



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Use of genetic diversity on DNA markers to increase forage yield in timothy (<i>Phleum pratense</i> L.) [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	田中, 常喜
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	乙第6935号
Issue Date	2014-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/57146
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Tsuneki_Tanaka_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士（環境科学）

氏名 田中常喜

学位論文題名

Use of genetic diversity on DNA markers to increase forage yield
in timothy (*Phleum pratense* L.)
(チモシーにおける収量性改良のためのDNA多型の利用)

ヘテロシス（後代が両親よりも収量などの形質で優れる現象）を最大化させるF₁雑種法は、20世紀後半の農業の発展の象徴のひとつである。このF₁雑種法を採用し著しく収量が増加したトウモロコシ（*Zea mays* L.）の遺伝獲得量は約20（%/10年）と報告される。多くの作物で、系譜やDNA多型などから遺伝距離を求め、ヘテロシス程度を予測しようとする試みが古くから報告されている。いくつかの報告では、DNAマーカーの利用により、収量性の改良に有益な情報が得られることを示唆している。一方、多年生・他殖性を特徴とする牧草類における品種改良による収量性の増加は、低いことが指摘される。国内のチモシー（*Phleum pratense* L.）の品種改良を含む牧草育種における収量性の改良は、集団内の相加効果の改良に重点が置かれ、牧草収量の飛躍的な増加を目指す育種戦略において、ヘテロシスの利用が課題である。本研究では、北海道で最も重要な牧草であるチモシーに焦点をあて、ヘテロシスの効果を最大限に発揮して収量性の改良効果をより高めるために、主に早生の育種材料に用いて遺伝解析を行い、DNAマーカー多型を利用した新しい育種法の提案を検討した。

まず始めに、北海道でのチモシー品種改良における収量性の遺伝獲得量と遺伝率について検討した。1960年代以降に北海道各地で実施した系統適応性検定試験結果における収量性の推移から、採草用早生品種群における収量性の遺伝獲得量は、3.1（%/10年）と推定され、その他の牧草類での報告と同様に低い値であった。多交配後代検定11試験での年間合計収量を混合効果モデルにより解析した結果、母系間の遺伝率は中程度（ $h^2 = 0.43$ ）であった。親栄養系とその後代系統15組を供試した親子同時検定の結果、母系内個体間の遺伝率は極めて低かった（ $h_N^2 = 0.03$ ）。これら結果をもとにした選抜シミュレーションから、相加効果の改良により期待される収量性の遺伝獲得量は、最大で5.4（%/10年）であった。ヘテロシスの利用が、牧草収量の飛躍的な改良に必要であることが示された。

DNAマーカーによる多型解析は、牧草の収量性改良の停滞を打破できる可能性がある。そこで、合成品種および多交配後代系統を用いて、SSRマーカー28ペアの多型から算出した母材間の遺伝距離（GD）と後代の収量性の関係を調査した。親栄養系の一般組合せ能力（GCA）が高いにもかかわらず後代の収量が対照的な2つの合成品種を用いた試験では、親栄養系相互間のGDの平均値は、期待通りの多収であった系統で0.74、収量の低かった系統では0.68であった。一つの多交配群内の後代系統とその親栄養系を用いた試験では、後代系統の収量性と親の郡内平均遺伝距離（GGD）の間に有意な正の相関（ $r = 0.45$ ）があった。これらのことから、母材間のGDが後代の収量性と関係することが明らかになった。また、多交配後代系統の収量とGGDの回帰分析の結果、回帰残差項の分散は有意であった。DNAマーカーによる解析から、GDに関連する遺伝効果と残りの遺

伝効果、すなわちヘテロシス効果と相加効果を識別できる可能性が示された。

DNA多型による遺伝変異と表現型値の評価は、ヘテロシスの発揮が期待される優良な親個体の選抜に貢献できる。北海道優良品種「オーロラ」を花粉親、早生育種母集団を種子親としたトップ交配後代系統を用いて、母材間のGDと後代の収量性の関係を調査した。GDと収量性の相関は、0.68 ($p < 0.001$) と比較的高かった。一般的な相反循環選抜の行程では、ヘテロティックグループ (HG ; 群内よりも群間で高いSCAの発揮が期待される集団) 間の特定組合せ能力 (SCA) の改良にトップ交配後代検定が用いられる。DNA多型に基づいた遺伝解析とトップ交配後代検定の採用によって、ヘテロシスあるいはSCAを利用した多収性育種を実現できる可能性が示された。

2つのトップ交配後代系統を組み合わせて合成するCSS (clone and strain synthesis) 法は、3つの母材 (種子親2栄養系および花粉親1系統) により構成され、相反循環選抜でのHGの利用に適した合成品種法の変法である。本試験では、CSS法による系統開発を通じて、(i) 合成2代の収量におけるGCAやSCAの相対的な寄与と (ii) 流通種子の世代に相当する後期世代について、収量性を含むCSS系統の能力の安定性について検討した。トップ交配後代6系統を材料にCSS法により合成した15 ($=_6C_2$) 系統 (CSS系統) の合成2代の収量を重回帰に当てはめた結果、トップ交配後代の収量性、種子親のGCA、種子親-花粉親間のGDおよび種子親間のGDの説明変数の候補から、種子親のGCAと種子親間のGDが選択され、それらの標準化回帰係数は、それぞれ0.55、0.53であった。このことから、効率的に多収系統を育成する初期段階として、各HGからCSS系統の種子親栄養系候補を選抜することが妥当であると考えられた。その後、上記15系統のひとつ「北系04306」について、合成2~4代の世代間比較を行った。2か年合計収量に世代間で有意差はなかった。世代経過に伴って、僅かに収量が低下する傾向 (-1.7%, 合成2~4代) がみられたが、「北系04306」合成4代は、花粉親「オーロラ」に比べ109%と多収であった。CSS系統の流通種子に相当する世代において、近交弱勢が起きる危険のないことが確認できた。

以上の試験結果をもとに実施した選抜シミュレーションから、チモシー多収性品種の開発に向けたDNA多型を利用した相反循環選抜法を提案した。この手法の選抜サイクル当たりの収量性の増加は6.2%であり、選抜サイクルに要する期間を6年と仮定すると、従来法の期待値の約2倍に相当する10.3 (%/10年) の遺伝獲得量が見込まれた。また、従来法と比較して、提案法の相加効果の増加は同程度であったことから、系統を合成する段階で、従来法により育成した場合にも収量改良の損失は少ないことが示された。現在の育種事業では、初期に育成したCSS系統が、複数箇所で生産力検定試験を実施している段階にある。最もすすんでいる極早生育成系統については、北海道優良品種として2018年に登録することを目指して、試験を展開中である。これら系統群の中に、道内3か所で実施した生産力検定試験いずれにおいても、2年目の収量で標準品種を上回る優良な系統を見いだしている。また、28DNAマーカーセットを用いて、早生育種母集団の選抜96個体から、HGの候補を選定した。相反循環選抜法を2015年から育種現場で展開することを目指して、交配試験を実施している段階である。本研究で提案した育種方法を活用することにより、飛躍的に収量性を改良したチモシー新品種開発が加速され、北海道の酪農畜産業における飼料基盤の強化と自給粗飼料を主体とした環境保全型農業の推進に貢献することが期待できる。