原 著 論 文

SSR マーカーに基づく巨椋池系品種群を含む日本国内花蓮品種の分類

久保中央^{1,2)}・金子明雄^{3,4)}・山本和喜^{3,5)}

¹⁾ 京都府立大学大学院生命環境科学研究科，相楽郡精華町，〒619-0244

²⁾ 京都府農林水産技術センター生物資源研究センター，相楽郡精華町，〒619-0244

³⁾ 京都府立植物園，京都市，〒606-0823

⁴⁾ 現：巨椋池土地改良区，宇治市，〒611-0041

⁵⁾ 元咲くやこの花館，大阪市，〒538-0036

摘 要

ハス (Genus *Nelumbo*) はアジア系のハス (*N. nucifera*) とアメリカ原産のキバナハス (*N. lutea*) に大別される。観賞用ハス品種は花蓮と呼ばれ、国内に約 1000 品種知られているが、それらの類縁関係はほとんど解明されていない。特に、京都府南部の巨椋池およびその干拓地から採取された巨椋池系品種は、来歴や品種間の類縁関係の多くが不明である。本研究では、巨椋池系品種 94 系統を含む国内の代表的花蓮品種 173 系統の類縁関係を、ハス Simple Sequence Repeat (SSR) マーカー 25 遺伝子座の遺伝的変異に基づいて解析した。前報で解析した 47 系統のデータを加えた合計 220 系統について SSR の遺伝子型を基に近隣接合樹を作成した結果、供試系統は 5 つのグループ (I: キバナハス品種グループ, II: キバナハスとの種間雑種グループ, III: 斑蓮を含むグループ, IV: 古代蓮を多く含むグループ, V: その他のグループ) に分類された。巨椋池系品種はグループ III~V に分布し、この品種群が遺伝的に多様な系統を含むことが示された。一方、巨椋池系品種どうしが一つのクラスターを形成する場合もあり、これらの品種は巨椋池にかつて自生していた遺伝的に近縁な集団に由来すると推察される。本研究のデータは、花蓮品種の類縁関係を整理する際の指標として、特に巨椋池系品種の花蓮品種全体における関係を示す有用な情報となり得る。

キーワード

ハス, 花蓮, 品種分類, *Nelumbo*, SSR マーカー

緒 言

ハスはハス科ハス属 (Genus *Nelumbo*) に属する植物で、アジア系 (東洋産) のハス (Sacred or Indian Lotus, *N. nucifera*) とキバナハス (American Lotus, *N. lutea*) の 2 種に大別される。前者はアジア温帯～亜熱帯地域を含むカスピ海以東のユーラシア大陸、およびオーストラリア温帯地域に分布し、後者は北アメリカ大陸に自生する (尾崎 2013)。両者は花卉の色 (*N. nucifera* が赤色や白色に対して *N. lutea* は黄色) や植物体の形態 (*N. lutea* は *N. nucifera* に比べて植物体が小さく、葉はほぼ円形、花卉先端部が丸みを帯びる等) に差異が認められるが容易に交雑する (Wang and Zhang 2005)。ハスは一般に虫媒に

よる他殖を行うため遺伝子のヘテロ性が高く、自家交配・他家交配に関わりなく得られる種子の遺伝子型は種子親とは異なる。一方、ハスは種子繁殖に加えて根茎による栄養繁殖も可能で、この場合は遺伝的に同一系統が維持される。このような 2 種類の繁殖様式によって、ハスは古来からの品種が維持されつつ、新品種が育成されてきた。

ハスの根茎はレンコンとして食用にされるが、観賞用品種の多くは食用 (レンコン) とは別品種で“花蓮”と呼ばれている。わが国における花蓮の品種数は江戸期には約 50 種類、明治期の盛衰を経て約 100 品種であったが、中国や日本における最近の積極的な育種の結果、現在、それぞれの国で約 1000 種類の品種名が記録されている (Wang and Zhang 2005, 京都花蓮研究会 2012)。しかし品種名の混乱が散見され、例えば外観が酷似する異名品種や外観が明確に異なる同名品種が知られる。これは、

編集委員：阿部 純

2014 年 11 月 29 日受領 2015 年 2 月 24 日受理

Correspondence: nkubo@kpu.ac.jp

花蓮品種のほとんどが種苗登録や商標登録を取っておらず、命名の制約がないことが理由の一つである。近年、品種数が増加する中で、日本国内の花蓮品種を把握・整理する活動が行われつつあり、それに当たって客観的な品種識別の基準が必要とされている。

花蓮の品種識別は、これまで主に外観（花色、花卉の条線の有無、花卉数、花托の形態、葉表面の粗滑、花や植物体の大きさ等）に基づいて行われてきた。花色については、紅色から桃色、白色の単色に加えて、白色花卉の先端部に紅色の着色を示す“爪紅（つまべに）”や花卉の周囲に不規則な紅紫色の着色を生じる“斑蓮”といったバリエーションがアジア系の品種に見られる。一方、キバナハスはいずれも黄色単色の花卉を持つ。両種の種間雑種では、黄色と紅色や白色が混合した花色（黄紅および黄白）を示す場合が多い。花色は外観上の大きな特徴で多様な変異を示すことから分類の指標として用いられているが、花色の濃淡は環境や個体の生育状態、開花後日数に大きく影響を受ける。このため、色調が良く似た品種を正確に識別することが困難な場合がある。これは他の外観上の特徴についても同様である。

この他、数値化した花卉の輪郭データ（鄭・田村 2005）、アントシアニン組成やカロテン含量、アイソザイムのような生化学的マーカー（香取ら 2002, Tian *et al.* 2008b）も品種識別に利用されたが、最近では Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP), Internal Transcribed Spacer (ITS), Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR), Simple Sequence Repeat (SSR) などの DNA マーカーに基づく分類が多数報告されている（Kanazawa *et al.* 1998, 黄ら 2003, 香取ら 2003, Guo *et al.* 2007, Han *et al.* 2007, Chen *et al.* 2008, Tian *et al.* 2008b, Kubo *et al.* 2009b, Li *et al.* 2010, Pan *et al.* 2010, 2012, Fu *et al.* 2011, Hu *et al.* 2012, Yang *et al.* 2012）。DNA マーカーのうち SSR は 1-6 塩基を単位とする反復配列の一種で、真核生物のゲノム DNA に多数散在する。SSR は検出が容易で再現性が高い、異なる材料間や研究グループ間での転用が可能、多型性が高い、共優性マーカーである等の特徴から、遺伝子型の判別に広く利用されている（Jones *et al.* 2009）。一方、SSR の開発には反復配列周辺の塩基配列情報が必要なため、ハスでは他植物と比べて SSR の報告は限定的であったが、最近になって多くの SSR 領域が報告されている（Pan *et al.* 2007, 2010, Tian *et al.* 2008a, Kubo *et al.* 2009a, 2009b）。また、ごく最近ハスの全ゲノムが報告され（Ming *et al.* 2013, Wang *et al.* 2013）、SSR を含む DNA マーカーの開発は今後容易になると考えられる。

花蓮における DNA レベルの分類の多くは中国の栽培品種や野生集団における解析が多く、日本国内における類縁関係はあまり解明されていない。国内における花蓮自生地の中でも、京都市伏見区～宇治市、久御山町にま

たがる京都府南部に存在していた巨椋池は、古来から花蓮の名所であった。現在では干拓地となっているが、干拓前後に篤農家によって採取された品種群は“巨椋池系品種”と呼ばれている（金子 2002, 内田 2006）。現在約 100 品種から構成される巨椋池系品種は国内品種の 1 割を占め、また多様な外観を有するため、花蓮品種の類縁関係を理解する上で重要な位置を占める。しかしながら、それらの品種内や他の花蓮品種との類縁関係はほとんど明らかになっていない。

これまでに著者らは、ハスから SSR を単離し、巨椋池系品種の一部を含む花蓮品種の分類を行った（Kubo *et al.* 2009a, 2009b）。本研究では、巨椋池系品種のほぼ全て（94 系統）を含む国内の代表的花蓮品種 173 系統を解析した。これと前報のデータとを合わせた計 220 系統について、ハス SSR マーカーの遺伝子型に基づき樹状図を作成し、類縁関係を調査した。

材料および方法

1. 材料および DNA 抽出

表 1 に示す 220 系統を解析に使用した。これらのうち 153 系統については、内田花蓮園（京都市伏見区）において維持栽培中の系統から 2010 年 7 月に葉を採取し冷蔵保存した。「近江妙蓮 [田中]」については、近江妙蓮保存会の田中米三氏（守山市）の維持系統から 2013 年 8 月に採取した。その他の採取地、各系統の外観上の特徴および来歴は Supplemental Table 1 の通りである。173 系統の試料各 100 mg から DNeasy Plant Mini Kit（Qiagen, Valencia）を用いてゲノム DNA を抽出した。また、前報（Kubo *et al.* 2009b）で解析した 47 系統（表 1, 星印）の遺伝子型データを解析の際に追加した。

2. 遺伝子座の増幅と遺伝子型の決定

抽出した DNA を鋳型に用いて、既報のハス SSR マーカーのうち明瞭な多型を示した 25 種類（NS02, NS001R, NS012, NS020, NS034, NS049, NS077, NS080, NS092, NS124, NS139, NS149, NS160, NS169, NS219, NS224, NS227, NS262, NS292, NS294, NSe01, NSe03, Nelumbo-06, Nelumbo-14, PR09）（Pan *et al.* 2007, Tian *et al.* 2008a, Kubo *et al.* 2009a, 2009b）を選び PCR を行った。PCR 反応は、5'-末端を蛍光色素で標識したプライマー（Sigma-Aldrich, St Louis）を用いて既報（Kubo *et al.* 2009a）に従って行った。AFLP は、Tsuro *et al.* (2005) に従って以下の通り行った。ハスのゲノム DNA（50 ng）を *EcoRI* と *MseI* で切断し、アダプター配列（Vos *et al.* 1995）と連結した。その反応液の 10 倍希釈液を鋳型に用いて PCR による予備増幅を行った。その後、予備増幅産物の 20 倍希釈液を鋳型にして、3'-末端に 3 塩基を付加したプライマー（Vos *et al.* 1995）を用いて選択的 PCR 増幅を行った。増幅産物は、キャピラリー DNA シーケンサー CEQ8800XL

表 1. 供試材料とその区分¹⁾

区分	系統名 ²⁾	区分	系統名 ²⁾	区分	系統名 ²⁾
キバナバスおよびその雑種		75	白花緑あり豊円	144	依水園*
1	アメリカ黄蓮	76	白一重一東 V	145	伊勢神宮蓮
2	ウイスコンシン蓮	77	新久保	146	入江爪紅茶碗
3	キバナバス E-No. 1	78	東北観世	147	印度デリー大学
4	立花キバナバス	79	ドウマ池	148	インド蓮白*
5	バージニア蓮	80	中内池	149	桜蓮 (白川紅蓮)
6	宇藤	81	中遊田白花 [榎本]	150	大鳥井*
7	黄玉杯	82	中遊田紅 [観音堂]*	151	巨椋斑実生*
8	オハイオ蓮*	83	ニギリメシ	152	艶陽天*
9	黒谷白蓮*	84	西池, 東池, 釣池	153	嘉祥蓮*
10	修学院離宮蓮	85	西鴨渠	154	韓国景福宮蓮
11	白小鳩	86	西村の白花	155	漢蓮*
12	遠江	87	二の丸池 (白一重)	156	京都御所
13	富の宝	88	二本柳	157	玉繡蓮*
14	美中紅*	89	濃赤一東 IV	158	漁山紅蓮
15	古幡王子蓮	90	濃紅チューリップ咲	159	錦旗*
16	舞妃蓮*	91	濃紅有糸大型一東 IV	160	錦蕊蓮*
17	マントバ	92	東観世白花	161	樞池白蓮
18	ミセス・スローカム	93	東観世紅 [榎本]	162	皇居和蓮
19	アメリカ白蓮*	94	東観世紅 [東京大学]	163	後楽園蓮
20	輪王蓮*	95	ヒラキネール型	164	黒龍江紅蓮
巨椋池系品種		96	福田農場白	165	御所桜*
21	荒川道西北	97	福田農場紅 [榎本]	166	金輪蓮
22	市田石橋	98	ヘリ基地	167	西門寺青蓮
23	市田北浦	99	槇島白花	168	西福寺白花
24	請所	100	三栖赤	169	篠山城蓮*
25	請所の本紅	101	三栖自生	170	サタ・ブット
26	薄桃色一重一西 IX	102	南大内	171	詩仙堂西湖蓮*
27	大内池赤	103	南大内 中央倉庫	172	浄台蓮
28	大内池白花	104	南観世	173	蜀紅蓮 (西福寺観世)
29	大内池桃花	105	南遊田紅	174	蜀紅蓮 [唐招提寺]
30	大島先 [東京大学]	106	宮西	175	白君子小蓮*
31	大島先 H15	107	宮横 (白花良型)	176	白茶碗 (神原氏白花)
32	大島先白	108	妙蓮寺	177	真如蓮
33	巨椋大池	109	向島新田	178	酔君子
34	巨椋白花大型	110	目川西	179	瑞光蓮
35	巨椋西南部	111	目川東	180	酔妃蓮*
36	巨椋清平	112	モタレ	181	清月蓮
37	巨椋大黒	113	桃色無糸一西 VIII	182	青菱紅蓮*
38	巨椋超大型	114	有糸爪紅淡色一西 II	183	孫文蓮
39	小倉西		斑蓮 (巨椋斑を除く)	184	大紅袍*
40	巨椋の曙	115	一天四海 [東京大学]	185	大日蓮華 26 号
41	巨椋の香	116	一天四海 (斑多) [観音堂]*	186	立田蓮*
42	巨椋の輝	117	伎倍ノ斑	187	中国食実蓮*
43	巨椋の紅輝	118	金華山	188	中日友誼蓮
44	巨椋の彩雨	119	湖山池大名蓮	189	辻井白八重
45	巨椋の瑞光	120	不忍池斑蓮	190	爪紅茶碗
46	巨椋の白鳥	121	城州斑	191	天竺ノ堤*
47	巨椋の蓮池	122	小瀧錦	192	藤壺蓮
48	巨椋の華	123	女皇	193	南米ブラジル
49	巨椋の炎	124	大瀧錦*	194	ネール蓮*
50	巨椋の稔	125	天竺斑蓮*	195	白万万*
51	巨椋ヒラキ	126	八潮路	196	白万葉*
52	巨椋紅霞			197	バリ島蓮*
53	巨椋斑	古代蓮		198	彦根城蓮*
54	相島大木ノ下	127	青森和蓮 (津軽和蓮)	199	姫万里
55	相島白花	128	大賀蓮 [阪本]	200	平等院
56	春日森	129	大賀蓮 [千葉県]	201	白光蓮
57	観世橋又又	130	大賀蓮 [弁天池]	202	二俣城*
58	観世橋又又瑞光型	131	大阪水走出土古代蓮	203	ブッタ蓮
59	祇園田	132	原始蓮*	204	美美ノ華*
60	京滋バイバス巨椋ランプ南	133	中国古代蓮	205	碧台蓮
61	国道 24 号	134	中尊寺蓮	206	ベトナム (白)
62	黒坊の鬼紅	135	日本古代蓮	207	紅がに*
63	黒坊の白花	136	ものつくり大学自生古代蓮	208	紅蜀紅蓮
64	黒坊東 II			209	紅碗蓮*
65	黒坊東 IV	千弁蓮		210	宝鏡寺
66	黒坊東一西 XIII	137	近江妙蓮 [田中]	211	法華蓮*
67	黒坊東一東 III	138	門真の驚蜂	212	毎葉蓮 (華台寺紅)
68	五丁田 (白)	139	玉泉寺千弁蓮	213	毎葉蓮 [東京大学]
69	五丁田下 (赤)	140	宜良千弁	214	誠蓮*
70	佐古外屋敷	141	妙蓮 [北村]	215	宮之華
71	佐野清一郎氏の田	142	妙蓮 [唐招提寺]	216	明光蓮
72	白蓮の白花			217	陽山紅*
73	白蓮東	その他		218	淀姫*
74	白花一東 III	143	赤蓮*	219	ローズブレナ*
				220	若狭又五郎蓮*

¹⁾ 各系統における花弁形態や来歴の情報は Supplemental Table 1 参照.²⁾ *は Kubo *et al.* (2009b) の遺伝子型データを引用.

(Beckman Coulter, Fullerton) で DNA 断片長を測定し、遺伝子型データとした。

3. 遺伝子型データの処理と樹状図の作成

遺伝子型データから Cervus 3.03 (Kalinowski *et al.* 2007) を用いて対立遺伝子数 (N_A)、ヘテロ接合度の観測値 (H_O) および期待値 (H_E)、Polymorphism information content (PIC) を算出した。また、Microsat 1.5 (Minch *et al.* 1998) を用いて系統間の遺伝距離 D_{ps} : proportion of shared alleles (Bowcock *et al.* 1994) を算出した。外群には前報 (Kubo *et al.* 2009b) と同様、「アメリカ黄蓮」を用いた。得られた距離行列から、Phylip 3.67 (Felsenstein 2007) を用いて近隣接合法により樹状図を作成した。樹状図の各ノードの信頼度は、ブートストラップ法 1000 回試行で評価した。

結果および考察

1. SSR マーカーの多型性

使用した 25 遺伝子座の SSR マーカー情報から、Supplemental Table 2 に示す N_A , H_O , H_E , PIC を算出した。それぞれの平均値は $N_A=8.6$, $H_O=0.4246$, $H_E=0.5770$, PIC=0.5211 で、 N_A が大きい以外は前報 (Kubo *et al.* 2009b) とほぼ同様であった。一般に N_A は解析集団の大きさに依存するので、今回 N_A の平均値が大きくなったのは本研究の解析系統数 ($n=220$) が前報の系統数 ($n=98$) より多くなったためであると推測される。

2. SSR マーカーの遺伝子型に基づく近隣接合樹の作成

解析系統は、近隣接合法によって作製した樹状図上で 5 グループ (図 1, グループ I~V) に大別可能であった。キバナハス以外の系統では、樹状図の末端で高いブートストラップ値を示すノードが多数存在したが、50%以上のブートストラップ値で支持される大きなグループは認められなかった。これは、アジア系の花蓮品種どうしが近縁であることと育種過程においてグループ間での交雑が行われたことが原因であると推察される。

各グループに含まれる系統の関係は以下に述べる通りである。

1) グループ I (キバナハス品種グループ)

今回、5 系統のキバナハス品種を解析に使用した (図 1, 橙色字)。それらのうち外群の「アメリカ黄蓮」を除く 4 系統は、他の解析系統とは独立したグループ (グループ I) を形成した。グループ I とそれ以外のグループとの分離は 99.7% のブートストラップ値で支持され、他の花蓮と明確に区別された。この結果は、以前の報告 (黄ら 2003, 香取ら 2003, Han *et al.* 2007, Tian *et al.* 2008b, Kubo *et al.* 2009a, 2009b, Li *et al.* 2010) と同様であった。これは、キバナハスとアジア系ハスの両種が遺伝的に大きく異なることを強く示唆する。前述のように両種の分布域

は重ならないため、地理的隔離が、観察された遺伝的差異を生じさせた一因であると推察される。ただし両種は交雑可能であるため、生殖隔離に至るほどの差異ではないと考えられる。

2) グループ II (キバナハスとアジア系品種との種間雑種グループ)

キバナハスとアジア系ハスは容易に交雑し後代にも稔性があることから、これまでに種間雑種が多数育成されている。本研究では 15 系統の種間雑種由来の品種を解析に使用した。これらのうち 13 系統は、キバナハス品種 (グループ I) およびアジア系品種 (グループ III~V) と分離し、両者の中間に位置する別グループ (グループ II) を形成した (図 1, 赤字)。ただしその分離は 50% 以上のブートストラップ値では支持されなかった。これはグループ II がキバナハスとアジア系のハスの遺伝子型を複雑に併せ持った結果であるためと推察される。

グループ II には、両種の F_1 品種とその後代の品種が含まれる。後者のうち「宇藤」と「白小鳩」、「遠江」、「富の宝」は F_1 をアジア系品種と交雑した後代であるため、キバナハスの遺伝的背景が理論上 1/4 に減少しているが、それにも関わらずアジア系品種とは別グループに位置した。これとは対照的に、「アメリカ白蓮」と「輪王蓮」はアジア系品種のグループに位置した (図 1, グループ III 上端部およびグループ V 下部, 茶色字)。これら 2 系統には Kubo *et al.* (2009b) で認められたキバナハス特異的な遺伝子型が全く検出されなかった。また、これらの系統は、白花・一重咲きのアジア系品種と比べると外観上の違いが見当たらないか、あるいは、白色花卉の基部に黄色みがある程度で、キバナハスに由来すると考えられる特徴が認められなかった (データ省略)。以上のことから、両系統では交雑ミスあるいはアジア系品種の別系統との混同が生じた可能性がある。

3) グループ III (斑蓮を含むグループ)

斑蓮品種では、「一天四海 [東京大学]」、「一天四海 (斑多) [観音堂]」、「巨椋斑」、「金華山」、「湖山池大名蓮」、「不忍池斑蓮」、「城州斑」、「女皇」、「天竺斑蓮」の 9 系統が単一クラスターを形成した (図 1, グループ III 上部, 紫色字)。これらの品種には「篠山城蓮」と、「西門寺青蓮」-「白万万」-「辻井白八重」からなるクラスターが隣接した。一方、残りの斑蓮品種 (「伎倍ノ斑」、「小瀧錦」、「大瀧錦」、「八潮路」) は、同じグループ内で別クラスターを形成した (図 1, グループ III 下端部, 紫色字)。斑蓮の各クラスターはいずれも 100% のブートストラップ値で支持された。以上のことから、国内の斑蓮品種には、遺伝的背景の異なる 2 つのグループが存在することが強く示唆される。これは、「一天四海 [東京大学]」を含むグループが一重咲き、「大瀧錦」を含むグループが八重咲きであり、各グループの形質と合致する。

4) グループ IV (古代蓮を多く含むグループ)

「大賀蓮」を始め、日本各地の地層や遺跡などからハス

図 1. SSR マーカー 25 遺伝子座に基づく花蓮品種の近隣接合樹.

橙色, 赤色, 緑色, 青色, 紫色, 桃色, 茶色字は, キバナハス品種, キバナハスとアジア系品種の種間交雑品種, 古代蓮品種, 巨椋池系品種, 斑蓮品種, 千弁蓮, キバナハスとの種間交雑に疑いのある品種をそれぞれ示す. 樹状図のノード付近の数値はブートストラップ値 (>50%). 樹状図右側のローマ数字は, 推定された 5 つのグループ (I-V) を示す. 最下部のスケールバーは遺伝距離.

の種子が発掘され、古代蓮と総称されている（榎本ら 2004）。今回、「大賀蓮」3系統（「大賀蓮 [千葉県]」、「大賀蓮 [弁天池]」、「大賀蓮 [阪本]」）と他の古代蓮6系統（「青森和蓮（津軽和蓮）」、「大阪水走出土古代蓮」、「原始蓮」、「中国古代蓮 [内田]」、「日本古代蓮」、「ものつくり大学自生古代蓮」）を解析した。これらのうち「大賀蓮」3系統と「中国古代蓮」は、「バリ島蓮」と「桃色無条—西Ⅷ」と共に単一クラスターを形成した（図1, グループ IV 中央部, 緑色字）。「大賀蓮」の系統と「中国古代蓮」が樹状図上で近接した結果は、他グループによる以前の報告（Kanazawa *et al.* 1998, Han *et al.* 2007, Yang *et al.* 2012）と一致した。「青森和蓮（津軽和蓮）」、「日本古代蓮」、「ものつくり大学自生古代蓮」は、「大賀蓮」を含むクラスターには含まれなかったが、同じくグループ IV 内に位置した（図1, グループ IV 下部, 緑色字）。一方、「大阪水走出土古代蓮」と「原始蓮」は別グループの別クラスターに含まれた（図1, グループ V 上部, 緑色字）。

「大賀蓮」は、弥生時代の地層から発掘された単一種子に由来する品種で、絶滅防止のため複数に分根された（北村・藤川 1974）。今回供試した3系統の「大賀蓮」は、NS149 と NS169, NS224 の3箇所所遺伝子型が異なっていた（Supplemental Table 3, 水色ハイライト）。これ以外の22箇所所遺伝子型は全てホモ接合型で、3系統間で差異は認められなかった。阪本（2014）は、「大賀蓮」の自殖後代には親系統と比べて大きな形質の差がないため、遺伝的な固定が進んだ状態にあると推測した。そのため、本品種は栄養繁殖だけでなく、種子繁殖による系統維持もなされてきた可能性が考えられる。今回の SSR 分析の結果は、この可能性を強く支持している。このことから、後代においても遺伝子型がほとんど変わらず、オリジナルの「大賀蓮」と実生由来の後代との区別が困難なため、混入が生じた後に同一栄養系として同一名称が付けられてしまった可能性が推察される。

5) グループ V（その他）

このグループには合計 78 系統が含まれ、グループ IV と他とはほぼ同じ大きさのグループを形成した。本グループの半数以上（49 系統）が巨椋池系品種であった（図1, グループ V, 青色字）。

3. 品種間の類縁関係

表2に示す系統間で、調査した25箇所所の SSR で同一または極めて近い遺伝子型が認められた。逆に、同一遺伝子型にも関わらず、同名異品種とされているケースも認められた。

1) 斑蓮品種

前述のように、斑蓮品種9系統（「一天四海 [東京大学]」、「一天四海（斑多）[観音堂]」、「巨椋斑」、「金華山」、「湖山池大名蓮」、「不忍池斑蓮」、「城州斑」、「女皇」、「天竺斑蓮」）は、SSR の遺伝子型が同一で樹状図上において単一クラスターを形成した。一方、金子（2012）は、

斑蓮品種の間には花卉における紅紫色素の着色程度に差異が観察され、着色が多い品種と少ない品種に2分されること、この区分に応じて花托や種子の形態も2分されることを報告している。つまり、斑蓮には、SSR による解析では区別できないものの、外部形態に差異が見られる系統が存在する。そこで、SSR よりも一度に多数のバンドを比較可能な DNA マーカーである AFLP を用いて、遺伝子型をさらに調査した。上記9系統のうち7系統を用いて、24 プライマー組み合わせから得られた明瞭なバンド 557 個を系統間で比較した。しかしながら、差異は認められなかった（データ省略）。SSR および AFLP の結果から、少なくとも解析した斑蓮7系統間には DNA レベルの差は全く検出されなかった。

花色に関する色素のうち、アントシアニンの発現は温度や光条件などの環境要因による影響を受けることが広く知られている（Chalker-Scott 1999）。一方、花卉色素はしばしば可逆的な制御を受けることがアサガオやペチュニア等で報告されている（Nakayama 2011）。これらの植物種では、トランスポゾンの挿入や RNA 干渉によって色素の生合成に関わる遺伝子の発現が阻害されることで花卉色に変化が生じる。この阻害は系統によっては不安定で、抑制が部分的に解除されることがある。ハスにおいて遺伝子レベルでの類似の報告は知る限りないが、斑蓮品種には“染め分け”と呼ばれる花卉色の変異が生じることが知られている（金子 2012）。これは、単一の花が持つ花卉のうち数枚〜5割程度の枚数において、本来は花卉先端部にしか生じない色素が花卉全体に及ぶ変異である。この知見は、機構は不明であるが、斑蓮品種における花卉の着色程度が可逆的である可能性を示唆する。

2) 千弁蓮

花蓮品種のうち千弁蓮は、雄蕊と雌蕊が花卉化し2000枚以上の花卉を持つ品種の総称である。千弁蓮からは種子も花粉もできないため、交雑後代を得ることができない。このため、千弁蓮は栄養繁殖によってのみ維持される。Zhang and Wang（2013）によれば、千弁蓮は中国の玉泉寺（湖北省当陽）と亭林公園（江蘇省昆山）、雲南省宜良県の3箇所所由来する。国内に存在する千弁蓮のうち「近江妙蓮」は、7世紀に中国から伝来したと記録されている（中川原 2002）。本研究では6系統の千弁蓮（「近江妙蓮 [田中]」、「門真の驚蜂」、「玉泉寺千弁蓮」、「宜良千弁」、「妙蓮 [北村]」、「妙蓮 [唐招提寺]」）を解析した。なお、「門真の驚蜂」は、門真市でレンコン用に栽培されている品種から、千弁蓮タイプの形質を示す系統を分離したものである（山本 2014）。

解析の結果、「門真の驚蜂」—「妙蓮 [北村]」、および、「近江妙蓮 [田中]」—「玉泉寺千弁蓮」—「宜良千弁」の組み合わせで、それぞれ遺伝子型が完全またはほぼ同一で、樹状図上でクラスターを形成した。前者は「妙蓮 [唐招提寺]」と共にグループ IV、後者はグループ V に含まれた（図1, グループ IV 中央部およびグループ V

表 2. 本研究における 25 遺伝子座の SSR で同一または極めて近い遺伝子型を示した系統

区分	系統名	形質	遺伝子型の同一性 ¹⁾	グループ ²⁾
斑蓮	一天四海 [東京大学], 一天四海 (斑多) [観音堂], 巨棕斑, 金華山, 湖山池大名蓮, 不忍池斑蓮, 城州斑, 女皇, 天竺斑蓮	斑蓮・一重	完全に同一	III
	伎倍ノ斑, 八潮路	斑蓮・八重	完全に同一	III
	小灑錦, 大灑錦	斑蓮・八重	それぞれ 1 箇所以外 上記と同一	III
千弁蓮	門真の驚蜂, 妙蓮 [北村]	桃, 淡紅白・千弁	完全に同一	IV
	近江妙蓮 [田中], 宜良千弁	紅, 桃・千弁	完全に同一	V
	玉泉寺千弁蓮	桃・千弁	1 箇所以外上記と同一	V
白色系	荒川道西北, 大島先白, 相島白花, 白蓮の白花, 孫文蓮, ドウマ池, 中内池, 日本古代蓮, モタレ	白・一重 (紅, 桃色を一部含む)	完全に同一	IV
	祇園田	白・一重	1 箇所以外上記と同一	IV
	白一重一東 V, 宮西	白・一重	完全に同一	V
	西福寺白花, 白茶碗 (神原氏白花), 真如蓮	白・一重	完全に同一	V
	西村の白花, 二の丸池 (白一重)	白・一重	完全に同一	V
	アメリカ白蓮, ベトナム (白)	白・一重	1 箇所以外同一	III
	碧台蓮, 白万葉	白・八重	完全に同一	III
	詩仙堂西湖蓮	白・八重	1 箇所以外上記と同一	III
	辻井白八重, 白万万	白・八重	1 箇所以外同一	III
爪紅	入江爪紅茶碗, 韓国景福宮蓮	爪紅・一重	完全に同一	IV
	金輪蓮, 大日蓮華 26 号	爪紅・一重	完全に同一	V
紅, 桃色系	爪紅茶碗, 宝鏡寺	爪紅・一重	完全に同一	V
紅, 桃色系	薄桃色一重一西 IX, 巨棕清平, 巨棕の蓮池, 観世橋又又, 京滋バイパス巨棕ランプ南, 国道 24 号, 佐野清一郎氏の田, 白蓮東, ニギリメン, 西鴨巣, 南観世, 向島新田, 目川東	桃・一重	完全に同一	IV
	桜蓮 (白川紅蓮), 漁山紅蓮, 浄台蓮, 藤壺蓮, 福田農場紅 [榎本], 毎葉蓮 [東京大学]	紅, 桃・一重	完全に同一	IV
	巨棕西南部, 佐古外屋敷	桃・一重	完全に同一	V
	中遊田紅 [観音堂], 東観世紅 [榎本]	桃・一重	完全に同一	V
	バリ島蓮, 桃色無条一西 VIII	紅, 桃・一重	完全に同一	IV
	ものつくり大学自生古代蓮	桃・一重	1 箇所以外下記と同一	IV
	市田北浦, 南大内	桃・一重	完全に同一	IV
	大内池桃花, 南大内 中央倉庫	桃・一重	完全に同一	IV
	西池, 東池, 釣池	桃・一重	1 箇所以外下記と同一	IV
	皇居和蓮, 三栖赤	桃・一重	完全に同一	IV
	黒坊の鬼紅, 黒坊東一西 XIII	桃・一重	1 箇所以外同一	V

¹⁾ データの詳細は Supplemental Table 3 参照.

²⁾ グループ名は図 1 参照.

上端部, 桃色字). 結果として, 今回解析した千弁蓮は, 樹状図上で 3 箇所に分離した.

3) 白花品種および爪紅品種

巨棕池系品種のうち白花・一重咲きの特徴を持つ 5 系統 (「相島白花」, 「祇園田」, 「ドウマ池」, 「ヘリ基地」, 「モタレ」) は外観が類似している (金子 2002). これらのうち, 「相島白花」と「祇園田」, 「ドウマ池」, 「モタレ」は, 他の 6 系統 (表 2) と共に, 完全またはほぼ同一の遺伝子型であった. 一方, 「ヘリ基地」は, 「ドウマ池」等とは遺伝子型の同一性が低かった. また, 白花・八重咲きの系統では, 「碧台蓮」と「白万葉」が同一遺伝子型を示した (図 1, グループ III 中央部). これら以外にも類似の遺伝子型を持つ白花・一重咲きの組み合わせが多数認められた (表 2).

爪紅品種のうち, 「入江爪紅茶碗」 - 「韓国景福宮」, 「金輪蓮」 - 「大日蓮華 26 号」, 「爪紅茶碗」 - 「宝鏡寺」

のグループは, それぞれ同一遺伝子型で, 樹状図上においてクラスターを形成した (図 1, グループ IV 中央部およびグループ V 下部).

4) 紅花品種

「毎葉蓮」は, 関東と関西で形質が異なり, 同名異品種の可能性が花蓮園芸家の間で指摘されていた. 解析の結果, 関東の系統「毎葉蓮 [東京大学]」は, 「桜蓮 (白川紅蓮)」や「漁山紅蓮」, 「浄台蓮」, 「藤壺蓮」, 「福田農場紅」と同一遺伝子型で, 98.4% のブートストラップ値で支持される単一クラスターを形成した (図 1, グループ IV 上部). 一方, 関西の系統「毎葉蓮 (華台寺紅)」は, 「毎葉蓮 [東京大学]」等と 21 箇所で遺伝子型が異なり, 樹状図上でも別のグループに位置した (図 1, グループ V 下端部). これらの結果から, 2 つの「毎葉蓮」は別系統の同名異品種であることが明らかになった.

巨棕池系品種のうち, 「東観世紅 [榎本]」と「東観世

紅「東京大学」は、25箇所中11箇所で遺伝子型が異なっていた。ただし、各SSRにおける対立遺伝子対の一方を常に共有していたので、類縁関係にあると推察される。両者は樹状図上に隣接した(図1, グループV中央部)。「東観世紅[榎本]」は「中遊田紅[観音堂]」と同一遺伝子型で、樹状図上でクラスターを形成した。

4. 巨椋池系品種の分布

巨椋池系品種はグループIII~Vに分布し(図1, 青字), この品種群が遺伝的に多様な系統を含むことが示された。グループ内における分布は、グループIIIでは4系統(「巨椋超大型」, 「巨椋の輝」, 「巨椋の紅輝」, 「巨椋斑」)と極端に少なかった。一方, グループVでは、グループ内に49系統の巨椋池系品種が散在した。グループIVでは、41系統の巨椋池系品種が、グループ内に散在するものと、「ドウマ池」~「モタレ」や「南観世」~「白蓮東」のように多数の系統とクラスターを形成するものとに分かれた(図1, グループIV下端部, 青字)。これら2つのクラスターを構成する系統は、それぞれ同一遺伝子型で各遺伝子座が全てホモ接合型であった(Supplemental Table 3)。後者のクラスターは形質も桃色花・一重で共通だが、前者のクラスターは白花と紅色~桃色系の花を持つ系統が混在した(表2)。

三木(1927)は、干拓前の巨椋池における植生を調査し、池の水深が浅い箇所にハスの植物体が広く分布することを報告した。この分布は、干拓前後における篤農家による巨椋池系品種の採取地とおおむね一致する(金子2002)。巨椋池系品種の多くは干拓後の水田から出芽した幼芽や耕起時に掘り起こされた種子を回収したものであり、これらは干拓前に自生していた系統の実生後代に相当する(なお、干拓は基本的に池の水を排水し、部分的な整地が行われたただけであったため、巨椋池系品種の回収箇所は、かつての自生地との間に大きな地理的齟齬はないと推測される)。上記において緊密なクラスターを形成した系統群は、そのホモ接合度から、干拓前に自生していた遺伝的に均一な集団に由来すると推察される。クラスター内に異なる花色が混在していた系統群(「ドウマ池」~「モタレ」)については、(干拓前に自生していた系統の形質や遺伝子型が不明なため断定できないが)かつての集団が持っていた花色の形質が後代において分離したためかも知れない。

樹状図上に散在したその他の巨椋池系品種の系統については、干拓前の集団が持っていた形質が後代で分離したことが推察されるが、以下の知見から、巨椋池には元々複数種類の異なる形質を持ったハスの系統が存在していたことが知られている。巨椋池には古代(6世紀頃)からハスが自生していたとされ、干拓前には、池岸やや内部と中央部の10箇所以上にハスが広範囲に分布していた(三木1927)。また、過去の観蓮会の記録では、少なくとも2~5種類の花色のハスが自生していたと記されている

(金子2002)。巨椋池系品種の多様性の理由としては、元来自生していた系統に加えて、近隣の篤農家によって他地域から食用や観賞用としての形質が優れた系統が持ち込まれた可能性が指摘されている(内田2006)。例えば「巨椋斑」と「一天四海」の関係のような、特定の既存品種と緊密な類縁関係を示す巨椋池系品種は、このような由来にあるのかも知れない。干拓前の巨椋池に自生していた花蓮の多様性を直接確認する方法は現在ではないが、巨椋池系品種が樹状図において、偏りはあるものの、アジア系品種のグループ全体に広く分布することから、この品種群が様々な遺伝的背景を持つ複数の系統に由来することが強く示唆される。

本研究では、主要な国内花蓮品種220系統について、SSRマーカーに基づく類縁関係を明らかにした。今回の供試系統数は、著者らが知る限り最多の国内花蓮品種を含む。樹状図上における各系統の配置は、以前の国内品種における報告(Kanazawa *et al.* 1998, 香取ら2003)と一致しない場合も認められるが、これは解析系統の種類および数と使用したマーカーが異なるためであると推察される。本研究のいくつかの事例で示されたように、SSRを用いたDNAレベルの解析は、全体的な類縁関係の解明に加えて、これまで異名同品種や同名異品種、来歴が疑われていた品種の識別に有効なツールである。現在、園芸家によって新たな花蓮品種が育成され続けている。本研究のデータは、花蓮品種の類縁関係を整理する際の指標として、特に巨椋池系品種の花蓮品種全体における関係を示す有用な情報となり得る。加えて、今後の花蓮新品種の育種や品種の維持にも有益な情報を提供するであろう。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり試料を提供戴いた東京大学大学院農学生命科学研究科附属生態調和農学機構緑地植物実験地、中川原正美氏・田中米三氏、花蓮品種の維持に携わった京都花蓮研究会および日本花蓮協会(当時)会員、実験補助を担当した笠岡寿子氏に感謝の意を表す。本研究は、平成22-23年度京都府立大学地域貢献型特別研究(ACTR)の助成を受けて行われた。

引用文献

- Bowcock, A.M., A. Ruiz-Linares, J. Tomfohrde, E. Minch, J.R. Kidd and L.L. Cavalli-Sforza (1994) High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature* 368: 455-457.
- Chalker-Scott, L. (1999) Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *Photochem. Photobiol.* 70: 1-9.
- Chen, Y., R. Zhou, X. Lin, K. Wu, X. Qian and S. Huang (2008) ISSR analysis of genetic diversity in sacred lotus cultivars. *Aquat. Bot.*

- 89: 311–316.
- 榎本百利子・南 定雄・増田雅枝・加藤和弘 (2004) 東京大学緑地植物実験所で保存する花ハス遺伝資源の特性. 育種学研究 6: 205–210.
- Felsenstein, J. (2007) PHYLIP (Phylogeny Inference Package) Version 3.67. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle.
- Fu, J., Q. Xiang, X. Zeng, M. Yang, Y. Wang and Y. Liu (2011) Assessment of the genetic diversity and population structure of lotus cultivars grown in China by amplified fragment length polymorphism. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 136: 339–349.
- Guo, H.B., S.M. Li, J. Peng and W.D. Ke (2007) Genetic diversity of *Nelumbo* accessions revealed by RAPD. Genet. Resour. Crop Evol. 54: 741–748.
- Han, Y.C., C.Z. Teng, F.H. Chang, G.W. Robert, M.Q. Zhou, Z.L. Hu and Y.C. Song (2007) Analyses of genetic relationships in *Nelumbo nucifera* using nuclear ribosomal ITS sequence data, ISSR and RAPD markers. Aquat. Bot. 87: 141–146.
- Hu, J., L. Pan, H. Liu, S. Wang, Z. Wu, W. Ke and Y. Ding (2012) Comparative analysis of genetic diversity in sacred lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) using AFLP and SSR markers. Mol. Biol. Rep. 39: 3637–3647.
- 黄 建成・田辺賢二・板井章浩 (2003) ISSR 分析によるハナハスの品種識別. 園学研 2: 259–264.
- Jones, N., H. Ougham, H. Thomas and I. Pasakinskiene (2009) Markers and mapping revisited: finding your gene. New Phytol. 183: 935–966.
- Kalinowski, S.T., M.L. Taper and T.C. Marshall (2007) Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. Mol. Ecol. 16: 1099–1106.
- Kanazawa, A., S. Watanabe, T. Nakamoto, N. Tsutsumi and A. Hirai (1998) Phylogenetic relationships in the genus *Nelumbo* based on polymorphism and quantitative variations in mitochondrial DNA. Genes Genet. Syst. 73: 39–44.
- 金子明雄 (2002) “花蓮百華” ヨシダ印刷, 京都.
- 金子明雄 (2012) 鳥取県湖山池の大名蓮. 日本植物園協会誌 46: 164–175.
- 香取正人・渡辺慶一・野村和成・米田和夫 (2002) ハナハス花弁のアントシアニンとカロテノイド色素の品種間差異. 園学雑 71: 812–817.
- 香取正人・野村和成・渡辺慶一・米田和夫 (2003) RAPD によるハナハス品種の遺伝的関係. 園学研 2: 153–156.
- 北村文雄・藤川 寛 (1974) 大賀蓮成立に関する研究. 東京大学農学部園芸実験所研究報告 7: 79–98.
- Kubo, N., M. Hirai, A. Kaneko, D. Tanaka and K. Kasumi (2009a) Development and characterization of simple sequence repeat (SSR) markers in the water lotus (*Nelumbo nucifera*). Aquat. Bot. 90: 191–194.
- Kubo, N., M. Hirai, A. Kaneko, D. Tanaka and K. Kasumi (2009b) Classification and diversity of sacred and American *Nelumbo* species: the genetic relationships of flowering lotus cultivars in Japan using SSR markers. Plant Genet. Resour. 7: 260–270.
- 京都花蓮研究会 (2012) “花蓮品種一覧” 京都花蓮研究会, 京都.
- Li, Z., X. Liu, R.W. Gituru, N. Juntawong, M. Zhou and L. Chen (2010) Genetic diversity and classification of *Nelumbo* germplasm of different origins by RAPD and ISSR analysis. Sci. Hortic. 125: 724–732.
- 三木 茂 (1927) 巨椋池の植物生態. 京都府史跡勝地調査会報告 8: 81–145.
- Minch, E., A. Ruiz-Linares, D. Goldstein, M. Feldman and L.L. Cavalli-Sforza (1998) Microsat (Version 1.5): A Computer Program for Calculating Various Statistics on Microsatellite Allele Data. Department of Genetics, School of Medicine, Stanford University, Stanford.
- Ming, R., R. Vanburen, Y. Liu, M. Yang, Y. Han, L.T. Li, Q. Zhang, M.J. Kim, M.C. Schatz, M. Campbell *et al.* (2013) Genome of the long-living sacred lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.). Genome Biol. 14: R41.
- 中川原正美 (2002) “近江妙蓮” サンライズ出版, 彦根.
- Nakayama, M. (2014) A research strategy to understand the mechanisms that govern flower color pattern formation. JARQ 48: 271–277.
- 尾崎行生 (2013) レンコン=植物としての特性, “農業技術大系野菜編第 10 巻マメ類・イモ類・レンコン” 農山漁村文化協会, 東京. 1–12.
- Pan, L., Z. Quan, S. Li, H. Liu, X. Huang, W. Ke and Y. Ding (2007) Isolation and characterization of microsatellite markers in the sacred lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.). Mol. Ecol. Notes 7: 1054–1056.
- Pan, L., Q. Xia, Z. Quan, H. Liu, W. Ke and Y. Ding (2010) Development of novel EST-SSRs from sacred lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn) and their utilization for the genetic diversity analysis of *N. nucifera*. J. Hered. 101: 71–82.
- Pan, L., Z.W. Quan, J.H. Hu, G.Y. Wang, S.N. Liu, Y. He, W.D. Ke and Y. Ding (2012) Genetic diversity and differentiation of lotus (*Nelumbo nucifera*) accessions assessed by simple sequence repeats. Ann. Appl. Biol. 159: 428–441.
- 阪本尚生 (2014) 真正なる大賀蓮を求めて, “蓮友～蓮の研究～” 京都花蓮研究会, 京都. 22–23.
- Tian, H.L., X.Q. Chen, J.X. Wang, J.H. Xue, J. Wen, G. Mitchell and S.L. Zhou (2008a) Development and characterization of microsatellite loci for lotus (*Nelumbo nucifera*). Conserv. Genet. 9: 1385–1388.
- Tian, H.L., J.H. Xue, J. Wen, G. Mitchell and S.L. Zhou (2008b) Genetic diversity and relationships of lotus (*Nelumbo*) cultivars based on allozyme and ISSR markers. Sci. Hortic. 116: 421–429.
- Tsuro, M., K. Suwabe, N. Kubo, S. Matsumoto and M. Hirai (2005) Construction of a molecular linkage map of radish (*Raphanus sativus* L.), based on AFLP and *Brassica*-SSR markers. Breed. Sci. 55: 107–111.
- 内田又夫 (2006) “内田又夫選集 巨椋池の蓮” 西田書店, 東京.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper *et al.* (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Res. 23: 4407–4414.
- Wang, Q. and X. Zhang (2005) “Lotus Flower Cultivars in China”, China Forestry Publishing House, Beijing.
- Wang, Y., G. Fan, Y. Liu, F. Sun, C. Shi, X. Liu, J. Peng, W. Chen, X. Huang, S. Cheng *et al.* (2013) The sacred lotus genome provides insights into the evolution of flowering plants. Plant J. 76: 557–567.
- 山本和喜 (2014) 河内レンコンと珍品種の発見, “蓮友～蓮の研究～” 京都花蓮研究会, 京都. 56–60.
- Yang, M., Y. Han, L. Xu, J. Zhao and Y. Liu (2012) Comparative analysis of genetic diversity of lotus (*Nelumbo*) using SSR and

- SRAP markers. *Sci. Hortic.* 142: 185–195.
- Zhang, X. and Q. Wang (2013) Discovery, distribution and application of lotus Qianban (all-petalled) group. *Chinese Landsc. Architect.* 29: 98–101.
- 鄭 澤宇・田村義保 (2005) P型フーリエ記述子を用いたハナハス花弁先端部の輪郭線による品種識別. *園学研* 4: 385–390.

Breeding Research 17: 45–54 (2015)

Classification of flowering lotus cultivars in Japan, including “Ogura-ike group cultivars”, based on SSR markers

Nakao Kubo^{1,2)}, Akio Kaneko^{3,4)} and Kazuki Yamamoto^{3,5)}

¹⁾ Graduate School of Life and Environmental Sciences, Kyoto Prefectural University, Seika, Kyoto 619-0244, Japan

²⁾ Biotechnology Research Department, Kyoto Prefectural Technology Center for Agriculture, Forestry and Fisheries, Seika, Kyoto 619-0244, Japan

³⁾ Kyoto Botanical Garden, Kyoto 606-0823, Japan

⁴⁾ Present address: Oguraike Land Improvement District, Uji 611-0041, Japan

⁵⁾ Formerly Sakuya Konohana Kan, Osaka 538-0036, Japan

The lotus (genus *Nelumbo*) is classified to the sacred (*N. nucifera*) and American lotuses (*N. lutea*). Lotuses for ornamental flowers, called flowering lotuses, are recorded about 1000 cultivars in Japan, but their relationships are unclear. Especially, the origins and inter-cultivar relationships are mostly unknown for “Ogura-ike group cultivars” that were collected from the lake Ogura-ike or its reclaimed land at southern part of Kyoto Prefecture. In this study, 173 representative flowering lotus cultivars in Japan, including 94 lines of Ogura-ike group cultivars, were analyzed using 25 loci of simple sequence repeat (SSR) markers. Furthermore, a neighbor-joining phylogram was constructed based on the SSR genotypes, using total 220 lines after addition of the previously analyzed data from 47 lines. The resultant phylogram was composed of five following groups. I: a group composed of American lotuses, II: a group composed of hybrids between American and sacred lotuses, III: a group including madara-basu (lotuses with white petals irregularly fringed with purple-red spots), IV: a group including several ancient lotuses (lotuses derived from seeds excavated from ancient deposits or ruins), and V: miscellaneous group. Ogura-ike group cultivars were distributed into groups III–V, suggesting that these cultivars are derived from multiple diverse lines. In contrast, several lines of Ogura-ike group cultivars formed their own cluster, which might have been derived from closely related genotypes that grew in Ogura-ike in the past. The data in this study would provide valuable information as one of standards for classification of flowering lotus cultivars, especially for unraveling the relationships of Ogura-ike group cultivars in flowering lotuses.

Key Words: cultivar classification, flowering lotus, *Nelumbo*, SSR marker.