

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 23 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2012

課題番号：21380015

研究課題名（和文） 温暖化によるイネ科多年生雑草チガヤの分布拡大と雑種形成に関する雑草学的研究

研究課題名（英文） Weed ecological studies on the range expansion and hybridization of cogongrass, a perennial grass weed, resulted from global warming

研究代表者

富永 達（TOMINAGA TOHRU）

京都大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：10135551

研究成果の概要（和文）：温暖化によって、東北南部以南に分布するイネ科多年生雑草チガヤの普通型が、早生型がおもに分布する東北北部に分布拡大している可能性を検証するために、GOT アロザイムおよび葉緑体 DNA の trnL (UAA) 3' exon - trnF (GAA) 領域に見られる 21 塩基対の挿入・欠失変異を用い、1980 年代初めに採集した個体と本研究において採集した個体を類別した。東北北部では両型の雑種が広く分布を拡大していることが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：The common ecotype of cogongrass, a perennial grass, is distributed in southern parts of Tohoku region and southward, Japan and the early ecotype is mainly in northern parts of Tohoku region and Hokkaido. The common and early ecotypes collected in early 1980's and 2009 to 2011 in Tohoku region were distinguished by GOT zymogram and trnL-F region polymorphism of chloroplast DNA to clarify range expansion of the common type resulted from global warming. The hybrids between the common and early ecotypes were widely distributed in northern parts of Tohoku region.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
2010年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2011年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2012年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
総計	9,800,000	2,940,000	12,740,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学、作物学・雑草学

キーワード：雑草科学、温暖化、チガヤ、分布変化、雑種形成

## 1. 研究開始当初の背景

イネ科多年生草本チガヤは、世界の熱帯から温帯に分布し、「世界の害草ワースト 10」

にあげられている。本種は、日本では北海道から沖縄県にいたる各地に分布している。日本国内に分布するチガヤには、外部形態や生

育特性が異なる 2 型が存在する。このうち、稈の節に毛がある普通型は東北南部から沖縄県の水田畦畔や路傍、芝地、果樹園などに広く生育し、やや侵略的な特性をもっている。他方、稈の節に毛がない早生型は北海道から東北北部におもに分布し、その他の地域では河川敷などやや湿った生育地に局所的に分布している。

地球温暖化は、植物の分布にも影響をもたらす。とくに雑草の分布の変化は、作物と雑草の相互関係にも影響を与え、農業生産上も重要な問題である。

温暖化、とくに冬の最低気温の上昇にとともにより侵略性の高いチガヤの普通型の分布域が北上し、さらに、従来から分布している早生型との雑種形成による新たな雑草害が懸念される。本種の合理的な防除計画策定には、分布変化の現状を把握するとともに将来の分布拡大を予測することが重要である。

## 2. 研究の目的

早生型と比較してより侵略的な普通型の温暖化による北方への分布拡大は、新たな雑草問題を生じさせる可能性がある。また、東北北部では普通型の北上にとともに、従来から分布している早生型との間に雑種が形成されている可能性がある。早生型との雑種形成による新たなニッチの獲得も予想される。温暖化による普通型の北方への分布拡大および雑種形成の現状把握が雑草管理上重要である。

このためには、普通型と早生型との雑種の適応度を評価することと集団の遺伝構造を解析するためのマーカーの開発が必要となる。

本研究では、人為的に両型の雑種を育成し、それらの適応度を評価する。また、適切な遺伝マーカーを開発する。開発した遺伝マーカーを用いて、東北北部における普通型、早生型および両者の雑種の分布の変化を 1980 年代初めの分布状況と比較することによって明らかにするとともに、現状を把握し、将来の分布拡大を予測する。

## 3. 研究の方法

### (1) チガヤ普通型と早生型の人為交雑と雑種の適応度の評価

チガヤの普通型と早生型の雑種の適応度を評価するために、京都大学農学研究科で系統維持しているチガヤの普通型と早生型を用い、両型の雑種を人為的に作成する。

普通型を、野外で栽培する早生型と同時に出穂するように加温ガラスハウスで栽培することによって出穂期を同調させ、両型を人

為的に交雑し、雑種個体を得る。交雑は、正逆それぞれ 3 系統の組み合わせで行なう。

得られた種子を播き、雑種の実生を育成する。それぞれの組み合わせの正逆交雑の各 80 個体を 1/5000 アールワグナーポットに移植し、京都大学農学研究科附属農場で栽培する。また、現地で採集した普通型および早生型個体の種子も同時に播種し、その 1 年目の生育（草丈、分株数など）を正逆雑種個体と比較する。チガヤは、発芽後 2 年目に出穂・開花・結実するため、翌年度まで継続してこれらの個体を栽培し、2 年目の個体について結実期にその適応度を評価する。

### (2) マイクロサテライトマーカーの開発

チガヤ集団のクローン構造や遺伝的変異の解析、雑種個体の検索には、適切な遺伝マーカーが必要である。これに最適なマイクロサテライト (SSR) マーカーを開発する。

1980 年代初めに採集し、現在も京都大学農学研究科附属農場で系統維持しているチガヤの普通型および早生型のうち、約 50 系統の葉から、CTAB 法により全 DNA を抽出し、制限酵素処理を行い、アダプターを付加する。この DNA 断片のうち、ターゲットとなる SSR 領域の配列を片側のプライマー、アダプター配列をもう片方のプライマーとして PCR 増幅する。これをプラスミドに導入し、ゲノムライブラリーを構築する。このライブラリーからコロニーを取り出し、Insert PCR を行い、塩基配列を決定し、SSR 領域を増幅させるプライマーを設計する。

### (3) チガヤ普通型の分布北限地と雑種形成帯の確認

1980 年代初めの現地調査で明らかになった東北地方の普通型の北限周辺地域を中心に、普通型および早生型を容易に識別できる出穂から結実期にチガヤの両型の分布調査を行なう。それと同時に周辺地域でチガヤを採集し、GOT アロザイムおよび多型が認められる特定領域が既に知られている葉緑体 DNA の解析の両面から、雑種形成帯を明らかにする。

### (4) チガヤ集団のクローン構造の解析

チガヤの集団は、数クローンから構成されていると推定されているが、現在まで、チガヤの集団を構成するクローン数や 1 クローンの空間占有範囲など集団のクローン構造に関する直接的なデータはない。チガヤの普通型の分布拡大や早生型との雑種形成、さらにその防除方法の確立には集団のクローン構造や空間的拡がりに関する知見が必須である。このため、チガヤの普通型および早生型の自生集団のクローン構造を解析する。

この集団のクローン構造の解析には、前述

(2)の実験で新たに開発した SSR マーカーを用いる。京都府および大阪府の計 5 集団からライントランセクト法によって、1 m おきにチガヤの新鮮葉を採集し、CTAB 法によって全 DNA を抽出し、PCR 増幅する。開発した SSR マーカーを使用して集団を構成するクローンを遺伝的に識別し、その集団のクローン構造を明らかにする。

#### 4. 研究成果

##### (1) チガヤ普通型と早生型の人為交雑と雑種の適応度の評価

普通型個体の出穂期を加温により促進し、早生型個体の出穂期と同調させ、両型を人為的に交雑し、正逆雑種個体を約 800 個体作出し、増殖した。早生型がやや湿った生育地に分布していることから、京都大学農学研究科附属農場の研究圃場で畑土壌を詰めた 7 号素焼き鉢で栽培する区と灌水した大型容器に素焼き鉢を沈め、土壌含水率を常に高く保った区とを設けた。

両親、その正逆雑種個体 54 系統について乾物生産量を比較したところ、普通型は圃場設置区で高い乾物生産量を示し、早生型は灌水區で高い乾物生産量を示した。雑種個体は、正逆にかかわらず、大部分は両親の中間に位置したが、両親よりも高い乾物生産量を示す系統あるいは低い乾物生産量を示す系統も存在した (図 1)。

これらの結果から、雑種のなかには両親をしのぐ生育を示す個体が存在し、自生地で早生型に置き換わる可能性があることが示された。

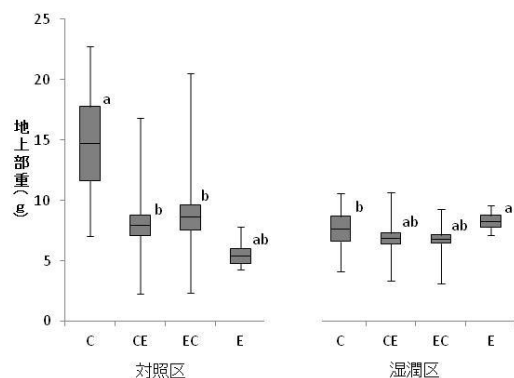


図 1 チガヤ普通型 (C)、早生型 (E) および両型の雑種 (CE および EC) の对照区および湿潤区における地上部重

##### (2) マイクロサテライトマーカーの開発

1980 年代初めに採集し、現在も系統維持しているチガヤの普通型および早生型のうち約 50 系統を用いて、明瞭に増幅する 2 遺

伝子座のマーカーを普通型のライブラリーから、6 遺伝子座のマーカーを早生型のライブラリーからそれぞれ開発した。

##### (3) チガヤ普通型の分布北限地と雑種形成帯の確認

GOT アロザイムおよび葉緑体 DNA の trnL (UAA) 3'exon - trnF (GAA) 領域に存在する 21 塩基対の挿入・欠失変異を用い、1980 年代初めに採集し、現在まで京都大学農学研究科附属農場で系統維持している個体と 2009 年以降に東北地方で採集した個体を普通型、早生型および両者の雑種に類別し、さらに、雑種について、普通型あるいは早生型のいずれが母親であるかを判別した。

普通型の分布の北限は 1980 年代初めと比較すると北上していると予想していたが、2009 年以降に東北地方で採集した個体の遺伝子型を解析した結果、山形県中部以北では普通型ではなく雑種が広く分布していることが明らかとなった (図 2)。

山形県には葉緑体 DNA が普通型の雑種が多く、青森県、秋田県および岩手県には葉緑体 DNA が早生型の雑種が多く認められた。しかし、普通型の生育が認められないかあるいは生育密度が極めて低いと推定されるこれらの地域で葉緑体 DNA が普通型である雑種も認められた。また、核遺伝子が早生型で葉緑体 DNA が普通型である個体も認められ、これらは浸透交雑の結果生じた可能性が高いことが推定された。

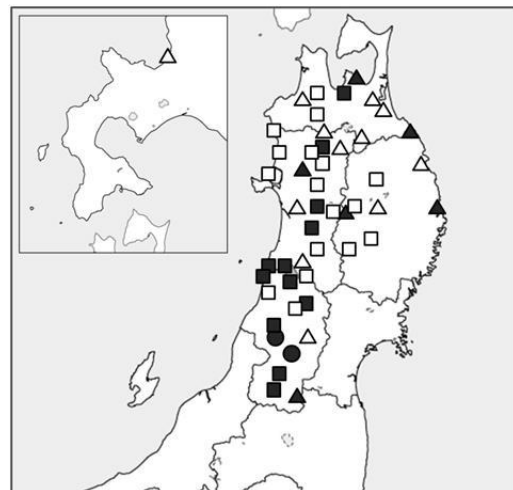


図 2 東北と北海道におけるチガヤ普通型 (●)、早生型 (△) および両型の雑種 (□ および ■) の分布

##### (4) チガヤ集団のクローン構造の解析

京都府内のチガヤ 3 集団および大阪府内の 2 集団について、前述 (2) で開発した SSR

マーカーを用いてクローン構造を解析した。5 対のプライマーでそれぞれ 11~32 個、合計 112 個の対立バンドが得られた。

京都府内の 2 集団ではそれぞれ 7 クローンおよび 15 クローンから集団が構成されていたが、残りの 1 集団ではわずか 3 クローンから集団が構成され、このうち特定の 1 クローンは 95% を占めていた。また、大阪府内の 1 集団では、33 クローンから集団が構成されていたが、残りの 1 集団では 4 クローンから集団が構成され、このうち特定の 1 クローンは 98% を占めていた (図 3)。

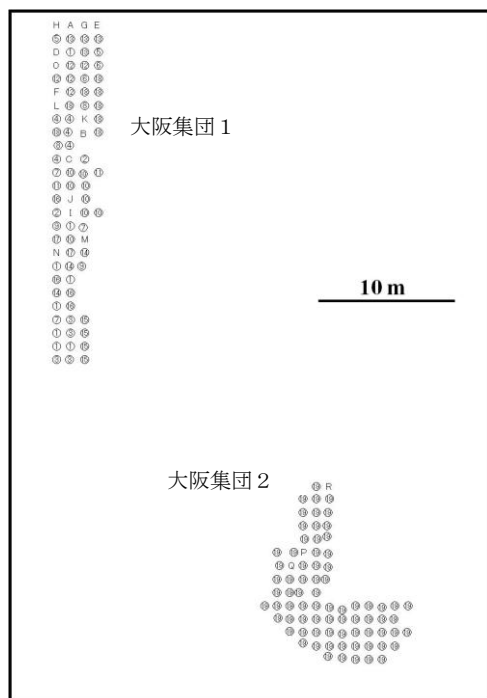


図 3 大阪府内 2 集団のクローン構造  
異なる数字とアルファベットは異なるクローンを示す

これらの結果は、創始者効果、刈取り頻度や強度などの選択圧の差異あるいは近接集団の有無などが当該集団の成立過程やクローン構造に影響を与え、局所的なクローン分布を規定していると考えられた。

チガヤの普通型は早生型と比較してより侵略的である。また、普通型と早生型の人為交雑実験の結果から、作成した両型の雑種のうちのいくつかは両親よりも高い乾物生産量を示すことが明らかになった。本研究の結果から、1980 年代初めと比較して、約 30 年の間に東北地方におけるチガヤ種内 2 型の分布が変化していることが明らかになった。温暖化によって東北北部ではチガヤの分布が質的に変化していることが推定され、普通

型あるいは普通型と早生型の雑種が侵入した場合の防除計画の策定が必要である。また、温暖化によって普通型と雑種の分布域が将来も拡大することが予想され、新たな侵入地における防除計画の策定が重要である。

チガヤは自家不和合で、風媒であるため花粉が長距離散布することが予想される。しかし、種子が花粉ほど長距離散布されることは考えにくい。普通型の生育が認められないかあるいは生育密度が極めて低いと推定される東北北部で葉緑体 DNA が普通型である雑種が認められた。また、核遺伝子が早生型で葉緑体 DNA が普通型である個体も認められた。これらの雑種の起源については更なる解析が必要である。

## 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)

[学会発表] (計 4 件)

① Tohru Tominaga、Range expansion of hybrids between two ecotypes of cogongrass (*Imperata cylindrica* (L.) Beauv.) in northern Japan、The 6th International Weed Science Congress、2012 年 06 月 17 日~2012 年 06 月 22 日、The New Century Grand Hotel, Hangzhou, China

② Ikuya Miyoshi、Reiichi Miura and Tohru Tominaga、Range expansion and hybridization between two ecotypes of cogongrass (*Imperata cylindrica* (L.) Beauv.) in Japan、23rd Asian-Pacific Weed Science Society Conference、2011 年 9 月 26 ~ 29 日、The Sebel Cairns, Cairns, Australia

③ 三好郁哉、三浦励一、下野嘉子、冨永達、チガヤ種内 2 型とそれらの雑種の日本における分布、日本雑草学会第 51 回大会、2012 年 4 月 5 日、つくば市農林水産技術会議筑波事務所

④ 三好郁哉、三浦励一、冨永達、チガヤ普通型および早生型の雑種の生育、日本雑草学会第 50 回大会、2011 年 4 月 2 日 (発表確定、東日本大震災により開催中止)、東京大学農学部

[その他]

ホームページ等

① 冨永達、温暖化による雑草の分布変化 - イネ科多年生雑草チガヤの例 -、京都大学附属農場第 16 回公開講座「環境と農業」(招待講

演)、2012年11月3日、高槻市京都大学附属農場

②富永達、緑化植物としてのイネ科多年生草本チガヤの生育特性、緑地雑草科学研究所第4回シンポジウム(招待講演)、2012年10月31日、愛知県名古屋市産業労働センター

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

富永 達 (TOMINAGA TOHRU)  
京都大学・大学院農学研究科・教授  
研究者番号：10135551

### (2) 研究分担者

該当なし

### (3) 連携研究者

該当なし