の品種を加えるとその数は7,000品種ともいわれている。これらの品種の内、交配親の品種名が明らかなものは、人工的な育種が行なわれた品種に限られるが、その中にも記載された交配親が疑わしいものがあることが、しばしば指摘されている。

ブドウ品種の真の交配親を明らかにすることは、栄養系繁殖を採るブドウにおいては特に重要な課題ではない。しかし、遺伝・育種研究を行なう対象としては、遺伝解析や育種計画の基礎データとして個々の品種の遺伝的背景を知ることが重要な事項と考える。しかし、現在までブドウにおける遺伝的指標がほとんど無かったために、品種の遺伝的背景（親や系統図など）を研究することは困難であった。そこで、本研究ではさきに明らかにした5酵素7遺伝子座を用いて、ブドウ品種の交配親の確認とそれに基づく系統図の調査を行なった。

##### 2. 材料及び方法

さきに5酵素7遺伝子座について調査した品種の全てについて、来歴、交配親及び系統図を文献によって調査した。これらの中で、対立遺伝子を用いて解析可能な品種について、その交配親や系統図について遺伝学的に検討した。

##### 3. 結果及び考察

###### (1) GPI-2とPGM-2による確認

文献などから調査した結果、本研究に供試したブドウ品種のうち、32品種について交配親や系統図の調査が可能であった。32品種中25品種においては、*Gpi-2*と*Pgm-2*の両遺伝子型が交配親から分配可能な遺伝子型であった（表8）。しかし、残り7品種は対立遺伝子の分配が不可能な交配組合せの両親を持っていた（表9）。これらの結果から次のようなことが考察される。

‘Iona’、‘白峰’及び‘高尾’は自然受粉によって得られたブドウ品種であるが、‘Iona’は種子親の‘Diana’の自家受精、‘白峰’と‘高尾’は種子親である‘巨峰’の自家受精によって生まれた可能性が高い。‘ヒロハンブルグ’と‘ピオーネ’の真の交配親は報告された親とは異なると考えられ *Pgm-2*及び *Gpi-2*遺伝子型を考慮に入れると、‘ヒロハンブルグ’は‘Muscat Hamburg’の自家受精、‘ピオーネ’は‘巨峰’の自家受精を行なった結果生じたものである可能性が高い。‘ニューナイアガラ’と‘紅やまびこ’の場合も、真の交配親は報告されている品種ではないと考えられ、本研究の結果から推測すると‘ニューナイアガラ’は‘Portland’の自家受精からであり、‘紅やまびこ’は‘ピオーネ’の自家受精から生じた可能性が高い。

‘CG 9156 (オーロラ)’及び‘Early Muscat’の場合は *Pgm-2*と*Gpi-2*のいずれに於いても交配親に存在しない対立遺伝子を持つことから、穂木を導入する時の名札の付け間違いか、または真の交配組合せが報告された組合せと異なることが考えられる。しかし、両品種の交配組合せから推測すると、特に、‘Königin der Weingarten’の名札付け間違いの可能性が高いと思われる。

‘Cannon Hall Muscat’は‘Muscat of Alexandria’の実生、あるいは四倍体芽条変異によって生じたといわれているが、本研究のアイソザイム分析の結果に基づくと‘Muscat of Alexandria’の四倍体芽条変異の実生であることが推察される。‘Cannon Hall Muscat’については、本研究の成果から少なくとも遺伝的に異なる品種が同名異種で扱われていることが明らかになった。

## (2) 他種類のアイソザイムを用いてのブドウ品種の確認

IDH、SOD及びFDHの解析により、明瞭な知見が前述の一部について得られた(表10)。 *Idh-1*で見ると、‘Early Muscat’はその交配親とされる‘Königin der Weingarten’には存在しない対立遺伝子bを持っており、*Pgm-2*と*Gpi-2*の遺伝子型から推測されたように、真の交配親は異なるものと考えられる。‘ヒロハンブルグ’の真の交配親は、報告された交配親と異なることが *Gpi-2* の遺伝子型からも確認された。ただし、‘ヒロハンブルグ’は *Sod-2* に関してはbcの遺伝子型を有しており、対立遺伝子bが‘Muscat Humburg’に存在しないことから、‘Muscat Humburg’の自家受精によって生じた品種ではないことが判明した。

‘Cannon Hall Muscat’が‘Muscat of Alexandria’の四倍体ではないことは、*Fdh-1*と*Sod-2*の遺伝子型によりさらに明らかとなった。‘Cannon Hall Muscat’は何れの遺伝子型に関しても同型接合であることから、前述のように‘Muscat of Alexandria’の四倍体の自家受精実生の可能性が高い。以上の結果から、多数の対立遺伝子が存在する5酵素7遺伝子座は、ブドウ品種の交配親の調査に有用であると考えられる。さらに、多数の酵素の多型に関して遺伝的に解明が可能になれば、研究の大きな進展が期待される。

## V. 米国種、東アジア種及び欧州種間のアイソザイムに関する変異

### 1. 目的

ブドウは最も古くから栽培されている作物の一つであると考えられ、その栽培記録は、5,000~6,000年前に遡る。これら栽培化の歴史の中で、最も重要な種は黒海・カスピ海沿岸が原生地とされている欧州種(*V. vinifera*)である。この欧州種は、米国に導入されて前述のように米国種との間で欧米雑種群が育成された。同様に、フランスにおいても米国から導入されたブドウネアブラムシ(フィロキセラ)抵抗性野性ブドウ種と欧州種間でフレンチハイブリッドと呼ばれるフィロキセラ免疫性台木や直産品種群が育成されている。このような交雑育種は引き続き現在まで行なわれており、多数のブドウ品種が次々に育成されている。一方、人工交配に依らない偶発実生からの選抜や野性ブドウからの選抜も、人工的な育種事業開始以前はもとより現在においても品種改良育種として行なわれている。以上のような長い、複雑な選抜や交雑育種の歴史を通じて、栽培ブドウ品種群は高度に異型接合になっていると考えられる。

ブドウは、北半球の亜熱帯から温帯にかけて、落葉樹林における蔓性植物であり、二亜属(*Euvitis*と*Muscadinia*)に分類されている。*Euvitis*は染色体数が $2n=38$ を持つのに対して、*Muscadinia*は $2n=40$ と染色体数が2個多く、しかもその分布は、米国のノースカロライナからフロリダ州にかけての南部海岸地帯に限定されている。*Euvitis*は地理的に三つの群、即ち欧州、北米及び東アジア種群に分けられている。これらの種群は遠く離れて分布しているにもかかわらず、容易に交雑してしかもその実生の稔性は高い。

異なる大陸間に分布する姉妹種における分子遺伝学的な変異はいくらかの種において研究されている。その結果、例えば北極・第三紀森林の構成要素であった *Liriodendron* や *Liquidamber* では、地球の寒冷化に伴って分布域が南下し、現在の北米東部、アジア東部及びヨーロッパ南西部に残ったことが明らかになっている。現在のブドウ属の分布はこれら北極・第三紀森林の構成樹の現在の分布とほぼ一致する。De Lattin(1913)はブドウ属が北極・第三紀森林の構成要素であり、これらの樹木と同様な過程を経て、現在の分布に至ったと考察している。しかし、ブドウにおいてはこの仮説を明らかにする資料はない。

そこで、本研究では北米及び東アジアに分布する野性種における5酵素7遺伝子座の遺伝子型を明らかにするとともに、すでに明らかにした品種群の遺伝子型と遺伝的背景を基にして、異なる大陸間に分布するブドウにおける遺伝的変異を明らかにし、ブドウの系統発生について考察する。

表8 *Gpi-2* と *Pgm-2* の遺伝子型と矛盾が認められなかった系統図

交配親品種と 後代品種	遺伝子型		種
	<i>Gpi-2</i>	<i>Pgm-1</i>	
甲州三尺 ×	ae	bb	未確認雑種
Flame Tokay	bb	bi	<i>V. vinifera</i>
= 紅三尺	be	bb	未確認雑種
Delaware ×	ak	eh	欧米雑種
甲州	ae	bc	未確認雑種
= D×K151	ae	ce	未確認雑種
Mills ×	be	bi	欧米雑種
(Chasslas Rose ×	aa	be	<i>V. vinifera</i>
Muscat Hamburg)	ab	bi	<i>V. vinifera</i>
= 笛吹	ae	ii	欧米雑種
Diana ×	ej	bh	欧米雑種
自然受粉	?	?	?
= Iona	ej	bh	欧米雑種
(Muscat of Alexandria ×	bb	bi	<i>V. vinifera</i>
Flame Tokay) ×	bb	bi	<i>V. vinifera</i>
(Muscat Hamburg ×	ab	bi	<i>V. vinifera</i>
Konigin der Weingarten)	dd	bb	<i>V. vinifera</i>
= July Muscat	ab	bi	<i>V. vinifera</i>
Flame Tokay ×	bb	bi	<i>V. vinifera</i>
ネオマスケット	ab	bb	未確認雑種
= 甲斐路	bb	bb	未確認雑種
Rizamat ×	dd	ii	<i>V. vinifera</i>
ネオマスケット	ab	bb	未確認雑種
= マリア	bd	bi	未確認雑種
Katta Kourgan ×	dd	bi	<i>V. vinifera</i>
甲斐路	bb	bb	未確認雑種
= モルゲンシエン	bd	bi	未確認雑種
Black Hamburg ×	ad	bb	<i>V. vinifera</i>
Muscat of Alexandria	bb	bi	<i>V. vinifera</i>
= Muscat Hamburg	ab	bi	<i>V. vinifera</i>

表8 続き

交配親品種と 後代品種	遺伝子型		種
	<i>Gpi-2</i>	<i>Pgm-1</i>	
Delaware ×	ak	eh	欧米雑種
ペリーアlicantA	hj	bf	欧米雑種
= ネアlicant	jk	ef	欧米雑種
Muscat of Alexandria ×	bb	bi	<i>V. vinifera</i>
甲州三尺	ae	bb	未確認雑種
= ネマスカット	ab	bb	未確認雑種
Ontario ×	ai	hh	欧米雑種
Muscat Hamburg	ab	bi	<i>V. vinifera</i>
= New York Muscat	bi	hi	欧米雑種
Muscat Hamburg ×	ab	bi	<i>V. vinifera</i>
Thompson Seedless	ad	ii	<i>V. vinifera</i>
= Queen	aa	ii	<i>V. vinifera</i>
Emperor ×	ab	ii	<i>V. vinifera</i>
(Muscat of Alexandria ×	bb	bi	<i>V. vinifera</i>
Thompson Seedless)	ad	ii	<i>V. vinifera</i>
= Ruby Seedless	bd	ii	<i>V. vinifera</i>
Wayne ×	bi	bh	欧米雑種
Sheridan	di	hh	欧米雑種
= Steuben	di	bh	欧米雑種
Campbell Early ×	ci	hh	欧米雑種
Muscat Hamburg	ab	bi	<i>V. vinifera</i>
= Super Hamburg	bi	hi	欧米雑種
Mills ×	be	bi	欧米雑種
Ontario	ai	hh	欧米雑種
= Wayne	bi	bh	欧米雑種
= Yates	ei	hi	欧米雑種
Muscat of Alexandria ×	bb	bi	<i>V. vinifera</i>
Red Pearl	aakk	eehh	欧米雑種
= キングデラ	abk	beh	欧米雑種

表8 続き

交配親品種と 後代品種	遺伝子型		種
	<i>Gpi-2</i>	<i>Pgm-1</i>	
Golden Muscat 4X ×	aaii	hhii	欧米雑種
くろしお	bbdi	bbhh	欧米雑種
= 紅富士	bbii	bhhi	欧米雑種
= 紅伊豆	abdi	bhhi	欧米雑種
= 紅瑞宝	bbii	bhhi	欧米雑種
= 竜宝	abdi	bhhi	欧米雑種
(巨峰 ×	bcdi	bbhh	欧米雑種
Cannon Hall Muscat) ×	bbbb	bbbi	<i>V. vinifera</i>
Cannon Hall Muscat	bbbb	bbbi	<i>V. vinifera</i>
= 伊豆錦	bbcd	bbhh	欧米雑種
ピオネ ×	bbcd	bhhh	欧米雑種
紅富士	bbii	bhhi	欧米雑種
= ジャスミン	bdi	bhhh	欧米雑種
巨峰 ×	bcdi	bbhh	欧米雑種
Cannon Hall Muscat	bbbb	bbbi	<i>V. vinifera</i>
= くろしお	bbdi	bbhh	欧米雑種
石原早生 ×	ccii	hhhh	欧米雑種
Centennial	bbdd	bbbb	<i>V. vinifera</i>
= 巨峰	bcdi	bbhh	欧米雑種
Niagara 4X ×	eejj	bbii	欧米雑種
CampbellEarly 4X	ccij	hhhh	欧米雑種
= Niabell	ceij	bhhh	欧米雑種
巨峰 ×	bcdi	bbhh	欧米雑種
自然受粉	?	?	?
= 白峰	bbdi	bbhh	欧米雑種
= 高尾	bbci	bhhh	欧米雑種

表9 *Gpi-2* と *Pgm-2* の遺伝子型と矛盾が認められた系統図

交配親品種と 後代品種	遺伝子型		種
	<i>Gpi-2</i>	<i>Pgm-1</i>	
Muscat Hamburg ×	ab	bi	<i>V. vinifera</i>
甲州三尺	ae	bb	未確認雑種
= ヒロハングル	bb	bb	未確認雑種
Niagara ×	ej	bh	欧米雑種
Portland	ai	gh	欧米雑種
= New Niagara	ai	hh	欧米雑種
Muscat of Alexandria	bb	bi	<i>V. vinifera</i>
= 実生又は枝変わり	?	?	?
Cannon Hall Muwcat	bbbb	bbbi	<i>V. vinifera</i>
巨峰 ×	bcdi	bbhh	欧米雑種
Cannon Hall Muscat	bbbb	bbbi	<i>V. vinifera</i>
= ビオネ	bbcd	bhhh	欧米雑種
(D×K151 ×	ae	ce	未確認雑種
Delaware) ×	ak	eh	欧米雑種
ビオネ	bbcd	bhhh	欧米雑種
= 紅やまびこ	bbcd	bbhh	欧米雑種
Konigin der Weingarten	dd	bb	<i>V. vinifera</i>
Perle von Csaba	bd	be	<i>V. vinifera</i>
= CG91560(Aurora)	ad	bi	<i>V. vinifera</i>
Muscat Hamburg ×	ab	bi	<i>V. vinifera</i>
Konigin der weingarten	dd	bb	<i>V. vinifera</i>
= Early Muscat	bd	be	<i>V. vinifera</i>

表10 *Idh-1, Sod-1, Sod-2, Sod-3, Fdh-1* の遺伝子型と矛盾が認められた系統図

交配親品種と 後代品種	遺伝子型					種
	<i>Idh-1</i>	<i>Sod-1</i>	<i>Sod-2</i>	<i>Sod-3</i>	<i>Fdh-1</i>	
Muscat Hamburg × Konigin der Weingarten = Early Muscat	aa	aa	cc	aa	df	<i>V. vinifera</i> 未確認雑種 未確認雑種
Muscat Hamburg × 甲州三尺 = ヒロハングル	aa	aa	cc	aa	df	<i>V. vinifera</i> 未確認雑種 未確認雑種
Muscat of Alexandria = 実生又は枝変わり Cannon Hall Muscat	aa ? aaaa	aa ? aaaa	bc ? cccc	aa ? aaaa	df ? dddd	<i>V. vinifera</i> ? <i>V. vinifera</i>

## 2. 材料及び方法

野性種及びマスカディンブドウは、九州大学農学部附属農場と農林水産省果樹試験場安芸津支場に植栽保存されている樹体を供試し、また東アジア種群に属する種は日本全国各地から採取した (*V. thunbergii* は鹿児島県指宿市の魚見岳と九州大学農学部附属粕屋演習林、*V. coignetiae* は九州大学農学部附属北海道演習林と北海道大学附属植物園など)。これらのブドウ属植物の茎頂部を前述の方法にてアイソザイム分析に供した。ただし、北海道産のものは熟梢部を供試して分析した。

## 3. 結果及び考察

### (1) ブドウ属植物における遺伝子型の変異

前項にて調査した栽培品種を含めて、以下に述べる対立遺伝子の数を確認した；*Gpi-2*で13、*Pgm-2*で11、*Idh-1*で8、*Sod-1*で2、*Sod-2*で3、*Sod-3*で3、*Fdh-1*で6の対立遺伝子。これらを基に本研究で調査した野性種及びマスカディンブドウの各遺伝子座における遺伝子型を表11に記した。なお、表11には前項の研究で、欧州ブドウとしてはかなり特異的な遺伝子型を持つことが判明したわが国在来の‘甲州’とその雑種群を‘Miscellaneous hybrid’としている。

最も対立遺伝子変異の大きいPGMとGPIでブドウ属における遺伝子型の数を分析調査してみると(表12)、大陸間雑種で59品種中42遺伝子型と最も高い割合で異なる遺伝子型が存在し、以下米国種(15/24)、欧州種(55/113)、マスカディンブドウ(3/13)、東アジア種(22/165)の順に次第に低い割合で異なる遺伝子型が存在している。また、異型接合性をみると、大陸間雑種で96.6%と最も高く、欧州種がこれに次いで86.7%とかなり高く、米国種で58.3%、東アジア種で74.4%であり、マスカディンブドウで36.4%と最も低くなっている(表13)。この中では特に欧州種の異型接合性の高さが注目される。欧州種は一種から成るにもかかわらず東アジア種や米国種よりも異型接合性が高いことは、対立遺伝子数が多いことに加え、交雑育種が開始される以前から異個体間雑種が人為的に選抜されたことによると思われる。この欧州種の異型接合性の高さが大陸間雑種の欧米雑種や欧アジア雑種で、さらに異型接合性を高めたと考える。他方、マスカディンブドウの異型接合性の著しい低さは、対立遺伝子の数が*Gpi-2*で2、*Pgm-2*で1と著しく少ないことに依るものと思われる。

### (2) 欧州種、米国種及び東アジア種間の遺伝的変異

本研究において、調査した野性種の結果及び先に調査した栽培品種の結果を詳細に検討してみると、二つの問題点が生じる。その一つは‘甲州’とその雑種群9品種が分類上どの種群に属するかということである。‘甲州’は、偶発実生として1186年に甲府地方で発見(菊地、1951)られて以来、わが国で栽培されてきた品種で、その形態的な特徴から欧州種として分類されている。しかし、‘甲州’は欧州種を持たない対立遺伝子、即ち*Gpi-2*のe、*Pgm-2*のc及び*Idh-2*のdを持っている。このe対立遺伝子

表11 *Muscadinia* 亜属及び *Euvitis* 亜属の野生ブドウのアイソザイム遺伝子型

種及び品種 (調査個体数)	遺伝子型							種
	<i>Gpi-2</i>	<i>Pgm-2</i>	<i>Idh-1</i>	<i>Sod-1</i>	<i>Sod-2</i>	<i>Sod-3</i>	<i>Fdh-1</i>	
<i>Muscadinia</i>								
Noble	jj	hh	ff	bb	cc	aa	aa	<i>V. rotundifolia</i>
Pamlico	jj	hh	hh	bb	cc	aa	aa	<i>V. rotundifolia</i>
M11	gg	hh	—	—	—	—	—	<i>V. rotundifolia</i>
Roanoke	gg	hh	—	—	—	—	—	<i>V. rotundifolia</i>
Willard	gg	hh	—	—	—	—	—	<i>V. rotundifolia</i>
Albemarle	gj	hh	—	—	—	—	—	<i>V. rotundifolia</i>
B. Daring	gj	hh	—	—	—	—	—	<i>V. rotundifolia</i>
B45-16D	gj	hh	—	—	—	—	—	<i>V. rotundifolia</i>
Wallace	gj	hh	—	—	—	—	—	<i>V. rotundifolia</i>
Chowan	jj	hh	—	—	—	—	—	<i>V. rotundifolia</i>
Magnolia	jj	hh	—	—	—	—	—	<i>V. rotundifolia</i>
M16	jj	hh	—	—	—	—	—	<i>V. rotundifolia</i>
<i>V. rotundifolia</i> (1)	gj	hh	hh	bb	cc	aa	aa	
<i>Euvitis</i>								
北米野生種群								
<i>V. aestivalis</i> (1)	jj	hh	gh	aa	cc	bb	dd	
<i>V. argentifolia</i> (1)	ii	hh	—	—	—	—	—	
<i>V. arizonica</i> (1)	ej	gg	bh	aa	cc	bb	dd	
<i>V. berlandieri</i> (1)	jj	hh	bh	aa	bc	ab	dd	
<i>V. cinerea</i> (1)	jj	hh	—	—	—	—	—	
<i>V. coriacea</i> (1)	dj	bh	be	ab	cd	aa	dd	
<i>V. cordifolia</i> (1)	gg	kk	eh	ab	bb	ab	dd	
<i>V. doaniana</i> (1)	jj	hj	—	—	—	—	—	
<i>V. labrusca</i> (1)	ci	hh	—	—	—	—	—	
<i>V. longii</i> (1)	jj	hh	hh	aa	cc	ab	dd	
<i>V. rubra</i> (1)	jj	hh	—	—	—	—	—	
<i>V. rupestris</i> (1)	jj	hh	hh	aa	bc	bb	dd	
<i>V. vulpina</i> (1)	jm	hj	hh	aa	cc	bb	dd	
東アジア野生種群								
VIR No. 6982	dd	cc	—	—	—	—	—	<i>V. amrensis</i>
VIR No. 6866/2	dg	cc	—	—	—	—	—	<i>V. amrensis</i>
VIR No. 68114	dg	cc	—	—	—	—	—	<i>V. amrensis</i>
VIR No. 6890	gg	cc	—	—	—	—	—	<i>V. amrensis</i>



表11 続き

種及び品種 (調査個体数)	遺伝子型							種
	<i>Gpi-2</i>	<i>Pgm-2</i>	<i>Idh-1</i>	<i>Sod-1</i>	<i>Sod-2</i>	<i>Sod-3</i>	<i>Fdh-1</i>	
VIR No. 6946	gg	cc	—	—	—	—	—	<i>V. amurensis</i>
<i>V. amurensis</i> (1)	gg	cc	dd	aa	cc	aa	dd	
<i>V. amurensis</i> (1)	dg	cc	cc	aa	bc	aa	dd	
<i>V. coignatiae</i> (2)	gi	cc	bd	aa	bc	aa	dd	
<i>V. coignatiae</i> (1)	gg	cc	cc	aa	cc	aa	de	
<i>V. coignatiae</i> (1)	dg	cc	cc	aa	bb	aa	dd	
<i>V. coignatiae</i> (1)	dj	cc	bd	aa	bc	aa	de	
<i>V. coignatiae</i> (1)	gi	cc	dd	aa	bc	aa	de	
<i>V. coignatiae</i> (1)	gi	cd	dd	aa	bc	aa	dd	
<i>V. coignatiae</i> (1)	gi	ch	dd	aa	bc	aa	de	
<i>V. coignatiae</i> (1)	gg	cc	bc	aa	cc	aa	dd	
<i>V. coignatiae</i> (1)	dd	cc	—	—	—	—	—	
<i>V. coignatiae</i> (13)	dg	cc	—	—	—	—	—	
<i>V. coignatiae</i> (17)	dj	cc	—	—	—	—	—	
<i>V. coignatiae</i> (3)	fg	cc	—	—	—	—	—	
<i>V. coignatiae</i> (1)	fi	cc	—	—	—	—	—	
<i>V. coignatiae</i> (15)	gg	cc	—	—	—	—	—	
<i>V. coignatiae</i> (48)	gi	cc	—	—	—	—	—	
<i>V. coignatiae</i> (2)	gi	cd	—	—	—	—	—	
<i>V. coignatiae</i> (15)	ij	cc	—	—	—	—	—	
<i>V. coignatiae</i> (1)	ij	ch	—	—	—	—	—	
<i>V. kiusiana</i> (1)	gg	cc	bb	aa	cc	ac	dd	
<i>V. shiragai</i> (1)	ij	ce	df	bb	bc	cc	cc	
<i>V. shiragai</i> (1)	dj	ac	bb	bb	cc	cc	cc	
<i>V. shiragai</i> (1)	fi	cc	—	—	—	—	—	
<i>V. thunbergii</i> (1)	dg	cc	bb	aa	bc	cc	dd	
<i>V. thunbergii</i> (1)	gg	ce	bb	aa	cc	cc	dd	
<i>V. thunbergii</i> (1)	cc	hh	aa	aa	cc	aa	dd	
<i>V. thunbergii</i> (1)	dj	cc	bb	aa	bc	cc	dd	
<i>V. thunbergii</i> (1)	gi	cc	bb	aa	cc	cc	dd	
<i>V. thunbergii</i> (1)	ij	ce	bb	aa	cc	cc	dd	
<i>V. thunbergii</i> (1)	fi	eh	bh	aa	cc	cc	cd	
<i>V. thunbergii</i> (1)	cj	ce	—	—	—	—	—	
<i>V. thunbergii</i> (1)	dd	ce	—	—	—	—	—	
<i>V. thunbergii</i> (2)	dg	cc	—	—	—	—	—	
<i>V. thunbergii</i> (1)	dg	ce	—	—	—	—	—	
<i>V. thunbergii</i> (3)	dj	cc	—	—	—	—	—	

表11 続き

種及び品種 (調査個体数)	遺伝子型							種
	<i>Gpi-2</i>	<i>Pgm-2</i>	<i>Idh-1</i>	<i>Sod-1</i>	<i>Sod-2</i>	<i>Sod-3</i>	<i>Fdh-1</i>	
<i>V. thunbergii</i> (1)	dj	ce	—	—	—	—	—	
<i>V. thunbergii</i> (1)	fj	eh	—	—	—	—	—	
<i>V. thunbergii</i> (1)	gg	cd	—	—	—	—	—	
<i>V. thunbergii</i> (6)	gi	cc	—	—	—	—	—	
<i>V. thunbergii</i> (1)	gi	ce	—	—	—	—	—	
<i>V. thunbergii</i> (4)	ij	cc	—	—	—	—	—	

表12 二倍体ブドウにおける遺伝子型の数

亜属、 種群及び 大陸間雑種	供試個体数*	遺伝子型の数		
		<i>Gpi-2</i>	<i>Pgm-2</i>	<i>Gpi-2+Pgm-2</i>
<i>Muscadinia</i>	13	3	1	3
<i>Euvitis</i>				
欧州種群	113	14	13	55
米国種群	24	11	9	15
東アジア種群	165	10	7	22
大陸間雑種	59	22	13	42
未確認雑種	17	8	4	11

\* 表4における芽条変異により生じた実生群はこの表から除いた。

表13 二倍体ブドウにおける異型接合度

亜属、 種群及び 大陸間雑種	供試個体数*	異型接合した植物の割合(%)		
		<i>Gpi-2</i>	<i>Pgm-2</i>	<i>Gpi-2+Pgm-2</i>
<i>Muscadinia</i>	13	36.4	0	36.4
<i>Euvitis</i>				
欧州種群	113	65.4	75.2	86.7
米国種群	24	37.5	45.8	58.3
東アジア種群	165	61.7	34	74.4
大陸間雑種	59	91.5	71.1	96.6
未確認雑種	17	76.4	52.9	76.4

\* 表4における芽条変異により生じた実生群はこの表から除いた。

は、米国種や欧米雑種のみが存在すること、c 対立遺伝子は東アジア種のみが存在すること、及び d 対立遺伝子は東アジア種のみが存在することから、‘甲州’は大陸間雑種として分類すべきブドウであると考える。さらに、詳細に分類すれば‘甲州’は欧州—東アジア種間雑種の可能性が高いと考えられる。Gpi-2 の e 対立遺伝子が米国種のみが存在することから、欧州—東アジア—米国種の種間雑種の可能性もあるが、千年以上前に米国種の遺伝子が‘甲州’の親植物に浸透していたとの推定は困難であろう。この Gpi-2 の e 対立遺伝子の起源は、三つの可能性が考えられる。即ち、①ユーラシア大陸東北部と北米大陸が地続きであった mid-Miocene warming の時期に米国種の遺伝子が浸透した可能性、②東アジア種群の中にも Gpi-2 の e 対立遺伝子を持つ種が存在する可能性、及び③東アジア種群に存在していた e 対立遺伝子をもつ野性ブドウが消失した可能性が考えられる。

以上のことから、本研究では‘甲州’を欧州—東アジア種間の雑種と推定した。なお、‘甲州三尺’の来歴は不明であるが、Gpi-2 に e 対立遺伝子が存在することから、‘甲州’と欧州種との雑種と見做される。そこで、‘甲州’及び‘甲州三尺’、またそれらの雑種群は、全て大陸間雑種（欧州—東アジア雑種）として分類している。

いま一つは、米国種とされる‘Portland’（Champion × Lutie）の分類上の位置である。‘Portland’は Gpi-2 に a 対立遺伝子を持っている。この a は米国種には認められず、欧州種のみに見られる対立遺伝子であることから、‘Champion’あるいは‘Lutie’の何れかが欧州種の遺伝子を持つ欧米雑種であり、‘Portland’も欧米雑種であると結論する。

これらの変更を考慮して、欧州種、米国種、及び東アジア種の持つ対立遺伝子について検討した。大陸間雑種品種については、遺伝的背景（交配親や系統図）から、その品種の持つ対立遺伝子がどの種群からのものであるかを詳細に検討した。その結果、明らかになった三種群に存在する対立遺伝子を表14に示した。この表に示した結果は、欧州種、米国種及び東アジア種群がそれぞれにかなり遺伝的に分化が進んでいることを示唆している。欧州種の持つ19対立遺伝子中5対立遺伝子は、欧州種のみ認められ、同様に米国種群で30対立遺伝子中14が、東アジア種群では25対立遺伝子中8がそれぞれの種群に特異的にみられる対立遺伝子であった。三種群を比較してみると、46対立遺伝子10対立遺伝子が共通して認められた。これらの共通の対立遺伝子の起源は、三種群が地理的に隔離される以前の、北米とユーラシア大陸が地続きであった温暖な時代（第三紀中期）以前にあるものと推察される。欧州種群と米国種群を比較してみると、見いだされた38対立遺伝子中11（28.9%）が共通していた。同様に、欧州種群と東アジア種群では、32対立遺伝子中12（37.5%）が、米国種群と東アジア種群では40対立遺伝子中15（37.5%）が共通してみられた。これら共通の対立遺伝子の殆どは、二種群が地理的に隔絶される以前に生じたものであると考えられる。仮に事実とすれば、この結果はまず欧州種群と北米種群が地理的に隔絶され、その後米国種群と東アジア種群、並びに東アジア種群と欧州種群が地理的に隔絶されたことを示唆している。しかし、本研究において供試した材料は、各種群において数種のみに限られており、また野性種の個体数も少ないことから、このことを明らかにするためには更に多数の種・個体の分析が必要と考える。

三種群の遺伝的変異をみると、共通の対立遺伝子や各種群に独自に生じた対立遺伝子に注目するにばかりでなく、消失した対立遺伝子にも注目しなければならない。マスカディニア亜属と真正ブドウ亜属を比較してみるとマスカディニア亜属にみられた9対立遺伝子のうち、欧州種には5対立遺伝子が、米国種群と東アジア種群には8対立遺伝子が認められた（表15）。両亜属の分化が真正ブドウ亜属の三種群の分化のかなり以前に生じたことを考慮に入れると、以下に述べる対立遺伝子は完全に消失したか、または未発見であると考えられる。すなわち、欧州種における Gpi-2 の g と j、Idh-1 の h 及び Sod-1 の b、米国種群における Fdh-1 の a、及び東アジア種群における Fdh-1 の a 対立遺伝子である。本研究において供試した東アジア種及び米国種の種・品種・個体の数は十分とはいえ、これらの対立遺伝子が消失したのか、未発見であるのかは断定し難いが、欧州種についてはほぼこの種を代表する品種多数を調査したものと考えられる。このような比較的多数の対立遺伝子が欧州種において認められたことは、欧州種の進化を考えるうえで興味深い。即ち、北米大陸とヨーロッパが分断されたのち、ヨーロッパ大陸に残って繁栄したブドウは、その後の地球寒冷化に伴う数回の氷河期を経て、分布域の拡大・縮小を繰り返し、最終的には半乾燥性の温暖な黒海・カスピ海沿岸に適応したブドウ1種のみが生き残ったものと考えられている。ヨーロッパ大陸に生存し続けたブドウにおけるこのような環境変異と適応・消滅の過程で上述のブドウ属に共通であった対立遺伝子の一部が消失し、米国種群や東アジア種群とは異なった対立遺伝子が消滅を免れた現在の欧州種に発達していることが示唆される。

他方、東アジア種群及び米国種群には、ブドウ属に共通の対立遺伝子が多数認められる。このことは、

第14表 *Muscadinia* 亜属及び *Euvtis* 亜属における7遺伝子座の対立遺伝子

亜属及び種群	対立遺伝子						
	<i>Gpi-2</i>	<i>Pgm-2</i>	<i>Idh-1</i>	<i>Sod-1</i>	<i>Sod-2</i>	<i>Sod-3</i>	<i>Fdh-1</i>
<i>Muscadinia</i>	gj	h	fh	b	c	a	a
<i>Euvtis</i>							
欧州種群	abd h	bde hi	abf	a	bc	a	abf
米国種群	cdegijklm	bfg h jk	abefgh	ab	abc	ab	bd
東アジア種群	cdfgj	acdeh	abcdfh	ab	bc	ac	cde

表15 *Muscadinia* 亜属と *Euvtis* 亜属及び *Euvtis* 亜属に属する種群間の遺伝的類似性の比較

種群	共通して存在した	
	対立遺伝子の数 (確認したすべての対立遺伝子)	特異的に存在した対立遺伝子の数 (確認したすべての対立遺伝子の数)
<i>Muscadinia</i> 亜属及び <i>Euvtis</i> 亜属		
<i>Muscadinia</i> 亜属, 欧州種群, 米国種群及び東アジア種群	5(46)	-
<i>Muscadinia</i> 亜属及び 欧州種群	5(23)	-
<i>Muscadinia</i> 亜属及び 米国種群	8(30)	-
<i>Muscadinia</i> 亜属及び 東アジア種群	8(25)	-
<i>Muscadinia</i> 亜属	-	0(9)
<i>Euvtis</i> 亜属		
欧州種群, 米国種群及び東アジア種群	10(46)	-
欧州種群及び米国種群	11(38)	-
欧州種群及び東アジア種群	12(32)	-
米国種群及び東アジア種群	15(40)	-
欧州種群	-	5(19)
米国種群	-	14(30)
東アジア種群	-	8(25)

ヨーロッパ大陸に分断されたブドウと同様に両種群は、地球寒冷化に伴い分布域の縮小・拡大を繰り返したが、最終的には多数の種が生き残り、原始のブドウ属に共通の対立遺伝子の多くが保持されたものと考えられる。

マスカディニア亜属については、全3種中の1種 (*V. rotundifolia*) のみについて *Gpi-2* と *Pgm-2* で13品種 (選抜個体と野性個体を含む)、他の遺伝子座では3品種の調査であり、更に多数の品種・個体の調査を必要とするが、本研究の結果から以下のことが推定される。*V. rotundifolia* にみられる対立遺伝子は、真正ブドウ亜属のブドウにもみられること、対立遺伝子変異が著しく少ないことから、マスカディンマスカディニア亜属は真正ブドウ亜属と比較して遺伝的には殆ど進化しておらず、古代の姿を止めているものと考えられる。この原因としては、この亜属と真正ブドウ亜属が自然条件下では交雑不能であること、高温条件に適応したこの亜属が地球寒冷化期間を経て、北米大陸南端のフロリダからメキシコ地域で辛うじて生き残り、その後も温帯の条件に適応しなかったために、分布域が著しく限られたままであったことが考えられる。

## VI. 総合考察

### 1. ブドウ科の成立と発達

ブドウ科 (*Vitaceae*) は維管束植物門、被子植物亜門、双子葉類綱、クロウメモドキ目に属する。クロウメモドキ目 (*Rhamnales*) はブドウ科の他にクロウメモドキ科 (*Rhamnaceae*) とレエア科 (*Leeaceae*) を含み、モミジーフロウ花類亜綱の7目の一つである。レエア科 (ウドノキ科) は、ブドウ科のレエア属として分類されることもあり、分類学的にはブドウ科にたいへん近い科である。また、クロウメモドキ科も特にブドウ科に近い科であり、両科の区別はほんの数形質によって行なわれる。レエア科は熱帯に分布域を持ち、クロウメモドキ科はブドウ科より分布域がさらに北方と南方まで広がっている。

ブドウ科は巻き蔓によって樹木に登る木本または草本性植物である。この巻き蔓あるいは巻き蔓の変化した花序が、葉の反対側に着生することがブドウ科を決定する特色となっている。レエア科の一部には、この巻き蔓を持つ植物があること、クロウメモドキ科の全ての植物は巻き蔓を持たない植物であり、その起源したブドウ科の祖先における巻き蔓の発達は、熱帯雨林の環境に適応したものだと言われている (Sussex, 1953)。

ブドウ科の分類の基礎は、Planchon(1887) によって行なわれた。その後、幾らかの改変が提案され、現在10~16属が分類上用いられている。最も代表的な分類は、*Vitis* (ブドウ属)、*Ampelocissus*、*Pterisanthes*、*Clematicissus*、*Tetrastigma* (ミツバカツラ属)、*Landukia*、*Parthenocissus* (ツタ属)、*Ampelopsis* (ノブドウ属)、*Rhoicissus*、*Cissus* (ヒレブドウ属)、*Cayratia* (ヤブガラシ属)、*Cyphostemma* の12属である。ブドウ属に関しては、Planchon の分類による *Euvitis* 節と *Muscadinia* 節をそれぞれ *Vitis* 属と *Muscadinia* 属にすることが提案されている (Small, 1903) が、一般的には受け入れられておらず、節よりも大きな分類単位である亜属とすることが多い。

*Ampelocissus* 属の種は、全て熱帯に分布域している。*Parthenocissus* 属と *Ampelopsis* 属は、東アジア種群と北米の温帯に分布し、ブドウ属の分布域に類似することが注目される。*Cissus* 属は熱帯雨林に分布し、ブドウ科で最大の属である、多種多様な種類の種が 350以上存在する。*Tetrastigma* 属は、アジアの熱帯雨林から温帯域に分布し、この属に近い *Cyphostemma* 属は、アフリカに分布する。*Pterisanthes* 属は、インドネシア域に分布する。*Cayratia* 属はアフリカ、アジア、オーストラリア、熱帯から温帯の太平洋諸島に分布する。*Vitis*、*Ampelocissus*、*Parthenocissus*、*Landukia*、*Ampelopsis*、*Clematicissus*、及び *Rhoicissus* は  $2n=40$  であるが、唯一の例外は *Muscadenia* 亜属の  $2n=38$  である。*Cissus* 属は変異があるが、基本数は  $2n=24$  であり、*Tetrastigma* と *Cyphostemma* 属は  $2n=22$  である。*Cayratia* 属も変異がみられるが、基本数は  $2n=24$  と思われる。以上のようなブドウ科における地理的分布域及び染色体数に基づいて、Lavie(1970) は、ブドウ科の分化について次のように考察している。すなわち、ブドウ科の起源は、熱帯アジアにあり、*Cissus* 属に似た祖先から進化した。この仮説に基づけば、*Vitis*、*Ampelopsis* 及び *Parthenocissus* 属は将来の北米とユーラシア大陸となる場所、*Cissus* と *Ampelocissus* は将来のアジア、アフリカ、南米及びオーストラリア大陸となる場所で分化したことが示唆される。本研究では、ブドウ属以外のブドウ科植物の調査は行なわれてないために、この仮説を遺伝子レベルで証明することはできない。ブドウ属に関しては、この仮説は本研究結果から強く支持される。今後、*Ampelopsis* や *Parthenocissus* 属における同様な遺伝子レベルでの研究、さらにはブドウ科全体に関する研究が期待される。

## 2. ブドウ属の成立と発達

### (1) 真正ブドウ亜属

ブドウ亜属の分類は、一世紀以上もの期間論争されており、現在においても明確な分類は確立されていないと考える。ブドウ属の明確な分類は、ブドウの育種や遺伝資源保存において重要であり、近代化に伴う遺伝資源の消失が進む現在、切迫した問題でもある。ブドウの分類は、Planchon (1887) に始まる。Planchon は米国種とアジア種を分けて分類した。その後も多数の分類が提案されたが、栽培に関する種主体の分類となっている。Bailey(1934)は、北米種に関して最も信頼されている分類を示した。

しかし、東アジア種群については、未だ明確な分類は示されていない。現在のところ、最も信頼されているのは Galet(1967) の分類である。Galet は真正ブドウ亜属を11系59種に分類している。過去に行なわれたこのような種の同定は、地理的な分布域や環境要因と密接に関連する形態形質を用いて行なわれた。この場合、特に様々な遺伝的変異を示すブドウの自然雑種の同定と分類に問題を生じている。この形態的形質を基にした分類を補助する方法として成分分類学的研究が進んでいる。欧州種のアントシアニンはモノグルコシドであり、米国種のアントシアニンは殆どがジグルコシドであること(Ribéreau-Gayon, 1959)、ジグルコシドの性質は優性であり、欧米の一代雑種は容易に識別できること(Olm, 1989) が報告されている。また、米国種の特定の系のブドウ葉中にはハイドロキシプロリンがあるが、ホモセリンがないこと(Kliwerら、1966) など、アミノ酸組成も補助的な手段となることが示されている。

アイソザイム分析は、Schaefer(1971)、Wolf(1976) 以来多くの研究が進められ、品種・個体間の識別が可能な場合もあることが報告され、さらに詳細なブドウ属の分類や分化に関する研究が可能となってきた。しかし、これらのアイソザイム分析を用いた研究は、ザイモグラムの比較に止まり、アイソザイムを支配する遺伝子とアイソザイムを支配する対立遺伝子を明らかにしていない。本研究では、4酵素7遺伝子座に関して多数の対立遺伝子を発見し、以下の分類や進化研究に重要な基礎的知見、すなわち、①ブドウの酵素においても他の殆どの植物と同じ遺伝子数が関与し、同じ遺伝的制御システムを持つこと、②対立遺伝子変異は三種群間で大きいこと、③種群内にもかなりの変異が生じていることが明らかとなった。

ブドウ属の分類と進化を考察するには、以上の既知の研究結果及び本研究の結果に加え、古代のブドウ、すなわち化石、の知見、大陸間移動や気象変異の知見が重要となる。白亜紀のブドウ属植物の化石は、カナダや北オホーツクで発見されており、第三紀中～後期のブドウ属植物の化石は北半球で広く発見されている(図15)。また、この時代にはブドウ科に属する化石植物(*Cissus*属や*Paleovitis*属)やノブドウ属植物の化石も同様な地域で発見されている。しかし、これら古代のブドウ科植物の中からブドウ属植物を同定する場合、葉、種子、花粉の化石が用いられている。特に、葉の化石を用いた同定には信頼性を疑わせる見解が少なくない。しかし、種子の化石によるブドウ属植物の同定は、広く認められている。北ヨーロッパ大陸の第三紀の地層からの堆積物には、現在の真正ブドウ亜属と同様な形態的の種子とマスカディニア亜属と似ている形態を持つ種子が発見されており、それぞれ *V. teutonica* と *V. ludwigii* とめいめいされている。以上のような化石の存在は第三紀の終期以前には、現在の分布域よりさらに北方の北半球に広くブドウ属植物が分布していたことを示唆している。

パンゲア大陸は約7,000万年前には分離を開始し、その後現在の各大陸を形成するが、一様に各大陸が分離移動して切り離されたのではなく、各所に陸橋があったことも知られている。東アジアと北アメリカ大陸を結んだベーリング陸橋は、ミオシオン中期(約1,300万年前)の温暖な時期には温帯性ば落葉樹林で覆われていたことも知られている。他方、北アメリカとヨーロッパ大陸を結ぶ北大西洋陸橋は、エコーシオン(約3,900万年前)までは、存在したことが知られている。その後もノルウェイとグリーンランドを結ぶ陸橋がミオシオン(約1,000万年前)までは存在していたと考えられている(Eldholm and Thiede, 1980)。これらの陸橋も温帯性の落葉樹林で覆われていたことも明らかにされている(Heie, 1971)。

1,300万年前を境に、温暖な気候は次第に寒冷化し、ブドウ属を含めた温帯性植物の分布域が南下し、さらにユーラシア大陸と北アメリカ大陸間の陸橋は完全に消滅し、分断された植物間の遺伝的交換は完全に不可能になった。この気温の低下傾向は第四紀のプライストシオン(約100万年前)まで続き、北方に栄えていた第三紀の森林は、第四紀の氷河紀には南方の一部地域(レフュージア)に限定されて生き残っている。ブドウ属植物において、3回の間氷期の度に分布域がこのレフュージアより北方に拡大したことが化石の研究から証明されている(Thurner, 1968)。現存するブドウ属の各種は第四紀の4回の氷河期を経て分化したと考えられている。De Lattin(1939)が指摘しているように、現在のブドウ属の分布域は氷河のあった最前線とほぼ一致しており、地理的条件により氷河の被害を免れた地域(レフュージア)ともよく一致している。このような色々な地域に形成されたレフュージアでのブドウ属植物の分離と異なる環

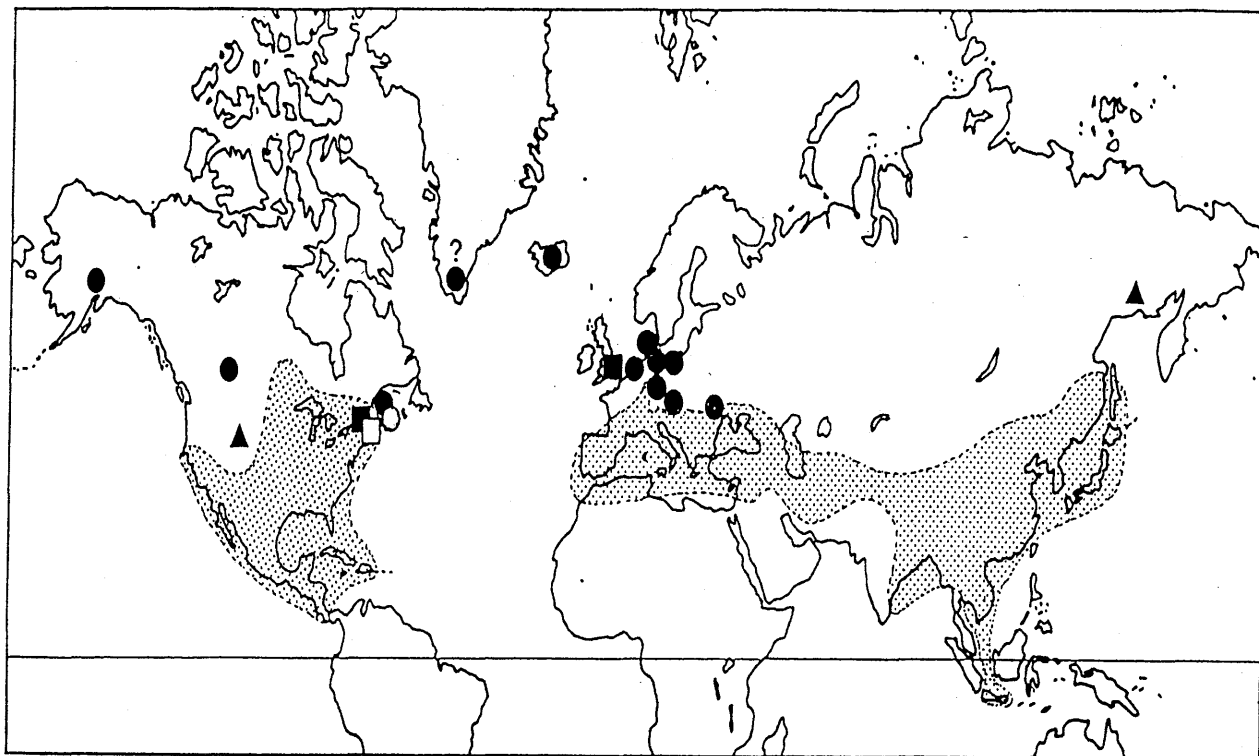


図15 *Vitis*属植物の現在の分布域(De Lattin(1939)及び Von Koenigswaldと  
Schaarschmidt(1983)の報告により推定)及び白亜紀後期(▲)、第三紀(●)、  
更新世(■)の*Euvtis*亜属植物の化石と第三紀(○)、更新世(□)の*Muscacadimia*  
亜属植物の化石が採集された地点。

境条件が、種の分化を加速し、さらには3回の間氷期と4回の氷河期の繰り返しが種の分化や消滅の加速を招き、残存種が氷河期以降の条件に適応しながら、現在の種を形成したものと考えられる。

このようなレフュージアにおけるブドウ属の分断は、その環境に適合した種の分化ばかりでなく、他の生物(昆虫、菌類、ウイルスなど)の分化を伴ったと考えられる。その典型の一つにフィロキセラが挙げられる。フィロキセラは北アメリカ大陸のみに発達していったために、欧州種や東アジア種群は抵抗性を付与されず、米国種群のみが抵抗性を獲得した。さらに、米国種の中でもフィロキセラの生息に適する中央アメリカのテキサス州に分化した種(*V. berlandieri*)は強いフィロキセラ耐性を示すが、フィロキセラの生息不適環境である東アメリカ地域の種(*V. labrusca*など)では抵抗性が弱くなっている。このようにブドウ属の種分化には、他の生物の分化・発達も大きな影響を与えている。

最後に、氷河期以降に上述の過程を経て、ブドウ属は様々な形態的多様性を確立したが、生殖的な障壁は発達せず、全て交雑可能である。ブドウ属の種の維持は、地理的隔離を加え、開花期の違いや土壌条件などの環境要因によっているものと考えられる。

本研究結果と、以上のことを考慮に入れて考察すると、ブドウ属の分類に二三の疑点が生じる。一つは系(Series)に関してDe Lattin(1939)は8系(群)、Galet(1967)は11系にブドウ属を分類しているが、北アメリカ大陸、東アジア及びヨーロッパ大陸のブドウ属を区分する節(Section)を系の上に設け、各節の配置を変える必要を提唱している。第二に、北アメリカ大陸の種では、東アメリカと西アメリカの種を明確に区分する必要があるものと思われる。地球寒冷化に伴う第三期森林の南下によって形成されたレフュージアは、西南アメリカ(カリフォルニア地域)と東南アメリカに存在したと考えられており、実際にこれらの地域における残存種間の遺伝的変異が大きいことが、ブドウ科以外の植物で明らかにされている。本研究では、これらの地域に分布する種の調査が少なく、明確な提言ができないが、さらに研究の進展が期待される。第三に、種の各系への分類が形態形質を基に行なわれたために、かなりの混乱を生じて

いると考えられる。De Lattin(1939)は *Labrusca*系に *V. labrusca* のみを分類し、Galet(1967)は *V. labrusca* と *V. coignetiae* を分類している。確かに *V. labrusca* と *V. coignetiae* は、形態的諸形質において著しく類似しているが、本研究の結果は *V. labrusca* と *V. coignetiae* が遺伝的には可なり遠縁であり、*V. labrusca* は他の東アメリカに分布する種とかなり近縁であること、*V. coignetiae* は *V. thunbergii* や *V. amurensis* と遺伝的に極近い種であることが示唆された。

*V. labrusca* と *V. coignetiae* の形態的類似性は遺伝的類似性ではなく、むしろ二種が分布する地域の環境条件(多湿、冬期の厳しい低温条件など)に適応した結果であると考えられる。同様に Galet は *Caribaea* 系に南・東に分布する米国種 (*V. caribaea* など)と形態的に類似する東アジア種の *V. lanata* を含めているが、これも検討を要する。De Lattin によって分類された系 *Labruscoide* は東アジア種群と北アメリカ大陸の種を含み、可なり混乱していると思われる。この系は、Galet により比較的良好に分類されていると思われるが、さらに遺伝的解析を要する。

ブドウ科の7属は、真正ブドウ亜属 ( $2n=38$ )を除き、 $2n=40$ の染色体数を持ち、他属より染色体数が著しく多いことから、これら7属は倍数体化によって、進化したと考えられている。PatelとOlmo(1955)は *V. vinifera*と *V. rotundifolia*の  $F_1$ における染色体対合の結果から、*V. vinifera* のゲノム構成を  $13R^vR^v+6AA$ 、*V. rotundifolia* のゲノム構成を  $13R^rR^r+7BB$ 、 $F_1$ 雑種を  $13R^vR^r+7B$  とした。この説に基づけば、ブドウ科の基本数は6と7であり、ブドウ科の倍数体進化説とよく一致する。また、真正ブドウ亜属の成立は、 $2n=(6R^v+7R^v)+6A=19$ 、マスカディニア亜属の成立は、 $2n=(6R^r+7R^r)+7B=20$ によっており、それぞれ三つの基本数を持つ古代の雑種ブドウ科植物の倍数体化によって現在の真正ブドウ亜属 ( $2n=40$ )とマスカディニア亜属が成立したと考えられる。しかし、この説には二三の矛盾点が認められる。本研究結果は、真正ブドウ亜属とマスカディニア亜属が基本的には遺伝的にかなり近い関係にありことを示唆したこと、及びブドウ属以外の6属がいずれも $2n=40$ の染色体数を持つことから、真正ブドウ亜属とマスカディニア亜属が異なる異質倍数体起源とは考え難い。

一方、ブドウ属の倍数体進化説に関しては、本研究からは明確な証拠は、何一つ得ることができなかった。調査した7遺伝子座には、全く遺伝子重複が認められず、また他のアイソザイムを支配する遺伝子についても重複は全く報告されていない。これらのことから、ブドウ属では高度に二倍体化が進んでいると考えられる。

このようなブドウ属の異質倍数体化を明確に論じるためには  $2n=40$ の染色体数を持つ他の属や $2n=22$ 並びに $2n=24$ を持つ属の詳細な検討が必要と考える。

## (2) マスカディニア亜属の成立と発達

現在、マスカディニア亜属は、北アメリカ大陸南部(フロリダからメキシコ)のハドソン湾に面する地域に分布するが、第三紀及び第四紀には米国東北部(ニューヨーク付近)に分布していたことが明らかにされている(図15)。さらに、ヨーロッパ大陸北部の第三紀の地層においてもマスカディニア亜属と似た *V. ludwigi*の種子化石が発見されていることから、第三紀にはマスカディニア亜属は、現在の北米、グリーンランド、北ヨーロッパ大陸を中心に分布域を広げていたものと考えられる。これらのことから、マスカディニア亜属と真正ブドウ亜属の分化は第三紀にあり、分化したマスカディニア亜属は亜熱帯性気候に適合して進化したと考えられる。他方、ブドウ属に最も近い *Ampelocissus* 属が熱帯に適合していることから、マスカディニア亜属は、真正ブドウ亜属と *Ampelocissus* 属の橋渡し植物とも考えられている(Mullinsら、1992)。しかし、本研究では *Ampelocissus* 属の調査を行なっていないために、マスカディニアと *Ampelocissus* の遺伝的関係は全く不明である。今後マスカディニア亜属については、さらに調査個体数を増やして解析を行なう予定である。