

モモの品種判別技術の開発

大橋義孝^{*1}・小野勇治^{*2}・木幡栄子^{*3}・岡田初彦^{*4}
佐藤守^{*5}・木村鉄也^{*6}・西谷千佳子^{*7}・山本俊哉^{*7}

Discrimination of Peach Varieties Using SSR Markers

Yoshitaka OHASHI^{*1}, Yuji ONO^{*2}, Eiko KOHATA^{*2}
Hatsuhiko OKADA^{*3}, Mamoru SATO^{*4}, Tetsuya KIMURA^{*5}
Chikako NISHITANI^{*6} and Toshiya YAMAMOTO^{*6}

Abstract

Discrimination techniques for major Japanese peach (*Prunus persica* (L.)Batsch) cultivars were successfully established using SSR markers. The genotypes of 18 SSR loci were identified for 48 cultivars resulting in-house database, in which cultivar identification and parentages were confirmed. Then, DNA extraction and profiling were examined for fruit tissues (sarcocarp) and several processed fruits such as juice, dried fruits and fruit jelly. Enough amount and quality of DNAs could be extracted for PCR amplification, which were successfully used for DNA profiling by SSR markers. The marker set with smallest number for differentiating all tested varieties was selected using the "MinimalMarker" program, in order to save time and cost for DNA discrimination.

Key words : peach, discrimination, SSR marker, genotype

キーワード : モモ・判別・SSRマーカー・遺伝子型

受理日 平成23年11月17日

^{*1}福島県農業総合センター果樹研究所 (現福島県北農林事務所安達農業普及所) ^{*2}福島県農業総合センター果樹研究所 (現農業総合センター作物園芸部) ^{*3}福島県農業総合センター果樹研究所 (現農業総合センター企画経営部) ^{*4}福島県農業総合センター果樹研究所 (現福島県北農林事務所伊達農業普及所) ^{*5}福島県農業総合センター果樹研究所 ^{*6}独立行政法人種苗管理センター ^{*7}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

1 緒言

モモは夏の季節感を誘い、7月から9月まで流通する代表的な果実である。本県は全国で有数のモモの産地であり、代表的な品種「あかつき」をはじめ、「はつひめ」「川中島白桃」「暁星」「ゆうぞら」「白鳳」など様々な品種が生産されている。さらに、果実入りゼリーやジュースなど様々な加工品も販売されている。昭和53年に改正された農産種苗法では、新品種を育成・発見した際の品種登録と、種苗の独占的な販売の権利が与えられ、現在まで（平成23年5月31日までに登録済み）にモモ（*Prunus persica* (L.) Batsch）は186品種が登録されており、昭和53年以前の品種を含めると、さらに数多くのモモの品種が存在している。現在日本の主要経済品種は、「上海水蜜桃」が起源であることが報告されており¹⁾、「上海水蜜桃」から3～数世代進んだ交雑品種で、「白桃」や「あかつき」を両親とする品種が多く存在する。

モモは、リンゴ、ブドウ、ナシ等と同等以上に、果実の外観において品種間で明瞭な差異が少なく、品種の判別が困難な果樹である。モモを含む果樹で正確な品種判別が難しい原因として、葉や枝、果実など外見が酷似していること、果実などの形質をみて判定するために長い時間が必要であること、樹齢やその年の気象、生産者の栽培法により、収穫期や果実形質が大きく変わってしまうことなどが挙げられる。さらにモモは、産地と品種によるプレミアム性が極めて高い果実であるので、品種の不当表示の問題は今後深刻化する可能性が高く、科学的な品種判別法の開発により育成者の権利を守ることが必要である。

品種を判別する方法として、DNAマーカーを用いた方法が開発されており、モモ^{2) ~5)}、ナシ^{6) 7)}、ブドウ^{8) 9)}、オウトウ^{10) 11)}で、SSR (Simple Sequence Repeat) マーカーを用いた品種判別が報告されている。SSRマーカーは多型の検出頻度や再現性の高さなどの点から広く用いられている。品種判別を効率的に行うためには、より少ないマーカーで品種判別できるマーカーの数や組合せを選択する必要がある。品種判別に最適な最少マーカーセットを選び出すことで、より簡易で安価な品種判別法を確立することができる。

そこで、本研究ではSSRマーカーを用いた品種判別法を確立するとともに、主要経済品種を含むSSRマーカー遺伝子型データベースを構築した。さらに、果実および加工品からの最適なDNA抽出法の検討とDNA鑑定を試みた。また、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（以下、農研機構果樹研）で開発された、最少マーカーセット選択プログラム

MinimalMarker（藤井ら¹²⁾）を用い、最も少ないマーカー数で、データベースにある品種すべてを判別できるマーカーセットを検索した。

2 試験方法

(1) モモのDNA品種判別

A 供試品種

現在、栽培されているモモ（*Prunus persica* (L.) Batsch）の主要品種を用いた。福島県農業総合センター果樹研究所（以下、福島果樹研）と農研機構果樹研で栽培・保存している48品種を用いた。供試した48品種とその来歴を表1に示す。

B 幼葉からのDNA抽出

各品種の幼葉、約0.1gを液体窒素で冷却しながら、マイクロチューブ中で粉碎した。粉碎した試料はDNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) を用いてゲノムDNAを抽出した。抽出したゲノムDNAを、電気泳動または分光光度計により定量した。

C SSRマーカー

SSRマーカーとして、農研機構果樹研究所^{13) ~15)} および欧米^{16) ~21)} で開発されたSSRマーカー合計66種類を用いた。その中で、安定した増幅バンドが得られ、バンドのサイズを安定して決定できるSSRマーカー18種類を用いて品種の判別を試みた（別表1）。

各SSRマーカーは、forward側のプライマーの5'末端をFam、Tet、Vic、Nedのいずれかでラベルした。

D PCR反応

PCRの反応組成は、10mMのTris-HCl (pH8.3)、50mMのKCl、1.5mMのMgCl₂、0.2mMのdNTPs、0.5 μMの各プライマー、5ngのゲノムDNA、0.5unitのTaq polymeraseで、反応液量を10 μlとした。反応温度は、94℃ 1分、55℃、52℃、50℃のいずれかで1分のアニーリング、72℃ 2分とし、35サイクルの反応を行った。各SSRマーカーのフォワードプライマーとリバースプライマーの塩基配列は別表1に記載した。

E フラグメント解析

PCR反応の後、増幅産物をDNAシーケンサーで分離・分画してフラグメント解析を行った。DNAシーケンサー Prism377 (Applied Biosystems) では、変性アクリルアミドゲルを用いてPCR増幅産物を分離し、内部標準の蛍光ラベルサイズマーカー GS350TAMRAを指標にして、GeneScan解析ソフト (Applied Biosystems) で解析した。3100または3130xl DNAシーケンサー (Applied Biosystems) では、高分子ポリマーPOP4もしくはPOP7を用い、内部標準の蛍光ラベルサイズマーカー400HD-ROX

を指標にして、GeneScan解析ソフト (Applied Biosystems) で解析した。増幅したSSRフラグメントの長さを整数値で表記し、SSRフラグメントの組合せを遺伝子型とした。SSR遺伝子型データを基に、品種の判別を試みた。

(2) 果肉および加工品のDNA鑑定

A 供試材料

モモの果肉、およびシロップ漬け (5種類)、ジュース (4種類) および乾燥果実の加工品を供試した。

B DNA抽出

モモの果肉を液体窒素で冷却しながら粉碎した。粉碎した試料を、DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen)、Genomic-tip 20/G (Qiagen) またはNucleon Phyto Pure (GE imagination at work) を用いてゲノムDNAを抽出した。シロップ漬けおよびジュースは、凍結乾燥 (EYELA FD-711、東京理化) を行った後、乳鉢と乳棒を用いて粉碎した。粉碎した試料は、Genomic-tip 20/Gを用い、ゲノムDNAを抽出した。抽出したゲノムDNAを、電気泳動または分光光度計

により定量した。

C SSR解析

加工品用にデザインし直した17種類のSSRマーカー (TM1a、TM4c、TM6a、TM12a、TM15a、TMA006b、TMA007a、TMA013a、TMA014a、TMA015a、TMA017a、TMA023a、TMA024a、TMA027a、TMA030a、TMA031a、TMA035a) を用いた。PCR反応と増幅産物の分画およびフラグメント長の解析は、(1)のウ～オの方法と同様に行った。得られた遺伝子型を基に、果肉および加工品でのDNA鑑定を試みた。

(3) 最少マーカーの選択

A Minimal Markerプログラム

モモ43品種、66種類のSSRマーカー遺伝子型データベースを、プログラム用多型データに変換し、MinimalMarkerプログラム (http://www.fruit.affrc.go.jp/kenkyu/prg/MinimalMarker_jp.html) を用いて、最少マーカーセットを検索した。

表1 供試品種

品種名	来歴	品種名	来歴
あかつき	白桃×白鳳	金桃	上海水蜜桃×アーリークロフォード?
黄金桃	川中島白桃の偶発実生	阿部白桃	白桃と大久保の混植
上海水蜜桃	明治初期に清国より渡来	白鳳	白桃×橘早生
白桃	上海水蜜桃×金桃?	日川白鳳	白鳳の芽接ぎ苗の中から発見
川中島白桃	白桃、上海水密の混植園	ちよひめ	高揚白桃×さおとめ
清水白桃	白桃と岡山3号の混植園	よしひめ	21-18×あかつき
ゆうぞら	白桃×あかつき	まさひめ	21-18×あかつき
さおとめ	白鳳×ロビン	あきぞら	西野白桃×あかつき
黄貴妃	ゆうぞら、白鳳、川中島白桃の混植園	なつおとめ	あかつき×よしひめ
ふくおとめ	倉方早生×ちよひめ	21-18	中津白桃×布目早生
はつおとめ	倉方早生×ちよひめ	高陽白桃	白桃の苗の一本が早生変異
紅国見	あかつきと推定される偶発実生	大久保	白桃園から偶発実生として発見
大和白桃	白桃×カールマン	ふくえくぼ	あかつきの突然変異
ロビン	Babcock×Mayflower	モモ福島1号	あかつき×さおとめ
愛知白桃	山田利一氏が発見した偶発実生	ふくあかね	モモ福島1号×まさひめ
武井白鳳	白鳳の実生	モモ福島6号	ゆうぞら×ちよひめ
八幡白鳳	白鳳の枝変わり	モモ福島8号	ゆうぞら×ちよひめ
浅間白桃	高陽白桃の変異株	白秋	うー9 (白桃×布目早生) ×C2R19T182
橘早生	伝十郎×?	もちづき	153-5×139-8。モモ筑波117号
伝十郎	接ぎ穂より	スイート光黄	まなみ×ゆうぞら
川中島白鳳	愛知白桃×川中島白桃	西野白桃	大久保と白桃の混色園、砂子早生を芽接ぎ
布目早生	偶発実生	なつき	川中島白桃×ちよひめ
砂子早生	偶発実生 (神玉×大久保?)	なつっこ	川中島白桃×あかつき
倉方早生	(タスカン×白桃) ×実生種	まなみ	愛知白桃×千曲

B 最少マーカセットの選択

プログラムにより検索された最少マーカセットの候補から、解析時の作業効率（フラグメント長、蛍光色素）を考慮し、最適なものを選択した。

C 最少マーカセットの検証

選択した最少マーカセットを用いて、フラグメント解析を行い、品種判別が可能かどうかを検証した。なお、検証には「あかつき」、「はつおとめ」、「ふくおとめ」、「ふくあかね」を用いた。品種判別は(1)モモのDNA品種判別に従った。

3 試験結果

(1) モモのDNA品種判別

A 品種判別と親子関係の検証

国内で栽培されているモモ品種、48種について、18種類のSSRマーカーにより品種判別を試みたところ、「白鳳」、「あかつき」、「清水白桃」などの主要品種を含み、枝変わりを除いた全ての品種を高い信頼度で判別することができた。

「白鳳」は旧神奈川県農事試験場で育成され、昭和8年命名された古い品種であるが、その子として「あかつき」、「ゆうぞら」などを生み出した重要な品種の親となっている。「白鳳」は種子親として「白桃」、花粉親として「橘早生」とされているため、「白鳳」と両親の遺伝子型を決定し、親子関係を調査した。「白鳳」の対立遺伝子型は、SSRマーカーM4cで74/78となっており、「白桃」から78が「橘早生」から74が遺

伝していた。同様に、M12aでも「白桃」と「橘早生」から1つずつ遺伝しており、矛盾無くバンドが遺伝していたため親子関係が正しいことが確認された（表2）。

また、「白鳳」の枝変わりとされている品種の判定を行った。枝変わりは、原品種と比較して遺伝子型が同じであるということで判断できる。「白鳳」の枝変わりと報告されている「長沢白鳳」は、「白鳳」と遺伝子型が一致したため、枝変わりと判定された。一方、同じく枝変わりとされている「日川白鳳」は、M4c、MA026aの遺伝子座で一致していなかった。さらにM4cではどちらの対立遺伝子も遺伝していないことから、「日川白鳳」は「白鳳」の枝変わりではなく、さらに親子関係もないことが明らかになった（表3）。

B 遺伝子型データベースの作成

SSRマーカーによるモモ遺伝子型データベースを作成し、カタログ化を行った。データベースを利用することで、品種判別、親子関係の確認、枝変わりの判定が容易となり、品種登録時に記載された両親の正否を明らかにすることが可能である（別表2）。データベースを用いることにより、未知の品種が持ち込まれた場合、ゲノムDNAを抽出後、遺伝子型のデータと照合して、検索することで品種の判定ができるため、迅速かつ的確な対応が可能となった。

(2) 果肉および加工品のDNA鑑定

A DNA抽出法の検討

果実および果実加工品のDNA鑑定を行うために、

表2 白鳳の親子関係の確認

品種名	SSRマーカー			
	M4c	M12a	M15a	MA026a
「白桃」	94 / 78	195 / 195	136 / 136	197 / 195
	↓	↓	↓	↓
「白鳳」	74 / 78	177 / 195	116 / 136	191 / 195
	↑	↑	↑	↑
「橘早生」	74 / 74	177 / 177	116 / 147	191 / 197

表3 枝変わり品種の判定

来歴	品種名	SSRマーカー			
		M4c	M12a	M15a	MA026a
枝変わり	「白桃」	74 / 78	177 / 195	116 / 136	191 / 195
		↑	↑	↑	↑
原品種	「白鳳」	74 / 78	177 / 195	116 / 136	191 / 195
			↓	↓	↓
枝変わり	「橘早生」	80 / 94	177 / 195	116 / 136	195 / 195

はじめに果実および果実加工品からの最適なゲノムDNA抽出法の検討を行った。3種類の抽出法の中で、現段階では、Genomic-tip 20/Gが最も効率的であった(図1)。Genomic-tip 20/Gキットを用いて各種加工品からゲノムDNAの抽出を試みた結果、少量のサンプルでは抽出できないサンプルも見られたが、量を増やすことにより抽出することができた(図2)。加工品から抽出したDNAを品種判別に供したSSRマーカーで増幅を試みたが、検出サイズの大きいSSRマーカーでは増幅しにくい傾向が見られた。このため、増幅産物の内側でマーカーを組み直し、検出サイズを小さくした。デザインし直したSSRマーカーにより、加工品のゲノムDNAから波形ピークが確認できた。

B 果実および加工品の品種判別

生果実、シロップ漬け、ジュースおよび乾燥果実から品種判別が可能であるが、シロップ漬けCのSSRマーカーTM1aで見られるように、加工処理の程度で増幅されないものも存在した(表4)。シロップ漬けの品種判別ではシロップ漬けAは「清水白桃」と遺伝子型が一致し、シロップ漬けBは「大久保」と遺伝子

型が一致し、加工に用いられている品種を同定することができた。

一方、ジュースB(原材料記載:他県産白桃)において、モモは二倍体であるので、2つの遺伝子座が検出されるところが、TM4cとTMA013aで3つの遺伝子座が検出された(表5)。ジュースBは、商品名表示に他県オリジナル品種Xと表記されていたが、複数の品種を混ぜていることがわかった。乾燥果実は、黄肉系統の遺伝子型がいくつか見られた。

(3) 最少マーカーの選択

MinimalMarkerプログラムによる解析の結果、5種類のSSRマーカーで2つ以上の遺伝子型の差で判別することができるマーカーセットを26種類得ることができた。26種類のマーカーセットの中から、1) バンドサイズがなるべく異なるもの(近い位置にある場合は色素が異なれば問題ないとした)、2) PCR反応時の温度条件が同じであること、3) 検出する色素がなるべく異なること、を考慮して最適なマーカーセット(M4c、MA066a、BPPCT017、BPPCT025、

表4 SSRマーカーを用いた加工品(シロップ漬け)のDNA鑑定

加工品(原材料)	TM1a	TM4c	TM6a	TM12a	TM15a	TMA006b	TMA007a	TMA013a	TMA014a
シロップ漬けA(白モモ)	83/87	83/97	85/99	107/126	89/89	107/107	113/136	75/75	93/97
シロップ漬けB(白モモ)	83/87	81/83	89/99	107/126	89/89	107/107	113/136	75/92	93/97
シロップ漬けC(白桃)	-/-z	-/-	-/-	-/-	89/89	-/-	-/-	75/92	93/97
清水白桃(葉)	83/87	83/97	85/99	107/126	89/89	107/107	113/136	75/75	93/97
大久保(葉)	83/87	81/83	89/99	107/126	89/89	107/107	113/136	75/92	93/97

加工品(原材料)	TMA015a	TMA017a	TMA023a	TMA024a	TMA027a	TMA030a	TMA031a	TMA035a
シロップ漬けA(白モモ)	98/105	112/124	106/115	91/91	97/136	80/82	129/137	87/99
シロップ漬けB(白モモ)	98/105	112/124	94/117	91/91	91/105	80/82	129/129	87/99
シロップ漬けC(白桃)	98/105	-/-	94/117	91/-	91/105	80/82	-/-	101/-
清水白桃(葉)	98/105	112/124	106/115	91/91	97/136	80/82	129/137	87/99
大久保(葉)	98/105	112/124	94/117	91/91	91/105	80/82	129/129	87/99

注) z: -は増幅なし

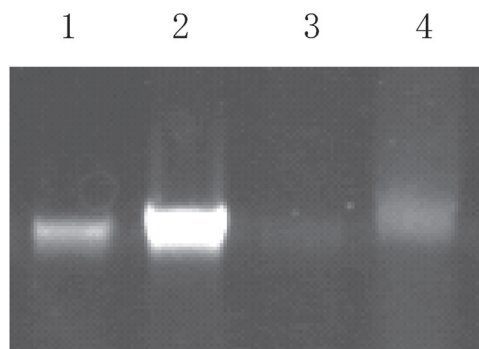


図1 果肉から抽出したDNA
1. DNeasy 2. Genomic-tip 20/G
3.4. Phytopure (0.1g, 0.5g)

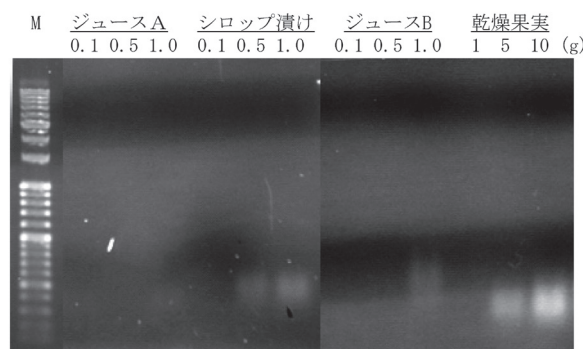


図2 加工品から抽出したDNA
(乾燥果実以外は凍結乾燥したものをサンプルとして用いた)

MA040a) を選抜した。マーカーセットの5種類のSSRマーカー添加量を調整してmultiplex PCRを行い、フラグメント解析を行ったところ、各SSRマーカーの波形を検出することができ、SSRマーカー間の競合も少なかった(図3)。また、検証に用いた各品種の遺伝子型(表6)がモモ遺伝子型データベースと一致し、本マーカーセットが品種判別の最少マーカーとして使用できることが確認できた。

4 考 察

モモに限らず、果樹においては品種判別が困難であったが、これまでの遺伝子解析技術の進歩により、SSRマーカーを用いた果樹での品種判別が報告されており、SSRマーカーは多型の検出頻度や再現性の高さなどの点から広く用いられるようになってきている。本研究では、日本の栽培モモ品種についてSSRマーカーを用いて品種判別を行い、信頼性と精度の高い品種識別が可能となった。一方、枝変わり品種では、SSRマーカーの遺伝子型が枝変わり原品種と同一であり、かつ形質が原品種と明らかに異なっている場合に枝変わり品種として判定が可能である。

本研究ではモモ48品種、18種類のSSRマーカーの遺伝子型データベースを作成した。このデータベースを利用することで、現在栽培されている主要品種の大部分について品種判別や親子判別が可能となった。しかし、モモは新品種の登録が多く、品種判別の精度を高

めるためにもデータベースに新品種の遺伝子型を追加していく必要があると推察される。

モモは生食用だけでなく、様々な加工品も販売されており、果実や加工品からのDNA鑑定技術を開発することも重要である。本研究では、モモの果肉、加工品として販売されているシロップ漬け、ジュース、乾燥果実からのDNA抽出と材料品種の推定をすることができた。本研究では、果肉やジュースなど糖や水分含量が高くDNA抽出と分析が困難であるとされていたサンプルで品種鑑定が可能であることが確認でき、他の果樹においても加工品への応用が期待される。加工品から抽出されたDNAは、短い断片に分解されており、増幅サイズの大きいSSRマーカーでは、分析が困難であった。さらに、加工処理の程度によりDNAは抽出することができたが、PCR増幅されないサンプルもいくつか存在した。このことは、加工処理段階の加熱、加圧や糖の付加などの処理により、加工品中のDNAが損傷を受けていることが推察された。今後、加工処理の違いによるDNA分析の可否について検討・分類する必要がある。

DNA品種判別では、サンプル品種からゲノムDNAを抽出し、フラグメント解析によりSSRマーカー遺伝子型を決定し、作成した遺伝子型データベースと照合する。1つの遺伝子型を決定するには、通常1種類ずつのSSRマーカーで個別に解析するため、20の遺伝子型を決定するには20サンプルのPCRと解析が必要である。品種判別にかかる時間、労力やコストを軽減す

表5 SSRマーカーを用いた加工品(ジュースおよび乾燥果実)のDNA鑑定

加工品(原材料)	TM1a	TM4c	TM6a	TM12a	TM15a	TMA006b	TMA007a	TMA013a	TMA014a
ジュースA(白桃)	83/87	81/97	85/89	107/126	89/89	107/107	113/136	75/92	93/97
ジュースB(他県産白桃) y	83/87	77/81/97	85/89	107/126	69/89	107/107	113/136	75/89/92	93/97
乾燥果実(白もも)	83/87	83/91	99/-z	107/-	69/89	107/107	113/124	75/75	78/93
加工品(原材料)	TMA015a	TMA017a	TMA023a	TMA024a	TMA027a	TMA030a	TMA031a	TMA035a	
ジュースA(白桃)	98/98	112/112	94/115	91/-	91/105	82/82	129/137	87/99	
ジュースB(他県産白桃)	98/105	112/124	94/115	91/91	-/-	82/82	129/137	87/99	
乾燥果実(白もも)	98/105	124/124	94/94	79/89	89/138	82/82	129/137	87/-	

注1) z: -は増幅なし

注2) y: 商品名表示に他県オリジナル品種Xと表記

表6 最少マーカーセットのSSRマーカー遺伝子型

品種名	SSRマーカー				
	M4c	MA066a	BPPCT017	BPPCT025	MA040a
あかつき	78/94	144/153	160/178	186/194	236/236
はつおとめ	80/88	153/153	158/178	174/194	236/254
ふくおとめ	90/94	149/153	158/178	174/194	236/254
ふくあかね	80/88	144/149	158/180	194/194	236/236

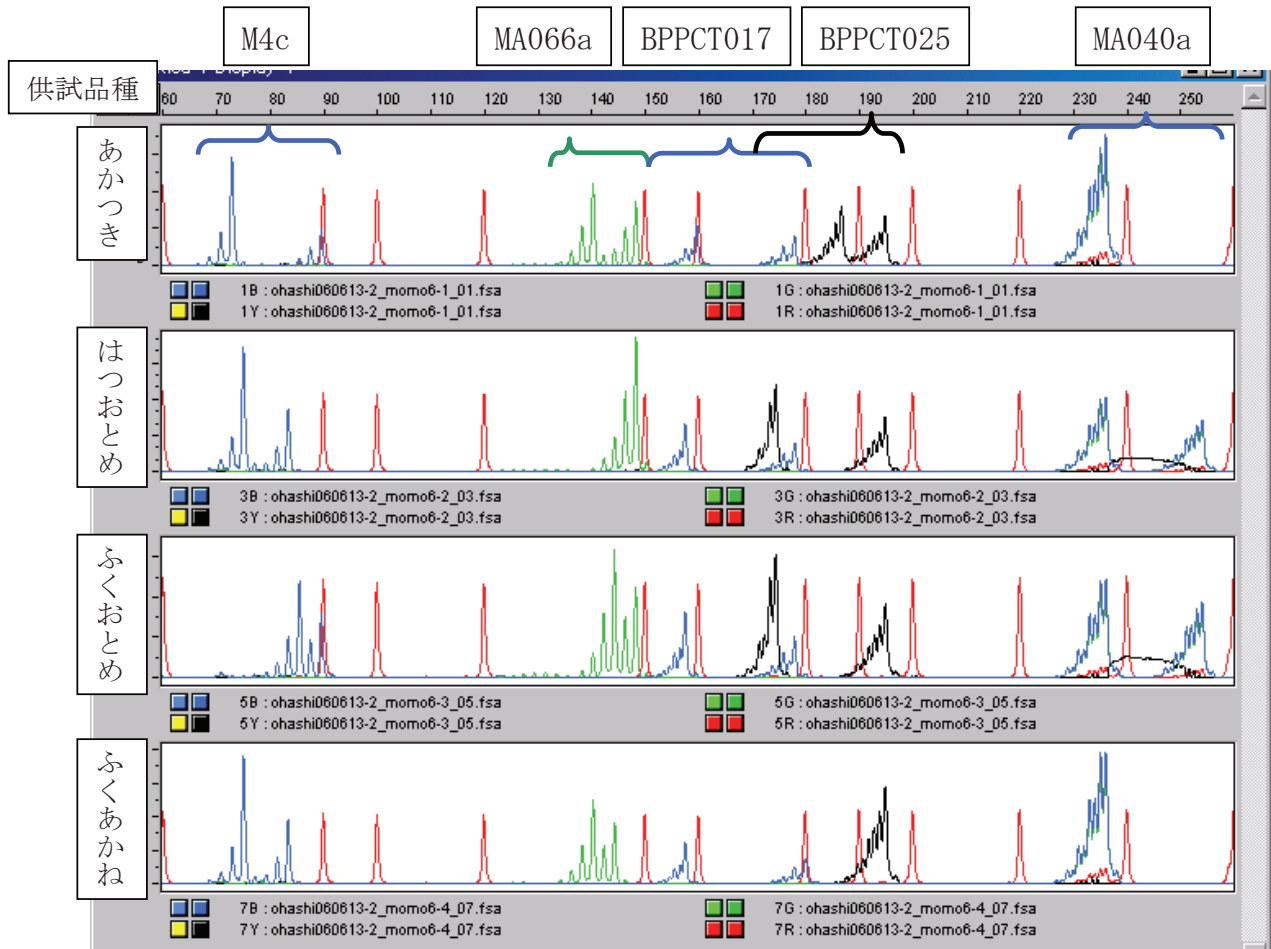


図3 最少マーカーセットでのフラグメント解析

るために、より少ないマーカー数で品種の判別が可能なマーカーセットの選択が求められる。本研究では MinimalMarker プログラムにより、5 種類の SSR マーカーで遺伝子型を 2 つ以上の差で検出することができる最少マーカーセットを選択した。さらに、5 種類の SSR マーカーの PCR 時の競合や検出強度を検討し、multiplex PCR を確立した。これにより、1 品種につき 1 回の PCR で、5 種類の SSR 遺伝子型を決定して品種判別を行うことが可能となり、時間とコストが削減できた。

5 摘要

- (1) SSR マーカーを用いたモモの品種判別技術の開発を行った。
- (2) モモの 48 品種 18 種類の SSR マーカーの遺伝子型を決定し、データベースを作成した。
- (3) 果実および加工品の DNA 鑑定を容易にするために、効率的に DNA を抽出する手法を確立した。
- (4) シロップ漬けやジュース等の加工品から材料品種を同定することができた。

- (5) MinimalMarker プログラムを用い、品種判別可能な最少マーカーセットを選抜した。本マーカーセットにより品種判別の時間とコストの削減が達成できた。

謝 辞

本研究の一部は、農林水産省委託プロジェクト「食品・農産物の表示の信頼性確保と機能性解析のための基盤技術の開発」により実施されたものである。

引用文献

- 1) Yamamoto, T., K. Mochida and T. Hayashi. 2003. Shanhai Suimitsuto, one of the origins of Japanese peach cultivars. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 72: 116-121.
- 2) Yamamoto, T., K. Mochida, T. Imai, T. Haji, H. Yaegaki, M. Yamaguchi, N. Matsuta, I. Ogiwara and T. Hayashi. 2003. Parentage analysis in Japanese peaches using SSR markers. Breed. Sci. 53: 35-40.

- 3) 小野勇治・山本俊哉・山口正己・佐藤 守・岡田初彦・林 建樹. 2003. SSRマーカーによるモモの品種識別と親子鑑定. 園学雑 72 (別2) : 253.
- 4) 小野勇治・山本俊哉・山口正己・佐藤 守・岡田初彦・林 建樹. 2004. SSRマーカーによるモモの品種識別と親子鑑定 その2 育成品種・系統の解析. 園学雑. 73 (別1) : 182.
- 5) 大橋義孝・木幡栄子・岡田初彦・佐藤 守. 2006. SSRマーカーを用いたモモの品種識別. 平成17年度福島県普及に移す成果.
- 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.
- 7) 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 72: 182-189.
- 8) 大橋義孝・佐藤守・岡田初彦・山田雅彦・三谷宣仁・上田恵理子・西谷千佳子・山本俊哉. 2007. SSRマーカーを用いた生食用ブドウの品種判別の試み. DNA多型 15: 86-88.
- 9) 大橋義孝・岡田初彦・佐藤 守・山田昌彦・三谷宣仁・西谷千佳子・山本俊哉. 2010. 生食用ブドウの品種判別および果実加工品の判別技術の開発. 福島農総セ研報. 2: 11-20.
- 10) 高品善・松田成美・木村鉄也・山本俊哉・西村幸一. 2004. オウトウ品種判別におけるSSRマーカーの利用. 育種学研究. 6 (別1) : 181.
- 11) 高品善・石黒亮・西村幸一. 2007. SSRマーカーによる輸入オウトウおよび国内市販品種の品種識別. DNA多型 15: 101-104.
- 12) Fujii, H., T. Ogata, T. Shimada, T. Endo, T. Shimizu and M. Omura. 2007. Development of a novel algorithm and the computer program for the identification of minimal marker sets of discriminating DNA markers for efficient cultivar identification. Plant & Animal Genomes XV Conference, P883.
- 13) Yamamoto, T., K. Mochida, T. Imai, Y. Z. Shi, I. Ogiwara and T. Hayashi. 2002. Microsatellite markers in peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) derived from an enriched genomic and cDNA libraries. Mol. Ecol. Notes 2: 298-301.
- 14) Yamamoto, T., M. Yamaguchi and T. Hayashi. 2005. An integrated genetic linkage map of peach by SSR, STS, AFLP and RAPD. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 74: 204-213.
- 15) 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. 108: 765-773.
- 16) Sosinski, B., M. Gannavarapu, L. D. Hager, 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.
- 17) 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.
- 18) Aranzana, M. J., J. Garcia-Mas, J. Carbo and P. Arus. 2002. Development and variability analysis of microsatellite markers in peach. Plant Breed. 121: 87-92.
- 19) Dirlwanger, 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.) Batsch] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.) . Theor. Appl. Genet. 105: 127-138.
- 20) 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.

別表1 供試したSSRマーカー

マーカー	連鎖群	蛍光	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Reference
M4c	G1	Fam	GAATTTGTTCTCTCTCTCTC	GGAAGCGTTCGTCTGCAAAT	Yamamoto et al.,2002
UDP96-005	G1	Hex	GTAACGCTCGCTACCACAAA	CCTGCATATCACCACCCAG	Cipriani et al.,1999
CPPCT026	G1	Fam	AGACGCAGCACCCAAACTAC	gtttcttCATTACATCACCGCCAACAA	Aranzana et al.,2002
M15a	G1	Hex	GAGGGTCCTTAGCTCTCTCT	ATGAGAAAACGACTGGAAAAG	Yamamoto et al.,2002
MA007a	G2	Fam	GTGCATCGTTAGGAACTGCC	GCCCCTGAGATACAACCTGCA	Yamamoto et al.,2003
M1a	G2	Fam	CACGAGGCGCCATTTCTACG	GTACGACGGGTTTTGGCTCA	Yamamoto et al.,2002
BPPCT007	G3	Ned	TCATTGCTCGTCATCAGC	CAGATTTCTGAAGTTAGCGGTA	Dirlewanger et al.,2002
MA066a	G3	Vic	TGAAGTATCGAGCTGTAACAAAC	gtttcttCCCTTTCTTTCTCATGCC	Yamamoto et al.,2002
M12a	G4	Hex	AGGTGCCTCATCTTCTTCTCTTG	GTGTGGTGAGGGGTGAGAGC	Yamamoto et al.,2002
MA026a	G5	Tet	CGATCGGAAGTGACGGGAAG	TGAAGAAAATACGGCTAAAA	Yamamoto et al.,2003
BPPCT017	G5	Fam	TTAAGAGTTTGTGATGGGAACC	AAGCATAATTTAGCATAACCAAGC	Dirlewanger et al.,2002
BPPCT042	G6	Vic	AACCCTACTGGTTCCTCAGC	GACCAGTCCTTTAGTTGGAGC	Dirlewanger et al.,2002
BPPCT025	G6	Ned	TCCTGCGTAGAAGAAGGTAGC	CGACATAAAGTCCAAATGGC	Dirlewanger et al.,2002
MA040a	G6	Tet	AGAAATTGGAGTGACGTAAC	ACGTGATGAGAAGTAGGGAG	Yamamoto et al.,2003
MA006b	G8	Hex	ACAACCTACCATTTGAGGCT	CAATCATTCAAGCTCTCTCC	Yamamoto et al.,2003
MA017a	G8	Fam	AAGGCATATAGCGCAGGT	ATCTGAGGCCTTCAACTT	Yamamoto et al.,2003
M6a	G8	Hex	AGAAGGGCAAGCCCAAGTGC	TGCAAAGCCAGAGCCACAA	Yamamoto et al.,2002
MA035a	G8	Tet	AGGATTCGTTGAAGGGGAG	AACCCTTCAAATTCGAGCAC	Yamamoto et al.,2003

別表2 遺伝子型データベース

品種名	M4c	UDP96005	CPPCT026	M15a	MA007a	M1a	BPPCT007	MA066a	M12a	MA026a	BPPCT017	BPPCT042	BPPCT025	MA040a	MA006b	MA017a	M6a	MA035a
あかつき	78/94	157/159	163/171	136/136	111/133	80/84	143/147	144/153	177/195	191/195	160/178	246/248	186/194	236/236	295/295	165/165	193/197	167/179
黄金桃	80/94	157/157	171/171	136/147	111/133	80/84	139/147	144/155	177/195	195/197	158/160	246/248	174/194	232/252	295/295	165/173	193/201	167/179
上海水蜜桃	80/94	157/173	171/202	136/136	121/133	80/84	125/147	144/149	195/195	197/199	178/178	246/246	174/180	234/236	295/297	165/173	193/197	179/179
白桃	78/94	157/159	163/171	136/136	121/133	80/80	125/147	144/149	195/195	195/197	158/178	246/246	180/186	234/236	295/295	165/165	193/197	179/179
川中島白桃	74/94	151/157	171/171	136/147	121/133	80/80	147/147	144/144	177/195	195/197	158/160	246/246	186/194	232/236	295/295	165/177	197/201	167/179
清水白桃	80/94	157/173	171/202	136/136	111/133	80/84	141/147	144/155	177/195	195/197	158/178	246/248	174/180	236/236	295/295	165/177	193/201	167/179
うずら	78/94	157/159	163/163	136/136	111/133	80/84	125/147	144/149	195/195	191/195	158/160	246/248	186/194	236/236	295/295	165/165	193/197	179/179
さおとめ	78/88	159/171	163/182	132/136	111/111	84/84	143/147	144/153	177/195	191/195	158/160	248/248	174/194	236/252	295/301	177/177	195/197	167/167
黄貴妃	94/94	157/157	163/163	136/136	133/133	80/80	125/147	144/149	195/195	191/195	158/160	248/248	194/194	236/236	295/295	165/165	193/193	179/179
ふくおとめ	90/94	157/173	171/202	136/136	111/135	84/84	125/143	149/153	177/177	195/195	158/178	248/248	174/194	236/254	295/295	177/177	195/201	167/179
ふくおとめ	80/88	171/173	182/202	136/136	111/133	80/84	143/143	153/153	177/177	195/195	158/178	248/248	174/194	236/254	295/301	165/177	193/195	179/179
紅国風	74/74	151/151	163/171	116/136	133/133	80/80	147/147	144/144	177/195	195/195	158/158	248/248	180/194	234/234	295/295	165/177	193/197	167/179
大和桃	80/94	157/173	171/202	136/136	111/133	80/84	125/141	149/155	177/195	195/197	158/178	246/246	180/192	236/254	295/295	165/165	193/197	167/179
ロビン	80/88	171/173	182/182	116/132	111/111	84/84	141/143	153/153	177/177	191/193	150/160	248/248	174/194	-	295/301	177/177	195/201	167/167
愛知白桃	80/94	157/173	171/202	116/136	111/133	80/84	147/147	144/144	177/195	195/197	178/178	246/246	186/192	234/236	295/295	165/165	193/197	167/179
武井白鳳	78/94	157/159	163/171	136/136	121/133	80/80	147/147	144/144	177/195	195/197	178/178	246/248	174/186	236/254	295/297	165/173	193/193	161/179
八幡白鳳	74/80	151/173	171/202	116/136	111/111	80/84	141/143	153/155	177/177	195/195	158/158	246/248	180/194	234/236	295/295	165/165	193/197	179/179
浅間白桃	74/94	157/159	163/171	132/132	111/133	80/84	125/143	149/153	177/195	195/195	158/178	246/246	186/194	236/236	295/295	165/177	193/197	167/179
橘早生	74/74	151/151	171/171	116/147	111/121	80/84	143/147	144/153	177/177	191/197	160/160	246/248	194/194	232/236	295/301	165/177	197/201	167/173
川中島白鳳	74/88	151/171	171/182	116/147	111/121	80/84	143/147	144/153	177/195	191/197	160/178	246/248	174/200	232/236	295/301	165/177	197/201	167/173
布目早生	78/94	157/159	163/171	116/136	121/135	80/80	125/147	144/149	177/195	195/195	158/178	246/248	194/194	232/232	295/295	165/177	193/201	167/167
砂子早生	78/94	157/159	163/173	136/136	133/135	80/80	143/147	144/153	177/195	197/199	158/178	246/246	174/180	234/252	295/297	165/173	193/197	161/179
倉方早生	74/80	151/173	171/202	116/136	111/111	84/84	125/147	144/149	177/177	195/197	158/158	246/248	180/194	234/234	295/297	165/173	193/193	161/179
倉桃	80/94	157/157	171/171	136/136	133/133	74/84	147/147	144/149	195/195	195/199	158/178	246/246	180/180	236/236	297/301	165/173	197/197	171/173
阿部白桃	78/80	159/173	163/202	136/136	133/133	80/80	125/147	144/149	177/195	195/197	158/178	246/246	186/192	234/236	295/295	165/165	197/197	179/179
白鳳	74/78	151/159	163/171	116/136	111/133	80/84	143/147	144/153	177/195	191/195	158/160	246/248	180/194	234/236	295/295	165/177	193/197	167/179
日川白鳳	80/94	157/173	171/202	116/136	133/135	80/84	125/147	144/149	177/195	195/195	160/178	248/248	180/180	234/236	295/297	173/177	193/201	167/167
ちよひめ	88/94	157/171	171/182	136/136	111/121	80/84	141/143	153/155	177/177	195/195	158/158	246/248	186/194	236/236	295/301	177/177	195/201	167/179
よしひめ	80/94	157/173	163/171	136/136	133/133	80/84	125/147	144/149	177/195	191/195	158/160	246/248	180/194	234/236	295/295	165/165	193/197	179/179
まさひめ	80/94	157/173	171/202	136/136	133/135	80/80	125/147	144/149	177/195	191/195	178/180	246/248	180/194	236/236	295/295	165/165	193/197	167/179
あきぢら	74/94	157/159	171/171	116/136	133/133	80/80	143/147	144/153	177/195	191/195	160/160	246/248	180/194	234/236	295/295	165/177	193/197	167/167
なつおとめ	80/94	157/173	163/171	136/136	111/133	80/84	125/147	144/153	177/195	195/195	158/160	246/248	186/194	234/236	295/295	165/165	193/197	179/179
21-18	78/80	159/173	171/202	136/136	133/135	80/80	125/125	149/149	195/195	195/195	158/178	246/248	180/180	234/236	295/295	165/165	193/197	179/179
高陽白桃	80/94	157/173	171/202	136/136	121/121	80/80	141/147	144/155	177/195	195/199	158/180	246/246	174/186	236/252	295/295	165/177	197/201	167/179
大久保	78/80	159/173	163/202	136/136	111/133	80/84	125/147	144/149	177/195	195/197	158/178	246/248	186/192	234/236	295/295	165/177	197/201	167/179
ふくえくぼ	78/88	159/171	163/182	132/136	111/111	80/84	143/147	144/153	177/195	191/195	158/160	248/248	174/194	236/252	295/301	177/177	195/197	167/167
モモ福島1号	88/94	157/171	171/182	132/136	111/111	84/84	147/147	144/144	177/195	191/195	158/178	246/248	174/194	236/252	295/301	165/177	193/197	167/179
モモ福島7号	80/88	157/171	182/202	136/136	111/135	80/84	125/147	144/149	177/195	191/195	158/180	248/248	194/194	236/236	295/295	165/165	193/197	179/179
モモ福島6号	78/94	159/171	163/182	136/136	111/133	80/84	141/147	144/155	177/195	195/195	158/158	246/248	186/194	236/236	295/301	165/177	197/201	179/179
モモ福島8号	88/94	157/171	163/182	136/136	111/133	80/80	125/143	149/153	177/195	191/195	158/160	246/248	194/194	236/236	295/295	165/177	193/201	167/179
白桃	78/90	159/173	163/182	136/136	111/121	80/84	141/147	144/155	177/195	191/195	148/178	246/248	174/186	252/252	295/297	173/175	193/201	167/167
もちづき	78/90	157/159	163/182	116/116	111/111	80/84	141/141	155/155	177/195	191/195	148/178	248/248	186/196	252/252	295/295	165/175	193/201	167/179
スイート光黄	94/94	157/157	171/171	116/116	111/133	80/84	147/147	144/144	177/177	195/195	178/178	246/246	186/194	236/236	295/295	165/165	193/197	167/179
西野白桃	74/74	151/159	171/171	116/136	111/133	80/84	143/147	144/153	177/195	191/195	158/160	246/246	180/180	234/234	295/295	177/177	197/197	167/167
なつつき	74/88	151/171	171/182	136/136	111/121	80/84	141/147	144/155	177/195	195/197	158/158	246/246	186/194	232/236	295/295	165/177	195/197	167/179
なつっこ	78/94	151/159	163/171	136/136	133/135	80/80	147/147	144/144	177/195	195/195	158/178	246/246	194/194	232/236	295/295	165/165	197/197	179/179
まなみ	80/94	157/157	171/202	116/136	111/133	80/84	147/147	144/144	177/177	195/195	178/178	246/246	186/186	236/236	295/295	165/165	193/197	167/179