ミニレビュー

水田雑草におけるスルホニルウレア系除草剤抵抗性の 出現とその生態[#]

内野 彰^{1,*}, 岩上 哲史²

¹ 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構中央農業総合研究センター

² 京都大学

(2013年12月29日受理)

Evolution and genetics of sulfonylurea resistance in the paddy weeds of Japan

Akira UCHINO¹ and Satoshi IWAKAMI²

¹ NARO Agricultural Research Center, National Agriculture and Food Research Organization (NARO),
3-1-1 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8666, Japan

² Kyoto University, Oiwake-cho, Kitashirakawa, Sakyo-ku, Kyoto 606-8502, Japan

Keywords: herbicide resistance, paddy weeds, sulfonylurea, acetolactate synthase.

はじめに

雑草の除草剤抵抗性は世界的に広く報告されており，特にアセト乳酸合成酵素（ALS）を阻害する除草剤（ALS阻害剤）に対する抵抗性が多く報告されている¹⁾．日本の水田雑草でも1990年代半ばからALS阻害剤の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）が確認され始め，現在は19種の水田雑草でSU抵抗性個体が確認されている（表1）²⁾．この19種の雑草の中で特に全国的に広く問題となったのはイヌホタルイとコナギであり，抵抗性の防除対策もこれまでこの2種を中心に進められてきた．イヌホタルイの抵抗性個体は2000年以前から寒冷地を中心に報告され，やがて全国的に報告されるようになった³⁻⁵⁾．これに対しコナギの抵抗性個体はやや遅れて2000年以降に関東と東北で

報告され，やがて全国的に確認されるようになっていく^{5,6)}．現在はSU抵抗性個体に有効な除草剤が市販されており，どちらの草種も除草剤の選択さえ間違えなければ大きな問題とされないものの，水田雑草の種子は土中で長い寿命を保つため，SU抵抗性個体が出現した圃場では適切な防除を長期にわたって継続する必要性が生じている．

SU抵抗性個体は何故出現したのか，出現したSU抵抗性個体を長期的な視点でどのように管理すればよいのか，といった疑問に対してはSU抵抗性の生理機構の解明だけでなく，集団遺伝学的な考察に基づいた個体群動態モデルによるシミュレーションが有効となる．そこで本稿では，SU抵抗性を引き起こすALSのアミノ酸置換の話題に加え，個体群動態に及ぼす各種要因の話題を紹介する．

1. SU抵抗性の生理機構

SU抵抗性は多くの場合，SU剤の標的酵素であるALSが特定部位でアミノ酸置換することによって引き起こされる．アミノ酸置換がALS阻害剤抵抗性を引き起こす部位としては，Ala122, Pro197, Ala205, Asp376, Arg377, Trp574, Ser653,

[#] 第38回大会シンポジウムを取りまとめた解説．

* 〒305-8666 茨城県つくば市観音台3-1-1

E-mail: uchino@affrc.go.jp

© 日本農薬学会

表 1. 日本でスルホニルウレア系除草剤抵抗性が報告されている雑草

草種	学名	最初の報告年
ミズアオイ	<i>Monochoria korsakowii</i>	1996
アゼトウガラシ	<i>Lindernia micrantha</i>	1997
アゼナ	<i>Lindernia procumbens</i>	1997
アメリカアゼナ	<i>Lindernia dubia</i> var. <i>major</i>	1997
タケトアゼナ	<i>Lindernia dubia</i> var. <i>dubia</i>	1997
イヌホタルイ	<i>Schoenoplectus juncooides</i> (= <i>Scirpus juncooides</i> var. <i>ohwianus</i>)	1998
キクモ	<i>Limnophila sessiliflora</i>	1998
キカシグサ	<i>Rotala indica</i> var. <i>uliginosa</i>	1998
ミゾハコベ	<i>Elatine triandra</i> var. <i>pedicellata</i>	1998
コナギ	<i>Monochoria vaginalis</i>	2000
タイワンヤマイ	<i>Schoenoplectus wallichii</i> (= <i>Scirpus wallichii</i>)	2001
オモダカ	<i>Sagittaria trifolia</i>	2002
スズメノテッポウ*	<i>Alopecurus aequalis</i> var. <i>amurensis</i>	2005
ホソバヒメミソハギ	<i>Ammannia coccinea</i>	2006
ウリカワ	<i>Sagittaria pygmaea</i>	2008
ヘラオモダカ	<i>Alisma canaliculatum</i>	2008
ミズマツバ	<i>Rotala mexicana</i>	2008
アブノメ	<i>Dopatrium junceum</i>	2008
ウキアゼナ	<i>Bacopa rotundifolia</i>	2009
マツバイ	<i>Eleocharis acicularis</i> var. <i>longiseta</i>	2009
ヒメクグ*	<i>Cyperus brevifolius</i>	2011

*スズメノテッポウは麦作の雑草、ヒメクグは芝地の雑草、他はすべて水田雑草。

Gly654の8箇所が知られている⁷⁾。8箇所の中には、アミノ酸置換によってSU剤以外のALS阻害剤に対して抵抗性を引き起こすものの、SU剤の感受性には影響しない部位も含まれており、農耕地で確認されたSU抵抗性雑草に限れば、今のところPro197におけるアミノ酸置換が最も多く報告されている⁷⁾。Pro197のアミノ酸置換はSU剤以外のALS阻害剤に強い抵抗性を示さないことが多く、SU剤と異なる化学骨格をもつALS阻害剤であればこのタイプを防除できる場合がある。さらに近年開発されたSU剤の中には、Pro197でアミノ酸置換した抵抗性個体にも有効な剤が登場している。一方、Pro197に次いでSU抵抗性個体に報告数が多いのがTrp574のアミノ酸置換である。この部位におけるアミノ酸置換はSU剤に限らず、どのALS阻害剤にも強い抵抗性を引き起こすため、SU剤と大きく化学骨格が異なっているALS阻害剤では防除することができないと考えられる。したがってこのタイプに対する有効除草剤の選択には特に注意が必要となる^{8,9)}。Trp574におけるアミノ酸置換は、日本の水田雑草ではイヌホタルイ、オモダカ、キカシグサの抵抗性個体の中に存在することがわかっている^{8,10,11)}。イヌホタルイの抵抗性個体を広く集めてそのアミノ酸置換部位を調査した

結果では、Trp574部位で置換している個体は今のところ抵抗性個体全体の10%以下を占めるに過ぎない^{9,12)}。しかし今後の使用除草剤の変遷に従ってこの比率が変わる可能性もあり、防除対策を考える上ではALSのアミノ酸置換部位に今後も注意を払っていく必要があろう。

2. SU抵抗性の生態

除草剤抵抗性の個体群動態モデルについてはこれまで多くの研究があり、個体群動態に影響を及ぼす要因として、「除草剤による選択圧の強さ」「自然集団における抵抗性遺伝子の頻度」「抵抗性の遺伝様式」「抵抗性個体の適応度 (fitness)」「集団内および集団間の遺伝子流動」などが挙げられている¹³⁾。

2.1. 除草剤による選択圧の高さ

SU剤は非常に効果が高く、また比較的残効性も長い除草剤成分のため、選択圧が極めて高い除草剤といえる。個体群動態モデルでは、選択圧が高いほど次世代に占める感受性個体の割合が低くなるため、集団中の抵抗性個体の割合が世代を重ねるごとに急激に増加することとなる¹³⁾。しかし実際

には、標準濃度より低い濃度で除草剤を散布する（＝低い選択圧をかける）と抵抗性レベルの低い個体群が選択されてしまう。低い抵抗性レベルは多様な遺伝子の集積によって引き起こされると考えられており、低い選択圧を他殖性の雑草集団に与え続けた場合には世代を重ねるごとにそうした遺伝子が交配によってさらに集積し、抵抗性レベルが次第に強くなることが明らかとなっている^{14,15)}。この意味では、必ずしも高い選択圧だけが抵抗性を急激に増やすわけではなく、選択圧の高さが与える影響は単純でない。

日本の水稲用除草剤の多くは混合剤であるが、混合されるSU剤以外の成分（非SU成分）の抵抗性雑草への効果も個体群動態に強く影響する。非SU成分の中にSU抵抗性雑草に有効な成分があれば抵抗性雑草が顕在化することはないため、非SU成分の殺草スペクトルの違いが顕在化する抵抗性雑草の種類に強く影響している可能性は十分考えられる。例えばタマガヤツリ *Cyperus difformis* は海外でSU抵抗性の事例が多く報告されている草種であるが、日本ではまだSU抵抗性が確認されていない。おそらく市販除草剤に混合される非SU成分の多くがタマガヤツリに有効であったためではないかと想像される。また矢野ら¹⁶⁾は山形県における使用除草剤の非SU成分の変遷を調べ、コナギに有効な非SU成分の使用が減少したことがSU抵抗性コナギの増加の要因となったのではないかと推測している。

2.2. 自然集団における抵抗性遺伝子の頻度

SU抵抗性はALSの1アミノ酸置換で引き起こされ、1アミノ酸置換はDNAの1塩基置換によって生じうる。DNA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 4.7×10^{-9} の頻度で生じるとされる¹⁷⁾。シロイヌナズナを使った実験でもALS阻害剤抵抗性個体の自然出現頻度が 1×10^{-9} とする報告があり¹⁸⁾、他の植物でも同様の頻度で自然変異が起きている可能性が高い。一方、自然集団（除草剤の選択圧がかかっていない集団）の抵抗性個体の頻度を *Lolium rigidum* で調べた結果では $2.2 \times 10^{-5} \sim 1.2 \times 10^{-4}$ という頻度が報告されており、期待される自然出現頻度よりもかなり高い頻度で抵抗性個体が存在することがわかっている¹⁹⁾。日本でもイヌホタルイの自然集団で抵抗性個体頻度を調べた結果、自然出現頻度よりも高い 7.3×10^{-6} という値が得られている¹²⁾。こうした自然集団における抵抗性個体の頻度が高い草種は、抵抗性の顕在化が他の草種より早く、より抵抗性が問題となりやすい草種なのかもしれない。

2.3. 抵抗性の遺伝様式

個体群動態モデルでは、優性遺伝する抵抗性遺伝子の方が劣性遺伝の場合よりも顕在化が早い¹³⁾。SU抵抗性の遺伝様式は優性遺伝である場合が多く、日本でもミズアオイやアゼトウガラシ、イヌホタルイで単因子優性遺伝であることが確

められている²⁰⁻²²⁾。しかしコナギの抵抗性個体では交雑F1個体が標準濃度のSU剤（ベンスルフロンメチル）処理で強く阻害をうけるため、標準の3倍濃度の除草剤処理で試験すると抵抗性形質が明瞭に劣性遺伝することが報告されている²³⁾。抵抗性コナギの顕在化が相対的に遅かった理由として、上述の非SU成分の変遷に加え、こうした標準濃度でヘテロ接合体が強く阻害されることも関係している可能性が高い。多くの市販除草剤に混合されるベンスルフロンメチルは温暖地よりも寒冷地で高い濃度に設定されており、寒冷地においては特にコナギの抵抗性顕在化に強く影響した可能性が考えられる。

2.4. 抵抗性個体の適応度 (fitness)

トリアジン系除草剤抵抗性の場合、抵抗性を引き起こす遺伝子変異によって光合成能が顕著に低下して適応度が低下するため、除草剤の選択圧がかからない状態では感受性個体が優占すると考えられている²⁴⁾。しかしALS阻害剤抵抗性の場合には適応度が低下する場合が極めて少なく、多くの報告は適応度に差がないとしている。低温発芽性に差があるとする報告はいくつかあるが、それが抵抗性に由来するものなのか単なる系統間差に由来するものなのか明らかにされていない²⁵⁾。日本でも北海道、東北地方から収集したイヌホタルイで各種系統間の低温発芽性を比較した結果、抵抗性系統で低温発芽性が高い傾向が得られたが、それが抵抗性に由来するものなのかどうかは不明であった²⁶⁾。そこで筆者らは遺伝的に近い系統間で比較するために、ALS遺伝子座がヘテロ接合体となっている個体の自殖後代から抵抗性系統と感受性系統（野生型系統）を分離して低温発芽性を比較した。この結果、これらの系統間に有意な差異が認められず、抵抗性形質と低温発芽性の間に相関関係がなかったことから、イヌホタルイ系統間に見られた上述の発芽特性の差異は抵抗性に由来する差異ではなく、単なる系統間差異に由来するものと考えられた²⁷⁾。

一方、アミノ酸置換したALSは分岐鎖アミノ酸によるフィードバック阻害を受けにくくなっていることが多くの種で共通して報告されている²⁸⁻³⁰⁾。フィードバック阻害の低下は、最終産物である分岐鎖アミノ酸含量を増加させることになるため、このことが雑草の適応度に何らかの影響を与える可能性は否定できないであろう。

2.5. 集団内および集団間の遺伝子流動

遺伝子流動による抵抗性の拡散、顕在化には遺伝様式が大きく影響する。抵抗性が優性遺伝する場合は自殖性植物よりも他殖性植物で早く抵抗性が顕在化し、劣性遺伝する場合は逆に他殖性植物の方が顕在化しにくい¹³⁾。

コナギの抵抗性集団を調べた結果では、コナギが自殖性植物であることから遺伝子流動が極めて少なく、実際に抵抗性

集団では集団内の多様度が低下することがわかっている³¹⁾。こうしたことからコナギでは各集団で独立に起きた抵抗性変異個体が選択され、その自殖集団だけが選択的に増殖した可能性が高い。一方、イヌホタルイは他殖性植物であり、集団によって多様度が低下しない場合や低下する場合など様々な抵抗性集団が見られている^{32,33)}。このことからイヌホタルイでは、抵抗性変異個体が感受性個体と交雑しながら増殖した集団も多いと考えられる。イヌホタルイは風媒で交雑することもあり、抵抗性遺伝子は近隣の他の感受性集団に容易に拡散しうる。イヌホタルイで抵抗性の顕在化が早く、コナギで抵抗性の顕在化が遅れた一因には、こうした自殖性と他殖性の違いも関係していた可能性が高い。

3. イヌホタルイの個体群動態モデル

筆者らはイヌホタルイの各種パラメータを文献値あるいは実験値から求め、個体群動態モデルを実際に作成し、抵抗性の動態を明らかにすることを試みた¹²⁾。このモデルによってシミュレーションを行ったところ、埋土種子からの出芽率が高い系統で抵抗性の顕在化が早くなるという結果が得られた。一方、上述の低温発芽性比較実験に使用したヘテロ接合体の後代から分離した抵抗性系統と感受性系統を用い、秋に生産されたイヌホタルイ種子を埋土し、翌年の埋土種子からの出芽率を調べたところ、抵抗性形質に関係なく出芽率の高いイヌホタルイ系統は低温発芽性の高い系統に一致していた。この結果は抵抗性の顕在化が早い系統が低温発芽性の高い系統に一致することを示しており、上述した「抵抗性系統で低温発芽性の高い傾向がある」という調査結果をよく説明するものであった。すなわち抵抗性系統で認められた高い低温発芽性は抵抗性に起因するものではなく、低温発芽性の高い系統で早く抵抗性が顕在化した結果、実際に顕在化している抵抗性系統には低温発芽性の高い系統が多かったものと考えられる。今のところ抵抗性形質そのものが適応度に及ぼす影響は明らかではないが、少なくとも抵抗性系統で低温発芽性の高い系統が多い系統が多いのは確かなようである。

モデルを使ったシミュレーションでは「集団の初期サイズ」も抵抗性の顕在化に大きく影響した。抵抗性個体の初期頻度が同じであれば、集団のサイズが大きいほど初期に存在する抵抗性個体数が多くなるのは自明であるともいえ、雑草の集団サイズを小さく維持するのも抵抗性の顕在化を抑えるために重要と言える。近年は大規模化や高齢化のため雑草管理が粗放化し、収穫期に雑草が残って種子が落とすことも多くなっているようである。しかし埋土種子の増加、すなわち集団サイズの増加は抵抗性の顕在化を早めることから、埋土種子を増やさない管理が抵抗性の抑制に重要であることを農家も含めて関係者が認識する必要がある。

引用文献

- 1) I. Heap: <http://www.weedscience.org> (2013).
- 2) 内野 彰: <http://jhrwg.ac.affrc.go.jp/weeds.html> (2013).
- 3) 古原 洋, 今野一男, 竹川昌和: 雑草研究 **44**, 228–235 (1999).
- 4) 内野 彰, 渡邊寛明, 菊池晴志, 三浦嘉浩, 尾形 茂, 白井智彦, 吉田修一, 谷なつ子, 三浦恒子, 田口奈穂子, 矢野真二, 伊藤博樹, 新田靖晃: 東北の雑草 **5**, 24–28 (2005).
- 5) 児嶋 清, 川名義明: 最新除草剤・生育調節剤解説〈追捕〉, 財団法人日本植物調節剤研究協会, pp. 18–23, 2007.
- 6) 小荒井晃, 森田弘彦: 雑草研究 **47**, 20–28 (2002).
- 7) P. J. Tranel, T. R. Wright and I. M. Heap: <http://www.weedscience.org> (2013).
- 8) 松田 晃, 青木大輔, 内野 彰: 雑草研究 **58** (別), 93 (2013).
- 9) 大川茂範, 北川誉紘, 青木大輔, 内野 彰: 雑草研究 **58** (別), 94 (2013).
- 10) A. Uchino, S. Ogata, H. Kohara, S. Yoshida, T. Yoshioka and H. Watanabe: *Weed Biol. Manage.* **7**, 89–96 (2007).
- 11) 角康一郎, 大野修二, 小川安則, 清水 力: 雑草研究 **51** (別), 140–141 (2006).
- 12) 内野 彰, 古原 洋, 吉田修一, 大段秀記, 芝池博幸: 雑草研究 **51** (別), 92–93 (2006).
- 13) M. Jasieniuk, A. L. Brule-Babel and I. N. Morrison: *Weed Sci.* **44**, 176–193 (1996).
- 14) P. Neve and S. B. Powles: *Heredity* **95**, 485–492 (2005).
- 15) C. Délye, M. Jasieniuk and V. Corre: *Trends Genet.* **29**, 649–658 (2013).
- 16) 矢野真二, 斉藤博行, 内野 彰, 伊藤一幸: 雑草研究 **49** (別), 216–218 (2004).
- 17) 根井正利: 「分子進化遺伝学」, 培風館, 1990.
- 18) G. Haughn and C. R. Somerville: In *Biotechnology in Agricultural Chemistry* ed. by H. M. LeBaron, R. O. N. Mimma, R. C. Honeycutt, J. H. Duesing, American Chemical Society, Washington, DC, pp 98–107, 1987.
- 19) C. Preston and S. B. Powles: *Heredity* **88**, 8–13 (2002).
- 20) 伊藤一幸, 吉田修一, 相田美喜: 雑草研究 **47** (別), 62–63 (2002).
- 21) 伊藤一幸, 松尾和人, 芝池博幸: 雑草研究 **44** (別), 78–79 (1999).
- 22) G.-X. Wang, H. Watanabe, A. Uchino, J. Zhou and K. Itoh: *J. Pestic. Sci.* **28**, 212–214 (2003).
- 23) T. Imaizumi, G.-X. Wang and T. Tominaga: *Weed Res.* **48**, 448–454 (2008).
- 24) M. M. Vila-Aiub, N. Maguire and S. B. Powles: *New Phytol.* **184**, 751–767 (2009).
- 25) 富永 達: 雑草研究 **52**, 36–40 (2007).
- 26) 古原 洋, 内野 彰, 渡邊寛明: 雑草研究 **46**, 175–184 (2001).
- 27) 内野 彰, 今泉智通, 浅井元朗, 渡邊寛明: 雑草研究 **57** (別), 24 (2012).
- 28) M. Endo, T. Shimizu, T. Fujimori, S. Yanagisawa and S. Toki: *Food Nutrit. Sci.* **4**, 522–528 (2013).
- 29) Y. Tanaka: *Pestic. Biochem. Physiol.* **77**, 147–153 (2003).
- 30) Q. Yu, H. Han, M. M. Vila-Aiub and S. B. Powles: *J. Exp. Bot.* **61**, 3925–3934 (2010).

- 31) T. Imaizumi, G.-X. Wang, T. Ohsako and T. Tominaga: *Weed Res.* **48**, 187–196 (2008).
- 32) T. Imaizumi, Y. Kataoka, S. Ogata and A. Uchino: *Weed Res.* **53**, 290–298 (2013).
- 33) Y. Yamada, T. Tominaga and T. Ohsako: *Weed Res.* **53**, 429–439 (2013).

略 歴

内野 彰（うちの あきら）

生年月日：昭和42年7月10日

最終学歴：東京大学大学院農学生命科学研究科博士課程

研究テーマ：水田雑草の生態，除草剤抵抗性

岩上哲史（いわかみ さとし）

生年月日：昭和56年7月28日

最終学歴：京都大学大学院農学研究科博士課程

研究テーマ：除草剤抵抗性

趣味：サッカー，カメラ