



バレイシヨ近縁種の系統進化

保坂, 和良

(Degree)

博士 (学術)

(Date of Degree)

1985-03-31

(Date of Publication)

2007-10-11

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲0544

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1000544>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



博士論文

バレイシヨ近縁種の系統進化

昭和60年3月

神戸大学大学院自然科学研究科

保坂 和良

目 次

緒 論	-----	1
第 1 章 葉形分析から見たバレイショ近 縁種の変異		
緒 論	-----	11
材料及び方法	-----	12
結 果	-----	21
考 察	-----	36
第 2 章 パーオキシダーゼアインザイム 分析から見た南米及びメキシコ産ニ倍種 の類縁関係		
緒 論	-----	43
材料及び方法	-----	44
結 果	-----	50
考 察	-----	67

第 3 章 葉緑体 DNA の制限酵素分析から 見たバレイシヨ近縁種及び <u>Lycopersicon</u> 属植 物の類縁関係	
緒 論	74
材料及び方法	77
結 果	86
考 察	106
総合考察	123
摘 要	142
謝 辞	150
引用文献	152

バレイショ近縁種の系統進化

緒 論

バレイショはイネ、ムギ、トウモロコシなどの穀類と共に、今日我々人類が持つ最も重要な作物の1つである。近年、食料資源の拡大をめぐって、主要作物とその近縁種が保有する有用遺伝子の探索と保存が世界的に緊急且つ重要な課題となってきた。このような認識に立って、本研究はバレイショ近縁種の類縁関係を明らかにし、系統進化の過程とその要因を考察することを目的として行ったものである。

バレイショ近縁種 (tuberous, or tuber-bearing, Solanum species) は、Solanum 属 Petota 節 Potatoe 亜節 に属し、Hawkes (1978) によると 156 種の近縁野生種と 8 種の栽培種が認められている。

栽培種はいずれも南米アンデス高原で栽培

化され今日に及んでおり、その一部が新大陸
発見後、ヨーロッパを経て全世界に広まり、
いわゆる普通バレイショ (*S. tuberosum* ssp. *tuberosum*)
となった。一方、野生種の分布域は、北はア
メリカ合衆国コロラド及びユタ州から、メキ
シコ高原、中央アメリカ、アンデス高原及び
アルゼンチンのパンパ地帯を経て南緯45°に及
んでいる。野生種の分布中心は、メキシコ高
原と中央アンデス高原である (Hawkes 1978)。

Hawkes (1944) は当初これらの近縁種を、Fig. 1
に示すように塊茎形成能の有無、花冠形、小
花梗節の有無と位置、或いは葉形などの形態
的特徴に基づいて13の分類群 (taxonomic series) に
分別したが、その後 (Hawkes 1956、1958b、1963、1978)
新種の発見や細胞遺伝学的知見の増加に伴い、
所属分類群の変更や分類群の新設を行い、現
在では18分類群に類別している (Table 1)。分類
群により構成種数は異なり、1種しかないも
のから数10種に及ぶものまで様々である (Table 5)。
同じく形態的類似性に基づいて Bukasov

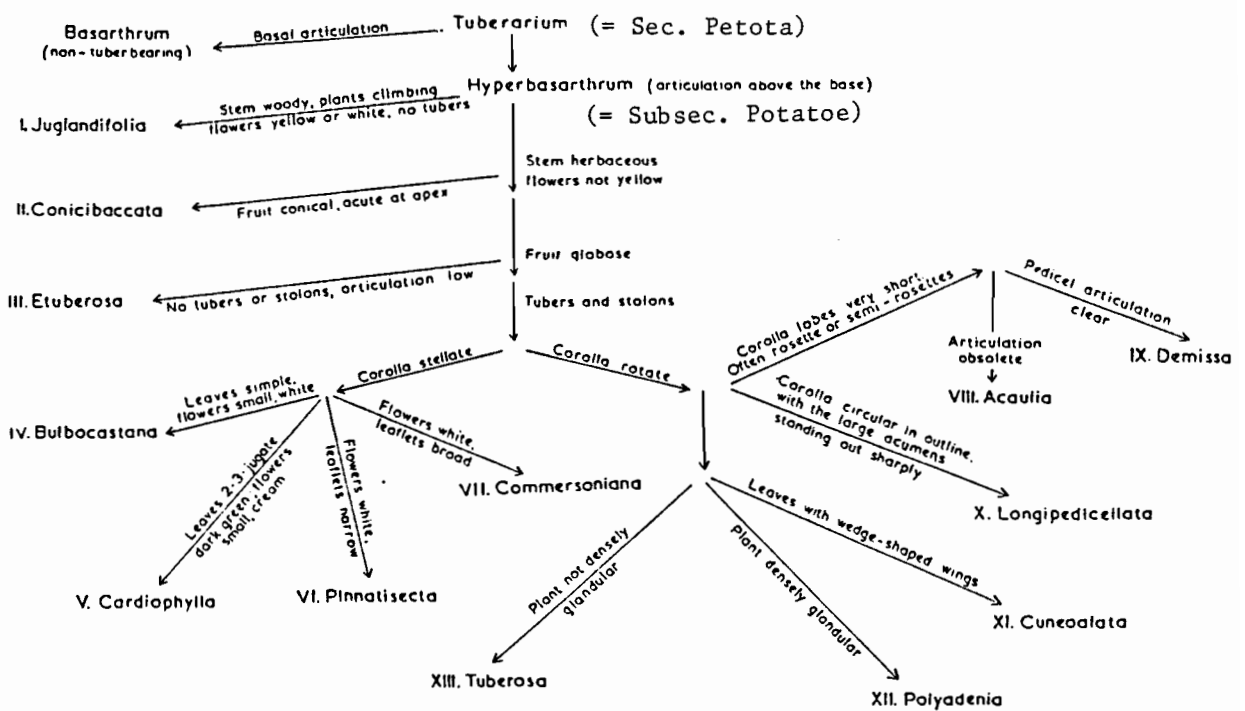


Fig. 1 Classification of the taxonomic series by Hawkes (1947).

Table 1 Taxonomic series in tuberous Solanum species proposed by Hawkes and by Correll.

	H A W K E S (1978)		HAWKES (1963)(1956&58)(1944)	CORRELL (1962)
	Taxonomic series	Corolla	(1963)(1956&58)(1944)	(1962)
I.	<u>Juglandifolia</u>	(JUG) ?	JUG	JUG
II.	<u>Euberosa</u>	(ETU) rotate	ETU	ETU
III.	<u>Morelliformia</u>	(MOR) stellate	MOR	MOR
IV.	<u>Bulbocastana</u>	(BUL) stellate	BUL	BUL, CLA
V.	<u>Pinnatisecta</u>	(PIN) stellate	PIN	PIN, TRI
			(CAR)	CAR
VI.	<u>Commersoniana</u>	(COM) stallate	COM	COM, TAR, YUN
VII.	<u>Circaeifolia</u>	(CIR) stellate	CIR	CIR
VIII.	<u>Conicibaccata</u>	(CON) rot. to ste.	CON	CON
IX.	<u>Piurana</u>	(PIU) rotate	PIU	PIU
X.	<u>Acaulia</u>	(ACA) rotate	ACA	ACA
XI.	<u>Demissa</u>	(DEM) rotate	DEM	DEM
XII.	<u>Longipedicellata</u>	(LON) sub-stellate	LON	LON, BOR
XIII.	<u>Polyadenia</u>	(POL) pen. to sub.	POL	POL
XIV.	<u>Cuneoalata</u>	(CUN) sub. to rot.	CUN	CUN
XV.	<u>Megistacroloba</u>	(MEG) sub. to rot.	MEG	MEG
XVI.	<u>Ingaeifolia</u>	(ING) rotate	-	ING
XVII.	<u>Olmosiana</u>	(OLM) stellate	-	-
XVIII.	<u>Tuberosa</u>	(TUB) rot. to semi.	TUB	(TUB, MIN, VAV, TRA)

Abbreviation:

sub.= sub-stellate, semi.= semi-stellate, pen.= pentagonal, rot.= rotate
 CLA =Clara, TRI =Trifida, CAR =Cardiophylla, TAR =Tarijensa, YUN =Yungasensa
 BOR =Borealia, MIN =Minutifoliola, VAV =Vaviloviana, TRA =Transaequatorialia

(1939) や Correll (1962) も バレ イ シ ョ 近 縁 種 の 分 類 群 へ の 類 別 を 行 っ て い る 。 Table 1 に 、 Hawkes と Correll の 分 類 群 の お お よ そ の 対 応 関 係 に つ い て 示 し た 。 本 研 究 で は 、 特 に 断 ら な い か ぎ り 、 種 名 及 び そ の 所 属 分 類 群 は Hawkes (1978) の 分 類 体 系 に 従 う こ と に す る 。 ま た 、 便 宜 上 大 ま か に 分 類 群 を い く つ か ま と め 、 非 塊 茎 形 成 種 (Juglandifolia 群 と Etuberosa 群) 、 メ キ シ コ 産 二 倍 種 (Morelliformia 群 、 Bulbocastana 群 、 Pinnatisecta 群 及 び Polyadenia 群) 、 メ キ シ コ 産 倍 数 種 (Demissa 群 と Longipedicellata 群) 及 び 南 米 産 近 縁 種 (残 り の 10 分 類 群^{*}) の 4 つ に 大 別 す る 。 栽 培 種 8 種 は 、 普 通 バレ イ

* : Conicibaccata 群 四 倍 種 2 種 と 、 Tuberosa 群 二 倍 種 S. verrucosum は 、 い ず れ も メ キ シ コ に 分 布 す る が 、 形 態 的 類 似 性 及 び 細 胞 遺 伝 学 的 研 究 (Marks 1965 、 Matsubayashi and Misoo 1979) に 基 づ く 類 似 性 か ら 見 て 、 こ れ ら の 種 は 南 米 産 近 縁 種 と し て 扱 う の が 適 当 で 、 本 研 究 で は 南 米 産 近 縁 種 に 含 め た 。

シヨも含め、いずれも南米産近縁種で、Tuberosa 群に所属する。

生物の類縁関係を論ずる場合、Hawkes や Correll の例で見られるように、第 1 に取り上げられるのは形態上或いは生態上の類似性であるが、これに加えて、交雑親和力、核型や染色体数の相同性、及び染色体の対合頻度など、細胞遺伝学的研究が重要な知見を与えるものであることは言うまでもない。

バレイシヨ近縁種においても、細胞遺伝学的研究が栽培種とそれが属する南米産近縁種を中心に行われたが、類縁関係が明らかにされ、ゲノムの記号化が試みられたのは、南米産の 5 分類群、メキシコ産倍数種の Longipedicellata 群と Demissa 群、及び非塊茎形成種の Etuberosa 群の計 8 分類群にすぎない (Table 2)。すなわち南米産近縁種はいずれも A ゲノム群に属し (Hawkes 1958b、1978、Matsubayashi 1961、入倉 1976、松林 1981)、これと異種のゲノムは Longipedicellata 群と Demissa 群の第 2 ゲノム (Marks 1955、Matsubayashi 1955、

Table 2 Genome formulae proposed by some workers for tuberous Solanum species.

Taxonomic series	Hawkes (1958b)	Matsubayashi (1961)	Irikura (1976)	Hawkes (1978)	Matsubayashi (1981)	Others
<u>Juglandifolia</u>	-	-	-	-	-	-
<u>Etuberosa</u>	-	-	-	-	-	E*
<u>Bulbocastana</u>	B, C, D	-	-	B	-	-
<u>Morelliformia</u>		-	-	-	-	-
<u>Pinnatisecta</u>		-	-	-	-	-
<u>Polyadenia</u>		-	-	-	-	-
<u>Demissa</u>	$A_1A_4B_{(1-4)}$	$A^dC_1C_2$	$AB^S B^d$	$A_1A_4(B,C,D)$	$A^dC_1C_2$	ABB^{1**}
<u>Longipedicellata</u>	A_4B	AB	AB^S	A_4B	AB	-
<u>Acaulia</u>	A_2A_3	AA^a	AB^a	A_2A_3	AA^a	-
<u>Commersoniana</u>	A_1	A	A	A_1	A	-
<u>Conicibaccata</u> (2x, 6x)	$-_1$	-	-	$-_1$	-	-
(4x)	-	-	-	C,D	-	-
<u>Cuneoalata</u>	-	-	-	A_1	A^C	A^{***}
<u>Ingaefolia</u>	-	-	-	$-_1$	-	-
<u>Megistacroloba</u>	-	-	-	A_1	A^m	-
<u>Olmosiana</u>	-	-	-	$-_1$	-	-
<u>Piurana</u>	-	-	-	-	-	-
<u>Tuberosa</u> (2x)	A_1	A	A	A_1	A	-
(4x)	$-_1$	AA^t	AA	$-_1$	AA^t	-
(<u>S. verrucosum</u>)	A_1	A^d	A	A_1	A^d	-

*; Ramanna and Hermsen (1981)

**; Marks (1955)

***; Nagasawa and Matsubayashi (1984a)

Kawakami and Matsubayashi 1957、 入倉 1976)、 及び Etuberosa 群 (Ramanna and Hermsen 1981) に認められている。

Table 2 の中で、メキシコ産の Morelliformia、 Bulbocastana Pinnatisecta 及び Polyadenia 4 分類群二倍種に B、 C、 D ゲノム 或いは B ゲノムが Hawkes によって提案されているが、これは 2、3 の例を除き、メキシコ産二倍種が他と全く交雑できないことから推測されたもので、雑種の対合頻度の観察データに基づくものではない。このように、メキシコ産二倍種は、南米産近縁種は元よりメキシコ産倍数種に対しても強固な生殖隔離を示し、恰も明確なゲノムの分化を生じているかのように見えるが、研究者によっては、このような生殖隔離が単に交雑不和合性遺伝子の関与によるとの理由から、メキシコ産二倍種と南米産近縁種の間にはゲノムを異にする程の遺伝的分化は存在しないであろうとの見解をとっているものもある (松林 1981)。

いずれにせよ、両者間の雑種を得るのが極めて困難なため、それらの間にいかなるゲノム

の類縁関係が成り立っているか、目下のところ的確な知見は得られていない。

バレイショ近縁種が内包するこの基本的な問題点を克服して尚、それらの系統進化の全体像を把握するためには、従来の生物学的手法に加えて、これを補完するものとして、生化学的手法或いは考古学的手法も取り入れざるを得ないであろう。

本研究第1章において筆者は葉形分析の結果を示したが、ここでは葉形を単に型或いは大きさとしてとらえるのでなく、葉形を表現するいくつかの成分を取り上げて、これらから総合的に葉形の特徴を表わす主成分分析法を導入した。

また第2章においてはパーオキシダーゼアイソザイムの分析結果について述べている。酵素の多型現象は、一般に適応とは無関係であると考えられており、パターンの異同に基づき生物の類縁関係を推定する試みは数多く行われている(西川 1974)。

更に第3章では葉緑体 DNA の制限酵素分析の結果を明らかにした。最近、細胞質内にある葉緑体 DNA やミトコンドリア DNA の制限酵素による制限断片パターンの比較分析（制限酵素分析）により、両者間の類縁関係や分化の程度を推定する試みも始められた（寺地 1985）。

以上の分析結果から得られた知見と、これまでの分類学的研究や細胞遺伝学的研究から得られた知見とを総合して、バレイショの系統分化の過程について論述する。

今回供試したメキシコ産二倍種及び倍数種、非塊茎形成種の中には、疫病抵抗性をはじめ、ウイルス病抵抗性、葉巻病抵抗性、シストセンチュウ抵抗性、耐虫性など育種的価値の高い種が数多く含まれており（Hawkes 1958a、Toxopeus 1964、Ross 1966、Ross and Rowe 1969）、これらの利用をより効率化する上でも、本研究は欠くことのできない基礎研究であると考えられる。

第 1 章 葉形分析から見たバレイショ近縁種 の変異

緒 論

植物の外部形態は、長い進化の歴史を経て到達した結果であって、種が形成され、外的環境の変化に対し淘汰を受け、繁栄して、更に将来へと存続或いは滅亡していく進化の一断面である。したがって、近縁種属間に現時点で見られる形態的類似性或いは差異を詳細に比較することにより、これらの種属が過去に辿ってきた過程をある程度推測できると思われる。

形態的差異のうち質的差異は、種の分類基準として既に多くの分類学者によって用いられてきた (Bukasov 1937、Hawkes 1944、1947、1956、1958b、1963、1978、Correll 1962)。しかし、量的形質を数量的に取り扱い種間差異を明らかにしたのは、*S. micro-*

dontum と S. chacoense (Hawkes 1962) 、 S. demissum と S. tuberosum (Ugent 1967) 及び S. acaule と S. megistacrolobum (Okada and Clausen 1982) の間の種間差異を明らかにした例を除き、見当らない。しかも、いずれも少数種間で形態的差異を数量的に比較したにすぎず、バレイショ近縁種全体の変異を解析するまでは至っていない。

そこで本章では、葉形に見られる量的差異を数量的手法により分析し、バレイショ近縁種全体から見た、非塊茎形成種、メキシコ産二倍種、メキシコ産倍數種及び南米産近縁種それぞれの葉形の違いとその変異について考察する。

材料と方法

本実験に用いた材料は Table 3 に示したように、15 分類群に属する 73 種 187 系統群、及び近縁の Neolycopersicon 節の S. pennellii であり、これらはいずれも Robert E. Hanneman, Jr. 博士 (Potato Introduction Station, Wis-

Table 3 Solanum species and accessions used in this study.

Taxonomic series	Species	2n	Accession*
(Neolycopersicon)	<u>pennellii</u>	24	LA715(3)
<u>Etuberosa</u>	<u>brevidens</u>	24	218228(3)
	<u>etuberosum</u>	24	245924(2)
	<u>fernandezianum</u>	24	320270(1)
<u>Morelliformia</u>	<u>morelliforme</u>	24	243357(1)
<u>Bulbocastana</u>	<u>bulbocastanum</u>	24	243505(1), 255516(3), 255518(2)
	<u>clarum</u>	24	243355x275205(2)
<u>Pinnatisecta</u>	<u>brachistotrichum</u>	24	320265(2), 283095(1)
	<u>cardiophyllum</u>	24	255519(1), 275216(1)
	<u>jamesii</u>	24	275265(2), 275266(3), 458426(1)
	<u>pinnatisectum</u>	24	275235(2), 275230(1), 347766(2)
	<u>stenophyllidium</u>	24	255527(1), 255529(2),
	<u>trifidum</u>	24	255540(2), 283104(1), 255539(1)
<u>Commersoniana</u>	<u>chacoense</u>	24	133073x133664(1), 472812(1), 472813(2), 472819(3), 472820(3), 472823(4), 472826(1), 472828(2), 472832(3)
	<u>commersonii</u>	24	472834(3), 472836(1), 472850(3),
	<u>tarijense</u>	24	217457(1), 275154(3), 265577(3), 473218(3), 473237(1), 473239(2), 473245(4)
<u>Circaeifolia</u>	<u>capsicibaccatum</u>	24	473458(4)
	<u>circaeifolium</u>	24	473461(2)
<u>Conicibaccata</u>	<u>agrimonifolium</u>	48	243352(3)
	<u>chomatophilum</u>	24	243340(1)
	<u>oxycarpum</u>	48	275226(1)
	<u>santolallae</u>	24	HC5103(1)
<u>Piurana</u>	<u>tuquerrense</u>	48	338614(1)
<u>Acaulia</u>	<u>acaule</u>	48	473326(2), 473328(2), 473329(2), 473517(1), 473519(3)
<u>Demissa</u>	<u>brachycarpum</u>	72	275261(1)
	<u>demissum</u>	72	160221(1), 161366(1), 338618(3), 338619(2), 347760(1), 347761(1), 347762(3)
	<u>guerreroense</u>	72	161727(4)
	<u>hougasii</u>	72	161174(3)
	<u>iopetalum</u>	72	275181(3)
<u>Longipedicellata</u>	<u>fendleri</u>	48	275156(3), 275167(1), 458412(3)
	<u>hjertingii</u>	48	186560(2)
	<u>papita</u>	48	251740(3), 251741(1)
	<u>polytrichon</u>	48	255522(3), 255545(2), 275240(2), 338620(3)

Table 3 Continued.

	<u>stoloniferum</u>	48	255533(2), 255534(3), 275250(1), 275252(1), 275253(1), 347771(3), 347772(3)
<u>Polyadenia</u>	<u>lesteri</u>	24	442694(2), HHC1714(2)
	<u>polyadenium</u>	24	347770(3), 347769(2), 230480(1)
<u>Cuneoalata</u>	<u>infundibuliforme</u>	24	472896(1), 472871(1)
<u>Megistacroloba</u>	<u>boliviense</u>	24	245860(5), 265861(1), 310928(1)
	<u>megistacrolobum</u>	24	473109(1), 473110(1)
	<u>rahanifolium</u>	24	473465(3), 473466(4), 473527(1), 473528(1)
	<u>sanctae-rosae</u>	24	473200(2)
	<u>sogarandinum</u>	24	230510(4)
	<u>toralapanum</u>	24	458396(1), 473389(2)
<u>Tuberosa</u> (Wild)	<u>abancayense</u>	?	442700(2)
	<u>acrosopicum</u>	48	365314(2)
	<u>ambosinum</u>	?	458405(3)
	<u>berthaultii</u>	24	218215(2), 310925(3), 473331(3), 283069(2)
	<u>bukasovii</u>	24	210043(3), 210044(3), 265876(1), 266385(1), Och11876(3)
	<u>canasense</u>	24	365321(2), 458375(3), 458377(2), 473345(1), 473346(3)
	<u>chancavense</u>	24	442699(2)
	<u>gandarillasii</u>	24	283076(2)
	<u>gourlavi</u>	24	473009(1), 473014(1), 473030(2), 473059(1), 473061(1)
	<u>huancabambense</u>	24	458400(3)
	<u>immitte</u>	24	458401(2)
	<u>kurtzianum</u>	24	472923(2), 472924(3), 472928(3), 472945(3), 472946(2), 472951(1), 472965(4)
	<u>leptophyes</u>	24	458378(4), HHC5057(1)
	<u>lignicaule</u>	24	473351(2)
	<u>marinasense</u>	24	310947(2)
	<u>medians</u>	24	210045(2), 320260(2)
	<u>microdontum</u>	24	320306(2), 320311(1), 473166(1), 473169(3), 473170(2), 473176(1), 473180(1)
	<u>mochicense</u>	?	283114(3)
	<u>multidissectum</u>	24	210043(2), 230506(1)
	<u>multiinterruptum</u>	24	Och12096(2), Och12066(2), Och12065(3)
	<u>oplocense</u>	24	473194(1), 473368(4), 473499(1), 473500(3)
	<u>pampasense</u>	24	458381(3)
	<u>sparsipilum</u>	24	310972(4), 311000(3), 311001(3), 473503(3), 473504(2), 473505(3),

Table 3 Continued.

	<u>spgazzinii</u>	24	205394(2), 208562(2), 208876(2), 275143(3), 472989(4), 472990(2)
	<u>sucrense</u>	48	458389(2), 458390(2), DA021(4)
	<u>venturii</u>	24	458367(4)
	<u>vernei</u>	24	473308(2), 458369(1), 458370(2), 458371(1)
	<u>verrucosum</u>	24	160228(2), 275259(2), 275260(1)
	<u>weberbaueri</u>	24	442703(2)
(Cultivated)	<u>phureja</u>	24	320360(2)
	<u>stenotomum</u>	24	234013(2), 365344(2)

*; Accession numbers without any letters are Plant Introduction (P.I.) number. Figures parenthesized are the number of clones used.

consin、U.S.A.)より譲与された。1984年3月中下旬に9cmポットに塊茎を植付ないし播種し、地上萌芽まではガラス室内で、萌芽後は屋外で管理した。生育に応じて18cmポットに移植ないし圃場に定植した。6月から7月上旬に、生育最盛期(開花初期)の主にポット栽培の

*: バレイショ近縁種は、少数の例外を除き自家不和合性であるので、同一個体に着けた果実の種子であっても1粒毎に遺伝子型は異なる。したがって、種子1粒に由来する同一遺伝子型を持つ個体は1系統(= clone)に相当する。元は1粒の種子に由来し栄養繁殖によって殖えた個体群(= 品種)も1系統でしかない。また、ある採集者によりある場所で採集されたもの(1つの塊茎である場合もあり、いくつかの果実である場合もある)を1つの採集単位として、これに導入番号を付したものを本研究では系統群(= accession = family = introduction)と呼ぶ。

植物体から、代表的な展開葉を5枚採取し、
腊葉標本にした。なお、最低2枚採れたもの
は供試系統として扱った。1系統群当たり3
系統を用いたが、1系統のものもあった（
Table 3）。

測定は腊葉標本から以下の12項目について
行った（Fig. 2）。

(1) 頂小葉長（Length of Terminal Leaflet、L-TL）

——頂小葉の長さ

(2) 頂小葉巾（Width of Terminal Leaflet、W-TL）

——頂小葉の最大巾

(3) 頂小葉先端部巾（Apical Width of Terminal Leaflet、

A-TL）——頂小葉の先端から10%の位置での
巾

(4) 頂小葉基部巾（Basal Width of Terminal Leaflet、B-TL）

——頂小葉の基部から10%位置での巾

(5) 第1側小葉長（Length of 1st Lateral Leaflet、L-1L）

——第1側小葉の長さ

(6) 第1側小葉巾（Width of 1st Lateral Leaflet、W-1L）

——第1側小葉の最大巾

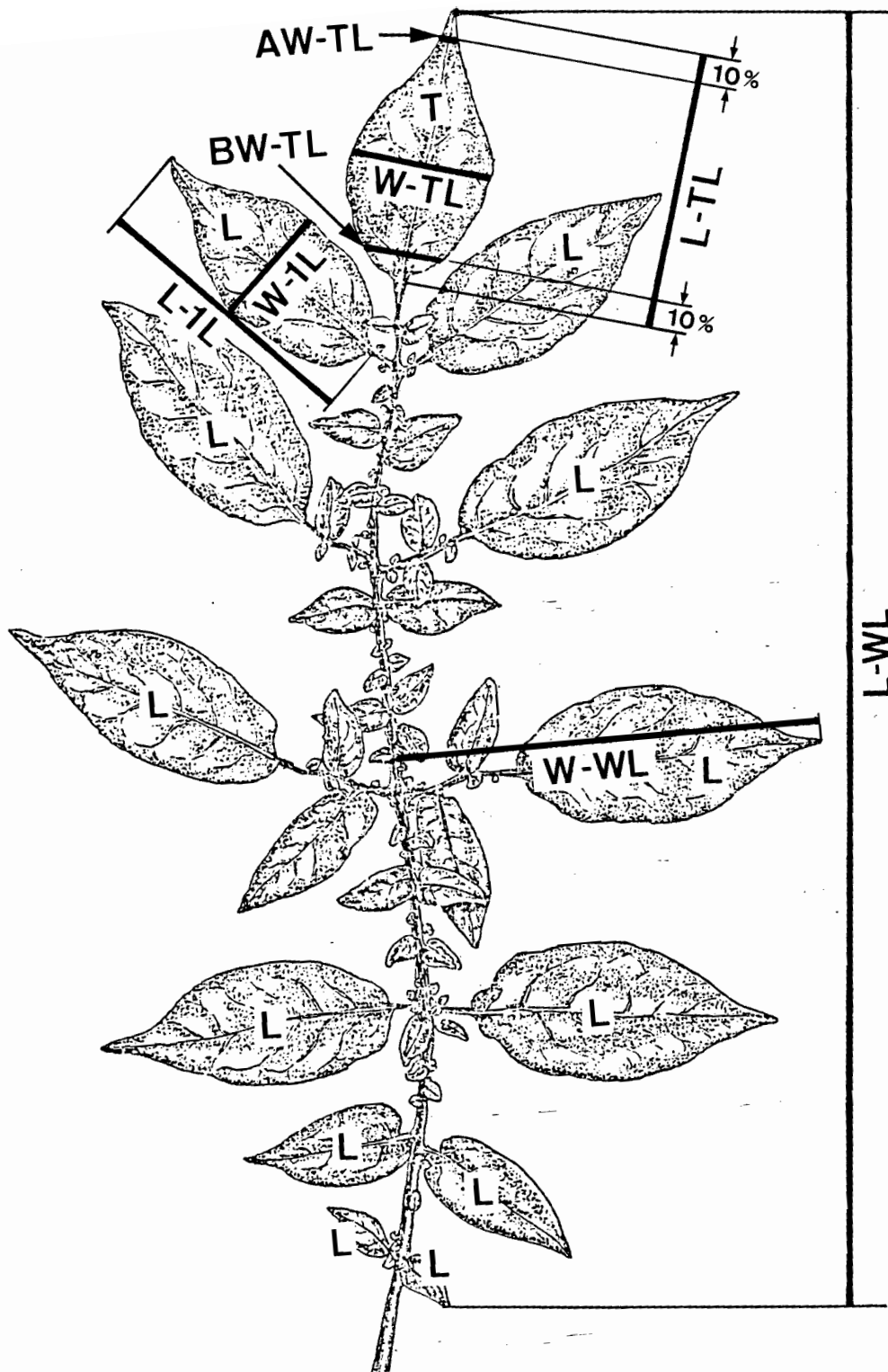


Fig. 2 Leaf of Solanum species, showing examined parts. See the text for details of examined item.
 T: Terminal leaflet, L: Primary lateral leaflet.

(7) 1/2 全葉巾 (Half Width of Whole Leaf 、 W-WL)

—— 最長の側小葉の葉軸から小葉柄を
通って先端までの長さ

(8) 全葉長 (Length of Whole Leaf 、 L-WL)

—— 頂小葉の先端から最も葉柄基部に
近い小葉の端までの長さ

(9) 一次小葉数 (Number of Primary Leaflets 、 N-PL)

—— 頂小葉と一次側小葉数の和

(10) 全葉面積 (Total Area 、 TA)

(11) 頂小葉面積 (Area of Terminal Leaflet 、 A-TL)

(12) 総小葉数 (Number of Total Leaflets 、 N-TL)

—— 一次小葉数に二次側小葉と間葉を
含めた数

以上 12 形質について系統毎に平均し、更に
系統群毎に平均した値を形質値とした。この
形質値を用いて次の 7 つの指数値を算出した。

(1) 頂小葉指数 (Index of Terminal Leaflet 、 IDX-TL)

(頂小葉巾 / 頂小葉長) × 100

(2) 頂小葉尖鋭度 (Index of Apical Acuity of Terminal Leaflet 、
IDX-ATL)

\log_e (頂小葉長 / 頂小葉先端部巾)

(3) 頂小葉基部開度 (Index of Basal Spread of Terminal Leaflet ,
IDX-BTL)

\log_e (頂小葉長 / 頂小葉基部巾)

(4) 側小葉 / 頂小葉指数 (Index of 1st Lateral Leaflet/
Terminal Leaflet , IDX-1/T)

(第 1 側小葉長 / 頂小葉長) × 100

(5) 頂小葉 / 全葉指数 (Index of Terminal Leaflet/Whole Leaf ,
IDX-T/W)

(頂小葉長 / 全葉長) × 100

(6) 全葉形指数 (Index of Whole Leaf , IDX-WL)

(2 × 1/2 全葉巾 / 全葉長) × 100

(7) 頂小葉面積指数 (Index of Area of Terminal Leaflet ,
IDX-AT)

(頂小葉面積 / 全葉面積) × 100

主成分分析は、これら 7 つの指数値と全葉面積及び一次小葉数の計 9 形質のデータを用いて、相関行列から行った。主成分及びスコアの計算は、神戸大学総合情報処理センターの統計解析システム (STATPAC-6) 「主成分分析

」により行った。

結 果

1. 南米産近縁種、メキシコ産倍数種及びメキシコ産二倍種の平均的葉形における差異

形質毎に、その形質値の最高値と最低値の間を10段階に分け、各段階の度数分布を、南米産近縁種（便宜上、非塊茎形成種と *S. pennellii* はこれに含めた）、メキシコ産倍数種及びメキシコ産二倍種それぞれについて Fig. 3 に示した。

南米産近縁種とメキシコ産二倍種には頂小葉のみのいわゆる単葉の葉を持つ種が存在し、これらの第1側小葉の長さとの中、及び側小葉/頂小葉指数は0、一次小葉数と総小葉数はそれぞれ1、頂小葉/全葉指数及び頂小葉面積指数はそれぞれ100を示した。

メキシコ産倍数種は、南米産近縁種に比べ、

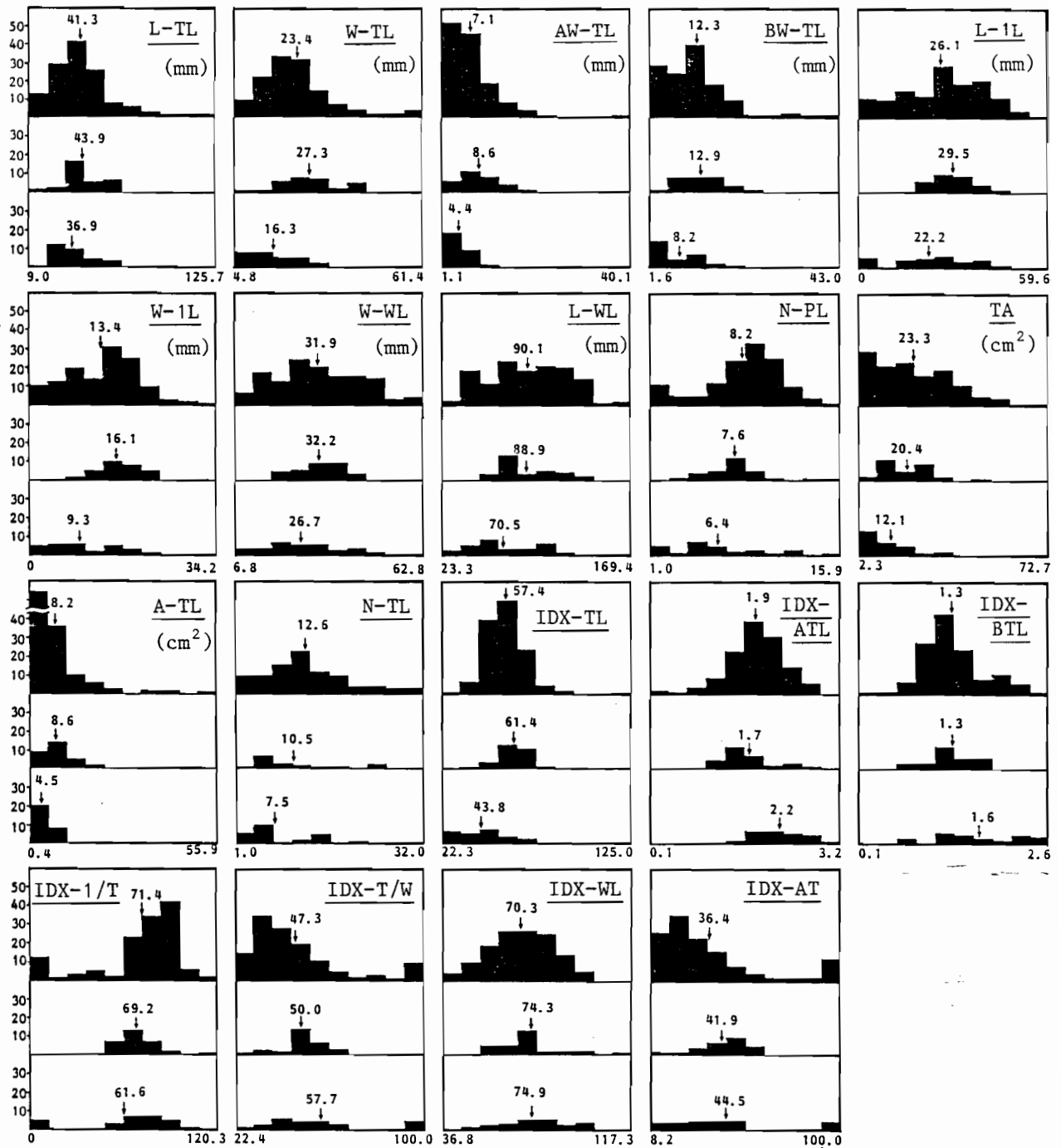


Fig. 3 Histograms of the nineteen characters, each showing the distribution of the accessions of the South American (upper), Mexican polyploid (middle), and Mexican diploid (lower) species. Mean values are arrowed in each figure. Vertical axes indicate the number of accessions. See the text for the detail of each character.

頂小葉面積指数がやや高いものが多いが、他の形質ではほぼ同じ傾向を示した。一方、メキシコ産二倍種を南米産近縁種と比べると、頂小葉の長さの低下に比べ巾の低下が大きく、したがって頂小葉指数がかなり低下した。同時に頂小葉尖鋭度や基部開度も低くなるので、メキシコ産二倍種は南米産近縁種やメキシコ産倍数種に比べ細長い頂小葉を持つことがわかった。また、メキシコ産二倍種は、小葉が少なく（平均一次小葉数 6.4 枚）、且つ二次側小葉や間葉の発達も悪い（平均総小葉数 7.5 枚）ので、頂小葉 / 全葉指数及び頂小葉面積指数の平均値は高かった。しかしメキシコ産二倍種の全葉面積は 4.5 cm^2 であり、南米産近縁種とメキシコ産倍数種の平均 8.2 cm^2 及び 8.6 cm^2 よりも小さかった。

2. 主成分分析から見た葉形の変異

葉の長さや巾は生育環境や生育段階により影響され、一般に変異が大きいのでこれを直接種間の比較のために用いるのは適当でない。

しかし、指数値化することにより環境の影響を押え、種の特徴をよく反映することができると思われる。そこで、ここで用いた7つの指数値と、比較的環境変異の小さい一次小葉数、及び環境による変異に比べ明らかに遺伝的変異が大きいと思われる全葉面積の以上9形質を用いて主成分分析を行った。前8形質はいずれも葉の形を表わす尺度で、全葉面積は大きさを表わす尺度である。

(1) 主成分の各形質に対する寄与

Table 4には第1から第4までの4主成分に対する各形質の因子負荷量を示した。この値は、各主成分と各形質の特性値との相関関係を示すもので、この絶対値が1に近い程、その主成分によってその形質の持つ情報がよりよく説明されていることを示している。

また、Fig. 4は第1と第2主成分及び第3と第4主成分平面上にそれぞれの各形質の因子負荷量をプロットしたもので、これによってそれぞれの主成分平面上での各形質の持つ重

Table 4 Factor loading and contribution percentage of the first four components in the principal component analysis.

Character	Factor loading			
	Comp. 1	Comp. 2	Comp. 3	Comp. 4
N-PL	0.90	0.12	-0.24	-0.19
TA	0.16	0.30	0.61	-0.66
IDX-TL	-0.19	0.93	-0.11	0.17
IDX-ATL	0.41	-0.67	0.40	-0.10
IDX-BTL	0.08	-0.82	-0.32	0.04
IDX-1/T	0.97	0.15	0.02	0.15
IDX-T/W	-0.94	-0.17	0.25	0.02
IDX-WL	0.34	0.01	0.69	0.60
IDX-AT	-0.99	-0.05	0.06	-0.02
Contribution percentage	43.9	23.8	13.8	10.0

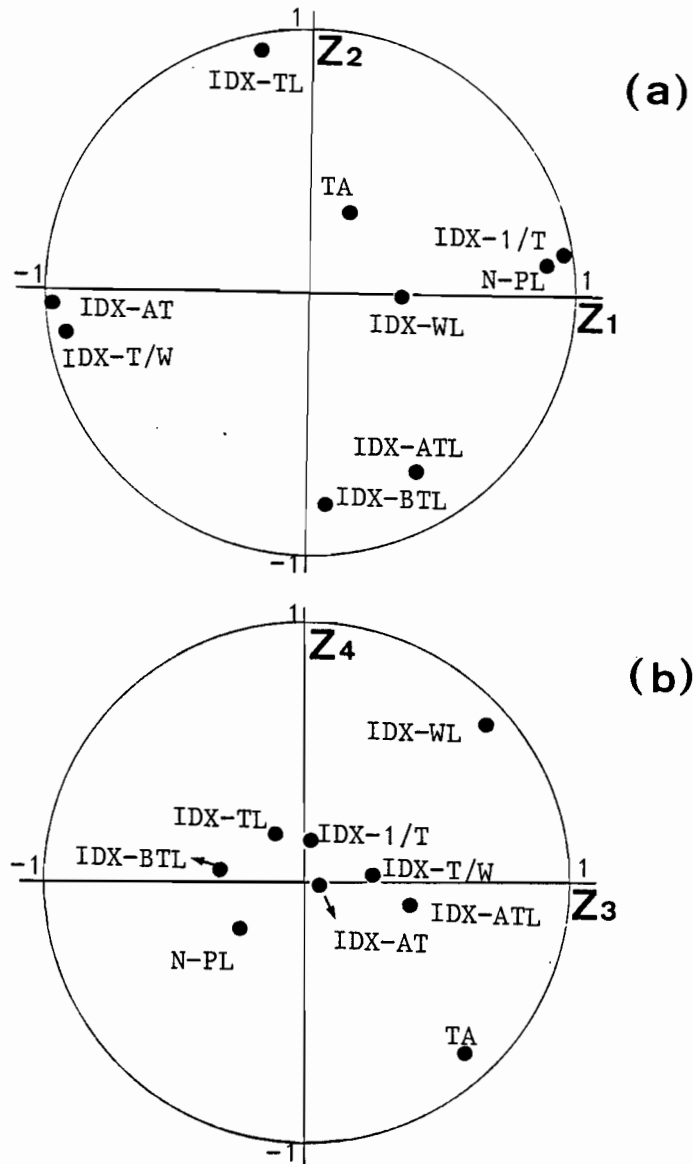


Fig. 4 Factor loading for the first and second (a), and the third and fourth (b) principal components.

Z_1 : first principal component
 Z_2 : second principal component
 Z_3 : third principal component
 Z_4 : fourth principal component

みを知ることが出来る。 Fig. 4(a) 及び (b) には、半径 1 の円が書いてあるが、この円に近い位置を占める形質の持つ情報は、その主成分平面上でよく説明されていることを示している。例えば、 Fig. 4(a) における N-PL、IDX-1/T、IDX-AT、及び IDX-T/W の 4 形質と、IDX-TL、IDX-BTL、及び IDX-ATL の 3 形質はいずれも半径 1 の円に近い位置を占め、且つそれぞれ第 1 主成分軸と第 2 主成分軸に近い所に位置するので、これらの形質はそれぞれ第 1 及び第 2 主成分によってその情報のほとんどが説明されていることを示す。これに対し、離れた位置にある TA と IDX-WL の情報はほとんど説明できないことを表わしている。 Fig. 4(b) では逆に、TA と IDX-WL は円の近くに位置し、しかも第 3 及び第 4 主成分軸のほぼ中間に位置する。このことは、この 2 形質は、第 3 及び第 4 主成分を単独に用いただけでは、その情報のすべてを説明することができないが、2 主成分を組み合わせるとそのほとんどが説明できることを表わしている。

上に述べた第1主成分と第2主成分によってその情報のほとんどが説明されている7形質は、いずれも異なる角度から見た頂小葉の大きさ或いは形を示す特性値である。頂小葉の全葉に占める割合（これを以下単に頂小葉占有率と呼ぶことにする）が大きい時に大きくなるような形質（IDX-AT、IDX-T/W）は第1主成分と高い負の相関を持ち、逆に小さくなるような形質（N-PL、IDX-1/T）は正の相関を持つことがわかる。また、頂小葉の形が細長い形をとる時に大きくなる形質（IDX-ATL、IDX-BTL）は第2主成分と高い負の相関を持ち、逆に小さくなるような形質（IDX-TL）は正の相関を持つことがわかる。このことから、主成分スコアの散布図における第1主成分軸は、主に頂小葉占有率を表わし、頂小葉の全葉に占める割合の大きいもの程、負の方向に分布するようになる。また第2主成分軸は頂小葉形を表わし、頂小葉が細長いもの程、負の方向に分布することを意味している。これら2主成分によっ

て説明される全分散に対する割合は 67.7% であった (Table 4)。

第 3 及び第 4 主成分を組み合わせることに
より主に IDX-WL と TA の変異を説明している。こ
れら 2 形質はそれぞれ全葉の形と大きさを表
わしており、主成分スコアの散布図において
は、第 I 象限から第 III 象限 (右上から左下)
にいくにつれ、葉の全体的な形が細長くなり、
第 II 象限から第 IV 象限 (左上から右下) にか
けて、葉の大きさは大きくなる。これら 2 主
成分の寄与率は 23.8% で、第 1 主成分からの累
積寄与率は 90% を越え、したがってほとんどの
分散を第 4 主成分までで説明できた。

(2) 第 1 及び第 2 主成分に基づく葉形変異

前節で述べたように、第 1 及び第 2 主成分
は頂小葉の全葉に占める割合や形を表現する
性質があるので、調査した各系統群の第 1 及
び第 2 主成分スコアを求めることによって、
葉形の変異を推定することができるであろう。

Fig. 5 は調査した 187 系統群の主成分スコアを

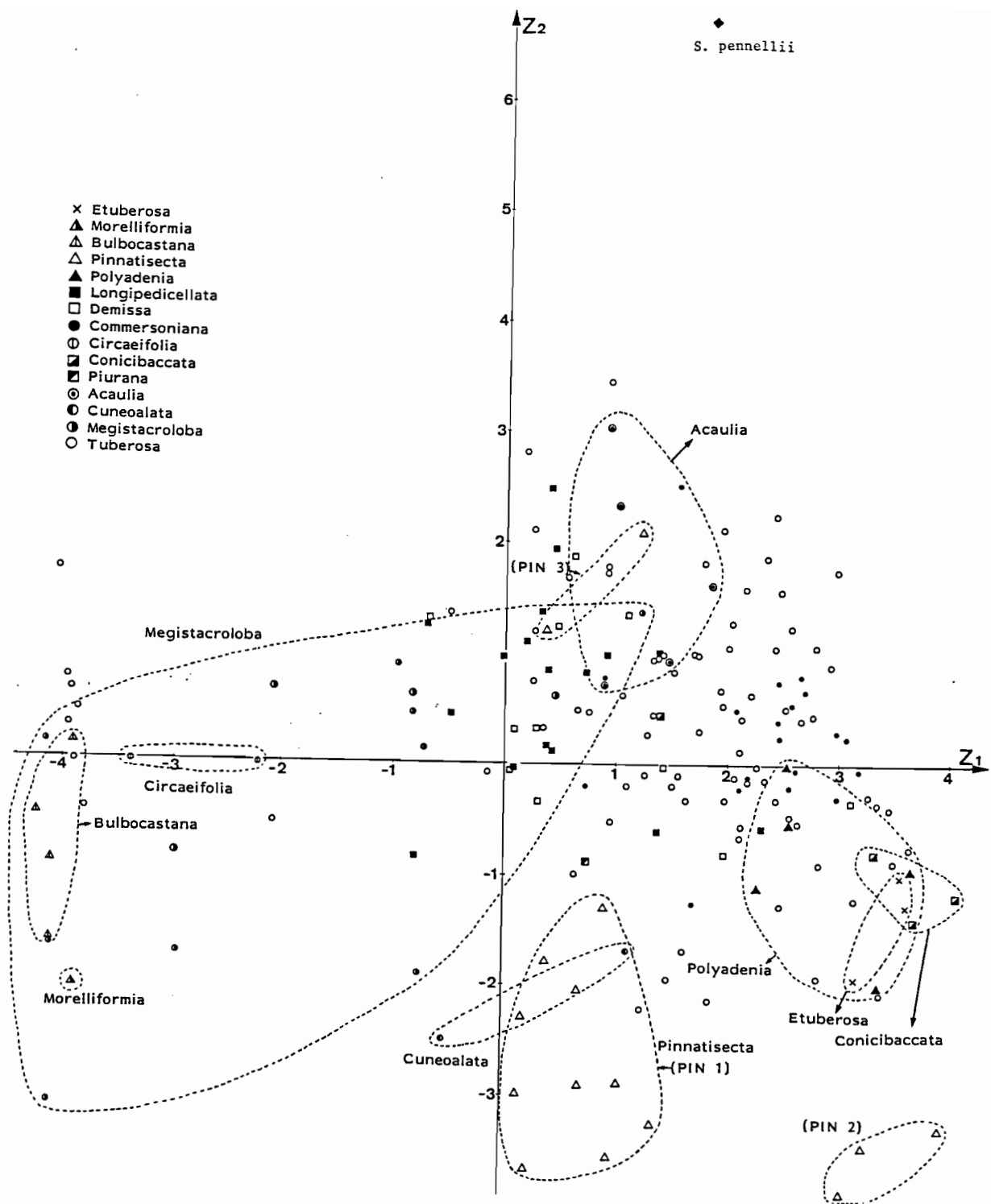


Fig. 5 Scatter diagram showing distribution of the accessions, as indicated by using the first and second principal componets.

プロットしたものである。

まずメキシコ産二倍種の分布を見ると、ほとんどが第2主成分の負の方向に分布し、一般に頂小葉は細い傾向が認められた。また、メキシコ産二倍種の中には Bulbocastana 群及び Morelliformia 群の種のように単葉を持ち、頂小葉占有率極大のもの（図中左端）から、Polyadenia 群の種のように、複葉を持ち小葉数多く頂小葉占有率の低いものまで変異するが、各分類群相互間には明確な境界が認められた。Pinnatisecta 群は全体として見ると大きな分布域を持つが、図中に示したように次の3つの型に類別することができた。

① PIN 1 型（図中、中央下）

頂小葉占有率中位で、細葉の頂小葉を持つ。

（ S. jamesii 、 S. brachistotrichum 、 S. stenophyllidium 、 及び S. trifidum ）

② PIN 2 型（図中、右下）

頂小葉占有率低く、細葉の頂小葉を持つ。

（ S. pinnatisectum ）

③ PIN 3 型 (国中、中央やや上)

頂小葉占有率中位で、広葉の頂小葉を持つ。

(S. cardiophyllum)

次に南米産近縁種の分布は、分類群相互の境界は不明瞭で、特に Tuberosa 群、Commersoniana 群及び Acaulia 群の分布域は相互に重なり合っていた。散布図の左端に分布する単葉を持つ種が南米産近縁種にも見られたが (S. microdontum、S. toralapanum)、多くは複葉を持ち第 1 主成分の正方向に分布し、その間には主に Megistacroloba 群と Circaeifolia 群が分布していた。したがって南米産近縁種を全体として見ると、複葉から単葉まで連続変異が見られた。

一方、メキシコ産倍数種は、比較的小さな分布域を持ち、やや頂小葉占有率が大きいもののほとんどが Tuberosa 群の変異域に包含された。

非塊茎形成種の Etuberosa 群は、散布図の右端やや下方に分布し、著しく頂小葉占有率が高く、頂小葉形はやや細長かった。これと同じ

分布域に南米産の Conicibaccata 群とメキシコ産二倍種の Polyadenia 群が分布していた。

Neolycopersicon 節の S. pennellii は図中右上端に位置し、頂小葉指数が極大 (125) で、バレイショ近縁種 (Petota 節) とは明らかに異なる葉形を持つことがわかる。

(3) 第3及び第4主成分に基づく葉形変異

各系統群の第3及び第4主成分スコアの分布を Fig. 6 に示した。第3及び第4主成分スコアは、同一種でも系統群間で著しく変異した。その結果、Acaulia 群を除き、ほとんどの分類群で互いに重なり合って分布し、分類群として識別することが難しかった。また、一般にメキシコ産二倍種は第I象限から第III象限にかけて帯状に細長く分布した。したがって、メキシコ産二倍種は、全葉の形に中広いものから細長いものまで著しい変異を示すが、全葉の大きさにはほとんど変異が見られないのが特徴と言える。一方、南米産近縁種、特に Tu-berosa 群は、メキシコ産二倍種と同様に全葉形

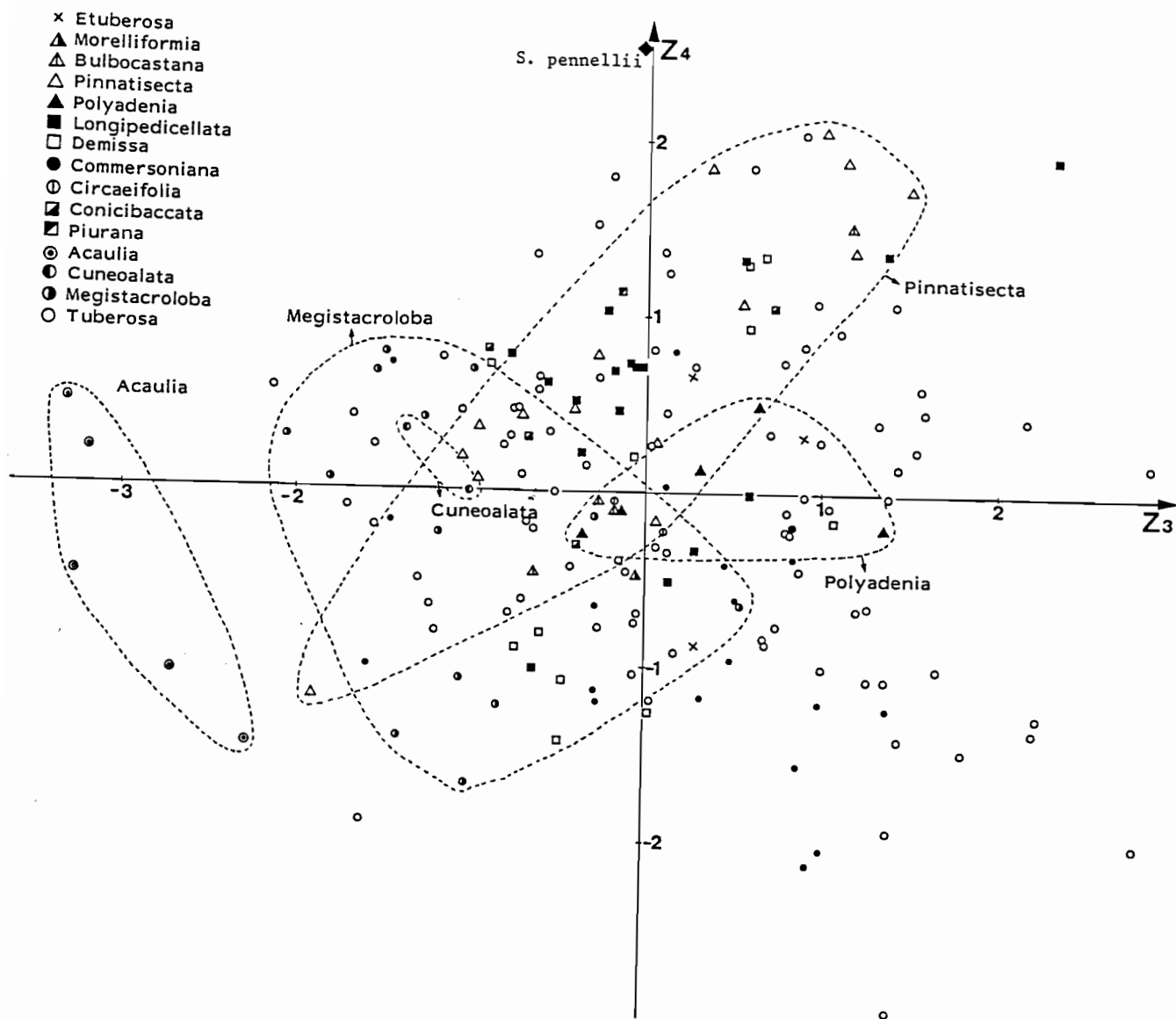


Fig. 6 Scatter diagram showing distribution of the accessions, as indicated by using the third and fourth principal components.

にも著しい変異を示すが、第 II 象限から第 IV 象限にかけても広く分布するので、全葉の大きさにも著しい変異が認められ、Acaulia 群を除く全分類群がほぼ Tuberosa 群の分布域に内包された。Neolycopersicon 節の S. pennellii は、これらバレイショ近縁種とは明確に分布域を異にし、園中最上部に位置した。

3. 葉形変異に基づくバレイショ近縁種の類型化

以上の結果をまとめると、一般にメキシコ産二倍種と非塊茎形成種は頂小葉が細いことで特徴づけられ、分類群相互間の差異は明白であった。これに反し、南米産近縁種とメキシコ産倍数種は一般に広葉の頂小葉を持つが、種によりその程度は著しく異なり、分類群相互間で見ると変異は連続的であった。その他頂小葉占有率や全葉の大きさにも中広い連続変異が見られた。また、Fig. 5 及び 6 で示される南米産近縁種とメキシコ産倍数種全体の分布域はメキシコ産二倍種と非塊茎形成種全体

の分布域のほとんどを包含しており、わずかに PIN 2 型に相当する頂小葉占有率小で細葉の頂小葉を持つ種が南米産近縁種には見られなかった。これとは逆に、南米産近縁種 Tuberosa 群に支配的に見られる頂小葉占有率小で広葉の頂小葉を持つものはメキシコ産二倍種に見られなかった。

考 察

生物の分化とは、一般に何らかの要因で等質集団から複数の異質集団に移行することを言う。分化に伴い集団間の遺伝質の共通性が低下するとともに、それぞれの表現型が示す変異域も、最初は完全に重なり合っていたものが徐々に共有域を減少させ、ついには全く重なり合わなくなり完全に異質化する。したがって、2 種間で見られる葉形の分化程度は、平均的葉形の差異とともに、その変異域の重なり合う程度も重要な判断基準となってくる。

このような観点から以下葉形変異から見たバレイショ近縁種の分化について考察する。

1. 非塊茎形成種、メキシコ産二倍種、メキシコ産倍數種、及び南米産近縁種の葉形変異の差異

本研究の結果、一般に、非塊茎形成種とメキシコ産二倍種は、細長い頂小葉を持つことが明らかとなった。入倉（1976）は、バレイショ近縁種の半数植物は例外なく細葉化し、花冠形も星状化することから、細葉で星状花を持つ植物からバレイショ近縁種が進化したと考へ、メキシコ産二倍種が最初に起原したとする Hawkes（1958b、1978）の見解を支持している（筆者注；Hawkes、入倉ともに非塊茎形成種は考へに入れていない）。入倉（1976）の言うように、細葉がより原始型であるとする、本研究結果からもメキシコ産二倍種がより原始的で、しかも未だに原始型を維持しているという結論を導くことができる。しかし、総合考察において詳しく論ずるように、メキシコ産

二倍種が原始型を示すからと言って、南米産近縁種がこれから分化したと考えるのは早計であろう。

一方これらの変異域を見てみると、南米産近縁種の葉は形、大きさともに変異が著しく大きく、メキシコ産倍数種の変異域を完全に内包するとともに、その広がりもメキシコ産二倍種のそれと同等ないしはそれ以上であった。にも拘らず、本研究においてはメキシコ産二倍種に見られる PIN 2 型、すなわち頂小葉占有率低く、細葉の頂小葉を持つ種は南米産近縁種に見られなかった。しかし、Table 5 に示すように、本研究で供試した種数は、メキシコ産二倍種で 70% を越えるのに対し、南米産近縁種は多くの種を供試したにもかかわらず 40% にも満たない。また、Correll (1962) によって記載されている植物体のスケッチから判断すると、未供試の南米産近縁種のいくつかは (S. albornozii、S. gracilifrons、S. puberulofructum (= S. x setulosistylum))、PIN 2 型の葉形を示すようである。したがって、

Table 5 The number of species belonging to each taxonomic series and the proportion of the species used in this study.

Taxonomic series	No. of species		Percentage
	Registered	Examined	
(Non-tuberous species)	-----		33.3%
<u>Juglandifolia</u>	4	0	
<u>Etuberosa</u>	5	3	
(Mexican diploid species)	-----		73.3%
<u>Morelliformia</u>	1	1	
<u>Bulbocastana</u>	2	2	
<u>Pinnatisecta</u>	10	6	
<u>Polyadenia</u>	2	2	
(Mexican polyploid species)	-----		76.9%
<u>Demissa</u>	7	5	
<u>Longibedicellata</u>	6	5	
(South American species)	-----		38.6%
<u>Commersoniana</u>	5	3	
<u>Circaeifolia</u>	2	2	
<u>Conicibaccata</u>	20	4	
<u>Piurana</u>	6	1	
<u>Acaulia</u>	1	1	
<u>Cuneoalata</u>	2	1	
<u>Megistacroloba</u>	12	6	
<u>Ingaefolia</u>	2	0	
<u>Olmosiana</u>	1	0	
<u>Tuberosa</u>	Wild 68	29	
	Cultivated 8	2	
Total	164	73	----- 44.5%

南米産近縁種の変異域は、更に広がる可能性が高く、メキシコ産二倍種のそれをも完全に包含してしまうと考えられる。

2. 葉形変異の分類群間差異

南米産近縁種では、全葉形が著しく細長いことから Acaulia 群を区別できる以外は、分類群相互に変異域が重なり合い、明確に識別することとはできなかった。これに比べ、メキシコ産二倍種は、Fig. 5 で明らかのように、分類群毎に分布域は明確に他と異なり、不連続変異を示した。このことから、メキシコ産二倍種は分類群単位で十分な遺伝的分化を生じていると推察される。また、メキシコ産二倍種の Pinnatisecta 群は、葉形で見るとかぎり3つの型に類別されその間に連続的変異は見られなかった。したがって、葉形から見るかぎり、PIN 3 型を示す S. cardiophyllum を Cardiophylla 群として独立させる見解 (Table 1) には妥当性があると思われる。

3. 葉形変異から推定されるバレイショ近縁種の系統進化

上記の見解をまとめると、葉形変異から見たバレイショ近縁種の分化は、おおよそ次のようであったと推察される。

バレイショ近縁種の共通祖先であった原始種は細葉であったと考えられ、南米産近縁種及びメキシコ産二倍種のいずれにも単葉型及び複葉型の種が見出されることから見て、共通祖先種において既にいずれの形質へも進化できる可塑性を持っていたと考えられる。メキシコ産二倍種は非塊茎形成種と同様に、細葉という原始的形質を維持しつつ分類群相互に高い分化の程度が認められ、既に環境に適応した分類群固有の形に固定してしまっていると考えられる。一方南米産近縁種は広葉の方向へと進化し、まだその過程にあるものも含め進化過程の様々な段階の葉形を示しており、分化の程度は低いと考えられる。メキシコ産倍数種は、南米産近縁種を示す変異域の一部を示すにすぎず、したがってメキシコ産倍数種は南米産近縁種から比較的新しい年代

に派生したという見解 (Hawkes 1958b、 Matsubayashi 1961)
を支持している。

第 2 章 パーオキシダーゼアイソザイム分析 から見た南米及びメキシコ産二倍種 間の類縁関係

緒 論

最近、多くの動植物において遺伝子の直接の産物であるタンパク質或いはアイソザイムを比較することにより遺伝子の相同性を推定し、種間の遺伝的類縁関係を究明する方法が広く行われている (Johnson and Hall 1965、 Sheen 1972、 Nakagahra 1978、 Second 1982、 Tanksley and Orton 1983)。バレイショ近縁種でも、栽培品種の同定や種の識別のため、塊茎の貯蔵タンパク質やアイソザイムの電気泳動パターンの比較分析がこれまでも行われてきた (Zwartz 1966、 Desborough and Peloquin 1966、 1967、 1968、 1969、 Stegemann and Loeschke 1976、 Seibles 1979、 Stegemann 1979)。しかし、種間差異の程度を量的に扱ったのは、 Rickeman and Desborough (1978) によって、栽培

種とその推定祖先種の塊茎貯蔵タンパク質の泳動分析を除き見当らない。

そこで本章では、このような観点から、6分類群に属する南米産二倍種と4分類群に属するメキシコ産二倍種につき、既に生育環境に対して安定な形質発現を示すことが知られている塊茎中のパーオキシダーゼアイソザイム (Hosaka *et al.* unpublished) を分析した。これによって得られた知見に基づいて、既に細胞遺伝学的見地から得られている情報を参照しつつ、南米産二倍種間、メキシコ産二倍種間及びこれら両者間の類縁関係を明らかにしようとした。

材料及び方法

1. 材料

本実験に用いた材料とその入手先は Table 6 に示すとおり、10分類群に属する二倍種 33種 271系統である。W487(*S. cardiophyllum*)、W203(*S. jamesii*)、W456

Table 6 Diploid Solanum species used in this study.

Taxonomic series and species 1)	Accession 2)
<u>Morelliformia</u> (MOR)	
<u>morelliforme</u> (mrl)	243357(4), 275200(5)
<u>Bulbocastana</u> (BUL)	
<u>bulbocastanum</u> (blb)	243504(5)
<u>clarum</u> (clr)	W1568(=243355x275205)(4)*, 283099(3)
<u>Pinnatisecta</u> (PIN)	
<u>brachistotrichum</u> (bst)	283095(5)
<u>cardiophyllum</u> (cph)	W487(=184762)(1)*, WAC3092(3)**
<u>jamesii</u> (jam)	W203(=195189.3)(1)*, 275169(1), 275263(1), 275264(9)
<u>mihoacanum</u> (mch)	Hawkes NO.1541(2)
<u>pinnatisecta</u> (pnt)	186554(2)
<u>stenophyllidium</u> (sph)	255527(7), 255529(2), 255530(1)
<u>trifidum</u> (trf)	255539(13), 283104(2)
<u>Commersoniana</u> (COM)	
<u>commersonii</u> (cmm)	243503(6), 320267(2), 320269(2)
<u>tariense</u> (tar)	208881(10)
<u>Circaeifolia</u> (CIR)	
<u>capsicibaccatum</u> (cap)	205560(9)
<u>Conicibaccata</u> (CON)	
<u>santolallae</u> (san)*	HHC5103(6)
<u>violaceimarmolatum</u> (vio)	258856(3), HHC4436(2)
<u>Polyadenia</u> (POL)	
<u>lesteri</u> (les)	HHC1714(3)
<u>polyadenia</u> (pld)	W525(=175444)(1)*, 161728(8) 275238(4), 347770(3)
<u>Cuneoalata</u> (CUN)	
<u>infundibuliforme</u> (ifd)	283077(3), 310976(3), 320295(9)
<u>Megistacroloba</u> (MEG)	
<u>boliviense</u> (blv)	265860(6)
<u>megistacrolobum</u> (mga)	210034(2), 275147(13)
<u>Tuberosa</u> (TUB)	
(Wild) <u>berthaultii</u> (ber)	218215(3)
<u>canasense</u> (can)	230511(8), 310940(3)
<u>kurtzianum</u> (ktz)	Hof1755(5)
<u>leptophyes</u> (lph)	HHC5027(5), HHC5057(8)
<u>medians</u> (med)	310994(8)
<u>microdontum</u> (mcd)	218223(11)
<u>multidissectum</u> (mlt)	210043(4), 230506(3)
<u>sparsopilum</u> (spl)	W376(=234014)(1)*, 210039(1), 230502(1) 310933(1), Collected accessions in Bolivia(1) and Peru(1)***
<u>vernei</u> (vrn)	230468(1), 320330(2)
<u>verrucosum</u> (ver)	W456(=310966)(1)*, 161173(5), 275259(5)

Table 6 Continued.

(Culti- vated)	<u>goniocalvx</u> (<u>gon</u>)	195188(1), 195214(1), 230512(5)
	<u>phureja</u> (<u>phu</u>)	225657(1), 225670(1), 225681(1), 320360(1), 320366(1), 320367(1), 320368(1), 320369(1), Collected accession in Colombia(1)*
	<u>stenotomum</u> (<u>strn</u>)	205526(1), 205527(1), 234008(1), 234010(1), 234012(1), 234013(1), 283141(1), 365344(2)

- 1) Letters parenthesized are the abbreviations proposed by Simmonds (1963) for taxonomic series and species names.
 - 2) Accession numbers without any letters are Plant Introduction (P.I.) number. Figures parenthesized are the number of clones used. Seeds or tubers of diploid Solanum species used in this study were supplied from the followings;
 - *; Y. Irikura, Shimamatsu Potato Branch, Hokkaido National Agricultural Experiment Station, Japan.
 - **; Institute of Plant Breeding, Wageningen, The Netherlands.
 - ***; Collection of the Expedition of Cultivated Plants in the Andean Areas, Kyoto University (1971).
- Others; Potato Introduction Station, Wisconsin, U.S.A.

(S. verrucosum) 及び W525(S. polyadenium) の各系統は、農林水産省北海道農業試験場島松馬鈴薯試験地の入倉幸雄博士より塊茎を譲り受けた。その他の系統はすべて普通栽培によって、実生個体から塊茎を得た。

2. 試料の抽出

塊茎を供試部位とし、塊茎生体重 1g 当たり 1 ~ 3 ml の A 緩衝液 (pH 8.6、6.0 g トリス、28.8 g グリシン / 1000 ml) を抽出液とし、乳鉢と乳棒で磨砕後、遠心分離 (3000 rpm、10 分) し、その上澄液を試料とした。

3. 電気泳動法

カラム型ポリアクリルアミドゲルを用いた不連続緩衝液系電気泳動を行った。

カラム (8 cm × 内径 5 mm) の下から 5 cm の高さに分離ゲル溶液 (0.378 M トリス塩酸緩衝液 (pH 8.9) に、7.5% アクリルアミド、0.2% N,N'-メチレンビスアクリルアミド (BIS)、0.0288% N,N,N',N'-テトラメチルエチレンジアミン (TEMED) 及び 0.07% 過硫酸アンモニウムを含む) を注入

し、蒸留水を重層して、 22°C で 1.5 時間静置し化学重合させた。濃縮ゲル溶液 (0.0617 M トリス塩酸緩衝液 (pH 6.7) に、 3.75% アクリルアミド、 0.625% BIS、 0.0575% TEMED 及び 0.0005% リボフラビンを含む) を分離ゲル上 1 cm まで入れ、蒸留水を重層して 30 分光重合させた。更に 1 cm の高さに試料ゲル溶液 (濃縮ゲル溶液にカラム当たり 1~2 滴の試料を加えたもの) を入れ、A 緩衝液を重層し 1 時間以上光重合させた。カラムを電気泳動装置にセットし、上下電極槽に A 緩衝液を満たし、冷蔵庫内 (5°C) で、カラム当たり 3 mA 定電流で泳動した。なお、フロントマーカーとして上部電極液に 0.01% ブロムフェノールブルー水溶液を数滴加えた。泳動は分離ゲルの上端から 4 cm の所にマーカーが移動した時終了し、染色した。

3. パーオキシダーゼアイソザイム染色法

パーオキシダーゼアイソザイムの染色は山本・桃谷 (1971) の方法を若干修正して用いた。使用直前に、100 mg o-ジアニシジン を 0.84 ml 水

酢酸に完全に溶かし、蒸留水（5°C）で総量 70 ml にした後、これをかくはんしながら徐々に 0.2 M 酢酸緩衝液（pH 4.9）を加え総量 100 ml とした。これに 0.1 ml 30% 過酸化水素水を加え、泳動の終わったゲルを浸漬し、5°C で 15 分間ゆっくりにかくはんした。ゲルを 0.2 ml 30% 過酸化水素水を加えた 0.05 M リン酸緩衝液（pH 7.0）に移し、10 分間インキュベートさせ発色させた。発色後のゲルは 7% 酢酸で洗浄・保存した。

4. アイソザイムパターンの比較

得られたザイモグラムのバンドは、肉眼判定によって濃いもの (5) から極めて薄いもの (1) まで 5 段階に評価し、種内平均バンド濃度を求めた。また全供試二倍種の平均バンド濃度を便宜上 4.0 以上、3.9 ~ 2.5、及び 2.4 以下の 3 段階に分け、それぞれ strong、medium、及び weak band とした。

種間の比較は、主にバンドの出現頻度とこれに基づく主成分分析により行った。分散共分散行列から主成分を求め、スコアの算定に

至る一連の計算は神戸大学総合情報処理センターの統計解析システム（STATPAC-6）「主成分分析」により行った。

結 果

1. 供試二倍種におけるアイソガイムパターンの特徴

本研究で得られたガイモグラムの典型的なものを Fig. 7 に示した。全部で 20 数種のバンドが識別されたが、比較可能なバンド 22 本を分析対象とした。それぞれのバンドは、原点に近いもの（Band 1）から遠いもの（Band 22）まで順に番号を付けて表わした。

これら 22 本のバンドの有無及び濃度は、同一種内にあっても系統間で違っていた。Table 7 は同一種内におけるバンドの出現頻度と平均濃度を示したものである。これに示すように、strong band は Band 9 と 11 の 2 本、medium band は Band 3、5、8、10、12、13、14、15、16、17、18 及び 19

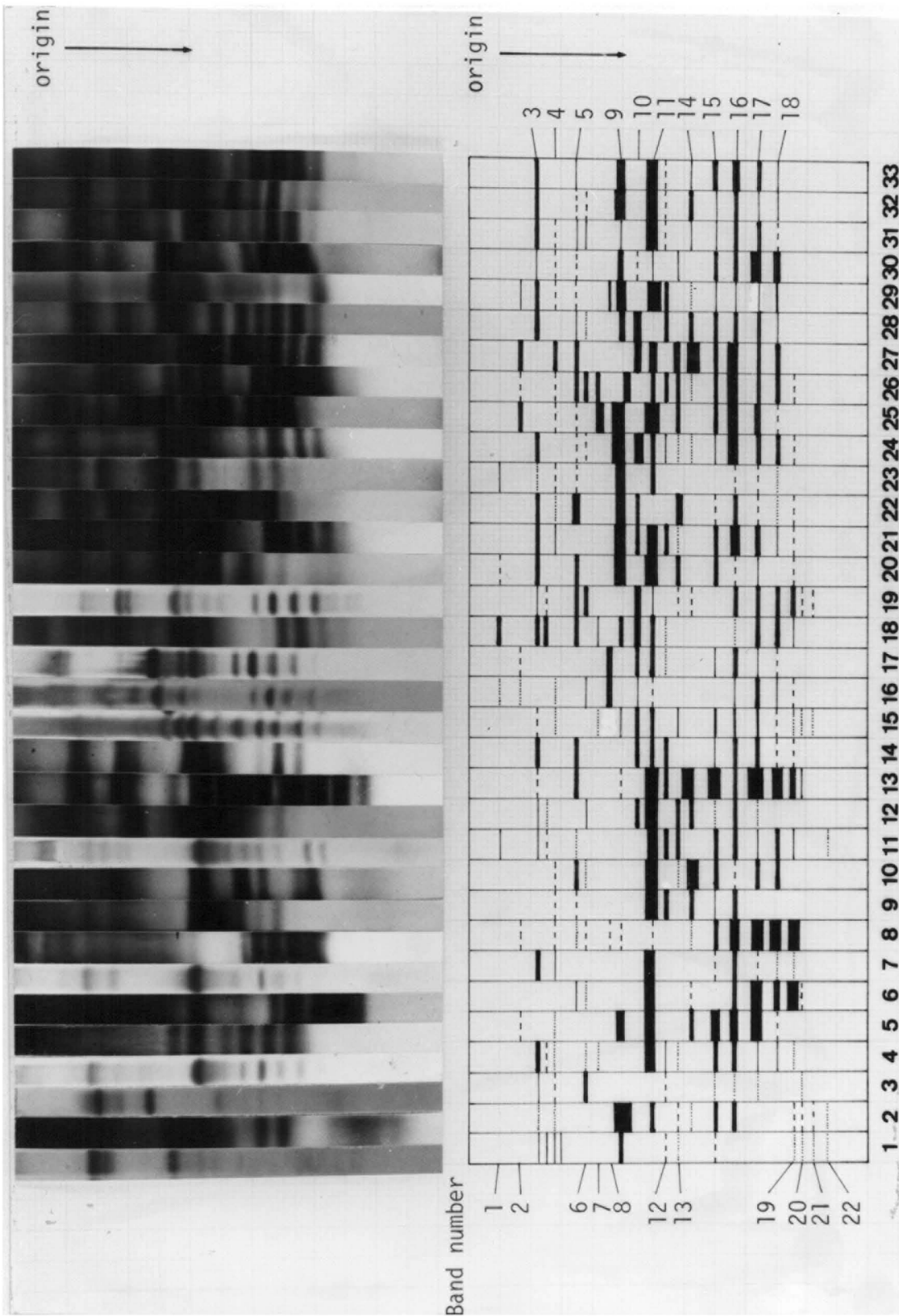


Fig. 7 Typical peroxidase isozyme zymograms of the Solanum species used.

See Table 6 for abbreviation of species name.

- 1, mrl; 2, blb; 3, clr; 4, bst; 5, cph; 6, jam; 7, mch; 8, pnt,
 9, sph; 10, trf; 11, les; 12, pld; 13, cmm; 14, tar; 15, cap; 16, san,
 17, vio; 18, ifd; 19, blv; 20, mga; 21, ber; 22, can; 23, ktz; 24, lph,
 25, med; 26, mcd; 27, mlt; 28, spl; 29, vrn; 30, ver; 31, gon; 32, phu,
 33, stn

Table 7 Occurrence frequencies and intensities of peroxidase isozyme bands in the diploid Solanum species used.

SRS*	SPS*	Band number**					
		1	2	3	4	5	6
<u>MOR</u>	<u>mrl</u>	-	11.1(1.0)	100(3.2)	66.7(3.0)	37.5(1.7)	-
<u>BUL</u>	<u>blb</u>	-	-	60.0(3.0)	100(2.8)	20.0(4.0)	-
	<u>clr</u>	-	50.0(3.0)	100(3.6)	100(2.3)	-	57.1(4.0)
<u>PIN</u>	<u>bst</u>	-	-	100(3.6)	100(3.0)	-	60.0(1.3)
	<u>cph</u>	-	75.0(2.0)	-	100(2.0)	25.0(2.0)	50.0(3.5)
	<u>jam</u>	-	50.0(2.0)	41.7(1.6)	72.7(1.9)	90.9(1.8)	16.7(1.0)
	<u>mch</u>	-	-	100(4.5)	100(3.5)	-	-
	<u>pnt</u>	-	100(2.0)	-	100(2.5)	100(1.5)	50.0(2.0)
	<u>spk</u>	10.0(1.0)	20.0(2.0)	60.0(2.2)	70.0(1.7)	77.8(2.3)	30.0(1.3)
	<u>trf</u>	6.7(3.0)	13.3(2.5)	60.0(2.8)	53.3(3.4)	100(3.5)	6.7(1.0)
<u>COM</u>	<u>cmm</u>	20.0(2.0)	-	100(2.6)	22.2(1.5)	100(3.7)	11.1(1.0)
	<u>tar</u>	-	-	100(3.3)	50.0(3.4)	100(3.8)	10.0(4.0)
<u>CIR</u>	<u>cap</u>	-	-	77.8(2.3)	77.8(1.9)	55.6(1.2)	37.5(2.0)
<u>CON</u>	<u>san</u>	66.7(1.8)	66.7(1.5)	80.0(2.8)	50.0(1.0)	-	100(3.0)
	<u>vio</u>	-	100(3.0)	-	20.0(1.0)	80.0(1.8)	40.0(1.5)
<u>POL</u>	<u>les</u>	33.3(3.0)	-	100(3.0)	100(2.7)	100(1.3)	-
	<u>pld</u>	-	31.3(1.4)	75.0(2.5)	75.0(1.9)	25.0(1.8)	75.0(3.9)
<u>CUN</u>	<u>ifd</u>	80.0(3.1)	20.0(1.0)	93.3(3.8)	66.7(2.0)	100(2.9)	20.0(1.7)
<u>MEG</u>	<u>blv</u>	-	-	100(2.5)	33.3(2.0)	100(4.2)	100(3.7)
	<u>mga</u>	13.3(2.0)	46.7(1.7)	93.3(3.9)	86.7(2.8)	100(2.9)	-
<u>TUB</u>	<u>ber</u>	66.7(3.0)	-	100(3.7)	100(3.3)	33.3(1.0)	-
	<u>can</u>	-	45.5(3.2)	100(3.7)	63.6(1.6)	100(3.5)	-
	<u>ktz</u>	100(3.0)	20.0(2.0)	100(2.2)	100(2.6)	100(3.4)	20.0(2.0)
	<u>lph</u>	-	15.4(3.0)	69.2(3.7)	76.9(2.7)	92.3(2.3)	61.5(1.9)
	<u>med</u>	75.0(3.0)	100(3.8)	37.5(4.0)	50.0(2.5)	37.5(1.7)	12.5(3.0)
	<u>mcd</u>	-	90.9(1.8)	90.9(3.1)	45.5(2.4)	100(4.0)	63.6(3.9)
	<u>mlt</u>	42.9(1.3)	71.4(2.6)	57.1(2.8)	57.1(3.3)	85.7(2.7)	42.9(1.7)
	<u>spl</u>	-	-	100(3.5)	50.0(1.3)	100(3.0)	33.3(1.5)
	<u>vmn</u>	-	100(2.3)	100(3.3)	66.7(2.0)	100(4.3)	33.3(4.0)
	<u>ver</u>	-	-	90.9(3.7)	72.7(3.4)	100(3.6)	18.2(2.5)
	<u>gon</u>	-	-	100(3.7)	42.9(2.0)	100(3.1)	28.6(3.5)
	<u>phu</u>	-	-	100(3.9)	22.2(1.5)	77.8(2.9)	44.4(2.0)
	<u>stn</u>	-	-	100(4.2)	9.1(1.0)	100(2.6)	72.7(1.8)
Mean		15.6(2.4)	31.1(2.2)	78.4(3.2)	66.7(2.3)	70.9(2.7)	33.2(2.4)
S.E.		28.8(0.8)	36.8(0.8)	31.2(0.7)	27.2(0.8)	37.6(1.0)	29.0(1.1)
Band***		W	W	M	W	M	W

*; SRS= Taxonomic series, SPS= species.

See Table 6 for the abbreviations of series and species names.

**; Figures parenthesized indicate intensities of bands. (-)= no band.

***; Estimation of band intensity. (S= strong, M= medium, W= weak)

Table 7 Continued.

SPS*	Band number**					
	7	8	9	10	11	12
<u>mrl</u>	-	-	55.6(3.8)	11.1(2.0)	11.1(5.0)	88.9(1.8)
<u>blb</u>	-	-	100(5.0)	-	100(4.0)	60.0(3.3)
<u>clr</u>	-	-	85.7(3.2)	-	14.3(2.0)	100(2.0)
<u>bst</u>	40.0(1.0)	-	40.0(4.0)	40.0(3.5)	100(4.6)	100(2.5)
<u>cpb</u>	-	25.0(2.0)	100(4.8)	-	100(4.8)	25.0(2.0)
<u>jam</u>	-	-	-	-	100(4.3)	40.0(1.5)
<u>mch</u>	-	-	-	-	100(5.0)	-
<u>pnt</u>	-	50.0(2.0)	50.0(2.0)	-	100(3.5)	-
<u>sph</u>	50.0(2.0)	10.0(2.0)	50.0(2.8)	20.0(4.0)	100(4.5)	50.0(2.8)
<u>trf</u>	6.7(1.0)	-	-	-	100(5.0)	7.1(2.0)
<u>cmm</u>	22.2(2.5)	-	55.6(3.4)	20.0(3.5)	80.0(4.9)	66.7(3.5)
<u>tar</u>	50.0(1.0)	-	20.0(2.5)	40.0(4.3)	100(4.5)	90.0(3.4)
<u>cap</u>	66.7(1.5)	33.3(2.0)	88.9(3.8)	44.4(3.8)	44.4(3.3)	50.0(2.3)
<u>san</u>	50.0(4.0)	100(4.3)	33.3(4.0)	100(3.3)	100(2.5)	50.0(3.0)
<u>vio</u>	-	40.0(5.0)	60.0(4.7)	60.0(4.0)	100(3.4)	40.0(1.5)
<u>les</u>	-	-	-	-	100(4.7)	100(3.7)
<u>pld</u>	18.8(2.3)	6.3(1.0)	25.0(2.0)	18.8(4.0)	100(4.7)	75.0(3.1)
<u>ifd</u>	40.0(1.8)	53.3(1.8)	93.3(3.9)	66.7(3.0)	93.3(3.3)	46.7(2.9)
<u>blv</u>	-	-	-	100(4.5)	100(3.5)	-
<u>mga</u>	33.3(1.6)	-	86.7(4.6)	6.7(4.0)	93.3(4.7)	13.3(3.0)
<u>ber</u>	-	-	100(5.0)	66.7(4.0)	66.7(4.5)	100(4.7)
<u>can</u>	27.3(4.3)	-	72.7(4.4)	63.6(4.3)	72.7(4.3)	72.7(3.3)
<u>ktz</u>	20.0(4.0)	-	100(4.8)	-	100(4.8)	60.0(2.3)
<u>lph</u>	38.5(2.4)	38.5(1.6)	76.9(3.0)	92.3(3.8)	53.9(4.0)	50.0(3.0)
<u>med</u>	75.0(3.2)	-	100(4.8)	37.5(4.7)	100(4.3)	-
<u>mcd</u>	72.7(3.8)	-	18.2(4.5)	9.1(4.0)	100(4.3)	63.6(2.9)
<u>mlt</u>	42.9(2.7)	14.3(1.0)	14.3(5.0)	57.1(3.8)	85.7(3.5)	14.3(1.0)
<u>spl</u>	50.0(2.7)	33.3(3.5)	50.0(3.3)	83.3(4.2)	66.7(3.8)	66.7(2.5)
<u>vrn</u>	-	66.7(4.0)	100(5.0)	66.7(4.0)	100(4.0)	66.7(3.5)
<u>ver</u>	27.3(2.0)	-	100(4.8)	100(3.1)	27.3(2.7)	72.7(2.8)
<u>gon</u>	14.3(3.0)	-	100(4.0)	-	100(4.1)	85.7(3.2)
<u>phu</u>	-	-	88.9(4.4)	44.4(4.0)	100(4.3)	88.9(1.8)
<u>stn</u>	9.1(1.0)	-	100(4.5)	72.7(4.1)	81.8(4.6)	36.4(1.8)
Mean	22.9(2.4)	14.3(2.5)	59.5(4.0)	37.0(3.8)	84.6(4.1)	54.0(2.7)
S.E.	24.2(1.1)	24.6(1.3)	37.5(0.9)	35.3(0.6)	26.2(0.8)	32.5(0.8)
Band***	W	M	S	M	S	M

Table 7 Continued.

SPS*	Band number**					
	13	14	15	16	17	18
<u>mrl</u>	66.7(1.3)	11.1(1.0)	44.4(1.8)	-	-	-
<u>blb</u>	80.0(2.8)	100(2.8)	60.0(4.0)	100(3.2)	60.0(1.3)	20.0(2.0)
<u>clr</u>	14.3(2.0)	14.3(1.0)	71.4(1.4)	71.4(2.6)	57.1(2.3)	42.9(1.7)
<u>bst</u>	75.0(1.0)	-	80.0(2.8)	80.0(4.0)	80.0(2.8)	100(3.2)
<u>cnh</u>	25.0(5.0)	50.0(4.0)	75.0(3.3)	75.0(3.3)	100(3.5)	100(2.8)
<u>jam</u>	18.2(1.5)	72.7(2.5)	50.0(2.5)	58.3(2.6)	83.3(3.0)	100(3.3)
<u>mch</u>	-	-	100(1.5)	100(2.5)	100(1.5)	100(1.0)
<u>pnt</u>	-	50.0(1.0)	100(3.5)	100(5.0)	100(4.0)	50.0(5.0)
<u>soh</u>	20.0(4.0)	60.0(2.7)	80.0(2.8)	100(2.9)	70.0(2.3)	50.0(2.2)
<u>trf</u>	40.0(1.8)	86.7(4.3)	100(3.3)	86.7(2.5)	100(2.9)	86.7(3.6)
<u>cmm</u>	33.3(4.3)	30.0(2.7)	100(3.9)	100(3.9)	100(4.4)	100(4.2)
<u>tar</u>	30.0(3.7)	20.0(2.0)	70.0(1.7)	90.0(3.0)	100(3.6)	90.0(3.0)
<u>cap</u>	44.4(2.8)	37.5(1.3)	66.7(2.7)	44.4(1.5)	77.8(2.0)	66.7(2.5)
<u>san</u>	25.0(4.0)	50.0(2.5)	33.3(4.0)	100(2.3)	100(3.0)	100(2.5)
<u>vio</u>	80.0(2.3)	-	40.0(3.0)	100(4.2)	100(4.2)	100(4.0)
<u>les</u>	100(3.3)	-	100(3.7)	100(3.0)	100(2.3)	100(4.0)
<u>pld</u>	100(3.6)	81.3(3.5)	100(3.3)	87.5(3.7)	81.3(2.5)	12.5(1.0)
<u>ifd</u>	80.0(2.1)	13.3(3.0)	13.3(2.0)	66.7(1.8)	66.7(2.3)	93.3(3.1)
<u>blv</u>	100(1.7)	66.7(1.3)	16.7(1.0)	100(2.3)	100(3.0)	100(3.3)
<u>mga</u>	100(3.8)	13.3(1.0)	93.3(3.0)	93.3(2.3)	100(2.9)	80.0(1.9)
<u>ber</u>	66.7(1.5)	66.7(3.0)	100(3.0)	100(3.3)	100(3.0)	100(2.7)
<u>can</u>	100(3.6)	63.6(3.4)	100(2.6)	100(3.8)	100(1.6)	36.4(1.3)
<u>ktz</u>	-	-	60.0(2.0)	100(3.6)	100(3.6)	100(2.4)
<u>loh</u>	92.3(2.5)	61.5(1.5)	69.2(2.3)	76.9(2.5)	69.2(2.9)	61.5(2.5)
<u>med</u>	100(3.8)	12.5(4.0)	100(3.1)	100(4.0)	100(3.5)	100(2.4)
<u>mcd</u>	72.7(2.8)	36.4(2.0)	81.8(3.0)	100(4.5)	100(4.1)	100(4.6)
<u>mlt</u>	100(3.7)	57.1(4.3)	85.7(3.7)	85.7(3.0)	100(2.9)	100(2.4)
<u>spl</u>	50.0(4.3)	66.7(2.8)	83.3(2.6)	100(2.7)	100(3.3)	83.3(2.6)
<u>vrn</u>	33.3(3.0)	66.7(1.5)	100(3.0)	100(3.7)	100(4.0)	66.7(3.0)
<u>ver</u>	100(3.0)	9.1(2.0)	72.7(3.5)	100(4.0)	100(4.5)	100(4.2)
<u>gon</u>	28.6(2.0)	71.4(2.4)	71.4(3.0)	100(3.1)	100(3.9)	100(3.3)
<u>phu</u>	-	88.9(3.3)	88.9(3.8)	77.8(4.1)	100(3.7)	88.9(2.5)
<u>stn</u>	18.2(2.5)	81.8(3.6)	90.9(3.5)	90.9(4.7)	100(4.0)	90.9(2.2)
Mean	54.4(2.9)	43.6(2.5)	75.7(2.9)	87.4(3.2)	89.3(3.1)	79.4(2.8)
S.E.	36.5(1.0)	31.3(1.1)	24.8(0.8)	21.2(0.9)	21.0(0.9)	29.2(1.0)
Band***	M	M	M	M	M	M

Table 7 Continued.

SPS*	Band number**			
	19	20	21	22
<u>mrl</u>	55.6(1.6)	62.5(1.8)	62.5(1.8)	11.1(1.0)
<u>blb</u>	80.0(2.0)	40.0(2.0)	20.0(2.0)	40.0(1.0)
<u>clr</u>	-	80.0(1.0)	25.0(1.0)	-
<u>bst</u>	20.0(1.0)	-	-	-
<u>coh</u>	-	-	-	-
<u>jam</u>	50.0(4.3)	16.7(3.0)	-	-
<u>mch</u>	100(1.0)	-	-	-
<u>pnt</u>	50.0(5.0)	-	-	-
<u>sph</u>	-	100(1.0)	-	-
<u>trf</u>	-	6.7(2.0)	-	-
<u>cmm</u>	100(3.6)	70.0(3.0)	20.0(2.0)	-
<u>tar</u>	80.0(2.0)	40.0(1.3)	-	-
<u>cap</u>	44.4(1.8)	22.2(1.0)	44.4(1.3)	-
<u>san</u>	66.7(2.5)	16.7(2.0)	20.0(3.0)	-
<u>vio</u>	80.0(3.8)	20.0(3.0)	-	-
<u>les</u>	100(3.3)	-	-	100(1.3)
<u>pld</u>	6.3(1.0)	12.5(1.0)	31.3(1.0)	37.5(1.3)
<u>ifd</u>	73.3(1.7)	-	-	-
<u>blv</u>	100(3.2)	100(1.6)	100(1.6)	-
<u>mga</u>	53.3(1.4)	-	-	-
<u>ber</u>	100(2.0)	-	-	-
<u>can</u>	100(1.9)	-	-	-
<u>ktz</u>	20.0(2.0)	-	-	-
<u>lph</u>	33.3(2.0)	8.3(1.0)	25.0(1.7)	-
<u>med</u>	-	-	-	-
<u>mcd</u>	45.5(3.8)	27.3(2.3)	18.2(3.0)	-
<u>mlt</u>	42.9(1.7)	-	-	-
<u>spl</u>	66.7(2.0)	-	-	-
<u>vm</u>	-	-	-	-
<u>ver</u>	90.9(3.4)	18.2(2.0)	-	-
<u>gon</u>	14.3(2.0)	14.3(3.0)	57.1(2.8)	-
<u>phu</u>	22.2(3.0)	11.1(3.0)	11.1(2.0)	-
<u>stn</u>	9.1(4.0)	9.1(3.0)	9.1(1.0)	-
Mean	48.6(2.5)	20.5(2.0)	13.4(1.9)	5.7(1.2)
S.E.	36.8(1.1)	29.5(0.8)	23.1(0.7)	19.4(0.2)
Band***	M	W	W	W

の 12 本で、残り 8 本は weak band であった。weak band のうち、パターンの両端に位置する Band 1、2、20、21 及び 22 は、濃度が低いばかりでなく、不鮮明で、バンドの識別が困難であった。この他の weak band も、ほとんどの種で低頻度でしか現われず、また、分類群間差異も、ほとんど見出せなかった。以上の理由から、種間の比較は、strong band と medium band に基づいて行うことにした。

Fig. 8 は、種間の比較を容易にするために、strong band と medium band の計 14 本の各種におけるパターンを Table 7 の数値から略図化したものである。●印は出現頻度が 50% より高く、○印はそれ以下であることを示し、全く出現が認められない場合を空白とした。また、この図の破線を境界にして上部にはメキシコ産二倍種、下部には南米産二倍種を示した。

この図に示すように、全供試二倍種には、パーオキシダーゼアイソザイムのパターンで高い共通性が見られた。すなわち、ほとんど

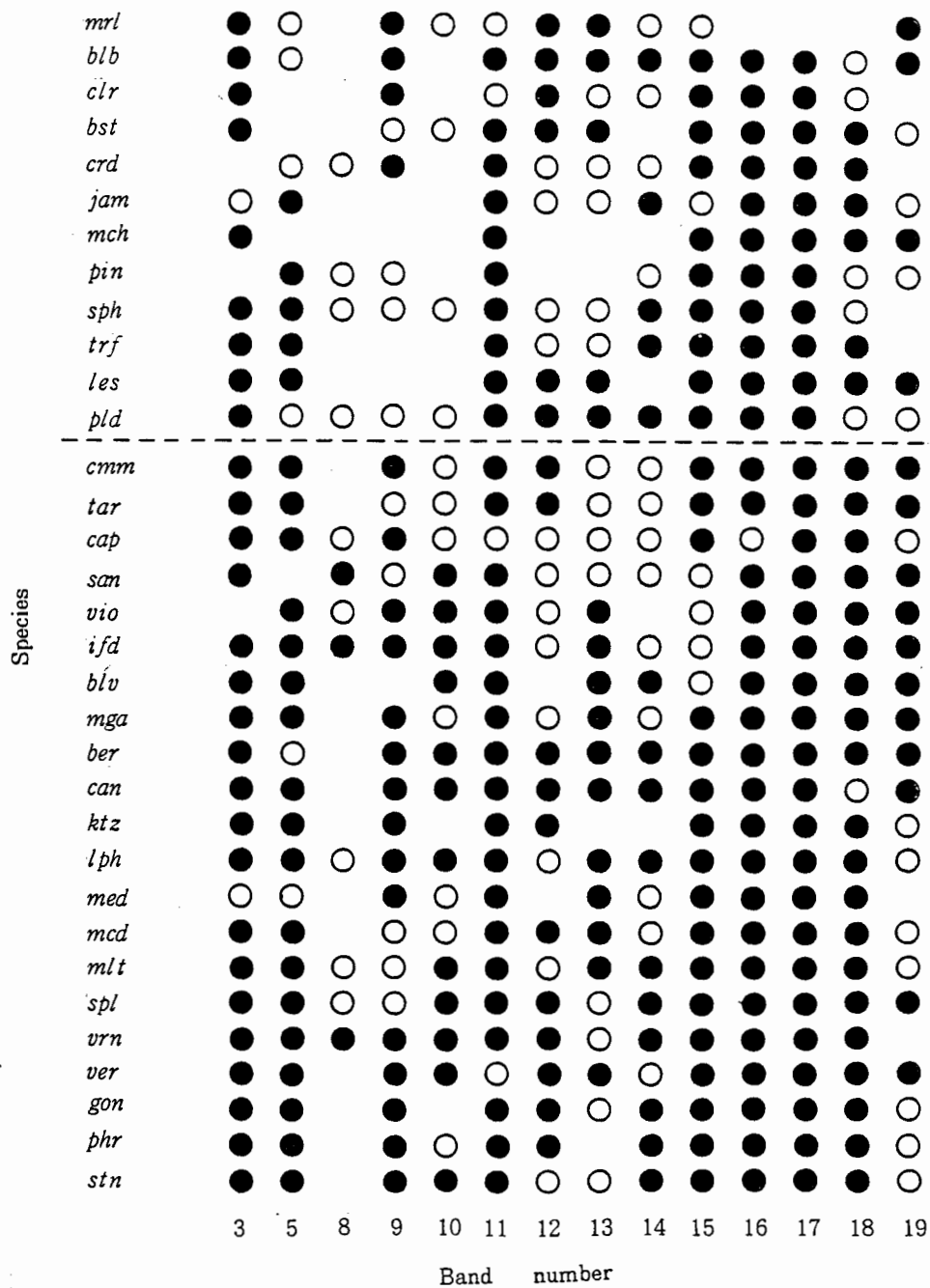


Fig. 8 Occurrence frequencies of peroxidase isozyme bands summarized from Table 7. See Table 6 for abbreviation of species name.
 ● : 50% <, ○ : 50% ≥, None : 0%

の種で、strong band の Band 11 と medium band の Band 3、15、16、17 及び 18 が見られ、種間で平均すると、バンドにより 75.7% ~ 89.3% の高い出現頻度を示した。したがって、本研究では、これら 6 本のバンドを基本バンドと呼び、これに基づく共通のパターンを基本パターンと呼ぶことにする。基本パターンは、ほとんどの種で認められたが、メキシコ産二倍種の S. morelliforme (Morelliformia 群) では Band 16、17 及び 18 が全く出現せず、且つ Band 11 も極めて低頻度 (11%) で現われるのみであった。この点で、S. morelliforme が属する Morelliformia 群は、他と明らかに異なるパターンを持つと言える。しかし、Pinnatisecta 群の S. pinnatisectum と S. cardiophyllum 及び Conicibaccata 群の S. violaceimarmolatum の 3 種に band 3 が全く認められないことを除けば、いずれも 6 本の基本バンドを有し、したがって Morelliformia 群を除き、基本バンドから分類群を識別することはできなかつた。

2. 主成分分析によるパーオキシダーゼアイソザイム変異

前項で述べたように、バンドの有無と濃淡を種間で直接見比べることによって、分類群を識別することは、Morelliformia群を除き不可能であった。そこで、これら基本バンドを含めた14本の strong band と medium band の出現頻度に基づいて主成分分析を行い、各分類群に属する二倍種の主成分スコアの分布域から、南米産及びメキシコ産二倍種間の比較を試みた。Table 8 に第4主成分までの因子負荷量及び各主成分の寄与率を示した。この因子負荷量から各二倍種の第1及び第2主成分スコアを求め Fig. 9(a) にその散布図を示した。また、Fig. 9(b) に第3及び第4主成分スコアの散布図を示した。なお、これら4主成分の累積寄与率は59.5%にすぎず、これだけでは各バンドの分散を十分に説明しているとは言い難いが、分類群単位で見るとおおよその傾向は掴めていると思われるので、以下これに基づいて南米産及びメキシコ産分類群の変異域について述べる。

(1) 南米産二倍種

Table 8 Factor loading and contribution percentage of the first four components in the principal component analysis.

Character	Factor loading			
	Comp. 1	Comp. 2	Comp. 3	Comp. 4
Band 3	0.23	-0.53	0.04	0.61
5	0.50	0.29	-0.35	0.43
8	0.08	0.10	-0.38	-0.50
9	-0.30	-0.35	-0.72	0.04
10	0.62	-0.28	-0.52	-0.29
11	0.11	0.76	0.05	0.05
12	-0.11	-0.68	0.02	0.49
13	0.53	-0.35	0.07	-0.33
14	-0.14	0.22	-0.42	0.02
15	-0.20	0.21	0.01	0.43
16	0.38	0.45	-0.19	0.22
17	0.43	0.63	-0.23	0.27
18	0.45	0.44	-0.07	0.19
19	0.73	-0.24	0.35	0.00
Contribution percentage	18.5	17.2	12.8	11.1

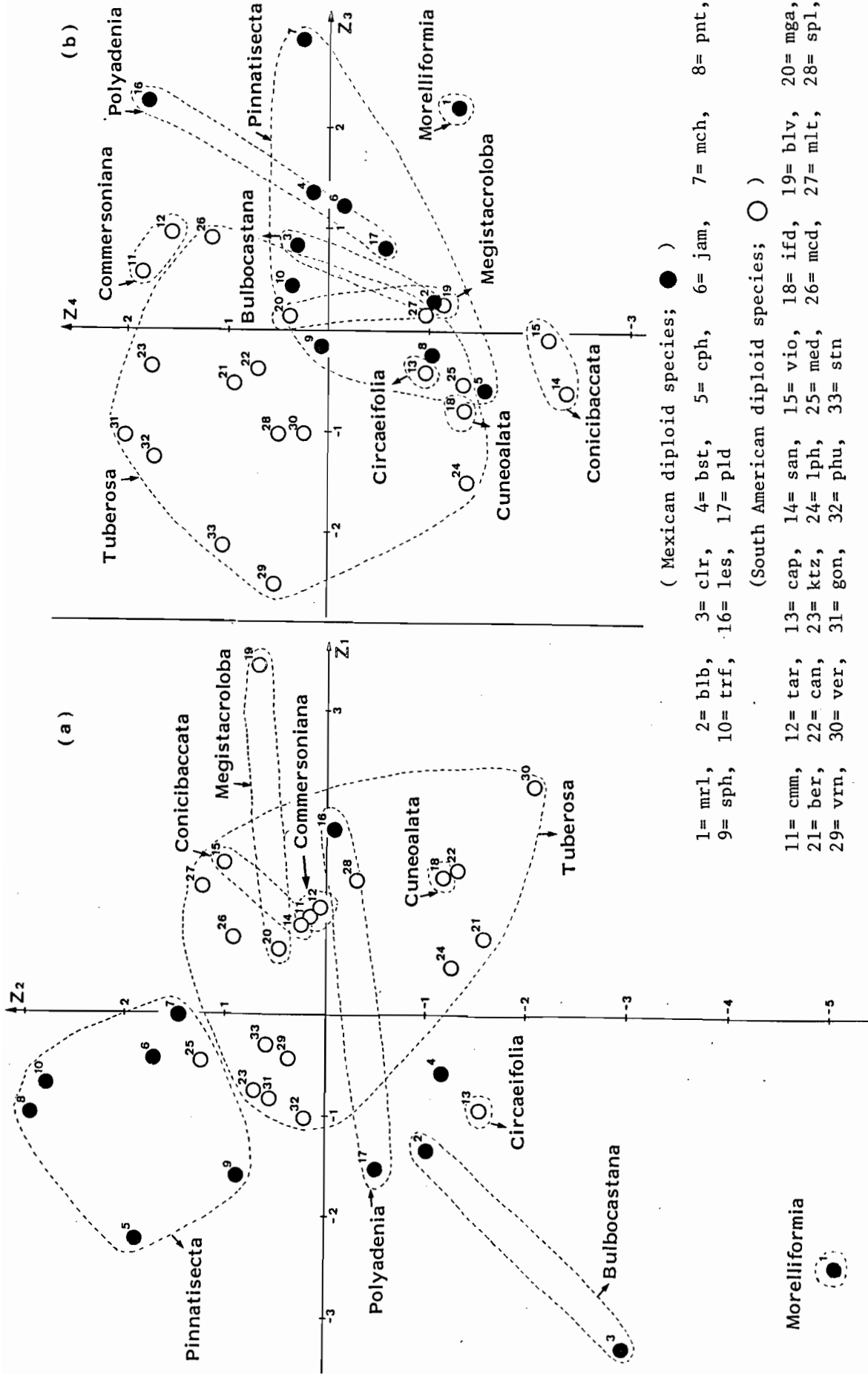


Fig. 9 Scatter diagrams showing distribution of South American and Mexican diploid species, as indicated by using the first and second (a), and the third and fourth (b) principal components as horizontal and vertical axes, respectively. See Table 6 for abbreviation of species names.

Fig. 9 に示したように、南米産二倍種の主成分スコアを各分類群について見ると、分類群内種間差異が、ほとんど認められないもの（Conicibaccata 群や Commersoniana 群）からかなり大きいもの（Megistacroloba 群）まで見られた。また、その分類群に含まれる種間の隔たり以上に他の分類群と離れて分布するような分類群はほとんどなく、いずれも Tuberosa 群の分布域に含まれるか、もしくは極めて接近した分布を示した。しかし、Circaeifolia 群と Conicibaccata 群は、他の南米産二倍種とやや異なる分布を示した。前者は Fig. 9(a) において、南米産二倍種では唯一第 III 象限に分布した。しかし、このような分布をもたらした特徴的なバンドは見出されなかった。一方 Conicibaccata 群の分布は Fig. 9(b) の第 4 主成分軸の負方向に位置していた。このような第 4 主成分スコアの差異は、Band 8 の出現頻度によるものと思われる。Conicibaccata 群に供試した 2 種は、100% ないし 40% の頻度で Band 8 が見られたが、これは全供試二倍種の平均出

現頻度 14.4% に比べると明らかに高かった。また、その濃度 (4.3 ~ 5.0) も、他の二倍種 (平均 2.5) に比べ明らかに高かった。このことから、Conicibaccata 群は Band 8 によって他の南米産二倍種と区別できると言える。

(2) メキシコ産二倍種

4 分類群にわたって 12 種を供試したメキシコ産二倍種については、Fig. 9(a) に見られるように、Bulbocastana 群に属する 2 種と Polyadenia 群に属する 2 種の群内種間差異は著しく大きかった。それにも拘らず Fig. 9(a) では、4 分類群がそれぞれ別々の分布域を占めた。また、メキシコ産二倍種の分類群間には、第 2 主成分スコアに大きな変異が認められ、ほとんどの Pinnatisecta 群二倍種は第 2 主成分スコアが正の値をとるのに対し、その他のメキシコ産二倍種は負の値をとり、Polyadenia、Bulbocastana、Morelliformia 群の順に負の方向に分布した。このように、Pinnatisecta 群が第 2 主成分によつて他のメキシコ産二倍種と分けられるのは、Band 12 の出現頻度の

差に基づくものと考えられる。また、Morelliformia 群は、Fig. 9(a)、(b)のいずれにおいても他の二倍種と明確に異なる分布を示した。これは、既に述べたように、本分類群に属する S. morelliforme が基本バンドのうち Band 16、17 及び 18 を全く持たず、Band 11 が低頻度でしか出現しないという理由によるものである。

(3) 南米産二倍種とメキシコ産二倍種の関係

Fig. 9 における南米産二倍種の分布域とメキシコ産二倍種の分布域の間には、次のような差異が認められた。すなわち、Fig. 9(a) においては、第 1 主成分軸に沿って正の値をとる側に南米産二倍種、負値をとる側にメキシコ産二倍種が主に分布し、Fig. 9(b) においては、第 3 主成分軸に沿って負値をとる側に南米産二倍種、正値をとる側にメキシコ産二倍種が主に分布する。散布図に見られるこのような相違は、Band 9、10 及び 19 の出現頻度の差異によるものと考えられる。このことは、Band 9、10 及び 19 の出現が、南米産二倍種ではそれぞれ

平均 69.5%、53.9% 及び 54.4% の比較的高い頻度であったのに対し、メキシコ産二倍種ではそれぞれ平均 42.2%、7.5% 及び 39.5% の低頻度であったという観察結果から裏づけられる。

以上述べた結果を総合して、これを模式的に示したものが Fig. 10 である。これによると、供試分類群間における相違は次のように要約できるであろう。Morelliformia 群は基本パターンを持たないことによって他分類群と區別され、南米産分類群は Band 9、10 及び 19 の比較的高い出現頻度によってメキシコ産分類群と區別される。また、Conicibaccata 群は Band 8 を高濃度及び高頻度で持つことによって南米産分類群から區別される。図中に示していないが、Circaeifolia 群も若干異なるパターンを持つことから區別される。しかしそれら以外の南米産分類群の間には明確な相違は認められない。一方、メキシコ産分類群では、Pinnatisecta 群とそれ以外の分類群に區別され、その相違は、前者が特に

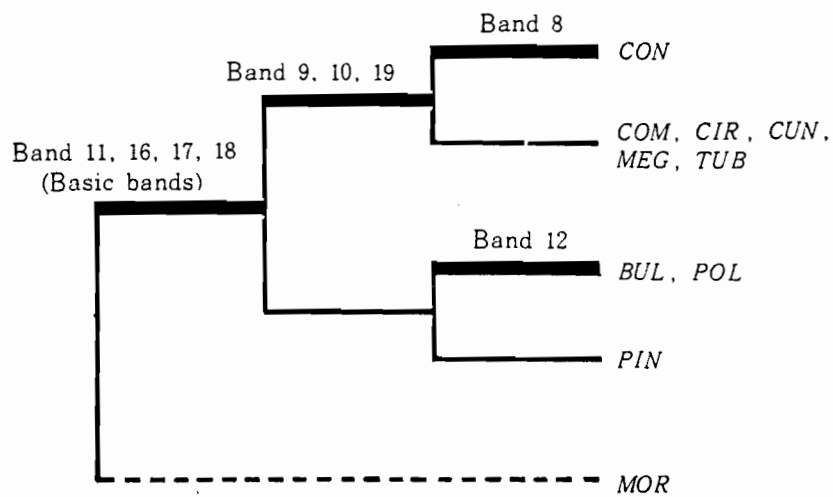


Fig. 10 Diagram illustrating differences of peroxidase isozyme pattern between each of the 10 taxonomic series. The differences are assessed by the band noted in the upside of horizontal lines. Broad and narrow solid lines and broken one indicate high and low frequencies and no occurrence of bands, respectively.

Band 12 を低頻度で示すことに基づいている。

考 察

一般にある 2 種間のアイソザイムパターンの類似性は、それら 2 種間の遺伝的類似性を表わしていると考えられる。この考えに従って、南米及びメキシコ産二倍種 10 分類群 33 種 271 系統のパーオキシダーゼアイソザイム分析を行ったところ、Morelliformia 群を除いて各分類群はいずれも 6 本の共通の基本バンドを持つことがわかった。しかし、それらのアイソザイムパターンを更に詳細に検討すると、南米産二倍種とメキシコ産二倍種の間をはじめ、Cocnicibaccata 群、Circaeifolia 群、及びその他の南米産分類群相互間、並びに Pinnatisecta 群と Bulbocastana 群及び Polyadenia 両群の間には若干の相違を見出すことができる。以下に、これらの結果と既にゲノム分析によって得られている知見とを対比させながら、各分類群二倍種相互間の類縁関係

を考察する。

1. 南米産分類群相互間の類縁関係

南米産二倍種では、特徴的な Band 8 を持つ Coincibaccata 群、及び特徴的なバンドは見られないものの若干異なるパターンを持つ Circaeifolia 群を除いて、相互間に明らかな相違は見出されない。細胞遺伝学的観点から、Howard and Swaminathan (1952) をはじめ多くの研究者が指摘しているように、南米産二倍種は、種間雑種の分裂中期で一般に 12_{II} が観察され、基本的に同一ゲノム (A) を有するとされている。Table 2 に、細胞遺伝学的な知見に基づき、今までに提案されたゲノム型を示した。Matsubayashi and Misoo (1979) 及び松林 (1981) は、南米産二倍種の群間雑種を育成し、複二倍体法 (Swaminathan 1953) による両親染色体間の differential affinity の分析から南米産二倍種染色体に潜在的構造分化の存在することを明らかにした。このことを基礎に松林 (1981) は、Tuberosa 群二倍種の S. verrucosum に A^d 、Cuneolata 群二倍種に A^c (その後、長沢・松林 (1984a) に

より単に A ゲノムと修正されている)、そして Megistacroloba 群二倍種に A^m のゲノム型を与えている。本研究で得られた結果も、上記 4 分類群がいずれも近縁関係にあることを裏づけたが、松林 (1981) が提案しているような A ゲノム内での分化を示唆するまでには至らなかった。また、Circaeifolia 群及び Conicibaccata 群二倍種は、他の南米産分類群二倍種よりもやや遺伝的分化が見られたが、基本的には上記 4 分類群二倍種が属する A ゲノム群に近縁であろうと考えられる。

2. メキシコ産分類群相互間の類縁関係

メキシコ産の Bulbocastana 及び Polyadenia 群は、それに属する二倍種間の差異が大きかったのも、それぞれの分類群の特徴を明確に把握することはできなかったが、互いに異なる変異域を有していた。Pinnatisecta 群は、Band 12 を低頻度で示すことによって上記 2 分類群と明らかに異なっていた。一方 Morelliformia 群は、他のいずれにも共通に見られるパターンを持たず、加えてこ

の群が示すパターンはかなり単純であった。これらの事実から、メキシコ産二倍種の遺伝的分化の程度は、Bulbocastana と Polyadenia 2 分類群と Pinnatisecta 群の間、及びこれら 3 群と Morelliformia 群間の順に進んでいると推定される。

Ramanna and Hermsen (1979b) は Pinnatisecta 群の S. pinnatisectum と Bulbocastana 群の S. bulbocastanum の二倍雑種におけるパキテン期の二価染色体に非相同部分が存在すると見られる小環状構造が観察されることを報告している。また、Matsubayashi and Misoo (1977) によると、Bulbocastana 群の S. bulbocastanum と Pinnatisecta 群の S. jamesii の二倍雑種から育成した複二倍体の染色体対合に見られる多価形成頻度 (12.7%) は、両親種の同質四倍体の多価形成頻度 (4x S. bulbocastana で 28.6%、4x S. jamesii で 32.6%) に比べ著しく低く、同じ Pinnatisecta 群二倍種間の多価形成頻度 (24.1%) に比べてもかなり低かった。このことから、Pinnatisecta 群と Bulbocastana 群二倍種のゲノムは、同一カテゴリーに属するとは言え、それらの染色体に若干の構造的差異が存在すると結論して

いる。更に Marks (1968) は、Morelliformia 群の S. morelliforme と Bulbocastana 群の S. clarum との二倍雑種に、細胞当たり平均 $0.52_{IV} + 0.02_{III} + 10.86_{II} + 0.14_I$ を観察し、両種の染色体間に構造雑種性 (structural hybridity) が存在することを報告している。これらの報告はいずれも、メキシコ産二倍種のゲノムの染色体間に微小な構造的差異が存在することを示している。南米産二倍種のゲノム間にも、染色体の構造的差異は存在するが、多くの場合潜在的であった (松林 1981)。この違いは、メキシコ産分類群の方が相互間における遺伝的分化の程度がやや進んでいることを示唆するもので、本研究で得られたアイソザイム分析の結果とよく一致する。

3. 南米産分類群とメキシコ産分類群の類縁関係

南米産二倍種とメキシコ産二倍種との間には、強固な生殖隔離が存在していることが知られている (Hawkes 1958b)。一般に生殖隔離の成因としては、交雑不適合性遺伝子の関与によ

る場合と異種ゲノムの染色体の構造的差異による場合とが考えられる(松林 1981)。Hawkes (1958b, 1978) は後者の見解をとって、メキシコ産二倍種に B ゲノムを仮定している。南米産とメキシコ産二倍種ゲノムの類縁関係に重要な示唆を与えるのは、Hermsen and Ramanna (1976) による報告で、A ゲノムを持つことが明らかにされている S. verrucosum とメキシコ産の S. bulbocastanum から初めて雑種が得られ、 $11.14_{II} + 1.86_{I}$ の細胞当たり平均染色体対合と 10.6% の花粉稔性を観察した。しかし、キアズマ頻度が低いなどの理由で、彼らは両親ゲノムを異種とみなしている。しかし、松林 (1981) は、たとえ花粉稔性が低いとは言え、この程度の対合頻度を示す以上両親ゲノムを異種と考えることには否定的な見解をとっている。

本研究結果から見ると、メキシコ産二倍種は、Band 9、10 及び 19 の出現頻度がやや低く、この点が南米産二倍種と異なっているとは言え、Morelliformia 群を除いて、南米産二倍種とメキ

シコ産二倍種は、基本的に共通なパターンを示すことがわかった。また、主成分分析に基づく散布図 (Fig. 9) では、同じメキシコ産分類群とは言え Morelliformia 群はかなり離れて分布しており、他のメキシコ産分類群との距離は大きい。これに比べ、メキシコ産の Bulbocastana、Pinnatisecta 及び Polyadenia 群の占める分布域は、南米産二倍種の占める分布域と接しているかまたは重なり合って広がり、この間に明確な境界は認められなかった。したがって、これら両亜大陸産二倍種間の類縁関係は、メキシコ産分類群相互間に見られるそれと同程度で、両者間における遺伝的分化はさほど大きいとは考えられない。

以上の考察を総合すると、南米産二倍種相互間では極めて遺伝的分化の程度は低く、これらとメキシコ産分類群相互間で同程度の遺伝的分化が見られ、Morelliformia 群ではやや高い分化が存在するとみなされる。

第 3 章 葉緑体 DNA の制限酵素分析から見た バレイショ近縁種及び Lycopersicon 属植 物の類縁関係

緒 論

バレイショ近縁種は 156 種の野生種と 8 種の栽培種からなり、18 分類群に類別されている (Hawkes 1978)。このうち核ゲノムの構成が明らかにされたのは、Tuberosa 群 (栽培種はすべてこれに含まれる) をはじめこれに近縁な南米産の 5 分類群と、メキシコ産倍數種が属する Longipedicellata 及び Demissa 群、及び非塊茎形成種が属する Etuberosa 群の計 8 分類群についてである (Table 2)。メキシコ産二倍種は、育種的価値が認められながらも、栽培バレイショとの遺伝的類縁性が未だ明らかにされておらず、まして近縁属と言われている栽培トマトが属する Lycopersicon 属との類縁関係に関する知見は

乏しい。

最近（1976年以降）、葉緑体 DNA（chloroplast DNA、以下 ctDNA と略する。これを遺伝的立場から見た場合、葉緑体ゲノムと称する）や、ミトコンドリア DNA を制限酵素で切断し、その DNA 断片の電気泳動パターンを比較分析する方法が、種の類縁関係を考究する上で有力な手段となってきた。このような手法は一般に制限酵素分析法と呼ばれるようになってきた。

ctDNA は、核 DNA と異なる次の 2 つの特徴を持っている。(1) ctDNA は完全に細胞質遺伝をし、母親からのみ子孫へ伝わる。したがって ctDNA の進化の要因は突然変異にのみ依存するので、(2) 核 DNA に比べ、進化速度が著しく遅い。

このような特徴から、ctDNA の種内変異は一般にほとんど見られず、種間はおろか属間においてさえもかなりの共通性を保持しているので、種間で ctDNA の変化数を調べることによ

り量的に類縁性を推定することが可能となる。例えば、榎本ら（1984）は、イネ科作物10種を本法により類別した結果、従来の分類体系と極めてよく一致することを見出し、この分析法が植物分類学的な亜科或いは連のレベルでの類縁関係にまで適用できることを示唆した。この他にも、栽培植物に限って見ても、これまで、イネ科作物（Vedel et al. 1980）、Nicotiana 属（Kung et al. 1982）、Triticum と Aegilops 属（Ogihara and Tsunewaki 1982、Bowman et al. 1983）、Lycopersicon 属（Palmer and Zamir 1982）、Coffea 属（Berthou et al. 1983）、Avena 属（村井ら 1984）などで系統進化的研究のため、ctDNAの制限酵素分析法が用いられた。

一方、ctDNAが細胞質遺伝をし、且つ保守性が高いことから、複二倍体起原の作物で、両親種のうちどちらを母本として起原したかを推定する手段としても、極めて有効な手法である。Tsunewaki and Ogihara（1983）は、長年問題となっていた普通系（Dinkel）及び二粒系（Emmer）

コムギの細胞質提供親 (= B ゲノム提供親) が、ctDNA の制限酵素分析から、Ae. longissima であることを明らかにした。最近、この見解は、ミトコンドリア DNA の制限酵素分析によっても裏づけられている (寺地ら 1984)。また、Brassica 属 3 種 (B. nigra、B. oleracea 及び B. campestris) とそれら相互間の複二倍体種 (B. carinata、B. napus 及び B. juncea) の ctDNA の制限酵素分析から、複二倍体種それぞれの母本種が決定された (Erickson et al. 1983、Palmer et al. 1983)。

そこで本章では、ctDNA の制限酵素分析により、バレイショ近縁種相互間、及び Lycopersicon 属との類縁性について検討する。

材料及び方法

1. 材料

本実験に用いた材料は Table 9 に示したとおり、Lycopersicon 属 2 種とバレイショ近縁種 28 種、及び S. infundibuliforme と S. spegazzinii の相反雑種 2 系統で

Table 9 Materials used in this study.

Genus and series	Species	2n	Abbrev.*	Remarks **
Genus <u>Lycopersicon</u>				
	<u>esculentum</u>	24	le	cv. 'Seikaiichi'
	<u>peruvianum</u>	24	lp	LA1283 6)
Genus <u>Solanum</u>				
(Non-tuberous species)				
<u>Juzlandifolia</u>	<u>lycopersicoides</u>	24	lyc	Och2712 1)
<u>Etuberosa</u>	<u>etuberosum</u>	24	eth	GLKS13/2 1)
(Mexican diploid species)				
<u>Bulbocastana</u>	<u>bulbocastanum</u>	24	blb	WAC3027 4)
<u>Pinnatisecta</u>	<u>cardionhullum</u>	24	coh	184762 1)
	<u>pinnatisectum</u>	24	pnt	186554 1)
<u>Polyadenia</u>	<u>polyadenium</u>	24	pld	275233 1)
(Mexican polyploid species)				
<u>Longinedicellata</u>	<u>stoloniferum</u>	48	sto	161178 1)
<u>Demissa</u>	<u>demissum</u>	72	dms	160230 1)
(South American species)				
<u>Commersoniana</u>	<u>chacoense</u>	24	chc	230530 2)
	<u>commersonii</u>	24	cmn	243503 1)
<u>Circaeifolia</u>	<u>capsicibaccatum</u>	24	cap	205530 1)
<u>Conicibaccata</u>	<u>santolallae</u>	24	san	HHC5103 1)
	<u>moscopanum</u>	72	msp	230517 1)
<u>Piurana</u>	<u>piurae</u>	24	pur	365365 1)
<u>Acaulia</u>	<u>acaule</u>	48	acl	3) 1)
<u>Cuneoalata</u>	<u>infundibuliforme</u>	24	ifd	Hoff.1626 1)
<u>Megistacroloba</u>	<u>boliviense</u>	24	bly	265860 1)
<u>Tuberosa</u> (Wild)	<u>lentophyes</u>	24	loh	HHC5057 1)
	<u>multidissectum</u>	24	mlt	210043 1)
	<u>sparsipilum</u>	24	sol	210039 1)
	<u>spgazzinii</u>	24	spg	Hoff.1754 1)
	<u>vernei</u>	24	vrn	D/1421 2)
	<u>verrucosum</u>	24	ver	WAC3337(=275258) 4)
(Cultivated)	<u>goniocalyx</u>	24	gon	195188 2)
	<u>phureja</u>	24	phu	Ivp 35 2)
	<u>stenotomum</u>	24	stn1	P.I.205527 2)
	<u>stenotomum</u>	24	stn2	P.I.205526 1)
	<u>chaucha</u>	36	cha1	from C. Ochoa
	<u>chaucha</u>	36	cha2	T-AY-43 3)
	<u>tuberosum</u>			
	ssp. <u>tuberosum</u>	48	tbr1	cv. 'May Queen'
	ssp. <u>tuberosum</u>	48	tbr2	cv. 'Early Rose' 2)
	ssp. <u>tuberosum</u>	48	tbr3	cv. 'Greta'
	ssp. <u>tuberosum</u>	48	Ctbr	Chilean <u>tuberosum</u> , UA-1234(cv.Huilcana) 5)

Table 9 Continued.

	ssp. <u>andigena</u>	48	<u>adg1</u>	T-AY-22	3)
	ssp. <u>andigena</u>	48	<u>adg2</u>	T-AY-28	3)
F ₁ hybrids					
	<u>infundibuliforme</u> x <u>spgazzinii</u>	24	<u>ifd/spg</u>		
	<u>spgazzinii</u> x <u>infundibuliforme</u>	24	<u>spg/ifd</u>		

*; Abbreviation proposed by Simmonds (1963) and by the present author.

**; Accession numbers without any letters are Plant Introduction (P.I.) number. Seeds or tubers were supplied from the following ;

- 1) Potato Introduction Station, Wisconsin, U.S.A.
- 2) Y. Irikura, Shimamatsu Potato Branch, Hokkaido National Agricultural Experiment Station, Japan.
- 3) Collection of the Expedition of Cultivated Plants in the Andean Areas, Kyoto University (1971).
- 4) J.G.Th. Hermsen, Institute of Plant Breeding, Wageningen, The Netherlands.
- 5) A. Contreras M., Universidad Austral de Chile, Chile.
- 6) C.M. Rick, University of California, Davis, U.S.A.

あった。多くの場合、ctDNAの抽出には同一系統を用いたが、一部は元々同一個体に由来する2～3系統を用いた。供試材料のうち、入倉幸雄博士（農林水産省北海道農業試験場島松馬鈴薯試験地）より譲与された6系統は、直接生葉を頂いたが、その他の系統は、春から夏にかけて、幼植物の間はガラス室内で、その後は屋外で栽培し生葉を採取した。

2. 葉緑体の抽出

50～100gの生葉を細かく切り、約4倍量の冷したA緩衝液（50mM トリス塩酸緩衝液（pH 8.0）に、0.44M マンニトール、3mM EDTA、1mM メルカプトエタノール、0.1% 牛血清アルブミン（BSA）を含む）を加えて、ミキサーで3秒間3回粉碎し、氷冷しつつ4枚のガーゼと2枚のミウクロスで濾過する。濾液を遠心分離（1000 rpm、5分、4°C）し、その上澄液を更に遠心分離（3500 rpm、10分、4°C）にかけ、粗葉緑体沈澱を得た。これを10mlのA緩衝液で静かに懸濁し、不連続シヨ糖濃度勾配（60%、30%、

15% ショ糖 を含む A 緩衝液 を順に重層したものの) に重層し、遠心分離 (25000 rpm 、 30 分、 4°C) する。これにより、破碎された葉緑体は 30% と 15% ショ糖層の間に、無傷の葉緑体は 60% と 30% ショ糖層の間に集まり、核やその他の巨大分子 (デンプン粒など) は底に沈澱する。無傷の葉緑体のみ回収し、2 倍量の B 緩衝液 (A 緩衝液からメルカプトエタノールと BSA を除いたもの) で薄め、遠心分離 (3500 rpm、10 分、4°C) し、葉緑体を沈澱として再回収する。

3. ctDNA の抽出

無傷の葉緑体の沈澱を、20 mM EDTA を含む 50 mM トリス塩酸緩衝液 (pH 8.0) 4.8 ml に懸濁し、1.2% サルコシルを 1.2 ml、及び Proteinase K を 1.2 mg 加え、37°C で 30 分以上反応させ、ctDNA を含む葉緑体膜などの高分子物質を消化させる。反応終了後の粗 ctDNA 溶液 1 ml 当たり 1 g の塩化セシウムを加え、2 ~ 3 時間氷中で完全に溶解させる。これに 1 ml 当たり 200 μ g になるようエタジウムブロマイド (赤色) を加えて、超遠

心分離 (37000 rpm 、 40 時間 、 20°C) を行う。超遠心分離後の遠心管に UV ランプをあてると、DNA と結合したエチジウムブロマイドのバンドが発色するので、これを注射器で引き抜く。得られた ctDNA 溶液から、まずエチジウムブロマイドを除くため、等量のイソプロパノールを加え静かに混ぜると、イソプロパノールにエチジウムブロマイドが移るのでこれを取り除く。これを 5 回繰返した後、DNA 緩衝液 (1 mM トリス塩酸緩衝液 (pH 7.9) に、1 mM 塩化カリウムと 0.1 mM EDTA を含む) に対して透析し、塩化セシウムを取り除く。透析後の ctDNA 溶液に 1/10 倍量の 3 M 酢酸ナトリウムと 3 倍量のエタノール (-20°C) を加えて ctDNA を沈澱させ、1 晩 -20°C に置いた後、遠心分離 (4000 rpm 、 20 分、-10°C) で ctDNA を回収し、適当量の DNA 緩衝液に溶かして保存 (5°C) した。

4. 制限酵素による切断

ある特定の 6 塩基配列を認識し、特定部位で切断する 6 塩基認識型制限酵素 8 種 (BamHI、

BglII、EcoRI、KpnI、PstI、XbaI、XhoI) を用いた。ctDNA の切断には、製造元 (宝酒造株式会社) の指示による反応緩衝液を用い、1泳動試料当たり 1.5 μ l の制限酵素で 1 時間反応させた後、更に 1.5 μ l を加え 2 時間反応させ、65°C に 5 分間置くことにより反応を停止させた。

5. 電気泳動

酵素によりゲル濃度の異なる (0.5 ~ 1.2%) アガローススラブゲルを用い、20 mM 酢酸ナトリウムと 2 mM EDTA、及び DNA 染色のため 0.5 μ l/ml エチジウムブロマイドを含む 40 mM トリス塩酸緩衝液 (pH 7.8) 中で、20 V で 40 時間、ないし 40 V で 20 時間泳動した。

6. 泳動パターンの観察

泳動後のゲルを、UVランプ点灯下で写真に撮り、写真からパターンを解析した。ctDNA 断片の分子量 (分子量は塩基対数換算で表わすことにする) の推定は、分子量既知の λ DNA とその HindIII による分解物の混合物を分子量マーカーとして同一ゲル上に泳動し、その泳動距

離を比較して行った。

7. 突然変異分析

制限断片パターンの比較のため、Palmer and Zamir (1982)の方法に従い、突然変異分析を行った。

まず制限酵素毎に制限断片パターンをタイプ分けし、最も多くの種で見られるタイプを1型とし、これをそれぞれの酵素での標準型とした。次に各タイプのパターンを1型と比較し、突然変異数を次のように調べる。仮に1型で見られるAとBの断片(=バンド)が2型では見られず、代わりにAとBそれぞれの分子量の和に相当するCというバンドが新しく見られた場合、1型のある認識部位に突然変異が1つ生じ認識できなくなった、或いは逆に2型パターンのCの断片中に突然変異が1つ生じて新しく認識部位となりAとBの断片になったと考え、1型と2型の差異は1突然変異とみなす。また、1型に見られるあるバンドが2型で見られず、やや分子量の大き

い、ないし小さいバンドが代りに見られる時は、DNAの重複ないし欠失を生じたものと考え、これも1突然変異の差異とみなす。このようにしてそれぞれの酵素につき、1型とそれぞれのタイプの間で比較し、突然変異数を数える。突然変異のうち、複数種で共通に見られるものを、Informative 突然変異と呼び、ある種にのみ見られるものを、Independent 突然変異と呼ぶことにする。

8. ctDNA 樹形図の作製

種間の ctDNA における差異を樹形図で表わした。供試種を8種すべての制限酵素で調べることができなかつたので、2種間で共通に用いた制限酵素によって検出された全 Informative 突然変異数に対する2種間で共通に見られた Informative 突然変異数の割合を全供試種間で算出した。これを距離行列としてクラスタ分析を行った。なお、クラスタ間距離は群平均化法によった。次に、クラスタ分析によりできた樹形図の各枝の末端に、更にそれぞれ

れの種の Independent 突然変異数に相当する長さを抜き足し ctDNA 樹形図を作製した。

結 果

1. バレイショ近縁種と Lycopersicon 属植物の ct-DNA について

Table 9 に示した 30 種の原種と 2 種の雑種から 39 系統の ctDNA を抽出した。このうちいくつかの ctDNA、特に sto2 と stn2 の泳動パターンは、制限酵素に対する阻害物質や、核やミトコンドリア DNA の混入と思われる弱小バンドや、バックグラウンドの汚染が見られた。

ctDNA 断片の分子量の総和は用いた酵素により異なり、110.7 ~ 154.9 kbp (kilo base pairs、1000 塩基対) の大きさであった。PstI 及び XhoI を除く、制限酵素断片パターンには、観察対象領域以外にも小 ctDNA 断片が認められたので、バレイショ近縁種の ctDNA の大きさはほぼ 155 kbp であると推定される。この値は、Schiller et al. (1982) に

よって推定された 156 kbp に非常に近かった。

Fig. 11 の星印は S. infundibuliforme に特異なバンドを示し、S. infundibuliforme (♀) × S. spegazzinii (♂) の F₁ は S. infundibuliforme と同じパターンを、S. spegazzinii (♀) × S. infundibuliforme (♂) の F₁ は S. spegazzinii と同じパターンを示した。このことは、バレイショ近縁種においても ctDNA が母系遺伝することを証明している。また、S. infundibuliforme と S. spegazzinii のユルヒチン処理による同質四倍体も、二倍体親と同じパターンを示し、染色体倍加によっても ctDNA に何ら変化をもたらさないことがわかった。

2. 制限断片パターンに見られる種間差異

F₁ 雑種を除く 37 系統の ctDNA につき、突然変異分析を行った。

(1) BamHI 制限断片パターン

37 系統の ctDNA の BamHI による制限断片パターンは、Fig. 12 に示すように 12 タイプに類別された。1 型 (標準型) では、重複断片 (複数 DNA 断片が同じ分子量を持つため、泳動パターンでは 1 本のバンドしか現れない。これを重複

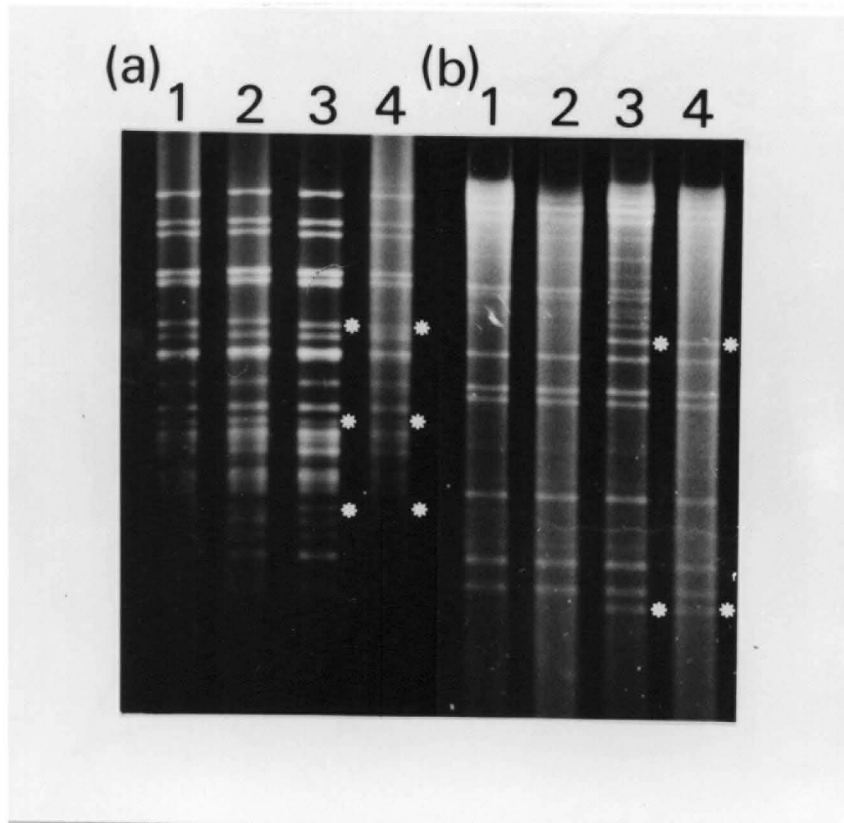


Fig. 11 Restriction fragment patterns of ctDNAs from spg (1), spg/ifd (2), ifd/spg (3) and ifd (4), showing the maternal inheritance of the unique fragments (marked with asterisks). (a) and (b) : EcoRI and KpnI pattern, respectively. See Table 9 for abbreviation of species name.

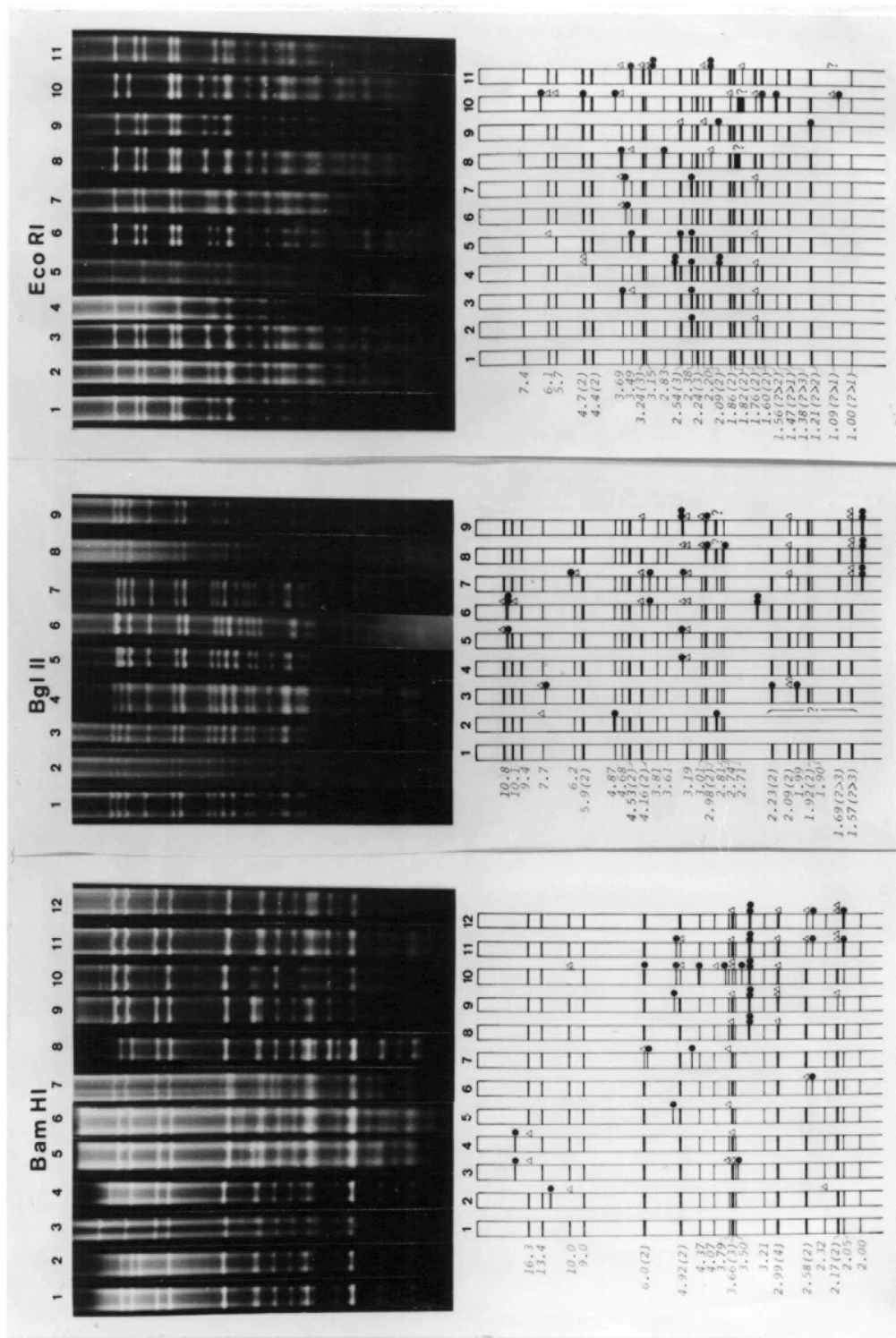


Fig. 12 Types of BamHI, BglII and EcoRI restriction fragment patterns observed among ctDNAs from 37 sources and their schematic representation under each picture. Molecular sizes (kbp) of all fragments observed in Type 1 pattern are indicated at the left side of each schematic pattern. The figure given in parentheses indicates copy number of the fragment. Lost or gained fragment, as compared with Type 1 pattern, is indicated by Δ or \bullet , respectively, on the right-hand side of the respective pattern.

断片と呼ぶ。相対的濃度によりコピー数がおおよそ判断できる)のコピー数も含め、27断片が認められ、それぞれの分子量の合計は、128.3 kbpであった。この他にも、2 kbpより小さい断片が少くとも6つ観察された。しかし、DNA断片のUVランプによる発色濃度はDNAの分子量に比例し、小分子量の断片は不明瞭となるので、これら2 kbp以下の断片は除外した。2型パターンは S. tuberosum ssp. tuberosum の系統にのみ見られるパターンで、1型で見られる10.0 kbpと2.32 kbpの断片がなく、代わりにほぼその和に相等すると思われる12.2 kbpが見られたので、2型は1型から1 Independent 突然変異の差があると思なされる。3型と4型はそれぞれ S. tuberosum ssp. andigena、及び栽培種を含むいくつかの南米産近縁種に見られるパターンで、両者にはいずれも16.3 kbpと3.66 kbpの断片がなく、代わりにその和に相等すると思われる19.5 kbpの断片が見られるので、両タイプのパターンは1型から共通に1つの Informative 突然変異で異なっている。

いた。このうち3型は、更に 3.79 kbp の断片がなく代わりに 3.44 kbp の断片が見られるので、1型との間に 1 Independent 突然変異異なっていた。したがって、1型に比べ、3型は2つ、4型は1つの突然変異で異なっているとみなされた。以下、各タイプのパターンを1型と比較し、その間で見られる断片の増減と突然変異数を Informative 及び Independent 突然変異に分けて、Table 10 に示した。なお、すべてのメキシコ産ニ倍種（8及び9型）、非塊茎形成種（10及び11型）、及び Lycopersicon 属植物（12型）に見られる2コピーの 3.36 kbp の断片は、恐らく、Palmer et al. (1983) が Brassica 属の ctDNA において報告しているように、1つの小さな逆位により生じたと考え、1型の 3.66 kbp と 2.99 kbp の断片に由来するとみなしたが、このような変化は便宜上、2つの独立して生じた突然変異として扱い、この間の突然変異数は2とした。

(2) BglIII 制限断片パターン

BglIII による制限断片パターンは Fig. 12 に示す

Table 10 CtdNA mutation analysis on the BamII restriction fragment patterns.

Type	Informative mutation*			Independent mutation*			CtdNA source
	Loss	Gain	(No.)	Loss	Gain	(No.)	
1	-	-	(0)	-	-	(0)	**
2	-	-	(0)	10.0+2.32	12.2	(1)	<u>tbr1</u> , <u>tbr2</u> , <u>Ctbr</u>
3	16.3+3.66	19.5	(1)	3.79	3.44	(1)	<u>adg1</u> , <u>adg2</u>
4	16.3+3.66	19.5	(1)	-	-	(0)	<u>acl</u> , <u>mlt</u> , <u>gon</u> , <u>phu</u> , <u>stn1</u> , <u>stn2</u> , <u>cha1</u> , <u>cha2</u>
5	-	-	(0)	3.79+1.40	5.19	(1)	<u>cap</u>
6	2.53	2.45	(1)	-	-	(0)	<u>pur</u>
7	-	-	(0)	(6.0 3.79)	5.89 4.60	(2)	<u>mso</u>
8	3.66+2.99	3.36x2	(2)	-	-	(0)	<u>cnh</u> , <u>pnt</u> , <u>pld</u>
9	3.66+2.99	3.36x2	(2)	2.99+2.17	5.14	(1)	<u>blb</u>
10	(4.92 3.66+2.99)	(5.02 3.36x2)	(3)	(10.0 4.07 3.66)	(6.0+3.85 4.37 3.45)	(3)	<u>etb</u>
11	(4.92 3.66+2.99 2.58 2.17x2)	(5.02 3.36x2 2.45 2.05+?)	(6)	-	-	(0)	<u>lyc</u>
12	(3.66+2.99 2.58 2.17x2)	(3.36x2 2.45 2.05+?)	(5)	-	-	(0)	<u>le</u> , <u>lp</u>

*: Loss or gain of a fragment is determined in comparison with Type 1. Each fragment is indicated by its molecular size in kb. Number of multiple copies is given with the x sign. ? shows unidentified fragment(s).

** : CtdNA sources of Type 1 are sto, dms, chc, cmm, san, ifd, blv, loh, spl, spg, vm, ver and tbr3.

ように 9 タイプに類別できた。1 型では、36 本の断片が観察され、それらの分子量の総和は 136.9 kbp になった。更に 1.5 kbp 以下の小断片が少くとも 8 本認められたが本研究では除外した。これら 9 タイプのパターンにおける突然変異分析の結果を Table 11 に示した。

(3) EcoRI 制限断片パターン

EcoRI では、Fig. 12 に示す 11 タイプが識別された。1 型では少くとも 42 本の断片が認められ、その合計分子量は 110.7 kbp であった。1 kbp 以下の低分子量の DNA 断片は対象外とした。突然変異分析による 2 型から 11 型までの 1 型との違いは Table 12 に示した。

(4) HindIII 制限断片パターン

HindIII では、27 系統の ctDNA から 8 タイプの異なるパターンが観察できた (Fig. 13)。1 型では 21 断片が見られ、それらの合計分子量は、143.5 kbp であった。1.2 kbp 以下の低分子量の断片が少くとも 12 本見られたが観察対象外とした。HindIII における突然変異分析の結果を Table 13 に

Table 11 CtdNA mutation analysis on the BglIII restriction fragment patterns

Type	Informative mutation*			Independent mutation*			CtdNA source
	Loss	Gain	(No.)	Loss	Gain	(No.)	
1	-	-	(0)	-	-	(0)	**
2	-	-	(0)	7.7	4.87+2.81	(1)	<u>cmn</u>
3	-	-	(0)	(7.7 2.09x2)	(7.6 2.23+1.99)	(3)	<u>pur</u>
4	3.19	3.23	(1)	-	-	(0)	<u>blb</u> , <u>cph</u> , <u>ont</u>
5	(10.8 3.19)	(10.5 3.23)	(2)	-	-	(0)	<u>pld</u>
6	(10.8 4.16 3.19)	(10.5 3.98 3.23)	(3)	(10.1 3.23)	(10.5 2.36x2)	(2)	<u>etb</u>
7	(4.16 3.19 2.09 1.57x2)	(3.98 3.23 ? 1.50x2)	(5)	6.2	6.3	(1)	<u>lyc</u>
8	(3.19 3.01 2.09 1.57x2)	(3.23 2.98 ? 1.50x2)	(5)	3.23	2.71	(1)	<u>le</u>
9	(3.19 3.01 2.09 1.57x2)	(3.23 2.98 ? 1.50x2)	(5)	4.16	3.23	(1)	<u>lp</u>

*: Refer to Table 9.

** : CtdNA sources of Type 1 are dms, cap, san, mss, acl, ifd, blv, loh, mlt, sol, sdg, ver, stn2, chal, cha2, tbr1, tbr3, adg1 and adg2.

Table 12 CtdNA mutation analysis on the EcoRI restriction fragment patterns.

Type	Informative mutation*			Independent mutation*			CtdNA source
	Loss	Gain	(No.)	Loss	Gain	(No.)	
1	-	-	(0)	-	-	(0)	**
2	1.60	2.38	(1)	-	-	(0)	<u>dms</u> , <u>chc</u> , <u>san</u> , <u>blv</u> , <u>spg</u> , <u>tbr3</u> , <u>adg1</u> , <u>adg2</u>
3	1.60	2.38	(1)	3.49	3.69	(1)	<u>tbr1</u> , <u>tbr2</u> , <u>Ctbr</u>
4	1.60	2.38	(1)	(4.7x2	2.65x2+ 1.98x2)	(2)	<u>ver</u>
5	1.60	2.38	(1)	6.1	3.49+2.54	(1)	<u>cmm</u>
6	-	-	(0)	3.69	3.65	(1)	<u>ifd</u>
7	1.60	2.38	(1)	3.69	3.67	(1)	<u>our</u>
8	-	-	(0)	(3.49 2.09)	(3.69 2.83)	(2)	<u>blb</u>
9	-	-	(0)	(2.54 2.20)	(1.98 1.21)	(2)	<u>coh</u>
10	-	-	(0)	(6.1 5.7 3.69 1.86 1.60 1.09)	(6.3 4.7 3.76 1.56 1.47 1.06)	(6)	<u>eth</u>
11	(3.69 3.24 3.15 2.20 1.76)	(3.49 3.11 3.11 2.09 2.09)	(5)	-	-	(0)	<u>lyc</u> , <u>lp</u>

*: Refer to Table 9.

** : CtdNA sources of Type 1 are pnt, pld, cap, acl, loh, mlt, spl,
vm, gon, phu, stn1, chal and cha2.

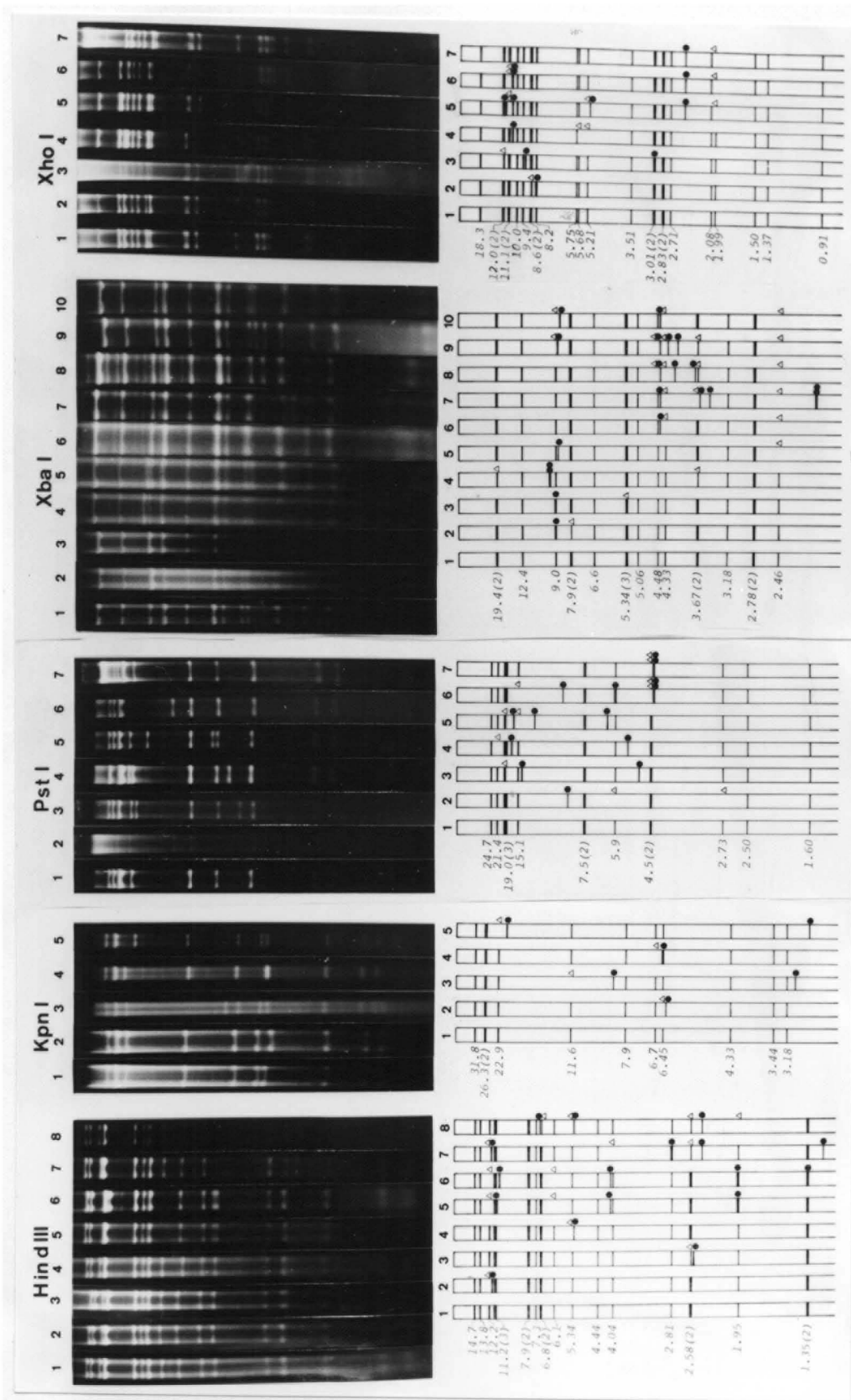


Fig. 13 Types of HindIII, KpnI, PstI, XbaI and XhoI restriction fragment patterns observed among 37 sources and their schematic representation under each picture. For the number and marks given in the schemes, see the explanations in Fig. 12.

Table 13 CtDNA mutation analysis on the HindIII restriction fragment patterns.

Type	Informative mutation*			Independent mutation*			CtDNA source
	Loss	Gain	(No.)	Loss	Gain	(No.)	
1	-	-	(0)	-	-	(0)	**
2	-	-	(0)	12.2	11.7	(1)	<u>tbr1</u>
3	2.58	2.54	(1)	-	-	(1)	<u>cha1</u> , <u>cha2</u>
4	-	-	(0)	5.34	5.23	(1)	<u>pur</u>
5	(12.2 11.2) (6.1 4.14+1.95)		(2)	-	-	(0)	<u>cph</u> , <u>pnt</u>
6	6.1	4.14+1.95	(1)	12.2	10.9+1.35	(1)	<u>pld</u>
7	2.58	2.37	(1)	(12.2 11.9) (4.04 2.81+1.22)		(2)	<u>etb</u>
8	2.58	2.37	(1)	(6.8 7.0) (5.34 5.22) (1.95 ?)		(3)	<u>lyc</u>

*: Refer to Table 9.

** : CtDNA sources of Type 1 are blb, dms, cmm, cap, san, mso, acl, ifd, blv, lph, mlt, spl, spg, ver, stn2, tbr3, adg1 and adg2.

示した。

(5) KpnI 制限断片パターン

KpnI によるパターンは Fig. 13 に示すように、用いた 8 制限酵素による断片パターンのうち、最も単純なパターンを示した。1 型では 11 本の断片を観察対象とし、合計分子量 150.9 kbp であった。2 kbp 以下の低分子量の断片が少くとも 1 本認められたが除外した。1 型と比較した 2 型から 5 型までの突然変異の分析結果を Table 14 に示した。

(6) PstI 制限断片パターン

PstI では 7 タイプのパターンが認められた (Fig. 13)。1 型では 14 本の断片が見られ、その合計分子量は 154.9 kbp であった。突然変異分析の結果を Table 15 に示した。

(7) XbaI 制限断片パターン

XbaI では、10 タイプの制限断片パターンが観察された (Fig. 13)。1 型には 19 本の断片が認められ、その分子量の合計は 131.0 kbp で、2 kbp 以下の低分子量の DNA 断片は除外した。1

Table 14 CtdNA mutation analysis on the KpnI restriction fragment patterns

Type	Informative mutation*			Independent mutation*			CtdNA source
	Loss	Gain	(No.)	Loss	Gain	(No.)	
1	-	-	(0)	-	-	(0)	**
2	-	-	(0)	6.45	6.15	(1)	<u>tbr1</u>
3	-	-	(0)	11.6	8.8+2.87	(1)	<u>ifd</u>
4	6.7	6.45	(1)	-	-	(0)	<u>etb</u> , <u>pld</u>
5	-	-	(0)	22.9	20.7+2.25	(1)	<u>lyc</u>

*: Refer to Table 9.

** : CtdNA sources of Type 1 are blb, pnt, sto, dms, cmm, cap, san, pur, acl, blv, lph, mlt, spl, spg, ver, stn2, chal, cha2, tbr3, adg1 and adg2.

Table 15 CtDNA mutation analysis in the PstI restriction fragment patterns

Type	Informative mutation*			Independent mutation*			CtDNA source
	Loss	Gain	(No.)	Loss	Gain	(No.)	
1	-	-	(0)	-	-	(0)	**
2	-	-	(0)	5.9+2.73	9.2	(1)	<u>cmm</u>
3	-	-	(0)	19.0	14.3+5.0	(1)	<u>san</u>
4	-	-	(0)	21.4	16.2+5.3	(1)	<u>pld</u>
5	-	-	(0)	(19.0 15.1	(12.8+6.2 15.6)	(2)	<u>etb</u>
6	4.5x2	4.4x2	(2)	15.1	9.4+5.9	(1)	<u>lyc</u>
7	4.5x2	4.4x2	(2)	-	-	(0)	<u>le</u> , <u>lp</u>

*: Refer to Table 9.

** : CtDNA sources of Type 1 are blb, cph, pnt, sto, dms, cap, mso, pur, acl, ifd, blv, lph, mlt, spl, sog, ver, stn2, cha1, cha2, tbr1, adg1 and adg2.

型と比較した 2 型から 10 型までの突然変異分析の結果を Table 16 に示した。

(8) XhoI 制限断片パターン

XhoI では 7 タイプのパターンが識別できた。

(Fig. 13) , 1 型では 24 本の断片が見られ、合計分子量は 151.7 kbp であった。これら 7 タイプのパターンの突然変異分析の結果を Table 17 に示した。

3. 供試種間の ctDNA における差異

雑種 2 系統を除く全系統の ctDNA の制限断片パターンタイプを Table 18 に示した。検出された突然変異のうち、Informative 突然変異は BamHI と BglII で 7、EcoRI で 6、HindIII で 4、XbaI で 3、PstI で 2、KpnI と XhoI でそれぞれ 1 の計 31 であった。また Independent 突然変異は、種により異なり、全く見られない種 (S. leptophyes、S. sparsipilum など) から最高 21 を持つ種 (S. etuberosum) まで見られた。Fig. 14 は、これら突然変異数に基づき種間差異を樹形図の形で表わしたものである。2 種間の差異は、樹形図の枝を辿っ

Table 16 CtDNA mutation analysis on the XbaI restriction fragment patterns.

Type	Informative mutation*			Independent mutation*			CtDNA source
	Loss	Gain	(No.)	Loss	Gain	(No.)	
1	-	-	(0)	-	-	(0)	**
2	-	-	(0)	7.9	9.0	(1)	<u>stn2</u>
3	5.43	9.0	(1)	-	-	(0)	<u>sto</u> , <u>ver</u>
4	-	-	(0)	(19.4 3.67)	9.5x2 ?)	(2)	<u>mso</u>
5	2.46	?	(1)	?	8.7	(1)	<u>pur</u>
6	(4.33 2.46)	4.42 ?)	(2)	-	-	(0)	<u>coh</u> , <u>pnt</u>
7	(4.33 2.46)	4.42 ?)	(2)	(3.67x2 ?)	3.63+3.43 2.01x2)	(3)	<u>blb</u>
8	(4.33 2.46)	4.42 ?)	(2)	(4.48 3.67)	4.11 3.75)	(2)	<u>pld</u>
9	(4.33 2.46)	4.42 ?)	(2)	(9.0 4.48 3.67)	8.8 4.23 4.04)	(3)	<u>etb</u>
10	(4.33 2.46)	4.42 ?)	(2)	9.0	8.7	(1)	<u>lyc</u>

*: Refer to Table 9.

** : CtDNA sources of Type 1 are dms, cap, san, acl, ifd, blv, lph, mlt, spl, spg, cha1, cha2, tbr1, tbr3, adg1 and adg2.

Table 17 CtdNA mutation analysis on the XhoI restriction fragment patterns

Type	Informative mutation*			Independent mutation*			CtdNA source
	Loss	Gain	(No.)	Loss	Gain	(No.)	
1	-	-	(0)	-	-	(0)	**
2	-	-	(0)	8.6	8.2	(1)	<u>tbr1</u> , <u>tbr2</u>
3	-	-	(0)	12.0	9.1+3.01	(1)	<u>stn2</u>
4	-	-	(0)	5.68+5.21	10.9	(1)	<u>blb</u>
5	1.99	2.45	(1)	(11.1x2 5.21)	(11.9+10.9 5.16)	(3)	<u>etb</u>
6	1.99	2.45	(1)	11.1x2	10.9x2	(2)	<u>lyc</u>
7	1.99	2.45	(1)	-	-	(0)	<u>le</u> , <u>lp</u>

*: Refer to Table 9.

** : CtdNA sources of Type 1 are coh, pnt, pld, sto, dms, chc, cmm, cap, san, mss, pur, acl, ifd, blv, loh, mlt, sol, sog, ver, chal, cha2, tbr3, adg1 and adg2.

Table 18 Restriction fragment pattern types of ctDNAs of tuberous Solanum and Lycopersicon species

CtDNA source	Restriction fragment pattern type *							
	<u>Bam</u> HI	<u>Bgl</u> II	<u>Eco</u> RI	<u>Hind</u> III	<u>Kpn</u> I	<u>Pst</u> I	<u>Xba</u> I	<u>Xho</u> I
<u>le</u>	12	8	-	-	-	7	-	7
<u>lp</u>	12	9	11	-	-	7	-	7
<u>lyc</u>	11	7	11	8	5	6	10	6
<u>etb</u>	10	6	10	7	4	5	9	5
<u>blb</u>	9	4	8	1	1	1	7	4
<u>cph</u>	8	4	9	5	-	1	6	1
<u>ont</u>	8	4	1	5	1	1	6	1
<u>pld</u>	8	5	1	6	4	4	8	1
<u>sto</u>	1	-	-	-	1	1	3	1
<u>dms</u>	1	1	2	1	1	1	1	1
<u>chc</u>	1	-	2	-	-	-	-	1
<u>cmm</u>	1	2	5	1	1	2	-	1
<u>cap</u>	5	1	1	1	1	1	1	1
<u>san</u>	1	1	2	1	1	3	1	1
<u>mso</u>	7	1	-	1	-	1	4	1
<u>pur</u>	6	3	7	4	1	1	5	1
<u>acl</u>	4	1	1	1	1	1	1	1
<u>ifd</u>	1	1	6	1	3	1	1	1
<u>blv</u>	1	1	2	1	1	1	1	1
<u>lph</u>	1	1	1	1	1	1	1	1
<u>mlt</u>	4	1	1	1	1	1	1	1
<u>sol</u>	1	1	1	1	1	1	1	1
<u>spg</u>	1	1	2	1	1	1	1	1
<u>vm</u>	1	-	1	-	-	-	-	-
<u>ver</u>	1	1	4	1	1	1	3	1
<u>gon</u>	4	-	1	-	-	-	-	-
<u>phu</u>	4	-	1	-	-	-	-	-
<u>stn1</u>	4	-	1	-	-	-	-	-
<u>stn2</u>	4	1	-	1	1	1	2	3
<u>cha1</u>	4	1	1	3	1	1	1	1
<u>cha2</u>	4	1	1	3	1	1	1	1
<u>tbr1</u>	2	1	3	2	2	1	1	2
<u>tbr2</u>	2	-	3	-	-	-	-	2
<u>tbr3</u>	1	1	2	1	1	-	1	1
<u>Ctbr</u>	2	-	3	-	-	-	-	-
<u>adg1</u>	3	1	2	1	1	1	1	1
<u>adg2</u>	3	1	2	1	1	1	1	1

*: Refer to Fig. 12 and 13 for the individual restriction fragment pattern types.

-: Not analyzed.

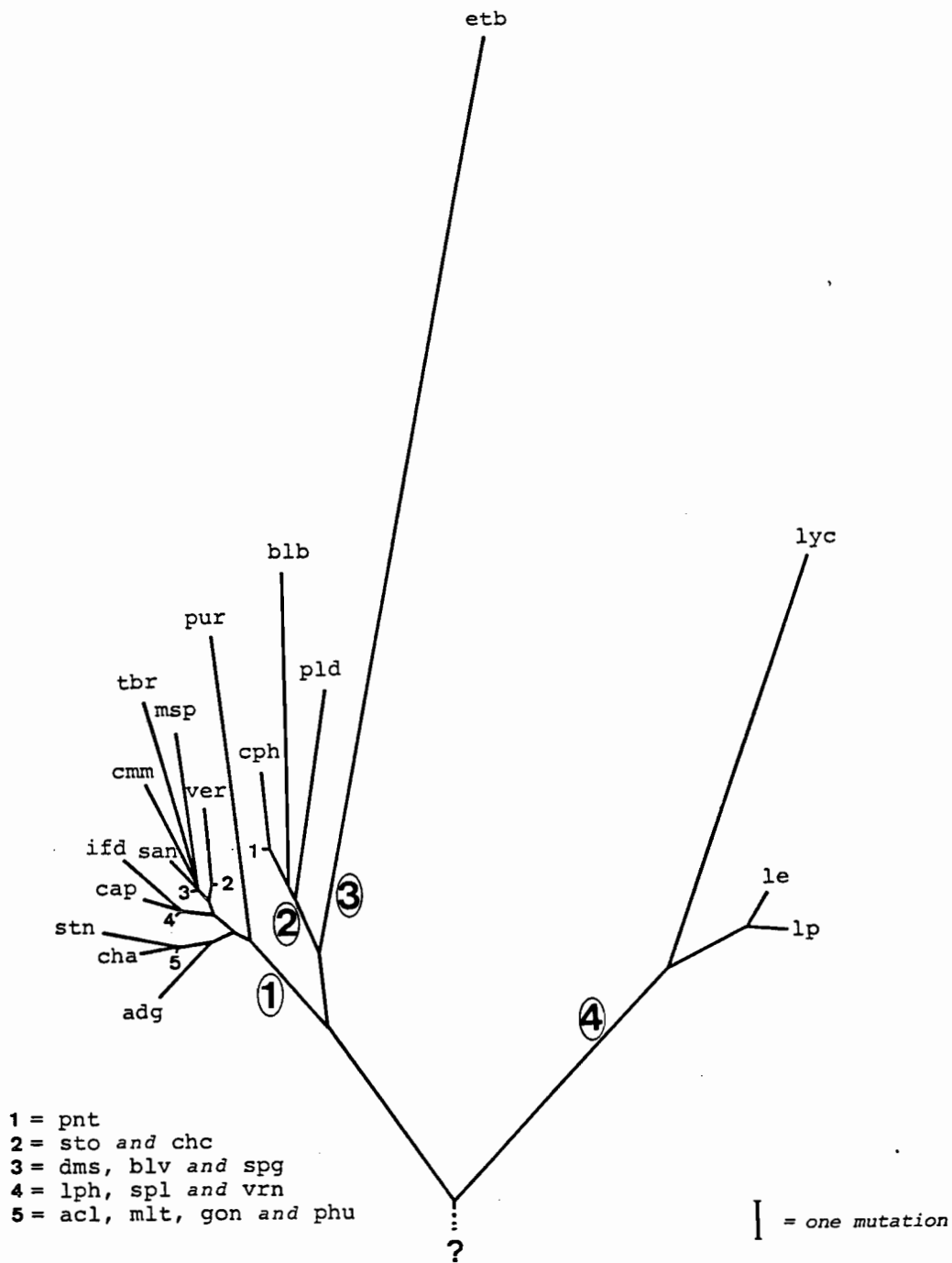


Fig. 14 A dendrogram showing the phylogenetic relationship between chloroplast genomes of tuberous Solanum and Lycopersicon species; obtained by the analysis of ctDNA restriction fragment patterns. The interspecific ctDNA difference between two given species is estimated by the sum of the length of all branches lying between the two species, divided by the unit length corresponding to one mutation that is indicated at the right-hand side.

て求められる長さを、図中右端に示した突然変異当たりの単位長さで割ると求められる。

考 察

Fig. 14 に示したように、供試 28 種のバレイシヨ近縁種と 2 種の Lycopersicon 属植物は、ctDNA の類似性に基づき次の 4 群に大別することができさる。

第 1 群； Fig. 14 の ① の枝から分かれる種で、南米産近縁種のすべてとメキシコ産倍数種がこれに入る。

第 2 群； Fig. 14 の ② の枝から分かれる種で、メキシコ産二倍種がすべてこれに入る。

第 3 群； Fig. 14 の ③ の枝から分かれる種で、非塊茎形成種 S. etuberosum のみこれに入る。

第 4 群； Fig. 14 の ④ の枝から分かれる種で、非塊茎形成種 S. lycopersicoides と Lycopersicon 属植物がこれに入る。

これら ctDNA の類似性に基づく 4 群は、それ

それに属する種間では比較的容易に交雑することができるが、群間では極めて困難ないし不可能であって、この点、交雑親和性に基づく分類 (Hawkes 1978) とよく一致している。

以下に上記4群それぞれについて、それに属する分類群及び種間の類縁関係に関して考察する。

1. 第1群 (南米産近縁種とメキシコ産倍数種)

(1) Commersoniana 群

今回供試した S. commersonii と S. chacoense の2種は細胞遺伝学的研究によれば、Tuberosa 群と相同の核ゲノムを持つとされているが、Matsubayashi (1983) は、このうち S. commersonii のゲノムは、S. chacoense や Tuberosa 群の種と若干構造的に分化していると報告している。今回の ctDNA の結果も、S. commersonii には少くとも3つの種特異的な突然変異が見出され、葉緑体ゲノムの点からも本種がやや分化した種であることは明らかである。

(2) Circaeifolia 群

この分類群からは、S. capsicibaccatum が供試された。本種の ctDNA は、Tuberosa 群の S. leptophyes、S. sparsipilum 及び S. vernei の ctDNA とわずかに 1 突然変異で異なるのみで、葉緑体ゲノムの点から見れば、S. capsicibaccatum は Tuberosa 群と近縁であると言える。Circaeifolia 群二倍種の細胞遺伝学的研究は未だ行われておらず、したがって、これらの核ゲノムの類縁関係についての知見はないが、前章で明らかにしたように、Circaeifolia 群は若干他と異なるアインザイムパターンを示した。また、Hawkes (私信) によれば、Circaeifolia 群は Tuberosa 群をはじめ他の南米産近縁種のいずれとも交雑不適合であり、しかも形態的に、特徴的な細長い果実 (narrow-conical berry) を着けるなどの点で他と異なっていると言われ、Tuberosa 群との関係を含めて、今後更に詳細な研究が必要であろう。

(3) Conicibaccata 群

この分類群からは、S. santolallae と S. moscopanum の

2 種が供試された。前者は二倍種で、その ctDNA は S. boliviense や S. spgazzinii と 1 突然変異のみで異なり、これらと高い類似性を示した。この種の核ゲノムも基本的には A ゲノム群に属すると考えられており。(長沢・松林 1979b)、パーオキシダーゼアイソザイムから見ても、若干の分化は認められるものの A ゲノム種と近縁で、葉緑体ゲノムにはほとんど分化は認められなかった。一方、S. moscopanum は六倍種で、その ctDNA は、S. santolallae のそれと 5 つの突然変異により異なっていた。López (1979, in Hawkes 1979) は、Conicibaccata 群のゲノム分析の結果、S. santolallae の核ゲノム構成は X_1X_1 で、S. moscopanum のそれは $X_1X_1X_6X_6MM$ であると推論している (X ゲノムは多分 A ゲノムに相当すると思われる (筆者註))。これらの事実は、S. santolallae が S. moscopanum の第 1 ゲノム提供親であるにしても、細胞質ゲノムは S. santolallae 以外の第 2 ないし第 3 ゲノム提供親に由来することを暗示させるものである。しかし、Hawkes (1979) が述べるように、

Conicibaccata 群の分化が非常に古いとすると、S. santolallae が X_1 ゲノムとともに葉緑体ゲノムも S. moscopanum に提供し、その後の長い進化の過程で、現在見られる S. moscopanum の葉緑体ゲノムに分化したとする可能性も否定することはできない。また、本研究では供試することができなかったが、Conicibaccata 群には四倍種も存在し、それらの中には奇妙なことにメキシコに分布するものがある (S. agrimonifolium と S. oxycarpum)。これらの葉形は、メキシコ産の Polyadenia 群や非塊茎形成種 Etuberosa 群とよく似ていた (Fig. 5)。また、Conicibaccata 群は一時非塊茎形成種と考えられていた (Fig. 1、Hawkes 1947) ように、塊茎形成能が著しく低い (Ross and Rowe 1969、保坂 未発表)。したがって、Conicibaccata 群はバレイショの進化において非常に興味深い一群で、今後の細胞遺伝学的研究が待たれる。

(4) Piurana 群

この群に属する種として S. piurae が調査された。S. piurae の ctDNA は他の南米産近縁種のそれ

らと異なり、少くとも8つの突然変異が見出された。長沢・松林(1984b)は、Cuneoalata群に属する S. infundibuliforme と他の南米産二倍種との類縁関係を細胞遺伝学的に調査した際、S. piurae は南米産二倍種の中でも若干核ゲノムの分化した種であることを明らかにした。今回の ctDNA の分析もまた、この種が細胞質ゲノムの点から他の南米産近縁種と異なった特異な種であることを示している。分類学的にも本分類群は極めて曖昧な分類群で、Hawkes(1963)によると、Conicibaccata 群と Tuberosa 群の中間的特徴を持つと言われている。また、上に述べた S. piurae の示す8つの突然変異のうち、1つはメキシコ産二倍種及び非塊茎形成種と共通に見られ、1つは非塊茎形成種と共通であった。以上の理由から、Piurana 群は今後更に詳細な研究が必要であろう。

(5) Acaulia 群

S. acaule は栽培バレイショの随伴雑草としても知られる野生四倍種で、その染色体対合は

24_{II} を示し、一見異質四倍体のような染色体行動をとるが、Aゲノム二倍種との三倍雑種では高頻度で三倍染色体を形成することから、Matsubayashi (1982) は部分異質四倍体と考え、AA^aのゲノム記号を与えた。今回の分析の結果、本種のctDNAはAゲノムを有する Tuberosa 群の S. multi-dissectum、S. goniocalyx 及び S. phureja と同一であった。したがって、S. acaule はこれら Tuberosa 群の種、ないしはこれに近縁な二倍種から由来したことは明らかと考えられる。

(6) Cuneoalata 群と Megistacroloba 群

それぞれ S. infundibuliforme と S. boliviense の各1種が供試されたが、前者は Tuberosa 群の S. leptophyes、S. sparsipilum 及び S. vernei とわずかに2つの突然変異によって異なるのみであり、後者は同じ Tuberosa 群の S. spegazzinii と全く同じctDNAを持っていた。このことは、これらの葉緑体ゲノムがいずれも Tuberosa 群のそれと高い類似性を示すことを暗示するものである。これら3群の二倍種はいずれもAゲノムを持つことから、3群

は核ゲノムの上から、もまた細胞質ゲノムの上から、も類似性が高いと思われる。

(7) Tuberosa 群

Tuberosa 群に属する 10 種の ctDNA は、S. verrucosum と S. tuberosum ssp. tuberosum の ctDNA を除き、相互に高い類似性を示した*。S. verrucosum の ctDNA は他の Tuberosa 群近縁種に比べ、少くとも 3 突然変異により異なっていた。本種はメキシコに分布し、Tuberosa 群二倍種の有する A ゲノムから若干分化した A^d ゲノムを持つと報告されている (Matsubayashi and Misoo 1979)。多分、本種に固有な 2 つの Independent 突然変異は、メキシコに分布するよ

* ; 最近の研究により、S. gourlayi、S. kurtzianum、S. microdontum、S. oplocense、S. x berthaultii はいずれも S. leptophyes と同じ制限断片パターンを示し、S. bukasovii と S. canasense は S. multidissectum と同じパターンを示すことが明らかになった。このことから Tuberosa 群内では、広く類似性の高い葉緑体ゲノムを持つことが明らかである。

うになり地理的に他の Tuberosa 群二倍種から隔離されて後生じた突然変異であろうと考えられる。

S. tuberosum ssp. tuberosum の ctDNA は、「Greta」を除き、その祖先種である S. tuberosum ssp. andigena のそれと大いに異なっていた (Table 18)。しかし、「Greta」は、S. demissum と同じ制限断片パターンを示した。このことは、「Greta」が S. demissum の疫病抵抗性遺伝子を導入するため、S. demissum (♀) × 普通バレイショ (♂) の雑種から選抜された疫病抵抗性品種である (Toxopeus 1964) という育種経過から説明される。亜種 tuberosum と亜種 andigena の細胞質ゲノムが異なるということは、ctDNA にコードされている Fraction I protein の Large subunit が両者で異なるという事実 (Gatenby and Cocking 1978) や、Grun (1979) による細胞質雄性不稔性の分析からも既に指摘されているところである。亜種 tuberosum の細胞質ゲノムの由来に関しては、栽培バレイショの起原を解明するためにも重要な問題であり、育種的立場から見ても非常

に興味深い問題であるが、別報（保坂・上島 1985、Hosaka and Tsunewaki 投稿準備中）において論議することにし、ここではこの問題は取り上げないことにする。

(8) 南米産近縁種 —まとめ—

以上述べたように、S. piurae でやや高い分化が認められたが、その他の南米産近縁種の ct-DNA は、最も離れた種でも5つの突然変異を示すにすぎず、分類群を問わず相互に高い類似性が認められた。したがって、南米産近縁種の遺伝的分化の程度は、核ゲノムにおいては、前章で述べたように、基本的に共通な A ゲノムを持ち、それらの間には複合遺伝子置換或いは潜在的構造分化を生じているにすぎず（Howard and Swaminathan 1952、Hawkes 1958b、1978、入倉 1976、松林 1981）、葉緑体ゲノムにおいても、分化の程度は著しく低いことが明らかとなった。

(9) メキシコ産倍数種

Longipedicellata 群と Demissa 群からそれぞれ S. stoloniferum

と S. demissum の各 1 系統が供試された。前者の ct DNA は南米産近縁種の S. chacoense と、後者のそれは、S. boliviense 及び S. spagazzinii と全く同一で、このことはメキシコ産倍數種が南米産近縁種から派生したことを暗示している。

Longipedicellata 群四倍種は、南米産の A ゲノム二倍種との間で育成された三倍雜種で $12_{II} + 12_I$ の染色体対合を示し (Matsubayashi 1955 、 Marks 1965) 、また、S. polytrichon の半数体で平均 7.9 (Marks 1955) 、S. stoloniferum の半数体で平均 4.03 (入倉 1976) の二価染色体対合を示すことから、完全な異質四倍体とみなされており、Hawkes (1978) は A_4B を、松林 (1981) は AB のゲノム記号を与えている (Table 2) 。また、Demissa 群の六倍種である S. demissum の半数体における減數分裂中期の染色体対合の平均は $4.74 \sim 9.78_{II}$ の範囲 (Bains and Howard 1950 、 Dodds 1950 、 Howard and Swaminathan 1953 、 Marks 1955 、 入倉 1976) にあり、モードは $12_{II} + 12_I$ であることから、松林 (1981) は $A^dC_1C_2$ のゲノム記号を提案している。したがって、本研究結果と上記の核ゲ

ノム構成に関する知見から、Aゲノム提供親が細胞質ゲノムも提供したと考えられる。Hawkes (1958b, 1978) は、S. demissum の Aゲノム提供親として、形態学的及び細胞遺伝学的見地から、同じメキシコに分布する Tuberosa 群二倍種 S. verrucosum を考えている。しかし、S. verrucosum の ctDNA は、S. stoloniferum のそれと高い類似性を示し、両種にのみ共通に見られる Informative 突然変異が見られるので、むしろ、本研究結果からは、S. verrucosum は S. stoloniferum の Aゲノム及び細胞質ゲノム提供親と考えられ、したがって、入倉 (1976) が半数体の形態分析に基づいて示唆しているように、S. verrucosum は、S. stoloniferum と S. demissum の両方の成立に関与し、Aゲノムと細胞質ゲノムを提供したと考えるのが最も妥当であると考えられる。

2. 第2群 (メキシコ産二倍種)

第2群に属するメキシコ産二倍種として、S. bulbocastanum、S. cardiophyllum、S. pinnatisectum 及び S. polyadenium の4種が調査された。これらの ctDNA はい

ずれど、第1群に属する南米産近縁種及びメキシコ産倍種に比べ、約10突然変異で異なっていた。更に、メキシコ産二倍種の ctDNA 相互間においても、同じ Pinnatisecta 群に属する S. cardiophyllum と S. pinnatisectum の間を除き、7~14の突然変異で異なっていた。したがって、南米産近縁種間に比べ、メキシコ産二倍種相互間に見られる葉緑体ゲノムの分化の程度は明らかに高いと考えられる。前章において詳しく述べたように、核ゲノムの分化においても、南米産の分類群間では、染色体の構造的差異は存在していても潜在的であるのに比べ、メキシコ産分類群間では、微小な顕在的構造の差異が認められ、分化の程度は大きいことが知られている (Matsubayashi and Misoo 1977、 Ramanna and Hermsen 1979b、 松林 1981)。したがって、メキシコ産二倍種は、核及び細胞質ゲノムともに、種間の分化が進んでいるとみなすことができる。

S. cardiophyllum は現在 Pinnatisecta 群に属しているが、第1章で明らかにしたように、本種は他の Pin-

natisecta 群二倍種と異なり広葉頂小葉を持つく
PIN 3 型) などの特徴から、独立群 (Cardiophylla 群
) として扱われていた時があった (Hawkes 1956、
1958b、1963、Correll 1962)。葉形から見る限りこれ
は妥当な分類であったが、ctDNA における S. pin-
natisectum と S. cardiophyllum の差異は 2 突然変異に可
きず、前章で述べたパーオキシダーゼアイソ
ザイム の類似性を示す散布図 (Fig. 9) で見て
も他の Pinnatisecta 群二倍種と同じ分布域内に属す
ることから、本種を Pinnatisecta 群に含める Hawkes (
1978) の分類がより妥当であると考えられる。
この見解は細胞遺伝学的研究によっても支持
されている (Matsubayashi and Misoo 1977)。

3. 第 3 群 (S. etuberosum)

Etuberosa 群の非塊茎形成種 S. etuberosum の ctDNA は、
21 の種固有な Independent 突然変異が見られ、最も
近似した制限断片パターンを持つメキシコ産
二倍種の S. pinnatisectum でも、S. etuberosum の間には
29 の突然変異が数えられた。このことは、本
種の葉緑体ゲノムが塊茎形成種のいずれから

も顕著に異なり、分化の程度は著しく高いことを示している。

Hermesen and Taylor (1979) によって最初に育成された S. etuberosum と S. pinnatisectum の二倍雑種、すなわち非塊茎形成種と塊茎形成種の雑種の染色体対合を観察した Ramanna and Hermesen (1979a) は、細胞当たり平均 $0.03_{III} + 3.64_{II} + 16.64_I$ の対合が認められると報告している。更に、Ramanna and Hermesen (1981) は、同じ Etuberosa 群に属する S. fernandezianum と S. pinnatisectum の二倍雑種を育成し、これに細胞当たり平均 $5.6_{II} + 12.2_I$ の染色体対合を観察し、Etuberosa 群二倍種と S. pinnatisectum の間には明らかにゲノム記号を異にする程のゲノム分化が生じていると結論し、Etuberosa 群に 'E' ゲノムを命名した。このように、S. etuberosum は、核ゲノムと葉緑体ゲノムのいずれにおいても明らかな分化が認められる。

4. 第4群 (S. lycopersicoides と Lycopersicon 属植物)

S. lycopersicoides は Juglandifolia 群に属する非塊茎形成種で、Fig. 14 で示すように、明らかに他のバレ

イシヨ近縁種に比べ、Lycopersicon属に近いかかわれる。

Lycopersicon属植物は Rick (1979) によると、peruvianum グループと esculentum グループに分けられ、本研究供試の2種は、それぞれの代表種である。にもかかわれず2種間にはわずか2突然変異しか検出されなかった。したがって、S. lycopersicoides は、バレイシヨ近縁種よりむしろ Lycopersicon 属植物に近いとは言え、後者から見れば明らかに遠縁であると言えよう。Palmer and Zamir (1982) も、Lycopersicon 属7種と S. lycopersicoides の ctDNA を25種の制限酵素を用いて突然変異分析を行った結果、L. peruvianum と L. esculentum の間で12突然変異、これら2種と S. lycopersicoides の間で平均19突然変異を見出し、今回の結論と同様の結論に達している。

S. lycopersicoides が Lycopersicon 属により近縁であることは、黄色花を持つなどの形態的類似性 (Hawkes 1956) や、S. lycopersicoides が L. esculentum と交雑雑性を持つこと (Rick 1951) から裏づけられる。

これらのことから、S. lycopersicoides は Rick (1979) の考えるように、Lycopersicon 属植物の共通祖先種に由来したと考えるのが最も妥当であろう。

総 合 考 察

およそ、生物の種或いは属の類縁関係や系統進化を論ずる場合、その種や属の形態的或いは生態的特性を調べ、相違点を明らかにすることは現在も最も基本的な方法にかわりないが、交雑可能な近縁種属間については、これに加えて細胞遺伝学的な研究成果が不可欠な情報となる。

更に最近では、これらに加えて、生体成分特にタンパク質や核酸が種の特性を担う物質であるという認識が高まり、生物の系統分類における有かな形質の1つとして考えられるようになった。

本研究においても、葉形、パーオキシダーゼアイソザイム及び ctDNA の3つの異なった形質からバレイショ近縁種の類縁関係を明らかにしようとした。

葉形は、環境の変化に対して直接自然選択

の対象となるので、進化に及ぼす影響は極めて大きい。それが、それぞれ異なる遺伝子の相互作用の結果として表現されている。したがって、2種間での形の類似性は必ずしも遺伝子組成の類似性を投影していない場合もある。これに反して、アインザイムは、それぞれ、遺伝子の直接的産物であるので、2種間のパターンの類似性は遺伝的類似性をよく反映していると思われる。一方、ctDNAの変化はほとんど表現型レベルの変化をもたらさない。自然選択の対象とならず、その上、有性生殖による遺伝子組換えによるものは含まないので、進化の途上で蓄積してきた変異をそのまま保存していると考えられる。したがって、ctDNAの種間差異は細胞質ゲノムの遺伝的差異を正確に反映していると考えられる。そこで、以下の論議ではctDNAの突然変異分析から得られた情報を軸に、パーオキシダーゼアインザイム及び葉形分析の結果或いはこれまで報告された分類学的研究や細胞遺伝学的研究の成

果を総合して、バレイショ近縁種の進化の過程を考察したい。

1. バレイショ近縁種の系統分化

種の分化は一般に最初等質であった生物個体群がある形質について2つの互いに非連続的に異なる個体群に分けられることにより認識される。この変化は遺伝的で、ある場合は突然に、またある場合は漸進的に行われる。初め1つの形質について異なっていた2つの種も時間の経過とともに更に多くの形質で異なるようになるであろう。アイソザイムやc-DNAのように自然選択圧の低い形質について見ると、その変化は時間に比例してその数を増すと考えられるから、これらの形質について2つの種を比較して遺伝的に変異が多い種はそれだけ分化の程度が高い、換言すれば、両種が分れてから長い時間を経過しているとみなすことができる。このような考えに基づいて、バレイショ近縁種の系統分化について考察してみよう。

南米産近縁種として Hawkes は Commersoniana、Circaeifolia、Conicibaccata、Piurana、Acaulia、Cuneoalata、Megistacroloba、Ingaefolia、Olmosiana、及び Tuberosa の 10 分類群をもうけたが、このうち仮試した 8 分類群相互間の交雑は Circaeifolia 群二倍種を除いて極めて容易であり、自然界においても雑種の存在が数多く報告されている (Hawkes 1962、Hawkes and Hjerting 1969、Okada and Clausen 1982)。しかもこれらの雑種は規則正しい染色体対合を示すことが知られている (Howard and Swaminathan 1953、Swaminathan and Howard 1953、松林 1981)。このことは、Circaeifolia 群の 2 種を除き、南米産近縁種にはほとんど生殖隔離を表わす程の遺伝的分化はないことを示している。今回の葉形分析とパーオキシダーゼアイソザイム分析からも Circaeifolia 群、Acaulia 群及び Conicibaccata 群を群として識別できたにすぎず、ctDNA の類似性からは Piurana 群を除き上記 3 群も含めて他の 7 群はすべてほぼ同一パターンを示してこれらを識別することはできなかつた。

これに反し、メキシコ産の Morelliformia、Bulbocastana、Pinnatisecta 及び Polyadenia 群二倍種では、葉形、パーオキシダーゼ及び ctDNA とともに分類群間に明確な差異が認められ、南米産分類群相互間に比べると明らかに分化の程度は高いと言える。既に述べたように細胞遺伝学的研究もメキシコ産二倍種間には染色体の顕在的構造分化が存在することを確認しており、これらの分類群が遺伝的にかなり分化していることを明らかにしている。中でも Morelliformia 群は S. morelliforme 1種しか含まないが、Bulbocastana 群二倍種と同様単葉型で、より細葉傾向を示し (Fig. 5)、パーオキシダーゼアイソザイムパターンにも基本バンドが欠けているなど分化が著しい。Hawkes (1958a) は本種が典型的な星状花と単葉細葉を持つことから、最も原始型の 1 つと考えている。更に、Gell et al. (1956、1960) は普通バレイショのタンパク質を抗原とする免疫学的研究の結果から、やはり、S. morelliforme は他のメキシコ産二倍種と異なることを報告している。Marks (1968

）も本種が Bulbocastana 群の S. clarum との二倍雑種で二価染色体対合頻度が明らかに低下することを見出した。これらはいずれも、本種が他のメキシコ産分類群、Bulbocastana、Pinnatisecta 及び Polyadenia 群に比べ、分化の程度が更に高いことを示すもので、これらに先立って分化したことを示唆している。

Table 19 は南米産近縁種（8種の制限酵素のいずれによっても標準型パターンを示す S. leptophyes で代表した）とメキシコ産の3分類群二倍種及び S. etuberosum と S. lycopersicoides の ctDNA における差異を Independent 及び Informative 突然変異を合わせてまとめたものである。これによると、メキシコ産二倍種相互間の突然変異は、S. polyadenium と S. bulbocastanum の間で14でやや多いが、S. pinnatisectum と S. bulbocastanum 間は9、S. pinnatisectum と S. polyadenium 間は7であった。南米産近縁種とメキシコ産二倍種間の突然変異数もほぼ10前後であった。したがって、メキシコ産の3分類群と南米産近縁種の分化は、メキシコ産3分類群

Table 19 Total number of informative and independent mutations between each ctDNA of the representative species.

Species	<u>loh</u>	<u>pnt</u>	<u>blb</u>	<u>pld</u>	<u>etb</u>	<u>lyc</u>
(South American)						
<u>S. leptophyes</u>	-					
(Mexican diploid)						
<u>S. pinnatisectum</u>	7	-				
<u>S. bulbocastanum</u>	12	9	-			
<u>S. polyadenium</u>	12	7	14	-		
(Non-tuberous)						
<u>S. etuberosum</u>	32	29	34	30	-	
<u>S. lycopersicoides</u>	31	28	33	33	45	-

相互間の分化とほぼ同時期に始まったと推測される。

Etuberosa 群の S. etuberosum は Table 19 に示すように、メキシコ産二倍種及び南米産近縁種からそれぞれほぼ同程度、すなわち約 30 突然変異隔っていた。このことは本種がメキシコ産二倍種や南米産近縁種よりも明らかに早く分化を始めていたことを暗示している。ctDNA の Informative 突然変異に基づいてつくられた樹形図 (Fig. 14) から見ると、本種が南米産近縁種に比べ、メキシコ産二倍種とやや共通性が高いが、これは本種とメキシコ産二倍種 S. polyadenium のみに共通な Informative 突然変異が 2 つ見出されるからである。Etuberosa 及び Polyadenia 群二倍種は、葉形から見ても (Fig. 5) ほぼ同じかやや細葉の複葉を持つ点で似ている。このことは、Etuberosa 及び Polyadenia 群二倍種が何らかの遺伝的類似性を持つことを示唆しているが、地理的分布域を見ると、前者はチリに、後者はメキシコに分布している。両者の類縁関係に関する細胞遺

伝学的研究は現在皆無で、本研究結果を支持するような見解はこれまで提出されていない。

S. lycopersicoides は、Table 19 に示すように、S. etuberosum と同様に、メキシコ産二倍種及び南米産近縁種とはほぼ 30 突然変異異なるが、S. etuberosum とは 45 突然変異異なっており、同じ非塊茎形成種とは言え、明らかに違った方向に分化したものと考えられる。また、Fig. 14 に示すように、本種は S. etuberosum に比べ、より他のパレイショ近縁種と共通性が低いので、S. etuberosum よりやや早く分化を開始し、しかも第 3 章で述べたように、その分化の過程で Lycopersicon 属植物を分化したと考えるのが最も妥当であろう。

以上のことから、ctDNA の突然変異分析及びその他の知見を総合して、パレイショ近縁種の進化を模式的に描くと Fig. 15 に示すようになる。

2. パレイショ近縁種の起原

以上の考察に基づいて、パレイショ近縁種の起原に論及したい。

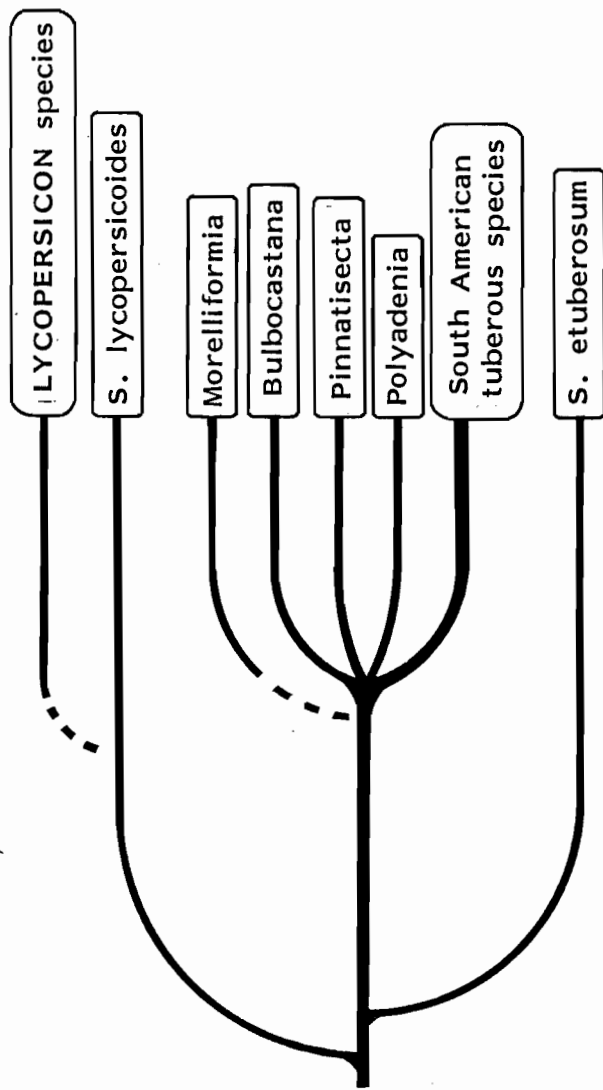


Fig. 15 Evolutionary pathway in tuberous Solanum species, suggested by the present author.

パレイシヨ近縁種の起原について、総合的立場から最初にその考えを提出したのは Hawkes (1958b、1966、1978) であった。彼は多年にわたる豊富な調査資料をもとに、パレイシヨ近縁種の花冠形は星状形 (stellate) を最も原始型とし、これから準星状形 (sub-stellate)、五角形 (pentagonal)、環状形 (rotate) へと進化したと考え、これを基本にして、典型的な星状花を持つ Morelliformia、Bulbocastana 及び Pinnatisecta 群が存在するメキシコをパレイシヨ近縁種の発祥地 (第一次中心地) とし、以下に述べる仮説を 1958 年に提示した。

中生代の白亜紀 (Cretaceous) 後期から新生代第三紀 (Tertiary) 初期までの間 (Fig. 16) に、メキシコに原始 A ゲノムを持つパレイシヨ近縁種が起原し、これが分布域を広げ、第三紀始新世 (Eocene) 中期までに、一部の種が南米に移住し、新しく形成されたアンデス山系に二次中心地をつくった。中央アメリカの大陸橋は始新世 (Eocene) 中頃から鮮新世 (Pliocene) ま

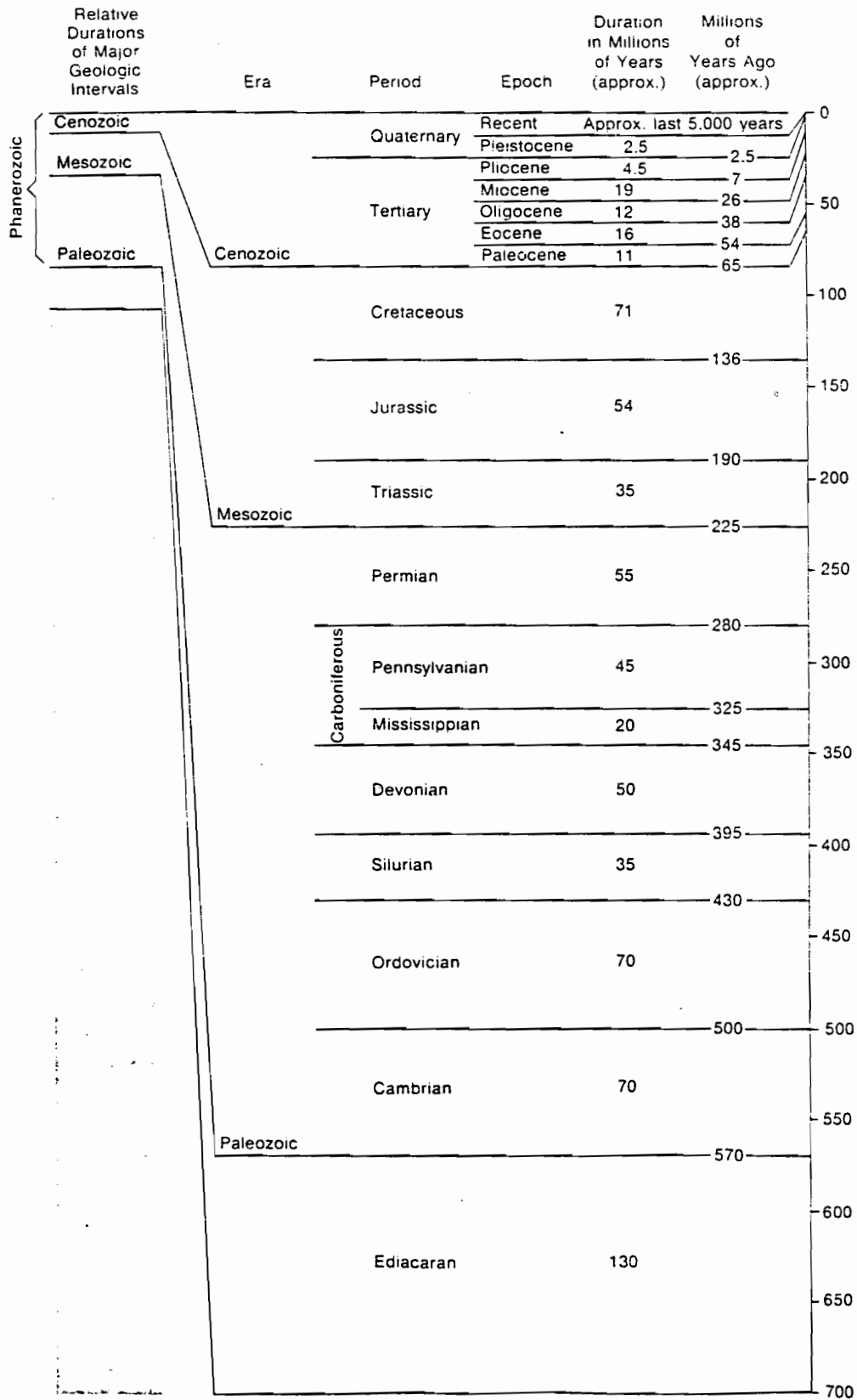


Fig. 16 Geographical time scale (After Eicher, 1968).

での間（4500 万年～700 万年前）消滅し、メキシコと南米の間に地理的障壁ができた。この間にメキシコと南米では互いに異なる方向へとゲノムの分化を生じ、その結果、前者では B、C、D ゲノムに、後者では A ゲノムに進化した。鮮新世（Pliocene）に大陸橋が復元した後、南米で A ゲノムとして進化した二倍種が 2 回にわたってメキシコに再移動した。最初に再移住した A_4 ゲノムを持つ二倍種（未定）がメキシコの B ゲノムを持つ二倍種（未定）と交雑し、その複二倍体として Longipedicellata 群四倍種（ A_4B ）を生じ、次いで第 2 の種として A_1 を持つ S. verrucosum が再移住し、メキシコに存在していた先の四倍種（ A_4B ）と交雑し、その複二倍体として Demissa 群六倍種（ $A_1A_4B_{(1-4)}$ ）が生じたと考えた。

以上詳述したように、Hawkes はメキシコをバレイショ起原の第一次中心地であるとしているが、その 1 つの論拠は原始型花冠形である星状花を持つ種の多くがメキシコ産であるこ

とをあげている。入倉 (1976) もバレイシヨ近縁種のキ数種がいずれも星状花傾向を示すことから、星状花を原始型とする Hawkes の見解を支持している。確かに Table 2 に示すようにメキシコ産の Morelliformia、Bulbocastana 及び Pinnatisecta 群二倍種は星状花を持つが、Polyadenia 群二倍種は五角形から準星状形を示し、南米産近縁種でも、Comersoniana、Circaeifolia 及び Olmosiana 群二倍種は星状花を持つ。したがって、仮に星状形を原始型と考へメキシコ産二倍種の多くに典型的星状花が見られるからと言って、そこを第一次中心とするには多少無理があるように思う。その上、準星状形を原始型とする考へ (Juzepuczuk and Bukasov 1929) や環状形を原始型とする意見 (Bukasov 1970) も出されていることを考えると尚更である。

一般によく知られているように、第一次中心地は原始型が存在し且つ最も多様な変異が存在する地域であると考へられている。Hawkes はメキシコに多様な変異が存在すると考へた

のであるが、既に説明した葉形の変異、或いは上に述べた花冠形の多様性から見て、むしろ変異の多様性は南米産近縁種に存在するよう^に思われる。このことから、第一次中心地はメキシコよりもむしろ南米と考える方が妥当であるように思われる。

Juzepczuk and Bukasov (1929) は準星状花が最も原始型であると見、準星状花を持つ種とともに、環状花や星状花を持つ種が存在し、且つ変異の多様性の著しいボリビアとアルゼンチン国境地帯を第一次中心地と^し考え、また Bukasov (1970) は環状花を原始型と^し考え、やはり南米に第一次中心地を提案しているが、筆者も同意見である。

また、すべての塊茎形成種に先立って分化した (Fig. 15、Hawkes 1947) と考えられる非塊茎形成種 Juglandifolia 群と Etuberosa 群二倍種、及び Lycopersicon 属野生種がいずれも南米に分布して (Hawkes 1958、1963、1978、田中 1975)、メキシコに分布しないことも上の見解を支持するものであり、更に

北米大陸は顕花植物の出現以前から新生代に至るまで南米大陸とは分断されていた（ディーツ・ホールデン 1973）という最近のプレートテクトニクスに基づくと大陸形成に関する新しい知見を考慮すると尚更であろう。

そこで筆者は、バレイショ近縁種の進化について次のように提案する。

バレイショ近縁種は南米に起原し、アンデス造山運動（新生代以後）による山脈の隆起に伴い、高度差に基づく強い選択圧によって、塊茎形成能を獲得し、高所に適応するとともに海岸部では非塊茎形成種 Etuberosa 群二倍種の分化をもたらした。同じ非塊茎形成種 Juglandifolia 群は既にこの時まで分化していたと考えられる。その後南米産近縁種は相互に遺伝子交換を行いながら全体として進化を続けるとともに、コロンビアからアルゼンチンのパンパ地帯に及ぶ広い地域で様々な選択圧が働き、その結果、選択圧の程度に応じて原始型から進化型まで、花冠では星状花から環状花まで、

葉では複葉型から単葉型まで、様々な進化段階を示す広い連続変異を示すに至ったと考えられる。この間、原始種は、気候の変動に応じて分布域の拡大や縮小を繰り返し、非常に拡大した時はメキシコまで広がったのであろう。その後の縮小によって、メキシコに広がったもののうち、その環境に適応したものだけが強い選抜を受け固有種としてメキシコに残存したと考えられる。メキシコ産二倍種はこのような過程により起原したと考えられ、少くとも分布域の拡大と縮小は2回以上生じ、まず、Morelliformia 群が分化し、その後他の分類群が分化したと考えられる。

現在、メキシコ産二倍種と南米産近縁種の間には強い交雑不適合性が存在し、Hawkes はこれを、ゲノムの分化が生じたためであると考えているが、本研究で明らかにしたように、両者間にはメキシコ産分類群相互間以上の遺伝的分化は見られず、またメキシコ産二倍種と南米産近縁種間で交配が成功した例がいく

つか報告されている (S. verrucosum X S. bulbocastanum (Hermsen and Ramanna 1976) ; S. acaule X S. pinnatisectum, S. cardiophyllum or S. bulbocastanum (Dionne 1961、1963、Hermsen 1966、Hermsen and Ramanna 1969) ; 4x S. bulbocastanum X 4x S. vernei or S. tuberosum (Lebedera 1966 in Hermsen and Ramanna 1969) ; 4x S. polyadenium X S. tuberosum (Stelzner 1949、Swaminathan 1951))。このことからわかるように、メキシコ産二倍種と南米産近縁種間の不和合性は絶対的なものでなく、むしろ両者間にゲノム記号を異にする程の分化はないものと考えられる。

Pandy (1960) は、南米産二倍種の自家不和合性は1遺伝子座により支配されているが、メキシコ産二倍種では2遺伝子座によることを明らかにした。現在メキシコ産二倍種と南米産近縁種間で交雑できないのは、恐らくこのような遺伝子的な差異(例えば、交雑不和合性遺伝子(松林 1981))に基づくものと思われる。

メキシコ産の Longipedicellata 群四倍種及び Demissa 群六倍種は、いずれもバレイショ近縁種の進化

の歴史から見れば、極めて新しい年代に起原
したと考えられ、第2及び第3ゲノムの由来
は依然として明らかではないが、第1ゲノム
(A)と細胞質ゲノムは、南米からメキシコへ
移住した S. verrucosum に由来することが明らかと
なった。

摘 要

本研究は、バレイシヨ近縁種の類縁関係を明らかにし、系統進化の過程とその要因を考察するために行った。

1. 葉形分析から見たバレイシヨ近縁種の変異

バレイシヨ近縁種の変異の実態を明らかにするため、15分類群 73種 187系統群及び *S. pennellii* の葉形 19形質を平均値及び主成分分析により比較した結果を得た。

(1) 南米産近縁種の平均的頂小葉形に比べ、メキシコ産倍數種のはやや巾広く、メキシコ産二倍種のはかなり狭く且つ小さかった。

(2) 主成分分析によると、第1及び第2主成分はそれぞれ頂小葉の相対的大きさと形を表わし (Fig. 4)、メキシコ産二倍種のは多くは第2主成分負方向 (細長い頂小葉を持つ) に分

布するとともに、分類群毎に明確に異なる分布域を占めた。一方、南米産近縁種とメキシコ産倍数種の分類群の示す分布域は互いに重なり合って明確な境界は認められなかった。

(3) 第3及び第4主成分に基づく散布図 (Fig. 5) は、主に全葉の大きさや形の差異を示し、南米産近縁種とメキシコ産二倍種はいずれも全葉の形に差異が見られたが、大きさの差異は前者のみに見られ、後者及びメキシコ産倍数種の分布域は南米産近縁種のそれに完全に包含された。

(4) 以上の結果をまとめると、メキシコ産二倍種は細葉頂小葉を持ち、入倉 (1976) の見解に従うとより原始的であると言え、これらの分類群間には不連続変異が見られた。南米産近縁種は一般に広葉で、連続変異を示し、メキシコ産二倍種に比べより広い変異域を持つことがわかった。したがって、メキシコ産二倍種は、南米産近縁種と分岐後既に固定しているのに比べ、南米産近縁種は未だ進化の途上

にあると考えられる。また、メキシコ産倍數種の変異域は南米産近縁種のそれの一部を占めるにすぎず、したがってこれより派生したと考えられる。

2. パーオキシダーゼアイソザイム分析から見た南米及びメキシコ産二倍種間の類縁関係

南米産6分類群二倍種20種とメキシコ産4分類群二倍種13種の計271系統を用い、それら相互間における類縁関係を明らかにするため、塊茎中のパーオキシダーゼアイソザイムを電気泳動パターンより分析した。

(1) 供試二倍種には8、12及び2本の weak、medium 及び strong band が識別され、このうち平均75.7%以上の出現頻度を持つ6本のバンド (Band 3、11、15、16、17及び18) を基本バンドとみなした。メキシコ産の Morelliformia 群二倍種は基本バンドのうち Band 16、17及び18を全く持たず、Band 11も低頻度でしか現われないことから他と明確に区別できた。

(2) バンドの出現頻度に基づく主成分分析によつて得られた散布図 (Fig. 9) によると、南米産及びメキシコ産二倍種は第 1 及び第 3 主成分によつて類別されたが、両者の分布域は互いに接っていた。これらの分布域の相違は、南米産二倍種が Band 9、10 及び 19 を高頻度で持つことによる。

(3) 南米産分類群は、Circaeifolia 群及び特徴的な Band 8 を持つ Conicibaccata 群を除き、いずれも互いに重なり合った分布域を占め、散布図の上からは分類群を識別することはできなかつた。

(4) メキシコ産分類群は、Bulbocastana 及び Polyadenia 群で大きな群内種間差異が見られたが、それぞれの分類群の占める分布域は異なり (Fig. 9

(a))、上記 2 群と Morelliformia 群はいずれも Band 12 を高頻度で出現することによつて、第 2 主成分スコアに Pinnatisecta 群との差異をもたらした。

(5) 以上の結果から、供試二倍種相互間における類縁関係は次のように考えられる。i) 南米産二倍種は、Conicibaccata 群と Circaeifolia 群二倍

種に若干の遺伝的分化が認められるものの、いずれも相互に高い類縁関係が認められ、したがってこれらは A ゲノム群に属するとみなされる。ii) メキシコ産二倍種には、南米産二倍種相互間におけるよりもやや進んだ段階の遺伝的分化が認められるが、両者はいずれもかなり類似した遺伝的構成を有する。

3. 葉緑体 DNA の制限酵素分析から見たバレイショ近縁種及び Lycopersicon 属植物の類縁関係

細胞質ゲノムの類縁関係を明らかにするため、バレイショ近縁種 28 種 35 系統とその雑種 2 系統、及び Lycopersicon 属の 2 種 2 系統から葉緑体 DNA (ctDNA) を抽出し、8 種の制限酵素それぞれによって切断された DNA 断片の泳動パターンを比較した。

(1) バレイショ近縁種の ctDNA は、約 155 kbp の大きさを持ち、母系遺伝をすることが確認された。

(2) 突然変異分析 (Table 10 ~ 17) の結果、2 種

以上の ctDNA に共通に見られる突然変異は合計 31、種固有な突然変異数は 0 ~ 21 であった。これら突然変異数に基づいた ctDNA の種間差異を樹形図によって表わした (Fig. 14)。これによると供試種は、ctDNA の類似性に基づき以下の 4 群に分けることができ、これら 4 群は交雑親和性に基づく類縁関係 (Hawkes 1978) とよく一致していた。

(3) 第 1 群には南米産近縁種とメキシコ産倍数種が属し、これらは Piurana 群を除き相互によく似た ctDNA を持ち、細胞質ゲノムの分化の程度は著しく低いことがわかった。このことから、メキシコ産倍数種の Longipedicellata 群四倍種と Demissa 群六倍種の葉緑体ゲノムは新しい年代に南米産近縁種から由来したことが明らかで、同じメキシコに分布する二倍種 S. verrucosum が A ゲノムと細胞質ゲノムの両方の担い手となったことを示唆している。

(4) 第 2 群にはメキシコ産二倍種が属し、これらの ctDNA は、南米産近縁種のそれとほぼ 10

突然変異で異なるとともに、分類群相互間にも明確な葉緑体ゲノムの分化が認められ、互いに約10突然変異で異なっていた。

(5) 第3群には非塊茎形成種 S. etuberosum のみが属し、この ctDNA は少なくとも21突然変異で他と異なるので、本種は核ゲノムの明らかな分化 (Ramanna and Hermsen 1981) とともに細胞質ゲノムにおいても著しく分化することが明らかとなった。

(6) 第4群に属する非塊茎形成種 S. lycopersicoides は、他のパレイショ近縁種との間に少なくとも21突然変異の差異が ctDNA 上に認められ、むしろ Lycopersicon 属に近縁であることが明らかとなったが、後者を代表する2種間の ctDNA 変異は小さく、したがって、S. lycopersicoides は Lycopersicon 属植物の共通祖先に由来したと推定される。

以上の知見を総合すると、パレイショ近縁種の系統進化は次のように結論づけられる。

まず非塊茎形成種 S. lycopersicoides と S. etuberosum が

順に分化し、前者から更に Lycopersicon 属植物が分化した。メキシコ産の Bulbocastana、Pinnatisecta 及び Polyadenia 3 分類群の分化とほぼ同時期に南米産近縁種が分化を始め、Morelliformia 群はこれら 4 群に比べやや早くに分化を始めたと推論できる。これらバレイショ近縁種の発祥地は、変異の多様性が大きいこと、非塊茎形成種がそこに存在する事実及び地質学的証拠に基づき南米であったと考えられ、アンデス造山運動に伴い分化を生じ、その過程で一部の二倍種がメキシコに移住し、強い選択圧下で固有種として残存したと推測される。メキシコ産倍教種は、非常に新しい年代に南米産近縁種がメキシコに移住することによって起原したと考えられる。

謝 辞

神戸大学農学部前教授松林元一博士には本研究の端緒を与えられ、研究遂行上終始一貫して懇切丁寧なる御指導を賜った。また、神戸大学農学部教授小野一博士には、本論文草稿の懇切なる御指導と御校閲を賜った。本研究の第3章制限酵素分析はすべて京都大学農学部実験遺伝学研究室において行われたもので、同学部教授常脇恒一郎博士及び同研究室の萩原保成博士には懇切なる御指導と多大の便宜を賜った。ここにこれらの方々に対し衷心より感謝の意を表す。また、本研究遂行に当たっては、農林水産省北海道農業試験場島松馬鈴薯試験地の入倉幸雄博士、並びにウィスコンシン大学バレイショ導入試験場の Robert E. Hanneman, Jr. 博士及び Roman Ross 博士には供試材料を賜った。更に、神戸大学農学部助教授上島脩志博士及び同学部助手三十尾修司博

士には御指導並びに有益な御助言を賜り、神戸大学農学部作物育種学研究室並びに京都大学農学部実験遺伝学研究室の各位からは種々の便宜と多大の御協力を頂いた。また、妻裕子には献心的協力を得た。ここに銘記してこれらの方々に対して深く感謝の意を表す。

引用文献

- Bains, G.S. and H.W. Howard (1950) Haploid plants of Solanum demissum.
Nature 4227, 795.
- Berthou, F., C. Mathieu and F. Vedel (1983) Chloroplast and mitochondrial DNA variation as indicator of phylogenetic relationships in the genus Coffea L. Theor. Appl. Genet. 65, 77-84.
- Bowman, C.M., G. Bonnard and T.A. Dyer (1983) Chloroplast DNA variation between species of Triticum and Aegilops. Location of the variation on the chloroplast genome and its relevance to the inheritance and classification of the cytoplasm. Theor. Appl. Genet. 65, 247-262.
- Bukasov, S.M. (1937) (Potato breeding). In Vavilov: Theoretical basis of Plant Breeding 3, 1-76.
- Bukasov, S.M. (1939) The origin of potato species. Physis, B. Aires 18, 41-46.
- Bukasov, S.M. (1970) Cytogenetic problems of evolution of the potato species of the section Tuberarium (Dun.) Buk. genus Solanum. Genetika, Moskva 6(4), 84-95. (in Pl. Breed. Abstr. 41, No1287).
- Correll, D.S. (1962) The Potato and Its Wild Relatives. pp606. Texas Res. Found. Renner, Texas.
- Desborough, S. and S.J. Peloquin (1966) Disc electrophoresis of tuber proteins from Solanum species and interspecific hybrids. Phytochemistry 5:727-733.

Desborough, S. and S.J. Peloquin (1967) Esterase isozymes from Solanum tubers. *Phytochemistry* 6:989-994.

Desborough, S. and S.J. Peloquin (1968) Potato variety identification by use of electrophoretic patterns of tuber proteins and enzymes. *American Potato Journal* 45:220-229.

Desborough, S. and S.J. Peloquin (1969) Acid gel disc electrophoresis of tuber proteins from Solanum species. *Phytochemistry* 8:425-429.

ディーツ, R.S.・J.C. ホールデン (1973)
パンゲアの分裂, 別冊サイエンス 特集大
陸移動 地球の再発見 p.107-120. 日本経済
新聞社, 東京.

Dionne, L.A. (1961) Mechanisms of interspecific incompatibility in tuber-bearing Solanum species. *American Potato Journal* 38, 73-77.

Dionne, L.A. (1963) Studies on the use of Solanum acaule as a bridge between Solanum tuberosum and species in the series Bulbocastana, Cardiophylla and Pinnatisecta. *Euphytica* 12, 263-269.

Dodds, K.S. (1950) Polyhaploids of Solanum demissum. *Nature* 4227, 795.

榎本紳一郎・萩原保成・常脇恒一郎 (1984)
葉緑体 DNA の制限酵素断片泳動像からみた
イネ科作物の系統関係. 育種学雑誌 34別冊
2, 260-261.

Erickson, L.R., N.A. Straus and W.D. Beversdorf (1983) Restriction patterns reveal origins of chloroplast genomes in Brassica amphiploids. *Theor. Appl. Genet.* 65, 201-206.

- Gatenby, A.A. and E.C. Cocking (1978) Fraction I protein and the origin of the European potato. *Plant Sci. Lett.* 12, 177-181.
- Gell, P.G.H., S.T.C. Wright and J.G. Hawkes (1956) Immunological methods in plant taxonomy. *Nature, Lond.* 177, 573.
- Gell, P.G.H., J.G. Hawkes and S.T.C. Wright (1960) The application of immunological methods to the taxonomy of species within the genus Solanum. *Proc. Royal Soc., B.* 151, 364-383.
- Grun, P. (1979) Evolution of the cultivated potato: a cytoplasmic analysis. In *The Biology and Taxonomy of the Solanaceae* (J.G. Hawkes, R.N. Lester and A.D. Skelding, ed.) 655-665. Academic Press, London.
- Hawkes, J.G. (1944) Potato collecting expeditions in Mexico and South America. II. Systematic classification of the collections. *Bull. Imp. Bur. Plant Breed. and Genet.* pp142. Cambridge.
- Hawkes, J.G. (1947) Some observations on South American potatoes. *Ann. Appl. Biol.* 34, 622-631.
- Hawkes, J.G. (1956) A revision of the tuber-bearing Solanums. *Ann. Rep. Scottish Pl. Breed. Sta.* 37-109.
- Hawkes, J.G. (1958a) Significance of wild species and primitive forms for potato breeding. *Euphytica* 7, 257-270.
- Hawkes, J.G. (1958b) Kartoffel I. Taxonomy, Cytology and Crossability. In *Handbuch der Pflanzenzüchtung, III* (H. Kappert and W. Rudorf ed.) 1-43. Paul Parey, Berlin.
- Hawkes, J.G. (1962) Introgression in certain wild potato species. *Euphytica* 11, 26-35.
- Hawkes, J.G. (1963) A revision of the tuber-bearing Solanums (Second edition). *Scottish Pl. Breed. Sta. Rec.* 76-181.

Hawkes, J.G. (1966) Modern taxonomic work on the Solanum species of Mexico and adjacent countries. American Potato Journal 43, 81-103.

Hawkes, J.G. (1978) Biosystematics of the potato. In The Potato Crop (P.M. Harris ed.) 15-69. Chapman & Hall, London.

Hawkes, J.G. (1979) Recent concepts in the evolution of tuber-bearing Solanums. Report of the Planning Conference on the Exploration, Taxonomy and Maintenance of Potato Germ Plasm III held at CIP.

Hawkes, J.G. and J.P. Hjerting (1969) The Potatoes of Argentina, Brazil, Paraguay and Uruguay— A Biosystematic Study. pp525. Oxford University Press, London.

Hermsen, J.G.Th. (1966) Crossability, fertility and cytogenetic studies in Solanum acaule x Solanum bulbocastanum. Euphytica 15, 149-155.

Hermsen, J.G.Th. and M.S. Ramanna (1976) Barriers to hybridization of Solanum bulbocastanum Dun. and S. verrucosum Schlecht. and structural hybridity in their F₁ plants. Euphytica 25, 1-10.

Hermsen, J.G.Th. and M.S. Ramanna (1969) Meiosis in different F₁-hybrids of Solanum Acaule Bitt. X S. bulbocastanum Dun. and its bearing on genome relationship, fertility and breeding behaviour. Euphytica 18, 27-35.

Hermsen, J.G.Th. and L.M. Taylor (1979) Successful hybridization of non-tuberous Solanum etuberosum Lind. and tuber-bearing S. pinnatisectum Dun. Euphytica 28, 1-7.

保坂和良・上島脩志 (1985) 普通バレイシ
の細胞質ゲノムについて. 近畿作育会報
30. 印刷中.

Howard, H.W. and M.S. Swaminathan (1952) Species differentiation in the section Tuberarium of Solanum with particular reference to the use of interspecific hybridisation in breeding. *Euphytica* 1, 20-28.

入倉幸雄 (1976) Solanum属塊茎形成種の半数体に関する細胞遺伝学的研究. II. 半数体及び半数体を利用した種間雑種の細胞遺伝学的観察. 北海道農業試験場研究報告 115, 1-80.

Johnson, B.L. and O. Hall (1965) Analysis of phylogenetic affinities in the Triticinae by protein electrophoresis. *Amer. Jour. Bot.* 52, 506-513.

Juzepczuk, S.W. and Bukasov, S.M. (1929) (A contribution to the question of the origin of the potato.) *Proc. U.S.S.R. Congr. Genet. Plant and Animal Breed.* 3, 593-611.

Kawakami, K. and M. Matsubayashi (1957) Studies on the species differentiation in the section Tuberarium of Solanum. V. Genomic affinity between Solanum verrucosum and S. demissum. *Sci. Rep. Hyogo Uni. Agric.* 3(1), 17-21.

Kung, S.D., Y.S. Zhu and G.F. Shen (1982) Nicotiana chloroplast genome. III. Chloroplast DNA evolution. *Theor. Appl. Genet.* 61, 73-79.

López Jaramillo, L.E. (1979) A biosystematical study of the series Conicibaccata of the genus Solanum. Ph.D. thesis, University of Birmingham.

Marks, G.E. (1955) Cytogenetic studies in tuberous Solanum species. I. Genomic differentiation in the group Demissa. *Journal of Genetics* 53, 262-269.

- Marks, G.E. (1965) Cytogenetic studies in tuberous Solanum species.
 III. Species relationships in some South and Central American species. The New Phytologist 64, 293-306.
- Marks, G.E. (1968) Structural hybridity in a tuberous Solanum hybrid.
Can. J. Genet. Cytol. 10, 18-23.
- Matsubayashi, M. (1955) Studies on the species differentiation in the section Tuberarium of Solanum. III. Behavior of meiotic chromosomes in F₁ hybrid between S. longipedicellatum and S. Schickii, in relation to its parent species. Sc. Rep. Hyogo Univ. Agric. 2(1), 25-31.
- Matsubayashi, M. (1961) Cytogenetic studies in Solanum section Tuberarium, with special reference to the interspecific relationships. Doctoral Thesis, Kyoto University, pp121.
- 松林元一 (1981) バレイショ類における種の分化と栽培種の起原, 育種学最近の進歩
 22, 86-106.
- Matsubayashi, M. (1982) Species differentiation in Solanum, sect. Petota. XI. Genomic relationships between S. acaule and certain diploid Commersoniana species. Sci. Rept. Fac. Agr. Kobe Univ. 15, 23-33.
- Matsubayashi, M. (1983) Species differentiation in Solanum, sect. Petota. XII. Intra- and inter-series genomic relationships in diploid Commersoniana and Tuberosa species. Sci. Rept. Fac. Agr. Kobe Univ. 15, 203-216.
- Matsubayashi, M. and S. Misoo (1977) Species differentiation in Solanum, sect. Tuberarium. IX. Genomic relationships between three Mexican diploid species. Japan. J. Breed. 27, 241-250.

Matsubayashi, M. and S. Misoo (1979) Species differentiation in Solanum, sect. Tuberarium. X. Genomic relationships of several South American diploid species to S. verrucosum. Japan. J. Breed. 29:121-132.

村井耕二・萩原保成・常脇恒一郎 (1984)
エンバク属における葉緑体 DNA の変異と系統進化. 育種学雑誌 34、別冊 2, 256-257.

長沢秀起・松林元一 (1984a) バレイショ近縁種の細胞遺伝学的研究. 第1報 Comersoniana, Megistacroloba 及び Tuberosa 群 2 倍種に対する Cuneoalata 群 2 倍種のゲノム類縁関係.
近畿作育会報 29, 83-88.

長沢秀起・松林元一 (1984b) バレイショ近縁種の細胞遺伝学的研究. 2. Conicibaccata 及び Piurana 群 2 倍種に対する Cuneoalata 群 2 倍種のゲノム類縁関係. 育種学雑誌 34、別冊 1, 264-265.

Nakagahra, M. (1978) The differentiation, classification and center of genetic diversity of cultivated rice (Oryza sativa L.) by isozyme analysis. Trop. Agr. Res. Ser. 11, 77-82.

西川浩三 (1974) 系統分化とアイソザイム.
育種学最近の進歩 14, 71-76.

Ogihara, Y. and K. Tsunewaki (1982) Molecular basis of the genetic diversity of the cytoplasm in Triticum and Aegilops. I. Diversity of the chloroplast genome and its lineage revealed by the restriction pattern of ct-DNAs. Jpn. J. Genet. 57, 371-396.

- Okada, K.A. and A.M. Clausen (1982) Natural hybridization between Solanum acaule Bitt. and S. megistacrolobum Bitt. in the province of Jujuy, Argentina. *Euphytica* 31, 817-835.
- Palmer, J.D. and D. Zamir (1982) Chloroplast DNA evolution and phylogenetic relationships in Lycopersicon. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79, 5006-5010.
- Palmer, J.D., C.R. Shields, D.B. Cohen, and T.J. Orton (1983) Chloroplast DNA evolution and the origin of amphidiploid Brassica species. *Theor. Appl. Genet.* 65, 181-189.
- Pandey, K.K. (1960) Self-incompatibility system in two Mexican species of Solanum. *Nature* 4711, 483-484.
- Ramanna, M.S. and J.G.Th. Hermsen (1979a) Unique meiotic behaviour in F₁ plants from a cross between a non-tuberous and a tuberous Solanum species in section Petota. *Euphytica* 28, 9-15.
- Ramanna, M.S. and J.G.Th. Hermsen (1979b) Genome relationships in tuber-bearing Solanums. In *The Biology and Taxonomy of the Solanaceae* (J.G. Hawkes, R.N. Lester and A.D. Skelding, ed.) 647-654. Academic Press, London.
- Ramanna, M.S. and J.G.Th. Hermsen (1981) Structural hybridity in the series Etuberosa of the genus Solanum and its bearing on crossability. *Euphytica* 30, 15-31.
- Rick, C.M. (1951) Hybrids between Lycopersicon esculentum Mill. and Solanum lycopersicoides Dun. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 37, 741-744.
- Rick, C.M. (1979) Biosystematic studies in Lycopersicon and closely related species of Solanum. In *The Biology and Taxonomy of the Solanaceae* (J.G. Hawkes, R.N. Lester and A.D. Skelding, ed.) 647-654. Academic Press, London.

- Rickeman, V.S. and S.L. Desborough (1978) Elucidation of the evolution and taxonomy of cultivated potatoes with electrophoresis. I. Groups Tuberosum, Andigena, Phureja and Stenotomum. Theor. Appl. Genet. 52:217-220.
- Ross, H. (1966) The use of wild Solanum species in German potato breeding of the past and today. American Potato Journal 43,63-80.
- Ross, R.W. and P.R. Rowe (1969) Inventory of tuber-bearing Solanum species.
- Schiller, B., R.G. Herrmann and G. Melchers (1982) Restriction endonuclease analysis of plastid DNA from tomato, potato and some of their somatic hybrids. Mol. Gen. Genet. 186, 453-459.
- Second, G. (1982) Origin of the genic diversity of cultivated rice (Oryza spp.): study of the polymorphism scored at 40 isozyme loci. Jpn. J. Genet. 57, 25-57.
- Seibles, T.S. (1979) Studies on potato proteins. American Potato Journal 56:415-425.
- Sheen, S.J. (1972) Isozymic evidence bearing on the origin of Nicotiana tabacum L. Evolution 26, 143-154.
- Simmonds, N.W. (1963) Abbreviations of potato names. Europ. Potato J. 6, 186-190.
- Stegemann, H. (1979) Characterization of proteins from potatoes, and the "Index of European Varieties". In The Biology and Taxonomy of the Solanaceae (ed. J.G. Hawkes, R.N. Lester and A.D. Skelding). Academic Press, London. p.279-284.
- Stegemann, H. and V. Loeschcke (1976) Index of European potato varieties, based on electrophoretic spectra. Mitteilungen der Biologischen Bundesanstalt für Land- u. Forstwirtschaft 168: 1-215.

Stelzner, G. (1949) Über die ezzeugung von bastarden von S. polyadenium mit kulturkartoffelsorten und ihre resistenzmerkmale.
Der Züchter 19, 331-333.

Swaminathan, M.S. (1951) Notes on induced polyploids in the tuber-bearing Solanum species and their crossability with Solanum tuberosum. The American Potato Journal 28, 472-489.

Swaminathan, M.S. (1953) Studies on the inter-relationships between taxonomic series in the section Tuberarium, genus Solanum. I. Commersoniana and Tuberosa. American Potato Journal 30, 271-281.

Swaminathan, M.S. and H.W. Howard (1953) The cytology and genetics of the potato (Solanum tuberosum) and related species. Bibliographia Genetica 16, 1-192.

田中正武 (1975) 栽培植物の起原. pp.241.
日本放送出版協会. 東京.

Tanksley, S.D. and T.J. Orton (eds.) (1983) Isozymes in Plant Genetics and Breeding. pp.516+472. Elsevier, Amsterdam.

寺地徹 (1985) オルカネラ DNA — その変異と進化 —. 遺伝 39, 45-52.

寺地徹・萩原保成・常脇恒一郎 (1984) . 栽培コムギとその祖先種のミトコンドリア DNA の制限酵素による比較. 育種学雑誌34、別冊 1, 282-283.

Toxopeus, H.J. (1964) Treasure-digging for blight resistance in potatoes. Euphytica 13, 206-222.

Tsunewaki, K. and Y. Ogihara (1983) The molecular basis of genetic diversity among cytoplasms of Triticum and Aegilops species. II. On the origin of polyploid wheat cytoplasms as suggested by chloroplast DNA restriction fragment patterns. *Genetics* 104, 155-171.

Ugent, D. (1967) Morphological variation in Solanum x edinense, a hybrid of the common potato. *Evolution* 21, 696-712.

Vedel, F., P. Lebacq and F. Quetier (1980) Cytoplasmic DNA variation and relationships in cereal genomes. *Theor. Appl. Genet.* 58, 219-224.

山本多聞・桃谷好英 (1971) ペルオキシダーゼ・アイソザイムのゲル・エレクトロフォレーシングによる分離と検出. *植物の化学調節* 6, 187-189.

Zwartz, J.A. (1966) Potato varieties and their protein electropherogram characteristics. *Eur. Potato J.* 9:111-128.