

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：34316

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2012～2016

課題番号：24405024

研究課題名(和文)栽培ガキの起源種解明のための東アジアに分布するカキ属植物の探索とその多様性解析

研究課題名(英文) Survey of Diospyros spp. distributed in East Asia for identifying the origin of *D. kaki* and investigation of diversity among *Diospyros* spp.

研究代表者

米森 敬三 (Yonemori, Keizo)

龍谷大学・農学部・教授

研究者番号：10111949

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：栽培ガキの起源解明のため、これまで調査していないベトナム北部山岳地域で調査を実施し、果面に柔毛がある果実を発見したが、これらはこれまでに発見した種と同種である可能性が高かった。さらに、中国とタイでも再調査を実施したが、カキの起源に関する新たな種の発見はなかった。最後に、これまでに調査から栽培ガキに近縁であると考えている“野毛柿”をITSとmatK領域の塩基配列から解析したところ、matK領域の解析からは栽培ガキの起源と報告された*D. glandulosa*と同じクラスターに分類されたが、ITS領域の解析からは独立したクラスターを形成した。今後、この差異に関する再調査が必要であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：The survey was conducted in unfinished Northern mountainous area in Vietnam for obtaining new species related to *D. kaki* and we found several trees which bear pubescent fruits. However, these trees seem to be the same species which we collected previously in Vietnam, so that there are no new species from this survey. In addition, although we conducted resurvey of *Diospyros* spp. in germplasm repository of China and the campus of Kasetsart University in Thailand, we could not find new species closely related to *D. kaki*. The phylogenetic studies from DNA sequences of ITS and matK regions in “ye-mao-shi”, which was assumed to closely relate to *D. kaki* from morphological characteristics, is indicated that this species should be included with *D. glandulosa* which assumed to be ancestor of *D. kaki*, due to matK analysis, not due to ITS analysis. This contradiction of the results from each analysis should be corrected by the further analysis in the future.

研究分野：果樹園芸学

キーワード：園芸学 果樹 分類 カキ属

1. 研究開始当初の背景

カキは日本で古くから栽培され、また、各地で庭先果樹としても植栽されてきた重要な果樹である。またその利用も、果実を生食とするだけでなく、果実に存在する渋からカキ渋を製造し、漁網や和紙などの耐水性加工、あるいは漆器の下地としての塗布などに幅広く利用されてきた。しかしながら、カキはこのように日本で古くから生活に密着してきた重要な果樹であったにもかかわらず、その起源や品種の成立・伝播過程に関しては研究がほとんど進んでおらず、現在まで不明な点が多い。

現在栽培されているカキは、分類学的にはカキノキ科 (Ebenaceae) カキ属 (*Diospyros*) に属し、その学名を *Diospyros kaki* と表記する。カキ属に分類される大部分の種は熱帯・亜熱帯地域に分布しており、その分布域もアフリカ大陸、マダガスカル島、熱帯アジア地域、オセアニア地域、アメリカ大陸と全世界に分布が認められ、400 種以上が存在すると報告されている。しかしながら、1) 温帯地域に分布するカキ属植物はカキ (*D. kaki*) を含め、非常に少数の種であること、2) 熱帯・亜熱帯地域に存在する大部分の種は二倍体 ($2n = 2x = 30$) であるのに対して、カキは六倍体 ($2n = 6x = 90$) という高次倍数体であることを考えると、栽培ガキの起源に関わった熱帯・亜熱帯地域の野生種が、カキが最初に出現したと考えられる地域周辺に必ず存在すると考えられる。

これまで、栽培ガキ (*D. kaki*) の起源を考察した唯一の研究である 1978 年にマレーシアの Ng 氏が発表した論文によれば、栽培ガキ (*D. kaki*) はベトナム・カンボジア・タイの北部山岳地域から中国雲南地域にかけて分布する *D. roxburghii* (syn. *D. glandulosa*) を起源として出現したと推論している。この推論は、Ng 氏がイギリスの Kew 植物園で *D. kaki* に分類されている膨大なカキ標本を丹念に調査することで、その標本に 2 つのタイプの標本が混在していることを発見したことに起因している。すなわち、Kew 植物園には、1) 標本の果実表面に柔毛が密生するもの、2) 果実表面に柔毛が存在せず、果実表面が無毛

のもの、の 2 つのタイプのカキ標本が混在しており、その一方は *D. kaki* ではなく *D. glandulosa* であることを確認することで、形態的な特徴の類似性およびその種の分布域から *D. kaki* の起源を *D. glandulosa* とする仮説を提唱している。

一方、我々も熱帯・亜熱帯地域でカキ属植物の探索にあたる機会をもち、タイ北西部の山岳地域で *D. glandulosa* (二倍体) を発見することが出来た。また、タイ・中国の研究者と共に、タイ北部と中国に分布するカキ属植物の探索を実施し、栽培ガキとの類縁関係を核 DNA として ITS 領域、葉緑体 DNA として *matK* 遺伝子の塩基配列を解析することで、Ng 氏が起源種として推論した *D. glandulosa*、中国の温帯地域に分布する *D. lotus* と *D. oleifera* が栽培ガキの起源に深い関与を持っている可能性を明らかにした。

さらに最近、中国の雲南省の植物園標本室で *D. kaki* var. *sylvestris* として分類されている、野毛柿 (イエマオシー) と記載されたカキが存在していることを発見し、果実表面に細かい柔毛を持つ野毛柿は、*D. kaki* とは別種として扱うべきもので、Ng 氏が提唱した *D. glandulosa* よりも、この野毛柿として分類されている個体こそがカキの起源により重要な役割を担っているのではないかと推察した。また、ベトナムのハノイ北東部の中国広西壮族自治区と国境を接する Lang Son 省 Cao Loc 地区でも、野生種と考えられる、野毛柿に類似したカキ属植物を発見している。ただ、これらの種とこれまでに解析した種との類縁関係は明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究は栽培ガキの起源地と起源種を解明することを目的として、雲南省で発見した野毛柿、およびベトナムで発見した野毛柿に類似した野生種の東アジアの熱帯・亜熱帯地域での存在を調査し、分布域とそれらの種の多様性を考察するとともに、これまでの研究から、カキ (*D. kaki*) の出現に何らかの関与を持っていると考えている *D. glandulosa*、*D. lotus*、*D. oleifera* と野毛柿およびベトナムで発見した野生種との類似性および相違性に関

して分子生物学的手法によって解析し、栽培ガキ (*D. kaki*) との系統分類学上の位置関係を明確にすることである。また、これまでに探索・調査した野生種のカキ属植物との系統分類を再調査し、この解析によって栽培ガキの起源地と起源種を特定することも目的としている。このことによって、栽培ガキの成立後の品種の成立やその伝播過程の解明が期待できる。

3. 研究の方法

(1) ベトナム北部山岳地域でのカキ属植物の調査

これまでに調査したベトナム北部山岳地域の Lang Son 省と Lao Cai 省に加え、Ha Giang 省と Cao Bang 省において、ベトナムの共同研究者とともにカキ属植物を調査し、ベトナムのこれら地域でのカキ属植物の多様性と分布を調査した。

(2) 中国およびタイのカキ属植物の再調査

西北農林科技大学・園芸学院で管理されている国家柿遺伝資源圃で収集・維持されている中国のカキ属植物に関して、果面に柔毛のある種を中心に再調査した。また、タイにおいても、カセサート大学構内に植栽されているカキ属植物を調査し、これまでにタイで収集したカキ属植物と比較検討した。また、タイ北部に分布する *D. glandulosa* の種子を入手し、その実生を獲得することを試みた。

(3) 野毛柿およびベトナムの野生種と温帯地域に分布する種との類縁関係の調査

中国雲南省で採取した野毛柿の種子から中国の共同研究者が育成した実生の葉より抽出したDNA、およびベトナムの Lang Son 省と Lao Cai 省で採取したカキ属植物の葉から採取したDNAを用いて、PCRにより葉緑体DNAの *matK* 領域および核DNAのITS領域を増幅し、塩基配列を決定した。さらに、以前、農水省果樹試験場（現 農研機構果樹茶業研究部門）がベトナムでの遺伝資源調査を実施した際に採取し、現在ブドウ・カキ研究拠点で維持・管理されているベトナムの種に関しても同様の分析を実施してそのDNAの塩基配列を得た。

次に、これらの分析によって得られた塩基配列を利用し、これまでに実施した温帯性カキ属植物のこれら領域の塩基配列と比較することで、野毛柿およびベトナムで採取した種と栽培ガキ (*D. kaki*) を含めた温帯性カキ属植物との類縁関係を調査した。

4. 研究成果

(1) ベトナム北部山岳地域でのカキ属植物の調査

ベトナム北部山岳地域の Ha Giang 省と Cao Bang 省でのカキ属植物の調査から、栽培ガキ (*D. kaki*) と思われる海外より導入されたと考えられる栽培種とともに、中国で野毛柿と呼ばれているカキ属植物と同様、果実表面に柔毛がある果実を着生する個体を多数見出した（第1図）。ただ、これらの個体はこれまでに調査した Lang Son 省および Lao Cai 省で発見した果実表面に柔毛がある果実を着生する個体と形態的には大きな差異がなく、これまでベトナムで発見した種と同種である可能性が高かった。



第1図 ベトナム北部山岳地域 Cao Bang 省で発見した果面に柔毛を有する果実

(2) 中国およびタイ北部でのカキ属植物の再調査

国家柿遺伝資源圃で収集・維持されている中国のカキ属植物を調査し、*D. oleifera* や野毛柿などをはじめとする、果面に柔毛のあるいくつかのカキ属植物が収集・保存されていることを確認した（第2図）。さらに、最近、中国の共同研究者が四川省徳陽市において野毛柿と酷似したカキを収集し、赤花野毛柿（花が赤みを帯びているためこの名称が与えられている）と呼んでいるカキの雄花を観察した（第3図）。



第2図 中国 国家柿遺伝資源圃の案内(下右)と植栽されている果実表面に柔毛のあるカキ属植物の果実
上左: *D. oleifera*、上右: 野毛柿、下左: 壁山牛心柿



第3図 赤花野毛柿 (雄花)

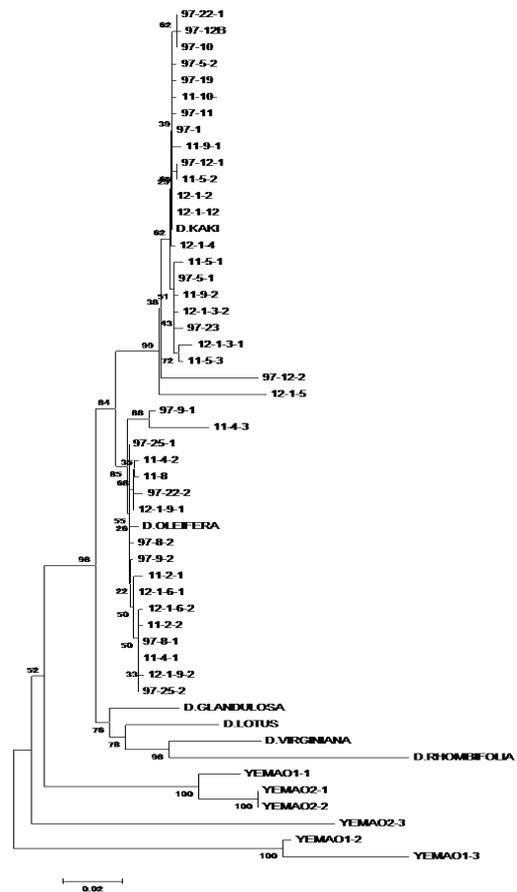
一方、タイの海外共同研究者とともにカセサート大学校内に植栽されているカキ属植物の調査を実施したところ、*D. areolate*、*D. pilosanthera*、*D. philippensis*、*D. dictyoneura*の存在が確認できた。しかしながらこれらの種は、これまでタイで調査した種と同様に、栽培ガキ (*D. kaki*) とは形態的にもかなり異なっていた。なお、これまでタイで調査した種の中で、*D. kaki*と比較的近縁であると考えられた *D. glandulosa* の個体を獲得するため、その種子を共同研究者から入手した(第4図)。しかしながら、これらの種子はすべて発芽せず、*D. glandulosa* の実生を得ることが出来なかった。



第4図 入手した *D. glandulosa* の種子

(3) 野毛柿およびベトナムの野生種と温帯地域に分布する種との類縁関係の調査

温帯地域に分布する *D. kaki*、*D. lotus*、*D. virginiana*、*D. oleifera* およびこれまでの解析から *D. kaki* に比較的近縁であると考えられている *D. glandulosa* の4種に対して、野毛柿およびベトナムで採取した野生種の ITS 領域と *matK* 領域の塩基配列を比較解析したところ、ITS 領域からの解析では、ベトナムで採取したカキ属植物は、カキ (*D. kaki*) グループと *D. oleifera* グループに大別され、野毛柿はどのグループにも属さず、それ自身で独自のクラスターを形成した(第5図)。

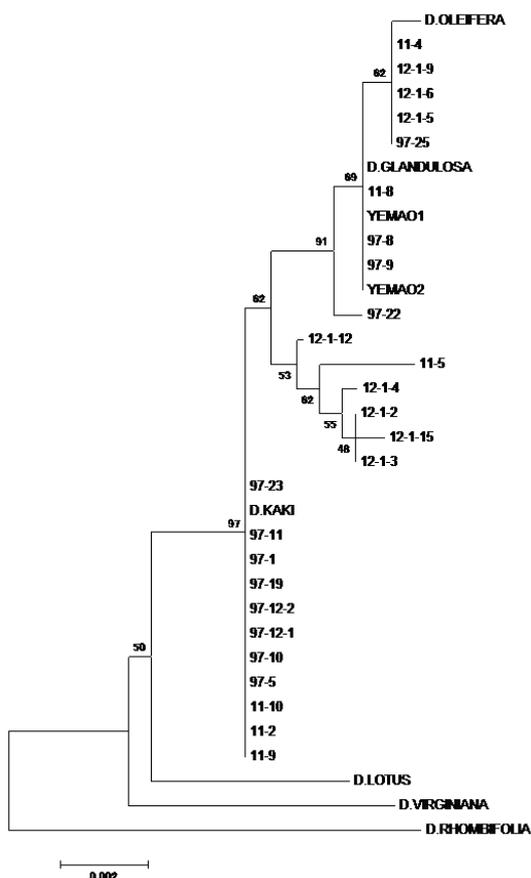


第5図 ITS領域を利用したNJ法による系統樹

11から始まる個体はLang Son省で採取した個体、12から始まる個体はLao Cai省で採取した個体、97から始まる個体は以前、農水省果樹試験場(現農研機構果樹茶業研究部門)がベトナムでの遺伝資源調査を実施した際に採取した個体

しかしながら、*matK* 領域からの解析では、野毛柿は *D. glandulosa* と同じクラスターに分類された。また、ベトナムで採取したカキ野生種は *D. kaki* あるいは *D. oleifera* と同じ

クラスターに分類されるものとそれ自身で独自のクラスターを形成するものがあった（第6図）。ITS領域の解析には psuedogene の問題が指摘される場合があるので、今後この両者でのクラスタリングの差異は再検討する必要があると思われる。



第6図 *matK* 領域を利用したNJ法による系統樹
11から始まる個体はLang Son省で採取した個体、
12から始まる個体はLao Cai省で採取した個体、
97から始まる個体は以前、農水省果樹試験場（現農研機構果樹茶業研究部門）がベトナムでの遺伝資源調査を実施した際に採取した個体

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 Parfitt, D. E., K. Yonemori, C. Honsho, M. Nozaka, S. Kanzaki, A. Sato, M. Yamada. 2015. Relationships among Asian persimmon cultivars, astringent and non- astringent types. *Tree Genetics & Genomes* 11: 24. DOI 10.1007/s11295-015-0848-z. (査読あり)

〔学会発表〕（計3件）

- ① Kanzaki, S., H. T. Tran, A. Sato, and K. Yonemori. 2016. Explanation for *Diospyros*

spp. in rural area of northern Vietnam. The 6th International Symposium on Persimmon. Valencia, Spain.

- ② 神崎真哉、宇都宮直樹、佐藤明彦、北島宣、Tran Thi Hoa、米森敬三. 2015. ベトナム北部山岳農村に分布するカキ属植物の探索. 園芸学会平成27年度春季大会. 千葉大学西千葉キャンパス.

- ③ Yonemori, K., S. Kanzaki, A. Sato, H.T. Tran, Y. Yang, R. Wang, and Z. Luo. 2012. Survey of *Diospyros* spp. in Yunnan province of China and northern Vietnam for identifying ancestor of Japanese persimmon (*D. kaki* Thunb.). The 5th International Symposium on Persimmon. Wuhan, China.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

米森 敬三 (YONEMORI KEIZO)
龍谷大学・農学部・教授
研究者番号：10111949

(2) 研究分担者

北島 宣 (KITAJIMA AKIRA)
京都大学・大学院農学研究科・教授
研究者番号：70135549

佐藤 明彦 (SATO AKIHIKO)
農研機構果樹茶業研究部門・ブドウ・カキ研究領域・ユニット長
研究者番号：30355440

神崎 真哉 (KANZAKI SHINYA)
近畿大学・農学部・准教授
研究者番号：20330243