



Title	テンサイ維持系統選抜の分子基盤はどこまでわかったか
Author(s)	久保, 友彦
Citation	てん菜研究会報, 59, 25-32
Issue Date	2018
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/75078
Type	journal article
File Information	4.2019_kubo_final.pdf



テンサイ維持系統選抜の分子基盤はどこまでわかったか

久保友彦

(北海道大学大学院農学研究院, 札幌市, 〒060-8589)

Molecular basis of maintainer selection in sugar beet (*Beta vulgaris* L.): current understandings and perspective

Tomohiko Kubo

(Research Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, 060-8589, Japan)

摘 要

テンサイ品種がハイブリッド化してからおよそ 40 年が経過している。ハイブリッド種子を得るためのスキームはアメリカの遺伝育種学者 Owen が考案し、これが広く普及している。そのスキームは彼の発見した遺伝性の雄性不稔を利用しているが、この雄性不稔を発現させるためには細胞質と核遺伝子の精妙な組み合わせが必要である。育種母材となるテンサイ集団は遺伝的にきわめて雑ばくであり、雄性不稔を安定に発現させる遺伝子型を選び出す（これを維持系統選抜という）には大変な労力が必要である。1980 年ころより、DNA, RNA, あるいはタンパク質の分析を通じて生命現象を理解しようとする研究手法が作物育種学に持ち込まれ、Owen の雄性不稔についてもこの方面からの理解が進んだ。現在、雄性不稔を促す細胞質とは何か、およびこれをどのような核遺伝子と組み合わせると雄性不稔が発現するのかといった問題について分子レベルの理解が進んでいる。その成果を応用するなら、維持系統選抜に要する労力が軽減できることも明らかになりつつある。本稿では、以上について現状を簡単に紹介する。

緒 言

現在のテンサイ品種はほぼ全てがハイブリッド（一代雑種）品種である（注：<http://www.hro.or.jp/list/agricultural/research/chuo/kaihasu/hatasaku/variety06.htm>）。テンサイハイブリッド品種は、わが国では 1970 年代から導入され、驚異的な収量増加に大きく貢献したといわれている（山田 2007）。他殖性作物であるテンサイは、早くからトウモロコシなどと同様に雑種強勢の出やすい作物と考

えられ（細川 1980a）、ハイブリッド化は育種的な必然であった。

しかしテンサイで雑種種子のみを大量に作出するのは困難である。自由交雑させたテンサイの雑種形成率は平均 50%程度に過ぎず（細川 1980b）、このような（雑種と自殖種子の混合）ではハイブリッド品種とはいえない。従って確実に雑種のみを得るためには自殖を妨げ他殖を促すような生殖コントロールが必要である。例えば、手早く数個のハイブリッド種子を得るのなら、手作業で除雄を行って受粉させればよい。しかしながら、テンサイ 1 個体の花は 1 万～2 万個に及ぶ（細川 1980c）ので、これは実用的な方法とはいえない。育種過程で必要な少量の交雑であれば低温処理による雄性不稔化も有効である（藏之内 2002）が、商業レベルの大量生産には不足である。他の作物で行われているような除雄剤や遺伝子組み換え技術の利用（Kaul 1988; Kim and Zhang 2018）もテンサイでは未だ現実的ではないだろう。テンサイは元来自家不和合性植物であるが、この性質を採種に利用できるほど研究は進んでいない。

現在、テンサイハイブリッド種子生産は 1940 年代にアメリカの Owen が発見した遺伝性の雄性不稔を利用している。彼は、Curly top 病抵抗性品種‘US-1’から雄性不稔個体を発見し、それがどのように遺伝するか（遺伝様式）を調査した（Owen 1945）。Owen の結論は以下のように要約される。まず雄性不稔を促す因子は母親からのみ伝わることから、細胞質遺伝であるとされた。この細胞質因子を遺伝子記号で S とする。S はどのような場合でも効果を発揮する（発現する、という）わけではなく、交配組み合わせによっては発現しないことがある。これは S を抑

Molecular basis of maintainer selection in sugar beet (*Beta vulgaris* L.): current understandings and perspective

制する核遺伝子によるものと説明された。Owen は抑制遺伝子が2つあると考え、それぞれに X と Z という遺伝子記号を与えた（以下、稔性回復遺伝子と総称）。従って、雄性不稔が発現するのは、その個体が S を保持し、なおかつ X も Z も機能していない場合である。これを遺伝子記号で $Sxxzz$ と表す（機能していない核遺伝子は小文字で表す。テンサイは通常核遺伝子を2個1セット持つ。細胞質因子は1つ表記）。このような雄性不稔を特に細胞質雄性不稔（**C**ytoplasmic **m**ale **s**terility, CMS）と呼ぶ。

Owen の発見した CMS を持たせると、その個体は花粉を作らないので自殖しない。一方、雌しべは正常なので他者から花粉を受け取れるならば着生する種子は必ずハイブリッドである。これはハイブリッド種子生産の親として理想的である。その反面、 $Sxxzz$ 個体を増殖させるためには、これと核遺伝子型が同一で S を保持しない特別な系統が必要になる。これを遺伝子記号では $Nxxzz$ と表す（ N は S を保持しない細胞質のこと）。 $Nxxzz$ 個体は、 S を持たないので雄性不稔にはならない。この $Nxxzz$ 個体からなる系統を維持系統、もしくは Owen にちなみ O タイプというが、後者は系統ではなく遺伝子型を指すこともある。維持系統と CMS 系統の交配次世代では、全てが雄性不稔個体となる（図1 a）。

実際のテンサイ育種では、まず維持系統が選抜され、これを花粉親として戻し交配を行い、新たな CMS 系統を育成する（図1 b）。そのため、維持系統が育種の基本系統となる。優良な一代雑種を得るためには、様々な形質の維持系統を育成することが必要であり、これらを組み合わせることによって一代雑種の雑種強勢効果が期待できる（田中 1998）。ところが、育種母材となる古いテンサイ品種などでは多くの個体で稔性回復遺伝子が機能しており、 O タイプはなかなか発見できない。 O タイプの現れる頻度は、平均 5%といわれている（細川 1988d）。 O タイプかどうかは外見に現れるものではなく、その他の遺伝子型と見分けはつかない。しかし、見通しが立たなくても個別別に CMS 系統と検定交配を行い、その結果（もし次世代が全て雄性不稔ならばその花粉親は O タイプである）に基づき選抜を行わなくて

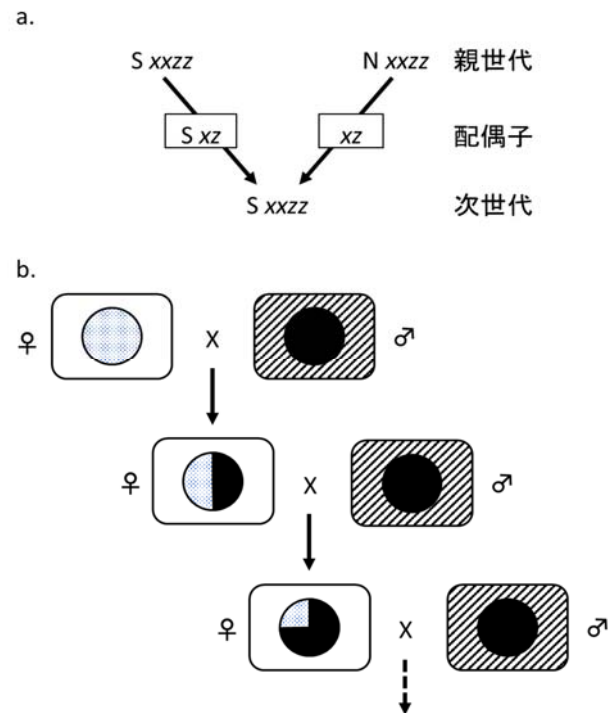


図1 CMS 系統と維持系統の交配

a. 維持系統を利用した CMS 系統の増殖。CMS 系統と維持系統は遺伝子型で示している（それぞれ $Sxxzz$ および $Nxxzz$ ）。親世代の CMS 系統と維持系統において減数分裂が起こり、生ずる配偶子（花粉や胚のう）の遺伝子型は枠で囲んで示している。CMS 系統は胚のうを提供し、維持系統は花粉を提供する。細胞質は胚のうからのみ次世代に伝わることに注意されたい。これらの配偶子が受精して得られる次世代において、細胞質と稔性回復遺伝子型は親世代の CMS 系統と同一である。

b. 選抜した維持系統と同一な核遺伝子型を持つ CMS 系統を育成する概略。円は核遺伝子を表す。ドット柄と黒地は、 $xxzz$ という点でのみ同一で、その他の遺伝子型は異なっている。外側の四角は細胞質で、 N 細胞質は斜線、 S 細胞質は無地で示す。ある CMS 系統（無地四角にドット柄円）を種子親にし、選抜した維持系統（斜線四角に黒地円）を花粉親として交配を行う。その子供の細胞質は種子親からのみ遺伝するので S であるが、核遺伝子は両親から 1/2 ずつ受け継ぐ。再度同じ系統を交配させると、孫世代では最初の種子親に由来する核遺伝子は 1/4 にすぎない。この交配を繰り返すと、選抜した維持系統と同一の核遺伝子型を持つ CMS 系統が得られる。

は維持系統は得られない。これは非常に労力を要する選抜である。これに対し、幼苗期に DNA を抽出して分析し、その結果に基づいて選抜を行う、いわゆる分子マーカー選抜が解決策として考えられるが、それには S, X, および Z に関する分子遺伝学的知見が不可欠となる。

本稿では、CMS に関与する遺伝因子について、著者らのグループの研究を中心に紹介し、これが維持系統選抜へ応用されつつあることを紹介する。

S

一般に細胞質遺伝の担荷体として考えられるのは、ミトコンドリア、色素体、あるいは寄生性微生物である (King et al. 2006)。数多くの植物種から CMS が見つかっているが、わずかな例外を除けばいずれの場合も S はミトコンドリアに存在すると報告されている (Hanson and Bentolila 2004)。テンサイにおいても、ミトコンドリア DNA 構造が維持系統と CMS 系統で大きく異なる (Mikami et al. 1985) ことから、こうした DNA レベルの差異が S に関わるのではないかと考えられた。その後、ミトコンドリア DNA 塩基配列の比較、ミトコンドリア転写産物の比較、およびミトコンドリア翻訳産物の比較から、最終的に一つのミトコンドリア遺伝子が注目されるに至った (Yamamoto et al. 2005)。

注目された遺伝子はミトコンドリア ATP 合成酵素のあるサブユニットをコードする *atp6* である。*atp6* は維持系統では 257 アミノ酸残基からなるタンパク質をコードする遺伝子であるが、CMS 系統ではコードするアミノ酸残基数が 639 であった。この長さの違いは、CMS 系統の *atp6* には 5' 末端に余分な遺伝子コード域が付着していることによる。付着部分は、「S 細胞質の *atp6* (*Satp6*) の前に付着している配列 (presequence)」という意味で、*preSatp6* と名付けた (Yamamoto et al. 2005) (図 2)。*preSatp6* と *Satp6* は DNA 上では一つの遺伝子であるが、それぞれ分子量 39kDa と 23kDa の異なるタンパク質をコードしている。一つの遺伝子から 2 つのタンパク質が生ずる機構は不明である。さらに、*preSatp6* の機能はわかっていない。

preSatp6 が S の実体であるという決定的な証拠は得られていない。しかしながら、後述するように X の標的分子が *preSatp6* 翻訳産物であることから、その可能性は非常に高いと考えている。

X

X は第 3 染色体に座乗する (Pillen et al. 1993)。X の遺伝子クローニングが行われ、出芽酵母や哺乳類で見つかっていた *Oma1* という遺伝子によく似ていることがわかった (Matsuhira et al. 2012)。特筆すべきは、X 座においてこの遺伝子とそっくりな遺伝子が複数隣接し、遺伝子クラスターを形成していることである (図 2)。X 座でクラスターをつくる遺伝子を総称して、ここでは *mpl* (metallo peptidase-like) 遺伝子と呼ぶ。*mpl* は核遺伝子であるが、その遺伝子から翻訳されたタンパク質は、自分自身がミトコンドリアに輸送されるための目印を持つ。そのため、この遺伝子の翻訳産物はミトコンドリアで *preSatp6* と何らかの相互作用を行うと予想された (図 2)。実際、*mpl* 翻訳産物と *preSatp6* の翻訳産物同士が結合することがわかった (Kitazaki et al. 2015)。結合の結果、*preSatp6* 翻訳産物のタンパク質高次構造が変化する (Kitazaki et al. 2015)。おそらく、これにより *preSatp6* 翻訳産物の活性が変化するとと思われる。以上のデータを、X と *preSatp6* の分子レベルの相互作用と解釈するなら、*preSatp6* が S の実体と考えても矛盾はないだろう。

Z

Z は単胚遺伝子 (M) との連鎖が知られ (Schondelmaier and Jung 1997)、第 4 染色体に座乗すると考えられてきた。しかしながら Z を見つけ出すこと (遺伝的に分離すること) は様々な理由で長らく困難であった。これに対し、X がクローン化され、機能していない x が判別できるようになると、xx 遺伝子型 (劣性ホモ接合という) 個体が比較的容易に得られるようになった (後述)。これを利用し、xx でありながら稔性回復遺伝子を持つテンサイ個体が選抜された (Honma et al. 2014)。この稔性回復遺伝子は作用が弱いため、解析は困難であったが、

第 4 染色体に座乗していることが判明した (Honma et al. 2014). おそらくこれが *Z* であろうと思われるが, 第 4 染色体には稔性回復遺伝子が 2 つあると

いう報告もある (Hjerdin-Panagopoulos et al. 2002) ので, 今後の詳細な研究が必要である. *Z* の分子的な実体は未解明である (図 2).

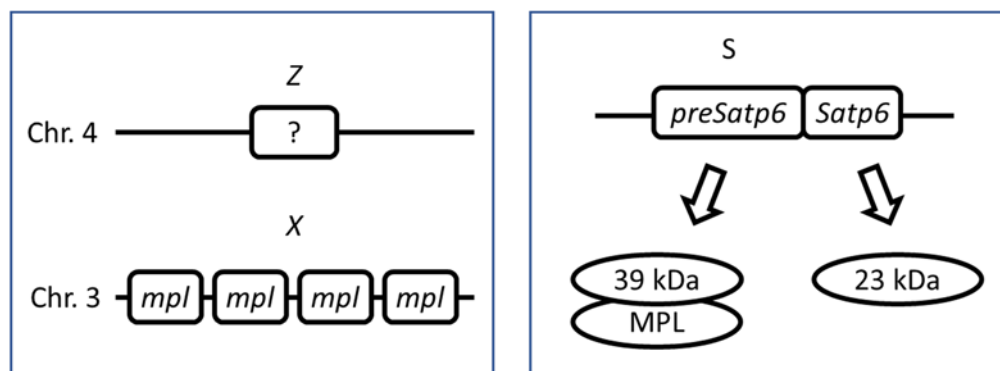


図 2 分子レベルで明らかにされた *S* と稔性回復遺伝子の相互作用

テンサイにおける *S* と稔性回復遺伝子の相互作用を模式的に示す. 四角で囲んだ 2 つの領域が, 模式的に表示した核 (左) とミトコンドリア (右) である. その内部の角の丸い四角は遺伝子コード域を, 横棒はゲノム DNA をそれぞれ表す. 遺伝子から翻訳されたタンパク質は楕円で表す. *S* はミトコンドリアにあり, その実体は *preSatp6* と考えられる. *preSatp6* は *Satp6* に付着した余分な塩基配列であるが, 分子量 39 kDa のタンパク質をコードしている. これは *Satp6* がコードする 23 kDa タンパク質とは別なものである. 核には, *X* と *Z* が, それぞれ第 3 染色体 (Chr. 3) と第 4 染色体 (Chr. 4) に座乗している. *X* 遺伝子座には *mpl* 遺伝子がクラスターを形成している. これらがコードするタンパク質 (大文字で表している) はミトコンドリアに輸送され, その一部と *preSatp6* のコードする 39kDa タンパク質が結合する. *Z* の遺伝子産物は未だわかっていない.

Shrunken anthers は *X* の対立遺伝子か

Hogaboam (1957) は, *M* に連鎖する比較的作用の弱い稔性回復遺伝子を報告した. 現代の知見に基づけば, この稔性回復遺伝子は *Z* であろう. 彼は得られた実験結果の解釈にはこの稔性回復遺伝子だけでは不十分であるとし, 稔性回復遺伝子の働きを強める遺伝子 (一種の修正遺伝子) *Shrunken anthers*

(*Sh*) を仮定した. 修正遺伝子自身は稔性回復を行わないから, 例えば, *zzShsh* と *zzshsh* はいずれも雄性不稔を発現するが, 弱い稔性回復遺伝子 *Z* と組み合わせると, *ZzShsh* と *Zzshsh* では機能する *Sh* を持つ前者の方が花粉稔性が高くなる. その後, *Sh* に関する報告は途絶えていたが, 著者らのグループで行ったフダンソウ「仏国大葉」とテンサイの交配結果が, これとほぼ同じモデルで解釈できることがわかった (Arakawa et al. 2018).

「仏国大葉」は九州在来 of フダンソウである. これをテンサイ CMS 系統と交配したところ, 花粉稔

性を持つ個体 (稔性回復個体) が出現した (Arakawa et al. 2018). この結果は, 「仏国大葉」に *S* の作用を抑制する核遺伝子があることを示している. 「仏国大葉」の抑制遺伝子は, *X* だろうか, *Z* だろうか, あるいは全く新しい遺伝子だろうか. これを明らかにするために, 得られた稔性回復個体を花粉親にして CMS 系統との交配を進めると, 正常な花粉稔性を持つ個体, 全く雄性不稔の個体, およびその中間の花粉稔性を持つ個体が現れることがわかった. 交配の結果は, 第 4 染色体の稔性回復遺伝子とそれに対する第 3 染色体の修正遺伝子で解釈できた. 第 4 染色体の稔性回復遺伝子は, おそらくは *Z* であろうと思われる. 面白いことに, 修正遺伝子は第 3 染色体の *X* 座に非常に近いところにあり, *X* そのものである可能性も出てきた. そこで「仏国大葉」の *mpl* 遺伝子を調べてみると, それまで知られていた機能型 *X* 由来の *mpl* とは異なる遺伝子構造であった. この *mpl* がコードするタンパク質は *preSatp6* 翻訳産物と結合

するものの、遺伝子が作り出すメッセンジャーRNA量が機能型 *X* 由来の *mpl* よりも少ない。加えて、「仏国大葉」の *mpl* を持つテンサイ蒴においてタンパク質高次構造が変化した *preSatp6* 翻訳産物はわずしか検出されない。よって、*mpl* の分子データに基づけば、「仏国大葉」の *X* は機能型でも、非機能型でもない、両者の中間的な性質を示す遺伝子（弱い対立遺伝子という）と思われる。「仏国大葉」の *mpl* が *preSatp6* 翻訳産物におよぼす微弱な変化は、「仏国大葉」の第3染色体に回復遺伝子が見つからないことを考えると、稔性回復には不十分である。しかしこの微弱な変化が稔性回復を助けるとしたら、これが修正遺伝子として働く可能性も考えられる。*X* の弱い対立遺伝子が *Sh* なのかもしれない。

維持系統の DNA マーカー選抜

維持系統を構成する遺伝子は分子レベルで識別できるだろうか。表1のように、Owen が提唱した *S*, *X*, および *Z* の実体は少しずつ明らかになっている。しかしながら、実体が判明しただけでは維持系統選抜には不十分である。なぜなら、テンサイを材料に遺伝子構造を調べていると、見たことのないタイプの DNA 塩基配列が頻繁に見つかるからである。塩基配列の違いが遺伝子機能に影響するか否かは、ただちにはわからない。実用的な DNA マーカー選抜法を構築するためには、このようなテンサイ種内の DNA 塩基配列多型も考慮する必要がある。

表1 テンサイ CMC に関与する主な遺伝子

Owen が提唱した遺伝因子	判明した実体	テンサイから見つかる DNA 塩基配列のタイプ数
細胞質	<i>S</i>	<i>preSatp6</i> を持つミトコンドリア DNA
	<i>N</i>	<i>preSatp6</i> を持たないミトコンドリア DNA
稔性回復遺伝子	<i>X</i>	様々なメンバーからなる <i>mpl</i>
	<i>x</i>	<i>mpl</i> メンバーのごく一部
	<i>Z</i>	第4染色体上の遺伝子
	<i>z</i>	

1. 細胞質の識別

今のところ *S* の実体は *preSatp6* と考えて矛盾はない。分子レベルでは、これまでにテンサイから全部で4種類のミトコンドリア DNA 型が見つかっており (Cheng et al. 2009; Ohgami et al. 2016), そのうち *preSatp6* を保持するものはただ1種類であることがわかっている (表1)。これら4種のミトコンドリア DNA は、それぞれに特徴的な塩基配列を持つので、識別はたやすい。しかもテンサイミトコンドリア DNA は母性遺伝であるために異なったミトコンドリア DNA 型間で組み換えが起こることはない。こうした背景から、現在では *preSatp6* を持たないミトコンドリア DNA 型を選び出すのは容易である (Cheng et al. 2009)。また、色素体 DNA は CMS の原因とは考えられていないが、ミトコンドリア DNA と同様母性遺伝であることから、色素体 DNA 上の

変異も *S* のマーカーとして利用できる (Cheng et al. 2009)。

2. 稔性回復遺伝子の識別

X がクローニングされ、その実体は *mpl* であるとされたが、果たして *X* と *x* の分子レベルの違いは何だろうか？そこで、北海道農業研究センターが保有するテンサイ系統を中心に *mpl* 遺伝子の調査を行った。その結果、*mpl* 遺伝子には予想外に多くの DNA 塩基配列タイプが存在することがわかった (Moritani et al. 2013)。この結果を精査すると、非維持系統群の *mpl* 遺伝子塩基配列が著しく多様であるのに対し、維持系統群が比較的均一であるのは一目瞭然であった (Moritani et al. 2013) (表1)。このことから、分子マーカーを使って「機能遺伝子 *X* を排除する」のではなく、「非機能遺伝子 *x* を選抜する」という方針

Molecular basis of maintainer selection in sugar beet (*Beta vulgaris* L.): current understandings and perspective

を立て、分子マーカーによる *xx* 劣性ホモ接合体の選抜を行い、これらが *O* タイプであるかどうかを検証した。その結果、分子マーカー選抜集団には高確率で *O* タイプが含まれることがわかった (Moritani et al. 2013)。この方法で維持系統選抜を完全に DNA マーカー選抜に置き換えることはできないが、維持系統選抜の効率は大きく向上する (注：北海道農業研究センター・松平洋明 主任研究員の私信と、著者らの未発表データ)。Z の影響を見積もることが今後の課題の一つであろう。

維持系統選抜の問題点

現在、Owen の発見した CMS だけが唯一実用化されている。そのため、ただ 1 種類の細胞質に依存することの潜在的な危険性 (遺伝的脆弱性) が指摘されてきた (Bosemark 1979)。表 1 に示すように、*x* も同じ状況下にある。すなわち、現在の維持系統の多くは、*X* 座に全く同一の塩基配列の *mpl* 遺伝子を持っており、新しい維持系統ほどその傾向が強い。この *mpl* 遺伝子が作り出すメッセンジャー RNA 量はきわめて少なく、そのメッセンジャー RNA から翻訳されたタンパク質と *preSatp6* 翻訳産物の結合は検出できず (Matsuhira et al. 2012; Kitazaki et al. 2015)、分子的には稔性回復にネガティブな要素を完璧に備えた遺伝子である。海外を含めたテンサイ遺伝資源全体の中に、このような *mpl* はただ一つしか存在しないのだろうか。そこでアメリカ農務省で公開されているテンサイ維持系統を取り寄せて *X* 座を調査したが、*mpl* の塩基配列は北海道農業研究センターの維持系統と同様であった (Ohgami et al. 2016)。従って、テンサイにおいて *x* に対応する *mpl* はごくわずかな種類しか存在しない可能性が高い。現在、テンサイ以外の *Beta vulgaris* 植物にも範囲を広げ、*x* に対応する新規の *mpl* を探索している。ただし、「仏国大葉」の *mpl* のように、それ自身は稔性回復を行わないが他の稔性回復遺伝子の働きを強める可能性のある遺伝子は避けた方がよいだろう。一方、ゲノム編集等の新たな技術を駆使して新規の *mpl* を作出することも可能かもしれないが、自然界からこれまでに完全に

機能を失った *mpl* が発見されたことはない (Ohgami et al. 2016) ため、単純に *mpl* を破壊するだけで実用的な *x* が作出できるとは断言できない。

以上のように、分子データから見ると、維持系統選抜は実質 1 種類の *mpl* 遺伝子への依存を促進している。この依存に副次的な悪影響はないのだろうか。日本の維持系統の育成系譜をたどると、7 つの古い自由交雑品種に行き着くという (田口ら 2006)。これら祖先品種群においては、維持系統に採用されているタイプの *mpl* 遺伝子塩基配列の出現頻度は、0~17%であった (Taguchi et al. 2014)。このことから、現在の維持系統は祖先集団に低頻度で含まれるただ 1 種類の *mpl* 遺伝子塩基配列を選ぶという、かなり強烈な選抜を経ていることになる。そうすると、はたして育種母材の遺伝的な多様性は選抜された維持系統へ十分に継承されているかという点が懸念される (参考として McGrath et al. 1999)。様々な形質の維持系統を育成することがテンサイ育種の重要なポイントである (田中 1998) ならば、維持系統選抜により遺伝的多様性が失われてしまうことは、将来の育種に悪影響を及ぼしかねない。これに対し、例えば、特定の *mpl* への依存を緩めることができれば、育種母材の遺伝的多様性が選抜系統へ反映されるチャンスは増えるだろう。今後、維持系統選抜に何らかの工夫が必要ではないだろうか。

謝 辞

著者らの研究材料は、北海道農業研究センターから提供されたものである。本研究は、JSPS 科研費 (18K05564) と、生研支援センター「イノベーション創出強化研究推進事業」(30001A) の助成を受けた。

参考文献

Arakawa T, Uchiyama D, Ohgami T, Ohgami R, Murata T, et al. (2018) A fertility-restoring genotype of beet (*Beta vulgaris* L.) is composed of a weak restorer-of-fertility gene and a modifier gene tightly linked to the *Rf1* locus, PLOS One 13:e0198409.

- Bosemark NO (1979) Genetic poverty of the sugarbeet in Europe. "Proceedings of the Conference Broadening the Genetic Base of Crops", A.C. Zeven and A.M. van Harten (eds), Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, p. 29-35.
- Cheng D, Kitazaki K, Xu D, Mikami T, Kubo T (2009) The distribution of normal and male-sterile cytoplasm in Chinese sugar-beet germplasm, *Euphytica* 165:345-351.
- Hanson MR, Bentolila S (2004) Interactions of mitochondrial and nuclear genes that affect male gametophyte development, *The Plant Cell* 16:S154-S169.
- Hjerdin-Panagopoulos A, Kraft T, Rading IM, Tuvešson S, Nilsson NO (2002) Three QTL regions for restoration of Owen CMS in sugar beet, *Crop Science* 42:540-544.
- Hogaboam GJ (1957) Factors influencing phenotypic expression of cytoplasmic male sterility in the sugar beet (*Beta vulgaris* L.), *Journal of The American Society of Sugar Beet Technologists* 9:457-465.
- Honma Y, Taguchi K, Hiyama H, Yui-Kurino R, Mikami T, et al. (2014) Molecular mapping of *restorer-of-fertility 2* gene identified from a sugar beet (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris*) homozygous for the non-restoring *restorer-of-fertility 1* allele, *Theoretical and Applied Genetics* 127:2567-2574.
- 細川定治 (1980a) “甜菜”, 養賢堂, 東京, p. 96.
- 細川定治 (1980b) “甜菜”, 養賢堂, 東京, p. 106.
- 細川定治 (1980c) “甜菜”, 養賢堂, 東京, p. 40.
- 細川定治 (1980d) “甜菜”, 養賢堂, 東京, p. 108.
- Kaul MLH (1988) “Male sterility in higher plants”, Springer-Verlag, Berlin, p. 193-220.
- Kim Y-J, Zhang D (2018) Molecular control of male fertility for crop hybrid breeding, *Trends in Plant Science* 23: 53-65.
- King RC, Stansfield WD, Mulligan PK (2006) “A dictionary of genetics”, Oxford University Press, Oxford, p. 112.
- Kitazaki K, Arakawa T, Matsunaga M, Yui-Kurino R, Matsuhira H, et al. (2015) Post-translational mechanisms are associated with fertility restoration of cytoplasmic male sterility in sugar beet (*Beta vulgaris*), *The Plant Journal* 83:290-299.
- 藏之内利和 (2002) テンサイにおける自殖遺伝子 (S^f) を利用した高品質品種育種に関する研究, 北海道農研報 177:55-117.
- Matsuhira H, Kagami H, Kurata M, Kitazaki K, Matsunaga M, et al. (2012) Unusual and typical features of a novel *restorer-of-fertility* gene of sugar beet (*Beta vulgaris* L.), *Genetics* 192:1347-1358.
- McGrath JM, Derrico CA, Yu Y (1999) Genetic diversity in selected, historical US sugarbeet germplasm and *Beta vulgaris* ssp. *maritima*. *Theoretical and Applied Genetics* 98:968-976.
- Mikami T, Kishima Y, Sugiura M, Kinoshita T (1985) Organelle genome diversity in sugar beet with normal and different sources of male sterile cytoplasm, *Theoretical and Applied Genetics* 71:166-171.
- Moritani M, Taguchi K, Kitazaki K, Matsuhira H, Katsuyama T, et al. (2013) Identification of the predominant nonrestoring allele for Owen -type cytoplasmic male sterility in sugar beet (*Beta vulgaris* L.): development of molecular markers for the maintainer genotype, *Molecular Breeding* 32:91-100.
- Ohgami T, Uchiyama D, Ue S, Yui-Kurino R, Yoshida Y, Kamei Y, Kuroda Y, et al. (2016) Identification of molecular variants of the nonrestoring *restorer-of-fertility 1* allele in sugar beet (*Beta vulgaris* L.), *Theoretical and Applied Genetics* 129:675-688.
- Owen FV (1945) Cytoplasmically inherited male-sterility in sugar beets, *Journal of Agricultural Research* 71:423-440.
- Pillen K, Steinrücken G, Herrmann RG, Jung C (1993) An extended linkage map of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) including nine putative lethal genes and the restorer gene X, *Plant Breeding* 111:265-272.

Molecular basis of maintainer selection in sugar beet (*Beta vulgaris* L.): current understandings and perspective

- Schondelmaier J, Jung C (1997) Chromosome assignment of the nine linkage groups of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) using primary trisomics, *Theoretical and Applied Genetics* 95:590-596.
- Taguchi K, Hiyama H, Yui-Kurino R, Muramatsu A, Mikami T, et al. (2014) Hybrid breeding skewed the allelic frequencies of molecular variants derived from *restorer-of-fertility 1* locus for cytoplasmic male sterility in sugar beet (*Beta vulgaris* L.), *Crop Science* 54:1407-1412.
- 田口和憲, 中司啓二, 高橋宙之, 岡崎和之, 吉田智彦 (2006) テンサイ一代雑種の近縁係数と収量の関係, *育種学研究* 8:151-159.
- 田中征勝 (1998) 8.テンサイ, “北海道における作物育種”. 三分一敬 (監修), 北海道協同組合通信社, 札幌, p. 201.
- 山田実 (2007) “作物の一代雑種”, 養賢堂, 東京, p.4.
- Yamamoto MP, Kubo T, Mikami T (2005) The 5'-leader sequence of sugar beet mitochondrial *atp6* encodes a novel polypeptide that is characteristic of Owen cytoplasmic male sterility, *Molecular Genetics and Genomics* 273:342-349.