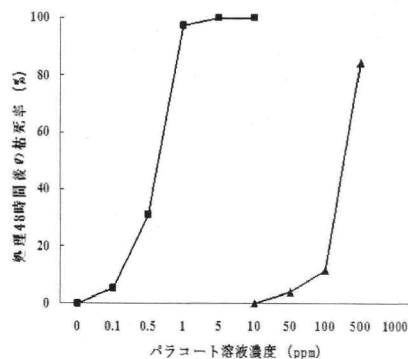
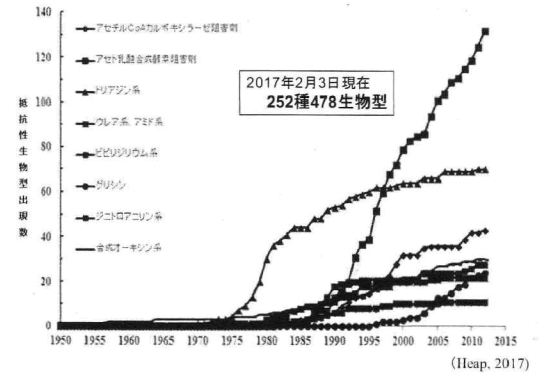


京都大学技術職員研修会資料(2017年2月23日)

農耕地における除草剤抵抗性雑草の出現と抵抗性進化のメカニズム

農学研究科
富永 達

雑草の除草剤抵抗性の進化

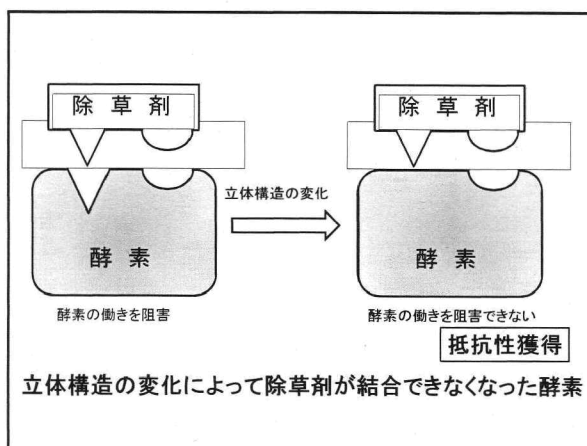


オオアレチノギクのパラコート感受性生物型(■)と抵抗性生物型(▲)の枯死率
(植岡, 1989)

雑草の除草剤抵抗性のメカニズム

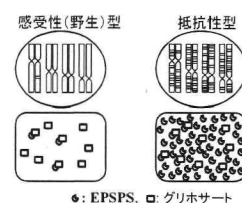
- ・作用点抵抗性(一遺伝子支配、Specialist)
標的酵素のアミノ酸変異
遺伝子増幅
- ・非作用点抵抗性(ポリジーン支配、Generalist)
吸収、移行阻害、液胞への隔離
代謝

1個体で同時にふたつ以上のメカニズムが
関与している場合もある



グリホサート抵抗性の機構

EPSPSの過剰発現



Amaranthus palmeri (Gaines *et al.*, 2010)

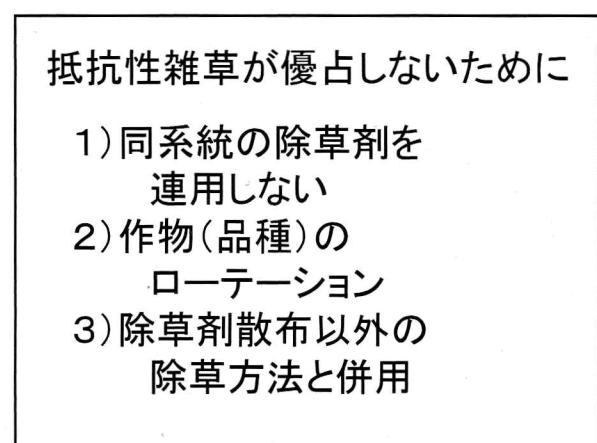
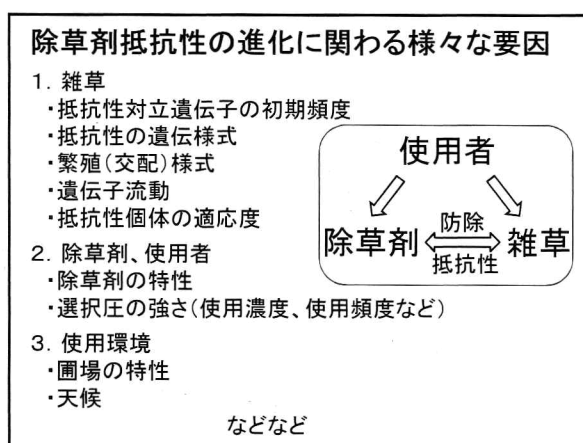
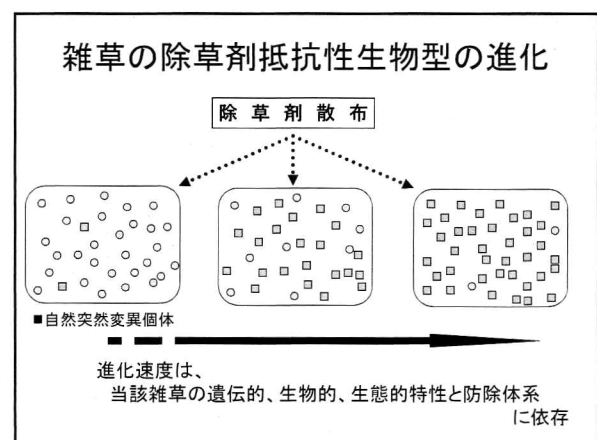
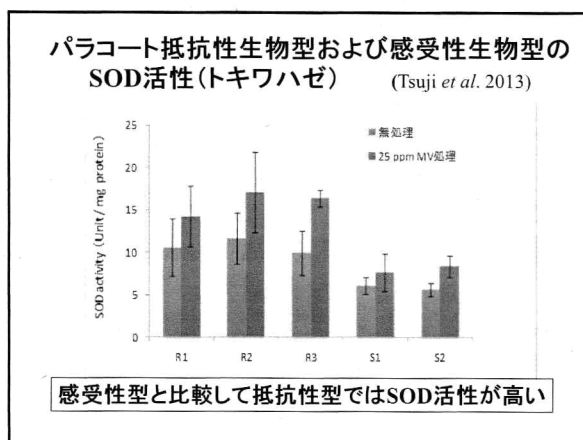
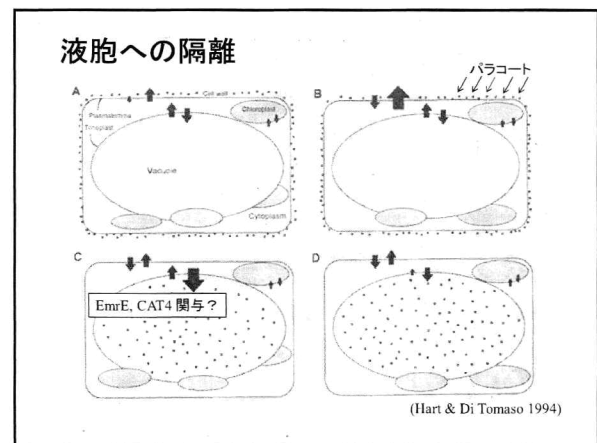
- ・EPSPSそのものの活性は、感受性型と抵抗性型の間で差がなく、グリホサートに対して感受性
- ・感受性型と比較して77倍(最大160倍以上)のEPSPS遺伝子、35倍のmRNA発現、20倍のEPSPS生産
- ・30コピー以上で抵抗性

ボウムギにおけるグリホサートの転流

HAT	Plant biotype	¹⁴ C (% of total absorbed)			
		Above AS	AS	Below AS	Roots
2	S	30 ± 2	13 ± 1	55 ± 2	2 ± 0
	R	28 ± 4	11 ± 1	58 ± 5	2 ± 0
4	S	40 ± 3	11 ± 1	44 ± 3	5 ± 1
	R	42 ± 4	10 ± 1	44 ± 4	4 ± 0
8	S	36 ± 5	11 ± 2	45 ± 3	8 ± 1
	R	48 ± 5	10 ± 2	37 ± 3	5 ± 1
24	S	19 ± 3	8 ± 1	53 ± 3	20 ± 2
	R	42 ± 5	10 ± 1	43 ± 4	5 ± 1
48	S	15 ± 2	10 ± 2	55 ± 3	20 ± 4
	R	50 ± 1	11 ± 1	33 ± 3	6 ± 1

AS; 処理部位(葉) (Lorraine-Colwill *et al.* 2003)

処理葉の先端に集積し、茎、根にほとんど転流しない、核1遺伝子、不完全優性、適応度低下



スーパー雑草の出現 —— グリホサート抵抗性ヒユ属雑草を中心に ——

富永 達

京都大学大学院農学研究科

Evolved super weeds — a case in glyphosate resistant amaranth —

Tohru Tominaga

Graduate School of Agriculture, Kyoto University

要旨： Glyphosate is the most widely used herbicide in the world. Resistance to the herbicide in weeds leads to severe yield losses for crop. The resistance to glyphosate of amaranth is due to two mechanisms: target site resistance conferred by amino acid change in a target enzyme or overexpression of a target enzyme, and non-target site resistance conferred by changes in sequestration and/or translocation of the herbicide. Various kinds of weed seeds have been introduced as contaminants in imported grains and some of them are resistant to herbicide. The monitoring of the spread of resistant genes is necessary. Plant hormones that control sexual reproduction will be one of the powerful candidates to control weeds.

1. スーパー雑草の出現

新聞や雑誌で最近「スーパー雑草」なる活字をときおり目にする。多くの場合、除草剤耐性遺伝子組換え作物畑で除草剤が効かない雑草、すなわち、雑草の除草剤抵抗性生物型が出現して作物生産上大きな問題になっているという記事で、従来の雑草とは異なるとんでもない雑草が出現したという文脈で使用されている。もちろん、多くの場合、これらの雑草は当該除草剤に対しては抵抗性を示すが、作用機構が異なる他の除草剤に対しては感受性である。

雑草の除草剤抵抗性が初めて認知されたのは1968年で、アメリカの苗木畑に出現したトリアジン系除草剤抵抗性のノボロギク (*Senecio vulgaris* L.) であった (Ryan 1970)。その後、現在までに、249 草種で 464 除草剤抵抗性生物型が報告されている (Heap 2016)。この数字は、研究者の報告をもとに積算されているので、実際の出現数は、この数字よりもはるかに多いと思われる。同一のあるいは同一系統の除草剤を繰り返し使用すると雑草に抵抗性が出現するのは、それほどまれな現象ではない。例えば、アセト乳酸合成酵素阻害剤の一種であるスルホニルウレア系除草剤 (SU 剤) に対する抵抗性は、SU 剤使用開始後 5 年で出現した (Mallory-Smith et al. 1990)。

除草剤耐性遺伝子組換え作物の中でもっとも広く栽培されているのは、グリホサート耐性作物である。グリホサートは 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) を標的としている。グリホサートでは、それへの抵抗性を付与する EPSPS の立体構造の変化が植物の生存に有害な効果をもたらすこと、植物にはグリホサートを代謝する機

能が欠損あるいは乏しいこと、土壌残効性がないか極めて低いなどの理由で抵抗性が出現しにくいと考えられていた (Bradshaw et al. 1997)。しかし、1996 年に最初のグリホサート抵抗性生物型が、オーストラリアのボウムギ (*Lolium rigidum* Gaud.) で報告され (Powles et al. 1998)、グリホサート耐性遺伝子組換え作物の栽培においても 2000 年にヒメムカシヨモギ (*Conyza canadensis* (L.) Cronquist) で初めて報告された (VanGessel 2001)。現在では、27 カ国の 34 草種でグリホサート抵抗性生物型が報告されている (図 1, Heap 2016)。

「スーパー雑草」が注目されるようになったのは、近年ヒユ科の一年生雑草オオホナガアオゲイトウ (*Amaranthus palmeri* S. Wats.) のグリホサート抵抗性がアメリカのグリホサート耐性遺伝子組換えダイズやワタ畑で顕在化し、さらに、この雑草が草丈 2 メートル以上にも達し、茎も太くなることから、栽培農家にとっては、極めて大きな問題であり、さらに、遺伝子組換え作物の栽培と関連して、あたかも除草剤抵抗性遺伝子が遺伝子組換え作物から雑草に水平伝播したかのような誤解が生じていることに因る。もちろん、除草剤抵抗性遺伝子が科の境界を越えてダイズやワタからオオホナガアオゲイトウに水平伝播することはない。また、除草剤抵抗性を獲得したことによって 2 メートルを超える草丈に達する特性を獲得したわけでもなく、野生型 (除草剤感受性) のオオホナガアオゲイトウも同様の草丈に達する。

「スーパー雑草」にかかわるこのような誤解を解くため、アメリカ雑草学会は、ウェブサイトなどで「スーパー雑草」

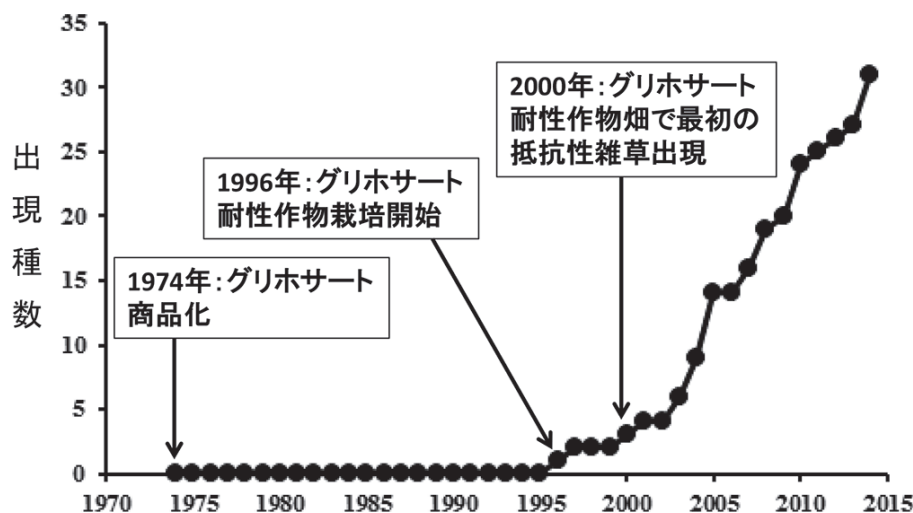


図1 グリホサート抵抗性雑草出現数の推移 (Heap (2016) をもとに作図)

グリホサート耐性作物栽培開始後に出現したグリホサート抵抗性雑草のすべてが、グリホサート耐性作物栽培畑で出現したわけではなく、慣行栽培のもとでもグリホサート抵抗性雑草が出現している。

を「同じ防除方法を繰り返すことによって、その方法では防除がより困難になる特性を進化させた雑草をさす俗語」とし、除草剤抵抗性に限らず、手取り除草を繰り返すことによってイネへの擬態を進化させたタイヌビエのケースなども含め、より広く、特定の雑草防除法に対して適応した雑草を示す用語であると提示している。しかし、冒頭で述べた「除草剤が効かない、従来の雑草とは異なるほとんどない雑草」という意味で使い続けられているのが、残念ながら現実ではあるが…。

2. ヒユ属雑草のグリホサート抵抗性

オオホナガアオゲイトウを含むヒユ属雑草 (*Amaranthus* spp.) は、英名 pigweed と総称され、新聞や雑誌でブタクサと訳されることがある。これは明らかな誤訳で、ブタクサ (*Ambrosia artemisiifolia* L.) はキク科の一年生雑草で、ヒユ属雑草とはまったく異なり、花粉症で有名な雑草である。ちなみに、ブタクサの英名は ragweed である。

ヒユ属雑草のグリホサート抵抗性のメカニズムについて、グリホサートの作用点である EPSPS の立体構造の変化や過剰生産に由来する作用点抵抗性と、吸収や移行阻害に由来する非作用点抵抗性が報告されている。標的酵素の立体構造の変化を伴う一塩基置換による抵抗性は、その検出が容易であることから日本の水田で広く使用されている SU 剤抵抗性では最も多くの報告がある。ヒユ属雑草では、ヒユモドキ (*A. tuberculatus* (Moq.) Sauer) で Pro¹⁰⁶Ser (CCA → TCA) の変異が報告されている (Nandula et al. 2013)。

オオホナガアオゲイトウのグリホサート抵抗性が特徴的なのは、この抵抗性が遺伝子増幅に因ることである。遺伝子増幅による除草剤抵抗性は、アメリカ・ジョージア州で顕在化した本種で最初に報告された。この抵抗性個体の

EPSPS 活性やグリホサートに対する EPSPS の感受性は、感受性個体と同等であったが、抵抗性個体は感受性個体と比較して平均で 77 倍、最大で 160 倍以上の EPSPS 遺伝子を有し、mRNA の発現量は 35 倍で、20 倍の EPSPS を生産していた (Gaines et al. 2010)。EPSPS コピー数とグリホサートに対する抵抗性の程度は比例し、30 コピー以上で抵抗性を示すことが明らかになった。この遺伝子増幅はゲノム全体で生じており、トランスポゾン的一种である MITEs (miniature inverted-repeat transposable elements) が関与している可能性が示唆されている (Gaines et al. 2013)。抵抗性個体は、散布されたグリホサートに対しはるかに大量の EPSPS を有するため、グリホサートの EPSPS 阻害効果が及ばず (Molecular sponge, Powles 2010)、抵抗性を発現する。

オオホナガアオゲイトウはふたつの EPSPS 遺伝子座を有するが、グリホサート抵抗性オオホナガアオゲイトウでは 1 遺伝子座だけが増幅されているようである。本種はアポミクシスによっても種子生産し、これもグリホサート抵抗性遺伝子の拡散に寄与している。また、オオホナガアオゲイトウでは抵抗性個体の適応度の低下は認められていない (Giacomini et al. 2014)。

ヒユ属雑草では、オオホナガアオゲイトウの他に、ヒユモドキ (Tranel et al. 2011) とハリビユ (*A. spinosus* L., Nandula et al. 2014) でも遺伝子増幅によるグリホサート抵抗性が報告されている。このうち、ハリビユのグリホサート抵抗性は、オオホナガアオゲイトウとの種間交雑によって獲得された可能性があることが指摘されている。

日本は、ダイズやトウモロコシ、飼料作物のほとんどを輸入に頼っている。ヒユ属雑草の種子は、これらの輸入穀物や飼料作物に混入し (浅井ら 2007, 2009)、日本へも侵

入している。日本では、グリホサート耐性遺伝子組換え作物は実用栽培されておらず、グリホサート以外の除草剤でうまく防除すれば、グリホサート抵抗性ヒユ属雑草が問題になることはない。ただし、アメリカではグリホサート抵抗性ヒユ属雑草が、ALS 阻害剤、トリアジン系除草剤との複合抵抗性を獲得していることがすでに報告されている。また、ヒユ属雑草は、条件が許せば1個体が数十万単位の種子を生産するため、複合抵抗性個体が優占すると極めて厄介な存在となるため、今後もヒユ属雑草の動態を注意深く観察する必要がある。

3. 最後に

除草剤抵抗性雑草の顕在化は、食料の安定的・持続的生産にとって大きな脅威となっている。とくに複合抵抗性の進化はもっとも厄介である。オーストラリアでは、すでに1994年に9種の除草剤に対する複合抵抗性を獲得したボウムギが報告されている(Burnet et al. 1994)。除草剤に限らず、雑草が防除を回避するための生活史特性を進化させることは決して特異な現象ではない。雑草防除の際、単一の防除手段を繰り返さず、多様な手段で防除することによって雑草の除草回避戦略の進化速度を遅らせることができる。

ほとんどの除草剤は、雑草を枯らすことを目的としている。しかし、植物体そのものを枯らすのではなく、有性繁殖を抑制するような、例えば、雌雄いずれかの性表現を抑制する、あるいは、開花を抑制する植物ホルモンを雑草防除に利用できないだろうか。本稿で紹介したオオホナガアオゲイトウは雌雄異株で、風媒他殖し、極めて多数の種子を生産する。雑草の種子は、休眠性をもち、土中には大量の種子が蓄積されている。遠回りになるが生産される種子の数を減少させることで翌シーズン以降の雑草の発生数を抑える取り組みも有効である。

文 献

- 浅井元朗・黒川俊二・清水矩宏・榎本 敬 (2007) 1990年代の輸入冬作穀物中の混入雑草種子とその種組成。雑草研究 **52**: 1-10。
- 浅井元朗・黒川俊二・清水矩宏・榎本 敬 (2009) 1995年に輸入された乾草中に混入していた雑草種子。雑草研究 **54**: 219-225。
- Bradshaw, LD, Padgett, SR, Kimball, SL and Wells, BH (1997) Perspective on glyphosate resistance. *Weed Technol* **11**: 189-198。
- Burnet, MWM, Hart, Q, Holtum, JAM and Powles, SB (1994) Resistance to nine herbicide classes in a population of rigid ryegrass (*Lolium rigidum*). *Weed Sci* **42**: 369-377。
- Gaines, TA, Zhang, W, Wang, D, Bukun, B, Chisholm, ST, Shaner, DL, Nissen, SJ, Patzoldt, WL, Tranel, PJ, Culpepper, AS, Grey, TL, Webster, TM, Vencill, WK, Sammons, RD, Jiang, J, Preston, C, Leach, JE and Westra, P (2010) Gene amplification confers glyphosate resistance in *Amaranthus palmeri*. *Proc Natl Acad Sci USA* **107**: 1029-1034。
- Gaines, TA, Wright, AA, Molin, WT, Lorentz, L, Riggins, CW, Tranel, PJ, Beffa, R, Westra, P and Powles, SB (2013) Identification of genetic elements associated with EPSPS gene amplification. *PLoS ONE* **8**: e65819。
- Giacomini, D, Westra, P and Ward, SM (2014) Impact of genetic background in fitness cost studies: an example from glyphosate-resistant Palmer amaranth. *Weed Sci* **62**: 29-37。
- Heap, I (2016) The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. URL: <http://www.weedscience.com>. accessed on February 27, 2016。
- Mallory-Smith, CA, Thill, DC and Dial, MJ (1990) Identification of sulfonylurea herbicide-resistant prickly lettuce (*Lactuca serriola*). *Weed Technol* **4**: 163-168。
- Nandula, VK, Ray, JD, Ribeiro, DN, Pan, Z and Reddy, KN (2013) Glyphosate resistance in tall waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*) from Mississippi is due to both altered target-site and nontarget-site mechanisms. *Weed Sci* **61**: 374-383。
- Nandula, VK, Wright, AA, Bond, JA, Ray, JD, Eubank, TW and Molin, WT (2014) EPSPS amplification in glyphosate-resistant spiny amaranth (*Amaranthus spinosus*): a case of gene transfer via interspecific hybridization from glyphosate-resistant Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*). *Pest Manag Sci* **70**: 1902-1909。
- Powles, SB, Lorraine-Colwill, DF, Dellow, JJ and Preston, C (1998) Evolved resistance to glyphosate in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) in Australia. *Weed Sci* **46**: 604-607。
- Powles, SB (2010) Gene amplification delivers glyphosate-resistant weed evolution. *Proc Natl Acad Sci USA* **107**: 955-956。
- Ryan, GF (1970) Resistance of common groundsel to simazine and atrazine. *Weed Sci* **18**: 614-616。
- Tranel, PJ, Riggins, CW, Bell, MS and Hager, AG (2011) Herbicide resistances in *Amaranthus tuberculatus*: a call for new options. *J Agric Food Chem* **59**: 5808-5812。
- VanGessel, MJ (2001) Glyphosate-resistant horseweed from Delaware. *Weed Sci* **49**: 703-705。

連絡先: 〒606-8502 京都市左京区北白川追分町
京都大学大学院農学研究科
富永 達
TEL: 075-753-6063 (直通), 6062 (共通)
FAX: 075-753-6062 (共通)
E-mail: Tominaga@kais.kyoto-u.ac.jp