

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 3 日現在

機関番号：11101  
 研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2011～2012  
 課題番号：23701015  
 研究課題名（和文） 植物遺存体の解析にむけた DNA マーカーの開発と評価  
 研究課題名（英文） Construction and evaluation of DNA marker for the analysis of plant remains  
 研究代表者  
 田中 克典（TANAKA KATSUNORI）  
 弘前大学・人文学部・特任助教  
 研究者番号：00450213

研究成果の概要（和文）：遺跡から出土する種子遺存体について、由来や変遷は、当時の食生活や人の嗜好のみならず社会背景を検討するための貴重な情報源である。特に、メロン仲間の種子遺存体は比較的残存状況が良いため、研究に利用しやすいと考えられる。情報を得るために、形状分析や DNA 分析は有効な手段である。そこで、申請者はメロン仲間の種子遺存体に適用できる DNA マーカーを開発すべく、(1)葉緑体ゲノムと核ゲノムを解読し、(2)配列変異を現生メロンにおいて解析して DNA マーカーを設計し、(3)鹿田遺跡より出土したメロン仲間の種子について DNA マーカーを試行した。研究により計 17 の DNA マーカーを開発し(葉緑体:9,核ゲノム:8)、現生の栽培メロンにおける多元起源を提案した。また、研究の結果は、鹿田遺跡において 2 つの細胞質型メロンが利用されており、11 世紀以降における選抜の過程で、現生の日本に固有のメロンであるマクワウリやシロウリ (Group Conomon) が成立したことを示唆していた。

研究成果の概要（英文）：Plant remains excavated at archeological site is an important information source to concern about diet and taste for food of ancient people and social background of their establishment. Especially, melon seed remains is useful for research after archeological excavation, because of their well preservation. Thus, morphological and DNA analysis is effective method for archeological research. In this research, to construct DNA marker for the analysis of melon seed remains, I conducted following three basic studies; i) sequencing of chloroplast and nuclear genome in melon to detect sequence polymorphism, ii) development of DNA marker after the analysis of sequence polymorphism in modern cultivated melon, iii) test of DNA marker to melon seed remains excavated Shikata archeological site, Okayama Prefecture. By these research, 17 DNA marker for melon seed remains (chloroplast genome: 9, nuclear genome: 8) was constructed and polyphyletic origin of cultivated melon was proposed. And, the research results suggested that two cytoplasm type melons were used in Shikata archeological site and after the 11th century, modern Japanese endemic melon, Group Conomon vars. *makuwa* and *conomon*, may be established in the process of selection.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	1,200,000	360,000	1,560,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：文化財科学・文化財科学

キーワード：DNA マーカー、遺伝的多様性、育種学、考古学、メロン、植物遺存体、種子、ウリ

### 1. 研究開始当初の背景

日本の遺跡ではイネ、オオムギ、コムギ、ウリ科作物と様々な作物の種子が出土しており（図1）、人はこれらの作物を利用して（Bellwood 2005）。イネの研究では、研究者は考古学的知見にDNA分析の成果を取り入れたことで、多様なイネが利用されていたことや、耕作方法を示唆してきた（佐藤『稲のきた道』1992）。この成果は、DNA分析と考古学的知見とを併せることで、当時の食生活や農業の状況についても再考することが可能であることを示している。



図1 遺跡から出土した作物の種子  
左から、イネ、オオムギ、コムギ、メロン。  
この他にも様々な種子が出土しているが、中でも、イネとメロンの出土件数が多い。

申請者は世界各地の現在のメロン仲間（以下、現生メロン仲間）について系統解析を実施してきた。この研究で、申請者は日本に固有の現生メロン仲間であるマクワウリとシロウリが（図2）、南アジアの種子の短いメロンに由来すること、中国を経由して日本に伝播してきたこと、さらには伝播の過程で強度の選抜を受けていたことを示した（Tanaka et al 2007, 2013 等）。



図2 日本に固有のマクワウリ（上）とシロウリ（下）  
マクワウリとシロウリの種子の長さは、5.0~7.0mm と、やや小さい（「研究成果」の図3参照）。

ただし、岡山県の遺跡から出土したメロン仲間の種子（以下、種子遺存体）を調べたところ、種子の長さは3.0~10.0mmと幅広い変異を示した。同様の結果は別の遺跡でも報告されている（藤下 1992）。このことから、日本において人は様々なメロン仲間を利用しつつ、食生活や時々の情勢に応じて選んでいた可能性があり、メロン仲間の選抜の過程について再考する必要がある。そこで、メロン仲間の種子遺存体についてDNA分析を実施すべきと考えられる。しかしながら、DNA分析のツールとなる種子遺存体用のDNAマーカーは開発されていなかった。

### 2. 研究の目的

本研究において日本におけるメロン仲間の種子遺存体をDNA分析できるDNAマーカーを開発した。

なお、本研究によりメロン仲間の種子遺存体についてDNA分析を可能にするDNAマーカーと分析の実例が示されるとともに、各発掘調査機関で収蔵されている多くの種子遺存体を活用することが可能となる。また、本研究ではDNAマーカーの開発の過程で現生メロン仲間について系統分類を行う。この分類がメロン仲間の育種にとって非常に重要な作業である。従って、本研究は考古学だけでなく育種学への貢献が大きいと考えられる。

### 3. 研究の方法

申請者は種子遺存体用のDNAマーカーを開発するために、3点の項目を実施した。

- (1) 現生メロン仲間の核ゲノムや葉緑体ゲノムのDNA配列に基づいて、DNAマーカーを設計した。
- (2) 設計したDNAマーカーについて分類の再現性と分類特性を調査すべく、世界各地の現生メロン251系統について系統解析を実施した。
- (3) 試験的にではあるが、開発したDNAマーカーを用いてメロン仲間の種子遺存体についてDNA分析を実施した。

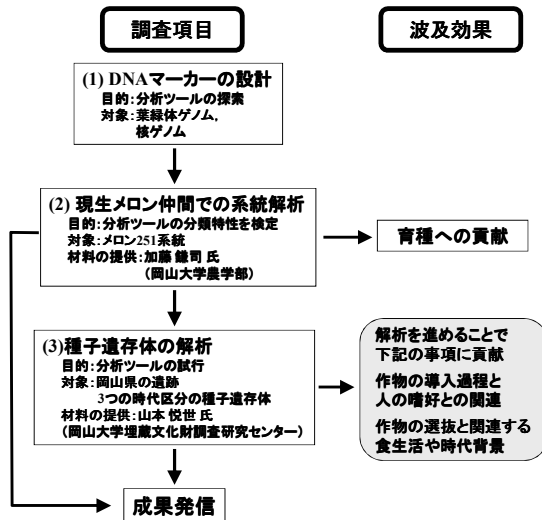


図1 申請研究の調査項目と研究による波及効果  
□は、本研究の調査項目、□は、本研究以降の研究

### 4. 研究成果

#### (1)の研究

現生メロン 60 系統とその近縁種 7 系統において、葉緑体ゲノムの 12 領域（遺伝子内および遺伝子間領域）における塩基配列を解読した。この解析により、23 カ所の一塩基多型（SNP）を検出し、栽培メロンは Ia 型、Ib

型および Ic 型の大きく 3 つのグループに分けられた (図 3)。

また、申請者ら (2007) の系統解析で用いた RAPD マーカーにおいて、マーカー内の塩基配列多型を明らかにした。このうち、8 つのマーカーをメロンの系統解析に適用して、塩基配列の挿入・欠失を識別できる STS マーカーへと変換した。

本結果は、国際ウリ科ナス科合同シンポジウム 2011 (神戸コンベンションセンター) にて発表するとともに、Breeding Science 誌にて掲載予定 (印刷中) である。

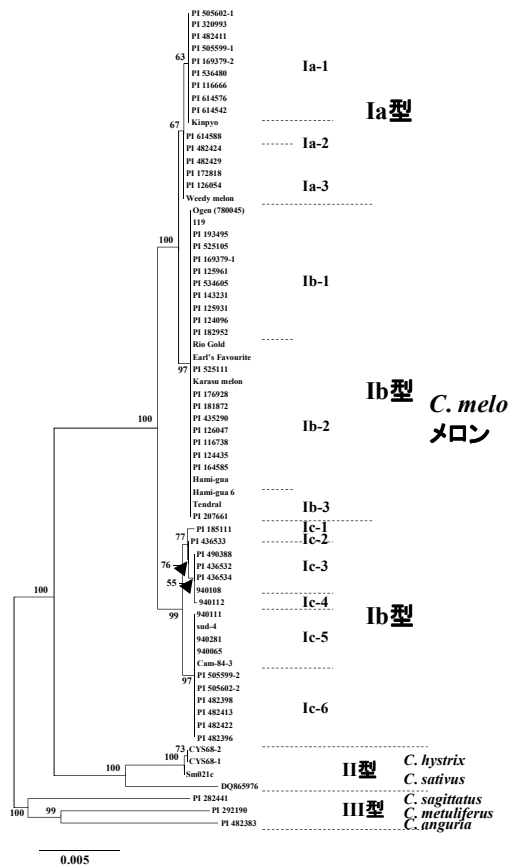


図1 Cucumis 属 67 系統における葉緑体ゲノムの一塩基多型に基づいて作成した NJ 系統樹

1) 下部のスケールは遺伝的距離を示す。各枝に付した数値はブートストラップ確率 (反復 1000 回) を示す。

2) Tendral o Invernale a Buccia Verde.

## (2) の研究

(1) の研究で特定した一塩基多型 (SNP) のうち、9 箇所 SNPs を用いて現生の栽培メロンを解析したところ、世界に分布する栽培メロンは大きく Ia 型、Ib 型および Ic 型の 3 つの細胞質型で構成されていることが明らかとなった (図 5)。さらに、これらのメロンは 13 の細胞質型に分けられた。

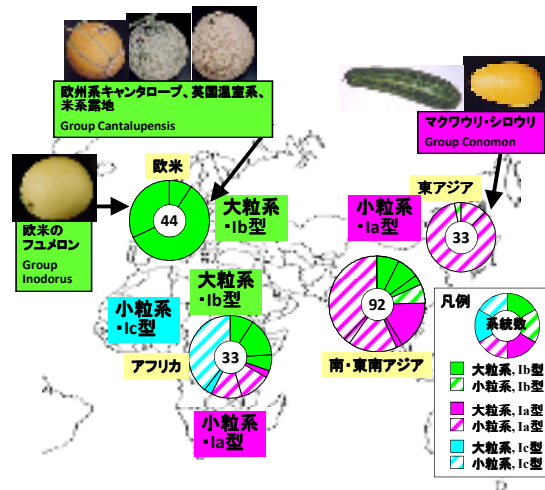


図 2 251 系統のメロンにおける細胞質型の地理的分布と種子サイズとの関係

栽培メロンの細胞質型は、欧米のメロンやアフリカのメロンで大粒系・Ib 型、東アジアのメロンやアフリカ南部のメロンで小粒系・Ia 型と地理的分化を示した。これに対して、南アジアのメロンは両タイプや細胞質型と種子タイプとが組変わったタイプで構成されていた。また、アフリカのメロンはこれら 2 つのタイプに加えて、Ic 型のメロンが認められており、多様であった。細胞質型の分布が既報の研究 (Mliki et al., 2001 等) や史実 (Robinson & Decker-Walters, 1991) と符合しており、栽培メロンは多元起源で成立したとする学説を提案した (田中, 2011)。

本結果を論文にするため、現在執筆中である。また、分析に利用した DNA マーカーは種子遺存体へ適用する DNA マーカーに変換した。

## (3) の研究

(2) の研究で開発した葉緑体ゲノムの DNA マーカーを、岡山県鹿田遺跡より出土した弥生時代中期、古墳時代初頭および 11 世紀のメロン種子に適用した (種子数: 80 粒)。分析に先立ち、種子の長さについて計測したところ、長さは強い相関を示した ( $r = 0.877, p < 0.001$ )。長さは、弥生時代中期、古墳時代初頭および 2 群の 11 世紀の種子において、それぞれ  $4.20 \pm 0.80$  mm,  $6.57 \pm 0.92$  mm,  $7.19 \pm 1.01$  mm および  $7.20 \pm 0.73$  と時代の経過するにつれて長くなっていった (図 3)。また、その変動係数 (ばらつき) は、それぞれ 19.1%, 14.1%, 14.0% および 10.2% と時代の経過とともに低くなっており、より均質な尾メロンが選ばれていることを示していた。古墳時代には畿内とのつながりを示す生活用品の遺物や墳墓が検出されている。また、11 世紀には荘園の敷設が本格化するため、モ

ノの交易が活発になったと考えられる。さらに、弥生時代から 11 世紀にかけての長さの大型化は、本州において認められている（藤下 2004 等）。これらのことからすると、鹿田遺跡のメロン種子遺存体は各時代における傾向を反映する試料であることが考えられた。

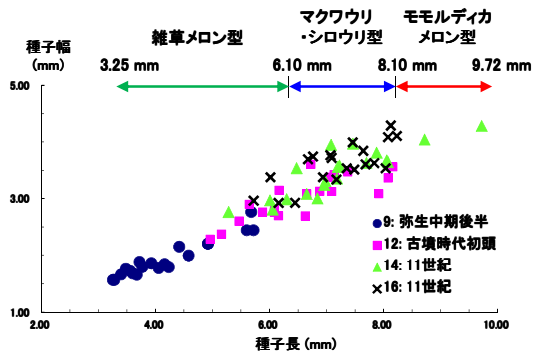


図 3 鹿田遺跡出土メロン種子遺存体における種子長と種子幅の変異

鹿田遺跡のメロン仲間の種子を 9 箇所の DNA マーカーによって分類すると、細胞質型は Ia 型と Ib 型の 2 タイプが 3 つの時代の種子において認められた (表 1)。なお、これら細胞質型は種子の長さ (大粒系 [9.0 mm 以上], 小粒系 [9.0 mm 未満]) とは対応していなかった。

表 1 SNP の配列に基づく現生メロンと岡山県・鹿田遺跡における種子遺存体の細胞質型の構成

区分	集団番号/ Group	時代/地域 <sup>1)</sup>	種子 タイプ	系統数	細胞質型		
					Ia	Ib	不明
種子 遺存体	9	弥生中期後半	小粒系	20	2	6	12
	12	古墳初頭	小粒系	20	4	2	14
	14	11世紀	大粒系	1	-	1	-
			小粒系	19	4	8	7
16	11世紀	小粒系	20	1	4	15	
計 (種子遺存体)				80	11	21	48
現生 メロン	Flexuosus	インド/インドネシア	大粒系	5	4	1	-
			小粒系	1	1	-	-
	Momordica	インド/バングラデシュ/ ミャンマー/ネパール	大粒系	3	1	2	-
			小粒系	5	4	1	-
	Conomon	中国/韓国/日本	小粒系	28	27	1	-
	Agestis	南アジア <sup>1)</sup>	小粒系	18	18	-	-
			韓国/日本	小粒系	5	5	-
	変種未同定	南アジア <sup>1)</sup>	大粒系	23	11	12	-
			小粒系	30	25	5	-
			タイ/マレーシア/ラオス/ ベトナム/インドネシア	大粒系	3	1	2
			小粒系	11	10	1	-
計 (現生メロン)				132	107	25	-

<sup>1)</sup>南アジア: パキスタン, インド, モルジブ, ネパール, バングラデシュ, ミャンマー

これらの結果は、鹿田遺跡では Ia 型および Ib 型を有した 2 タイプのメロンが導入されていたことを示していた。一方、Ib 型が南アジアの変種未同定のメロンにおいて認められたこと、現生の日本に固有のメロンである Group Conomon (マクワウリやシロウリ) が Ia 型であったことからすると、メロンの細胞質型は 11 世紀以後において 1 種類になって

おり、この過程において現在のマクワウリやシロウリに相当するメロンが成立した可能性を示していた。

本研究の結果は、日本文化財科学会第 29 回大会 (京都府) や第 5 回東アジア考古学協会世界大会 (福岡県) において発表するとともに、講演会 (富山県中央植物園サンライトホール, 富山県) において一般に紹介した。また、論文にするために現在執筆中である。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

(1) 田中克典、明石由香利、加藤謙司 (他 7 名、1 番目) Diversification and genetic differentiation of cultivated melon inferred from sequence polymorphism in the chloroplast genome, *Breeding Science*, 査読有、2013、印刷中

[学会発表] (計 4 件)

(1) 田中克典、メロンの起源地を追い求めて、講演会 世界に植物遺伝子資源を求めてメロン、マメ、お茶、ツバキ…有用植物を探る旅 (招待講演)、2012 年 10 月 14 日、富山県中央植物園 サンライトホール (富山県)

(2) 田中克典、山本悦世、加藤謙司、岡山県鹿田遺跡から出土したメロン仲間の種子遺存体における形態学的分析と DNA 分析、日本文化財科学会第 29 回大会、2012 年 06 月 23 日、京都大学 (京都府)

(3) 田中克典、The transition of agricultural crops in East Asia based on morphological and DNA analysis、第 5 回東アジア考古学協会世界大会、2012 年 06 月 09 日、西南学院大学 西南コミュニティセンター (福岡県)

(4) 田中克典、Chloroplast genome inferred the differentiation of maternal line in cultivated melon and its origin、第 2 回ウリ科・第 8 回ナス科国際合同シンポジウム (招待講演)、2011 年 12 月、神戸コンベンションセンター (兵庫県)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

田中 克典 (TANAKA KATSUNORI)  
弘前大学・人文学部・特任助教  
研究者番号: 00450213

### (2) 研究分担者

該当者無し ( )

研究者番号：

(3)連携研究者  
該当者無し ( )

研究者番号：