# 科研費

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 元年 6月11日現在

機関番号: 13801

研究種目: 基盤研究(C)(一般)

研究期間: 2015~2018

課題番号: 15K07703

研究課題名(和文)エンドファイトと共生する外来牧草の生態影響とリスク管理

研究課題名(英文)Ecological impacts of non-native pasture grasses associated with mutualistic endophytes and their risk management

研究代表者

澤田 均(Sawada, Hitoshi)

静岡大学・農学部・教授

研究者番号:10183831

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文):外来牧草は産業上重要であるが、しばしば野生化集団を形成しており、外来種として一層のリスク管理が求められる。そこで、エンドファイトと共生する草種に焦点を当て、文献調査と室内実験・屋外実験を行った。イタリアンライグラスとトールフェスクの国内外の情報を広く収集し、被害状況と被害可能性を把握した。種子食昆虫エンマコオロギへの影響を評価し、イタリアンライグラスのエンドファイト感染個体がエンマコオロギ成虫及び幼虫のパフォーマンスや繁殖を低下させうることを示唆した。野生化集団のエンドファイト感染率を上昇させうる要因と低下させる要因を部分的に解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義 牧草は我が国の粗飼料生産の基盤であるが、その多くは外来種である。しばしば野生化集団を形成し、外来種と してのリスク管理が求められる。そこで、エンドファイトと共生する草種(特にイタリアンライグラスとトール フェスク)に焦点を当て、国内外の情報を広く収集し、被害の実態と可能性を把握した。さらに種子食昆虫への 影響を評価した。野生化集団のエンドファイト感染率を上昇させうる要因と低下させる要因を部分的に解明し た。

研究成果の概要(英文): Non-native pasture plants can escape from originally planting sites to often form naturalized populations. Thus, risk management for those is urgently needed, whereas they are industrially important. We focused on those with mutualistic endophytes, conducting a literature survey and performing both laboratory and outdoor experiments. Information on Italian ryegrass and tall fescue was widely collected both within and outside Japan to grasp their invasions and potential impacts. Laboratory feeding experiments using the emma field crickets suggested that endophyte-infecting Italian ryegrass seeds could decrease the performance of both adults and larvae of the crickets and reduce egg production. We partially elucidated the factors responsible for the changes in endophyte infection rate of host populations.

研究分野: 草地生態学

キーワード: 牧草 外来生物 生態学

様 式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19(共通)

- 1. 研究開始当初の背景
- (1) 外来牧草の多くは、2015 年に環境省及び農林水産省が作成した「我が国の生態系等に被害を及ぼすおそれのある外来種リスト(生態系被害防止外来種リスト)」の「産業管理外来種」に指定されている。外来牧草は自給粗飼料生産の基盤として重要であるが、外来種として一層のリスク管理が求められる。しかし、草地学分野において、この観点からの牧草野生化集団の研究は非常に少なく、不十分である。
- (2) そこで、本研究では第1に牧草野生化集団の被害状況と被害可能性について、国内外の情報を広く収集し整理する。特にエンドファイト(内生菌)と共生する外来牧草2草種(イタリアンライグラスとトールフェスク)に焦点を当てる。
- (3) これらのエンドファイトはアルカロイドを産生し、植食動物への化学的防御を高めることが知られており、防御共生と呼ばれている。そのため、野生動物に影響する可能性が高いものの、研究は不十分である。そこで、第2にイタリアンライグラス野生化集団の植食昆虫への影響を評価する。イタリアンライグラスは *Epichlo occultans* と共生し、ロリン・アルカロイドを含有する。特に種子中の濃度が高く、種子捕食者であるエンマコオロギへの悪影響が懸念される。
- (4) 第3の目的は、野生化集団の感染動態とエンドファイト・ロスを深く理解することである。 野生化集団のエンドファイト感染率は一定ではなく、集団によってまちまちである。感染率を上 昇させる要因と低下させる要因の関与が想定されるが、詳細は不明である。そこで、イタリアン ライグラス実験集団を作出し、植食昆虫の選択摂食により、集団の感染率が急速に高まるという 仮説を検証する。一方、エンドファイト・ロスを引き起こす要因も解析する。エンドファイト感 染率を人為的に低減できれば、野生動物への影響を緩和できる。

## 2. 研究の目的

- (1) 本研究では、主要な外来牧草 2種(イタリアンライグラスとトールフェスク)の逸出による被害状況及び被害可能性について、国内外の情報を広く収集し、整理すること、エンドファイトと共生する外来牧草(イタリアンライグラス)の植食昆虫への影響を評価すること、野生化集団のエンドファイト感染動態及びエンドファイト・ロスを引き起こす要因を解明することを目的とした。
- (2) イタリアンライグラス野生化集団による植食昆虫への影響については、特にエンマコオロギに焦点を当てる。エンマコオロギは国内に広く生息する普通種で、イタリアンライグラスを含む雑草の種子をよく摂食する。そのため、生物的防除に役立ち、総合的雑草管理の1手段として期待される。ところが、エンドファイトが感染したイタリアンライグラス種子はロリン・アルカロ

イドを高濃度で含有しており、エンマコオロギへの悪影響が懸念される。

(3) 野生化集団のエンドファイト感染動態については、集団の感染率を上昇させる要因と低下させる要因を解明するために、イタリアンライグラス実験集団を作出し、植食昆虫の選択摂食により、集団の感染率が急速に高まるという仮説を検証する。さらに野生化集団にエンドファイト・ロスを引き起こす要因も解析する。

## 3. 研究の方法

- (1) イタリアンライグラスとトールフェスクの被害状況と被害可能性について、国内外の情報を広く収集・整理した。データベース Web of Science と検索エンジン Google を使い、両草種の学名(シノニムを含む)を入力し、野生化集団に関する文献及び Web ページを検索した。国内の情報が少ないため、静岡県内の半自然草地の植生を調べ、イタリアンライグラスの侵入による被害可能性について解析した。イタリアンライグラスの除草剤抵抗性個体の発生が報告されているため、被害防止対策の観点から、その現状について情報収集した。
- (2) イタリアンライグラスのエンドファイト感染種子と非感染種子を用いて、エンマコオロギ成虫及び幼虫の体重への影響を調べた。実験1では4処理区(感染区、非感染区、混合区、高栄養区)を設け、7日間の摂食実験を行った。実験2では3処理区(感染区、非感染区、混合区)を設け、幼虫を用いて摂食実験を行った。
- (3) 幼虫期の長期摂食実験(実験 3)より、羽化率、羽化時の体重、羽化までの日数への影響を調べた。
- (4) 室内実験(実験 4)より、雌成虫の産卵に及ぼす影響を調べた。未交尾雌を用い、エンドファイト感染種子(感染区)または非感染種子(非感染区)を与えた。その後、雄 1 頭を入れた別の容器に雌を移し、14 日間の交尾・産卵期間を設けた。個体ごとに全ての卵を回収し、産卵日ごとに卵数と重量を測定した。
- (5) エンマコオロギの種子選好性の様相を知るために、2 草種(イタリアンライグラスとシロクローバ)の種子を用いた摂食実験(実験 5)を行った。両種間で種子の栄養成分が異なり、シロクローバ種子はタンパク質含有率が高い。実験6では捕食者クモの存在により、種子選好性が変化しうるかどうかを調べた。
- (6) 野生化集団の感染率を上昇させる要因を探るため、屋外実験を行った。大型容器( $92 \times 62 \times 21 \text{ cm}$ )の中央にトレイ( $35 \times 27 \times 7 \text{ cm}$ )を置き、エンドファイト感染種子または実生と非感染種子または実生を混植したイタリアンライグラス実験集団を作出した。エンマコオロギ雌成虫を

放飼し、自由に摂食させた後、生存個体数を調べた。実験7では実験集団のエンドファイト感染率を50%に設定し、集団の感染率の推移を調べた。実験8では実験集団の感染率を4水準設けた。

(7) エンドファイト・ロスについては、50 から 60 の範囲の熱水温による影響と、これまでの研究より長い時間の熱水処理による影響を調べた(実験 9)。各処理区の種子を発芽させ、ポット植えして実験圃場に置き、翌年6月から7月に採種した。種子のエンドファイト検査を行い、感染個体率と垂直伝播効率を調べた。さらに刈取行為による影響を知るために、屋外にて刈取実験(実験 10)を行った。6月から7月に採種し、感染個体が生産した種子のエンドファイト検査を行った。

#### 4. 研究成果

- (1) イタリアンライグラスについては、米国カリフォルニア州の地中海性気候の草原と南米アルゼンチンのパンパが比較的よく研究されており、いずれも在来草本種との競争が懸念されている。アルゼンチンではエンドファイト共生に関する研究が進展しており、食物網や土壌への影響も報告されている。一方、トールフェスクについては、米国中西部での Keith Clay らの野外実験より、エンドファイト共生による植物多様性の低下や遷移の遅延、群集構造への影響が報告されている。しかし、ケンタッキー31 以外の品種や他の場所でも、同様の現象が起こるとは限らず、品種ごと、場所ごとの評価研究が必要である。一方、日本国内では、被害の懸念される半自然草地や河川敷における研究例が非常に少ない。静岡県内の半自然草地においてイタリアンライグラスの侵入状況を調べたところ、侵入のごく初期にあたり、目立った被害は確認されなかった。国内外の果樹園、畑地、水田畦畔において、イタリアンライグラスのグリホサート抵抗性個体の発生が報告されている。その抵抗性メカニズムは1つではなく、複数ありうる。複数の除草剤に対する抵抗性を備えた個体も出現している。静岡県内でも多剤抵抗性が発生しており、野生化集団の管理法を策定する上で考慮すべきであろう。
- (2) 実験 1 と 2 より、感染種子はエンマコオロギ成虫及び幼虫の摂食量を抑制し、パフォーマンスを低下させうることが示唆された。
- (3) 実験3より、幼虫期に感染種子を長期的に摂食することで羽化率が低下し、たとえ羽化しても小型になり、繁殖活動を低下させうることが示唆された。
- (4) 実験 4 より、交尾・産卵期間の前半 7 日間で、感染区の産卵個体率が非感染区より低かった。雌成虫がエンドファイト感染種子を摂食すると、産卵が遅れることが示唆された。
- (5) 実験5より、種子摂食量と種子選好性に雌雄間差のあることが分かった。雌は雄より多くの

種子を摂食した。雌が摂食した種子数の割合(シロクローバ/イタリアンライグラス)は 1.51 と、雄(0.56)に比べ、シロクローバをより高い割合で摂食した。実験 6 より、コモリグモの存在によって、雌雄とも種子選好性は変わらないことが分かった。

- (6) 実験 7 より、エンマコオロギの摂食忌避によって、集団の感染率が概ね上昇する傾向にあった。エンマコオロギの摂食量が少ない場合や感染種子と非感染種子のパッチサイズが小さい場合は、集団の感染率の変化程度は極めて小さかった。実験 8 より、初期頻度と感染率の変化程度の間に相互作用は観察されなかった。
- (7) 実験 9 の熱水処理により、不完全な垂直伝播が観察され、特に 60 で低い効率であった。 熱水への浸漬時間が長くなると、いずれの熱水温でも垂直伝播効率が低下する傾向があった。野 外においてこのような外的条件が満たされると、エンドファイト・ロスが起こり、ホスト集団の 感染率の顕著な低下が起こる可能性がある。実験 10 より、刈取処理による垂直伝播効率の低下 は観察されなかった。
- (8) イタリアンライグラスを含む外来牧草は、我が国の自給粗飼料生産の基幹草種として極めて 重要であり、適正なリスク管理の下で栽培・利用する必要がある。以上の成果は、外来牧草の適 正なリスク管理のための科学的基盤を提示するものである。

#### 5. 主な発表論文等

## [雑誌論文] (計2件)

山下 雅幸、澤田 均、グラスエンドファイトが種子食昆虫および宿主草種へ及ぼす影響、日本草地学会誌、査読有、64 巻、2019、272-275

<u>Hitoshi Sawada</u>、Tatsunori Tanaka、Minoru Ichihara、<u>Masayuki Yamashita</u>、Preferences of male and female field crickets for Italian ryegrass and white clover seeds、Proceedings of the 7th Japan-China-Korea Grassland Conference、查読有、2018、92-93

## [学会発表] (計3件)

<u>Hitoshi Sawada</u>、Tatsunori Tanaka、Minoru Ichihara、<u>Masayuki Yamashita</u>、Preferences of male and female field crickets for Italian ryegrass and white clover seeds、The 7th Japan-China-Korea Grassland Conference、2018年7月10日、Hokkaido University (Sapporo, Japan)

山下 雅幸、ライグラス類の野生化とエンドファイト共生に関する研究、日本草地学会、2018年3月24日、くまもと県民交流館パレア(熊本県熊本市)

山下 雅幸、澤田 均、グラスエンドファイトが種子食昆虫および宿主草種へ及ぼす影響、日本草地学会、2017 年 3 月 22 日、弘前大学(青森県弘前市)

## 6. 研究組織

# (1) 研究分担者

研究分担者氏名:山下 雅幸

ローマ字氏名: (YAMASHITA, masayuki)

所属研究機関名:静岡大学

部局名:農学部

職名:教授

研究者番号(8 桁): 30252167

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。