九州北部のムギ圃における除草剤抵抗性スズメノテッポウの 発生実態と各種除草剤に対する反応

大段秀記・住吉 正・小荒井晃

要 約：九州北部地域でのムギ作の主要イネ科雑草であるスズメノテッポウ (*Alopecurus aequalis* Sobol.) のトリフルラリン及びチフェンスルフロンメチルに対する抵抗性バイオタイプの発生実態を明らかにするために、スズメノテッポウが残草する福岡県、佐賀県、長崎県、熊本県、大分県の圃場から種子を採集し、抵抗性の有無について調査を行った。その結果、トリフルラリンに対してのみに抵抗性を示すバイオタイプ、チフェンスルフロンメチルに対してのみに抵抗性を示すバイオタイプ、両方の除草剤に抵抗性を示すバイオタイプの3種類のバイオタイプが確認された。すべての県においていずれかの抵抗性バイオタイプが確認され、広範囲に抵抗性バイオタイプが発生していることが明らかとなった。福岡県朝倉市から採集した両方の除草剤に抵抗性を示すバイオタイプはチフェンスルフロンメチルを4~5葉期に4倍量を処理しても枯死しなかった。トリフルラリンに対しては抵抗性比が13.1倍であった。また、ペンディメタリンに対しても抵抗性を示し、ジントロアニリン系除草剤に交差抵抗性を示した。ベンチオカーブを含有する除草剤の効果は高く、チオカーバメート系除草剤の効果は高いと考えられた。

キーワード：スズメノテッポウ、除草剤抵抗性、トリフルラリン、チフェンスルフロンメチル、多剤抵抗性、交差抵抗性

緒 言

九州北部地域では温暖な気候を利用した夏作水稲後に冬作ムギ類を栽培する二毛作が広く行われており、コムギ、オオムギの主要な産地となっている。しかしながら温暖な気候ゆえに雑草の繁茂も激しく、雑草防除はムギ類の高品質生産における重要な問題の一つとなっている。イネ科雑草のスズメノテッポウ (*Alopecurus aequalis* Sobol.) は、水田裏作のムギ作でもっとも一般的に発生する一年生の強害雑草で、ムギ播種後比較的速やかに出芽し、ムギ収穫前には種子を落とす。播種後土壌処理剤でジントロアニリン系除草剤のトリフルラリンや生育期茎葉処理剤でスルホニルウレア系除草剤 (SU剤) のチフェンスルフロンメチルは、スズメノテッポウに対して高い効果を示すことから、本地域のムギ作における慣行

的な除草剤として広く利用されてきた。しかしながら、福岡県内のコムギ作付圃場においてトリフルラリンやチフェンスルフロンメチルを適切に使用しているにもかかわらず、スズメノテッポウが繁茂する事例が報告され、これら除草剤に対する抵抗性バイオタイプであることが確認された (内川ら 2007)。九州北部地域では抵抗性バイオタイプが確認された圃場と同様の除草体系を行ってきた圃場が多く、トリフルラリンやチフェンスルフロンメチルに対する抵抗性バイオタイプが本地域に広く出現していることが懸念される。水稲作では北海道のミズアオイ (*Monochoria korsakowii* Regel et Maack) でSU剤抵抗性バイオタイプの出現 (古原ら 1996) が報告されて以後、イヌホタルイ (*Schoenoplectus juncoides* (Roxb.) Palla) (古原ら 1999) やコナギ (*Monochoria vaginalis* (Burm.f.) C.Presl ex Kunth var. *vaginata*) (小荒井・森田 2002)、アゼナ類 (*Lindernia* spp.) (内野ら 2000) などの水田雑草でSU剤抵抗性バイオタイプが出現している。現在ではSU剤抵抗性雑草に効果の高い成分を含有した対策除草剤が開発され、広く普及していることから、水稲作でSU剤抵抗性雑草が大きな問題となっている圃場は少ない。ムギ作の主要問題雑草であるスズメノテッポウにおいても、抵抗性バイオタイプが発生している圃場では効果の高い除草剤への変更が必要である。したがって、抵抗性バイオタイプの発生実態を明らかにすることは本地域のムギ類の高品質生産において重要であると考えられる。また、トリフルラリンやチフェンスルフロンメチルに対する濃度反応や他の作用機作を持つ除草剤に対する反応を明らかにすることは、抵抗性を引き起こす原因となっている遺伝子変異の推定や防除対策策定のための基礎的知見として重要である。

スズメノテッポウには、生態的特性の違いから水田型と畑地型が存在し (松村 1967)、水田型をスズメノテッポウ (*Alopecurus aequalis* Sobol. var. *amurensis* (Kom.) Ohwi)、畑地型をノハラスズメノテッポウ (*Alopecurus aequalis* Sobol. var. *aequalis*) として2変種に分類されることもある (竹松・一前 1997)。水田型は畑地型に比べて休眠が浅い、自殖である、脱粒しにくい、種子が大きいなどの特徴がある (松村 1967)。九州北部地域でのムギ作は水田裏作として作付けられることが多いことから、水田型が優占していると考えられるが、防除する上で両型が区別されることはなく、いずれの型が問題となっているかは判然としない。

そこで本研究では、スズメノテッポウが残草している九州北部地域のコムギ及びオオムギ作付圃場からスズメノテッポウ

ウの種子を採集し、水田型及び畑地型の別を確認した。さらに、採集した種子を用いてトリフルラリンとチフェンスルフロンメチルに対する抵抗性の有無を確認し、本地域における抵抗性バイオタイプの発生実態を明らかにした。また、内川ら(2007)が福岡県内で確認したトリフルラリンとチフェンスルフロンメチルの両方に対して抵抗性を示すバイオタイプについて、両除草剤に対する濃度反応及び各種土壌処理剤の防除効果を明らかにした。

材料及び方法

試験はすべて福岡県筑後市にある九州沖縄農業研究センター内の試験圃場で行った。

1. スズメノテッポウの種子の採集

2005年～2010年の5月に九州北部(福岡県、佐賀県、長崎県、熊本県、大分県)のスズメノテッポウの残草が目立つコムギ及びオオムギ作付圃場からスズメノテッポウの種子(小穂)を採集した。採集した種子は紙袋に入れ、温度及び湿度を制御せずに実験室内で試験に供試するまで保管した。

2. 採集種子の水田型及び畑地型の確認

松村(1967)に従い1.で採集した小穂の長さを測定し、2.3 mm前後のものを畑地型、3 mm前後のものを水田型と判断した。

3. 採集種子のチフェンスルフロンメチル及びトリフルラリンに対する抵抗性の確認

1) チフェンスルフロンメチルに対する抵抗性の確認

1.で採集した種子を採集年の10月もしくは11月に水稻育苗用培土を充填したプラスチックポット(直径9 cm, 高さ8 cm)に深さ1 cmで播種した。播種数はポットあたり4～5粒とした。1ポットを1反復とし、4～5反復で試験を行った。ポットは屋外に設置し、土壌が乾燥しないように適宜かん水した。ポットは乱塊法で配置した。スズメノテッポウの4～5葉期にチフェンスルフロンメチル顆粒水和剤を登録薬量の最大量(7.5 g a.i./10 a)で茎葉処理し、処理後約40日目に新葉の抽出が認められる個体を生残個体と判断した。抵抗性の集団であることを判断する明確な基準がないことから、本研究ではチフェンスルフロンメチルを処理したすべての個体の10%以上が生存していた場合に抵抗性の集団であると判断した。また、処理の妥当性を確認するために抵抗性バイオタイプである福岡県朝倉市の集団(内川ら2007)と感受性バイオタイプの福岡県筑後市の集団を供試し、採集した種子の出芽及び生育に問題がないことを確認するために無処理区を設けた。

2) トリフルラリンに対する抵抗性の確認

前述の採集種子を採集年の10月もしくは11月に野菜育苗用培土を充填した288穴セルトレイに1穴につき1粒ずつ深さ1 cmで播種した。1反復あたり24～48粒とし、1枚のセル

トレイに複数の集団を播種した。試験は1枚のセルトレイを1反復とし、2反復で行った。播種翌日に市販のトリフルラリン粒剤もしくは乳剤を登録薬量の最大量(粒剤125 g a.i./10 a, 乳剤133.5 g a.i./10 a)で土壌処理した。セルトレイはプラスチック製ばんじゅうに入れ、屋外の雨避けしたビニルハウス内に乱塊法で設置した。培土が過度に乾燥しないように適宜ばんじゅうに注水し、セルトレイの底面からかん水した。播種後約50日目に新葉の抽出が認められる個体を生残個体と判断し、生残個体数を調査した。抵抗性集団であること判断する明確な基準がないことから、本研究ではトリフルラリン処理区の生残個体数がいずれの反復ともに無処理区の生残個体数の10%以上の場合に抵抗性の集団であると判断した。また、1)と同様に処理の妥当性を確認するために抵抗性バイオタイプである福岡県朝倉市の集団(内川ら2007)と感受性バイオタイプの福岡県筑後市の集団を供試した。

3) 県別及び作付ムギ種別での各バイオタイプの発生確認地点数の偏りの評価

前述の1)及び2)の結果から採集集団をチフェンスルフロンメチルにのみ抵抗性(TM-R)、トリフルラリンにのみ抵抗性(TR-R)、チフェンスルフロンメチルとトリフルラリンの両方に抵抗性(Multi-R)、いずれの除草剤に対しても感受性(S)の4バイオタイプに分類し、県別及び採集圃場の作付ムギ種別に集計した。Fisherの正確検定により、県別及び作付ムギ種の違いによる各バイオタイプの発生確認地点数の偏りの有無を解析した。

4. 各種除草剤に対する反応

試験には2004年5月に採集した種子を供試した。種子は採集後に紙袋に入れ、温度及び湿度を制御せずに実験室で保管した。供試種子は、抵抗性バイオタイプはMulti-R(内川ら2007)を示す福岡県朝倉市の圃場、感受性バイオタイプは福岡県筑後市の圃場から採集した。

1) チフェンスルフロンメチルに対する濃度反応

試験は1/5000 a ワグネルポットを用いて行った。オートクレーブにより雑草種子を殺処理した九州沖縄農業研究センター試験圃場の水田土壌を充填し、2004年11月19日に深さ1 cmでポットあたり10粒播種した。播種後すぐにかん水し、雨よけしたパイプハウス内に乱塊法で設置した。所定の葉齢時期にチフェンスルフロンメチル顆粒水和剤を処理した。処理量は登録薬量の最大量(7.5 g a.i./10 a)を×1として、抵抗性バイオタイプには×1、×2、×4の3水準、感受性バイオタイプには×1のみの1水準とした。また、各バイオタイプに無処理区を設けた。処理時期については1～2葉期、2～3葉期、3～4葉期、4～5葉期の4水準を設けた。スズメノテッポウの葉齢はイネに準じた一年生イネ科雑草の葉齢調査法(芝山2001)に従った。各処理時に処理するすべての個体の葉齢を記録し、所定の範囲の葉齢の個体のみを生残個体

第1表 チフェンスルフロンメチル処理時のスズメノテッポウの葉齢

バイオタイプ	処理時期	処理日	処理薬量	処理時葉齢	調査個体数
抵抗性	1～2 葉期	12 月 14 日	× 1	1.5 ± 0.3	42
			× 2	1.4 ± 0.3	39
			× 4	1.4 ± 0.3	33
	2～3 葉期	12 月 21 日	× 1	2.5 ± 0.3	37
			× 2	2.5 ± 0.3	28
			× 4	2.4 ± 0.3	38
	3～4 葉期	12 月 28 日	× 1	3.2 ± 0.2	31
			× 2	3.3 ± 0.2	26
			× 4	3.2 ± 0.2	28
	4～5 葉期	1 月 21 日	× 1	4.5 ± 0.3	23
			× 2	4.6 ± 0.2	24
			× 4	4.5 ± 0.2	27
	無処理	—	—	4.5 ± 0.2	26
感受性	1～2 葉期	12 月 14 日	× 1	1.5 ± 0.3	28
	2～3 葉期	12 月 21 日	× 1	2.5 ± 0.3	42
	3～4 葉期	12 月 28 日	× 1	3.4 ± 0.3	33
	4～5 葉期	1 月 21 日	× 1	4.5 ± 0.3	13
	無処理	—	—	4.4 ± 0.3	20

- 1) 播種日は2004年11月19日。
- 2) 処理薬量の×1は7.5 g a.i./10 a。
- 3) 無処理の葉齢は4～5 葉期処理時の葉齢。
- 4) 値は平均値±標準偏差。

第2表 試験に供試した土壌処理剤と処理薬量

供試除草剤	製剤処理薬量(kg/10 a)	有効成分処理薬量 (g/10 a)
トリフルラリン	5	125
ペンディメタリン	5	120
リニュロン	6	90
ジフルフェニカン・トリフルラリン (D.T.)	5	7.5 + 100
プロメトリン・ベンチオカーブ (P.B.)	6	48 + 480
ベンチオカーブ・ペンディメタリン・リニュロン (B.P.L.)	5	400 + 40 + 60

- 1) いずれの除草剤も粒剤もしくは細粒剤。

調査の対象とした。つまり N～N+1 葉期処理については処理時の葉齢が N～N+1 の個体のみを生存調査の対象とし、N 未満及び N+1 より葉齢の進んだ個体は生残個体調査の対象外とした。調査対象外の個体はポットから取り除かず、処理後もそのまま生育させた。無処理区の個体については各処理時期に葉齢を記録し、4～5 葉期処理の時点で葉齢が 4.0～5.0 の範囲にある個体のみを生存調査の対象とした。各処理区の処理時の葉齢は第1表に示した。かん水は適宜行った。1 ポットを1 反復とし、各処理区5 反復で試験を行った。2005 年3月9日に、新葉の抽出が確認される個体を生残個体と判断し、生残個体数を調査した。

データはポットごとに処理時の調査対象個体数に対する生残個体数の割合を生残個体率として算出し、5 反復の平均値

とした。抵抗性バイオタイプについては生残個体率を逆正弦変換後に Dunnett 検定を行い、無処理区との差を検定した。

2) トリフルラリン及び数種土壌処理剤に対する反応

1) と同様に 1/5000 a ワグネルポットを用いて試験を行った。2004 年11月19日に播種し、播種数はポットあたり 20 粒とした。播種後すぐに十分にかん水した後に、播種日と同日に第2表に示した除草剤を登録薬量の最大量で土壌処理した。試験は1ポットを1反復とし、各試験区5反復で行った。2005 年3月8日に、新葉の抽出が確認される個体を生存個体と判断し、生存個体数を調査した。さらに、トリフルラリンに対する濃度反応を明らかにするために、以下の追加試験を行った。試験は1) と同様に殺種子処理土壌を充填した 1/5000 a ワグネルポットで行った。2005 年5月12日に深さ

1 cm で 20 粒播種し、播種後十分にかん水した。ポットは、温度を 10°C/20°C (12 hs/12 hs) に設定した自然光型人工気象室内に乱塊法で設置した。5 月 13 日にトリフルラリン粒剤を登録薬量の最大量 (125 g a.i./10 a) を $\times 1$ として、抵抗性バイオタイプには $\times 1$, $\times 2$, $\times 4$, $\times 8$, $\times 16$, 感受性バイオタイプには $\times 1/8$, $\times 1/4$, $\times 1/2$, $\times 1$, $\times 2$ の薬量で土壌処理し、それぞれに無処理区を設けた。1 ポットを 1 反復とし、4 反復で試験を行った。土壌が乾燥しないように適宜かん水を行った。6 月 29 日に新葉の抽出が確認される個体を生残個体と判断し、生残個体数を調査した。

データはいずれの試験についてもポットごとに播種数に対する生残個体数の割合を生残個体率として算出し、4 反復の平均値とした。数種土壌処理剤の反応試験では、逆正弦変換後に Tukey's HSD 検定を行い、両バイオタイプの無処理区を含むすべての区について多重比較を行った。トリフルラリンに対する濃度反応試験では、生残個体率を逆正弦変換後にバイオタイプごとに Dunnett 検定を行い、無処理区との差を検定した。また、半数致死薬量 (LD50) を算出するために、無処理区の生残個体率に対する各処理濃度の生残個体率の割合を y , 有効成分処理薬量を x として、バイオタイプごとに 4 係数ロジスティック曲線にあてはめを行った。

5. 統計解析ソフト

Fisher の正確検定には R3.0.3 (<http://www.r-project.org/>, 2014.3 参照) を利用した。Dunnnett 検定及び Tukey's HSD 検定には JMP ver5.0.1 (SAS Institute Inc.) を利用した。4 係数ロジスティック曲線のあてはめには、ImageJ (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>, 2014.3 参照) を利用した。

結 果

1. 採集したスズメノテッポウの水田型及び畑地型の判別及びバイオタイプの確認

採集地点数は 123 地点であり、すべての採集地点のスズメノテッポウが水田型であった。したがって、以降についてはすべて水田型のスズメノテッポウの結果である。

第 1 図にバイオタイプ別の確認地点を示した。調査を行ったすべての県においていずれかの抵抗性バイオタイプが確認され、その分布は広範囲に及んでいた。

第 3 表にバイオタイプ別の確認地点数を示した。123 地点のうち、トリフルラリンに対してのみに抵抗性を示すバイオタイプ (TR-R) は 72 地点で最も多く、チフェンスルフロンメチルに対してのみに抵抗性を示すバイオタイプ (TM-R) は 6 地点で最も少なかった。両方の除草剤に対して抵抗性を

第 1 図 スズメノテッポウの抵抗性バイオタイプの発生確認地点

1) S は感受性, TR-R はトリフルラリン抵抗性, TM-R はチフェンスルフロンメチル抵抗性, Multi-R は両方に抵抗性。

第3表 九州北部におけるスズメノテッポウの除草剤抵抗性バイオタイプの県別、ムギ種別の発生確認地点数

バイオタイプ	全体	県別					ムギ種別	
		福岡県	佐賀県	長崎県	熊本県	大分県	コムギ	オオムギ
TM-R	6	3	0	1	2	0	4	2
TR-R	72	35	26	0	6	5	63	9
Multi-R	23	15	2	4	2	0	22	1
S	22	13	7	0	2	0	18	4
計	123	66	35	5	12	5	107	16
Fisher の正確検定		*					NS	

- 1) 値は地点数（隣接する二つの圃場で確認されても1地点とカウント）。
- 2) TM-R はチフェンスルフロンメチル抵抗性、TR-R はトリフルラリン抵抗性、Multi-R はチフェンスルフロンメチルとトリフルラリンの両方に対して抵抗性、S は感受性。
- 3) Fisher の正確検定は県別、ムギ種別での各バイオタイプの発生確認地点数の偏りに、*；5%水準で有意差あり、NS；有意差なし、を表す。

第4表 スズメノテッポウのバイオタイプ別のチフェンスルフロンメチルに対する反応

バイオタイプ	処理薬量	処理時期			
		1～2 葉期	2～3 葉期	3～4 葉期	4～5 葉期
抵抗性		生残個体率 (%)			
	× 1	88.3 ^{NS}	100 ^{NS}	100 ^{NS}	100 ^{NS}
	× 2	22.9***	95.0 ^{NS}	100 ^{NS}	100 ^{NS}
	× 4	0***	30.0***	63.2***	100 ^{NS}
	無処理	100			
感受性	× 1	0	0	0	0
	無処理	100			

- 1) 生残個体率は処理時の個体数に対する生残個体数の割合。
- 2) 処理薬量は×1が7.5 g a.i./10 a。
- 3) *** は Dunnett 検定で無処理区と有意差があることを示す (P<0.001)。NS は有意差なし。

示すバイオタイプ (Multi-R) は23地点、いずれの除草剤に対しても感受性のバイオタイプは22地点であった。

県別では、各県で確認された各バイオタイプの確認地点数に有意な偏りが認められた。もっとも採集地点の多かった福岡県では全体と同じような傾向が認められ、TR-Rの確認地点がもっとも多く、TM-Rはもっとも少なかった。Multi-Rと感受性バイオタイプは同程度確認された。次いで採集地点の多かった佐賀県ではTM-Rは確認されず、Multi-Rも2地点のみで大半はTR-Rであった。長崎県ではTR-Rは確認されず、Multi-Rが多かった。熊本県ではすべてのバイオタイプが確認されたが、トリフルラリンに対して抵抗性を持つバイオタイプが多かった。大分県ではTR-Rのみが確認され、Multi-Rも含めてチフェンスルフロンメチルに対して抵抗性を持つバイオタイプは確認されなかった。

作付ムギ種の違いによる各バイオタイプの確認地点数の偏りには有意な違いは認められず、コムギ、オオムギいずれの作付圃場ともにすべての抵抗性バイオタイプが確認された。

2. 各種除草剤に対する反応

1) チフェンスルフロンメチルに対する濃度反応

第4表に結果を示した。感受性バイオタイプは標準薬量(×1)ですべての処理時期において生残個体率が0%となった。一方、抵抗性バイオタイプは×1では1～2葉期処理で約88%の個体が生残し、無処理区と有意差は認められなかった。2～3葉期以降の処理については生残個体率は100%となり、枯死する個体は認められなかった。1～2葉期処理では×2で無処理区よりも有意に生残個体率が低下し、×4処理では生残個体率は0%であった。2～3葉期処理及び3～4葉期処理では×4で有意に低かったものの、約30%及び約63%の個体が生残した。4～5葉期処理では×4でも生残個体率は100%であった。

2) トリフルラリンに対する濃度反応

第5表に異なるトリフルラリン処理濃度における生残個体率を示した。感受性バイオタイプはいずれの処理濃度においても無処理区よりも有意に生残個体率が低く、×1で3.8%

第5表 スズメノテッポウのバイオタイプ別のトリフルラリンに対する反応

処理薬量	生残個体率 (%)	
	感受性	抵抗性
× 1/8	45.0*** (52.1)	—
× 1/4	12.5*** (14.5)	—
× 1/2	7.5*** (8.7)	—
× 1	3.8*** (4.4)	81.3 ^{NS} (90.3)
× 2	1.3*** (1.5)	30.0*** (33.3)
× 4	—	11.3*** (12.6)
× 8	—	2.5*** (2.8)
× 16	—	1.3*** (1.4)
無処理	86.3	90.0

- 1) 生残個体率は生残個体数 / 播種数 × 100 で算出。
- 2) 括弧内の値は無処理区の値に対する割合 (%)。
- 3) 処理薬量は × 1 が 125 g a.i./10 a。
- 4) *** は各バイオタイプ内での Dunnett 検定で無処理区と有意差があることを示す (P < 0.001)。NS は有意差なし。

であった。一方、抵抗性バイオタイプは × 1 では無処理区と有意な差は認められず、生残個体率は 81.3%，無処理区比約 90.3% であった。× 2 ～ × 16 の処理では無処理区に比べて生残個体率が有意に低かった。生残個体率の対無処理区比の値を y、有効成分処理薬量を x とする 4 係数ロジスティック曲線のあてはめ式は、抵抗性バイオタイプが $y = 4.28795 + 96.95523 / (1 + (x / 205.32847)^{3.95056})$ ($R^2 = 0.99535$)、感受性バイオタイプが $y = 3.89735 + 96.14227 / (1 + (x / 15.61619)^{2.86248})$ ($R^2 = 0.99787$) となり、半数致死薬量 (LD50) は抵抗性バイオタイプが 211.0 g a.i./10 a、感受性バイオタイプが 16.1 g a.i./10 a と試算され、抵抗性比 (抵抗性バイオタイプの LD50 / 感受性バイオタイプの LD50) は約 13.1 倍であった。

3) 数種土壌処理剤の除草効果

第 6 表に数種土壌処理剤を処理したスズメノテッポウの各バイオタイプの生残個体率を示した。トリフルラリンを処理した抵抗性バイオタイプの生残個体率は 87.5% であり、感受性バイオタイプの 31.0% よりも有意に高かった。また、無処理区とは有意な差が認められなかった。トリフルラリンと同じジニトロアニリン系除草剤であるベンディメタリンを処理した抵抗性バイオタイプの生残個体率は 57.0% で無処理区及びトリフルラリン処理よりも有意に低く、感受性バイオタイプの 23.0% よりも有意に高かった。リニュロンを処理した場合の抵抗性バイオタイプの生残個体率は無処理区よりも有意に低く、感受性バイオタイプの生残個体率とは有意な差がなかった。トリフルラリン・ジフルフェニカン、プロメトリン・ベンチオカーブ、ベンチオカーブ・ベンディメタリン・リニュロンを処理した場合の生残個体率は、いずれのバイオタイプについても 6.0% 以下で無処理区に対して有意に低かった。

第6表 スズメノテッポウのバイオタイプ別の数種土壌処理剤に対する反応

処理除草剤	生残個体率 (%)	
	感受性	抵抗性
トリフルラリン	31.0 de	87.5 ab
ベンディメタリン	23.0 ef	57.0 cd
リニュロン	61.0 bcd	73.0 bc
T.D.	3.0 g	6.0 fg
P.B.	1.0 g	2.0 g
B.P.L.	1.0 g	5.0 fg
無処理	86.0 ab	95.0 a

- 1) T.D. はトリフルラリン・ジフルフェニカン、P.B. はプロメトリン・ベンチオカーブ、B.P.L. はベンチオカーブ・ベンディメタリン・リニュロン。
- 2) 生残個体率は生存個体数 / 播種数 × 100 で算出。
- 3) 同一のアルファベットの数には有意差なし (Tukey's HSD 検定, P < 0.05)。

考 察

ムギ作圃場に発生するスズメノテッポウの水田型、畑地型の区別

本調査で採集したすべてのスズメノテッポウは、松村 (1967) の分類による水田型であった。本地域のムギ作は水田裏作として作付けられることがほとんどであることから、畑地型は認められなかったと考えられる。水田型と畑地型では種子の大きさが異なるだけでなく、水田型は自殖、畑地型は他殖の頻度が高いことが示唆されており (松村 1967)、抵抗性獲得後の拡散速度に違いがある可能性もある。また、両型で抵抗性の獲得のしやすさに違いがあるかについては不明であり、今後の検討が必要である。

抵抗性バイオタイプの発生実態

九州北部の広い範囲で抵抗性バイオタイプが確認されたが、確認されたバイオタイプには各県によって偏りが認められた (第 3 表)。このような偏りが認められたことには過去の除草剤の使用歴が強く影響していると考えられる。統計的な数字はないものの、各県農業試験場関係者からの情報では、ムギ類栽培圃場の多くでトリフルラリンを連年施用していたと推察される。このことが、多剤抵抗性も含めてトリフルラリンに対する抵抗性を持ったバイオタイプが多い原因であると考えられる。一方、1990 年代前半に上市されたチフェンスルフロンメチルは、幅広い広葉雑草だけでなくスズメノテッポウにも高い除草効果を示す生育期茎葉処理剤であったことから、土壌処理剤を使用せずにチフェンスルフロンメチルのみを使用する除草体系も行われるようになった。化学物質データベース (白石ら 1997) によるチフェンスルフロンメチル上市後の各除草剤の出荷量では、福岡県でのトリフル

ラリンの出荷量が大きく減少している。このことは、トリフルラリンを処理せずにチフェンスルフロンメチルのみで防除を行う除草体系が広く普及したことを示唆している。佐賀県ではトリフルラリンの出荷量の大きな減少はなく、チフェンスルフロンメチル上市後も土壌処理剤を中心とした防除が行われていたと考えられる。このような除草体系の違いは、調査地点が多かったにもかかわらず、佐賀県でチフェンスルフロンメチルに抵抗性を示すバイオタイプが少なかった要因になっていると考えられる。

朝倉市の多剤抵抗性スズメノテッポウ発生圃場では、1996年まで15年以上トリフルラリンのみを連年使用し、1997年からはトリフルラリンを使用せずにチフェンスルフロンメチルのみを7年間連年使用していた（内川ら2007）。本圃場では、チフェンスルフロンメチルを使用し始めてからトリフルラリン抵抗性バイオタイプが出現したとは考えにくく、1997年のチフェンスルフロンメチルの使用時にはすでにトリフルラリン抵抗性バイオタイプが出現していたと考えられる。本圃場において、スズメノテッポウの残草が目立ち始めた時期については明確ではないが、チフェンスルフロンメチルを使い始めた1997年までトリフルラリンを使い続けていたことを考慮すると、1997年以前にトリフルラリンの不効が問題となるほどの著しい残草が何年間も続いていたとは考えにくく、トリフルラリン剤を使用し始めてから抵抗性バイオタイプが顕在化するまでに、少なくとも10年以上は要したと考えられる。一方、チフェンスルフロンメチルについては、1997年からチフェンスルフロンメチル使用し始めて、2004年には著しい残草が確認されており、抵抗性バイオタイプが顕在化するまでの期間がトリフルラリンよりも明らかに短い。チフェンスルフロンメチルはアセト乳酸合成酵素阻害剤の一種のスルホニルウレア系除草剤（SU剤）であり、水稻作のSU剤抵抗性雑草の出現についても、3～4年の連年施用で短期間に顕在化している事例が報告されている（古原ら1999）。SU剤抵抗性雑草が短期間で増加する要因の一つとして、抵抗性形質の遺伝の仕方が指摘されている（Tranel and Wright 2002）。SU剤抵抗性は標的部位であるアセト乳酸合成酵素を形成する1アミノ酸置換で引き起こされ、このアミノ酸置換は核遺伝子の変異によって起こる。つまりSU剤抵抗性は単一の核遺伝子に支配されているために抵抗性の遺伝子を種子と花粉の両方で拡散し、このことが急激な顕在化の一因になっていると考えられている。さらに、SU剤抵抗性は優性遺伝であり、後代はヘテロ個体でも抵抗性を示すことも、抵抗性バイオタイプが急激に増加する一因と考えられている（内野2003）。一方、内野・岩上（2014）は、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のほうが早く顕在化することを指摘している。本研究で採集したすべての集団は自殖率が高いとされる水田型であったが、採集し

た集団の他殖率は明らかではない。また、個体密度が高まるにつれて個体間の距離が近くなり、他殖率も高くなる可能性があると考えられる。他殖率が高いとされる畑地型の抵抗性集団が見つかった場合には、水田型と畑地型の顕在化の早さを比較することで、遺伝様式が抵抗性個体の顕在化に及ぼす影響をより明確にすることができると考えられる。

SU剤抵抗性を引き起こすアセト乳酸合成酵素のアミノ酸置換部位は少なくとも5ヶ所あることが知られており、SU剤抵抗性と同じく1アミノ酸置換で抵抗性が引き起こされるトリアジン抵抗性では置換部位が2種類しかない。このような多様なアミノ酸置換が存在することも、SU剤抵抗性が急激に顕在化する要因の一つである（内野2003）。朝倉市の圃場では短期間にSU剤抵抗性バイオタイプが顕在化したのが、一方でチフェンスルフロンメチルを10年以上連年処理しても抵抗性バイオタイプが確認されない圃場も存在している。前述のように遺伝的にはSU剤抵抗性は顕在化しやすいと考えられているが、本地域のムギ作では作付体系や中耕、土入れや踏圧などの耕種操作も顕在化するまでの期間に影響を及ぼすと考えられる。複数の圃場の作付体系や耕種操作を調査、比較することでSU剤抵抗性バイオタイプの顕在化に及ぼす影響が明らかになり、顕在化させにくい作付体系や耕種操作を確立できる可能性があり、今後の検討が必要である。

トリフルラリンはジニトロアニリン系除草剤で、細胞分裂阻害により雑草を枯死させる（Molin and Khan 1997）。標的部位については未解明な部分が多いが、抵抗性形質は劣性遺伝することが報告されている（Jasieniuk *et al.* 1994; Wang *et al.* 1996）。つまり、ジニトロアニリン系抵抗性はホモ個体でないと抵抗性を示さず、ヘテロ個体でも抵抗性を示すSU剤抵抗性よりも顕在化するのに時間がかかると考えられる。

九州北部ではコムギだけでなくオオムギの栽培も盛んである。両ムギ種の作付圃場で各抵抗性バイオタイプの発生の偏りには違いが認められなかった（第3表）。オオムギは収穫時期がコムギよりも早い、オオムギの収穫時期にはすでにスズメノテッポウの種子は熟している。また、コムギとオオムギで除草体系を変えることはなく、同様の除草剤処理を行っていることから、作付けするムギ種間で各抵抗性バイオタイプの発生の偏りに違いが認められなかったと考えられる。

抵抗性バイオタイプの除草剤に対する反応

チフェンスルフロンメチルに対する抵抗性比は本研究からは試算できないが、慣行的に処理されることの多い4～5葉期に処理した場合、感受性バイオタイプでは×1で生残個体率が0%となり、抵抗性バイオタイプでは×4でも生残個体率が100%で、枯死する個体はなかった（第4表）。×4で生残個体率が11.3%となったトリフルラリン（第5表）と比較すると強い抵抗性を有していると考えられる。チフェンスルフロンメチルは農薬登録上の処理可能時期が広く、処理時期

別の抵抗性比については今後詳細な検討が必要である。

一方、トリフルラリンに対する抵抗性バイオタイプの反応は、LD50を基準にした試算では抵抗性比が約13.1倍であった。エノコログサ (*Setaria viridis* (L.) P.Beauv.) のトリフルラリン抵抗性では約7倍 (Beckie and Morrison 1993a, b), ボウムギ (*Lolium rigidum* (L.)) では9.6倍~14倍 (McAlister *et al.* 1995) と報告されている。水田雑草のSU剤抵抗性では40倍~100倍以上の抵抗性比を示すことが報告されており (古原ら 1999; 小荒井・森田 2002), 水田雑草のSU剤抵抗性の抵抗性比に比べると、スズメノテッポウのトリフルラリン抵抗性の抵抗性比は明らかに低く、他草種のトリフルラリン抵抗性の抵抗性比に近い値を示した。

本試験のトリフルラリン抵抗性の濃度反応試験 (第5表) と各種土壌処理剤の効果試験 (第6表) におけるトリフルラリン処理の感受性バイオタイプの生残個体率がやや異なった。無処理区の生残個体率は両試験ともに約86%であったことから、種子の休眠性の変化の影響は受けていないと考えられるが、気温条件が異なることから、発消長やトリフルラリンの効果に影響を与えた可能性が考えられる。

ジニトロアニリン系除草剤に対する抵抗性バイオタイプについては、アワ (*Setaria italica* (L.) Beauv.) (Wang *et al.* 1996), エノコログサ (Morrison *et al.* 1989; Andrews and Morrison 1997), オヒシバ (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.) (Mudge *et al.* 1984), ボウムギ (McAlister *et al.* 1995), スズメノカタビラ (*Poa annua* L. var. *annua*) (Isgrigg III *et al.* 2002) などで報告されているが、スズメノテッポウでは内川ら (2007) のみである。本試験に供試した抵抗性バイオタイプは、同じジニトロアニリン系除草剤のペンディメタリンを処理した場合の生残個体率がトリフルラリンを処理した場合よりも低かったものの、感受性バイオタイプの生残個体率よりも有意に高かった (第6表) ことから、ペンディメタリンに対しても抵抗性を示し、交差抵抗性を有していると考えられる。ジニトロアニリン系除草剤に対する交差抵抗性は、アワ (Wang and Darmency 1997), エノコログサ (Smeda *et al.* 1992; Beckie and Morrison 1993a), オヒシバ (Vaughn *et al.* 1987) でも報告されている。

ジニトロアニリン系除草剤に対して抵抗性を獲得したバイオタイプは、 α -チューブリンをコードする遺伝子に変異が生じていることがエノコログサ (Delye *et al.* 2004) とオヒシバ (Yamamoto *et al.* 1998) で報告されている。Hashim *et al.* (2010) はスズメノテッポウの α -チューブリンをコードする遺伝子は4つあり、本試験に供試した朝倉市で採集されたトリフルラリン抵抗性バイオタイプは2ヶ所で変異が起きていることを報告している。また、別の場所で採集された抵抗性バイオタイプについては、朝倉市で採集されたバイオタイプとは異なる位置で変異が起きていることを明らかにしている (Hashim *et al.* 2012)。SU剤を含むアセト乳酸合成酵素阻害

剤の抵抗性に関しては、抵抗性獲得に関与する変異部位や変異部位の違いによる交差抵抗性の獲得など抵抗性の獲得機構について明らかになっている点が多い (Tranel and Wright 2002; 内野 2003)。しかし、トリフルラリンを含むジニトロアニリン系除草剤については変異部位を解析した知見が少なく、Hashim *et al.* (2010, 2012) が報告した変異部位が抵抗性獲得にどのように関与しているかについては明確ではない。本研究では一部の地点から採集した抵抗性バイオタイプについて抵抗性比や交差抵抗性の有無を明らかにしたが、採集したすべての抵抗性バイオタイプについて明らかにしたわけではなく、採集したバイオタイプの中には異なる抵抗性比や交差抵抗性をもった集団が存在する可能性もある。今後、採集したスズメノテッポウの抵抗性形質の解析を進め、さらに変異部位についても併せて解析することで、ジニトロアニリン系除草剤抵抗性の獲得機構を明らかにできると考えられる。

国内でムギ作に使用できるイネ科雑草を対象とした茎葉処理剤はチフェンスルフロンメチルのみである。チフェンスルフロンメチルに抵抗性を示すスズメノテッポウが繁茂する圃場では、播種後土壌処理剤での防除が重要となるが、トリフルラリンに対しても抵抗性を示すバイオタイプの場合は、除草剤の選択肢が極めて少なくなる。ジニトロアニリン系除草剤に対して抵抗性を獲得したアワ (Wang and Darmency 1997), エノコログサ (Smeda *et al.* 1992; Beckie and Morrison 1993b), オヒシバ (Vaughn *et al.* 1987) については、ジニトロアニリン系以外の除草剤に対しては感受性が低下しておらず、異なる作用機作を持つ除草剤での防除が検討されている。本研究で供試したスズメノテッポウについては、リニュロンは生残個体率が73.0%と高い防除効果は期待できなかったものの、チオカーバメート系除草剤であるベンチオカーブを含有する除草剤の効果は高かった (第6表)。トリフルラリン・ジフルフェニカンについては、出芽は正常にするものの1葉期に達するまでにジフルフェニカンの薬徴である白化が起きて枯死したことから、ジフルフェニカンの除草活性が働いたものと考えられる。一般的に、ジフルフェニカンはイネ科雑草に対しては高い除草効果が期待できないにもかかわらず、本剤が高い除草効果を示したことは興味深い。トリフルラリンがなんらかの相乗的な効果をもたらしたと推察されるが、その作用機作の解明には今後の検討が必要である。

近年になって、抵抗性スズメノテッポウ対策として、チオカーバメート系除草剤であるプロスルホカルブやエスプロカルブを含有する土壌処理剤がムギ作で利用できるようになっている。前述のようにジニトロアニリン系以外の土壌処理剤の中には、高い防除効果が期待できる除草剤もあったが、本研究では環境条件を管理したポット試験であり、実際の生産圃場では気温や降雨、土性、土塊の大きさなどの環境条件の違いにより、土壌処理剤の効果は不安定になりやすい。抵抗

性スズメノテッポウが繁茂する圃場では発生量が極めて多いため、土壌処理剤での防除が不十分な場合には、中耕、土入れなど物理的な防除を行うしかなく、徹底防除は困難である。高い防除効果が期待できる土壌処理剤を利用して安定的に防除するためには、発生量を低減させるための耕種的防除の導入も重要になると考えられ、今後、除草剤による防除と耕種的防除を組み合わせた総合防除体系の確立が必要である。

謝 辞

本研究の遂行に当っては、九州沖縄農業研究センター坂本和彦氏、三池輝幸氏、後藤勝進氏にご協力いただいた。また、調査に当っては同センター田中ヒトミ氏、富永一美氏、田端幸子氏、田中香菜子氏、小宮久美子氏、堤妙子氏に多大なるご協力をいただいた。ここに記して感謝の意を表します。

引用文献

- Andrews, T. S. and I. N. Morrison 1997. The persistence of trifluralin resistance in green foxtail (*Setaria viridis*) populations. *Weed Technol.* 11, 369–372.
- Beckie, H. J. and I. N. Morrison 1993a. Effect of ethalfluralin and other herbicides on trifluralin-resistant green foxtail (*Setaria viridis*). *Weed Technol.* 7, 6–14.
- Beckie, H. J. and I. N. Morrison 1993b. Effective kill of trifluralin-susceptible and -resistant green foxtail (*Setaria viridis*). *Weed Technol.* 7, 15–22.
- Delye, C., Y. Menchari, S. Michel and H. Darmency 2004. Molecular bases for sensitivity to tublin-binding herbicides in green foxtail. *Plant Physiol.* 136, 3920–3932.
- Hashim, S., M. Hachinohe and H. Matsumoto 2010. Cloning and expression analysis of alfa-tubulin genes in water foxtail (*Alopecurus aequalis*). *Weed Sci.* 58, 89–95.
- Hashim, S., A. Jan, Y. Sunohara, M. Hachinohe, H. Ohdan and H. Matsumoto 2012. Mutation of alpha-tubulin genes in trifluralin-resistant water foxtail (*Alopecurus aequalis*). *Pest. Manag. Sci.* 68, 422–429.
- Isgrigg III, J., F. H. Yelverton, C. Brownie and L. S. Warren Jr 2002. Dinitroaniline resistant annual bluegrass in North Carolina. *Weed Sci.* 50, 86–90.
- Jasieniuk, M., A. L. Brule-Babel and I. A. Morrison 1994. Inheritance of trifluralin resistance in green foxtail (*Setaria viridis*). *Weed Sci.* 42, 123–127.
- 小荒井晃・森田弘彦 2002. 秋田県および茨城県におけるスルホニルウレア系除草剤抵抗性生物型コナギの出現. *雑草研究* 47, 20–28.
- 古原洋・山下英雄・山崎信弘 1996. 北海道における水田雑草ミズアオイのスルホニルウレア系除草剤抵抗性. *雑草研究* 41 (別), 236–237.
- 古原洋・今野一男・竹川昌和 1999. 北海道におけるスルホニルウレア系除草剤抵抗性イヌホタルイ (*Scirpus juncooides* Roxb. var. *ohwianus*. T. Koyama) の出現. *雑草研究* 44, 228–235.
- 松村正幸 1967. 雑草スズメノテッポウの種生態学的研究. 岐阜大学農学部研究報告 25, 129–208.
- McAlister, F. M., J. A. M. Holtum and S. B. Powles 1995. Dinitroaniline herbicide resistance in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*). *Weed Sci.* 43, 55–62.
- Molin, W. T. and R. A. Khan 1997. Mitotic disrupter herbicides: recent advances and opportunities. In “Herbicide activity: toxicology, biochemistry and molecular biology” ed. by R. M. Roe, J. D. Burton and R. J. Kuhr. IOS Press, Netherlands, pp. 143–158.
- Morrison, I. N., B. Todd and K. M. Nawolsky 1989. Confirmation of trifluralin-resistant green foxtail (*Setaria viridis*) in Manitoba. *Weed Technol.* 3, 544–551.
- Mudge, L. C., B. J. Gossett and T. R. Murphy 1984. Resistance of goosegrass (*Eleusine indica*) to dinitroaniline herbicides. *Weed Sci.* 32, 591–594.
- 芝山秀次郎 2001. 作物・雑草の形態的特性調査・観察法. 日本雑草学会編「雑草科学実験法」, 日本雑草学会, 東京, pp. 34–38.
- 白石寛明・高木博夫・岡敬一・足立一彦 1997. 化学物質データベース. <http://w-chemdb.nies.go.jp/> (2014年6月3日アクセス確認)
- Smeda, R. J., K. C. Vaughn and I. N. Morrison 1992. A novel pattern of herbicide cross-resistance in a trifluralin-resistant biotype of foxtail [*Setaria viridis* (L.) Beauv.]. *Pestic. Biochem. Physiol.* 42, 227–241.
- 竹松哲夫・一前宣正 1997. 「世界の雑草 III 単子葉類」. 全国農村教育協会, 東京, pp. 300–304.
- Tranel, P. J. and T. R. Wright 2002. Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: what have we learned? *Weed Sci.* 50, 700–712.
- 内川修・宮崎真行・田中浩平 2007. 福岡県の小麦圃場における除草剤抵抗性スズメノテッポウの出現とその防除対策. *雑草研究* 52, 125–129.
- 内野彰・伊藤一幸・汪光熙・橘雅明 2000. 東北地方におけるスルホニルウレア系除草剤抵抗性アゼナ類 2 種 1 変種の出現と各種除草剤に対する反応. *雑草研究* 45, 13–20.
- 内野彰 2003. 雑草の ALS 阻害剤抵抗性とその機構. *日本農薬学会誌* 28, 479–483.
- 内野彰・岩上哲史 2014. 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. *日本農薬学会誌* 39, 58–62.
- Vaughn, K. C., M. D. Marks and D. P. Weeks 1987. A dinitroaniline-resistant mutant of *Eleusine indica* exhibits cross-resistance and supersensitivity to antimicrotubule herbicide and drugs. *Plant Physiol.* 83, 956–964.
- Wang, T., A. Fleury, J. Ma and H. Darmency 1996. Genetic control of dinitroaniline resistance in foxtail millet (*Setaria italica*). *J. Hered.* 87, 423–426.
- Wang, T. and H. Darmency 1997. Dinitroaniline herbicide cross-resistance in resistant *Setaria italica* lines selected from interspecific cross with *S. viridis*. *Pestic. Sci.* 49, 277–283.
- Yamamoto, E., L. Zeng and W. V. Baird 1998. α -tubulin missense mutations correlate with antimicrotubule drug resistance in *Eleusine indica*. *Plant Cell* 10, 297–308.

Occurrence of herbicide resistant biotypes of *Alopecurus aequalis* in northern Kyushu and their response to several herbicides

Hideki Ohdan, Tadashi Sumiyoshi and Akira Koarai

Summary

This study was conducted to confirm the occurrence and distribution of trifluralin (TR)- and thifensulfuron methyl (TM)-resistant biotypes of *Alopecurus aequalis* in northern Kyushu and their

response to several herbicides. Seeds were collected from wheat and barley fields in Fukuoka, Saga, Nagasaki, Kumamoto, and Oita Prefectures and tested for susceptibility to two herbicides. Consequently, three biotypes of TR-resistant, TM-resistant, and multiple-resistant biotypes were confirmed, and it was found that herbicide-resistant biotypes were widely distributed in this area. The R/S ratio of multiple-resistant biotypes collected in Asakura, Fukuoka Prefecture, was 13.1 for TR, and showed cross-resistance against pendimethalin. This biotype showed no mortality when treated at the 4–5 leaf stage with TM at a concentration four times higher. Herbicides containing benthocarb demonstrated effective control against this biotype. Therefore, it is suggested that thiocarbamate herbicides are effective in controlling TR and/or TM resistant biotypes of *A. aequalis*.

NARO Kyushu Okinawa Agricultural Research Center, 496 Izumi, Chikugo, Fukuoka 833-0041, Japan
ohdan@affrc.go.jp (Hideki Ohdan)

Keywords: *Alopecurus aequalis*, herbicide resistance, trifluralin, thifensulfuron methyl, multiple resistance, cross resistance