

アブラナ科植物における分子遺伝学の変遷

誌名	育種学研究 = Breeding research
ISSN	13447629
著者名	諏訪部, 圭太
発行元	日本育種学会
巻/号	14巻4号
巻号補足	
掲載ページ	p. 114-120
発行年月	2012年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



特集記事

アブラナ科植物における分子遺伝学の変遷

諏訪部圭太

三重大学大学院生物資源学研究科, 津市, 〒514-8507

Recent progress of molecular genetics in Brassicaceae

Keita Suwabe

Mie University, Tsu 514-8507, Japan

キーワード

DNA マーカー, SSR, 連鎖地図, ハクサイ, QTL 解析, シロイヌナズナ

1. はじめに

アブラナ科には、モデル植物であるシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) をはじめ、様々な農業作物種が属している。その中でも *Brassica* 属には、細胞遺伝学的に明らかにされた「禹の三角形 (U 1935)」と呼ばれる ABC ゲノムモデルにより説明される種間のゲノム関係がある。2 倍体種 *Brassica rapa* (ハクサイ, $n=10$), *B. nigra* (クロガラシ, $n=8$), *B. oleracea* (キャベツ, $n=9$) をそれぞれ A, B, C ゲノム種とすると, *B. juncea* (カラシナ, $n=18$), *B. napus* (ナタネ, $n=19$), *B. carinata* (アビシニアガラシ, $n=17$) はそれぞれ AB, AC, BC ゲノム種と表される。つまり、3 つの 2 倍体種を基本に、各種間での自然交雑によってそれぞれのゲノムが融合した 3 つの複 2 倍体種が形成されたことを意味している。それぞれの種は、形態的に非常にバラエティーに富んでいるが、RFLP や RAPD, オルガネラゲノムを用いた系統解析により上記系統関係は支持されている (Song *et al.* 1988)。

B. rapa は、アブラナ科アブラナ属に属し、地中海地方が起源とされている (Li 1981)。自然交雑により様々な形態的特徴を有する亜種に分化し、ハクサイやカブ、コマツナ、パクチョイなど数多くの野菜類へと受け継がれている。特にハクサイは、東アジア全般における重要な野菜で、カブとパクチョイの自然交雑により生じ、10 世紀頃にはすでに在来品種の栽培が開始されていた (Li 1981)。約 600 年前から様々な形質の改良が始まり、日本へは 1866 年に中国から導入されたと言われている。その後も品種改良が盛んに行われ、一代雑種 (F₁) 品種が数多く作出されている。現在の育種目標は、病虫害抵抗性・品質・形態・栽培適応性など多岐に渡っているが、明治・大正期に育成された 4 つの固定品種群 (愛知郡・チーフ

群・加賀群・捲心群) が基本となっている。

Brassica 属種のゲノムは、進化の過程で 3 重複によりゲノムが巨大化したと考えられているが、2 倍体種においては 500 Mb 程度と植物においては比較的小さなゲノムサイズである (The *Brassica rapa* Genome Sequencing Project Consortium 2011)。シロイヌナズナと *Brassica* 属は 1450 ~ 2040 万年前に共通祖先種から分化したとされ、これら近縁種間には共通祖先種由来のゲノム領域が存在している (Yang *et al.* 1999)。そのため、アブラナ科・アブラナ属種間におけるゲノム比較研究は、育種学や遺伝学だけでなく、系統分類学・進化学など種の分化機構やゲノム進化を考える上でも興味深い研究対象である。

本稿では、アブラナ科植物における分子遺伝学研究のここ 10 年の進歩について、筆者が 2000 年から開始した遺伝解析ツールの開発と農業形質の遺伝解析から得られた結果を中心に紹介する。

2. *Brassica* 属における SSR マーカー開発法の確立

20 世紀初めに、モーガンらはショウジョウバエを用いた研究によって遺伝子は染色体上に一定の順序で線状に並んでいることを明らかにし、同一染色体上に位置する遺伝子群は互いに遺伝的連鎖をしているという概念を確立した (Sturtevant 1913)。当時は目に見える特定の遺伝形質を指標にし、各形質の染色体上での存在位置の決定や連鎖地図の構築が行われたが、「目に見える表現型」の変異とその判定には限りがあり、より精密で多数の情報を有する指標が遺伝解析には必要であった。このような状況の中、分子生物学の進歩により、1980 年代には DNA 配列の違いを指標にしたマーカー (DNA マーカー) が開発された。DNA マーカーには、RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) や RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence), SNP (Single Nucleotide Polymorphism) など

様々なタイプが開発されているが、ここ 10 数年注目されているのがマイクロサテライト (Simple Sequence Repeat: SSR) である。マイクロサテライトは、1～6 塩基をコアとする繰り返し配列 (サテライト DNA) で、真核生物のゲノム中に散在している。サテライト DNA にはコア単位の違いによりいくつかのタイプが存在するが、その中で最も繰り返し単位が小さく、繰り返し数の変化による遺伝的変異率が高いサテライト DNA がマイクロサテライトである。ヒトでは、遺伝子内に存在するマイクロサテライトの繰り返し数の増加が原因となる神経疾患や、ある種のガン細胞でのマイクロサテライト変異頻度の上昇などのいくつかの特徴が明らかにされているが、その機能の大部分は未だに分かっていない (Moxon and Wills 1999)。しかし、高頻度にかかる繰り返し数の変化は DNA マーカーとしての有効性が高く、遺伝学や生態学など様々な研究分野で広く応用されている。研究を開始した 2000 年当時、植物における SSR マーカーは様々な種において開発初期段階にあり、*Brassica* 属も例に違わず報告されている SSR マーカーはわずか 73 種であった (Lagercrantz *et al.* 1993, Kresovich *et al.* 1995, Szeu-McFadden *et al.* 1996, Uzunova and Ecker 1999)。大小様々な研究グループが競い合って開発に取り組んでいたものの、遺伝学を行うには不十分な数であった。そこで、small-insert ゲノミクライブラリーを用いた各種コアモチーフの効率的なスクリーニング系を確立し、合計 343 種の SSR マーカーを開発した (Suwabe *et al.* 2002, 2004, 2006)。データベースの充実や技術発展により現在では千を超える SSR マーカーが *Brassica* 属種においても開発されている (Ramchiary *et al.* 2011, Gao *et al.* 2011)、当時の状況では英国における BBSRC (Biotechnology and Biological Sciences Research Council) 主導の国家プロジェクト (Lowe *et al.* 2004) をも先行していた。

3. アブラナ科における SSR マーカーの汎用性

分子生物学やゲノム学の発展により、近年の遺伝解析は個別集団での解析だけでなく種内あるいは種間での比較解析へと幅を広げてきている。種間比較を行うためには、近縁種あるいは異なる種においても相同ゲノム領域を精度高く検出することが重要であり、異なる領域あるいは同祖ではあるが相同ではない領域など類似したゲノム領域を明確に識別できなくてはならない。*Brassica* 属は、上述のような種間類縁関係があるため、より高精度な DNA マーカーが必要であることは想像に難くないが、開発した *B. rapa* の SSR マーカーについて種内あるいは近縁種間での汎用性を調査したところ、95% を超えるマーカーが *B. rapa* 種内において適用可能であり、平均多型頻度 (Polymorphism information content, PIC) も 2 塩基繰り返しマイクロサテライトでは 0.677、3 塩基繰り返しマイクロサテライトでは 0.404 と高い水準を示した。同属近

縁種 (*B. nigra*, *B. oleracea*, *B. juncea*, *B. napus*, *B. carinata*) においても 90% 以上のものが DNA マーカーとして適用可能であり、属の異なるアブラナ科植物 (*Raphanus sativus*, *Sinapis alba*) においても 70% 程度は適用可能であった。シロイヌナズナに対しては 40% 程度の適用率であったが、これは両種のゲノム進化・構成を反映してのものと思われた。これらの結果は、*Brassica* 属 SSR マーカーの DNA マーカーとしての質の高さを表しており、SSR マーカーはアブラナ科遺伝学において強力な遺伝解析ツールになることを示している。

4. *B. rapa* の高精度・高汎用性連鎖地図の構築

連鎖地図は、染色体上での遺伝子 (座) の座乗位置の決定や、ゲノム比較解析、染色体歩行による遺伝子単離など様々な研究に幅広く利用されている。ゲノム全塩基配列が解読された生物種においても、今もなお様々な場面で大きな貢献を果たしている (Arya *et al.* 2004)。植物研究においても数多くの遺伝解析に用いられ、質的あるいは量的形質に関与する遺伝子座の特定や、それを基にした遺伝子の同定、異種間でのゲノム構造の比較など多数の研究が報告されている (Wang *et al.* 1996)。有用形質に連鎖した DNA マーカーは、マーカー支援選抜育種 (Marker Assisted Selection: MAS) に応用することが可能で、目的とする形質の正確なスクリーニングや育種年限の短縮など植物育種に寄与するところが大きい。また、育種目標となる農業形質の多くは量的形質であるため、連鎖地図を用いた解析は必要不可欠であり、高精度な連鎖地図を構築することは遺伝解析における重要な要素である。しかし、植物研究が対象とする生物種は膨大であり、研究開発途上である種も少なくない。*Brassica* 属においても世界各地で様々な連鎖地図が作成されてきたが、汎用性や共通性の高い連鎖地図は 2000 年当時には開発されておらず、それぞれの研究者が独自の連鎖地図を作製するしか術がなかった。そこで、開発した SSR マーカーの高精度・高汎用性を発揮できる連鎖地図の構築を目指した。SSR マーカーを含む 3 種の DNA マーカー (SSR, RFLP, RAPD) と 94 個体の F₂ 集団による解析から、10 連鎖群・全長 1005.5 cM・262 マーカー・平均マーカー間距離 3.7 cM の連鎖地図を構築した (図 1, Suwabe *et al.* 2006, 2008, Isokawa *et al.* 2010)。SSR マーカーは連鎖地図全体に幅広く分散し、平均 8.7 cM 間隔で合計 113 個マッピングされている。本地図は、アブラナ属初の SSR マーカーを主とする連鎖地図であり、アブラナ科においてもシロイヌナズナに次ぐものである。

SSR マーカーを主骨格とする本連鎖地図を基に、国際コンソーシアムとの連携による *B. rapa* 連鎖群番号 (A1～A10) の国際統一基準を規定した (<http://www.brassica.info/resource/maps/lg-assignments.php>)。これにより、各々の *B. rapa* 連鎖地図を独自のものとして終わらせるのではな

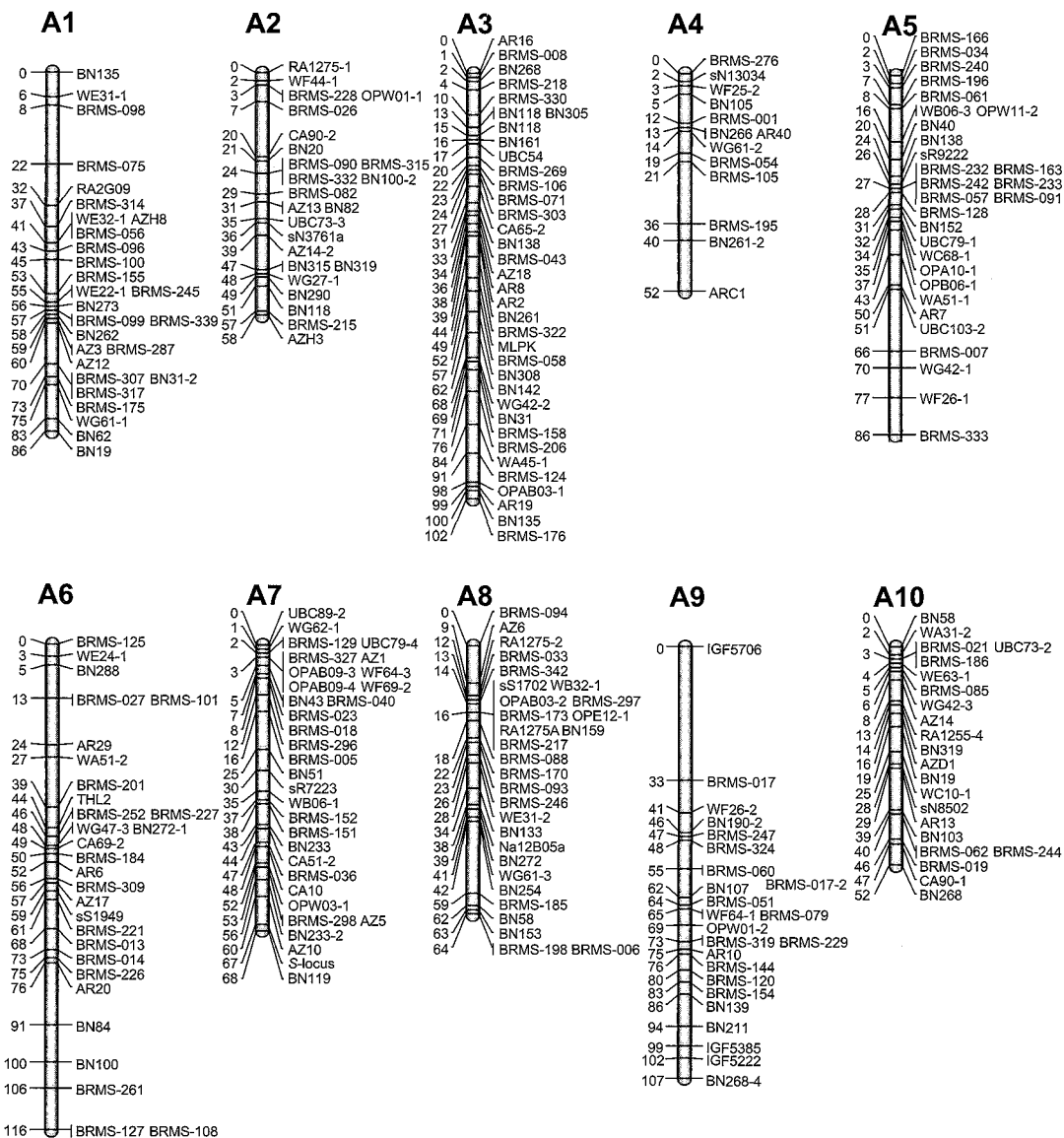


図 1. *Brassica rapa* の連鎖地図 (Suwabe *et al.* 2006, 2008, Isokawa *et al.* 2010 より改変)。

各連鎖群において、DNA マーカー名は右側、遺伝距離は左側に示す。 *B. rapa* 国際統一連鎖群番号 (A1 ~ A10) は各連鎖群の上に示す。BRMS で始まるマーカーが開発した SSR マーカー。

く、相互に対応づける (あるいは共有する) ことを可能にする基盤を確立できた。また、シンテニーマップによる近縁種とのゲノム比較により、*B. napus* の A ゲノム由来の染色体は *B. rapa* ゲノムとの高い相同性を維持しているのに対し、シロイヌナズナの染色体は *B. rapa* ゲノム内に断片化されて散在していることを明らかにした (Suwabe *et al.* 2006, 2008)。これは、*Brassica* 属の「禹の三角形」を支持する結果であるとともに、アブラナ科植物のゲノムには高い相同性を維持する同祖領域が未だに存在し、種が分化した後も共通するゲノム領域を維持しながらそれぞれ進化してきたことを裏付ける結果である。しかしながら、同祖領域内においても挿入・欠失や置換、方向性の不一致等が存在することから、*Brassica* 属種の進化過程は単純なゲノム倍化というものではなく、それぞれの種でゲノム再編成を繰り返しながら複雑に進化し

てきたことを示している。

以上のように、開発した SSR マーカーがアブラナ科遺伝学やゲノム学にもたらす効果は大きく、現在、様々な研究グループが *Brassica* 属の連鎖地図統合やゲノム構造比較、形質の遺伝解析等においてランドマークとして利用している (Kim *et al.* 2006, Choi *et al.* 2007, Cheng *et al.* 2009)。また、国際コンソーシアムが進めている *B. rapa* ゲノム全塩基配列解読プロジェクト (The *Brassica rapa* Genome Sequencing Project Consortium 2011) を波及する基盤にもなっている。

5. *B. rapa* の農業形質に関する分子遺伝学研究

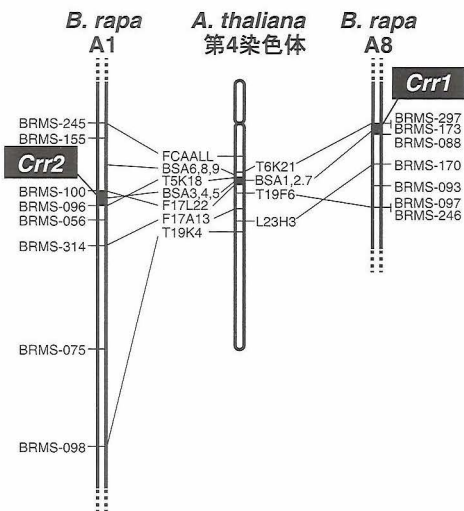
上述の分子遺伝学ツールを用いて、病害抵抗性や自家不和合性、植物生殖に関する研究を行ってきたが、こ



D

病原菌レース	連鎖群	QTLの存在位置	LOD	寄与率
Wakayama-01	A8	BRMS-297 - BRMS-088	6.4	26.8
	A1	BRMS-100 - BRMS-096	4.1	18.3
	A6	BN288D - WE24-1	2.3	10.5
Ano-01	A8	BRMS-297 - BRMS-088	25.7	71.7
	A6	BN288D - WE24-1	3.5	15.9

E



F

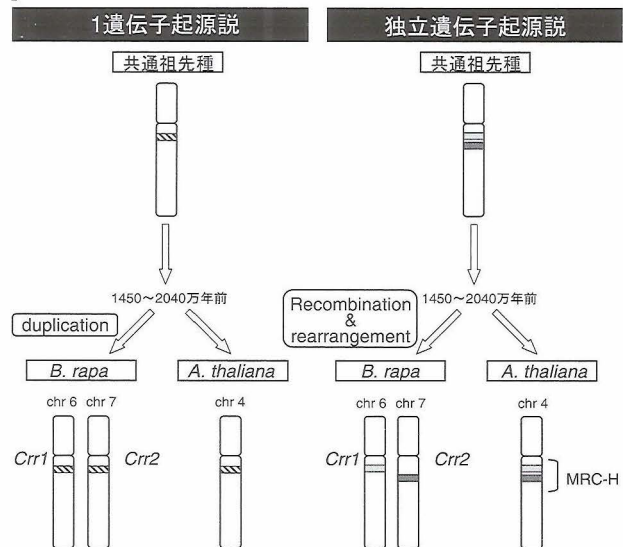


図 2. ハクサイ根こぶ病抵抗性に関する研究

A: 根こぶ病に感染したハクサイの根, B: 野菜茶業研究所が開発した強度抵抗性 F_1 品種「あきめき」, C: 汚染圃場での育成 (左: あきめき, 右: 一般品種), D: 根こぶ病抵抗性の QTL 解析, E: 根こぶ病抵抗性遺伝子座 *Crr1*, *Crr2* 領域のシロイヌナズナとのゲノムシンテニー, F: 根こぶ病抵抗性の進化仮説. B と C は野菜茶業研究所松元哲博士よりご惠贈. D と E は Suwabe *et al.* (2006) より改変.

ではハクサイ根こぶ病抵抗性に関する遺伝学研究に焦点を当てる。

根こぶ病は、土壌中に残存する病原菌によって引き起こされる土壌伝染性の植物病害である (図 2A)。根こぶ病菌 (*Plasmodiophora brassicae*) は、キャベツ・ナタネ・ハクサイ・ダイコン・カブなどアブラナ科植物を広く宿主対象としている。土壌中の病原菌は休眠孢子として長期間生存可能で耕種的・化学的防除が困難であるため、

本病に対しては抵抗性品種の作出が最も有望な防除法として期待されており、アブラナ科育種における重要な育種目標の 1 つになっている。

研究を開始した当時、いくつかのアブラナ科植物種において抵抗性遺伝子座の同定が報告されており、シロイヌナズナにおいてはレース e に対する抵抗性遺伝子座として単一の優性核遺伝子座 *RPBI* が同定されていた (Fuchs and Sacristán 1996)。この遺伝子座は、シロイヌナ

ズナ第1染色体短腕に存在し、過敏反応による細胞壁のリグニン化によって病原菌の根部への拡散を防ぐと推測されている。*B. oleracea* においては最も研究例が多く、レース2に対する2つのQTLが独立した研究によってそれぞれ同定されていた (Landry *et al.* 1992, Voorrips *et al.* 1997). また, Fuchs and Sacristán (1996) によって *B. rapa* とシロイヌナズナの根こぶ病抵抗性は単一遺伝子座支配と報告されていたが, *B. rapa* における遺伝解析では1遺伝子座のみでは抵抗性のすべてを説明することができず, Yoshikawa (1981) は寄与率の大きな遺伝子座とそれを補う遺伝子座の存在を推定していた. このように, *B. rapa* 根こぶ病抵抗性の遺伝様式は様々な推測がなされてきたが, 抵抗性機構の統一した見解は得られておらず, 明確な遺伝機構の解明には至っていなかった.

構築した連鎖地図を用いた遺伝解析 (QTL 解析) により, 病原力の強い Wakayama-01 に対しては3つ (*Crr1*, *Crr2*, *Crr4*), 病原力の弱い Ano-01 に対しては2つのQTL (*Crr1*, *Crr4*) を同定し (図2D), 1遺伝子座支配の形質と長年考えられてきた *B. rapa* 根こぶ病抵抗性において複数遺伝子座制御の遺伝機構があることを明らかにした (Suwabe *et al.* 2003, 2006). ただし, *B. rapa* の本抵抗性のすべてが複数遺伝子座支配というわけではなく, 単一遺伝子座支配のケースもその後報告されている (詳細は Piao *et al.* 2009 を参照). つまり, 遺伝的起源を異にする複数の抵抗性機構が現在に受け継がれているというのが正しい見解である.

Crr1 と *Crr4* は, Wakayama-01 と Ano-01 両レースに共通する抵抗性遺伝子座で, *Crr2* は Wakayama-01 にのみ効果のある遺伝子座である. これは, 前者は抵抗性メカニズムの基本となる遺伝子座であることを示唆している. 後者について詳しく調べてみると, Wakayama-01 に対する *Crr1* と *Crr2* は, それぞれ単独では抵抗性に効果がないが, 両遺伝子座が共に存在すると抵抗性を発揮し, さらにそれぞれの遺伝子座をホモ型に持つとより効果が高い. これは, それぞれの遺伝子座が独立した機能を持っており, 相互作用的に機能することを示唆している.

3つの根こぶ病抵抗性QTLのうち寄与率の高い *Crr1* と *Crr2* は, シロイヌナズナでは第4染色体長腕部に重なり合って存在している (図2E). これは, 連鎖地図とBAC物理地図の両面において支持されている (Suwabe *et al.* 2006, 2012). *B. rapa* ゲノムに存在する根こぶ病抵抗性遺伝子は, 祖先種ゲノムのこの1か所の領域を起源とし, それらが進化の過程で別々の領域に転座・分化したのではないかと考えている. つまり, 共通祖先種において同じ機能を有していたかは不明であるものの, 根こぶ病抵抗性遺伝子の起源は *Brassica* 属とシロイヌナズナが分化する以前にすでに存在していたのかもしれない. その起源と進化については2つの仮説を考えている (図2F). 最初の仮説は, 根こぶ病抵抗性遺伝子は1遺伝子起源で, *Brassica* 属植物がシロイヌナズナと分化した後, ゲノム

再編成の過程で抵抗性遺伝子が重複し, それらが別々の染色体領域に転座したとする説である. 転座したそれぞれの遺伝子は, 進化の過程で独自に機能分化し, それによって複雑化する病原菌に対応する新たな抵抗性機構やより強度な抵抗性へと進化していったのではないかと考えられる. もう1つの仮説は, クラスターを組んで存在する機能の異なる2つの抵抗性遺伝子が, 種分化に伴うゲノムの巨大化・再編成によって別々の染色体領域に転座したとする説である. シロイヌナズナ等においては, 病害抵抗性遺伝子は染色体上でクラスターを組んで存在すると報告されており (Holub *et al.* 1997, Hulbert *et al.* 2001), 実際に *Crr1*・*Crr2* 領域を含むシロイヌナズナの当該ゲノム領域は, 病害抵抗性関連遺伝子クラスター major recognition complex の1種 MRC-H (Holub 1997, Botella *et al.* 1997, Speulman *et al.* 1998) である. 本領域には, leucine rich repeat (LRR) や nucleotide binding site (NBS) などの特徴的なモチーフを有する遺伝子がクラスターを組んでおり, *Peronospora parasitica* に対する抵抗性遺伝子 *RPP* や *Pseudomonas syringae* に対する抵抗性遺伝子 *RPS* など数多くの病害抵抗性遺伝子が見つかっている. 根こぶ病抵抗性遺伝子もこの病害抵抗性遺伝子クラスターを構成する遺伝子に起源があり, *Brassica* 属の進化の過程でゲノム内に分散し新たな抵抗性メカニズムへと進化していったのではないだろうか. 現時点ではこれらの仮説が正しいかは明らかではないが, いずれの仮説においても根こぶ病抵抗性の多様化を導くことが可能である.

これら分子遺伝学研究を基に, 2010年には *Crr1* 遺伝子が同定され, 病害抵抗性遺伝子に典型的な TIR-NBS-LRR 型の遺伝子であることが明らかになった (島山ら 2010). また, 2011年には連鎖SSRマーカーによるMAS育種によって強度抵抗性「はくさい中間母本農9号」とF₁品種「あきめき」が開発・育成された (図2B, C). 研究ツールの開発から始めたハクサイ根こぶ病抵抗性研究は, 約10年の間に遺伝機構の解明と原因遺伝子の同定, 抵抗性品種の作製が達成された. 基礎研究と応用研究の両面から育種学に貢献できたことはこの上ない喜びである. 今後, *Crr2* 遺伝子の同定を含めた分子レベルの研究が進むことで, 本抵抗性システムの包括的な理解やその進化機構の解明, さらに強度な抵抗性品種の作出が進むことを期待している.

6. おわりに

国際コンソーシアムによる *B. rapa* ゲノムドラフトシーケンスの解読 (The *Brassica rapa* Genome Sequencing Project Consortium 2011) を筆頭に, アブラナ科分子遺伝学の研究基盤は着実に進歩してきている. これはDNAマーカー作成等の地道な研究活動と次世代シーケンサーに代表されるような近年の革新的技術の賜物であるが,

10年前には想像もつかないほどの研究環境の進歩・発展であり、モデル植物と非モデル植物間の研究環境のギャップも少しずつ小さくなってきているように思う。しかしながら、それと同時に遺伝解析などの伝統的研究法や研究に用いる植物自身の遺伝的素性・特徴の重要性を軽んじてはいけない。先人達の築いてきた遺伝学・育種学の礎は、技術が発展した現在においても変わることはない。このような学問に対する哲学や歴史を受け継ぎ、植物の謎を解き明かすことに貢献できるよう今後も精進していきたい。また、志を共にする後進の育成にも励み、アブラナ科作物研究の発展に貢献していきたい。

謝 辞

以上の研究は、野菜茶業研究所、John Innes Centre、東北大学、三重大学において様々な方の多大なるご協力とご支援を得て行われたものである。本来であればすべての方々のお名前を記して感謝を述べるべきであるが、紙面の都合上不可能であるため、ここでは研究をご指導くださった神山康夫先生、平井正志先生、池谷祐幸先生、松元哲先生、Ian Bancroft 先生、鈴木剛先生、渡辺正夫先生を代表として挙げさせていただき、感謝の意とする。

引用文献

- Arya, R., R. Duggirala, C.P. Jenkinson, L. Almasy, J. Blangero, P. O'Connell and M.P. Stern (2004) Evidence of a novel quantitative-trait locus for obesity on chromosome 4p in Mexican Americans. *Am. J. Hum. Genet.* 74: 272–282.
- Botella, M.A., M.J. Coleman, D.E. Hughes, M.T. Nishimura, J.D.G. Jones and S.C. Somerville (1997) Map positions of 47 *Arabidopsis* sequences with sequence similarity to disease resistance genes. *Plant J.* 12: 1197–1211.
- Cheng, X., J. Xu, S. Xia, J. Gu, Y. Yang, J. Fu, X. Qian, S. Zhang, J. Wu and K. Liu (2009) Development and genetic mapping of microsatellite markers from genome survey sequences in *Brassica napus*. *Theor. Appl. Genet.* 118: 1121–1131.
- Choi, S.R., G.R. Teakle, P. Plaha, J.H. Kim, C.J. Allender, E. Beynon, Z.Y. Piao, P. Soengas, T.H. Han, G.J. King *et al.* (2007) The reference genetic linkage map for the multinational *Brassica rapa* genome sequencing project. *Theor. Appl. Genet.* 115: 777–792.
- Fuchs, H. and M.D. Sacristán (1996) Identification of a gene in *Arabidopsis thaliana* controlling resistance to clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) and characterization of the resistance response. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 9: 91–97.
- Gao, C., Z. Tang, J. Yin, Z. An, D. Fu and J. Li (2011) Characterization and comparison of gene-based simple sequence repeats across *Brassica* species. *Mol. Genet. Genomics* 286: 161–170.
- 島山勝徳・諏訪部圭太・加藤文幸・布目 司・福岡浩之・松元哲 (2010) ハクサイ根こぶ病抵抗性遺伝子 *Crr1* のマップベースクローニング. *育種学研究* 12 (別 2) : 34.
- Holub, E.B. (1997) Organization of resistance genes in *Arabidopsis*. In “The gene-for-gene relationship in plant-parasite interactions” Crute, I.R., E.B. Holub and J.J. Burdon (eds.), CAB International, UK, 5–26.
- Hulbert, S.H., C.A. Webb, S.M. Smith and Q. Sun (2001) Resistance gene complexes: evolution and utilization. *Annu. Rev. Phytopathol.* 39: 285–312.
- Isokawa, S., M. Osaka, A. Shirasawa, R. Kikuta, S. Komatsu, A. Horisaki, S. Niikura, Y. Takada, H. Shiba, A. Isogai *et al.* (2010) Novel self-compatible lines of *Brassica rapa* L. isolated from the Japanese bulk-populations. *Genes Genet. Syst.* 85: 87–96.
- Kim, J.S., T.Y. Chung, G.J. King, M. Jin, T.J. Yang, Y.M. Jin, H.I. Kim and B.S. Park (2006) A sequence-tagged linkage map of *Brassica rapa*. *Genetics* 174: 29–39.
- Kresovich, S., A.K. Szewc-McFadden, S.M. Bliet and J.R. McFerson (1995) Abundance and characterization of simple-sequence repeats (SSRs) isolated from a size-fractionated genomic library of *Brassica napus* L. (rapeseed). *Theor. Appl. Genet.* 91: 206–211.
- Lagercrantz, U., H. Ellegren and L. Andersson (1993) The abundance of various polymorphic microsatellite motifs differs between plants and vertebrates. *Nucl. Acids Res.* 21: 1111–1115.
- Landry, B.S., N. Hubert, R. Crete, M. Chang, S.E. Lincoln and T. Etoh (1992) A genetic map for *Brassica oleracea* based on RFLP markers detected with expressed DNA sequences and mapping of resistance genes to race 2 of *Plasmodiophora brassicae* (Woronin). *Genome* 35: 409–419.
- Li, C.W. (1981) The origin, evolution, taxonomy and hybridization of Chinese cabbage. In “Chinese cabbage, proceedings of the First International Symposium” Talekar, N.S. and T.D. Griggs (eds.), Asian Vegetable Research and Development Center, Tainan, 3–11.
- Lowe, A.J., C. Moule, M. Trick and K.J. Edwards (2004) Efficient large-scale development of microsatellites for marker and mapping applications in *Brassica* crop species. *Theor. Appl. Genet.* 108: 1103–1112.
- Moxon, E.R. and C. Wills (1999) DNA microsatellites: agents of evolution? *Sci. Am.* 280: 94–99.
- Piao, Z.Y., N. Ramchiary and Y.P. Lim (2009) Genetics of clubroot resistance in *Brassica* species. *J. Plant Growth Regul.* 28: 252–264.
- Ramchiary, N., V.D. Nguyen, X. Li, C.P. Hong, V. Dhandapani, S.R. Choi, G. Yu, Z.Y. Piao and Y.P. Lim (2011) Genic microsatellite markers in *Brassica rapa*: development, characterization, mapping, and their utility in other cultivated and wild *Brassica* relatives. *DNA Res.* 18: 305–320.
- Song, K.M., T.C. Osborn and P.H. Williams (1988) *Brassica* taxonomy based on nuclear restriction fragment length polymorphisms (RFLPs). 1. Genome evolution of diploid and amphidiploid species. *Theor. Appl. Genet.* 75: 784–794.
- Speelman, E., D. Bouchez, E.B. Holub and J.L. Beynon (1998) Disease resistance gene homolog correlate with disease resistance loci of *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 14: 467–474.
- Sturtevant, A.H. (1913) The linear arrangement of six sex-linked factors in *Drosophila* as shown by mode of association. *J. Exp. Zool.* 14: 39–45.
- Suwabe, K., H. Iketani, T. Nunome, T. Kage and M. Hirai (2002) Isolation and characterization of microsatellites in *Brassica rapa* L. *Theor. Appl. Genet.* 104: 1092–1098.
- Suwabe, K., H. Tsukazaki, H. Iketani, K. Hatakeyama, M. Fujimura, T. Nunome, H. Fukuoka, S. Matsumoto and M. Hirai (2003)

- Identification of two loci for resistance to clubroot (*Plasmiodiophora brassicae* Woronin) in *Brassica rapa* L. Theor. Appl. Genet. 107: 997–1002.
- Suwabe, K., H. Iketani, T. Nunome, A. Ohyama, M. Hirai and H. Fukuoka (2004) Characteristics of microsatellites in *Brassica rapa* genome and their potential utilization for comparative genomics in Cruciferae. Breed. Sci. 54: 85–90.
- Suwabe, K., H. Tsukazaki, H. Iketani, K. Hatakeyama, M. Fujimura, T. Nunome, H. Fukuoka, M. Hirai and S. Matsumoto (2006) Simple Sequence Repeat-based comparative genomics between *Brassica rapa* and *Arabidopsis thaliana*: the genetic origin of clubroot resistance. Genetics 173: 309–319.
- Suwabe, K., C. Morgan and I. Bancroft (2008) Integration of *Brassica* A genome genetic linkage map between *Brassica napus* and *B. rapa*. Genome 51: 169–176.
- Suwabe, K., G. Suzuki, T. Nunome, T. Hatakeyama, Y. Mukai, H. Fukuoka and S. Matsumoto (2012) Microstructure of a *Brassica rapa* genome segment homoeologous to the resistance gene cluster on *Arabidopsis* chromosome 4. Breed. Sci. 62: 170–177.
- Szewc-McFadden, A.K., S. Kresovich, S.M. Bliet, S.E. Mitchell and J.R. McFerson (1996) Identification of polymorphic, conserved simple sequence repeats (SSRs) in cultivated *Brassica* species. Theor. Appl. Genet. 93: 534–538.
- The *Brassica rapa* Genome Sequencing Project Consortium (2011) The genome of the mesopolyploid crop species *Brassica rapa*. Nat. Genet. 43: 1035–1039.
- U, N. (1935) Genome analysis in *Brassica* with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization. Jpn. J. Bot. 7: 389–452.
- Uzunova, M.I. and W. Ecke (1999) Abundance, polymorphism and genetic mapping of microsatellites in oilseed rape (*Brassica napus* L.). Plant Breed. 118: 323–326.
- Voorrips, R.E., M.C. Jongerius and H.J. Kanne (1997) Mapping of two genes for resistance to clubroot (*Plasmiodiophora brassicae*) in a population of doubled haploid lines of *Brassica oleracea* by means of RFLP and AFLP markers. Theor. Appl. Genet. 94: 75–82.
- Wang, G.L., W.Y. Song, D.L. Ruan, S. Sideris and P.C. Ronald (1996) The cloned gene, *Xa21*, confers resistance to multiple *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* isolates in transgenic plants. Mol. Plant Microbe Interact. 9: 850–855.
- Yang, Y.W., K.N. Lai, P.Y. Tai and W.H. Li (1999) Rates of nucleotide substitution in angiosperm mitochondrial DNA sequences and dates of divergence between *Brassica* and other angiosperm lineages. J. Mol. Evol. 48: 597–604.
- Yoshikawa, H. (1981) Breeding for clubroot resistance in Chinese cabbage. In “Chinese cabbage, proceedings of the First International Symposium” Talekar, N.S. and T.D. Griggs (eds.), Asian Vegetable Research and Development Center, Tainan, 405–413.