

神奈川県におけるスルホニルウレア系 除草剤抵抗性雑草の現状

神奈川県農業技術センター
生産環境部
品質機能研究課

聖代橋 史佳

はじめに

スルホニルウレア系除草剤 (SU 剤) は多くの雑草に対し非常に高い防除効果を持つ一方で、人畜に対する毒性が低く、1980年代から水稲作の一発処理剤として広く利用されてきた。しかし、1996年に日本国内で初めてSU剤に抵抗性を示すミズアオイが北海道で報告されて以降 (古原ら 1996)、現在までに22種類の水田雑草でSU剤抵抗性の発生が確認されている (内野 2016)。SU剤はアセト乳酸合成酵素 (acetolactate synthase: ALS) に結合し、ALSが介する分岐鎖アミノ酸の合成経路を阻害することで殺草活性を示す除草剤である。雑草におけるSU剤抵抗性は、ALSの1アミノ酸置換により獲得される場合が多い (内野 2015)。この抵抗性は、作用点の変異によることから作用点抵抗性 (Target site resistance: TSR) と呼ばれる。また、タイヌビエやオモダカでは、作用点変異によらない抵抗性である非作用点抵抗性 (Non-target site resistance: NTSR) が確認されており、その抵抗性機構としてシトクロム P450 が関与する解毒代謝機能の向上が報告されている (Iwakami ら 2014b; 三浦ら 2012)。

神奈川県内の水田でも、水稲の初期除草剤処理後に一年生雑草のコナギ (*Monochoria vaginalis* (Burm. f.) Presl), また多年生雑草のイヌホタルイ (*Schoenoplectus juncooides* (Roxb.)

Palla) とオモダカ (*Sagittaria trifolia* L.) などが残存し、多発する圃場が認められている。しかし、これまで本県ではSU剤抵抗性雑草についての詳細な調査は行われておらず、その発生状況は不明であった。そこで、適切な水田雑草の防除を行っていくために、県内各地の水田で繁茂するコナギ、イヌホタルイ、オモダカを採取し、SU剤抵抗性の検定を行うこととした。

なお本報告は神奈川県農業技術センター研究報告第161号に掲載したものである。

県内でのSU剤抵抗性水田雑草の発生状況

平成22年にB市の水田からコナギを採取し、SU剤に対する抵抗性の生物検定を行った。その結果、無処理区ではコナギの他にカヤツリグサなどの発生が見られた (図-1)。これに対し、ノビエに効果の高いオキサジクロメホ

ンとSU剤であるベンスルフロンメチルの混合剤を処理した区において正常に生育するコナギが確認された。さらに、これらの2剤に加え、SU剤抵抗性雑草に効果が高いとされるクロメプロップ剤を混合した剤を処理した区では雑草の生育は認められなかった。このことから、B市で採取したイヌホタルイにはクロメプロップ剤には感受性だが、オキサジクロメホンとベンスルフロンメチルに対して抵抗性を示すバイオタイプが存在することが明らかになった。以降、オキサジクロメホン・ベンスルフロンメチル剤をSU剤抵抗性の生物検定に用いた。その後の平成23年調査では、B市の他の地域とA市から採取したコナギにもSU剤抵抗性バイオタイプの存在が確認された。

イヌホタルイは、平成24年にA市、B市、C町、D市及びE市の水田から採取し、抵抗性の生物検定を行った。その結果、A市とB市のイヌホタルイにSU剤抵抗性のバイオタイプが存

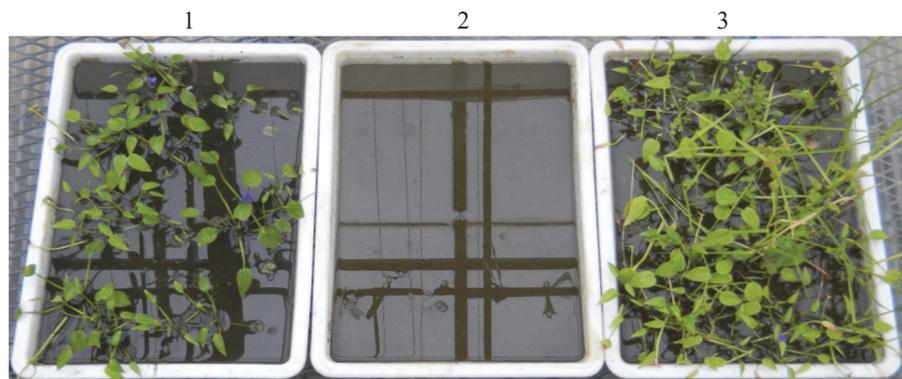


図-1 コナギのSU剤抵抗性生物検定の結果

- 1: オキサジクロメホン・ベンスルフロンメチル剤処理区
 - 2: オキサジクロメホン・ベンスルフロンメチル・クロメプロップ剤処理区
 - 3: 無処理区
- 無処理区ではコナギの他にカヤツリグサなどの発生が認められた。

在することが示された (図-2)。

オモダカについては、平成 24 年から 25 年にかけて、A 市、B 市、C 町、E 市、F 市、G 市及び H 町の水田から採取を行い、抵抗性の生物検定を行った。その結果、F 市の 3 地点、G 市の 1 地点、H 町の 1 地点のオモダカに SU 剤抵抗性のバイオタイプが存在することが明らかになった (図-3)。

スルホニルウレア系除草剤抵抗性雑草の迅速検定法

今回の試験で行った SU 剤の抵抗性の生物検定法は、除草剤の効果が表れやすい幼植物体を使う必要があり、また判定までに数週間から数か月を要する。内野ら (2007) は、アゼトウガラシ属の水田雑草やイヌホタルイ、コナギにおいて 2、3 日で検定可能な迅速検定法を確立している。これは、アセト乳酸を代謝する酵素であるケトール酸リダクトイソメラーゼ (ketol-acid reductoisomerase: KARI) の阻害剤である 1,1-cyclopropanedicarboxylic acid (CPCA) を利用して検定する方法で、マイクロチューブを用い、赤色の発色で簡便に判別ができる。本県においても、この検定法を活用することができれば、SU 剤抵抗性雑草が発生した場合でも速やかに対応ができるようになると考え、イヌホタルイで検討を行った。その結果、感受性バイオタイプでは除草剤処理によって赤色の発色が阻害された (図-4)。それに対し、A 市及び B 市で採取した抵



図-2 イヌホタルイの SU 剤抵抗性生物検定の結果

1: 無処理区
2: オキサジクロメホン・ベンスルフロンメチル剤処理区
無処理区ではイヌホタルイ他にコナギやノビエ、アゼナなどの発生が認められた。

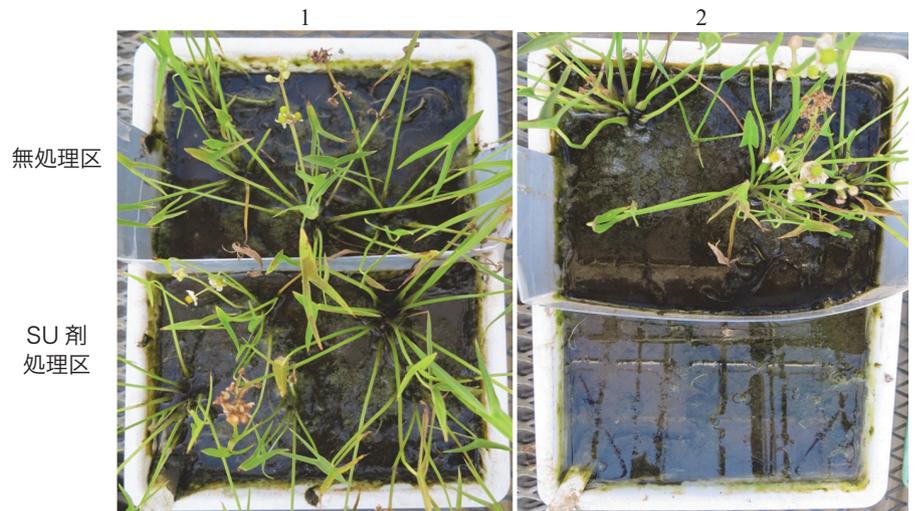


図-3 オモダカの SU 剤抵抗性生物検定の結果

1: 抵抗性バイオタイプ (G 市 a 地点)
2: 感受性バイオタイプ (G 市 a 地点)
上段は無処理区、下段はオキサジクロメホン・ベンスルフロンメチル剤処理区

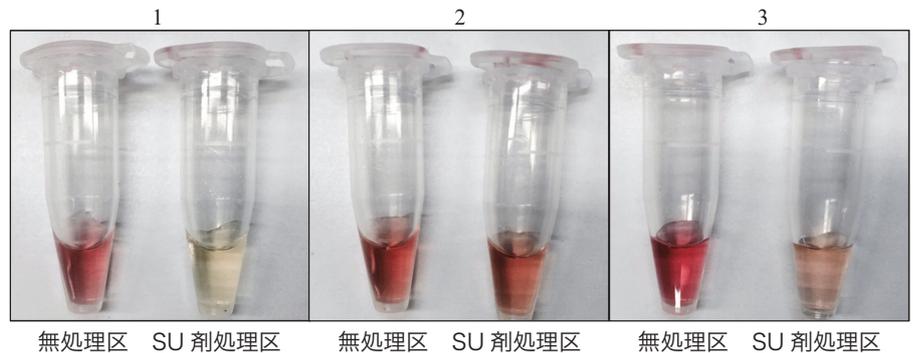


図-4 イヌホタルイにおける迅速検定法を用いた SU 剤抵抗性の検定結果

1: 感受性バイオタイプ、2: 抵抗性バイオタイプ (A 市)、3: 抵抗性バイオタイプ (B 市)
左は無処理区、右は SU 剤 (チフェンスルフロンメチル剤) 処理区。
感受性バイオタイプでは SU 剤処理によって赤色の発色が阻害されたが、抵抗性バイオタイプでは無処理区と同じように赤色に発色した。

表-1 B市から採取したコナギの ALS1 及び ALS3 遺伝子内の塩基配列と推定アミノ酸残基 (Pro₁₉₇ 部位)

バイオタイプ	ALS1		ALS3	
	塩基配列	アミノ酸	塩基配列	アミノ酸
感受性	CCT	Pro	CCT	Pro
抵抗性	TCT	Ser	CCT	Pro
	TCT	Ser	CCT	Pro
	TCT	Ser	CCT	Pro
	TCT	Ser	CCT	Pro

抗性バイオタイプでは発色は阻害されず、無処理区と同じように赤色の発色が認められた。このことから、この迅速検定法が生物検定と同様に本県で発生する SU 剤抵抗性イヌホタルイの検出に活用できることが示された。

ALS 遺伝子の変異

平成 22 年に採取し、SU 剤抵抗性を示した B 市のコナギから全 DNA を抽出し、PCR で ALS1 及び ALS3 遺伝子を増幅し、部分塩基配列を決定した。ALS1 遺伝子では Pro₁₉₇ (シロイヌナズナの ALS の 197 番目に相当するアミノ酸がプロリンであることを示す) 部位が Ser に置換する 1 塩基変異のみが確認された (表-1)。一方、ALS3 遺伝子については、変異は認められなかった。さらに、県内各地の水田で調査を行うため、平成 23 年に A 市、B 市、C 町、F 市及び G 市からのコナギを採取し、ALS 遺伝子内の塩基配列を調べた。ALS1 遺伝子の Pro₁₉₇ 部位に変異のある個体が A 市、B 市、C 町及び G 市の 10 カ所の圃場で確認された (表-2)。変異の種類としては、Pro から Ser への変異が最も多く、7 カ所の圃場で確認された。また、Ala への変異が 2 カ所で、Leu への変異が 1 カ所で認められた。調査したすべての個体で ALS3 遺伝子内に変異は認められなかった。近年、コナギの SU 剤抵抗性は ALS1 及び ALS5(t) 遺伝子に変異が生じるタイプと ALS3 遺伝子及び ALS5(t) 遺伝

表-2 県内各地から採取したコナギの ALS1 遺伝子内の塩基配列と推定アミノ酸残基

採取地	バイオタイプ	Pro ₁₉₇ 部位		検出箇所数
		塩基配列	アミノ酸	
A市	抵抗性	TCT	Ser	3
	抵抗性	GCT	Ala	2
	感受性	CCT	Pro	2
B市	抵抗性	TCT	Ser	2
	抵抗性	CTT	Leu	1
	感受性	CCT	Pro	2
C町	抵抗性	TCT	Ser	1
F市	感受性	CCT	Pro	1
G市	抵抗性	TCT	Ser	1

表-3 A市及びB市から採取したイヌホタルイの ALS1 及び ALS2 遺伝子内の塩基配列と推定アミノ酸残基 (Pro₁₉₇ 部位)

採取地	バイオタイプ	ALS1		ALS2	
		塩基配列	アミノ酸	塩基配列	アミノ酸
A市	感受性	CCT	Pro	CCT	Pro
	抵抗性	TCT	Ser	CCT	Pro
B市	感受性	CCT	Pro	CCT	Pro
	抵抗性	CCT	Pro	TCT	Ser

子に変異が生じるタイプがあることが知られており、SU 剤抵抗性を獲得するのに 2 遺伝子が同時に変異する必要があると考えられている (伊藤ら 2012)。このことから、本県で見つかったコナギも ALS1 遺伝子の変異だけではなく、ALS5(t) 遺伝子に変異を有する可能性があると考えられる。

SU 剤に抵抗性を示した A 市と B 市のイヌホタルイについて、ALS1 及び ALS2 遺伝子の部分塩基配列を調べた。A 市で採取した系統で、ALS1 遺伝子の Pro₁₉₇ 部位が Ser に変異しているバイオタイプが見つかった (表-3)。B 市から採取した系統では、

ALS2 遺伝子の Pro₁₉₇ 部位が Ser へ変異していた。このことから、今回、本県で見つかったイヌホタルイの SU 剤抵抗性は、ALS1 または ALS2 遺伝子の変異に起因すると考えられた。また、Trp₅₇₄ 部位に変異は認められなかった。定 (2015) によると、イヌホタルイの TSR の出現頻度には特徴があり、ALS1 及び ALS2 遺伝子ともに Pro₁₉₇ 部位が Ser に変異するものが最多とされる。本県で確認された SU 剤抵抗性イヌホタルイもこのタイプであった。また、他県で報告されている Pro₁₉₇Ser のバイオタイプは、ペンシルフロロンメチルの他にイ

表-4 県内各地から採取したオモダカの ALS 遺伝子内の塩基配列と推定アミノ酸残基

採取地	バイオタイプ	Ala ₁₂₂ 部位		Pro ₁₉₇ 部位		Ala ₂₀₅ 部位		Asp ₃₇₆ 部位		Arg ₃₇₇ 部位		Trp ₅₇₄ 部位		Ser ₆₅₃ 部位		Gly ₆₅₄ 部位	
		塩基配列	アミノ酸	塩基配列	アミノ酸	塩基配列	アミノ酸	塩基配列	アミノ酸	塩基配列	アミノ酸	塩基配列	アミノ酸	塩基配列	アミノ酸	塩基配列	アミノ酸
B市	感受性	GCG	Ala	CCC	Pro	GCC	Ala	GAT	Asp	CGC	Arg	TGG	Trp	AGT	Ser	GGA	Gly
F市																	
地点a	抵抗性	GCG	Ala	CCC/TCC	Ser/Pro	GCC	Ala	GAT	Asp	CGC	Arg	TGG	Trp	AGT	Ser	GGA	Gly
地点b	抵抗性	GCG	Ala	CCC	Pro	GCC	Ala	GAT	Asp	CGC	Arg	TGG	Trp	AGT	Ser	GGA	Gly
	抵抗性	GCG	Ala	CCC	Pro	GCC	Ala	GAT	Asp	CGC	Arg	TGG	Trp	AGT	Ser	GGA	Gly
地点c	抵抗性	GCG	Ala	CCC	Pro	GCC	Ala	GAT	Asp	CGC	Arg	TGG	Trp	AGT	Ser	GGA	Gly
G市																	
地点a	抵抗性	GCG	Ala	CCC	Pro	GCC	Ala	GAT	Asp	CGC	Arg	TGG	Trp	AGT	Ser	GGA	Gly
地点b	感受性	GCG	Ala	CCC	Pro	GCC	Ala	GAT	Asp	CGC	Arg	TGG	Trp	AGT	Ser	GGA	Gly
H町	抵抗性	GCG	Ala	CCC	Pro	GCC	Ala	GAT	Asp	CGC	Arg	TGG	Trp	AGT	Ser	GGA	Gly

マゾスルフロンに対しても強い抵抗性を示す一方で、同じSU剤であるメトスルフロンメチルやALSを標的にするイミダゾリン系のイマザキンに対しては大きな抵抗性を示さない(Uchinoら2007; Sadaら2013a)。イヌホタルイのSU剤抵抗性の表現型は作用点変異からの予想性が高く(定2015)、本県で見つかったバイオタイプも同様の傾向を示す可能性がある。イヌホタルイでは、今回調べたPro₁₉₇やTrp₅₇₄部位の変異の他にも、Asp₃₇₆Gluが見つかり、今後試験を行う際には調査する必要があると考えられる。

SU剤に対して抵抗性を示したオモダカのALS遺伝子内の部分塩基配列を調べた。F市から採取した系統で、Pro₁₉₇部位がヘテロでSerに変異しているバイオタイプが見つかった(表-4)。これに対し、F市の他の2地域とB市、G市、H町から採取したオモダカのALS遺伝子については、SU剤標的的部位として報告されている8箇所(Ala₁₂₂, Pro₁₉₇, Ala₂₀₅, Asp₃₇₆, Arg₃₇₇, Trp₅₇₄, Ser₆₅₃, Gly₆₅₄)に変異は認められなかった。このことから、オモダカにおけるSU剤抵抗性は、ALS遺伝子のPro₁₉₇部位における1塩基変異に起因するものと、既存のSU剤標的的部位の変異に起因しないもの

のがあると考えられた。オモダカのSU剤抵抗性では、TSRだけではなく、NTSRも比較的高い割合で存在するとされている(内野2015)。Iwakamiら(2014a)によると、NTSRを示すオモダカは、ベンスルフロンメチル剤には抵抗性だが、同じSU剤であるピラゾスルフロンエチルには感受性を示す。また、ベンスルフロンメチルの吸収量が少なく、シトクロムP450による解毒代謝機能の向上が認められている(三浦ら2012)。本県で発生する非作用点抵抗性バイオタイプも同様の作用機構が働いている可能性があると考えられた。

おわりに

本研究では、コナギは調査した5地域のうち3市1町で、イヌホタルイは5地域のうち2市で、オモダカは7地域のうち2市1町でSU剤抵抗性の発生が認められ、県内各地にSU剤抵抗性を有する雑草が存在することが明らかになった。将来、これら3種以外の草種でもSU剤抵抗性のバイオタイプが県内で発生する可能性は十分考えられる。SU剤抵抗性の雑草に対しては、迅速検定などを活用し、早期に発見して直ちに適切な防除を行う必要がある。今後、SU剤抵抗性

が疑われる水田雑草が発生した場合には、SU剤抵抗性雑草に対して効果があるとされる除草剤を選択し、防除を行うことが重要である。日本植物調節剤研究協会のホームページでは、「SU剤抵抗性雑草について実用化可能と判定された除草剤」の情報を公開しており、特に今回、SU剤抵抗性が確認された地域ではこれらの情報を参考にSU剤の連用を防いでいく必要がある。また、一発処理剤で抑えきれない場合には中期剤を使い、SU剤抵抗性雑草の拡大を防ぐとともに、同一成分の除草剤を長期連用はしないよう注意し、SU剤以外の成分に対する抵抗性雑草の発生を防ぐことも不可欠である。

引用文献

- 古原洋ら 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.
- 伊藤達也ら 2012. ALS 遺伝子ファミリーの1遺伝子における変異でSU剤抵抗性が獲得されるか?—ミズアオイとコナギを例に—. 雑草研究 51(別), 26.
- Iwakami, S. et al. 2014a. Occurrence of sulfonylurea resistance in *Sagittaria trifolia*, a basal monocot species, based on target-site and non-target-site resistance. *Weed Biology and Management* 14, 43-49.
- Iwakami, S. et al. 2014b. Cytochrome P450 CYP81A12 and CYP81A21 are associated with resistance to two acetolactate synthase inhibitors

- in *Echinochloa phyllopogon*. *Plant Physiology* 165, 618-629.
- 三浦斗夢ら 2012. アセト乳酸合成酵素遺伝子に変異を持たないオモダカにおけるベンスルフロンメチル抵抗性機構. *雑草研究* 57(別), 128.
- Sada, Y., *et al.* 2013a. Resistance levels of sulfonyleurea-resistant *Schoenoplectus juncooides* (Roxb.) Palla with various Pro₁₉₇ mutations in acetolactate synthase to imazosulfuron, bensulfuron-methyl, metsulfuron-methyl and imazaquin-ammonium. *Weed Biology and Management* 13, 53-61.
- Sada, Y., *et al.* 2013b. Characterization of sulfonyleurea-resistant *Schoenoplectus juncooides* having a target-site Asp376 Glu mutation in the acetolactate synthase. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 107 (1), 106-111.
- 定由直 2015. 水田雑草イヌホタルイの除草剤抵抗性. *農業および園芸*. 養賢堂. 90(1), 154-164.
- 内野彰ら 2007. 数種水田雑草におけるスルホニルウレア系除草剤抵抗性迅速検定法の改良. *東北の雑草* 7, 27-31.
- Uchino, A. *et al.* 2007. Molecular basis of diverse responses to acetolactate synthase-inhibiting herbicides in sulfonyleurea-resistant biotypes of *Schoenoplectus juncooides*. *Weed Biology and Management* 7, 89-96.
- 内野彰 2015. 多年生水田雑草の除草剤抵抗性. *農業および園芸*. 養賢堂. 90(1), 174-180.
- 内野彰 2016. これまでに日本で除草剤抵抗性が報告されている雑草. 除草剤抵抗性雑草研究会ホームページ. <http://www.wssj.jp/~hr/weeds.html>. 2016.12.19 閲覧.

田畑の草種

種漬花・種浸け花 (タネツケバナ)

(公財)日本植物調節剤研究協会
兵庫試験地 須藤 健一

アブラナ科タネツケバナ属の冬生一年生草本。根生葉で越冬し、根元から分枝した数本の茎を立てる。高さ10～30cm。葉は7～17枚の奇数羽状複葉で頂小葉は少し大きい。早春に茎頂に径7～8mmの4片の白い花を総状につける。田んぼや水路脇などの湿ったところを好む。「春の七種」と同様に食用になる。

日本海を通り過ぎていく低気圧に向って南風が吹き込み、3月にしては暖かすぎるような陽気が続く。夜の間ひとしきり降った雨が上がった朝、少し緑が戻ってきた畦に立つと、田んぼの中に溜まった水の上に白い小さな花がちらちらと咲いているのが向こうまで続く。まだ、昨年のかれた稲の切り株が並ぶ田んぼと、そこに鋤の入った田んぼが入り混じる。この花が田んぼ一面に白く咲く頃、種糊を水に漬ける。稲作が始まるのである。この白い花がタネツケバナである。近年、一年中見られるようになってきたが、信濃の俳人滝沢伊代次は、晩春に田んぼ一面に咲くタネツケバナを見て、

「田一枚種漬花の花満てる」と稲作の始まりを詠った。本種と同属の種にオオバタネツケバナがある。タネツケバナを大きくしたようなこの種はタネツケバナと同様に食用となるが、タネツケバナより柔らかく辛味も優れるという。このオオバタネツケバナを愛媛県では「葶藶」といい、昔からの自生地「高井の里」のものを松山市の指定する天然記念物として保護している。松山出身の俳人正岡子規が東京の病床にあっても、松山の高井の里の「ていれぎ」と三津の浜で水揚げされた鯛を懐かしんだという。

「秋風や高井のていれぎ三津の鯛」
「種漬花」も「ていれぎ」も晩春の季語である。

ところで、タネツケバナの花言葉をご存知だろうか。その旺盛な生命力から「勝利」「情熱」「不屈の精神」などといわれているが、なぜか「父の失策」とも。それが「種付け花」の所以だろうか。意味深な、笑えない花言葉である(笑)。