

## 解説

山本俊哉<sup>1</sup>: クリの SSR マーカーToshiya Yamamoto<sup>1</sup>: SSR markers in Japanese chestnut (*Castanea crenata*)

**要旨** SSR マーカー (別名マイクロサテライト) は、共優性で情報量が多いことから、集団の多様性解析、個体の識別、遺伝子流動、遺伝子地図作成において、現在最も有効な DNA マーカーである。その特徴は、共優性の遺伝様式を示すこと、多型性が高く近縁の個体間でも差異が得やすいこと、反復数が変異に富んでおり対立遺伝子数が多いこと、ゲノム中に豊富に存在すること、微量のサンプルで分析が可能であること、DNA シークエンサーなど自動分析に適していることが挙げられる。クリ品種「筑波」のゲノミック DNA を用いて、(AG) / (CT) の反復配列をターゲットとして、マグネットビーズによる濃縮法により SSR マーカーを作成した。開発した 15 種類の SSR は、1 ~ 16 の対立遺伝子を持ち、ヘテロ接合度の観察値  $H_o$  が平均で 0.47、ヘテロ接合度の期待値  $H_e$  が平均で 0.50、識別能力 (power of discrimination) が平均で 0.62 と多型性が高く、クリの個体識別に有効であった。多型を示した 14 種類の SSR 座について、クリ 30 品種・系統を分析した結果、すべての品種・系統が識別可能であった。4 つのクリのタイプ (日本由来栽培、韓国由来栽培、日本由来自生、韓国由来自生) で対立遺伝子の種類やその頻度分布を見たところ、明確な遺伝的多様性の差異はなかった。また、クリで開発した SSR マーカーは、他種にも適用可能であり、多型頻度も高かった。キーワード: 遺伝的多様性, クリ, クリ属, 単純反復配列

**Abstract** SSRs (simple sequence repeats, also called as microsatellites) are one of the highly informative DNA markers essential for genetic studies both in animal and plant species, i.e., estimation of genetic diversity, parentage analysis, and the construction of genetic linkage maps. SSRs offer several advantages over other molecular markers, which provide a reliable method for genetic analyses, such as their codominant inheritance, high degree of polymorphism, large number of genotypes (alleles) per locus, abundance in genomes, and suitability for automation. Fifteen SSR loci were developed in Japanese chestnut (*Castanea crenata* Sieb et Zucc.) using an enriched genomic library for (AG) / (TC). The SSR loci obtained produced 1–16 alleles per locus and showed 0.47 of average values of the observed heterozygosity, 0.50 of the expected heterozygosity, and 0.62 of the power of discrimination. Genetic relationship was evaluated for 30 Japanese chestnut varieties using 14 polymorphic SSR loci, and the result showed no distinct differences on allele composition between Japanese and Korean origins as well as between cultivated and wild natures. SSR loci developed in the Japanese chestnut could be successfully transferable to other *Castanea* species.

**Key Words:** *Castanea crenata*, genetic diversity, Japanese chestnut, simple sequence repeat

## 1. はじめに

近年、種々の DNA マーカーが開発され、個体や品種の識別、遺伝的多様性の研究、集団の変異の解析、遺伝子地図の作成等に利用されている。よく利用されるものとして、SSR (simple sequence repeat, 別名マイクロサテライト), RFLP (restriction fragment length polymorphism, 制限酵素断片長多型), RAPD (random amplified polymorphic DNA; Williams et al., 1990), AFLP (amplified fragment length polymorphism; Vos et al., 1995), CAPS (cleaved amplified polymorphic sequence)などを挙げる事ができる。それぞれの DNA マーカーの特徴について表 1 にまとめた。なお、原理については割愛するので、他の本や文献を参考にされたい (種生物学会, 2001)。RAPD マーカーや AFLP マーカーでは、塩基配列の情報が不要で

あるため、マーカーの開発が非常に容易であるという特長を持つ。さらに、植物や動物に限らずすべての生物で利用可能である。その反面、優性マーカーであることなどから情報量が少ないことが指摘されている。RFLP マーカーや CAPS マーカーは、共優性マーカーであり、情報量が多いという特徴を持つ。また、分析に高額な機器や特殊な装置を必要としない。一方、RFLP は多量の DNA を必要とすることや、マーカー開発に労力を要すること、多型性が小さいことが問題点である。CAPS マーカーでは、塩基配列情報が必要であることから作成に労力と時間を要することが問題点である。SSR マーカーは、多型性が非常に高いことが最も大きな特長であり、遺伝的に近いもの、たとえば同じ種に属する品種や個体でも多型を得やすいという特長を持つ。さらに共優性で情報量が多いことから、集団の多

<sup>1</sup> 〒 305-8605 茨城県つくば市藤本 2-1 農業・生物系特定産業技術研究機構果樹研究所  
National Institute of Fruit Tree Science, Tsukuba, Ibaraki 305-8605, Japan

表1 各種DNAマーカーの比較

マーカー	多型性	信頼度	優性/共優性	必要とするDNA量	マーカー開発の難易	塩基配列情報の必要性
SSR	大	高い	共優性	少量	労力・時間が必要	必要
RFLP	小	高い	共優性	多量	やや労力・時間が必要	不要
RAPD	中	低い	優性	少量	簡単	不要
AFLP	中	中程度	優性	少量	簡単	不要
CAPS	小	高い	共優性	少量	労力・時間が必要	必要

様性解析, 個体の識別, 遺伝子流動, 遺伝子地図作成において, 現在最も有効なDNAマーカーである。

## 2. SSRマーカーの特徴

SSRとはsimple sequence repeatの略で, 1塩基から数塩基の長さのDNAが繰り返している領域のことである。図1のようにSSR領域を挟み込むように両側にプライマーを設計し, PCR(ポリメラーゼ連鎖反応)による増幅を行う。電気泳動によって, DNAの繰り返しの数=反復数の違いを, 長さの差として検出する。マイクロサテライト, VNTR(variable number of tandem repeat), STR(short tandem repeat)とほぼ同義である。ヒトの親子鑑定やDNA鑑定で実用的に使われており, 裁判の証拠としても採用されている(橋谷田ほか, 1997; 勝又ほか, 2001)。

SSRマーカーの利点は, 1) 多型性が高く遺伝的に近い個体間でも差異が得やすいこと, 2) ゲノム中に豊富に存在すること, 3) 共優性の遺伝様式を示すこと, 4) 反復数が変異に富んでおり対立遺伝子数が多いこと, 5) 微量のサンプルで分析が可能であること, 6) DNAシーケンサーなど自動分析に適していることが挙げられる(Weber & May, 1989)。SSRマーカーの最も大きな特長は多型性が非常に高いことであり, 遺伝的に近いもの, たとえば同

じ種内でも差異を得やすい。その理由は, 反復配列の繰り返し数の変異速度が非常に早いことに起因する(Jarne & Lagoda, 1996; Hancock, 1999)。正確な突然変異率は不明であるが, 1つの座で変異が起こる確率は,  $10^3 \sim 10^5$ 年に1回程度と推定されている。前述の他のDNAマーカーでは, 塩基置換, 欠失や挿入等の突然変異が多型の原因であるが, SSRの突然変異率の方が1桁~3桁高いと考えられる。最近全ゲノムシーケンスが明らかになったイネでは, 2塩基の反復配列が約11,000ヶ所存在し, 最も存在頻度の高いモチーフは(AG)/(CT)であった(Goff et al., 2002)。3塩基及び4塩基の反復配列は, それぞれ29,000及び8300ヶ所見つかっている。このように種々のタイプの反復配列が, 豊富にゲノム中に存在していることが確認されている。

SSRマーカーの欠点は, 1) 対象とする生物ごとにマーカーを開発する必要があること, 2) マーカー開発に時間と労力がかかること, 3) ヌル対立遺伝子の存在(Callen et al., 1993)が挙げられる。SSRマーカーを作成するためには, 反復配列部分とその前後を合わせて数百塩基の配列情報が必要である。また, 反復配列がゲノム中に豊富に存在するとはいえ, イネで最も頻度の高い(AG)/(CT)反復は約60,000塩基に1ヶ所程度存在すること(Goff et

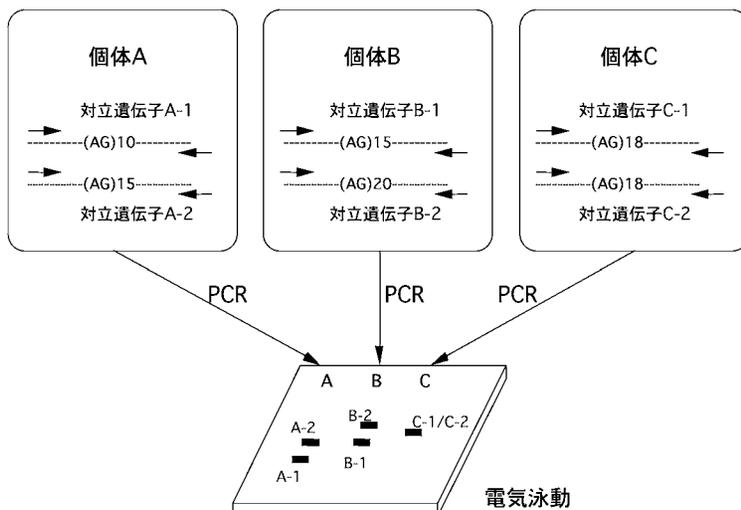


図1 SSRマーカーの原理. 図中の矢印はプライマーを示す。(AG)18は, AGの配列が18回反復していることを示す。反復数の違いが, 塩基配列の長さの違いとなり, 電気泳動の距離の差として見出される。

al., 2002) から、配列情報の取得には、ターゲットとする配列を効率良くクローニングしてシークエンスするための知識と実験が必要である。経験の少ない研究者にとっては大仕事である。もう 1 つの問題点は、ヌル対立遺伝子の存在である。プライマー配列に相当する塩基配列部分に変異が起きてプライマーが機能しなくなった場合、SSR 領域の PCR 増幅ができなくなる。また、SSR 領域そのものが欠失等の理由で欠落している場合も、PCR 増幅ができなくなる。このように検出できない対立遺伝子をヌル対立遺伝子と呼んでいる。親子の鑑定の際にヌル対立遺伝子が存在すると見かけ上つじつまが合わなくなる。ヌル対立遺伝子の無い SSR を使えば良いのであるが、ヌル対立遺伝子が存在するかどうかを見極めるには、親子関係が明らかになっている複数のサンプルを用いて親から子供への対立遺伝子の遺伝を確認することが必要となる。

### 3. クリの SSR マーカーの開発

ブナ科植物では、いくつかの種で SSR マーカーが開発されている (Steinkellner et al., 1997; Barreneche et al., 1998; Tanaka et al., 1999)。しかし、クリ属 *Castanea* では報告例がなかった。そこで我々のグループでは、クリ *Castanea crenata* Sieb et Zucc. から SSR 領域を含む濃縮ゲノムライブラリーを作成し、15 種類の SSR マーカー (Yamamoto et al., 2003) を開発したので、その概要を紹介する。

クリ品種「筑波」のゲノミック DNA を用いて、(AG)

/ (CT) の反復配列をターゲットとして、マグネットビーズ法により SSR 濃縮ゲノムライブラリー (Yamamoto et al., 2002, 2003) を作成した。約 1550 個のクローンから 7 回以上の反復配列を含むクローンを 52 個得ることが出来た。(AG) / (CT) の反復の回数は、7 ~ 33 回で、平均で 11.5 回であった。得られた塩基配列から 24 種類を選び、特異的に反復配列を増幅するプライマーをデザインし、その結果、15 種類で目的の長さのフラグメントが増幅され、SSR マーカーを作成することができた (表 2)。なお、15 種類の SSR マーカーのうち、14 種類がクリ個体間で多型を示した。

親子関係にある 2 品種と両親、「筑波」(岸根♀×芳養玉♂)、「丹沢」(乙宗♀×大正早生♂) で各 SSR 座の対立遺伝子の遺伝を見たところ、すべての座において両親の 1 つの対立遺伝子が子供に伝わっていた。このことから、本 SSR は単一の座に由来することが示唆された。

### 4. 近縁種への利用

SSR マーカーは、同じ属内の近縁種への適用が可能な場合が多いことが知られている。ただし、すべての SSR マーカーが近縁種で利用可能というわけではなく、利用できる割合はそれぞれの種の遺伝的な近縁性と関連している。場合によっては、属を越えて利用可能な SSR マーカーも存在する (Yamamoto et al., 2001)。SSR マーカーを作成する際に、反復配列領域を挟み込むように両側にプライマーを設計するが、プライマーとして選んだ塩基配列が保存され

表 2 開発されたクリの 15 種類の SSR マーカー

SSR Locus	Motif	PCR product size (bp)	No. of alleles in <i>C. crenata</i>	$H_o$	$H_e$	PD	Q
KT001b	(AG) <sub>8.5</sub>	194	10	0.83	0.86	0.94	0.70
KT002a	(GA) <sub>10</sub>	236	8	0.30	0.65	0.72	0.43
KT004a	(AG) <sub>12.5</sub>	109	16	0.87	0.89	0.95	0.76
KT005a	(GA) <sub>18</sub>	195	13	0.93	0.86	0.93	0.69
KT006a	(GA) <sub>9</sub>	131	3	0.63	0.63	0.74	0.34
KT007b	(AG) <sub>7.5</sub>	193	3	0.33	0.29	0.48	0.14
KT008a	(AG) <sub>5</sub> A(AG) <sub>7.5</sub>	200	4	0.37	0.38	0.55	0.18
KT009a	(AG) <sub>10</sub>	54	5	0.43	0.46	0.64	0.26
KT010a	(GA) <sub>10</sub>	84	4	0.47	0.55	0.72	0.26
KT012a	(AG) <sub>4.5</sub> G(GA) <sub>3</sub> , (AG) <sub>3.5</sub> A(AG) <sub>4.5</sub>	171	1	0.00	0.00	0.00	0.00
KT014a	(GA) <sub>7</sub>	148	2	0.23	0.26	0.41	0.11
KT015a	(GA) <sub>8</sub> (GT) <sub>9</sub>	168	11	0.57	0.62	0.76	0.38
KT019a	(GA) <sub>8.5</sub>	120	2	0.23	0.26	0.41	0.11
KT020a	(GA) <sub>10</sub>	88	6	0.77	0.74	0.86	0.48
KT024a	(GA) <sub>12.5</sub>	97	3	0.10	0.10	0.18	0.05
Average			6.1	0.47	0.50	0.62	

$H_o$ : observed heterozygosity,  $H_e$ : expected heterozygosity, PD: power of discrimination, Q: paternity exclusion probability.

ている場合は利用可能であるが、PCRで増幅できないほどくずれている場合には利用不可ということになる。SSRマーカーの開発には多大な労力、時間、お金を要するので、対象としている生物でSSRマーカーが開発されていなければ、近縁のものを試みるのが実用的なアプローチであろう。ただし近縁のもので開発されたSSRマーカーを利用する場合に、一般的に多型性の程度が下がることが知られているので (Ellegren et al., 1997; Rubinsztein et al., 1995), 注意を要する。

クリ属 *Castanea* には、クリの他に、チュウゴクグリ *C. mollissima*, モーバングリ *C. seguinii*, ヘンリーグリ *C. henryi*, ヨーロッパグリ *C. sativa*, アメリカグリ *C. dentata* などの種が存在する。クリで開発した14種類のSSRマーカーのクリ属他種への適用性を検討したところ、モーバングリとヨーロッパグリでは、2, 3のSSRでは多少増幅が弱いもののすべてのSSRで増幅バンドが得られた。ヘンリーグリ, アメリカグリでは、2, 3のSSR以外はすべて増幅バンドが得られた。チュウゴクグリでは、KT006a座で7系統中3系統で増幅がなかった以外は、すべてOKであった。5つの種に属する21系統から、多数の推定対立遺伝子が得られ、そのうちの半数はクリにないものであった。1つの種にのみ観察される推定対立遺伝子も存在し、種の同定に利用できる可能性も示唆された。クリで開発したSSRマーカーは、他種にも適用可能であり、多型頻度も高かった。

ほとんどのSSR座では、5つの種からの対立遺伝子のサイズの幅が同じレンジであった。KT005a座では、クリ, モーバングリ, ヨーロッパグリで170~220 bpの推定対立遺伝子が得られ、一方チュウゴクグリ, ヘンリーグリ, アメリカグリでは380~410 bpの推定対立遺伝子が得られた。KT005a座の各対立遺伝子の塩基配列を比較したところ、同じ場所に由来すると考えられること、及び長さの差は約200塩基の挿入(欠失)に起因することがわかった。

## 5. SSRマーカーをどのような研究に用いるか

### 1) 個体識別への活用

クリで開発した15種類のSSR座について、日本の栽培および在来品種12品種、日本の自生のシバグリ6系統、韓国由来の6品種、韓国の自生シバグリ6系統の合計30品種・系統を用いて解析を行った。15種類のSSRマーカーで、1または2本の増幅バンドが得られ、供試した30品種・系統のすべてを識別できた。15種類のSSR座から合計91の推定対立遺伝子が得られ、最も多いもので16(KT004a), 少ないもので1(KT012a), 平均で6.1であった(表2)。ヘテロ接合度の観察値  $H_o$ 。(ヘテロ型の個体数/全個体数)は、0~0.93であり、平均で0.47であった。ヘテロ接合

度の期待値  $H_e$  ( $H_e = 1 - \sum x_i^2$ ,  $x_i$ は対立遺伝子頻度を表す)は、0~0.89であり、平均で0.50であった。 $H_o$ と $H_e$ の値が大きく異なっている場合、ハーディ-ワインバーグ平衡に達していないか、もしくはヌル対立遺伝子の存在の可能性が示唆される。また、個体の識別能力の指標となるPD (power of discrimination,  $PD = 1 - \sum x_i^2$ ,  $x_i$ は遺伝子型頻度を表す; Kloosterman et al., 1993)は0~0.95であり、平均で0.62であった。父性排斥率  $Q$ はそれぞれ0~0.76で、15座あわせての父性排斥率は0.9992であった。このことから、多型性の高いSSRマーカーを数種類使えば、信頼度の高い個体の識別が可能である。本研究で開発したSSRマーカーは多型性が高く、クリの識別に有効であった。

SSRマーカーを用いることにより親子の判定や個体の識別が確実にできるため、樹木の花粉や種子の散布、遺伝子流動の研究で効率良く利用することができ、また正確な結果を得ることできる。詳しくは、ホオノキ *Magnolia obovata* やイギリスナラ *Quercus robur* を用いて、詳細に解析された報告 (Isagi et al., 2000; Lexer et al., 2000) があるので参照されたい。

### 2) 連鎖地図構築への活用

SSRマーカーは、多型性が高いこと、共優性の遺伝様式を示すこと、ゲノム中に豊富に存在すること、さらに種内や属内で保存性が高いこと等から、連鎖地図の構築に有効に利用されている。イネ (MacCouch et al., 1997), コムギ (Röder et al., 1998), オオムギ (Ramsay et al., 2000) 等の主要作物では多数のSSRマーカーが開発され、連鎖地図の構築に用いられてきた。連鎖地図を用いることにより、質的形質に連鎖するDNAマーカーの取得とマーカー選抜による新品種育成、量的形質 (QTL: quantitative trait loci) の遺伝解析を効率よく行うことが可能になる。さらに、共通のSSRマーカーを橋渡しとして利用することによって、異なる連鎖地図の統合やシンテニー (ゲノムの相似性) 解析にも利用されている。

クリでは、RFLP, RAPD, アイソザイム等を用いて、ヨーロッパグリ連鎖地図の構築 (Casasoli et al., 2001), アメリカグリとチュウゴクグリの雑種を用いた連鎖地図の構築と胴枯れ病抵抗性のQTL解析 (Kubisiak et al., 1997) が報告されている。今後、クリでも多数のSSRの開発とマッピング、有用形質に連鎖する分子マーカーの開発、*Castanea* やブナ科内でのシンテニーの研究が期待される。

### 3) 遺伝的多様性研究への活用

15種類のSSR座について、4つのクリのタイプ、すなわち日本由来の栽培12品種、韓国由来の栽培6品種、日本

由来の自生グリ 6 系統, 韓国由来の自生グリ 6 系統を比較した。多くの対立遺伝子は 4 つのクリタイプで共通に観察され, それぞれのタイプに特異的な対立遺伝子は存在しなかった。さらに, 対立遺伝子の種類とその頻度分布を見たところ, 似かよった分布になった。用いた個体数が少なく, また栽培品種では人為的な選抜がかかっているため, 断言できる結果ではないが, 栽培グリと自生グリの集団間に遺伝的多様性の差異は小さく, 日本由来のクリと韓国由来のクリの間でも遺伝的多様性の差異は小さかった。より詳細な解析については, Tanaka et al. (投稿中) が, 5 種類の SSR 座を用いて, 小樽, 南茅部, 津軽, 青森, 下北等の北日本における自生グリ集団の遺伝的多様性と, 自生グリと栽培グリとの遺伝的關係について解析している。

## 引用文献

- Barreneche, T., Bodenes, C., Lexer, C., Trontin, J. F., Fluch, S., Streiff, R., Plomion, C., Roussel, G., Steinkellner, H., Burg, K., Favre, J. M., Glössl, J. & Kremer, A. 1998. A genetic linkage map of *Quercus robur* L. (pedunculate oak) based on RAPD, SCAR, microsatellite, minisatellite, isozyme and 5S rDNA markers. *Theoretical and Applied Genetics* 97: 1090–1103.
- Callen, D. F., Thompson, A. D., Shen, Y., Phillips, H. A., Richards, R. I., Mulley J. C. & Sutherland, G. R. 1993. Incidence and origin of “Null” alleles in the (AC)<sub>n</sub> microsatellite markers. *American Journal of Human Genetics* 52: 922–927.
- Casasoli, M., Mattioni, C., Cherubini, M. & Villani, F. 2001. A genetic linkage map of European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) based on RAPD, ISSR and isozyme markers. *Theoretical and Applied Genetics* 102: 1190–1199.
- Ellegren, H., Moore, S., Robinson, N., Byrne, K., Ward, W. & Sheldon, B. C. 1997. Microsatellite evolution: a reciprocal study of repeat lengths at homologous loci in cattle and sheep. *Molecular Biology and Evolution* 14: 854–860.
- Goff, S. A., Ricke, D., Lan, T. H., Presting, G., Wang, R., Dunn, M., Glazebrook, J., Sessions, A., Oeller, P., Varma, H., Hadley, D., Hutchison, D., Martin, C., Katagiri, F., Lange, B. M., Moughamer, T., Xia, Y., Budworth, P., Zhong, J., Miguel, T., Paszkowski, U., Zhang, S., Colbert, M., Sun, W. L., Chen, L., Cooper, B., Park, S., Wood, T. C., Mao, L., Quail, P., Wing, R., Dean, R., Yu, Y., Zharkikh, A., Shen, R., Sahasrabudhe, S., Thomas, A., Cannings, R., Gutin, A., Pruss, D., Reid, J., Tavtigian, S., Mitchell, J., Eldredge, G., Scholl, T., Miller, R. M., Bhatnagar, S., Adey, N., Rubano, T., Tusneem, N., Robinson, R., Feldhaus, J., Macalma, T., Oliphant, A. & Briggs, S. 2002. A draft sequence of the rice (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*). *Science* 296: 92–100.
- Hancock, J. M. 1999. Microsatellites and other simple sequences: genomic context and mutational mechanism. *In: Microsatellite: Evolution and Applications* (Goldstein, D. B. & Schlotterer, C., eds.), 1–9. Oxford University Press, Oxford.
- 橋谷田真樹・那谷雅之・安達 登・金武 潤・紀 貴金・勾坂 馨・木村敏夫・氏家欣弥・高木 孝・土屋昌弘. 1997. Multiplex Fluorescent PCR kit を用いた STR の日本人における遺伝子頻度と親子鑑定への応用. *DNA 多型* 6: 152–155.
- Isagi, Y., Kanazashi, T., Suzuki, H., Tanaka, H. & Abe, T. 2000. Microsatellite analysis of the regeneration process of *Magnolia obovata*. *Heredity* 84: 143–151.
- Jarne P. & Lagoda, P. J. L. 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trend in Ecological Evolution* 11: 424–429.
- 勝又義直・勝又 竜・山本敏充・玉木啓二. 2001. 親子鑑定における確率計算の実際と突然変異への対応—STR キットを利用した DNA 鑑定の識別力の検証—. *日本法医学雑誌* 55: 206–216.
- Kloosterman, A. D., Budowle, B. & Daselaar, P. 1993. PCR-amplification and detection of the human D1S80 VNTR locus: Amplification conditions, population genetics and application in forensic analysis. *International Journal of Legal Medicine* 105: 257–264.
- Kubisiak, T. L., Hebard, F. V., Nelson, C. D., Zhang, J., Bernatzky, R., Huang, H., Anagnostakis, S. L. & Doudrick, R. L. 1997. Molecular mapping of resistance to blight in an interspecific cross in the genus *Castanea*. *Phytopathology* 87: 751–759.
- Lexer, C., Heinze, B., Gerber, S., Macalca-Kampfer, S., Steinkellner, H., Kremer, A. & Glössl, J. 2000. Microsatellite analysis of maternal half-sib families of *Quercus robur*, pedunculate oak: II. Inferring the number of pollen donors from the offspring. *Theoretical and Applied Genetics* 100: 858–865.
- MacCouch, S. R., Chen, X., Panaud, O., Temnykh, S., Xu, Y., Cho, Y. G., Huang, N., Ishii, T. & Blair, M. 1997. Microsatellite marker development, mapping and applications in rice genetics. *Plant Molecular Biology* 35: 89–99.
- Ramsay, L., Macaulay, M., degli Ivanissevich, S., MacLean, K., Cardle, L., Fuller, J., Edwards, K. J., Tuvevsson, S., Morgante, M., Massari, A., Maestri, E., Marmiroli, N., Sjakste, T., Ganal, M., Powell, W. & Waugh, R. 2000. A simple sequence repeat-based linkage map of barley. *Genetics* 156: 1997–2005.
- Röder, M. S., Korzun, V., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixier, M. H., Leroy, P. & Ganal, M. W. 1998. A microsatellite map of wheat. *Genetics* 149: 2007–2023.
- Rubinsztein, D. C., Amos, W., Leggo, J., Goodburn, S., Jain, S., Li, S. H. & Margolis, R. L. 1995. Microsatellite evolution: evidence for directionality and variation in rate between species. *Nature Genetics* 10: 337–343.
- 種生物学会, 編. 2001. 森の分子生態学—遺伝子が語る森林の姿. 319 pp. 文一総合出版. 東京.

- Steinkellner, H., Fluch, S., Turetschek, E., Lexer, C., Streiff, R., Kremer, A., Burg, K. & Glössl, J. 1997. Identification and characterization of (GA/CT)<sub>n</sub>-microsatellite loci from *Quercus petraea*. *Plant Molecular Biology* 33: 1093–1096.
- Tanaka, K., Tsumura, Y. & Nakamura, T. 1999. Development and polymorphism of microsatellite markers for *Fagus crenata* and the closely related species, *F. japonica*. *Theoretical and Applied Genetics* 99: 11–15.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. & Zabeau, M. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23: 4407–4414.
- Weber, J. K. & May, P. E. 1989. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *American Journal of Human Genetics* 44: 388–397.
- Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A. & Tingey, S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18: 6531–6535.
- Yamamoto, T., Kimura, T., Sawamura, Y., Kotobuki, K., Ban, Y., Hayashi, T. & Matsuta, N. 2001. SSRs isolated from apple can identify polymorphism and genetic diversity in pear. *Theoretical and Applied Genetics* 102: 865–870.
- Yamamoto, T., Kimura, T., Shoda, M., Ban, Y., Hayashi, T. & Matsuta, N. 2002. Development of microsatellite markers in Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). *Molecular Ecology Notes* 2: 14–16.
- Yamamoto, T., Tanaka, T., Kotobuki, K., Matsuta, N., Suzuki, M. & Hayashi, T. 2003. Characterization of simple sequence repeats in Japanese chestnut. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 78: 197–203.

(2004年1月23日受理)

書評：町田 洋・大場忠道・小野 昭・山崎晴雄・河村善也・百原 新. 2003. 第四紀学. x + 325 pp. ISBN 4-254-16036-4. 朝倉書店, 東京. 価格 7875 円 (税込).

最近の第四紀学の進展は目覚ましく、これらの成果を正確に理解し吸収するだけでもかなりの労力を必要とする。特に、総合科学としての第四紀学は、その守備範囲も広く、自ずと自らの専門分野以外の内容は、かなり怪しい知識となる傾向がある。これまでに、日本語で書かれた第四紀学の教科書・解説書は何冊かあるが、いずれもすでに刊行からかなりの年月が経過しており、現在の第四紀学を紹介するものとしては、極めて不十分なものとなっていた。英語で書かれたものとしては、第四紀学や古気候学の最新の成果を紹介した教科書・解説書がここ数年で相次いで刊行され、欧米でのこの手の書物の充実をうらやましく思いつつ、日本語で読める解説書を切望していた学生・研究者は筆者だけではないだろう。その意味で、本書はまさに刊行を待たれた書物である。

内容は、本書「まえがき」にある編集方針通り、主として第四紀学の研究の基礎的な概念の由来や研究のその原理・方法に力点が置かれている。「第四紀の基礎的な概念」、「第四紀地史の枠組み」、「地殻の変動」、「気候変化」、「地表諸環境の変遷」、「生物群の変遷」、「人類史」、「第四紀研究の問題と展望」の8章から構成され、全体で325ページで、第四紀学について内容・分量ともこれほどのものはかつてない。解説は分かりやすく、随所に最新の成果が紹介されている。論文等で理解しにくい内容については、本書を紐解くことによって、かなり理解が深まるだろう。気候変動の記録としてきわめて重要な氷床の氷の酸素同位体分別に関する解説は、日本語で書かれた第四紀学の教科書としては、多分本書が始めてではないだろうか。図表類は、新に

作成された見やすいものが多く、内容の理解を多いに助けるものとなっている。

本学会の会員に関係の深い植生史関連の記述は、「生物群の変遷」の中に収められている。現在の植生帯・植物化石・古植生・古環境の復元・人と植物群の関係など、バランスの取れた内容である。植物化石については、化石として研究される器官ごとの解説ではなく、各器官の植物化石の総合的なデータをもとに過去の植物群の復元を試みるべきであるという姿勢で一貫している。逆にそれぞれの器官化石が持つ情報特性については、解説されてはいるが、やや手薄になった感がある。植生史研究の初学の読者、専門外の読者が、植物化石の研究に関し理解を得ようとするれば、それぞれの器官化石についても、もう一步踏み込んだ解説があってもよかったと思われる。

図の中には原著のコピーなどでかすれ・歪んで見にくいものも散見されること、かなり偏った内容の部分もあること（例えば、動物群についてはコラムの記述を除けば、哺乳類の解説しかない）などは、惜しまれる点である。

読者の対象は学部学生以上が想定されているが、ある程度広範な基礎知識が要求されるので、学部学生にとってはやや歯ごたえがあるかもしれない。とはいえ、本書は第四紀学の広がりとその最新の知見を把握するには、最良の書であると思う。第四紀学の研究により明らかにされた種々の具体的内容の大部分（おそらく植生史なども）は、「通史編」に委ねられることになるようだが、こちらの方も刊行が待たれる。

(紀藤典夫)