

## 水田雑草における除草剤抵抗性研究の現状

内野彰、岩上哲史\* (農研機構・中央農業総合研究センター、\*京都大学)

水田雑草ではイヌホタルイ、コナギ、アゼトウガラシ属水田雑草などでスルホニルウレア系除草剤 (SU 剤) に対する抵抗性 (SU 抵抗性) が多く確認され、これらでは SU 剤の標的である ALS (アセト乳酸合成酵素、acetolactate synthase) のアミノ酸置換によって抵抗性が引き起こされている。この抵抗性は除草剤標的部位 (target site) の変異によることから target-site resistance と呼ばれる。一方海外の畑雑草などでは、標的部位の変異によらない抵抗性も報告されており、これは non-target-site resistance と呼ばれる。日本でもオモダカで non-target-site resistance が報告されており、ヒユ属雑草でも同タイプの抵抗性が疑われている。本報告ではこれら抵抗性研究の現状を紹介する。

### 1. Target-site resistance

ALS を阻害する除草剤には SU 剤の他、イミダゾリノン系除草剤 (IM 剤)、ピリミジニルカルボキシ系除草剤 (PC 系)、トリアゾピリミジン系除草剤 (TP 剤) などが知られる。また SU 抵抗性を引き起こす ALS のアミノ酸置換部位には Pro<sub>197</sub>、Asp<sub>376</sub>、Trp<sub>574</sub> などがあり、中でも Pro<sub>197</sub> の置換が最も多く報告されている。Pro<sub>197</sub> の置換は SU 抵抗性を引き起こすものの、IM 剤など他の ALS 阻害剤には抵抗性を示さないことが多く、SU 剤以外の ALS 阻害剤が有効となる場合もある。一方 Trp<sub>574</sub> の置換は全ての ALS 阻害剤に抵抗性を示すため、この置換タイプの防除には ALS 阻害剤ではなく、他の作用機作をもつ除草剤で防除する必要がある。日本ではイヌホタルイ、オモダカ、キカシグサの抵抗性個体の中に Trp<sub>574</sub> 置換もあることが確認されており (1-3)、この置換タイプが発生している圃場では防除対策に注意が必要である。

ALS 遺伝子の解析が進んでいるイヌホタルイ、コナギ、アゼトウガラシ属水田雑草などでは、いずれも複数の ALS 遺伝子 (座) を持つことが分かっている (1,4,5)。遺伝子の数が抵抗性の出現に及ぼす影響にはまだ議論もあるが、遺伝子の数が 5 つ報告されるコナギでは一つの対立遺伝子が抵抗性型となるだけでは強い抵抗性を示さないため (6)、遺伝子の数が増えるほど抵抗性が出にくいと考えられる。これは他の感受性型の遺伝子から生産される ALS タンパク質が除草剤に阻害を受けることによると仮定すれば説明がつき (7,8)、ACCase 抵抗性の場合でも同様の機構が考えられている (9)。遺伝子の数が 5 つ報告されるコナギの抵抗性個体では、2 つの遺伝子が必ず抵抗性型になっていることも最近になって新たに報告され (10)、個体として抵抗性を示すためには感受性型遺伝子の影響を相対的に減らす必要があるものと考えられる。

### 2. Non-target-site resistance

Non-target-site resistance には除草剤の吸収、移行の阻害や解毒代謝能力の向上などが要因となっているとされ、これらが複合的に関与している場合も考えられている。その機構はよく分かっていない部分も多いが、幾つかの研究で解毒代謝能力が向上する要因としてシトクローム P450 の活性向上が報告されている。

オモダカでは、ALS にアミノ酸置換が見つかる target-site resistance も数多く確認されているが、ALS にアミノ酸置換の無い抵抗性個体も見つかっている (11)。target-site resistance のオモダカの場合、ベンスルフロンメチルやピラゾスルフロンエチルなど複数の SU 剤に対して交差抵抗性を示すが、後者の

オモダカではベンスルフロンメチルに抵抗性を示す一方でピラゾスルフロンエチルには感受性であり、交差抵抗性が認められない (12)。さらに target-site resistance の抵抗性個体は安定して強い抵抗性を示すが、後者の場合は系統間や個体間で抵抗性レベルの差異が大きく、非常に弱い抵抗性しか示さない場合もある (13)。後者のオモダカで ALS 活性の除草剤感受性とベンスルフロンメチルの代謝を調べた結果では、ALS 活性の感受性に差が無い一方でベンスルフロンメチルの代謝能力が向上していることが分かった (14)。また代謝能力の向上に P450 の代謝活性が関与することも示唆されている。これまでの我々の調査では、抵抗性オモダカの約半分が後者の抵抗性という結果も得ており、オモダカでは後者の抵抗性、すなわち代謝能力向上による non-target-site resistance も比較的多いのではないかと推測している。

ヒエ属雑草の除草剤抵抗性は、日本では 2011 年にヒメタイヌビエ、2012 年にイヌビエで報告された (15,16)。これらは ACCase 阻害剤であるシハロホップブチルに対する抵抗性を示しており、現地では ALS 阻害剤を代替除草剤として対策を行っているようである。一方、海外では 2000 年に米国で多剤抵抗性のタイヌビエが報告されており (17)、ごく最近になってあらたに複数の国で ACCase 阻害剤抵抗性や ALS 阻害剤抵抗性のヒエ属雑草が報告されている (18-24)。最近になって報告された中には target-site resistance による抵抗性も報告されているが、米国の多剤抵抗性タイヌビエは non-target-site resistance による抵抗性であるとされている (8,25-28)。この多剤抵抗性タイヌビエは ALS 阻害剤や ACCase 阻害剤など複数の除草剤に抵抗性を示し、少なくとも ALS 阻害剤抵抗性については P450 による解毒代謝能力の向上が関与すると考えられている (25-28)。日本で確認された抵抗性ヒメタイヌビエでも、我々が解析したところ non-target-site resistance である可能性が示唆されている。

target-site resistance による SU 抵抗性は、ALS 遺伝子の 1 塩基置換によって引き起こされる。遺伝子の 1 塩基置換は自然条件で起こり、1 年あたり 1 塩基あたりに換算すると  $4.7 \times 10^9$  の頻度で生じるとされる (29)。ここから単純に考えると  $4.7 \times 10^9$  個体からなる大きな集団があれば 1 個体の抵抗性個体が確率的には存在しうることになる。実際に SU 剤使用履歴の無い圃場のイヌホタルイ集団を用いて実験を行った結果では、 $7.3 \times 10^6$  の頻度で集団中に既に抵抗性個体が存在することが分かっている (30)。イヌホタルイ、コナギ、アゼトウガラシ属水田雑草などは地中に膨大な数の埋土種子集団を形成するため、SU 抵抗性の出現は、こうした埋土種子集団中に極めて低頻度で存在していた SU 抵抗性個体を、SU 剤の連用によって選択的に増加させた結果といえる。除草剤抵抗性の防除ではこうした点に留意し、まず埋土種子集団を増やさないように管理することが重要となる。そして SU 抵抗性個体にも防除効果の高い除草剤成分を効率的に利用し、除草剤抵抗性個体の増殖する前に抵抗性個体を抑えるという管理が、抵抗性の新たな出現と拡散を抑えるために有効になる。

## 引用文献

- (1) Uchino A, Ogata S, Kohara H, Yoshida S, Yoshioka T and Watanabe H (2007) Molecular basis of diverse responses to acetolactate synthase-inhibiting herbicides in sulfonylurea-resistant biotypes of *Schoenoplectus juncooides*. Weed Biol Manag 7, 89-96.
- (2) 松田晃・青木大輔・内野彰 (2013) 山形県で発生するスルホニルウレア系除草剤抵抗性オモダカの交差抵抗性と ALS 遺伝子変異. 雑草研究 58(別).
- (3) 角康一郎・大野修二・小川安則・清水力 (2006) ALS ドメイン A のプロリン変異と薬剤抵抗性の関係及び SU 抵抗性雑草の ALS 遺伝子解析. 雑草研究 51(別),140-141.

- (4) Ohsako T and Tominaga T (2007) Nucleotide substitutions in the acetolactate synthase genes of sulfonylurea-resistant biotypes of *Monochoria vaginalis* (Pontederiaceae). *Genes Genet Syst* 82,207-215.
- (5) Uchino A and Watanabe H (2002) Mutations in the acetolactate synthase genes of sulfonylurea-resistant biotypes of *Lindernia* spp. *Weed Biol Manag* 2,104-109.
- (6) Imaizumi T, Wang G-X and Tominaga T (2008) Inheritance of sulfonylurea resistance in *Monochoria vaginalis*. *Weed Research* 48,448-454.
- (7) Endo M, Osakabe K, Ono K, Handa H, Shimizu T and Toki S (2007) Molecular breeding of a novel herbicide-tolerant rice by gene targeting. *Plant J* 52:157-166.
- (8) Iwakami S, Uchino A, Watanabe H, Yamasue Y and Inamura T (2012) Isolation and expression of genes for acetolactate synthase and acetyl-CoA carboxylase in *Echinochloa phyllopogon*, a polyploid weed species. *Pest Manag Sci* 68,1098-1106.
- (9) Yu Q, Ahmad-Hamdani MS, Han H, Christoffers MJ and Powles SB (2013) Herbicide resistance-endowing ACCase gene mutations in hexaploid wild oat (*Avena fatua*): insights into resistance evolution in a hexaploid species. *Heredity* 110, 220-231.
- (10) 伊藤達也・汪光熙・劉士平・小澤友理子・冨永達 (2012) ALS 遺伝子ファミリーの 1 遺伝子における変異で SU 剤抵抗性が獲得されるか？—ミズアオイとコナギを例に—。雑草研究 57(別), 26.
- (11) 内野彰・渡辺寛明・古原洋・大段秀記・伊藤一幸 (2004) イヌホタルイおよびオモダカのアセト乳酸合成酵素遺伝子の構造とスルホニルウレア系除草剤抵抗性バイオタイプにおけるその変異。雑草研究 49(別), 58-59.
- (12) 内野彰・渡辺寛明 (2002) 秋田県大曲市で見つかったオモダカのスルホニルウレア系除草剤及び各種除草剤に対する反応。雑草研究 47(別), 56-57.
- (13) 内野彰・大野修二・角康一郎・平岩確・永田信彦・仁木理人・天笠正 (2008) 多年生水田雑草オモダカおよびウリカワにおけるスルホニルウレア系除草剤抵抗性およびその地上部再生法による抵抗性検定。雑草研究 53(別), 12.
- (14) 三浦斗夢・春原由香里・内野彰・松本宏 (2012) アセト乳酸合成酵素遺伝子に変異を持たないオモダカにおけるベンスルフロンメチル抵抗性機構。雑草研究 57(別), 128.
- (15) 那須英夫・吉永京司 (2011) 水稻直播水田におけるシハロホップブチル抵抗性ヒメタイヌビエの発生。雑草研究 56(別), 12.
- (16) 平山智士・那須英夫・伊藤一幸 (2012) 岡山市の水稻乾田直播地帯におけるシハロホップブチル抵抗性イヌビエ有芒種とヒメタイヌビエの分布。雑草研究 57(別), 127.
- (17) Fischer AJ, Ateh CM, Bayer DE and Hill JE (2000) Herbicide-resistant *Echinochloa oryzoides* and *E. phyllopogon* in California *Oryza sativa* fields. *Weed Sci* 48:225-230.
- (18) Im S-H, Park M-W, Yook M-J and Kim D-S (2009) Resistance to ACCase Inhibitor Cyhalofop-butyl in *Echinochloa crus-galli* var. *crus-galli* Collected in Seosan, Korea. *Kor J Weed Sci* 29: 178-184
- (19) Rahman MM, Sahid IB and Juraimi AS (2010) Study on Resistant biotypes of *Echinochloa crus-galli* in Malaysia. *Aust J Crop Sci* 4: 106-114.
- (20) Huan Z-B, Jin T, Zhang S-Y and Wang J-X (2011) Cloning and sequence analysis of plastid acetyl-CoA carboxylase cDNA from two *Echinochloa crusgalli* biotypes. *J Pestic Sci* 36: 461-466
- (21) Riar DS, Norsworthy JK, Bond JA, Bararpour MT, Wilson MJ and Scott RC (2012) Resistance of *Echinochloa crus-galli* Populations to Acetolactate Synthase-Inhibiting Herbicides. *International Journal of Agronomy Article* DOI : <http://dx.doi.org/10.1155/2012/893953>
- (22) Kaloumenos NS, Chatzilazaridou SL, Mylona PV, Polidoros AN and Eleftherohorinos IG (2012) Target-site

- mutation associated with cross-resistance to ALS-inhibiting herbicides in late watergrass (*Echinochloa oryzicola* Vasing). *Pest Manag Sci*. DOI : <http://dx.doi.org/10.1002/ps.3450>
- (23) Panozzo S, Scarabel L, Tranel PJ and Sattin M (2012) Target-site resistance to ALS inhibitors in the polyploid species *Echinochloa crus-galli*. *Pestic Biochem Physiol* DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.12.003>
- (24) Riar DS, Norsworthy J, Srivastava V, Nandula V, Bond J and Scott RC (2013) Physiological and Molecular Basis of Acetolactate Synthase-Inhibiting Herbicide Resistance in Barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). *J Agric Food Chem* 61: 278–289
- (25) Fischer AJ, Bayer DE, Carriere MD, Ateh CM and Yim K-O (2000) Mechanisms of Resistance to Bispyribac-Sodium in an *Echinochloa phyllopogon* Accession. *Pestic Biochem Physiol* 68: 156-165
- (26) Osuna MD, Vidotto F, Fischer AJ, Bayer DE, Rafael RD and Ferrero A (2002) Cross-resistance to bispyribac-sodium and bensulfuron-methyl in *Echinochloa phyllopogon* and *Cyperus difformis*. *Pestic Biochem Physiol* 73:9–17.
- (27) Yun M-S, Yogo Y, Miura R, Yamasue Y and Fischer AJ (2005) Cytochrome P-450 monooxygenase activity in herbicide-resistant and -susceptible late watergrass (*Echinochloa phyllopogon*). *Pestic Biochem Physiol* 83:107–114.
- (28) Yasuor H, Osuna MD, Ortiz A, Saldain NE, Eckert JW and Fischer AJ (2009) Mechanism of resistance to penoxsulam in late watergrass [*Echinochloa phyllopogon* (Stapf) Koss.]. *J Agric Food Chem* 57: 3653-3660.
- (29) 根井正利 1990. 「分子進化遺伝学」, 培風館.
- (30) 内野彰・古原洋・吉田修一・大段秀記・芝池博幸 (2006) イヌホタルイ集団におけるスルホニルウレア系除草剤抵抗性変異遺伝子頻度の推定. *雑草研究* 51(別), 92-93.