

D N A マーカーによるウメの
遺传的多様性解析

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

林 恭平

目次

第1章 緒論	1
第2章 SSR マーカーによるウメの遺伝的多様性解析	19
第1節 緒言	19
第2節 実験材料および方法	22
第3節 結果	30
第4節 考察	34
第3章 SSR マーカーによるスモモ亜属3種、ウメ、アンズと ニホンスモモの類縁関係の解析	60
第1節 緒言	60
第2節 実験材料および方法	64
第3節 結果および考察	66
第4章 DNA解析によるウメ三倍体品種の同定と特徴	85
第1節 緒言	85
第2節 実験材料および方法	88
第3節 結果および考察	92
第5章 総合考察	112
摘要	120
謝辞	122
引用文献	123

第1章 緒論

ウメ (Japanese apricot, *Prunus mume* Siebold et Zucc.) は、バラ科サクラ属スモモ亜属に属する落葉小高木で、中国、日本、韓国、台湾等の東アジア地域、タイやベトナム等の東南アジアの温暖な地域で栽培されている (田中 1936, Mega *et al.* 1988, Mehlenbacher *et al.* 1991, 堀内ら 1996)。原生地は中国中南部の山岳地帯と言われ、日本には弥生時代以後、何回かに渡って導入されたと考えられている (Mega *et al.* 1988, Yoshida and Yamanishi 1988, Mehlenbacher *et al.* 1991, 堀内ら 1996)。ウメの花は、厳しい寒さの中で開花し、良い香りを漂わせ、古くから主に観賞用花木として親しまれてきた。中国及び日本の古い文献には、詩や歌の中でウメの花が数多く詠まれている (堀内ら 1996)。果実の利用は、中国で薬用として古くから重宝されてきた。食用の果実として評価が高まったのは近年になってからで、主に日本、中国及び台湾で果樹として栽培されている。日本では、塩漬けにした健康保存食品「梅干」として食され、ジュースや梅酒といった飲み物、料理や和菓子にも用いられている (Mega *et al.* 1988, 堀内ら 1996, Faust *et al.* 1998)。

ウメは、花を観賞する花ウメと果実を利用する実ウメに、便宜上分けられる。人は、花ウメを庭園や公園に植栽し、盆栽や生け花に用いられ、花及び樹全体を鑑賞する。花を鑑賞するために育種されてきた花ウメは、花の色 (白、ピンク、赤)、花型 (一重、八重)、花の大きさ、樹形 (立ち性、しだれ性) 等において多様な形質を持ち、江戸時代末期には 300 品種を超えていたと言われる (田中 1936, Mega *et al.* 1988, 堀内ら 1996)。日本では、花ウメは形態特性から野

梅系、紅梅系、豊後系の三つの系に分けられてきた (Table 1-1, Fig. 1-1a, b, c)。野梅系は比較的原種に近く、‘冬至’、‘浮牡丹’や‘大輪緑萼’等の品種があり、更に野梅性、難波性、紅筆性、青軸性の4つの性に分けられる (Table 1-1, Fig. 1-1a)。紅梅系は木質部が赤色で花も赤く、‘紅千鳥’、‘幾世寢覚’や‘鹿児島紅’等の品種があり、紅梅性はこの系に属する (Table 1-1, Fig. 1-1b)。豊後系は樹勢が強く花は大輪傾向で、‘武蔵野’、‘白牡丹’や‘淋子梅’等の品種があり、豊後性と杏性に分けられる (Table 1-1, Fig. 1-1c)。花ウメの分類方法には諸説あるが、日本では上記のように三つの系、七つの性に分類するのが一般的である (Mega *et al.* 1988, 堀内ら 1996)。

一方、果樹として栽培された歴史は浅いため、実ウメ品種は花ウメに比べ少なく、100品種ほどが知られている。実ウメは、収量が多く加工適正に優れている系統が日本各地で選抜され、花は一重で白色の品種が多く、樹勢は花ウメより強い。古くからある実ウメの品種には‘白加賀’、‘養老’、‘花香実’や‘豊後’があり、地方で選抜された品種には、和歌山の‘南高’、‘地藏梅’や‘改良内田’、福井の‘紅サシ’、長野の‘竜峡小梅’、神奈川の‘十郎’、徳島の‘鶯宿’等がある (堀内ら 1996)。交雑育種が行われるようになったのは近年になってからで、交雑育種された品種として‘白加賀’に‘地藏梅’を交配した‘加賀地藏’がある (山口ら 2002)。日本の実ウメ栽培面積は18,700 haで、カンキツ類、リンゴ、カキ、クリ、ブドウに次いで大きく (農林水産省 2007a)、主要果樹の一つと言える。実ウメの主な産地は和歌山県、群馬県、福井県で (堀内ら 1996)、中でも和歌山県の2007年収穫量は69,600 tで、全国の半分以上(57%)を占めている (農林水産省 2007b)。

実ウメの果実は、5 g から大きいものは 50 g を超え、10 g 程度のものを小梅、30 g 以上のものを大梅、その中間のものを中梅として実ウメ品種を分類している (Yoshida and Yamanishi 1988, 堀内ら 1996)。小梅品種の開花や収穫時期は早く、代表的な品種には‘織姫’、‘竜峡小梅’や‘前沢’等がある (Fig. 1-2a)。中梅と大梅品種の果実の大きさは連続的に分布しており、お互いに交雑を重ねてきたと考えられている (Yaegaki *et al.* 2003)。そのため、中梅と大梅を分類することは難しいが、吉田ら (1971a, 1971b) は、中梅品種として、‘南高’、‘紅サシ’や‘十郎’ (Fig. 1-2b)、大梅品種として‘白加賀’、‘玉英’や‘梅郷’をあげている (Fig. 1-2c)。

更に実ウメには、アンズやスモモと種間交雑したと推察される品種が存在する (Yoshida and Yamanishi 1988, 堀内ら 1996, Tzonev and Yamaguchi 1999)。ウメとアンズによる自然交雑雑種の起源と考えられる品種として、‘豊後’、‘西洋梅’や‘太平’等があり (Fig. 1-2d, 堀内ら 1996)、ウメとスモモによる自然交雑雑種の起源と考えられる品種として‘李梅’ (上林 1927)、人為的な種間雑種として‘すももうめ中間母本農 1 号’ (‘ソルダム’ × ‘地蔵梅’) や‘すももうめ中間母本農 2 号’ (‘ソルダム’ × ‘地蔵梅’) が知られている (Fig. 1-2e, 京谷ら 1988)。特に、ウメとアンズは、寒い地域や寒い年には開花期が重なることから、自然交雑する機会も多いと考えられる (Yoshida and Yamanishi 1988, Tzonev and Yamaguchi. 1999)。これら種間雑種と考えられる個体は、形態的にも両者の中間の形質を持つことが知られ、吉田らは (1971a, 1971b) 核の形態から、ウメ、アンズとスモモ品種を 10 の連続的なタイプに分類している。

実ウメの栽培は、日本以外では中国と台湾で盛んに行われている (堀内ら

1996)。ウメは中国起源であり、多様な遺伝的な背景を持つ系統が存在すると考えられ、各地に適応した系統が伝播していったと考えられる。台湾のウメは、日本のウメと同じように古い時代に大陸から伝わり、亜熱帯地方に適応したウメが栽培されている (Fig. 1-2f)。台湾のウメを日本で栽培すると、落葉が遅く花の咲く直前まで葉を維持し、早咲きで開花期間も長い。そのため、休眠の低温要求が低く、生態的にも日本の品種と異なる特徴を持っている (堀内ら 1996, Yamane *et al.* 2006)。これら国内外由来のウメの類縁関係を知ることは、育種に役立てられるだけでなく、日本のウメの起源を知る手がかりとなり興味深い。

これまでに、ウメ品種の分類及び識別は、形態的特徴 (Yoshida and Yamanishi *et al.* 1988)、アイソザイム (氏家ら 1991)、RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA, Shimada *et al.* 1994)、AFLP 法 (Amplified Fragment Length Polymorphism, Fang *et al.* 2005) 及び葉緑体ゲノム (太田ら 2004, 2006) により行なわれてきた。氏家ら (1991) は、5 種類のアイソザイムを調べ、ウメの品種を 5 つのグループに分類している。Shimada *et al.* (1994) は、形態的な特徴から 4 つのグループに分け、更にグループごとに RAPD 分析し、品種の由来に関連づけた考察を行っている。しかしながら、これらの報告では、供試した品種・系統数が少なく、知見が断片的であった。更に、共通の DNA マーカーを用い、花ウメと実ウメの遺伝的多様性を解析した報告は少なく、特に花ウメと実ウメの遺伝的な関連については、知見が限られている。

近年、植物の遺伝的多様性解析の研究では、ゲノム中での豊富な存在から、SSR (Simple Sequence Repeat) マーカーが利用されるようになってきた。SSR はマイクロサテライトや STR (Short Tandem Repeat) とも呼ばれている。これ

らはゲノム中に存在する短い繰り返し配列の領域を指している。この繰り返し配列の反復に多様性があるため、SSR 遺伝子座に存在する対立遺伝子の長さの差異が多型として検出される (Fig. 1-3)。SSR マーカーは、共優性の遺伝様式を持ち、一遺伝子座あたりの対立遺伝子も多く、多型性も高く、信頼度が高い。*Prunus* 属でもモモ、オウトウ、アンズ等多くの核果類で開発されている (Cipriani *et al.* 1999, Sosinski *et al.* 2000, Testolin *et al.* 2000, Cantini *et al.* 2001, Aranzana *et al.* 2002, Dirlwanger *et al.* 2002, Lopes *et al.* 2002, Struss *et al.* 2002, Yamamoto *et al.* 2002)。しかしながら、SSR マーカーの開発には労力とコストがかかり、ウメから SSR マーカーは開発されていない。一方、近年のゲノム研究から、近縁の植物で開発された DNA マーカーは、高い汎用性を示し利用可能であることが分かってきた。モモで開発された SSR マーカーを使い、サクラの多様性解析や親子判別を行った研究が報告されている (Ohta *et al.* 2005, Iketani *et al.* 2007)。また Gao *et al.* (2004) は、中国由来のウメを材料に、モモやオウトウ由来の SSR マーカーを用いて多様性解析を行った。

ウメと同じスモモ亜属の中で、アンズ (apricot, *Prunus armeniaca* L.) とニホンスモモ (Japanese plum, *Prunus salicina* L.) も、日本で古くから栽培されてきた (吉田 1984a,c)。これらウメ、アンズ及びニホンスモモは、ともにアジアを起源とし、同じように日本へ渡来してきた。これら 3 種は、相互に交雑し種間雑種も存在することから、種の成立に相互が関与した可能性を指摘する報告もある (吉田 1984b)。従って、種内分化の様相と種相互の類縁関係を明らかにすることは、種間雑種の育成等特徴ある高い付加価値を持つ品種を育成するうえで重要と考えられる。これまでに、土師ら (1993) は、ニホンスモモ、ウメ、

アンズの形態的特徴を花柄の長さで比較し、種及び種内の地理的分布等の違いで差があることを述べている。分子マーカーによる分析では、Fang *et al.* (2006) が AFLP 法を用い、中国で栽培されているウメ、アンズ、ニホンスモモ及びモモの品種を材料に多様性解析を行い、4 品種はクラスター解析で明確に区別され、モモとアンズが最も遺伝的に遠い関係であったと報告している。しかしながら、日本で植栽されているウメ、アンズ及びニホンスモモの遺伝的な関係を共通の DNA マーカーで解析した報告はない。

ウメは、長い年月を経て多彩な系統・品種が生み出されてきたが、その多種多様な系統の中には、倍数体が存在することも考えられる。自然交雑や突然変異による倍数化で、リンゴには、‘北斗’、‘陸奥’や‘ジョナゴールド’等の三倍体品種が知られており (Gianfranceschi *et al.* 1998, Kitahara *et al.* 2005a, 2005b)、ブドウの大粒種となる‘巨峰’等の四倍体系統は、自然突然変異による枝変わりて生じたものである (山根 1996)。ウメを含む核果類は一般的に染色体数 $2n=16$ の二倍体であるが、同じスモモ亜属の中にドメスティカスモモ (*P. domestica*) やインシチアスモモ (*P. insititia*) で四倍体や六倍体の倍数体が存在する (吉田 1984c)。倍数体の解析には、染色体観察とフローサイトメーターによる解析が一般的であるが、SSR マーカーや *S* 遺伝子型を判別する DNA マーカーでも検出と判別が可能な場合もあり、リンゴの三倍体 (Gianfranceschi *et al.* 1998, Kitahara *et al.* 2005a, 2005b) やナシの三倍体 (Kimura *et al.* 2002) で報告がある。一般的に、倍数体の植物では、果実、葉、花等の栄養器官が大きくなり、三倍体では種無しとなる場合が多い。果樹類では、染色体を倍数化して倍数体を作成することにより、大玉果や無核化品種を育成する試みがなされてきた。

ウメにおいても、果実の大玉化や、また園芸的にも大輪の花を咲かす品種を育種することは魅力的で、倍数体の利用が大いに期待できる。今までに、ウメの倍数体について過去の文献に記載されてはいるが (Mega *et al.* 1988)、品種の詳細は分かっていない。

本論文の第 2 章では、モモとアンズから開発された 58 種類の SSR マーカーのうち、ウメで利用可能なものを選択した。ウメで利用可能であることを確認した 14 種類の SSR マーカーを用いて、日本で栽培されている実ウメと花ウメ品種・系統、東アジアのウメ品種を含めた 127 品種・系統を材料にして、遺伝的多様性と類縁性について解析した。更に、種間雑種由来の系統について、遺伝的類縁性を考察した。

第 3 章では、ウメと近縁であるアンズとニホンスモモ、及びウメの 3 種共通に利用できる 12 種類の SSR マーカーを選抜した。ウメ 27 品種、アンズ 19 品種、ニホンスモモ 22 品種の計 68 品種について、これら 12 種類の SSR マーカーを用いて、日本で栽培されているスモモ亜属 3 種の遺伝的多様性と類縁性について解析し、地理的な変遷もふまえて考察した。

第 4 章では、SSR 分析から三倍体と思われる花ウメ 4 品種‘高砂’、‘芳流閣’、‘興津赤花’と‘茶寿’を見出した。この 4 品種について、フローサイトメーター解析で倍数性を確認し、また倍数性の特徴形質を見るため、花や葉の形態を調べ考察した。

Table 1-1. Traditional classification of ornamental cultivars in Japanese apricot

Group (kei: 系)	Sub-group (shou: 性)	Cultivar name (in Japanese)	
Yabai (野梅)	Yabai (野梅)	Michishirube (道知辺) Rinchigai (輪違い) Touji (冬至) Kankoubai (寒紅梅)	Tsukushikou (筑紫紅) Okina (翁) Jakoubai (麝香梅) Mera (米良)
	Naniwa (難波)	Gosyokou (御所紅) Fujibotan (藤牡丹) Ukibotan (浮牡丹)	Naniwakou (難波紅) Gyokuken (玉拳) Kokyounonishiki (故郷の錦)
	Benifude (紅筆)	Benifude (紅筆) Dairi (内裏) Kokinran (古金欄)	Gosaibai (五彩梅) Syookunochou (書屋の蝶)
	Aojiku (青軸)	Tsukinokatsura (月の桂) Tairin Ryokugaku (大輪緑萼) Yaeyama Ryokugaku (八重山緑萼)	Hitoe Ryokugaku (一重緑萼) Tanben Ryokugaku (単瓣緑萼)
Koubai (紅梅)	Koubai (紅梅)	Ikuyonezame (幾夜寝覚) Benichidori (紅千鳥) Kagoshimakou (鹿児島紅) Shinheike (新平家)	Oosakazuki (大盃) Kusudama (楠玉) Renkyuu (蓮休) Kurokumo (黒雲)
Bungo (豊後)	Bungo (豊後)	Musashino (武蔵野) Kurodaume (黒田梅) Shirobotan (白牡丹)	Makitateyama (巻立山) Youkihi (楊貴妃) Taninoyuki (谷の雪)
	Anzu (杏)	Rinshibai (淋子梅) Kanshikou (杆子紅) Shishigashira (獅子頭)	Sakurabai (桜梅) Chitosegiku (千歳菊) Hassaku (八朔)

1. Yabai group (kei)

1) Yabai subgroup (shou)



Michishirube
道知辺



Rinchigai
輪違い



Touji
冬至

2) Naniwa subgroup (shou)



Goshokou
御所紅



Fujibotan
藤牡丹



Ukibotan
浮牡丹

3) Benihude subgroup (shou)



Kokinran
古金欄



Benifude
紅筆



Dairi
内裏

4) Aojiku subgroup (shou)



Hitoe Ryokugaku
一重緑萼



Tanben Ryokugaku
大輪緑萼



Yaeyama Ryokugaku
八重山緑萼

Fig. 1-1a. Ornamental cultivars classified as Yabai group (kei) in Japanese apricot.

2. Koubai group (kei)

1) Koubai subgroup (shou)



Ikuyonezame
幾夜寝覚



Benichidori
紅千鳥



Kagoshimakou
鹿児島紅



Oosakazuki
大杯

Fig. 1-1b. Ornamental cultivars classified as Koubai group (kei) in Japanese apricot.

3. Bungo group (kei)

1) Bungo subgroup (shou)



Musashino
武蔵野



Kurodaume
黒田梅



Shirobotan
白牡丹

2) Anzu subgroup (shou)



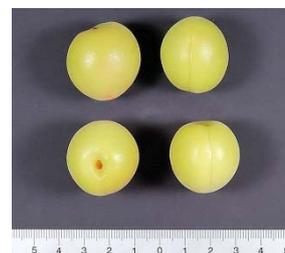
Rinshibai
淋子梅



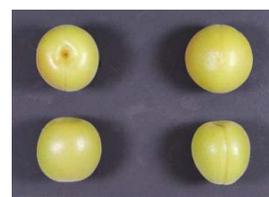
Kanshikou
杆子紅

Fig. 1-1c. Ornamental cultivars classified as Bungo group (kei) in Japanese apricot.

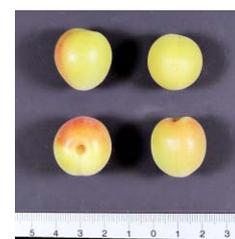
1. Koume



Orihime
織姫



Ryuukyou Koume
竜峡小梅



Kousyuu Saisyuu
甲州最小

Fig. 1-2a. Fruiting cultivars belonging to Koume in Japanese apricot.

2. Cyuu-ume



Nankou
南高



Benisashi
紅サシ



Juurou
十郎



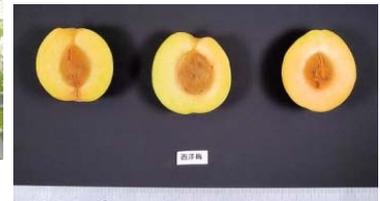
Fig. 1-2b. Fruiting cultivars belonging to Cyuu-ume in Japanese apricot.

3. Oo-ume



Fig. 1-2c. Fruiting cultivars belonging to Oo-ume in Japanese apricot.

4. Bungo group



Seiyoubai
西洋梅



Taihei
太平



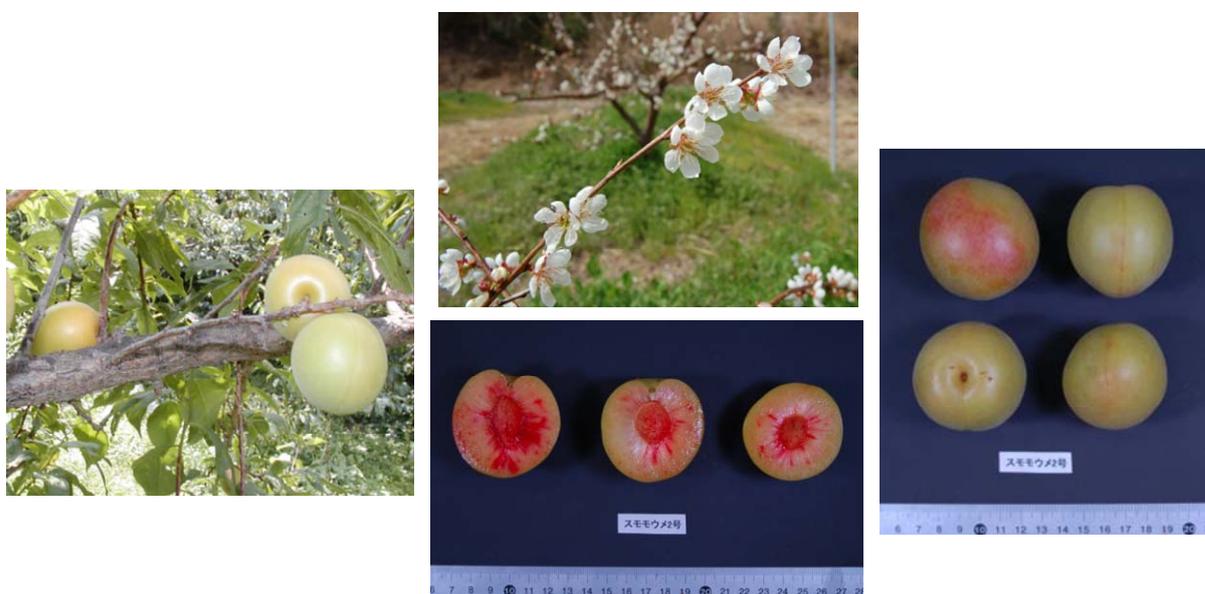
Bungo
豊後

Fig. 1-2d. Fruiting cultivars belonging to Bungo group in Japanese apricot.

5. Sumomoume



Sumomoume 1 Gou
スモウメ中間母本農1号



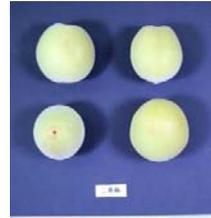
Sumomoume 2 Gou
スモウメ中間母本農2号

Fig. 1-2e. Fruiting cultivars belonging to Sumomoume in Japanese apricot.

6. Fruiting cultivars introduced from foreign countries



Ellching
二青梅



China Mume Wakayama 1
中国ウメわかやま1号



China Mume Wakayama 5
中国ウメわかやま5号

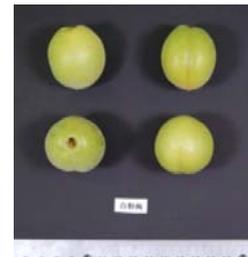


Fig. 1-2f. Fruiting cultivars introduced from foreign countries in Japanese apricot.

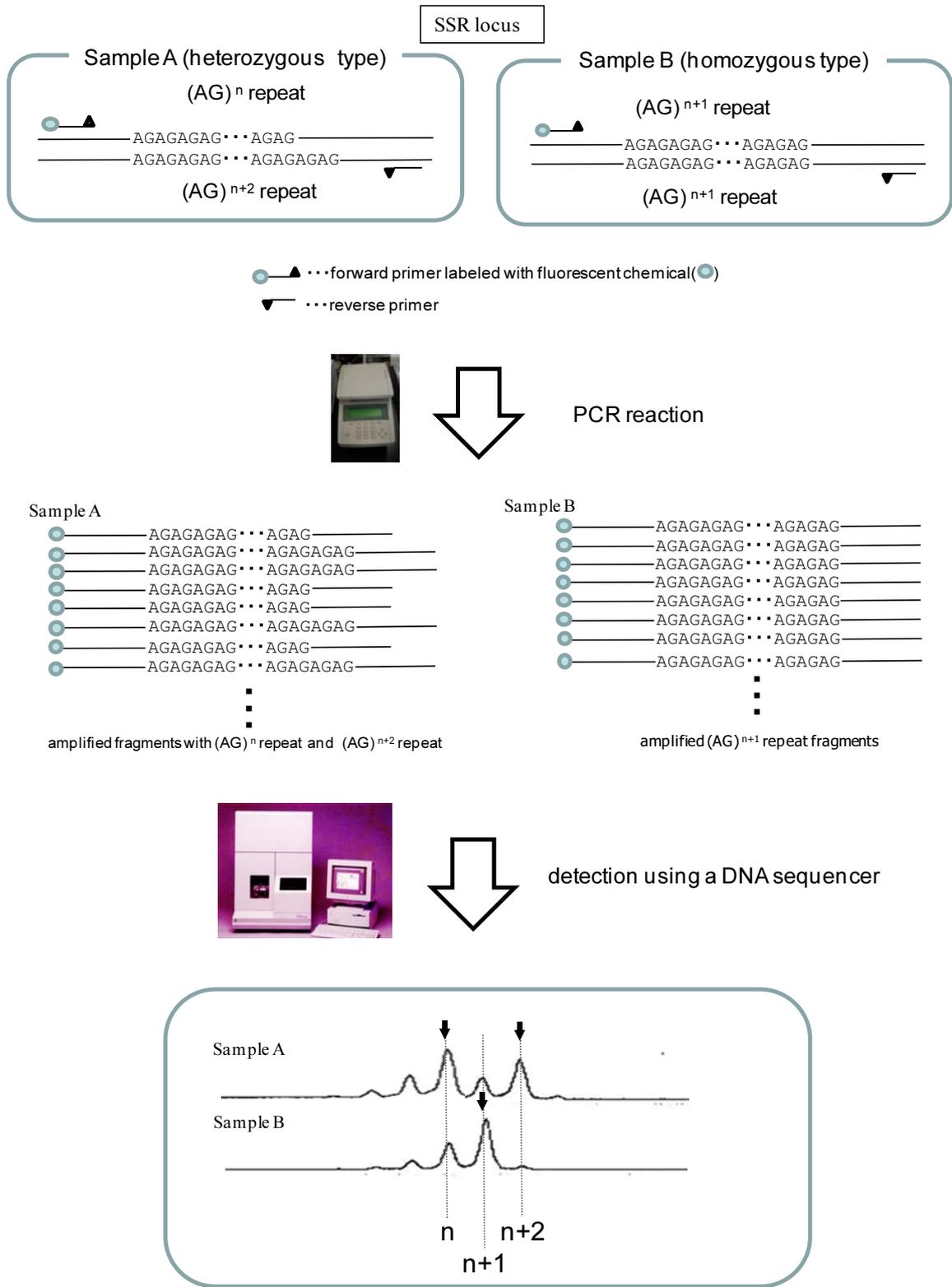


Fig. 1-3. Details of SSR (Simple Sequence Repeat) analysis.

第2章 SSR マーカーによるウメの遺伝的多様性解析

第1節 緒言

日本のウメは、花を觀賞する花ウメと果実を利用する実ウメに、便宜上分けられる。花ウメは多様な形質を持ち、古くから数多くの品種が生み出されてきた（田中 1936, Mega *et al.* 1988, 堀内ら 1996）。花ウメは形態特性から野梅系、紅梅系、豊後系の三つの系に分けられる（Table 1-1, Fig. 1-1a, b, c）。野梅系は比較的原種に近く、更に野梅性、難波性、紅筆性、青軸性の4つの性に分けられる（Table 1-1, Fig. 1-1a）。紅梅系は木質部が赤色で花も赤く、紅梅性はこの系に属する（Table 1-1, Fig. 1-1b）。豊後系は樹勢が強く花は大輪傾向で、豊後性と杏性に分けられる（Table 1-1, Fig. 1-1c）。日本の花ウメの分類方法には諸説あるが、形態的特性から三つの系七つの性に分類するのが一般的である（Mega *et al.* 1988, 堀内ら 1996）。

一方、実ウメとして栽培された歴史は浅いが、収量が多く加工適性に優れている系統が日本各地で選抜されてきた。実ウメ品種は花ウメの中から選抜されてきたと考えられており、実ウメの花は一重で白色の品種が多く、樹勢は花ウメより強い。実ウメは、大きさ別に10g程度のものを小梅、30g以上のものを大梅、その中間のものを中梅として分類されている（Fig. 1-2a, b, c, 堀内ら 1996, Yoshida and Yamanishi 1988）。更に、実ウメにはアンズやニホンスモモと交雑したと推察される品種が存在する（Fig. 1-2d, e, 上林 1927, 吉田 1984b, Yoshida and Yamanishi 1988, Tzonev and Yamaguchi 1999）。特に、ウメとアンズは、寒い地域や年には開花期が重なることから、自然交雑する機会も多いと考えら

れる（吉田 1984b, Yoshida and Yamanishi 1988, Tzonev and Yamaguchi 1999）。種間雑種と考えられる個体は、形態的にも両者の中間の形質を持つことが知られている。太田ら（2004, 2006）は、ウメとアズキの雑種と考えられる‘西洋梅’、‘高田梅’、‘伊那豊後’、‘太平’、‘節田’及び‘黒田’の栽培品種の葉緑体 DNA の *trnL-trnF* 領域は、他のウメ品種と違いアズキと同じように約 200 bp が欠失していたことを報告し、これらアズキ型の *trnL-trnF* 領域をもつウメ品種の母系は、アズキであると指摘している。

日本のウメは、中国から弥生時代に中国から伝わったと言われている（田中 1936, Mega *et al.* 1988, Yoshida and Yamanishi 1988, Mehlenbacher *et al.* 1991, 堀内ら 1996）。中国では、実ウメ栽培の歴史が 3000 年以上あり、原生地があることから遺伝的に多様なウメが存在していると考えられる（堀内ら 1996）。台湾へも古い時代にウメは大陸から伝わり、亜熱帯地方に適応したウメが栽培され、代表的な品種に‘二青梅 (Elliching)’がある (Fig. 1-2f)。近年の地球温暖化の影響で、日本の果樹や作物にも悪影響が出始めているが、亜熱帯地方のウメと交雑することで、温暖化に対応した形質を獲得できると考えられる。そのためには、台湾と日本のウメの遺伝的な関係を調べることは重要である。

これまでに、ウメ品種の分類及び識別は、形態的特徴 (Yoshida and Yamanishi 1988)、アイソザイム (氏家ら 1991)、RAPD (Shimada *et al.* 1994)、AFLP 法 (Fang *et al.* 2005) 及び葉緑体ゲノム (太田ら 2006) により行なわれてきた。しかしながら、これらの報告では、供試した品種・系統数が少なく、知見が断片的であった。また、ゲノム研究で日本の花ウメを遺伝的に多様性解析した報告は少なく、花ウメの伝統的な系と性による分類と比較した報告は少ない。更に、共

通の DNA マーカーを用い、花ウメと実ウメの遺伝的多様性を解析した報告は少なく、特に花ウメと実ウメの遺伝的な関連については、知見が限られている。

今までに、ウメで利用できる DNA マーカーとして、自家和合性を判別するマーカーがある (Tao *et al.* 2000, 2002, Yaegaki *et al.* 2001)。ウメの多くは自家不和合性で受粉樹を必要とするが、小梅のように自家受粉して結実する自家和合性の品種がある (八重垣ら 2002b、林ら 2004)。自家和合性の品種は *S*-RNase 遺伝子座に *S* 遺伝子を持つ (Tao *et al.* 2000)。この *S* 遺伝子を DNA マーカーとして用いることにより、自家和合性個体を幼苗時に選抜することができ、ウメの育種に役立てられている。このウメの自家和合性を判別する DNA マーカーは甘果オウトウから開発され (Tao *et al.* 1999)、同じ核果類であるウメで利用可能であった (Tao *et al.* 2000, 2002, Yaegaki *et al.* 2001)。本研究で用いる SSR マーカーも、近縁の植物で高い汎用性を示しており、モモで開発された SSR マーカーを使い、サクラの多様性解析や親子判別を行った研究が報告されている (Ohta *et al.* 2005, Iketani *et al.* 2007)。更に、モモやオウトウ由来の SSR マーカーが、中国由来のウメで利用できることが報告されている。(Gao *et al.* 2004)

本章では、モモとアンズから開発された 58 種類の SSR マーカーのうちウメで利用可能なものを選択した。ウメで利用可能であることを確認した 14 種類の SSR マーカーを用いて、日本で栽培されている実ウメと花ウメ品種・系統、東アジアのウメ品種を含めた 127 品種・系統を材料にして、遺伝的多様性と類縁性について解析した。更に、種間雑種由来の系統について、遺伝的類縁性を考察した。

第2節 実験材料および方法

1. 実験材料

本研究には、日本由来のウメ (*Prunus mume* Siebold et Zucc.) 111 品種・系統、中国由来の 8 系統、台湾由来の 7 系統及びタイ由来 1 系統、合計 127 品種・系統を材料に用いた。日本由来の 111 品種・系統のうち果実収穫用の実ウメは 56 品種・系統で、その他 55 品種・系統は鑑賞用の花ウメである。また、近縁のアンズと比較するために‘平和’、‘小笠原’と‘信陽’の 3 品種も用いた (Table 2-1)。供試品種・系統の由来や特徴の詳細は Table 2-1 に示すとともに、考察で論じた品種の簡単な特性について下記に記載した。

日本由来の実ウメ 56 品種・系統のうち、小梅は 11、豊後系は 6、その他の実ウメは 39 品種・系統であった (Table 2-1a, b)。供試した小梅品種の‘パープルクィーン’は‘白王’の枝変わりで、‘白王’は‘甲州最小’の変異系統と言われている。豊後系の実ウメ 6 品種・系統は‘太平’、‘西洋梅’、‘高田梅’、‘伊那豊後’、‘豊後’と‘節田’を供試した (Table 2-1a)。「青軸」は緑萼で野梅性青軸系に属する。その他の実ウメ品種の系や性は不明である (Table 2-1a, b)。

日本由来の花ウメ 55 品種のうち、野梅系野梅性は 16、紅梅系は 12、豊後系は 7、系及び性不明の花ウメは 14 品種・系統であった (Table 2-1c, d)。供試した野梅系品種の中で、‘一重緑萼’と‘大輪緑萼’は、青軸性に属する。紅梅系の 12 品種・系統は、‘守の関’、‘紅千鳥’、‘大盃’、‘鹿児島紅’、‘黒光’、‘黒雲’、‘幾夜寝覚’、‘新平家’、‘金錦’、‘紅梅’、‘栄冠’と‘寒梅枝垂れ’を用いた (Table 2-1d)。豊後系の 7 品種・系統は、豊後性の‘黒田梅’、‘武蔵野’、‘白牡丹’と‘巻立山’、杏性の‘杆子紅’と‘淋子梅’、性不明の‘未開紅’

である (Table 2-1d)。豊後系の花はウメの中でも大きく、‘武蔵野’はウメの中で最も大きいと言われている (堀内ら 1996)。

中国のウメ 8 系統は ‘中国ウメわかやま 1~8 号’ を用いたが、その詳細な来歴は不明である。‘中国ウメわかやま 5 号’ と ‘中国ウメわかやま 7 号’ は果実収穫用の実ウメで、他は花ウメと思われる (Table 2-1b)。台湾のウメ 7 系統は、実ウメの ‘Ellching’、花ウメの ‘台湾ウメ 85491’、実ウメか花ウメか不明である ‘台湾野生梅’ と ‘台湾ウメ 85-065’、詳細な来歴は不明である実ウメ 3 系統 ‘台湾ウメわかやま 1~3 号’ を用いた。また、タイ由来の実ウメ 1 系統 ‘タイウメわかやま 1 号’ も、詳細な来歴は不明である。(Table 2-1c)。今回、供試した中国、台湾及びタイ由来のウメは、全て花が白色で一重である (Table 2-1b, c)。

材料である葉は新葉の柔らかい幼葉を採取し、和歌山県農林水産総合技術センター果樹試験場うめ研究所 (和歌山県みなべ町)、農研機構果樹研究所 (茨城県つくば市)、福井県園芸試験場 (福井県美浜町)、長野県果樹試験場 (長野県須坂市) から収集した (Table 2-1a, b, c, d)。

2. ウメの葉からの DNA 抽出

材料には、4~5 月頃に柔らかい幼葉をサンプリングし、使用時まで -30 °C で保存した。全ゲノム DNA の抽出には DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) を用い、Qiagen 社の手順書を一部改変して行った。100 mg の葉を液体窒素により凍結し、乳鉢と乳棒ですりつぶして粉碎し、1.5 ml エッペンドルフチューブに移した。400 µl の AP1 溶液、4 µl の RNase 溶液 (100 mg/ml)、8 µl の 2-メルカプトエタ

ノールと 4 mg のポリビニルピロリドンを加え、65 °C で 15 分間インキュベートした。次に AP2 バッファー 135 μ l を加えて氷上で 5 分間静置し、チューブを 14,000 rpm で 5 分遠心分離し (CF15RXE II, Hitachi)、上澄み液を QIA shredder spin column に移した。更に遠心分離 (14,000 rpm, 1 min) し、上澄み液を回収した。回収した上澄み液は 2.0 ml のマイクロチューブに入れ、1.5 倍量の AP3 バッファーを加えてボルテックスまたはピペッティングによりよく混和し、DNeasy Mini Spin Column で 2-3 回に分けて遠心分離 (14,000 rpm, 1 min) によりカラムへ吸着させた。吸着した DNA は 500 μ l の AW buffer で遠心分離 (15,000 rpm, 1 min, CF15RXE II) してカラムに吸着した DNA を洗う操作を 2 回繰り返し、再度遠心分離 (15,000 rpm, 1 min, CF15RXE II) により完全にエタノールを除去した。65 °C に温めていた 50 μ l の滅菌ミリ Q 水をカラムに加え、室温に 5 分間静置し、その後、遠心分離 (15,000 rpm, 1 min, CF15RXE II) で DNA を溶出回収した。この操作はもう一度行った。得られた DNA 溶液は 2 μ l を 1.0 % アガロースゲルで電気泳動し (i-Mupid2, Atto)、DNA 濃度の対照として 50, 100 ng の λ DNA と比較し定量した。

3. SSR マーカー分析方法

PCR 反応は、PCR system-2700 (Applied Biosystems, 以下 ABI) を用い、下記の条件で行った。反応液は、10 倍濃度反応緩衝液 (Invitrogen) 2.0 μ l、dNTPs mixture (dATP, dTTP, dGTP, dCTP 各 2.5 mM) 1.6 μ l、蛍光色素がラベルされたフォワードプライマー (10 μ M) とリバースプライマー (10 μ M) を混和した溶液 1.0 μ l、Taq ポリメラーゼ (5 unit / μ l, Invitrogen) 0.1 μ l と鋳型 DNA (10 ng/ μ l) 2.0

μl を PCR チューブに加え、滅菌水で 20 μl に調整した。反応条件は、94 °C を 4 分の後、94 °C を 1 分、57 °C を 1 分、72 °C を 1 分の反応サイクルを 35 回繰り返し、最後に 72 °C を 7 分で終了した。SSR プライマーは、モモのゲノム DNA 由来の 29 種類 (Sosinski *et al.* 2000, Testolin *et al.* 2000, Yamamoto *et al.* 2002)、モモの cDNA 由来 8 種類 (Yamamoto *et al.* 2002)、アズキのゲノム DNA 由来 21 種類 (Lopes *et al.* 2002) の合計 58 種類を使用した (Table 2-2a, b)。

PCR 反応液の組成

10×Reaction buffer (Invitrogen)	2.0 μl
2.5mM dNTPs mixture	1.6 μl
Primer mix (forward* 10 μM+reverse 10 μM)	1.0 μl
Taq polymerase (5 unit/μl ; Invitrogen)	0.1 μl
Template DNA (10 ng/μl)	2.0 μl
MilliQ water	13.3 μl
Total	20.0 μl

*Labeled with fluorescent chemical (Fam/Tet/Hex or Fam/Vic/Ned)

PCR 反応条件

94 °C	4 min.	} ×35 cycles
94 °C	1 min.	
57 °C	1 min.	
72 °C	1 min.	
72 °C	7 min.	
4 °C	∞	

4. S-RNase マーカー分析手法

本研究では、Yaegaki *et al.* (2001) の手法を参考に行った。PCR 反応は、PCR system-2700 (ABI) を使い、下記の条件で行った。反応液は、10 倍濃度反応緩衝液 (Takara) 2.0 μl、dNTPs mixture (dATP, dTTP, dGTP, dCTP 各 2.5 mM) 1.6 μl、フォワード C2 プライマー (10 μM) 0.4 μl、リバーズ C5 プライマー (10 μM)

0.4 μ l、Ex-Taq ポリメラーゼ (5 unit / μ l, Takara) 0.1 μ l と鋳型 DNA (10 ng/ μ l) 2.0 μ l を PCR チューブに加え、滅菌水で 20 μ l に調整した。反応条件は、94 °C を 3 分の後、94 °C を 1 分、57 °C を 1 分、72 °C を 1 分 30 秒の反応サイクルを 35 回繰り返し、最後に 72 °C を 7 分で終了した。

使用したプライマーと塩基配列

Forward primer

C2: 5'-CTATGGCCAAGTAATTATTCAAACC-3'

Reverse primer

C5: 5'-TACCACTTCATGTAACAACACTGAG-3'

PCR 反応液の組成

10 \times Reaction buffer (Takara)	2.0 μ l
2.5mM dNTPs mixture	1.6 μ l
C2 primer (10 μ M)	0.4 μ l
C5 primer (10 μ M)	0.4 μ l
Ex-Taq polymerase (5 unit/ μ l ; Takara)	0.1 μ l
Template DNA (10 ng/ μ l)	2.0 μ l
<u>MilliQ water</u>	<u>13.5 μl</u>
Total	20.0 μ l

PCR 反応条件

94 °C	3 min.	} \times 35 cycles
94 °C	1 min.	
57 °C	1 min.	
72 °C	1.5 min.	
72 °C	7 min.	
4 °C	∞	

5. *trnL-trnF* 領域の PCR 反応による増幅

Taberlet *et al.* (1991) の文献を参考に行った。PCR 反応は、PCR system-2700 (ABI) を用い、下記の条件で行った。反応液は、10 倍濃度反応緩衝液 (Invitrogen) 2.0 μ l、dNTPs mixture (dATP, dTTP, dGTP, dCTP 各 2.5 mM) 1.6 μ l、フォワード

プライマー (10 μ M) とリバースプライマー (10 μ M) を混和した溶液 1.0 μ l、
Taq ポリメラーゼ (5 unit / μ l, Invitrogen) 0.1 μ l と鋳型 DNA (10 ng/ μ l) 1.0 μ l を
PCR チューブに加え、滅菌水で 20 μ l に調整した。反応条件は、94 °C を 2 分の
後、94 °C を 1 分、57 °C を 1 分、72 °C を 2 分の反応サイクルを 35 回繰り返し、
最後に 72 °C を 7 分で終了した。

使用したプライマーと塩基配列

Forward primer: 5'-GGTTCAAGTCCCTCTATCCC-3'

Reverse primer: 5'-ATTTGAACTGGTGACACGAG -3'

PCR 反応液の組成

10 \times Reaction buffer (Invitrogen)	2.0 μ l
2.5 mM dNTPs mixture	1.6 μ l
Primer mix (forward 10 μ M + reverse 10 μ M)	1.0 μ l
Taq polymerase (5 unit/ μ l ; Invitrogen)	0.1 μ l
Template DNA (10 ng/ μ l)	1.0 μ l
<u>MilliQ water</u>	<u>14.3 μl</u>
Total	20.0 μ l

PCR 反応条件

94 °C	2 min	} $\times 30$ cycles
94 °C	1 min	
57 °C	1 min	
72 °C	2 min	
72 °C	7 min	
4 °C	∞	

6. 増幅産物の分離と解析

1) SSR マーカーによる PCR 増幅産物の分離と解析

モモ由来のSSRマーカーではフォワード プライマーにFamもしくは Tetも
しくはHex (フィルターセットCの蛍光色素) を、アンズ由来のSSRマーカーは

FamもしくはVicもしくはNed（フィルターセットDの蛍光色素）をラベルしたものをを用いた。そのため、蛍光色素の違いから、モモ由来のSSRマーカーによる増幅産物の分離は、PRISM™ 377 DNA シークエンサー（ABI）を、アンズ由来のSSRマーカーによる増幅産物は、PRISM 3100 DNA シークエンサー（ABI）を使用した（Fig. 1-3）。増幅産物の大きさを測定するため、内部標準DNAにPRISM™ 377 ではGeneScan-350TAMRA（ABI）を、PRISM 3100 では400HD-ROX（ABI）を用いた。PCR増幅産物は1/10 TE 緩衝液（40 mM Tris-HCl 緩衝液(pH 7.4), 0.1 mM EDTA）で20~60倍に希釈した。試料の調製はPCR産物の希釈溶液を1 µl、標準DNA溶液350TAMRAあるいは400HD-ROXを0.4 µl、HiDi Formamid 13 µlで調整し、95 °Cで5分間加熱し、氷中で急冷して変性させた。シークエンサーで増幅産物を分離後、GeneScanソフトウェア（ABI）を使って解析した（Fig. 1-1）。

2) *S*-RNase と *trnL-trnF* 領域の増幅産物の分離

PCR 増幅産物は、1.0 %アガロース（Agarose LO3, Takara）ゲルを用いて分離した。緩衝液は、TAE 緩衝液（40 mM Tris-HCl 緩衝液(pH 7.4), 20 mM 酢酸ナトリウム, 1 mM EDTA）を用いた。試料は、DNA 溶液に1/5容量の6倍濃度泳動用染色液（60 % スクロース, 10 mM EDTA, 0.25 %ブロモフェノールブルー）を加えて調製した。泳動はi-ムーピッドJ（Atto）を使い、定電圧100 Vで行った。泳動後、ゲルをエチジウムブロマイド水溶液（5 µg/ml）で染色し、トランスイルミネーター（Ultra Violet C62）でDNAバンドを観察した。写真はプリントグラフ（AE-6915UV, Atto）によって撮影した。また、DNA断片の分子量

の推定にはλ cI857Sam7 フェージ DNA (Takara) の *Hind*III断片 (23.1 kb, 9.4 kb, 6.6 kb, 4.4 kb, 2.3 kb, 2.0 kb, 0.6 kb) あるいは 100bp ラダー断片 (100~1000 bp, Takara) を用いた。

7. データ分析

ヘテロ接合度の観察値 H_O と期待値 H_E は、枝変わりや異名同系統を除いて CERVUS ver. 2.0 ソフトウェア (Marshall *et al.* 1998) を使って算出した。 H_O は各遺伝子座におけるある集団内で表れるヘテロの遺伝子型の頻度を示す。 H_E はハーディ・ワインバーグ平衡を仮定し、 $H_E = 1 - \sum_{i=1}^m p_i^2$ で算出される。 m は集団内でのある遺伝子座の対立遺伝子数を表し、 p_i は対立遺伝子の頻度を表す。

クラスター解析にはDice's法により算出した品種・系統間の類似度から、UPGMA (unweighted pair-group method using arithmetic average)法により、NTSYS-pc, ver. 2.01 (Rohlf 1998) を使って樹形図を作成した。Dice's法による類似度は、ある品種XとYにおけるSSR対立遺伝子数を n_x と n_y とし、両者に共通のSSR対立遺伝子数 n_{xy} とすると、 $Dc = 2 n_{xy}/(n_x+n_y)$ の式で算出した。

第3節 結果

1. ウメにおける SSR マーカーの増幅

ウメの多様性解析に利用できるSSRマーカーを探索するため、モモとアンズで設計された58種類のプライマーを用い、ウメ7系統、‘南高’、‘白加賀’、‘地蔵’、‘加賀地蔵’、‘紅サシ’、‘織姫’及び‘NJ43’（‘南高’×‘地蔵’のF₁）で増幅を調査した（Fig. 2-1a, b）。その結果、58種類のSSRマーカーのうち39種類で、供試したウメ7系統において、1本あるいは2本の増幅産物が得られ、ウメで利用できると考えられた（データ省略）。37種類のモモ由来のSSRマーカーのうち25種類（67.6%）が、21種類のアンズ由来のSSRマーカーのうち14種類（66.7%）がウメで利用でき、モモとアンズで利用可能なマーカーはほぼ同じ割合であった。更に、増幅産物の波形の安定性やスコアのしやすさ（Fig. 2-1a, b）、多型程度、*Prunus*標準地図（Dirlewanger *et al.* 2004, Howad *et al.* 2005）上の位置を勘案して、14種類のSSRマーカーを選抜した（Table 2-3, 4）。選抜したSSRマーカーのうち、UDP96-001、pchgms3、MA007a、MA010a、MA017a、MA040a、MA053aはモモのゲノムDNA由来、M6a、M7aはモモのcDNA由来、PaCITA4、PaCITA7、PaCITA12、PaCITA19、PaCITA21 はアンズのゲノムDNA由来であった。

2. SSR 分析によるウメの遺伝的多様性

14種類のSSRマーカーで127系統を解析したところ、合計で155の推定対立遺伝子が得られ、1遺伝子座あたりでは平均11.1の対立遺伝子であった。最も

対立遺伝子数が多かった SSR 座は PaCITA7 の 18 で、次いで、PaCITA4 の 17、M6a の 16 であった。対立遺伝子数が少なかったのは、PaCITA12 の 4、次いで、MA040a と MA053a の 5 であった (Table 2-3, 4)。

14 種類の SSR から得られた遺伝子型数は、合計で 349 であり、1 座あたりで 24.9 であった (Table 2-3, 4)。多くの遺伝子型が得られた SSR 座は、PaCITA7 の 63、PaCITA4 の 44、MA007a の 38 及び pchgms3 の 32 で、30 以上あった。また、得られた遺伝子型数が少なかったのは、PaCITA12 の 5、MA053a の 9 であった。

ヘテロ接合度の観察値 (H_o) では、14 の SSR 座の平均値が 0.61 であった (Table 2-4)。ヘテロ接合度の観察値 (H_o) が最も大きかった SSR 座は、PaCITA7 の 0.88 で、一方最も小さかったのは PaCITA12 の 0.29 であった。ヘテロ接合度の期待値 (H_E) では、14 の SSR 座の平均値が 0.68 であった (Table 2-4)。期待値 (H_E) が最も大きかったのは、PaCITA7 の 0.92 で、一方最も小さかったのは、PaCITA12 では 0.32 であった (Table 2-4)。

3. 枝変わりと異名同系統

今回の解析で 127 品種・系統のうち 21 品種は、14 の SSR 遺伝子座で他の系統と同じ遺伝子型を示し、それぞれを識別できなかった (Table 2-3, 5)。それ以外の品種・系統は、14 の SSR マーカーにより全て識別することができた。これら 21 品種で、同じ遺伝子型をもつ品種をグループにすると、それぞれ 2 から 4 品種を含む 9 つのグループを形成した (Table 2-5)。すなわち、実ウメでは‘地蔵’と‘新平太夫’のグループ、‘児玉’と‘金熊寺’のグループ、‘林州’と

‘花香実’のグループ、‘甲州最小’、‘白王’と‘パープルクィーン’のグループ、‘白加賀’、‘古城’、‘小向’と‘玉英’のグループであった。花ウメでは‘幾夜寝覚’と‘錦光’のグループ、‘柳川絞り’と‘春日野’のグループ、‘長束’と‘下助梅’のグループ、‘長谷川絞り’と‘更紗’のグループであった。9つのグループのうち実ウメである5つのグループ13品種について、更に他の7種類のSSR分析を行ったが差異はなく (Table 2-6)、またS遺伝子も全て同じ遺伝子型を示した (Fig. 2-2, Table 2-6)。

4. SSR 分析結果から導いた樹形図

アンズ3品種を含む130品種・系統で得られた遺伝子型を基に品種間の類似度をDice's法で算出し、UPGMA法によりクラスター解析を行った。得られた樹形図では、3つの特徴あるA, B及びCのグループが見出された (Fig. 2-3)。グループAは、アンズ3品種と豊後系として分類された9品種のウメで構成された。グループBは、日本の実ウメ及び花ウメのほとんど全ての品種と中国原産の8品種・系統で構成された。Cグループは台湾原産の7品種・系統とタイの1系統で構成された (Fig. 2-3)。

今回の解析では、供試した実ウメ56品種と花ウメ55品種は、Aグループに分けられた豊後系の9品種を除き、多少偏りが見られるものの全体的には入り混じっており、明確な遺伝的な差異は見出されなかった (Fig. 2-3)。その中で、花ウメは2つのサブグループを形成し、伝統的な系と性による分類と一部合致していた (B-1, B-2 in Fig. 2-3)。B-1のサブグループは主に紅梅系が中心で、全て花の赤い花ウメ品種からなり、枝の切り口も赤いものが多い (Fig. 2-3, Table

2-1d)。B-2 は供試した青軸性 3 系統であった (Fig.2-3, Table 2-1b, c)。

5. 葉緑体 DNA の *trnL-trnF* 領域の解析

本研究で供試した 130 系統について、*trnL-trnF* 領域の PCR 解析を行ったところ、200bp の欠失がないもの、すなわち母系がアンズと考えられる品種は、アンズ 3 品種と豊後系のウメ 10 品種の計 13 品種であった (Fig. 2-4, Table 2-7)。

‘白牡丹’、‘巻立山’ と ‘未開紅’ は豊後系であるが、ほとんどのウメと同じように *trnL-trnF* 領域に欠失があった (Fig. 2-4, ‘巻立山’ はデータ略)。Fig. 2-3 の樹形図で A グループに分類された 12 品種の *trnL-trnF* 領域は、全て欠失がなかった (Fig. 2-4, Table 2-7)。

第4節 考察

本研究では、モモとアンズで開発された 58 種類の SSR マーカーのうち 39 種類 (67.2 %) について、ウメで 1 つあるいは 2 つの増幅産物が得られ、種を超えて利用できることが示された。SSR マーカーは *Prunus* 属内で汎用性があることが知られている (Cipriani *et al.* 1999, Dirlewanger *et al.* 2002, Gao *et al.* 2004, Ohta *et al.* 2005)。Dirlewanger *et al.* (2004) らは、モモで開発した SSR マーカーの 92.7 %がアンズに利用可能であること、Cipriani *et al.* (1999) らは、モモで開発された SSR マーカーの 76 %がアンズとニホンスモモに利用可能であることを報告しており、本研究での種を越えてウメで利用可能な SSR の割合に近い値であった。モモやオウトウで開発された SSR マーカーがウメでも利用できることは Gao *et al.* (2004) により報告されている。Gao *et al.* (2004) は、中国に由来する実ウメ品種を中心に、モモ、甘果オウトウや酸果オウトウで開発された 24 種類の SSR マーカーを試したところ、うち 14 種類が利用できることを報告している。今回利用できることが分かった 39 種類と、Gao *et al.* (2004) が報告した 14 種類で共通なのは、pchgms3 だけであり、合わせて 52 種類がウメで利用できることが明らかになった。

本研究で多様性解析に用いた 14 種類の SSR マーカーは、*Prunus* 標準地図上では、8 つの連鎖群に分散して存在している (Dirlewanger *et al.* 2004, Howad *et al.* 2005)。第 6、8 連鎖群に 3 つの SSR マーカー (LG6:UDP96-001, MA040a, PaCITA12, LG8: MA017a, M6a, M7a) が座乗し、第 1 連鎖群に 2 つのマーカー (pchgms3, PaCITA7)、第 2、3、4、5、7 連鎖群に 1 つずつマーカー (それぞれ MA007a, PaCITA4,

MA053a, PaCITA21, MA010a) が位置していた。なお、PaCITA19 の座乗位置は不明である。同一連鎖群に複数の SSR マーカーが座乗しているものも、10cM 以上離れて位置していることから、偏ったゲノム領域に存在する SSR マーカーでの解析を避けることができた。

14 種類の SSR マーカーで 127 系統を解析したところ、合計で 155 種類の推定対立遺伝子が得られ、1 遺伝子座あたりでは平均 11.1 の対立遺伝子であった。ヘテロ接合型の観察値 (H_o) は 0.29~0.88 (平均 0.61) で、観察値 (H_e) は 0.32~0.92 (平均 0.68) であった。Gao *et al.* (2004) は中国由来のウメ 24 品種を SSR 分析したところで 1~18 の対立遺伝子が得られ平均 2.5 であったと報告していた。Yamamoto *et al.* (2002) はモモ 14 品種を SSR マーカーで解析したところ、1 遺伝子座あたり 1~9 の対立遺伝子が得られ、Lopes *et al.* (2002) は 25 品種のアンズを解析したところ、1 遺伝子座あたり 3~12 の対立遺伝子が得られ、Ohta *et al.* (2005) は 144 系統のサクラを解析したところ、4~36 (平均 17.3) の対立遺伝子が得られたと報告している。これらのことから、本研究でウメを SSR 分析したデータは、高いヘテロ性を示し、遺伝的な多様性を解析するのに十分であったことを表している。

SSR 遺伝子型に差異がなかった‘白加賀’、‘古城’、‘玉英’及び‘小向’の 4 品種は、全て雄性不稔性を示し (八重垣ら 2002a)、形態もよく似ている (データ略)。このことから、この 4 品種は同一のクローンである可能性が高く、最も古くからある‘白加賀’の枝変わりもしくは異名同系統と考えられる。今回の供試材料にはいれなかったが、他にも‘白加賀’と似た形態で SSR 遺伝子型や S 遺伝子型が同じ異名の 5 系統を確認している。‘白加賀’は古い時代に全国

各地に広まり、各地域特産のウメとして異なる名前が付けられたと思われる。その他、‘地藏’と‘新平太夫’のグループ、‘児玉’と‘金熊寺’のグループ、‘林州’と‘花香実’のグループもそれぞれ似た形態を持っており、異名同系統の可能性が考えられる。‘パープルクィーン’は、‘白王’の枝変わりであり、果皮が紫色になる果実形質で見分けることができる (Fig. 2-5)。SSR 分析でも、‘パープルクィーン’は‘白王’の枝変わりであることが再認識できた。モモでは SSR マーカーの数が少ないため、枝変わりの違いを SSR 分析で検出することは困難であった。(Yamamoto *et al.* 2003b, Mase *et al.* 2007)。それゆえに、枝変わりを区別するためには、より多くの SSR マーカーを含む DNA マーカーを使うか、あるいは、RLGS (Restriction Landmark Genomic Scanning) 分析のような手法を用いる必要があると考えられた。

日本の実ウメと花ウメは、SSR マーカーを用いて遺伝的に分けることができず、1つのグループにまとまった。実ウメと花ウメが B グループで全体に入り混じっていたことは、これらの由来、鑑賞や果実生産といった利用目的、形態的特徴に関連が見られなかったことを示唆している。今回の結果は、実ウメは花ウメから選抜されたと考えられる従来からの仮説を支持するものであった。花ウメの一部の品種が B グループとは別のグループやいくつかのサブグループに属したことは、今日の実ウメ品種が形成する過程であることを示している。

台湾やタイ由来のウメは、全てグループ C に区別され、他のウメと明確に区別された (Fig. 2-3, Table 2-1b)。RAPD 解析でも、台湾由来のウメと日本のウメに違いがあったことが報告されている (Shimada *et al.* 1994)。台湾やタイ由来のウメは、開花期が早く落葉期も遅いため、休眠が浅いことが知られている

(Yamane *et al.* 2006)。これらの特徴は、南の暖かい地域に適応し得られた形質と考えられ、SSR解析でも明確な違いが得られた。このことは、南方の梅が系統的に中国北方及び日本のウメとは離れていることを示している。

一方、中国由来のウメ 8 品種は B グループ内に散在し、日本のウメと区別がつかなかった (Fig. 2-3)。Gao *et al.* (2004) によると、中国のウメを中心とした SSR 解析でも、供試した日本のウメ 5 品種と中国のウメ 19 品種を区別することはできなかった。日本のウメは中国から伝来したと言われ (Yoshida and Yamanishi 1988)、今回の解析からも、従来の説を確認するとともに、日本と中国のウメは遺伝的に関係が深いと考えられ、また、日本のウメの起源地は中国北方系に由来すると考えられる。日本国内外だけでなく広範囲なウメの遺伝的多様性を理解するには、中国各地の多様な遺伝資源を分析する必要がある。

豊後系の 13 品種のうち 9 品種が、アンズ 3 品種と同じ A グループに入り、他のウメと明確に分けられた。豊後系の品種は、ウメの中でも、花や果実は大きく、開花時期や収穫期は晩生でアンズの様な形質を持っていることから、ウメとアンズの種間雑種と考えられる (Yoshida and Yamanishi 1988, Mehlenbacher *et al.* 1991, Tzonev and Yamaguchi 1999)。SSR 分析は豊後系の多くの品種でアンズによる遺伝的な影響を示した。豊後系の‘太平’、‘白牡丹’、‘未開紅’と‘巻立山’ 4 品種はアンズの形質を持つが、B グループへ分類された。このことは、ウメとアンズは単純な F₁ 交雑ではなく、複雑に交雑を繰り返してきた可能性が考えられ、アンズの遺伝的な影響を調べるにはより詳しく分析していく必要がある。A グループにはいった豊後系 9 品種はアンズと同じように *trnL-trnF* 領域で 200bp が欠失はなく、母系をアンズとする種間雑種と考えられる。

本研究の SSR 分析による解析結果は、ウメを 3 つの大きなグループ（アンズとウメの豊後系のグループ、台湾やタイ由来の亜熱帯系統のグループ、日本と中国の系統のグループ）に分類した。日本の実ウメと花ウメ及び中国のウメは入り混じっていた。このことは、従来からの二つの仮説、日本のウメは中国から伝来したこと、実ウメは花ウメ品種の中から選抜されてきたことを確認するものであったと考えられる。本研究から見出された情報は、ウメの遺伝的多様性は育種研究に役立てられ、また SSR のデータはウメの DNA 鑑定による品種識別や親子鑑定に利用できると考えられる。

Table 2-1a. Japanese apricot and apricot cultivars used in this study

Code No.	Cultivar or accession name ¹⁾	In Japanese	Purpose ²⁾	Origin etc.	Ornamental characteristics				Collection site (JP accession No. ⁴⁾)
					Flower color	Flower type	Others	Group ³⁾	
Fa1	Orihime	織姫	PF	Saitama	white	single		unknown	Minabe (172776)
Fa2	Koushuu Saisyuu	甲州最小	PF	Nara	white	single		unknown	Minabe (113057)
Fa3	Purple Queen	パープルクイーン	PF	Wakayama	white	single		unknown	Minabe
Fa4	Hakuou	白王	PF	Wakayama	white	single		unknown	Minabe
Fa5	Maewawa Koume	前沢小梅	PF	Nagano	white	single		unknown	Minabe
Fa6	Beniou	紅王	PF	Wakayama	white	single		unknown	Minabe
Fa7	Kinugasa	衣笠	PF	Wakayama	white	single		unknown	Minabe
Fa8	Ryuukyuu Koume	竜峡小梅	PF	Nagano	white	single		unknown	Minabe (172779)
Fa9	Shinano Koume	信濃小梅	PF	Nagano	white	single		unknown	Minabe
Fa10	Kouyou Koume	光陽小梅	PF	Nara	white	single		unknown	Minabe
Fa11	Koushuu Shinkou	甲州深紅	PF	Nara	white	single		unknown	NIFTS (113058)
Fb1	Seiyoubai	西洋梅	PF	Hokkaido	pink	single		B/	Minabe (172782)
Fb2	Taihei	太平	PF	old cultivar	white	single		B/	Minabe (174241)
Fb3	Bungo	豊後	PF	Oita	pink	single		B/	Minabe
Fb4	Fushida	節田	PF	unknown	white	single		B/	Minabe
Fb5	Takadaume	高田梅	PF	Fukushima	white	single		B/	Minabe (174243)
Fb6	Inabungo	伊那豊後	PF	Nagano	white	double		B/	Minabe
Fd1	Nankou	南高	PF	Wakayama	white	single		unknown	Minabe (172773)
Fd2	Shirokaga	白加賀	PF	old cultivar	white	single		unknown	Minabe (172785)
Fd3	Kairyuu Uchidaume	改良内田	PF	Wakayama	white	single		unknown	Minabe (170661)
Fd4	Benisashi	紅サン	PF	Fukui	white	single		unknown	Minabe (113065)
Fd5	Hanakami	花香実	PF	old cultivar	white	double		unknown	Minabe (170639)
Fd6	Shinheidayu	新平大夫	PF	Fukui	white	single		unknown	Minabe
Fd7	Kotsubu Nankou	小粒南高	PF	Wakayama	white	single		unknown	Minabe
Fd8	Kaidarewase	皆平早生	PF	Wakayama	white	single		unknown	Minabe
Fd9	Shiroshima	白玉	PF	Wakayama	white	single		unknown	Minabe (113054)
Fd10	Jizoume	地藏梅	PF	Wakayama	white	single		unknown	Minabe (172768)
Fd11	Yousei	養青	PF	Wakayama	pink	single		unknown	Minabe (174255)
Fd12	Yakushiume	薬師梅	PF	Wakayama	white	single		unknown	Minabe (174252)
Fd13	Gojirou	古城	PF	Wakayama	white	single		unknown	Minabe (172766)

¹⁾Romanization of Japanese names are followed the system of the Genebank of the National Institute of Agrobiological Sciences.

²⁾PF and OF denote processed fruits and ornamental flowers, respectively.

³⁾Group and subgroup of accessions for ornamental flowers is denoted based on the Japanese traditional classification: Y/Y, Yabai group/Yabai subgroup; Y/A, Yabai/Aojiku; Y/N, Yabai/Naniwa; K/K, Koubai/Koubai; B/B, Bungo/Bungo; B/A, Bungo/Anzu.

⁴⁾Numbers indicated in parentheses are JP numbers from Genebank of the National Institute of Agrobiological Sciences.

Table 2-1b. Japanese apricot and apricot cultivars used in this study (continued)

Code No.	Cultivar or accession name ¹⁾	In Japanese	Purpose ²⁾	Origin etc.	Ornamental characteristics				Collection site (JP accession No. ⁴⁾)
					Flower color	Flower type	Others	Group ³⁾	
Fd14	Kagajizou	加賀地蔵	PF	Ibaraki, Shirokaga x Jizou	white	single		unknown	Minabe
Fd15	Gyokuei	玉英	PF	Tokyo	white	single		unknown	Minabe (170659)
Fd16	Hachirou	八郎	PF	Ibaraki, offspring of Jizou	white	single		unknown	Minabe
Fd17	Oushuku	鶯宿	PF	Tokushima	white	single		unknown	Minabe (172777)
Fd18	Kodama	児玉	PF	unknown	white	single		unknown	Minabe
Fd19	Kinnyuuji	金熊寺	PF	Osaka	white	single		unknown	Minabe
Fd20	Inazumi	稲積	PF	Toyama	white	single		unknown	Fukui (172767)
Fd21	Rinshuu	林州	PF	Nara	white	double		unknown	Minabe (170647)
Fd22	Koshinoume	越の梅	PF	Fukui	white	single		unknown	Fukui
Fd23	Kensaki	剣先	PF	Fukui	white	single		unknown	Minabe (170644)
Fd24	Tougorou	藤五郎	PF	Niigata	pink	single		unknown	Fukui (170651)
Fd25	Juurou	十郎	PF	Kanagawa	white	single		unknown	Minabe (172769)
Fd26	Tenjin	天神	PF	unknown	white	single		unknown	Minabe
Fd27	Toichi	登一	PF	unknown	white	single		unknown	Minabe
Fd28	Jorou	女郎	PF	Aichi	white	single		unknown	Minabe
Fd29	Baigou	梅郷	PF	Tokyo	white	single		unknown	Minabe (170653)
Fd30	Yourou	養老	PF	Wakayama	pink	single		unknown	Minabe (113055)
Fd31	Gessekai	月世界	PF	Tokushima	pink	single		unknown	NIFTS (170658)
Fd32	Gecchibai	月知梅	PF	Miyazaki	white	double		unknown	NIFTS (170638)
Fd33	Natsuka	長束	PF	Aichi	white	single		unknown	NIFTS (172774)
Fd34	Sugita	杉田	PF	Kanagawa	white	single		unknown	NIFTS (174238)
Fd35	Muroya	室谷	PF	Ishikawa	white	single		unknown	NIFTS (172771)
Fd36	Komukai	小向	PF	Kanagawa	white	single		unknown	NIFTS (170646)
Fd37	Shimosukeume	下助梅	PF	unknown	white	single		unknown	NIFTS (172784)
Fd38	Yatsubusa	八房	PF	Akita	white	double		unknown	NIFTS
Fd39	Aojiku	青軸	PF, OF	Nara	white	single	green calyx	Y/A	Minabe
C1	China Mume Wakayama 1	中国ウメわかやま1号	OF	China	white	single		unknown	Minabe
C2	China Mume Wakayama 2	中国ウメわかやま2号	OF	China	white	single		Y/N	Minabe
C3	China Mume Wakayama 3	中国ウメわかやま3号	OF	China	white	single		unknown	Minabe
C4	China Mume Wakayama 4	中国ウメわかやま4号	OF	China	white	single		unknown	Minabe
C5	China Mume Wakayama 5	中国ウメわかやま5号	PF	China	white	single		unknown	Minabe
C6	China Mume Wakayama 6	中国ウメわかやま6号	OF	China	white	single		unknown	Minabe
C7	China Mume Wakayama 7	中国ウメわかやま7号	PF	China	white	single		unknown	Minabe
C8	China Mume Wakayama 8	中国ウメわかやま8号	OF	China	white	single		unknown	Minabe

¹⁾Romanization of Japanese names are followed the system of the Genebank of the National Institute of Agrobiological Sciences.

²⁾PF and OF denote processed fruits and ornamental flowers, respectively.

³⁾Group and subgroup of accessions for ornamental flowers is denoted based on the Japanese traditional classification: Y/Y, Yabai group/Yabai subgroup; Y/A, Yabai/Aojiku; Y/N, Yabai/Naniwa; K/K, Koubai/Koubai; B/B, Bungo/Bungo; B/A, Bungo/Anzu.

⁴⁾Numbers indicated in parentheses are JP numbers from Genebank of the National Institute of Agrobiological Sciences.

Table 2-1c. Japanese apricot and apricot cultivars used in this study (continued)

Code No.	Cultivar or accession name ¹⁾	In Japanese	Purpose ²⁾	Origin etc.	Ornamental characteristics			Group ³⁾	Collection site (JP accession No. ⁴⁾)
					Flower color	Flower type	Others		
T1	Ellching	二青梅	PF	Taiwan	white	single		unknown	Minabe
T2	Taiwan Mume Wakayama 1	台湾ウメわかやま1号	PF	Taiwan	white	single		unknown	Minabe
T3	Taiwan Mume Wakayama 2	台湾ウメわかやま2号	PF	Taiwan	white	single		unknown	Minabe
T4	Taiwan Mume Wakayama 3	台湾ウメわかやま3号	PF	Taiwan	white	single		unknown	Minabe
T5	Taiwan Mume 85-065	台湾ウメ85-065	unknown	Taiwan	white	single		unknown	NIFTS (229937)
T6	Taiwan Yaseiume	台湾野生梅	unknown	Taiwan	white	single		unknown	NIFTS (174242)
T7	Taiwan Mume 85491	台湾ウメ85491	OF	Taiwan	white	single		unknown	NIFTS
Thai	Thailand Mume Wakayama 1	タイウメわかやま1号	PF	Thailand	white	single		unknown	Minabe
La1	Mera	米良	OF	unknown	white	single		Y/Y	Minabe
La2	Yanagawashibori	柳川絞り	OF	unknown	pink	double		Y/Y	Minabe
La3	Tsukushikou	筑紫紅	OF	unknown	pink	double		Y/Y	Minabe
La4	Okina	翁	OF	unknown	white	single		Y/Y	Minabe
La5	Rinchigai	輪違い	OF	unknown	white	double		Y/Y	Minabe
La6	Gekkyuuden	月宮殿	OF	unknown	white	double		Y/Y	Minabe
La7	Seiryuu Shidare	清流枝垂	OF	unknown	white	single	pendulous	Y/Y	Minabe
La8	Jakoubai	麝香梅	OF	unknown	white	double		Y/Y	Minabe
La9	Kankoubai	寒紅梅	OF	unknown	red	single	red branch	Y/Y	NIFTS (170662)
La10	Mangetsu Shidare	満月枝垂	OF	unknown	white	single	pendulous	Y/Y	NIFTS (170671)
La11	Michishirube	道知辺	OF	unknown	red	single		Y/Y	NIFTS (170672)
La12	Kasugano	春日野	OF	unknown	white	double		Y/Y	NIFTS (170663)
La13	Tamabotan	玉牡丹	OF	unknown	white	double		Y/Y	NIFTS (174244)
La14	Touji	冬至	OF	unknown	white	single		Y/Y	NIFTS (174249)
La15	Kenkyou	見驚	OF	unknown	pink	double		Y/Y	NIFTS (170664)
La16	Tamagaki Shidare	玉垣枝垂	OF	unknown	pink	single	pendulous	Y/Y	NIFTS (174245)
La17	Hitoe Ryokugaku	一重緑萼	OF	unknown	white	single	green calyx	Y/A	Minabe
La18	Tairin Ryokugaku	大輪緑萼	OF	unknown	white	double	green calyx	Y/A	NIFTS (113067)
La19	Goshokou	御所紅	OF	unknown	pink	double		Y/N	Minabe
La20	Ukibotan	浮牡丹	OF	unknown	pink	double		Y/N	Minabe
La21	Fujibotan	藤牡丹	OF	unknown	pink	double		Y/N	NIFTS (170657)
La22	Chasenbai	茶煎梅	OF	unknown	white	single		Y/	Minabe

¹⁾ Romanization of Japanese names are followed the system of the Genebank of the National Institute of Agrobiological Sciences.

²⁾ PF and OF denote processed fruits and ornamental flowers, respectively.

³⁾ Group and subgroup of accessions for ornamental flowers is denoted based on the Japanese traditional classification: Y/Y, Yabai group/Yabai subgroup; Y/A, Yabai/Aojiku; Y/N, Yabai/Naniwa; K/K, Koubai/Koubai; B/B, Bungo/Bungo; B/A, Bungo/Anzu.

⁴⁾ Numbers indicated in parentheses are JP numbers from Genebank of the National Institute of Agrobiological Sciences.

Table 2-1d. Japanese apricot and apricot cultivars used in this study (continued)

Code No.	Cultivar or accession name ¹⁾	In Japanese	Purpose ²⁾	Origin etc.	Ornamental characteristics				Collection site (JP accession No. ⁴⁾)
					Flower color	Flower type	Others	Group ³⁾	
Lb1	Kagoshimakou	鹿兒島紅	OF	unknown	red	double	red branch	K/K	Minabe
Lb2	Kurohikari	黒光	OF	unknown	red	double	red branch	K/K	Minabe
Lb3	Morinoseki	守の関	OF	unknown	pink	single	red branch	K/K	Minabe
Lb4	Kurokumo	黒雲	OF	unknown	red	double	red branch	K/K	Minabe
Lb5	Ikuyonezame	幾夜寝覚	OF	unknown	red	double	red branch	K/K	Minabe
Lb6	Shinheike	新平家	OF	unknown	pink	double	red branch	K/K	Minabe
Lb7	Kinkou	金錦	OF	unknown	red	double	red branch	K/K	Minabe
Lb8	Benichidori	紅千鳥	OF	unknown	red	single	red branch	K/K	Minabe
Lb9	Oosakazuki	大杯	OF	unknown	red	single	red branch	K/K	Minabe
Lb10	Koubai	紅梅	OF	unknown	red	double	red branch	K/K	NIFTS (170666)
Lb11	Eikan	榮冠	OF	unknown	red	double	red branch	K/	Minabe
Lb12	Kanbai Shidare	寒梅枝垂	OF	unknown	red	double	red branch,	K/	Minabe
Lc1	Kurodaume	黒田梅	OF	unknown	red	double		B/B	Minabe
Lc2	Musashino	武蔵野	OF	unknown	red	double		B/B	Minabe
Lc3	Shirobotan	白牡丹	OF	unknown	white	double		B/B	Minabe (174237)
Lc4	Makitateyama	巻立山	OF	unknown	red	single		B/B	NIFTS (170670)
Lc5	Kanshikou	杆子紅	OF	unknown	red	double		B/A	Minabe
Lc6	Rinshibai	淋子梅	OF	unknown	red	double		B/A	Minabe
Lc7	Mikaikou	未開紅	OF	unknown	red	double	red branch	B/	Minabe
Ld1	Gofuku Shidare	呉服枝垂	OF	unknown	pink	double	pendulous	unknown	Minabe
Ld2	Kansei Shidare	寒成枝垂	OF	unknown	white	single	pendulous	unknown	Minabe
Ld3	Asahitaki	旭滝	OF	unknown	white	single	pendulous	unknown	Minabe
Ld4	Myoutobai	夫婦梅	OF	unknown	white	double	pendulous	unknown	Minabe
Ld5	Suishinbai	酔心梅	OF	unknown	pink	single		unknown	Minabe
Ld6	Hasegawashibori	長谷川絞	OF	unknown	white	double		unknown	Minabe
Ld7	Onikatsura	鬼桂	OF	unknown	white	double		unknown	Minabe
Ld9	Unryubai	雲竜梅	OF	unknown	white	double		unknown	Minabe
Ld8	Chouhanagata	蝶花形	OF	unknown	pink	double	pendulous	unknown	NIFTS (174236)
Ld10	Sarasa	更紗	OF	unknown	white	double		unknown	NIFTS (172781)
Ld11	Yaezakikankou	八重咲寒紅	OF	unknown	red	double		unknown	NIFTS
Ld12	Tobiume	飛梅	OF	Fukuoka	pink	double		unknown	NIFTS (174248)
Ld13	Akananiwa	赤浪速	OF	unknown	pink	double		unknown	NIFTS (170652)
Ld14	Issunbai	一寸梅	OF	unknown	white	double		unknown	NIFTS (170660)
A1	Heiwa	平和	OF	Nagano	pink	single			NIFTS (174943)
A2	Ogasawara	小笠原	OF	Aomori	pink	single			Nagano (174926)
A3	Shinyo	信陽	OF	Nagano	pink	single			NIFTS

¹⁾Romanization of Japanese names are followed the system of the Genebank of the National Institute of Agrobiological Sciences.²⁾PF and OF denote processed fruits and ornamental flowers, respectively.³⁾Group and subgroup of accessions for ornamental flowers is denoted based on the Japanese traditional classification: Y/Y, Yabai group/Yabai subgroup; Y/A, Yabai/Aojiku; Y/N, Yabai/Naniwa; K/K, Koubai/Koubai; B/B, Bungo/Bungo; B/A, Bungo/Anzu.⁴⁾Numbers indicated in parentheses are JP numbers from Genebank of the National Institute of Agrobiological Sciences.

Table 2-2a. SSR markers used in this study

Marker name	Forward-primer	Reverse-primer
UDP96-001	AGTTTGATTTTCTGATGCATCC	TGCCATAAGGACCGGTATGT
UDP96-406	TCGGAAACTGGTAGTATGAACAGA	ATGGGTCGTATGCACAGTCA
pchgms3	ACGGTATGTCCGTACACTCTCCATG	CAACCTGTGATTGCTCTATTA AAC
pchgms4	ATCTTCACAACCCTAATGTC	GTTGAGGCAAAAGACTTCAAT
MA006b	ACAACCTACCATTTGAGGCT	CAATCATTCAAGCTCTCTCC
MA007a	GTGCATCGTTAGGAAGTCC	GCCCCTGAGATACAAGTCA
MA010a	ACCTGTTTCCTACACTCACA	CCCACACCACTACTCTACAC
MA013a	CACACTCCAAAACTCTAT	CACAAAGAGAGGTGAACAAC
MA016b	TGGCTGGTGGAGACGGAGGA	ATGATACCCAGCCTCCCGGG
MA017a	AAGGCATATAGCGCAGGT	ATCTGAGGCCTTCAACACTT
MA019a	AAATGGGCTGACTCTAAGAC	AGAACCAACGAGGCAATCAC
MA020a	CTTGCCCATTTATGTACTGA	TATATCGCATAATCACGGTC
MA023a	AGAAGCAAAGCTAACAGCC	GATGACTCATTGACGCAAGA
MA024a	AACCCAATCCAATATCAACC	GGGGGATCTCTCAACTCAA
MA026a	CGATCGGAAGTGACGGGAAG	TGAAGAAAATACGGCTAAAA
MA027a	GGGCAGTGAAGAATCTATGA	GATAGCATAAACCCCGTGAA
MA030a	TGCGTCTCTTCTCCAATACC	GTCAGTTACCCGTCCGTGAT
MA031a	AAGTGTGTTTCTGCGTTTGT	AACGCAAGGAAGAATAAGGA
MA034a	GACCATTGCCTCGTAATCTT	AGCGCTAGCTATCACCTACC
MA036a	ACAGAAGAGAGAAGGGGAA	CCACCATGCTACAGACAAC
MA039a	AGAAAGGCACCTTTATCTAGG	TTTGTTTTGGGGATGGTAGT
MA040a	AGAAATTGGAGTGACGTAAC	ACGTGATGAGAAGTAGGGAG
MA042a	GCAGAGCAAGCAAGCAAGCA	CTCTCACTTCTCAGACCCTC
MA045a	ACTAAAGGCACGGATAACT	TAATAAGATGGAGAAGCGAC
MA046a	GCTGAAAGCGATAACCACTA	TGTACCAAACAGGGCCTAAG
MA049a	CCTTTTGGCAAGATTGAGAG	CGGTTGTTTAATTATGTACG
MA051a	ACATCATAAACATCGCAGTA	TTTGGAGCTAAATGGGTATC
MA053a	TCACTCTCCAGTAAACACTATG	AGCCACTACAATGATAGCAA
MA056a	GTCTTGTCTCCATTAGTCCC	GAACCTTGATGGATTGGTTTG

Table 2-2b. SSR markers used in this study (continued)

Marker name	Forward-primer	Reverse-primer
M1a	CACGAGGCGCCATTTCTACG	GTACGACGGGTTTGGCTCA
M3b	CGAGAACTCTGCACAGAGA	GTAGCCGATTCAAAGCCTCC
M4c	GAATTTGTTCTCTCTCTCTC	GGAAGCGTTCGTCTGCAAT
M5a	CAACAACCAAGCTCAGCTCA	GCTTTACCCCTTTGAATTG
M6a	AGAAGGGCAAGCCCAAGTGC	TGCAAAGCCAGAGCCCACAA
M7a	GAAGAAAGACTGAAACAACG	CCAGTTGAGAGTGCTTTGA
M9a	GCCGAAACCCTAGGTGAGCG	CAGGATGCTTGCGGTGCTTG
M11c	CGGCGATCACAAGAGAAAG	ATTAGTCGCTGTCGCTGCTG
PaCITA2	GATCTCGGTTTTCCCAACCCCA	gtttcttGATCTTTCTTCCCGTAGCCTAGCA
PaCITA4	GTGAAAATGAAAGAATCGCTACC	gtttcttTGTCCTTGACGCCAGATTTCTCC
PaCITA5	GTTGTGTTACTTTTTTCTTAACGG	gtttcttGTATCACAAGTGAGAACATAAGAGG
PaCITA6	TGGATGGATGAACATGAGCGGTGGT	gtttcttTTCATGCATTAGTTACTTTTCATG
PaCITA7	CTTTGTGCCTCAGCTTCCCAACAC	gtttcttCCTGGCCTGACCCTAAGCAATTCTG
PaCITA10	GGTGAGGTCTGTGCTGAATATGCCA	gtttcttCGATTAAAGAAATAAGAAAAAGAGC
PaCITA11	TTGGTAAACATTTGTTTCATCTTTTTG	gtttcttGGTCAACCAGAGCATAACAGGAAATG
PaCITA12	GAGACACCCCAACCACCCATCATGT	gtttcttGGTGTGGAAATGTGGAAAGAAATG
PaCITA14	CCTTCAATGGTGGCATGGTTTCTTC	gtttcttGGAGAGAGGGTAGCTAGGGGGAGGA
PaCITA15	GAGATTGCAATGTCGGAATAAGAC	gtttcttCAGACAGCTGCTGGTTATAGGCTCG
PaCITA16	TGACGTCTCTCTCCCTCCCTTCT	gtttcttCCCTCTCTTTTCTCTAGCCCCACC
PaCITA17	CACGGGGAGAAGTTGGGTGGCCTTAG	gtttcttGGAGTCTATAAATAAATGGTTGCGC
PaCITA18	GCCGGTAGCTTTTCGATTTCAAACAC	gtttcttCCTAGGCTTCTATCCCCTCACGAC
PaCITA19	GACAAATACAATCAAGAAGTGTCGC	gtttcttGAACAGCTAGCCCCTTTGTCATAC
PaCITA20	GTAATCCAGCTATAATTTACTACCC	gtttcttATGCTATGTTTATGTTCTAATGAAG
PaCITA21	GATTATATAAGTTGGTTTTTGTAAAG	gtttcttGTATTCTATAATGTATAAATGTACG
PaCITA22	CTATCGCAAAACATTACTTTAACAGG	gtttcttCGACCATGTTGTTGCAATTCACCC
PaCITA23	GTGAATACAAAATTTACTACATTG	gtttcttCGGTCTCTGACTCTCTGACTTGC GG
PaCITA24	GTATACGTTTAAATCACAAGCTGGC	gtttcttGCAAATTCTGAACGAACGACATGCC
PaCITA25	CTCTACAATTTTGGGTTCTTCTTGG	gtttcttCCTTAAACAAAAAGATGAACAAATG
PaCITA27	GATCCCTCAACTGAATCTCTC	gtttcttCGTCACAACAATAGATGCGAAGG

Table 2-3a. SSR genotypes of 130 cultivars

Cultivars name	SSR genotypes ¹⁾													
	UDP96-001	pchgms3	MA007a	MA010a	MA017a	MA040a	MA053a	M6a	M7a	PaCITA4	PaCITA7	PaCITA12	PaCITA19	PaCITA21
Orihime	117/131	194/194	116/116	106/125	128/132	207/207	228/228	199/201	156/156	154/176	236/242	135/135	120/120	221/240
Koushuu Saisyou	117/131	180/194	116/116	106/125	132/132	207/209	229/229	199/199	150/150	164/176	238/242	135/135	120/126	221/221
Purple Queen	117/131	180/194	116/116	106/125	132/132	207/209	229/229	199/199	150/150	164/176	238/242	135/135	120/126	221/221
Hakuou	117/131	180/194	116/116	106/125	132/132	207/209	229/229	199/199	150/150	164/176	238/242	135/135	120/126	221/221
Maeszawa Koume	117/117	180/180	112/116	106/106	132/134	207/207	228/228	199/199	154/154	154/168	200/242	135/135	124/126	221/221
Beniou	131/131	180/180	112/112	106/106	142/142	209/209	228/228	201/201	154/154	164/178	242/242	135/135	120/124	221/240
Kinugasa	131/131	180/180	110/112	106/106	134/142	207/209	228/229	201/201	154/154	158/164	236/242	135/135	120/120	221/221
Ryuukyou Koume	125/131	194/194	112/122	106/108	132/134	207/209	228/229	201/201	154/156	168/176	248/248	135/135	124/126	221/240
Shinano Koume	117/117	194/202	112/122	106/108	134/142	207/207	228/229	201/201	154/156	176/178	234/234	135/135	116/120	221/240
Kouyou Koume	117/131	180/194	96/112	106/125	136/136	207/209	225/228	201/201	154/154	162/164	236/250	135/137	120/130	221/221
Koushuu Shinkou	131/131	180/194	110/116	106/110	128/142	207/209	229/229	201/201	150/154	158/160	234/242	135/135	120/120	221/221
Seiyoubai	117/117	180/198	112/124	106/110	132/142	207/213	228/228	199/201	154/156	142/160	199/209	135/159	114/120	221/230
Taihei	109/131	180/194	112/116	116/125	134/142	207/211	228/229	201/201	154/154	154/158	199/246	135/135	130/130	221/234
Bungo	117/131	198/198	96/116	110/118	132/134	207/213	228/229	199/201	154/156	142/154	209/242	135/159	126/126	221/230
Fushida	109/117	180/198	96/124	106/118	124/128	207/213	228/228	201/207	150/154	142/172	210/238	135/159	114/120	221/230
Takadaume	109/109	198/202	110/116	116/118	132/136	207/207	228/228	197/199	144/154	154/157	199/256	135/159	124/126	230/232
Inabungo	109/117	198/202	116/124	110/118	124/132	207/213	228/229	199/207	154/154	142/154	209/254	135/159	114/126	230/240
Nankou	117/131	194/198	114/116	106/106	142/142	207/207	228/228	201/201	154/156	160/160	236/244	135/135	116/120	221/242
Shirokaga	131/135	180/196	112/118	106/116	142/142	207/207	228/229	201/201	156/156	158/160	234/244	135/137	120/120	221/236
Kairyuu Uchidaume	117/131	194/194	114/116	106/116	132/132	207/207	228/228	201/201	150/156	158/176	236/258	135/135	116/126	221/221
Benisashi	117/131	180/194	110/116	106/116	128/132	207/207	229/229	201/201	154/154	154/154	238/258	135/135	116/120	221/221
Hanakami	117/131	180/194	96/112	106/116	136/142	207/209	228/228	201/201	154/156	160/176	238/254	135/135	124/124	221/242
Shinheidayu	117/131	194/194	114/116	106/106	138/142	207/213	228/228	201/201	150/156	158/176	242/258	135/135	116/124	221/221
Kotsubu Nankou	117/117	194/202	98/114	106/106	142/142	207/207	228/228	201/201	154/156	154/160	238/246	135/137	116/120	221/221
Kaidarewase	117/131	194/194	98/112	106/106	142/142	207/209	228/228	201/201	154/154	154/176	236/236	135/135	116/124	221/221
Shirotama	117/131	194/194	116/116	106/106	138/138	207/213	228/228	201/201	150/150	176/176	238/258	135/135	116/124	221/221
Jizouume	117/131	194/194	114/116	106/106	138/142	207/213	228/228	201/201	150/156	158/176	242/258	135/135	116/124	221/221
Yousei	117/131	180/202	98/114	106/110	128/142	207/207	228/229	201/201	154/156	154/162	200/242	135/135	116/124	221/242
Yakushiume	131/131	194/194	112/112	106/116	136/136	207/207	228/229	201/201	150/150	158/168	242/258	135/135	124/130	221/242
Gojirou	131/135	180/196	112/118	106/116	142/142	207/207	228/229	201/201	156/156	158/160	234/244	135/137	120/120	221/236

¹⁾SSR genotypes for UDP96-001, pchgms3, MA007a, MA010a, MA017a, MA053a, M6a and M7a were identified using PRISM 377 DNA sequencer, and SSR genotypes for PaCITA4, PaCITA7, PaCITA12, PaCITA19 and PaCITA21 were analyzed using PRISM 3100 DNA sequencer.

Table 2-3b. SSR genotypes of 130 cultivars (continued)

Cultivars name	SSR genotypes ¹⁾													
	UDP96-001	pchgms3	MA007a	MA010a	MA017a	MA040a	MA053a	M6a	M7a	PaCITA4	PaCITA7	PaCITA12	PaCITA19	PaCITA21
Kagajizou	117/135	194/196	112/116	106/116	138/142	207/207	228/228	201/201	150/156	160/176	242/244	135/135	116/120	221/221
Gyokuei	131/135	180/196	112/118	106/116	142/142	207/207	228/229	201/201	156/156	158/160	234/244	135/137	120/120	221/236
Hachirou	131/131	194/194	110/116	106/106	138/142	207/213	228/228	201/201	154/156	154/160	238/258	135/135	116/120	221/221
Oushuku	131/135	194/196	112/118	106/106	136/144	207/207	228/229	201/201	156/158	154/166	242/244	135/135	120/126	240/240
Kodama	117/135	180/196	112/118	106/106	136/142	207/207	229/229	183/199	150/158	166/176	244/248	135/135	120/124	221/236
Kinnyuuj	117/135	180/196	112/118	106/106	136/142	207/207	229/229	183/199	150/158	166/176	244/248	135/135	120/124	221/236
Inazumi	131/131	194/194	96/110	106/116	138/142	207/207	228/229	201/201	154/154	154/162	234/238	135/135	120/124	221/244
Rinshuu	117/131	180/194	96/112	106/116	136/142	207/209	228/228	201/201	154/156	160/176	238/254	135/135	124/124	221/242
Koshinoume	135/135	180/196	112/112	106/125	132/136	207/209	228/228	201/201	150/150	172/172	238/246	135/135	120/120	221/240
Kensaki	117/117	180/194	98/98	106/106	132/132	207/207	229/229	199/201	154/154	154/160	236/238	135/135	120/120	242/242
Tougorou	117/117	180/194	96/112	106/125	128/128	207/209	228/228	201/201	150/156	174/176	236/236	135/135	120/124	221/244
Juurou	117/117	180/180	96/112	125/125	142/142	207/207	229/229	201/201	150/154	158/176	238/250	135/135	120/124	221/221
Tenjin	117/131	194/194	112/114	106/110	142/142	207/207	228/229	201/201	154/154	158/160	236/246	135/135	116/116	221/240
Toichi	117/131	194/194	112/112	106/110	128/142	207/207	228/228	201/201	154/156	154/154	238/246	135/135	116/126	242/242
Jorou	117/117	180/194	103/103	106/106	142/142	207/207	228/229	201/201	154/156	154/168	242/256	135/135	116/116	221/221
Baigou	131/135	180/196	112/118	106/116	142/142	207/207	225/228	201/201	154/156	158/168	240/244	135/135	116/120	236/240
Yourou	117/117	180/194	98/116	106/106	142/142	207/207	228/229	201/201	154/156	162/182	199/236	135/135	116/124	221/221
Gessekai	131/131	180/196	118/118	106/116	136/142	207/207	228/229	201/201	156/158	158/166	234/244	135/135	120/120	236/240
Gecchibai	117/117	194/194	114/116	106/116	136/142	207/209	228/228	201/201	154/154	160/162	236/242	135/135	124/124	221/221
Natsuka	117/131	180/194	112/118	106/106	128/136	207/207	228/229	201/201	150/156	158/160	234/240	135/135	116/120	221/240
Sugita	117/117	180/202	114/114	106/116	132/144	207/207	228/229	201/201	154/156	160/176	242/246	135/135	120/130	221/240
Muroya	131/131	194/194	110/116	106/106	132/142	207/213	228/229	201/201	154/156	154/162	238/246	135/135	120/120	221/240
Komukai	131/135	180/196	112/118	106/116	142/142	207/207	228/229	201/201	156/156	158/160	234/244	135/137	120/120	221/236
Shimosukeume	117/131	180/194	112/118	106/106	128/136	207/207	228/229	201/201	150/156	158/160	234/240	135/135	116/120	221/240
Yatsubusa	131/131	194/194	96/114	110/110	132/132	207/209	229/229	199/201	156/156	154/154	238/242	135/135	124/124	221/221
Aojiku	117/135	194/196	118/120	106/106	136/142	207/207	228/229	183/201	156/158	160/166	234/244	135/137	116/120	221/240
China Mume Wakayama 1	117/135	180/196	116/118	106/106	128/142	207/207	228/229	199/201	154/156	160/160	238/244	135/135	120/126	221/240
China Mume Wakayama 2	117/117	190/194	98/118	106/106	142/142	207/207	229/229	201/237	154/156	158/158	234/248	135/135	116/120	222/222
China Mume Wakayama 3	131/137	194/194	96/114	106/106	142/142	207/207	228/229	199/201	154/156	158/176	236/248	135/135	126/126	246/246
China Mume Wakayama 4	117/125	194/194	114/114	106/106	142/142	207/207	228/228	201/201	156/156	154/158	234/258	135/135	116/130	221/236
China Mume Wakayama 5	117/117	194/194	116/116	106/106	138/142	207/213	228/228	201/201	150/156	158/158	258/258	135/135	116/124	221/221
China Mume Wakayama 6	125/137	193/194	114/120	106/110	136/136	207/215	229/229	201/201	152/154	154/160	234/244	135/137	124/128	236/240
China Mume Wakayama 7	117/117	196/196	112/116	106/106	136/136	207/207	228/228	199/201	148/154	154/158	252/256	137/137	116/120	240/242
China Mume Wakayama 8	117/131	196/200	114/116	106/106	142/142	207/207	228/228	201/201	154/156	160/160	234/244	135/135	116/120	221/242

¹⁾SSR genotypes for UDP96-001, pchgms3, MA007a, MA010a, MA017a, MA053a, M6a and M7a were identified using PRISM 377 DNA sequencer, and SSR genotypes for PaCITA4, PaCITA7, PaCITA12, PaCITA19 and PaCITA21 were analyzed using PRISM 3100 DNA sequencer.

Table 2-3c. SSR genotypes of 130 cultivars (continued)

Cultivars name	SSR genotypes ¹⁾													
	UDP96-001	pchgms3	MA007a	MA010a	MA017a	MA040a	MA053a	M6a	M7a	PaCITA4	PaCITA7	PaCITA12	PaCITA19	PaCITA21
Ellching	117/131	192/192	94/126	106/110	124/124	207/207	228/228	191/199	142/164	164/164	240/252	135/137	124/124	217/217
Taiwan Mume Wakayama 1	117/125	173/188	98/126	110/112	134/134	207/207	225/228	189/201	156/162	156/162	240/240	137/137	126/160	221/246
Taiwan Mume Wakayama 2	117/117	174/194	114/126	110/110	154/154	207/207	228/228	192/194	156/156	162/164	225/238	135/135	124/126	221/236
Taiwan Mume Wakayama 3	131/131	188/192	114/126	110/110	124/132	207/207	228/228	198/206	142/166	162/164	240/254	135/137	124/124	217/246
Taiwan Mume 85-065	117/131	172/192	104/114	110/110	124/124	207/213	228/228	199/199	156/164	162/164	240/240	135/135	124/124	221/246
Taiwan Yaseiume	117/131	172/192	114/126	110/110	132/136	207/207	228/228	211/211	156/156	148/164	238/258	135/137	114/126	221/221
Taiwan Mume 85491	117/131	172/192	126/126	110/110	124/124	207/213	228/228	199/199	164/164	160/162	240/254	135/137	114/124	221/246
Thailand Mume Wakayama 1	117/131	174/194	114/114	106/110	-	207/207	228/228	194/199	142/164	152/164	240/252	135/135	124/150	221/246
Mera	131/131	194/194	112/116	106/106	136/136	207/207	228/229	201/201	150/156	154/160	234/244	135/135	124/124	244/244
Yanagawashibori	125/131	172/194	116/118	106/106	142/144	207/213	228/229	201/201	154/156	166/176	199/234	135/137	120/124	221/240
Tsukushikou	125/137	180/180	112/118	125/125	136/142	207/213	225/229	201/201	140/150	164/176	238/242	135/137	120/126	217/240
Okina	131/131	180/202	112/116	106/108	132/132	207/207	228/228	199/201	150/156	172/172	246/248	135/135	116/120	221/236
Rinchigai	125/131	172/194	116/118	106/106	142/144	207/213	228/228	201/201	154/156	166/176	199/236	135/137	120/124	221/240
Gekkyuuden	117/125	194/197	116/116	106/106	128/142	207/207	228/229	199/201	150/154	154/158	238/256	135/135	120/126	217/217
Seiryuu Shidare	117/135	194/196	112/118	106/106	134/142	207/207	228/229	201/201	156/156	154/160	238/244	135/135	120/124	221/236
Jakoubai	117/125	180/194	96/116	106/106	136/142	207/207	229/229	190/199	140/154	158/176	238/248	135/135	126/126	217/236
Kankoubai	117/131	202/202	112/116	106/106	136/142	213/213	229/229	201/201	150/156	176/176	246/246	135/135	120/120	221/242
Mangetsu Shidare	117/125	194/197	114/116	106/106	126/142	209/213	228/228	201/219	150/156	164/166	236/252	135/135	120/126	221/221
Michishirube	125/131	172/194	116/118	106/106	142/144	207/213	228/229	201/201	154/156	166/176	199/234	135/137	120/124	221/240
Kasugano	131/135	190/197	116/118	106/106	132/132	207/207	228/229	199/201	150/154	154/160	252/256	135/137	120/120	221/221
Tamabotan	125/131	194/202	96/112	125/127	144/144	207/215	228/229	201/201	154/156	158/166	238/256	135/137	120/126	221/240
Touji	131/131	194/194	96/112	106/116	134/142	207/213	228/228	201/201	150/154	154/168	236/248	135/137	116/126	221/225
Kenkyou	125/131	194/197	116/116	106/125	136/138	213/215	228/229	190/201	140/154	158/166	252/256	137/137	120/132	217/217
Tamagaki Shidare	131/137	194/198	96/112	106/116	136/136	207/207	228/229	190/199	150/154	154/166	248/256	135/135	126/132	221/240
Hitoe Ryokugaku	117/135	194/196	118/120	106/106	136/142	207/207	228/229	201/201	156/158	160/166	234/244	135/137	116/120	221/240
Tairin Ryokugaku	125/125	172/196	118/118	106/106	136/144	207/213	229/229	201/201	156/156	160/166	234/244	137/137	120/120	221/240
Goshokou	117/131	194/202	112/116	106/108	128/132	207/207	225/228	201/201	154/156	164/168	199/242	135/135	124/126	221/240
Ukibotan	117/125	180/194	112/112	106/116	128/132	207/207	228/228	201/201	150/154	160/166	199/238	135/137	124/126	221/221
Fujibotan	117/131	180/194	96/112	106/116	136/144	207/209	228/228	201/201	154/156	160/176	238/254	135/135	124/124	217/242
Chasenbai	117/117	180/180	96/114	106/106	134/134	207/207	229/229	201/201	156/156	164/172	234/238	135/135	120/120	221/221

¹⁾SSR genotypes for UDP96-001, pchgms3, MA007a, MA010a, MA017a, MA053a, M6a and M7a were identified using PRISM 377 DNA sequencer, and SSR genotypes for PaCITA4, PaCITA7, PaCITA12, PaCITA19 and PaCITA21 were analyzed using PRISM 3100 DNA sequencer.

Table 2-3d. SSR genotypes of 130 cultivars (continued)

Cultivars name	SSR genotypes ¹⁾													
	UDP96-001	pchgms3	MA007a	MA010a	MA017a	MA040a	MA053a	M6a	M7a	PaCITA4	PaCITA7	PaCITA12	PaCITA19	PaCITA21
Kagoshimakou	125/131	202/202	112/118	106/125	126/142	213/213	225/229	201/201	150/156	166/176	246/246	135/135	120/120	217/242
Kurohikari	125/131	202/202	112/118	106/125	126/142	213/213	225/229	201/229	150/156	166/176	246/246	135/135	120/120	217/242
Morinoseki	117/117	180/194	114/116	106/106	142/142	213/213	229/229	201/201	156/156	178/178	238/242	135/135	120/126	221/221
Kurokumo	125/125	192/192	112/118	106/125	126/126	213/213	225/229	219/219	150/150	166/176	240/246	135/135	120/120	217/217
Ikuyonezame	125/131	192/202	112/118	106/125	126/142	213/213	225/229	201/219	150/156	166/176	240/246	135/135	120/120	217/242
Shinheike	125/125	180/202	114/114	106/106	136/142	213/213	229/229	190/201	140/156	166/178	240/240	135/135	120/120	217/221
Kinkou	125/131	192/202	112/118	106/125	126/142	213/213	225/229	201/219	150/156	166/176	240/246	135/135	120/120	217/242
Benichidori	117/135	192/194	112/114	116/125	132/136	207/213	228/229	190/201	140/154	160/166	199/238	135/137	120/124	221/217
Oosakazuki	125/131	180/197	96/114	106/108	136/142	207/213	228/228	201/201	150/156	162/164	248/252	135/135	126/126	217/236
Koubai	117/125	180/192	114/118	106/125	136/142	213/213	225/229	190/201	140/156	166/178	238/240	135/137	120/120	221/221
Eikan	125/131	202/202	112/118	106/125	126/142	213/213	225/229	201/219	150/158	166/176	246/246	135/135	120/120	217/242
Kanbai Shidare	117/125	180/202	118/118	106/106	142/142	209/213	228/229	201/201	156/156	164/166	236/238	135/137	120/120	221/221
Kurodaume	109/117	194/198	116/134	106/133	142/142	207/211	228/254	211/211	154/154	157/168	209/248	135/151	114/124	234/240
Musashino	109/117	194/198	112/134	108/133	142/142	207/211	228/255	189/201	154/154	157/168	209/248	135/135	114/124	234/240
Shirobotan	125/131	194/197	96/118	106/125	132/142	207/213	229/229	201/201	154/154	166/172	244/256	137/137	124/132	221/240
Makitateyama	117/131	172/194	112/118	106/106	142/142	207/211	228/229	201/201	154/154	157/176	199/248	135/135	116/124	221/234
Kanshikou	109/117	180/198	110/124	116/129	128/128	209/213	254/254	189/201	154/154	156/176	199/209	135/151	114/124	234/242
Rinshibai	109/117	180/198	110/124	116/129	128/128	209/213	229/254	189/201	154/154	157/176	199/209	135/151	114/124	234/242
Mikaikou	117/125	197/202	116/116	106/108	136/142	209/215	228/228	190/201	140/156	160/166	246/258	135/137	126/132	217/240
Gofuku Shidare	125/131	172/180	112/118	106/129	132/144	209/213	228/229	201/201	154/156	160/166	234/242	135/137	120/126	221/240
Kansei Shidare	117/135	194/196	112/118	106/106	134/142	207/207	228/229	201/201	156/156	154/160	238/244	135/135	120/124	221/236
Asahitaki	131/137	194/198	98/112	106/116	136/136	207/207	228/229	190/199	150/154	154/166	248/256	135/135	126/132	221/240
Myoutobai	125/131	172/180	112/118	106/106	144/144	207/209	228/229	201/201	156/156	166/172	234/236	135/135	120/126	221/240
Suishinbai	117/117	194/196	116/118	106/129	142/142	207/207	228/228	201/201	154/156	160/166	199/244	135/135	120/120	217/221
Hasegawashibori	117/125	194/194	116/116	106/106	142/142	207/215	228/228	201/201	154/154	154/168	199/256	135/137	120/120	217/221
Onikatsura	117/125	194/197	116/116	106/106	128/142	207/207	228/229	201/201	150/154	154/158	238/256	135/135	120/126	217/217
Unryuubai	117/125	180/194	96/116	106/106	136/142	207/207	229/229	190/199	140/154	158/176	238/248	135/135	120/126	217/236
Chouhanagata	117/125	180/194	112/112	106/116	128/132	207/207	228/229	201/201	150/154	160/166	199/238	135/137	124/126	221/221
Sarasa	117/125	194/194	116/116	106/106	142/142	207/215	228/228	201/201	154/154	154/168	199/256	135/137	120/120	217/221
Yaezakikankou	125/131	194/202	116/116	106/108	136/142	209/213	228/228	201/201	150/154	166/176	234/256	135/137	126/130	221/242
Tobiume	117/125	180/194	94/116	106/106	136/142	207/207	229/229	190/199	140/154	158/176	238/248	135/135	126/126	217/236
Akananiwa	117/131	194/202	112/116	106/108	128/132	207/207	225/229	201/201	154/156	164/168	199/242	135/135	124/126	221/240
Issunbai	117/131	180/194	96/112	106/106	136/142	207/209	228/228	201/201	154/156	176/176	238/238	135/135	124/124	221/242
Heiwa	109/109	198/198	134/134	116/116	124/124	211/215	228/254	207/207	154/154	142/157	199/209	149/149	114/146	230/234
Ogasawara	109/109	198/200	112/116	106/118	132/136	213/231	228/254	181/199	152/154	142/157	193/256	149/159	114/120	230/230
Shinyo	109/109	198/200	122/134	116/118	124/124	211/219	228/254	207/207	142/154	142/144	199/199	157/163	114/146	230/234

¹⁾SSR genotypes for UDP96-001, pchgms3, MA007a, MA010a, MA017a, MA053a, M6a and M7a were identified using PRISM 377 DNA sequencer, and SSR genotypes for PaCITA4, PaCITA7, PaCITA12, PaCITA19 and PaCITA21 were analyzed using PRISM 3100 DNA sequencer.

Table 2-4. Characteristics of Japanese apricot varieties using 14 SSR loci

SSR locus	Origin	Fragment size (bp)	No. of alleles	No. of genotypes	H_O ¹⁾	H_E ¹⁾	Linkage group and position in <i>Prunus</i> reference map ²⁾	Citation
UDP96-001	peach genomic DNA	109 - 137	6	14	0.69	0.71	G6 (29.5)	Testolin <i>et al.</i> 2000
pchgms3	peach genomic DNA	172 - 202	14	32	0.70	0.78	G1 (37.5)	Sosinski <i>et al.</i> 2000
MA007a	peach genomic DNA	94 - 134	15	38	0.77	0.85	G2 (57.0)	Yamamoto <i>et al.</i> 2002
MA010a	peach genomic DNA	106 - 133	10	17	0.52	0.58	G7 (13.4)	Yamamoto <i>et al.</i> 2002
MA017a	peach genomic DNA	124 - 154	11	27	0.58	0.80	G8 (26.3)	Yamamoto <i>et al.</i> 2002
MA040a	peach genomic DNA	207 - 215	5	10	0.42	0.51	G6 (71.5)	Yamamoto <i>et al.</i> 2002
MA053a	peach genomic DNA	225 - 255	5	9	0.47	0.55	G4 (31.2)	Yamamoto <i>et al.</i> 2002
M6a	peach cDNA	183 - 237	16	20	0.34	0.47	G8 (34.7)	Yamamoto <i>et al.</i> 2002
M7a	peach cDNA	140 - 166	12	19	0.67	0.72	G8	Yamamoto <i>et al.</i> 2002
PaCITA4	apricot genomic DNA	142 - 182	17	44	0.87	0.89	G3	Lopes <i>et al.</i> 2002
PaCITA7	apricot genomic DNA	199 - 258	18	63	0.88	0.92	G1 ³⁾	Lopes <i>et al.</i> 2002
PaCITA12	apricot genomic DNA	135 - 159	4	5	0.29	0.32	G6 (82.5)	Lopes <i>et al.</i> 2002
PaCITA19	apricot genomic DNA	114 - 160	10	24	0.66	0.77	-	Lopes <i>et al.</i> 2002
PaCITA21	apricot genomic DNA	217 - 246	12	27	0.66	0.73	G5 (33.5)	Lopes <i>et al.</i> 2002
Average			11.1	24.9	0.61	0.68		

¹⁾ H_O and H_E were estimated for 115 individuals except 15 bud sports or synonyms.

²⁾ Dirlwanger *et al.* 2004, Howad *et al.* 2005.

³⁾ Dr. Hanada, personal communication.

Table 2-5. Japanese apricot cultivars showing identical SSR genotypes

Group	Cultivar name (Code No.)	Purpose ²⁾
1	Shirokaga (Fd2), Gojirou (Fd13), Gyokuei (Fd15), Komukai (Fd36)	PF
2	Koushuu Saishou (Fa2), Purple Queen (Fa3, bud spot of Hakuou) ¹⁾ , Hakuou (Fa4, bud spot of Kousyuu-saisyuu) ¹⁾	PF
3	Shinheidayu (Fd6), Jizoume (Fd10)	PF
4	Kodama (Fd18), Kinnyuujii (Fd19)	PF
5	Hanakami (Fd5), Rinshuu (Fd21)	PF
6	Ikuyonezame (Lb5), Kinkou (Lb7)	OF
7	Yanagawashibori (La2), Kasugano (La12)	OF
8	Natsuka (Fd33), Shimosukeume (Fd37)	OF
9	Hasegawashibori (Fd6), Sarasa (Fd10)	OF

¹⁾ Bud sport origins are indicated.

²⁾ PF and OF denote processed fruits and ornamental flowers, respectively.

Table 2-6. Genotypes for 21 SSR and S-RNase loci of 13 cultivars

Cultivars name	SSR genotypes ¹⁾													
	UDP96-001	pchgms3	MA007a	MA010a	MA017a	MA040a	MA053a	M6a	M7a	PaCITA4	PaCITA7	PaCITA12	PaCITA19	PaCITA21
Shirokaga	131/135	180/196	112/118	106/116	142/142	207/207	228/229	201/201	156/156	158/160	234/244	135/137	120/120	221/236
Gojirou	131/135	180/196	112/118	106/116	142/142	207/207	228/229	201/201	156/156	158/160	234/244	135/137	120/120	221/236
Gyokuei	131/135	180/196	112/118	106/116	142/142	207/207	228/229	201/201	156/156	158/160	234/244	135/137	120/120	221/236
Komukai	131/135	180/196	112/118	106/116	142/142	207/207	228/229	201/201	156/156	158/160	234/244	135/137	120/120	221/236
Koushuu Saisyuu	117/131	180/194	116/116	106/125	132/132	207/209	229/229	199/199	150/150	164/176	238/242	135/135	120/126	221/221
Purple Queen	117/131	180/194	116/116	106/125	132/132	207/209	229/229	199/199	150/150	164/176	238/242	135/135	120/126	221/221
Hakuou	117/131	180/194	116/116	106/125	132/132	207/209	229/229	199/199	150/150	164/176	238/242	135/135	120/126	221/221
Jizoume	117/131	194/194	114/116	106/106	138/142	207/213	228/228	201/201	150/156	158/176	242/258	135/135	116/124	221/221
Shinheidayu	117/131	194/194	114/116	106/106	138/142	207/213	228/228	201/201	150/156	158/176	242/258	135/135	116/124	221/221
Kodama	117/135	180/196	112/118	106/106	136/142	207/207	229/229	183/199	150/158	166/176	244/248	135/135	120/124	221/236
Kinnyuuji	117/135	180/196	112/118	106/106	136/142	207/207	229/229	183/199	150/158	166/176	244/248	135/135	120/124	221/236
Hanakami	117/131	180/194	96/112	106/116	136/142	207/209	228/228	201/201	154/156	160/176	238/254	135/135	124/124	221/242
Rinshuu	117/131	180/194	96/112	106/116	136/142	207/209	228/228	201/201	154/156	160/176	238/254	135/135	124/124	221/242

cultivar name	SSR genotypes ¹⁾							S-Rnase genotype
	Ma027a	PaCITA5	PaCITA10	PaCITA16	PaCITA23	M3b	M5a	
Shirokaga	129/135	131/131	142/142	110/143	143/143	330/332	131/131	S^2/S^6
Gojirou	129/135	131/131	142/142	110/143	143/143	330/332	131/131	S^2/S^6
Gyokuei	129/135	131/131	142/142	110/143	143/143	330/332	131/131	S^2/S^6
Komukai	129/135	131/131	142/142	110/143	143/143	330/332	131/131	S^2/S^6
Koushuu Saisyuu	113/115	118/118	142/142	143/151	143/143	330/332	134/134	S^4/S^f
Hakuou	113/115	118/118	142/142	143/151	143/143	330/332	134/134	S^4/S^f
Purple Queen	113/115	118/118	142/142	143/151	143/143	330/332	134/134	S^4/S^f
Jizoume	127/129	131/131	142/142	135/157	143/143	320/326	134/134	S^3/S^f
Shinheidayu	127/129	131/131	142/185	135/157	143/143	320/326	134/134	S^3/S^f
Kodama	113/129	131/131	142/144	143/143	143/143	320/330	131/134	S^5/S^f
Kinnyuuji	113/129	131/131	142/144	143/143	143/143	320/330	131/134	S^5/S^f
Hanakami	113/115	118/131	142/144	125/151	143/153	320/320	134/134	S^7/S^f
Rinsyuu	113/115	118/131	142/142	125/151	143/153	320/320	134/134	S^7/S^f

¹⁾SSR genotypes for UDP96-001, pchgms3, MA007a, MA010a, MA017a, MA053a, M6a and M7a were identified using PRISM 377 DNA sequencer, and SSR genotypes for PaCITA4, PaCITA7, PaCITA12, PaCITA19 and PaCITA21 were analyzed using PRISM 3100 DNA sequencer.

Table 2-7. Cultivars without deletion in the *trnL-trnF* region

Cultivar name	Group	Cluster in Fig. 2-3
Seiyoubai, Bungo, Fushida, Takadaume, Inabungo, Musashino, Kanshikou, Rinshibai	Bungo	A
Taihei	Bungo	B
Heiwa, Ogasawara, Shinyo	apricot	A

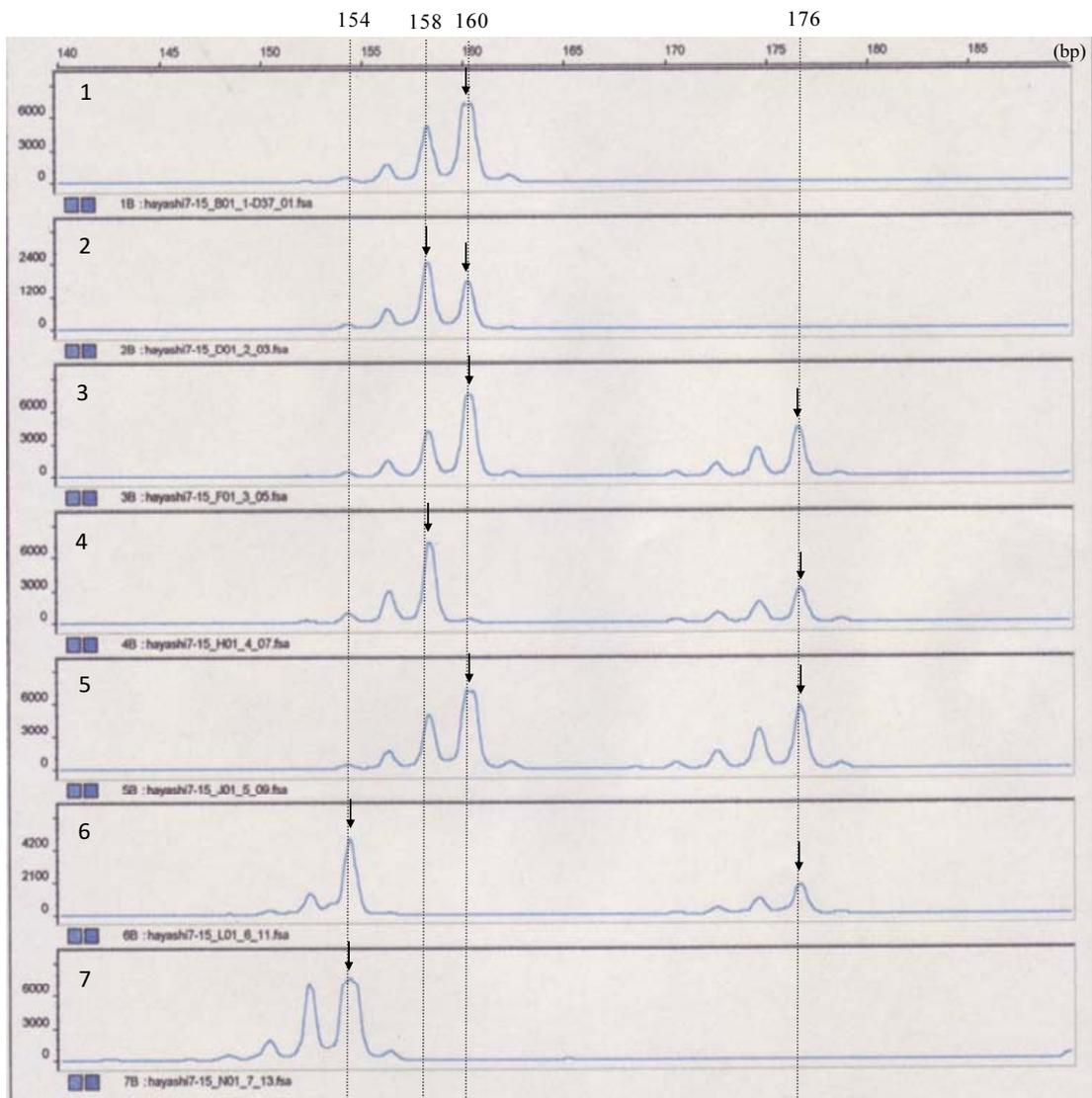


Fig. 2-1a. Amplified fragment patterns of PaCITA4 from 7 Japanese apricot varieties. Lanes 1 to 7 display amplified products of the following varieties. Lane 1: Nankou, lane 2: Shirokaga, lane 3: Jizouume, lane 4: Kagajizou, lane 5: NJ43 (Nankou x Jizouume), lane 6: Benisashi, lane 7: Orihime. Arrows indicate SSR fragments.

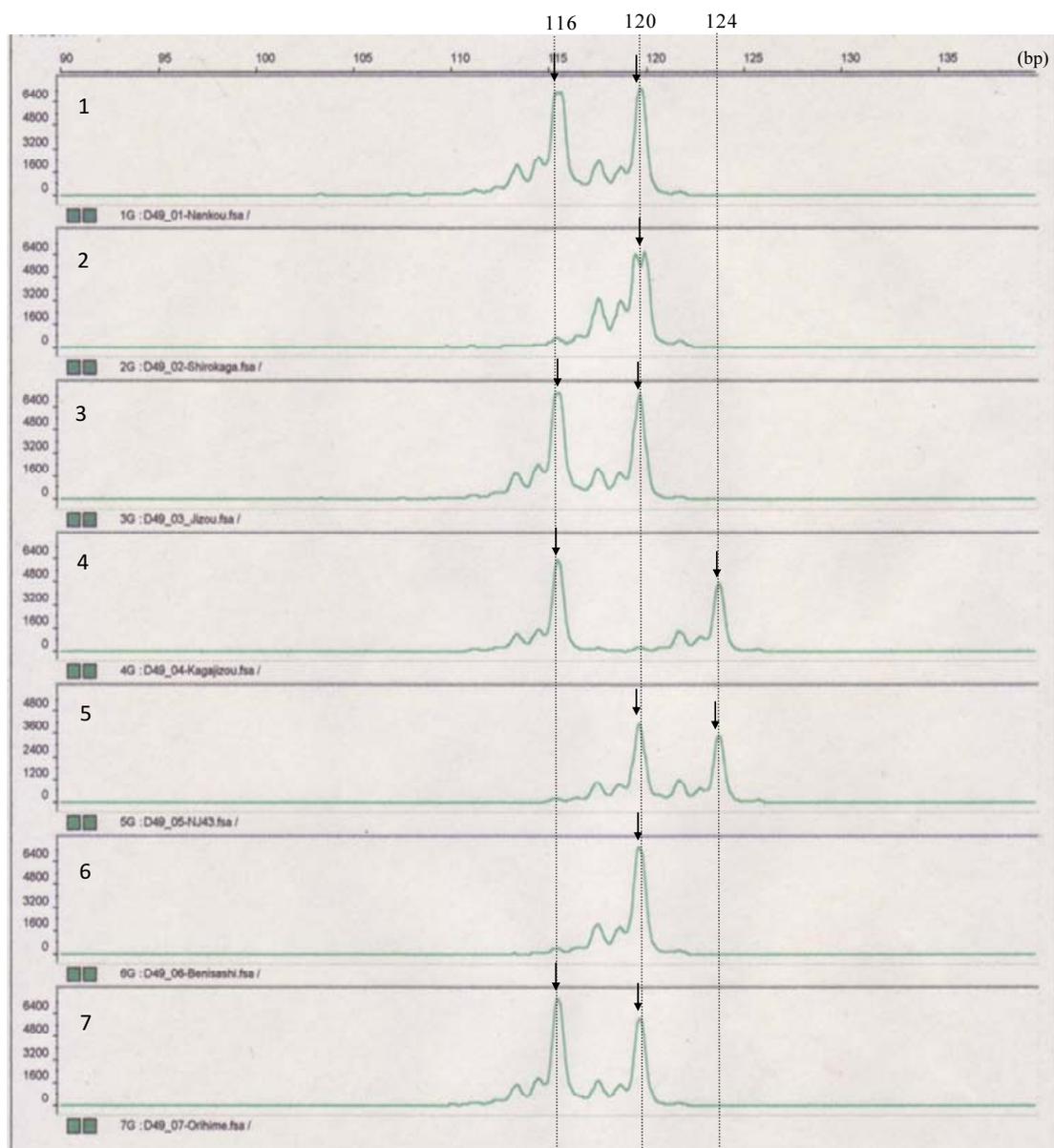


Fig. 2-1b. Amplified fragment patterns of PaCITA19 from 7 Japanese apricot varieties. Lane 1 to 7 display amplified products the following varieties. Lane1: Nankou, lane2: Shirokaga, lane3: Jizouume, lane4: Kagajizou, lane5: NJ43(Nankou x Jizouume), lane6: Benisashi, lane7: Orihime. Arrows indicate SSR fragments.

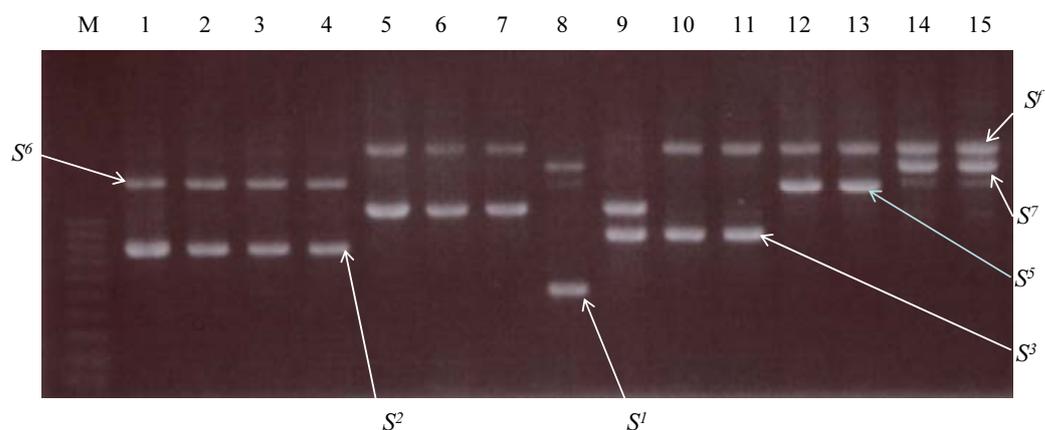


Fig. 2-2. PCR analysis for *S*-RNase genotypes with a gene-specific primer pair,

Pru-C2 and Pru-C5 for cultivars showing identical SSR genotypes.

M: 100 bp ladder, Lane 1: Shirokaga (S^2/S^6), lane 2: Gojirou (S^2/S^6), lane 3: Gyokuei (S^2/S^6), lane 4: Komukai (S^2/S^6), lane 5: Koushuu Saisyuu (S^4/S^7), lane 6: Purple Queen (S^4/S^7), lane 7: Hakuou (S^4/S^7), lane 8: Nankou (S^1/S^1), lane 9: Kairyuu Uchidaume (S^3/S^4), lane 10: Jizouume (S^3/S^7), lane 11: Shinheidayu (S^3/S^7), lane 12: Kodama (S^5/S^6), lane 13: Kinnyuuji (S^5/S^6), lane 14: Hanakami (S^7/S^7), lane 15: Rinsyuu (S^7/S^7).

Arrows indicate putative *S* alleles band. *S* genotypes are indicated in parentheses.

S^1 means self-compatible gene.

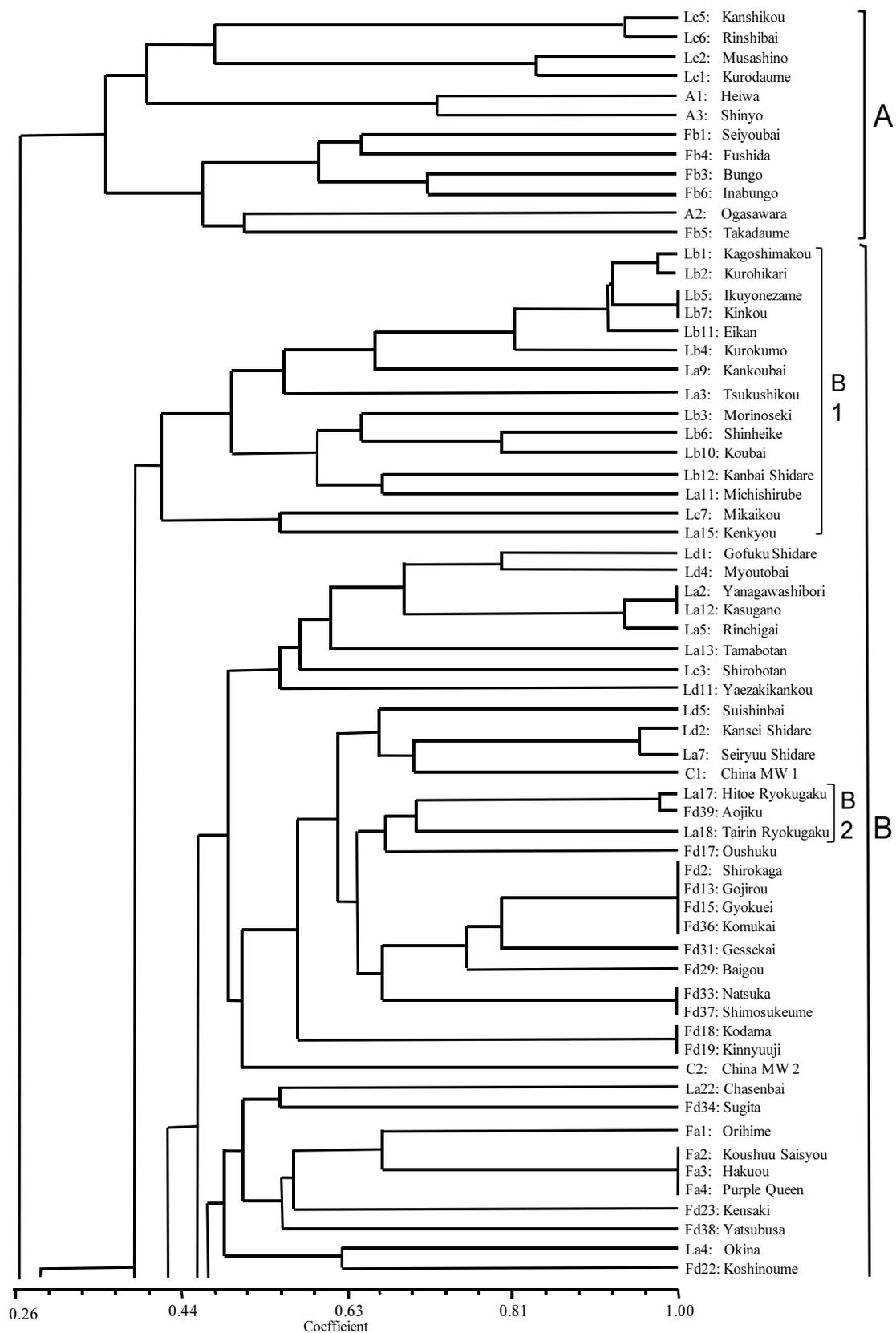


Fig. 2-3a. A phenogram of 127 germplasms of Japanese apricot and 3 apricot cultivars constructed using the UPGMA method based on Dice's coefficient.

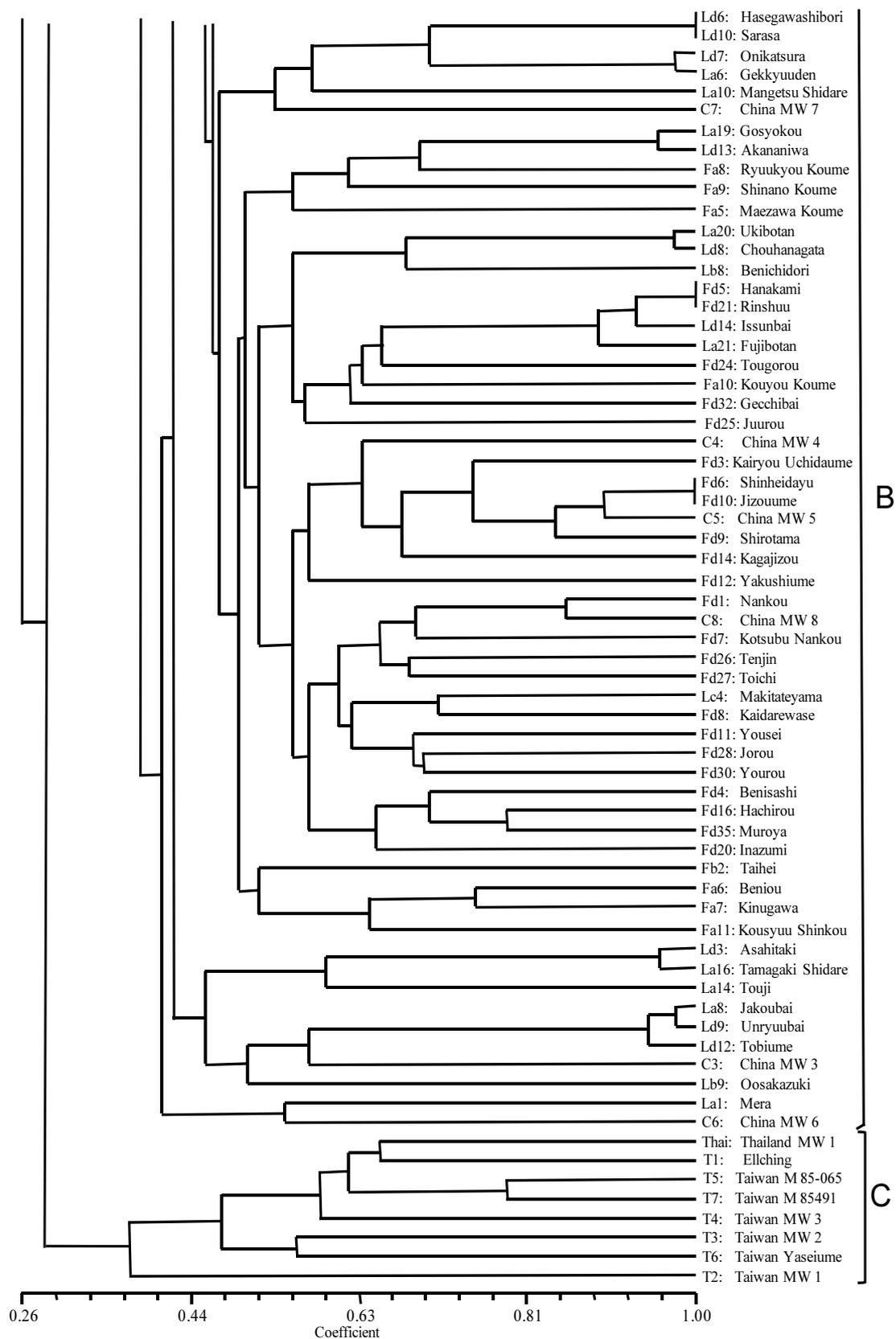


Fig. 2-3b. A phenogram of 127 germplasms of Japanese apricot and 3 apricot cultivars constructed using the UPGMA method based on Dice's coefficient (continued).

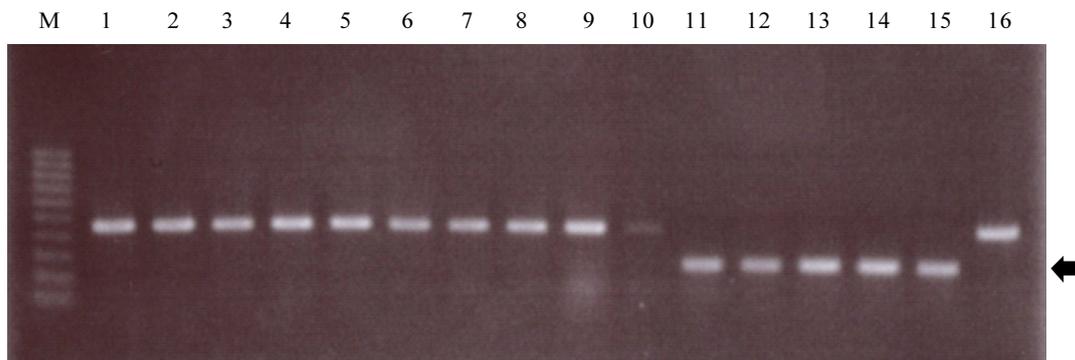
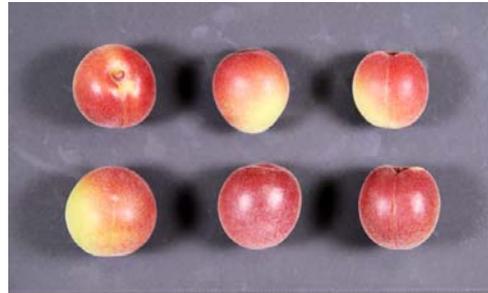


Fig. 2-4. PCR analysis for Bungo group cultivars using *trnL-trnF* intergeneric region.

An arrow shows 300 bp bands with 200 bp deletion in *trnL-trnF* region.

M: 100 bp ladder, Lane 1: Seiyoubai, lane 2: Bungo, lane 3: Taihei, lane 4: Fushida, lane 5: Takadaume, lane 6: Inabungo, lane 7: Kurodaume, lane 8: Musashino, lane 9: Rinshibai, lane 10: Kanshikou, lane 11: Shirobotan, lane 12: Mikaikou, lane 13: Nankou, lane 14: Shirokaga, lane 15: Orihime, lane 16: Heiwa (apricot).



Purple Queen
パープルクイーン



Hakuou
白王

Fig. 2-5. Fruits characteristics of Purple Queen and Hakuou.

第3章 SSR マーカーによるスモモ亜属3種、 ウメ、アンズとニホンスモモの類縁関係の解析

第1節 諸言

バラ科サクラ属の果樹には、モモ、オウトウ、アンズ、スモモやウメ等があり、経済的に重要な果樹として世界中で栽培されている (Fig. 3-1)。これらの果実の外側は柔らかく、中心は内果皮が硬化した核が種子を包んでいることから、果樹園芸分野では核果類と呼ばれている。その中でも、ウメ、アンズ及びニホンスモモは、同じスモモ亜属に分類され、遺伝的に近く、相互に交雑して種間雑種も存在する (Yoshida and Yamanishi 1988, Tzonev and Yamaguchi 1999)。

ウメ (Japanese apricot, *Prunus mume* Siebold et Zucc.) の原生地は、中国中南部の山岳地帯と言われ、日本には弥生時代に持ち込まれたと考えられている (田中 1936, Mega *et al.* 1988, Yoshida and Yamanishi 1988, Mehlenbacher *et al.* 1991)。ウメは、主に日本、中国及び台湾で果樹として栽培されている。日本では、塩漬けにした健康保存食品「梅干」として食され、ジュースや梅酒といった飲み物、料理や和菓子にも用いられている (Mega *et al.* 1988, 堀内ら 1996, Faust *et al.* 1998)。日本で栽培されている代表的な品種に、「南高」、「白加賀」や「織姫」があり (Fig. 1-2a, b, c)、主産地は和歌山県、群馬県、福井県等で、和歌山県は全国の生産量の半分以上 (2007 年は 58 %) を占めている (農林水産省 2007b)。

アンズ (apricot, *Prunus armeniaca* L.) の原産地は、中央アジアからアジア東部と言われ、ヨーロッパ、中東、アフリカへと伝わり、18 世紀頃にはアメリカへも渡り、今日では世界中で栽培されている (吉田 1984a, Faust *et al.* 1998)。西

方のヨーロッパ方面へ広まったアンズ（アプリコット）は比較的甘く、東方へ広まったアジア地方のアンズは酸味が強いと一般的に言われている（吉田 1984b）。中国での栽培の歴史は古く、花を鑑賞し、果肉は生や加工して食され、仁は「杏仁」と呼ばれ薬用に利用されていた。日本へは中国から平安時代頃に伝わったと考えられ、当時は薬用とし杏仁を収穫するため栽培されていた。果実を食べるようになったのは、明治時代になってからで、大正時代には欧米品種を積極的に導入した（吉田 1984b）。果実は、酸味が強いため、生食よりも主にジャムや洋菓子等に加工される。仁は近年、人気のデザート「杏仁豆腐」にも使われている。日本で栽培される代表的な品種に‘平和’、‘信州大実’や‘ハーコット’がある。主産地は青森県と長野県で全国生産量の 99%を占め、ほとんどが両県で生産されている（農林水産省 2005）。

スモモ類は約 30 種が知られているが、果樹として広く栽培されているのは東アジアのニホンスモモ（Japanese plum, *Prunus salicina* L.）とヨーロッパスモモの中のドメスチカスモモ（*P. domestica*）の 2 種である。ニホンスモモは中国の揚子江沿岸地帯を原生地とし、日本へは中国から奈良時代に伝わったとされ、明治時代まで純粋なニホンスモモ（*P. salicina*）が栽培されていた（吉田 1984c）。19 世紀に日本や中国からアメリカへ渡ったニホンスモモは、バーバンク氏らによりミロバランスモモ（*P. cerasifera*）等数種のスモモと交雑して多数の種間雑種個体が育成された。その中には、‘ビューティー’、‘サンタローザ’や‘フォーモサ’等があり、今日でも世界各地で主要品種となっている（吉田 1984c）。これらニホンスモモの雑種は、大正時代に日本へも輸入され、今日のスモモ品種のもとになった。現在、日本で栽培されている代表的な品種に‘大石早生’、

‘ソルダム’や‘太陽’があり、主な産地は山梨県、長野県、和歌山県であり、三県で全国生産量の60%以上を占めている(吉田 1984c, 農林水産統計 2007c)。

このようにウメ、アンズとニホンズモモの原生地はアジア東部にあり、中国から日本へ伝わった。原生地が近く、相互に交雑することから、ウメ、アンズとニホンズモモの種の成立には相互に関与した可能性が考えられる(吉田 1984b)。日本で本格的に育種・選抜されるようになったのは、近代になってからで、アンズはヨーロッパの品種と交雑した生食用品種が育成され(吉田 1984b)、ニホンズモモはバーバンク氏らにより別種のズモモと交雑し品種改良された系統が導入されるようになった(吉田 1984c)。すなわち、現在、日本で栽培されているアンズやニホンズモモは、主に東アジア地域だけに栽培されているウメよりも、地理的にも遺伝的にも遠い品種と交わっていることになる。従って、ウメはアンズやニホンズモモと交雑することで、より多様な遺伝形質を獲得する可能性があり、種内分化の様相と種相互の類縁関係を明らかにすることは、種間雑種の育成等、育種を進めるうえで重要であると考えられる。

近年では、植物の遺伝的多様性解析の研究に、SSR マーカーが用いられるようになってきた。SSR マーカーはゲノム中に豊富に存在し、一遺伝子座あたりの対立遺伝子数が多いことから多型度も高く、信頼度も高い(Cipriani *et al.* 1999, Sosinski *et al.* 2000, Testolin *et al.* 2000, Cantini *et al.* 2001, Aranzana *et al.* 2002, Dirlewanger *et al.* 2002, Lopes *et al.* 2002, Struss *et al.* 2002, Yamamoto *et al.* 2002)。また、同じサクラ属で開発されたマーカーは属内での汎用性が高く(Gao *et al.* 2004, Ohta *et al.* 2005, Iketani *et al.* 2007)、第2章では、モモやアンズで開発された SSR マーカーがウメで利用できることを報告した。アンズやニホンズモモは

ウメと近縁であるため、共通の SSR マーカーが利用できる可能性は高く、また同じ SSR マーカーで 3 種（アンズ、ニホンスモモ、ウメ）の遺伝的多様性を評価するメリットは大きい。

本章では、ウメ、アンズとニホンスモの 3 種共通に利用できる 12 種類の SSR マーカーを選抜した。次にウメ 27 品種、アンズ 19 品種、ニホンスモモ 22 品種の計 68 品種について、3 種で共通に利用できる 12 種類の SSR マーカーを用いて解析を行い、種内及び 3 種のヘテロ接合度の観察値 (H_o) と期待値 (H_E) を算出した。また、得られた SSR データからクラスター分析で樹形図を作成し、日本で栽培されているスモモ亜属 3 種の遺伝的多様性と類縁性について解析し、地理的な変遷もふまえ考察した。

第2節 実験材料および方法

1. 実験材料

ウメ 27 品種・系統、アンズ 19 品種、ニホンスモモ 22 品種、合計 68 品種を供試した (Table 3-1)。また、同じ核果類であるモモ品種‘あかつき’とアーモンドの‘アーモンドわかやま 1 号’は、系統を比較するために用いた。供試品種・系統の来歴や由来の詳細は Table 3-1 に示すとともに、考察で論じた品種の簡単な特性について下記に記載した。

ウメ 27 品種・系統は、小梅 3 品種、ウメとアンズの種間雑種と考えられる 4 品種、ウメとスモモの種間雑種と考えられる‘李梅’ 1 品種、台湾由来のウメ 3 系統、中国由来の 2 系統、その他 14 品種を用いた (Table 3-1a)。

アンズ 19 品種のうち、日本国内由来は 13 品種、国外由来は 6 品種であった。日本国内由来品種は、‘平和’、‘信州大実’、‘甚四郎’、‘鏡台丸’、‘高野饅頭’、‘信山丸’、‘信陽’ (‘山形 3 号’ × ‘甚四郎’)、‘信月’ (‘新潟大実’ × ‘チルトン’) ‘新潟大実’、‘山形 3 号’、‘宮坂’、‘甲州大実’と‘小笠原’である。国外由来品種は、‘アメリカ杏’、‘アーリーオレンジ’、‘ハーコット’、‘黄杏’、‘麦黄準杏’と‘仁杏’を供試した。なお、‘仁杏’はヨーロッパ系のスモモであるプラムとアンズの種間雑種と言われている (Table 3-2b)。

ニホンスモモ 22 品種については、古くから在来品種として知られており純粋なニホンスモモ (*P. salicina*) と考えられている‘米桃’と‘寺田’の 2 品種、アメリカやカナダで改良された‘ケルシー’、‘サンタローザ’、‘フォーモサ’、‘ソルダム’と‘ホワイトプラム’の 5 品種、その後日本で育成された

‘レイトソルダム’、‘太陽’、‘早生月光’、‘紅麗’、‘粹玉’、‘初光’、‘旭光’、‘紅秀’、‘甘露’、‘大石早生’と‘紅りょうぜん’の11品種、果樹研究所（茨城県つくば市）で育成された‘ハニーハート’（‘ソルダム’×‘西田’）、‘ハニーローザ’（‘ホワイトプラム’の実生）の2品種、台湾由来の‘黄柑李’の1品種を用いた（Table 3-2c）。

材料である葉は新葉の柔らかい幼葉を採取した。ウメの葉は、和歌山県農林水産総合技術センター果樹試験場うめ研究所（和歌山県みなべ町）、一部台湾産のウメの葉を農研機構果樹研究所（茨城県つくば市、以下「果樹研」に略）、‘稲積’を福井県園芸試験場（福井県美浜町）から収集し、アンズの葉の収集は、長野県果樹試験場（長野県須坂市）と果樹研、スモモの葉は果樹研で収集した。

2. DNA 抽出及び SSR マーカーによる分析

葉からの DNA 抽出、SSR マーカーを用いた PCR 反応による増幅、PCR 増幅産物の分離と解析、データ分析の方法については、第2章の実験方法に従って行った。

第3節 結果および考察

1. ウメ、アンズ及びニホンスモモにおける SSR マーカーによる増幅

スモモ亜属の多様性解析に利用できるSSRマーカーを探索するため、モモとアンズで設計された 58 種類のプライマーを用い、ウメ 7 品種・系統〔‘南高’、‘白加賀’、‘地蔵’、‘加賀地蔵’、‘紅さし’、‘織姫’と‘NJ43’（‘南高’×‘地蔵’のF₁）〕、アンズ 4 品種（‘信州大実’、‘平和’、‘ハーコット’と‘アーリーオレンジ’）と日本スモモ 4 品種（‘ハニーハート’、‘ハニーローザ’、‘ソルダム’と‘大石早生’）でPCR反応を行い、増幅産物の有無を調べた（Fig. 2-1a, b, 3-1a, b）。その結果、58 種類のSSRマーカーのうちウメでは 39 種類、アンズでは 40 種類、ニホンスモモでは 40 種類で、供試系統において、1 本あるいは 2 本の増幅産物が得られ、供試した 60 %以上のSSRマーカーがウメ、アンズ及びニホンスモモで種を超えて利用できると考えられた（Table 3-2）。このことから、ウメと同様にアンズやニホンスモモも、サクラ属内で開発したSSRマーカーを利用できることが分かった。また、ウメ、アンズ及びニホンスモモ全てで増幅が認められたSSRマーカーは 36 種類あり、それぞれの種で増幅のあったマーカーの 90 %以上が共通で、スモモ亜属内では高い汎用性があると考えられる（Table 3-3）。その 36 種類の中には、供試したモモのcDNA由来の 8 種類のマーカー全てが含まれ、cDNA由来マーカーの汎用性は高いと思われた。増幅のあったSSRマーカーから、*Prunus*標準地図（Dirlewanger *et al.* 2004, Howad *et al.* 2005）上の位置を勘案して、3 種全てで増幅産物の波形が安定しスコアがしやすく、多型程度が高い 12 種類のSSRマーカーを選抜した。選抜したSSRマーカーのうち、UDP96-001、pchgms3、MA007a、MA010a、MA040a、MA053aはモ

モのゲノムDNA由来、M7aはモモのcDNA由来、PaCITA4、PaCITA7、PaCITA12、PaCITA19、PaCITA23 はアズのゲノムDNA由来であった (Table 3-2)。

2. SSR 分析によるウメ、アズ及びニホンスモモの遺伝的多様性

12 種類の SSR マーカーで 68 品種・系統を解析したところ、ウメの‘白加賀’と‘玉英’ (Table 3-4a)、ニホンスモモの‘ソルダム’と‘レイトソルダム’ (Table 3-4c) は全ての SSR 遺伝子座でそれぞれ同じ遺伝子型であった。第 2 章で述べたが、‘玉英’は‘白加賀’の枝変わりあるいは異名同系統と考えられる。‘レイトソルダム’は‘ソルダム’の枝変わりであり、SSR マーカーでは枝変わりを区別することは難しい。‘玉英’と‘レイトソルダム’を除いた 66 品種・系統から、合計 181 の推定対立遺伝子が得られ、1 遺伝子座あたりでは平均 15.1 の対立遺伝子であった (Table 3-5)。種別では、ウメ 26 品種 (‘玉英’を除く)、アズ 19 品種及びニホンスモモ 21 品種 (‘レイトソルダム’を除く) から、12 遺伝子座でそれぞれ 84、97 及び 73 (1 遺伝子座あたり平均 7.8、8.1 及び 6.1) の対立遺伝子が得られた。最も対立遺伝子数が多かった SSR 遺伝子座は、ウメでは PaCITA7 の 17 対立遺伝子、アズは MA040a と PaCITA23 の 11、ニホンスモモは PaCITA19 の 17 であった。最も対立遺伝子数が少なかったのは、ウメでは MA053a の 3 遺伝子、アズは UDP96-001 の 2、ニホンスモモは UDP96-001 の 2 であった (Table 3-5)。Lopes *et al.* (2002) はアズ由来の SSR マーカー (本研究で用いた PaCITA-) で 25 品種のアズを解析したところ、1 遺伝子座あたり 3~12 の対立遺伝子が得られたと報告している。Yamamoto *et al.* (2002) はモモ 14 品種を SSR マーカーで解析したところ、1 遺伝子座あたり 3~12 の対立

遺伝子が得られ、Ohta *et al.* (2005) は 144 系統のサクラを解析したところ、平均 17.3 の対立遺伝子が得られ、Gao *et al.* (2004) は中国由来のウメを中心とした 24 品種の解析で平均 2.5 であった。これらのことから、本研究でウメ、アンズ及びニホンスモモを SSR 分析したデータは、高いヘテロ性を示し、遺伝的な多様性を解析するのに十分であったことを表している。

12 遺伝子座のSSR分析結果から‘玉英’と‘レイトソルダム’を除き、ヘテロ接合度の観察値 (H_O) と期待値 (H_E) を算出した。ウメ 26 品種のヘテロ接合度の H_O の平均は 0.60 で、最高値はPaCITA7 座の 0.92 で、最低値はPaCITA23 座の 0.23 であった。 H_E は平均 0.63 で、最高値はPaCITA7 座の 0.93 で、最低値はPaCITA23 座の 0.22 であった。アンズ 19 品種の H_O は平均 0.69 で、最高値はMA010a座とPaCITA19 座の 0.90 で、最低値はUDP96-001 座の 0.05 であった。 H_E は平均 0.71 で、最高値はPaCITA23 座の 0.87 で、最低値はUDP96-001 座の 0.05 であった。ニホンスモモ 21 品種の H_O は平均 0.72 で、最高値はpchgms3 座の 0.95 で、最低値はMA010a座の 0.14 であった (Table 3-5)。 H_E は平均 0.67 で、最高値はPaCITA19 座の 0.87 で、最低値はMA010a座の 0.14 であった。3 種 66 品種全体の H_O は平均 0.66 で、最高値はPaCITA19 座の 0.82 で、最低値はpchgms3 座の 0.42 であった。 H_E は平均 0.85 で、最高値はPaCITA19 座の 0.92 で、最低値はMA010a座の 0.76 であった (Table 3-5)。

MA010a座の観察値 (H_O) と期待値 (H_E) は、アンズでは 0.90 と 0.83 と高い値であったが、ニホンスモモでは 0.14 と 0.14 で最低値であった。また、PaCITA23 座の観察値 (H_O) と期待値 (H_E) は、ウメでは 0.23 と 0.22 で最低値であったが、アンズでは 0.84 と 0.87 で、ニホンスモモでも 0.81 と 0.78 と高い値となっ

た (Table 3-5)。対立遺伝子や遺伝子型数の多少も、遺伝子座によって 3 種で違うことから、ウメ、アンズ及びニホンスモモでは種によって、多型度の高いゲノム領域が異なって存在していることが推察された。

3. SSR 分析結果から導いた樹形図

68 品種のウメ、アンズ、ニホンスモモ及び対照であるモモとアーモンド 2 品種を SSR 分析で得られた遺伝子型を基に、相同性から UPGMA 法でクラスター解析を行った (Fig. 3-3)。得られた樹形図では 68 品種をウメ、アンズ及びニホンスモモ 3 種からなる 3 つの大きなグループに明確に分けられた。本研究で用いた種間雑種と考えられる 3 つの組み合わせで、豊後系の‘高田梅’、‘豊後’と‘西洋梅’及びウメとニホンスモモの‘李梅’はウメのグループに、アンズとスモモの‘仁杏’はニホンスモモのグループに分けられたが、それぞれウメやニホンスモモの主な品種と離れた関係にあり、親品種の間であることが樹形図から推察される (Fig. 3-3)。このことから、ウメ、スモモ及びアンズはお互いに交雑することはあるが、明確に種として分化していると思われる。

アンズのグループは更に 2 つのサブグループに分けられた。サブグループ A は日本由来の 13 品種からなり、もう一つの B グループは中国、アメリカ及びカナダ由来の 5 品種からなる (Fig. 3-3)。Takeda *et al.* (1998) はアンズの系統分類に RAPD 分析法を用い、中国西部からヨーロッパに分布する“西方品種群”と、中国東部や日本等に分布する“東方品種群”の 2 群に大別されたことを報告している。これは本研究での結果と一致し、原生地と言われているヒマラヤ周辺から東西に分かれて発展していったことがゲノム解析からも推察される。このこ

とをより明らかにするためには、原生地周辺や世界各地の多くの遺伝資源を用いて分析し、広範囲なアズの遺伝的多様性を理解する必要がある。

ニホンスモモのグループの中では、‘仁杏’以外に台湾由来の‘黄柑李’も、他のニホンスモモの品種と遺伝的に遠い関係にあった (Fig. 3-3)。日本で栽培されていたニホンスモモは中国由来の古い果樹で、東アジアを中心に栽培されていたが、アメリカでルーサー・バーバンク氏らによってアメリカ在来種やミロバランスモモ等と交配され、今日の品種群が形成された (吉田 1984c)。本研究で供試材料に用いた代表的なニホンスモモは、日本各地の在来種である‘米桃’や‘寺田’の他、アメリカのバーバンク氏や福島県の大石氏らにより育種されてきた品種を用いたが、‘黄柑李’はこれらの品種群と離れた関係にあると考えられる。

ウメのグループは樹形図から豊後系のウメ 3 品種、台湾産の野生ウメの 3 品種、中国産品種を含む日本のウメを中心とした 20 品種からなる 3 つのサブグループに分けられた (Fig. 3-3)。本研究で供試したウメとアズの間雑種と考えられる 4 品種のうち‘高田梅’、‘豊後’と‘西洋梅’は同じサブグループを形成したが、その一方で、‘太平’だけは日本のウメを中心とするグループに入った。これらの結果は第 2 章と同じ内容であった。ウメとアズの間雑種と考えられる豊後系のウメは、ウメの中でも、花や果実が大きく、開花時期や収穫期は晩生でアズのような形質を持っている (Yoshida and Yamanishi, 1988, Mehlenbacher *et al.* 1991, Tzonev and Yamaguchi, 1999)。また、豊後系のウメは、アズと同じように *trnL-trnF* 領域で 200 bp の欠失がないものがほとんどで、供試した豊後系 4 品種も欠失していない。‘太平’は、樹勢や果実の形態、花

の特徴もアズノ特性を持っているが、葉や核の形はアズノのような丸みはなくウメと同じ長楕円形の形態をしている。これらのことから、‘太平’は母系をアズノとするが、種間雑種の中でもよりウメに近い品種と考えられた。

本章で供試した3品種の台湾のウメは、第2章と同様に他のウメと明確に区別された (Fig. 2-3, 3-3)。台湾産のウメは RAPD 解析でも日本のウメと違いがあり (Shimada *et al.* 1994)、開花期が早く落葉期も遅いため、休眠は浅いことが知られている (堀内ら 1996、Yamane *et al.* 2006)。これらの特徴は、南の暖かい地域に適応し得られた形質と考えられ、SSR 解析でも明確な違いとなった。本章では、ニホンズモモでも、台湾の‘黄柑李’が他のニホンズモモと明確に区別されていた。このことは、台湾のウメやニホンズモモが系統的に日本のウメやニホンズモモとは離れていることを示している。

本研究の SSR 解析による解析結果は、ウメ、アズノ、ニホンズモモを明確に種別にグルーピングした。種間雑種と考えられる品種は両者の中間に位置し、3種はお互いに交雑するが、明確に種として分化していることが分かった。また、日本国内外のアズノを区別し、アズノが原生地から東西に分かれて発展していったことが推察されたことから、地理的変遷も確認することができた。本研究から見出された情報は、ズモモ亜属の遺伝的多様性は育種研究に役立てられ、また SSR のデータはウメ、アズノ及びニホンズモモの DNA 鑑定による品種識別や親子鑑定に利用できると考えられる。

Table 3-1a. Japanese apricot of 27 samples used in this study

Cultivar or accession name ¹⁾	In Japanese	Collection site (JP accession No. ²⁾	Origin etc.	Comments
Nankou	南高	Minabe (172773)	Wakayama	most popular cultivar in Japan
Kairyuu Uchidaume	改良内田	Minabe (170661)	Wakayama	
Jizoume	地藏梅	Minabe (172768)	Wakayama	
Yousei	養青	Minabe (174255)	Wakayama	pink flower
Yakushiume	薬師梅	Minabe (174252)	Wakayama	
Jyuurou	十郎	Minabe (172769)	Kanagawa	
Gyokuei	玉英	Minabe (170659)	Tokyo	
Ousyuku	鶯宿	Minabe (172777)	Tokushima	
Inazumi	稲積	Fukui (172767)	Toyama	
Kensaki	剣先	Minabe (170644)	Fukui	
Benisashi	紅サシ	Minabe (113065)	Fukui	
Hanakami	花香実	Minabe (170639)	old fruiting cultivar	double flowered
Shirokaga	白加賀	Minabe (172785)	old fruiting cultivar	one of the main cultivar
Aojiku	青軸	Minabe	Nara	<i>P. mume</i> var. <i>viridicalyx</i> Makino
Koushuu Saisyuu	甲州最小	Minabe (113057)	Nara	<i>P. mume</i> var. <i>microcarpa</i> Makino
Ryuukyuu Koume	竜峡小梅	Minabe (172779)	Nagano	<i>P. mume</i> var. <i>microcarpa</i> Makino
Orihime	織姫	Minabe (172776)	Saitama	<i>P. mume</i> var. <i>microcarpa</i> Makino
Takadaume	高田梅	Minabe (174243)	Fukushima	Bungo group
Bungo	豊後	Minabe	Oita	Bungo group
Seiyoubai	西洋梅	Minabe (172782)	Hokkaido	Bungo group
Taihei	太平	Minabe (174241)	old fruiting cultivar	Bungo group
Sumomoume	李梅	Minabe (174239)	Wakayama	putative Japanese apricot-Japanese plum hybrid
Ellching	二青梅	Minabe	Taiwan	
Taiwan Yaseiume	台湾野生梅	NIFTS (174242)	Taiwan	
Taiwan Mume 85-065	台湾梅885-065	NIFTS (229937)	Taiwan	
China Mume Wakayama 1	中国梅わかやま1号	Minabe	China	
China Mume Wakayama 4	中国梅わかやま4号	Minabe	China	

¹⁾ Romanization of Japanese names are followed the system of the Genebank of the National Institute of Agrobiological Sciences.

²⁾ Numbers indicated in parentheses are JP numbers from Genebank of the National Institute of Agrobiological Sciences.

Table 3-1b. Apricot of 19 samples used in this study

Cultivar or accession name ¹⁾	In Japanese	Collection site (JP accession No. ²⁾)	Origin etc.	Comments
Shinshiu Oomi	信州大実	NIFTS	Nagano	
Heiwa	平和	NIFTS (174943)	Nagano	old fruiting cultivar
Niigata Oumi	新潟大実	NIFTS (174918)	Niigata	
Yamagata 3	山形3号	NIFTS (174936)	Yamagata	
Miyasaka	宮坂	NIFTS (174953)	Hokkaido	
Koushiu Oomi	甲州大実	NIFTS (174954)	Yamanashi	
Shinyou	信陽	NIFTS	Nagano	Yamagata 3 x Jinshirou
Shinzanmaru	信山丸	Nagano	Nagano	
Shingetu	信月	Nagano	Nagano	Niigataoumi x Titon
Jinshirou	甚四郎	Nagano (174928)	Nagano	
Kyoudaimaru	鏡台丸	Nagano (174947)	Nagano	
Takano Manjiu	高野饅頭	Nagano (174913)	Nagano	
Ogasawara	小笠原	Nagano (174926)	Aomori	
Jinkyou	仁杏	NIFTS (174948)	China	plum-apricot hybrid
America Anzu	アメリカ杏	Nagano (174912)	USA	
Early Orange	アーリーオレンジ	NIFTS (174935)	USA	
Harcot	ハーコット	NIFTS (174944)	Canada	Morden604 x NJAI
Huang Xing	黄杏	Nagano (174901)	China	
Mai Huang Zhu Xing	麦黄準杏	Nagano (174937)	China	

¹⁾ Romanization of Japanese names are followed the system of the Genebank of the National Institute of Agrobiological Sciences.

²⁾ Numbers indicated in parentheses are JP numbers from Genebank of the National Institute of Agrobiological Sciences.

Table 3-1c. Japanese plum of 22 samples, Akatsuki and Almond Wakayama1 used in this study

Cultivar or accession name In Japanese		Collection site (JP accession No. ²⁾)	Origin etc.	Comments
Yonemomo	米桃	NIFTS (112990)	Kagoshima	old cultivar in Japan
Terada	寺田	NIFTS (112983)	Kyoto	old cultivar in Japan
Late Sordum	レートソルダム	NIFTS (112947)	Yamanashi	bud sport of Sordum
Taiyou	太陽	NIFTS (112982)	Yanamashi	Santa Rosa line
Wase Gekkou	早生月光	NIFTS (112985)	Fukushima	offspring of Formosa and Kelsey line
Kourei	紅麗	NIFTS (112943)	Fukushima	offspring of Formosa and Sordom line
Suigyoku	粹玉	NIFTS (112979)	Fukushima	offspring of Formosa bred by Ooishi
Shokou	初光	NIFTS (112976)	Fukushima	offspring of Formosa bred by Ooishi
Kyokkou	旭光	NIFTS (112945)	Fukushima	offspring of Formosa bred by Ooishi
Koushiu	紅秀	NIFTS (112944)	Fukushima	offspring of Formosa bred by Ooishi
Kanro	甘露	NIFTS (112936)	Fukushima	offspring of Formosa bred by Ooishi
Ooishi Wase	大石早生	NIFTS (112962)	Fukushima	offspring of Formosa bred by Ooishi
Beniryuzen	紅りょうぜん	NIFTS	Fukushima	Manmos cardinals x Ooishi Wasebred by Kan
Honey Heart	ハニーハート	NIFTS	Ibaraki	Sordum x Nishida
Honey Rosa	ハニーローザ	NIFTS	Ibaraki	offspring of White plum
Huangganli	黄柑李	NIFTS (82055)	Taiwan	
Sordum	ソルダム	NIFTS (112977)	USA	<i>P. salicina</i> introduced from USA
Kelsey	ケルシー	NIFTS (112939)	USA	<i>P. salicina</i> introduced from USA
Beauty	ビューティー	NIFTS (112912)	USA	breeding cultivar by Luther Burbank
Santa Rosa	サンタローザ	NIFTS (112971)	USA	breeding cultivar by Luther Burbank
Formosa	フォーモサ	NIFTS (112923)	USA	breeding cultivar by Luther Burbank
White plum	ホワイトプラム	NIFTS (112987)	USA	<i>P. salicina</i> x <i>P. simonii</i>
Akatsuki	あかつき	NIFTS (112519)	Kanagawa	<i>P. persica</i>
Almond Wakayama1	アーモンドわかやま1号	Minabe	unknown	<i>P. dulcis</i>

¹⁾ Romanization of Japanese names are followed the system of the Genebank of the National Institute of Agrobiological Sciences

²⁾ Numbers indicated in parentheses are JP numbers from Genebank of the National Institute of Agrobiological Sciences

Table 3-2. Amplified fragment sizes in 3 species by 58 SSR markers

SSR markers	Fragment size ¹⁾			Predicted length ²⁾	SSR markers	Fragment size			Predicted length
	Japanese apricot (Nankou)	apricot (Heiwa)	Japanese plum (Sordum)			Japanese apricot (Nankou)	apricot (Heiwa)	Japanese plum (Sordum)	
UDP96-001	117/131	109	101	101	M1a	86/88	88	77/83	80
UDP96-406	no amp.	weak amp.	weak amp.	120	M3b	326	328/349	326/328	329
pchgms3	194/198	198	164/176	179	M4c	84/106	74	62	78
pchgms4	159/205	155/157	190	174	M5a	134	144/150	134/137	132
MA006b	no amp.	no amp.	no amp.	295	M6a	201	207	189/191	195
MA007a	114/116	134	118	132	M7a	153/155	153	134/161	142
MA010a	106	115	117	122	M9a	135	137	135/145	138
MA013a	202/214	191/192	220/222	211	M11c	100	100	97	101
MA016b	98	98	100	103	PaCITA2	263	weak amp.	228	247
MA017a	142	123/300	240/242	164	PaCITA4	160	142/157	136	150
MA019a	109	multi ³⁾	107	108	PaCITA5	131	139	125/133	131
MA020a	179/191	187/191	187/189	180	PaCITA6	195	222	no amp.	218
MA023a	158/165	133/161	133	192	PaCITA7	235/244	199/209	192/201	211
MA024a	no amp.	no amp.	no amp.	244	PaCITA10	144	158/182	148	175
MA026a	no amp.	no amp.	no amp.	191	PaCITA11	127	141	121	135
MA027a	113/127	167/173	140/172	159	PaCITA12	135	148	140/144	151
MA030a	254/262	239/243	245/248	237	PaCITA14	multi	multi	multi	153
MA031a	no amp.	no amp.	no amp.	131	PaCITA15	multi	multi	245	254
MA034a	multi	multi	219	220	PaCITA16	133/157	149/168	131	133
MA036a	no amp.	no amp.	no amp.	230	PaCITA17	no amp.	no amp.	no amp.	178
MA039a	184	172/184	172/180	188	PaCITA18	multi	multi	multi	162
MA040a	207	212/216	210	222	PaCITA19	116/120	114/146	122/144	114
MA042a	291/308	298	291	295	PaCITA20	no amp.	203	no amp.	198
MA045a	no amp.	no amp.	no amp.	323	PaCITA21	221/242	229/234	247	223
MA046a	no amp.	no amp.	no amp.	238	PaCITA22	no amp.	170	no amp.	168
MA049a	no amp.	no amp.	217/223	-	PaCITA23	143	147/153	134/136	146
MA051a	no amp.	no amp.	no amp.	219	PaCITA24	167	193	no amp.	188
MA053a	228	228/254	238/244	234	PaCITA25	208	205	172	198
MA056a	no amp.	weak amp.	no amp.	283	PaCITA27	no amp.	259/270	weak amp.	262

¹⁾SSR genotypes for UDP-, pchgms- and MA- series of SSR markers were identified using PRISM 377 DNA sequencer, and SSR genotypes for PaCITA- series of SSR markers were analyzed using PRISM 3100 DNA sequencer.

²⁾The size is predicted from peach (Testolin *et al.* 2000, Sosinski *et al.* 2000 and Yamamoto *et al.* 2002,) and Dr. Yamamoto personal communication.

³⁾The number of amplified fragment is more than 2.

Table 3-3. SSR markers used in this study

SSR marker name ^{a), b)}	Origin	Citation
<u>M1a</u> , <u>M3b</u> , <u>M4c</u> , <u>M5a</u> , <u>M6a</u> , <u>M7a</u> , <u>M9a</u> , <u>M11c</u>	peach cDNA	Yamamoto <i>et al.</i> . 2002
Ma006b, <u>MA007a</u> , <u>MA010a</u> , <u>MA013a</u> , <u>MA016b</u> , <u>MA017a</u> , <u>MA019a</u> , <u>MA020a</u> , <u>MA023a</u> , <u>MA024a</u> , <u>MA026a</u> , <u>MA027a</u> , <u>MA030a</u> , <u>MA031a</u> , <u>MA034a</u> , <u>MA036a</u> , <u>MA039a</u> , <u>MA040a</u> , <u>MA042a</u> , <u>MA045a</u> , <u>MA046a</u> , <u>MA049a</u> , <u>MA051a</u> , <u>MA053a</u> , <u>MA056a</u>	peach genomic DNA	Yamamoto <i>et al.</i> . 2002, 2003
<u>pchgms3</u> , <u>pchgms4</u>	peach genomic DNA	Sosinski <i>et al.</i> . 2000
<u>UDP96-001</u> , UPP98-406	peach genomic DNA	Testolin <i>et al.</i> . 2000
<u>PaCITA2</u> , <u>PaCITA4</u> , <u>PaCITA5</u> , <u>PaCITA6</u> , <u>PaCITA7</u> , <u>PaCITA10</u> , <u>PaCITA11</u> , <u>PaCITA12</u> , <u>PaCITA14</u> , <u>PaCITA15</u> , <u>PaCITA16</u> , <u>PaCITA17</u> , <u>PaCITA18</u> , <u>PaCITA19</u> , <u>PaCITA20</u> , <u>PaCITA21</u> , <u>PaCITA22</u> , <u>PaCITA23</u> , <u>PaCITA24</u> , <u>PaCITA25</u> , <u>PaCITA27</u>	apricot genomic DNA	Lopes <i>et al.</i> . 2002

^{a)} SSR markers showing discrete amplification in 3 species were denoted underlined.

^{b)} SSR markers denoted in italics were used for evaluation of genetic diversity for mume, apricot and Japanese plum.

Table 3-4a. SSR genotypes of 27 cultivars in Japanese apricot

Cultivars name	SSR genotypes ¹⁾											
	UDP96-001	pchgms3	MA007a	MA010a	MA040a	MA053a	M7a	PaCITA4	PaCITA7	PaCITA12	PaCITA19	PaCITA23
Nankou	117/131	194/198	114/116	106/106	207/207	228/228	154/156	160/160	236/244	135/135	116/120	143/143
Kairyouchida	117/131	194/194	114/116	106/116	207/207	228/228	150/156	158/176	236/258	135/135	116/126	143/143
Jizoume	117/131	194/194	114/116	106/106	207/213	228/228	150/156	158/176	242/258	135/135	116/124	143/143
Yousei	117/131	180/202	98/114	106/110	207/207	228/229	154/156	154/162	200/242	135/135	116/124	143/153
Yakushi	131/131	194/194	112/112	106/116	207/207	228/229	150/150	158/168	242/258	135/135	124/130	143/143
Jyuro	117/117	180/180	96/112	125/125	207/207	229/229	150/154	158/176	238/250	135/135	120/124	143/143
Gyokuei	131/135	180/196	112/118	106/116	207/207	228/229	156/156	158/160	234/244	135/137	120/120	143/143
Oushuku	131/135	194/196	112/118	106/106	207/207	228/229	156/158	154/166	242/244	135/135	120/126	143/143
Inazumi	131/131	194/194	96/110	106/116	207/207	228/229	154/154	154/162	234/238	135/135	120/124	143/143
Kensaki	117/117	180/194	98/98	106/106	207/207	229/229	154/154	154/160	236/238	135/135	120/120	143/143
Benisashi	117/131	180/194	110/116	106/116	207/207	229/229	154/154	154/154	238/258	135/135	116/120	143/143
Hanakami	117/131	180/194	96/112	106/116	207/209	228/228	154/156	160/176	238/254	135/135	124/124	143/153
Shirokaga	131/135	180/196	112/118	106/116	207/207	228/229	156/156	158/160	234/244	135/137	120/120	143/143
Aojiku	117/135	194/196	118/120	106/106	207/207	228/229	156/158	160/166	234/244	135/137	116/120	143/143
Kousyusaishou	117/131	180/194	116/116	106/125	207/209	229/229	150/150	164/176	238/242	135/135	120/126	143/143
Ryukyoukoume	125/131	194/194	112/122	106/108	207/209	228/229	154/156	168/176	248/248	135/135	124/126	143/143
Orihime	117/131	194/194	116/116	106/125	207/207	228/228	156/156	154/176	236/242	135/135	120/120	143/143
Takadaume	109/109	198/202	110/116	116/118	207/207	228/228	144/154	154/157	199/256	135/159	124/126	143/165
Bungo	117/131	198/198	96/116	110/118	207/213	228/229	154/156	142/154	209/242	135/159	126/126	143/151
Seiyoubai	117/117	180/198	112/124	106/110	207/213	228/228	154/156	142/160	199/209	135/159	114/120	143/151
Taihei	109/131	180/194	112/116	116/125	207/211	228/229	154/154	154/158	199/246	135/135	130/130	143/143
Sumomoume	101/131	184/194	104/112	106/106	201/207	229/238	156/168	136/154	193/234	135/159	122/126	136/143
Ellching	117/131	192/192	94/126	106/110	207/207	228/228	142/164	164/164	240/252	135/137	124/124	143/143
Taiwan Yaseiume	117/131	172/192	114/126	110/110	207/207	228/228	156/156	148/164	238/258	135/137	114/126	143/143
Taiwan Mume 85-065	117/131	172/192	104/114	110/110	207/213	228/228	156/164	162/164	240/240	135/135	124/124	143/143
China Mume Wakayama 1	117/135	180/196	116/118	106/106	207/207	228/229	154/156	160/160	238/244	135/135	120/126	143/143
China Mume Wakayama 4	117/125	194/194	114/114	106/106	207/207	228/228	156/156	154/158	234/258	135/135	116/130	143/143

¹⁾SSR genotypes for UDP96-001, pchgms3, MA007a, MA010a, MA017a, MA053a, M6a and M7a were identified using PRISM 377 DNA sequencer, and SSR genotypes for PaCITA4, PaCITA7, PaCITA12, PaCITA19 and PaCITA21 were analyzed using PRISM 3100 DNA sequencer.

Table 3-4b. SSR genotypes of 19 cultivars in apricot

Cultivars name	SSR genotypes ¹⁾											
	UDP96-001	pchgms3	MA007a	MA010a	MA040a	MA053a	M7a	PaCITA4	PaCITA7	PaCITA12	PaCITA19	PaCITA23
Shinshiuomi	109/109	198/198	134/134	116/118	211/224	254/254	144/154	157/157	199/207	151/153	126/146	147/153
Heiwa	109/109	198/198	134/134	116/116	211/215	228/254	154/154	142/157	199/209	149/149	114/146	147/153
Niigataoomi	109/109	198/198	124/134	100/116	211/211	228/228	154/154	142/154	209/211	149/151	114/146	147/151
Yamagata3gou	109/109	198/198	124/134	116/118	211/211	228/254	154/154	144/157	199/199	151/157	124/146	147/151
Miyasaka	109/109	198/198	124/134	100/116	211/211	228/254	154/154	144/154	209/211	149/151	114/146	147/151
Koushiuomi	109/109	198/198	132/134	100/112	211/211	228/228	154/154	142/142	195/209	149/159	107/146	147/149
Shinyou	109/109	198/200	122/134	116/118	211/219	228/254	142/154	142/144	199/199	157/163	114/146	128/151
Shinzanmaru	109/109	198/201	110/134	116/118	211/215	254/254	152/154	142/157	199/209	149/159	126/146	151/153
Shingetu	109/109	198/198	102/124	104/116	211/229	228/254	154/154	142/156	193/209	149/157	114/122	147/155
Jinshirou	109/109	202/202	122/134	118/118	219/219	228/254	142/152	142/144	193/199	149/163	114/114	128/128
Kyoudaimaru	109/109	198/198	134/134	100/118	211/215	254/254	144/144	144/157	199/199	149/153	114/126	147/147
Takanomanjiu	109/109	198/198	110/124	108/118	211/213	228/250	152/154	142/144	193/209	159/159	114/146	128/151
Ogasawara	109/109	198/200	112/116	106/118	213/231	228/254	152/154	142/157	193/256	149/159	114/120	143/151
Jinkyou	103/109	196/198	108/132	112/116	201/209	236/238	135/152	134/154	197/213	145/159	116/132	136/159
America anzu	109/109	191/196	112/112	104/106	221/221	228/228	150/154	156/156	193/217	157/157	122/156	145/153
Early Orange	109/109	198/198	112/132	112/118	209/211	228/236	152/154	142/156	195/217	157/159	107/122	149/152
Harcot	109/109	198/198	102/110	100/106	211/213	229/236	139/154	142/156	195/217	151/159	122/156	143/147
Huangxing	109/109	190/196	108/112	110/112	211/227	228/232	150/154	148/156	199/199	151/157	122/122	149/149
Maihuang Zhunxing	109/109	191/201	110/132	110/116	211/221	228/229	154/154	156/158	199/217	149/163	126/156	151/155

¹⁾SSR genotypes for UDP96-001, pchgms3, MA007a, MA010a, MA017a, MA053a, M6a and M7a were identified using PRISM 377 DNA sequencer, and SSR genotypes for PaCITA4, PaCITA7, PaCITA12, PaCITA19 and PaCITA21 were analyzed using PRISM 3100 DNA sequencer.

Table 3-4c. SSR genotypes of 22 Japanese plum, Akatsuki and Almond Wakayama I

Cultivars name	SSR genotypes ¹⁾											
	UDP96-001	pchgms3	MA007a	MA010a	MA040a	MA053a	M7a	PaCITA4	PaCITA7	PaCITA12	PaCITA19	PaCITA23
Yonemomo	101/101	164/184	104/116	118/118	201/209	238/246	135/168	134/136	193/193	145/159	122/162	130/136
Terada	101/101	176/182	116/122	118/118	209/231	242/244	158/168	134/140	193/199	141/143	130/158	130/134
Late Sordum	101/101	164/176	118/118	118/118	209/209	238/244	135/162	136/136	193/201	141/145	122/144	134/136
Taiyou	101/103	182/190	104/122	118/118	201/209	238/242	158/160	134/146	193/197	145/147	122/138	138/142
Wase Gekkou	101/101	182/184	108/116	118/118	201/209	242/244	135/150	134/134	193/193	141/143	116/177	134/136
Kourei	101/103	176/184	108/116	116/118	209/209	238/244	158/162	134/136	193/201	141/145	116/122	134/136
Suigyoku	101/103	182/184	116/122	118/118	201/209	238/244	135/158	134/134	193/193	141/147	154/177	130/136
Shokou	103/103	171/184	108/108	118/118	201/209	228/244	135/158	134/144	193/193	145/161	116/116	130/130
Kyokkou	103/103	184/184	108/116	116/118	209/210	238/244	135/162	134/144	193/193	141/141	116/177	130/130
Koushiu	103/103	171/184	116/122	118/118	201/209	228/238	158/158	136/144	193/193	145/161	122/158	136/142
Kanro	101/101	176/184	108/122	118/118	203/210	238/244	135/150	134/134	193/197	141/143	116/140	134/136
Ooishi Wase	101/103	171/184	108/116	118/118	201/210	228/244	158/162	134/144	193/193	141/161	116/177	130/142
Beniryouzen	101/103	164/184	108/116	118/118	201/209	244/244	135/135	136/144	193/201	145/161	116/122	130/134
Honey Heart	101/101	164/184	116/116	118/118	209/231	242/244	135/162	136/136	193/193	141/145	122/122	134/136
Honey Rosa	103/103	182/184	116/116	118/118	209/213	238/242	144/168	134/144	193/193	145/147	122/123	136/156
Huangganli	101/101	178/188	102/108	118/118	209/217	238/242	135/135	136/140	193/193	143/145	132/174	136/136
Sordum	101/101	164/176	118/118	118/118	209/209	238/244	135/162	136/136	193/201	141/145	122/144	134/136
Kelsey	101/103	164/182	116/122	118/118	201/209	242/242	158/162	134/136	193/195	143/159	158/177	134/134
Beauty	103/103	164/171	108/122	118/118	201/203	228/242	158/162	134/144	193/193	143/161	116/158	134/142
Santa Rosa	101/101	176/182	108/122	118/118	201/203	238/242	150/158	134/146	193/197	143/147	138/177	136/142
Formosa	101/103	176/184	108/116	116/118	209/210	242/244	135/158	134/134	193/193	141/145	116/177	130/134
Shiro	103/103	171/182	116/116	118/118	209/213	230/242	144/162	134/144	193/195	143/147	123/158	134/156
Akatsuki	121/129	176/182	110/132	124/124	237/239	234/248	142/142	140/140	171/171	164/169	108/108	139/139
Almond Wakayama I	119/129/145	172/176	100/132	125/125	215/240	249/251	142/142	168/168	209/209	155/165	120/124	139/139

¹⁾SSR genotypes for UDP96-001, pchgms3, MA007a, MA010a, MA017a, MA053a, M6a and M7a were identified using PRISM 377 DNA sequencer, and SSR genotypes for PaCITA4, PaCITA7, PaCITA12, PaCITA19 and PaCITA21 were analyzed using PRISM 3100 DNA sequencer.

Table 3-5. Characterization of 12 SSR loci used for evaluation of Japanese apricot, apricot and Japanese plum

SSR locus	Japanese apricot			apricot			Japanese plum			All varieties (3 species)			Linkage group ⁴⁾
	No. of alleles	H_O ¹⁾	H_E ¹⁾	No. of alleles	H_O	H_E	No. of alleles	H_O ²⁾	H_E ²⁾	No. of alleles	H_O ³⁾	H_E ³⁾	
UDP96-001	6	0.77	0.68	2	0.05	0.05	2	0.33	0.51	7	0.42	0.81	G6
pchgms3	8	0.62	0.75	7	0.37	0.53	8	0.95	0.82	18	0.65	0.89	G1
MA007a	13	0.81	0.88	9	0.79	0.84	6	0.76	0.73	17	0.79	0.90	G2
MA010a	6	0.58	0.66	8	0.90	0.83	2	0.14	0.14	9	0.53	0.76	G7
MA040a	5	0.35	0.31	11	0.68	0.74	7	0.91	0.73	15	0.62	0.83	G6
MA053a	3	0.42	0.50	7	0.68	0.69	6	0.91	0.76	11	0.65	0.78	G4
M7a	8	0.62	0.72	7	0.58	0.61	7	0.86	0.79	13	0.68	0.85	G8
PaCITA4	12	0.85	0.88	8	0.84	0.82	5	0.71	0.69	17	0.80	0.92	G3 ⁵⁾
PaCITA7	17	0.92	0.93	10	0.79	0.83	5	0.43	0.38	24	0.73	0.88	G1
PaCITA12	3	0.31	0.28	7	0.84	0.83	6	0.95	0.82	13	0.67	0.85	G6
PaCITA19	7	0.69	0.81	10	0.90	0.85	13	0.91	0.87	20	0.82	0.92	unknown
PaCITA23	5	0.23	0.22	11	0.84	0.87	6	0.81	0.78	17	0.59	0.83	unknown
average	7.8	0.60	0.63	8.1	0.69	0.71	6.1	0.72	0.67	15.1	0.66	0.85	

¹⁾ H_O and H_E were estimated for 26 individuals except for bud sport Gyokuei.

²⁾ H_O and H_E were estimated for 21 individuals except for bud sport Late Sordum.

³⁾ H_O and H_E were estimated for 66 individuals except for 2 bud sport Gyokuei and Late Sordum.

⁴⁾ Dirlewanger *et al.* 2004, Howad *et al.* 2005.

⁵⁾ Dr. Hanada, personal communication.

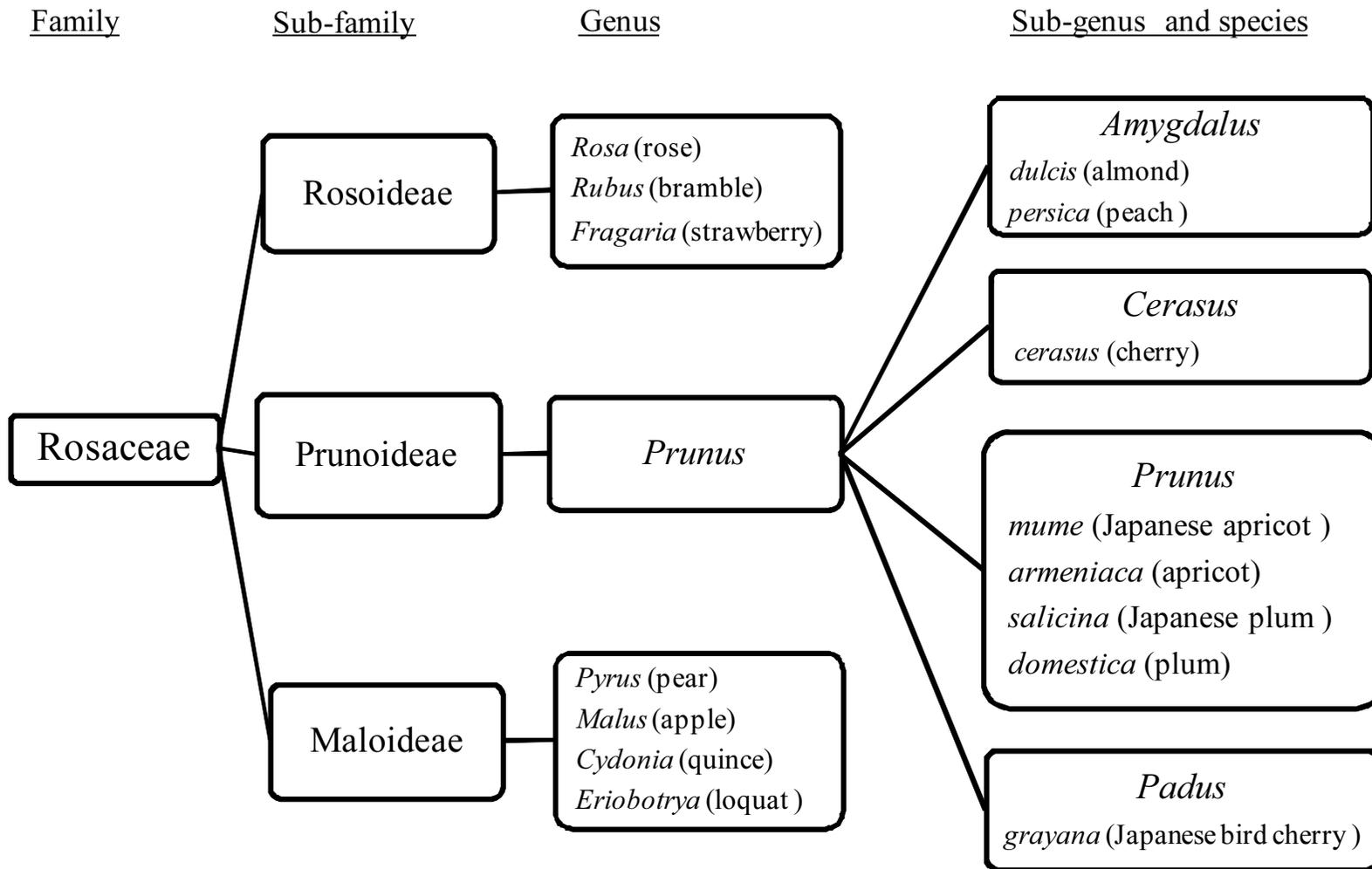
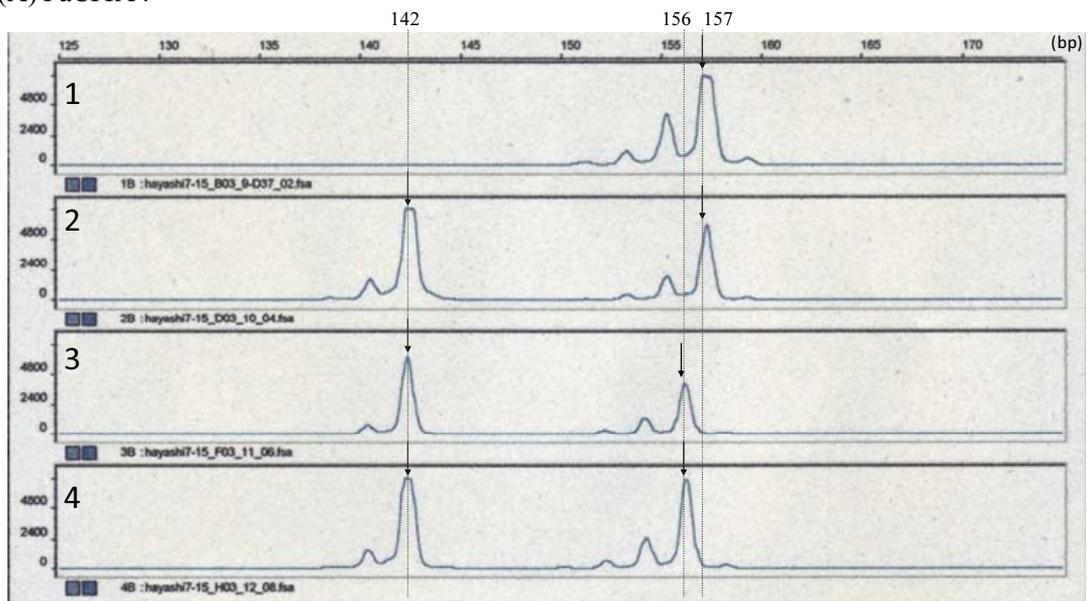


Fig. 3-1 Fruit trees belonging to the family Rosaceae.

(A) PaCITA4



(B) PaCITA23

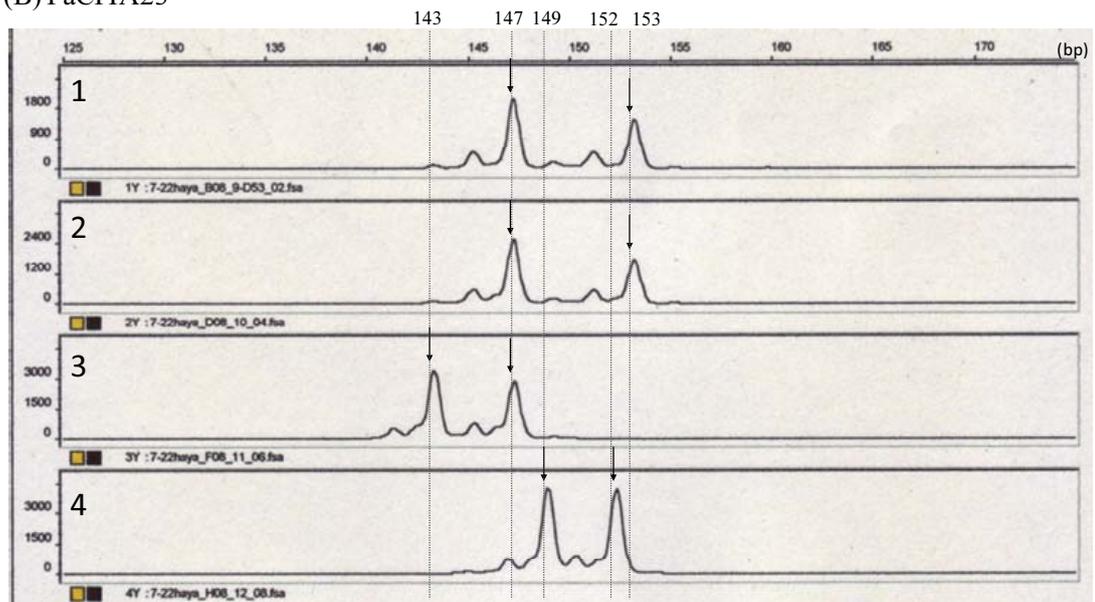
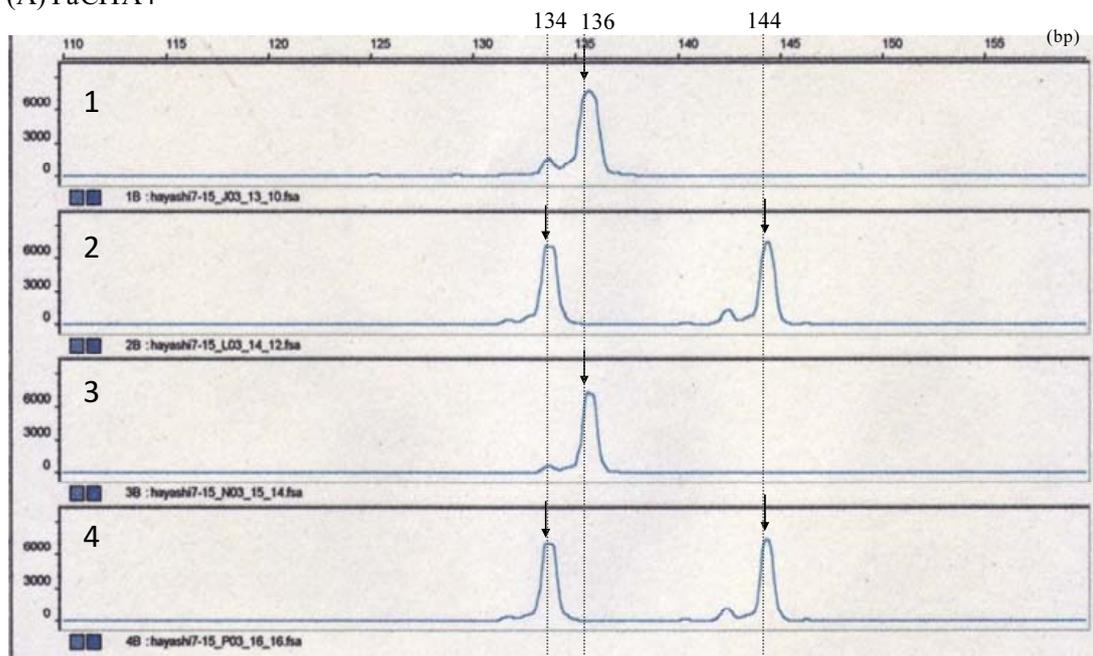


Fig. 3-2a. Amplified fragment patterns of PaCITA4(A) and PaCITA23(B) for 4 apricot varieties. Lanes 1 to 4 display amplified products of the following varieties. Lane 1: Shinshiu Oomi, lane 2: Heiwa, lane 3: Harcot, lane 4: Early Orange. Arrows indicate SSR fragments.

(A) PaCITA4



(B) PaCITA23

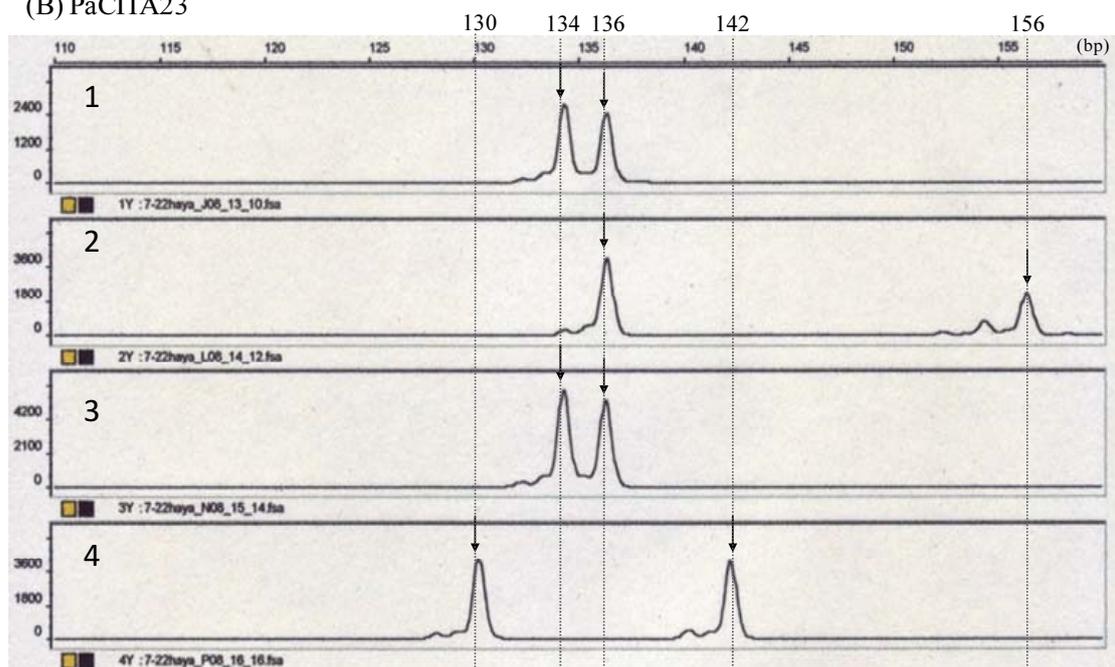


Fig. 3-2b. Amplified fragment patterns of PaCITA4(A) and PaCITA23(B) for 4 Japanese plum varieties. Lanes 1 to 4 display amplified products of the following varieties. Lane 1: Honey Heart, lane 2: Honey Rosa, lane 3: Sordum, lane 4: Ooishi Wase. Arrows indicate SSR fragments.

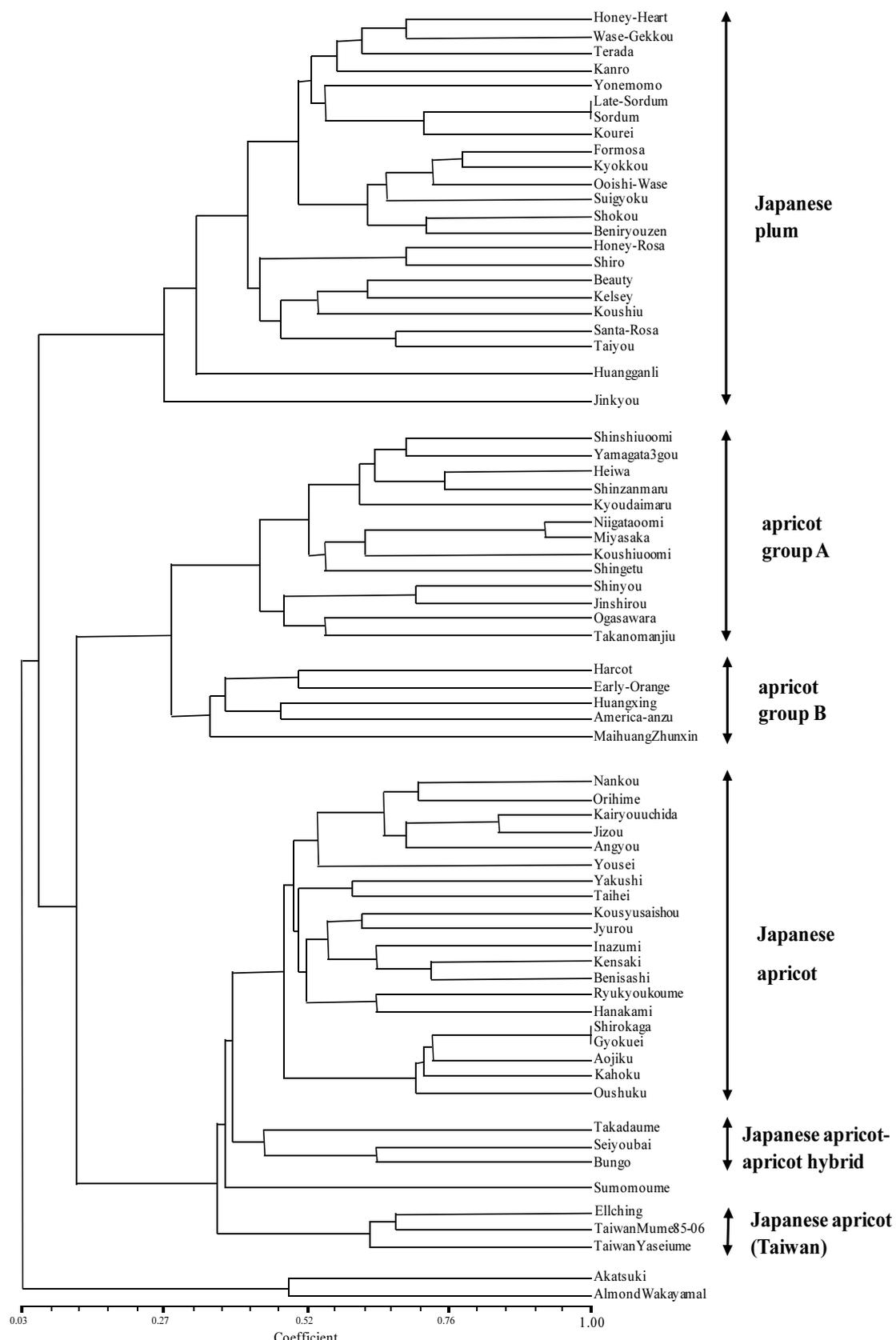


Fig. 3-3. A phenogram of 70 individuals of Japanese apricot, apricot and Japanese plum constructed using the UPGMA method based on Dice's coefficient.

第4章 DNA解析によるウメ三倍体品種の同定と特徴

第1節 諸言

大玉で可食部が多い果実は、高い付加価値が付き、高値で取引される場合が多く、果樹の育種目標の一つである。一般的に、倍数体の植物では、果実、葉、花等の栄養器官が大きくなり、三倍体では種無しとなる場合が多く、また、倍数体（特に奇数の倍数体）は不稔になることが多い（渡辺 1986）。果樹類では、染色体を倍数化して倍数体を作成することにより、大玉果や無核化品種を育成する試みがなされてきた。甘果オウトウでは、‘佐藤錦’を組織培養時にコルヒチン処理で倍数化させ、四倍体となった個体は果実が巨大化し葉密度が大きくなったという報告がある（小野ら 2002）。ビワでは、四倍体と二倍体の交雑育種から三倍体の無種子ビワ品種‘希房’が育成され、平成 18 年 2 月に品種登録された。‘希房’では有種子果より果肉の割合が 20 %増加した（八幡ら 2005a, 2005b）。カンキツ類でも無核化するために三倍体を利用することがあり、スダチで三倍体無核品種の育成が行われている（徳永ら 2005）。

リンゴには、‘北斗’、‘陸奥’や‘ジョナゴールド’等の三倍体品種が知られており、*S* 遺伝子型や SSR マーカーを使って、三倍体品種の倍数性が確認されている（Gianfranceschi *et al.* 1998, Kitahara *et al.* 2005a, 2005b）。現在のブドウの主要品種である‘巨峰’は、果粒の大きさや品質等に優れた形質を備えているが、結実性、熟期、着色性等改良すべき点も多い。ブドウの大粒種となる四倍体系統は、自然突然変異による枝変わりて生じたものである（山根 1996）。このように、コルヒチン処理による人為的な倍数化ではなく、自然交雑や突然変

異で倍数体になることもある。ウメを含む核果類では、染色体数 $2n=16$ の二倍体であるものが多いが、ドメスティカスモモや酸果オウトウ等四倍体や六倍体の倍数体も存在することが知られている (吉田 1984c)。また、近年、ウメと近縁なニホンスモモの中で、‘貴陽’が、染色体観察とフローサイトメーター解析から三倍体品種であることが分かってきた (大林ら 2006)。「貴陽」は、親品種の‘太陽’に比べ、花や葉が大きくなり、果実はニホンスモモでも最大でモモ並みの 200~300 g に巨大化している。その一方で、三倍体の影響から花粉が不稔で結実不良となっている (富田 2004, 大林ら 2006)。ウメの倍数体については、三倍体の存在が過去の文献にいくつか記載されてはいるが、品種の詳細や形態の特徴は分かっていない (Mega *et al.* 1988)。我々はこれまでに 200 品種近くのウメの形態を調査した中で、‘武蔵野’、‘高砂’、‘芳流閣’、‘黒田梅’、‘興津赤花’と‘茶寿’は、花や葉が大きく、不稔で結実不良であることから、倍数体の可能性が考えられた。

リンゴの三倍体品種‘陸奥’は、*S* 遺伝子座と 9 つの SSR 遺伝子座 (CH03e03, CH02c02b, CH03a09, CH03d07, CH01c06, CH01f03b, CH02d08, CH01d09 と CH01d08) で 3 つの対立遺伝子が検出され (Kitahara *et al.* 2005b)、アジアナシの三倍体品種‘Hongnahe’ (*Pyrus sinkiangensis*)でも、3 つの SSR 遺伝子座 (KU10, NH004a と NH013a) から 3 つの対立遺伝子が検出された (Kimura *et al.* 2002)。三倍体で一つの遺伝子座にある 3 つの対立遺伝子を検出するには、遺伝子型が、ヘテロである必要がある。SSR マーカーは、共優性で多型度が高いため、三倍体を認識するのに利用可能である。

本章では、ウメに三倍体品種が存在することを見出し、形態的特徴等を調査

した。我々は、今までに日本国内の実ウメや花ウメ、中国や台湾の国外のウメ、和歌山県内の在来系統等約 200 以上の品種・系統の形態の観察を行い、DNA を抽出し、SSR マーカーを使って分析を行った。その中で‘高砂’、‘興津赤花’、‘芳流閣’と‘茶寿’で対立遺伝子数から倍数体である可能性が示唆されていた。4 品種は全て花ウメで、三倍体と考えられ、‘高砂’と‘興津赤花’は豊後系、‘芳流閣’は枝垂れ性である (Fig. 4-1, Table 4-1)、これら 4 品種について倍数性を同定するため、フローサイトメーターによる解析を行った。更に、倍数性の形態的特徴をみるため、花の大きさ、一花あたりの雌蕊数や雄蕊数、花粉の量と発芽率を調べ、他のウメ品種と比較した。また、葉の大きさ、重さ、厚さ、孔辺細胞の大きさ等も調査した。

第2節 実験材料および方法

1. 実験材料

供試品種は、‘高砂’、‘芳流閣’、‘興津赤花’と‘茶寿’の4品種の他、実ウメでは、‘南高’、‘白加賀’と‘紅サシ’、小梅の‘織姫’、豊後系の‘西洋梅’、‘太平’と‘豊後’、花ウメでは、野梅系の‘麝香梅’、紅梅系の‘栄冠’、豊後系の‘黒田梅’と‘武蔵野’、枝垂れ性の‘寒成枝垂’と‘満月枝垂’の計17品種を供試した。‘興津赤花’と‘茶寿’の2品種は、農研機構果樹研究所（茨城県新治郡千代田町、現茨城県かすみがうら市）から、その他は和歌山県農林水産総合技術センター果樹試験場うめ研究所（和歌山県みなべ町）から、材料を収集した。

SSR分析は、‘高砂’、‘芳流閣’、‘興津赤花’と‘茶寿’の他に、対照として‘南高’、‘西洋梅’、‘武蔵野’と‘寒成枝垂’の計8品種を供試した。フローサイトメーターによる解析は、‘高砂’、‘芳流閣’、‘興津赤花’と‘茶寿’、対照に‘南高’の5品種を供試した。

花の調査は2007年の2～3月の開花時期に、‘高砂’、‘芳流閣’、‘興津赤花’と‘茶寿’の他、‘南高’、‘白加賀’、‘織姫’、‘西洋梅’、‘栄冠’、‘麝香梅’、‘黒田梅’、‘武蔵野’、‘寒成枝垂’と‘満月枝垂’の14品種を供試した。また、蒴の大きさの測定には、‘高砂’と‘芳流閣’の他、‘南高’、‘白加賀’、‘織姫’、‘太平’、‘豊後’、‘麝香梅’、‘黒田梅’と‘武蔵野’の10品種を用いた。

葉の調査は2008年の7月に収集し、‘高砂’と‘芳流閣’の他、‘南高’、‘織姫’、‘豊後’、‘武蔵野’と‘寒成枝垂’の7品種を供試した。孔辺細胞の大きさは、‘高砂’と‘芳流閣’の他、‘南高’、‘白加賀’、‘紅サシ’、‘豊後’、‘武

蔵野’ と ‘寒成枝垂’ の 8 品種を供試した。

2. 葉からの DNA 抽出及び SSR マーカーによる分析

葉からの DNA 抽出、SSR マーカーを用いた PCR 反応による増幅、PCR 増幅産物の分離と解析の方法については、第 2 章の実験方法に従って行った。

3. フローサイトメーターによる倍数性の測定

5 月に採取した柔らかい ‘高砂’、‘芳流閣’、‘興津赤花’ と ‘茶寿’ の葉、及び二倍体の対象品種として ‘南高’ の葉を用いた。採取した幼葉を、シャーレで試料の葉を 5 mm 角程度に切り取り、植物倍数性分析用 DNA 試薬キット (Partec High Resolution Staining Kit for Plant DNA Analysis, Partec GmbH, Munster, Germany) の A 液 (核抽出液) を数滴加え、カミソリで試料を細かく刻んで裸核を抽出した。その後、試料をメッシュで濾過し、プラスチック製試験管に移した後、同試薬キット B 液 (DAPI 染色液) を試料液の約 4 倍量入れて染色を行い、プロイディアナライザー (Partec) を使用し、DAPI 蛍光強度の測定を行った。

4. ウメの花の形態調査

‘高砂’、‘芳流閣’、‘興津赤花’ と ‘茶寿’ の他、‘南高’、‘白加賀’、‘織姫’、‘西洋梅’、‘栄冠’、‘麝香梅’、‘黒田梅’、‘武蔵野’、‘寒成枝垂’ と ‘満月枝垂’ の 14 品種を供試した。花の調査は 2007 年の 2~3 月の開花時期に、各品種の花 30 個を採取し、花色、花弁数、花の大きさ、雌蕊数、雄蕊数、葯の大きさ、

花粉の量及び発芽率を調べた。花の大きさの調査は、完全に開花した状態の花の全幅を100余りの花を品種ごとにノギスで測定し、2.0 cm以下主体の品種を小、2.0～3.0 cm主体の品種を中、3.0 cm以上主体の品種を大として判定した。葯の大きさの測定には、‘高砂’と‘芳流閣’の他、‘南高’、‘白加賀’、‘織姫’、‘太平’、‘豊後’、‘麝香梅’、‘黒田梅’と‘武蔵野’の10品種を用いた。葯は光学顕微鏡で観察し、デジタルカメラで撮影した。葯の大きさは、撮影した写真からフォトメジャー（ケニス株式会社）を使い、各品種50の葯（10花の5個ずつ）を計測した。花粉の採取は、葯をピンセットで採取し、25℃で一日開葯した花粉をパラフィン紙で作った袋に入れ、シリカゲルとともに容器に密封し、観察時まで約2週間から1ヵ月、-4℃で保管した。花粉の発芽率はショ糖10%を含む1%寒天培地上に花粉を散布し、20℃のインキュベーター内に24時間以上放置後、光学顕微鏡下で100粒以上観察し、花粉管が伸長している花粉の割合から求めた。花粉の量はパラフィン紙の袋に木綿を入れて、一定の力で花粉を付着させ、培地上に散布したときの量を観察した。判定は4段階に分け、培地全体に広く散布されるものを多、わずかしこ散布されないものを少、その中間を中、光学顕微鏡下でも花粉が観察されないものを無、とした。

5. ウメの葉の形態調査

葉の形態調査は、‘高砂’と‘芳流閣’の他、‘南高’、‘織姫’、‘豊後’、‘武蔵野’と‘寒成枝垂’の7品種を供試した。2008年7月に各品種の徒長枝（1m以上）の中位葉を50枚採取し、葉身長、葉幅、葉面積、葉密度、葉厚及び孔辺細胞の大きさを調べた。葉面積は自動面積計（AAM-8, 林電工）を用いて測定

し、葉厚はデジタルマイクロメーター（Mitutoyo）を使って測った。孔辺細胞の大きさは、‘高砂’と‘芳流閣’、‘南高’、‘白加賀’、‘紅サシ’、‘豊後’、‘武蔵野’と‘寒成枝垂’の8品種を供試した。孔辺細胞は葉の裏をカミソリで薄く切り削ぎ、組織の薄い部分を光学顕微鏡で観察し、デジタルカメラで撮影した。孔辺細胞の大きさは、撮影した写真からフォトメジャー（ケニス株式会社）を使い、各品種50の孔辺細胞（5葉から各10細胞）を計測した。

第3節 結果および考察

1. SSR マーカーによる解析と三倍体候補の選択

‘高砂’、‘芳流閣’、‘茶寿’及び‘興津赤花’を、第2章で選抜したウメで利用可能な14種類のモモやアズで開発されたSSRマーカー(UDP96-001, pchgms3, MA007a, MA010a, MA017a, MA040a, MA053a, M6a, M7a, PaCITA4, PaCITA7, PaCITA12, PaCITA19及びPaCITA21)を用いてPCR反応を行い、増幅産物をDNAシーケンサーで分画・検出し、GeneScanソフトを用いて解析した。なお、用いたSSRマーカーは、いずれも単一座由来のものである。その結果、‘高砂’では8つのSSR遺伝子座(pchgms3, MA007a, MA010a, M6a, PaCITA4, PaCITA7, PaCITA19とPaCITA21)で3つのピーク=推定対立遺伝子が確認された。それ以外のSSRマーカーでは、1本もしくは2本のバンドが検出された。

‘興津赤花’では4遺伝子座(UDP96-001, MA010a, PaCITA4とPaCITA7)で、‘芳流閣’では2遺伝子座(MA010aとPaCITA4)で、‘茶寿’では2遺伝子座(MA010aとPaCITA4)で、3つのピーク=推定対立遺伝子が確認された(Fig. 4-2a, b, Table 4-1)。Kimura *et al.* (2002)は、三倍体のアジアナシ‘Hongnahe’を9種類のSSRマーカーで解析し、3遺伝子座(KU10, NH004a and NH013a)で3つの増幅産物が得られ、3つの対立遺伝子を検出したと報告している。また、リンゴの三倍体品種‘陸奥’、‘北斗’と‘ジョナゴールド’でも3つの対立遺伝子が検出され(Gianfranceschi *et al.* 1998, Kitahara *et al.* 2005a, 2005b)、更に、四倍体のブラックチェリーでは、4つの対立遺伝子を検出した(Downey and Iezzoni 2000)。このように、単一遺伝子座における対立遺伝子の最大個数は倍数体に比例しており、すなわち、二倍体ではバンド数(対立遺伝子数)が2以

下、三倍体ではバンド数（対立遺伝子数）が3以下、四倍体ではバンド数（対立遺伝子数）が4以下であり、‘高砂’、‘芳流閣’、‘茶寿’及び‘興津赤花’は三倍体である可能性が強く示唆された。

三倍体と推察された4品種‘高砂’、‘芳流閣’、‘茶寿’及び‘興津赤花’に対し、本研究で使用した14種類のSSRマーカーのうち9種類で3つピークが確認され、MA010aとPaCITA4で4品種全てに、PaCITA7で2品種（‘高砂’と‘興津赤花’）に、pchgms3, MA007a, M6a, PaCITA19とPaCITA21の5遺伝子座で‘高砂’のみに、UDP96-001では‘興津赤花’のみに見られた。第2章のウメ127品種・系統に対し14種類のSSRマーカーで分析した結果で、対立遺伝子数、遺伝子型数、ヘテロ接合度の観測値 (H_o) が最も高かったのはPaCITA7で、次いでPaCITA4であった (Fig. 2-5)。3つのピークが確認された9遺伝子座は、いずれもヘテロ性が高い遺伝子座であった。SSRマーカーは供優性で一遺伝子座あたりに得られる対立遺伝子が多いので、DNAマーカーの中でも倍数体を検出しやすいと思われる。

2. フローサイトメーターによる解析

三倍体と推察される‘高砂’、‘芳流閣’、‘茶寿’及び‘興津赤花’、‘南高’（対照）について、より詳しく倍数性を同定するため、フローサイトメーターによる解析を行った。フローサイトメーターは植物の倍数性解析には広く利用されている (Arumuganathan and Earle 1991, Costich *et al.* 1993)。解析の結果、4品種の相対蛍光強度2Cのピークは、‘南高’とは別の位置にあった (Fig. 4-3)。4品種それぞれと‘南高’を同時に解析すると、‘高砂’の2Cのピーク値が235

のとき‘南高’は156であった。‘芳流閣’のピーク値が208のとき‘南高’は139であった。‘興津赤花’のピーク値が200のとき‘南高’は135であった。‘茶寿’のピーク値が186のとき‘南高’は125であった (Fig. 4-3)。いずれも、‘南高’ピーク値の約1.5倍の値を示した。この他二倍体品種の‘白加賀’と‘西洋梅’についてフローサイトメーター解析を行った結果、2Cのピーク値は‘南高’と同じ位置にあった (データ省略)。三倍体と考えられた‘高砂’、‘芳流閣’、‘茶寿’及び‘興津赤花’はフローサイトメーターの解析で、核DNA量は二倍体である‘南高’の1.5倍であったことから、三倍体であることが明らかとなった。

3. 三倍体品種の花の特徴

‘高砂’、‘芳流閣’、‘茶寿’及び‘興津赤花’は、鑑賞用の花ウメとして利用されている (Fig. 4-1)。「高砂」と「興津赤花」は豊後系のウメで、アンズや多くの豊後系のウメと同じように、葉緑体DNAの *trnL-trnF* 領域に200 bpの欠失はなく (データ省略)、母系はアンズと考えられた。「芳流閣」と「茶寿」の系は不明であるが、「芳流閣」は枝垂れ性のウメであった。花の形態調査で三倍体の4品種は他のウメと、花弁、雌蕊及び雄蕊の数で差は見られなかったが、花のサイズはウメの中でも大きい (Table 4-2)。八幡ら (2005b) は、ビワの三倍体の花及び花弁の大きさと、二倍体より有意な肥大化が見られたことを報告している。ニホンスモモの三倍体‘貴陽’は親品種の‘太陽’より花の全幅は有意に大きいことが報告されている (大林ら 2006)。一般に倍数体の器官は巨大化することが知られ、花も大きくなると考えられた。ただ、豊後系の花はア

ンズの影響で一般的に大きく、ウメで一番大きい品種も豊後系の‘武蔵野’である（堀内ら 1986, Mega *et al.* 1988）。このことから、豊後系である‘高砂’と‘興津赤花’については、三倍体であることの他にアンズの影響で花が大きくなっている可能性も考えられた。

和歌山県うめ研究所の品種見本園に植栽されている実ウメと花ウメ合計 100 品種余りの花について観察すると、‘芳流閣’と‘高砂’の葯は肉眼でも大きいことが認められた（Fig. 4-1）。葯を顕微鏡下で観察し、長さを測定すると他のウメ二倍体の 8 品種よりも‘高砂’（1.21 mm）と‘芳流閣’（1.22 mm）は有意に大きかった（Fig. 4-4, Table 4-3）。これらのことから、‘高砂’と‘芳流閣’の葯は、三倍体によって大型化していることが示唆された。

花粉の量は三倍体の 4 品種ともに少なく、培地上で花粉管の発芽も見られなかった（Table 4-2）。倍数体の中で核型が奇数倍のとき、減数分裂がうまくいかずに雄性器官では正常花粉が形成されにくくなることが知られている（渡辺 1986）。リンゴでは二倍体の発芽率 50～97 % に対し、三倍体は 10～27% に低下し、西洋ナシでは二倍体の発芽率 29～78% に対し、三倍体は 4～25 % に低下した（中川 1973）。ビワでは二倍体の発芽率 95 % に対し、三倍体は 8 % に低下した（八幡 2005a）。ウメの三倍体においても三倍体の生殖器官の異常に起因し、発芽しなかったと推察した。

果実の結実については、和歌山県うめ研究所に植栽されている‘高砂’と‘芳流閣’は確認されていない。また、果樹研究所（茨城県新治郡千代田町、現茨城県かすみがうら市）にある‘興津赤花’と‘茶寿’は結実するが（Fig. 4-1c, d）、その量はかなり少なく結実不良である。花粉の稔性は、‘白加賀’と同じように

不稔性遺伝子による雄性不稔である可能性もあるが、結実不良は三倍体による影響が高いと考えられた。

4. 三倍体品種の葉の特徴

‘高砂’及び‘芳流閣’、実ウメの‘南高’、‘織姫’、枝垂れ性の花ウメ‘寒成枝垂’、豊後系の‘豊後’と‘武蔵野’の7品種の葉の葉身長、葉幅、葉面積、一枚重、密度と厚さの6項目を調査した。葉身長、葉幅、葉面積と一枚重の項目で‘高砂’及び‘芳流閣’と他5品種で差は見られなかったが、‘芳流閣’の葉密度 (31.0 mg/cm^2) と葉の厚さ ($277 \mu\text{m}$) の値は他品種に比べて有意に大きく (Fig. 4-4)、三倍体による影響が考えられた。オウトウでは倍数化した‘佐藤錦’の葉重が大きくなったことが報告されている (小野ら 2002)。

また、‘高砂’及び‘芳流閣’、実ウメの‘南高’、‘白加賀’、‘紅サシ’、枝垂れ性の花ウメ‘寒成枝垂’、豊後系の‘武蔵野’、‘豊後’、‘太平’、‘黒田梅’の10品種の孔辺細胞を調査したところ、‘芳流閣’の孔辺細胞の縦径 ($30.1 \mu\text{m}$) と横径 ($20.3 \mu\text{m}$) は調査した実ウメや枝垂れ性のウメよりも有意に大きいことが分かった (Fig. 4-5, Table 4-5)。また、‘高砂’の孔辺細胞の縦径 ($33.3 \mu\text{m}$) も調査した他の豊後系4品種よりも有意に大きかった (Fig. 4-5, Table 4-5)。渡辺 (1986) は植物の倍数化を示す一般的な指標の一つとして、孔辺細胞の長径を挙げている。八幡ら (2005a) は、ビワの三倍体の孔辺細胞の長径も、二倍体よりも有意に大きかったことを報告している。

本章では、SSR分析により一遺伝子座に3つの対立遺伝子を持つ‘高砂’、‘芳流閣’、‘興津赤花’と‘茶寿’の花ウメ4品種を見出し、これらはフローサイ

トメーター解析でも三倍体であることが証明された。また、花や葉の形態調査では、葯や孔辺細胞の器官で大型化していると考えられた。しかし、倍数化により大型化しているか調べるには親品種と比較する必要があり、親品種が不明である 4 品種について形態調査で三倍体の特徴を展開していくのは難しいように思われる。ただ、花粉不稔や結実不良は三倍体であることが影響していると考えられた。今までに、ウメの倍数体については、三倍体の存在が過去の文献に記載されてはいるが、品種の詳細は不明であった。本研究で花ウメ 4 品種が三倍体であることが明らかとなった。

Table 4-1. Genotypes at 14 SSR loci of 8 cultivars

cultivar name	SSR genotypes ¹⁾						
	UDP96-001	pchgms3	MA007a	MA010a	MA017a	MA040a	MA053a
Takasago	109/117	180/198/202	112/116/124	106/110/118	132/134	207/213	228/229
Houryuukaku	117/131	194/	112/114	110/125/127	136/142	207/213	229/
Okitsu Akabana	109/117/131	194/197	110/112	106/110/120	142/142	207/211	228/229
Saju	117/131	194/198	112/114	110/125/127	136/142	207/213	228/229
Nankou	117/131	194/198	114/116	106/106	142/142	207/207	228/228
Kansei Shidare	117/135	194/196	112/118	106/106	134/142	207/207	228/229
Seiyoubai	117/117	180/198	112/124	106/110	132/142	207/213	228/228
Musashino	109/117	194/198	112/134	108/133	142/142	207/211	228/255

cultivar name	SSR genotypes ¹⁾						
	M6a	M7a	PaCITA4	PaCITA7	PaCITA12	PaCITA19	PaCITA21
Takasago	199/201/207	154/	142/154/164	209/236/256	135/159	114/124/126	221/229/240
Houryuukaku	190/201	140/154	158/166/176	234/248	135/137	120/124	240/
Okitsu Akabana	201/	154/156	142/168/176	209/248/258	135/151	120/124	221/234
Saju	190/201	140/150	158/166/176	234/248	135/137	120/124	240/242
Nankou	201/201	154/156	160/160	236/244	135/135	116/120	221/242
Kansei Shidare	201/201	156/156	154/160	238/244	135/135	120/124	221/236
Seiyoubai	199/201	154/156	142/160	199/209	135/159	114/120	221/230
Musashino	189/201	154/154	157/168	209/248	135/135	114/124	234/240

¹⁾SSR genotypes for UDP96-001, pchgms3, MA007a, MA010a, MA017a, MA053a, M6a and M7a were identified using PRISM™ 377 DNA sequencer, and SSR genotypes for PaCITA4, PaCITA7, PaCITA12, PaCITA19 and PaCITA21 were analyzed using PRISM 3100 DNA sequencer.

Table 4-2. Flower morphology of 14 Japanese apricot cultivars

Cultivar name	Color of petal	No. of petal	Flower size (grade)	No. of pistil	No. of stamen	Pollen quantity	Rate of germinated pollen (%)	Flowering time	Group (kei)	Characteristics
Takasago	white	12-15	large	1	48~57	little	0	late	Bungo	
Houryuukaku	white	6-10	large	1	80~99	little	0	middle	unknown	pendulous
Okitu Akabana	pink	16-23	large	1	73~87	little	0	late	Bungo	
Saju	white	5	midle	1	63~72	little	0	late	unknown	
Nankou	white	5	small	1	48~54	many	42.5	middle	unknown	fruit production
Shirokaga	white	5-6	midle	1	47~53	little	0	middle	unknown	fruit production
Orihime	white	5	small	1	50~57	many	28.5	early	unknown	fruit production
Kansei Shidare	white	5	small	1	58~63	little	0	midle	unknown	pendulous
Mangetsu Shidare	white	5-6	midle	1	59~67	midium	12.5	middle	Yabai	pendulous
Eikan	red	23-25	midle	3-4	78~92	midium	8.5	middle	Koubai	
Jakoubai	white	16-20	midle	2	65~73	many	15.5	early	Yabai	
Kurodaume	pink	23-26	large	1	78~87	many	13.5	late	Bungo	
Seiyoubai	white	5	large	1	38~45	little	0	late	Bungo	fruit production
Musashino	pink	23-30	large	1	66~73	little	0	late	Bungo	largest bloom in Japanese apricot

Table 4-3. The anther length from 10 Japanese apricot cultivars

Cultivar name	Anther length (mm)
Houryuukaku	1.22 a ¹⁾
Orihime	0.92 ed
Jakoubai	0.97 cd
Shirokaga	0.87 e
Nankou	0.94 d
Takasago	1.21 a
Kurodaume	1.08 b
Musashino	1.08 b
Taihei	1.00 c
Bungo	0.88 e

¹⁾Mean separation within each of the lines by Tukey's test, 1 % level (n=50).

Table 4-4. Leaf morphological traits of Japanese apricot

Cultivar name	Length (mm)	Width (mm)	Area index (cm ²)	Weight (g)	Density (mg/cm ²)	Thickness (μm)
Takasago	98.8 a ¹⁾	68.4 cd	42.1 a	1.05 a	25.1 a	224 ab
Houryuukaku	101.4 a	54.7 a	33.8 b	1.05 a	31.0 b	277 c
Nankou	102.5 ab	51.2 ab	31.6 b	0.78 b	24.8 ac	231 a
Orihime	97.7 a	50.7 b	30.2 b	0.70 b	23.0 ac	212 b
Kansei-shidare	86.8 c	39.0 e	20.3 c	0.55 c	27.2 e	249 d
Bungo	108.2 b	71.2 c	48.3 d	1.07 a	21.9 d	213 b
Musashino	103.6 ab	65.6 d	41.7 a	1.00 a	24.0 ac	215 ab

¹⁾Mean separation within each of the lines by Tukey's test, 1 % level (n=50).

Table 4-5. The size of guard cells in Japanese apricot

A) Houryuukaku and 4 cultivars

Cultivar name	Length (μm)	Width (μm)
Houryuukaku	30.1 b ¹⁾	20.3 a
Nankou	23.1 e	16.8 b
Shirokaga	23.2 e	16.2 b
Benisashi	25.8 cd	17.0 b
Kansei Shidare	23.1 e	16.3 b

B) Takasago and 4 cultivars in Bungo group

Cultivar name	Length (μm)	Width (μm)
Takasago	33.3 a	20.3 a
Musashino	28.9 bc	20.3 a
Bungo	26.4 d	17.2 b
Taihei	26.8 c	17.6 b
Kurodaume	29.0 b	20.3 a

¹⁾Mean separation within each of the lines by Tukey's test, 1 % level (n=50).



Fig. 4-1a. Flower and leaf of Takasago (高砂).



Fig. 4-1b. Flower and leaf of Houryuukaku (芳流閣).



Fig. 4-1c. Flower and fruit of Okitsu Akabana (興津赤花).



Fig. 4-1d. Flower and fruit of Saju(茶寿).

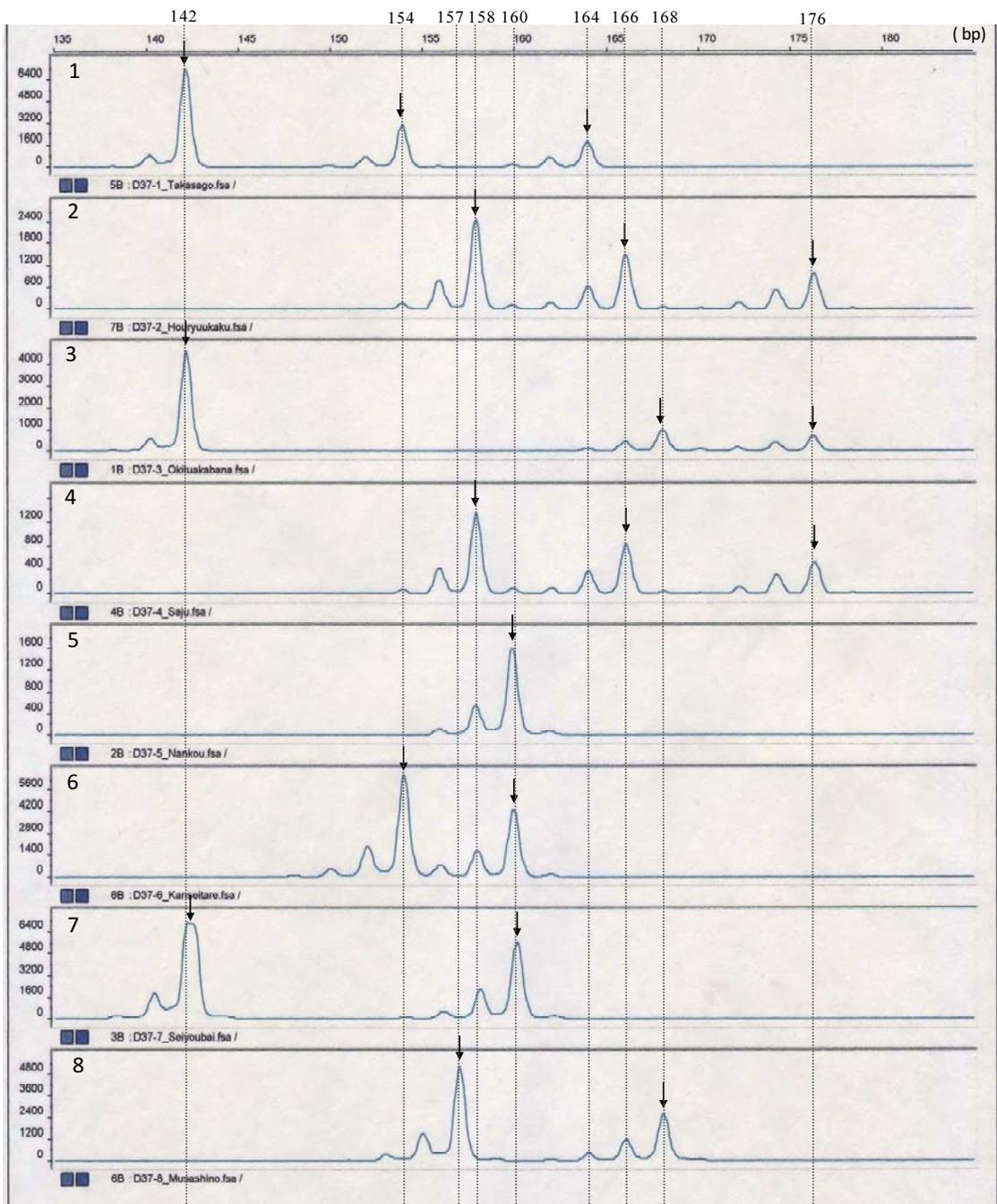


Fig. 4-2a. Amplified fragment patterns of PaCITA4 from 8 Japanese apricot varieties. Lane 1 to 8 display amplified products the following varieties. Lane1: Takasago, lane2: Houryuukaku, lane3: Okitsu Akabana, lane4: Saju, lane5: Nankou, lane6: Kansei Shidare, lane7: Seiyoubai, lane8: Musashino. Arrows indicate SSR fragments.

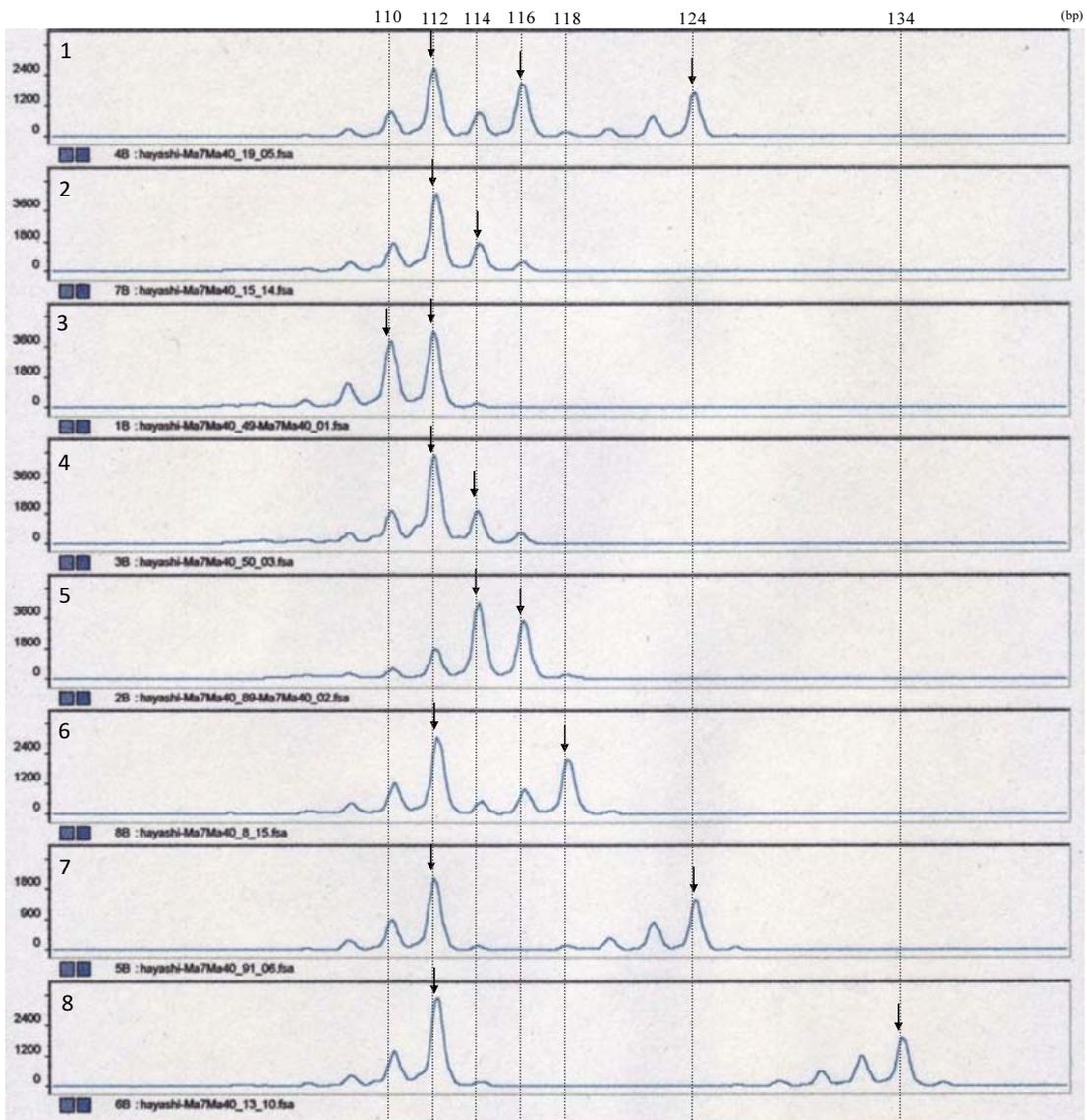


Fig. 4-2b. Amplified fragment patterns of MA007a from 8 Japanese apricot varieties. Lane 1 to 8 display amplified products the following varieties. Lane1: Takasago, lane2: Houryuukaku, lane3: Okitsu Akabana, lane4: Saju, lane5: Nankou, lane6: Kansei Shidare, lane7: Seiyoubai, lane8: Musashino. Arrows indicate SSR fragments.

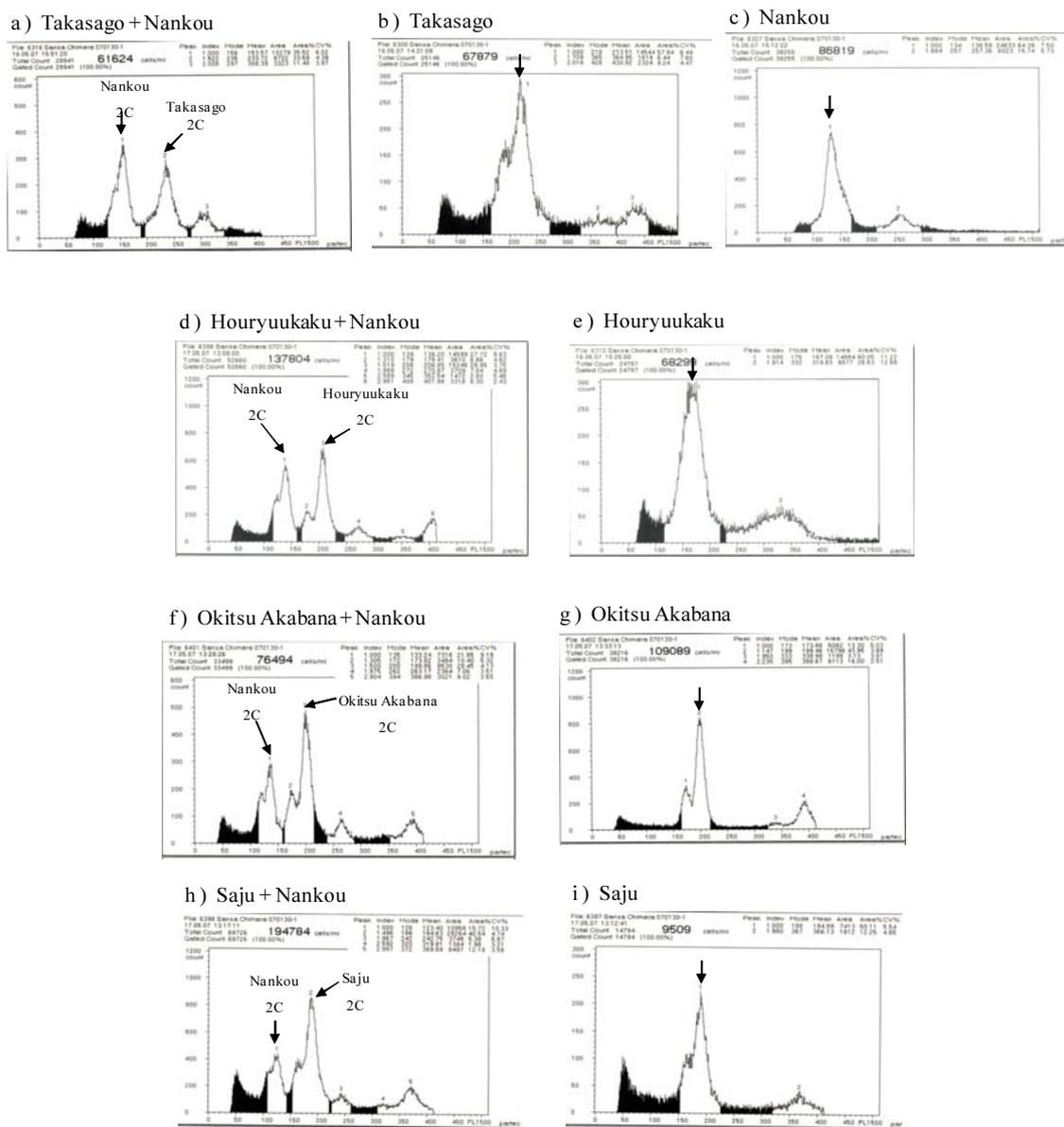


Fig. 4-3. Flow cytometric analysis of Takasago, Houryuukaku, Okitsu Akabana, Saju and Nankou. a), d), f) and h) indicate analyzed data for Takasago, Houryuukaku, Okitsu Akabana and Saju mixed with Nankou, respectively. b), c), e), g) and i) indicate analyzed data for Takasago, Nankou, Houryuukaku, Okitsu Akabana and Saju, respectively. Arrows indicate peak of 2C.

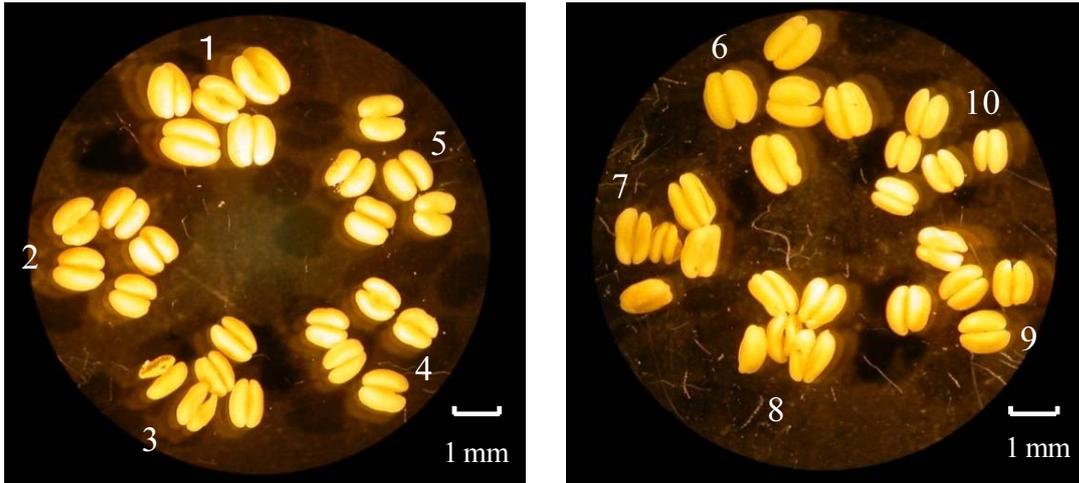
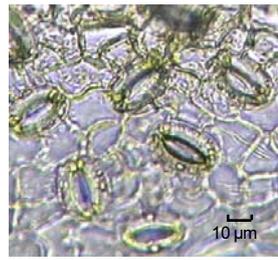
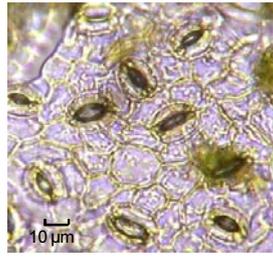


Fig. 4-4. Anthers of 10 Japanese apricot cultivars.

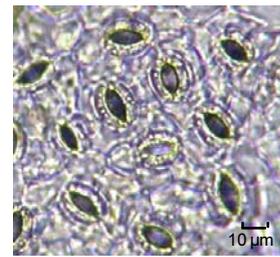
1: Houryuukaku, 2: Orihime, 3: Jakoubai, 4: Shirokaga, 5: Nankou,
6: Takasago, 7: Kurodaume, 8: Musashino, 9: Taihei, 10: Bungo.



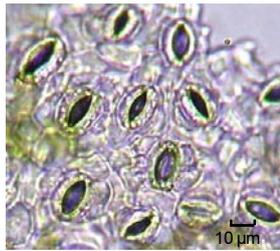
Houryuukaku



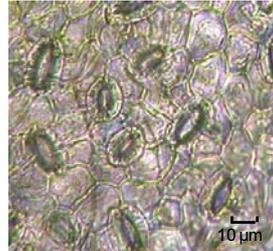
Nankou



Shirokaga



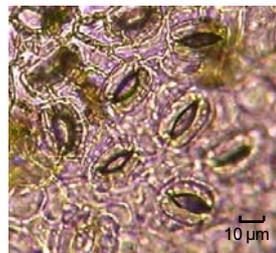
Hakuou



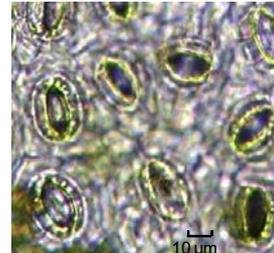
Gofuku Shidare



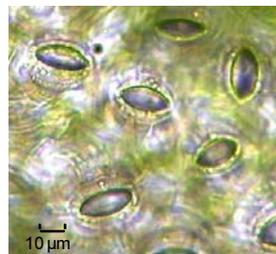
Kasnsei Shidare



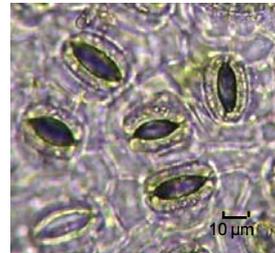
Bungo



Musashino



Seiyoubai



Takasago

Fig. 4-5. Guard cells of 10 Japanese apricot cultivars.

第5章 総合考察

ウメは、中国、日本や台湾等の東アジアを中心とした地域で主に栽培されており、日本では保存食として塩漬けにした「梅干」を食する文化が根付いており、人間の生活や食習慣の中で重要な位置づけにある。一方、世界の中でウメが栽培されているのは東アジアを中心とした地域だけで、果実は酸味が強く、生食できないことから、果物として広く伝播しなかったと考えられる。日本のウメ栽培面積は 18,700 ha で、カンキツ類、リンゴ、カキ、クリ、ブドウに次いで大きく（農林水産省 2007a）、主要果樹の一つと言える。しかしながら、果樹としてウメの育種が行われるようになった歴史は浅く、またウメを研究する研究者が少ないことから遺伝的多様性、遺伝資源、形質の遺伝、及び育種に関する情報はまだまだ蓄積が乏しい。果樹は開花結実まで長期間を要するため、遺伝情報の少ないウメにとって、有用形質に連鎖する DNA マーカーを作成し育種素材評価のために DNA マーカーを用いることは、育種年限の短縮が図れるだけでなく、ウメに関する基盤的な情報や育種情報を蓄積するために非常に重要である。

本研究で行った多様性解析では、ウメは 1) アンズと豊後系のウメ、2) 台湾とタイ由来の系統、3) 日本と中国由来の実ウメと花ウメの 3 つのグループに大別された。日本のウメと遺伝的に離れた関係にあった豊後系や台湾のウメには、日本の実ウメが持っていない特徴がある。豊後系のウメは、アンズの遺伝的な影響から、果実は大きく、酸はクエン酸に対してリンゴ酸の含量が多く、酸味は穏やかになる。また、豊後系のウメには日本の北の地域で栽培され、寒さに

強い形質をもった品種・系統がある（堀内ら 1996）。台湾のウメは、開花期が早く落葉期も遅いため、休眠が浅いことが知られ（Yamane *et al.* 2006）、南の暖かい地域に適応した形質を持っている。この他にも、日本の実ウメが持っていない形質を、豊後系や台湾のウメが持っている可能性が想定できるので、未利用・未発見の有用形質を探索し、今後の育種に役立てる必要がある。多様性解析では大まかにウメの品種をグループ別に分けることができたので、それぞれのグループが持つ形質を考えて、今後の育種に利用していくことができる。

ウメで利用されているDNAマーカーには、田尾らが開発した自家不和合性や自家和合性を判別するマーカーがある（Tao *et al.* 2000, 2002）。ウメの多くの品種は自家不和合性で受粉樹が必要となり、また収量も安定しないため自家和合性品種の育成が必要とされていた。ウメの自家和合性品種はS-RNase遺伝子座に S^f 遺伝子を持ち、DNAマーカーでこの遺伝子を検出することができる。実際に、ウメの自家和合性品種の育種に用い、南高（ S^1/S^7 ）に地蔵（ S^3/S^f ）を交雑した63個体の実生の中から、DNAマーカーで自家結実する23個体（ S^1/S^f が17個体と S^7/S^f が6個体）を選抜することができた（林 2004）。このDNAマーカーによる判別は、葉一枚あればDNAを抽出し簡単にPCR法で判別することができるため、交雑種子を播種した後、発芽してすぐに自家和合性を判別できる。従来のようにフィールドにおいて自家受粉による結実で判別するには、播種してから結実までウメは4~5年かかることになるが、DNAマーカーによる選抜で3~4年育種年限を短縮できる。このようにDNAマーカーを利用することにより、育苗のための圃場面積の軽減やコスト削減が可能であり、ウメの形質に連鎖するDNAマーカーがあれば利用価値は高い。今のところ、育種情報の少ないウメか

らDNAマーカーを開発することは困難であるが、近い将来、ウメの育種情報が蓄積されれば、DNAマーカーによる育種で、黒星病やかいよう病の病害抵抗性、ヤニ果の発生しない形質、地球温暖化による低温不足に適応した形質を持つ新品種の育成が期待できる。

ウメの自家和合性個体を判別する DNA マーカーのプライマーは、甘果オウトウの *S-RNase* 遺伝子座から設計された (Tao *et al.* 1999)。ウメ由来の DNA マーカーは今のところ開発されていないが、*S-RNase* の事例のように、近縁の植物で開発された DNA マーカーは高い汎用性を示すことが、近年のゲノム研究から分かってきた。本研究でも、モモとアンズから開発された 58 種類の SSR マーカーから、ウメで利用可能な 39 種類を見出した。これらのことは、サクラ属内では、ゲノム構造や遺伝子配列が保存されていることを示しており、サクラ属内植物の情報の利用や、相互の比較による新たな研究の展開が可能であることを示唆するものであった。SSR マーカーはゲノム上に広く散在し、多型性が高いため、多くの SSR 遺伝子座が連鎖地図に座乗している (Dirlewanger *et al.* 2004, Howad *et al.* 2005, Yamamoto *et al.* 2005)。モモでは、高密度連鎖地図が作成され、果肉色や果実の酸度について遺伝子地図上の位置が同定され、遺伝的距離が近く連鎖する SSR マーカーが利用可能であることが報告されている (山本ら 2007)。ウメでも遺伝子地図を作り、病害抵抗性や環境ストレス抵抗性等の有用な遺伝形質を地図上に乗せ、育種へ導入していくことが可能であろう。一方、座乗するマーカーの数がまだまだ少なく課題も多いが、遺伝子地図作成、重要形質の遺伝解析、連鎖マーカーの取得、DNA マーカー選抜を地道に進めて行く必要がある。サクラ属ではゲノム構造がよく保存されており、8 対の染色

体の構造、すなわち遺伝子が座乗する連鎖群や位置関係、遺伝子の塩基配列もかなり似ていると考えられる。スペインのグループは、ヨーロッパ各国が作成した各種連鎖地図を共通の RFLP マーカーや SSR マーカーで結合した「サクラ標準属地図」を作成している (Dirlewanger *et al.* 2004, Howad *et al.* 2005)。サクラ属果樹の連鎖地図では、わい性、果実の酸度、果皮の毛、核の粘離性の形質が座乗する連鎖群が判明しており、これらの情報をウメの育種に利用することにより、わい化による労力軽減や、果実品質の向上が図れると考えられる。

この他、SSR マーカーは、品種識別や親子判定にも応用できる。SSR マーカーは、ヒトの犯罪捜査や親子鑑定といった DNA 鑑定で実用的に利用され、信頼度は高い (Weber and May 1989)。果樹においてもモモやナシで品種識別や親子鑑定に用いられ、モモでは日本の‘白鳳’をはじめとする生食用品種の起源は‘上海水蜜桃’であることが明らかとなり (Yamamoto *et al.* 2003a)、ナシでは‘豊水’の親品種が同定された (Sawamura *et al.* 2004)。本研究で得られた SSR マーカーも、すでにウメの品種識別や親子判定に実用的に利用されており、例えばうめ研究所に持ち込まれた来歴不明系統の品種識別や、実生台木の花粉親を同定した。その結果、来歴不明系統について調べたところ、‘白加賀’や‘南高’の枝変わりや実生であった。実生台木の花粉親判別では、18 の実生台木について SSR データから花粉親を同定し、1 系統は不明であったが、17 の台木の花粉親を同定することができ、3 つの台木は自家受粉した実生であることも判明した (林 2005, 2006)。このように、本研究の SSR マーカーから得られたデータを用いることにより、ウメの品種識別や親子判定といった DNA 鑑定が可能となった。果樹においては、生産、販売や流通に従事している専門家であっ

ても、樹、花や果実の外観を見て、正確に品種を同定することは困難であり、SSR マーカーによる DNA 鑑定は今後利用されていくと考えられる。更に、SSR マーカーは微量のサンプルで分析が可能であることから、缶詰やジュース等の加工品からの DNA 鑑定も期待できる (Ram *et al.* 1996, Faria *et al.* 2000, Yamamoto *et al.* 2006)。特にウメは果実を加工して扱うことから、梅干し、梅酒やウメジュースといった加工品からの原材料品種の同定は、産業的にも有用であり、食の安全・安心にも貢献し、その役割は大きいと考えられる。

本研究のSSR分析では、‘地蔵’と‘新平太夫’は、21のSSR遺伝子座とS-RNase遺伝子座で全て同じ遺伝子型であった (Fig. 2-1, Table 2-6)。「新平太夫」は「南高」の一樹変異とされているが (田辺ら 1986)、「南高」とはSSR遺伝子型だけでなく、S遺伝子も異なる (‘南高’; S^1/S^7 、‘地蔵’; S^3/S^6)。「新平太夫」は、本研究の結果から‘地蔵’由来の枝変わりと考えるほうが自然であると思われる。また、アンズ品種‘信州大実’は、‘新潟大実’と‘アーリーオレンジ’の交雑実生と言われているが (吉田 1984b)、SSR分析により両親から交雑実生へ対立遺伝子が伝わっていない遺伝子座が多く見られ (Table 3-4b)、従来の来歴・由来の記述が間違っていると考えられた。この他にアンズで、‘信山丸’は、‘山形3号’の交雑実生という説も (吉田 1984b)、SSR分析の結果と違っていた (Table 3-4b)。このように、本研究のSSR分析から、従来の来歴に矛盾があると考えられるものが、ウメで1つ、アンズで2つ見受けられた。日本のナシやモモでも、SSR分析から交雑親や枝変わりの由来が間違っている事例が多数ある (Yamamoto *et al.* 2003a, Sawamura *et al.* 2004)。SSRマーカーは、品種の来歴を確認できる。また、来歴が誤っていれば由来すなわち親の推定も可能である。

育種では、両親の形質、形質の遺伝性 (major因子かminor因子か)、由来・来歴を総合的に勘案して、交雑親を決めることから、親の情報は計画的な育種を行う上で非常に重要であり、また、その情報に加えて、形質と相関があるようなDNAマーカーを勘案することで、育種の効率化は可能となる。その意味からも、親子の関係や来歴を整理する意義は大きい。

ウメを含む核果類の多くは、染色体数 $2n=16$ の二倍体である。今まで、ウメの倍数体については、三倍体の存在が過去の文献にいくつか記載されてはいるが、品種の詳細や形態の特徴は分かっていなかった。本研究のSSR分析とフローサイトメーターによる解析により、花ウメの‘高砂’、‘芳流閣’、‘興津赤花’と‘茶寿’の4品種が三倍体であることが明らかとなった。いずれも花ウメで、今まで100種以上の実ウメをSSR分析してきたが、実ウメの中に三倍体と考えられる品種は存在しなかった。三倍体は二倍体に比べ、葉、花や果実といった栄養器官が大型化するが、減数分裂がうまくできず花粉不稔で結実不良になりやすい。今回見出した三倍体のウメ4品種も結実不良で、‘高砂’と‘芳流閣’は結実せず、‘興津赤花’と‘茶寿’は結実が少ない。そのため、たとえ実ウメの中から三倍体が現れ大きな果実を成らしたとしても、結実が不良で果樹として栽培がなりたらず、淘汰されてきたと考えられる。しかしながら、他の果樹では倍数体品種が生みだされている。ビワでは三倍体になったことにより無種子で果肉の割合が増えた‘希房’ (八幡ら 2005a)、ブドウの大粒種となる‘巨峰’等の四倍体系統 (山根 1996)、カキは通常六倍体であるが九倍体で無種子になる渋カキの‘刀根早生’がある (田尾ら 2003)。ニホンスモモの三倍体品種‘貴陽’は結実不良で、十分な結実には何度も人工受粉させなければなら

いが、糖度が高くモモ並の大きな果実は付加価値があるため貴重であり、結実を安定させる研究も行われている（富田 2004）。着果技術や栽培方法の改良により、大きな果実という付加価値を持つ三倍体のウメ品種の育成の可能性もあり、今後の研究課題であろう。一方、鑑賞用である花ウメは、果実収穫をする必要がなく、大輪を咲かす三倍体は、花が小さいウメの中で際立ち、品種として残ってきたと思われる。これらのことから、三倍体のウメは、その形態的特性から花ウメで展開していったと考えられる。近年、視覚的な効果、癒しやゆとりから、花きや鑑賞樹が注目され、いろいろな新品種が育成・登録されている。大輪を咲かす三倍体の花ウメは、魅力的であり今後新たな需要が見込まれると予想される。本研究で見出した三倍体のウメは、まだまだ分からないことが多く、新たな形質や特徴を秘めている可能性がある。これらの特徴をさらに詰めて解析することにより、育種素材として利用していくことが考えられる。

本研究では、これまで遺伝的な情報や育種に関する情報等研究蓄積の少なかったウメを対象にして、同じサクラ属内の植物で開発された DNA マーカーや遺伝子情報を利用し、ウメで利用可能な DNA マーカーを開発した。ウメで利用可能な SSR マーカーを用いてウメの遺伝的多様性の解析を行い、日本で栽培されているウメ品種を中心に、遺伝的關係や類縁性を明らかにした。これら情報は、今後、ウメの計画的な育種に非常に有用であるとともに、DNA 鑑定による品種識別や親子鑑定にも有効である。また、SSR 分析から同定し、またその特徴を評価した三倍体のウメ品種は、大玉果の品種育成や、園芸的に魅力的な大輪花品種の育成に育種素材として大いに利用可能であると考えられる。本研究の成果は、今後の新しいウメの育種基盤の構築を通して、DNA マーカー選抜

育種、育種の効率化、特徴ある新品種の育成に貢献していくことが期待される。

摘要

ウメ (Japanese apricot, *Prunus mume* Siebold et Zucc.) は、バラ科サクラ属スモモ亜属に属する落葉小高木で、アジアの温暖な地域で栽培されている。原生地は中国中南部の山岳地帯で、日本には弥生時代に最初に持ち込まれたと言われている。日本のウメは、花を観賞する花ウメと果実を利用する実ウメに、便宜上分けられるが、今までに、共通の DNA マーカーを用い、花ウメと実ウメの遺伝的多様性を解析した報告は少なく、特に花ウメと実ウメの遺伝的な関連については、知見が限られていた。本研究では日本で栽培されている実ウメと花ウメを中心に中国や台湾産のウメも含め遺伝的な関係を、SSR (simple sequence repeat) マーカーを使って解析した。

日本由来の実ウメ 56 品種と花ウメ 55 品種、中国由来の 8 系統、台湾由来の 7 系統、タイ由来の 1 系統を含む 127 のウメ品種・系統について、SSR マーカーにより遺伝的多様性を評価した。モモやアンズで開発された 58 種類の SSR マーカーのうち、39 種類がウメで 1-2 本の増幅バンドを生じ、種を越えて利用可能であることが示唆された。そのうち、明瞭な増幅と高い多型性を示した 14 種類の SSR マーカーを選んで解析に用いた。14 種類の SSR マーカー (座) でウメを解析した結果、155 の推定対立遺伝子 (平均 11.1) が得られた。ヘテロ接合度の観察値 (H_o) と期待値 (H_e) は、それぞれ 0.29-0.88 (平均 0.61)、0.32-0.92 (平均 0.68) であった。ウメ 127 品種・系統とアンズ 3 品種で作成した樹形図では、1) アンズと豊後系のウメ、2) 台湾とタイ由来の系統、3) 日本と中国由来の実ウメと花ウメの 3 つのグループに大別された。本研究では、実ウメ、花ウメと中国産の間に明確な遺伝的な差異は検出されず入り混じっていた。このことは、日本の実ウメと花ウメ及び中国のウメはグループ内で交わり、従来からの二つの仮説、日本のウメは中国から伝来したこと、実ウメは花ウメ品種の中から選抜されてきたことを指示するものであった。

更に、ウメと近縁であるアンズとニホンスモモの遺伝的多様性と類縁性も SSR マーカーで解析した。供試した 58 種類の SSR マーカーのうちウメでは 39

種類、アンズでは 40 種類、ニホンスモモでは 40 種類で、供試系統において、1 本あるいは 2 本の増幅産物が得られた。その中で、ウメ、アンズ及びニホンスモモ全てで増幅が認められた SSR マーカーは 36 種類あり、ほとんどが共通で、スモモ亜属内では高い汎用性があった。次にウメ 27 品種、アンズ 19 品種、ニホンスモモ 22 品種の計 68 品種について、明瞭な増幅と高い多型性を示した 14 種類の SSR マーカーを選んで解析を行った。12 種類の SSR マーカー（座）でスモモ亜属 68 品種を解析した結果、181 の推定対立遺伝子（平均 15.1）が得られた。ヘテロ接合度の観察値 (H_0) と期待値 (H_E) は、それぞれ 0.42-0.82（平均 0.66）、0.76-0.92（平均 0.85）であった。本研究の SSR 分析による解析結果は、ウメ、アンズ、ニホンスモモをはっきりと種別に分類した。種間雑種と考えられる品種は両者の中間に位置し、3 種はお互いに交雑はするが、明確に種として分化していることが分かった。また、日本国内外のアンズを区別し、アンズが原生地から東西に分かれて発展していったことが推察された。

また、ウメを SSR 分析していくなかで、一遺伝子座に 3 つの推定対立遺伝子を持つ‘高砂’、‘芳流閣’、‘興津赤花’と‘茶寿’の花ウメ 4 品種を見出した、これら 4 品種はフローサイトメーター解析で 3 倍体であることが証明された。花の形態調査では、4 品種は花粉不稔や結実不良であり、三倍体であることが影響していると考えられた。‘高砂’と‘芳流閣’の葉や花を詳細に形態調査したところ、葯や孔辺細胞の器官が二倍体のウメに比べ有意に大きかった。今までに、ウメの三倍体の存在が過去の文献に記載されてはいるが、品種の詳細は分かっていなかった。本研究で‘高砂’、‘芳流閣’、‘興津赤花’と‘茶寿’の花ウメ 4 品種が三倍体であることが明らかとなり、孔辺細胞等三倍体の影響を受けていると考えられる形態的特徴が見られた。

本研究から、日本で栽培されているウメ、アンズ及びニホンスモモで利用できる SSR マーカーを見出した。更に、日本のウメを中心とした品種について、多様性解析を行い遺伝的な情報を得ることができた。今後、これらの情報は、ウメの育種研究に役立てられ、またウメの DNA 鑑定による品種識別や親子鑑定に利用できると考えられる。

謝辞

本研究の遂行ならびに本論文のとりまとめにあたり、筑波大学大学院教授(独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構果樹研究所果樹ゲノム研究チーム長) 山本俊哉博士に懇切な御指導と御校閲を賜わり、謹んで感謝の意を表します。また、筑波大学大学院教授森口卓哉博士、同大学院教授弦間洋博士並びに、同大学院准教授池谷祐幸博士には本論文の御校閲と有益な御助言を頂きました。心から感謝の意を表します。

本研究の遂行には独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構果樹研究所 ナシ・クリ・核果類研究チームの方々には、サンプルの提供をはじめ、大変御協力頂きました。チーム長の山口正己博士、元同チーム(現山形県農業総合研究センター農業生産技術試験場主任専門研究員) 八重垣英明博士にはウメ品種の特徴や文献を、同チームの末貞佑子氏にはフローサイトメーターの操作方法を丁寧に教えて頂きました。厚く感謝の意を表します。果樹研究所果樹ゲノム研究チームで実験を行った際、DNA シークエンサーの操作方法と実験手法について教えて頂きました独立行政法人種苗管理センター木村鉄也博士、並びに寺上伸吾博士をはじめとする研究室の皆様にご心から深謝いたします。SSR マーカーの情報を提供して頂いたわかやま産業振興財団の花田裕美博士に、感謝の意を表します。また、実験材料では、ウメの葉を提供して頂いた福井県園芸試験場(福井県美浜町)並びにアンズの葉を提供して頂いた長野県果樹試験場(長野県須坂市)に感謝いたします。

本研究は、筆者が和歌山県農林水産総合技術センター果樹試験場うめ研究所に勤務しながら、筑波大学大学院生命環境科学研究科に在籍し行われました。多大なる御配慮と、御激励を頂きました和歌山県うめ研究所長細平正人氏、副所長吉本均氏、前所長山田知史氏並びに前副所長夏見兼生氏に深く感謝いたします。また、島津康氏をはじめとする和歌山県うめ研究所の職員の皆様、その他大勢の関係者の方々に多大な御協力と御助言を頂きました。ここに感謝の意を表します。

引用文献

- Aranzana, M. J., J. Garcia-Mas, J. Carbo and P. Arús (2002) Development and variability analysis of microsatellite markers in peach. *Plant Breed.* 121: 87-92.
- Arumuganathan, K. and E. D. Earle (1991) Estimation of nuclear DNA content of plants by flow cytometry. *Plant Mol. Biol. Rept.* 9: 229-233.
- Cantini, C., A. F. Iezzoni, W. F. Lamboy, M. Boritzki and D. Struss (2001) DNA fingerprinting of tetraploid cherry germplasm using simple sequence repeats. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 126: 205-209.
- Cipriani, G., G. Lot, W. G. Huang, M. T. Marrazzo, E. Peterlunger and R. Testolin (1999) AC/GT and AG/CT microsatellite repeats in peach [*Prunus persica* (L) Batsch]: Isolation, characterization and cross-species amplification in *Prunus*. *Theor. Appl. Genet.* 99: 65-72.
- Costich, D. E., R. Ortiz, T. R. Meagher, L. P. Bruederle and N. Vorsa. (1993) Determination of ploidy level and nuclear DNA content in blue berry by flow cytometry. *Theor. Appl. Genet.* 86: 1001-1006.
- Dirlewanger, E., P. Cosson, M. Tavaud, M. J. Aranzana, C. Poizat, A. Zanetto, P. Arús and F. Laigret (2002) Development of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Theor. Appl. Genet.* 105: 127-138.
- Dirlewanger, E., E. Graziano, T. Joobeur, F. Garriga-Caldere, P. Cosson, W. Howad and P. Arús (2004) Comparative mapping and marker-assisted selection in Rosaceae fruit crops. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101: 9891-9896.
- Downey, S. L. and A. F. Iezzoni (2000) Polymorphic DNA markers in black cherry (*Prunus serotina*) are identified using sequences from sweet cherry, peach and

sour cherry. J. Amer. Hort. Sci. 125: 76-80.

Fang, J., Y. Qiao and Z. Zhang (2005) Genotyping fruiting mei (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) cultivars using amplified fragment-length polymorphism markers. HortScience 40: 325-328.

Fang, J., Y. Qiao and Z. C. T. Chao (2006) Genetic diversity in fruiting-mei, apricot, plum and peach revealed by AFLP analysis. J. Hort. Sci. Bio. 81: 898-902.

Faria, M. A., R. Magalhães, M. A. Ferreira, C. P. Meredith and F. Ferreira Montero (2000) *Vitis vinifera* must varietal authentication using microsatellite DNA analysis (SSR). J. Agric. Food Chem. 48:1096-1100.

Faust, M., D. Surányi and F. Nyujtó (1998) Origin and Dissemination of Apricot. In: Horticultural Reviews, Volume 22, Janick J. (eds.), John Wiley & Sons, Inc. pp225-266.

Gao, Z. H., Z. J. Shen, Z. H. Han, J. G. Fang, Y. M. Zhang and Z. Zhang (2004) Microsatellite markers and genetic diversity in Japanese apricot (*Prunus mume*). HortScience 39: 1571-1574.

Gianfranceschi, L., N. Seglias, R. Tarchini, M. Komjanc and C. Gessler (1998) Simple sequence repeats for the genetic analysis of apple. Theor. Appl. Genet. 96: 1069-1076.

土師岳・山口正己・吉田雅夫・島田武彦 (1993) ニホンスモモ、ウメ、アズキの類縁性に関する研究 (第1報) 花柄の長さの種間雑種と種内変異. 園学雑. 62 (別1) :90-91.

林恭平・根来圭一・岩本和也・細平正人・菅井晴夫 (2004) PCR法によるウメ品種のS遺伝子型. 和歌山農総技セ研報. 5: 67-73.

林恭平・根来圭一・岩本和也・花田裕美・山本俊哉 (2005) ウメ台木の花粉親同定と組織培養. 園学雑. 74 (別2) :590.

- 林恭平・根来圭一・岩本和也・花田裕美・山本俊哉 (2006) ウメ台木の花粉親同定. 園学雑. 75 (別 1) : 65.
- 堀内昭作 (編)・吉田雅夫・狩野博幸・中村恒夫・長谷部秀明・須崎輝夫・崎谷忠三 (1996) 日本の梅・世界の梅. 養賢堂. 東京.
- Howad, W., T. Yamamoto, E. Dirlewanger, R. Testolin, P. Cosson, G. Cipriani, A. J. Monforte, L. Georgi, A. G. Abbot and P. Arús (2005) Mapping with a few plants: using selective mapping for microsatellite saturation of the *Prunus* reference map. *Genetics* 171: 1305-1309.
- Iketani, H., S. Ohta, T. Kawahara, T. Katsuki, N. Mase, Y. Sato and T. Yamamoto (2007) Analyses of clonal status in 'Somei-yoshino' and confirmation of genealogical record in other cultivars of *Prunus x yedoensis* by microsatellite markers. *Breed. Sci.* 57: 1-6.
- Kimura, T., Y. Z. Shi, M. Shoda, K. Kotobuki, N. Matsuta, T. Hayashi, Y. Ban and T. Yamamoto (2002) Identification of Asian pear varieties by SSR analysis. *Breed. Sci.* 52: 115-121.
- Kitahara, K., S. Matsumoto, T. Yamamoto, J. Soejima, T. Kimura, H. Komatsu and K. Abe (2005a) Parent identification of eight apple cultivars by S-RNase analysis and simple sequence repeat markers. *HortScience* 40: 314-317.
- Kitahara, K., S. Matsumoto, T. Yamamoto, J. Soejima, T. Kimura, H. Komatsu and K. Abe (2005b) Molecular characterization of apple cultivars in Japan by S-RNase analysis and SSR markers. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 130: 885-892.
- 京谷英壽・吉田雅夫・山口正己・石澤ゆり・小園照雄・西田光夫・金戸橋夫 (1988) すももうめ中間簿本農 1 号 'PM-1-1' 及び同農 2 号 'PM-1-4' の育成について. 果試報. A 15: 1-12.
- Lopes, M. S., K. M. Sefc, M. Laimer and A. Da Camara Machado (2002) Identification

of microsatellite loci in apricot. *Mol. Ecol. Notes* 2: 24-26.

Marshall, T. C., J. Slate, L. Kruuk and J. M. Pemberton (1998) Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Mol. Ecol.* 7: 639-655.

Mase, N., H. Iketani and Y. Sato (2007) Analysis of bud sport cultivars of peaches (*Prunus persica* (L.) Batsch) by simple sequence repeats (SSR) and restriction landmark genomic scanning (RLGS). *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 76: 20-27.

Mega, K., E. Tomita, S. Kitamura, S. Saito and S. Mizukami (1988) Ume In: The Grand Dictionary of Horticulture, T. Aoba et al. (eds.), Shogakukan, Tokyo, pp289-300.

Mehlenbacher, S. A., V. Cocin and L. F. Hough (1991) Apricots (*Prunus*) In: Genetic Resources of Temperate Fruit and Nut Crops I, James N. Moore and James R. Ballington Jr. (eds.), The International Society for Horticultural Science, Wageningen, pp65-107.

中川昌一 (1973) 果樹園芸原論. P. 172. 養賢堂, 東京.

農林水産省 (2005) 平成 17 年度特産果樹生産出荷実績調査.

農林水産省 (2007a) 農林水産統計. 平成 19 年果樹及び茶の栽培面積 (2007 年 7 月 15 日現在).

農林水産省 (2007b) 農林水産統計. 平成 19 年度びわ、おうとう、うめの収穫量及び出荷量.

農林水産省 (2007c) 農林水産統計. 平成 19 年度もも、すももの収穫量及び出荷量.

太田智・勝木俊雄・木村鉄也・大村三男・林建樹・佐藤洋一郎・山本俊哉 (2004) さくら属における葉緑体 DNA の解析 1. 葉緑体 3 領域における変異. 園学雑. 73 (別 2) : 556.

- 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. *Breed. Sci.* 55: 415-424.
- 太田智・林恭平・八重垣英明・三井信弥・大村三男・西谷千佳子・山本俊哉 (2006) 葉緑体 DNA に基づく実ウメおよび花ウメの類縁関係の解明. *DNA 多型学会誌* 14: 138-140.
- 小野勇治・岡田初彦・佐藤守・宗形隆 (2002) 組織培養時のコルヒチン処理による甘果オウトウ‘佐藤錦’4倍体の作出と特性. *園学雑.* 71 (別2) : 78.
- 大林沙泳子・植野加奈子・八幡昌紀・向井啓雄・原田久・高木敏彦 (2006) スモモ‘貴陽’の倍数性と形態的特徴. *園学雑.* 75 (別2) : 470.
- Ram, L. J., M. L. Ram and F. F. Baidoun (1996) Authentication of canned tuna and bonito by sequence and reaction site analysis of polymerase chain reaction products of mitochondrial DNA. *J. Agric. Food Chem.* 44: 2460-2467.
- Rohlf, F.J. (1998) NTSYS, numerical taxonomy and multivariate analysis system, Ver. 2.01. Exeter Publishing, Ltd., Setauket, New York.
- Sawamura Y., T. Saito, N. Takada, T. Yamamoto, T. Kimura, T. Hayashi and K. Kotobuki (2004) Identification of parentage of Japanese pear ‘Housui’. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 73: 511-518.
- Shimada, T., T. Haji, M. Yamaguchi, T. Takeda, K. Nomura and M. Yoshida (1994) Classification of Mume (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) by RAPD assay. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 63: 543-551.
- Sosinski, B., M. Gannavaraqu, L. D. Hanger, L. E. Beck, G. J. King, C. D. Ryder, S. Rajapakse, W. V. Baird, R. E. Ballard and A. G. Abbott (2000) Characterization of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. *Theor. Appl. Genet.* 101: 421-428.

- Struss, D., M. Boritzki, R. Karle and A. F. Iezzoni (2002) Microsatellite markers differentiate eight Giessen cherry rootstocks. *HortScience* 37: 191-193.
- Taberlet, P., Gielly L., Pautou G. and Bouvet J. (1991) Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Mol. Biol.* 17: 1105-1109.
- Takeda T., T. Shimada, K. Nomura, T. Ozaki, T. Haji, M. Yamaguchi and M. Yoshida (1998) Classification of apricot varieties by RAPD analysis. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 67: 21-27.
- 田辺賢治・宮原継男・山本仁・富田幸作・高野隆司・中側文雄（1986）ウメの品種‘新平太夫’の特性について. *福井園試報*. 5: 1-8.
- 田中諭一郎（1936）実梅の品種に関する研究. 山地開発資料第1編 台北帝国大学理農学部園芸学教室 養賢堂.
- Tao, R., H. Yamane, A. Sugiura, H. Murayama, H. Sassa, and H. Mori (1999) Molecular typing of *S*-alleles through identification, characterization and cDNA cloning for *S*-RNase in sweet cherry. *J. Amer. Soc. Sci.* 124: 224-233.
- Tao, R., T. Habu, H. Yamane, A. Sugiura and K. Iwamoto (2000) Molecular markers for self-compatibility in Japanese apricot (*Prunus mume*). *HortScience* 35: 1121-1123.
- Tao, R., T. Habu, H. Yamane, F. Fuyuhiko, K. Iwamoto and A. Sugiura (2002). Inheritance of *S*^rRNase in Japanese apricot (*Prunus mume*) and its relation to self-compatibility *Theor. Appl. Genet.* 105: 222-228.
- 田尾龍太郎・山田あゆみ・江角智也・本杉日野・杉浦明（2003）六倍体かき‘藤原御所’の実生における倍数性変異. *園学研*. 2: 157-160.
- Testolin, R., T. Marrazzo, G. Cipriani, R. Quarta, I. Verde, M. T. Dettori, M. Pancaldi and S. Sansavini (2000) Microsatellite DNA in peach (*Prunus persica* L. Batsch)

and its use in fingerprinting and testing the genomic origin of cultivars. *Genome* 43: 512-520.

徳永忠士・新居美香・津村哲宏・山尾正実 (2005) スダチにおける四倍体と二倍体との交雑による三倍体雑種の作出および無核品種‘徳島 3X1 号’の育成. *園学研* 4: 11-15.

富田晃 (2004) スモモ基礎編. スモモの最新品種と栽培特性. P.34 農業技術体系・果樹編 6 (モモ・ウメ・スモモ・アンズ) 農文協. 東京.

Tzonev, R. and M. Yamaguchi (1999) Investigation on some far-east *Prunus* species: Phenology. *Acta. Hort.* 488: 239-241.

上林(田中) 論一郎 (1927) 梅と李の自然雑種スモモウメに就て. *農及園*. 2: 31-34.

氏家達・志村勲・京谷英寿 (1991) アイソザイムバンドパターンによるウメの品種分類. *園学雑*. 60 (別 2) : 166-167.

渡辺好朗 (1986) 育種における細胞遺伝学. P. 61. 養賢堂, 東京.

Weber, J. K. and P. E. May (1989) Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am. J. Hum. Genet.* 44: 388-397.

Yaegaki, H., T. Shimada, T. Moriguchi, H. Hayama, T. Haji and M. Yamaguchi (2001) Molecular characterization of *S*-RNase genes and *S*-genotypes in the Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. Et Zucc.). *Sex. Plant Reprod.* 13: 251-257.

八重垣英明・三宅正則・土師岳・山口正己 (2002a) ウメにおける花粉の量、染色率および発芽率の品種間差異. *果研報*. 1: 47-53.

八重垣英明・三宅正則・土師岳・山口正己 (2002b) ウメ品種の自家結実性の判定. *果研報*. 1: 55-60.

Yaegaki, H., T. Haji, Y. Nakamura, M. Miyake, K. Nishimura, H. Kyotani and M. Yamaguchi (2003) Varietal and yearly variation in fruit and endocarp weights

and their ratio in Japanese apricot (*Prunus mume*. Sieb. et Zucc.) cultivars. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 72: 546-550. (In Japanese with English summary).

八幡茂木・佐藤三郎・赤山喜一郎・小出香 (2005a) ビワ新品種‘希房’について. 園学雑. 74 (別1) :248.

八幡茂木・佐藤三郎・小原均・松井弘之 (2005b) ビワの倍数性による形態および結実特性の際と二倍体と四倍体の交雑による三倍体の獲得. 園学研. 4: 379-384.

山口正己・京谷英壽・吉田雅夫・土師岳・西村幸一・中村ゆり・三宅正則・八重垣英明・西田光夫・垣内典夫・田中敬一・大宮あけみ・石川祐子・小園照雄・木原武士・鈴木勝征・福田博之・朝倉利員 (2002) ウメ新品種‘加賀地蔵’. 果研報. 1: 23-33.

山根弘康 (1996) 日本育成品種解説. 日本ブドウ学. 養賢堂. 東京. 371-383.

Yamane, H., Y. Kashiwa, E. Kakehi, K. Yonemori, H. Mori, K. Hayashi, K. Iwamoto, R. Tao and I. Kataoka (2006) Differential expression of dehydrin in flower buds of two Japanese apricot cultivars requiring different chilling requirements for bud break. Tree Physiol. 26: 1559-1563.

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 and cDNA libraries. Mol. Ecol. Notes 2: 298-301.

Yamamoto, T., K. Mochida and T. Hayashi (2003a) Shanghai Suimitsuto, one of the origins of Japanese peach cultivars. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 72: 116-121.

Yamamoto, T., K. Mochida, T. Imai, T. Haji, H. Yaegaki, M. Yamaguchi, N. Matsuda, I. Ogiwara and T. Hayashi (2003b) Parentage analysis in Japanese peaches using SSR markers. Breed. Sci. 53: 35-40.

- Yamamoto, T., M. Yamaguchi and T. Hayashi (2005) An integrated genetic linkage map of peach by SSR, STS, AFLP and RAPD. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 74: 204-213.
- Yamamoto, T., T. Kimura, T. Hayashi and Y. Ban (2006) DNA profiling of fresh and processed fruits in pear. *Breed. Sci.* 56: 165-171.
- 山本俊哉・島田武彦・西谷千佳子・八重垣英明・山口正己・小野勇治・大橋義孝・佐藤守 (2007) DNA マーカーによる日本の栽培モモ品種の果肉色および果実酸度の評価. *DNA 多型学会誌* 15: 89-92.
- 吉田雅夫 (1984a) アンズ基礎編. 原産と来歴. p. 3-6 農業技術体系・果樹編 6 (モモ・ウメ・スモモ・アンズ) 農文協. 東京.
- 吉田雅夫 (1984b) アンズ基礎編. 品種生態と栽培. p. 17-22 農業技術体系・果樹編 6 (モモ・ウメ・スモモ・アンズ) 農文協. 東京.
- 吉田雅夫 (1984c) スモモ基礎編. 原産と来歴. p. 3-8 農業技術体系・果樹編 6 (モモ・ウメ・スモモ・アンズ) 農文協. 東京.
- 吉田雅夫・京谷英寿 (1971a) ウメ・アンズ栽培品種の分類 (第 1 報) 形態的分類. *園学要旨*. 昭 46 春: 12-13.
- 吉田雅夫・京谷英寿・安野正純 (1971b) 核果類の品種に関する研究 (第 2 報) 核の形態. *園学要旨*. 昭 46 春: 14-15.
- Yoshida, M. and H. Yamanishi (1988) Apricot cultivars in Japan. *Acta. Hort.* 209: 69-81.