

# 強害水田雑草コナギの除草剤抵抗性進化の特徴的なパターンを解明 — 標的酵素遺伝子における遺伝子重複の影響 —

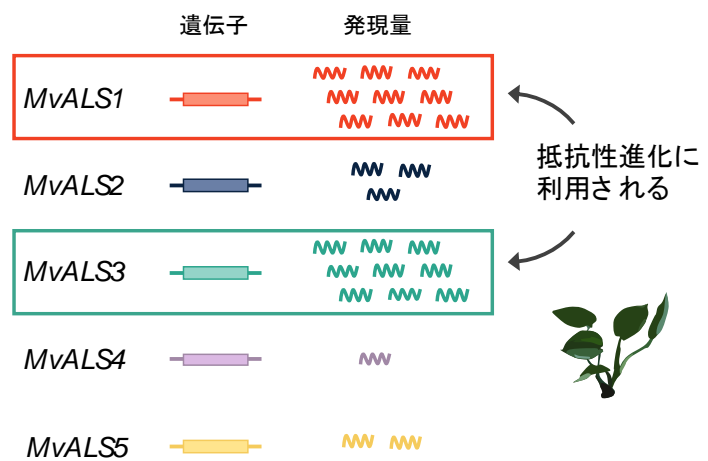
## 概要

京都大学大学院農学研究科 岩上哲史 助教、谷垣伸治 同修士課程学生(研究当時)らの研究グループは、強害水田雑草コナギにおける除草剤抵抗性進化に特徴的なパターンがあることを発見しました。

水稻栽培では雑草の防除にアセト乳酸合成酵素 (ALS) を阻害する除草剤がよく利用されますが、このタイプの除草剤に抵抗性を進化させた雑草も数多く報告されています。そして ALS 阻害剤に対する抵抗性のほとんどは、除草剤の標的となる酵素 ALS をコードする遺伝子の 1 塩基置換によることが知られています。

コナギは日本で一般的な水田雑草ですが、ALS 遺伝子の数が他の雑草よりも多く、5 つあることが同グループの解析で明らかにされていました。本研究では、全国から抵抗性の疑いのある 100 以上のコナギ集団を収集し、除草剤反応や遺伝子の解析を行い、抵抗性進化に利用される遺伝子は 5 つの ALS 遺伝子のうち、発現量の高い 2 つのみであることを明らかにしました。これは、同じ機能を持つ重複遺伝子が進化的イノベーションに利用される場合、その中で利用される遺伝子は発現量の差に強く影響をうけることを明らかにしたものです。

本成果は、2021 年 8 月 6 日に国際学術誌「New Phytologist」にオンライン掲載されました。



## 1. 背景

省力的に作物生産を行うためには除草剤を利用した雑草防除が不可欠となっています。しかし、同じ（または、似たような）除草剤を繰り返し使用するなかで、雑草集団が除草剤に抵抗性を獲得するケースが世界各地でおこっており、作物収量減の要因として問題となっています。アセト乳酸合成酵素（ALS）を阻害する除草剤は、低薬量で多様な雑草種を防除できることなどから作物栽培においてよく用いられる除草剤ですが、抵抗性が比較的生じやすい除草剤でもあります。これまでに報告されてきた多くの雑草では、抵抗性は除草剤の標的となるタンパク質 ALS をコードする ALS 遺伝子における 1 塩基置換で生じることが明らかにされてきました。一方、これらの雑草の多くは標的遺伝子の数が 1 ないし 2 のものがほとんどで、標的遺伝子数が多い場合に抵抗性進化にどのような影響があるかはよく分かっていませんでした。一般に、遺伝子重複は生物の進化の駆動力となることが知られています。重複遺伝子数が多い場合、進化の素材が増え除草剤抵抗性を獲得するチャンスが増える可能性もありますが、逆に、変異の効果が薄まる可能性も考えられます。そこで、ALS 遺伝子数の多い水田雑草コナギを材料に、抵抗性進化機構を解析することにしました。

## 2. 研究手法・成果

本研究では、全国から除草剤抵抗性の疑われるコナギを 100 集団以上収集し、その除草剤抵抗性の有無と、ALS 遺伝子の変異を調査しました（図 1）。抵抗性と判定された 68 集団からはいずれも ALS 遺伝子に抵抗性を付与する変異が見つかりましたが、コナギの 5 つの ALS 遺伝子うち、変異が見つかったのは 2 つだけでした。残り 3 つの遺伝子中に変異が見出されない理由を明らかにするために、まずは 5 つの ALS 遺伝子全長の塩基配列を解析したところ、*MvALS4* では全集団で機能欠損型の フレームシフト変異があり、そもそも機能的な ALS タンパク質をコードしていないことが分かりました。残り 4 つの ALS 遺伝子については、コードする ALS タンパク質を大腸菌で発現させて、その酵素活性を比較しましたが、顕著な違いはありませんでした（図 2）。またこれらの遺伝子に除草剤抵抗性を付与する変異を人為的に導入しシロイヌナズナで発現させると、いずれも除草剤に抵抗性を示しました。しかし、コナギにおいてこれらの ALS 遺伝子の発現量を mRNA-seq 法で比較すると、抵抗性変異の見つかった遺伝子は非常に高い転写レベルを示した一方で、変異の見つからなかった遺伝子の発現量は顕著に低いことが明らかになりました。以上のことから、変異の見つからなかった遺伝子では突然変異によって抵抗性を付与する変異が生じたとしても、植物体の除草剤反応には大きな影響を与えることができないと考えられ、このことが抵抗性コナギに集団において特定の ALS 遺伝子でしか抵抗性変異が見つからなかった理由だと結論付けられました。

除草剤の標的となる遺伝子における遺伝子重複が起これば、理論上は抵抗性進化に利用できる遺伝子座がその分増えることを意味します。しかし、少なくともコナギにおいては実際に進化的イノベーションに活用される遺伝子は少数で、利用されるかどうかはその遺伝子座の活性（発現量）に規定されることが本研究から明らかになりました。重複遺伝子の生物進化における新しい側面を示した成果です。

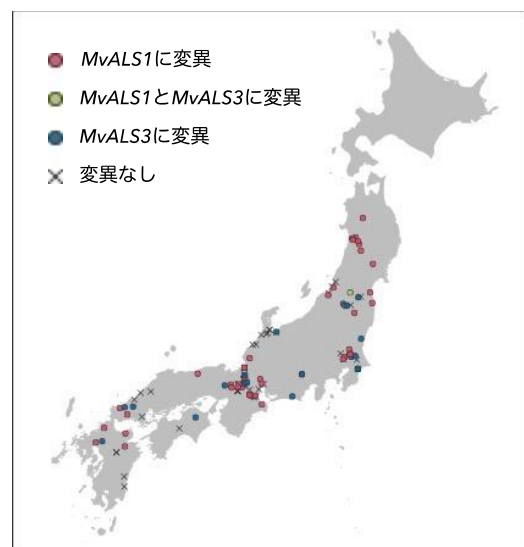


図1 研究に供試したコナギの採取地  
除草剤抵抗性を示した68集団では、*MvALS1*か  
*MvALS3*のいずれかに抵抗性を付与することの  
知られる変異が見つかった。

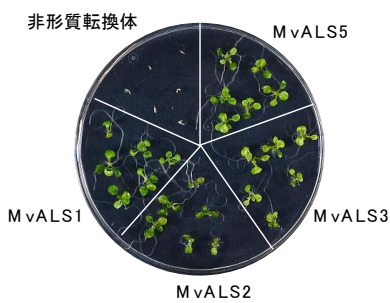
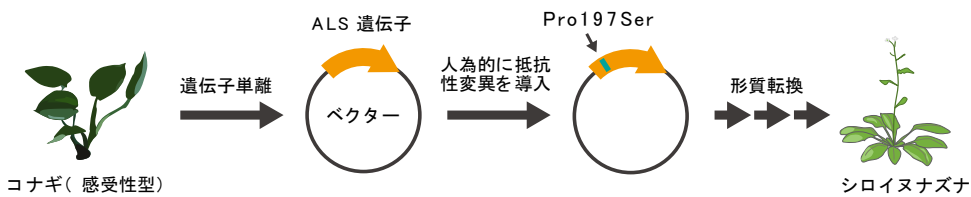
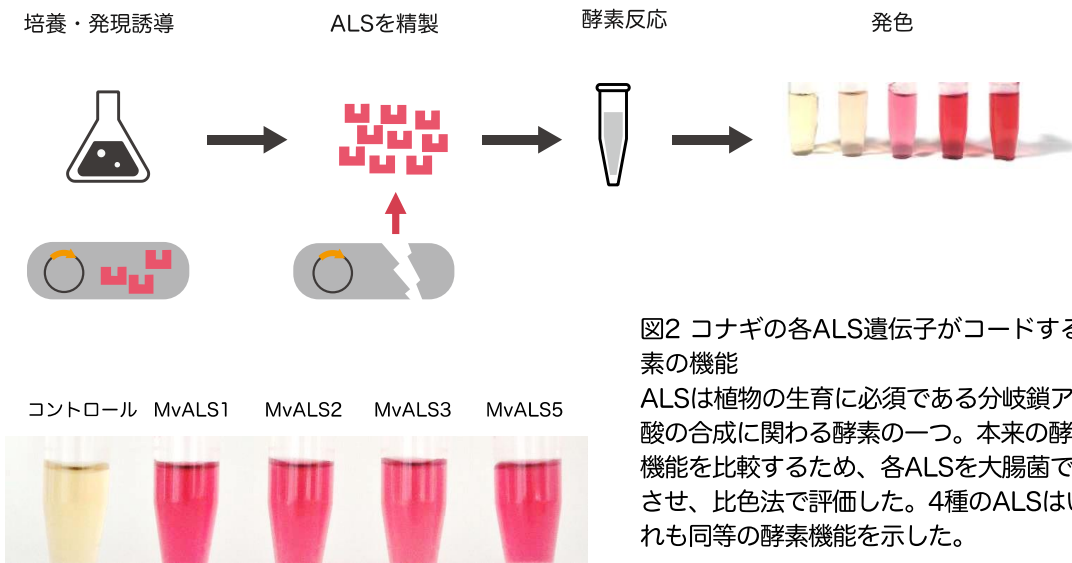


図3 抵抗性変異を導入したコナギのALS遺伝子を導入したシロイヌナズナの除草剤反応

各ALS遺伝子に抵抗性を付与する変異を導入し、シロイヌナズナに形質転換した。いずれの遺伝子を導入した形質転換体も、除草剤に抵抗性を示した。

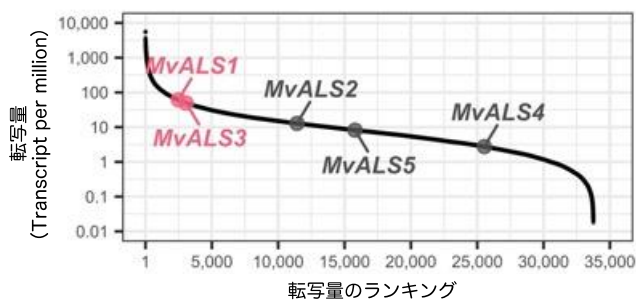


図4 コナギにおける各ALS遺伝子の転写量

抵抗性進化に利用されるALS遺伝子 (MvALS1とMvALS3) はコナギにおいて高発現していた。

### 3. 波及効果、今後の予定

除草剤抵抗性進化において、重複遺伝子の影響はこれまであまり考慮されて来ませんでした。しかし、除草剤の標的遺伝子の重複は倍数性雑草では一般的で、コナギのように多数の標的遺伝子を持つ雑草も知られています。進化のパターンや特徴を明らかにすることで、抵抗性雑草の防除や診断技術への応用、また抵抗性雑草の進化を抑制する技術の開発につながることが期待されます。

### 4. 研究プロジェクトについて

本研究は、公益財団法人 日本植物調節剤研究協会の助成を受けた成果です。

#### <用語解説>

**アセト乳酸合成酵素**・・・分岐鎖アミノ酸（バリン、ロイシン、イソロイシン）の合成経路で働く酵素。植物の生存に必須の酵素で、この働きを阻害されると植物は枯死する。

**フレームシフト変異**・・・塩基の挿入や欠失により遺伝子の読み枠がずれること。遺伝子の機能が損なわれることが多い。

**mRNA-seq**・・・次世代シーケンサーにより、全 mRNA の塩基配列を決定する方法。決定した塩基配列の数を数えることで、興味のある遺伝子の発現レベルなどを算出することができる。

#### <研究者のコメント：岩上哲史>

日本の水田は農家さんの手入れが行きとどいているところが多く、雑草がほとんど見つからないような水田もたくさんあります。一方で、雑草の方はそんな除草ストレスに対抗して必死に生き残ろうとしています。そんな雑草のたくましさ、強さの原因に興味をもちました。たくさんの方の遺伝子を調べて分かったことが、抵抗性雑草の防除に活かされるとよいなと思っています。

#### <論文タイトルと著者>

タイトル：Gene expression shapes the patterns of parallel evolution of herbicide resistance in the agricultural weed *Monochoria vaginalis* (遺伝子発現が農耕地雑草コナギにおける除草剤抵抗性平行進化のパターンを形成する)

谷垣 伸治 (研究当時：京都大学農学研究科)

内野 彰 (研究当時：農研機構中央農業研究センター、現：農研機構中日本農業研究センター)

大川 茂範 (宮城県古川農業試験場)

三浦 恒子 (秋田県農業試験場)

濱村 謙史朗 (日本植物調節剤研究協会)

松尾 光弘 (宮崎大学農学部)

好野 奈美子 (研究当時：農研機構東北農業研究センター、現：農研機構植物防疫研究部門)

上野 直也 (山梨県総合農業技術センター)

外山 祐介 (静岡県農林技術研究所)

福見 尚哉 (鳥取県農業試験場)

来島 永治 (山口県農林総合技術センター)

増田 太郎 (摂南大学農学部)

下野 嘉子（京都大学農学研究科）

富永 達（京都大学農学研究科）

岩上 哲史（京都大学農学研究科）

掲載誌：New Phytologist DOI：https://doi.org/10.1111/nph.17624