

採種地が異なる大和マナ (*Brassica rapa* L. Oleifera Group) の S ハプロタイプの推定浅尾浩史<sup>1\*</sup>・奥山恵里<sup>2</sup>・矢野健太郎<sup>3a</sup>・西本登志<sup>1</sup>・北條雅也<sup>1</sup>・越智康治<sup>4</sup>・梶田季生<sup>4</sup>・高山誠司<sup>5</sup><sup>1</sup> 奈良県農業総合センター 634-0813 橿原市四条町<sup>2</sup> 奈良県中小企業支援センター 630-8031 奈良市柏木町<sup>3</sup> 東京大学 113-8657 文京区弥生<sup>4</sup> ナント種苗株式会社 633-2101 宇陀市大宇陀区<sup>5</sup> 奈良先端科学技術大学院大学 630-0192 生駒市高山町Estimation of S-haplotypes in Yamato-mana (*Brassica rapa* L. Oleifera Group) Grown in Different Seed-production FieldsHiroshi Asao<sup>1\*</sup>, Eri Okuyama<sup>2</sup>, Kentaro Yano<sup>3a</sup>, Toshi Nishimoto<sup>1</sup>, Masaya Hojo<sup>1</sup>, Yasuharu Ochi<sup>4</sup>, Suelo Kajita<sup>4</sup> and Seiji Takayama<sup>5</sup><sup>1</sup>Nara Prefectural Agricultural Experiment Station, Kashihara, Nara 634-0813<sup>2</sup>Nara Prefectural Small & Medium Sized Enterprises Support Corporation, Kashiwagi, Nara 630-8031<sup>3</sup>Graduate School of Agricultural and Life Sciences, Tokyo University, Bunkyo, Tokyo 113-8657<sup>4</sup>Nanto Seed Co., LTD. Uda, Nara 633-2101<sup>5</sup>Nara Institute of Science and Technology, Ikoma, Nara 630-0192

## Abstract

Nara prefecture certifies Yamato-mana (*Brassica rapa* L. Oleifera Group) as the traditional vegetable of the Yamato District, and is providing support for its cultivation and marketing. However, Yamato-mana has not yet been widely distributed and sold because the harvested product is not uniformly sized and its outer leaflets are likely to turn yellow soon after harvesting. Therefore, to overcome these problems, efforts are underway to breed an F<sub>1</sub> hybrid of Yamato-mana using its nature of strong self-incompatibility. To estimate S-haplotypes in six varieties of Yamato-mana sampled in different locations in Nara prefecture, we cloned class-I *SLG* and class-II *SP11* from these varieties by PCR. In total, 31 genes were confirmed from sequences of amplified fragments, including 27 class-I S-haplotypes and 4 class-II S-haplotypes. Cluster analyses, based on S-haplotypes accumulated in each variety, classified the six varieties into three groups: Nara prefectural agricultural experiment station/Nanto varieties, Takada/Gojo/Fukase varieties, and Yamato agricultural farm variety.

Key Words : F<sub>1</sub>, *SLG*, *SP11*キーワード : F<sub>1</sub>, *SLG*, *SP11*

## 緒言

大和マナ (*Brassica rapa* L. Oleifera Group) はツケナの一 種で、青菜 (1964) は奈良県の在来品種と位置づけている。ダイコンの葉に類似した葉身部に不規則な楕円形をした頭葉と翼葉を有する形状の葉を持ち、青菜独特のえぐみが少なく、生食や加熱など様々な料理法に適用できる長所を有している。特に冬の低温にあたると甘みが増すことから奈良県下では好まれて食べられてきた。しかし、揃いが悪い点や収穫後の外葉が黄化しやすいなどの欠点があり、広く

流通・販売されるには至っていない。奈良県では、各地域で特定の農家が栽培してきた大和マナ (地域によっては真菜と呼ばれていた) を、当農業総合センター、種苗会社および民間育種家などが譲り受け、ここ 20 年から 40 年の間、他地域のものとは遺伝子交流なしに集団栽培して採種、保存してきた。最近、奈良県は大和マナを大和の伝統野菜と認定し、生産・販売支援に力を注いでいる。その一環として、現在の大和マナの欠点を克服するために、著者らはナント種苗 (株) と協力して、自家不和合性を利用した F<sub>1</sub> 品種の育成に取り組んでいるところである。

アブラナ科植物の自家不和合性は胞子体的に機能する 1 遺伝子座の S ハプロタイプにより制御され、基本的に雌ざいと花粉が同一の S ハプロタイプを表現型として共有する場合に不和合となる (Bateman, 1955)。多くの場合 S ハプロタイプは共優性を示すが、ハプロタイプ間で優劣関係が

2007 年 9 月 7 日 受付. 2008 年 5 月 22 日 受理.

本研究は JST, 奈良県地域結集型研究開発プログラムにおいて実施した。

\* Corresponding author. E-mail: asao@naranougi.jp

\*現在: 明治大学 214-8571 川崎市多摩区

認められる場合がある。Sハプロタイプは大きく2つのクラスに分類されており、一般にクラスIに属するSハプロタイプは、クラスIIに属するSハプロタイプに対して優性を示す(Hatakeyamaら, 1997)。アブラナ科植物のSハプロタイプにはSRK (S locus receptor kinase), SP11 (S locus protein 11), SLG (S locus glycoprotein) がコードされている(Nasrallahら, 1988; Steinら, 1991; Takayamaら, 2000)。SRKは雌しべ側認識受容体であり雌ずい表層に、SP11は花粉側認識分子であり花粉表層に局在している。自家不和合性反応はSP11がSRKのレセプタードメインにSハプロタイプ特異的に結合することで起こる。一方、SLGはSRKの細胞外ドメインと相同性を持つ分泌型糖タンパク質で、自他識別反応を補助している可能性が指摘されているが、実際の機能は不明である(Takayama・Isogai, 2003)。

Sハプロタイプは、蕾受粉により作出されたSホモ系統間の交雑不和合性検定によって同定され、*B. rapa*には約100種類あると推定されている(Nouら, 1993)。しかし、この方法は労力がかかる上、材料植物の制約を受ける。新規Sハプロタイプはこれまで同定されたすべてのハプロタイプに交雑不和合性となることで、同定される。近年、SRK、SP11およびSLG対立遺伝子がSハプロタイプ間でDNA多型を示すことに着目し、各対立遺伝子の保存配列からデザインされたプライマーセットを用いたPCRにより、ゲノムDNAから対立遺伝子を増幅し、増幅断片のDNA多型からSハプロタイプを推定することが可能となっている。ただし、これら対立遺伝子間の相同性は低く、クラスIとクラスII対立遺伝子を一度に増幅するプライマーセットは見いだされていない。クラスIとクラスII SLG対立遺伝子はそれぞれ2種類と1種類のプライマーセットで(Nishioら, 1996; Sakamotoら, 1998)、クラスI SRK対立遺伝子は2種類のプライマーセットで(Nishioら, 1997)、クラスIとクラスII SP11対立遺伝子はそれぞれ1種類のプライマーセットで(Shibaら, 2002; Watanabeら, 2000)増幅される。

自家不和合性を利用したF<sub>1</sub>品種の作出には、Sハプロタイプをホモに持つ幾つかの純系親系統の作出が必要である。そこで、本研究では採種地の異なる6地域集団を大和マナ系統と捉え、各系統からゲノミックPCRによりSLGおよびSP11対立遺伝子を増幅し、得られた増幅断片の配列から各系統が保有するSハプロタイプの種類や数を推定した。

## 材料および方法

### 1. 供試材料

大和マナの6系統、奈良県農業総合センター系統(農総セ系)、ナント種苗株式会社系統(ナント系)、フカセ種苗会社系統(フカセ系)、株式会社大和農園系統(大和農園系)、五條市系統(五條系)および大和高田市系統(高田系)を本実験に供試した。これら供試材料として用いた6系統の採種地は異なっているが、いずれの系統も奈良県内におい



第1図 各大和マナ系統の採種地

て大和マナとして栽培されている(第1図)。

### 2. SLGおよびSP11のクローニングと配列解析

農総セ系61個体、ナント系50個体、フカセ系30個体、大和農園系30個体、五條系30個体および高田系30個体の葉組織からDNeasy Plant Mini Kit (Qiagen)を用いてゲノムDNAを抽出した。各系統のゲノムDNAからクラスI SLG対立遺伝子およびクラスII SP11対立遺伝子をPCR増幅した。クラスI SLG対立遺伝子の増幅には2組のプライマーセット、PS5 (5'-ATGAAAGGCCTAAGAAAACCTA-3')とPS15 (5'-CCGTGTTTTATTTAAGAGAAAGAGCT-3')あるいはPS22 (5'-ATCGATGGGATGAAAAAGTCATCG-3')とPS15を用いた(Nishioら, 1996; Sakamotoら, 1998)。一方、クラスII SP11対立遺伝子の増幅にはForwardプライマー(5'-GCGAAAATCTTATATACTCATAAG-3')とReverseプライマー(5'-TTCGTTGATCAATTATGATT-3')を用いた(Shibaら, 2002)。ゲノムDNA (30 ng), 10×PCR Buffer, 0.2 mM dNTP, 2 pmol各プライマー, 0.5 units EX taq (TAKARA)および滅菌水を加えた10 μLの反応液を作成し、GeneAmp PCR System9700 (Applied Biosystems)を用いてPCRを行った。クラスI SLG遺伝子は、94°C・5 minの熱変性後、94°C・30 sの熱変性、52°C・30 sのアニーリング、72°C・90 sの伸長反応を35サイクル行い、最後に72°C・7 minで反応させ、増幅させた。クラスII SP11遺伝子は、94°C・5 minの熱変性後、94°C・30 sの熱変性、50°C・30 sのアニーリング、72°C・1 minの伸長反応を40サイクル行い、最後に

72°C・7 min で反応させ、増幅させた。得られた PCR 産物を 1.5% アガロースゲルで電気泳動した後、Mag Extractor (TOYOBO) で精製した。精製された PCR 産物を pGEM-T Easy Vector (Promega) を用いて TA クローニングした後、DNA シーケンサー (ABI PRISM 3100 Genomic Analyzer) で塩基配列を決定した。塩基配列を *Brassica* 属の既知のクラス I *SLG* およびクラス II *SP11* 遺伝子の配列と BLASTN プログラム (Altschul ら, 1990) を用いて比較し、*S* ハプロタイプを推定した。また、GENETYX-MAC 遺伝情報処理ソフトウェア (ゼネティック社) を用いて *S* ハプロタイプを分類した。

### 3. *S* ハプロタイプの集団内減衰とクラスター分析

集団内の *S* ハプロタイプ数の時間的変化を検討するため、モンテカルロ・シミュレーションを 10,000 回繰り返して計算させた。出発集団の各個体は、*S* ハプロタイプをヘテロで有するとした。なお、1 世代当たりの個体数を 50 個体もしくは 1,000 個体とし、一親一子法を仮定し、50 世代に渡り、集団内の *S* ハプロタイプ数を算出した。なお、モンテカルロ・シミュレーションを行うためのプログラムは、Perl 言語を用いて構築した。さらに、6 地域に蓄積された *S* ハプロタイプに基づき、群平均法によるクラスター分析を Mulcel ソフトウェア (オーエムエス出版) を用いて行った。

## 結果および考察

### 1. *SLG* と *SP11* 対立遺伝子のクローニングによる *S* ハプロタイプの推定

採種地の異なる大和マナ地域集団が保有する *S* ハプロタイプの種類や数を推定するため、各系統のゲノム DNA から 2 組のプライマーセット PS5 + PS15 あるいは PS22 + PS15 を用いた PCR によりクラス I *SLG* 対立遺伝子を増幅した。塩基配列を解析した結果、27 種類に分類された。このうち、13 種類はデータベースに登録されている *SLG12*, *SLG25*, *SLG26*, *SLG27*, *SLG28*, *SLG35*, *SLG41*, *SLG45*, *SLG46*, *SLG47*, *SLG48*, *SLG52*, *SLG99* の配列と完全に一致したことから、大和マナは該当する番号の既存 *S* ハプロタイプを保有すると推定した (第 1 表)。1 種類の推定アミノ酸配列は *SLG22* と 2 個のアミノ酸残基だけが異なっていたことから *SLG22b* と名付け、当該 *S* ハプロタイプを *S*<sub>22b</sub> と表記することにした。残りの 13 種類は新規 *SLG* 対立遺伝子と考

えられ、*SLG71* ~ *SLG83* と名付け、大和マナは該当する番号の新規 *S* ハプロタイプを保有すると判断した (第 1 表)。

各系統には 1 種類しか、あるいは全く増幅断片が得られない個体があった。これら個体はクラス II *SLG* 対立遺伝子を有するものと考えられた。クラス II *SLG* 対立遺伝子を増幅するプライマーセットはクラス II *SLG* と相同性が高い *SLR2* (*S* locus related glycoprotein 2) も増幅する可能性があることから、クラス II *SP11* 対立遺伝子を増幅するプライマーセットを用いた PCR を行い、増幅断片の配列を解析した。この結果、*SP11-29*, *SP11-40*, *SP11-44*, *SP11-60* の配列と完全に一致する遺伝子断片の増幅が確認され、大和マナは該当する番号のクラス IIS ハプロタイプを保有すると判断した (第 1 表)。

しかしながら、両プライマーセットを用いても 1 種類の *S* ハプロタイプしか同定できない個体が、農総セで 3 個体、ナント系で 4 個体、フカセ系で 1 個体、大和農園系で 2 個体および五條系で 2 個体あった。この結果から、これらの個体には使用したプライマーセットでは増幅し得ない *SLG* あるいは *SP11* 対立遺伝子が存在する、あるいは *SLG* 対立遺伝子を欠失した *S* ハプロタイプが含まれる可能性 (Suzuki ら, 2003) が推察された。

以上の結果から大和マナ地域集団には、まだ未同定の *S* ハプロタイプの存在が示唆されるものの、既知の 17 種類、既知のものと同様した 1 種類および新規の 13 種類、計 31 種類のハプロタイプが含まれると考えられた。

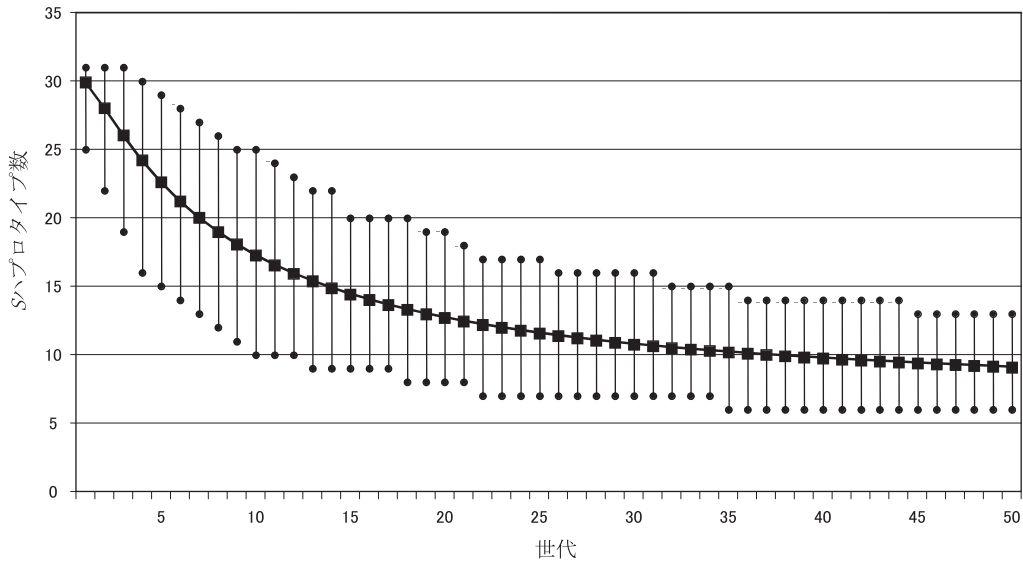
### 2. *S* ハプロタイプに基づく系統系譜

奈良県内の異なる 6 地域で採種された大和マナの各系統は、いずれも集団栽培されてきたものであり、形態的にも多様である。こうした多様な個体を含む系統間の遺伝的な比較には、これまで表現型、アロザイム (Abbott・Gomes, 1989), RFLP (Bergelson ら, 1998), AFLP (Miyashita ら, 1999; Shabel ら, 2000), マイクロサテライト (Kuittinen ら, 1997) などが利用されてきた。一般的な対立遺伝子は集団のサイズの影響を受けて、すぐに減衰・消失するが、*S* ハプロタイプの場合は、減少してくると交配相手が増えて集団から消失せず残存しやすくなるとされている (日向, 1998)。他殖性で系統内の変異がある大和マナのような在来品種においては、集団から消失しにくい *S* ハプロタイプを指標にして系統の系譜を調べるのが有効であると考えられている。

第 1 表 各大和マナ系統が持つと推定された *S* ハプロタイプ

系統名	クラス IS ハプロタイプ <sup>Z</sup>	クラス IIS ハプロタイプ <sup>Z</sup>
農総セ系	<i>S</i> <sub>26</sub> , <i>S</i> <sub>46</sub> , <i>S</i> <sub>47</sub> , <i>S</i> <sub>48</sub> , <i>S</i> <sub>73</sub> , <i>S</i> <sub>76</sub> , <i>S</i> <sub>77</sub> , <i>S</i> <sub>99</sub>	<i>S</i> <sub>40</sub> , <i>S</i> <sub>44</sub> , <i>S</i> <sub>60</sub>
ナント系	<i>S</i> <sub>26</sub> , <i>S</i> <sub>28</sub> , <i>S</i> <sub>35</sub> , <i>S</i> <sub>45</sub> , <i>S</i> <sub>46</sub> , <i>S</i> <sub>48</sub> , <i>S</i> <sub>71</sub> , <i>S</i> <sub>72</sub> , <i>S</i> <sub>73</sub> , <i>S</i> <sub>74</sub> , <i>S</i> <sub>75</sub> , <i>S</i> <sub>76</sub>	<i>S</i> <sub>40</sub> , <i>S</i> <sub>44</sub> , <i>S</i> <sub>60</sub>
フカセ系	<i>S</i> <sub>22b</sub> , <i>S</i> <sub>26</sub> , <i>S</i> <sub>27</sub> , <i>S</i> <sub>60</sub> , <i>S</i> <sub>72</sub> , <i>S</i> <sub>73</sub> , <i>S</i> <sub>78</sub> , <i>S</i> <sub>82</sub> , <i>S</i> <sub>83</sub>	<i>S</i> <sub>40</sub> , <i>S</i> <sub>44</sub> , <i>S</i> <sub>80</sub>
大和農園系	<i>S</i> <sub>12</sub> , <i>S</i> <sub>22b</sub> , <i>S</i> <sub>25</sub> , <i>S</i> <sub>28</sub> , <i>S</i> <sub>41</sub> , <i>S</i> <sub>46</sub> , <i>S</i> <sub>52</sub> , <i>S</i> <sub>71</sub> , <i>S</i> <sub>81</sub>	<i>S</i> <sub>29</sub> , <i>S</i> <sub>44</sub> , <i>S</i> <sub>60</sub>
五條系	<i>S</i> <sub>26</sub> , <i>S</i> <sub>27</sub> , <i>S</i> <sub>46</sub> , <i>S</i> <sub>48</sub> , <i>S</i> <sub>52</sub> , <i>S</i> <sub>78</sub> , <i>S</i> <sub>79</sub> , <i>S</i> <sub>80</sub>	<i>S</i> <sub>44</sub> , <i>S</i> <sub>60</sub>
高田系	<i>S</i> <sub>26</sub> , <i>S</i> <sub>35</sub> , <i>S</i> <sub>45</sub> , <i>S</i> <sub>46</sub> , <i>S</i> <sub>52</sub> , <i>S</i> <sub>78</sub> , <i>S</i> <sub>79</sub> , <i>S</i> <sub>80</sub> , <i>S</i> <sub>81</sub>	<i>S</i> <sub>40</sub> , <i>S</i> <sub>44</sub> , <i>S</i> <sub>60</sub>

<sup>Z</sup> *S*<sub>71</sub> ~ *S*<sub>83</sub> は新規の *S* ハプロタイプ、*S*<sub>22b</sub> は既知のものに類似した *S* ハプロタイプ、その他は既知の *S* ハプロタイプ



第2図 モンテカルロ・シミュレーションによる大和マナ集団内のSハプロタイプ数の減衰

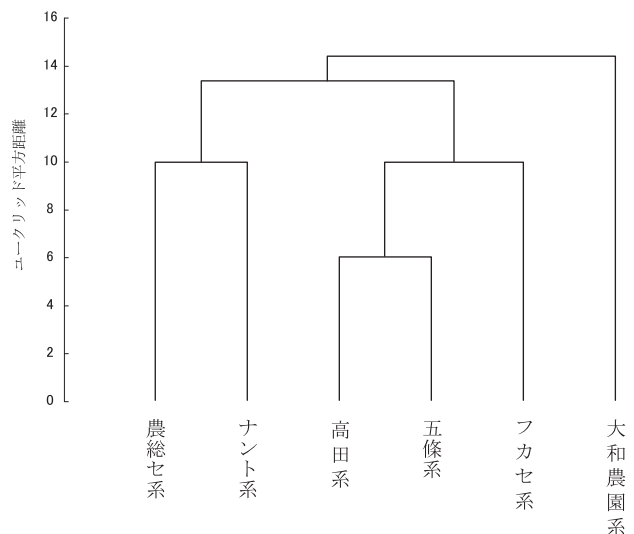
最初の大和マナ集団に31個のSハプロタイプが存在したと仮定し、1世代当たり50個体としてシミュレーションを行った  
 ■：10,000反復に渡る平均値、各世代の縦線：最大値および最小値

31種類のSハプロタイプを系統別に整理したところ、農総セ系には11種類、ナント系には15種類、高田系には12種類、五條系には10種類、フカセ系には12種類および大和農園系には12種類のSハプロタイプが所属した(第1表)。各地域集団内におけるSハプロタイプの減衰をモンテカルロ法を用いてシミュレーションし、同定された各系統内のSハプロタイプ数の妥当性を評価した。各地域の集団採種に用いられている平均的個体数である50個体を1世代当たりの個体数とした場合、20年(20世代)あるいは40年(40世代)後の集団内のSハプロタイプ数は平均12.7個(分散 $2.3 \times 10^{-4}$ )と9.7個(分散 $7.4 \times 10^{-5}$ )とそれぞれ算出された(第2図)。一方、1世代当たりの個体数を1,000個体とした場合、50世代後の集団内のSハプロタイプ数は平均30.8個(分散 $2.0 \times 10^{-5}$ )と計算され、ほとんど減衰しなかった。これらの結果から、1世代当たりの個体数が50個体の場合にはボトルネック効果によるSハプロタイプの減衰が起こることが示唆され、各系統内に同定されたSハプロタイプ数が理論上妥当であることが裏付けられた。

個々のSハプロタイプに着目して、幾つの系統に蓄積しているかを調べた(第2表)。6系統すべてに認められたのはクラスIIに分類される $S_{44}$ と $S_{60}$ だけであった(第2表)。クラスIIはクラスIに対して劣性で表現型として現れないことから、長年にわたり欠落せず蓄積したものと考えられる。一方、 $S_{47}$ 、 $S_{77}$ 、 $S_{99}$ は農総セ系のみ、 $S_{71}$ 、 $S_{74}$ 、 $S_{75}$ はナント系のみ、 $S_{27}$ は五條系のみ、 $S_{22b}$ 、 $S_{82}$ 、 $S_{83}$ はフカセ系のみ、 $S_{12}$ 、 $S_{25}$ 、 $S_{29}$ 、 $S_{41}$ は大和農園系のみ同定された。在来品種として多様性に富んでいた大和マナは昭和40年代以降に、当農業総合センター、種苗会社および民間育種家によって集団栽培され採種されてきた。各採種地では人為的に生殖的隔離がなされており、Sハプロタイプの

第2表 大和マナ6系統において各Sハプロタイプが蓄積されていた系統数

系統数	蓄積されていたSハプロタイプ
1	$S_{12}$ , $S_{22b}$ , $S_{25}$ , $S_{27}$ , $S_{29}$ , $S_{41}$ , $S_{47}$ , $S_{71}$ , $S_{74}$ , $S_{75}$ , $S_{77}$ , $S_{82}$ , $S_{83}$ , $S_{99}$
2	$S_{28}$ , $S_{35}$ , $S_{45}$ , $S_{72}$ , $S_{73}$ , $S_{76}$ , $S_{79}$ , $S_{81}$
3	$S_{48}$ , $S_{52}$ , $S_{78}$ , $S_{80}$
4	$S_{40}$
5	$S_{26}$ , $S_{46}$
6	$S_{44}$ , $S_{60}$



第3図 奈良県内で栽培されている大和マナ系統のSハプロタイプに基づいたクラスター分析(群平均法)

構成が変化してきたと考えられる。

各系統に蓄積されたSハプロタイプに基づいて、クラスター分析を行い、系統系譜を調べた(第3図)。その結果、

農総セ系・ナント系, 高田系・五條系・フカセ系および大和農園系の3つのグループに分類された。同一グループに分類された大和マナは遺伝的に近い系統と推察され, 20年～40年前に各地域で集団栽培を開始し始めた当初, 同一地域から導入された可能性があると考えられた。

本研究では, 奈良県内6か所の異なる地域で採種されてきた大和マナ系統から, 31種類のSハプロタイプを推定し, 各系統に蓄積されているSハプロタイプに基づき, 系統系統を調査した。現在, 著者らは, 伝統野菜としての大和マナの特徴を損なわず, 形質的な揃いが良く, 流通期間中にも商品の劣化が少なく商業ベースに乗る優良なF<sub>1</sub>品種の育成に取り組んでいる。推定されたSハプロタイプの情報から, 自家不和合性を利用したF<sub>1</sub>品種育成に際して, 計画的な3元, 4元交配が可能になるであろう。

### 摘 要

奈良県は, 大和マナを大和の伝統野菜と認定し, 生産・販売支援に力を注いでいるが揃いが悪い点や収穫後の外葉が黄化しやすいなどの欠点があり, 広く流通・販売されるには至っていない。そこで, 大和マナの欠点を克服するために自家不和合性を利用したF<sub>1</sub>品種の育成に取り組んでいる。奈良県内6か所の異なる地域で集団採種されてきた大和マナ系統が保有するSハプロタイプを推定するため, 各系統からクラスISLGとクラスIISPII対立遺伝子をPCRクローニングした。得られた増幅断片の配列から, 27種類のクラスIと4種類のクラスIISハプロタイプの計31種類が同定された。また, 各系統に蓄積されているSハプロタイプをもとにクラスター分析を行ったところ農総セ系・ナント系, 高田系・五條系・フカセ系および大和農園系の3グループに分類された。

### 引用文献

Abbott, R. J. and M. F. Gomes. 1989. Population genetic structure and outcrossing rate of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Heredity* 62: 411–418.

Altschul, S. F., W. Gish, W. Miller, E. W. Myers and D. J. Lipman. 1990. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* 215: 403–410.

青葉 高. 1964. 本邦そ菜在来品種の地理的分布と分類に関する研究(第4報) ツケナ在来品種の分類と地理的分布について. *園学雑.* 32: 65–72.

Bateman, A. J. 1955. Self-incompatibility systems in angiosperms. III. Cruciferae. *Heredity* 9: 53–68.

Bergelson, J., E. Stahl, S. Dudek and M. Kreitman. 1998. Genetic variation within and among population of *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* 148: 1311–1323.

Hatakeyama, K., M. Watanabe, T. Takasaki, K. Ojima and K. Hinata. 1997. Dominance relationships between S-alleles in self-incompatible *Brassica campestris* L. *Heredity* 80:

241–247.

日向康吉. 1998. 菜の花からのたより—農業と品種改良と分子生物学と—. p. 117–124. 裳華堂. 東京.

Kuittinen, H., A. Mattila and O. Savolainen. 1997. Genetic variation at marker loci and in quantitative traits in natural populations of *Arabidopsis thaliana*. *Heredity* 79: 144–152.

Miyashita, N. T., A. Kawabe and H. Innan. 1999. DNA variation in the wild plant *Arabidopsis thaliana* revealed by amplified fragment length polymorphism analysis. *Genetics* 152: 1723–1731.

Nasrallah, J. B., S. M. Yu and M. E. Nasrallah. 1988. The self-incompatibility genes of *Brassica oleracea*: expression, isolation and structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 5551–5555.

Nishio, T., M. Kusaba, K. Sakamoto and D. J. Ockendon. 1997. Polymorphism of the kinase domain of the S-locus receptor kinase gene (SRK) in *Brassica oleracea* L. *Theor. Appl. Genet.* 95: 335–342.

Nishio, T., M. Kusaba, M. Watanabe and K. Hinata. 1996. Registration of S alleles in *Brassica campestris* L. by the restriction fragment size of SLGs. *Theor. Appl. Genet.* 92: 388–394.

Nou, I. S., M. Watanabe, A. Isogai and K. Hinata. 1993. Comparison of S-alleles and S-glycoproteins between two wild population of *Brassica campestris* in Turkey and Japan. *Sex. Plant Reprod.* 6: 79–86.

Sakamoto, K., M. Kusaba and T. Nishio. 1998. Polymorphism of S-locus glycoprotein gene (SLG) and S-locus related gene (SLRI) in *Raphanus sativus* L. and self-incompatible ornamental plants in the Brassicaceae. *Mol. Gen. Genet.* 258: 397–403.

Shabel, T. F., B. Haubold and T. Mitchell-Olds. 2000. Genetic isolation by distance in *Arabidopsis thaliana*: biogeography and postglacial colonization of Europe. *Mol. Ecol.* 9: 2109–2118.

Shiba, H., M. Iwano, T. Entani, K. Ishimoto, H. Shimosato, F. Che, Y. Satta, A. Ito, Y. Takada, M. Watanabe, A. Isogai and S. Takayama. 2002. The dominance of alleles controlling self-incompatibility in *Brassica* pollen is regulated at the RNA level. *Plant Cell* 14: 491–504.

Stein, J. C., B. Howlett, D. C. Boyes, M. E. Nasrallah and J. B. Nasrallah. 1991. Molecular cloning of a putative receptor protein kinase gene encoded at the self-incompatibility locus of *Brassica oleracea*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 8816–8820.

Suzuki, G., T. Kakizaki, Y. Takada, H. Shiba, S. Takayama, A. Isogai and M. Watanabe. 2003. The S haplotypes lacking SLG in the genome of *Brassica rapa*. *Plant Cell Rep.* 21: 911–915.

- Takayama, S. and A. Isogai. 2003. Molecular mechanism of self-recognition in *Brassica* self-incompatibility. *J. Exp. Bot.* 54: 149–156.
- Takayama, S., H. Shiba, M. Iwano, H. Shimosato, F.-S. Che, N. Kai, M. Watanabe, G. Suzuki, K. Hinata and A. Isogai. 2000. The pollen determinant of self-incompatibility in *Brassica campestris*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 1920–1925.
- Watanabe, M., A. Ito, Y. Takada, C. Ninomiya, T. Kakizaki, Y. Takahata, K. Htakeyama, K. Hinata, G. Suzuki, T. Takasaki, Y. Satta, H. Shiba, S. Takayama and A. Isogai. 2000. Highly divergent sequences of the pollen self-incompatibility (*S*) gene in class-I *S* haplotypes of *Brassica campestris* (syn. *rapa*) L. *FEBS Lett.* 473: 139–144.