

牧草・飼料作物育種へのバイオテク技術の利用

農林水産省草地試験場

育種工学研究室長

杉 信 賢 一

1 はじめに

昭和39年に牧草・飼料作物（以後飼料作物と称する）の育種体制が強化され、育種法の進歩とともに優良品種が着々と育成され普及に移されてきている。今後これらの国内育成品種よりさらに優れた品種を育成するには、バイオテクノロジーを利用して、従来の育種法で不可能であった新しい品種の育成が期待されている。

2 バイオテクノロジー利用育種の現状

育種はだまかに、①変異の作出、②選抜・固定、③増殖・維持の三つの段階からなっている。バイオテクノロジー（以後バイオテクと称する）はそれぞれの段階で利用されている。

1) 変異の作出

選抜を行うには、対象の育種母材に変異が必要である。バイオテクの利用により、次のような方法で変異の作出が可能となった。

① 組織・細胞培養による変異の作出

カルス培養をはじめ、組織を培養して再分化した植物では種々の変異体が出現する。組織・細胞培養による変異の作出は、多くの暖地型牧草に見られるように、単為生殖性で品種内の変異がきわめて小さい場合、組織培養を適用して変異の作出・拡大を図り、選抜効果を高めることができる。

鹿児島県農試でカルス培養を行い、再分化植物の中から4倍体の有性生殖変異体を選抜し、中間母本「C1」の育成に成功した。

② 外来遺伝子の導入による変異の作出

対象作物の中に必要な特性が求められないような場合、種・属間交雑を行なって外来遺伝子を導

入し変異の作出を図る。異種植物の交雑親和性の程度により、種々の方法で外来の有用遺伝子を導入する。

胚（珠）培養：有性交雑後の発育停止前の胚を摘出して培養し、種・属間雑種を得るものである。この種の研究はマメ科牧草では比較的多く、わが国でも草地試でフェストロリウム作出のため、胚培養を行なって雑種植物を得ている。東北農試ではシロクロバのモザイク病抵抗性改良のため、モザイク病抵抗性のクラクロバとの種間交雑後、胚珠培養を行なってハイブリッドを得ている。また、北海道農試でもアカクロバの永続性を高めるため、永続性の優れたジグザグクロバとの種間交雑ハイブリッドの作出に成功している。

試験管内受精：交雑親和性が低くて、有性交雑では受精に至らないような場合に適用するが、わが国では東北農試でシロクロバとクラクロバの雑種作出に適用されたが、まだ雑種作出には至っていない。

細胞融合：2種の植物からプロトプラストを単離して融合し、融合細胞を培養してハイブリッドを再分化させる。現在、飼料作物ではアルファルファとパーズフットトレフォイルで、それぞれの近縁種との間の細胞融合雑種の作出の報告例がある。イネ科牧草では一部の暖地型牧草やトールフェスクとイタリアンライグラスで、自己のプロトプラストから植物体の再分化に成功している。さらに、1989年にはトウモロコシで自己のプロトプラストから植物体の再分化に成功した。わが国では、東北農試でシロクロバによる鼓脹症の障害をなくすため、これを抑制するコンデンスタンニンの生成機能を持つラビットフットクロバとの細胞

融合の研究を行っている。草地試ではイタリアンライグラスにトールフェスクの耐暑性、耐寒性などを付与するための両草種の細胞融合を目指して、両草種のプロトプラスト培養を行っており、トールフェスクでは植物体の再分化に成功した(写真)。また、愛知県農総試との共同研究で、アルファルファの耐酸性を高めるために、近縁種との細胞融合研究に着手しており、メディカゴ属の一年生種 *M. scutellata* と細胞融合を行なって、融合細胞由来と思われる植物体の再分化に成功している。

遺伝子組換え：希望する遺伝子だけを対象植物に取り込みたい場合は、Ti プラスミド由来のベクターなどによる組換え DNA 技術が有効である。また、単離した DNA をプロトプラストや花粉に直接移入するマイクロインジェクション法やエレクトロポレーション法などの研究が盛んになってきた。しかし、高等植物においては、有用形質を支配する遺伝子のクローニングができていない場合がほとんどで、飼料作物ではトウモロコシのたんぱく質の改良のため、高リジンやトリプトファンを支配する遺伝子の組換えなどの研究やアルファルファのノパリン合成遺伝子の導入などの報告がある程度で、これからの分野である。

2) 選抜・固定

① 細胞選抜

植物細胞の全能性を利用して、選抜目的とする塩類や病原菌などに耐性を持つ細胞のみを選抜し、

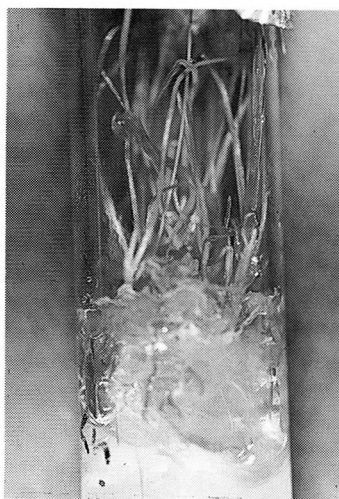
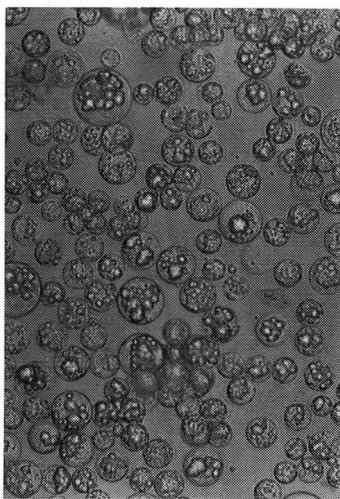


写真 トールフェスクのプロトプラスト(左)とその再分化植物(右) (草地試)

目的とする植物体を再分化させて利用できる。作物の育種で重要かつ効果的と考えられる特性は除草剤耐性、耐病性、ストレス耐性、成分などで、その報告例を表1にまとめて示した。

除草剤耐性の選抜は、その除草剤が基本的な物質代謝機能を干渉するような場合選抜が有効であるが、植物の組織や器官形成機能を干渉する特異的な除草剤、例えば光合成を阻害するような除草剤に対しては効果が期待できない。

耐病性の細胞選抜例は比較的多く、選抜効果が期待できるものも比較的多い。飼料作物のストレス耐性は低温耐性、耐塩性、耐旱性などがあるが、耐塩性を除いては報告例が見られない。

イオンストレスに対する細胞選抜の報告例は少ない。アルファルファを酸性土壌地帯で容易に栽培するためには、土壌酸性の主原因とされるアルミニウム耐性を高めるのが有効で、草地試でもアルファルファのアルミニウム耐性の細胞選抜に着手している。メチオニンは動物の生長に大切な必須アミノ酸である。このメチオニン含量が高いと、エチオニン添加培地でも植物細胞が生育できることに着目し、エチオニン耐性細胞を選抜することにより、メチオニン含量の高い細胞系を作出する試みがアルファルファで行なわれている。

② 薬培養による純系植物の選抜・固定

トウモロコシのように自殖系統が必要な作物では、薬(花粉)培養により純系植物を選抜・固定すれば、育種年限が大幅に短縮できる。トウモロコシの薬培養の最初の報告は、1975年に中国の研究グループによってなされ、以後、再分化率の改善がなされている。1987年には中国の蔡らがトウモロコシの花粉由来カルスから単離したプロトプラストから植物体の再分化に成功しており、トウモロコシの純系の大量作出の可能性が一段と高まってきた。一方、わが国では雪印種苗及び草地試でトウモロコシの薬培養の研究を進めており、再分化率も年々向上している。

3) バイテク利用による新品種の維持・増殖

バイテクは新品種の維持・増殖あるい

表1 飼料作物における細胞選抜例

作物	対象	報告者	概要
除草剤			
トウモロコシ	Chloramphenicol	Stadler&Hack, 1988	10 μ g/mlの選抜培地で5か月培養した細胞系は20 μ /mlの培地でも生育可能であった。
トウモロコシ	Chloramphenicol	Stadlerら, 1988	10-6M濃度の培地で100倍の抵抗性が得られた。
シロクローバ	2,4-D	Oswaldら, 1977	選抜細胞に耐性が得られた。
バーズフット	2,4-D	Swanson&Tomes, 1980	培養細胞と再分化植物の耐性は密接な関係があった。
トレフォイル	2,4-D	MacLean&Grant, 1987	クロールサルフロンでは僅かに選抜効果が認められた。
バーズフット	2,4-D		抵抗性植物の薬培養で得られた半数体植物も抵抗性を示した。
トレフォイル	クロールサルフロン		
ルタバガ	アトラジン	Machadoら, 1985	
病 害			
アカクローバ	うどんこ病	Plashchev, 1985	選抜細胞系から原植物より著しく抵抗性の高い再分化植物が得られた。
アカクローバ	フザリウム萎ちょう病	Plashchev, 1986	比較的低濃度の毒素添加培地で正常で抵抗性の植物が得られた。
シロクローバ	Sulphydryl reagents	Gustine, 1981	培養カルス中にSulphydrylによりファイトアレキシンのMedicarpinが産出された。
アルファルファ	フイトフトーラ 根腐病	Millerら, 1981	抵抗性がカルス組織でも発現することが認められた。
アルファルファ	フザリウム 萎ちょう病	Hartmanら, 1984	抵抗性細胞からの再分化植物は抵抗性を示し、後代にも遺伝した。
アルファルファ	フザリウム 萎ちょう病	Knousら, 1983	植物とこれから誘導したカルスの抵抗性は多くの場合一致した。
アルファルファ	フザリウム 萎ちょう病	Plashchev, 1985	抵抗性の再分化植物が得られた。抵抗性細胞の割合は培養濾液の濃度を高めたら高まった。
アルファルファ	フザリウム 萎ちょう病	Plashchev, 1986	選抜細胞からの再分化植物の後代の70%が抵抗性を示した。
アルファルファ	パーテイシリウム 萎ちょう病	Latunde-Dada&Lucas, 1986	抵抗性と罹病性カルスに明瞭な抵抗性の差が認められた。
アルファルファ	パーテイシリウム 萎ちょう病	杉信ら, 1988, 1989	選抜細胞及びこれから再分化した植物の抵抗性は高まった。
アルファルファ	パーテイシリウム 萎ちょう病	Latunde-Dada&Lucas, 1988	抵抗性細胞からの再分化植物の抵抗性は原植物より高まったが、後代の抵抗性は必ずしも高くなかった。
トウモロコシ	ゴマハガレ病	Gengenbachら, 1977	細胞とこれから再分化した植物の抵抗性の間に密接な関係が認められた。
エンバク	ゴマハガレ病	Rines&Luke, 1985	毒素添加培地の選抜細胞から再分化した植物は抵抗性を示した。
ストレス			
アルファルファ	NaCl	Croughanら, 1978	選抜細胞は高濃度のNaClに耐性を示した。
アルファルファ	NaCl	Croughanら, 1982	選抜細胞から再分化した植物の耐塩性は原植物と差がなかった。
アルファルファ	NaCl	Smith&McComb, 1982	選抜細胞から再分化した植物及びこれから再誘導したカルスは原材料より耐塩性が高かった。
クリーピング ベント	NaCl, CaCl	Hovanesian&Torres, 1985	514mM及び1027mM濃度の培地で3回継代したカルスからシュートが得られた。
成 分			
アルファルファ	エチオニン	Reishら, 1981	EMSで変異誘発処理後の選抜細胞の中にエチオニン耐性の優れたものが得られた。
アルファルファ	エチオニン	Novozhilov&Levenko, 1987	メチオニン誘導体添加培地で2か月継代培養したものは遊離メチオニン含量が高かった。

は貴重な遺伝資源や育種材料の大量増殖や保存に
応用価値の高い技術で、バイオテックの向上とともに
応用の範囲が極めて高くなってきている。

茎頂培養：生長点あるいは茎頂を採取して増殖
するとウイルスが除去できるので、健全な植物の
増殖・保存が可能である。東北農試でシロクロー
バの茎頂を3℃の低温下で6か月保存した場合も
90%の生存率があることを確認している。また、
草地試ではアルファルファの生長点培養を行なっ
ているが、今後、苗条形成率を高める必要がある。

カルス培養：未成熟胚や胚軸など植物の種々の
組織を用いてカルス誘導を行い、植物体を再分化
させるもので、苗条の大量増殖・保存の目的にも
応用されている。カルス培養は内外の種々の植物
で研究が行われており、マメ科牧草はもちろんの
こと、イネ科牧草でも未成熟胚からカルスを誘導
すれば、ほとんどの草種で植物体の再分化が可能
な段階に達している。

不定胚形成の誘導：誘導されたカルスをホルモ
ンフリーの液体培地に移植して、多数の不定胚を
効率よく誘導したり、懸濁細胞から直接不定胚形
成を誘導する研究が盛んになっている。

3 バイオテック利用による飼料作物育種の 将来展望

1) バイオテック利用による変異の作出・拡大

どの飼料作物でも、カルス誘導—細胞培養—植
物体再分化の技術は確立されよう。また、多くのイ
ネ科牧草でもプロトプラストから植物体が再分化
できるのも時間の問題と言えよう。こうなれば、
希望する種・属間雑種の作出の実現性は一層高ま
ろう。遺伝子組換え技術を実用化するためには、個々
の飼料作物の形質発現に關与する遺伝子を特定し
て単離するクローニング技術の確立が先決条件と
なる。さらに、細胞融合や組換えDNA技術が実用
段階に到達すれば、有用遺伝子の供給源となる遺
伝資源の収集・保存は将来ますます重要となる。

2) バイオテック利用による優良系統の選抜・固定

マメ科牧草における除草剤耐性の細胞選抜は一
層重視され進むものと予想される。また、ストレ
ス耐性、中でもアルミニウム耐性はわが国のアル
ファルファ栽培では重要で、今後の成果が期待さ

れる。さらに、家畜の必須アミノ酸含量などを高
める成分育種への細胞選抜の応用は、今後ますます
盛んになるものと考えられる。

薬培養による純系植物の選抜は、トウモロコシ
では育種の効率化に不可欠の技術となろう。現在
のレベルではまだ希望する植物どれでも容易に薬
培養で純系が得られるには至ってはいないが、薬
培養の容易な系統と交雑することにより、薬培養
適性を高めたり、あるいは、培養技術の向上によ
り、希望する植物から容易に純系植物が得られる
ようになるのもそう遠くなくさそうである。

3) バイオテック利用による新品種の維持・増殖

飼料作物の品種の維持・増殖においてバイオテック
が適用できるのは、ハイブリッド種子生産用の親
系統、あるいは貴重な遺伝資源の維持・増殖の場
面であろう。組織培養技術を適用して雄性不稔系
統あるいはパートナーの花粉親系統を大量増殖で
きれば、ハイブリッド種子の生産が可能となる。

近年、飼料作物でも胚様体の効率的分化技術が
向上し、人工種子化への可能性が開けてきた。わ
が国のように、飼料作物の種子生産を海外委託採
種に依存している事情下では、人工種子の製造技
術が確立されれば、超多収ハイブリッド品種の実
用化が期待できよう。

一方、他殖性作物へのアポミクシスの導入が将
来重要性を増すものと考えられる。細胞融合法や
遺伝子組換え技術によりアポミクシスを導入す
れば、品種維持・増殖が極めて容易になる。さら
に、ハイブリッドにアポミクシスを導入すればヘテ
ロシスが固定できるため、ハイブリッド種子生産
が飛躍的に容易になる。

4 おわりに

バイオテックに関する研究は近年急速に進展しつ
つあるが、それを利用した飼料作物の育種の現状は、
まだその緒についたばかりである。将来、有用な
素材が得られたとしても、実際育種の観点からは
出発点になるに過ぎない。いずれにしても、バイ
オテックを利用した育種は独立したものではなく、
従来の育種法とともに発展させるべきものである。
これらがうまく調和発展して、実際育種へ貢献で
きれば幸いである。