

氏 名 (本籍)	サイマ ハシム (パキスタン)
学 位 の 種 類	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 5382 号
学位授与年月日	平成 22 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審 査 研 究 科	生命環境科学研究科
学 位 論 文 題 目	Mechanism of Trifluralin Resistance in <i>Alopecurus aequalis</i> (スズメノテッポウにおけるトリフルラリン抵抗性の機構)

主 査	筑波大学教授	農学博士	松 本 宏
副 査	筑波大学教授 (連携大学院)	理学博士	高 辻 博 志
副 査	筑波大学講師	博士 (農学)	春 原 由香里
副 査	筑波大学教授	理学博士	藤 村 達 人

論 文 の 内 容 の 要 旨

近年、雑草における除草剤抵抗性発達の事例が増加し、作物生産や農業生態系への影響が世界的に懸念されている。除草剤トリフルラリンは我が国の麦作における主要な雑草であるスズメノテッポウ (*Alopecurus aequalis*) の防除に高頻度利用されてきたが、近年、この剤に対する抵抗性バイオタイプの出現が疑われている。雑草における抵抗性の分子メカニズムの解析は、雑草の化学物質適応特性を明らかにするだけでなく、作物生産性維持のための抵抗性管理技術の構築にも極めて重要な情報を提供する。本研究は、九州で見つかったトリフルラリン抵抗性が疑われるスズメノテッポウのバイオタイプについて、抵抗性の程度を確認し、その要因を生理的、分子生物学的に解析したものである。

九州北部の麦畑から 2005 および 2006 年に採取された 6 つのスズメノテッポウバイオタイプ (05F、05J、05K、05L、06AC、060) について、人工気象室内での生物試験によりトリフルラリンの影響を調べたところ、4 つにおいて感受性の低下が確認され、成育阻害濃度の比較からこれらのバイオタイプは野生型と比較して数倍から数十倍の抵抗性を有していることが明らかとなった。これらから抵抗性のバイオタイプとして 05K、感受性のそれとして 05J を以後の試験に用いることとした。

^{14}C で標識したトリフルラリンを用いて、その挙動を両バイオタイプ間で比較したところ、根からの吸収は抵抗性バイオタイプ (05J) でより少なかったがその差は 2 倍以下であった。また、吸収されたトリフルラリンのほとんどが主に根部に止まっていて、地上部への移行はわずかであった。これらのことから、抵抗性バイオタイプ (05K) における薬剤の吸収移行性の変化がその抵抗性の主たる要因とは考えにくかった。

トリフルラリンを含むジニトロアニリン系の除草剤は α -チューブリンと結合し、微小管の形成を阻害することで細胞分裂を停止させることが知られている。そこで、まず感受性スズメノテッポウ (05J) のゲノム DNA をサザンブロットにより解析した結果、少なくとも 4 つの TUA 遺伝子が確認された。次いで、この 4 つの TUA 遺伝子をクローニングし、全長 cDNA の塩基配列を決定し、それぞれスズメノテッポウ (*Alopecurus aequalis*) α -チューブリン遺伝子 1~4 (*AaTUA1-4*) とした。これらの塩基配列から推定したアミノ酸配列を他の植物と比較した結果、オオムギのそれと最も類似していることが明らかとなった。また、これらの遺伝子の組織特異的な発現を調べたところ、*AaTUA1* と *AaTUA3* は *AaTUA2* および *AaTUA4* より

強く発現していた。このうち *AaTUA1* の発現は根と茎および小穂でより強くみられ、他は根と茎でより強く発現していた。さらに、*AaTUA* の環境ストレス下やホルモン処理での誘導についても検討し、それぞれの遺伝子の応答特性も明らかとなった。また、*AaTUA* は微小管の形成を阻害する他の除草剤などでも誘導されることが示された。

抵抗性バイオタイプの *AaTUA* の塩基配列を決定し、感受性のそれと比較した結果、*AaTUA1* の塩基の 1 つが変異していることが明らかとなり、この変異は *AaTUA1* タンパクの 202 番目のアミノ酸の valine から phenylalanine への変化につながっていると推定された。また、*AaTUA3* でも 1 ヶ所の変異が確認され、これは *AaTUA3* の 125 番目のアミノ酸の leucine から methionine への変化を起こしていると考えられた。以上の結果より、スズメノテッポウのトリフルラリン抵抗性バイオタイプでは α -チューブリン遺伝子の変異が抵抗性の主因となっている可能性が指摘された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は近年、九州の麦作地帯で見つかった除草剤トリフルラリンに対して抵抗性を有すると疑われるスズメノテッポウバイオタイプの抵抗性の分子機構に迫ったものである。トリフルラリンは α -チューブリンを標的とするが、本研究ではこれまで情報がなかったスズメノテッポウの α -チューブリン遺伝子をクローニングし、その特徴付けを行っている。次に抵抗性機構について、室内における生物試験で抵抗性の程度を確認した後、代表的な抵抗性と感受性のバイオタイプを比較しながら解析を行った。抵抗性バイオタイプの α -チューブリン遺伝子の塩基配列を決定し、感受性のそれと比較したところ、抵抗性バイオタイプで塩基変異が起きていることを見出した。本論文では、これまで明らかにされた除草剤抵抗性機構を考慮し、この変異が主たる要因である可能性を指摘している。本研究ではこの遺伝子変異が抵抗性の要因であることを確定できてはいないが、スズメノテッポウの α -チューブリン遺伝子とトリフルラリン抵抗性の分子機構に関する多くの知見を提供したことは、今後における雑草制御や農薬開発に寄与する成果として高く評価される。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。