

除草剤開発における バイオテクノロジー利用の現状

神戸大学農学部植物防疫学科農薬学講座 松中昭一

バイオテクノロジーという言葉がカタカナで世間に流布されだしてから、もう大分年月を経過したが、その定義は人によってまちまちである。しかし、従来からの育種や栽培の技術といわれるものもバイオテクノロジーのひとつであるということ、そして、これを古いバイオテクノロジーとし、遺伝子工学、プロテインエンジニアリング、あるいは固定化酵素など新しい技術を取り入れたものを新しいバイオテクノロジーと呼び、バイオテクノロジーという時には、とくに後者を指すのが通例である。

この小文においても、ここで言う新しいバイオテクと除草剤開発について述べることにする。

さて、除草剤開発というと、いうまでもなく、新しい化合物を合成して、その除草活性、作物への薬害、動物への毒性、環境への影響、安定性、合成法、製剤、経済性等を試験・検討して、従来より優れた製品を世の中へ出すことである。そして、まずは、除草活性を持つ新規化合物を見出すことが、その第一歩であろう。この第一歩は、純粋に化学的な場合が多いので、バイオテクが関与することは少ない。ただ、除草剤ビアラホスのように、それが微生物源農薬である場合にはバイオテクの技術が活用される。

1. 微生物源農薬の場合

いろいろな理由で、従来抗生物質農薬といわ

れてきたグルーブを微生物源農薬と呼ぶことが、見里によって提唱されているが、除草剤ではビアラホスがそれにあたる。微生物源農薬であっても、微生物の培養液中から除草活性のあるものを見出すという第一歩では、むしろ古いバイオテクの技術が活用される。

除草活性が見出され、ある程度実用化の可能性が出てきた時に、その生産効率を高める手段として新しいバイオテクが活用されることになる。

以下、ビアラホスの例を紹介することにする。

ビアラホスは、明治製菓の研究陣が開発した放線菌 *Streptomyces hygroscopicus* の生産する物質である。小川らは、培養・集菌・洗浄した菌を懸濁液とし、リゾチームまたはこれにアクロモペプチダーゼを加えたもので37℃、60～90分間処理し、遠心分離後、上澄液を綿戸過したものをプロトプラスト懸濁液とした。このプロトプラスト（裸の細胞）を使って、各種の菌株同志の細胞融合が試みられている。

図1は、その結果のひとつであるが、その中の菌株221-1はアルカリホスファターゼ活性増強株、3001-6はビアラホス分解能の低い株であり、両者を細胞融合させたものが1086-7株である。両菌株のプロトプラスト液各0.5 mlを混合し、これに細胞融合促進剤のポリエチレングリコール（PEG）（20～40%）1.5 mlを加えて32℃で5～10分処理した後、培養液で

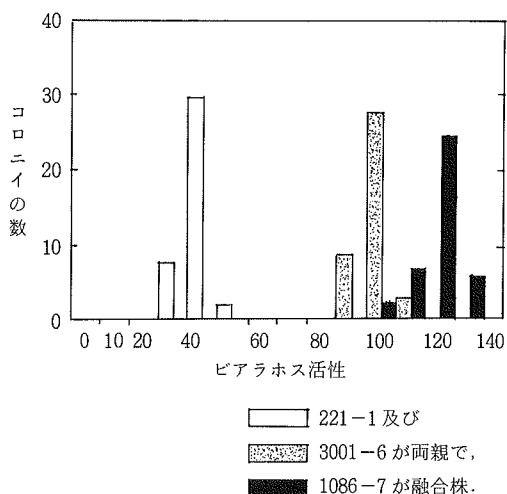


図1. ビアラホス生産菌の細胞融合によるビアラホス生産活性の増加 (小川ら, 1982)

適当に希釈後, 寒天培地上で培養してコロニーを出現させている。これを, 加水分解低活性とアルカリホスファターゼ活性を選別指標として融合株を選別している。出現頻度は1.6%であったという。

融合株のひとつ1086-7は, ビアラホス分解能が低く, 両親株より高い生産性を示した。この融合株および両親株をプロトプラスト化し, 再生培地上の出現コロニーを各40株ずつ採取し

て, ビアラホス生産活性の分布を見た図が, 図1である。明らかに, 融合株で生産能の高まっていることが判る。

一方, ビアラホスの生合成経路は, Ogawaらの研究により, 図2のとおりであることが判明している。また, ビアラホス非生産株は, これらの生合成経路が欠損しており, 各菌株の欠損部位は図3のようであることも検討済である。

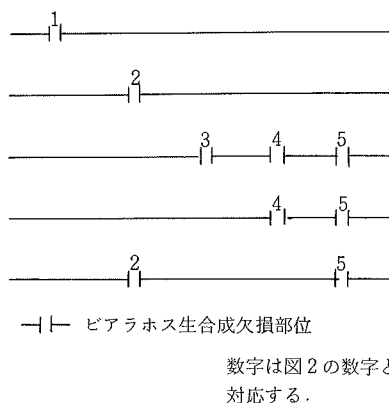


図3. ビアラホス生合成経路欠損突然変異性の欠損部位 (Ogawa, *et al.*, 1983)

上記の細胞融合実験において, ビアラホス非生産株NP-213 (図3で上から2番目)と1134

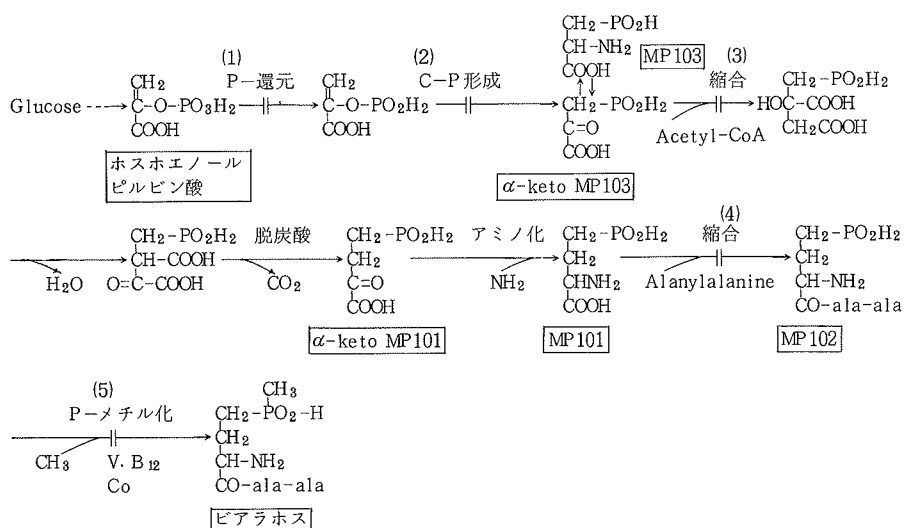


図2. ビアラホス生合成経路 (Ogawa *et al.*, 1983)

—9株 (図2におけるMP101物質蓄積, 耐性株)との融合では, 3.4%の出現頻度で, ビアラホス生産能回復株が得られている。

その後,

明治製菓の研究陣は、これらの知見や技術を駆使して生産能向上に努力しておられ、その成果が期待されているが、図2の生合成経路の欠損株ではなくて、各ステップの活性の強い株同志を融合させるなり、あるいはその遺伝子のDNA組換え等によって生産能の向上が計られているものと思われる。

2. 雑草の生物的防除におけるバイオテク

次に考えられる分野は、いわゆる雑草の生物的防除ということで微生物や昆虫を使う時に、これらの生物の性質をバイオテクで有利なように変えることである。雑草防除への微生物利用で実用化されているものは極めて少数である。また、かなりの歴史をもつ昆虫の分野でも、ある特定の昆虫が特定の雑草(例えば牧草中の毒草)を摂食する行動を利用して、天然の生物特性(摂食性)を変更させている例はない。

また、雑草の生物的防除そのものが、特定の生物と特定の雑草との特殊な関係を利用するもの(カブトエビとか草魚のような例はむしろ例外的)であるから、特定の雑草しか防除できない不利な点があって、あまり進展が見られていない。

したがって、この項で述べているバイオテクの利用も実用上はあまり可能性がないといえよう。ある微生物のある雑草に対する病原性を組換えDNA法で増強させるなどの研究には、仲々とりかかってもらえないものと思われる。

3. 除草剤抵抗性作物の育種

以上のように考えてみると「除草剤開発のためのバイオテクノロジー」の題名で書くことがなくなってしまう。そこで、除草剤開発の意味を勝手に拡大解釈することをお許し願いたい。

すなわち、既存のある除草剤(これは、その毒性をも含めて作用特性がわかっており、市販されているものとする)はそのままにしておいて、この除草剤に抵抗性の作物を新しく作出して適用作物の幅を拡げることによって、「その作物にとっては新除草剤を開発したことになる」ケースを認めてほしいということである。

ある非選択性除草剤に対して抵抗性の作物を新しく作出したとしたら、それは、その作物に選択性の除草剤を新しく開発したのと同じ効果をもたらすことになる。その除草剤の毒性試験が終わっておれば、直ぐにでも実用化できる。

このような利点があるので、除草剤抵抗性作物の育種は、もっと昔から検討されてもよかったのであるが、病害虫抵抗性育種で多忙であったこと、除草剤の市場期間が短いと予想されたこと、除草剤抵抗性遺伝様式が複雑と考えられたこと、除草剤抵抗性品種が少なかったことなどの理由で、1970年代後半まではこの分野の発展は見られなかった。

しかし、長期間使用される除草剤も数多く見られ、除草剤抵抗性の遺伝様式が簡単であることが判明し、また植物バイオテクノロジーの技術的発展が見られ、これをこの分野にも適用できるようになってから、その研究は急速に進展しつつある。

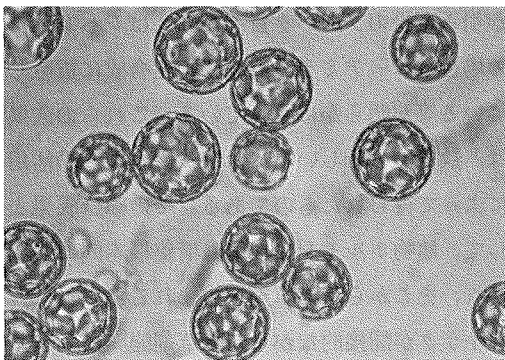
アブラナ科雑草の除草剤アトラジン抵抗性を遠縁交雑によりアブラナ科作物に導入したり、牧草のパラコート抵抗性を選抜試験で選び出すといった従来の育種的手法も用いられているが、大きい発展を遂げているのは、植物細胞工学的手法を活用したものである。

(1) 除草剤抵抗性遺伝子の作物への導入

これには、組換えDNAならびに細胞融合の二つの方法が有力である。

前者は、まず目的除草剤存在下で十分に生長する微生物を選抜し、その抵抗性を支配している遺伝子（例えばその除草剤解毒酵素生成遺伝子あるいは抵抗性に変異した作用点の遺伝子）を大腸菌-Tiプラスミド等のベクター系を使って高等植物である作物に導入するものである。*Salmonella typhimurium*の中で、除草剤 glyphosate に抵抗性のものを選び、その遺伝子を高等植物へ導入した例が報告されている。

後者の細胞融合は、長期使用によってある除草剤に抵抗性を示すようになった雑草の裸の細胞プロトプラスト（図4）を、類縁作物のプロトプラストとPEG存在下あるいは電気刺激で細胞融合させ、除草剤存在下で生き残った融合体を細胞培養後、再分化させて除草剤抵抗性完全個体としようとするものである（植物のバイオテクノロジーにおいてはカルス→再分化→完全個体というその全能性が有効に活用されなければならない）。



神戸大学農学部構内で見出された除草剤パラコートに抵抗性のヒメムカシヨモギの葉から調製したもの。

- 図4. 植物の裸の細胞，プロトプラスト（原図）
- (2) 目的作物の細胞培養段階で選抜する方法
- どちらかというと、この方法の方が成功例が多いが、偶然性に依存している点は弱点である。選抜前の形質の幅を広げて選抜の確率を高めるために、予め突然変異操作を加える場合が多い。

普通、プロトプラストまたは分散細胞、あるいは微少カルスの大きな集団に目的除草剤を加えて生存するものを選び、これを適当な方法で培養し、再分化させて除草剤抵抗性の完全個体とする。後代での分離を防ぐ目的で、まず、よく培養等で半数体をつくり、これから出発して上記のプロセスを経た上で、最終的に倍数化を行なって採種等に至る場合もある。

除草剤の中には、光合成阻害型のものが多いが、一般に植物の細胞培養中は光合成を行わないため、光合成阻害型除草剤には抵抗性を示すことになる。これらの培養細胞を再分化させて完全な植物にして光合成をさせると、今後はその除草剤に感受性ということになる。これを防ぐために、ある程度大きくなった作物の先端幼芽部だけに除草剤を散布し、下位葉の支援で幼芽部を生長させたあと、その展開葉（これは除草剤の作用で黄白色となる）の中に点在する可能性のある緑色点（島）をピックアップして細胞培養に移し、その増殖後、再分化して除草剤抵抗性完全個体とする。

デュポン社では、花粉培養によるタバコ半数体に1mMエチルニトロウレアで突然変異を起こさせたものに、2ppbのクロルスルフロン等を加えて選抜し、培養・再分化・倍数化を行なって実用濃度100ppmでも無処理と差のない抵抗性のものを作出している。この抵抗性のタバコは、スルホニルウレア系除草剤に抵抗性のアセトラクテート合成酵素をもち、その抵抗性は優性単一遺伝子で遺伝することも判明している。

A C C社では、モレキュラージェネテック社と共同して、トウモロコシはい芽を材料としたカルス培養を除草剤 imazaquin 0.03ppm～0.1ppmで選抜して、この除草剤および同じイミダゾリン系の除草剤 imazapyr（Arse-

nal)に耐性のトウモロコシを作出している(図5)。この除草剤も前項同様アセトラクテート合成酵素を阻害するが、この抵抗性トウモロコシの同酵素はこれら除草剤に耐性である。この仕事は、細胞工学的取扱いが難しいが、農業的に重要なトウモロコシでの成功であるので、その意義が大きい。



手前左2列と一番右のトウモロコシはこの除草剤で枯死したが、右から2列目のものは背後の無処理と差がない。
(ACC社Shaner博士の好意による)

図5. カルス培養による選抜法で作出された除草剤 *imazapyl* (*Arsenal*) 抵抗性のトウモロコシ

そ の 他

以上述べた事項以外に、強い除草剤開発とバイオテクノロジーとの関係を求めると、次の2項目が考えられる。

- (1) 除草剤スクリーニングへの植物組織培養の利用
- (2) 植物ホルモンの作用機構解明におけるバイ

オテクノロジーの利用

前者は、微生物実験のような均一多数の個体を用いた試験管・シャーレによる小規模実験を可能とするが、それ自体まだ方法論としては確立していない。しかし、基礎的知見の集大成で案外簡単な除草剤スクリーニング法が開発されるかも知れない。カルス等は元来糖を与えられており、光合成に依存していないので、光合成阻害剤の発見には不向きであるが、植物組織培養に不可欠のオーキシン型植物ホルモンから2,4-DやMCPが生まれていることを考えると、かなりの可能性を秘めているものと思われる。ここでは、除草剤の植物組織培養への影響に関する宇都宮大学での数多くの成果が活用されよう。

後者の植物ホルモンの作用機構の共通点として、オーキシン、ジベレリン、サイトカイニン、エチレン等が、植物DNAに作用し、それぞれに特有でかつ複数のmRNAを生合成し、これが引き金役のタンパク質(たとえばジベレリンの場合は α -アミラーゼ等)の生合成に貢献している等が明らかにされている。これらの成果は、数多くの新しいバイオテクノロジーの活用によって得られたものである。その総成果として、植物ホルモンの作用機構が根本的に解明され、そこから新除草剤が生まれるとすれば、バイオテクが間接的ながら新除草剤開発に大きく貢献したといえよう。

てん菜の根中糖分向上について

北海道立十勝農業試験場てん菜科 野村信史

は じ め に

現在ヨーロッパを中心にソ連邦・アジア・北