

アイソザイムからみた2倍体ペレニアルライグラスの多様性

山下雅幸・島本義也(北海道大学)

緒言

近年、アイソザイムのバンドパターンにみられる多型性を、品種識別や品種間の類縁関係を調べる際の遺伝標識として利用した研究が多くの作物で報告されている。

ペレニアルライグラスにおいても、これまで5つの酵素の変異が解析され、7つの遺伝子座が同定されている^{1,2)}。

本研究では、世界各地より収集した2倍体ペレニアルライグラスを用いて、澱粉ゲル電気泳動法により得られたアイソザイムのバンドパターンから、アイソザイム遺伝子の頻度を求め、遺伝子頻度の地域間差異および採草型と放牧型の遺伝子頻度の差異について検討した。

材料及び方法

供試材料は、世界各地より収集した2倍体品種125品種である。各品種5個体について、澱粉ゲル電気泳動法により、フォスフォグルコースイソメラーゼ(*Pgi*)、グルタミン酸オキサロ酢酸転移酵素-3(*Gots*)、酸性フォスファターゼ(*Acp*)、フォスフォグルコムターゼ(*Pgm*)およびアコニターゼ-1(*Aco1*)に関する5遺伝子座の遺伝子型を調査した。播種後約1ヶ月~2ヶ月の実生より、メルカプトエタノールを含むトリス塩酸緩衝液を用いて粗酵素液を抽出した。ゲル用および電極用緩衝液には、水酸化リチウム緩衝液(*Pgi*、*Gots*、*Aco1*)およびヒスチジン緩衝液(*Pgm*、*Acp*)を用いた。染色方法は、Hayward and McAdam¹⁾とØstergaard²⁾を参照した。

各国における品種内および品種間の変異性を比較する目的で、平均遺伝子多様性を次式によって求めた。
平均遺伝子多様性 = $1/n \times \sum_j (1 - \sum_i X_{ij}^2)$
ただし、nは遺伝子座数、 X_{ij} はj遺伝子座のi遺伝子の頻度である。品種内の平均遺伝子多様性は、各品種の平均遺伝子多様性の平均値であり、品種間の平均遺伝子多様性は、各国における全品種の平均遺伝子多様性から品種内の平均遺伝子多様性を引いた値である。

結果及び考察

1. アイソザイム遺伝子頻度の地域間差異

各国における*Pgi*、*Gots*および*Aco1*遺伝子座の対立遺伝子頻度を図1に示した。*Pgi*遺伝子座(図1a)では、4つの対立遺伝子が観察された。全体では、a遺伝子が0.33、b遺伝子が0.52と高い頻度で観察され、c遺伝子は0.14、d遺伝子はわずかに0.01しか観察されなかった。大部分の国において、同様の遺伝子構成が認められ、*Pgi*遺伝子座の対立遺伝子頻度には、明確な地域の特異性は認められなかった。しかし、全体では非常に少ない頻度で観察されたd遺伝子が、オーストラリアおよびイタリアでのみ観察された。

*Gots*遺伝子座(図1b)では、a、b、cおよびdの4つの対立遺伝子が観察されたが、すべての国

でb遺伝子が高頻度で認められ、*Got3* 遺伝子座の対立遺伝子頻度にも、地域間に明確な差異は認められなかった。しかし、全体で非常に少ない頻度で認められたa遺伝子が、フィンランドで0.20、アメリカおよびニュージーランドにおいても比較的高い頻度で観察された。また、d遺伝子は、フランス、ドイツおよびポーランドと連続した地域において、比較的高い頻度で観察された。

Aco1 遺伝子座(図1c)では、aおよびbの2つの対立遺伝子が観察された。ルーマニアとオーストラリアにおいて、b遺伝子が0.95~1.00と非常に高頻度で認められたほかは、a遺伝子とb遺伝子は同程度の頻度で観察された。

Acp 遺伝子座では、4つの対立遺伝子が観察され、すべての国において、aおよびb遺伝子が0.9以上の頻度で認められた。また、d遺伝子は、アメリカ、オランダおよびオーストラリアでのみ認められた。

Pgm 遺伝子座では、3つの対立遺伝子が観察された。a遺伝子は全体で0.62、b遺伝子は0.37の頻度で認められ、c遺伝子はデンマーク、オランダおよびアメリカでのみ認められた。

2. 平均遺伝子多様性

品種間の平均遺伝子多様性は、アメリカ、オランダおよびデンマークで0.10以上の値を示したのに対して、オーストラリア、ポーランドおよびルーマニアでは0.01~0.02と低く、供

試品種数が多い国ほど高い値を示した。一方、品種内の平均遺伝子多様性は、スウェーデン、チェコスロバキア、ポーランドおよびニュージーランドで0.39以上の高い値を示し、イギリス、イタリアおよびオーストラリアでは他の国より低い値を示した。また、すべての国において、品種内の平均遺伝子多様性は品種間の平均遺伝子多様性より高かった。これは、ペレニアルライグラスが他雑性作物であり、品種内の変異性が大きいことを示している(図2)。

3. 採草型と放牧型のアイソザイム遺伝子頻度の差異

ペレニアルライグラスは、形態および利用目的から、草丈が高く、茎数の少ない採草型と、草丈が低く、茎数の多い放牧型に分けることができる。これらは、育種過程において異なる方向に選抜が加えられてき

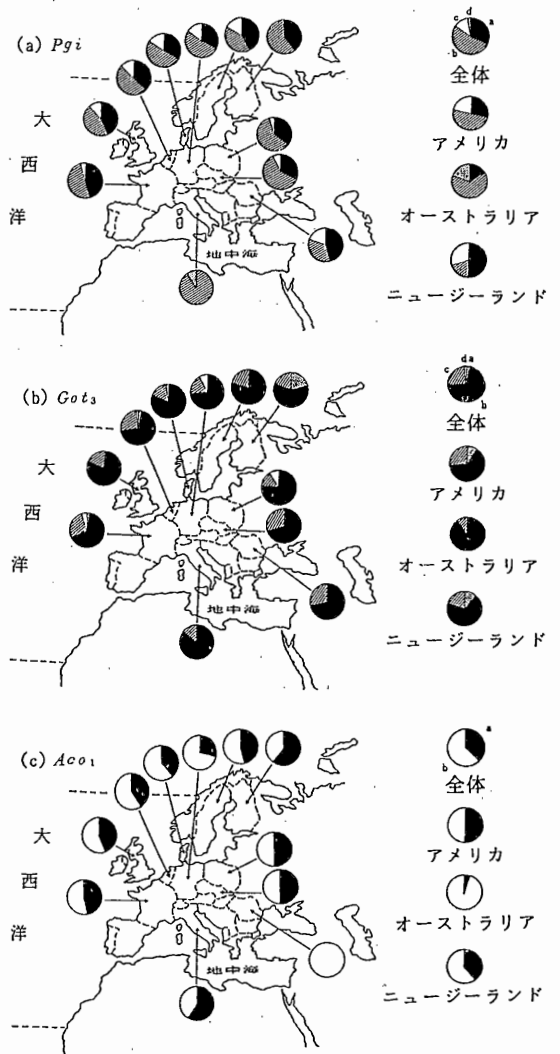


図1. 各国におけるフォスフォグルコースイソメラーゼ(*Pgi*)、グルタミン酸オキサロ酢酸転移酵素-3(*Got3*)およびアコニターゼ-1(*Aco1*)遺伝子座の対立遺伝子頻度

た結果、形態的に分化したものと考えられる。本研究では、草丈によって、供試品種を採草型、放牧型およびその中間型の3つの品種群に分類し、各品種群のアイソザイム遺伝子頻度を比較した。大部分の遺伝子座においては、3つの品種群の間に大きな遺伝子頻度の差異は認められなかった。しかし、*Aco1* 遺伝子座において、草丈が高いほど、*a* 遺伝子の頻度

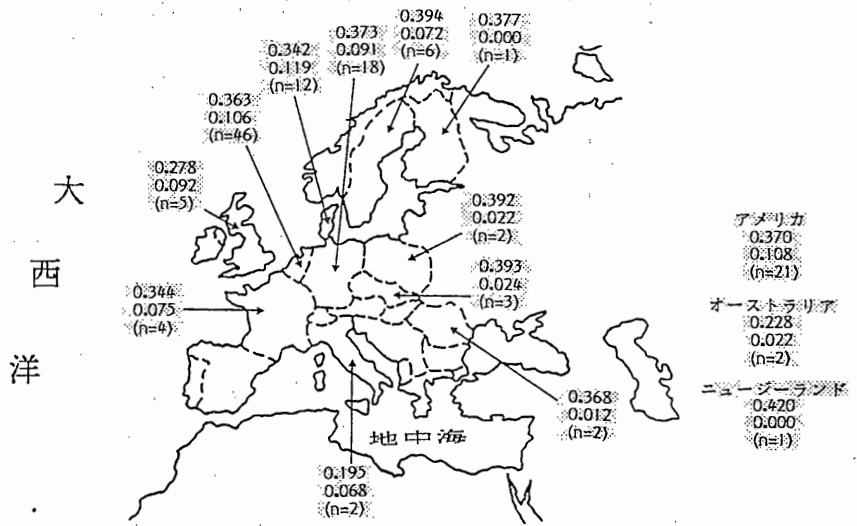


図2. 各国における品種内および品種間の平均遺伝子多様性
 平均遺伝子多様性 = $1/N \times \sum (1 - \sum X_{ij}^2)$

N: 遺伝子座数

X_{ij}: j 遺伝子座の i 遺伝子の頻度

上段の数字が品種内の平均遺伝子多様性、中段の数字が品種間の平均遺伝子多様性、下段(n)の数字は供試品種数

が低く、*b* 遺伝子の頻度が高い傾向が認められた。(表1)。

このように、各国におけるアイソザイム遺伝子の頻度には、明確な地域的特異性は見いだされなかったが、いくつかの遺伝子座において、低頻度で観察された遺伝子が、一部の地域に局在する傾向が認められた。また、*Aco1* 遺伝子座において、異なる方向に育種されてきた採草型と放牧型の品種群の遺伝子頻度に、わずかではあるが差異が認められ、ペレニアルライグラスの遺伝解析において、アイソザイムのバンドパターンに見られる多型性を利用することの有効性が示唆された。

引用文献

1) Hayward M.D. and N.J. McAdam (1977)
 Z. Pflanzenzuchtg. 79, 59-68
 2) Østergaard H, G, Nielsen and H. Johansen (1985) Theor Appl Genet 69, 409-421

表1. 採草型、放牧型および中間型のアイソザイム遺伝子頻度

遺伝子座	対立遺伝子	草丈		
		≥ 47cm (採草型)	≥ 36cm (中間型)	≥ 20cm (放牧型)
<i>Aco1</i>	a	0.31	0.42	0.49
	b	0.69	0.58	0.51
<i>Acp</i>	a	0.65	0.53	0.54
	b	0.33	0.40	0.37
	c	0.02	0.06	0.07
	d	0.00	0.01	0.02
<i>Got3</i>	a	0.01	0.03	0.06
	b	0.75	0.69	0.67
	c	0.22	0.27	0.24
	d	0.02	0.02	0.03
<i>Pgi</i>	a	0.36	0.33	0.32
	b	0.47	0.54	0.54
	c	0.16	0.13	0.13
	d	0.01	0.00	0.01
<i>Pgm</i>	a	0.60	0.63	0.58
	b	0.38	0.36	0.40
	c	0.02	0.01	0.02