

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24780011

研究課題名(和文) 国際貿易を介した雑草の移入が、国内の雑草の分布と遺伝構造に与える影響の解明

研究課題名(英文) Distribution and genetic composition of weed species derived from internationally traded grain commodities

研究代表者

下野 嘉子 (SHIMONO, YOSHIKO)

京都大学・(連合)農学研究科(研究院)・助教

研究者番号：40469755

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：輸入穀物には多種多様な外来雑草の種子が混入しており、穀物貿易は外来植物の主な侵入経路の1つとして認識されている。しかし、その定着や拡散について定量的な評価はなされてこなかった。本研究では、輸入コムギに混入して日本に持ち込まれているイネ科ドクムギ属に着目し、輸入穀物からのこぼれ落ち種子由来と考えられる個体が港でどのように広がっているかについて調査した。SSRマーカーによる解析の結果、輸入穀物由来と考えられるドクムギ属が、穀物陸揚げ場所から2～4km圏内の主要道路沿いに局所的に生育しており、それ以上離れた場所には牧草や栽培品種由来と考えられるドクムギ属が生育していることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Various kinds of weed seeds have been introduced through grain trade. Although Japan is a major importer of grain, few attempts have been made to investigate the establishment and expansion of such weeds that spilled from imported grain. So, we surveyed the distribution of *Lolium* species in grain-importing ports in Japan and compared their genetic variation with contaminant seeds in imported wheat by SSR polymorphism. As a result, most of individuals sampled from the roadsides within a range of 2 to 4 km from repositories were closely related to contaminant seeds. On the other hand, individuals sampled from the areas 4 km away from repositories were closely related to cultivated varieties, which are used as forage and revegetation. The individuals derived from contaminant seeds probably distributed in limited areas in ports.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：生産環境農学・植物保護科学

キーワード：外来植物 侵入経路 遺伝構造

1. 研究開始当初の背景

穀物貿易は、外来植物の主な侵入経路の1つとして認識されている。日本は毎年約2500万トンもの穀物(トウモロコシ、コムギ、オオムギ、ソルガムなど)を輸入しているが、この輸入穀物には多種多様な外来雑草の種子が混入している。混入種子の多くは発芽能力を備えており、穀物の陸揚げ、搬送および利用過程で混入種子がこぼれ落ちた場合、条件がそろえばいつでも発芽し生育する可能性がある。実際、穀物輸入港では、輸入穀物からのこぼれ落ち由来と考えられる植物を見ることができる。また、河川敷、飼料畑あるいはコムギやダイズ畑などで問題となっている外来雑草の一部は、この穀物貿易を介して侵入したことが示唆されているが、その定着や拡散について定量的な評価はなされていない。

2. 研究の目的

本研究では、輸入コムギに混入して日本に持ち込まれているイネ科ドクムギ属(*Lolium*)に着目し、混入種子と穀物輸入港に定着しているドクムギ属個体の遺伝解析を通して、輸入穀物からのこぼれ落ち種子由来と考えられる個体が港でどのように広がっているのかについて明らかにする。

3. 研究の方法

<調査対象種>

ドクムギ属3種(ネズミムギ: *Lolium multiflorum* Lam., ホソムギ: *L. perenne* L., ボウムギ: *L. rigidum* Gaudin)は他殖性で種間交雑し、稔性のある雑種を生成する。このため、形態は変異に富み識別するのは難しい。従って、本研究では上記3種を区別せずドクムギ属と呼ぶ。このドクムギ属3種は地中海沿岸が原産地だが、家畜の嗜好性の高い良質な牧草として、また法面や河川敷の緑化植物として世界中で広く栽培されている。その一方で、ムギ畑の問題雑草となっており、輸入コムギへの混入率が高い。

(1) 輸入穀物混入種子、栽培品種、および原産地のドクムギ属の遺伝変異の把握

アメリカ、カナダ、オーストラリアから輸入された5銘柄のコムギ(アメリカ産冬コムギ2銘柄: WW および SH、アメリカ産春コムギ1銘柄: DNS、カナダ産春コムギ1銘柄: 1CW、オーストラリア産冬コムギ1銘柄: ASW)に混入していたドクムギ属種子各20~40種子、ネズミムギおよびホソムギの国内で流通量の多い栽培品種各40個体、ドクムギ属の原産地である西アジアから地中海沿岸で採集された160個体について、育苗した実生から葉を採集し、簡易CTAB法によりDNAを抽出した。葉緑体DNA2領域(*psbA-matK*, *trnS-trnT*)1800bpおよびマイクロサテライトマーカー4遺伝子座(Hirata *et al.*, 2006)の遺伝解析を行なった。

(2) 重要港湾8港における定着個体群の遺伝変異の把握

輸入ムギの陸揚げ量(平成20年港湾統計)の多い重要港湾のうち、地理的に離れた8港(茨城県鹿島港、千葉県千葉港、愛知県名古屋港、兵庫県神戸港、岡山県水島港、香川県坂出港、福岡県博多港、熊本県八代港)を選び、輸入穀物の搬入が行なわれるグレーンターミナル周辺に生育するドクムギ属各120個体から葉を採集し、同様にDNAを抽出し、遺伝解析を行なった。

(3) 重要港湾2港における空間的な遺伝構造の評価

重要港湾2港(茨城県鹿島港(図1)および香川県坂出港(図2))において、穀物陸揚げ場所を中心とした半径約8km四方に生育するドクムギ属17~20個体群各30個体から葉を採集し、遺伝解析に供試した。



図1. 茨城県鹿島港の調査個体群



図2. 香川県坂出港の調査個体群

4. 研究成果

(1) 輸入穀物混入種子、栽培品種、および原産地のドクムギ属の遺伝変異の把握

葉緑体DNA2領域から13個の1塩基変異と5個の挿入欠失変異が見つかった。1塩基の繰り返し数の違いによる挿入欠失変異は解

析からはずし、11 ハプロタイプを同定した (図3)。

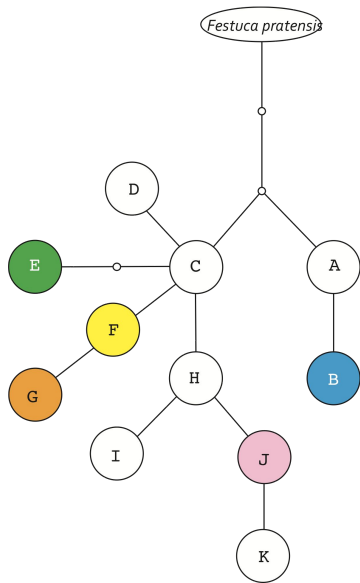


図3. 輸入穀物混入種子、栽培品種、および原産地のドクムギ属から見いだされたハプロタイプのネットワーク図

お互いのハプロタイプの配列の違いを最小の突然変異で説明できるように、すべてのハプロタイプを結んだもの。1つの円が1つのハプロタイプを表し、変異数をハプロタイプ間の線の数で表す。アルファベットをふっていない小円は、サンプルからは見いだされなかったハプロタイプを示す。

原産地で採集された160個体の中からは11ハプロタイプ全てが見つかった。その中でも広域に分布し、出現頻度の高い2ハプロタイプE, Jがコムギ混入個体に優占していた(図4)。ネズミムギ栽培品種には、ハプロタイプEが優占していた(図5)。一方、ホソムギ栽培品種からはハプロタイプBのみが見つかった(図5)。

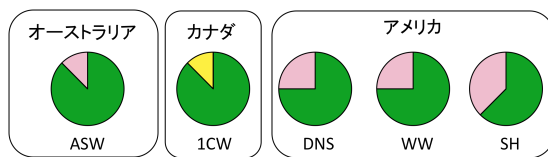


図4. 輸入コムギ混入種子のハプロタイプ構成

輸入コムギの略称：オーストラリア産冬コムギ(ASW)、カナダ産春コムギ(1CW)、アメリカ産春コムギ(DNS)、アメリカ産冬コムギ(WWおよびSH)、各ハプロタイプの色は図1を参照。

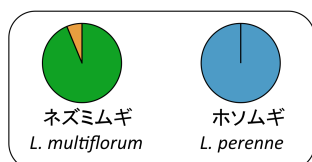


図5. ネズミムギおよびホソムギ栽培品種のハプロタイプ構成
各ハプロタイプの色は図1を参照。

したがって、原産地には多様な系統が生育しており、そのうち広域に分布する2系統が混入種子に、1系統がネズミムギ栽培品種に優占していることが示された。混入種子の主要ハプロタイプはアメリカ、カナダ、オーストラリア間で共通しており、ごく限られた系統が世界の穀倉地帯で雑草化していることが示された。また、ネズミムギ栽培品種と混入種子間でも主要ハプロタイプは共通しており、もともと牧草や緑化植物として栽培されていたものが穀物畑などに逃げ出して雑草化した歴史を反映しているのかもしれない。ホソムギ栽培品種からは、ネズミムギ栽培品種および混入種子から見いだされた系統とは大きく異なる系統が見つかり、遺伝的には遠縁であることが示された。

マイクロサテライトマーカーによる解析の結果、各遺伝子座20~40の対立遺伝子が見つかった。各グループともに多様性は高く、グループあたり検出された対立遺伝子数は9~14、有効対立遺伝子数は5~7、ヘテロ接合度は0.6~0.7であった。アメリカ産冬コムギ(WW)を除いた4銘柄のコムギ混入種子間の遺伝的分化程度(F_{st} : 0.01~0.016)は、ネズミムギ栽培品種との分化程度(F_{st} : 0.075~0.093)よりも小さかった。WW混入種子は両者の中間値を示し、他の混入種子との分化程度は F_{st} : 0.024~0.037、ネズミムギ栽培品種との分化程度は F_{st} : 0.030であった。

個体の遺伝子型から、その個体が由来する集団(クラスター)を推定したところ、最適なクラスター数は2となり、主に混入種子が属するクラスターAとネズミムギ栽培品種が属するクラスターBに分けられることが明らかとなった(図6)。WW混入種子については、両クラスターが混在していた。

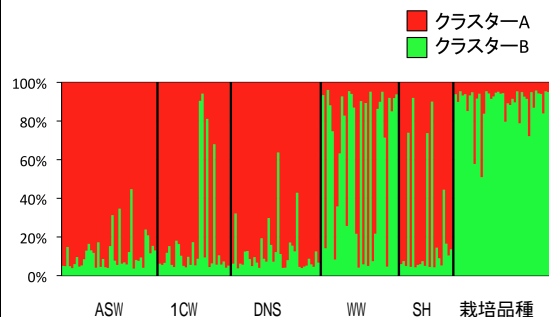


図6. 個体の遺伝子型にもとづいたクラスタリングの結果

なお、ホソムギ栽培品種に関しては、ネズミムギおよび混入種子で問題なく使用できたマーカーが適用できない個体が頻りに観察されたため、この解析からは除外した。こ

の結果は、葉緑体 DNA の結果と同様、ホソムギがネズミムギや混入種子と遺伝的に離れたグループであることを示している。

以上より、栽培品種ネズミムギおよび輸入コムギ混入種子は、葉緑体 DNA では共通するハプロタイプを持つが、マイクロサテライトマーカーでは遺伝的に分化していることが示された。したがって、重要港湾に定着するドクムギ属個体群の解析ではマイクロサテライトマーカーによる解析を行なった。

(2)重要港湾 8 港における定着個体群の遺伝変異の把握

計 960 個体についてクラスターの推定を行なったところ、全ての個体群においてクラスター A に属する個体の割合が高いことが明らかとなった。つまり、輸入ムギの陸揚げ量の多い重要港湾に定着している個体の多くは、輸入穀物混入種子と遺伝的に近く、輸入穀物からのこぼれ落ち種子由来であることが示唆された。

(3)重要港湾 2 港における空間的な遺伝構造の評価

両港ともに穀物の陸揚げ場所に近い場所に生育する個体群ではクラスター A に属する個体が多く、港から離れた場所に生育する個体群ではクラスター B に属する個体が多いという共通の結果が得られた。穀物の陸揚げ場所からの距離に応じて遺伝構造がどのように変化するかを示したのが図 7 である。これは、各個体群の生育場所と穀物の陸揚げ場所からの距離を横軸に、各個体群と栽培品種ネズミムギ間との N_e の遺伝距離を縦軸に示したものである。 N_e の遺伝距離が 0 に近いほど、近縁であることを意味する。

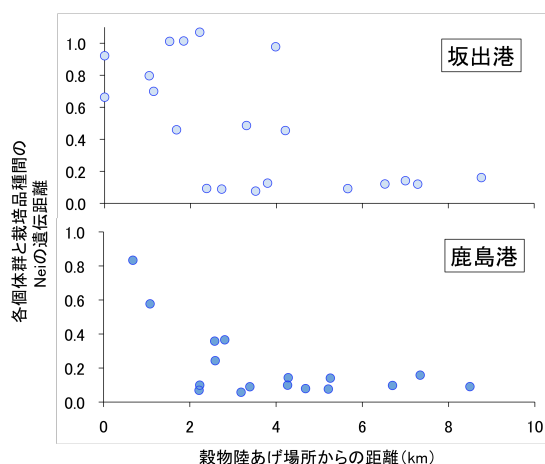


図 7 . 穀物陸あげ場所からの距離に応じた遺伝構造の変化

この図から、両港ともに陸揚げ場所から 2 km 圏内に生育していた個体群は栽培品種と遺伝的に近く、4 km 以上離れた場所に生育して

いた個体群は栽培品種と遺伝的に近いことが示された。また、陸揚げ場所から近くても主要道路からはずれた市街地の道ばたや河川堤防には、栽培品種と遺伝的に近い個体が生育していた。この結果は、輸入穀物由来のドクムギ属が陸揚げ場所および穀物の搬送道路沿いに局所的に生育しており、栽培品種由来のドクムギ属が内陸側に広く生育していることを示唆している。ただし、混入個体および栽培品種ともに他殖性で交配可能であることから、両者間の雑種が形成されていると考えられる。実際、混入個体と栽培品種と中間くらいの遺伝距離を示した集団も存在する。それにも関わらず、完全に混ざり合ってしまう理由として、両者間の遺伝子流動を制限する要因、例えばフェノロジーの違い等による生殖隔離、雑種の適応度の低下、生育適地の違い等が考えられる。今後はこれらについて明らかにしていく予定である。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 5 件)

1. 下野嘉子・下野綾子・小沼明弘・富永達
「輸入穀物を介して持ち込まれる雑草ライグラス:除草剤抵抗性を付与する遺伝変異と SSR マーカーによる定着・拡散パターンの解析」関東雑草研究会、茨城(2014 年 5 月 30 日)
2. 松嶋伸幸・下野嘉子・下野綾子・富永達
「穀物輸入港周辺に生育する由来の異なるドクムギ属の生活史特性の比較」日本雑草学会第 53 回講演会、東京(2014 年 3 月 30 日)
3. 関根さゆり・下野綾子・下野嘉子・大澤良
「ライグラス類における移入集団と逸出集団間の遺伝子流動の制限要因」日本雑草学会第 53 回講演会、東京(2014 年 3 月 30 日)
4. 下野嘉子・下野綾子・小沼明弘・富永達
「輸入穀物を介して持ち込まれる外来雑草ドクムギ属が形成する不均一な遺伝構造」第 61 回日本生態学会大会、広島(2014 年 3 月 17 日)
5. 下野嘉子・下野綾子・小沼明弘・富永達
「穀物輸入港とその周辺に生育するドクムギ属の遺伝構造:輸入穀物由来と考えられる個体はどこまで広がっているか?」日本雑草学会第 52 回講演会、京都(2013 年 4 月 14 日)

〔図書〕(計 1 件)

1. 下野嘉子 (2014) 輸入穀物とともに持ち込まれるライグラス種子. 「身近な雑草の生物学」根本正之・富永達 編著, 朝倉書店, 145-147.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.weed.kais.kyoto-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

下野嘉子 (SHIMONO Yoshiko)

京都大学・農学研究科・助教

研究者番号: 40469755