

【第1回森林遺伝育種学会奨励賞受賞研究】

DNA マーカーを用いた日本のサクラの遺伝的特性の解明

加藤 珠理^{*1}

はじめに

サクラは日本を象徴する樹木といっても過言ではなく、古くから多くの人々に愛され、親しまれてきた。私はこれまでに野生のサクラから伝統的なサクラの栽培品種まで、広くサクラの遺伝的変異に関する研究を行ってきた。代表的な成果としては、野生種のおオシマザクラを中心に行った研究がある。私はおオシマザクラを材料として、サクラを含む多くの林木に見られる自家不和合性に着目して、その制御に関与する *S* 遺伝子座の解析を行い、野生集団における *S* 遺伝子の対立遺伝子の頻度などを明らかにした (Kato and Mukai 2004 ; Kato et al. 2007)。また、*S* 遺伝子座と進化的に中立なマイクロサテライト (SSR) 遺伝子座との比較解析により、集団遺伝構造や遺伝子流動における頻度依存選択の効果について明らかにした (Kato et al. 2012a)。この他、葉緑体 DNA、AFLP、核 SSR マーカーを用いて、伊豆半島と伊豆諸島に分布するおオシマザクラの野生集団について集団遺伝構造の解析を行い、各集団の成り立ちや集団間の関係についても解明した (Kato et al. 2011)。更に、おオシマザクラを対象とした DNA 解析の研究成果をベースにして、これまで曖昧であったサクラの栽培品種について正確な識別とその由来の解明を、DNA マーカーを用いて高い精度で行った (Kato et al. 2012b ; Kato et al. 2014)。本稿では、私がサクラを対象として行ってきた研究について紹介する。

自家不和合性を制御する遺伝子の特性

私の博士論文の研究テーマでもあった「自家不和合性 (self-incompatibility, SI)」は自殖を回避する仕組みの一つで、多くの植物における遺伝的多様性の維持に貢献している。自家不和合性には異型花型タイプもあるが、同型花型タイプ (配偶体型 SI 及び、胞子体型 SI) に関しては、

S 遺伝子と呼ばれる遺伝子座によって制御され、個体は *S* 遺伝子座上の変異に由来する固有の *S* 遺伝子型 (通常、*S*₁, *S*₂, ... *S*_n と表現される) を示すことになる。

この研究で対象としたおオシマザクラはバラ科に属し、バラ科植物の多くは自家不和合性を示すことが知られている。そして、オウトウやナシ、リンゴなどのバラ科の果樹を対象とした詳細な研究では、自家不和合性の自他認識機構に関与する雌蕊側の因子が RNase 活性を持った糖タンパク (S-RNase) であることが解明されている。私はこの点に着目して、S-RNase をコードする遺伝子の多型分析を行うことで、おオシマザクラの *S* 遺伝子座の解析を可能にした。

おオシマザクラのような自家不和合性植物では *S* 遺伝子型が一致する場合、他家受粉であっても不和合となるが、突然変異や移入によって、集団内に新しく加わった *S* 対立遺伝子はそれまでに存在していたどの *S* 対立遺伝子とも和合となるため、次世代の頻度が増加すると考えられる。このように、出現頻度の低い *S* 対立遺伝子ほど適応度が高くなる効果は頻度依存選択として知られており、集団遺伝学の分野では古くから研究されてきた。この研究では、おオシマザクラの *S* 遺伝子座における集団遺伝構造や遺伝子流動のパターンが、中立遺伝子座 (SSR) とは大きく異なることを明らかにして、頻度依存選択の効果を示すことができた。

おオシマザクラの集団遺伝構造

自家不和合性の研究をきっかけとして、私は本格的にサクラの研究を進めるようになり、伊豆半島と伊豆諸島に生育するおオシマザクラについて、詳細な集団遺伝構造を調べることにした。核 DNA の解析は AFLP 分析と SSR 分析により行い、葉緑体 DNA については塩基配列を直接、解読することにより、葉緑体ハプロタイプを決定

*E-mail: shuri@affrc.go.jp

¹ かつう しゅり 首都大学東京 都市環境科学研究科

した。その結果、遺伝的多様性の指標であるヘテロ接合度や Allelic richness は、本州から離れた島の集団ほど低下する傾向がみられた。また、核 DNA の多型データに基づいた STRUCTURE 解析の結果や葉緑体ハプロタイプの分布状況から、オオシマザクラは大きく 3 つのグループに分けられた。1 つ目は伊豆半島、大島、新島、神津島の集団、2 つ目は三宅島、御蔵島の集団、3 つ目は八丈島の集団であった。ただし、伊豆半島では雑種と思われる個体が存在するので、伊豆諸島の集団とは区別した方がよいかもしれない。オオシマザクラのように島嶼という特殊な隔離環境に生育する植物では分布域は限られていても、このように複雑な遺伝構造が形成されてきたものと考えられる。

サクラの栽培品種の識別と系統推定

野生のサクラであるオオシマザクラの研究がきっかけとなって、サクラの栽培品種について研究する機会にも恵まれた。サクラの栽培品種には、枝垂れや八重咲きなど野生のサクラには見られない特徴をもつものがたくさんあり、その分類は 20 世紀初頭から本格的に進められてきた。しかし、分類上の名称の取扱いについては、現在も疑問の残る点がいくつかある。見かけは同じ栽培品種であるのに別々の名前前で区別されているものや、同じ栽培品種であっても形態に違いが見られるものがあり、サクラの栽培品種の区分は整然としていない。こうした問題は花の形態を観察するだけでは解決が困難であり、サクラの栽培品種の分類体系は混沌としたままである。また、サクラの栽培品種の起源には複数の野生種が関与し、複雑な組み合わせの交配により成立したと思われるものが多い。サクラの栽培品種の成立にどのような親種（野生種）が関与したのかを推定することも、今後、その分類体系を整理していく上で重要である。この研究では、DNA 解析を取り入れることにより、サクラの栽培品種における品種間の違いや野生種との関係について詳細な解析を行った。

まず、主要なサクラの栽培品種 (215 品種 222 クローン) について、クローン性のパターンを整理した。多くの場合、‘染井吉野’のように一つの栽培品種が単一クローンから成るタイプであると判定された。おそらく、このタイプの栽培品種は起源となった一本の親木から、接ぎ木などによるクローン増殖のみで継代保存されてきたものと考えられる。これに対して、‘枝垂桜’のように一つの栽培品種のなかに複数のクローンが含まれるものもあつ

た。このタイプの栽培品種では、接ぎ木増殖だけでなく、実生増殖したものが混じっているものと考えられる。また、異なる栽培品種として区別されていたものが、DNA 解析では同じと見なされてしまう事例もあった。‘太白’、‘車駐’、‘駒繫’の 3 つの栽培品種が良い例であり、これらは外部形態に違いが見られないことから独立性が疑われていた。一つの栽培品種が異なる名称で呼ばれてきたものと考えられ、DNA 解析もその可能性を支持していた。‘御衣黄’と‘鬱金’も、DNA 解析では違いが検出されなかったが、これらはそれぞれ黄緑色と淡黄色の花を咲かせることから形態的に区別できる。‘御衣黄’の枝の中には、‘鬱金’によく似た花を持つ枝が見つかることがあり、この 2 つは互いに枝変わりに関係にあることが推測される。こうした枝代わりについては、SSR のような DNA マーカーを数十座用いる程度では違いを識別できないことが予想される。

更に、サクラの栽培品種 (215 品種) と野生種 (13 分類群: ヤマザクラ、オオシマザクラ、カスミザクラ、オオヤマザクラ、マメザクラ、キンキマメザクラ、チョウジザクラ、オクチョウジザクラ、タカネザクラ、エドヒガン、ミヤマザクラ、カンヒザクラ、シナミザクラ) の遺伝子型情報を比較して、栽培品種の成立に関わった親種 (野生種) の推定を試みた。具体的には、野生種の遺伝子型情報を参照データとすることで STRUCTURE 解析を行い、サクラの栽培品種の DNA 組成を評価した。その結果、個々の栽培品種の成立過程にどのような野生種がどれくらいの割合で関与してきたのかを示すことができた。

おわりに

サクラを対象として私が行ってきた研究は続きのあるものばかりであるが、これまでの研究成果はサクラの遺伝資源の利用・管理のために広く活用されることが期待される。今後もサクラに関する遺伝学的研究を基礎から応用まで広く詳細に行うことで、森林科学の発展に深く貢献していきたいと考えている。

謝辞

この度は第 1 回森林遺伝育種学会奨励賞を賜り、身に余る光栄と存じます。これまでの研究が評価されたことは大変嬉しいことであり、今後の研究の励みにしたいと思います。ご推薦下さいました森林総合研究所の松本麻

子室長、永光輝義室長、選考にあたりご高配頂きました森林遺伝育種学会の皆様には厚く御礼申し上げます。また、こうして研究を続けていられるのは、岐阜大学の向井謙先生や森林総合研究所多摩森林科学園の吉丸博志園長をはじめ、多くの方々のご指導、ご支援があるからです。この場をお借りして、心より感謝申し上げます。

引用文献

Kato S, Mukai Y (2004) Allelic Diversity of S-RNase at the self-incompatibility locus in natural flowering cherry populations (*Prunus lannesiana* var. *speciosa*). *Heredity* 92: 249–256

Kato S, Iwata H, Tsumura Y, Mukai Y (2007) Distribution of S-alleles in island populations of flowering cherry, *Prunus lannesiana* var. *speciosa*. *Genes & Genetic Systems* 82: 65–75

Kato S, Iwata H, Tsumura Y, Mukai Y (2011) Genetic structure of island populations of *Prunus lannesiana* var. *speciosa*

revealed by chloroplast DNA, AFLP and nuclear SSR loci analyses. *Journal of Plant Research* 124: 11–23

Kato S, Kato S, Kato J, Kato M, Teruyoshi N, Hiroyoshi I, Yoshihiko T, Yuzuru M (2012a) Impact of negative frequency-dependent selection on mating pattern and genetic structure: a comparative analysis of the S-locus and nuclear SSR loci in *Prunus lannesiana* var. *speciosa*. *Heredity* 109: 188–198

Kato S, Matsumoto A, Yoshimura K, Katsuki T, Iwamoto K, Tsuda Y, Ishio S, Nakamura K, Moriwaki K, Shiroishi T, Gojobori T, Yoshimaru H (2012b) Clone identification in Japanese flowering cherry (*Prunus* subgenus *Cerasus*) cultivars using nuclear SSR markers. *Breeding Science* 62: 248–255

Kato S, Matsumoto A, Yoshimura K, Katsuki T, Iwamoto K, Kawahara T, Mukai Y, Tsuda Y, Ishio S, Nakamura K, Moriwaki K, Shiroishi T, Gojobori T, Yoshimaru H (2014) Origins of Japanese flowering cherry (*Prunus* subgenus *Cerasus*) cultivars revealed using nuclear SSR markers. *Tree Genetics & Genomes* (in press)