23

スルホニルウレア系除草剤抵抗性の異なるイヌホタルイに見られる変異

○吉田修一・谷なつ子(宮城県古川農試)・内野彰(東北農研)・
橋本仁一(日本植物調節剤研究協会)

水田主要雑草であるイヌホタルイのスルホニルウレア(SU)系除草剤抵抗性バイオタイプ(SUR)は、水稻栽培の障害となる。200m 程度の範囲内の異なるほ場から、残草していたイヌホタルイを採取し、ポット法で SU 剤抵抗性検定を行い、ベンスルフロンメチル(BSM)に対して抵抗性の程度(生育抑制、花茎抽出率)の異なる SUR の 3 系統、松山 No.2、No.5、No.10 を得た。これら系統の抵抗性の強さは、No.5 > No.10 > No.2 の順であった。これら系統を数世代自殖させ、各系統の抵抗性を個体別に迅速検定(内野 2002)で調べたところ、各系統の吸光度の平均がポット法の結果と同様に再現した(図 1)が、SU 剤感受性バイオタイプの混在がみられる場合があった。この結果から SUR の自殖系統に、遺伝的に感受性バイオタイプが発生することが考えられた。このため、これら 3 系統を用いて感受性バイオタイプの発生を、寒天培地上での発根状況と、ALS 遺伝子の変異の両面から調査し、系統間の SU 剤抵抗性程度の変異について検討した。

<材料及び方法>

イヌホタルイは表 1 に示す地域の水田から 1999 年に採取し、宮城県古川農業試験場のパイプハウス内で生育させ、自殖を繰り返して維持したものである。個体別の抵抗性程度の確認のため、休眠覚醒した種子を催芽し、バイオ瓶中の寒天培地(0.75%: Agar、0.1%: Hyponex)上に 10 粒ずつ置床した。置床後直ちに BSM 溶液(0 ~ 9.6mg/l までの 8 濃度、3 反復)を加えて人工気象室内(25℃、12 時間日長)で生育させ、一週間後に種子根長を測定した。個体毎の ALS 遺伝子については、花茎から RNA を抽出し、RT-PCR によって ALS 遺伝子の cDNA を単離し塩基配列を決定した。

<結果および考察>

BSM 存在下での寒天培地上の種子根長は、松山 No.2 で 8mm をピーク、No.5 では、17mm をピークとした正規分布となり、No.10 ではピークは 11mm と、ポット試験どおり両者の中間的な値を示したが、正規分布しなかった。また、BSM の除草剤標準薬量である 150ppb 処理では(図 2)、No.2 はすべて生存し、No.5 は、強く生育抑制を受ける個体が認められ、No.10 は広い変異幅を示した。更に、No.5 で生育抑制の無かった個体と抑制された個体の分離比は、ほぼ 15 : 1 であることがわかった。これは、これらが二つの対立遺伝子による結果であることを示唆するもので、イヌホタルイには 2 種類の ALS 遺伝子があるとする内野らの結果を支持している。また、ALS 遺伝子について各系統とも ALS1 の Pro 部位に変異が見られた(表1)。No.2 は、以前の結果(渋谷ら 1999)と同様に Pro → Leu の 1 遺伝子変異で ALS1 がホモであることが確認された。No.5 は、ALS1 が Pro/Ala のヘテロ、ALS2 が Pro/Ser のヘテロであること、No.10 は、ALS1 が Pro・Ala・Leu の 3 種、ALS2 が Pro/Ser のヘテロであることが確認された。イヌホタルイの SUR 形質が優性遺伝で、2 つの ALS 遺伝子が独立に遺伝すると仮定すれば、No.2 に感受性個体が発生しないこと、No.5 での感受性個体の発生率、及び、No.10 では感受

Yoshida, S., N. Tani, A. Uchino, J. Hashimoto: Mutations of the genes in *Scirpus juncoides* which has different levels of resistant biotypes to sulfonylurea herbicide.

性個体の出現が殆ど見られず変異幅が広いこと、が説明できる。今回、200m 程度の狭い範囲内で、これほど多くの遺伝子変異が確認されたことは SUR の発生が多発的であることを示唆していると考える。今後は感受性の劣性ホモ個体を用いて検定交雑し、F1 の分離比を調査することで、イヌホタルイの SU 抵抗性の遺伝様式の確認と、変異別の抵抗性の強さの程度について明らかにできるものと考える。

図1 迅速検定法に基づきイヌホタルイから抽出したアセト乳酸をアセトインに変換して比色した吸光度(530nm)

□ 松山 No.2 ◇ 松山 No.5 △ 松山 No.10

図2 寒天培地上で発芽させたイヌホタルイの発芽後1週間目の根長 (BSM 150ppb処理 25℃ 12時間日長)

● 感受性株 □ 松山 No.2 ◇ 松山 No.5 △ 松山 No.10

※: 円内を感受性個体と考えた

表1 イヌホタルイの2つのALS遺伝子の、塩基配列から推定されるアミノ酸配列、及びDNA塩基配列

系 統	バイオタイプ	ALS1	ALS2	ALS1	ALS2
		Pro部位	Pro部位	Pro部位	Pro部位
宮城県古川市	感受性	Pro	Pro	CCT	CCT
宮城県松山町 No. 2	抵抗性	Leu	Pro	CTT	CCT
宮城県松山町 No. 5	抵抗性	Pro	Pro/Ser	CTT	CTT/TCT
宮城県松山町 No. 5	抵抗性	Pro/Ala	Pro	CCT/GCT	CCT
宮城県松山町 No. 5	抵抗性	Ala	Pro	GCT	CCT
宮城県松山町 No. 5	抵抗性	Pro/Ala	Pro	CCT/GCT	CCT
宮城県松山町 No. 5	抵抗性	Ala	Pro/Ser	GCT	CTT/TCT
宮城県松山町 No. 10	抵抗性	Pro/Ala	Pro/Ser	CCT/GCT	CTT/TCT
宮城県松山町 No. 10	抵抗性	Ala	Pro	GCT	CCT
宮城県松山町 No. 10	抵抗性	Ala	Pro	GCT	CCT
宮城県松山町 No. 10	抵抗性	Leu	Pro	CTT	CCT
宮城県松山町 No. 10	抵抗性	Leu	Pro	CTT	CCT

/ は解析結果がヘテロであることを示す。