

葯培養技術の活用による寒地に適応した高品質な牧草育種素材の開発

山田 敏彦 [北海道農業研究センター／研究室長]

郭 仰東 [北海道農業研究センター／特別研究員]

眞田 康治 [北海道農業研究センター／主任研究官]

背景・目的

ペレニアルライグラスは高品質で再生に優れ、放牧に最も適したイネ科牧草であるが、耐寒性に劣る。一方、メドウフェスクは耐寒性に優れ、冬の寒さが厳しい道東地域でも栽培は可能であるが、品質や再生に劣る。そのため、属間雑種を利用して、両者の優れた特性を併せもつ新型牧草であるフェストロリウム新品種の開発は、道東地域向け放牧用イネ科牧草として期待される。本研究では、葯培養技術を活用して、メドウフェスクの耐寒性に優れた特性をペレニアルライグラスへ導入する移入交雑 (introgression) 育種を行うための育種素材を開発する。

内容・方法

ペレニアルライグラスとメドウフェスクとのフェストロリウム複二倍体雑種品種・系統 (四倍体)、Prior、Bx350、Bx351を供試し、葯培養法により効率的に半数体を作成できる培養条件を検討した。葯培養由来個体についてフローサイトメーターで倍数性を検定した。半数体である二倍体個体 (dihaploid、ダイハプロイド) および染色体倍加の四倍体個体 (double haploid、ダブルハプロイド) における遺伝変異や農業特性の変異を調査した。遺伝変異としてSSRマーカーによる多型解析およびフローサイトメーターを用いたPI染色法による核当たりDNA量を測定した。また、冠部凍結法で耐凍性の検定を行うとともに飼料品質として中生デタージェント繊維 (NDF) 含量を調査した。耐凍性に優れるダイハプロイド個体を育種素材として選抜した。さらに、葯培養由来エンブリオジェニックカルスによるアグロバクテリウム形質転換技術の確立も検討した。

結果・成果

フェストロリウム複二倍体雑種品種・系統では、小孢子が一核期中期から後期にあたる時期の穂を採取して4℃暗黒化で保管したものから葯を取り出し、PG-96培地を用いて培養することにより、葯から高い頻度で効率的にエンブリオジェニックカルスが得られることを明らかにした。供試品種・系統の中ではBx350でその形成率が高く、カルス形成率に遺伝変異が存在することが示唆された。190-2培地で多くのシュートが形成され、数多くの葯由来の植物体を再分化させることができ、計700個体以上をポットに移植することができた。本研究で確立した培

養技術ではアルビノ個体の発生は少なかった。葯培養由来個体の倍数性をフローサイトメーターで調査したところ、二倍体の割合が四倍体より高かった。Priorでは二倍体の割合が他の系統より高かった。

葯培養由来個体ではSSRマーカーや核当たりDNA量の変異は元の品種・系統より大きいことが明らかになった。DNAの質的および量的の両面において葯培養により変異を拡大できると考えられた。次に、農業形質として冠部凍結法で耐凍性を検定した。ペレニアルライグラスやフェストロリウム品種・系統の多くでは生存率が0%で、一方、メドウフェスク品種は高い生存率を示した。葯培養由来個体に関しても多くは生存率が0%であったが、大きな変異があり、メドウフェスク並の高い生存率を示した個体がみられた。また、四倍体個体と二倍体個体の比較では四倍体個体の生存率が低かった。NDF含量にも耐凍性同様に大きな変異がみられた。耐凍性に優れた個体を選抜し、その花粉稔性を調査したところ部分可稔であった。以上のことから、フェストロリウム複二倍体の葯培養由来個体では多くの遺伝変異が存在することが明らかになり、特に、北海道での牧草育種で重要となる高度な耐凍性を有して部分稔性を有する二倍体のダイハプロイドを選抜することができた。

一方、高い再分化能を有するBx351由来の葯培養由来エンブリオジェニックカルスにCaMV35プロモーターにGUS遺伝子を連結させたpIG121-Hmベクターを組み込んだアグロバクテリウムLBA4404で感染させた。ハイグロマイシン選抜で23個体 が得られた。19個体でGUS発現が確認され、9個体でDNAおよびRNAレベルでGUS遺伝子の確認が認められた。フェストロリウムではアグロバクテリウムの形質転換に関する報告はなく、また、ペレニアルライグラスでも報告がない。他の作物でも葯培養カルスを用いた研究も少ないが、葯培養由来エンブリオジェニックカルスを用いていることから染色体倍加により導入した遺伝子をホモにすることが可能であるのでその有用性は高いと考えられる。

今後の展望

葯培養により得られた二倍体である部分稔性ダイハプロイド個体の中で、メドウフェスク並の高度に耐凍性に優れる個体は育種素材として有望で、現在、ペレニアルライグラスとの戻し交雑を実施中である。今後、メドウフェスクの耐寒性に優れた特性のみをペレニアルライグラスへ導入したフェストロリウム新品種を育成できる足がかりができた。また、アグロバクテリウムによる形質転換技術は、今後、遺伝解析や品種育成に有効であると考えられる。以上、数年後に高度耐寒性を有する品質、再生に優れる放牧用のフェストロリウム新品種の誕生が期待できる。