

埼玉県に発生したグリホサート抵抗性オヒシバ

埼玉県農業技術研究センター
玉井試験場
丹野 和幸

はじめに

近年、埼玉県の加須市、本庄市の圃場や非農耕地において、グリホサートに抵抗性とみられるオヒシバ (*Eleusine indica*) が確認されており、問題となっている (図-1)。グリホサートは、植物の維管束中の篩部を介して浸透移行し、植物の生存に必須であるシキミ酸経路という代謝経路中の重要な酵素である EPSPS に結合し、機能を阻害することで植物を枯死させる (富永 2015)。オヒシバにおいては、グリホサートの標的分子である EPSPS のアミノ酸変異や (Franci *et al.* 2020, Yu *et al.* 2015), EPSPS 遺伝子の転写量が増加することによる抵抗性機構が報告されている (Gherekhloo *et al.* 2017)。

埼玉県内で確認されたグリホサート抵抗性オヒシバ

現地圃場からオヒシバ種子を採種し、グリホサートの効果について調査したところ、いずれの個体群に対してもグリホサートカリウム塩の効果小さく、抵抗性個体が多く含まれると考えられた。一方で、ジクワット・パラコート、フルアジホップ P、グルホシネート等のグリホサート以外の供試除草剤では、全個体が枯死したため、採種したオヒシバのグリホサート抵抗性機構は、多剤抵抗性ではなく、グリホサートに特異的な抵抗性である可能性が高いと考えられた (図-2)。



図-1 現地におけるオヒシバの発生状況

(A) 加須市 (Sai_1; 2018/12/27) (B) 加須市 (Sai_2; 2018/8/17) (C) 加須市 (Sai_2; 2018/8/29) (D) 加須市 (Sai_2; 2018/12/27) (E) 本庄市 (Sai_3; 2018/12/4) (F) 本庄市 (Sai_4; 2018/12/4)

グリホサート抵抗性であると考えられた個体の EPSPS 遺伝子の部分配列をシークエンス解析し、アメリカ国立生物工学情報センター (NCBI) から取得した既報のグリホサート感受性型のオヒシバの EPSPS 遺伝子配列とアラインメントすると、Sai_2 では、EPSPS タンパク質の 102 番目の

トレオニンがイソロイシンに置換する変異 (T102I, ACT → ATT) と、106 番目のプロリンがセリンに置換する変異 (P106S, CCA → TCA) が確認され、イントロン部分にも 5 bp の挿入があり、明らかに他採種地のオヒシバとは由来が違う個体群であると考えられた (図-3)。T102I と P106S の変

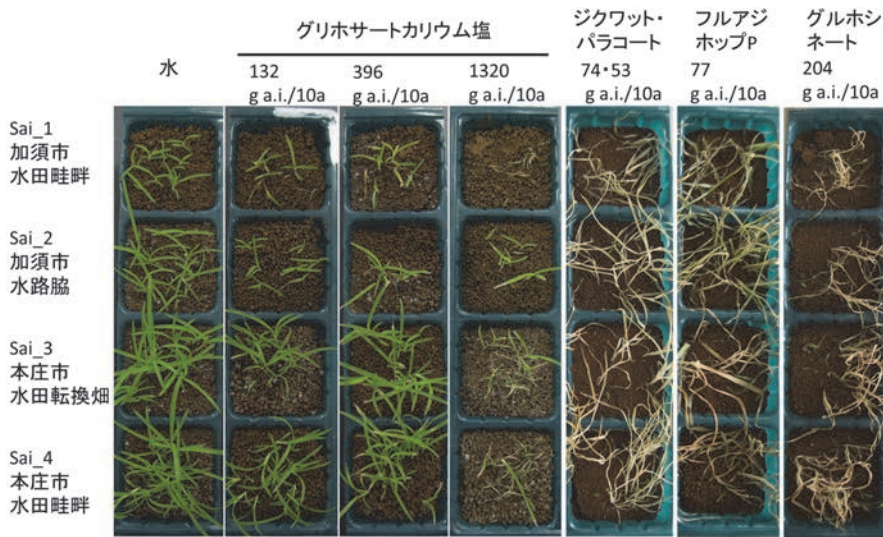


図-2 オヒシバの除草剤抵抗性の評価 (丹野 2021 を改変)
除草剤処理 2 週間後の写真。散布液量はいずれも 100L/10a とした。

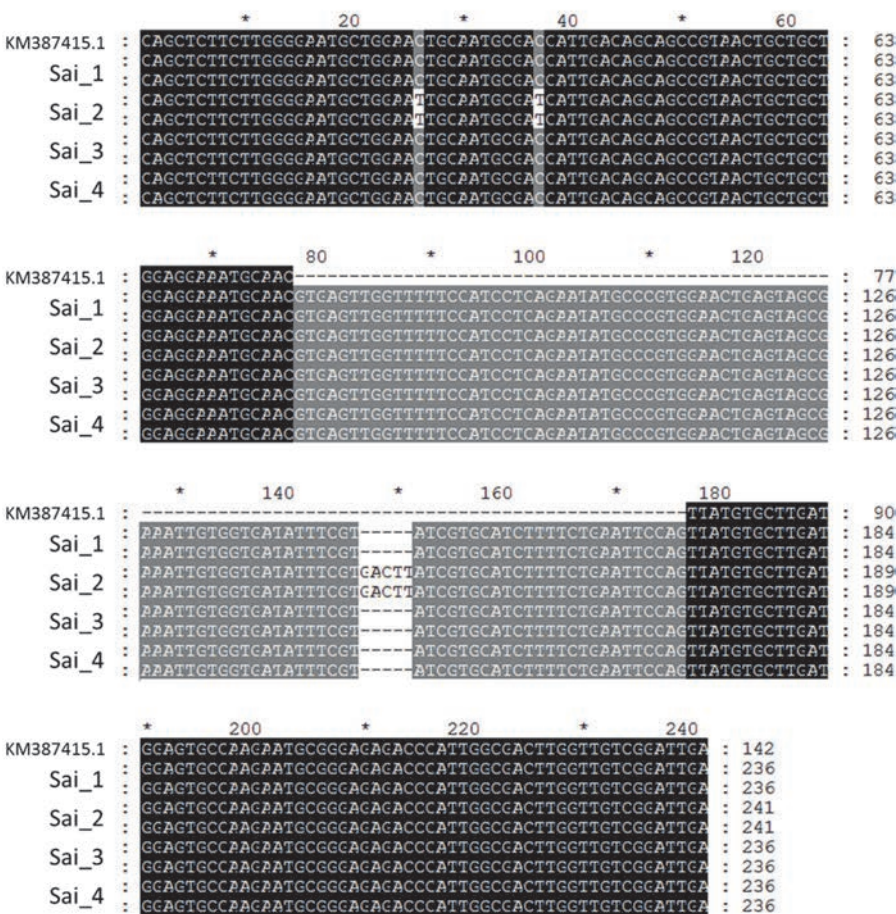


図-3 オヒシバ EPSPS 遺伝子の部分配列 (丹野 2021)

グリホサートカリウム塩 132 g a.i./10a 処理区で生存した個体の EPSPS 遺伝子の部分配列を、各区 2 個体ずつ個別に解析した。一番上には、NCBI から取得した、グリホサート感受性オヒシバの EPSPS 配列 (エキソン部分) を示した。KM387415.1 の配列にあるギャップ部分はイントロンの配列にあたる。

異が同時に起こることは TIPS と呼ばれ、グリホサート 1,080 g/10a 処理でも枯れない強い抵抗性を得るとの報告がある (Han *et al.* 2017, Yu *et al.* 2015)。Sai_3, 4 は、グリホサート抵抗性が強い個体群を含んでいると考えられたものの抵抗性変異は確認されず (図-3)、今回解析した配列の変異以外の要因、EPSPS 配列中の他部分の変異 (P381L, Franci *et al.* 2020) や、EPSPS の発現量が増加するような変異 (Gherekhlou *et al.* 2017)、もしくはトランスポーターの活性化による液胞への隔離 (Ge *et al.* 2010) といった非作用点的な機構で抵抗性を獲得していると考えられた。

グリホサート抵抗性オヒシバの防除

本研究でグリホサート抵抗性と考えられるオヒシバが発生した箇所では、いずれも管理にグリホサート含有剤を連用しており、これによりグリホサート抵抗性個体が優占していると考えられた。現在、グリホサート抵抗性オヒシバの発生は、非農耕地か、水田や転換畑など湛水可能な圃場にしか発生しておらず、水稲との輪作によって低密度に抑制することが可能であるが、今後畑地等に拡大した場合、湛水による防除ができずに大きな被害を受ける可能性がある。表-1 に、既報文献からオヒシバの基本的な生理生態と防除との関連をまとめたので参考にしてほしい。

また、オヒシバの除草剤による防

表-1 オヒシバの生理生態と防除との関連

生理生態	環境	概要	防除との関連	参考文献
種子の発芽	温度	・20~40°Cで発芽。25-35°C程度で発芽率が最大となる ・5分間の処理であれば100°C程度の高温でも発芽能は低下しない	埋土種子の発芽は適温であれば長期間続く	Ismail <i>et al.</i> (2002), Chauhan and Johnson (2008), 岩田・高柳 (1974)
	水分	メヒシバと比べて高水分条件(PF1.8)で発芽が多く、湛水条件でもよく発芽する	湛水しても数日では枯死しない。これが畦畔際に多い理由かもしれない	岩田・高柳 (1974), 山本・大庭 (1976)
	光	光の発芽への影響は種子の状態によってプラスにもマイナスにも働き、関係が不明瞭	温度のみでおおよその発生時期を予測できると考えられる	Ismail <i>et al.</i> (2002), Chauhan and Johnson (2008), 岩田・高柳 (1974)
	種子の深さ	・0~2cm程度の深さにある種子はよく発芽するが、より下方の種子は発芽率がかなり少なく、10cm以下の種子は発芽しない。 ・0~10cm深の種子は2年弱で半減する。 ・20cm深にある種子は2年後の生存率が80%	明渠の施工や畦塗り作業等を介して種子が広い土層に分布するようになった場合、畦畔際から長期間発生し続ける可能性がある	Ismail <i>et al.</i> (2002), Chauhan and Johnson (2008), Chuah <i>et al.</i> (2004)
	休眠	・種子形成直後は休眠が浅く、好適な水分と温度条件があればすぐ発芽する ・乾燥状態が長期間続くほど休眠が深くなり、打破するにはそれに応じた低温要求を満たす必要がある ・低温要求を満たさなくても物理的に種皮に傷が付けば吸水・発芽する ・好適条件にある種子間でも発芽のタイミングには2ヶ月程度のばらつきがある	当年産の種子もある程度発芽すると考えられる。また、農作業時に種皮に傷がつくと発芽する可能性がある	Kanzler and van Staden (1983), 岩田・高柳 (1974), 山本・大庭 (1976)
	熟度	緑色の未熟種子の発芽率は極めて低く、好条件でも20%に満たない	出穂直後くらいまでの防除なら密度低減効果がある可能性がある	岩田・高柳 (1974)
発芽後の生育	発生時期	春の終わりに発生した個体でも、穂をつけながら秋の終わりまで成長を続ける	発生期間中、継続的に防除する必要がある	Breeden and Brosnan (2019)
	グリホサート抵抗性のコスト	TIPS型抵抗性変異は極めて高いグリホサート耐性を持つが、成長速度や種子生産量などの自然競争力は低下し、グリホサート非処理下では淘汰されやすい	グリホサート系以外で防除すれば密度は減りやすいと考えられる	Han <i>et al.</i> (2017)
出穂と登熟	温度	温度が高いほど出穂が早まり、15°C一定で播種から85日、20°Cで55日、30°Cで45日程度を要する	発芽が連続することを考えると、9月くらいまでは防除が必要と考えられる	中谷・草薙 (1991)
	光	光量に応じて種子生産は増加するが、出穂期の早晚と日長は無関係	温度で出穂を予測できると考えられる	中谷・草薙 (1991)
他生物との関係	斑点米カメムシ	オヒシバの穂でアカスジカスミカメが増殖する	イネ出穂期の防除には注意が必要	長澤・樋口 (2008)
	アレロパシー	イネの稈、オクラの莢、ネピアグラス茎葉などのすきこみで発芽率や生育を大幅に減少させる効果がある	輪作体系次第で低減効果が期待できる	Chuah <i>et al.</i> (2011), Ismail <i>et al.</i> (2015)

除については、ブラジルで詳細な圃場試験が行われている (Takano *et al.* 2018)。この研究でグリホサート抵抗性オヒシバに有効であるとされている除草剤のうち、日本でも登録のあるものを列挙すると、フルミオキサジン、ペンディメタリン、S-メトラクロール、トリフルラリン、パラコート、クレトジム、グルホシネート、フルアジホップ、セトキシジム、ニコスルフロンのなどがある。本研究ではこれらのうち水田畦畔に農薬登録がある剤を供試

し、いずれも有効であった (図-2)。しかし、グルホシネートに関しては、単独処理では抵抗性の有無にかかわらずオヒシバへの防除効果が不十分な事例が報告されている (Molin *et al.* 2013, Takano *et al.* 2018)。埼玉県では、現地試験により土壌処理剤と茎葉処理剤を組み合わせた防除体系の効果が実証され (小指 2021)、試験をもとに防除暦 (3月頃にDBN剤を土壌処理し、6月頃にDCMUおよびグルホシネートを散布し、9月頃にキザ

ロホップエチルを散布) が作成されている (加須農林振興センター・JAほくさい 2021)。今後は、HRACコードの周知を図り、特定の薬剤による選択圧が上がらないように、複数の作用機序をもつ薬剤を組み合わせた体系を普及していく必要があると考えられる。

引用文献

Breeden, G.K. and J.B. Brosnan 2019. Goosegrass (*Eleusine indica*). Turfgrass Science at the UT Institute of

- Agriculture W170.
- Chauhan, B.S. and D.E. Johnson 2008. Germination ecology of goosegrass (*Eleusine indica*): an important grass weed of rainfed rice. *Weed Sci.* 56(5), 699-706.
- Chuah, T.S. *et al.* 2004. Changes in seed bank size and dormancy characteristics of the glyphosate-resistant biotype of goosegrass (*Eleusine indica* [L.] Gaertn.). *Weed Biol. Manag.* 4(2), 114-121.
- Chuah, T.S. *et al.* 2011. Allelopathic potential of crops on germination and growth of goosegrass (*Eleusine indica* L. Gaertn) weed. *Allelopathy J.* 27(1), 33-42.
- Franci, J. *et al.* 2020. Genetic diversity and *in silico* evidence of target-site mutation in the *EPSPS* gene in endowing glyphosate resistance in *Eleusine indica* (L.) from Malaysia. *Pestic. Biochem. Physiol.* 104556.
- Ge, X. *et al.* 2010. Rapid vacuolar sequestration: the horseweed glyphosate resistance mechanism. *Pest Manag. Sci.* 66(4), 345-348.
- Gherekhloo, J. *et al.* 2017. Pro-106-Ser mutation and EPSPS overexpression acting together simultaneously in glyphosate-resistant goosegrass (*Eleusine indica*). *Sci. Rep.* 7(1), 6702.
- Han, H. *et al.* 2017. A double *EPSPS* gene mutation endowing glyphosate resistance shows a remarkably high resistance cost. *Plant Cell Environ.* 40(12), 3031-3042.
- Ismail, B.S. *et al.* 2002. Germination and seedling emergence of glyphosate-resistant and susceptible biotypes of goosegrass (*Eleusine indica* [L.] Gaertn.). *Weed Biol. Manag.* 2(4), 177-185.
- Ismail, B.S. *et al.* 2015. Assessment of the potential allelopathic effects of *Pennisetum purpureum* Schumach. on the germination and growth of *Eleusine indica* (L.) Gaertn. *Sains Malaysiana* 44(2), 269-274.
- 岩田岩保・高柳繁 1974. 主要畑夏雑草の発芽性. *雑草研究* . 17, 33-38.
- Kanzler, A and van J. StadenSeed, 1984. Seed germination in goosegrass (*Eleusine indica*). *S. Afr. J. Bot.* 3, 108-110.
- 加須農林振興センター・JA ほくさい. 2021. 水田畦畔, 農道におけるグリホサート系除草剤抵抗性「オヒシバ」対策.
- 小指美奈子 2021. グリホサート系除草剤に抵抗性を有すると考えられるオヒシバの防除体系について. *埼玉の植物防疫* 146, 14-18.
- Molin, W. *et al.* 2013. Glyphosate-resistant goosegrass from Mississippi. *Agronomy* 3(2), 474-487.
- 中谷敬子・草薙得一 1991. 主要畑夏雑草の生育特性, 特に出穂・着蕾に及ぼす日長および温度条件の影響. *雑草研究* 36(1), 74-81.
- 長澤淳彦・樋口博也 2008. イネ科雑草の穂による採卵とコムギ幼苗を用いたアカスジカスミカメの飼育法. *日本応用動物昆虫学会誌* 52(1), 1-6.
- Takano, H.K. *et al.* 2018. Chemical control of glyphosate-resistant goosegrass. *Planta Daninha* 36, 1-10.
- 丹野和幸 2021. 埼玉県内のオヒシバにみられたグリホサート作用点抵抗性. *雑草研究* 66(1), 11-15.
- 富永達 2015. 雑草のグリホサート抵抗性の進化とその機構 (特集 雑草の除草剤抵抗性). *農業および園芸* 90(1), 126-133.
- 山本泰由・大庭寅雄 1977. 畑地かんがい栽培における雑草発生生態と防除 第3報 雑草種子の休眠覚醒に及ぼす土壌水分の影響. *雑草研究* 22(1), 29-33.
- Yu, Q. *et al.* 2015. Evolution of a double amino acid substitution in the 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase in *Eleusine indica* conferring high-level glyphosate resistance. *Plant Phys.* 167(4), 1440-1447.