

短報

SSR マーカーによるモモの系統解析

辻本誠幸・西野精二

Phylogenetic Analysis of Peach with SSR Markers

Tomoyuki TSUJIMOTO and Seiji NISHINO

Key Words: peach, Prunus, phylogeny, SSR

モモ (*Prunus persica* (L.) Batsch) は中国原産の落葉果樹である。日本では弥生時代の遺跡から種子が発見されており、非常に古い時代から栽培が行われてきたと考えられる⁴⁾。現在、日本では約 9,950ha にわたってモモが栽培されているが⁹⁾、その多くが明治時代に中国から日本に導入された‘上海水蜜桃’に由来する品種であり¹⁴⁾、変種であるネクタリンや蟠桃を除いてそれ以外の品種はほとんど栽培されていない。そのため、現在の主要栽培品種とは異なる系統のモモの育成や栽培は、新たな付加価値を持つ商品を生み出す可能性が期待される。

近年、遺伝情報を利用した解析技術が急速に進歩している。モモにおいても DNA マーカーが多数作出されており、品種判別¹⁰⁾や親品種の同定¹⁴⁾等に利用されている。DNA マーカーには様々な種類があるが、DNA 中の反復配列を検出する SSR (Simple Sequence Repeat) マーカーが、再現性の面や情報量の観点から広く活用されている^{10, 11)}。そこで本研究では、県内で栽培されている、現在の主要栽培品種とは来歴の異なる可能性のあるモモについて、SSR マーカーを利用して系統解析を行い、その来歴の検証を試みた。

材料および方法

植物材料

奈良県磯城郡田原本町の個人宅で栽培されているモモ (以下‘黒田桃’) を解析対象とした。この‘黒田桃’は、園主からの聞き取りによると、大阪府東大阪市において明治以前に栽培されていた‘稲田桃’⁷⁾の一系統あるいは実生とのことであった。実際に果実は‘稲田桃’と同様にやや小型であり、先端が尖った形状である (第 1 図)。この‘黒田桃’に加え、モモ 8 種 (‘白鳳’, ‘あかつき’, ‘清水白桃’, ‘上海水蜜桃’, 野生桃 (長野県原産) およびハナモモ 3 種

(A~C, いずれも中国原産)), モモの変種であるネクタリン‘秀峰’, およびモモの近縁種であるアーモンドとウメ‘南高’を実験に供試した。‘黒田桃’, ‘白鳳’, ‘あかつき’, ‘清水白桃’, ネクタリン‘秀峰’, アーモンドおよびウメ‘南高’については、2012 年の 7~8 月に成葉から DNeasy Plant Mini kit (Qiagen) を用いて DNA を抽出した。それ以外の品種については、京都大学農学研究科農学専攻果樹園芸学研究室で保管されている抽出済みの DNA を供試した。

SSR マーカーを用いた系統解析

大橋ら¹¹⁾と Yamamoto ら¹³⁾が報告した SSR マーカーのうち、安定して PCR 結果が得られた 6 種類のプライマーを実験に供試した (第 1 表)。PCR には ExTaq (タカラバイオ) と付属のバッファーおよび dNTP を用い、20~50ng のテンプレート DNA を添加して、反応溶液量を 12.5 μ l とした。反応時間は 94°C 1 分、54°C 1 分、72°C 1 分とし、35 サイクルの反応を行った。PCR 産物は 3~4% のアガロースゲルで 125V, 70~90 分間電気泳動し、SYBR Gold Nucleic Acid Gel Stain (Life Technologies) を用いて染色後、UV 照射下でシグナルを検出した。



第 1 図 ‘黒田桃’の果実
Fig.1. Fruits of ‘Kuroda-momo’
※片岡慎治氏提供

第1表 実験に供試した SSR マーカー

Table 1. SSR markers used in this research

SSR マーカー名	配列
M6a ¹¹⁾	F: 5' -AGAAGGGCAAGCCCAAGTGC-3'
	R: 5' -TGCAAAGCCAGAGCCACAA-3'
M12a ¹¹⁾	F: 5' -AGGTGCCTCATCTTCTTCTTG-3'
	R: 5' -GTGTGGTGAGGGGTGAGAGC-3'
MA15a ¹³⁾	F: 5' -TGAGTTCGATGGAGCCTCT-3'
	R: 5' -GGTTACTCCCCCATTGTCA-3'
MA31a ¹³⁾	F: 5' -AAGTGTGTTTCTGCGTTTGT-3'
	R: 5' -AACGCAAGGAAGAATAAGGA-3'
MA42a ¹³⁾	F: 5' -GCAGAGCAAGCAAGCAAGCA-3'
	R: 5' -CTCTCACTTCTCAGACCCTC-3'
MA51a ¹³⁾	F: 5' -ACATCATAAACATCGCAGTA-3'
	R: 5' -TTTGAGCTAAATGGGTATC-3'

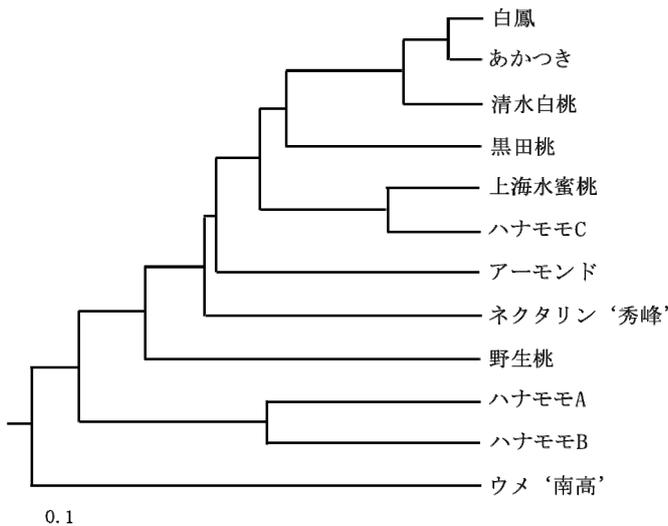
林³⁾の方法に基づいて、シグナルパターンの類似度を元に距離行列を算出し、UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean)法とNJ (Neighbor Joining) 法により系統樹を作成した。なお系統樹の作成には Phylodendron version 0.8d²⁾を用いた。

結果および考察

6種類のSSRマーカーを用いて12系統を解析したところ、合計24種類のalleleが観察された。この結果をもとに、UPGMA法とNJ法により系統樹を作成した(第2図、第3図)。

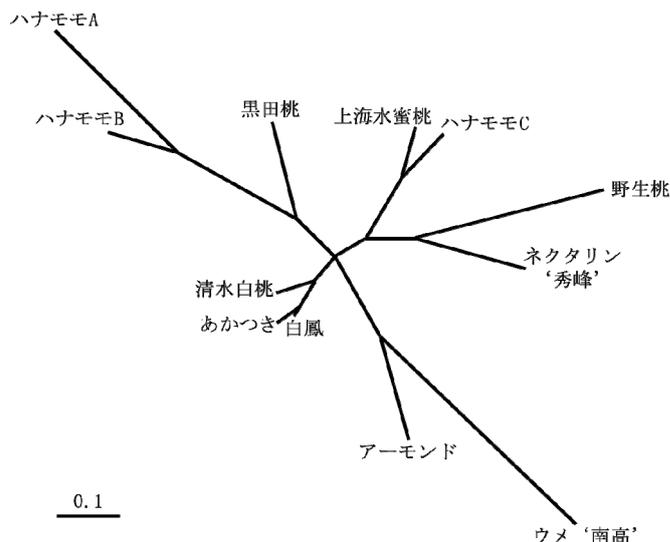
‘白鳳’、‘あかつき’および‘清水白桃’は日本における現在の主要栽培品種である。‘白鳳’は‘白桃’×‘橘早生’により、‘あかつき’は‘白桃’×‘白鳳’により、それぞれ作出された品種であり、‘清水白桃’は‘白桃’と‘岡山三号’の混植園において発見された品種である¹⁰⁾。そのため、これら3品種は非常に近縁な関係にあると考えられ、実際に今回の解析でも小規模なクラスターを形成した。

また、これら現在の日本の栽培品種は、明治時代に導入された‘上海水蜜桃’を起源とすることが報告されている¹⁴⁾。今回の系統解析においても、‘上海水蜜桃’は同じモモの中でもハナモモ(A, B)、野生



第2図 UPGMA法によるモモとその近縁種の系統樹

Fig.2. Phylogenetic tree of peaches and their relatives with UPGMA method



第3図 NJ法によるモモとその近縁種の系統樹

Fig.3. Phylogenetic tree of peaches and their relatives with NJ method

桃および変種であるネクタリン‘秀峰’よりも、現在の栽培品種群に近縁であることが示された。なおハナモモCは‘上海水蜜桃’の近くに位置づけられたが、これは今回供試したハナモモが中国由来の品種であり、‘上海水蜜桃’との交配により生み出された可能性、あるいは‘上海水蜜桃’と共通祖先を持つ可能性が考えられた。また、UPGMA法によって系統樹を作成したところ、モモとは別種であるアーモンドが、ネクタリンや野生桃、ハナモモ(A~B)よりも現在の栽培品種群に近縁であるという結果が得られた(第2図)。これに対し、NJ法による系統樹で

はアーモンドはモモとは異なるクラスターに位置づけられており、また Martinez-Gomez らはモモ、アーモンドおよびその近縁種を対象とした系統解析を行い、アーモンドがモモとは別のクラスターを形成することを報告している⁸⁾。このことから、今回の UPGMA 法による系統樹におけるアーモンドの位置については、供試個体数とマーカー数が少なかったために、推定が不正確になった可能性が高いと考えられた。

今回解析の主対象とした‘黒田桃’は、大阪府東大阪市において明治以前に栽培されていた‘稲田桃’の一系統あるいは実生とされている⁷⁾。系統解析の結果、いずれの系統樹においても‘黒田桃’は、現在の主要栽培品種のクラスターとは少し離れた場所に位置づけられた。このことから、‘黒田桃’はその遺伝的背景が現在の主要栽培品種群とは少し異なる、ユニークな品種である可能性が示唆された。

‘黒田桃’が、現在の日本の主要栽培品種群と遠縁であることは、生産・販売上のメリットを有しているとともに、育種資源としての価値を持っているといえる。前者については、例えばモモの変種である蟠桃や、カキ‘御所’のように、希少価値の高い商品として販売したり、地域おこしの材料の一つとして活用できる可能性を有していると考えられる。また後者については、新たな遺伝的背景を有する品種の育成への利用が期待される。これまでに様々な果樹において交配育種が行われているが、欠点の少ない品種・系統が繰り返し利用される傾向にあり、新品種の遺伝的多様性が低下することが指摘されている¹²⁾。ニホンナシ (*Pyrus pyrifolia* Nakai) ではこのような近親交配を防ぐため、チュウゴクナシ (*P. bretschneideri* Rehder) との種間交配が行われ、その子孫から‘玉秋’が育成された⁹⁾。またカキでは、これまでは完全甘ガキ品種同士の交配によって新たな完全甘ガキ品種の育成が行われてきたが、近親交配の影響が顕著になったことから、近年では非完全甘ガキ品種を活用した育種が行われている¹²⁾。モモについても、遺伝的多様性の増大には‘上海水蜜桃’に由来しない系統や、現在の栽培品種とは類縁関係の遠い系統を用いた育種が有効であると考えられ、‘黒田桃’はこのような育種材料としての活用が期待される。

今回はモモ 10 系統を含む 12 系統を供試したが、今後は供試系統数を増やすことで、‘黒田桃’の来歴に関する情報をより詳細に得ることができると思わ

れる。特に‘黒田桃’と、‘黒田桃’の由来とされている‘稲田桃’との関係性については、園主からの聞き取りと果実のおおまかな形質によって近縁であると推測しているのが現状である。そのため、‘稲田桃’を対象として同様の解析を行うことによって、‘黒田桃’が‘稲田桃’に由来することを証明することができると考えられる。

また、同様の方法によって来歴の不明な遺伝資源の解析を行い、遺伝的背景を明らかにできることが期待される。モモは頑丈な核を持つために年月を経ても分解されにくく、栽培植物の中でも出土遺跡数が多い植物である⁵⁾。そのため、遺跡等から出土したモモ種子から DNA を抽出することができれば、当時の栽培品種と現在の栽培品種との遺伝的関連についても知見が得られる可能性が高いと考えられる。

近年では遺伝情報を利用した解析技術が向上し、DNA マーカーによる詳細な連鎖地図が作成されるとともに¹⁵⁾、一塩基多型 (SNPs: Single Nucleotide Polymorphisms) を用いた全ゲノム解析等も行われている¹⁾。これらの技術を活用することにより、モモとその近縁種に関する有益な情報を得られることが期待できる。

摘要

6 種類の SSR マーカーを用いてモモとその近縁種の系統解析を試みた。現在の主要栽培品種は小規模なクラスターを形成した。現在の主要栽培品種とは来歴の異なる可能性のある、県内で栽培されている‘黒田桃’に関しては、系統樹上では現在の主要栽培品種群とは少し異なる場所に位置づけられ、遺伝的背景がやや異なる可能性が示唆された。

謝辞

本研究を実施するにあたり、実験材料の‘黒田桃’をご提供頂きました片岡慎治氏と、モモの DNA サンプルをご提供頂きました京都大学農学研究科農学専攻果樹園芸学研究室の田尾龍太郎准教授に厚く御礼申し上げます。また、研究の遂行にあたり的確なご助言を頂きました、元奈良県立民族博物館の中川好夫氏ならびに奈良県立青翔高等学校の生田依子教諭に深謝いたします。

引用文献

1. 赤木剛士・I. M. Henry・T. M. Gradziel・L. Comai・田尾龍太郎. 2012. モモの品種分化に関する全ゲノムワイドな遺伝的構造解析と進化解析. 園学研. 11 (別2) : 101.
2. Gilbert, D. G. 1999. "PhyloDendron - Phylogenetic tree printer". <http://iubio.bio.indiana.edu/treeapp/treeprint-form.html>. (2014年7月閲覧)
3. 林恭平. 2009. DNA マーカーによるウメの遺伝的多様性解析. 筑波大学大学院 生命環境科学研究科 先端農業技術科学専攻 博士(農学) 学位論文: 28-29.
4. 飛田範夫. 1998. 奈良時代までの庭園植栽. ランドスケープ研究. 62: 56-66.
5. 金原正明. 1996. 古代モモの形態と品種. 考古学ジャーナル 409: 15-19.
6. 壽和夫・齋藤寿広・町田裕・梶浦一郎・佐藤義彦・増田亮一・阿部和幸・栗原昭夫・緒方達志・寺井理治・西端豊英・正田守幸・樫村芳記・小園照雄・福田博之・木原武士・鈴木勝征. 2004. ニホンナシ新品種 '王秋'. 果樹研報. 3: 41-51.
7. 楠根リージョンセンター企画運営委員会. 2009. ももの広場 10年の歩み (10周年記念誌) :18-20. 大阪.
8. Martinez-Gomez, P., S. Arulsekhar, D. Potter and T. M. Gradziel. 2003. Relationships among peach, almond, and related species as detected by simple sequence repeat markers. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 128: 667-671.
9. 農林水産省. 2013. 平成 24 年産果樹生産出荷統計.
10. 大橋義孝・小野勇治・木幡栄子・岡田初彦・佐藤守・木村鉄也・西谷千佳子・山本俊哉. 2012. モモの品種判別技術の開発. 福島農総セ研報. 4: 29-38.
11. ———・————・————・————・————・山口正巳・————・————. 2012. モモの形質に関連した SSR マーカーの取得. 福島農総セ研報. 4: 39-52.
12. 山田昌彦. 2011. 果樹の交雑育種法. 養賢堂. 東京. 159-180.
13. Yamamoto, T., K. Mochida, T. Imai, Y. Z. Shi, I. Ogiwara and T. Hayashi. 2002. Microsatellite markers in peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) derived from an enriched genomic dDNA libraries. Mol. Ecol. Notes. 2: 298-301.
14. ———, ——— and T. Hayashi. 2003. Shanhai Suimitsuto, One of the origins of Japanese peach cultivars. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 72: 116-121.
15. ———, M. Yamaguchi and T. Hayashi. 2005. An integrated genetic linkage map of peach by SSR, STS, AFLP and RAPD. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 74: 204-213.