〔学会賞(奨励賞)〕
受賞特別講演

スルホニルウレア系除草剤抵抗性水田雑草の ALS 活性を用いた
迅速検定法の確立

内野彰 (東北農業研究センター)

スルホニルウレア系除草剤 (SU 剤) 抵抗性の水田雑草は 1995 年頃から北日本を中心に確認されていたが、現在ではアゼトウガラシ属雑草やイヌホタルイを中心に全国的に確認されている。SU 剤に頼った雑草防除は現在でも広く行われているが、抵抗性雑草が蔓延した場合には SU 剤だけに頼らない雑草防除体系に変える必要がある。しかし SU 剤抵抗性個体を外見だけで判別することが困難なため、短期間で結果の出る抵抗性検定法が求められていた。SU 剤抵抗性雑草は海外では畑雑草を中心に数多く報告されており、抵抗性の迅速診断法も幾つかの方法が考案されている (Gerwick, ら 1993. Weed Technol. 7:519-524 等)。本研究ではこれらの報告をもとに水田雑草で SU 剤抵抗性を検定する方法を検討した。

SU 剤は分岐鎖アミノ酸合成経路のアセト乳酸合成酵素 (ALS) の活性を阻害する除草剤であり、検定法はこの ALS 活性測定を利用している。葉を試葉処理後、その抽出液を比色分析すると ALS 活性に依存して赤色の呈色が検出され、この赤色の呈色が SU 剤処理下でも阻害されずに検出されれば抵抗性と判定される。従ってこの検定法では、ALS 活性を安定して検出する系を確立することが重要となる。

安定した ALS 活性を得るための条件を検討したところ、アメリカアゼナ及びタケトアゼナでは若い個体から展開中の若い葉を採取して検定することが必要であった (第 1 図)。アゼナ及びアゼトウガラシでも若い個体で高い ALS 活性が得られた (第 1 図)。イヌホタルイでは通常の生育期であれば伸長中の部位を用いることで ALS 活性が検出できた。また、これらの水田雑草で ALS 活性を検出するには、試葉処理時に光照射することが必要であった (第 2 図, 第 1 表)。この光照射は処理液中にスクロースを 0.5%(w/v)で加えることでも代用できた。原著では溶液の葉への浸透性を高めるために界面活性剤 (0.025% Triton X-100) を処理溶液に加えているが、水田雑草の場合は界面活性剤による損傷が認められ、ALS 活性を低下させた。

検定では、単剤で市販されている 75%チフェンスルフロンメチル水和剤 (商品名: ハーモニー) を SU 剤として使用した。アゼトウガラシ属雑草、イヌホタルイともに 7.5~75ng a.i./ml の濃度になるように処理溶液を調製すると、抵抗性個体では ALS 活性によって発色する一方で、感受性個体では発色がほとんど見られず、両者の差異が明確に区別できた (第 3 図, 第 2 表)。

この方法は、2 日間程度で抵抗性の検定が可能で、夏期の圃場で採種した雑草を短期間に検定できるところに利点がある。しかし、種子や発生初期の雑草を検定する場合には、ある程度生育するのを待つ必要がある。そうした場合は検定材料に合った他の検定方法を利用し、効率良く検定することが重要であろう。なお、本検定法の具体的な手順については、雑草科学実験法 (2001, 日本雑草学会編, p.363-367) 又はホームページ (<http://ss.omg.affrc.go.jp/weed/resistance/diagnosis.html>) を参照されたい。

Uchino, A. : Rapid diagnosis of sulfonylurea-resistant lowland weeds based on the assay of acetolactate synthase activity.

第1図 アメリカアゼナ、タクトアゼナ、アゼナ及びアゼトウガラシにおける葉令と葉位によるアセト乳酸合成酵素活性の差異。検定した葉の葉位を茎頂に近い順に葉位1, 2, 3, 4とした。ALS活性はアセトイン蓄積速度として表示した（以下の図表も同様）。

第1表 アゼトウガラシ属雑草におけるアセト乳酸合成酵素活性に依存したアセトイン蓄積量に及ぼす光条件の影響

雑草名	生物型	アセトイン蓄積量	
		明条件	暗条件
		---μg/g FW/h---	
アゼナ	R	3.9±0.6	0.1±0.4
	S	4.0±0.5	0.0±0.0
アメリカアゼナ	R	7.2±1.4	0.2±0.1
	S	4.0±1.8	0.6±0.1
アゼトウガラシ	R	4.3±0.8	0.1±0.0
	S	4.3±0.4	0.0±0.0

第2図 タクトアゼナにおけるアセト乳酸合成酵素活性に依存したアセト乳酸の蓄積量に及ぼす光条件の影響。

第2表 アゼトウガラシ属雑草におけるアセト乳酸合成酵素の活性に及ぼす除草剤（チフェンスルフロンメチル75%水和剤）の影響

雑草名	生物型	除草剤濃度	アセトイン蓄積速度		反応色
			--ng a.i./ml--	--μg/g FW/h--	
アゼナ	R	7.5	7.5	2.3±0.1	赤色
		75	75	2.8±0.6	赤色
	S	7.5	7.5	0.8±0.1	茶色
		75	75	0.3±0.1	黄色
アメリカアゼナ	R	7.5	7.5	3.6±0.7	赤色
		75	75	1.6±0.2	赤色
	S	7.5	7.5	0.2±0.1	黄色
		75	75	0.2±0.2	黄色
アゼトウガラシ	R	7.5	7.5	2.6±0.5	赤色
		75	75	2.2±0.5	赤色
	S	7.5	7.5	0.6±0.1	黄色
		75	75	0.5±0.2	黄色

第3図 タクトアゼナのアセト乳酸合成酵素活性に与える除草剤（チフェンスルフロンメチル75%水和剤）の影響。