

機関番号 : 10101

研究種目 : 基盤研究 (C)

研究期間 : 2008~2010

課題番号 : 20580001

研究課題名 (和文) ホウレンソウにおける間性形質の遺伝的決定機構の解明

研究課題名 (英文) Studies on genetic mechanisms controlling expression of the monoecious character in spinach

研究代表者

小野寺 康之 (ONODERA YASUYUKI)

北海道大学・大学院農学研究院・助教

研究者番号 : 80374619

研究成果の概要 (和文) : ホウレンソウは雌雄異株として知られているが, 雌雄両方の機能を備えた間性株(雌雄同株)も頻繁に見出される. これまでに同定してきた間性遺伝子が SO4 と名付けられた核マイクロサテライトマーカーと密接に連鎖(4.3 cM)していることを見出した. さらに, SO4 は雌雄性を決定づける一組の対立遺伝子(XおよびY)から 1.6 cM の距離に座乗していることも判った. 即ち, 本研究によって間性遺伝子およびY遺伝子は密接な連鎖もしくは対立関係にあることが明らかになった.

研究成果の概要 (英文) : Spinach is generally considered as a dioecious species, while monoecious individuals with both sex functions can be found in certain varieties and lines. We showed that a single, incompletely dominant gene is responsible for the monoecious character. The gene was found to be located at a distance of 4.3 cM from microsatellite marker SO4, which mapped 1.6 cM from X/Y controlling sexual dimorphism in dioecious lines. This indicates that the monoecious gene is allelic to or closely linked to the X/Y gene pair.

交付決定額

(金額単位: 円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野: 育種学

科研費の分科・細目: 農学・育種学

キーワード: 雌雄性

1. 研究開始当初の背景

(1) ホウレンソウは雌雄異株の植物として一般に知られているが, 雄株および雌株に加えて多様な間性株(雌雄同株)が見出される。

(2) ホウレンソウの雌および雄に関しては, XおよびYと命名された遺伝子対によって決定づけられている。

(3) 筆者は間性固定系統 03-336 を用いた遺伝

学的解析によって、間性が不完全優性に作用する単一遺伝子(間性遺伝子)によって支配されることを明らかにしていた。

2. 研究の目的

ハウレンソウの間性遺伝子および雄性決定遺伝子(Y)に関するゲノム上の位置関係を解明する。

3. 研究の方法

(1) 雌雄異株系統 03-009 および間性固定系統 03-336 を用いて、03-009 ♀ × 03-336 F₂ 世代および検定交配後代(03-009 ♀ × 03-336) × 03-009 ♂ を作出した。

(2) 03-009 ♀ × 03-336 F₂ 世代および検定交配後代(03-009 ♀ × 03-336) × 03-009 ♂ における核マイクロサテライトマーカーSO4 の遺伝子型の分離様式を調査する。

(3) M および Y に関する対立性を検定するために、検定交配後代 03-009 ♀ × (03-336 × 03-009 ♂) ♂ を作出し、当該後代集団の性発現を調査する。

4. 研究成果

(1) 03-009 ♀ × 03-336 F₂ 世代(70 個体)は、間性株:雌株=3:1 に適合する分離様式を示した(χ^2 (3:1)=0.17, 0.5 < p < 0.7 表1)。すなわち、系統 03-336 でみられる間性の発現が単一の主動因子(間性遺伝子)に支配されていることが確認された。

表1 03-009 ♀ × 03-336 F₂ における性型およびマイクロサテライトマーカーSO4 の分離様式

	SO4 ¹⁵ SO4 ¹⁵	SO4 ¹⁵ SO4 ¹¹	SO4 ¹¹ SO4 ¹¹	合計
雌	15	1	0	16
間性	2	37	15	54
合計	17	38	15	70

(2) 次いで、当該 F₂ 集団におけるマイクロサテライトマーカー(SO4)の分離様式を調査した結果、SO4 は間性遺伝子から 4.3 cM の距離において連鎖していることが判った(表1)。

(3) 検定交配後代(03-009 ♀ × 03-336) × 03-009 ♂ (169 個体)は、雄株:間性株:雌株=2:1:1 に適合する分離様式を示した(表2)。この分離比は、Y が間性遺伝子に対して上位性を示し、さらに間性遺伝子が X に対して上位性を示すことを仮定した場合に期待される分離比である。

表2 検定交配後代(03-009 ♀ × 03-336) × 03-009 ♂ における性型の分離様式

雄	間性	雌	合計	χ^2	p
121	73	54	248	3.06	0.1-0.3

(4) 次いで、当該後代集団におけるマイクロサテライトマーカー(SO4)の分離様式を調査した結果、SO4 と雄性決定遺伝子(Y)が連鎖していることが判明した。さらに、両者の遺伝距離は 2.4 cM と算出された(表3)。一方、間性遺伝子と SO4 の間に関しても連鎖していることが分離様式から示唆された。

表3 検定交配後代(03-009 ♀ × 03-336) × 03-009 ♂ における性型およびマイクロサテライトマーカーSO4 の分離様式

表現型	SO4 ¹⁵ SO4 ¹⁵	SO4 ¹⁵ SO4 ¹¹	SO4 ¹¹ SO4 ¹¹	合計	χ^2 (2:1:1)
雄	59	62	0	121	57.61
間性+雌	2	57	68	127	69.93
合計	61	119	68	248	0.8
均一性					
雌	2	46	6	54	$\chi^2=68.29$
間性	0	11	62	73	
合計	2	57	68	127	

(5) 上述の結果((1)~(4))から、間性遺伝子および Y 遺伝子は同一連鎖群に座乗し、密接な連鎖もしくは対立関係にあることが判明した。

(6) 検定交配後代 03-009 ♀ × (03-336 × 03-009 ♂) ♂ を作出し、この後代集団の性発現を調査した。以下に((7)および(8))、間性遺伝子と X/Y が対立関係あるいは連鎖関係にあることを想定した場合の期待比について説明する。

(7) 間性遺伝子(X^m)が X/Y と対立にある場合、系統 03-336 の遺伝子型は X^mX^m、系統 03-009 雄株および雌株の遺伝子型はそれぞれ XY および XX となる。さらに、これまでの観察結果から Y は X^m に対して優性を示し、なおかつ X^m は X に対して不完全優性を示すことが前提となる。従って、期待される検定交配集団の性型の分離は雄:間性=1 X^mY: 1 X^mX である(図1)。

(8) 一方、間性遺伝子(M)と X/Y が対立では無い場合には、系統 03-336 の遺伝子型は XXMM であり、系統 03-009 における雄および雌株の遺伝子型はそれぞれ YXmm および XXmm であることが想定される。さらに、Y

は M に対して上位性を示し、なおかつ M は X に対して上位性を示すことが前提となる。従って、両者の組み換え価を r ($0 < r \leq 0.5$) とした場合、検定交雑集団は雄: 間性: 雌 = $1/2 XY_:$ $(1-r)/2 XXMm:$ $r/2 XXmm$ に分離することが期待される(図2)。すなわち、前述の仮説に基づく期待比とは異なり、当該集団からは雄と間性に加えて雌株が分離することが予測される。

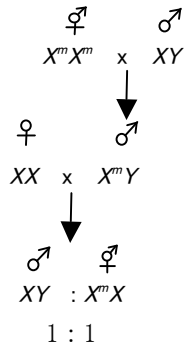


図1 間性遺伝子 (X^m) が雄性遺伝子 (Y) の対立遺伝子である場合に期待される検定交配後代 03-009 ♀ × (03-336 × 03-009 ♂) ♂ の分離様式

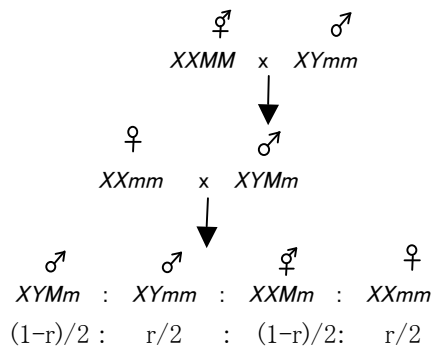


図2 間性遺伝子 (M) が雄性遺伝子 (Y) と連鎖している場合に期待される検定交配後代 03-009 ♀ × (03-336 × 03-009 ♂) ♂ の分離様式

(9) 実際に検定交配後代 03-009 ♀ × (03-336 × 03-009 ♂) ♂ における性の分離を調査した結果、間性遺伝子 (M) は X/Y の対立遺伝子ではない可能性が示唆された(表4)。

表4 検定交配後代 03-009 ♀ × (03-336 × 03-009 ♂) ♂ における性型の分離様式

雄	間性	雌	合計
210	183	27	420

(10) 1955年に Janick and Stevenson は、ホウレンソウの間性遺伝子と雄性決定遺伝子が独立なのか、あるいは対立関係にあるのか遺伝学的に検証を行い、最終的に両者が対立関係にあることを報告した。一方、本研究結果は両遺伝子が独立であることは否定したが、両者は(対立関係ではなく)連鎖関係にあることを示唆している点でこれまでの定説に修正を与える知見となった。さらに、本研究は間性遺伝子および雄性決定遺伝子に関するゲノム上の位置関係について分子遺伝学的な証拠を提示した最初の報告である。

(11) ホウレンソウの F1 ハイブリッド品種の花粉親として間性を利用する試みが近年盛んになっている。本研究で、間性遺伝子と連鎖していることが判明した分子マーカー SO4 は、花粉親系統の育成を目的とした間性の選抜および固定化を効率的に進めていく上で大変に有効である。

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4件)

- ① Onodera Y., I. Yonaha, H. Masumo, A. Tanaka, S. Niikura, S. Yamazaki and T. Mikami: Mapping of the genes for dioecism and monoecism in *Spinacia oleracea* L.: evidence that both genes are closely linked. (2011), 30 (6) 965-971 (査読有)
- ② Onodera Y., I. Yonaha, S. Niikura, S. Yamazaki, T. Mikami, Monoecy and gynodioecy in *Spinacia oleracea* L.: Morphological and genetic analyses. (2008) *Scientia Horticulturae* Volume 118 (3): 266-269 (査読有)
- ③ Onodera Y., Nakagawa K, Haag JR, Pikaard D, Mikami T, Ream T, Ito Y, Pikaard CS: Sex-biased lethality or transmission of defective transcription machinery in *Arabidopsis*. (2008) *Genetics*. 180(1): 207-18. (査読有)
- ④ Yamamoto MP, Shinada H, Onodera Y., Komaki C, Mikami T, Kubo T.: A male sterility-associated mitochondrial protein in wild beets causes pollen disruption in transgenic plants. (2008) *Plant J.* 54(6): 1027-36 (査読有)

[学会発表] (計 12 件)

- ① 桑原亘平・伊藤友輔・小野寺康之・三上哲夫：ホウレンソウにおける形態的および遺伝的多様性の解析，日本育種学会 第 118 回講演会，2010 年 9 月 24 日，秋田県立大学
- ② 小野寺康之・伊藤友輔・三上哲夫：DNA 多型に基づくホウレンソウおよび近縁種との間における類縁関係の検証，園芸学会平成 22 年度秋季大会，2010 年 9 月 19 日，大分大学
- ③ Onodera, Y., Masumo, H., Mikami T.: Linkage analysis of the genes for dioecism and monoecism in *Spinacia oleracea* L., 28th International horticultural Congress, 2010 年 8 月 24 日，ポルトガル リスボン
- ④ 小野寺康之，増茂弘規，三上哲夫：ホウレンソウの雌雄性を支配する *X/Y* 遺伝子座周辺領域の分子連鎖地図の構築，園芸学会平成 22 年度春季大会，2010 年 3 月 22 日，日本大学生物資源科学部
- ⑤ 増茂弘規，小野寺康之，三上哲夫：ホウレンソウの性決定遺伝子近傍領域における DNA マーカーのマッピング，第 32 回日本分子生物学会年会，2009 年 12 月 11 日，パシフィコ横浜
- ⑥ 伊藤友輔，小野寺康之，三上哲夫：DNA 多型に基づく野生ホウレンソウの特徴づけ，第 32 回日本分子生物学会年会，第 32 回日本分子生物学会年会，2009 年 12 月 11 日，パシフィコ横浜
- ⑦ Onodera, Y., Masumo, H., Mikami T.: Linkage analysis of sex-determining loci in *Spinacia oleracea*. 9th IPMB Congress, 2009 年 10 月 25-30 日，St. Louis, MO - USA
- ⑧ 増茂弘規，小野寺康之，三上哲夫：ホウレンソウの雄性決定遺伝子近傍領域の連鎖地図作成，日本育種学会 第 116 回 講演会，2009 年 9 月 25 日，北海道大学
- ⑨ 伊藤友輔，小野寺康之，三上哲夫：*Spinacia* 属植物の遺伝的類縁関係の解析，日本育種学会 第 116 回 講演会，2009 年 9 月 25 日，北海道大学
- ⑩ 小野寺康之・与那覇 至・増茂弘規・三上哲夫：ホウレンソウの性判定マーカー開発に向けた試み，平成 21 年度春季大会，2009 年 3 月 20 日，明治大学駿河台キャンパス
- ⑪ 小野寺康之・与那覇至・三上哲夫：ホウレンソウの雄性および間性決定遺伝子に関する連鎖解析，日本育種学会第 114 回講演会，2008 年 10 月 12 日，滋賀県立大学
- ⑫ 小野寺康之・与那覇至・三上哲夫：ホ

ウレンソウの間性に関する形態学のおよび遺伝学的解，平成 20 年度秋季大会，2008 年 9 月 27 日，三重大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小野寺 康之 (ONODERA YASUYUKI)
北海道大学・大学院農学研究院・助教
研究者番号：80374619

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし