

バラ科果樹ゲノム研究の現状

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2019-03-22 キーワード (Ja): キーワード (En): Rosaceae, peach, apple, pear, genome, linkage map, SSR marker, cDNA, 作成者: 林, 建樹 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24514/00001790

バラ科果樹ゲノム研究の現状

林 建 樹

独立行政法人 農業・生物系特定産業技術研究機構

果樹研究所企画調整部

305-8605 茨城県つくば市藤本 2 - 1

Current Status of Genome Research in Rosaceae Fruit Trees

Tateki HAYASHI

Department of Research Planning and Coordination, National Institute of Fruit Tree Science

National Agriculture and Bio-oriented Research Organization

Tsukuba, Ibaraki 305-8605, Japan

Synopsis

Genome researches in Rosaceae fruit trees carried out in Europe, U.S.A. and Japan are summarized and discussed.

Key words: Rosaceae, peach, apple, pear, genome, linkage map, SSR marker, cDNA,

1. はじめに

1) 果樹におけるゲノム研究の必要性

ヒトやシロイヌナズナ, イネなどの高等生物のゲノム研究は, 主に2つの流れで進められてきた。その一つは, 連鎖地図と物理地図の作成, さらに全ゲノムDNAの塩基配列の解読である。いずれも2003年までにほぼ終了している(Olivier et al., 2001; The Arabidopsis genome initiative, 2000; Sasaki et al., 2002)。他の一つは, cDNAの大量解析によるEST (Expressed Sequence Tag, 部分塩基配列) や完全長cDNAデータの蓄積である。それぞれの生物でESTデータベースが公開されている。これらゲノムDNAの塩基配列やcDNAデータの情報は, ゲノム研究発展の基盤となるものである。現在は, ゲノム機能 (Functional Genomics) 解析の段階に入っており, マイクロアレイによる遺伝子ネットワーク解析, プロテオーム解析さらに遺伝子破壊などの新手法による遺伝子機能の網羅的な解析が, 急速に進展している(田端, 2000; 八尾,

2004)。

果樹のゲノム解析では, シロイヌナズナやイネからのDNAマーカーなどのデータを, そのまま利用することは困難である(STAFF, 1996)。そのため果樹の各種形質の遺伝解析を行い, DNAマーカーを開発するとともに連鎖地図の作成を行うことになる。ここで得られた形質に連鎖するDNAマーカーは, 育種の現場における早期選抜マーカーに利用できる。また, 連鎖地図の情報からグラフィカルマップを作成すると, 各品種における染色体上の遺伝形質の位置関係が明らかになり, 計画的な育種が可能になる(鵜飼, 2000)。さらに, 信頼できるDNAマーカーは, 果樹の品種・系統の識別や親子鑑定に利用できる。

果樹の有用遺伝形質に連鎖するDNAマーカーは, 遺伝子単離の重要な手段にもなる。このうち, 果樹の成長や光合成, 開花結実, ホルモン関係などの植物に共通する遺伝形質は, むしろシロイヌナズナやイネなどの遺伝

子情報を利用することを前提に進めた方が効率的である。一方、果樹では、長期にわたる幼若性や休眠性、組織の木質化など、草本作物とは異なった木本植物特有の種々の形質が深く関与している。また果実は、シロイヌナズナなどの種子と共通した部分もあるが、果肉の肥大や糖分の蓄積などの特異な一面も持っている。このように果樹としての特異性や重要性を持つ遺伝子は、独自に解明する必要がある。これらの遺伝子は、マップベースクローニングとともに、果実などからの発現遺伝子群のESTデータを使ったマイクロアレイ分析によって見出すことが可能となる。

2) バラ科果樹のゲノム研究のための背景

バラ科 (Rosaceae) 果樹は、我が国の果樹の栽培面積や果物生産額の半分近くを占めている重要な果樹グループである。それらの大多数はサクラ亜科サクラ属 (核果類) とナシ亜科 (仁果類) に属している。サクラ属 (*Prunus*) には、モモ (*Prunus persica*) を始め、オウトウ (*P. avium*)、スモモ (*P. domestica*, *P. salicina*)、アンズ (*P. armeniaca*)、ウメ (*P. mume*) などが含まれる。染色体は基本的には2倍体で、染色体基本数は8本である。モモでは、半数体あたりのゲノム含量は、約260Mbpとイネ (580Mbp) よりも少なくシロイヌナズナ (125Mbp) (The Arabidopsis Genome Initiative, 2000) に近い。また、遺伝解析された形質の数 (30個以上) が他の果樹に比べて多く、しかも開花までの期間が3年と短いために、次世代の育成が容易である。一方、ナシ亜科 (Maloideae) には、リンゴ (*Malus × domestica*) を始め、ナシ (*Pyrus communis*, *P. pyrifolia* など)、マルメロ (*Cydonia oblonga*)、ビワ (*Eriobotrya japonica*) などが含まれる。染色体は基本的には2倍体で、染色体基本数は17本ではあるが、4倍体起源とされている (Evans and Campbell, 2002)。そのため半数染色体のゲノム含量は、リンゴで約770Mbp、ナシで約510Mbp (Arumuganathan et al., 1991) とモモの倍以上になっている。これらの背景から、バラ科果樹ゲノム研究のためのモデル果樹としてモモを選び、その成果をリンゴなどに反映させることが考えられている (Abbott et al., 2002; Dirlewanger et al., 2004)。モモ以外のサクラ属果樹では、オウトウやアンズで研究が進められている。リンゴでは、欧米における黒星病などの耐病性の遺伝解析についての長い歴史を背景にゲノム研究が進められている。ナシでは、果樹研究所グループの研究以外は、ほとんど知られていない。

2. 分子マーカーの開発と品種の判別・親子鑑定

1) 分子マーカー開発の歴史

連鎖地図作成のためのDNAマーカー開発には、品種間で多型が得られるマーカーを探す必要がある。1980年代後半までは、アイソザイムとともにRFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) がマーカーとして利用されてきた。これらは、多量の試料を必要とし、分析も面倒であり、しかも果樹では多型が得られにくいために、次第に少なくなってきたが、今でも連鎖地図の重要なマーカーとして残っている。1990年代初めにはヒトなどでの識別技術の開発に刺激されて、ファージDNAなどのミニサテライト領域をプローブとして、リンゴやバラ科果樹の品種が識別されたが (Nybom et al., 1990)、再現性に問題があるために、その後関心が失われている。その代わりに、少量の試料で済むPCR (Polymerase Chain Reaction) をベースとしたDNAマーカーが利用されている。RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) や AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) は、特にプローブの開発を必要とせず、初心者でも容易に実験できるため、我が国では果樹品種の分類に盛んに利用された。また、多数のマーカーが得られるため、初期の連鎖地図作成に使われてきた。しかし、これらの方法は、再現性やSTS (Sequence Tagged Site) 化、さらに優性マーカーのために地図同士の統合ができないなどの問題があり、今では余り使われなくなった。そこで、共優性で信頼性の高いマーカーが求められた。

最近では、これらの条件を満たすマーカーとして、SSR (Simple Sequence Repeat, Microsatellite) マーカーが広く使われている。このマーカーは、品種間、種間、属間とも広範囲に多型が得られる点で注目されている。しかも、分析にはPCRを利用するために、少量の試料で済むという利点もある。ただし、ゲノム中のSSR領域は、イネでは数万あるといわれており、イネやシロイヌナズナなどの全塩基配列情報が分かっているものは、SSR配列を検索するだけで済むが、果樹などでは、主としてゲノムDNAの繰り返し配列領域を濃縮し、一部はcDNA中に低頻度で存在するSSR領域から開発しなければならないために、効率が悪く多くの労力と費用を必要としている。なお、各DNAマーカーの詳しい特徴については、文献 (鶴飼, 2000; Staub et al., 1996) を参照されたい。

2) モモなどのSSRマーカーの開発と利用

モモからのSSRマーカーは、欧州のグループが120個近く (Cipriani et al., 1999; Testolin et al., 2000; Dirlewanger et al., 2002; Aranzana et al., 2002)、米国クレムソン大学で

30個近く (Sosinski et al., 2000; Wang et al., 2002a) を得ており, 果樹研究所グループの約50個 (Yamamoto et al., 2002a; 2003a) を含め, 世界中で250個程度が開発されていると推定される。他の核果類では, 甘果オウトウから多数のSSRマーカーを開発していることが, その一部を使った報文から推定される (Cantini et al., 2001; Struss et al., 2002)。このように個々の研究者が開発しているSSRマーカーの数では, 高密度な連鎖地図の作成には不足するために, 欧州内や果樹研究所と相互にマーカーの交換を行っている。このことが結果的に, SSRマーカーを介して, 相互の地図の統合にも役立っている。最近では, モモのESTがデータベースに登録されており, ここに含まれる700個のSSR配列をマーカー化するための国際的な分担共同研究も始まっている。

SSRマーカーを使った本格的な品種の識別が進められている。モモ27品種 (Dirlewanger et al., 2002), 24品種 (Aranzana et al., 2002) および212品種系統 (Aranzana et al., 2003a) を識別しており, 果樹研究所でも現在約100品種系統を識別し (未発表), 交雑育成, 枝変りなどの16品種の親子鑑定 (Yamamoto et al., 2003b) や我が国の現在のモモ品種の祖先が上海水蜜桃であることを確認している (Yamamoto et al., 2003a)。モモ由来のSSRマーカーは, サクラ属内では使用が可能であり, 甘果オウトウでは, 21品種 (Dirlewanger et al., 2002) および76品種系統 (Wunsch and Hormaza, 2002) が識別されている。4倍体オウトウ59品種 (Cantini et al., 2001), 台木8品種 (Struss et al., 2002) および野生75品種系統 (Schueler et al., 2003) も識別されている。アンズでは, 48品種 (Hormaza, 2002), 75品種 (Zhebentyayeva et al., 2003) および40品種 (Romero et al., 2003) が識別されている。果樹研究所で開発したモモのマーカーも, アーモンドやアンズ, ニホンスモモ, ウメ, オウトウの識別が可能であった (山本ら2003)。さらに, これらモモなどからのSSRマーカーは, 一部はナシにも適応可能であり (Yamamoto et al., 2002b), さらに広くバラやシロイヌナズナへの適応の検討もなされている (Sosinski et al., 2000)。

3) リンゴとナシのSSRマーカーの開発と利用

リンゴからSSRマーカーが開発され, リンゴ21品種を識別している (Guilford et al., 1997)。また, SSRマーカーでリンゴ66系統の識別も行われている (Hokanson et al., 1998)。スイスのGesslerらによって, 160個近くのSSRマーカーが開発され, 公開されているが (Gianfarneschi et al., 1998; Liebhard et al., 2002), 他の研究者には必ずしも利用されておらず, 最近でもリンゴ98系統の黒星病抵

抗性品種の識別 (King et al., 1999) や155系統の識別 (Oraguzie et al., 2001) にRAPDマーカーが使われている。果樹研究所グループは, ナシからのSSRマーカーを43個 (Yamamoto et al., 2002b; 2002c; 2002d) 開発している。さらに, 欧州からのリンゴのSSRマーカーもそのままナシに利用可能であることを明らかにし (Yamamoto et al., 2001a), 両マーカー群をナシの地図作成に利用している。これらのマーカーを利用して, 60系統のナシの判別 (Yamamoto et al., 2002d; Kimura et al., 2002) やその中で '丹沢', '大原紅', '二宮' を含む14品種のナシの親子鑑定も行っている (木村ら, 2002; Kimura et al., 2003)。「豊水」の両親も明らかにされている (Sawamura et al., 2004)。

3. モモおよびサクラ属果樹の連鎖地図の作成と利用

1) 地図の作成

米国では, かなり早い時期からモモの連鎖地図が作成されている。ノースカロライナ大学では, モモ9種類のF₂家系について, 遺伝形質 (しだれ性とほうき性, 白花, 八重花弁, 果肉色) をRAPDとアイソザイムで分析し, 部分的な連鎖地図を作成している (Chaparro et al., 1994)。クレムソン大学のAbbottらは, 全体の連鎖地図を最初に発表している (Rajapakse et al., 1995)。65個のRFLPとRAPDマーカー, ほうき性や八重花弁, 果肉色の形質を座乗させている。彼らは, モモ台木 ('Levell' x 'Nemared') についても, 153個のAFLPマーカーと2つのセンチウ抵抗性形質による連鎖地図を作成し, この形質に連鎖するマーカーを明らかにしている (Lu et al., 1998; 1999)。カリフォルニア大学デイビス校のBlissらは, モモとアーモンドの交配系について, 107個のマーカー (主にRFLP) とわい性の形質が座乗している地図を作成し (Foolad et al., 1995), さらにRFLPマーカーを161個に増やし, 酸度, モモ/ネクタリンおよび果肉色の遺伝形質を加えた地図を発表している (Bliss et al., 2002)。RFLPマーカーは共優性で信頼性の高いマーカーではあるが, モモの種内では多型を得ることが難しいために, 種間雑種を用いることは, 当時では賢明な選択であった。ミシガン州立大学では, 2品種の酸果オウトウの地図を, 合計200個以上のRFLPマーカーで作成し (Wang et al., 1998), 開花時期や成熟期などの6つの量的形質座位 (QTL, Quantitative Trait Loci) を解析している (Wang et al., 2000)。

欧州では, 1993年から「The European *Prunus* mapping project」として6カ所の研究グループの共同研究を立ち上げている (Arus et al., 1994)。対象樹種は, スペインのア

アーモンド、スモモおよびアンズ、イギリスのオウトウ、フランスのオウトウとモモ、イタリアのモモなどと樹種や品種が分散していたが、マーカー情報を交換し、それらをスペインのArusが、モモ×アーモンドの地図に座乗させて、標準地図を作ることににより、相互の地図の統合化を計画した。まず、Dirlewangerらは、陝甘山桃(*Prunus davidiana*)について、84個のRAPDマーカーによる地図を作成し、うどん粉病抵抗性(山桃由来)に連鎖するマーカーを見出している(Dirlewanger et al., 1996)。モモの地図では、RFLP, RAPD, AFLPなど270個のDNAマーカー、モモ/ネクタリン、果実の形や毛、酸度および雄性不稔の形質を座乗させている(Dirlewanger et al., 1998)。さらに、果実重、色、pH、適定酸度、可溶性成分、酸の成分および糖の成分のQTLを分析し、この地図に乗せている(Dirlewanger et al., 1999)。モモにうどん粉病抵抗性の新疆桃(*Prunus ferganensis*)と交配したBC₁について、109個のRFLPおよびSSR, RAPDマーカーと離核/粘核などの形質による地図を作成している(Dettori et al., 2001)。モモと陝甘山桃との交配系のBC₁について、開花日や果実成熟日など24種類のQTLについて解析し、地図に座乗させている(Quilot et al., 2004)。アーモンドのF₁から2品種の計200個以上のRFLP, RAPDマーカーによる地図を作成している(Joobeur et al., 2000)。アンズについては、SSRとAFLPなど211個のマーカーにより地図を作成し、Plum Pox Virus抵抗性も地図に座乗させている(Hurtado et al., 2002; Vilanova et al., 2003)。

果樹研究所は、欧米とはかなり遅れて1997年から地図作成を始めた。材料には‘赤芽’×‘寿星桃’のF₂集団を使い、樹高、葉色、葉形、2種類のネコブセンチュウ抵抗性、花色、果皮色、離核・粘核および核周辺の果肉色の合計9種類のメンデル遺伝形質並びに4種類の量的形質と66個のSSRを含む150個のマーカーからなる連鎖地図を作成している(Shimada et al., 2000; Yamamoto et al., 2001b)。

2) サクラ属標準地図の作成と地図の比較によって得られた成果

前述の欧州プロジェクトによって、標準地図が作られている(Joobeur et al., 1998)。アーモンド‘Texas’×モモ‘Earlygold’の集団に、欧州のサクラ属グループと米国の2つのグループから集められた246個のアイソザイムやRFLPマーカーが使われている。さらに96個のSSRマーカーを加え、342マーカーの地図を発表している(Aranzana et al., 2003b)。この標準地図と特定のアーモンド‘Garfi’とモモ‘Nemared’の交配集団の地図を比較

することにより、後者に染色体の相互転座が起きていることが明らかにされている(Jauregui et al., 2001)。果樹研究所グループの地図も、この標準地図と共通のSSRマーカーを介して比較したところ、染色体の相互転座が起きていることが推定された(未発表)。また、2つのネコブセンチュウ抵抗性遺伝子が、既報(Lu et al., 1998; 1999)の‘Nemared’の抵抗性遺伝子と座が異なることも明らかになった(Yamamoto and Hayashi, 2002)。その後、別の研究者が果樹研究所グループのマーカーを使って調べたところ、少なくとも1つの‘寿星桃’のネコブセンチュウ抵抗性の座が‘Nemared’のものとは一致しており、スモモの抵抗性の座とは異なることを明らかにしている(Claverie et al., 2004)。このことは、Luら(Lu et al., 1998; 1999)の実験結果が間違っていたことを示唆するものである。

サクラ属標準地図は、その後、SSRとシロイヌナズナからのRFLPを加えて562マーカーの地図になっている。この地図と共通マーカーを介して、7組のサクラ属の地図(アーモンド、モモ、プラム、オウトウ、陝甘山桃、新疆桃およびベニハスモモ(*P. cerasifera*)とリンゴの地図とを比較し、さらに、種々の地図に座乗している(果樹研究所の地図も含まれる)28個の主要な形態形質を、共通マーカーを介して標準地図に座乗させている(Dirlewanger et al., 2004)。また、アンズの2つの地図をRFLPとSSRマーカーによって作成し、標準地図と比較している(Lambert et al., 2004)。

3) モモの遺伝形質と遺伝子との関係を検討

前述のように、連鎖地図全体を多数のSSRマーカーによって高密度化することは現状では困難である。その対策の一つは、連鎖地図の中で特定の遺伝形質が座乗している周辺部位だけに関心を持つならば、その形質に連鎖するAFLPマーカーをバルク法で得てSTS化し、連鎖マーカーの配列が含まれるモモのBACクローン中のSSR配列を獲得することである。この方法でモモのセンチュウ抵抗性と常緑性形質に連鎖するSSRを多数獲得している(Wang et al., 2002a; 2002b)。これは、マップベースクローニングにも関連して興味ある方法である。

マップベースクローニングは難しい方法であるために、これに代わる方法が模索されている。果実の成熟に関係すると思われる17個の既知の酵素遺伝子を、モモ果実形質のQTL地図に乗せ、QTLと遺伝子の地図上の位置とを比較している。その結果、ほとんどの遺伝子はQTLに重ならず、遺伝形質とは関係なかった(Etienne et al., 2002)。果実形質は、従来から知られている果実関連

の遺伝子ではなく、それらの発現制御に関する遺伝子と予想され、この方法では、遺伝形質に直接関係する遺伝子を見出すことは困難と思われる。果樹研究所グループでも、モモの果実、葉および花卉の色の遺伝形質は地図上に分散しており、これらの形質には、色素発現に直接関わる遺伝子ではなく、これらを制御する遺伝子が関係していると推定している(Yamamoto et al., 2001)。

シロイヌナズナの地図との関係を検討している例もある。モモ‘Nemared’のBACライブラリーから適当に選んだ1つのクローンに含まれる8個の遺伝子は、モモでは当然同じ染色体上にあるが、シロイヌナズナでは、3つの染色体に分散していた(Georgi et al., 2002; 2003)。このことは、シロイヌナズナのゲノム配列が、モモの染色体上では細かく分断されており、現状程度の密度のモモ連鎖地図では、シロイヌナズナとモモとのゲノム構造の比較は、遺伝子構造レベルなどに限られることを意味している。

4. ナシとリンゴの連鎖地図の作成と利用

1) リンゴの地図の作成

米国コーネル大学では、リンゴの‘White Angel’×‘Rome Beauty’のF₁集団を使って、RAPDとアイソザイムのマーカーによる2つの連鎖地図が作られている(Hemmat et al., 1994)。F₁世代を使ったダブルシュートテストクロス法によって、両親の2つの地図が作られ、リンゴやナシなどのようなF₂世代の作出が困難な樹種などに有効な方法である(Weeden, 1994)。さらに、‘Wijcik McIntosh’(カラムナー性)と‘NY75441-5’(黒星病抵抗性, *Vf*)とのF₁集団を用いて、RAPDとアイソザイム、果皮色、黒星病抵抗性、カラムナーなどのマーカーで地図が作られている(Conner et al., 1997)。カラムナー性に連鎖するRAPDマーカーも見出している(Hemmat et al., 1997)。この集団を使って樹形6項目のQTL解析も行っている(Conner et al., 1998)。最近、これら4組の地図を、新たに25個の共通SSRマーカーで連結し、次に示す欧州の地図との統合も図っている(Hemmat et al., 2003)。彼らは、黒星病抵抗性遺伝子を、*Vf*の他に、carmine crabapple (*Malus x atrosanguinea*)由来の *Vm*(Cheng et al., 1998)やロシア実生(*Malus* Mill.sp.)由来の *Vr*(Hemmat et al., 2002)に連鎖するDNAマーカーの開発も進めている。

欧州では1991年から「欧州リンゴゲノム地図プロジェクト」を開始し、‘Prima’×‘Fiesta’の165個体のF₁集団を各国の研究者に配布して、アイソザイム、RAPD、RFLPによる連鎖地図作成を開始している(King et al., 1991; King, 1994)。この結果、全体で290個のDNA

マーカーと黒星病抵抗性(*Vf*)、酸度、アブラムシ抵抗性を座乗させた2つの(両親の)地図を作成している(Maliepaard et al., 1998)。果実の食感のQTL分析も行なわれている(King et al., 2000)。このプロジェクトの成果は、次項に示す遺伝子のクローニングに発展している。最近、‘Fiesta’と‘Discovery’のF₁集団で、2つの地図にAFLP、RAPD、SSRの合計840個もの多数のマーカーを座乗させた飽和地図も発表されている(Liebhard et al., 2003)。

2) マップベースクローニングによるリンゴ耐病性遺伝子の単離

アブラムシ抵抗性遺伝子：欧州リンゴゲノム地図プロジェクトで使用している交配系の親は、‘Prima’がリンゴコブアブラムシ(apple leaf-curing aphid)に感受性で、‘Fiesta’が抵抗性(抵抗性の‘Cox’s Orange Pippin’が親)である。この連鎖地図上で、抵抗性遺伝子座(*Sd*)に連鎖する3個のRFLPマーカーを明らかにし(Roche et al., 1997)、さらに、759個体を使ったバルク法で、0.4cMと0.9cMで連鎖する2つのマーカーを見出している(Cevik and King, 2002a)。これらのマーカーを使い、BACライブラリーによる物理地図上の位置を明らかにし、さらに新しく開発したマーカーによって、180kb内にleucine rich repeat領域を見出しており、その位置はゲノムのテロメアの近くであることを明らかにしている(Cevik and King, 2002b)。

黒星病抵抗性遺伝子：スイス連邦工業大学のGesslerらは、*Malus floribunda* 821の黒星病抵抗性遺伝子(*Vf*)をマップベースクローニングするために、種々の交配系集団の合計1179個体について解析している(Patocchi et al., 1999a)。さらに、7集団2071個体について分析して、0.3cMと0.9cMのマーカーを獲得し、‘Florina’(*Vf*を持っている)からのBACライブラリー(Vinatzer et al., 1998)を使って作成した物理地図に当てはめることにより、*Vf*の領域が550kb内にあることを明らかにしている(Patocchi et al., 1999b)。さらに、BACライブラリーから新たなマーカーを獲得して、*Vf*領域を350kbまで狭めて塩基配列を読んだ結果、トマト葉かび病抵抗性遺伝子に相同のレセプター様遺伝子候補が3個存在することを明らかにしている(Vinatzer et al., 2001)。このうちの1つの遺伝子候補を、黒星病感受性のリンゴ品種ガラに導入して、複数の黒星病抵抗性個体を得ている(Belfanti et al., 2004)。このレセプター様遺伝子は、リンゴのゲノム中に少なくとも27種類含まれることを明らかにし、これと黒星病抵抗性の形質(*Vf*を含む複数)をリンゴの地図

(‘Fiesta’ × ‘Discovery’) に乗せている(Baldi et al., 2004). 一方, イリノイ大学のKorbanらは, AFLPマーカーを使ってバルク法でVf周辺の高密度地図を作成し(Xu and Korban, 2000), *Malus floribunda*のBACライブラリーを使ってVf領域が290kb内にあること, その領域にはレセプター様遺伝子が存在することを明らかにしてきたが(Xu and Korban, 2002), 上述のGesslerらとの競争に一步遅れている.

3) ナシの地図作成とリンゴの地図との比較

果樹研究所グループは1997年から, ‘巾着’ × ‘幸水’のF₁集団を使って, 最初のナシの連鎖地図を2組作成し, 巾着の地図には, 黒斑病感受性と黒星病抵抗性の遺伝子座を含む188個のRAPDマーカーを座乗させた(Iketani et al., 2001). また, ‘パートレット’ × ‘豊水’(Yamamoto et al., 2002b)および‘新星’ × ‘282-12’(‘ラ・フランス’ × ‘豊水’) (未発表)の2つの種間交雑F₁集団の解析も行っている. ‘パートレット’では, ナシやリンゴ, モモ, オウトウ由来の76個のSSRを含む256個のマーカーによる連鎖地図を作成し, ‘豊水’では, 61個のSSRを含む177個のマーカーによる地図を作成している. ‘ラ・フランス’では, 74個のSSRを含む206個のマーカーによる地図を作成している. これらの地図に共通のSSRマーカーの位置を比較して, 3種類の連鎖地図の統合を行っている. さらに, リンゴの連鎖地図と比較した結果, ナシとリンゴではSSR座の位置がほとんど保存され, ナシとリンゴでは, ゲノム構造の相同性が高いことを示している(未発表).

5. cDNAの大量解析

果樹研究所グループは, モモのcDNAの大量解析を1995年ごろから進めてきたが, 進行が遅く, 数年前の段階で200程度(Hayama et al., 2000), 最近になってやっと約2千のESTを解読している. 現在は, これらを用いてマイクロアレイ分析を開始している(Imai et al., 2004). 米国では, 国立科学財団(NSF)のファンドが2000年ごろから種々の果樹のcDNAの解析に提供されている. モモでは, クレムソン大学で果肉からのEST約1万を讀んでいる. これらのアノテーションの結果はホームページに公開している(Horn et al., 2004). 独立クローン約4千の24%は公開データベースに相同なものがなく, 果樹に特異的なものとして期待されている. 彼らは, 同時にアーモンド未熟種子からのESTを3千近く讀んでいる. イタリアでは, モモ果肉のcDNAから約6千のEST情報をホームページに掲載している. 今後, 1万のESTを獲得

して, マイクロアレイ解析を行う予定である(Pozzi et al., 2004). フランスのグループは, モモとアンズのEST解析を行っている. 発育段階のアンズ果実のcDNAの配列を解読したEST 1万5千を得ている. 独立クローン5千の76%は公開データベースに相同なものがあり, その53%は既知の蛋白質と相同であった. モモ果実からもESTを得ており, SNPやSSRの開発を手がけている(Grimplet et al., 2004).

リンゴでは, 既に400以上のESTを解析した報告が(Sung et al.1998)あったが, 本格的な開発は, ニュージランドで, EST 6万を解読している. 具体的な内容は不明ではあるが, 配列から得られた既知の抵抗性に関する遺伝子を連鎖地図に座乗させ, それらの位置をうどん粉病抵抗性やリンゴアブラムシ抵抗性と比較している(Gardner et al., 2004). 米国のKorbanらは, 最近NSFから予算を獲得し, 花と果実から12万のESTデータベースの作成を予定している(Korban et al., 2004).

(この項では, 論文で報告されていないものが多いため, 学会などの発表も文献として引用した)

6. まとめと今後

欧米では, 1900年始めからリンゴとモモを中心に国を超えて共同研究を進めている. そのころ, 我が国では, 果樹ゲノム研究に対する関係者の関心はほとんどなかった. 果樹研究所グループは, 1995年以降にようやく, ナシとモモの連鎖地図の作成を開始した. モモの研究が欧米に比べて数年間遅れたことは, 今でも欧米との対等な共同研究を進める上で障害となっている. ただ, 欧州では果樹研究所のモモのSSRマーカーに関心を持ち, 互いの地図統合化のために, マーカーの交換は行ってきた. モモcDNAの大量解析については, 果樹研究所の独自性を発揮するために, 欧米に先行して早くから始めたが, 最近になって欧米でもこの分野の研究を本格的に進めており, 規模で先を越されている. 一方, ナシのゲノム研究は, 幸いにも欧米では行われておらず, 果樹研究所の独断場であった. 欧州のリンゴのグループとSSRマーカーを交換して, ナシとリンゴの連鎖地図の連結を進めてきた.

現在は, 信頼性の高いSSRマーカーによって, バラ科果樹品種の識別技術がほぼ確立されている. SSRマーカーは, また連鎖地図同士の統合・連結にも役立ち, 地図情報の共有化によって, 果樹に重要な遺伝形質に連鎖するマーカーが開発され, 育種選抜へ利用が可能になってきた. また, サクラ属果樹のESTデータベースが公開されており, 遺伝子の発現解析などへの利用も可能になっ

ている。今後、欧米の研究は、モモとリンゴを中心に、マップベースクローニングやマイクロアレイによる遺伝子ネットワークの解析によって、果樹の栽培に重要な遺伝子群の単離が進められると考えられる。既に進められているブドウやカンキツ、パナナの国際ゲノムプロジェクトとの情報交換も始まると考えられる。そのような状況で、我が国は、どのようにバラ科果樹のゲノム研究を展開し、欧米と協力関係を保ちつつ、欧米に対して知的財産権を確保するかの重要な岐路に立っている。欧米と同じ研究レベルであれば、研究協力による大きな成果が期待される。そのためには、果樹研究所内は勿論、国内の大学などとの協力・分担によってネットワークを作り、集中的な研究の展開を早期に図る必要がある。この総説が、関係者の英知ある判断のための検討材料の一つになれば幸いである。

摘 要

バラ科果樹ゲノム解析の国際的進展を我が国におけるゲノム研究の今後の展開に位置づけるため、我が国および欧米におけるバラ科果樹（主にモモ、リンゴ、ナシ）のゲノム研究の経過と現状を、現在までに報告されている文献の引用などによって紹介し、従来型研究とは異なる新たな研究の推進状況について説明した。

謝 辞

全般に渡り字句と引用文献のチェックをお願いした山本俊哉氏（果樹研究所）と分類法の助言をお願いした池谷裕幸氏（果樹研究所）に感謝する。

参考文献

- 1) Abbott, A. G., A. C. Lecouls, Y. Wang, L. Georgi, R. Scorza, and G. Reighard. 2002. Peach: The model genome for Rosaceae genomics. *Acta Hort.* 592: 199-209.
- 2) The Arabidopsis Genome Initiative. 2000. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* 408: 796-815.
- 3) Aranzana, M. J., J. Carbo and P. Arus. 2003a. Microsatellite variability in peach (*Prunus persica* (L.) batsch): Cultivar identification, marker mutation, pedigree inferences and population structure. *Theor. Appl. Genet.* 106: 1341-1352.
- 4) Aranzana, M. J., J. Garcia-Mas, J. Carbo and P. Arus. 2002. Development and variability analysis of microsatellite markers in peach. *Plant Breeding* 121: 87-92.
- 5) Aranzana, M. J., A. Pineda, P. Cosson, E. Dirlewanger, J. Ascasibar, G. Cipriani, C. D. Ryer, R. Testolin, A. Abbott, G.J. King, A. F. Iezzoni and P. Arus. 2003b. A set of simple-sequence repeat (SSR) markers covering the *Prunus* genome. *Theor. Appl. Genet.* 106: 819-825.
- 6) Arumuganathan, K. and E. D. Earle. 1991. Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Molec. Biol. Reporter* 9: 211-215.
- 7) Arus, P., R. Messeguer, M. Viruel, K. Tobutt, E. Dirlewanger, F. Santi, R. Quarta and E. Ritter. 1994. The European *Prunus* mapping project, progress in the almond linkage map. *Euphytica* 77: 97-100.
- 8) Baldi, P., A. Patocchi, E. Zinil, C. Toller, R. Velasco and M. Komjanc. 2004. Cloning and linkage mapping of resistance gene homologues in apple. *Theor. Appl. Genet.* 109: 231-239.
- 9) Belfanti, E., E. Silverberg-Dilworth, S. Tartarini, A. Patocchi, M. Barbieri, J. Zhu, B. A. Vinatzer, L. Gianfranceschi, C. Gessler and S. Sanavini. 2004. The Hcr Vf_2 gene from a wild apple confers scab resistance to a transgenic cultivated variety. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 101: 886-890.
- 10) Bliss, F. A., A. Arulsekhar, M. R. Foolad, V. Bercerra, A. M. Gillen, M. L. Warburton, A. M. Dandekar, G. M. Kocsisne and K.K. Mydin. 2002. An expanded genetic linkage map of *Prunus* based on an interspecific cross between almond and peach. *Genome* 45: 520-529.
- 11) 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.
- 12) Cevik, V. and G.J. King. 2002a. High-resolution genetic analysis of the *Sd-1* aphid resistance locus in *Malus* spp. *Theor. Appl. Genet.* 105: 346-54.
- 13) Cevik, V. and G. J. King. 2002b. Resolution the aphid resistance locus *Sd-1* on a BAC contig within a sub-telomeric region of *Malus* linkage group 7. *Genome* 45: 939-945.
- 14) Chaparro, J. X., D. J. Werner, D. O' Malley and R. R. Sederoff. 1994. Targeted mapping and linkage analysis of morphological isozyme, and RAPD markers in peach. *Theor. Appl. Genet.* 87: 805-815.
- 15) Cheng, F. S., N. F. Weeden, S. Brown, H. S. Aldwinkle, S. E. Gardiner and V. G. Bus. 1998. Development of a DNA marker for Vm, a gene conferring resistance to apple scab. *Genome* 41: 208-214.
- 16) 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) Batch]: isolation, characterization and cross-species amplification in *Prunus*. *Theor. Appl. Genet.* 99: 65-72.
- 17) Claverie, M., N. Bosselut, A. C. Lecouls, R. Voisin, B. Lafargue, C. Poizat, M. Kleinhentz, F. Laigret, E. Dirlewanger and D. Esmenjaud. 2004. Location of independent root-knot nematode resistance genes in plum and peach. *Theor. Appl. Genet.* 108:765-73.
- 18) Conner, P., J. S. K. Brown and N. F. Weeden. 1997. Randomly amplified polymorphic DNA-based genetic linkage maps of three apple cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 122: 350-359.
- 19) Conner, P. J., S. K. Brown and N. F. Weeden. 1998. Molecular-marker analysis of quantitative traits for growth and development in juvenile apple trees. *Theor. Appl. Genet.* 96: 1027-1035.
- 20) Dettori, M. T., R. Quarta, and I. Verde. 2001. A peach linkage map integrating RFLPs, SSRs, RAPDs, and morphological markers. *Genome* 44: 783-790.
- 21) Dirlewanger, E., P. Cosson, M. Tavaud, M. J. Aranzana, C. Poizat, A. Zanetto, P. Arus and F. Laigret. 2002. Development of microsatellite markers in peach (*Prunus persica*(L) Naysch) and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L). *Theor. Appl. Genet.* 105: 127-138.
- 22) Dirlewanger, E., E. Graziano, T. Joobeur, F. Garriga-Caldere, P. Cosson, W. Howad and P. Arus. 2004. Comparative mapping and marker-assisted selection in Rosaceae fruit crops. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 101: 9891-9896.
- 23) Dirlewanger, E., A. Moing, C. Rothan, L. Svanella, V. Pronier, A. Guye, C. Plomion and R. Monet. 1999. Mapping QTLs controlling fruit quality in peach (*Prunus persica* (L) Batch). *Theor. Appl. Genet.* 98: 18-31.
- 24) Dirlewanger, E., T. Pascal, C. Zuger and J. Kervella. 1996. Analysis of molecular markers associated with powdery mildew resistance genes in peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) × *Prunus davidiana* hybrids. *Theor. Appl. Genet.* 93: 909-919.
- 25) Dirlewanger, E., V. Pronier, C. Parvery, C. Rothan, A. Guye and R. Monet. 1998. Genetic linkage map of peach [*Prunus persica* (L) Batch] using morphological and molecular markers. *Theor. Appl. Genet.* 97: 888-895.
- 26) Etienne, C., C. Rothan, A. Moing, C. Plomion, C. Bpdenes, L. Svanella-Dumas, P. Cosson, V. Pronier, R. Monet and E. Dirlewanger. 2002. Candidate genes and QTLs for sugar and organic acid content in peach (*Prunus persica* (L) Batsch). *Theor. Appl. Genet.* 105: 145-159.
- 27) Evans, R. C. and C. S. Campbell. 2002. The origin of the apple subfamily (Maloideae; Rosaceae) is clarified by DNA sequence data from duplicated GBSSI genes. *Amer. J. of Botany* 89: 1478-1484.
- 28) Foolad, M. R., S. Arulsekar, V. Becerra and F. A. Bliss. 1995. A genetic map of *Prunus* based on an interspecific cross between peach and almond. *Theor. Appl. Genet.* 91: 262-269.
- 29) Gardiner, S., R. Rusholme, H. Bassett, V. Bus, W. Legg, M. Cook, C. Ranatunga, E. Rikkerink, A. Gleave and R. Crowhurst. 2004. Conservation of markers around some genes in apple. *Plant & Animal Genomes XII Conference: W105* (abstr.).
- 30) Georgi, L. L., Y. Wang, G. L. Reighard, L. Mao, R. A. Wing and A. G. Abbott. 2003. Comparison of peach and Arabidopsis genomic sequences: Fragmentary conservation of gene neighborhoods. *Genome* 46: 268-276.
- 31) Georgi, L. L., Y. Wang, D. Yvergnaux, T. Ormsbee, M. Inigo, G. Reighard and A. G. Abbott. 2002. Construction of a BAC library and its application to the identification of simple sequence repeats in peach (*Prunus persica*(L)Batsch). *Theor. Appl. Genet.* 105:1151-1158.
- 32) 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.
- 33) Grimplet, J., C. Romieu, F.X. Sauvage, N. Terrier, P. Lambert, E. Dirlewanger, P. Cosson and L. L. Dantec. 2004. EST in *Prunus* genus (apricot and peach). *International Rosaceae Genome Mapping Conference in Clemson Univ.*
- 34) Guiford, P., S. Prakash, J. M. Zhu, E. Rikkerink, S. Gardiner, H. Bassett and R. Forster. 1997. Microsatellites in *Malus x domestica* (apple): Abundance, polymorphism and cultivar identification. *Theor. Appl. Genet.* 94: 249-254.
- 35) Hayama, H., T. Shimada, T. Yamamoto, H. Iketani, N. Matsuta, H. Yoshioka and T. Hayashi. 2000. Characterization of randomly obtained cDNA from peach fruits at various developmental stage. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 69: 183-185.
- 36) Hemmat, M., S. K. Brown and N. F. Weeden. 2002. Tagging and mapping scab resistance genes from R12740-7A apple. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 127: 365-370.
- 37) Hemmat, M., N. F. Weeden and S. K. Brown. 2003. Mapping and evaluation of *Malus x domestica* microsatellites in apple and pear. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 128: 515-520.
- 38) Hemmat, M., N. F. Weeden, P. J. Conner and S. K. Brown. 1997.

- A DNA marker for columnar growth habit in apple contains a simple sequence repeat. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 122: 347-349.
- 39) Hemmat, M. N.F. Weeden, S.G. Manganaris and D. M. Lawson. 1994. Molecular marker linkage map for apple. J. of Heredity 85: 4-11.
- 40) Hokanson, S. C., A. K. Szewc-McFadden, W. F. Lamboy and J. R. McFerson. 1998. Microsatellite(SSR) markers reveal genetic identities, genetic diversity and relationships in *Malus x domestica* borkh. core subset collection. Theor. Appl. Genet. 97: 671-683.
- 41) Hormaza, J. I. 2002. Molecular characterization and similarity relationships among apricot (*Prunus armeniaca* L) genotypes using simple sequence repeats. Theor. Appl. Genet. 104: 321-328.
- 42) Horn, R., T. Zhebentyayeva, J. Mook, G. Swire-Clark, L. Garay, P. McCord, W. Howad, H. Chan, S. Jung and A. Abbott. 2004. Development of a physical and a transcript map for peach: a model tree species for Rosaceae. Plant & Animal Genomes XII Conference: W104 (abstr.).
<http://www.genome.clemson.edu/gdr/>
- 43) Hurtado, M. A., C. Remero, S. Vilanova, A. G. Abbott, G. Llacer and M. L. Badenes. 2002. Genetic linkage maps of two apricot cultivars (*Prunus armeniaca* L) and mapping of PPV (sharka) resistance. Theor. Appl. Genet. 105: 182-191.
- 44) Iketani, H., K. Abe, T. Yamamoto, K. Kotobuki, Y. Sato, T. Saito, O. Terai, N. Matsuta, and T. Hayashi. 2001. Mapping of the disease-related genes in Japanese pear using a molecular linkage map with RAPD markers. Breeding Science 51: 179-184.
- 45) Imai, T., Z. Shimatani, T. Yamamoto, N. Matsuta, J. Soejima, Y. Nagamura and T. Hayashi. 2004. cDNA Microarray analysis on peach fruit 2. preparation of an array containing 2,000 clones. Plant Cell Physiol. 45: S201(Supplement).
- 46) Jauregui, B., M. C. de Vicente, R. Messeguer, A. Felipe, A. Onnet, G. Salesses and P. Arus. 2001. A reciprocal translocation between Garfi almond and Nemared peach. Theor. Appl. Genet. 102: 1167-1176.
- 47) Joobeur, T., M. A. Viruel, M. C. de Vicente, B. Jauregui, J. Ballester, M. T. Dettori, I. Verde, M. J. Truco, R. Messeguer, I. Batlle, R. Quarta, E. Dirlewanger and A. Arus. 1998. Construction of a saturated linkage map for *Prunus* using an almond x peach F₂ progeny. Theor. Appl. Genet. 97: 1034-1041.
- 48) Joobeur, T., N. Periam, M. C. de Vicente, G. J. King, and P. Arus. 2000. Development of a second generation linkage map for almond using RAPD and SSR markers. Genome 43: 649-655.
- 49) 木村鉄也・伴義之・山本俊哉・林建樹. 2003. 濃縮法による植物のSSRマーカーの開発. DNA多型. 11: 72-75.
- 50) 木村鉄也・小曾納雅則・伴義之・澤村豊・正田守幸・齋藤寿宏・壽和夫・林建樹・山本俊哉. 2002. SSRマーカーを用いたナシの親子鑑定と親の推定. DNA多型. 10: 48-51.
- 51) Kimura, T., Y. Sawamura, K. Kotobuki, N. Matsuta, T. Hayashi, Y. Ban, and T. Yamamoto. 2003. Parentage analysis in pear cultivars characterized by SSR markers. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 71: 723-729.
- 52) 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. Breeding Science 52: 115-121.
- 53) King, G. J. 1994. Progress in mapping agronomic genes in apple (The European Apple Genome Mapping Project). Euphytica 77: 65-69.
- 54) King, G. J., F. H. Alston, I. Batlle, E. Chevreau, C. Gessler, J. Janse, P. Lindhout, A. G. Manganaris, S. Sansavini, H. Schmidt and K. Tobutt. 1991. The 'European Apple Genome Mapping Project'-developing a strategy for mapping genes coding for agronomic characters in tree species. Euphytica 56: 89-94.
- 55) King, G.J., C. Maliepaard, J.R. Lynn, F.H. Alston, C.E. Durel, K.M. Evans, B. Griffon, F. Laurens, A.G. Manganaris, E. Schrevens, S. Tartarini and J. Verhaegh. 2000. Quantitative genetic analysis and comparison of physical and sensory descriptors relating to fruit fresh firmness in apple (*Malus pumila* Mill.). Theor. Appl. Genet. 100: 1074-84.
- 56) King, G.J., S. Tartarini, L. Brown, F. Gennari and S. Sansavini. 1999. Introgression of *Vf* source of scab resistance and distribution of linked marker alleles within the *Malus* gene pool. Theor. Appl. Genet. 99: 1039-46.
- 57) Korban, S. S., L. O. Vodkin, L. Liu, H. S. Aldwinckle, N. Carroll, P. Goldsbrough, K. Orvisn and S. Clifton. 2004. Towards apple functional genomics: The EST project. Plant & Animal Genomes XII Conference: P39 (abstr.).
- 58) Lambert, P., L. S. Hagen, P. Arus and J. M. Audergon. 2004. Genetic linkage maps of two apricot cultivars (*Prunus armeniaca* L.) compared with the almond Texas x peach Earlygold reference map for *Prunus*. Theor. Appl. Genet. 108: 1120-130.
- 59) Liebhard, R., L. Gianfranceschi, B. Koller, C. D. Ryder, R. Tarchini, E. Van De Weg and C. Gessler. 2002. Development

- and characterization of 140 new microsatellites in apple (*Malus x domestica* Borkh.). *Molecular breeding* 10: 217-241
- 60) Liebhard, R., B. Koller, L. Gianfranceschi and C. Gessler. 2003. Creating a saturated reference map for the apple (*Malus domestica* Borkh.) genome. *Theor. Appl. Genet.* 106: 1497-508.
- 61) Lu, Z. X., K. Sossey-Alaoui, G. L. Reighard, W. V. Baird and A. G. Abbot. 1999. Development and characterization of a codominant marker linked to root-knot nematode resistance, and its application to peach rootstock breeding. *Theor. Appl. Genet.* 99: 115-122.
- 62) Lu, Z. X., B. Sosinski, G. L. Reighard, W. V. Baird and A. G. Abbot. 1998. Construction of a genetic linkage map and identification of AFLP markers for resistance to root-knot nematodes in peach rootstocks. *Genome* 41: 199-207.
- 63) Maliepaard, C. et al. 1998. Aligning male and female linkage maps of apple (*Malus pumila* Mill.) using multi-allelic markers. *Theor. Appl. Genet.* 97: 60-73.
- 64) 農林水産先端技術研究所(STAFF).1996. イネDNAに基づくRFLPマーカーの他作物ゲノム解析への応用.年報 4:8-10.
- 65) Nybom, H., S. H. Rogstad and B. A. Schaal. 1990. Genetic variation detected by use M13 DNA fingerprint probe in *Malus*, *Prunus*, and *Rubus* (Rosaceae). *Theor. Appl. Genet.* 79:153-156.
- 66) Olivier, M. et al. 2001. A high-resolution radiation hybrid map of the human genome draft Sequence. *Science* 291: 1298-1302.
- 67) Oraguzie, N. C., S.E.Gardiner, H. C. M. Basset, M. Stefanati, R. D. Ball, V. G. M. Bus and A. G. White. 2001. Genetic diversity and relationships in *Malus* sp. Germplasm collections as determined by randomly amplified polymorphic DNA. *J.Amer.Soc.Hort.Sci.* 126: 318-28.
- 68) Patocchi, A., L. Gianfranceschi and C. Gessler. 1999a. Towards the map-based cloning of *Vf*: fine and physical mapping of the *Vf* region. *Theor. Appl. Genet.* 99: 1012-17.
- 69) Patocchi, A., B. A. Vinatzer, L. Gianfranceschi, S. Tartarini, H. B. Zhang, S. Sansavini and C. Gessler. 1999b. Construction of a 550 kb BAC contig spanning the genomic region containing the apple scab resistance gene *Vf*. *Mol. Gen. Genet.* 262: 884-891.
- 70) Pozzi, C., et al. 2004. ESTree DB: a bioinformatic tool for peach functional genomics. International Rosaceae Genome Mapping Conference in Clemson Univ. <http://linuxbox.itb.cnr.it/ESTree/>
- 71) Quilot, B., B. H. Wu, J. Kervella, M. Gnard, M. Foulongne and K. Moreau. 2004. QTL analysis of quality traits in an advanced backcross between *Prunus persica* cultivars and the wild relative species *P. davidiana*. *Theor. Appl. Genet.* 109: 884-897.
- 72) Rajapakse, S., L. E. Belthoff, G. He, A. E. Estager, R. Scorza, I. Verde, R. E. Ballard, W. V. Bairs, A. Callahan, R. Monet and A. G. Abbott. 1995. Genetic linkage mapping in peach using morphological, RFLP and LAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 90: 503-510.
- 73) Roche, P., F. H. Alston, C. Maliepaard, K. M. Evans, R. Vrieling, F. Dunemann, T. Markussen, S. Tartarini, L. M. Brown, C. Ryder and G. J. King. 1997. RFLP and RAPD markers linked to the rosy leaf curling aphid resistance gene (*Sd1*) in apple. *Theor. Appl. Genet.* 94: 528-33
- 74) Romero, C., A. Pedryc, V. Munoz, G. Llacer and M. L. Badenes. 2003. Genetic diversity of different apricot geographical groups determined by SSR markers. *Genome* 46: 244-52.
- 75) Sasaki, T. et al. 2002. The genome sequence and structure of rice chromosome 1. *Nature* 420: 312-316. <http://rgp.dna.affrc.go.jp/IRGSP>.
- 76) Sawamura, Y., T. Saito, N. Takada, T. Yamamoto, T. Kimura, T. Hayashi and K. Kotobuki. 2004. Identification of parentage of Japanese pear cultivar 'Housui'. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 73: 511-518.
- 77) Schueler, S., A. Tusch, M. Schuster and B. Ziegenhagen. 2003. Characterization of microsatellites in wild and sweet cherry (*Prunus avium* L.) markers for individual identification and reproductive processes. *Genome* 46: 95-102.
- 78) Shimada, T., T. Yamamoto, M. Yamaguchi and T. Hayashi. 2000. A Genetic map constructed using an interspecific cross between peach cultivars grown in Japan. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 69: 536-542.
- 79) Sosinski, B., M. Gannavarapu, L. D. Hager, L. E. Beck, G. J. King, C. D. Ryder, S. Rajapakse, W. V. Bairs, R. E. Ballard and A. G. Abbott. 2000. Characterization of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. *Theor. Appl. Genet.* 101: 421-28.
- 80) Staub, J. E. and F. C. Serquen. 1996. Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. *Hort Science* 31:729-741.
- 81) Struss, D., M. Boritzki, R. Larle and A. F. Iezzoni. 2002. Microsatellite markers differentiate eight Giessen cherry rootstocks. *Hort Science* 37: 191-193.
- 82) Sung, S-K. et al. 1998. Expressed sequence tag of fruits, peels, and carpels and analysis of mRNA expression levels of the tagged cDNAs of fruits from the Fuji apple. *Mol. Cells* 8: 563-77.
- 83) 田端哲之. 2000. ゲノム解析の戦略. p.34-41. 佐々木,

- 田畑，島本監．植物ゲノムプロトコール．秀潤社．
- 84) 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 genetic origin of cultivars. *Genome* 43: 512-520.
- 85) 鷓飼保雄．2000．ゲノムレベルの遺伝解析．350 pp. 東京大学出版会．
- 86) Vilanova, S., C. Romero, A. G. Abbott, G. Llacer and M. L. Badenes. 2003. An apricot (*Prunus armeniaca* L) F₂ progeny linkage map based on SSR and AFLP markers, mapping plum pox virus resistance and self-incompatibility traits. *Theor. Appl. Genet.* 107: 239-247.
- 87) Vinatzer, B.A., H-B Zhang and S. Sansavini. 1998. Construction and characterization of a bacterial artificial chromosome library of apple. *Theor. Appl. Genet.* 97: 1183.
- 88) Vinatzer, B.A., A. Patocchi, L. Gianfranceschi, S. Tartarini, H. Zhang, C. Gessler and S. Sansavini. 2001. Apple contains receptor-like genes homologous to the *Cladosporium fulvum* resistance gene family to tomato with a cluster of genes cosegregating with *Vf* apple scab resistance. *Mol. Plant Microbe Interact.* 14: 508-515.
- 89) Wang, Y., L. L. Georgi, G. L. Reighard, R. Scorza, and A. G. Abbott. 2002b. Genetic mapping of the evergrowing gene in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. *J. of Heredity* 93: 352-358.
- 90) Wang, Y., L. L. Georgi, Y. N. Zhebentyayeva, G. L. Reighard, R. Scorza and A. G. Abbott. 2002a. High-throughput targeted SSR marker development in peach (*Prunus persica*). *Genome* 45: 319-328.
- 91) Wang, D., R. Karle, T. S. Brettin and A. F. Iezzoni. 1998. Genetic linkage map in sour cherry using RFLP markers. *Theor. Appl. Genet.* 97: 1217-224.
- 92) Wang, D., R. Karle and A. F. Iezzoni. 2000. QTL analysis of flower and fruit traits in sour cherry. *Theor. Appl. Genet.* 100: 535-44.
- 93) Weeden, N. F., 1994. Approaches to mapping in horticultural crops. In: *Plant Genome Analysis*. p.57-68. CRC Press, Inc.
- 94) Wunsch, A and J. I. Hormaza. 2002. Molecular characterisation of sweet cherry (*Prunus avium* L.) genotypes using peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] SSR sequences. *J. of Heredity* 89: 56-63.
- 95) Xu, M.L. and S.S. Korban. 2000. Saturation mapping of the apple scab resistance gene *Vf* using AFLP markers. *Theor. Appl. Genet.* 101: 844-851.
- 96) Xu, M. and S. S. Korban. 2002. A cluster of four receptor-like genes resides in the *Vf* locus that confers resistance to apple scab disease. *Genetics* 162: 1995-2006.
- 97) Yamamoto, T. and T. Hayashi. 2002. New root-knot nematode resistance genes and their STS markers in peach. *Sci. Hortic.* 96: 81-90.
- 98) 山本俊哉・林建樹・木村鉄也・持田耕平・荻原勲. 2003. モモのゲノム解析 - SSR マーカーの開発と品種識別 - DNA多型 . 11: 61-64 .
- 99) Yamamoto, T., T. Kimura, Y. Sawamura, K. Kotobuki, Y. Ban, T. Hayashi and N. Matsuta. 2001a. SSRs isolated from apple can identify polymorphism and genetic diversity in pear. *Theor. Appl. Genet.* 102: 865-870.
- 100) Yamamoto, T., T. Kimura, Y. Sawamura, T. Manabe, K. Kotobuki, T. Hayashi, Y. Ban, and N. Matsuta. 2002d. Simple sequence repeats for genetic analysis in pear. *Euphytica* 124: 129-137.
- 101) Yamamoto, T., T. Kimura, M. Shoda, T. Imai, T. Saito, Y. Sawamura, K. Kotobuki, T. Hayashi and N. Matsuta. 2002b. Genetic linkage maps constructed by using an interspecific cross between Japanese and European pears. *Theor. Appl. Genet.* 106: 9-18.
- 102) Yamamoto, T., T. Kimura, M. Shoda, Y. Ban, T. Hayashi and N. Matsuta. 2002c. Development of microsatellite markers in Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). *Mol. Ecol. Notes* 2:14-16.
- 103) Yamamoto, T., K. Mochida and T. Hayashi. 2003a. Shanghai Suimitsuto, one of the origins of Japanese peach cultivars. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 72: 116-121.
- 104) Yamamoto, T., K. Mochida, T. Imai, T. Haji, H. Yaegaki, M. Yamaguchi, N. Matsuta, I. Ogiwara and T. Hayashi. 2003b. Parentage analysis in Japanese peaches using SSR markers. *Breeding Science*, 53: 35-40.
- 105) Yamamoto, T., K. Mochida, T. Imai, Y. Z. Shi, I. Ogiwara, and T. Hayashi. 2002a. Microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] derived from an enriched genomic and cDNA libraries. *Mol. Ecol. Notes* 2: 298-301.
- 106) Yamamoto, T., T. Shimada, T. Imai, H. Yaegaki, T. Haji, N. Matsuta, M. Yamaguchi and T. Hayashi. 2001b. Characterization of morphological traits based on a genetic linkage map in Peach. *Breeding Science* 51: 271-278.
- 107) 八尾 徹 . 2004. パイオインフォマティクス・システム生物学の米国の動向 . 蛋白質核酸酵素 . 49: 171-174.
- 108) Zhebentyayeva T.N., G. L. Reighard, V. M. Gorina and A. G. Abbott. 2003. Simple sequence repeat (SSR) analysis for assessment of genetic variability in apricot germplasm. *Theor. Appl. Genet.* 106: 435-44.