

雑草のグリホサート抵抗性の進化とその機構

誌名	農業および園芸 = Agriculture and horticulture
ISSN	03695247
著者名	富永,達
発行元	養賢堂
巻/号	90巻1号
巻号補足	
掲載ページ	p. 126-133
発行年月	2015年1月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



雑草のグリホサート抵抗性の進化とその機構

富永 達*

〔キーワード〕: グリホサート, アミノ酸変異, 移行阻害, 遺伝子増複, グリホサート耐性作物

グリホサートの特徴

グリホサートは, 1974年に商品化された浸透移行性の非選択性除草剤である. その一次作用点は, シキミ酸経路の鍵酵素である EPSPS (5-enolpyruvyl shikimate-3-phosphate synthase, EC 2.5.1.19) である. グリホサートは植物体内で分解しにくく, 師部経路で生長点, 若い葉や根, 貯蔵器官へ移行し, EPSPSの機能を阻害する. 最終的に, 芳香族アミノ酸のフェニルアラニン, チロシン, トリプトファンが欠乏し, 植物体が枯死する (Duke and Powles 2008, 図1).

グリホサートによる殺草効果の出現は緩慢であるが, 移行性であるため地下に形成された栄養繁殖器官にも作用し, 多年生雑草にも有効である. また, 発がん性や慢性毒性など動物に対する毒性が低い,

土壤中で速やかに分解されるか土壤に吸着されるため地下水汚染の危険性が低い, 揮発性が低いなどの特徴を有している.

グリホサートは土壤残効性が極めて低いため, 農耕地では播種前あるいは収穫後に処理され, 処理時点で出芽している雑草を枯死させる. また, パラコート同様, 不耕起栽培でも広く利用されている. 1996年には, アメリカでグリホサート耐性遺伝子組換えダイズ (*Glycine max* (L.) Merr.) の栽培が開始され, セイヨウナタネ (*Brassica napus* L.), ワタ (*Gossypium hirsutum* L., *Gossypium barbadense* L.), トウモロコシ (*Zea mays* L.) などが続いた. これらが栽培されている畑では生育後期の雑草防除にも利用されている. 2000年には特許が切れ, より安価になり, 世界で最も広く使用されている.

雑草のグリホサート抵抗性生物型の顕在化

グリホサートが 1974年に利用され始めて以降, 雑草のグリホサート抵抗性生物型の出現は 1996年まで認められなかった (Powles et al. 1998). アセト乳酸合成酵素阻害剤の一種であるスルホニルウレア系除草剤 (SU 剤) の抵抗性が, SU 剤使用開始後 5年で出現したこと (Mallory-Smith et al. 1990) と対照的である. グリホサートは EPSPS を標的とする唯一の除草剤であり, EPSPS の基質のひとつである phosphoenolpyruvate とグリホサートの EPSPS への結合部位が重複しているか, 極めて近接しているため, グリホサート抵抗性を付与する EPSPS の立体構造の変化が植物の生存に有害な効果をもたらすこと, 植物には代謝機能が欠損あるいは乏しいこと, 土壤残効性がないか極めて低いなどの理由で抵抗性が出現しにくいと考えられていた (Bradshaw et al. 1997). しかし, マレーシアのグアバ園では, グリホサート使用開始後 3年でオヒシバ (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.) において感受性生物型 (野生型) と比較して 8~12 倍の抵抗性を示す生物型が出現した (Lee and Ngim 2000). ここでは, グリホサートの

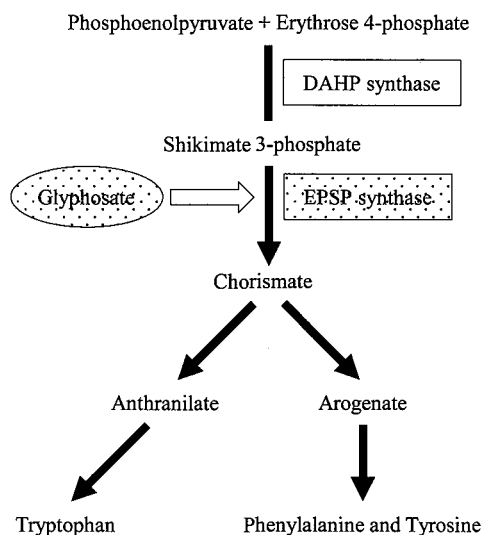


図1 グリホサートによる EPSPS の機能阻害. 概念図, Duke and Powles (2008) を改変.

価格が下落したことから、グリホサートが1年に6~7回、推奨使用濃度の約2.7倍の濃度で散布されていた。また、オヒシバは条件が良ければ個体あたり14万個もの種子を生産し、かつ、1年に4回世代交代するという。この事実は、従来グリホサートに対する抵抗性は出現しにくいと考えられていたが、グリホサートの使用頻度と濃度、雑草の生活史特性の組合せによっては抵抗性が容易に獲得されることを示している。

これまでのグリホサートの利用に加え、グリホサート耐性遺伝子組換え作物の栽培が1996年に開始されると、グリホサートに対して抵抗性を獲得する雑草が増加し(図2)、2014年10月31日現在で、24か国の31草種で抵抗性の出現が報告されている(Heap 2014)。

日本では、静岡県内の水田畦畔でグリホサートに抵抗性を示すネズミムギ(*Lolium multiflorum* Lam.)の集団が2013年に初めて報告された(Niinomi et al. 2013, 表1)。ここでは少なくとも20年以上前から年に2回グリホサートが散布されてきた。

雑草のグリホサート抵抗性獲得機構

雑草のグリホサートに対する抵抗性は、グリホサートの標的酵素であるEPSPSのアミノ酸変異(アミノ酸置換)、グリホサートの移行阻害、EPSPS遺伝子の増幅によるEPSPSの過剰発現などによって獲得される。

1. EPSPSのアミノ酸変異

ALS阻害剤やACCase阻害剤などに対する抵抗性の獲得と同様に、グリホサートに対する抵抗性においても標的酵素におけるアミノ酸変異による抵抗性が報告されている。

雑草のグリホサート抵抗性がEPSPSのアミノ酸変異によって生じると初めて報告されたのは、マレーシアの果樹園で出現したグリホサート抵抗性オヒシバにおいてである。このグリホサート抵抗性個体では、EPSPSの106番目のプロリンがセリン(CCA→TCA, Pro₁₀₆Ser)に変異していた(Baerson et al. 2002)。この抵抗性個体は感受性個体と比較して2~4倍の抵抗性を有し、抵抗性個体のEPSPS活性は感受性個体と比較してより高濃度のグリホ

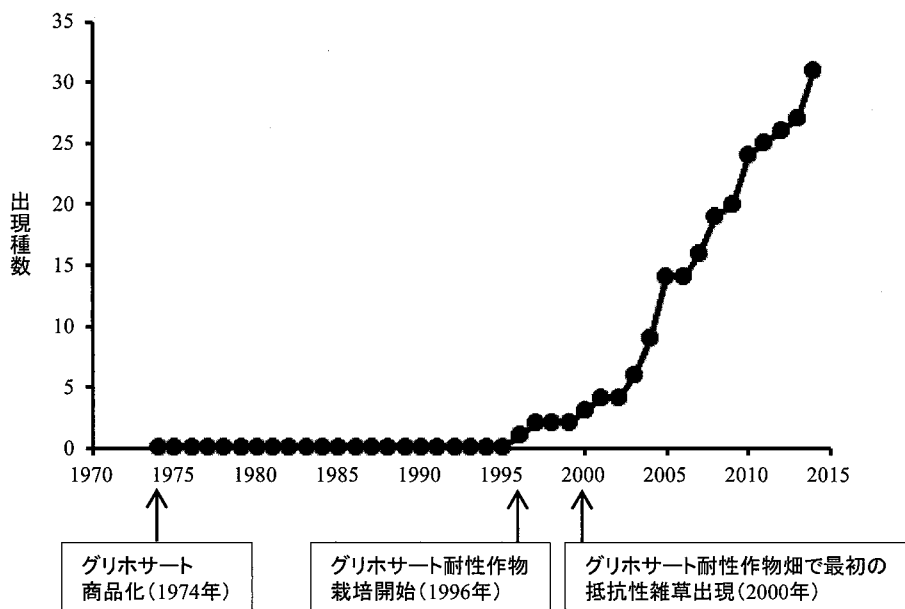


図2 グリホサート抵抗性雑草出現数の推移。Heap (2014) をもとに作図。グリホサート耐性作物栽培開始後に出現したグリホサート抵抗性雑草のすべてが、グリホサート耐性作物栽培畑で出現したわけではなく、慣行栽培のもとでも抵抗性雑草が出現している。

表1 ネズミムギ栽培品種および自生系統のグリホサートに対する抵抗性.

系統名	グリホサート処理後 21日目生存率
栽培品種	
タチムシャ	0.0
タチワセ	0.0
ワセフドウ	0.0
自生系統	
T1	0.0
P1	95.1
P2	100.0
P3	88.6
P4	92.0
P5	93.3
P6	77.8
P7	52.4
W1	91.1
W2	96.7
W3	80.5
W4	64.0
W5	20.0
W6	53.3
RB1	9.3
RS1	10.5

Niinomi et al. (2013) から抜粋.

サート処理下においても低下しなかった(図3左). さらに, トレオニン (CCA→ACA, Pro₁₀₆Thr) に変異したグリホサート抵抗性オヒシバも報告された (Ng et al. 2003). これらのアミノ酸変異によっても EPSPS 自体の機能は損なわれず, 適応度も過度に低下しないことが明らかになっている. また, 遺伝様

式は, 核1遺伝子支配で, 不完全優性であった. その後, オーストラリアのブドウ園に出現したグリホサート抵抗性ボウムギ (*L. rigidum* Gaud.) では Pro₁₀₆Thr (CCA→ACA) が (Wakelin and Preston 2006), チリのアーモンド園のグリホサート抵抗性ネズミムギでは Pro₁₀₆Ser (CCA→TCG) が (Perez-Jones et al. 2007), アメリカ・カリフォルニア州北部のコムギ畑, ワタ園およびアーモンド園のグリホサート抵抗性ネズミムギでは Pro₁₀₆Ala (CCA→GCG) が, また, ブドウ園では Pro₁₀₆Ser (CCA→TCG および TCA) が (Jasieniuk et al. 2008), それぞれ報告されている. グリホサート耐性遺伝子組換え作物畑においてもアミノ酸変異によるグリホサート抵抗性雑草が同様に出現し, 例えば, アメリカのグリホサート耐性組換えトウモロコシ畑で出現したグリホサート抵抗性コヒメビエ (*Echinochloa colona* (L.) Link) では Pro₁₀₆Ser (CCA→TCA) の変異が報告されている (Alarcón-Reverte et al. 2013).

ALS 阻害剤や ACCase 阻害剤などに対する抵抗性では, それぞれが標的とする酵素のいくつかの部位におけるアミノ酸変異が報告されている. しかし, グリホサートに対する抵抗性では, EPSPS の 106 番目のプロリン部位におけるセリン, アラニン, トレオニンあるいはロイシンへの変異だけが報告されている (表2). これらに加え, 2013年2月にオーストラリアで開催された除草剤抵抗性に関する国際会議で, Pro₁₀₆Ser に加え Thr₁₀₂Ile を同時にもつ二重変異体のグリホサート抵抗性オヒシバの出現が

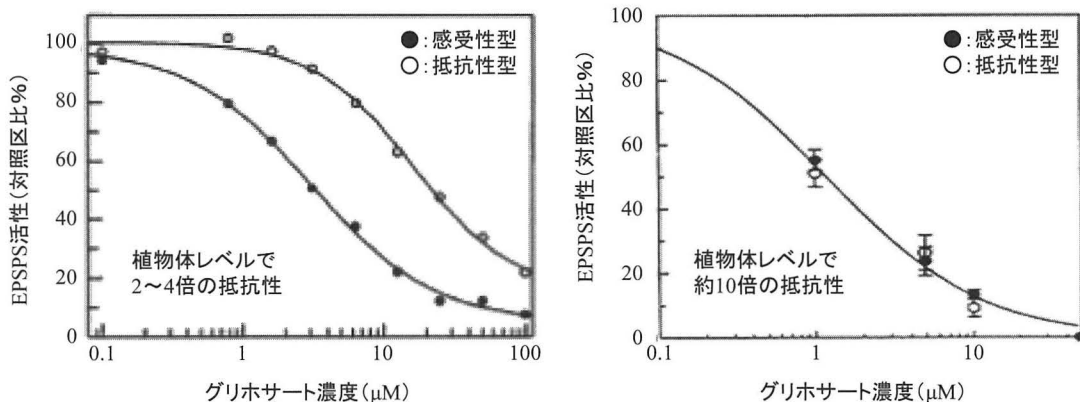


図3 アミノ酸変異(左)および移行阻害(右)によりグリホサート抵抗性を獲得した個体の EPSPS に対するグリホサートの影響. Baerson et al. (2002) および Lorraine-Colwill et al. (2003) から作図. 前者では, 植物体レベルで 2~4 倍の, 後者では約 10 倍の抵抗性を示す.

表2 アミノ酸変異によりグリホサートに対する抵抗性を獲得した雑草.

プロリンからの変異	出現種	出典
セリン	オヒシバ	Baerson et al. (2002)
	ボウムギ	Simarmata and Penner (2008)
	ネズミムギ	Jasieniuk et al. (2008)
	コヒメビエ	Alarcón-Reverte et al. (2013)
	ヒユモドキ	Nandula et al. (2013)
トレオニン	オヒシバ	Ng et al. (2003)
	ボウムギ	Wakelin and Preston (2006)
	<i>Digitaria insularis</i>	de Carvalho et al. (2012)
アラニン	ボウムギ	Yu et al. (2007)
	ネズミムギ	Jasieniuk et al. (2008)

Sammons and Gaines (2014) から抜粋.

報告され、今後、106番目のプロリン部位以外での変異による抵抗性の報告が増加するかもしれない。

EPSPSのアミノ酸変異によるグリホサート抵抗性個体は、感受性個体と比較してほぼ2~7倍の抵抗性を示す。アミノ酸変異を有し、より高いレベルの抵抗性を示す個体は、アミノ酸変異に加え、次節で述べるグリホサートの移行阻害による抵抗性機構も同時に有することが報告されている。例えば、オーストラリアのブドウ園で出現したグリホサート抵抗性ボウムギでは、感受性個体の6~11倍の抵抗性が認められた。これらは、Pro₁₀₆SerあるいはPro₁₀₆Thrの変異を有し、かつ、グリホサートの移行阻害も示した (Bostamam et al. 2012)。

2. グリホサートの移行阻害による抵抗性

オーストラリアで報告されたグリホサート抵抗性ボウムギは、感受性個体と比較して約10倍の抵抗性を示し、抵抗性の程度がアミノ酸置換による抵抗性より大であった。しかし、グリホサート処理下における抵抗性個体のEPSPS活性は、感受性個体と同様に低下した (図3右)。また、感受性個体と同様に抵抗性個体からもグリホサートの代謝産物であるアミノメチルホスホン酸 (AMPA: aminomethylphosphonic acid) は検出されなかった。抵抗性個体の葉にグリホサートを処理すると、処理されたグリホサートが処理葉の先端に集積し、茎や根ではほとんど検出されなかったことから、この抵抗性はグリホサートの移行阻害であることが明らかになった (Lorraine-Colwill et al. 2003)。同様の結果は、アメリカのグリホサート抵抗性ヒメムカシヨモギ (*Conyza canadensis* (L.) Cronq.) でも報告され

(Feng et al. 2004)、処理されたグリホサートが処理葉に集積し、根に移行しなかった。両種とも、抵抗性の遺伝様式は核1遺伝子支配で、不完全優性であった。また、前者の抵抗性ボウムギ集団では適応度が低下していた。

ヒメムカシヨモギの抵抗性個体と感受性個体の間で、グリホサートの液胞への隔離程度を比較すると、抵抗性個体でその程度が有意に高かった (Ge et al. 2010)。グリホサート抵抗性ヒメムカシヨモギにおけるグリホサートの液胞への隔離程度を12℃と20℃で比較すると、12℃で隔離程度がより低く、また、昼間10℃・夜間8℃に曝したグリホサート抵抗性ヒメムカシヨモギにグリホサートを処理すると枯死したことから、この抵抗性がグリホサートの液胞への隔離によることが支持された (Ge et al. 2011)。また、イタリアおよびオーストラリア産のグリホサート抵抗性ボウムギ、ブラジルおよびチリ産のグリホサート抵抗性ネズミムギを用いた研究で、抵抗性の程度とグリホサートの隔離の程度間に相関があることが明らかにされ、移行阻害による抵抗性はグリホサートの液胞への隔離によって獲得されたことが示された (Ge et al. 2012)。これには、生体膜を通した物質の輸送を行うABCトランスポーターおよび液胞膜内在タンパク質が関与している可能性が示唆されている (Yuan et al. 2010, Nol et al. 2012)。

3. EPSPS 遺伝子の増幅による抵抗性

遺伝子増幅による雑草の除草剤抵抗性の獲得は、グリホサート抵抗性だけで報告されている。アメリカ・ジョージア州で報告されたグリホサート抵抗性

オオホナガアオゲイトウ (*Amaranthus palmeri* S. Watson) の EPSPS 活性やグリホサートに対する EPSPS の感受性は、感受性個体と同等であった。しかし、抵抗性個体は感受性個体と比較して平均で77倍、最大で160倍以上のEPSPS遺伝子を有し、mRNAの発現量は35倍で、20倍のEPSPSを産生していた (Gaines et al. 2010)。その結果、抵抗性個体は、散布されたグリホサートに対しはるかに大量のEPSPSを有するため、グリホサートの阻害効果が及ばず、抵抗性を発現する。また、この遺伝子増幅はゲノム全体で生じていた (図4)。EPSPS コピー数とグリホサートに対する抵抗性の程度は比例し、30コピー以上で抵抗性を示すことが明らかになった。オオホナガアオゲイトウはふたつの EPSPS 遺伝子座を有するが、グリホサート抵抗性オオホナガアオゲイトウでは1遺伝子座だけが増幅されているようである。また、これには、トランスポゾン的一种である MITEs (miniature inverted-repeat transposable elements) が関与している可能性が示唆されている (Gaines et al. 2013)。オオホナガアオゲイトウの EPSPS 遺伝子の増幅によるグリホサート抵抗性の出現は、その後、ノースカロライナ州 (Chandi et al. 2012)、ニューメキシコ州 (Mohseni-Moghadam et al. 2013) およびミシシッピ州 (Ribeiro et al. 2014)

でも報告された。オオホナガアオゲイトウはアポミクシスによっても種子生産し、これもグリホサート抵抗性遺伝子の拡散に寄与している。また、オオホナガアオゲイトウでは抵抗性個体の適応度の低下は認められていない (Giacomini et al. 2014)。

オオホナガアオゲイトウの他に、ヒュモドキ (*A. tuberculatus* (Moq.) Sauer, Tranel et al. 2011)、ネズミムギ (Salas et al. 2012) およびハリビユ (*A. spinosus* L., Nandula et al. 2014) においても遺伝子増幅によるグリホサート抵抗性が報告されている。このうち、ハリビユのグリホサート抵抗性は、オオホナガアオゲイトウとの種間交雑によって獲得された可能性があることが指摘されている。

前述の Gaines et al. (2010) の報告では、ゲノム全体に EPSPS 遺伝子が増幅されていたのに対し、ホウキギ (*Kochia scoparia* Schrad.) では、不等交差により特定の染色体上に直列に繰返し重複していた (Jugulam et al. 2014)。この抵抗性は、優性の1遺伝子支配であった。また、2007年、2010年および2012年に採集された抵抗性個体の EPSPS 遺伝子のコピー数をそれぞれ調査すると、2007年に採集された個体は平均9コピーを、2010年および2012年に採集された個体ではそれぞれ12および16コピーを有し、抵抗性の程度もコピー数に比例して上昇していた。

感受性生物型(野生型)

抵抗性生物型

複合抵抗性生物型の存在

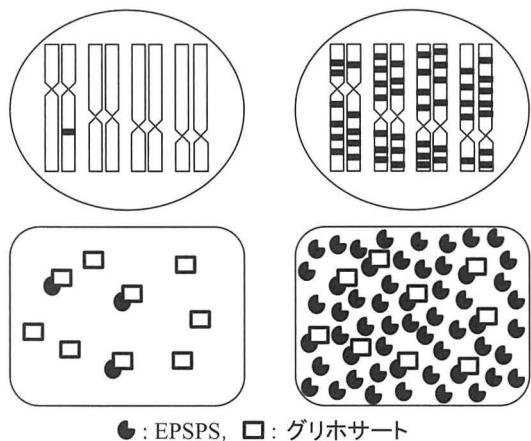


図4 EPSPS 遺伝子増幅によるグリホサート抵抗性概念図、Powles (2010) を改変。抵抗性生物型では、処理されたグリホサートに対し、はるかに大量のEPSPSを有し、グリホサートの阻害効果が及ばない。

異なる作用機構をもつ複数の除草剤に対して1個体が同時に抵抗性をもつことを複合(多剤)抵抗性とよぶ。雑草が複合抵抗性を獲得すると、有効な除草剤に限られてくるため、対象とする雑草の防除計画の策定が困難になる場合がある。グリホサートを含む複数の除草剤に対する抵抗性をもつ例は、9か国13草種で報告され、オーストラリアではグリホサートを含む5種の除草剤に対して抵抗性を有するボウムギが認められている (Heap 2014)。また、マレーシアでは、代表的な非選択性除草剤であるグリホサート、グルホシネート、パラコートに加え、ACCase 阻害剤に対しても抵抗性を有するオヒシバが認められている (Jalaludin et al. 2014)。

ボウムギで認められているように、他殖性の雑草では、ある除草剤に対して抵抗性を獲得した個体とそれとは別の除草剤に対して抵抗性を獲得した個

体が交雑し、複合抵抗性をもつ個体が出現する可能性が高い。また、マレーシアで認められた前述のグリホサートを含む4種の除草剤に対して抵抗性を有するオヒシバの事例では、除草剤に過度に依存した雑草防除が複合抵抗性の進化を促進したことが推察されている。雑草における複合抵抗性の進化を避けるためには、除草剤の使い分けや除草剤と他の除草方法をうまく組み合わせることが必要である。

グリホサート耐性遺伝子組換え作物の栽培と グリホサート抵抗性雑草の出現

遺伝子組換え技術によって作出された除草剤耐性作物の商業栽培が1996年に開始され、2013年には南北アメリカを中心に世界の約9,940万ヘクタールの畑で除草剤抵抗性のダイズ、トウモロコシ、ナタネ、ワタ、テンサイ、アルファルファなどが栽培されている(除草剤に抵抗性をもつ遺伝子組換え作物を表記する場合、一般に「除草剤抵抗性作物」ではなく、「除草剤耐性作物」を使用する)。また、除草剤抵抗性と害虫抵抗性を併せもつスタック系統の栽培面積は、4,710万ヘクタールに達した。これらスタック系統を含む除草剤耐性作物のうち、最も広く栽培されているのはグリホサート耐性作物である。ダイズとトウモロコシあるいはこれらに加え、ワタの輪作が行われているアメリカでは、いずれの作物でもグリホサート耐性品種が栽培されることが多い。

これらの栽培畑ではグリホサートだけを連用するため、2000年にはグリホサートに抵抗性をもつヒメムカシヨモギが出現した(Van Gessel 2001)。雑草のグリホサート抵抗性個体の出現は、グリホサート耐性遺伝子組換え作物から雑草へ抵抗性遺伝子が拡散したことによるのではなく、自然突然変異で生じた雑草のグリホサート抵抗性個体の頻度がグリホサートの連用によって高くなり、顕在化するのである。したがって、グリホサート耐性作物とはその抵抗性の機構が異なっている。しかし、除草剤耐性作物を栽培している畑周辺にその祖先野生種や近縁野生種が生育している場合、当該作物からその祖先野生種や近縁野生種への除草剤抵抗性遺伝子の流動に留意すべきである。また、除草剤耐性作物の逸出にも留意すべきである。

一般に、作物が非栽培条件下で長年にわたり集団

を維持することは困難である。また、作物とその近縁野生種との間に雑種が形成されたとしても、その雑種は作物の特性をある程度もつので、非栽培条件下では適応度が低く、そのため、自然環境中に抵抗性遺伝子が拡散される可能性は低いと推定される。例えば、日本にはダイズの祖先野生種であるツルマメ(*G. max* subsp. *soja* (Sieb. et Zucc.) Ohashi)がダイズ畑の周辺にも普通に生育している。ダイズとツルマメの間には雑種が形成されることがあるが、その雑種が形成する種子数は少なく、その種子の越冬率は極めて低いなど、雑種の適応度は自然状態では低いことが示されている(加賀 2008)。他方、ナタネに関しては、グリホサート耐性品種の逸出や野生種との交雑がカナダで報告され(Beckie et al. 2003, Warwick et al. 2003)、輸入国である日本においても輸入港周辺での逸出が報告されている(Kawata et al. 2009)。

グリホサート耐性作物の逸出や除草剤耐性遺伝子組換え作物からその近縁野生種への抵抗性遺伝子の拡散に関しては、未解明の課題が残っているので、今後も継続的な研究が必要である。

謝辞

本稿の執筆にあたり、與語靖洋博士(農業環境技術研究所)と下野嘉子博士(京都大学大学院農学研究科)から有益なコメントを頂戴した。

引用文献

- Alarcón-Reverte, R., A. García, J. Urzúa and A. J. Fischer 2013. Resistance to glyphosate in junglerice (*Echinochloa colona*) from California. *Weed Science* 61: 48-54.
- Baerson S. R., D. J. Rodriguez, M. Tran, Y. Feng, N. A. Biest and G. M. Dill 2002. Glyphosate-resistant goosegrass. Identification of a mutation in the target enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase. *Plant Physiology* 129: 1265-1275.
- Beckie H. J., Warwick S. I., H. Nair and G. Séguin-Swartz 2003. Gene flow in commercial fields of herbicide-resistant canola (*Brassica napus*). *Ecological Applications* 13: 1276-1294.
- Bostamam, Y., J. M. Malone, F. C. Dolman, P. Boutsalis and C. Preston 2012. Rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) populations containing a target site mutation in EPSPS and reduced glyphosate translocation are more resistant to glyphosate. *Weed Science* 60: 474-479.
- Bradshaw L. D., S. R. Padgett, S. L. Kimball and B. H. Wells 1997. Perspective on glyphosate resistance. *Weed Technology* 11: 189-198.
- Chandi A., S. R. Milla-Lewis, D. Giacomini, P. Westra, C.

- Preston, D. L. Jordan 2012. Inheritance of evolved glyphosate resistance in a North Carolina Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) biotype. *International Journal of Agronomy* 2012: doi 10.1155/2012/176108.
- de Carvalho L. B., P. Alves, F. Gonzalez-Torralva, H. E. Cruz-Hipolito, A. M. Rojano-Delgado, R. De Prado, J. Gil-Humanes and F. Barro 2012. Pool of resistance mechanisms to glyphosate in *Digitaria insularis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60: 615-622.
- Duke S. O. and S. B. Powles 2008. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest Management Science* 64: 319-325.
- Feng P. C. C., M. Tran, T. Chiu, R. D. Sammons, G. R. Heck and C. A. CaJacob 2004. Investigations into glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*): retention, uptake, translocation, and metabolism. *Weed Science* 52: 498-505.
- Gaines T. A., W. Zhang, D. Wang, B. Bukun, S. T. Chisholm, D. L. Shaner, S. J. Nissen, W. L. Patzoldt, P. J. Tranel, A. S. Culpepper, T. L. Grey, T. M. Webster, W. K. Vencill, R. D. Sammons, J. Jiang, C. Preston, J. E. Leach and P. Westra 2010. Gene amplification confers glyphosate resistance in *Amaranthus palmeri*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107: 1029-1034.
- Gaines T. A., A. A. Wright, W. T. Molin, L. Lorentz, C. W. Riggins, P. J. Tranel, R. Beffa, P. Westra, S. B. Powles 2013. Identification of genetic elements associated with EPSPS gene amplification. *PLoS ONE* 8: e65819.
- Ge X., D. A. d'Avignon, J. J. H. Ackerman and R. D. Sammons 2010. Rapid vacuolar sequestration: the horseweed glyphosate resistance mechanism. *Pest Management Science* 66: 345-348.
- Ge X., D. A. d'Avignon, J. J. H. Ackerman, B. Duncan, M. B. Spaur and R. D. Sammons 2011. Glyphosate-resistant horseweed made sensitive to glyphosate: low-temperature suppression of glyphosate vacuolar sequestration revealed by ³¹P NMR. *Pest Management Science* 67: 1215-1221.
- Ge X., D. A. d'Avignon, J. J. H. Ackerman, A. Collavo, M. Sattin, E. L. Ostrander, E. L. Hall, R. D. Sammons and C. Preston 2012. Vacuolar glyphosate-sequestration correlates with glyphosate resistance in ryegrass (*Lolium* spp.) from Australia, South America, and Europe: a ³¹P NMR investigation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60: 1243-1250.
- Giacomini D., P. Westra and S. M. Ward 2014. Impact of genetic background in fitness cost studies: an example from glyphosate-resistant Palmer amaranth. *Weed Science* 62: 29-37.
- Heap I. 2014. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. URL: <http://www.weedscience.com>. accessed on October 31, 2014.
- Jalaludin, A., Q. Yu and S. B. Powles 2014. Multiple resistance across glufosinate, glyphosate, paraquat and ACCase-inhibiting herbicides in an *Eleusine indica* population. *Weed Research* 54: DOI 10.1111/wre.12118.
- Jasieniuk M., R. Ahmad, A. M. Sherwood, J. L. Firestone, A. Perez-Jones, W. T. Lanini, C. Mallory-Smith and Z. Stednick 2008. Glyphosate-resistant Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) in California: distribution, response to glyphosate, and molecular evidence for an altered target enzyme. *Weed Science* 56: 496-502.
- Jugulam M., K. Niehues, A. S. Godar, D.-H. Koo, T. Danilova, B. Friebe, S. Sehgal, V. K. Varanasi, A. Wiersma, P. Westra, P. W. Stahlman and B. S. Gill 2014. Tandem amplification of a chromosomal segment harboring 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase locus confers glyphosate resistance in *Kochia scoparia*. *Plant Physiology* 166: 1200-1207.
- 加賀秋人 2008. 栽培植物と野生種の間雑・遺伝子浸透の実態と野生化の評価. 第23回日本雑草学会シンポジウム講演要旨: 34-39.
- Kawata M., K. Murakami and T. Ishikawa 2009. Dispersal and persistence of genetically modified oilseed rape around Japanese harbors. *Environmental Science and Pollution Research* 16: 120-126.
- Lee L. J. and J. Ngim 2000. A first report of glyphosate-resistant goosegrass (*Eleusine indica* (L.) Gaertn) in Malaysia. *Pest Management Science* 56: 336-339.
- Lorraine-Colwill, D. F., S. B. Powles, T. R. Hawkes, P. H. Hollinshead, S. A. J. Warner and C. Preston 2003. Investigations into the mechanisms of glyphosate resistance in *Lolium rigidum*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 74: 62-72.
- Mallory-Smith C. A., D. C. Thill and M. J. Dial 1990. Identification of sulfonylurea herbicide-resistant prickly lettuce (*Lactuca serriola*). *Weed Technology* 4: 163-168.
- Mohseni-Moghadam M., J. Schroeder and J. Ashigh 2013. Mechanism of resistance and inheritance in glyphosate resistant Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) populations from New Mexico, USA. *Weed Science* 61: 517-525.
- Nandula V. K., J. D. Ray, D. N. Ribeiro, Z. Pan and K. N. Reddy 2013. Glyphosate resistance in tall waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*) from Mississippi is due to both altered target-site and nontarget-site mechanisms. *Weed Science* 61: 374-383.
- Nandula V. K., A. A. Wright, J. A. Bond, J. D. Ray, T. W. Eubank and W. T. Molin 2014. EPSPS amplification in glyphosate-resistant spiny amaranth (*Amaranthus spinosus*): a case of gene transfer via interspecific hybridization from glyphosate-resistant Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*). *Pest Management Science* 70: DOI 10.1002/ps.3754.
- Ng C. H., R. Wickneswari, S. Salmijah, Y. T. Teng and B. S. Ismail 2003. Gene polymorphisms in glyphosate-resistant and -susceptible biotypes of *Eleusine indica* from Malaysia. *Weed Research* 43: 108-115.
- Niinomi Y., M. Ikeda, M. Yamashita, Y. Ishida, M. Asai, Y. Shimon, T. Tominaga and H. Sawada 2013. Glyphosate-resistant Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) on rice paddy levees in Japan. *Weed Biology and Management* 13: 31-38.
- Nol, N., D. Tsikou, M. Eid, I. C. Livieratos and C. N. Giannopolitis 2012. Shikimate leaf disc assay for early detection of glyphosate resistance in *Conyza canadensis* and relative transcript levels of EPSPS and ABC transporter genes. *Weed Research* 52: 233-241.
- Perez-Jones A., K.-W. Park, N. Polge, J. Colquhoun, and C. A. Mallory-Smith 2007. Investigating the mechanisms of

- glyphosate resistance in *Lolium multiflorum*. *Planta* 226: 395-404.
- Powles S. B. 2010. Gene amplification delivers glyphosate-resistant weed evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107: 955-956.
- Powles S. B., D. F. Lorraine-Colwill, J. J. Dellow and C. Preston 1998. Evolved resistance to glyphosate in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) in Australia. *Weed Science* 46: 604-607.
- Ribeiro D. N., Z. Pan, S. O. Duke, V. K. Nandula, B. S. Baldwin, D. R. Shaw and F. E. Dayan 2014. Involvement of facultative apomixis in inheritance of EPSPS gene amplification in glyphosate-resistant *Amaranthus palmeri*. *Planta* 239: 199-212.
- Salas R. A., F. E. Dayan, Z. Pan, S. B. Watson, J. W. Dickson, R. C. Scott and N. R. Burgos 2012. EPSPS gene amplification in glyphosate-resistant Italian ryegrass (*Lolium perenne* ssp. *multiflorum*) from Arkansas. *Pest Management Science* 68: 1223-1230.
- Sammons R. D. and T. A. Gaines 2014. Glyphosate resistance: state of knowledge. *Pest Management Science* 70: 1367-1377.
- Simarmata M. and Penner D. 2008. The basis for glyphosate resistance in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) from California. *Weed Science* 56: 181-188.
- Tranel P. J., C. W. Riggins, M. S. Bell and A. G. Hager 2011. Herbicide resistances in *Amaranthus tuberculatus*: a call for new options. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 5808-5812.
- Van Gessel M. J. 2001. Glyphosate-resistant horseweed from Delaware. *Weed Science* 49: 703-705.
- Wakelin A. M. and C. Preston 2006. A target-site mutation is present in a glyphosate-resistant *Lolium rigidum* population. *Weed Research* 46: 432-440.
- Warwick S. I., M.-J. Simard, A. Légère, H. J. Beckie, L. Braun, B. Zhu, P. Mason, G. Séguin-Swartz and C. N. Stewart 2003. Hybridization between transgenic *Brassica napus* L. and its wild relatives: *Brassica rapa* L., *Raphanus raphanistrum* L., *Sinapis arvensis* L., and *Erucastrum gallicum* (Willd.) O.E. Schulz. *Theoretical and Applied Genetics* 107: 528-539.
- Yu Q., A. Cairns and S. B. Powles 2007. Glyphosate, paraquat and ACCase multiple herbicide resistance evolved in a *Lolium rigidum* biotype. *Planta* 225: 499-513.
- Yuan J. S., L. L. G. Abercrombie, Y. Cao, M. D. Halfhill, X. Zhou, Y. Peng, J. Hu, M. R. Rao, G. R. Heck, T. J. Larosa, R. D. Sammons, X. Wang, P. Ranjan, D. H. Johnson, P. A. Wadl, B. E. Scheffler, T. A. Rinehart, R. N. Trigiano and C. N. Stewart, Jr. 2010. Functional genomics analysis of horseweed (*Conyza canadensis*) with special reference to the evolution of non-target-site glyphosate resistance. *Weed Science* 58: 109-117.