



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	寒地型イネ科牧草の育種およびDNAマーカーの開発とQTL解析
Author(s)	山田, 敏彦; Yamada, Toshihiko
Citation	日本草地学会誌, 49(1), 57-63
Issue Date	2003
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/8389">https://hdl.handle.net/2115/8389</a>
Type	journal article
File Information	tyamada.pdf



寒地型イネ科牧草の育種および

DNA マーカーの開発と QTL 解析

山田 敏彦

5

独立行政法人農業技術研究機構北海道農業研究センター

( 062-8555 北海道札幌市豊平区羊ヶ丘 1 番地 )

受付日 : 2003 年 1 月 日 / 受理日 : 2003 年 月 日

10

キーワード : 遺伝地図 , 寒地型イネ科牧草 , QTL ,

DNA マーカー , 品種

Breeding and development of DNA markers and QTL analysis

15

in temperate grasses

Toshihiko YAMADA

National Agricultural Research Center for Hokkaido Region

20

Key words: cultivar, DNA marker, genetic map, QTL,  
temperate grasses

## 1. わが国の代表的な寒地型イネ科牧草の育種

わが国の代表的な寒地型イネ科牧草として、チモシー、イタリアンライグラス、ペレニアルライグラス、オーチャードグラス、トールフェスク、メドウフェスクなどがあげられる。

5 これらの草種について、1960年ごろから農林省（後に、農林水産省）の試験研究機関で本格的に育種が開始され、約40年が経過した。紙面が限られているので、わが国で最も利用されているチモシーとイタリアンライグラスおよび著者が育種に携わったオーチャードグラスとペレニアルライグラスに  
10 ついてトピックス的なことを中心に説明したい。

### 1) チモシー

チモシーは耐寒性に優れ、乳牛に対する嗜好性の高いことから、北海道では広く利用され、今日、北海道の全草地面積58万haの70%で栽培されている。公的機関では北海道立北  
15 見農業試験場および民間では雪印種苗株式会社とホクレン農業共同組合連合会で育種が行われている。

### (1) 出穂期別品種のラインナップ

チモシー育種で特筆すべきは出穂期別に品種が育成されてきたことにある<sup>47)</sup>。チモシー遺伝資源では北海道における熟  
20 期には1か月以上の幅があるが、以前栽培されていた品種はいずれも早生であった。採草用チモシーの1番草収穫適期は出穂始～出穂期の1週間ほどしかなく、刈遅れによる品質低

下がよくみられた。そこで、北見農試では育種開始当時から熟期別に品種育成が行われ、これまで6品種が育成されている。1969年に早生品種「センポク」が「北海道在来種」などから選抜して育成され、1977年にはさらに改良された早生品種「ノサップ」が育成された。また、1977年にはヨーロッパ由来の品種を素材として晩生品種「ホクシュウ」が、1980年にはアメリカの品種と北海道在来種を交配して極早生品種「クンプウ」が育成された。さらに、1992年には中生品種「アツケシ」および「キリタップ」が育成された。極早生品種（北見農試で出穂始が6月9日）から晩生品種（同7月4日）で出穂期別に品種が揃い、これまでの早生品種中心の草地から、早生と中生品種を組み合わせたチモシー草地へと移行している。

## (2) 耐倒伏性や再生性に関する選抜

チモシー育種では多収性とともに関し、斑点病抵抗性などに関する選抜がこれまでに、最近では耐倒伏性、再生性、採種性などに関する選抜が重視されている。

倒伏は機械作業効率の低下、収量の減収や収穫物の飼料品質低下に直接つながるとともに、個体密度低下による裸地化や雑草侵入による草地荒廃も引き起こす。1番草で倒伏が発生しやすい時期は節間伸長期と出穂始日～出穂期の2つあり、前者では下位節間の急伸長、後者では1茎重と稈長の増加が

その要因として考えられる<sup>8)</sup>。この2つの生育時期における耐倒伏性は、それぞれ異なる形質として捉えて選抜していく必要があるが、生育時期ごとの耐倒伏性に関する狭義の遺伝率は高いことから、生育時期ごとに耐倒伏性の調査を行って  
5 個体選抜を行えば効果的な耐倒伏性の選抜が可能である<sup>49)</sup>。

チモシーは1番草刈取り後の再生性がオーチャードグラスなどと比較して劣り、2番草以降、チモシーが混播マメ科牧草や雑草との競合に負け、その結果チモシー割合がしばしば低下する。最近では、北海道でも夏場に一時的に高温・乾燥  
10 条件になることが多く、この問題に拍車をかけている。この競合力に関する狭義の遺伝率は高く、チモシー個体をシロクローバとの競合条件で栽培して選抜すれば1回の個体選抜でもかなりの程度選抜ができる<sup>50)</sup>。

## 2) オーチャードグラス

15 オーチャードグラスは施肥反応性や再生力に優れ、集約的な高位生産に適し、北海道ではチモシーとともに基幹草種として位置づけられてきたが、近年、その栽培面積が激減している。その原因としてはチモシーと比較して越冬性に劣ることなどがあげられる。ここではオーチャードグラスの耐寒性  
20 育種研究に関することを紹介する。

道東地方で発生するオーチャードグラスの冬枯れは、雪腐大粒菌核病による害と凍結害が主な原因であり、これらが相

互に関係しあっている<sup>40,46)</sup>。耐凍性に関しては、幼苗検定法が確立され、半致死温度(LT<sub>50</sub>)法による評価で耐凍性の検定が可能になった<sup>1)</sup>。北海道での雪腐病菌の分布は土壤凍結期間が長く積雪の少ない道東地方では大粒菌核病菌が、土壤凍結が少なく積雪の多い道北、道央、道南地方では雪腐小粒菌核病菌が主に分布している。そのため、積雪が多い札幌での圃場では、大粒菌核病の検定には高畦栽培法や雪腐病菌に特異的な薬剤の組み合わせ試験により可能であるが、大粒菌核病に対しては凍害が誘因となっていることから、耐凍性の選抜でもある程度対応が可能である<sup>1)</sup>。耐凍性に関しては、海外から導入した遺伝資源について検定が行われ、ロシアで育成された品種や生態型に優れているものが多いことが明らかになった<sup>37,39)</sup>。そこで、北海道農研では、高度耐凍性を示すロシアの遺伝資源とこれまでに育成した品種を交雑して育種を進め、有望系統を育成している。一般に耐寒性に優れる品種・系統は秋の生育が劣るため<sup>38,45)</sup>、このような品種・系統ではオーチャードガラスのメリットが生かされない。今後は、ヨーロッパアルプスのような中緯度で寒さが厳しい地方由来の生態型利用などについても考える必要がある。

### 20 3) ペレニアルライグラス

#### (1) 循環選抜法による越夏性に関する集団改良

ペレニアルライグラスは本州以南では夏の暑さが問題と

なり，その栽培が容易ではなかった。そこで，山梨県酪農試験場では越夏性改良を最も重要な育種目標として選抜に取り組んだ。越夏性は早ばつ耐性および冠さび病や葉腐病などの夏季病害抵抗性などの要因が複雑に関与するが，それらの影響を受けた越夏後の植物体株における草勢評価を中心とした選抜が繰り返され，その結果，中生品種「ヤツカゼ」<sup>56)</sup>，晩生品種「ヤツユタカ」<sup>57)</sup>が最近相次いで育成された。新品種では越夏性が飛躍的に改良され，夏～秋の収量性が高く安定しており，本州以南での栽培が容易になった。選抜を繰り返すことは，優良な遺伝子を集積させることができ，他殖性であるイネ科牧草では有用であると考えられる<sup>64)</sup>。育成品種の後代を引き続き選抜した系統ではさらに能力の向上がみられることから，数サイクルにわたり繰り返す選抜が優良品種の開発には必要である。上記の場合，四倍体であることから，選抜を繰り返すことによる近交係数の増加は比較的少ないと考えられるが，系統の合成には，母系の由来等に考慮しながら，近交係数を上げないようにしなければならない。

## (2) イタリアンライグラスとの交雑 (ハイブリッドライグラス)

イタリアンライグラスとペレニアルライグラスは交雑が可能で，両者の雑種ハイブリッドライグラスは，イタリアンライグラスの旺盛な初期生育と優れた春季草勢，嗜好性および

栄養価の高さなどの特性と、ペレニアルライグラスの永続性、特に越夏性および越冬性の良さなどの特性を兼ね備えている。1944年にニュージーランドで二倍体品種「マナワ」が育成され、わが国にも導入され、ショートローテイションライグラスあるいはHIライグラスと呼ばれた。その後、欧米を中心として主に四倍体品種が育成され、経済開発協力機構には78品種が登録されている(<http://www.oecd.org/>)。山梨酪試では海外導入品種およびわが国で育成したイタリアンライグラスとペレニアルライグラス品種との交雑集団を用いて、選抜を繰り返し、新品種「ハイフローラ」を2001年に育成した<sup>51)</sup>。新品種は越夏性、さび病などの夏季病害抵抗性に優れ、本州以南で高位生産の採草用品種として今後の普及が期待される。

#### 4) イタリアンライグラス

##### 15 (1) 利用型による品種の分類と育種

イタリアンライグラスは各地の立地条件や経営形態と作期、特に出穂の早晚性および気温が上昇してからの再生力などから5つの利用型に分類される<sup>62)</sup>。

年内利用型：9月上中旬に播種して年内に出穂する極早生で、年内に収穫を終えることができる。「シアスアオバ」が属し、アメリカ合衆国南部のオクラホマ州で良好な冬作物として最近注目されている。極短期利用型：極早生～早生で、

暖地では4月上旬に出穂して早くから利用できる。気温が上昇してからの再生力が弱いため、短期に生育が終わる。「ミナミアオバ」などが属する。短期利用型：早生～中生で、中心的な品種群である。早春の伸長が良好で早春の生産性に優れ、5月下旬ごろまで利用できる。「ワセアオバ」や「ワセユタカ」が属する。長期利用型：晩生で春に多収で7月上旬ごろまで利用できる。「ヒタチヒカリ」などが属する。極長期利用型：晩生で夏期に比較的な冷涼な地域で越夏が可能である。「アキアオバ」などが属する。

10 茨城県畜産試験場と山口県農業試験場では、利用型群ごとに多収性ととも耐倒伏性、いもち病、さび病抵抗性、採種性、乾物消化率、低硝酸態窒素含量の選抜が行われている。

#### (2) いもち病抵抗性品種の育成

近年、西南暖地を中心にいもち病の発生が急増している。

15 いもち病菌は気温が20～25前後の高温で促進されるため、西南暖地で早播きをすると大きな被害となることが多い。山口農試では、いもち病の接種試験を繰り返して、抵抗性品種「さちあおば」を2002年に育成した<sup>35)</sup>。この品種は二倍体の極早生品種で、西南暖地では9月上旬からの播種が可能で  
20 年内および春の1～2番草の刈取り利用ができる。山口農試では、引き続き、由来の異なるいもち病菌を用いた選抜を繰り返すとともいもち病は発芽直後の立枯症との関連性も指

摘されており，立枯症に強い品種の育成をめざしている。

### (3) 細胞質雄性不稔 (CM) の利用

CM個体が「ワセアオバ」から見いだされた<sup>30)</sup>。このCM個体を利用して花粉症対策として無花粉化に関する研究が行われている。CMはミトコンドリアDNAをプローブとしたRFLPで同定ができる<sup>9)</sup>。稔性回復の遺伝様式は2つの補足的遺伝子に支配され，いずれか1つの遺伝子を不稔型ホモに固定した維持系統を育成すれば完全CM系統の作出が可能である<sup>3)</sup>。また，このCM個体を利用して，トールフェスクとの属間雑種フェストロリウムが作出され，夏枯れが少なく高い生産性を示すことが報告されている<sup>10)</sup>。

## 2. フェストロリウム育種とその可能性

### 1) フェスク類とライグラス類の属間交雑研究の現状

ライグラス類は良質な牧草であるが，耐寒性や耐旱性などの環境ストレス耐性は劣り，一方，フェスク類は環境ストレス耐性には優れるが，牧草の品質が劣るため，両者の間で雑種を作ることによりフェストロリウムという優良な新型牧草の開発が期待される<sup>53)</sup>。この品種開発には，両者を交雑して完全に両方のゲノムを持つ複二倍体を育種する方法と雑種に片親の戻し交雑を繰り返して染色体の一部を導入させる移入交雑を行う方法とがある。前者は遺伝的不安定による採種性の低下などの問題があるので，最近では移入交雑による品種

の開発の試みが多い<sup>4, 20, 21, 41)</sup>。四倍体イタリアンライグラスと六倍体トールフェスクとの雑種にイタリアンライグラスを戻し交雑した後代の中から二倍体で耐旱性に優れる個体が選抜された<sup>21)</sup>。この個体はトールフェスクのクロマチンの一部を持っており、トールフェスクの耐旱性に関する遺伝子が移入されたものであった<sup>22)</sup>。移入されたクロマチンの識別には、染色体を識別できるGISH法が有効である<sup>54)</sup>。GISH法によるイタリアンライグラスと四倍体トールフェスクの種である var. glaucescens との雑種の観察から、両親由来の染色体識別は可能であった<sup>34)</sup>。また、フェストロリウム雑種個体から薬培養により効率的に優良な形質をもつ個体を選抜することが可能である<sup>23, 32)</sup>。イタリアンライグラスとトールフェスクの雑種個体を薬培養して得られた集団には耐凍性や耐旱性に大きな変異がみられた<sup>67, 68)</sup>。

## 15 2) わが国におけるフェストロリウム育種・研究の現状

農林水産省の研究プロジェクトとして、畜産草地研究所ではイタリアンライグラス×トールフェスク、東北農業研究センターではイタリアンライグラス×メドウフェスク、北海道農業研究センターではペレニアルライグラス×メドウフェスクとの組み合わせで育種研究が行われている。ここでは著者たちの研究に若干触れる。ペレニアルライグラスは耐寒性に劣るため、酪農の中心地域である北海道東部地域では寒さが

厳しいためその栽培は困難である。一方，メドウフェスクは耐寒性には優れるが，品質や再生はペレニアルライグラスより劣る。そのため，両種の優れた特性を併せもつフェストロリウム品種の開発を行っている。この組み合わせでは 1970 年代にイギリスで複二倍体品種「Prior」が育成されており<sup>53)</sup>，「Prior」や北海道農研育成ペレニアルライグラスとメドウフェスク品種との間で交雑した雑種個体を評価して選抜中である。また，ペレニアルライグラスやメドウフェスクに特有な SSR マーカーを明らかにしている<sup>36)</sup>。さらに，属間雑種品種・系統に関する葯培養にも着手した（未発表）。

### 3. 寒地型イネ科牧草における DNA マーカーの開発と QTL 解析

近年，DNA マーカーの開発により，遺伝変異の解析，遺伝子型の同定，および遺伝地図の作成と農業形質のような量的形質を支配している遺伝子座 (QTL) の解析が可能になった。寒地型イネ科牧草では他殖性などの理由から，研究報告は多くないが，最近では，ペレニアルライグラスを中心にいくつかの報告がある。ここでは，ライグラス類について，著者が関わった研究を中心に紹介したい。なお，UK CropNet FoggDB (<http://ukcrop.net/perl/ace/search/FoggDB>) にアクセスするとイネ科牧草のゲノム情報を入手できる。

#### 1) ペレニアルライグラス

### ( 1 ) DNA マーカーの開発

わが国のイネゲノム研究はイネゲノム研究プログラム (RGP)として 1991 年から本格的に開始された。RGPの初期の研究として、「日本晴」の根やカルス由来の cDNAクローン<sup>44, 60)</sup>から RFLPマーカーが作り出された。これらの異種起源の RFLPマーカーを用いて「日本晴」と「Kasalath」を交雑した F<sub>2</sub>集団を解析して 2,275 のマーカーからなる高密度な遺伝地図が作成され<sup>15)</sup>、現在では、3,000 以上の RFLPマーカーからなる高密度連鎖地図が構築されている ( <http://rgp.dna.affrc.go.jp/Publicdata.html> )。そこで、マッピングやシーケンス情報があるイネの cDNA由来 RFLPを用いてイネ科牧草で検出される RFLPマーカーの利用を検討した。その結果、イネの RFLPマーカーの一部はペレニアルライグラス、メドウフェスクおよびトールフェスクで解析が可能で、多型を示すマーカーを用いることにより、品種における遺伝変異の解明や品種に特異的なマーカーの同定ができることが明らかになった<sup>58)</sup>。しかしながら、イネ RFLPマーカーはコムギなどのイネ科穀類の RFLPマーカー<sup>63)</sup>と比較して、その利用効率は低かった。その理由として、イネは Bambusoideae 亜科に属するが、ペレニアルライグラスなどのイネ科牧草はコムギなどと Pooideae 亜科に属し、この植物分類の違いが影響していると考えられた<sup>58)</sup>。

RFLPマーカーは他の草種とのゲノムの比較ができる<sup>6)</sup>などゲノム解析には有益ではあるが、実験操作が複雑であるため、手軽にPCRで増幅できるRAPDマーカーによる解析法が開発された。RAPDに関する研究はペレニアルライグラスでも多いが、

5 RAPDマーカーを用いてヨーロッパおよび日本における生態型の遺伝的多様性が解明されている<sup>61)</sup>。RAPDマーカーは再現性でやや問題があるために、最近ではAFLP、SSR、STSマーカーなどの新しいPCRベースのDNAマーカーが開発されている。

10 ペレニアルライグラスではAFLPマーカーを利用して品種内や品種間変異の解析が行われている<sup>14, 43)</sup>。一方、ペレニアルライグラスのシーケンス情報から共優性マーカーであるSSRマーカーがオーストラリアのグループによって開発されている<sup>25)</sup>。そこでは濃縮法により2つのライブラリー

15 LPSSRH( [CA]*n*)とLPSSRK(2と3塩基反復モチーフ)が選抜され、1853クローンから859クローンが反復配列を示し、重複したものを除きユニークな718個のクローンを選んでプライマーが設計された。最終的に増幅が容易で遺伝子型間で多型を示す約100個のマーカーが選定された。これらのマーカー

20 有用であり、また *Lolium* の他種やフェスク類にも利用できる。アメリカでもSSRマーカーが開発され、芝用品種識別に利用されている<sup>31)</sup>。STSマーカーではオオムギなどのイネ科他種で

開発されたプライマーのペレニアルライグラスへの利用に関する報告がある<sup>52)</sup>。

## (2) 遺伝地図の作成

ペレニアルライグラスの遺伝地図の作成には薬培養でホモ化したダブルハプロイド個体を片親にしてヘテロ性の高い個体を交雑した $F_1$ 集団で解析が行われている<sup>26)</sup>。当初、多型検出を容易にするために、イタリアンライグラスとペレニアルライグラスとの種間雑種個体にペレニアルライグラスのダブルハプロイド個体を交雑した $F_1$ 集団で解析が行われた<sup>16)</sup>。

作成された遺伝地図は106のRFLPやRAPDマーカーからなるものであったが、種間交雑由来のためマーカー分離比に異常が多いことやイタリアンライグラス由来集団であるために集団の永続性が低いことから、この集団を用いた解析はその後進展しなかった。その後、ペレニアルライグラス内の変異を利用した解析集団(p150/112)が養成され、International Lolium Genome Initiative(ILGI)の国際コンソシアムとして研究が進められることになった。p115/112はルーマニアのエコタイプx(北イタリアエコタイプx「Melle」ないしは「S23」)のヘテロ性の高い1個体にダブルハプロイド個体を交雑した $F_1$ 集団である。イギリスの草地環境研究所で交配され、ILGIに参画したオーストラリア、フランス、日本の研究機関に株分けした植物体が分譲され、マーカーの解析が行われた。イ

ギリスやオーストリアではコムギ，オオムギなどに由来するRFLPについて，日本ではイネに由来するRFLPについて，フランスではAFLPについてそれぞれマーカーの多型解析が行われ，109のRFLPマーカーを含む240の分子マーカーからなる5 遺伝地図が構築された<sup>26)</sup>。さらに，オーストラリアのグループは約100個のSSRマーカーについて解析を行い，ILGIの遺伝地図に追加した<sup>27)</sup>。

ILGIの遺伝地図マーカーにはコムギ，オオムギやイネのRFLPマーカーが利用されているために，ゲノムの比較が可能10 である。イネ科植物のシンテニーの関係を図1に示した。一部不明なゲノム領域がみられるもののイネ科植物のゲノムの保存性は高いと考えられた。このシンテニー関係をもとにして，ペレニアルライグラスの連鎖群の番号がコムギなどの連鎖群の番号と対応するように付けられた<sup>26)</sup>。

15 p150/115を用いた主動遺伝子のマッピングも行われている。ペレニアルライグラスの自家不和合性を支配している二つの複対立遺伝子座は連鎖群1にS座，連鎖群2にZ座がそれぞれ座乗していることが明らかにされた<sup>55)</sup>。また，フルクタン合成酵素を支配している遺伝子の一つは連鎖群7に座乗20 していた<sup>33)</sup>。著者たちのグループでもフルクタン合成に関する遺伝子や低温応答遺伝子のマッピングを行っている<sup>48)</sup>。

p150/115以外の研究としては，イギリスでは可溶性炭水化

物含量で選抜した個体から由来する部分近交系間で交雑した F<sub>2</sub> 自殖集団 RAPS の遺伝地図が作成され、ILGI の遺伝地図との比較が行われている<sup>2)</sup>。また、1 本のメドウフェスク染色体を置換したペレニアルライグラスのモノソミック置換系統を用いて AFLP と GISH による解析から、イネ染色体 1 とシンテニ  
5 ー関係にある連鎖群の遺伝地図と物理地図が作成されている<sup>28, 29)</sup>。アメリカではイタリアンライグラスとペレニアルライグラスを交雑した集団で解析が進められている<sup>65, 66)</sup>。さらに、オーストラリアでは耐旱性や冠さび病抵抗性の解析集  
10 団を用いた SSR マーカーによる連鎖解析が進められている<sup>7)</sup>。

### ( 3 ) QTL 解析

山梨酪試の圃場では p150/112 が栽培され、出穂日や草型、草丈などの生理・形態的形質に関する特性と耐旱性の調査が実施された。また、北海道農研では耐寒性に関する特性調査  
15 が行われた。200 個の RFLP および SSR の共優性マーカーからなる遺伝地図データ<sup>27)</sup> をもとに QTL を解析したところ、出穂日、草型、草丈、茎の太さ、二番草出穂程度に有意な QTL が見られた<sup>59)</sup>。最も大きな QTL が検出された形質は草型で、連鎖群 7 に変異の 31% を説明する QTL がみられ、連鎖群 4 にも 2 つの QTL  
20 が検出された。草丈と茎の太さは連鎖群 1 と連鎖群 3 の同じ位置にそれぞれ QTL が検出された。出穂日は連鎖群 4 に同定され、草型の 1 つの QTL と同じ位置であった。また、二番草出穂

程度は連鎖群 6 に QTL がみられた。一方，圃場での越冬性や冠部凍結法による  $LT_{50}$  では誤差が多いなどの理由から有意な QTL を同定できなかった。しかしながら，耐凍性と関連性の高い電気伝導度に関する QTL が連鎖群 4 上の出穂日を支配する QTL の近傍で検出された<sup>59)</sup>。また，耐旱性に関しても同様な位置に有意な QTL がみられた（田瀬ら未発表）。さらに，飼料品質に関する QTL 解析はオーストラリアと日本との共同研究として実施中である。

## 2) イタリアンライグラス

10 自殖性植物ではホモ親個体を交雑した  $F_1$  を自殖させたときに組換えが起こるのでその組換え価をもとに地図が作成されるが，他殖性植物の場合はヘテロ接合親同士 of  $F_1$  でそれぞれの親の対の染色体間の組換え価から，種子親と花粉親の地図および両親に共通な地図が作成される。この解析は two-way  
15 pseudo-testcross と呼ばれる<sup>13, 42)</sup>。この場合，一つの遺伝子座で 4 つの異なる対立遺伝子の組み合わせがあり，2 つの遺伝子座では 16 までの組み合わせがあり，解析は複雑となる。そこで，上記のペレニアルライグラスの ILGI での解析にはヘテロ親にホモ接合のダブルハプロイド親個体を交雑した  $F_1$   
20 集団を用いている（one-way pseudo-testcross）<sup>5, 42)</sup> ので多型解析は容易となる。しかし，ホモ個体の作出は容易でなく個体の維持も困難なことから，他殖性植物ではヘテロ親同士

を交配したF<sub>1</sub>集団を用いたtwo-way pseudo-testcrossによる連鎖解析が一般的である。

イタリアンライグラスではCM個体と可稔個体とのF<sub>1</sub>集団を用いてtwo-way pseudo-testcrossにより遺伝地図が構築されている。最初にAFLPマーカーによる7連鎖群からなる高密度連鎖地図が作成され<sup>11)</sup>、その後、イタリアンライグラスのライブラリーからSSRマーカーが開発され<sup>17)</sup>、この地図に追加された<sup>18)</sup>。また、RFLPマーカーのマッピングも行われ、ILGIの遺伝地図や他の穀類ゲノムとの比較が行われている<sup>24)</sup>。さらに、冠さび病抵抗性系統と罹病系統の交配した集団の解析から抵抗性遺伝子に連鎖するAFLPマーカーが同定されている<sup>12)</sup>。

#### 4. 今後の育種の展開方向

イネ科牧草の育種は本格的に開始され約40年が経過し、現在の育成品種の能力はかなり高まっている。そのため、既存品種系統や海外導入遺伝資源を基礎集団として表現型を中心とした選抜を1~2回行って系統を合成しただけでは既存品種を上回ることは難しい。しかし、他殖性であるイネ科牧草の品種系統にはまだ多くの変異が内在していることから、品種を育成した集団を数回にわたり選抜して集団の能力をさらに改良することは現実的な育種法であると考えられる。また、イネ科牧草では出穂期別に集団を養成してその集団内で選抜

が繰り返されることが多い。そこで、変異の拡大にはたとえば早生と晩生集団の交配を行うことにより効率的に行うことができる。実際にイギリス草地環境研究所ではペレニアルライグラスの早生×晩生交雑から基礎集団が養成され選抜が行  
5 われている<sup>19)</sup>。

今後は、DNA マーカーを用いた選抜技術を育種現場で積極的に利用していかなければならない。畜草研を中心に開発されたイタリアンライグラスの SSR マーカーなどを育種場所  
10 利用できるようになれば、育種の効率化などが図られると期待される。一方、イネの DNA シーケンス解析はほぼ終了し、  
今後は、これらのゲノム情報をいかに育種現場へ利用するかということにある。イネ科牧草はイネとは分類学的には近い  
ことから、イネの EST データベースなどを活用した候補遺伝  
15 子アプローチは今後有用なマーカーを同定するのに有用な手法となるであろう。また、これらの遺伝子解析によるシーケ  
ンス情報から、選抜に有用となる SNP マーカーの開発に発  
展することも期待される。ヨーロッパの研究機関は EU プロジ  
20 ェクトとしてペレニアルライグラスの SNP マーカーの開発に  
2002 年秋から着手した。ところで、ヒトゲノム解析で研究が  
着手されているように、染色体上で近接する多型部位の間で  
しばしば観察される連鎖不平衡の現象を利用すれば、目的と  
した SNP 解析が効率化され、目的遺伝子の特定ができる。牧

草の在来品種や生態型などでは人為的操作が少なく世代が維持されていることから，連鎖不平衡による解析には適すとも考えられ，今後，新たな遺伝子解析の戦略として期待できよう。

5

#### 引用文献

- 1) 阿部二郎 (1986) 寒地型イネ科牧草の耐凍性と雪腐病抵抗性に関する品種間差異. 北海道農試研報 146, 89-143.
- 2) ARMSTEAD, I. P., L. B. TURNER, I. P. KING, A. J. CAIRNS  
10 and M. O. HUMPHREYS (2002) Comparison and integration of genetic maps generated from F<sub>2</sub> and BC<sub>1</sub>-type mapping populations in perennial ryegrass. Plant Breed. 121, 501-507.
- 3) 荒川明・杉田紳一・内山和宏・小松敏憲 (2002) イタリアン  
15 ライグラス細胞質雄性不稔における稔性回復の遺伝解析. 育種研究 4 (別2), 342.
- 4) CHEN, C. and D.A. SLEPER (1999) FISH and RFLP-marker assisted introgression of Festuca mairei chromosomes into Lolium perenne. Crop Sci. 39, 1676-1679.
- 20 5) DE SIMONE, M., M. MORGANTE, M. LUCCHIN, P. PARRINI, and A. MAROCCO (1997) A first linkage map of Cichorium intybus L. using a one-way pseudo-testcross and PCR-derived

- markers. Mol. Breed. 3, 415-425.
- 6) DEVOS, K.M., and M.D. GALE (1998) Comparative genetics in the grasses. Plant Mol. Biol. 35, 3-15.
- 7) FORSTER, J.W., E.S. JONES and K.F. SMITH (2002)  
5 Molecular marker-based trait dissection in perennial ryegrass. Plant, Animal & Microbe Genome X, San Diego, USA.
- 8) 藤井弘毅・山川政明・澤田嘉昭 (1999) 根釧地域における牧草における倒伏の発生推移と生育との関係. 北海道草地研究会誌 33, 36.
- 9) 藤森雅博・高溝正・杉信賢一 (1994) RFLP を用いた細胞質雄性不稔イタリアンライグラスの同定. 育雑 44 (別 2), 33.
- 10) 藤森雅博・杉信賢一・小松敏憲・高溝正 (1998) トールフェスクとイタリアンライグラスとの属間雑種の F<sub>1</sub> 利用  
15 III. 利用 4 年目までの生産力検定. 日草誌 44 (別), 128-129.
- 11) FUJIMORI, M., M. HIRATA, S. SUGITA, M. INOUE, H. CAI, F. AKIYAMA, Y. MANO and T. KOMATSU (2000) Development of a density map in Italian ryegrass (Lolium multiflorum LAM) using amplified fragment length polymorphism.  
20 Abstract in Molecular Breeding of Forage Crops 2000, Lorne and Hamilton, Australia, 19th-24th November, 52.
- 12) FUJIMORI, M., K. HAYASHI, M. HIRATA, K. MIZUNO, T.

- FUJIWARA, F. AKIYAMA, Y. MANO, T. KOMATSU and T. TAKAMIZO  
(2003) Linkage analysis of crown rust resistance gene in  
Italian ryegrass (Lolium multiflorum LAM.) Plant &  
Animal Genome XI, San Diego, USA.
- 5 13) GRATTAPAGLIA, D., and R. SEDEROFF 1994. Genetic  
linkage maps of Eucalyptus grandis and Eucalyptus  
urophylla using a pseudo-testcross: mapping strategy and  
RAPD markers. Genetics 137, 1121-1137.
- 14) GUTHRIDGE, K.M., M.P. DUPAL, R. KÖLLIKER, E.S. JONES,  
10 K.F. SMITH, and J.W. FORSTER (2001) AFLP analysis of  
genetic diversity within and between populations of  
perennial ryegrass (Lolium perenne L.). Euphytica 122,  
191-201.
- 15) HARUSHIMA, Y., M. YANO, A. SHOMURA, M. SATO, T. SHIMANO,  
15 Y. KUBOKI, T. YAMAMOTO, S.Y. LIN, B.A. ANTONIO, A. PARCO,  
H. KAJIYA, N. HUANG, K. YAMAMOTO, Y. NAGAMURA, N. KURATA,  
G.S. KHUSH, and T. SASAKI (1998) A high-density rice  
genetic linkage map with 2275 markers using a single F<sub>2</sub>  
population. Genetics 148, 479-494.
- 20 16) HAYWARD, M.D., J.W. FORSTER, J.G. JONES, O. DOLSTRA,  
C. EVANS, N.J. MCADAM, K.G. HOSSAIN, M. STAMMERS, J.A.K.  
WILL, M.O. HUMPHREYS, and G.M. EVANS (1998) Genetic

analysis of Lolium. I. Identification of linkage groups and the establishment of a genetic map. Plant Breed. 117, 451-455.

- 17) HIRATA, M., M. FUJIMORI and T. KOMATSU (2000)  
5 Development of simple sequence repeat (SSR) markers in Italian ryegrass. Abstract in Molecular Breeding of Forage Crops 2000 , Lorne and Hamilton, Australia, 19th-24th November, 51.
- 18) 平田球子・藤森雅博・小松敏憲 (2001) イタリアンライ  
10 グラスにおける SSR マーカーの開発. 育種研究 3(別1), 77.
- 19) HUMPHREYS, M.O. (2001) Breeding methods for forage and amenity grasses. In Molecular Breeding of Forage Crops (Ed. G. SPANGENBERG). Kluwer Academic Publishes, Dordrecht, The Netherlands. Pp.41-50.
- 15 20) HUMPHREYS, M.W. (1989) The controlled introgression of Festuca arundinacea genes into Lolium multiflorum. Euphytica 42, 105-116.
- 21) HUMPHREYS, M.W. and H. THOMAS (1993) Improved drought resistance in introgression lines derived from Lolium  
20 multiflorum x Festuca arundinacea hybrids. Plant Breed. 111, 155-161.
- 22) HUMPHREYS, M.W. and I. PASAKINSKIENE (1996)

Chromosome painting to locate genes for drought resistance transferred from Festuca arundinacea into Lolium multiflorum. Heredity 77, 530-534.

23) HUMPHREYS, M.W., A.G. ZARE, I. PASAKINSKIENE, H. THOMAS, J.W. ROGERS, and H.A. COLLIN (1998) Interspecific genomic rearrangements in androgenic plants derived from a Lolium multiflorum × Festuca arundinacea (2n=5x=35) hybrid. Heredity 80, 78-82.

24) INOUE, M., Z. GAO, M. HIRATA, M. FUJIMORI and H.-W. CAI (2002) Construction of RFLP linkage maps of Italian ryegrass and comparative mapping between Lolium and Poaceae family. Plant, Animal & Microbe Genome X, San Diego, USA.

25) JONES, E. S., M. P. DUPAL, R. KÖLLIKER, M. C. DRAYTON, J. W. FORSTER (2001) Development and characterisation of simple sequence repeat (SSR) markers for perennial ryegrass (Lolium perenne L.). Theor. Appl. Genet. 102, 405-415.

26) JONES, E.S., N.L. MAHONEY, M.D. HAYWARD, I.P. ARMSTEAD, J.G. JONES, M.O. HUMPHREYS, I.P. KING, T. KISHIDA, T. YAMADA, F. BALFOURIER, G. CHARMET, and J.W. FORSTER (2002a) An enhanced molecular marker-based genetic map

of perennial ryegrass (Lolium perenne L.) reveals comparative relationships with other Poaceae genome. Genome 45, 282-295.

27) JONES, E.S, M. P. DUPAL, J. L. DUMSDAY, L. J. HUGHES  
5 and J. W. FORSTER (2002b) An SSR-based genetic linkage map for perennial ryegrass (Lolium perenne L.). Theor. Appl. Genet. 105, 577-584.

28) KING, J., L. A. ROBERTS, M. J. KEARSEY, H. M. THOMAS,  
R. N. JONES, L. HUANG, I. P. ARMSTEAD, W. G. MORGAN and  
10 I. P. KING (2002) A demonstration of 1:1 correspondence between chiasma frequency and recombination using Lolium perenne/Festuca pratensis substitution. Genetics 161, 307-314.

29) KING, J., I. P. ARMSTEAD, I. S. DONNISON, H. M. THOMAS,  
15 R. N. JONES, M. J. KEARSEY, L. A. ROBERTS, A. THOMAS, W. G. MORGAN and I. P. KING (2002) Physical and genetic mapping in the grasses Lolium perenne and Festuca pratensis. Genetics 611, 315-324.

30) KOMATSU, T. (1987) Male sterility in Italian  
20 ryegrass (Lolium multiflorum LAM.). J. Japan. Grassl. Sci 33, 289-290.

31) KUBIK, C., M. SAWKINS, W.A. MEYER and B.S. GRAUT (2001)

Genetic diversity in seven perennial ryegrass (Lolium perenne L.) cultivars based on SSR markers. Crop Sci. 41, 1565-1572.

- 32) LESNIEWSKA, A., A. PONITKA, A. SLUSARKIEWICZ-JARZINA,  
5 E. ZWIERZYKOWSKI, Z. ZWIERZYKOWSKI, A.R. JAMES, H. THOMAS,  
and M.W. HUMPHREYS (2001) Androgenesis from Festuca pratensis × Lolium multiflorum amphidiploid cultivars in order to select and stabilize rare gene combinations for grass breeding. Heredity 86, 167-176.
- 10 33) LIDGETT, A., K. JENNINGS, X. JOHNSON, K. GUTHRIDGE,  
E.S. JONES, and G. SPANGENBERG (2002) Isolation and characterisation of a fructosyltransferase gene from perennial ryegrass (Lolium perenne). J. Plant. Physiol. 159, 1037-1043.
- 15 34) MIZUKAMI, Y, S. SUGITA, N. OHMIDO and K. FUKUI (1998)  
Agronomic and cytological characterization of F<sub>1</sub> hybrids between Lolium multiflorum LAM. and Festuca arundinacea var. glaucescens BOISS. J. Japan. Grassl. Sci. 44, 14-21.
- 20 35) 水野和彦・横畠吉彦・小田俊光・藤原 健・林克江・尾崎理英・小橋 健・芦沢宏之・牛見哲也(印刷中)イタリアンライグラス新品種「さちあおば」の育成とその特性, 山口農

試研報 .54 ,

- 36) MOMOTAZ, A. and T. YAMADA (2003) Use of simple sequence repeats markers to identify genetic diversity of Lolium, Festuca and their hybrid, Festulolium. Plant & Animal Genome XI, San Diego, USA.
- 37) NAKAYAMA, S. and J. ABE (1996) Winter hardiness in orchardgrass (Dactylis glomelata L.) populations introduced from the former USSR. J. Japan. Grassl. Sci. 42, 235-241.
- 10 38) NAKAYAMA, S., H. DAIDO and J. ABE (1997) Winter hardiness and growth at low temperature in European varieties of orchardgrass (Dactylis glomelata L.). J. Japan. Grassl. Sci. 43, 224-230.
- 15 39) NAKAYAMA, S., K. UCHIYAMA and T. TAKAI (1998) Winter hardiness in orchardgrass populations collected in the St. Petersburg region. Misc. Pub. Hokkaido Natl. Agric. Exp. Stn., 56, 93-101.
- 40) 能代昌雄・平島利昭 (1978): 牧草の耐凍性に関する研究 .  
1 . 北海道根釧地方におけるイネ科牧草の凍害と雪腐大粒菌  
20 核病 . 日草誌 23, 289-294 .
- 41) OERTEL, C., and F. MATZK (1999) Introgression of crown rust resistance from Festuca spp. into Lolium

multiflorum. Plant Breed. 118, 491-496.

- 42) RITTER, E., C. GEBHARDT, and F. SALAMINI (1990)  
Estimation of recombination frequencies and construction  
of RFLP linkage maps in plants from crosses between  
5 heterozygous parents. Genetics 135, 645-654.
- 43) ROLDAN-RUIZ, I., DENDAUW, E. VAN BOKSTAELE, A.  
DEPICKER, and M. DE LOOSE (2000) AFLP markers reveal high  
polymorphic rates in ryegrasses, Mol. Breed. 6,  
125-134.
- 10 44) SASAKI, T., J. SONG, Y. KOGA-BAN, E. MATSUI, F. FANG,  
H. HIGO, H. NAGASAKI, M. HORI, M. MIYA, E. MURAYAMA-KAYANO,  
T. TAKIGUCHI, A. TAKASUGA, T. NIKI, K. ISHIMARU, H. IKEDA,  
Y. YAMAMOTO, Y. MAKAI, I. OHTA, N. MIYADERA, I. HAVUKKALA,  
and Y. MINOBE (1994) Toward cataloguing all rice genes:  
15 large scale sequencing of randomly chosen rice cDNAs from  
a callus cDNA library. Plant J. 6, 615-624.
- 45) 嶋田 徹 (1982) 冬枯れ被害草地に残存した個体群から育  
成されたオーチャードグラス系統の耐冬性程度. 日草誌 28,  
253-257.
- 20 46) SHIMADA, T., S. SHIBATA and I. MASUYAMA (1993)  
Meteorological factors responsible for winter injury of  
orchardgrass. J. Japan. Grassl. Sci. 39, 77-85.

- 47) 下小路英男 (1998)チモシー, 北海道における作物育種  
(三分一敬監修)北海道共同組合通信社.札幌.pp.245-263.
- 48) 篠塚大士・久野裕・米山昌・金澤章・E.S. JONES・J.W.  
FORSTER・島本義也・山田敏彦(2002)ペレニアルライグラスに  
5 おける低温応答遺伝子のマッピング.育種研究 4 (別2),  
247.
- 49) 玉置宏之・吉澤晃・鳥越昌隆・佐藤公一 (2002)チモシー  
(Phleum pratense L.) 1 番草の耐倒伏性とその効果的な改  
良方法.日草誌 48, 130-135.
- 10 50) 玉置宏之・吉澤晃・鳥越昌隆・佐藤公一・下小路英男  
(2002) 採草用チモシー(Phleum pratense L.)における1番  
刈後の競合力とその効果的な改良方法.日草誌 48, 136-141.
- 51) 田瀬和浩・山田敏彦・杉田紳一・進藤武郎・高橋僚一・  
福沢昭文・横山紅子・保倉勝己・岸田諭俊・駒井文彦・菊島  
15 孝・小泉伊津夫(2002)ハイブリッドライグラス新品種「ハイ  
フローラ」の育成.山梨酪試研報 14, 1-31.
- 52) TAYLOR, C., K. MADSEN, S. BORG, B. MØLLER, BOELT, and  
P.B. HOLM (2001) The development of sequence-tagged  
sites (STSs) in Lolium perenne L. : the application of  
20 primer sets derived from other genera. Theor. Appl.  
Genet. 103, 648-658.
- 53) THOMAS, H. and M.O. HUMPHREYS (1991) Progress and

potential of inter-specific hybrids of Lolium and Festuca. J. Agric. Sci. 117, 1-8.

54) THOMAS, H.M., W.G. MORGAN, M.R. MEREDITH, M.W. HUMPHREYS, H. THOMAS and J.M. LEGGETT (1994)

5 Identification of parental and recombined chromosomes in hybrid derivatives of Lolium multiflorum x Festuca pratensis by genomic in situ hybridization. Theor. Appl. Genet. 88: 909-913.

55) THOROGOOD, D., W. J. KAISER, J. G. JONES and I.

10 ARMSTEAD (2002) Self-incompatibility in ryegrass 12. Genotyping and mapping the S and Z loci of Lolium perenne L. Heredity 88, 385-390.

56) 山田敏彦・杉田紳一・福沢昭文・横山紅子・保倉勝己・岸田諭俊・駒井文彦・菊島孝・小泉伊津夫(1999)ペレニアルライグラス新品種「ヤツカゼ」の育成.山梨酪試研報 12, 1-24.

57) 山田敏彦・杉田紳一・福沢昭文・横山紅子・保倉勝己・岸田諭俊・菊島孝・小泉伊津夫(2001)ペレニアルライグラス新品種「ヤツユタカ」の育成.山梨酪試研報 13, 1-23.

20 58) YAMADA, T. and T. KISHIDA (in press) Genetic analysis of forage grasses based on heterologous RFLP markers detected by rice cDNAs. Plant Breed.

- 59) YAMADA, T., T. NOMURA, H. HISANO, Y. SHIMAMOTO, E. S. JONES and J. W. FORSTER (submitted) QTL analysis of morphological, developmental and winter hardiness traits in perennial ryegrass (Lolium perenne L.). Crop Sci.
- 5 60) YAMAMOTO, K. and T. SASAKI (1997) Large-scale EST sequencing in rice. Plant Mol. Biol. 35, 135-144.
- 61) 山下雅幸・澤田均・山田敏彦(1999)日本, フランス, ドイツから収集したペレニアルライグラス (Lolium perenne L.)の遺伝的多様性. 日草誌 45, 290-298.
- 10 62) 横畠吉彦・田瀬和浩・上山泰史(1999)イタリアンライグラス, 牧草・飼料作物の品種解説(草地試験場編). 日本草地畜産種子協会. 東京. pp9-18.
- 63) VAN DEYNZE, A.E., M.E. SORRELLS, W.D. PARK, N.W. AYRES, H. FU, S.W. CARTINHOOR, E. PAUL and S.R. MCCOUCH (1998)
- 15 Anchor probes for comparative mapping of grass genera. Theor. Appl. Genet. 97, 356-369.
- 64) VOGEL, K.P. and J.F. PEDERSEN (1993) Breeding systems for cross-pollinated perennial grasses. Plant Breeding Reviews 11, 251-274.
- 20 65) WARNKE, S. E., R. E. BARKER, L. A. BRILMAN, W. C. YOUNG, R. L. COOK (2002) Inheritance of superoxide dismutase (Sod-1) in a perennial x annual ryegrass cross and its

allelic distribution among cultivars. Theor. Appl. Genet. 105, 1146-1150.

66) WARNKE, S., R.E. BARKER, S.S. CHUR, G. JUNG and J. W. FORSTER (2003) Genetic map development and syntenic  
5 relationships of an annual x perennial ryegrass mapping population. Plant & Animal Genome XI, San Diego, USA.

67) ZARE, A.G., M.W. HUMPHREYS, J.W. ROGERS, and H.A. COLLIN (1999) Androgenesis from a Lolium multiflorum x  
Festuca arundinacea hybrid to generate extreme  
10 variation for freezing-tolerance. Plant Breed. 118,  
497-501.

68) ZARE, A.G., M.W. HUMPHREYS, J.W. ROGERS, A.M. MORTIMER,  
and H.A. COLLIN (2002) Androgenesis in a Lolium  
multiflorum x Festuca arundinacea hybrid to generate  
15 genotypic variation for drought resistance. Euphytica  
125, 1-11.

5

10

図の表題

図 1 . イネ科作物のゲノムの比較

15

20

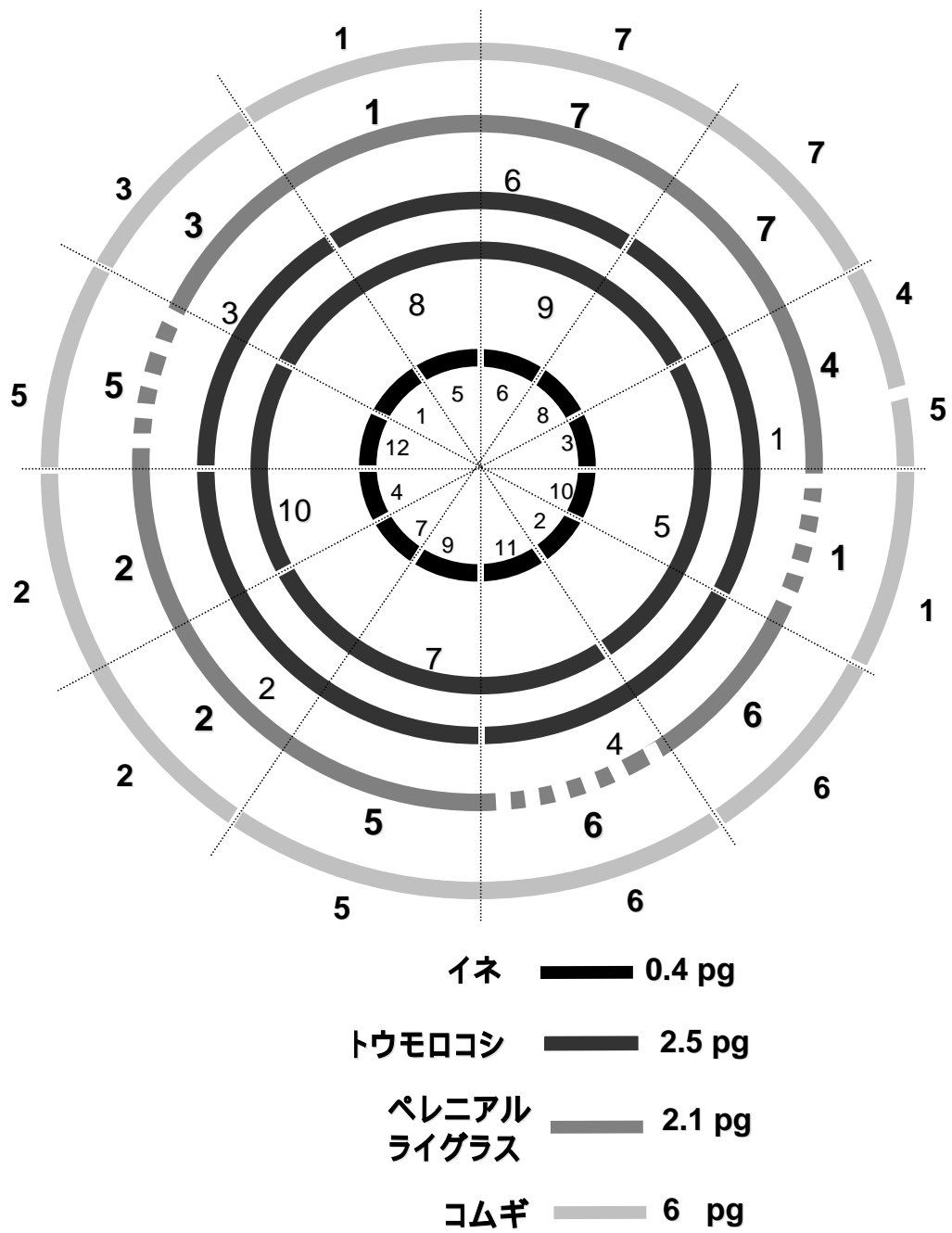
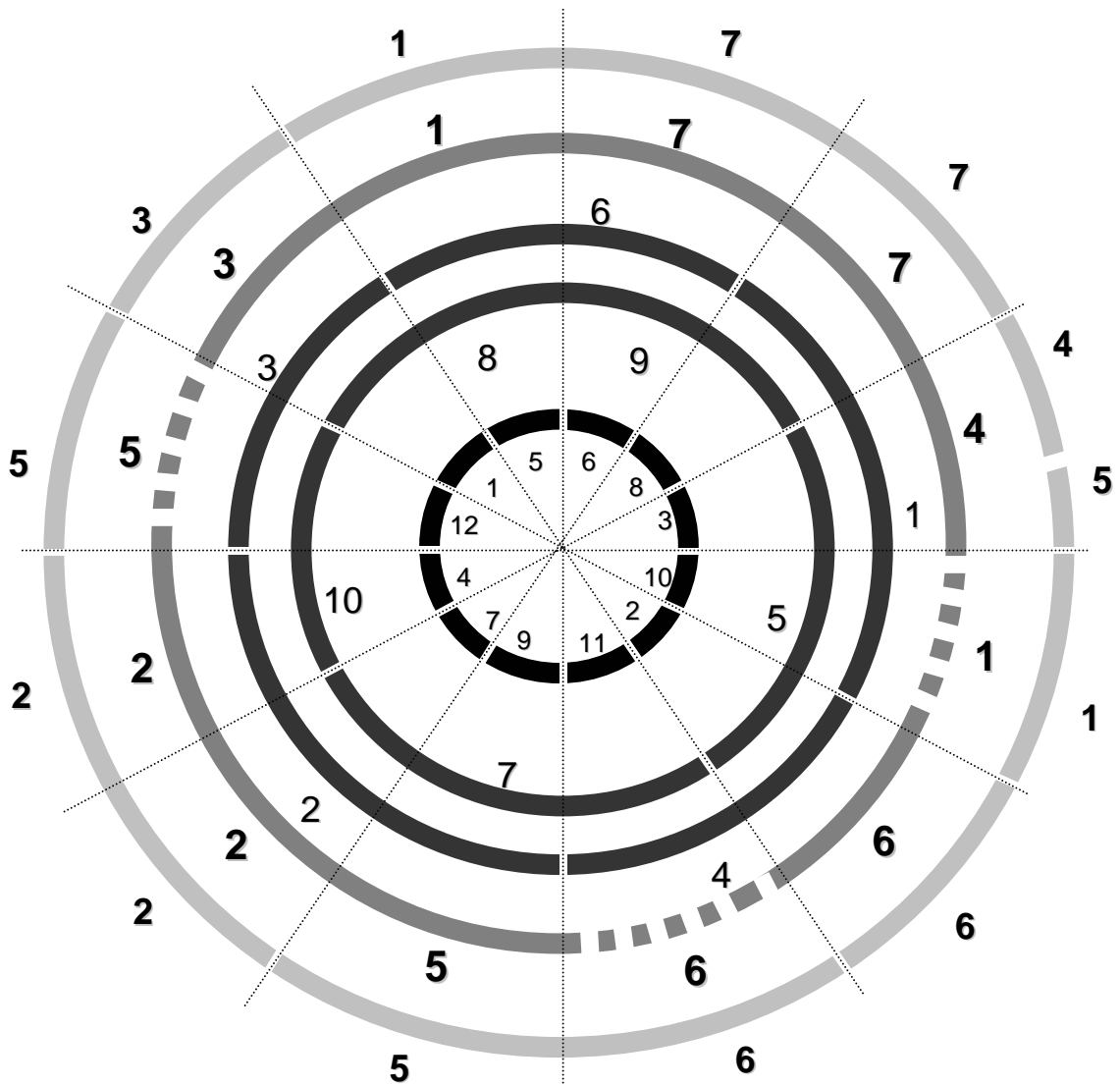


図1 山田



- イネ  0.4 pg
- トウモロコシ  2.5 pg
- ペレニアル  
ライグラス  2.1 pg
- コムギ  6 pg

図1 山田