

文部科学省プロジェクト「外来植物のリスク評価と蔓延防止策」

—分子マーカーを使った侵入経路の推定—

(独) 農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所 黒川俊二

(現 (独) 農業・食品産業技術総合研究機構 中央農業総合研究センター)

はじめに

侵略性の高い外来植物を効率的に防除・抑制管理するためには、その導入様式や分布拡大様式に応じて、管理すべき場所の優先順位を決めていく必要がある。例えば、偶然一回の導入により侵入し (single introduction という)、その地点から植物自身が持つ散布能力により蔓延していった場合には、それ以上の分布拡大を防ぐために、最前線の集団の管理を優先させるべきであろう。人為的な長距離移動がある場合には、その人為的散布経路の管理が重要となる。一方で、様々な地域に何度も侵入を繰り返す場合には (multiple introductions という)、その侵入経路を特定しその経路を遮断して、新たな侵入を防ぐことを優先することになるだろう。

こうした侵入様式や分布拡大様式の解明に分子マーカーが有効である。一見して同様に分布している集団であっても、その侵入経路が異なる場合、異なる遺伝子型のものが存在している可能性があり、それらを識別することによりその集団の形成過程を推定することができる。また、集団や地域間での遺伝的多様性の違いを見ることで、single introduction か multiple introductions かを推定することも可能である。

これまでイチビに関して、その侵入経路に関する研究成果を本誌でも紹介してきた^{8),9)}。その研究では、現在全国の飼料畑で蔓延しているイ

チビが、主に輸入穀物に混入している雑草性の強い系統群であることが明らかとなった¹³⁾。飼料畑で問題となっている多くの外来雑草が輸入穀物を介した経路により侵入していると考えられるが、依然として、侵入経路が判然としないものがいくつかある。本プロジェクトでは経路が未知な外来植物3種について、その経路の特定を試みた。

アレチウリ

アレチウリは北米原産のウリ科一年生草本で、世界各地でトウモロコシ、ダイズやカボチャなどの夏作物栽培において大きな問題となっている^{3-5),15-17)}。日本においても飼料用トウモロコシ畑で収穫不良になるなどの深刻な被害をもたらしている。発生期間が春季から秋季まで長いため、除草剤による防除期間が終了した後に発生した個体が、トウモロコシの茎をよじ登り、群落の上まで出て、最終的にトウモロコシをなぎ倒すなどの被害をもたらす。また、アレチウリは、イチビのように発生が飼料畑に限られておらず、河川敷や水路脇、空き地などにも多く発生し、在来植生を抑圧するという生物多様性保全上の問題も引き起こしている。こうした状況を受けて、これまで行われてきた各地の防除活動を後押しする目的で2006年に特定外来生物に指定された。

アレチウリの侵入経路に関しては、輸入ダイズを使っていた豆腐屋から広がったとの話があるほか、飼料畑においてもイチビと同様に問題となっているため、ダイズをはじめとする輸入穀物への種子混入による非意図的導入が疑われた。しかし、1993年から1994年にかけて行われた輸入穀物の雑草種子混入調査においては、アレチウリと疑われる種子がダイズサンプルから1粒見つかったものの、しっかりと同定された種子は見つからなかった¹⁹⁾。また、輸入穀物が飼料畑での蔓延の原因であったとしても、中部地方や東北地方の大きな河川の河川敷で蔓延している集団がどこから来たのかをそれで直接説明することができない。

本プロジェクトでは、まず、各地で蔓延しているアレチウリの集団構造を調べるため、ISSRマーカー (Inter-Simple Sequence Repeat; DNAマーカーの一種) を用いて、集団の遺伝的関係を解析した。その結果、遺伝的変異の大部分が集団内にあり、集団間で大きな違いがないことが明らかとなった¹¹⁾。日本で最初に見つかったのが1952年の静岡県清水港とされているが、その周辺の集団が他の集団に比べて特に遺伝的多様性が大きいということとはなかった。これらのことから、日本への蔓延はsingle introductionからの分布拡大ではなく、各地域へのmultiple introductionsによるものと推定された。

次に、輸入資材が直接投入されることのない河川敷集団の由来を調べるため、阿武隈川の河川敷集団のDNA解析を行った。ここで用いたDNAマーカーは、母系遺伝するため種子の移動を検出できる葉緑体DNAマーカーとした。解析の結果、河川敷集団から5つの遺伝子型が見つかった⁷⁾。このことから、河川敷への侵入についてもsingle

introductionではなくmultiple introductionsだったことが明らかとなった。由来を明らかにするために最上流域の河川敷集団よりさらに上流域の周辺地域でアレチウリの分布調査を行ったところ、畜産地帯の飼料畑を中心とした場所で多数のアレチウリ集団を確認することができた。これらの集団の葉緑体DNA解析を行ったところ、阿武隈川全域で見つかった5つの遺伝子型のうち、4つの遺伝子型が見つかった⁷⁾。分布域の大きさから考えると、上流域の飼料作地帯の遺伝的多様性は非常に高く、multiple introductionsによる遺伝子型の集積によるものと考えられた。また、見つかった4つの遺伝子型は、河川敷集団の上流域の組成と同じであった (図-1)。これらの状況から、阿武隈川河川敷のアレチウリ集団は、上流域の飼料畑から流出して形成されてきたと考えられた。さらに、上流域で見つからなかったもう一つの遺伝子型が中流域以降から見つかっていること

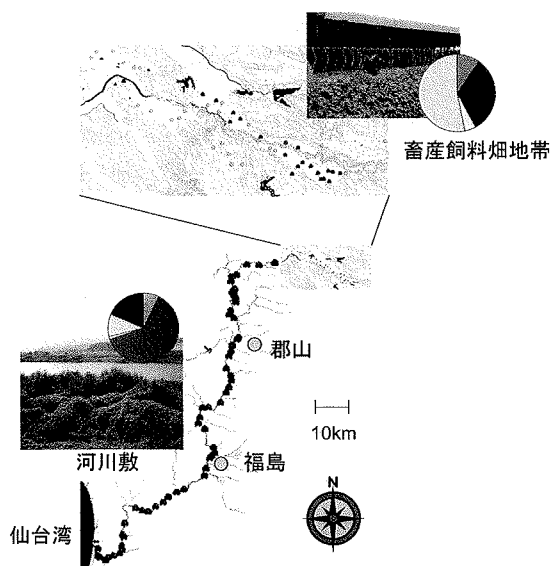


図-1 アレチウリの葉緑体DNAタイプが類似していた阿武隈川河川敷集団と上流の畜産飼料畑地帯の位置関係

※円グラフは葉緑体DNAタイプの割合を示す。同じ色が同じタイプを示す。

から、最上流の飼料畑だけでなく、他の種子源も中流域に存在することが明らかとなった。

以上の結果から、アレチウリはやはり輸入穀物などを介して各地の飼料畑に侵入し、そこで蔓延した後、水の流れて河川敷に蔓延していったと推察された。

ワルナスビ

ワルナスビは北米原産のナス科多年生草本で、種子と根により繁殖する。アメリカやカナダでは、トウモロコシ、ダイズのほか、果樹園や放牧地で問題となっている。日本においても、1906年に千葉県で見つかった以来、各地で発生している。1970年代は、果樹園や放牧地で問題となっていたに過ぎないが、1990年代になって飼料用トウモロコシ畑でも発生し大きな問題となってきた。飼料畑では一旦侵入すると耕起によってワルナスビの根が細断され、瞬く間に圃場中に蔓延する。効果のある除草剤も少ないため、難防除雑草となっている。現在では、農耕地だけでなく、路傍の植込みや人工的に施工された河川敷などにも多く見られる。

ワルナスビもアレチウリと同様に、輸入穀物中から種子はほぼ見つからない。また、畜産と直接関係のない植え込みなどで発生しており、それらの集団の侵入経路は判然としない。

これまでの研究で、北関東の那須野が原地域にアメリカ合衆国で報告されている13種類の自家不和合性対立遺伝子のすべてが見つかったこと¹⁴⁾、京都市の高野川河川敷に非常に多くの遺伝子の異なるクローンが見つかったこと⁶⁾ことなどから、multiple introductionsが起きたことが分かっている。

本プロジェクトでは、アレチウリと同様に各地のワルナスビ集団からサンプリングを行い、

ISSR解析を行った結果、集団間に明確な遺伝的関係は見られなかった¹²⁾。これは高野川の研究例と同様の結果であり、侵入後の遺伝的な交流による分布拡大はほとんど起こっていないことを示すものであった。

ISSRによる集団解析では侵入経路を示唆する結果が得られなかったため、植込みへの侵入経路を調べるため、サツキの苗木の産地でのワルナスビの発生調査を行った。しかし、苗木の生産現場では、雑草は徹底防除されており、ほとんどワルナスビの発生は見られなかった。数箇所の放棄された苗木畑でワルナスビの蔓延が見られたが、それらは隣接する畜舎から侵入した形跡が認められた。

また、アメリカでのワルナスビの分布はワタ作地帯と重なるため、紡績工場跡の調査も行ったが、全くワルナスビの発生は見られなかった。一方で、穀物輸入港周辺の調査で、こぼれダネによって形成されたとされる集団が見られた(図-2)。

以上、今回のプロジェクトでは、植込みへの侵入経路は明らかにできなかった。しかし、畜舎周辺での発生や穀物輸入港周辺での発生が見られたことから、あらためて穀物輸入に伴う侵入が疑わ



図-2 三重県四日市港周辺で見られたこぼれダネによると思われるワルナスビ集団

れた。比較的少量の混入であっても、導入が繰り返されることによってmultiple introductionsは起こりうるので、輸入穀物の種子混入調査では検出できない程度の混入を繰り返すことにより日本へ侵入してきたことも考えられた。今後、異なるアプローチでの解明が必要である。

*Lolium*属植物

*Lolium*属は、畜産や緑化に用いられる主要牧草であるイタリアンライグラス(*Lolium multiflorum*)やペレニアルライグラス(*Lolium perenne*)を含む属である。近年、一年生の*Lolium*属植物が関東東海地域のコムギ畑や河川敷などに蔓延し問題となっている²⁾。コムギ畑での蔓延は、深刻な場合収穫不能になるケースもあり、その原因究明と対策技術の開発が急務である。また、都市近郊の河川敷などでの蔓延は、花粉症の大量発生を引き起こしており、様々な対策が講じられている¹⁸⁾。

こうした意図的に導入されている植物については、外来生物法による輸入や栽培の規制が効果的とされるが、*Lolium*属植物は我が国の畜産を支えている主要牧草であり、規制による経済損失がはかりしえないためこれまでのところ規制はされていない。また、この*Lolium*属植物の場合、畜産飼料用の栽培や緑化目的の植栽などの意図的導入に加え、輸入穀物や輸入乾草への混入による非意図的導入も確認されている¹⁾ため、こうした非意図的導入が原因であった場合、外来生物法による意図的導入の規制は効果がなればかりか、規制による経済損失だけをもたらす結果となる。そのため、蔓延集団の由来を明らかにすることが非常に重要となる。

これまで、蔓延している集団の中には、*Lolium multiflorum*と思われるものと、*L.*

*perenne*と思われるもの、それらの中間的な形質を有するものが報告されている。分子マーカーによる解析も試みられており、最近の研究では、多くが雑種であることが報告されている²⁰⁾。しかし、これらが意図的導入に由来するのか、非意図的導入に由来にするのか、また、どのように雑種が形成されてきたのかは明らかとなっていない。

本プロジェクトでは、静岡県の一つの麦作地帯に蔓延する*Lolium*属集団と、*L. multiflorum*, *L. perenne*の栽培品種、それらの雑種品種、さらにオーストラリアで問題となっている*L. rigidum*とを比較することにより、その遺伝的背景を明らかにすることを試みた。分子マーカーとしては、母系遺伝する葉緑体DNAマーカーと核遺伝するSSR (Simple Sequence Repeat) マーカー (ISSR とは異なる) を用いた。その結果、静岡の一つの麦作地帯に蔓延していた*Lolium*属集団の母系は、すべて一つのタイプで、それは*L. multiflorum*と*L. rigidum*にのみ見られたものであった¹⁰⁾。このことから、母系は少なくとも一年生の草種であることが確認された。SSRの結果は、変異が連続的で、明確な品種や種の識別することは困難であったが、明らかに*L. perenne*よりも*L. multiflorum*の栽培品種に近く、*L. rigidum*は最も似ていなかった¹⁰⁾。

以上の結果から、研究対象とした地域に蔓延している*Lolium*属集団は、雑種ではなく*L. multiflorum*であると考えられた。しかし、その地域には畜産はほとんどないため、畜産利用のイタリアンライグラスや輸入穀物に混入するイタリアンライグラス種子に由来するとは考えられなかった。それよりも河川敷の緑化にイタリアンライグラスが用いられた形跡があり、そこから逸出した種子が地域全体に蔓延していっ

たと考えられた。

おわりに

以上、本プロジェクトでは、侵入経路が明らかとなっていない3種について、分子マーカーを用いて、その由来、侵入経路の解明を試みてきた。残念ながらワルナスビについては明確な侵入経路を解明することができなかった。分子マーカーのみで侵入経路を解明することは難しいことを示す事例であるかもしれない。今後異なるアプローチによる解明が必要である。他方で、アレチウリと*Lolium*属については一定の結果が得られた。

アレチウリについては、現在各地の河川敷において市民運動による防除活動などが続けられており、繁茂域の縮小など一定の効果が得られている。しかし、新たな種子の侵入を防がなければ、際限なく防除活動が必要となるだろう。本プロジェクトでは、輸入穀物を介して侵入した飼料畑集団から河川敷に流れ込んでいることが明らかとなり、あらためて輸入穀物を介した非意図的導入による侵入経路の重要性が示された。今後は、輸入穀物による侵入経路の遮断技術の開発を行う必要があるとともに、飼料畑におけるアレチウリの防除を優先すべきであると考えられた。

*Lolium*属については、これまでに報告されている結果と異なり、蔓延集団がイタリアンライグラスに由来することが示された。今後、それらの整合性を検証する研究が必要である。本事例では、畜産由来ではなく、緑化由来であることが推察されたため、今後、緑化植物としてのイタリアンライグラスの利用や管理の見直しが必要と考えられる。

本プロジェクトで得られた結果が、他の地域

や集団についても同じであるかどうかはさらなる検証が必要ではあるが、今後の管理の方向性を示す上で侵入経路の特定が重要であることが示された。また、分子マーカーがそのためのツールとして非常に有効であることも示された。今後、侵入経路が不明な種については、その特定を行い、管理の方向性を示していく体制作りが必要である。また、輸入穀物を介した非意図的導入による侵入経路は、各過程での量的な動態についても把握する必要があるだろう。特に、輸入穀物中に混入する種子調査は定期的に行っていく必要があり、今後、国のレベルで事業化されることを望む。

本研究は、科学技術振興調整費重要課題解決型研究「外来植物のリスク評価と蔓延防止策」において実施された。また、研究を推進するにあたり、多くの関係者のご協力をいただきました。ここに謝意を表します。

- 1) 浅井元朗・黒川俊二・清水矩宏・榎本敬
2007. 1990年代の輸入冬作穀物中の混入雑草種子とその種組成. 雑草研究 52(1):1-10.
- 2) 浅井元朗・與語靖洋 2005. 関東・東海地域の麦作圃場におけるカラスミギ、ネズミムギの発生実態とその背景. 雑草研究50(2):73-81.
- 3) Esbenshade WR, Curran WS, Roth GW, Hartwig NL, Orzolek MD 2001. Effect of establishment date and crop competition on bur cucumber fecundity. Weed Science 49: 524-527.
- 4) Gibson KD, Johnson WG, Hillger DE 2005. Farmer perceptions of problematic corn soybean weeds in Indiana. Weed Technology 19: 1065-1070.

- 5) Hulina N 1996. New dangerous weed in Croatia: *Sicyos angulatus* L. (Cucurbitaceae). Poljoprivredna Znanstvena Smotra 61: 259-264.
- 6) Imaizumi T, Kurokawa S, Ito M, Auld B, Wang G X 2006. Population structure of *Solanum carolinense* along the Takano River in Kyoto, Japan as determined by amplified fragment length polymorphism analysis. Weed Research 46: 219-225.
- 7) 小林寿美・黒川俊二・池田堅太郎・森田聡一郎 2008. 葉緑体DNAマーカーからみた特定外来生物アレチウリの阿武隈川河川敷集団の由来. 日本草地学会誌 54 (別): 298-299.
- 8) 黒川俊二 2000. イチビ国内分布域の変遷. 植調 第34巻 (9): 314-320.
- 9) 黒川俊二 2004. シリーズ 外来雑草は今… (12) なぜ蔓延したのか - イチビ -. 植調 第38巻 (7): 26-29.
- 10) 黒川俊二・小林寿美・池田堅太郎 2007. 静岡中遠地域における雑草化 *Lolium* 属集団の遺伝的背景. 種生物学シンポジウム講演要旨.
- 11) 黒川俊二・仙田貴之・森田聡一郎・菅野勉 2006. 外来植物集団の遺伝的構造 1. アレチウリ. 雑草研究 51 (別): 42-43.
- 12) 黒川俊二・仙田貴之・森田聡一郎・菅野勉 2006. 外来植物集団の遺伝的構造 2. ワルナスビ. 雑草研究 51 (別): 44-45.
- 13) Kurokawa S, Shibaike H, Akiyama H, Yoshimura Y 2004. Molecular and morphological differentiation between the crop and weedy types in velvetleaf (*Abutilon theophrasti* Medik.) using a chloroplast DNA marker: seed source of the present invasive velvetleaf in Japan. Heredity 93: 603-609.
- 14) 黒川俊二・芝池博幸・吉村義則 2002. ワルナスビの種子生産と自家不和合成遺伝子の多様性: RT-PCRによる対立遺伝子のタイピング. 雑草研究 47 (別): 110-111.
- 15) Larche JF 2004. *Sicyos angulatus*, a new weed for corn crops in SW France. Phytoma 571: 19-22.
- 16) Messersmith DT, Curran WS, Hartwig NL, Orzolek MD, Roth GW 1999. Evaluation of several herbicides for bur cucumber (*Sicyos angulatus*) control in corn (*Zea mays*). Weed Technology 13: 520-524.
- 17) Messersmith DT, Curran WS, Roth GW, Hartwig NL, Orzolek MD 2000. Tillage and herbicides affect bur cucumber management in corn. Agronomy Journal 92: 181-185.
- 18) 大里敏雄・木下正彦・高尾幸江・正山正博・徳谷泰・古川誠・松井美奈子・池田信也・湊孝治・浅井葵・坪根昭代・生田恵子・中島茂・田原由起子・木ノ内良治・渡辺泰男・依田修・遅塚令二 1984. 府中市におけるイネ科花粉症集団発生事例について. 東京都衛生局学会誌 73: 128-129.
- 19) 清水矩宏・榎本敬・黒川俊二 1996. 外国からの濃厚飼料原体に混入していた雑草種子の同定I. 種類とバックグラウンド. 雑草研究 41 (別): 212-213.
- 20) Tobina H, Yamashita M, Koizumi A, Fujimori M, Takamizo T, Hirata M, Yamada T, Sawada H. 2008. Hybridization between perennial ryegrass and Italian ryegrass in naturalized Japanese populations. Grassland Science 54: 69-80.