

PROFESSOR TETSUO MIKAMI, HIROAKI MATSUHIRA, EIKI HAGIHARA, TOMOHIKO KUBO
Graduate School of Agriculture, Hokkaido University
N-9, W-9, Kita-ku, Sapporo
JAPAN-060-8589

DEVELOPMENT OF MOLECULAR MARKERS FOR IDENTIFYING THE MALE-STERILE CYTOTYPES AND THE MAINTAINER-OF-CMS GENOTYPES IN SUGARBEET

Abstract

Nearly all sugarbeet hybrids depend on a single source of cytoplasmic male sterility (CMS) originally described by Owen (1945). In this study, we found that male-fertility restoration in Owen CMS by a restorer line NK198 was controlled by a single gene (named Rf1). Eight AFLP markers, tightly linked to the Rf1 locus, were identified using bulked segregant analysis. We constructed a BAC library from NK198. Five Rf1-flanking AFLP markers were used to screen the library, and as a result, eight different BAC clones were identified. The BACs were arranged into a physical map around Rf1. Five CAPS markers were further developed from the BAC DNAs. These markers will facilitate the selection of maintainer genotypes. The next aim was to develop diagnostic markers for fingerprinting sterilizing cytoplasm in breeding programmes and identifying new cytotypes that induce male sterility. We determined the complete nucleotide sequences of the mitochondrial genomes from normal and Owen CMS cytoplasm, and found four unrelated tandem repeat loci. One of the loci was revealed to be composed of an array of 32-bp tandem repeats, the number of which varied among normal, Owen CMS and different sources of CMS cytoplasm.

DEVELOPPEMENT DE MARQUEURS MOLECULAIRES POUR L'IDENTIFICATION DES CYTOTYPES MALES STERILES ET LES GENOTYPES MAINTENEUR DE CMS DANS LA BETTERAVE A SUCRE

Abrégé

Presque tous les hybrides de betterave à sucre dépendent d'une source unique de stérilité mâle cytoplasmique (CMS) à l'origine décrite par Owen (1945). Dans cette étude, nous avons constaté que la restauration de la fertilité mâle dans une CMS d'Owen par une lignée restauratrice NK198 est contrôlée par un gène simple (appelé Rf1). Huit marqueurs AFLP, étroitement liés au locus Rf1, ont été identifiés en utilisant la Bulké Segregant Analysis (BSA). Nous avons construit une banque de BAC issue de NK198. Cinq mutants Rf1- de marqueurs AFLP ont été employés pour cribler la banque, permettant l'identification de huit clones BAC distincts. Les BAC ont été groupés sur une carte physique autour de Rf1. Cinq marqueurs CAPS ont été ensuite développés à partir des DNA des BAC. Ces marqueurs faciliteront la sélection des génotypes mainteneurs. L'objectif suivant était de développer des marqueurs de diagnostic pour la cartographie peptidique des cytoplasmes de stérilisation dans les programmes d'amélioration génétique, et pour l'identification de nouveaux cytotypes qui induisent la stérilité masculine. Nous avons déterminé les séquences des nucléotides complètes des gènes mitochondriaux à partir de cytoplasmes normaux et CMS d'Owen, et trouvé quatre loci indépendants répétés en tandem. Un de ces loci s'est révélé être composé d'une succession de 32-bp tandem répétés dont le nombre varie en distribution de cytoplasmes normaux, Owen et d'autres sources.

ENTWICKLUNG MOLEKULARER MARKER FÜR DIE IDENTIFIZIERUNG MÄNNLICH-STERILER ZYTOTYPEN UND DER MAINTAINER VON CMS-GENOTYPEN IN ZUCKERRÜBEN

Kurzfassung

Fast alle Zuckerrübenhybride hängen von einer einzigen Quelle zytoplasmischer –kerngenetischer Pollensterilität (Englisch: CMS - cytoplasmatic male sterility) ab, wie sie ursprünglich von Owen (1945) beschrieben wurde. In dieser Studie haben wir festgestellt, dass die männliche Fruchtbarkeitsrestauration in Owen CMS durch eine Restorer Linie NK198 durch ein einziges Gen (genannt Rfl) geregelt wurde. Acht AFLP Marker, die eng mit dem Rfl-Locus verbunden waren, konnten mittels Bulk Segregant Analyse ermittelt werden. Wir konstruierten eine BAC-Bibliothek von NK198. Fünf Rfl-flankierende AFLP-Marker wurden verwendet, um die Bibliothek zu untersuchen, dabei konnten acht unterschiedliche BAC-Klone identifiziert werden. Die BACs wurden in einer physischen Landkarte um Rfl angeordnet. Fünf CAPS-Marker wurden ausgehend von den BAC DNAs weiterentwickelt. Diese Marker werden die Auswahl von Sterilität-erhaltenden ("Maintainer") Genotypen erleichtern. Das nächste Ziel war die Entwicklung diagnostischer Marker für die Erstellung von Fingerabdrücken sterilisierender Zytoplasmen in Zuchtprogrammen und die Identifizierung neuer Zytotypen, die männliche Sterilität hervorrufen. Wir ermittelten die vollständigen nukleotiden Sequenzen der mitochondrialen Genome von normalen und von Owen CMS-Zytoplasmen und fanden vier unverwandte Tandemwiederholungsloci (tandem repeat loci). Es zeigte sich, dass einer dieser Loci aus einer Anordnung von 32 bp. Tandemwiederholungen bestand, wobei deren Anzahl unter normalen, Owen CMS- und unterschiedlichen Quellen von CMS-Zytoplasmen variierte.
