

学 位 論 文 題 名

ペレニアルライグラス遺伝資源の耐凍性に関する
生態遺伝学的研究

学位論文内容の要旨

ペレニアルライグラス (*Lolium perenne* L.) は、多年生の寒地型イネ科牧草で、分けつ力、再生力に優れ、早春や晩秋の低温期に比較的良好に生育し、最も消化率が高く、家畜の嗜好性に優れていることから、温帯地域では世界的に最も広く栽培されている草種である。しかし、他の寒地型イネ科牧草と比較して、高温、乾燥や低温等の環境ストレスに対する抵抗性が弱い。本州では中部高冷地帯で栽培されているが、夏期の高温による冠銹病の被害を受けやすい。一方、北海道の草地では、冬期の気候が厳しく、ペレニアルライグラスは越冬性に問題があり、オーチャードグラスやチモシーを基幹草種とする草地の補助草種として用いられているにすぎない。

高品質と放牧用としての優れた特性を有するペレニアルライグラスは、草地面積の多い北海道において広く導入を図りたい草種であり、近年その栽培が徐々に増えつつあるが、栽培を安定化するには、越冬性の向上を図ることが急務である。越冬性は、複数の要因が関与した特性であるが、その主要因は耐凍性である。

本研究は、ペレニアルライグラス遺伝資源の耐凍性について、生態学および遺伝学的観点から検討することを目的とした。

1. 耐凍性の遺伝変異

(1) ペレニアルライグラスにおける耐凍性の評価法として、幼苗検定法、冠部凍結法および電気伝導度法について検討した。全ての評価法で品種間差異が認められ、評価法の間には高い正の相関が認められた。2倍体には品種間差異が観察されたが、4倍体には品種間差異は認められなかった。また、4倍体品種と比較して、2倍体品種に耐凍性の高い品種が多く観察された。

(2) 低温順化の過程における温度と日長の影響を検討するために、耐凍性の異なる6品種を用いて、3水準の温度条件（8℃、5℃、0℃）と2水準の日長条件（8時間、16時間）によるハードニングを施し、その耐凍性を評価した。低温順化の過程において、温度が低いほど耐凍性が高かった。温度が低下し、限界温度に達すると、ハードニングが開始され、その後の長日条件による光の照射量の増加が耐凍性をさらに増大させた。ハードニングの条件としては、低温が主要因で、日長は副要因と考えられた。

(3) 耐凍性の遺伝資源の変異の様相を明らかにするため、世界各地で育成され2倍体155品種の耐凍性を評価した。凍結処理後の生存率は、0%～100%まで変異し、北欧の育成品種と芝生用の品種が高かった。

2. 耐凍性の遺伝解析

(1) 耐凍性の遺伝様式を解明するために、耐凍性の異なる4品種の各2栄養系を用いて総当り交雑分析を行った。F₁間の耐凍性には差異が認められ、この差異は品種間に由来する変異と認められた。耐凍性の遺伝変異は、相加的遺伝子効果が大きく、耐凍性の遺伝率が高く、選抜効果が期待できる。正逆交雑間差がF₁とF₂の両世代で観察され、細胞質遺伝子の関与が示唆された。

(2) 細胞質の遺伝変異を明らかにするために、25品種を供試してミトコンドリアDNAのRFLP分析を試みた。cox1/HindⅢ, cox1/BamHⅠ, cox1/EcoRⅠおよびcox1/HindⅢのプロープと制限酵素の組み合わせにおいて、多型が認められた。多型の認められた組み合わせにより供試品種を12種類のゲノム型に分類した。総当たり交雑分析で正逆交雑間差が認められた4品種の細胞質は異なるゲノム型に属した。耐凍性とミトコンドリアDNA型の間には、特定の関係は認められなかった。

(3) 8アイソザイム遺伝子座 (Aco1, Aco2, Aph1, Got3, Pgi2, Pgm1, Poxおよび6Pgd1) の対立遺伝子頻度の変異を解析し、耐凍性との関連を検討した。耐凍性との間に相関が認められたアイソザイム遺伝子座は、Aco1とGot3であった。Aco1では耐凍性が高いほど、a遺伝子の頻度が高く、b遺伝子の頻度が低かった。Got3では耐凍性が高いほど、b遺伝子の頻度が低く、c遺伝子の頻度が高い傾向が認められ、2つのアイソザイム遺伝子座と耐凍性に関与する遺伝子が連鎖している可能性が示唆された。

3. 耐凍性と諸特性の関係

(1) 耐凍性と越冬性の関係を検討するために、圃場における越冬後の生存率で越冬性を評価した。越冬性には品種間差異が認められ、2倍体品種には、耐凍性との間に正の相関が認められたが、4倍体品種には、両者の間に相関は認められなかった。4倍体品種は、2倍体品種より耐凍性が低いにもかかわらず、高い越冬性を示した。

(2) 耐凍性と牧草生産性の関係を検討した。2倍体品種には、草丈や生体重が小さく、茎数が多い品種ほど、耐凍性が高い傾向が観察されたが、早晚性との間に相関は認められなかった。一方、4

倍体品種は、草丈や生体重が大きい品種ほど、耐凍性が高い傾向を示した。また、2倍体品種は、耐凍性が高い品種ほど秋期の牧草生産性が低かった。一方、4倍体品種は、耐凍性が高い品種ほど秋期の牧草生産性が高かった。

(3) 耐凍性と体内成分との関連を検討するため、ハードニング前とハードニング後における遊離糖として、スクロース、グルコースおよびフルクトースを定量した。ハードニングによる耐凍性の増大とともに、スクロース含量の増加が観察され、耐凍性が高い品種ほど、地下部のスクロース含量の増加率が高く、ハードニングにより合成されたスクロースを地下部へ転流し、蓄積する能力と耐凍性の関連が示唆された。また、ハードニングによる耐凍性の増大とともに、水分含有率は低下した。

4. 本研究結果をもとに、ペレニアルライグラスにおける耐凍性の遺伝資源および耐凍性品種育成に関して考察した。耐凍性の遺伝資源として、北欧で育成された2倍体品種と芝生用品種が重要であろう。「Riikka」は、耐凍性や牧草生産性が高いことから、北海道への導入品種として有望であり、その耐凍性は母性遺伝することから、耐凍性品種の育種における種子親としての利用が可能であろう。秋の牧草生産性の低下を招かない耐凍性品種育成の可能性が4倍体品種で示唆された。アイソザイム遺伝子、RFLPおよびスクロース含量は、遺伝資源の利用に有力な標識因子であろう。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 島 本 義 也

副 査 教 授 木 下 俊 郎

副 査 教 授 三 上 哲 夫

学 位 論 文 題 名

ペレニアルライグラス遺伝資源の耐凍性に関する生態遺伝学的研究

本論文は、図16、表27、引用文献173を含み、5章からなる総頁数148の和文論文である。別に、参考論文8編が添えられている。

高品質と放牧用として優れた特性を有するペレニアルライグラス (*Lolium perenne* L.) の栽培を北海道において安定化するには、越冬性の向上を図ることが急務である。越冬性は、複数の要因が関与した特性であるが、その主要因は耐凍性である。

本研究は、ペレニアルライグラス遺伝資源の耐凍性について、生態学および遺伝学的観点から検討することを目的とした。

ペレニアルライグラスにおける耐凍性の評価法について、低温順化の過程における温度と日長の影響を検討した結果、温度が低下し、限界温度に達すると、ハードニングが開始され、温度が低く、長日条件による光の照射量が多いほど耐凍性が高いことから、ハードニングの条件としては、低温が主要因で、日長は副要因とした。

耐凍性の遺伝資源の変異の様相を明らかにするため、世界各地で育成され2倍体155品種の耐凍性を評価した。凍結処理後の生存率は、0%~100%まで変異し、北欧の育成品種と芝生用の品種が高いことを明らかにした。

耐凍性の遺伝様式を解明するために、耐凍性の異なる4品種の各2栄養系を用いて総当り交雑分析を行った。F₁間の耐凍性には差異が認められ、この差異は品種間に由来する変異と認められた。耐凍性は、相加的遺伝子効果が大きく、遺伝率が高く、選抜効果が期待できる。正逆交雑間差がF₁とF₂の両世代で観察され、細胞質遺伝子の関与が示唆された。細胞質の遺伝変異を明らかにするために、25品種を供試してミトコンドリアDNAのRFLP分析を行い、多型が認められたプローブと制限酵素の組み合わせから、供試品種を12種類のゲノム型に分類した。

総当り交雑分析で正逆交雑間差が認められた4品種の細胞質は異なるゲノム型に属した。8アイソザイム遺伝子座の対立遺伝子頻度の変異を解析し、耐凍性との間に相関が認められたアイソザイム遺伝子座は、Aco1とGot3であり、2つのアイソザイム遺伝子座と耐凍性に関与する遺伝子が連鎖している可能性が示唆された。

次に、耐凍性と越冬性の関係を検討し、2倍体品種では、正の相関が認められたが、近年、開発され多く利用されている4倍体品種には、認められなかった。4倍体品種は、2倍体品種より耐凍性が低いにもかかわらず、高い越冬性を示した。2倍体品種は、耐凍性が高い品種ほど草丈や生体重が小さく、茎数が多く、秋期の牧草生産性が低かった。一方、4倍体品種は、耐凍性が高い品種ほど草丈や生体重が大きく、秋期の牧草生産性が高かった。

耐凍性と体内成分との関連を検討し、ハードニングによる耐凍性の増大とともに、スクロース含量の増加が観察され、耐凍性が高い品種ほど、地下部のスクロース含量の増加率が高く、ハードニングにより合成されたスクロースを地下部へ転流し、蓄積する能力と耐凍性の関連が示唆された。また、ハードニングによる耐凍性の増大とともに、水分含有率は低下した。

本研究は、ペレニアルライグラスにおける耐凍性の遺伝資源および耐凍性品種育成に関して考察し、耐凍性の遺伝資源として、北欧で育成された2倍体品種と芝生用品種が重要であり、特に、「*Riikka*」は、耐凍性や牧草生産性が高いことから、北海道への導入品種として有望であり、その耐凍性は母性遺伝することから、耐凍性品種の育種における種子親としての利用を示唆している。また、秋の牧草生産性の低下を招かない耐凍性品種育成の可能性が4倍体品種で示唆された。アイソザイム遺伝子、RFLPおよびスクロース含量は、遺伝資源の利用に有力な標識因子となることを明らかにしている。

得られた知見は、北海道の草地に適したペレニアルライグイス耐凍性品種の育成に寄与するところ大であり、産業上貢献すること頗る大きく、また、学会においても高く評価されている。

よって、審査員一同は、最終試験の結果と合わせて、本論文の提出者山下雅幸は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格があるものと認定した。