

平成22年 3月31日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19780014

研究課題名（和文）SSR 分析による除草剤抵抗性雑草集団の遺伝的多様性の解明

研究課題名（英文）SSR analysis of genetic variability of herbicide-resistant weed populations

研究代表者

大迫 敬義 （OHSAKO TAKANORI）

研究者番号：80363969

研究成果の概要（和文）：水田雑草イヌホタルイ *Schoenoplectus juncooides* ならびにオモダカ *Sagittaria trifolia* について、SSR マーカーを作成した。スルホニルウレア系除草剤に対して抵抗性を有する集団ならびに感受性集団について、構築した SSR マーカーを用いて遺伝的変異を検出し、集団遺伝学的解析を行った。

研究成果の概要（英文）：SSR markers were constructed for two paddy weed species, *Schoenoplectus juncooides* and *Sagittaria trifolia*. Population genetic surveys were conducted for sulfonylurea-resistant and susceptible populations of these species using SSR markers.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,200,000	0	1,200,000
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	630,000	3,930,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学 作物学・雑草学

キーワード：水田雑草、スルホニルウレア系除草剤、除草剤抵抗性突然変異、SSR（マイクロサテライト）、遺伝的多様性

## 1. 研究開始当初の背景

作物生産現場での雑草管理における近年の最大の問題点の一つは、除草剤抵抗性雑草の出現である。これまでアトラジン、パラコート、グリホサートなど種々の除草剤に対する抵抗性が250を超える雑草種で報告されている。畑作ならびに水稲作における主要な除草剤の一つであるアセト乳酸合成酵素（ALS）阻害剤に対する抵抗性を有する雑草種は1980年代に出現して以降激増し、現在までに約70種においてその発生が確認されて

いる。日本国内では、1995年にALS阻害剤の一種であるスルホニルウレア系除草剤(SU剤)に対して抵抗性を示す生物型がミズアオイで発見されて以降、現在までに12分類群においてSU抵抗性生物型の発生が確認されている。SU剤は現在国内の90%以上の水田において用いられており、同剤抵抗性雑草の出現は稲作の雑草防除上大きな問題となっている。

除草剤抵抗性は、突然変異により雑草集団内に低頻度で存在する抵抗性対立遺伝子が単

一除草剤の連用による強い選択圧により頻度を増加させ集団中に固定する、という過程を経て顕在化すると考えられる。SU 剤抵抗性生物型の起源に関しては、同剤の作用点である ALS をコードする *Als* 遺伝子の塩基配列解析により、これまでにアゼナ類、コナギなどの水田雑草において複数の SU 剤抵抗性生物型が国内で独立に起源したことが示されている。このことは、抵抗性の顕在化の有無に関わらず各地の雑草集団が抵抗性対立遺伝子を独自に保有していることを示唆している。

## 2. 研究の目的

除草剤抵抗性の発生機構の解明に向けては、除草剤の使用との関わりにおける雑草集団の遺伝的多様性の評価が重要である。しかし、このような視点に基づく水田雑草の分子集団遺伝学的解析はこれまでほとんど実施されていない。本研究では、集団内の遺伝的多型の高感度の検出が可能である SSR マーカーを用いて、SU 剤抵抗性の拡大が深刻な問題となっているコナギ *Monochoria vaginalis*、イヌホタルイ *Schoenoplectus juncooides* ならびにオモダカ *Sagittaria trifolia* の3種について、抵抗性ならびに感受性集団の遺伝的多様性の評価を行い、集団遺伝学的解析により除草剤の適用ならびに抵抗性の出現が雑草集団の遺伝構造に及ぼす影響を解明することを目的とする。

## 3. 研究の方法

各種について、SSR 濃縮ライブラリーを作成し、SSR モチーフを含むクローンを単離して塩基配列を決定し、SSR 領域を増幅するプライマーを設計してマーカーの構築を行う。近畿地方各地の集団を採集し、SU 剤に対する抵抗性を検定するとともに SSR マーカーを用いて集団内・集団間の遺伝的変異を検出する。集団内の変異量、集団間の遺伝的分化の程度を抵抗性・感受性集団で比較し、SU 剤抵抗性の獲得が雑草集団の遺伝的特性に及ぼす影響を調査する。

## 4. 研究成果

イヌホタルイについて、SSR マーカーを 13 個作成した。近畿地方の 21 集団 (計 496 個体) について、スルホニルウレア系除草剤 (SU 剤) に対する抵抗性を発根法および発色法により検定し、SSR マーカーを用いて遺伝的変異を検出した。21 集団中、15 集団において SU 剤抵抗性が確認された。遺伝的変異は、SU 剤抵抗性集団において必ずしも低い値を示さず、同剤抵抗性の顕在化過程において除草剤の選択圧の存在下で遺伝的変異が維持される場合があることが示された。オモダカについては、5 個の SSR マーカーを得ることが出

来た。13 集団 303 個体について同マーカーによる解析を行った結果、集団間でクローン多様度に顕著な差異が認められた。この結果から、水田において繁殖するオモダカは集団ごとに繁殖様式が多様であることが明らかとなった。また、SU 剤抵抗性を有することが確認された 3 集団についてはいずれもクローン繁殖の度合が高く、抵抗性を獲得したクローンが無性繁殖により優占することが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① Takanori Ohsako and Gakuto Matsuoka (2008) Nucleotide sequence variability of the Adh gene of the coastal plant *Calystegia soldanella* (Convolvulaceae) in Japan. *Genes and Genetic Systems* 83: 89-94.
- ② Toshiyuki Imaizumi, Guang-Xi Wang, Takanori Ohsako and Tohru Tominaga (2008) Genetic diversity of sulfonylurea-resistant and -susceptible *Monochoria vaginalis* (Burm. f.) Kunth populations in Japan. *Weed Research* 48: 187-196.
- ③ Takanori Ohsako, Takafumi Ohgushi, Hino Motosugi and Kouzou Oka (2008) Microsatellite variability within and among local landrace populations of tea, *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze, in Kyoto, Japan. *Genetic Resources and Crop Evolution* 55: 1047-1053.
- ④ Guang-Xi Wang, Toshiyuki Imaizumi, Wei Li, Hiromasa Saitoh, Ryohei Terauchi, Takanori Ohsako and Tohru Tominaga (2008) Self-EcoTILLING to identify single-nucleotide mutations in multigene family. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 92: 24-29.
- ⑤ Takanori Ohsako (2010) Clonal and spatial genetic structure within populations of a coastal plant *Carex kobomugi* (Cyperaceae). *American Journal of Botany* 97: 458-470.

[学会発表] (計 3 件)

- ① 大迫敬義、松岡岳人 ハマヒルガオ野生集団におけるアルコール脱水素酵素遺伝子の塩基配列変異. 日本育種学会第 112 回講演会 2007 年 9 月 22 日 山形大学農学部
- ② 大迫敬義 海浜植物コウボウムギ *Carex kobomugi* (Cyperaceae) のクローン構造お

よび空間遺伝構造. 日本育種学会第 114  
回講演会 2008 年 10 月 11 日 滋賀県立  
大学

- ③ 大迫敬義、山吹誠 ハマダイコン野生集  
団内および集団間におけるマイクロサテ  
ライト変異の解析 日本育種学界第 116  
回講演会 2009 年 9 月 26 日 北海道大学

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大迫 敬義 (OHSAKO TAKANORI)

京都府立大学・生命環境科学研究科・講師

研究者番号: 19780014

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号:

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号:

