

DNA多型解析による甲州の分類的検討

誌名	日本醸造協会誌 = Journal of the Brewing Society of Japan
ISSN	09147314
著者名	後藤, 奈美
発行元	日本醸造協会
巻/号	106巻3号
掲載ページ	p. 116-120
発行年月	2011年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



DNA 多型解析による甲州の分類的検討

甲州は、日本を代表する伝来のブドウ品種であるが、これまで隠れていた香り特性が見出され新しいスタイルの甲州ワインが誕生し、また、欧州への甲州ワインの輸出が始まるなど、今注目のブドウ品種である。著者は、必ずしも明確ではなかった甲州の由来、分類の問題に一貫して最先端のDNA多型解析によって取り組み数多くの成果を上げてこられた。今回、その研究成果とともに甲州の分類にかかわる興味深い諸問題について解説していただいた。

後藤 奈美

はじめに

甲州は日本在来のブドウ品種で、生食用にも用いられるが、わが国の白ワイン用ブドウとして重要な品種である。従来、甲州の白ワインはおだやかなフルーティさを特徴とするものの、際だった個性は乏しいと言われ、甘口～やや甘口、シュールリー、樽発酵・樽貯蔵と様々なタイプのワインが造られてきた。しかし近年、甲州にはソービニヨン・ブランと共通する柑橘系の香り成分の前駆体が含まれること¹⁾が明らかになり、新しいスタイルの甲州ワインも造られるようになった。さらに、甲州のワインを輸出しよう、という取り組みもなされていることから、甲州の分類学的な位置づけを明らかにすることは、この品種を理解する上で重要なことのひとつと考えられる。

1. 形態等による分類と起源の推定²⁾

甲州の由来についての伝承³⁾としては、平安時代末期、1186年に甲斐の国に住む雨宮勘解由という人が石尊宮の祭りに参詣した帰り道に、山ブドウとは異なる形態のブドウを見つけ、これは石尊宮の賜物であろうと庭に植えたのが始まり、という説や、奈良時代初期、718年に僧、行基が西方より来て甲斐国内を遍歴し、日川の岸の岩の上で21日間、静座して祈願したところ、ブドウを手にした薬師如来が現れたため、靈感に従い、この地に大善寺を建立してブドウを植えた

のが始まり、という説がある。

このような伝承があるほど、甲州は昔から日本で栽培されている在来品種であるが、朝鮮半島や中国には甲州と一致する品種は知られていない。他に日本在来のブドウ品種としては、甲州三尺や、現在は栽培されていない紫ブドウ等が知られているのみで、現在栽培されている大部分のブドウは、海外から導入された品種や導入された品種を基に日本で育種されたものである。また、日本にはヤマブドウ、サンカクヅル、エビヅルなどの野生ブドウが自生している⁴⁾が、これらの野生ブドウは雌雄異株であり、形態的にも甲州とは大きく異なるため、甲州は海外、おそらく中国か朝鮮半島から伝来した栽培品種と考えられている。また、古くから栽培されていたことから、植物体ではなく、種子で渡来した可能性が高い。

昭和23年(1948年)、園芸学者の菊池秋雄⁵⁾は、甲州は樹性、葉及び果実の特性からみて、華北系品種群に属すると考えられる。華北系品種のうち、竜眼とは果皮や肉質、果皮の色が類似しているだけでなく、ニュウナイ等の品種と異なり、露地栽培が比較的容易である点も共通していることから、「甲州葡萄は竜眼の実生にあらずやとの考えを起さざるを得ぬ。」と記し、この説が一般に認められてきた。また、竜眼は中国の和田紅(ホータンホン)という品種の実生ではないかと推定する説もあった。

これに対し、土屋長男⁶⁾は、Negrulの分類に従って、

Taxonomic Analysis Koshu Grape with Polymorphic DNA Analyses

Nami GOTO-YAMAMOTO

(National Research Institute of Brewing)

ブドウ *Vitis vinifera* (*Vitis vinifera* ssp. *sativa*) は西洋系、黒海系、東洋系の生態系 (prole) に分類され、さらに東洋系の *V. vinifera* はカスピカ亜系と西南アジア亜系に分類されるが、甲州はこのうち野生種に近い初期の東洋系カスピカ亜系に属し、竜眼の方が後になって改良されたカスピカ亜系の現代品種であるとする説を唱えた。また、1200年ほど前に高僧によって大善寺付近に持ち込まれ、栽培されたものと推定した。なお、城山桃夫⁷⁾は、甲州も野生ブドウ同様、渡り鳥によって国外から種子がもたらされたのではないかと推測している。

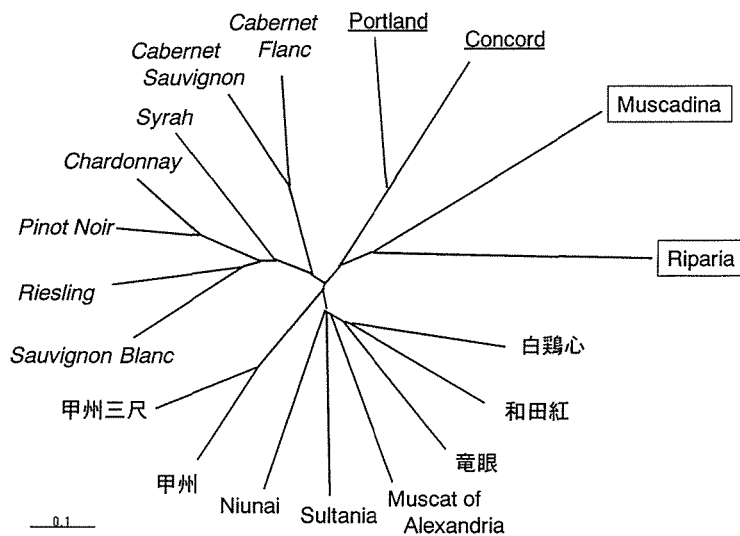
2. DNA 多型解析による甲州の分類

最近では、種々の生物の類縁関係の解明に、DNA解析が用いられている。当所でも RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) 解析⁸⁾や AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) 解析⁹⁾を用いて、ブドウの類縁関係を調べたところ、野生ブドウと栽培品種とは DNA 多型解析結果からも大きくことなること、栽培品種の中で *V. vinifera* と *V. labrusca* 系品種は異なるグループを作り、さらに *V. vinifera* もシャルドネ、カベルネ・ソービニオンなどの西洋系品種と竜眼、甲州などの東洋系品種のグループに分かれることが示された。これは、甲州が東洋系

V. vinifera に属するというこれまでの研究を支持する結果である。

さらに、SSR (Simple Sequence Repeat) 解析からも甲州が東洋系 *V. vinifera* に属するという説を裏付ける結果が得られた¹⁰⁾。SSR 解析とは、1-3塩基の繰り返し配列 (SSR 配列) を PCR で増幅して長さを測定・比較する方法で、マイクロサテライト解析とも呼ばれる。ブドウの品種間のように類縁関係が非常に近い場合でも、繰り返し回数の違いに起因する多型の検出感度が高く、再現性も高い。ブドウでは、この方法を用いてカベルネ・ソービニオンがカベルネ・フランとソービニオン・ブランの自然交雑で生じた可能性が高いこと¹¹⁾や、ピノとゲーエー・ブランの自然交雑でシャルドネ、ガメイ (ボジョレの赤ワイン品種)、ムロン・ド・ブルゴーニュ (ミュスカデの白ワイン品種) などが生じたと推定されること¹²⁾が報告され、大きな話題になった。

さて、この方法を用いて、*V. vinifera* の東洋系、西洋系品種、*V. labrusca* 系品種、及びその他 (台木品種の Riparia と近縁種の Muscadina) を解析し、樹形図を作成したところ (第1図)、各グループがクラスターを形成した。甲州は AFLP 解析の結果と同様、甲州三尺と近い関係にあることが確認されたが、竜眼などとは比較的距離があった。これは、土屋が唱えた



第1図 ブドウの SSR 解析に基づいた樹形図¹⁰⁾

漢字及びローマン体の品種名は東洋系 *V. vinifera*, イタリアックは西洋系 *V. vinifera*, 下線は *V. labrusca* 系品種, 四角はその他を示す。

「甲州は初期の東洋系カスピカ亜系」説と矛盾しない結果と言える。

ただし、ここで用いているブドウ品種は数や原産地が限られていることから、海外で報告されている多品種のデータとの比較が必要と考えられた。Sefcら¹³⁾は、ヨーロッパ各国のグループの共同研究として、162品種のSSRデータを公開するとともに、栽培品種の原産地によってSSRデータに偏りがあり、これを利用した判別分析（アサイメントテスト）によって原産地の推定が可能であることを報告している。そこで、この報告と同じSSRプライマーで東洋系品種と *V. labrusca* 系2品種の解析を行い、データのズレを補正した上で、*V. vinifera* 西洋系、東洋系、*V. labrusca* 系の3つのグループでアサイメントテストを行った。その結果、甲州、甲州三尺ともに東洋系にアサインされ、*V. vinifera* 東洋系品種に特有のSSRデータの偏りを持っていることが示された¹⁴⁾。

3. 甲州と竜眼、紫ブドウの関係

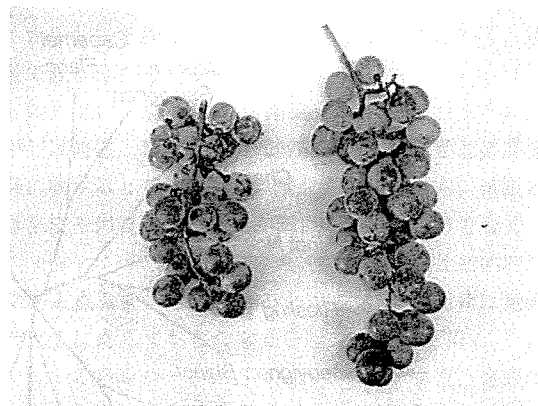
前述のように、甲州は竜眼の、竜眼は和田紅の実生ではないか、という説があった。竜眼は明治時代に中国から導入された品種で、わが国では長野県を中心に栽培され、白ワインの原料として用いられている²⁾。甲州が竜眼の実生とすると、ブドウは原則として自家受粉であるから、甲州のSSR値は全て竜眼に由来することになり、竜眼と他品種が交雑して甲州が生まれた場合は、甲州と竜眼で2つのSSR値の少なくとも片方は共通することになる。しかし、SSR解析の結果（第1表）、甲州は、竜眼の自家受粉や他品種との交雑で生じた品種ではないことが明らかになり、同様に竜眼と和田紅が親子である可能性も否定された¹⁴⁾。

また、わが国在来のブドウ品種として古い文献には「紫葡萄」や「聚楽葡萄」などの名前も残されている。紫ブドウについて、菊池⁵⁾は、「東国の紫葡萄というのは、甲州葡萄なることに疑うべき余地がない」と記している。一方、大阪府農林技術センター（現在は大

阪府環境農林水産総合研究所、食とみどり技術センター）の研究職員であった小寺正史¹⁵⁾は、紫ブドウの形質や来歴を調査して、甲州とは異なる品種であると推定した。紫ブドウは、現在大阪府環境農林水産総合研究所に保存されている1樹のみが知られている（第2図）ことから、この紫ブドウと甲州のDNAのSSR解析を行ったところ、両サンプルは26のSSR遺伝子座すべてで一致した。また、紫ブドウ果皮のアントシアニン含量は甲州の範囲内にあり、紫ブドウはアシル化アントシアニン、特にp-クマル化したアントシアニンの割合がやや高かったが、アシル化していないアントシアニンの組成は甲州とよく類似していた。以前栽培されていた紫ブドウはもっと色が濃かったという人もあり、その場合紫ブドウは失われてしまった可能性もあるが、少なくとも現在保存されている紫ブドウは甲州と同じ、または非常に近い品種であることが示された¹⁶⁾。

4. ブドウの種の問題—甲州は *V. vinifera* か？

ブドウ *V. vinifera* の栽培は、新石器時代に黒海とカスピ海に挟まれたコーカサス地方、トルコ、イランにまたがる地域でその祖先種 *V. vinifera* ssp. *sylvestris* が栽培化され、メソポタミア、エジプトからギリ



第2図 紫ブドウ(左)と甲州(右)の果房¹⁶⁾

第1表 甲州等のSSR解析結果¹⁴⁾

SSR 遺伝子座	VVS2	VVMD5	VVMD7	VVMD27	VrZAG62	VrZAG79						
甲州	123	131	232	232	241	249	178	182	187	195	240	248
甲州三尺	123	133	230	234	241	241	182	191	187	210	240	254
竜眼	139	165	230	232	231	245	190	190	203	203	246	252
和田紅	139	148	224	236	231	245	176	178	195	201	244	248

シャを経て紀元前 800 年頃に地中海沿岸に広まったとされていた。しかし、近東地域と西の端にあたるイベリア半島（スペイン・ポルトガル）では在来のブドウ品種の形態が異なる。Sefc ら¹⁷⁾は、核 DNA の SSR 解析結果から計算した距離と地理的な距離が正の相関を示すが、人為的な伝搬と選択であれば地理的距離とは関係しないと考えられることから、各地で野生種 *sylvestris* の栽培化や、導入された栽培品種と野生種の交配による遺伝子導入が生じたものと推定した。また、Arroyo-Garcia ら¹⁸⁾は、ブドウの葉緑体の SSR を解析し、中東・近東地域とイベリア半島では野生種 *sylvestris* の葉緑体 SSR パターン（葉緑体型）が異なり、これらの地域では在来の栽培品種の葉緑体型が *sylvestris* のものに近いことから、ブドウの栽培品種化は少なくとも中近東とイベリア半島の 2ヶ所で起こったと推定している。

ところで、甲州のワインを輸出しようとするワイナリー等が、平成 16 年にカリフォルニア大学デイビス校で依頼解析した甲州の SSR 解析結果が報道発表された。10 の SSR 遺伝子座のデータには、これまで栽培品種で見つかっていない値が 2 つ含まれていることから、「一部に非 *vinifera* の遺伝子を持つハイブリッド」であるという報道もされたが、その特異的な SSR 値がブドウの野生種に由来するというデータは示されていない。

上述の研究で、Sefc ら¹⁷⁾はヨーロッパ地域を対象（東端はギリシャ）としており、Arroyo-Garcia ら¹⁸⁾は中東（トルクメニスタン、アフガニスタン）までを対象としている。カリフォルニア大学の Aradhya ら¹⁹⁾はブドウの SSR を多数解析しているが、東洋系品種としてはロシア、アフガニスタンのものまでで、いずれも中国の品種が解析されていない。甲州はシルクロードを経てわが国に伝わったと考えられていることから、ひょっとすると中国の在来品種に甲州と同じ「特異的な SSR 値」を持つものがあるかもしれない。

また、報道発表のように伝搬の過程でアジア系の *Vitis* 属野生種との交配があった可能性も想定される。これまでも甲州は rDNA のサザン解析⁸⁾やアイソザイム解析²⁰⁾で特異的なフラグメントを生じることが報告されており、この推察と矛盾しない。ただし、これまで述べたように DNA 多型解析の結果からは甲州は東洋系 *V. vinifera* の特徴を示しており、アント

シアニン組成も *V. vinifera* と同様モノグルコシドであること²¹⁾、フィロキセラに感受性であること⁷⁾から、少なくとも雑種第 1 世代ではなく、祖先の一部に野生種が含まれる可能性がある、というべきであろう。

EU 内で第 3 国のワインがブドウ品種名をラベルに記載するには、OIV などの国際機関のリストに登録されている必要がある。そこで、甲州のワインを輸出しようという取り組みのなかで、山梨県から国税庁へ甲州の品種名登録の要望があった。国税庁が外務省から在仏日本大使館を経由して OIV に品種登録に関する手続きを照会したところ、申請は政府または政府に委託された機関が行う、とのことで、この業務が当所に委託され東京事務所（情報技術支援部門）で担当することとなった。申請にあたってはブドウの形態や生理的諸性質を示すデータの提出が必要であるが、幸いなことに山梨県果樹試験場ではすでに種苗特性分類調査として甲州のデータを有していた。山梨県ではこれらのデータ等を OIV 指定の方法で記載し直す作業を行い、当所は SSR 解析結果とともに提出資料をとりまとめて、品種登録の手続きを行った。その結果、OIV の 2010 年版リスト (http://news.reseau-concept.net/images/oiv_uk/Client/ListeCepageOIV_MAJ_2010_08.pdf) に甲州（Koshu, 同義語 Kohshu, Kōshu）が記載され、EU へ輸出する甲州のワインに品種名を記載することが可能になった。しかし、OIV から追加要求があり、甲州種が *V. vinifera* であることを科学的に証明する資料として Yokotsuka らのアントシアニン分析²¹⁾及び当所の SSR 解析^{10,14)}の報文を提出したにもかかわらず、リストへの記載を当所に通知する文書に「この登録は甲州が *Vitis vinifera* と認められることを意味するものではなく、この議論は継続中である」とのコメントがあった。

ブドウなどの果樹は、「交雑できない、または交雑した個体が稔性を示さない」という生物学的な「種」の概念よりも細かなレベルで種名が付けられており、*V. vinifera* と *V. labrusca* の交配品種はさらに交配を繰り返すことができる。例えば、コンコードのような通常 *V. labrusca* と呼ばれる品種も実際は *V. labrusca* の特徴が強く出た交配品種であり、純粋の *V. labrusca* ではないため、本稿では「*V. labrusca* 系品種」と記載した。従って、*V. vinifera* の範囲をどのように規定するかは、かなり主観的なものと言える。Ar-

royo-Garcia ら¹⁸⁾や Aradhya ら¹⁹⁾の研究のように、OIV 関係者の頭のなかでは *V. vinifera* の分布はアフガニスタンで止まっているのかもしれない。

〈(独) 酒類総合研究所〉

参考文献

- 1) H. Kobayashi, H. Takase, K. Kaneko, F. Tanzawa, R. Takata, S. Suzuki, and T. Konno: *Am. J. Enol. Vitic.*, 61, 176-185 (2010)
- 2) 茂木七左衛門・上野雄靖・木下研二: 醸協, 73, 608-612 (1978)
- 3) 雨宮 毅: 甲州ぶどう栽培 800 年祭記念誌, 11-16 (1987)
- 4) 松井弘之: 醸協, 84, 687-693 (1989)
- 5) 菊池秋雄: 果樹園芸学 (上) 第 11 章, 養賢堂 (1948)
- 6) 土屋長男: 山梨の園芸, 16, 34-39 (1968)
- 7) 城山桃夫: 果物のシルクロード, 第 1 部, 八坂書房 (1983 年)
- 8) N. Goto-Yamamoto, R. Mochioka, L. Bonian, K. Hashizume, N. Umeda, and S. Horiuchi: *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 67, 483-490 (1998)
- 9) N. Goto-Yamamoto: *Breed. Sci.*, 50, 53-57 (2000)
- 10) N. Goto-Yamamoto, H. Mouri, M. Azumi, K. J. Edwards: *Am. J. Enol. Vitic.*, 57, 105-108 (2006)
- 11) J.E. Bowers, and C.P. Meredith: *Nat. Genet.*, 16, 84-87 (1997)
- 12) J. Bowers, J.M. Boursiquot, P. This, K. Chu, H. Johansson, and C. Meredith: *Science*, 285, 1562-1565 (1999)
- 13) K.M. Sefc, M.S. Lopes, F. Lefort, R. Botta, K.A. Roubelakis-Angelakis, J. Ibáñez, I. Pejic, H.W. Wagner, J. Glössl, and H. Steinkellner: *Theor. Appl. Genet.* 100, 498-505 (2000)
- 14) N. Goto-Yamamoto, M. Numata, G-H. Wan, T. Shimamoto, and K. Hashizume: *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 78, 175-179 (2009)
- 15) 小寺正史: 大阪府におけるブドウ栽培の歴史の変遷に関する研究, 大阪府立大学学位論文 (1986)
- 16) 後藤 (山本) 奈美・沼田美子代・島本 敏・望岡亮介・細見彰洋: *J. ASEV Jpn.*, 19, 114-118 (2008)
- 17) K. M. Sefc, H. Steinkellner, F. Lefort, R. Botta, A. da Câmara Machado, J. Borrego, E. Maletic and J. Glössl: *Am. J. Enol. Vitic.*, 54, 15-21 (2003)
- 18) R. Arroyo-Garcia, L. Ruiz-Garcia, L. Bolling, R. Ocete, A. Lopez, and other 30 authors: *Mol. Ecol.*, 15, 3707-3714 (2006)
- 19) M.K. Aradhya, G. S. Dangl, B. H. Prins, J-M. Boursiquot, M. A. Walker, C. P. Meredith, and C. J. Simon: *Genet. Res., Camb.* 81, 179-192 (2003)
- 20) 大見千枝・若菜 章・白石真一: 園学雑 59 別 2, 186-187 (1990)
- 21) K. Yokotsuka, K. Nozaki, and T. Kushida: *J. Ferment. Technol.*, 62, 477-486 (1984)