

東北地方で野生化したライグラス類の種子と生育初期の形態形質

飛 奈 宏 幸^{*,**}・山下 雅 幸^{*}・澤 田 均^{*}

Seed and juvenile traits of ryegrass populations naturalized in Tohoku region

Hiroyuki Tobina^{*,**}, Masayuki Yamashita^{*} and Hitoshi Sawada^{*}

要約：東北地方で野生化したライグラス類 (*Lolium* 属) 16 集団について、種子および生育初期の形態形質からペレニアルライグラス (*L. perenne*) とイタリアンライグラス (*L. multiflorum*) の種識別を試みた。種子長、種子幅、種子百粒重、葉数、草丈、葉身長、葉身幅を調査し、多変量解析を用いて、供試集団と栽培品種を比較した。さらに既存の種識別形質である有芒率、幼根の蛍光率を調査し、識別精度を向上させた。調査の結果、10 集団がイタリアンライグラス、2 集団がペレニアルライグラスと推定され、残り 4 集団 (25.0%) が種間雑種に由来することが強く示唆された。ただし、DNA マーカーを用いた種識別よりも種間雑種性を過小評価している可能性があるため、DNA マーカーによる分析がさらに必要である。

キーワード：イタリアンライグラス、種間雑種、ペレニアルライグラス、野生化

緒 言

ライグラス類 (ペレニアルライグラス、和名ホソムギ、*Lolium perenne* L. とイタリアンライグラス、和名ネズミムギ、*L. multiflorum* Lam. の総称) は我が国の主要なイネ科牧草であり、ペレニアルライグラスは多年生、イタリアンライグラスは一および二年生の植物である。両種とも他殖性であり、平成 18 年の我が国における牧草としてのイタリアンライグラス作付面積は 60900ha であり、東北地方における作付面積は 4360ha である (農林水産省統計部 2007)。一方、九州地方における作付面積は 40400ha であり、イタリアンライグラスの牧草利用は九州が中心となっている。ペレニアルライグラスは牧草として北海道、東北地方を中心に利用されており、作付面積は 7000 - 8000ha 程度である。両種は容易に交雑することが知られており (Naylor 1960)、交雑種であるハイブリッドライグラス (*L. × boucheanum* Kunth) もわずかながら利用されている。

このように、牧草としてのライグラス類の多くは、北日本はペレニアルライグラス、南日本はイタリアンライ

グラスというように、地域によって利用される草種が異なっているが、ライグラス類の用途は牧草に限られない。家畜の採食や踏圧、刈り取りなどの攪乱に強いという牧草の特性を生かし、運動場や公園の芝草、道路法面や河川敷、堤防の緑化資材として汎用されている (山下 2002)。芝草、緑化資材について、北日本はペレニアルライグラス、南日本はイタリアンライグラス、というような境界はなく、両種の利用地域は重複しているのが実態である。

ライグラス類は農業や国土保全に不可欠な草種であるが、近年はその野生化による被害が問題となっており、環境省はライグラス類を要注意外来生物リストに掲載している。農業では実際に、コムギ圃場において雑草化したライグラス類による被害が拡大しており (浅井・興語 2005)、東北地方においても青森県、岩手県、宮城県のみぎ圃場で被害が確認されている (浅井 2008)。

ライグラス類の利用を継続させつつ、このような被害を抑制するには、野生化したライグラス類の耕地への侵入経路や野生化したライグラス類の適応様式の解明が不可欠である。そして、これらの解明の基礎となるのが、

* 静岡大学農学部 〒422-8529 静岡市駿河区大谷 836

Faculty of Agriculture, Shizuoka University, 836 Ohya, Suruga-ku, Shizuoka 422-8529, Japan.

** 東北農業研究センター (現所属)

第1表 供試植物材料

集団	県	市	自生集団			採種 個体数	採集日			栽培品種					
			生育地の 利用状況	緯度 (度)	経度 (度)		年	月	日	草種	倍数性	品種			
N08-1	青森県	弘前市	緑地	40.611	140.462	30	2006	7	18	イタリアンライグラス	2n	ハルアオバ ニオウダチ ウヅキアオバ ワセユタカ エース ヒタチアオバ テティラ ワイドイタリアン			
N08-2	秋田県	能代市	道路端	40.214	140.029	30	2006	7	18						
N08-3	秋田県	秋田市	河川敷	39.684	140.096	22	2006	7	19						
N08-4	岩手県	平泉町	空き地	38.990	141.131	30	2006	7	16						
N08-5	岩手県	盛岡市	河川敷	39.695	141.147	23	2006	7	17						
N08-6	岩手県	八幡平市	空き地	39.889	141.036	30	2006	7	17				4n		
N08-7	山形県	山形市	河川敷	38.260	140.351	30	2006	7	15						
N08-8	山形県	天童市	道路端	38.332	140.380	13	2006	7	15				ペレニアルライグラス	2n	イマジン ペナントII ウィザード フレンド ヤツボク
N08-9	山形県	東根市	緑地	38.416	140.373	30	2006	7	15						
N08-10	山形県	酒田市	河川敷	38.898	139.839	30	2006	7	15						
N08-11	山形県	酒田市	大豆畑	38.815	139.809	16	2006	7	15						
N08-12	宮城県	岩沼市	河川敷	38.095	140.876	30	2006	7	16						
N08-13	宮城県	仙台市	河川敷	38.222	140.908	30	2006	7	16						
N08-14	宮城県	栗原市	水田	38.749	141.121	30	2006	7	16	4n					
N08-15	福島県	郡山市	河川敷	37.384	140.404	30	2006	7	14						
N08-16	福島県	福島市	河川敷	37.748	140.483	30	2006	7	14						

野生化したライグラス類の遺伝構造に関する情報である。遺伝構造について、興味深いことに、種間雑種と思われる自生集団の存在が以前から報告されており（神奈川県植物誌調査会 2001；山下 2002）、種間雑種の分布に関する正確な情報が必要とされてきた。そのためには両種を識別しうる遺伝マーカーが必要である。以前から芒や幼根の蛍光性の有無が種識別マーカーとして汎用されており、ペレニアルライグラスは芒を持たず、かつその幼根は蛍光性を示さないが、イタリアンライグラスは芒を持ち、かつその幼根は蛍光性を示す（Nyquist 1963；Terrell 1968）。これらは重要な遺伝マーカーであるが、その一方で、国内の自生集団の遺伝構造を調査するにはマーカー数が少ないという欠点がある。そこで、著者らはDNAマーカーに注目し、種識別DNAマーカーの選抜（飛奈ら 2007）、選抜マーカーを用いた北海道および中部地方以南に自生するライグラス類の遺伝構造調査（Tobina *et al.* 2008）を行ってきた。その結果、中部地方以南では52.2%の集団が種間雑種に由来することを明らかにした（Tobina *et al.* 2008）。

野生化したライグラス類の遺伝構造について、国内全体を網羅的に調査する必要がある。東北地方における調査も早急に進める必要がある。そのためには種識別DNAマーカーを用いた網羅的解析を行うべきである。しかし、東北地方はペレニアルライグラスとイタリアンライグラスの分布域が重複する地域であるため、野生化と種間雑種の関係を明らかにする上でも重要な地域である。このため、DNAマーカーを用いた解析だけでなく、

形態形質から得られる情報を収集し、形態的特徴から種間雑種と識別されるような集団がどの程度存在するかを明らかにする必要がある。そこで本研究では、第一に、東北地方で野生化したライグラス類の形態形質を調査した。次に、形態的特徴が種間変異として現れているのかを調査するために、既存の種識別マーカー（芒や幼根の蛍光性の有無）での識別結果と形態的特徴の比較評価を行った。

材料および方法

東北地方6県に自生するライグラス類16集団の種子を2006年7月14日から18日にかけて採種した（第1表）。個体あたり2穂を、1-2mおきに採種した。採種した種子は集団ごとにバルクサンプルとし、そこから無作為に供試種子を選択した。生育地の利用状況は、河川敷が8集団、緑地、道路端、空き地がそれぞれ2集団、大豆畑、水田がそれぞれ1集団であった。

採種した種子について、種子百粒重、種子長、種子幅、有芒率を調査した（第2表）。ただしN08-6について、調査に十分な種子数を確保できず、有芒率は調査できなかった。2008年2月5日に、蒸留水で濡らした濾紙（定性濾紙No.2、東洋濾紙、東京）を敷いたシャーレに播種した。シャーレ1枚あたり25粒、集団あたりシャーレ2枚に播種した。シャーレは室温で管理し、播種日から1週間後に幼根の蛍光率を調査した（第2表）。蛍光率の調査から2週間後に、培土（Bas van Buuren社、マースラ

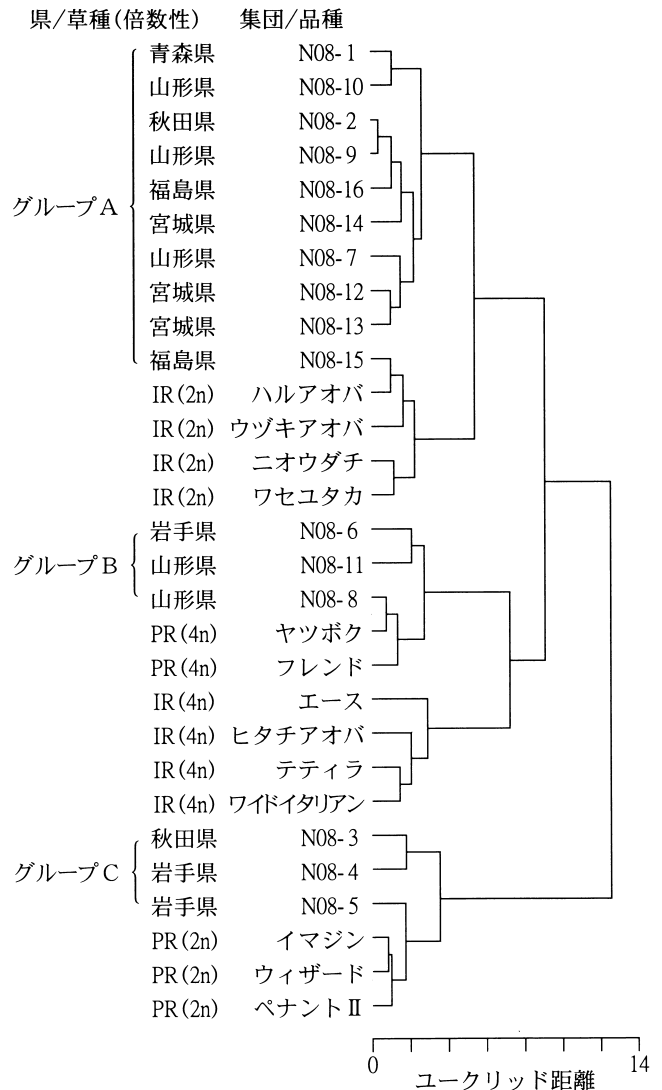
第2表 調査した各形質の定義

形質	定義
1) 採種した種子を測定	
種子百粒重(mg)	種子 100 粒あたりの風乾重 (100 粒/繰り返し, 繰り返し 5 回/集団)
種子長(mm)	種子の最長部の長さ (10 粒/集団)
種子幅(mm)	“種子長”に対して垂直方向の最長部の長さ (10 粒/集団)
有芒率(%)	芒を有する種子の集団あたり頻度 (100 粒/集団)
2) シャーレで発芽させた実生を測定	
蛍光率(%)	紫外線照射によって蛍光性を示す幼根を有する個体の集団あたり頻度 (36 - 50 個体/集団)
3) ポットで生育させた幼苗を測定	
草丈(cm)	株を垂直にした時に最長となる葉について、地表から葉身の先端までの長さ
葉数(枚)	個体あたりの葉身の数
葉身長(cm)	株を垂直にした時に 2 番目の長さとなる葉について、葉身の長さ
葉身幅(cm)	“葉身長”を測定した葉身の最大幅

ンド, オランダ) を満たしたプラグトレー (24 × 12 セル, セル容積 0.007 リットル) に幼苗を移植した。移植後のプラグトレーは水道水を満たした容器 (内寸 0.58 × 0.28 × 0.03m) に入れ, 静岡大学農学部 (静岡県静岡市) 内のガラス室で栽培管理した。プラグトレーへの移植から 3 週間後に, 培土 (Bas van Buuren 社, マースランド, オランダ) を満たしたポット (容積 3 リットル) に幼苗を移植した。ポットあたり 4 個体, 集団あたり 4 ポットに移植した。移植後のポットは静岡大学農学部内のビニールハウスで管理した。ポットへの移植から 3 週間後に, 葉数, 草丈, 葉身長, 葉身幅を調査した (第 2 表)。

有芒率と蛍光率を除く全ての形質について, 対照としてイタリアンライグラス 2 倍体品種を 4 品種, 4 倍体品種を 4 品種, ペレニアルライグラス 2 倍体品種を 3 品種, 4 倍体品種を 2 品種, それぞれ調査した (第 1 表)。

平均値の差の検定は, まず分散分析を行い, 5% 水準で有意差が認められた形質について多重比較を行った。多重比較には Tukey の検定を用いた。さらに有芒率と蛍光率を除く全ての形質を用いて, 多変量解析 (クラスター分析および主成分分析) を行った。クラスター分析は平均値を正規化した値を用い, 結合方式はウォード法によった。多変量解析の計算プログラムは青木 (1996) を用いた。



第1図 自生集団と品種のクラスター分析から得られた樹形図
IR: イタリアンライグラス, PR: ペレニアルライグラス

結果および考察

自生 16 集団, ライグラス類品種における各形質の平均値を求め, 自生集団の種間雑種性の評価を試みた。しかし, いずれの形質も, 単一の形質のみでは草種や種間雑種を識別するのは困難であった (第 3 表)。そこで, 多変量解析 (クラスター分析および主成分分析) を行い, 自生集団と栽培品種の類似性を評価した。

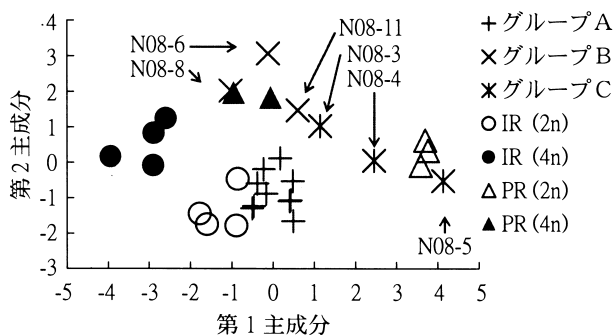
第 1 図に自生集団と栽培品種のクラスター分析から得られた樹形図を示した。栽培品種は, 草種, 倍数性の違いによって別々のクラスターを形成した。一方, 自生集団は, 供試 18 集団のうち, 10 集団がイタリアンライグラス 2 倍体品種と, 3 集団がペレニアルライグラス 4 倍体品種と, 3 集団がペレニアルライグラス 2 倍体品種とそれぞれ同一のクラスターを形成した (第 1 図, グループ A, B および C)。

第3表 自生集団と栽培品種の各形質における平均値±標準偏差

形質	自生集団 (16)	栽培品種			
		イタリアンライグラス		ペレニアルライグラス	
		2n (4)	4n (4)	2n (3)	4n (4)
種子百粒重 (mg)	198.72 ± 45.83	294.28 ± 23.93 bc	487.54 ± 70.62 a	212.24 ± 7.60 c	328.65 ± 47.88 b
種子長 (mm)	5.742 ± 0.713	5.781 ± 0.327 b	6.583 ± 0.331 a	4.811 ± 0.276 c	6.861 ± 0.335 a
種子幅 (mm)	1.408 ± 0.131	1.495 ± 0.062 b	1.705 ± 0.078 a	1.279 ± 0.014 c	1.539 ± 0.045 b
葉数 (枚)	23.2 ± 3.6	28.6 ± 2.4	24.0 ± 3.8	27.4 ± 1.9	22.6 ± 0.9
草丈 (cm)	26.73 ± 4.82	31.41 ± 2.66 a	32.30 ± 1.19 a	13.53 ± 0.79 c	22.53 ± 2.35 b
葉身長 (cm)	17.71 ± 3.22	21.34 ± 1.51 a	22.77 ± 1.16 a	10.09 ± 0.43 c	16.66 ± 0.69 b
葉身幅 (cm)	0.46 ± 0.08	0.62 ± 0.07 a	0.59 ± 0.08 ab	0.29 ± 0.01 c	0.44 ± 0.02 bc

1) 括弧内の数字は供試集団数または品種数を示す。

2) 同一のアルファベットを記した栽培品種間には有意差がないことを示す (P < 0.05, Tukey の検定)。

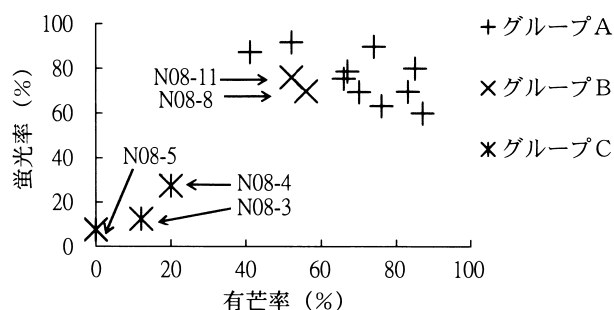


第2図 自生集団と品種における第1および第2主成分の散布図

IR: イタリアンライグラス, PR: ペレニアルライグラス

第2図に自生集団と栽培品種の主成分分析から得られた第1および第2主成分の散布図を示した。第1および第2主成分の寄与率はそれぞれ56.6%および22.3%であった。第1主成分のばらつきは主に葉身長、葉身幅、草丈(主成分負荷量はそれぞれ-0.898, -0.869, -0.846)によって説明され、第2主成分のばらつきは主に種子長、葉数(主成分負荷量はそれぞれ0.690, -0.588)によって説明された。栽培品種は、草種、倍数性の違いによって別々の位置に分布した。一方、自生集団は、グループAがイタリアンライグラス2倍体品種の近傍に分布した。また、グループBのうちN08-6, 8がペレニアルライグラス4倍体品種の、グループCのうちN08-5がペレニアルライグラス2倍体品種の、それぞれ近傍に分布した。以上の結果はクラスター分析の結果とほぼ一致した。ところでN08-3, 4, 11は、イタリアンライグラス2倍体品種とペレニアルライグラス2倍体品種の中間に分布した。これら3集団は、ペレニアルライグラスとイタリアンライグラスの中間の形態を示すことから、種間雑種である可能性が推察される。

しかし、形態形質の種内変異は大きく、形態形質から種間雑種を特定することは困難であり、種識別マーカー



第3図 自生集団における有芒率および蛍光率の散布図

を用いて調査する必要がある。そこで自生集団における有芒率と蛍光率を調査し、散布図を第3図に示した。グループAは有芒率と蛍光率のいずれも高い値を示したことから、主成分分析の結果と合わせて考えると、イタリアンライグラス2倍体と見なすのが妥当である。グループBのうちN08-8, 11は、いずれもグループAと同様に高い値を示した。一方、N08-6は、有芒率を調査できなかったが、蛍光率は2.3%と低かった。これらの結果から、N08-8, 11はクラスター分析で推察されたペレニアルライグラス4倍体ではなく、種間雑種に由来する可能性がある。また、N08-6はペレニアルライグラス4倍体であろう。グループCについて、いずれも低い値を示したが、N08-3, 4の有芒率はそれぞれ12.0, 20.0%であったのに対して、N08-5は無芒であった。主成分分析の結果と合わせて考えると、N08-3, 4は種間雑種に由来する可能性がある。また、N08-5はペレニアルライグラス2倍体であろう。以上の倍数性の考察については、今後、染色体数の調査を行い、真偽を確認する必要がある。

今回の調査で、供試した自生16集団のうち、イタリアンライグラスと考えられる10集団、ペレニアルライグラスと考えられる2集団の他に、種間雑種由来の可能

性がある4集団(25.0%)が見つかった。しかし、雑種由来集団が全体の25.0%という結果は、種間雑種性を過小評価している可能性がある。Tobina *et al.* (2008)による中部地方以南の自生46集団におけるDNAマーカーを用いた調査では、雑種由来集団が24集団(52.2%)を占めた。しかし形態調査のみでは、24集団のうち、21集団がイタリアンライグラスと判断された(Tobina *et al.* 2008)。本研究についても、特にイタリアンライグラスと考えられた10集団に関してはDNAマーカーを用いて精査する必要がある。

東北地方でもライグラス類による被害は広がりつつあり、実際に、青森県、岩手県、宮城県のムギ圃場で被害が確認されている(浅井2008)。これらの侵入地点から、ライグラス類を拡散させないようにすることが重要であり、そのためには侵入経路に関する知見が不可欠である。飛奈ら(2010)は、静岡県袋井市のコムギ圃場において、畦畔に定着したライグラス類と圃場内で雑草化したライグラス類のSSR(Simple Sequence Repeats)マーカーにおける多様性指数を比較したところ、畦畔の多様性指数が大きい傾向にあることを明らかにした。この結果から、飛奈ら(2010)は圃場内で雑草化したライグラス類は直接的には畦畔から侵入していることを指摘した。畦畔のライグラス類の防除は早急に取り組むべき課題であるが、それに加えて、ライグラス類の適応度を規定する要因を明らかにすることも重要である。外来植物の侵入性と雑種化の関係が多数報告されている(Ellstrand and Schierenbeck 2000)なかで、東北地方において、少なくとも25.0%の集団に関して種間雑種の可能性が認められたことは注目に値する。なぜなら、雑種化によってライグラス類の適応度が向上している可能性が否定できないからである。今後、DNAマーカーを用いて、種間雑種の分布の推移を追跡調査し、(1)種間雑種の生育環境の精査と(2)種間雑種と適応度の関係を明らかにすべきである。

謝 辞

自生ライグラス類の採種には、静岡大学大学院農学研究科 大学院生(当時)の岩田卓也氏、大野雅彦氏に御協力いただきました。ここに記して深謝致します。

引用文献

- 青木繁伸 1996. Black-Box: Data Analysis on the WWW.
<http://aoki2.si.gunma-u.ac.jp/BlackBox/BlackBox.html>
 (2010年8月3日確認)
- 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ムギ、ネズミムギの発生実態とその背景. 雑草研究 50: 73-81.
- 浅井元朗 2008. 転換畑の外来難防除雑草とその防除対策. 東北の雑草 8: 12-16.
- Ellstrand, N. C. and K. A. Schierenbeck 2000. Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 97: 7043-7050.
- Naylor, B. 1960. Species differentiation in the genus *Lolium*. Heredity 15: 219-233.
- 神奈川県植物誌調査会(編)2001. 神奈川県植物誌 2001. 神奈川県立生命の星・地球博物館, 神奈川, pp.270.
- 農林水産省統計部(編)2007. 平成18年耕地及び作付面積統計. 農林統計協会, 東京, pp.1-194.
- Nyquist, W. E. 1963. Fluorescent perennial ryegrass. Crop Sci. 3: 223-226.
- Terrell, E. E. 1968. A taxonomic revision of the genus *Lolium*. Tech. Bull. US. Dept. Agric. 1392: 1-65.
- 飛奈宏幸・山下雅幸・小泉厚浩・藤森雅博・高溝 正・平田球子・佐々木 亨・山田敏彦・澤田 均 2007. ペレニアルライグラス(*Lolium perenne*)とイタリアンライグラス(*L. multiflorum*)を識別するDNAマーカーの選抜. 日本草地学会誌 53: 138-146.
- Tobina, H., M. Yamashita, A. Koizumi, M. Fujimori, T. Takamizo, M. Hirata, T. Yamada and H. Sawada 2008. Hybridization between perennial ryegrass and Italian ryegrass in naturalized Japanese populations. Grassl. Sci. 54: 69-80.
- 飛奈宏幸・池田六洋・山下雅幸・澤田 均 2010. 静岡県中遠地域で耕地雑草化したライグラス類集団のSSR多型. 日本草地学会誌 56(別): 9.
- 山下雅幸 2002. 外来牧草の野生化. 日本草地学会誌 48: 161-167.

(2010年8月2日受理)