

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06092

研究課題名(和文) 外来植物ネズミギの砂浜への分布拡大に関わる形質と選択圧の解明

研究課題名(英文) The expansion mechanism of annual ryegrass into sandy coasts in Japan

研究代表者

下野 嘉子 (Shimono, Yoshiko)

京都大学・農学研究科・准教授

研究者番号：40469755

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：イネ科ドクムギ属の外来植物は、輸入穀物への混入による非意図的侵入経路と、牧草や緑化植物としての利用を目的とした意図的な侵入経路によって日本に持ちこまれている。集団遺伝学的解析から、非意図的な経路によって侵入したものは砂浜海岸に、意図的な経路によって侵入したものは農耕地に分布拡大していると推定されている。このような分布パターンの違いをもたらすメカニズムを解明するため、全国レベルの砂浜および農耕地におけるドクムギ属の分布状況調査、砂浜への移植実験、個体の耐乾性や競争能力の評価、埋土中の種子の死亡率の評価を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

(1) 侵略的外来植物の種特性の解明は多数行われてきたが、現地でのどのような選択圧が働き、どのような形質が重要か、といった因果関係まで明瞭に示した研究例は少ない。本研究は砂浜海岸と農耕地に広く生育するドクムギ属を対象に、各生育地への分布拡大に重要な形質および選択圧を明らかにすることを目的とする。

(2) 砂浜海岸は現在、生物多様性が失われつつある生態系の1つである。周辺環境の開発による砂浜面積の減少や、砂浜への外来植物の侵入が問題となっている。砂浜海岸へ分布拡大する外来植物の特徴を明らかにする本研究は、希少な生態系となりつつある砂浜海岸の保全に貢献するものである。

研究成果の概要(英文)：The *Lolium* species, a widespread alien in Japan, are introduced to Japan through unintentional pathways of contaminants in grain commodities and intentional pathways of commercial cultivars for fodder crops or revegetation materials. From population genetic analysis, it has been estimated that those who introduced by unintentional pathways spread to sandy coasts, and those who introduced by intentional pathway spread to croplands. To understand the mechanism that causes such differences in distribution patterns, a survey of the distribution of *Lolium* species on sandy coasts and croplands throughout Japan, a transplant experiment on a sandy coast, assessments of individual drought tolerance and competitive ability, and seed mortality in buried soil were conducted.

研究分野：植物生態学

キーワード：外来植物 侵入経路 分布拡大 ドクムギ属 砂浜海岸

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

イネ科ドクムギ属の外来植物ネズミムギ(*Lolium multiflorum*)は、農耕地において作物の減収をもたらす問題雑草となっている他、河原や砂浜海岸などにも侵入し、環境省及び農林水産省によって「我が国の生態系等に被害を及ぼすおそれのある外来種」に指定されている。

申請者はこれまで、マイクロサテライトマーカーを用いた集団遺伝学的解析により、ネズミムギが農耕地とは物理的環境条件が大きく異なる砂浜海岸へ分布を拡大している要因として、複数の侵入経路を介した性質の異なる個体の侵入が関わっていることを明らかにした(Shimono et al. 2015, Higuchi et al. 2017, 2019)。すなわち、牧草や緑化植物として意図的に導入されているものは農耕地へ、輸入穀物に混入して非意図的に侵入しているものは砂浜海岸へ分布拡大しており、これらはともにネズミムギと認識されてきたが、形態的および遺伝的分化が見られることを示した。以下、農耕地に優占し、牧草や緑化植物と遺伝的に類似する集団を農耕地タイプ、砂浜海岸に優占し、輸入穀物混入種子と遺伝的に類似する集団を砂浜タイプとする。

砂浜海岸と農耕地における相互播種実験では、砂浜タイプは砂浜で、農耕地タイプは農耕地でそれぞれ高い適応度を示し、分布パターンを支持する結果を得た。砂浜タイプは生育地の栄養条件に関わらず4月下旬から5月上旬に開花する一方、農耕地タイプは砂浜タイプよりも開花期が2週間ほど遅く、農耕地のような栄養条件の良い環境では砂浜タイプよりも多くの花を生産したが、砂浜のような貧栄養な環境ではさらに開花が遅れ、高い死亡率を示した。本研究は、このような分布パターンの違いをもたらす要因となっている形質は何かを明らかにすることを目的とする。また、これまでは輸入穀物を大量に荷揚げしている重要港湾(茨城県鹿島港、兵庫県神戸港、福岡県博多港)の近傍に位置する砂浜海岸を調査地としており、重要港湾から離れた地域(日本海側や東北地方)の砂浜においても同様にドクムギ属が生育しているのかは定かではない。したがって、全国の砂浜におけるドクムギ属の分布状況を明らかにすることも目的とする。

2. 研究の目的

本研究の目的は、(1)ドクムギ属が農耕地と砂浜という物理的環境条件の大きく異なる環境に進出する際に重要となる形質とその形質に働く選択圧は何か、(2)ドクムギ属の砂浜への分布拡大は全国レベルで起こっているのか、を明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1) 砂浜海岸におけるドクムギ属の分布状況調査

ネズミムギの開花・結実時期にあたる5月から7月にかけて、宮城県から福岡県の砂浜海岸33ヶ所においてドクムギ属の分布状況を調査し、ドクムギ属が多数生育している場合は葉を採集した。各砂浜海岸から5 km 以内の農耕地においても同様にドクムギ属の葉を採集した。葉からDNAを抽出し、MIG-seq法(Suyama & Matsuki 2015)により得られた一塩基多型情報にもとづいて、農耕地タイプと砂浜タイプどちらが生育しているのかを評価した。

(2) 砂浜海岸における移植実験

出穂期の違いが砂浜におけるタイプ間の適応度に違いをもたらす要因なのかを確かめるため、三重県津市の砂浜海岸において農耕地タイプ、砂浜タイプの他、早生品種ワセユタカの移植実験を行った。ワ

セユタカは、農耕地タイプと遺伝的に類似しているが、開花期が砂浜タイプと同時期の牧草品種である。2020年11月に、3タイプの実生各25個体6反復を砂浜に移植し、2週間ごとに生死と出穂の有無を記録した。結実期である2021年6月に生存個体を収穫し、結実率を測定した。

(3) 耐乾性の比較

砂浜は、保水性や保肥性の乏しい砂から構成されるため、栄養分に乏しく乾燥している。このような砂浜環境に生育するためには、乾燥に対する高い耐性が必要であると考えられる。そこで、個体の耐乾性に違いが見られるのかを明らかにするため、農耕地タイプおよび砂浜タイプの実生を、砂を詰めた直径4.5cm セルトレイに移植し、人工気象器で栽培した。栽培期間中の給水量を13段階(0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.7, 2.0, 2.3, 2.6, 3.0, 4.0, および8.0 mL/day)に設定し、1週間ごとに生存状況を記録した。各給水处理区に各タイプ12個体の実生を供試した。

(4) 種子の耐湿性の評価

砂浜は、保水性や保肥性の乏しい砂から構成される一方、水田が広がる日本の農耕地には、保水性の高い粘土質の土壌が広がっている。ドクムギ属は地中海沿岸地域原産の冬一年草であり、春に散布された種子は夏の間種子で過ごし、秋に発芽する。砂浜タイプが農耕地において優占できない要因として、湿った土壌中における種子の死亡率が高いためではないかと考え、埋土種子実験を実施した。水田土壌あるいは砂をつめた1/5000a ワグネルポットに、農耕地タイプおよび砂浜タイプの種子それぞれ50粒を埋土先の土壌5gとともに不織布に詰め、2021年7月3日に深度7cm および15cm に埋めた。ワグネルポットは天水条件下に置いた。2021年10月、埋土した種子入りの不織布を回収し、不織布中に詰められた土壌ごと、種子を9cm プラスチックシャーレ上に置き、インキュベーター内で発芽させ、発芽種子数を測定した。未発芽種子についてはTTC染色によって生死を判定した。

(5) 競争実験

砂浜海岸は物理的な環境ストレスが大きいため、裸地が多く、個体間の競争は小さいと考えられる。一方、農耕地の畦畔には密な植生が形成され、競争が激しいと考えられる。砂浜タイプが農耕地において優占できない要因として、砂浜タイプは競争に弱い可能性を検証した。栄養条件良好な培養土区と、栄養条件不良な砂区に、競争相手が同タイプあるいは異タイプの組み合わせで実生を移植し、生産種子数を計測した。

4. 研究成果

(1) ドクムギ属の分布状況調査

訪問した33ヶ所の砂浜海岸のうち、ドクムギ属が多数生育していたのは17ヶ所であった。ドクムギ属は千葉県以北の砂浜海岸にはほとんど生育しておらず、神奈川県以南では多数のドクムギ属が生育している砂浜海岸のほうが生育していない砂浜海岸よりも多かった。農耕地から計188個体、砂浜海岸から130個体の葉を採集し、MIG-seq解析を行ったところ、砂浜海岸には混入種子と近縁の個体が、農耕地には牧草と近縁の個体が広く定着していることが示された(図1)。

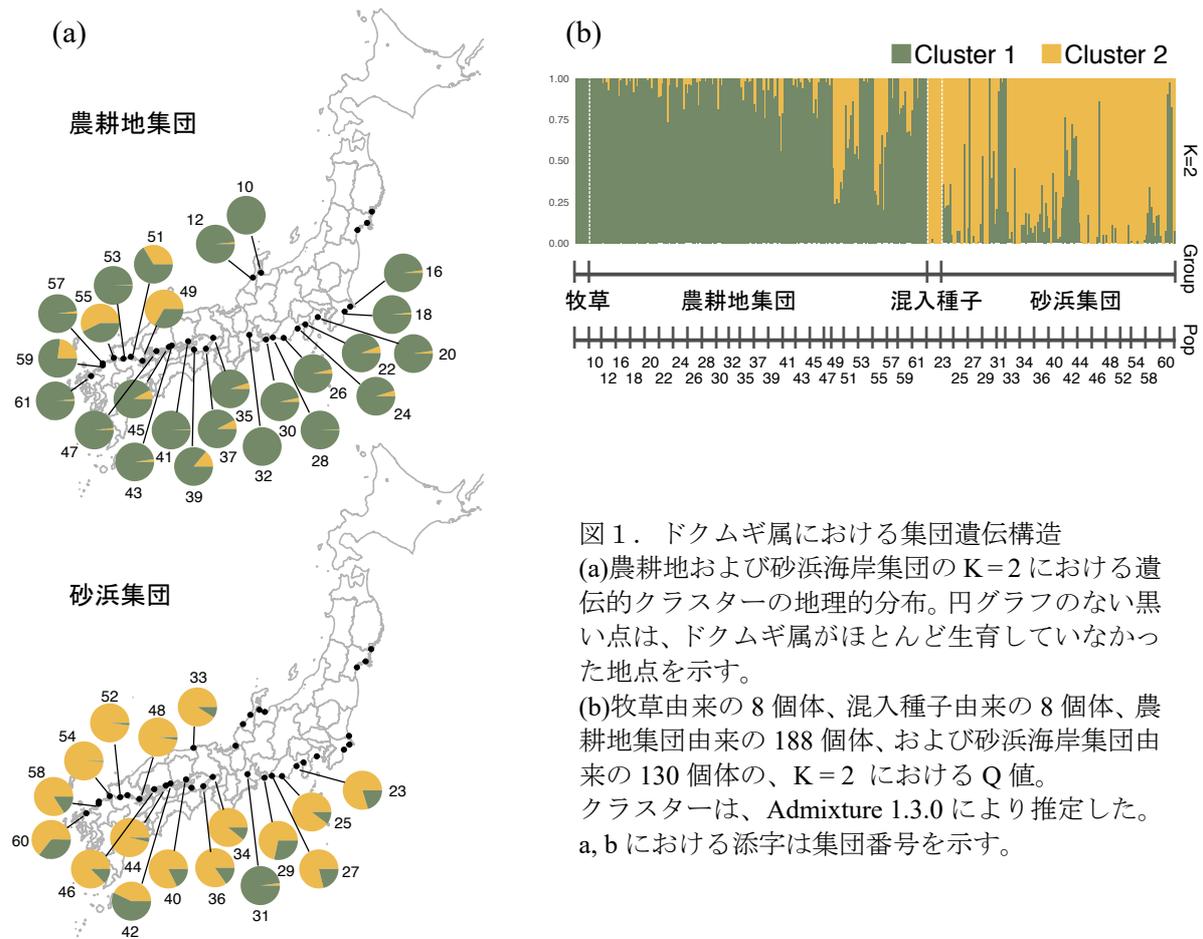


図1. ドクムギ属における集団遺伝構造
 (a)農耕地および砂浜海岸集団の K=2 における遺伝的クラスターの地理的分布。円グラフのない黒い点は、ドクムギ属がほとんど生育していなかった地点を示す。
 (b)牧草由来の 8 個体、混入種子由来の 8 個体、農耕地集団由来の 188 個体、および砂浜海岸集団由来の 130 個体の、K=2 における Q 値。クラスターは、Admixture 1.3.0 により推定した。
 a, b における添字は集団番号を示す。

(2) 砂浜海岸における移植実験

砂浜海岸に移植した個体は、砂浜タイプ、ワセユタカ、農耕地タイプの順に出穂した。生存率は砂浜タイプが最も高く、次に農耕地タイプ、最も低かったのはワセユタカとなった。出穂時期の早いワセユタカの死亡率が農耕地タイプよりも高くなったことから、出穂時期の遅さが農耕地タイプの死亡率を上昇させるという仮説は支持されなかった。

(3) 耐乾性の比較

0.4, 0.6, および 0.8 mL/day の給水处理区では、農耕地タイプ、砂浜タイプともに全個体が死亡した。一方で、1.2 mL/day 以上の給水处理区では、両タイプともに全個体が生存し、出穂を迎えた。1.0 mL/day 給水处理区では、砂浜タイプの生存率は農耕地タイプよりも有意に高かった(図2、ログランク検定: $P = 0.008$)。したがって、砂浜タイプは農耕地タイプよりも耐乾性が高いことが示された。

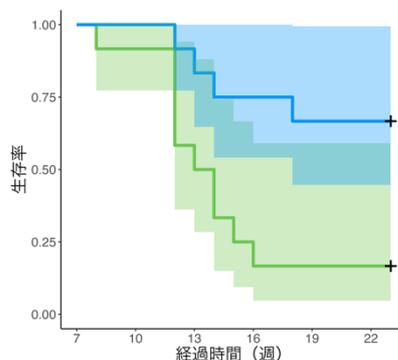


図2. 給水量 1.0 mL/day 処理区における農耕地タイプ(緑)および砂浜タイプ(青)の生存曲線
 実線が生存率を、塗りつぶされた区間が 95%信頼区間を表す。「+」は打ち切りを示す。

(4) 種子の耐湿性の評価

発芽処理により発芽した個体数および TTC 染色により赤く染色された個体数を合計して「生存種子数」とした。TTC 染色により染色されなかった個体数を「死亡種子数」とした。埋土種子の生存率は、埋土深度 15 cm よりも 7 cm でわずかに高く、水田土壌よりも砂で顕著に高かった(図3)。また、いずれに処理区においても、砂浜タイプの生存率は農耕地タイプよりも有意に低かった(図3)。したがって、砂浜タイプの種子は農耕地タイプの種子よりも夏期の間死にやすいことが示された。

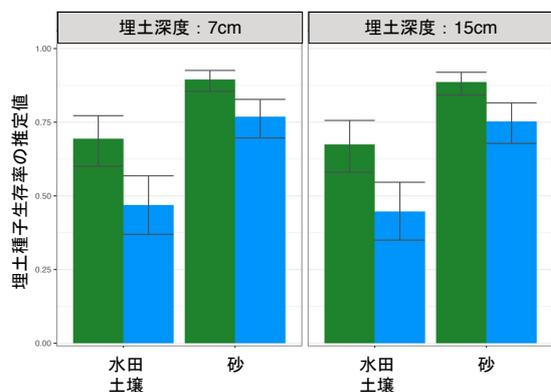


図3. 各処理区における農耕地タイプ (緑)、砂浜タイプ (青) の種子生存率
エラーバーは推定値の 95%信用区間を示す。

(5) 競争実験

培養土および砂における競争相手が同タイプあるいは異タイプだった時の生産花序数を図4に示す。農耕地タイプの花序数については、競争相手の効果 ($P = 0.87$) および交互作用 ($P = 0.24$) は有意でなく、土壌の効果 ($P < 0.01$) のみが有意であった。一方で砂浜タイプの花序数については、競争相手の効果 ($P = 0.10$) は認められなかったものの、土壌の効果 ($P < 0.01$) の他に有意な交互作用 ($P = 0.03$) が認められた。これにより、砂浜タイプは、栄養条件が良好な環境においては、他種との競争により生育が阻害される可能性が示された。

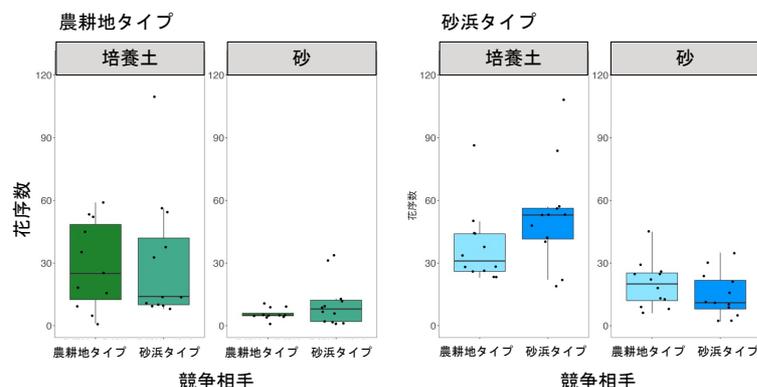


図4. 農耕地タイプおよび砂浜タイプの各土壌条件、各競争相手における生産花序数

<引用文献>

- Higuchi Y, Shimono Y, Tominaga T. 2017.** The Expansion Route of Ryegrasses (*Lolium* spp.) into Sandy Coasts in Japan. *Invasive Plant Science and Management* **10**: 61–71.
- Higuchi Y, Shimono Y, Tominaga T. 2019.** Reproductive biology and genetic population structure of two alien *Lolium* species inhabiting the sandy coasts of Japan. *Plant Species Biology* **34**: 61–69.
- Shimono Y, Shimono A, Oguma H, Konuma A, Tominaga T. 2015.** Establishment of *Lolium* species resistant to acetolactate synthase-inhibiting herbicide in and around grain-importation ports in Japan. *Weed Research* **55**: 101–111.
- Suyama Y, Matsuki Y. 2015.** MIG-seq: An effective PCR-based method for genome-wide single-nucleotide polymorphism genotyping using the next-generation sequencing platform. *Scientific Reports* **5**: 1–12.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 下野嘉子	4. 巻 68
2. 論文標題 外来雑草の侵入経路と分布拡大に関する研究	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 雑草研究	6. 最初と最後の頁 19-25
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 上平健太郎・平田桃子・下野嘉子・陶山佳久・松尾歩・佐藤光彦・清多佳子・冨永達
2. 発表標題 農耕地および砂浜における外来ドクムギ属雑草の集団構造と適応度の比較
3. 学会等名 日本雑草学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 下野嘉子
2. 発表標題 外来雑草の侵入経路と分布拡大に関する研究
3. 学会等名 日本雑草学会（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------