



# 岐阜大学機関リポジトリ

## Gifu University Institutional Repository

Title	The Phylogenetic Study of Japanese Flowering Cherries (Prunus subgenus Cerasus)( 内容の要旨 )
Author(s)	太田, 智
Report No.(Doctoral Degree)	博士(農学) 甲第393号
Issue Date	2006-03-13
Type	博士論文
Version	
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/3090">http://hdl.handle.net/20.500.12099/3090</a>

この資料の著作権は、各資料の著者・学協会・出版社等に帰属します。

氏名(本国籍)	太田 智 (静岡県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	農博甲第 393 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 13 日
学位授与の要件	学位規則第 3 条第 1 項該当
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物生産科学専攻
研究指導を受けた大学	静岡大学
学位論文題目	The Phylogenetic Study of Japanese Flowering Cherries ( <i>Prunus</i> subgenus <i>Cerasus</i> ) (日本産サクラ属サクラ亜属の系統分類学的研究)
審査委員会	主査 静岡大学 教授 大村 三 男 副査 静岡大学 教授 露 無 慎 二 副査 岐阜大学 教授 古 田 喜 彦 副査 信州大学 教授 南 峰 夫 副査 農業・生物系特定産業技術研究機構 果樹研究所・チーム長 山 本 俊 哉

## 論文の内容の要旨

我が国では特に人気の高いサクラは、長い園芸栽培の中で 200 品種以上の観賞用栽培品種が成立してきている。それらの品種は、日本産の野生の分類群(種および変種)に由来すると考えられており、それらの起源や系譜の解析についても高い関心が寄せられている。しかしながら、その基礎となる野生種分類群の系統関係についても、不明な点が多い。これまでに行われてきた主に生理・形態学特性によるサクラ亜属の分類研究では、日本産のサクラ亜属野生種は 9 種といくつかの変種により構成されると考えられてきた。近年、分子遺伝学的手法をとり入れた解析も始められたが、解析対象とした分類群や個体は限られており、多くの問題が残されている。このため、本研究では、サクラ亜属の系統関係のより体系的な解明を目的として、可能な限り多数の系統を収集し、解析した。また、解析手法として、核及び葉緑体ゲノムの SSR における高い多型性を検出、利用することで、野生の分類群の遺伝的変異および系統関係を明らかにするとともに、栽培品種の起源についての解明することを目的として一連の研究を行ったものである。

論文は以下の 2 項目 5 つの実験より成り立っている。

### 1. 核の DNA マーカーによるサクラ野生分類群の遺伝的特徴付け

#### (1) SSR マーカーによるサクラ属サクラ亜属 11 種 15 分類群の遺伝的変異の解析

SSR マーカーは、高い多型性と共優性遺伝の特徴をもつことに着目して、サクラ亜属の遺伝的多様性の評価を試みた。サクラ属果樹で開発されている多くの SSR マーカーのうち、

モモおよびオウトウ由来の 85 の SSR マーカーから観賞用のサクラに適用可能なマーカーを探索した。供試したすべての個体で増幅がみられた 25 マーカーから、多型性、染色体上の位置などを考慮して 9 マーカーを選抜し、サクラ亜属の分類群間および分類群内の変異を調査した。その結果、用いた 144 個体のうち 2 個体を除くすべてが区別できた。解析結果をもとに UPGMA 法による樹形図を描いたところ、多くの個体は、概ね分類群ごとに集合した。エドヒガン、ミヤマザクラ、カンヒザクラおよびヒマラヤザクラは他の分類群とは遺伝的に異なること、また、*Sargentella* 亜節と *Cerasideos* 亜節は互いに近縁であることが示唆された。樹形図に示された類縁関係は、これまでの形態学的な分類と比較的よく一致していた。

## (2) SSR マーカーに基づく九州産ヤマザクラの遺伝的多様性について

九州各地に自生するヤマザクラ 58 個体に SSR マーカー解析を適用し、遺伝的多様性を評価した。その結果、これらの野生のヤマザクラでは、多様な特性を示すモモやオウトウの栽培品種と比べ大きな多様性を示すものの、九州各地間での地理的な遺伝的分化傾向は認められなかった。このことから、九州のヤマザクラは明確な地理的隔離が少なく、遺伝的交流があることが示唆された。また、九州のヤマザクラは、サクラ亜属における SSR マーカー遺伝子型によるクラスタリングでは、1 個体を除くすべての個体が日本各地のヤマザクラ群に区分された。

## 2. 葉緑体の DNA マーカーによるサクラ野生分類群の遺伝的特徴付け

### (1) *rpl16-rpl14* spacer (PS-ID) 配列によるサクラ亜属植物の分類

日本産のサクラ亜属を中心に野生種の 11 種 37 個体および栽培品種 3 個体について、その細胞質ゲノムによる系譜解析を行うため、*rpl16-rpl14* spacer (PS-ID) 領域における多型を解析した。その結果、配列中の A リピートの違いにより 5 つのタイプに区別されることが明らかにされた。日本産の種では、エドヒガンのみが他と異なるタイプであり、PS-ID 領域の解析がエドヒガン系の栽培品種の母系系譜の解析に有効であることを示した。‘染井吉野’はエドヒガンと同じタイプを示し、‘染井吉野’の母親はエドヒガンであるとする報告を支持した。

### (2) 葉緑体ゲノム 4 領域の塩基配列に基づくサクラ属サクラ亜属 16 分類群の系統解析

葉緑体ゲノム多型によるサクラ亜属の系統関係を解析するため、4 つの領域 (*rpl16* intron、*trnL-trnF* spacer、*rps16* intron および *trnH-psbA* spacer) の塩基配列の差異の検出を行った。合計約 3000 bp の塩基配列を決定したところ、7 か所の挿入・欠失、27 か所の塩基置換が存在し、これらのハプロタイプによりサクラ亜属 16 分類群 (46 個体) は、18 のタイプに区別された。最尤法による系統樹では、エドヒガンとヒマラヤザクラからなるクレードと、他の日本産の分類群からなるクレードに分かれた。後者では、*Sargentella* 亜節と *Cerasideos* 亜節の個体が入れ子状になった。このことから、日本産のサクラ亜属植物の生成には、分類群間の交雑を伴う複雑な進化が関わったものと考えられた。

### (3) サクラ属果樹に利用可能な葉緑体 SSR マーカーの開発

サクラ属葉緑体ゲノムの配列をもとに、10 個の SSR マーカーを開発した。これらの有効性について、その他のサクラ属植物 17 種に適用して検定した。その結果、10 個の SSR マーカーすべてがこれらの植物で多型がみられ、17 種すべてを区別できた。また、アンズ

では7つ、モモでは5つの SSR 座が種内変異を示し、サクラ属全般の変異解析に有効なマーカーを開発したといえる。

これらのサクラ亜属植物に対する核および葉緑体 DNA 解析により、主に3つの結論が導かれた。第一に、エドヒガンとヒマラヤザクラは、系統的に他の日本産の分類群とは遠縁である。第二に、ミヤマザクラは形態や核の SSR マーカーから考えられるより、系統的には日本産の分類群に近い。さらに、ミヤマザクラに、浸透交雑または Lineage sorting によって生じたと考えられる個体が存在する。第三に、日本産の分類群は過去に交雑を伴う複雑な進化を経ている。これらの結果は、今後の我が国におけるサクラの系譜解析や遺伝資源の保存管理、また育種に対して利用されるものと期待される。

### 審 査 結 果 の 要 旨

本論文の公開学位論文発表会は、審査委員全員を含む関連教員や学生の出席者のもと、平成18年1月27日（金）午後1時30分より静岡大学農学部B棟203号室において実施された。

本論文は、鑑賞用サクラ品種を中心としたサクラ亜属植物について、DNA マーカーを作成することで、系統分化及び系譜上の新しい知見を得ることを目的に一連の研究を行ったもので、核の DNA マーカーによる解析、及び葉緑体の DNA マーカーによる解析研究から構成されている。

核の DNA マーカーによるサクラ野生分類群の遺伝的特徴付けの研究においては、高い多型性と共優性遺伝の特徴をもつ9 SSR マーカーを選抜し、サクラ亜属の分類群間および分類群内の変異を調査した。解析した144個体の類縁関係は、これまでの形態学的な分類とよく一致し、エドヒガン、ミヤマザクラ、カンヒザクラおよびヒマラヤザクラは他の分類群とは遺伝的に異なること、そして *Sargentella* 亜節と *Ceriseidos* 亜節は、互いに近縁であることを示した。

葉緑体ゲノムの多型解析による研究では、サクラ亜属16分類群（46個体）を18のタイプに区別することに成功し、エドヒガンとヒマラヤザクラからなる分類群は、他の日本産の分類群からは分離されること、‘染井吉野’がエドヒガンに由来する品種であることなどを明らかにした。

これらのサクラ亜属植物に対する核および葉緑体 DNA の多型解析により、エドヒガンとヒマラヤザクラは系統的に他の日本産の分類群とは遠縁であること、ミヤマザクラは日本産の分類群に近いこと、日本産の分類群が複雑な交雑に由来していることなど、新規な知見を得た。本研究で得られた成果は、人気の高いサクラ品種の系譜・起源の解明に貢献できるばかりでなく、今後の我が国におけるサクラ遺伝資源の保存管理、また育種に対して利用されるものと期待される。

以上について、審査員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の博士（農学）の学位論文として十分価値あるものと認めた。

#### 基礎となる学術論文

1. Ohta, S., T. Katsuki, T. Tanaka, T. Hayashi, Y. Sato and T. Yamamoto. 2005. Genetic variation in flowering cherries (*Prunus* subgenus *Cerasus*) characterized by SSR markers. *Breeding Science* 55: 415-424.
2. Ohta, S., S. Osumi, T. Katsuki, I. Nakamura, T. Yamamoto and Y. Sato. 2006. Genetic characterization of flowering cherries (Prunus subgenus *Cerasus*) using *rpl16-rpl14* spacer sequences of chloroplast DNA. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 75: 72-78.