

連鎖地図を利用した染色体ごとの解析による‘染井吉野’の起源推定の試み

誌名	日本森林学会誌
ISSN	13498509
著者名	鶴田,燃海 王,成 加藤,珠理 向井,譲
発行元	日本森林学会
巻/号	99巻5号
巻号補足	
掲載ページ	p. 210-213
発行年月	2017年10月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



連鎖地図を利用した染色体ごとの解析による‘染井吉野’の起源推定の試み

鶴田 燃海^{*1}・王 成²・加藤 珠理³・向井 譲¹

‘染井吉野’は日本で最も親しまれているサクラの品種で、エドヒガンとオオシマザクラとの雑種といわれている。本研究はエドヒガン、オオシマザクラそれぞれ3集団で‘染井吉野’の連鎖地図に座乗するSSRマーカー27座の遺伝子型を決定し、この野生種における対立遺伝子頻度を基に‘染井吉野’のそれぞれの対立遺伝子の起源を推定した。54個の‘染井吉野’対立遺伝子のうち、44.4%がエドヒガン由来、33.3%がオオシマザクラ由来と推定された。残りの22.2%は、どちらの種でも頻繁にみられるまたは両種ともに稀な対立遺伝子のため、由来は不明とした。染色体ごとにみると、複数の染色体でエドヒガンとオオシマザクラに由来する領域とが混在していた。この結果は、‘染井吉野’の染色体が乗り換えを経て形成されたことを意味し、‘染井吉野’が1回の種間交雑による雑種ではなく、より複雑な交雑に由来することが示唆された。

キーワード：アサイメントテスト、雑種起源、染色体、ソメイヨシノ、SSR

Momi Tsuruta,^{*1} Cheng Wang,² Shuri Kato,³ Yuzuru Mukai¹ (2017) Map Based Estimation of the Origin of Japanese Flowering Cherry Cultivar, *Cerasus × yedoensis* ‘Somei-yoshino’ Fujino with an Assignment for Each Chromosome. J Jpn For Soc 99: 210–213 *Cerasus × yedoensis* ‘Somei-yoshino’ Fujino, one of the most popular flowering cherry cultivars in Japan, is considered a hybrid of *Cerasus spachiana* and *Cerasus speciosa*. In the present study, 27 microsatellite marker loci on the genetic linkage map of ‘Somei-yoshino’ were genotyped in the wild populations of *C. spachiana* and *C. speciosa*. Based on the allele frequencies in the wild population, two alleles of ‘Somei-yoshino’ were assigned to each of them. Of the 54 alleles analyzed, 44.4 and 33.3% were assigned to *C. spachiana* and *C. speciosa*, respectively. The remaining 22.2% were unidentified because of their equal frequencies or rare observations in both species. In addition, some chromosomes consisted of two regions derived from *C. spachiana* and *C. speciosa*, respectively. These results suggested that some ‘Somei-yoshino’ chromosomes were formed by the crossing-over of hybrid ancestors. Thus, we concluded that ‘Somei-yoshino’ may not have originated from a simple hybrid such as a first filial generation, but from a more complicated crossing between *C. spachiana* and *C. speciosa*.

Key words: assignment test, chromosome, hybrid origin, Somei-yoshino, SSR

I. 緒 言

‘染井吉野’ (*Cerasus × yedoensis* ‘Somei-yoshino’ Fujino) は、日本で最も親しまれているサクラ（バラ科サクラ属）の園芸品種である。ほぼ日本全国に植栽され、毎年春には私たちの目を楽しませてくれる。このため、‘染井吉野’の起源は多くの人に関心をよせるテーマの一つとなってきた。古くは Wilson (1916) が‘染井吉野’はエドヒガン (*C. spachiana* Laval. ex E. Otto) とオオシマザクラ [*C. speciosa* (Koidz.) H. Ohba] との雑種と記載したのをはじめ、人工交配からも同様の考察がなされている (Takenaka 1963; 竹中 1965)。また遺伝解析からは、このうちのエドヒガンが種子親であったと推察されている (Kaneko *et al.* 1986; Innan *et al.* 1995; Ohta *et al.* 2006)。

ただし、‘染井吉野’の起源がエドヒガンとオオシマザクラとの交雑による雑種第一代 (F_1) ではなく、より複雑である可能性がいくつかの研究により示されている。荻沼 (1977) は核型の研究により、‘染井吉野’が両種の戻し交雑などを受けた F_1 以降の世代だろうと推定している。Tsuruta and Mukai (2015) も、‘染井吉野’にエドヒガンを掛け合わせた交雑家系においてみられた雑種不和合性の遺伝様式が、‘染井吉野’を単純な両種の F_1 とすると説明が

つかないと報告している。また、最近のマイクロサテライト (simple sequence repeat: SSR) マーカーを用いたクラスタリング解析からは、‘染井吉野’の遺伝子組成がオオシマザクラとエドヒガンの他に、ヤマザクラ [*C. jamasakura* (Sieb. ex Koidz.) H. Ohba] とも 10% ほど一致することが報告されている (Kato *et al.* 2014)。起源を正確に決めかねる原因としては、これまでの分析では例えば母性遺伝する葉緑体マーカーなど、解析する遺伝子座がごく限られたことが挙げられる。また、フィンガープリント法による Innan *et al.* (1995) や、SSR マーカー 26 座を用いた Kato *et al.* (2014) のように多くの遺伝子座を解析した例もあるが、どちらもゲノムのどの領域のマーカーを用いているかは不明で、ゲノムワイドな解析と呼べるかは疑問が残る。

近年、ようやく Tsuruta and Mukai (2015) により‘染井吉野’の連鎖地図が構築され、マーカーの連鎖地図上の位置情報が利用可能となった。そこで本研究は、この連鎖地図からゲノム全体をカバーするよう遺伝マーカーを選び、その遺伝子座の対立遺伝子がオオシマザクラおよびエドヒガンの野生個体群にどれほど保持されているのかを調べた。これにより、ゲノム全体にわたり‘染井吉野’の起源の推定を行った。また連鎖地図の作成からは、遺伝子座ごとに各対立遺伝子が両親のどちらの染色体に座乗していたの

*連絡先著者 (Corresponding author) E-mail: m.tsuruta.lfme@gmail.com

¹ 岐阜大学応用生物科学部 〒501-1193 岐阜県岐阜市柳戸 1-1 (Faculty of Applied Biological Sciences, Gifu University, 1-1 Yanagido, Gifu 501-1193, Japan)

² 岐阜大学大学院連合農学研究科 〒501-1193 岐阜県岐阜市柳戸 1-1 (The United Graduate School of Agricultural Science, Gifu University, 1-1 Yanagido, Gifu 501-1193, Japan)

³ 国立研究開発法人森林研究・整備機構森林総合研究所多摩森林科学園 〒193-0843 東京都八王子市甘里町 1833-81 (Tama Forest Science Garden, Forestry and Forest Products Research Institute, 1833-18 Todor, Hachioji, Tokyo 193-0843, Japan)

(2017 年 2 月 17 日受付, 2017 年 8 月 5 日受理)

かを定めることができる (JSTAGE 電子付録付図-1)。こうして決定した染色体ごとの遺伝子型 (グラフ遺伝子型) は、交雑家系や雑種集団において、それぞれの染色体領域がどちらの交雑親または種に由来するのかの同定に用いられてきた (Young and Tanksley 1989; Rieseberg *et al.* 1995)。本研究ではこの手法を応用し、各染色体の領域ごとにオオシマザクラおよびエドヒガンのどちらの種に由来するのかを推定することで、‘染井吉野’がどのような交雑に由来するかを考察した (JSTAGE 電子付録付図-1)。この染色体ごとの起源の推定は、より確からしい‘染井吉野’の起源を明らかにすると同時に、将来的に‘染井吉野’の興味のある形質がどの種に由来するのかを明らかにするなど、育種にも貢献する重要な情報となることが期待される。

II. 材料と方法

1. 交雑家系および‘染井吉野’の染色体に座乗する対立遺伝子の決定

‘染井吉野’を含むサクラ属は2倍体で、16本の染色体を持つ ($2n=2x=16$; Oginuma and Tanaka 1976)。これと一致する8連鎖群からなる‘染井吉野’の連鎖地図が、‘染井吉野’とエドヒガンとの交雑による実生の分離を基に (F₁ 法: 鶴飼 2000) 構築された (Tsuruta and Mukai 2015)。この F₁ における‘染井吉野’由来の対立遺伝子の分離データから対立遺伝子間の連鎖関係を調べ、‘染井吉野’の持つ二つの対立遺伝子がどちらの染色体 (仮に Chr-a, Chr-b とする) に座乗するのかを、連鎖地図に座乗する SSR 59 座で決定した。なお、連鎖解析には MapMaker/exp ver 3.0 (Lincoln *et al.* 1992) を用いた (LOD, 3.0; Rec, 40)。

2. エドヒガンおよびオオシマザクラ野生種個体群の SSR 遺伝子型の決定

エドヒガン (IJR, 23 個体; KWZ, 16 個体; SGM, 22 個体) およびオオシマザクラ (NII, 20 個体; OHS, 20 個体; PEN, 20 個体) それぞれ三つの野生個体群の DNA を実験に用いた (JSTAGE 電子付録付表-1)。「染井吉野」の連鎖地図から、連鎖群ごとに平均マーカー間距離が 20 cM 程度となるよう SSR マーカーを選び、野生個体群の遺伝子型を決定した。SSR の増幅は基本的には Tsuruta and Mukai (2015) に従って行い、一部、Blacket *et al.* (2012) によるユニバーサル蛍光プライマーを用いた。電気泳動には DNA Analyzer 4200S-1G (LI-COR) を用いた。

得られた遺伝子型から、遺伝子座ごとにエドヒガンとオオシマザクラの種間の遺伝子同一度 (I , Nei 1973) を、 $\Sigma x_{ik}x_{il}$ として算出した。ここで、 x_{ik} および x_{il} は、ある遺伝子座における対立遺伝子 i のエドヒガンおよびオオシマザクラにおける頻度を表す。また両種間の遺伝子多様度を、Hedrick の G'_{ST} (2005) で示した。

3. ‘染井吉野’の対立遺伝子の起源の推定

複数の遺伝子座の遺伝子型と個体群の対立遺伝子頻度から Paetkau *et al.* (1995, 2004) は、ある個体がどの個体群に所属するのかを推定している (アサイメントテスト)。このアイディアを対立遺伝子ごとに適用することで、‘染井吉野’の対立遺伝子の由来を以下のように求めた。ある

遺伝子座について、エドヒガンおよびオオシマザクラ個体群における‘染井吉野’の持つ対立遺伝子 (Chr-a, b それぞれに座乗する対立遺伝子 a_1 および a_2) の頻度を、それぞれ $x_{a1k} \cdot x_{a1l}$ または $x_{a2k} \cdot x_{a2l}$ とする。‘染井吉野’の対立遺伝子が任意の種を起源とする確率 (L_a) は、この対立遺伝子頻度と一致する。このとき尤度は $-\log(L_a)$ で与えられ、 $-\log(L_a)$ が低い方の種を‘染井吉野’の対立遺伝子の由来種と決定した。なお野生種個体群において対象の対立遺伝子がみつからない場合、仮に 0.001 の頻度を割り振り、尤度を計算した。

なお、この手法は一对立遺伝子のみで推定を行うため、Paetkau *et al.* (2004) のような由来決定の信頼性を統計的に評価することができない。そこで本研究では対立遺伝子ごとに両種への尤度をプロットするとともに (JSTAGE 電子付録付図-2)、暫定的に次の二つの方法で基準を下回った場合、その対立遺伝子の由来は不明と判断した。1) 両種の尤度の比 (エドヒガン/オオシマザクラ) の常用対数を LOD 値とし、両種の尤度の差が2倍以上あること ($|\text{LOD}| > 0.301$)。2) 任意の対立遺伝子がそれぞれの種から得られる確率に差があること ($P < 0.05$, Fisher の正確確率検定)。

最終的に、‘染井吉野’のそれぞれの染色体を、エドヒガンとオオシマザクラ由来の領域に塗り分けた (グラフ遺伝子型)。なお、領域の境界は隣の遺伝子座との中点とした。

III. 結果

1. 解析に用いた SSR 遺伝子座

連鎖解析によりそれぞれの遺伝子座における対立遺伝子を、‘染井吉野’の2組の染色体にそれぞれに割り振ることができた (JSTAGE 電子付録付表-2)。ゲノム全体をカバーするよう、合計 27 の SSR 遺伝子座を八つの連鎖群から選抜した (表-1)。ただし、増幅の不安定さから、第7連鎖群は1座しか解析できなかった。

これら 27 座について、エドヒガンおよびオオシマザクラにおける遺伝子型を決定したところ、多くの遺伝子座において両種の保有する対立遺伝子の組成には違いがみられた。このため種間の遺伝子同一度 I は 5 座 (CPPCT023, 0.237; CPPCT027, 0.105; EMPA004, 0.104; EMPaS13, 0.108; UDP96-001, 0.433) を除き、0.1 を下回り、また G'_{ST} も平均 0.852 と、今回用いた遺伝子座は両種間で十分に分化していることが示された (表-1)。

2. 野生種個体群における‘染井吉野’の対立遺伝子の頻度

‘染井吉野’の持つ2つの対立遺伝子の多くは、エドヒガンまたはオオシマザクラの野生個体群において保持されていた。ほとんどの対立遺伝子は、片方の種で多く、もう一方の種では少ないといった、頻度に違いがみられた (表-1)。一方、対立遺伝子頻度を基にした尤度からは 11 の対立遺伝子が ($|\text{LOD}| < 0.301$)、正確確率検定からは 9 の対立遺伝子が ($P > 0.05$)、どちらの種に由来するかを判断できなかった (表-1)。これらの対立遺伝子は、エドヒガンおよびオオシマザクラどちらの種においても同程度の頻度、または両種において出現頻度が低い (もしくは全く

表-1. 解析した遺伝子座のエドヒガンとオオシマザクラ種間の遺伝的多様性および‘染井吉野’対立遺伝子 (a_1 , a_2) の頻度を基にした対立遺伝子の由来の推定

Inter-specific gene diversity of analyzed microsatellite loci and estimation of the origin of ‘Somei-yoshino’ alleles (a_1 , a_2) based on allele frequencies in *Cerasus spachiana* and *C. speciosa*.

染色体 (連鎖群)	遺伝子座	Ref ^a	Na	I	G _{ST}	対立遺伝子 a_1 の頻度		尤度 -log (L_{a1})		LOD	Fisher's exact test	対立遺伝子 a_2 の頻度		尤度 -log (L_{a2})		LOD	Fisher's exact test
						エドヒガン	オオシマザクラ	エドヒガン	オオシマザクラ			エドヒガン	オオシマザクラ	エドヒガン	オオシマザクラ		
Chr-1	CPPCT016	3)	21	0.028	0.809	0	0.182	6.908	1.705	-0.608	***	0.135	0.009	2.005	4.700	0.370	***
	CPPCT027	3)	15	0.105	0.582	0.267	0.054	1.322	2.927	0.345	***	0.1	0.509	2.303	0.675	-0.533	***
	UDP96-005	7)	6	0.027	0.983	1	0.027	0	3.620	<i>Inf.</i>	***	0	0.464	6.908	0.767	-0.954	***
	CPPCT026	3)	3	0.079	0.946	0.981	0.070	0.019	2.657	2.144	***	0.019	0.553	3.970	0.593	-0.826	***
	BPPCT028	2)	14	0.011	0.969	0.509	0	0.676	6.908	1.009	***	0.25	0	1.386	6.908	0.697	***
Chr-2	EMPA007	4)	15	0.037	0.803	0.183	0.037	1.696	3.296	0.288	***	0.050	0.222	2.996	1.504	-0.299	***
	BPPCT002	2)	4	0	1	0.888	0	0.119	6.908	1.764	***	0	0.966	6.908	0.035	-2.299	***
	BPPCT034	2)	8	0.001	0.999	0.848	0	0.165	6.908	1.623	***	0	0.377	6.908	0.975	-0.850	***
	pchgms1	6)	23	0.015	0.908	0.083	0.063	2.485	2.773	0.048	<i>n.s.</i>	0	0.420	6.908	0.868	-0.901	***
Chr-3	EMPaS12	5)	15	0.006	0.975	0.339	0	1.082	6.908	0.805	***	0	0.043	6.908	3.157	-0.340	*
	EMPaS05	5)	17	0.028	0.874	0.259	0	1.351	6.908	0.709	***	0	0.272	6.908	1.302	-0.725	***
Chr-4	BPPCT010	2)	11	0.058	0.845	0.227	0.167	1.482	1.792	0.083	<i>n.s.</i>	0	0.009	6.908	4.682	-0.169	<i>n.s.</i>
	EMPaS13	5)	12	0.108	0.524	0.222	0	1.504	6.908	0.662	***	0.056	0	2.890	6.908	0.378	*
	BPPCT005	2)	14	0.010	0.982	0.063	0.028	2.773	3.565	0.109	<i>n.s.</i>	0	0	6.908	6.908	0	<i>n.s.</i>
	BPPCT040	2)	14	0.015	0.969	0.636	0.018	0.452	0.950	0.950	***	0	0.482	6.908	0.730	-0.976	***
	EMPaS10	5)	18	0.025	0.890	0.163	0	1.811	6.908	0.581	***	0	0.172	6.908	1.758	-0.594	***
Chr-5	BPPCT026	2)	17	0.015	0.972	0.075	0.018	2.584	4.007	0.191	<i>n.s.</i>	0.009	0.809	4.663	0.212	-1.343	***
	BPPCT037	2)	22	0.039	0.884	0.429	0	0.847	6.908	0.911	***	0	0.464	6.908	0.767	-0.954	***
	BPPCT038	2)	18	0.009	0.953	0.295	0.019	1.222	3.989	0.514	***	0.009	0.019	4.718	3.989	-0.073	<i>n.s.</i>
	BPPCT014	2)	18	0	1	0.421	0	0.865	6.908	0.902	***	0	0.027	6.908	3.602	-0.283	<i>n.s.</i>
Chr-6	UDP96-001	7)	5	0.433	0.346	0.279	0	1.277	6.908	0.733	***	0.481	0.886	0.732	0.121	-0.782	***
	EMPA004	4)	24	0.104	0.487	0.208	0.088	1.569	2.434	0.191	*	0	0.061	6.908	2.790	-0.394	**
	CPPCT023	3)	4	0.237	0.782	1	0.237	0	1.440	<i>Inf.</i>	***	0	0.474	6.908	0.747	-0.966	***
	UDP98-021	7)	18	0.043	0.926	0.114	0.009	2.171	4.736	0.339	**	0.316	0.018	1.153	4.043	0.545	***
Chr-7	CPPCT017	3)	26	0.036	0.677	0.086	0	2.451	6.908	0.450	**	0	0.036	6.908	3.314	-0.319	<i>n.s.</i>
Chr-8	CPPCT006	3)	11	0.041	0.924	0.769	0.048	0.262	3.035	1.063	***	0	0.096	6.908	2.342	-0.470	**
	AM287842	1)	10	0	1	0.112	0	2.189	6.908	0.499	***	0	0.939	6.908	0.063	-2.037	***

Na, 対立遺伝子数; I, 遺伝子同一度 (1-種間の遺伝子多様度); G_{ST}, 種間の遺伝子分化係数 (Hedrick 2005). *References 1) Tsuda *et al.* 2009, 2) Dirlewanger *et al.* 2002, 3) Aranzana *et al.* 2002, 4) Clarke and Tobutt 2003, 5) Vaughan and Russell 2004, 6) Sosinski *et al.* 2000, 7) Testolin *et al.* 2000. 種間の対立遺伝子頻度の差の有意性は, *n.s.* (有意性なし), * (5%), ** (1%) *** (>0.1%) で表した (Fisher's exact test)。

みられない) ことで, 由来が不明と判断された。最終的にエドヒガン由来と判断された対立遺伝子は 24 個 (44.4%), オオシマザクラ由来は 18 個 (33.3%), 不明は 12 個 (22.2%) となった (表-1)。この尤度を基にした染色体ごとの‘染井吉野’の由来を, 図-1 に示した。

IV. 考 察

本研究では, ゲノム全体をカバーするよう選ばれたマーカーを用い, ‘染井吉野’の起源の推定を行った。多くの遺伝子座において‘染井吉野’の持つ対立遺伝子は, エドヒガンまたはオオシマザクラの野生個体群において保持されていることが明らかとなり, これまでにいわれてきたように‘染井吉野’の起源に両種が大きく関わっていることが示された。ただし, その割合は均等でなく, オオシマザクラ (33.3%) に比べ, エドヒガン (44.4%) の割合が若干高かった。一方で, 対立遺伝子が両種の野生種からみつからない, またはほとんどみられない遺伝子座も一部でみられた (例えば Chr-4b の BPPCT005 や BPPCT010, Chr-5b の BPPCT038 など)。これらの結果は, ‘染井吉野’がエドヒガンとオオシマザクラに加え, 別のザクラとの交配に由来する可能性も示唆する。ただし, エドヒガンやオオシマザクラの野生個体群から‘染井吉野’の持つ対立遺伝子がみつからなかったとしても, それらが今回また検出されなかったような稀な対立遺伝子である可能性, またそれゆえ遺伝的浮動によって現在では消失してしまった対立遺伝子の可能性は否定できない。特に, 岩崎 (1991) は形態から‘染井吉野’の片親となったオオシマザクラが, 房総半島の個体群に由来すると推定しているが, 今回解析にはそれら

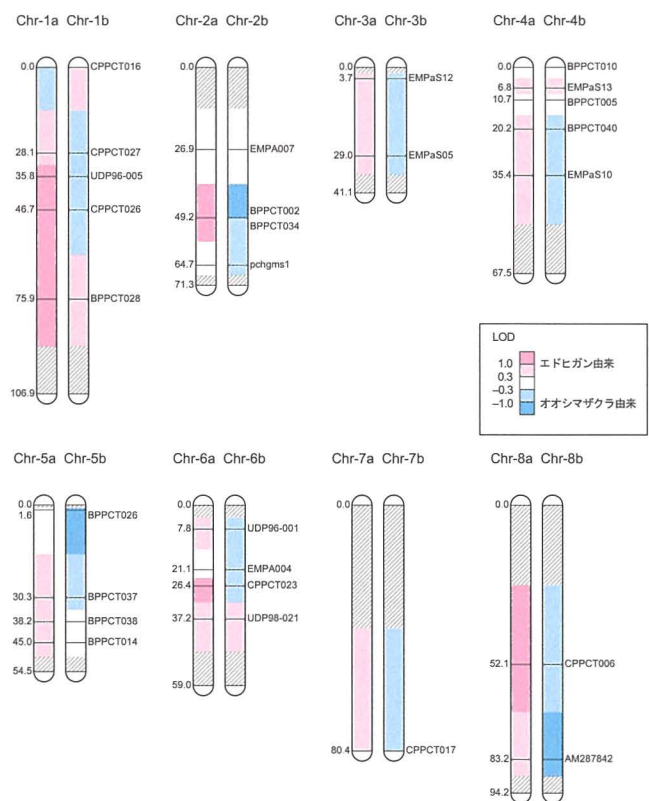


図-1. ‘染井吉野’の染色体ごとの由来のグラフ 遺伝子型
Graphical genotyping of origin of *Cerasus x yedoensis* ‘Somei-yoshino’ on each chromosome.

LOD 値を基に, それぞれの染色体をエドヒガン由来の領域 (マゼンダ) とオオシマザクラ由来の領域 (シアン) とに塗り分けた。なお領域の境界は隣接するマーカーとの中点とし, 地図距離には Tsuruta and Mukai (2015) の値を用いた。斜線および白色の領域は, それぞれ未解析および由来の不明な領域を示す。

の地域の個体は用いていないことには留意する必要がある。

また本研究では、‘染井吉野’のそれぞれの染色体の遺伝子型（ハプロタイプ）を決定することで、染色体ごとに起源を推定することが可能となった。これまでの両種の雑種であるとの説を支持するよう、多くの染色体では片方の染色体がエドヒガン由来、もう一方がオオシマザクラ由来と推定された（図-1におけるChr-2, 3, 5, 7, 8）。一方、第1染色体（Chr-1a, 1b）、第4染色体（Chr-4b）および第6染色体（Chr-6b）にみられたモザイク状の由来（図-1）は、さらに興味深い示唆に富む。例えば、Chr-1aの上端はオオシマザクラ由来と推定されたが、以降は全てエドヒガン由来と判断された。もう一方の染色体Chr-1bはさらに複雑で、染色体の両端ではエドヒガン由来、中央ではオオシマザクラ由来と判断された。これらの遺伝子座はいずれも種間の分化が大きく、たまたま頻度が逆転したとは考え難い（ I , 0.011–0.043; G'_{ST} , 0.926–0.969; 表-1, JSTAGE電子付録付図-2）。由来の推定が正しいとするなら、両種に由来する領域の混在は、雑種の親から組み換え型の染色体を引き継いだとしなければ説明がつかない（付図-1）。なお、Chr-1bでは少なくとも2回の乗り換えが予想される。このことは‘染井吉野’がエドヒガンとオオシマザクラの一度の交雑による雑種ではなく、より交雑が進んだ世代であることを強く示唆する。さらに、第1染色体はどちらも乗り換えが推定され（図-1）、両親がともに雑種である可能性もある。ただし、‘染井吉野’は自家不和合性を示すので（鶴田ら 2012）、 F_2 などの自殖系統とは考えにくい。

本研究は、連鎖地図を利用することで、染色体ごとの由来および染色体の過去の乗り換えの存在を推定することができた。染色体に着目したこの発想は、これまでの起源推定にはない新たな手法である。これにより、1) ‘染井吉野’の染色体の一部の起源がエドヒガンおよびオオシマザクラ以外の種にある可能性、また2) ‘染井吉野’は単純な F_1 ではなく、‘染井吉野’の両親それぞれも雑種である可能性を示すことができた。今後、この手法に高密度な解析およびヤマザクラなど他の野生種を加えることで、より正確な‘染井吉野’の起源を示すことが期待される。

引用文献

- Aranzana MJ, Garcia-Mas J, Carbó J, Arús P (2002) Development and variability analysis of microsatellite markers in peach. *Plant Breed* 121: 87–92
- Blacket MJ, Robin C, Good RT, Lee SF, Miller AD (2012) Universal primers for fluorescent labelling of PCR fragments—an efficient and cost-effective approach to genotyping by fluorescence. *Mol Ecol Resources* 12: 456–463
- Clarke JB, Tobutt KR (2003) Development and characterization of polymorphic microsatellites from *Prunus avium* ‘Napoleon’. *Mol Ecol Notes* 3: 578–580
- Dirlwanger E, Cosson P, Tavaud M, Aranzana MJ, Poizat C, Zanetto A, Arús P, Laigret F (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
- Hedrick PW (2005) A standardized genetic differentiation measure. *Evolution* 59: 1633–1638
- Innan H, Terauchi R, Miyashita NT, Tsunewaki K (1995) DNA fingerprinting study on the intraspecific variation and the origin of *Prunus yedoensis* (Someiyoshino). *Jpn J Genet* 70: 185–196
- 岩崎文雄 (1991) ソメイヨシノとその近縁種の野生状態とソメイヨシノの発生地. 筑波大農林研報 3: 95–110
- Kaneko T, Terachi T, Tsunewaki K (1986) Studies on the origin of crop species by restriction endonuclease analysis of organellar DNA. II. Restriction analysis of ctDNA of 11 *Prunus* species. *Jpn J Genet* 61: 157–168
- Kato S, Matsumoto A, Yoshimura K, Katsuki T, Iwamoto K, Kawahara T, Mukai Y, Tsuda Y, Ishio S, Nakamura K, *et al.* (2014) Origins of Japanese flowering cherry (*Prunus* subgenus *Cerasus*) cultivars revealed using nuclear SSR markers. *Tree Genet Genome* 10: 477–487
- Lincoln S, Daly M, Lander E (1992) Constructing genetic maps with MAPMAKER/EXP 3.0. Whitehead Institute Technical Report. 3rd edition.
- Nei M (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. *PNAS* 70: 3321–3323
- 荻沼一男 (1977) 核型からみたソメイヨシノの起源. 広島大学生物学会誌 43: 53–55
- Oginuma K, Tanaka R (1976) Karyomorphological studies on some cherry trees in Japan. *J Jpn Bot* 51: 104–109
- Ohta S, Osumi S, Katsuki T, Nakamura I, Yamamoto T, Sato Y (2006) Genetic characterization of flowering cherries (*Prunus* subgenus *Cerasus*) using *rpl16-rpl14* spacer sequences of chloroplast DNA. *J Jpn Soc Hort Sci* 75: 72–78
- Paetkau D, Calvert W, Stirling J, Strobeck C (1995) Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Mol Ecol* 4: 347–354
- Paetkau D, Slade R, Burden M, Estoup A (2004) Genetic assignment methods for the direct, real-time estimation of migration rate: a simulation-based exploration of accuracy and power. *Mol Ecol* 13: 55–65
- Rieseberg LH, Van Fossen C, Desrochers D (1995) Hybrid speciation accompanied by genomic reorganization in wild sunflowers. *Nature* 375: 313–316
- Sosinski B, Gannavarapu M, Hager LD, Beck LE, King GJ, Ryder CD, Rajapakse S, Baird WV, Ballard RE, Abbott AG (2000) Characterization of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. *Theor Appl Genet* 101: 421–428
- Takenaka Y (1963) The origin of the Yoshino cherry tree. *J Hered* 54: 207–211
- 竹中 要 (1965) サクラの研究 (第2報) 続ソメイヨシノの起源. 植物学雑誌 78: 319–331
- Testolin R, Marrazzo T, Cipriani G, Quarta R, Verde I, Dettori MT, Pancaldi M, Sansavini S (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
- Tsuda Y, Ueno S, Kato S, Katsuki T, Mukai Y, Tsumura Y (2009) Development of 13 EST-SSRs for *Cerasus jamasakura* and their transferability for Japanese flowering cherries. *Conserv Genet* 10: 685–688
- Tsuruta M, Mukai Y (2015) Hybrid seedling inviability locus (*HIs1*) mapped on linkage group 4 of the Japanese flowering cherry, *Cerasus × yedoensis* ‘Somei-yoshino’. *Tree Genet Genome* 11: 88
- 鶴田燃海・王 成・向井 譲 (2012) ソメイヨシノの自家不和合性およびサクラ属野生種との交雑親和性の違いの生じる時期. 園芸学研究 11: 321–325
- 鶴飼保雄 (2000) ゲノムレベルの遺伝解析 MAPとQTL. p 49. 東京大学出版会
- Vaughan SP, Russell K (2004) Characterization of novel microsatellites and development of multiplex PCR for large-scale population studies in wild cherry, *Prunus avium*. *Mol Ecol Notes* 4: 429–431
- Wilson EH (1916) The cherries of Japan. University press, Cambridge
- Young ND, Tanksley SD (1989) Restriction fragment length polymorphism maps and the concept of graphical genotypes. *Genetics* 77: 95–101