

[GRAPEVINE]

第10回国際ブドウ遺伝・育種学会に参加して

独立行政法人酒類総合研究所 後藤（山本）奈美

2010年8月1日～5日、第10回国際ブドウ遺伝・育種学会（10<sup>th</sup> International Conference on Grapevine Breeding and Genetics）がアメリカ、ニューヨーク州ジュニーバ（Geneva）で開催された。本学会は、4年に1回、主にヨーロッパで開催されてきたが、今回はアメリカでの開催であった。実行委員長はCornell大学のBruce Reisch教授で、国際園芸学会、Cornell大学、米国農務省農業研究センター（USDA-ARS）、Guelph大学（カナダ）の後援を受けている。今回、日本からは（独）農業・食品産業技術総合研究機構 果樹研究所から2名、当所から2名が参加し、口頭発表2題とポスター発表2題を行った。以下、概要を紹介するが、筆者の英語力と理解能力の関係で内容が不十分な点、また誤解があればお許し頂きたい。

研究発表の概要

日程は表1のとおりで、口頭発表は、耐病性、育種、ゲノミクスからメタボロミクスまでのオミクス研究、遺伝資源、育種などのセッションが1会場で4日間にわたって行われた。また、ポスター発表も115点（若干の欠席を含む）あった。

1. 耐病性関連

耐病性については、ウドンコ病、ベト病耐性の研究が進んでいる。ウドンコ病耐性を示す中央アジア原産の *Vitis vinifera* 品種 ‘Kishmish vatkana’ と ‘Dzhandzhalkara’ の研究の結果、両品種のウドンコ病耐性は *REN1* と名付けられた1つの遺伝子座にコードされていることが報告されている。F1 個体を用いたマッピングの結果、*REN1* は第13番染色体の2つのSSRマーカーに挟

表1 第10回国際ブドウ遺伝・育種学会の日程

月日	セッション	トピック
8月1日	Welcome reception	
8月2日	Opening Comments	
	Oral Session 1	Pest and Disease Resistance I
	Oral Session 2	Pest and Disease Resistance II
	Poster Session 1	
	Oral Session 3	Grapevine Breeding: Techniques, Goals and Strategies
8月3日	Oral Session 4	Genomics, Transcriptomics, Proteomics and Metabolomics I
	Oral Session 5	Genomics, Transcriptomics, Proteomics and Metabolomics II
	見学会	
8月4日	Oral Session 6	Abiotic and Biotic Stress Tolerance
	Oral Session 7	Genetics of Fruit Quality & Transgenic Research
	Poster Session 2	
	ワイナリー見学	
8月5日	Oral Session 8	Grapevine Genetic Resources – Parentage, Population Genetics, Fingerprinting
	Oral Session 9	Breeding for Quality

まれた1.4 cM（物理地図では1.4 Mb）の間にあることが示された。*REN1* のシーケンスや機能は明らかになっていないが、連鎖するマーカーが明らかになったことで、これを利用した育種（Marker Assisted Selection, MAS）が可能になると期待される（C. Coleman、イタリア、Udine 大学他）。また、368の品種、野生種、交配品種を調査した結果、新たに4つの *REN1* ホモログ

が報告された（S. Riaz、米国 UC Davis）。さらに、中国の野生ブドウ、*Vitis romanetti* のウドンコ病耐性と連鎖するマーカーも報告された（S. Mahanil、米国、USDA-ARS）。

ベト病耐性遺伝子 *RUN1*、*PRV1* は *Muscadina rotundifolia* 由来で、*Vitis* (n=38) と *Muscadina* (n=40) では染色体数が異なる。現在、*Muscadina* の染色体地

図の作成が行われており、今後、BAC ライブラリの作成や次世代シーケンサーによるゲノムシーケンスも予定されていると聞いた。

耐病性品種の育種について、基調講演で R. Eibach (ドイツ, JKI Geilweilerhof) は、French hybrid や direct producer と呼ばれる初期の交配育種では品質の評価が不十分なまま実地の栽培に移されたため、交配品種は品質が劣ると強く印象づけてしまった。しかし、近年の遺伝子地図の作成、QTL 解析、MAS は、効率的な育種を可能にしている、と述べた。すでに野生種のウドンコ病、ベト病耐性を持つワイン用品種 Regent が育種されており、Regent の耐病性関連性遺伝子の検討 (E. Zyprian, ドイツ, JKI Geilweilerhof) や、耐病性品種を親にした新しい耐病性品種開発の取り組み (S. Hoffmann, ハンガリー, Pécs 大学; P. Burger, 南アフリカ, ARC) も報告された。中国からは、耐病性、耐寒性の強い野生種との交配育種が報告された (Y. Wang, 中国, Northwest A&F Univ.)。一方、病原菌の変異によって耐病性が破られる例も報告され、いくつかの耐性遺伝子を組み合わせた堅固な耐病性と品質を兼ね備えた育種の取り組みが報告された (D. Merdinoglu, フランス, INRA)。

次世代シーケンサーの実用化で、これを利用した報告も珍しくなくなった。

ベト病耐性の強い *V. amurensis* にベト病菌を摂取したときに発現する遺伝子を次世代シーケンサー (Illumina) を用いた 21 base の Tag sequence を行い、ブドウの全ゲノムシーケンスを参照・同定したところ、生体防御、代謝、二次代謝関連の遺伝子に高発現しているものが多く見られた。この方法はマイクロアレイよりも感度が高い、とのことで、さらに *V. amurensis* 固有の配列の割合にも興味を持たれる (J. Lu, 米国, Florida Agricultural and Mechanical 大学)。

また、ウィルスの検出のため、ブドウから抽出された 2 本鎖 RNA のメタゲノム解析を行い、これまで海外でしか報告されていなかったウィルスを検出したという報告もあった (J. Burger, 南アフリカ, Stellenbosch 大学)。

## 2. 新品種の育種など

生食用品種の育種・形質の研究では、種なし性、果粒の大きさに関連する遺伝子座の解析と、次世代シーケンサーを用いた cDNA シーケンスによる GA 応答の

解析が報告された (P. Hinrichsen, チリ, INIA)。また、果肉のテクスチャーとペクテートリアーゼの多型が関連することが報告された (J. Ibanez, スペイン, INIA-UPM)。

各国の品種育種として、日本では果粒の大きさと食味を重視した‘巨峰’由来の四倍体品種の育種を行い、‘安芸クイーン’や‘サニールージュ’などを育成したが、遺伝的変異と耐病性の付与が今後の課題である (三谷, 日本, 果樹研)。アメリカ南東部では、マスカダインドウも生食用・加工用に栽培されており、マスカダイン品種の育種が報告され、果実が試食用に展示された (P. Conner, 米国, Georgia 大学)。イタリアからは、‘Riesling italico’ × ‘Pinot noir’ および ‘Riesling italico’ × ‘Chardonnay’ の交配を行い、選択圧を低くした選抜を行うことでイタリアの風土に適したスパークリングワイン用の品種が育種された。この品種は EU のワイン用ブドウのリストに登録され、実用化される見込みだと報告された (L. Bavaresco, イタリア, Catolica Sacro Coure 大学)。この他、3 倍体の種なし品種や驚くような色や形の生食用品種の育種 (A. Perl, イスラエル, Volcani Center)、亜熱帯性気候に適した生食用品種の育種 (R. Ritschel, ブラジル, EMBRAPA)、耐寒性品種の育種 (P. Hemstad, 米国, Minesota 大学)、中国の急拡大するワインブドウ栽培とワインブドウの育種 (L. Wang, 中国科学アカデミー) が報告された。

## 3. 台木の育種など

台木の育種・研究としては、オーストラリアで問題となっているネマトーダに耐性があり、高カリウム土壌に適した台木の育種 (B. Smith, オーストラリア, CSIRO)、ブドウファンリーフウィルスを媒介する dagger nematoda に抵抗性のある *V. arizonica/girdiana* の耐性遺伝子座、*XiRI* の研究 (C. Hwang, 米国, Missouri 州立大学)、台木の石灰性 Fe 欠乏症 (クロロシス) 耐性に関わる遺伝子座の QTL 解析 (P-F. Bert, フランス, Bordeaux 大学) が報告された。また、乾燥ストレス条件での穂木の蒸散 (transpiration) は台木によって異なることから、この差異に関わる QTL 解析が報告された。ポット栽培したブドウの重量をポットごと測定して蒸散量を求める実験で、100 台以上の台秤を使用した大がかりな実験である (E. Marguerit, フランス, INRA)。またポスター発表では台木による樹勢の違いに関する QTL 解析も報告された (S. Decroocq, フランス, INRA)。

台木の樹勢と穂木の樹勢には相関がなく、両者の組み合わせによっても異なるとのことで、演題は“Conferred vigour: loci but no logic”であった。

ウィルス RNA と短い 2 本鎖 RNA を形成するように台木を形質転換し、SiRNA を利用して穂木の GFLV を抑制できると報告された。(P. Arce-Johnson、チリ、Catholica de Chile 大学)。この発表には RNA が台木から穂木へ輸送されるのか、等多くの質問が出された。

梨のポリガラクチュロナーゼ・インヒビタータンパク質をブドウで発現させると灰色カビ病に耐性になることが報告されているが、今回は Pierce 病にも抵抗性を示すことが報告された。なお、この形質転換によって、ブドウの種々の遺伝子発現が影響を受けているとのことである (A. Ibanez、米国、UC Davis)。

#### 4. オミクス関連

ゲノミクス関係では、ブドウの全ゲノム解析を行った仏伊合同チームの A-F. Adam-Blondin (フランス、INRA) が基調講演を行った。‘ピノ・ノアール’の自家受粉を繰り返して育種された、ほぼホモザイガスとみなされる系統 PN40024 のゲノムをサンガー法で 12X のシーケンスを行い、別途行った EST 解析 (mRNA のシーケンス) 結果と照合することで 26,347 のコード領域が推定された。コンピュータ上で遺伝子の名前を付け (アノテーションを行い)、この結果は NCBI で公表されている (V0)。さらに精度を上げたアノテーション V1 の結果を元に、全遺伝子を網羅した DNA マイクロアレイ NimbleGen Chip が開発された。現在人手によるアノテーション (V2) が EU のプロジェクトとして進められている。今後の課題として、ブドウゲノム中に多いスチルベンシンターゼやテルペン合成酵素がどのようにコピー数を増やしてきたのか、興味が持たれる。また、異なるブドウ品種のリシーケンス (次世代シーケンサーで得られる短い配列を既知のゲノムシーケンスに対応させて、シーケンスの違いを調べる) が行われ、多数の一塩基多型 (SNPs) が得られている。SNPs を検出するチップも開発されており、SSR マーカーとは比較にならないほど多数の SNPs マーカーを利用したアソシエーション解析も始められている (S. Myles、米国 Cornell 大学)。また、育種への応用として、ゲノムのタイピングと形質の関係をゲノムワイドに解析する研究も計画されている。Training population として必要になる多数の個体(この場合は品

種)のコア・コレクションも準備されている。ゲノム解析 (genotyping) のコストは急激に低下したが、形質の解析 (phenotyping) をどうやって行うかが今後の課題と指摘された。

さて、全ゲノム解析のデータに基づく NimbleGen Chip を用いて、どの程度の数の遺伝子が発現しているのか、が解析された。各種器官、果実の発達段階を通して共通に発現が認められた遺伝子は約 2,000、総数では 25,000 以上であった。同じ機能のタンパク質を複数の遺伝子がコードする Gene family があるが、このチップによって Gene family のメンバーの生育段階や器官特異的発現を容易に調べることが可能になった (M. Pezzotti、イタリア、Verona 大学)。

メタボローム (代謝産物の網羅的解析) 関係では、メタボロームの分析結果を主成分分析することで品種のグルーピング (ひいては推定) はできるが、収穫年の推定はできないこと、官能検査による 3 段階の品質評価もグルーピングできることが報告された。今後はトランスクリプトームとメタボロームの関係を検討する、とのことであった (H. Pena-Cortes、チリ、Technical Federico Santa Maria 大学)

#### 5. 遺伝子の機能解析

遺伝子機能の解析については、形態形成や二次代謝成分に研究が報告された。

花序とまきひげは同じ組織から分化する (時々まきひげの先に花がついた中間体が見られるのはそのため)。花序形成に関わる遺伝子と Cytokinin との関連を調べた報告 (E. Or、イスラエル Volcani Center) や、まきひげと花序の分化時に発現する遺伝子の違いを調べた報告 (J. Diaz-Riquelme、スペイン Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino、CSIC) があつた。また、ブドウの葉の毛やトゲの有無は一つの QTL に影響されるという報告 (L. Owens、米国、USDA-ARS) もあつた。

二次代謝については、アントシアニンとテルペンについての研究発表が多くあつた。

アントシアニン含量と SSR、SNP マーカーの QTL 解析、および多数の品種を用いたアソシエーション解析の結果、アントシアニン合成の転写制御因子として報告されている VvMybA1、VvMybA2 のプロモーターおよびコード領域の多型に加えて、フラボノイド合成の共通経路の転写制御因子と報告されている VvMyb5b の多型がアントシアニン量に有意な影響を及ぼす遺伝

的な要因であることが報告された。また、アントシアニンのメチル化を触媒すると推定される O-methyl transferase (OMT) を *in vitro translation* したところ、OMT の多型によってシアニジン、デルフィニジンに対する活性が異なることが示された (A. Fournier-Level、フランス、INRA-SupAgro)。

この他にも *VvMybA1*、*A2* の機能に関する報告 (P. Poudel、日本、酒総研) や、野生ブドウを含めたプロモーター領域の挿入欠失配列の研究 (R. Arroyo-Garcia、スペイン、CBGP-INIA)、またポスターで、*VvMybA1/A2* の多型が人為的に選択されてきたことを示す研究 (P. This、フランス、INRA) なども発表された。

ブドウのスチルベン化合物、リスベラトロールには多くに研究があるが、その生合成の調節機構は明らかにされていない。スチルベン合成酵素 STS は 35 コピーの *gene family* を形成しているが、STS の発現と相関する R2R3Myb 遺伝子を検索した。この遺伝子は、アラビドプシスの *AtMyb14* (機能は不明) のホモログであることから *VvMyb14* と名付けられた。ブドウ培養細胞の一過的形質転換の結果、*VvMyb14* は STS のプロモーターを活性化することが示された (A. Vannozzi、イタリア、Padova 大学)。

## 6. 遺伝資源

遺伝資源関係では、トルコの 1,115 サンプルの SSR 解析を行い、そのうち 854 が異なる品種であることを示した。さらにこのデータを基にストラクチャー解析を行い、地域によって特徴的な Gene pool を持つことが報告された。トルコには供試できなかったものを含めると 1,600 以上の品種があると推定されている、とのことである (A. Ergul、トルコ、Ankara 大学)。一方、フランスでは 54 カ国から収集された 5,516 品種 (Domaine de Vassal コレクション) を 20 の SSR マーカーで解析し、大規模な親子関係の調査が行われた。交配親が記録されている品種のうち、180 品種は記録が確認されたが、90 品種は記録と異なっており、特に花粉親の異なるものが多数見つかった。演者は「もう Breeder は信用できない！」とスライドに大書して会場を沸かせた (T. Laconbe、フランス、INRA-SupAgro)。また、グルジアの 135 品種を同じ SSR マーカーで解析したところ、上述の 5,516 品種とは異なるデータの分布を示した (S. Imazio、グルジア、Institute of Horticulture, Viticulture and Oenology)。遺伝資源の保存は重要な課

題であるが、各国の保存品種データベースを集めて、情報を共有しよう、という提案 (ポスター発表) もなされた (C. D'Onofrio、イタリア、Pisa 大学)。

プログラムとアブストラクトは学会の WEB サイト (<http://www.nysaes.cornell.edu/grapebreeding2010/program.php>) で公開されている。また、国際園芸学会から Proceeding が発行される予定である。次回は 2014 年に中国で開催されることになった。

## 見学会の概要

本学会では、会期中に Cornell 大学と USDA-ARS の遺伝資源圃場、育種圃場、ワインの試験醸造設備 (写真 1、2) 等の見学とワイナリーの見学、学会後の見学会で実際のブドウ圃場とワイナリーの見学があった。



写真1 コーネル大学の試験醸造設備 (1)



写真2 コーネル大学の試験醸造設備 (2) ポット仕込みの温度制御設備

ニューヨーク州はアメリカでも寒冷な地域で五大湖が凍結する年もある。ジュニーバのあるフィンガーレイ

ク地域の年間雨量は30~35インチ(762~889mm)で、年間を通じて降雨があり、夏には気温が35°C以上になることもある。日較差が大きいことを除くと、学会会期中の暑く湿気の多い天候は日本の夏に良く似た感じであった。ブドウの樹も日本で見慣れた樹勢の強いもので、ヨーロッパからの参加者は「全然違うブドウ畑」だと言っていた。また、この地域はヨーロッパ、さらには世界各地に広まったフィロキセラ、ベト病、およびウドンコ病の発祥の地でもある。こうしたことから、Cornell 大学では寒冷耐性、耐病性の品種の育種が行われてきた。‘Traminette’ (‘Joannes Seyve 23.416’ × ‘Gewürztraminer’)、‘Chardonel’ (‘Seyval’ × ‘Chardonnay’) など Cornell 大学で育成・選抜された品種も多い。USDA-ARS の遺伝資源圃場では、アメリカ系だけでなく中国原産の各種の野生ブドウや、交配品種が栽培・保存されている。なお、‘コンコード’や‘ナイヤガラ’などは交配育種された品種で *Vitis labrusca* そのものではなく(ただし育種の記録が残されておらず、‘コンコード’の何%がラブルスカ由来かはわからない、とのこと)、野生の *V. labrusca* は‘コンコード’よりもさらに強い foxy flavor を持つ、とのことであった。

また、この地域は *V. riparia* などの野生ブドウが自生している地域で、道路沿いの樹に野生ブドウが這い上って生えている光景があちこちで見られた(写真3)。



写真3 樹に這い上る野生ブドウ

アメリカ原産の野生ブドウの根はフィロキセラ耐性があるが、葉は耐性がなくてコブを造るという教科書の記述通り、USDA-ARS の遺伝子資源圃場ではフィロキセラのコブができた野生種のブドウが多く見られた

(写真4)。現在、この地域で問題になっているのは Japanese beetle (写真5) とのことで、ブドウの葉を食い荒らしていた。



写真4 フィロキセラによるアメリカ系ブドウの葉のコブ



写真5 ブドウの葉を食害する Japanese beetle

なお、USDA-ARS は日本では農水省関係の独立行政法人の研究所、フランスでは INRA に相当する国立研究機関で、2千数百人の研究者を擁し、アメリカ各地に研究所を持っている。ニューヨーク州では Cornell 大学に近接し(というか、境界がわからなかった)、行政上、予算上は別の組織であるが、協力して研究を進めている。また、Cornell 大学は産業支援にあたる Extension にブドウ栽培は5人、ワイン醸造には2人のスタッフがいて、ワークショップで情報を生産者に伝えたり、問題があったときに相談に応じたり、安価に分析を行ったりしている。このほか、民間の分析機関もある、とのことだった。

ニューヨーク州のブドウ栽培はアメリカでは古い歴史があり、当初は食用のブドウが栽培された。その

後、1800年台からワイン造りが行われた。禁酒法(1919～1933年)でワイン醸造が途絶えた後、徐々に小さなワイナリーが復活し、その後免許制度が緩和されて、現在250軒ほどのワイナリーがある、とのことである。ニューヨーク州内で栽培されているブドウはおよそ半分がラブルスカ系品種、約25%が交配(ハイブリッド)品種、残り25%がヴィニフェラ品種とのことで、ワイン用にはヴィニフェラのほか、ハイブリッドやラブルスカ系品種も使用されている(写真6)。薬剤散布はヴィニフェラでは年8～9回必要になるが、ハイブリッドでは7～8回、ラブルスカ系ではより少なくて栽培できるとのこと。「ラブルスカの甘い香りのワインはワイン・ビギナーには飲みやすくて良いんだ。だんだんワインを飲み慣れてくるとラブルスカは卒業して、ヨーロッパ系品種に移るんだけどね。」という日本でよく聞く話を Bruce Reisch 教授の口から聞いたときは驚いた。



写真6 アメリカ系交配品種のワイン

ヴィニフェラ品種としては、‘シャルドネ’、‘リースリング’、‘カベルネ・フラン’、‘ピノ・ノアール’、‘レンバルガー’など比較的冷涼な地域に適性のある品種が造られている。また、French hybridの‘Vidal blanc’は晩熟で脱粒しにくい性質を活かして、late harvestやice wineも造られている。

栽培面積では‘コンコード’(写真7)が最も広い。‘コンコード’は一部生食用にも出されているが、生食用には主に西海岸で栽培されている新しい品種が主流になっており、‘コンコード’は主にジュース用になっている、とのこと。‘コンコード’は7～9 t/エーカー(1.7～2.2 t/10a)の収量で、ジュース用は230 \$/t(約20円/kg)、ワイン用は300 \$/t程度とのことである。見

学したブドウ農場では、400エーカー(約160ha)を6人で栽培管理し、‘コンコード’をワインとジュース用に、ハイブリッド品種を小さいワイナリーに販売していた。

今回見学したワイナリーはいずれもブティックワイナリー的な規模(写真8)で、多品種のワインを造っているところも日本のワイナリーに近い雰囲気であった。なお、ニューヨーク州のワイン醸造については、小山の詳しい報告<sup>1\*</sup>がある。海外のワイン産地というと、恵まれた自然条件の中で、理想的(に近い)なブドウ栽培とワイン醸造が行われている、というイメージが筆者にはあったが、今回見学をしたニューヨーク州のワイナリーは決してそうではなく、こういうブドウ栽培、ワイン醸造も「あり」なのだと言えられた。



写真7 コンコードの畑



写真8 ワイナリーでのテイスティング風景、建物のなかには売店

<sup>1\*</sup> : 小山和哉. 2004. ニューヨーク州におけるワイン醸造について. 醸協. 99: 562-574.