マメガキ (*Diospyros lotus* L.) で同定された雄性決定因子連鎖領域と カキ (*D. kaki* Thunb.) 品種の雄花着生特性との関連性

梶田 啓・赤木剛士・山根久代・田尾龍太郎*・米森敬三

京都大学大学院農学研究科 606-8502 京都市左京区北白川追分町

The Relationship Between a Maleness-associated Region in *Diospyros lotus* L. and Maleness of Persimmon (*D. kaki* Thunb.) Cultivars

Kei Kajita, Takashi Akagi, Hisayo Yamane, Ryutaro Tao* and Keizo Yonemori

Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606-8502

Abstract

Most persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) cultivars bear only female flowers, which limits persimmon cross-breeding. Although the genetic and molecular bases of sexuality in persimmon have yet to be determined, a maleness-associated region, *DISx-AF4S*, was recently identified in *D. lotus* L., which is a wild diploid relative of hexaploid/nonaploid *D. kaki*. This finding suggests that *D. lotus* has a heterogametic male (XY-type) dioecious sexual system. Here, we investigated the association between *DISx-AF4S* genotypes and the maleness (sexuality) of 174 persimmon cultivars. *DISx-AF4S* was detected in all but three cultivars that bear male flowers, suggesting that the maleness of persimmon is controlled by a genetic factor similar to that in *D. lotus*. On the other hand, *DISx-AF4S* was also found in 17% of the tested cultivars that were reported to bear only female flowers. Considering that the sexuality of persimmon is more susceptible to environmental factors, some cultivars may hardly bear male flowers under certain conditions even though they have male determinants. In addition, a higher ploidy level in persimmon may also complicate sex expression. This elusive sex expression system in persimmon will be better understood when a male determinant(s) linked to *DISx-AF4S* is identified and characterized in the future.

Key Words : marker-assisted breeding, polyploidy, sex expression, XY chromosome

キーワード : 倍数性, マーカー選抜, 性表現, XY 染色体

緒 言

果樹の性表現は、栽培様式や果実生産、育種に影響を与える重要な農業形質である。我が国の主要果樹の一つであるカキ (*Diospyros kaki* Thunb.) には、雌花のみを着生する品種、雌花・雄花の両方を着生する品種が混在する。また、雌花・雄花の両方を着生する品種には両性花様の花を着生する品種もあり、雌花のみを着生すると考えられていた品種がまれに雄花あるいは両性花を着生することも報告されている (Yakushiji ら, 1995)。最近では、雄花のみを着生する個体が中国に存在することが報告された (Xu ら, 2008)。すなわち、カキの性表現様式は厳密に言えば雌雄混株 (polygamy) に分類される。これらのカキは六倍体あるいは

は九倍体である (Namikawa・Higashi, 1928; Zhuang ら, 1990)。一方 Duangjai ら (2006) が挙げたカキと近縁な *Diospyros* 属の二倍体種である *D. lotus*, *D. oleifera*, *D. glandulosa* の性表現様式は雌雄異株である。倍数化に伴う性表現様式の変化は *Rumex* 属や *Humulus* 属で知られており (Ainsworth ら, 1999; Ming ら, 2007, 2011; Ono, 1935), カキ属における性表現様式の多様性も倍数性と関連している可能性がある。

多くのカキ栽培品種は雌花のみ着生するが、‘太秋’や‘花御所’など一部の品種は雄花も着生する。雌花のみを着生する性質を有する品種の栽培では収量安定のために受粉樹が必要であること、また交配で花粉親として使えるのは雄花を着生する品種に限定され、その品種数が少ないことは、栽培育種上の制限要素となっている。また、雄花を着生する‘太秋’では、樹齢や栽培環境条件によって雄花着生過多となることがあり、着果量の減少を引き起こすことが栽培上問題となっている (林ら, 2001)。

これまでに、二倍体で遺伝解析が容易なマメガキ (*D. lotus* L.) の雄花と雌花を供試し、カキ雌花着生品種‘平核無’の雌花や雄花着生品種‘禅寺丸’の雄花の形態との

2014年9月5日 受付. 2014年11月11日 受理.

本研究は、科学研究費補助金 挑戦的萌芽研究「次世代シーケエンシング技術を利用したマメガキおよびカキの雌雄性制御機構の解明」(課題番号 26660025) により実施した。

* Corresponding author. E-mail: rtao@kais.kyoto-u.ac.jp

比較観察を行った結果、カキとマメガキでは、マメガキが若干先行して花芽分化時期に入るものの、花芽の発達様式はほぼ同様であることが明らかとなった (Kajita ら, 2014). そこで、マメガキをカキの性決定機構解明のための遺伝モデル植物として利用することとし、雌雄が分離した F_1 交雑集団を用いて Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) 解析を行った結果、雄性形質と共分離する 2 つの AFLP マーカーが同定された (Akagi ら, 2014). このことから、マメガキの雌雄性が雄性異型接合型 (XY 型) であることが強く示唆された。また、それら AFLP マーカーの一つから作出された Sequenced Characterized Amplified Region (SCAR) マーカー、*DISx-AF4S* を用いたカキ 21 品種の PCR 解析結果からは、*DISx-AF4S* がカキにおける雌雄性判別マーカーとして有用であることが示唆されている (Akagi ら, 2014). 以上の報告をふまえ、本研究では、より多くのカキ品種を供試して、*DISx-AF4S* とカキの雄花着生特性との関連性を検証するとともに、得られた結果をもとに、カキの雌雄性決定機構および性表現様式について考察を行った。

材料および方法

1. 植物材料

京都大学附属京都農場 (以下京都農場) に植栽されているカキ品種 174 品種 245 個体を供試した。各個体から幼葉 50 mg を採取し、液体窒素で凍結後、 -80°C で保存した。CTAB 法 (Doyle・Doyle, 1987) により全 DNA を抽出し、フェノール・クロロホルム抽出およびポリエチレングリコール沈殿により精製した。

2. カキ 174 品種の雄花着生特性の分類

昭和 53 年度種苗特性分類調査報告書 (カキ) (広島県果樹試験場, 1979) および、農研機構ウェブサイト (http://www.naro.affrc.go.jp/org/fruit/kih/data/kaki_index.html) をもとに、品種ごとの雄花着生の有無を調査した。3 つの花から構成される単純な集散花序の形成、ならびに発達した雄ずいと偽雌ずいから構成される花の着生が見られた場合、雄花着生個体に分類した。2014 年の開花期までに京都農場において雄花の着生が確認された品種、および参照した文献で雄花が着生するという記述があった品種を雄花着生品種とし、その他の品種を雄花非着生品種とした。

3. カキ 174 品種におけるマメガキ雄性形質連鎖マーカー *DISx-AF4S* の検出

Akagi ら (2014) によって作製された、マメガキ雄性形質と共分離する SCAR マーカー、*DISx-AF4S* 領域について PCR 解析を行った。PCR 反応液は ExTaq ポリメラーゼ (タカラバイオ (株)) 0.25 U, $10 \times$ Ex Taq バッファー 1.25 μL , 添付 dNTP mix (2.5 mM each) 1.0 μL , *DISx-AF4* プライマー (F: 5'-ACA TCC AAA GTT CTG GAG AAT CA-3', R: 5'-ATT GGT GCT TGG TCA AAC ATA TC-3') 各 5 pmol, 鋳型 DNA (10 ng/ μL) 0.5 μL を混合し、全体で 12.5 μL となるように

滅菌水で調整した。PCR は、 $95^{\circ}\text{C} \cdot 3$ 分間の後、 $95^{\circ}\text{C} \cdot 30$ 秒 $\rightarrow 56^{\circ}\text{C} \cdot 30$ 秒 $\rightarrow 72^{\circ}\text{C} \cdot 30$ 秒を 33 サイクル繰り返し、 72°C で 1 分間処理した。PCR 増幅産物は、2.0% アガロースゲル、 $1 \times$ TAE バッファーを用いた電気泳動 (100 V) で分離し、エチジウムブロマイドで染色後、UV 照射により可視化し写真撮影した。ゲノム DNA の有無を確認するためのコントロールとして、カキのアントシアニン還元酵素遺伝子 (*DkANR*; accession no. AB195284) (Akagi ら, 2010) のゲノム領域を増幅するプライマーペア (*DkANR-F*: 5'-AAA GTT GAG AAT CA-3', *DkANR-R*: 5'-ATT GGT GCT TGG TCA AAC ATA TC-3') による PCR 増幅も行った。

4. カキ *DISx-AF4S* 領域の一塩基多型の同定

雄花着生品種で *DISx-AF4S* 領域の増幅が見られたカキ 59 品種について、得られた増幅産物の塩基配列をダイレクトシーケンスにより決定した。PCR 産物を ExoSAP-IT (Affymetrix) で精製した後 DTCS Quick Start Master Mix (AB SCIEX) でマニュアルに従ってシーケンス反応を行い、CEQ8000 (AB SCIEX) で塩基配列を決定した。一塩基多型が検出された品種については、増幅産物を pGEM-T Easy ベクター (Promega Corporation) にライゲーションして大腸菌 DH5 α に導入後、いくつかのクローンについて T7 プライマーを用いて塩基配列を決定した。

結果および考察

京都農場に植栽されているカキ 174 品種 245 個体のうち、これまでに雄花の着生が見られたのは計 29 品種 40 個体であった (第 1 表)。また、京都農場で雄花の着生が見られなかったが、参照した文献上で雄花を着生するとされているのは 10 品種であった。よって供試した品種のうち、それら 39 品種以外の 135 品種を雄花非着生品種に分類した。

DISx-AF4S 領域の増幅が見られたのは、174 品種 245 個体のうち、59 品種 74 個体であった (第 1 表)。なお、同品種異個体では同じ結果が得られた (データ略)。Akagi ら (2014) の報告と同様に、これらの品種で得られたバンドの増幅サイズは、*D. lotus* の雄性個体において検出されるものと同じサイズ (約 390 bp) であった。*DISx-AF4S* 領域の増幅は、京都農場で雄花の着生が見られた 29 品種すべてにおいて見られた (第 1 表)。一方、参照した文献上では雄花着生品種であるとされているにもかかわらず京都農場では雄花の着生が見られなかった 10 品種のうち、7 品種で増幅が見られた (第 1 表)。残りの 3 品種のうち、'甘百目' および '堂上蜂屋' では既報 (Akagi ら, 2014) と同様に増幅が見られず、今回の実験結果ではそれらに加えて '山形紅柿' でも増幅が見られなかった (第 1 表, 第 1 図)。また、雄花非着生品種 135 品種のうち、23 品種で *DISx-AF4S* 領域の増幅が見られた (第 1, 2 表, 第 1 図)。つまり、供試したカキ品種のうち *DISx-AF4S* 領域を有するのは、雄花着生品種では 92%, 雄花非着生品種では 17% であった (第 2 表)。そして Fisher の直接確率検定を両側検定 (有意

第1表 カキ 174 品種における DISx-AF4S の検出

ほ場での 雄花着生	文献における 雄花着生	品種 (供試した個体数) ²	マーカー検出品種数 / 品種数
○	○	甘四溝 (2), 岩瀬戸 (1), 絵御所 (2), 晩御所 (2), 柿山柿 (2), 裂御所 (1), 三郎座 (1), 正月 (1), 猩々 (1), 素人擬シ (2), 清白寺 (1), 禅寺丸 (2), 太秋 (1), 台湾正柿 (2), 藤八 (1), 西村早生 (2), 花御所 (1), 藤原御所 (2), 筆柿 (1), 村屋 (1), 去婦柿 (2), 大和御所 (1) ³	22/22
	×	赤津 (1), 疣柿 (1)	2/2
	—	一才柿 (1), Cal.Fuyu (2), 菊饅頭 (1), 庄左衛門 (1), 山柿 (1)	5/5
	○	甘百目 (2), 衣紋 (1), 甘秋 (1), 伽羅 (1), 天神御所 (1), 堂上蜂屋 (2), 豊岡 (1), 藤田御所 (1), 山形紅柿 (1), 四溝 (1)	7/10
×	×	会津身不知 (1), アオソ (1), 愛宕 (2), 愛宕坊 (1), 油壺 (1), 安西 (1), 伊佐エ門 (1), 市田柿 (1), 一両 (1), 稲山 (1), 烏帽子 (1), 近江檀子 (1), 大河津 (2), 大御所 (1), 大核無 (3), 大長 (1), 大丹羽 (1), 大峰屋 (1), 大四溝 (1), 晩西条 (1), 晩寺社 (1), 晩妙丹 (1), オショロ (1), 鬼平 (1), 帯仕 (1), 貝淵 (2), 川端 (1), カラスミ (1), 甘露 (2), 祇園坊 (2), 菊平 (1), 清洲無核 (2), 国富 (1), 黒柿 (1), 黒熊 (1), 倉光 (1), 慶山盤柿 (2), 甲州百目 (3), 幸田御所 (1), 光陽早生 (1), 小枝柿 (1), 子成場 (1), 五伴柿 (1), 御富 (1), 小美濃 (3), 最勝 (1), 西条 (3), 酒田 (1), 作州身不知 (1), 三国一 (2), 三社 (1), 島妙丹 (1), 下北葉隠 (1), 舎谷柿 (1), 早紅柿 (1), 浄蓮 (1), 生霊 (2), 次郎 (3), 新秋 (1), 新平 (1), 杉田早生 (1), スパー平核無 (2), 駿河 (1), 早秋 (1), 台湾紅柿 (1), 高瀬 (2), 武田 (1), 田倉 (1), 無核次郎 (1), 大磨盤 (1), 朝鮮柿 (2), デシマル (1), 伝内 (1), 天竜坊 (1), 凍柿 (1), 徳田御所 (1), 突核無 (3), 刀根早生 (2), 長良 (2), 南洋水柿 (2), 新倉 (1), 荷頃子成場 (1), 二重柿 (1), 似タリ (1) ⁴ , 巴柿 (2), ハッチウリ (1), パンス (1), 平柿 (2), 平核無 (15), 平核無枝変わり (1), 広島霜降 (1), 佛師ヶ野 (1), 富有 (8), 紅衣紋 (1), 紅御所 (1), 紅魁 (1), 紅早生 (1), 豊基高柿 (1), 豊基水柿 (2), 宝生丸 (1), 前川次郎 (2), 松本早生富有 (1), 三重 (1), 三ヶ谷御所 (1), 帝 (1), 御代 (1), 水柿 (1), 水島 (1), 水妙 (1), 美濃 (1), 宮崎無核 (2), 紋平 (1), 八島 (1), ハッ寺 (2), 大和 (1), 横野 (2), 吉野 (2), 四ッ谷西条 (2), 六左エ門 (1), 若宮 (1), ワサマツオ (1), 早生寺社 (1), 早生妙丹 (1), 渡沢 (1)	18/124
	—	カワゴネ (1), 児島御所 (1), 無核 (1), すなみ (1), 秩父一才柿 (1), チャゴネ (2), 甜宝蓋 (1), 南柿 (1), よみぞ (1), 羅生巴 (1), 羅田甜柿 (1)	5/11

² DISx-AF4S が検出された品種に下線を付す³ 文献 (広島県果樹試験場, 1979) における ‘御所’ である⁴ 文献 (広島県果樹試験場, 1979) における ‘似たり (甘)’ である

第1図 カキ品種における DISx-AF4S の検出

DISx-AF4S 領域が検出されたカキ雄花非着生品種 (1–23) と非検出のカキ雄花着生品種 (24–26)

1: ‘愛宕坊’, 2: ‘大御所’, 3: ‘大丹羽’, 4: ‘カワゴネ’, 5: ‘幸田御所’, 6: ‘国富’, 7: ‘最勝’, 8: ‘無核’, 9: ‘下北葉隠’, 10: ‘生霊’, 11: ‘駿河’, 12: ‘秩父一才柿’, 13: ‘チャゴネ’, 14: ‘デシマル’, 15: ‘長良’, 16: ‘南柿’, 17: ‘似タリ’, 18: ‘紅衣紋’, 19: ‘紅早生’, 20: ‘帝’, 21: ‘紋平’, 22: ‘八島’, 23: ‘吉野’, 24: ‘甘百目’, 25: ‘堂上蜂屋’, 26: ‘山形紅柿’, M: DNA ラダーマーカー, ♂: ‘君遷子’ (雄株), ♀: ‘君遷子’ (雌株)

水準 $\alpha = 0.01$) により行った結果, *DISx-AF4S* 領域の有無と雄花着生の有無には相関があることが示された. この結果より, カキとマメガキでは性表現様式は異なるが, 雌雄性決定に関与する遺伝制御因子が共通している可能性が示唆された.

DISx-AF4S の有無と雄花着生の有無とが不一致の品種のうち, *DISx-AF4S* を有するにもかかわらず雄花非着生である品種については, (1) マーカーと雄性決定遺伝子との組換え, (2) 環境要因の影響, (3) 倍数性の影響, (4) 非機

能型雄性決定因子の存在, の4つの可能性を想定することで説明できると考えられた. まず(1)の可能性については, カキにおいて *DISx-AF4S* 領域と雄性決定因子間の遺伝距離・物理距離は不明なため (Akagi ら, 2014), 組換えの可能性は想定できる. しかしながら, マメガキにおいて *DISx-AF4S* は MSY (male-specific region of the Y-chromosome) に座乗することが示唆されており (Akagi ら, 2014), 乗換えが既に抑制されている領域である可能性も考えられる. もし, カキとマメガキの MSY において共線性が保存され

第2表 雄花着生の有無と *DISx-AF4S* の有無との関係

	品種数	マーカー検出
雄花着生品種 ^z	39	**36/39 (92%)
雄花非着生品種 ^y	135	**23/135 (17%)
合計	174	59/174

^zは場での雄花着生品種 29 品種と、ほ場で着生せず文献で着生するとされている 10 品種

^yは場での雄花非着生品種のうち、雄花着生品種とした 10 品種を除いた品種

** Fisher の直接確率検定 ($P < 0.01$) で有意差あり

ていれば、カキの *DISx-AF4S* と雄性決定因子間の組換えの可能性は低いかもしれない。ただし、Y 染色体の座乗位置によっては組換えがおきる可能性は存在する。

次に、(2) の環境要因については多くの植物で報告があり、高等植物の性表現は遺伝的制御のほかに、樹齢や環境要因、養分や内生ホルモンにより影響を受けるとされている (Badr・Hartman, 1971; Chailakhyan・Khryanin, 1978; Durand・Durand, 1984; Jindai・Singh, 1976; Malepszy・Niemirowicz-Szczyt, 1991; Negri・Olmo, 1966)。実際、カキ‘禅寺丸’の雌花・雄花の着生率は樹の栄養状態によって変動することが報告されている (米山・脇坂, 1957)。よって、一部のカキ品種は雄性決定因子を有していても、ある特定の栽培条件下では、雄性形質を発現できない可能性も考えられた。

次いで、(3) の倍数性との関連性を考察するにあたって、*DISx-AF4S* の増幅配列を確認した。その結果、増幅が見られたカキ 59 品種のうち、ダイレクトシークエンスによっ

て *DISx-AF4S* の増幅配列に一塩基多型の存在が確認された。‘花御所’および‘三郎座’については、TA クローニング後の塩基配列決定で一塩基多型を再確認し、2 品種間で 2 種類の増幅配列が共通して存在することを確認した (第2図)。これらの配列は、いずれもマメガキの増幅配列と 97% 一致し (第2図)、相同性を示した。複数の増幅配列が見られた‘花御所’および‘三郎座’では、複数のアレルあるいは類似遺伝子座をもつ可能性が考えられた。高次倍数化した植物では二倍体祖先種と比較して、様々な形質制御がしばしば複雑化するとされており、その要因の一つが遺伝子の量的効果 (gene dosage) によると考えられている (Comai, 2005)。六倍体のカキにおいても、その性表現様式は二倍体であるマメガキと比較して複雑化している。‘花御所’および‘三郎座’で示唆されたように、カキの MSY 上に雄性決定遺伝子が存在するとすれば、そのアレル数は複数である可能性がある。カキでは、同質六倍体の遺伝と同質異質六倍体の遺伝が混在する可能性が示唆されている (Akagi ら, 2012)。すなわち、マメガキでは体細胞当たりの MSY が座乗する Y 染色体数が 0 か 1 であるのに対し、高次倍数体であるカキでは体細胞当たりの MSY の量比が複雑化し、品種ごとに異なる可能性が示唆される。*Rumex* 属が示す XY 型の性決定機構では、X 染色体と常染色体の量的バランスが性発現を決定しており、異数化によってそのバランスが多様化することで間性を示すことが知られている (Parker・Clark, 1991; Ming ら, 2011)。これと同様に、六倍体のカキにおいて、性染色体 (性決定遺伝子) の量的バランスの多様化が性表現の複雑化に関与している可能性がある。

第2図 カキ‘花御所’、‘三郎座’の *DISx-AF4S* 増幅配列に存在する一塩基多型

一塩基多型の位置を↓で示す。DISx-AF4_H1/H2: ‘花御所’に存在する増幅配列, DISx-AF4_S1/S2: ‘三郎座’に存在する増幅配列, DISx-AF4: マメガキ‘君遷子’(雄株)の増幅配列

最後に、(4) の非機能型雄性決定因子の存在の可能性については、カキ品種群で検出された *DISx-AF4S* の増幅配列のうち、雄花非着生品種にのみ特異な配列は見られなかったため(データ略)、その可能性は低いかもしれない。実際、*DISx-AF4S* が検出された雄花非着生品種「駿河」の親品種は、「花御所」と「晩御所」であり両品種とも雄花着生品種である(飯久保ら, 1961)。ゆえに、「駿河」が有する *DISx-AF4S* 領域が非機能型雄性決定因子に連鎖している可能性は低い。しかしながら、カキでは複数の *MSY* アレルが存在するのであれば、非機能型雄性決定因子が複数混在し、ある一定の組み合わせにおいて雄性形質を発現できない可能性は排除できない。

一方、*DISx-AF4S* が非検出であった雄花着生品種について考察する。マメガキの性表現型は雄性異型接合型(XY型)であることが示唆されている(Akagi ら, 2014)。カキの性決定の遺伝制御機構がマメガキと同様であると仮定するならば、雄花が着生するとされている「甘百目」、「堂上蜂屋」および「山形紅柿」で *DISx-AF4S* が非検出であったことと矛盾が生じる。これについては、既述したように *DISx-AF4S* と雄性決定因子との組換えを想定することで説明できる。ただし、既報(Akagi ら, 2014)でも報告した「甘百目」および「堂上蜂屋」と同様に、「山形紅柿」もまた、京都農場あるいは農研機構果樹研究所では雄花の着生が見られていない(佐藤, 私信)。「堂上蜂屋」と「山形紅柿」は、参照した文献において、雄花着生品種に分類されているが、雄花の観察結果は記述されていない(第1表; 広島県果樹試験場, 1979)。よって、これらの品種の雄花着生能力については再検証する必要がある。一方、本研究で雄花非着生品種とした「富有」や「次郎」は *DISx-AF4S* が非検出であったが、まれに雄花を着生するという報告もある(Yakushiji ら, 1995)。ゆえに、カキの性表現においては、*DISx-AF4S* と連鎖する雄性決定遺伝子だけでなく、全く別の雄花着生機構が存在する可能性が示唆された。

本研究では、マメガキで同定された雄性形質連鎖領域 *DISx-AF4S* とカキの雄花着生特性との関係を検証した。その結果、マメガキとカキでは性表現様式が異なるものの、雌雄性決定に関与する遺伝制御因子は共通している可能性が示された。ただし、カキの雄花着生個体は通常雌花も同時に着花すること、カキには両性花が存在すること、領域の有無と雄花着生特性が不一致の品種もあることなどから、カキの雄性形質の発現は、マメガキと比較して複雑に制御されている可能性が高いと考えられた。本研究では多くの品種を供試して *DISx-AF4S* の雄性形質選抜マーカーとしての有効性についても検証した。領域の有無と雄花着生特性が不一致の品種も存在するものの、雄花が着生しやすい品種では *DISx-AF4S* が検出されているため、交雑の中間母本として花粉親を得る際に本マーカーを有効利用できると考えられた。現在、マメガキやカキにおいて、雄性決定因子の単離が進められている。今後カキにおいても、

雄性決定因子の解析を進めることで、その性表現の遺伝的機構の解明が可能となるであろう。

摘 要

カキの性表現様式は雌雄混株であり、多くの栽培品種は雄花非着生形質を示し交雑育種の制限要素となっている。これまでに、カキの雌雄性の遺伝的機構は解明されていないが、最近、カキの近縁二倍体野生種であるマメガキにおいて、雄性形質連鎖領域 *DISx-AF4S* が同定された。そこで本研究では、多くのカキ品種を供試して、*DISx-AF4S* とカキの雄花着生特性との関連性を検証した。3品種を除くすべての雄花着生品種で *DISx-AF4S* が検出されたことから、マメガキとカキの性決定に関与する遺伝制御因子が共通であることが示唆された。一方、雄花非着生品種の17%でマーカーが検出された。カキの性表現はマメガキと比較して環境要因や栄養状態、樹齢の影響を受けやすいことから、カキでは雄性決定因子をもっていない可能性も発現できない可能性が考えられた。また、マメガキで示されたように、カキ属の性決定はXY型であることが予想されるが、高次倍数性のカキでは、*MSY* 上の雄性決定遺伝子の遺伝子量に多様性が生じる可能性があり、そのことが複雑な性表現様式に影響している可能性もある。今後は、*DISx-AF4S* に連鎖する雄性決定因子をカキより同定し解析することで、カキの複雑な性表現様式が解明されることが期待される。

引用文献

- Ainsworth, C. C., J. Lu, M. Winfield and J. S. Parker. 1999. Sex determination by X: autosome dosage: *Rumex acetosa* (sorrel). p. 123–138. In: C. C. Ainsworth (ed.). Sex determination in plants. BIOS Scientific Publishers Limited, Oxford.
- Akagi, T., K. Kajita, T. Kibe, H. Morimura, T. Tsujimoto, S. Nishiyama, T. Kawai, H. Yamane and R. Tao. 2014. Development of molecular markers associated with sexuality in *Diospyros lotus* L. and their application in *D. kaki* Thunb. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 83: 214–221.
- Akagi, T., Y. Takeda, A. Ikegami, A. Kono, M. Yamada, S. Kanzaki and K. Yonemori. 2010. Quantitative genotyping for the astringency locus in hexaploid persimmon cultivars using quantitative real-time PCR. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 135: 59–66.
- Akagi, T., R. Tao, T. Tsujimoto, A. Kono and K. Yonemori. 2012. Fine genotyping of a highly polymorphic ASTRINGENCY-linked locus reveals variable hexasomic inheritance in persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) cultivars. Tree Genet. Gen. 8: 195–204.
- Badr, S. A. and H. T. Hartmann. 1971. Effect of diurnally fluctuating vs. constant temperatures on flower induction and sex expression in the olive (*Olea europaea*). Physiol. Plant. 24: 40–45.

- Chailakhyan, M. K. and V. N. Khryanin. 1978. Effect of growth regulators and role of roots in sex expression in spinach. *Planta* 142: 207–210.
- Comai, L. 2005. The advantages and disadvantages of being polyploidy. *Nat. Rev. Genet.* 6: 836–846.
- Doyle, J. I. and J. L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities or fresh leaf tissue of woody plants. *Biotechniques* 19: 1–5.
- Duangjai, S., B. Wallnöfer, R. Samuel, J. Munzinger and M. W. Chase. 2006. Generic delimitation and relationships in Ebenaceae sensu lato: evidence from six plastid DNA regions. *Amer. J. Bot.* 93: 1808–1827.
- Durand, R. and B. Durand. 1984. Sexual differentiation in higher plants. *Physiol. Plant.* 60: 267–274.
- 林 公彦・千々和浩幸・牛島孝策. 2001. カキ ‘太秋’ の着花特性. 福岡農総試研報. 20: 58–62.
- 広島県果樹試験場. 1979. 昭和 53 年度種苗特性分類調査報告書 (カキ). 広島県果樹試験場. 広島
- 飯久保昌一・佐藤敬雄・西田光夫. 1961. カキ新品種「駿河」について. 東海近畿農業試験場研究報告園芸部. 6: 33–37.
- Jindal, K. K. and R. N. Singh. 1976. Modification of flowering pattern and sex expression in *Carica papaya* by morphactin, ethephon and TIBA. *Z. Pflanzenphysiol.* 78: 403–410.
- Kajita, K., R. Tao and H. Yamane. 2014. Sex expression in *Diospyros*: phenological control of flower bud development in *D. kaki* and *D. lotus*. *Acta Hort.* (In press)
- Malepszy, S. and K. Niemirowicz-Szczytt. 1991. Sex determination in cucumber (*Cucumis sativus*) as a model system for molecular biology. *Plant Sci.* 80: 39–47.
- Ming, R., A. Bendahmane and S. S. Renner. 2011. Sex chromosomes in land plants. *Ann. Rev. Plant Biol.* 62: 485–514.
- Ming, R., J. Wang, P. H. Moore and A. H. Paterson. 2007. Sex chromosomes in flowering plants. *Amer. J. Bot.* 94: 141–150.
- Namikawa, I. and M. Higashi. 1928. On the number of chromosomes in *Diospyros kaki* L. f. and *Diospyros lotus* L. *J. Plant Res.* 42: 436–438.
- Negri, S. S. and H. P. Olmo. 1966. Sex-conversion in a male *Vitis vinifera* L. by a kinin. *Science* 152: 1624–1625.
- Ono, T. 1935. Chromosomen und sexualität von *Rumex acetosa*. *Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ.* 10: 41–210.
- Parker, J. S. and M. S. Clark. 1991. Dosage sex-chromosome systems in plants. *Plant Sci.* 80: 79–92.
- Xu, L. Q., Q. L. Zhang and Z. R. Luo. 2008. Occurrence and cytological mechanism of 2n pollen formation in Chinese *Diospyros* spp. (Ebenaceae) staminate germplasm. *J. Hort. Sci. Biotech.* 83: 668–672.
- Yakushiji, H., M. Yamada, K. Yonemori, A. Sato and N. Kimura. 1995. Staminate flower production on shoots of ‘Fuyu’ and ‘Jiro’ persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.). *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 64: 41–46.
- 米山寛一・脇坂 雄. 1957. 柿樹の貯蔵養分と花芽の発育. 農業および園芸. 32: 59–60.
- Zhuang, D. H., A. Kitajima, M. Ishida and Y. Sobajima. 1990. Chromosome numbers of *Diospyros kaki* cultivars. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 59: 289–297.