

第1章 植物の生育に対する影響

1.1 序論

緒論で述べたように、fluazifop-butyl のような AOPP 系除草剤、および sethoxydim のような CHD 系除草剤に対してイネ科植物は感受性を示すが、広葉植物は耐性を示す。これまで、fluazifop-butyl の作用メカニズムの研究に、よく用いられている感受性の植物として、シバムギ (*Agropyron repens*)、オヒシバ (*Elesine indica*)、メヒシバ (*Digitaria sanguinalis*)、アキノエノコログサ (*Setaria faberii*)、エノコログサ (*Setaria viridis*)、ryegrass (*Lolium rigidum*)、オオムギ (*Hordeum vulgare*)、エンバク (*Avena sativa*)、トウモロコシ (*Zea mays*) などが挙げられる (Burton et al., 1989; Chandrasena and Sagra, 1986; Derr et al., 1985; Grafstrom Jr. and Nalewaja, 1988; Kells et al., 1984; Kobek et al., 1988a,b; Walker et al., 1988a,b)。本章では、イネ科植物における fluazifop-butyl および sethoxydim の作用機構を解明するための基礎データを得るために、生物試験により、研究に用いる感受性および耐性の植物を選抜し、さらに、広葉雑草である *Acanthospermum hispidum* が fluazifop-butyl に感受性であるかを確かめることを目的とした。

1.2 植物の生育に対する fluazifop-butyl と sethoxydim の影響

1.2.1 目的

イネ科植物であるエンバク、トウモロコシおよび広葉植物であるエンドウ、ダイコンを用いて fluazifop-butyl と sethoxydim の作用についての生物試験を行い、幼苗の生育に対する作用特性を調べて、各植物感受性の違いを確認し、今後の研究に用いる植物を選択することを目的とした。

1.2.2 材料と方法

<材料>

供試植物：イネ科：エンバク（前進）；トウモロコシ（ハニーバンタム）

広葉：エンドウ（早生赤花蔓無し豌豆）；ダイコン（早太り時無）

供試薬剤：Fluazifop-butyl; Sethoxydim

両試薬はともに和光純薬工業株式会社（日本・大阪）から購入した。

Fluazifop-butyl および sethoxydim の純度はそれぞれ、99.7%と 99.4%である（以後の研究に用いる試薬は特別な説明がない限り、全て同社から購入した）。

<実験方法>

(1) 薬剤の調整

Fluazifop-butyl と sethoxydim の原体をアセトンに溶かした原液を、それぞれの処理濃度まで蒸留水で希釈することにより調整した。なお、本研究に用いるすべての脂溶性試薬は、一旦アセトンに溶解した後、蒸留水で希釈する方法を採用した。なお、処理液中におけるアセトンの最終濃度は 1~2%とした。

(2) 植物の育成

トウモロコシ：流水中で一晩吸水させた種子をトレイの中に敷いた二層の吸水紙（キムタオルTM）に挟み、蒸留水で湿らせた後グロースチャンバー内（30°C）で発芽させた。発芽後、網バット上に移し、水耕法で 5 日間育てた。水耕液は畑作物用春日井氏水耕液*を用いたが、発芽後 3 日間は 1/4 強度、それ以後は 1/2 強度にした。チャンバーは明期（400μE/m²s）と暗期各 12 時間で、それぞれ 25°C と 20°C に設定した。チャンバー内の相対湿度は明暗期とも 60% に設定した。このようなチャンバーの条件は、第 2 章の 2. 2 節を除いて以下に述べるすべての実験項目について共通とした。

* 畑作物用春日井氏水耕液

1 強度の畑作物用春日井氏水耕液には以下の栄養分(単位 : mg/l)が含まれている：

(NH ₄) ₂ SO ₄	73.4 (NH ₄ -N 20)	EDTA-Fe	26.41 (Fe ₂ O ₃ 5)
NaNO ₃	27.4 (NO ₃ -N 20)	MnCl ₂ · 4H ₂ O	1.809 (Mn 0.5)
Na ₂ HPO ₄ · 12H ₂ O	201.7 (P ₂ O ₅ 40)	H ₃ BO ₃	0.286 (B 0.05)
KCl	64.2 (K ₂ O 40)	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ · 4H ₂ O	0.0920 (Mo 0.05)
MgSO ₄ · 7H ₂ O	61.1 (MgO 10)	CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.0786 (Cu 0.02)
CaCl ₂ · 2H ₂ O	105.0 (CaO 40)	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.2197 (Zn 0.05)

溶液の pH は 1N HCl で 6.0~6.4 に調整した。

エンパク、エンドウおよびダイコン：一晩吸水させた各植物の種子をバーミキュライト中に播種し、暗条件下で3日間発芽させた。播種後明・暗条件下で更に4日間生育させた。生育には、1/2強度の水耕液を使用した。

(3) 処理方法

根部処理 各植物の幼苗の根を蒸留水で洗浄し、予め調整した fluazifop-butyl と sethoxydim の溶液 (1%アセトンを含む) に 24 時間浸漬後、蒸留水で処理部位を洗浄した。その後、1/2 強度の水耕液を入れたポリエチレン製瓶 (内容量 300ml) に移してグロースチャンバー内で生育させた。処理前と処理後 48、96、144 時間に新鮮重を測定し、更に処理後 7 日目のものを 85°C で、48 時間乾燥した後、乾燥重を測定した。処理は 3 連でそれぞれ 3 本の幼苗を使った。

茎葉処理 各植物幼苗の茎葉部 (種子と接しているところが含まれていない、以下同様) を両剤の処理液 (1%アセトン、0.1% Tween20 を含む) に 2 時間浸漬した後、蒸留水で処理部位を洗浄した。その後の生育方法及び、測定内容は根部処理と同じとした。処理は 3 連で行い、それぞれ 3 本の幼苗を使った。以後行う茎葉処理は、すべてこれと同様の方法で行った。アセトンの濃度は、最大で 2% であったが、この濃度のアセトンは供試した植物の幼苗の生育には影響を与えたなかった。

本研究では、すべての実験を 2 回以上繰り返して行った。

1. 2. 3 結果と考察

<エンパクの生育に対する影響>

Fig. 1-1 で示したように、根部処理では fluazifop-butyl と sethoxydim の両剤とともに 1 μ M と 10 μ M でエンパクの生育を強く阻害した。一方、茎葉処理の場合 fluazifop-butyl の 1 μ M では阻害作用が見られたが、sethoxydim の同濃度では見られなかった。これらの結果から、両剤に対してエンパクが感受性であること、さらに、sethoxydim より fluazifop-butyl の殺草作用が強いことが分かった。また、経時的に新鮮重の変化を見ると、コントロールと比較し、sethoxydim の 1 μ M 茎葉処理以外は、全部 48 時間で抑制効果が認められ、それ以後は殆んど生長しなかつた。

エンパクを両剤で処理すると、茎葉基部のクロロシスが以下に記載するよう

に発生した。

Fluazifop-butyl 处理 : 10 μ M 处理では、根部と茎葉部処理とともに処理後 48 時間に茎葉基部が黄白化し、さらに 96 時間では褐色になった。葉身の下部はすべて白化し、144 時間後には白化した部位が褐変した。葉先も脱水による乾燥が観察された (Fig. 1-5)。一方、1 μ M 处理では、10 μ M 处理と比較して症状の発現がやや遅れた。

Sethoxydim 处理 : 10 μ M 处理では、fluazifop-butyl と同様に茎葉基部の黄化、黄白化が確認されたが (Fig. 1-5)、茎葉基部の褐変は見られなかった。

<トウモロコシの生育に対する影響>

Fig. 1-2 で示したとおり、fluazifop-butyl は、根部処理および茎葉処理とともに低い処理濃度 (1 μ M) でもトウモロコシの生育を抑制したのに対し、sethoxydim の場合、10 μ M の根部処理では完全に抑制したが、1 μ M の根部処理では抑制作用は弱かった。茎葉処理で生育抑制が見られたのは 10 μ M 処理のみであった。これらの結果から両剤に対してトウモロコシが感受性であること、さらに、エンパクと同様に、fluazifop-butyl の活性が高いことが分かった。

両剤で処理したトウモロコシでは、fluazifop-butyl の場合、処理後 96 時間に根部と茎葉部処理とともに 10 μ M 処理区で茎葉基部が褐色になり始め、少し出ていた第 3 葉の先が枯れた。120 時間後では、第 3 葉は完全に枯れ、第 1, 2 葉も脱水、萎凋して葉の先端が内側に巻いた。144 時間後になると、さらに症状が進んで、茎葉基部も黒褐色になり、壞死状態となった。1 μ M ではエンパクと同様に症状の発現が遅く、144 時間後になっても茎葉基部の壞死は見られなかった。Sethoxydim 10 μ M 処理の場合、fluazifop-butyl と同様な症状発生が観察されたが、1 μ M の根部処理では葉身の下部が白化する独特な症状が見られた。

<エンドウと大根の生育に対する影響>

Fluazifop-butyl と sethoxydim の両剤はともにエンドウおよびダイコンの生育にはほとんど影響がなかった (Fig. 1-3, 1-4)。

以上の結果から、fluazifop-butyl と sethoxydim は広葉植物とイネ科植物の間に高い選択性を示し、ともにイネ科植物に高い殺草活性を示すことが確認された。これは両除草剤における以前の報告と全く同じ結果であった (芳賀ら, 1987; 石川ら, 1985)。一方、両剤の処理による症状は、まず茎葉基部に最初に現れるこ

とから、それらの除草剤の作用点は茎葉基部にある分裂組織にあることが推測された。また、害徵の発生に要する時間が遅いこと、及び植物が完全に枯死するまで必要な時間が非常に長い(2週間以上)ことから、以前に報告されたイネ科植物に対する両除草剤の遅効性(芳賀ら, 1987; 石川ら, 1985)を本研究でも確認した。

これらの結果から、今後の研究には感受性のエンバクと耐性のエンドウを用いることにした。

1. 3 エンバクに対する fluazifop-butyl と sethoxydim の生育抑制作用における処理部位の影響

1. 3. 1 目的

上記の生物試験でエンバクが fluazifop-butyl と sethoxydim に感受性を示すことが確認できたが、その作用部位を明らかにすることを目的とし、エンバク幼苗の茎葉部を三つの部分にわけて薬剤処理を行い、それぞれの作用特性を調べることにした。

1. 3. 2 材料と方法

<材料>

供試植物： エンバク

供試薬剤： Fluazifop-butyl; Sethoxydim

<方法>

発芽後 4 日目のエンバク幼苗の茎葉部を、Fig. 1-6 で示したように、先端、中部および基部の三つの部分に分け、それぞれの部分に吸水紙(キムワイスTM)を 4 周巻き、その上に薬剤溶液(1%アセトンと 0.1% Tween20 を含む)を滴下し、2 時間吸収させた後、前述の茎葉処理と同様にグロースチャンバー内で生育させ、新鮮重を測定した。処理時、非処理部位への溶液の流失を防ぐために、幼苗を横にした。

1.3.3 結果と考察

先の生物試験において、イネ科植物における両除草剤の作用部位は茎葉基部の分裂組織にある可能性が示唆された。それをさらに確認するために、エンバク幼苗の茎葉部を三つの部分に分けて処理したときの影響を調べた。その結果、エンバク茎葉部の中央部 (Middle part) および基部 (Basal part) への処理では、全茎葉部処理 (All shoot) と同じく幼苗の生長を著しく抑制したが、先端部処理 (Top part) では fluazifop-butyl は、茎葉長が 8.5cm の比較的小さい幼苗に対しては著しく生育を抑制したのに対し、茎葉長が 10.5cm の大きい幼苗では、抑制力が低下した (Fig. 1-7 A, B)。一方、sethoxydim の場合、茎葉長が 8.5cm の小さい幼苗に先端部処理した場合でも、生育抑制は小さかった (Fig. 1-7 C)。しかし、すべての処理部位において、茎葉基部にクロロシス症状が確認された。これは両剤がエンバクの茎葉部のどの部位から吸収されても、基部にある分裂組織まで移行して作用することが考えられ、両剤の作用点はエンバクの分裂組織にあることが改めて示唆された。このことは、その他の AOPP 剤に関する報告からも示唆されている (Brezeanu et al., 1976; De Prado et al., 1999; Gronwald, 1986; Hoppe, 1981)。また、両剤における抑制作用発現の違いは、吸収・移行性によるものと推測される。つまり、先端部処理の場合、吸収された薬剤が基部に移行する距離は、幼苗が大きければ大きいほど長くなり、到達した量も少なくなるのではないかと考えられる。Fluazifop-butyl の植物における移行性について Carr ら (1986) は *Setaria viridis* を用いて実験を行った。第 3 葉に処理して 72 時間後では 0.64%のみが分裂組織に移行し、98%が処理場所に残留していた。これは fluazifop-butyl の植物内での移行性がかなり小さいことを示唆している。

1.4 キク科雑草の生育に対する fluazifop-butyl および sethoxydim の影響

1.4.1 目的

Fluazifop-butyl を使用したブラジルの圃場ではキク科の *Acanthospermum hispidum* が枯殺されるという観察がある。その現象の確認及び他のキク科雑草の薬剤感受性を調べることを目的とし、生物試験を行った。

1.4.2 材料と方法

<材料>

供試植物：*Acanthospermum* 属：*A. hispidum*; *A. australe*

Bidens 属：コセンダングサ (*B. pilosa*)

Galinsoga 属：コゴメキク (*G. parviflora*)

Sonchus 属：ノゲシ (*S. oleraceus*)

これらの植物の種子は全部ブラジルから購入した。

供試薬剤：Fluazifop-butyl; Sethoxydim

<方法>

(1) 植物の育成

各植物の種子を約10時間吸水させた後、湿ったバーミキュライト内に播種し、アルミニウム箔で覆い、グロースチャンバーにて発芽させた。発芽後、1/2強度の水耕液を2~3日毎に一回ずつ与え、12時間ずつの明暗条件(25/20°C)において、4葉期まで育てた。

(2) 処理方法

各植物の幼苗(発芽してから約18~30日間のもの：4葉期)の茎葉部(根部と接しているところは含まない。以下同様)を各濃度の薬剤溶液に2時間浸漬処理した後、蒸留水で洗浄し、1/2強度の水耕液を入れたポリ容器に移植しチャンバー内で生育させた。生育期間中は、エアポンプで水耕液中に空気を供給した。調査は1, 2, 2と同様に行った。

1.4.3 結果と考察

本実験では5種のキク科雑草(*Acanthospermum hispidum*, *Acanthospermum australe*, *Sonochus oleraceus*, *Galinsoga parviflora* と *Bidens pilosa*)の生育に対するfluazifop-butylおよびsethoxydimの影響を調べた。

Fig. 1-8 で示したように、*A. hispidum* の幼苗の生育が10~100μMのfluazifop-butylで強く抑制されたのに対し、対照薬剤のsethoxydim処理では抑制作用は見られなかった。また、エンバクで観察されたfluazifop-butylとsethoxydimの症状(Fig. 1-5)とは異なり、fluazifop-butylで処理した*A. hispidum* の幼苗においては早い場合には処理後8時間(100μM処理の場合)、遅くとも18時間

($10\mu\text{M}$ 处理の場合) で、茎頂および展開した最新葉の葉脈の褐色化がみられ、続いてその葉の萎れが観察された。その後、症状が他の葉あるいは茎頂から第一本葉までの茎部に拡大し、褐色になった。処理後 48 時間 ($100\mu\text{M}$) と 72 時間 ($10\mu\text{M}$) では、すべての葉が壊死して、個体の枯死に至った (Fig. 1-9)。

A. australis も fluazifop-butyl に感受性を示した (Fig. 1-10)。Sethoxydim 処理では、生育に全く影響が見られなかつたが、fluazifop-butyl 処理では濃度依存的に生育抑制が見られた。症状の発生も *A. hispidum* と殆んど同じであった (Fig. 1-11)。

一方、*Acanthospermum* 属と異なる他の三種のキク科雑草である *S. oleraceus*, *G. parviflora* と *B. pilosa* では、 $100\mu\text{M}$ で処理しても、fluazifop-butyl および sethoxydim による生育抑制は見られなかつた (Fig. 1-12, 1-13)。また、耐性植物であるエンドウに対しても、両薬剤による生育抑制は見られなかつた (Fig. 1-14)。

以上の結果から、キク科植物のなかで、*Acanthospermum* 属だけが fluazifop-butyl に感受性を示すことが明らかとなり、その作用特性はエンバクにおけるものとは大きく異なることも明らかとなつた。

AOPP 系除草剤に対して、イネ科植物が感受性を示すのに対し、広葉植物は耐性を示すということは既によく知られた知見である (Burton et al., 1989) が、本実験の結果から、植物の種類によってそれと異なる応答も存在することが明らかとなつた。また、これらの結果から熱帯から温帯の一部まで広範に分布している *A. hispidum* の防除に、fluazifop-butyl を利用できる可能性が示された。さらに、除草剤分野の研究発展において、耐性を示すはずの植物が感受性を示す事実が見出されたことは重要な意義がある。

1. 5 *Acanthospermum hispidum* の生育に対する他のアリールオキシフェノキシプロピオニ酸系除草剤の影響

1. 5. 1 目的

1. 4 の結果から、fluazifop-butyl に対する *Acanthospermum* 属植物の感受性が確認されたが、その他の AOPP 効剤に対しても感受性であるのかについてはまだ不明である。また、AOPP 系除草剤には分子構造上一つのキラル中心があり、*R*-と *S*-の二つの異性体のうち、*R*-異性体がイネ科植物に対する活性本体になって

いることが既に報告されている (Hoppe and Zacher, 1985; Nakahira, 1998; Nakahira et al., 1988; Ratterman and Balke, 1989; Rendina et al., 1988)。そこで、*A. hispidum*において、fluazifop-butyl 以外の AOPP 剤および fluazifop-butyl の *R*-異性体である fluazifop-P-butyl を用いて、それぞれの薬剤の殺草活性を比較するために本実験を行った。

1. 5. 2 材料と方法

<材料>

供試植物 : *A. hispidum* (4 葉期)

供試薬剤 : Diclofop-methyl; Quizalofop-ethyl; Fenoxaprop-ethyl;

Haloxyfop-methyl; Cyhalofop-P-butyl;

Fluazifop-butyl (*R*-と *S*-の混合体); Fluazifop-P-butyl (*R*-体)

Diclofop-methyl, quizalofop-ethyl, fenoxaprop-ethyl, haloxyfop-methyl および cyhalofop-P-butyl の純度は、それぞれ、99.0, 98.0, 98.0, 99.0 と 99.0% であった。

Fluazifop-P-butyl (純度 : 95.3%) は石原産業株式会社より譲渡を受けた。

<方法>

1. 4. 2 で述べた茎葉処理と同じとした。

1. 5. 3 結果と考察

先の実験結果から、fluazifop-butyl に対してキク科植物の中で、*Acanthospermum* 属のものだけが感受性を示すことが分かった。しかし、これは fluazifop-butyl だけに特異的なものであるのか、あるいはその他の AOPP 剤によってもこの属の植物の生育が抑制されるのかは、まだ分かっていなかった。そこで、*A. hispidum* を用いて、他の AOPP 系除草剤である dicofop-methyl, cyhalofop-P-butyl, haloxyfop-methyl, quizalofop-ethyl および fenoxaprop-ethyl に対する感受性を調べた。その結果、Fig. 1-15 と Fig. 1-16 で示すように、これら 5 つの AOPP 剤では共に *A. hispidum* の幼苗の生育を抑制しなかった。このことから、*A. hispidum* が fluazifop-butyl に対して、特異的に感受性を示すことが分かった。これは、非常に興味深い結果であると考える。

Fig. A で示したとおり、6 種の AOPP 剤はフェノキシプロピオニ酸のアルキル

エステル構造を有している。このエステル結合が加水分解されれば、全てプロピオニ酸となる。一方、アリール基部分の構造には、大きな違いがある。特に、fluazifop-butyl と cyhalofop-P-butyl では、fluazifop-butyl の場合、5-trifluoromethyl-2-pyridyloxy 基であるのに対し、cyhalofop-P-butyl では、4-cyano-2-fluorophenoxy 基となっている。したがって、*Acanthospermum* 属の植物だけが fluazifop-butyl のアリール基部分と反応できる生体構造を持っている可能性がある。同系の除草剤である SC-1084 (商品名 : Stauffer; Imamura et al., 1991) は fluazifop-butyl と全く同じ構造を有していることから、この属の植物に毒性を示す可能性が高いと予想されるが、残念ながら、この薬剤は入手できなかつたため、生物試験には取り込めなかつた。

一方、R-と S-異性体の混合体である fluazifop-butyl および R-異性体だけである fluazifop-P-butyl を用いて生物試験を行つたところ、Fig. 1-17 と Fig. 1-18 に示すように、10~100μM 処理では両剤ともに *A. hispidum* の幼苗の生育を強く抑制した。しかし 1μM 処理の場合、fluazifop-P-butyl のみに抑制作用が見られた。S-体だけの fluazifop-butyl は入手ができなかつたため、S-体による作用の確認はできなかつたが、この結果から少なくとも、R-異性体である fluazifop-P-butyl のほうが、混合体である fluazifop-butyl より活性が高いということが分かつた。これはイネ科植物における AOPP 系除草剤の活性本体に関する報告と一致している (Hoppe and Zacher, 1985; Nakahira, 1998; Ratterman and Balke, 1989; Rendina et al., 1988)。つまり、*A. hispidum* における fluazifop-butyl の活性本体も、イネ科植物の場合と同様に、R-異性体である可能性が高いことと考えられる。

一方、fluazifop-P-butyl の根部処理による *A. hispidum* の幼苗の生育に対する影響を調べたところ、10~100μM 処理ではその生育が顕著に抑制されたのに対し、1μM 処理では抑制効果が低かつた (Fig. 1-19)。この結果から fluazifop-P-butyl が同植物の根部からも吸収されることが明らかとなつたが、根部処理 (24 時間) と茎葉部処理 (2 時間) の処理時間から考えると、茎葉処理のほうは明らかに除草効果が高いことが分かつた。

1. 6 *Acanthospermum hispidum* における fluazifop-butyl の殺草作用に対する光の関与

1. 6. 1 目的

Fluazifop-butylなどのAOPP系除草剤はジフェニルエーテル系除草剤を基礎として開発されたため、ジフェニルエーテル構造を有している。ジフェニルエーテル系除草剤は光要求性除草剤としてよく知られている（松本, 1990）。そこで、*A. hispidum*におけるfluazifop-butylの殺草作用にも光が必要であるのかを調べるために本実験を行った。

1. 6. 2 材料と方法

<材料>

供試植物：*A. hispidum*

供試薬剤：Fluazifop-P-butyl

<方法>

基本的な処理および調査の方法として、1. 4. 2 で述べた茎葉処理法を用いたが、本実験では、明条件と暗条件の二つに分けて処理したため、暗条件の場合、薬剤溶液に入る時から測定が終わるまで、光を遮断した条件下で行い、それに対し明条件では、光を連続照射した。

1. 6. 3 結果と考察

1μM と 100μM の fluazifop-P-butyl で処理した場合、両濃度とも、明条件と暗条件下で *A. hispidum* の生育を抑制した（Fig. 1-20）。ただし、1μM 処理の場合、暗条件下では植物の生育を完全に抑制したのに対し、明条件下では 48 時間以降、わずかな回復が見られた。これは、暗条件下では光合成が完全に停止し、養分の供給が絶たれることにより抑制作用が促進され、明条件下では光合成によって養分が常に供給されていることにより回復したと考えられる。しかし、明条件では、可視症状の発現が暗条件下より 10~12 時間速くなつたことも分かった。Fig. 1-21 は処理後 96 時間における写真である。明条件の場合、明暗条件で生育させた場合の症状とあまり変わらなかつたが、暗条件の場合、図に示すように、

青黒く見えた。

本実験の結果から *A. hispidum* に対する fluazifop-butyl の作用には、光は必要条件でないことが分かった。Fluazifop-butyl の構造上、ジフェニルエーテル系除草剤と共通な構造があっても、*A. hispidum* における当剤の作用機構はジフェニルエーテル系除草剤のようなクロロフィル生合成抑制とは違う可能性が示唆された（松本, 1990）。

1. 7 *Acanthospermum hispidum* における fluazifop-butyl の殺草作用に対する処理方法の影響

1. 7. 1 目的

生物試験から、*A. hispidum* の茎葉先端部の生長点が fluazifop-butyl の作用部位である可能性が示唆された。そこで、作用部位を特定するために、植物全体または一部を処理した後、茎葉先端部の生長点を含まない葉における症状の発現の様子を比較した。

1. 7. 2 材料と方法

<材料>

供試植物：*A. hispidum*

供試薬剤：Fluazifop-P-butyl

<方法>

展開した葉への影響：本実験は、以下に述べる二つの方法で行った。

(1) 2 時間薬剤の溶液に茎葉部（根部と接しているところを含まない）を浸して処理した直後、処理部位を蒸留水で洗浄し、すでに展開が終了した葉を葉柄基部から切り取り、試験管に入れた蒸留水に葉柄部を浸した状態で生育させ、症状を観察した。

(2) 未処理の幼苗から、すでに展開が終了した葉を葉柄部から切り取り、fluazifop-P-butyl の 10μM 溶液（1%アセトンと 0.1% tween 20 を含む）に 5 時間浸して処理した後、同薬剤溶液を入れた試験管に葉柄部を浸した状態で生育させ、症状を観察した。

1.7.3 結果と考察

本実験では、作用部位を特定するために、植物全体または一部を処理した後、生長点を含まない葉における症状の出方を比較した。

展開後の葉の場合、いずれの処理においても処理葉の変色や萎れのような症状は見られなかった（データ省略）。これらの結果から、葉から吸収された fluazifop-butyl が展開後の葉に直接作用することはないと示唆され、*A. hispidum* における fluazifop-butyl の作用部位は葉ではなく、生長点にある分裂組織であると考えられた。これは前述の生物試験で観察された症状の発生の様子と一致している。つまり、分裂組織での作用によりまず幼苗先端部の組織が破壊される。そして、導管を含んでいる維管束の破壊により葉への水供給が止まり、葉の萎れや葉組織の破壊をもたらして枯死するのではないかと推測された。

一方、1.3.2 で述べたように、エンバクのようなイネ科植物における fluazifop-butyl の作用部位も茎葉基部にある分裂組織であるため、*A. hispidum* の場合と共通すると考えられる。

1.8 要約

Fluazifop-butyl のような AOPP 系除草剤、および sethoxydim のような CHD 系除草剤に対してイネ科植物は感受性を示すが、広葉植物は耐性を示す。しかし、広葉植物の中で、キク科の *A. hispidum* は AOPP 系除草剤である fluazifop-butyl で枯殺されるという圃場レベルの観察があった。本章では、イネ科植物における fluazifop-butyl および sethoxydim の作用機構を解明するための基礎データを得るために、生物試験を行い、研究に用いる感受性および耐性の植物を選抜し、さらに、広葉雑草である *A. hispidum* が fluazifop-butyl 以外の AOPP 系除草剤に感受性を示すかどうかを調べた。

(1) Fluazifop-butyl および sethoxydim に対して、日本の栽培品種であるエンバク（前進）とトウモロコシ（ハニーバンタム）は感受性を示したのに対し、エンドウ（早生赤花蔓無し豌豆）とダイコン（早太り時無）は耐性を示した。つまり両剤は、これらのイネ科植物と広葉植物の間に高い選択性を有することが確認された。両剤で処理したエンバクとトウモロコシの幼苗には、茎葉基部の

白化或いは黄白化、褐色化などが観察された。植物が枯死するまで必要な時間は、約2週間以上であることから、イネ科植物における両剤の遅効性が明らかになった。また、生物試験の結果から、今後の研究に使う植物として感受性のエンパクと耐性のエンドウを選択した。

(2) エンパク茎葉部における部位別処理の結果から、両薬剤は吸収後、茎葉基部にある分裂組織に移行し、そこで作用することが示唆された。また、先端部処理で見られた fluazifop-butyl と sethoxydim の違いは両剤の吸収・移行性の違いに起因するものと推測された。

(3) 5種のキク科雑草である *A. hispidum*、*A. australis*、*S. oleraceus*、*G. parviflora* および *B. pilosa* のうち、*Acanthospermum* 属の *A. hispidum* と *A. australis* のみが fluazifop-butyl で枯殺されることが明らかとなった。一方、他の AOPP 系除草剤である diclofop-methyl、haloxyfop-methyl、quizalofop-ethyl、fenoxaprop-ethyl、cyhalofop-P-butyl および CHD 系除草剤である sethoxydim によっては、*A. hispidum* の生育は抑制されなかった。このことから、*Acanthospermum* 属のものだけが fluazifop-butyl のみに特異的に感受性を示すことが明らかとなった。

(4) Fluazifop-butyl で処理した *A. hispidum* の幼苗における症状は、処理後 8 時間 (100μM) ~ 18 時間 (10μM) で、茎葉先端部の茎および展開した最新葉の葉脈の壞死に始まり、続いて上位葉の萎れ、さらに他の葉や生長点から第一本葉までの茎部に症状が拡大し、最後は褐変した。処理後 48 時間 (100μM) と 72 時間 (10μM) では、すべての葉が壞死して、個体は枯死した。これらの症状や殺草までにかかる時間は、エンパクの場合とはまったく異なっていることが分かった。

(5) R-異性体である fluazifop-P-butyl 1μM では、*A. hispidum* 幼苗の生育に対する抑制効果が見られたのに対し、S-異性体との混合体である fluazifop-butyl の同濃度では抑制作用が見られなかった。このことから、少なくとも R-異性体が S-異性体より活性が高いことが分かった。また、fluazifop-P-butyl で 12 時間根部処理したとき、比較的高濃度ではあるが 10~100μM 処理において *A. hispidum* の生育が抑制されたことから、根部処理の場合でも当剤が吸収されて茎葉先端部まで移行することが分かった。しかし、茎葉処理と比べ殺草効果が低いことも分かった。

(6) *A. hispidum* の幼苗における fluazifop-P-butyl の殺草作用には光が必要条件でないことが分かった。ただし、光のある場合が暗条件下より生育抑制の発現が約 10 時間程度早いことも示された。

(7) 展開が終了した葉への処理、及びリーフディスク処理では、全く影響が見られなかつたことから、*A. hispidum* における fluazifop-butyl の作用部位は展開後の葉にあるのではなく、茎葉部の分裂組織にあることが示唆された。これは茎葉処理したときの症状の発生のしかたとよく一致していた。

以上の結果より、両除草剤にイネ科植物が感受性、広葉植物は耐性を示すことが確認された。一方、キク科の *Acanthospermum* 属が fluazifop-butyl に特異的に感受性を示すことも明らかとなった。エンパクおよび *A. hispidum* における fluazifop-butyl の作用部位や活性本体が共通しているにもかかわらず、症状および発生する時間に大きいな違いがあることから、両植物に対する fluazifop-butyl の作用機構は異なる可能性が示唆された。

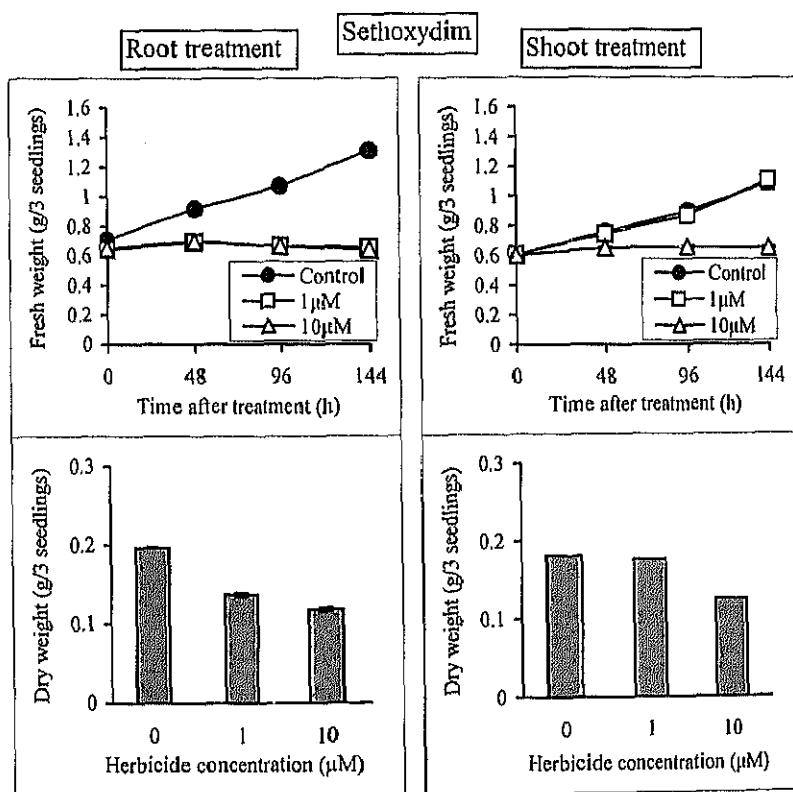
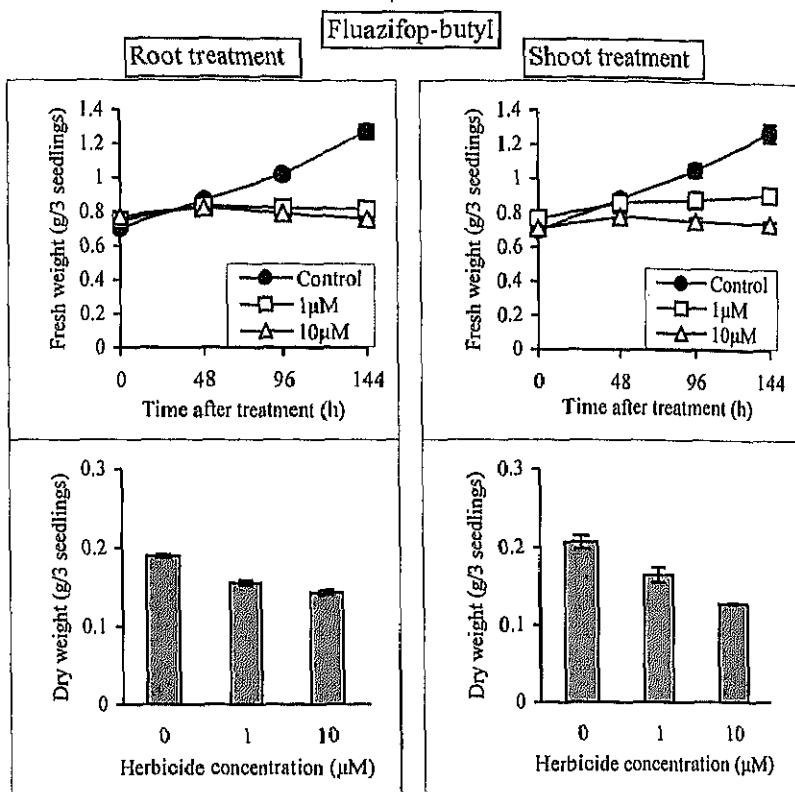


Fig. 1-1 Growth inhibition of oat seedlings by fluazifop-butyl and sethoxydim. Vertical bars represent mean±SE.

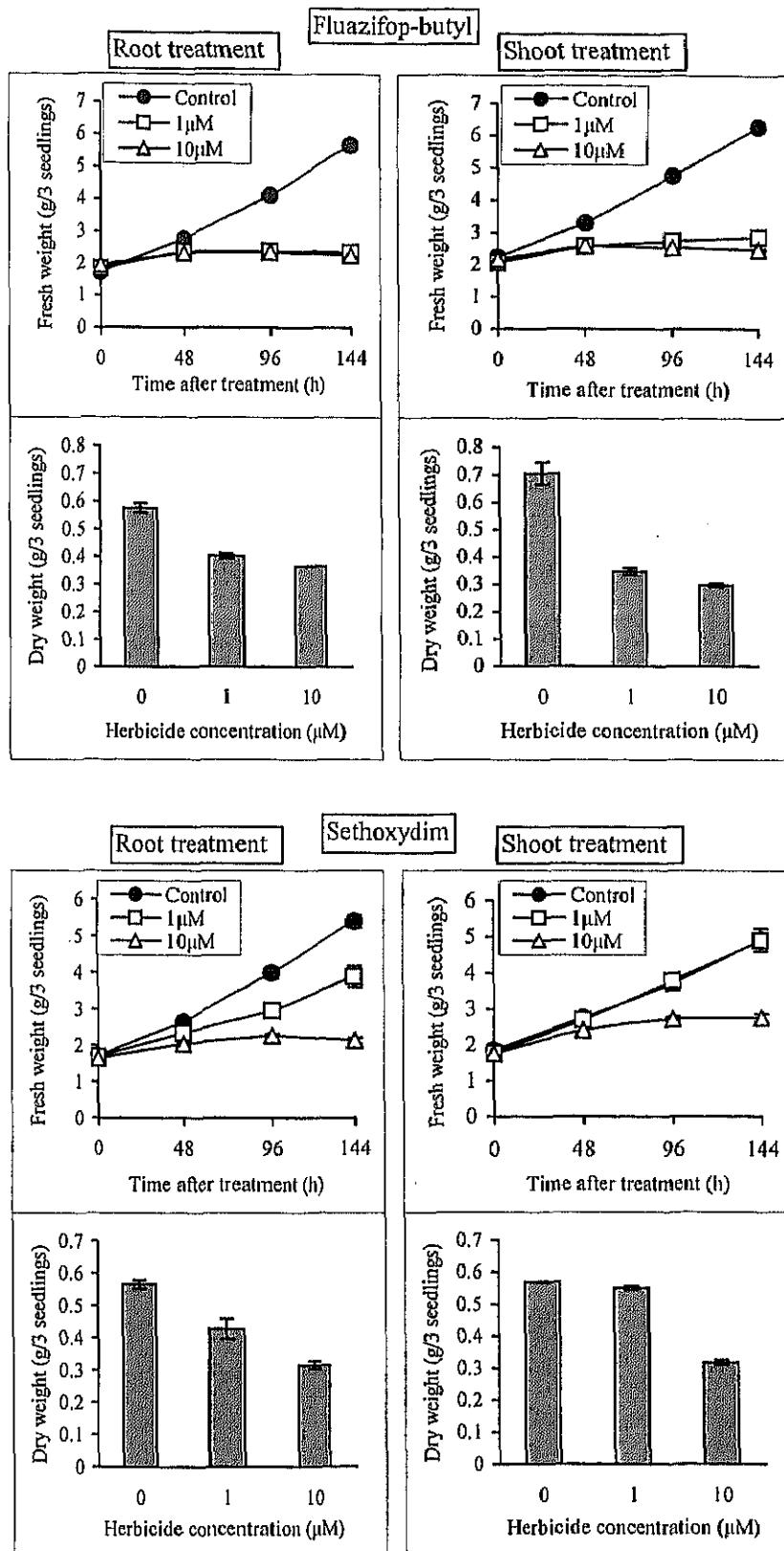


Fig. 1-2 Growth inhibition of corn seedlings by fluazifop-butyl and sethoxydim. Vertical bars represent mean \pm SE.

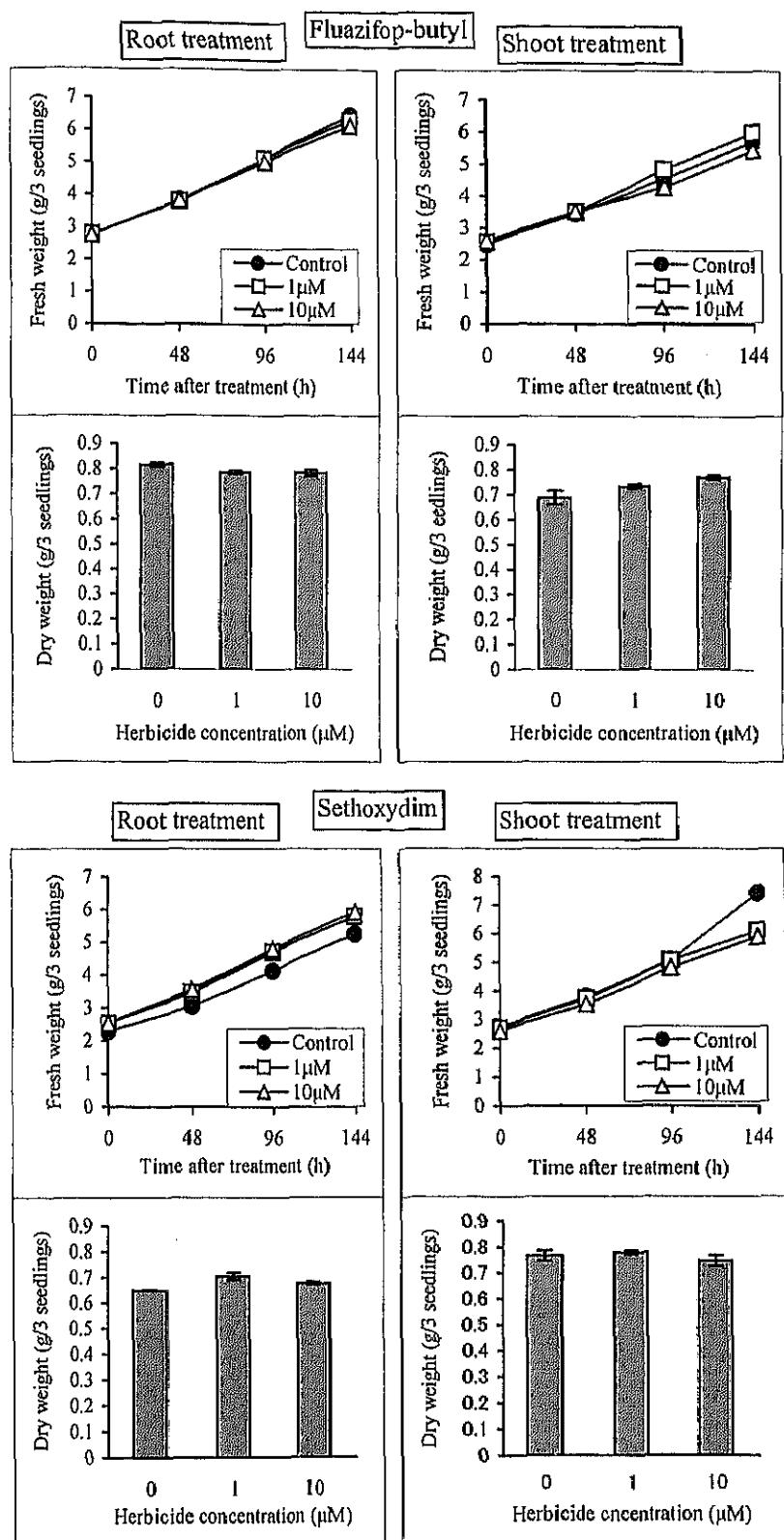


Fig. 1-3 Effect of fluazifop-butyl and sethoxydim on growth of pea seedlings. Vertical bars represent mean \pm SE.

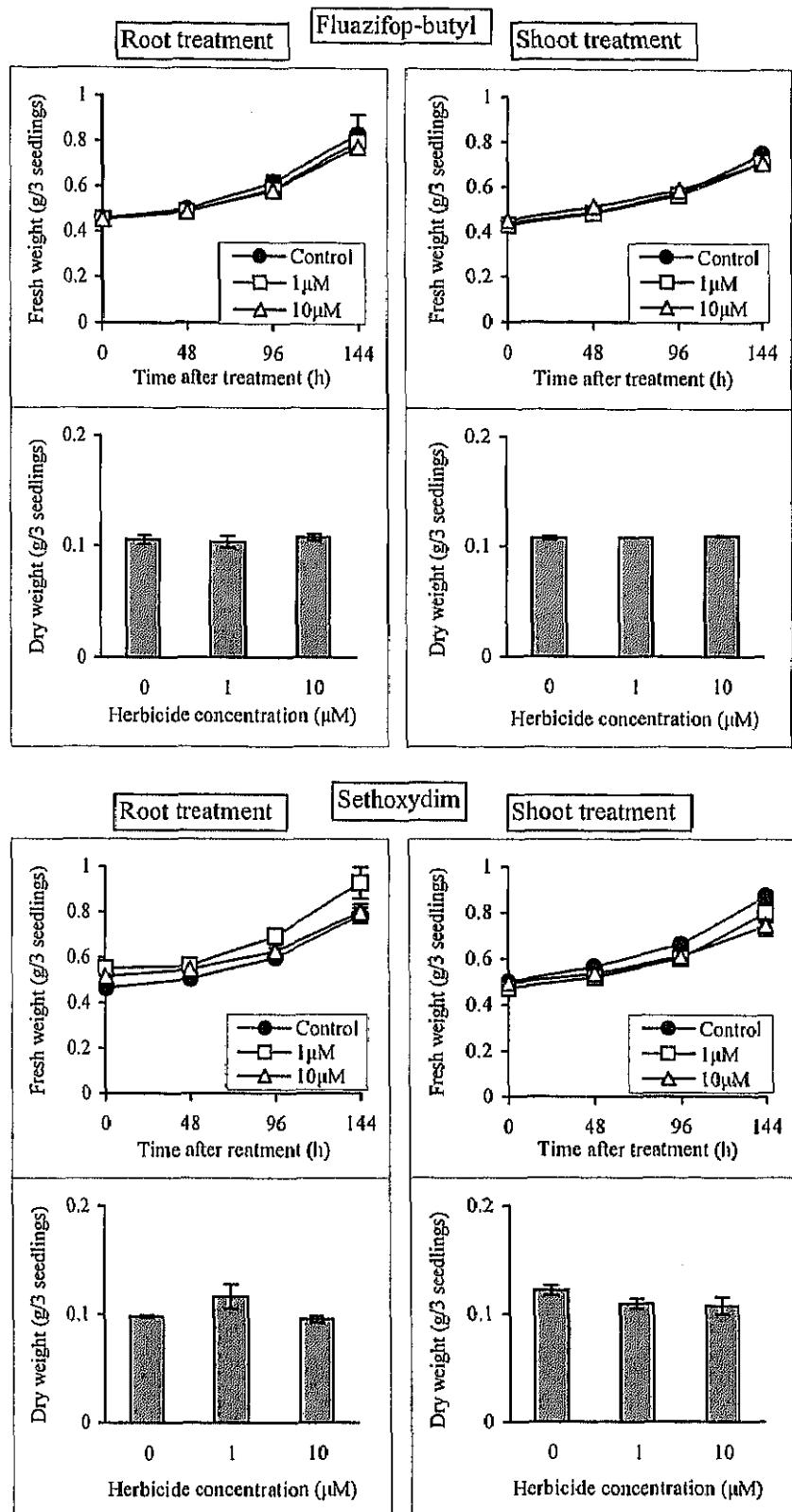


Fig. 1-4 Effect of fluazifop-butyl and sethoxydim on growth of radish seedlings.
Vertical bars represent mean \pm SE.



Fig. 1-5 Phytotoxic symptom of oat treated with fluazifop-butyl and sethoxydim 7 days after treatment.

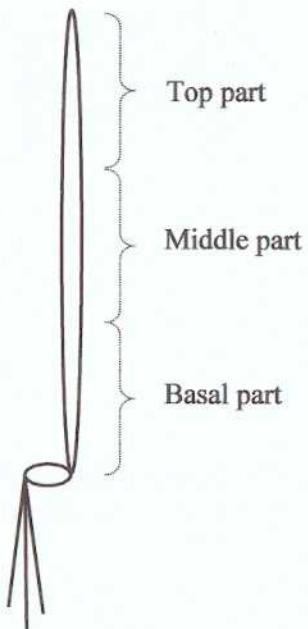


Fig. 1-6 Treatment position of fluazifop-butyl on shoots of oat seedlings.

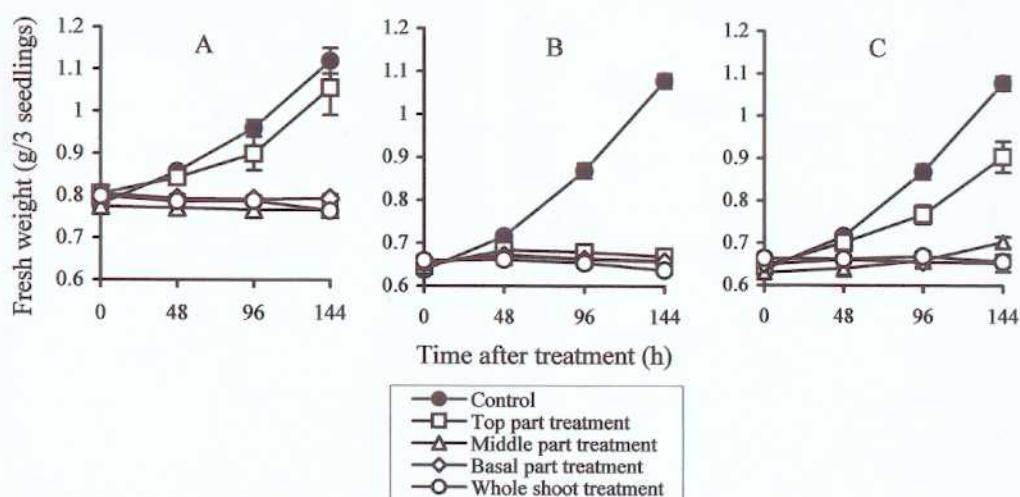


Fig. 1-7 Growth inhibition of oat shoots with fluazifop-butyl and sethoxydim application to different parts of shoots. The shoot length of seedlings before treatment was about 10.5 cm for A (fluazifop-butyl 10 µM), and 8.5 cm for B (fluazifop-butyl 10 µM) and C (sethoxydim 10 µM). Vertical bars represent mean±SE.

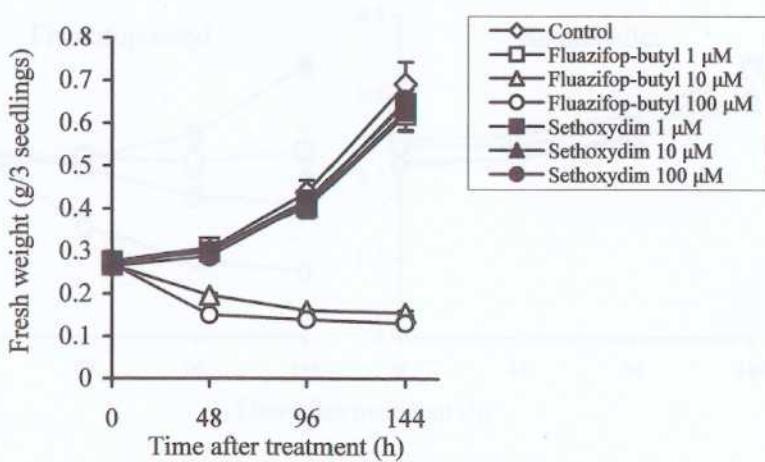


Fig. 1-8 Growth inhibition of *Acanthospermum hispidum* seedlings by fluazifop-butyl and sethoxydim. Vertical bars represent mean±SE.

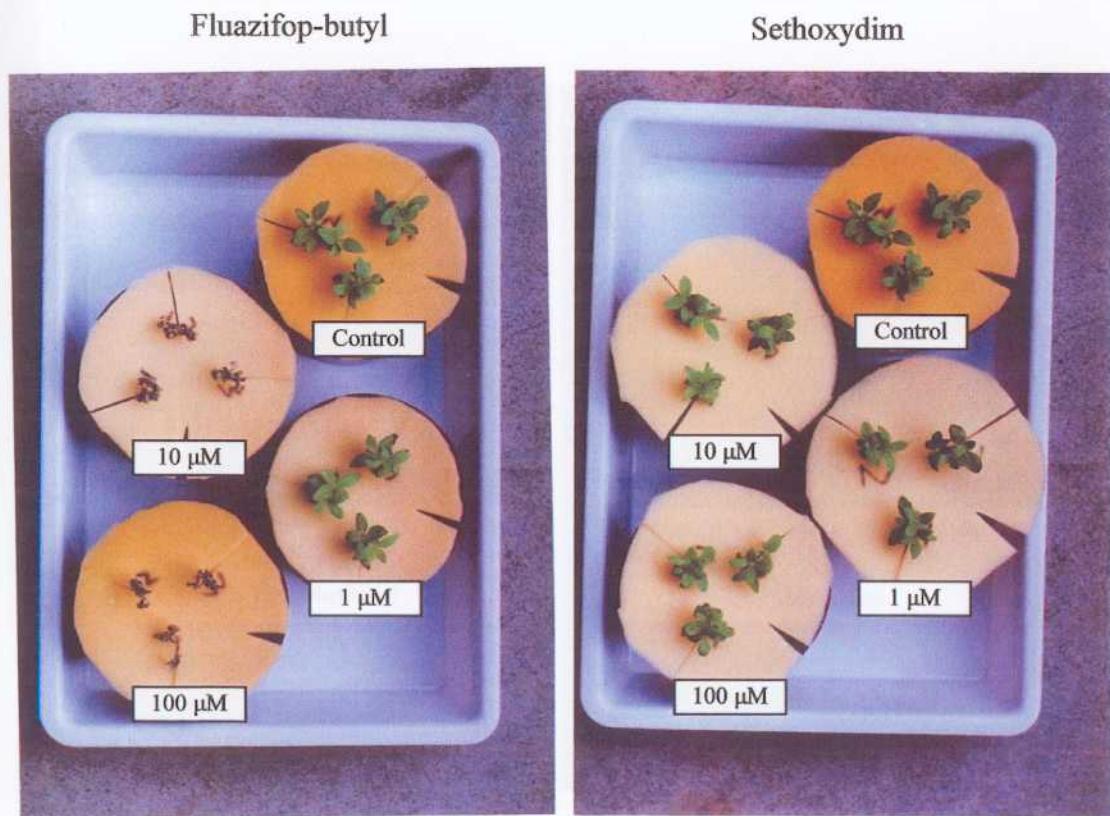


Fig. 1-9 Phytotoxic symptom of *Acanthospermum hispidum* treated with fluazifop-butyl and sethoxydim 96 h after treatment.

Acanthospermum australe seedlings treated with fluazifop-butyl and sethoxydim

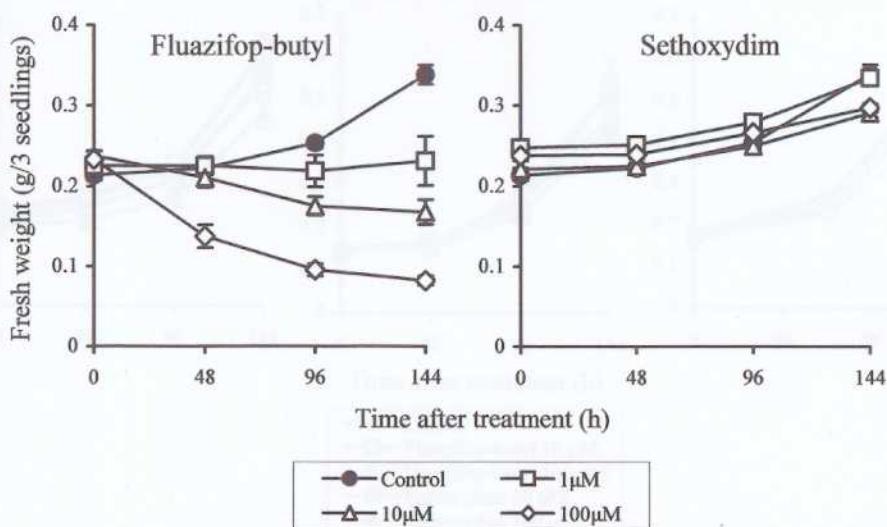


Fig. 1-10 Effect of fluazifop-butyl and sethoxydim on growth of *Acanthospermum australe* seedlings. Vertical bars represent mean±SE.



Fig. 1-11 Phytotoxic symptom of *Acanthospermum australe* treated with fluazifop-butyl and sethoxydim 144 h after treatment.

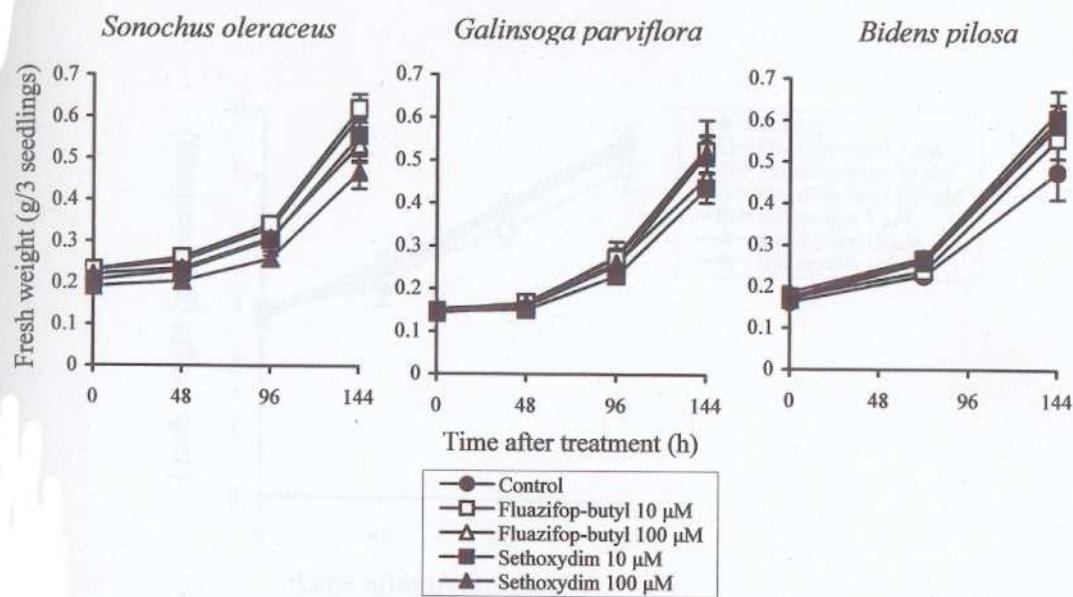


Fig. 1-12 Effect of fluazifop-butyl and sethoxydim on growth of *Sonochus oleraceus*, *Galinsoga parviflora* and *Bidens pilosa* seedlings. Vertical bars represent mean \pm SE.

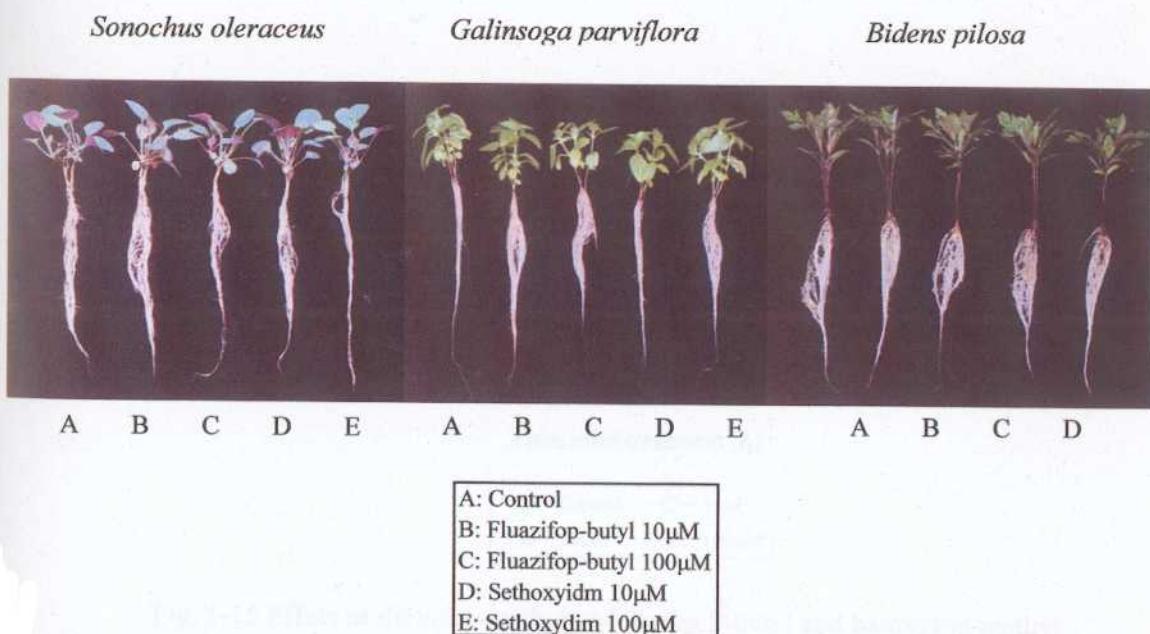


Fig. 1-13 Phytotoxic symptom of *Sonochus oleraceus*, *Galinsoga parviflora* and *Bidens pilosa* treated with fluazifop-butyl and sethoxydim 144 h after treatment.

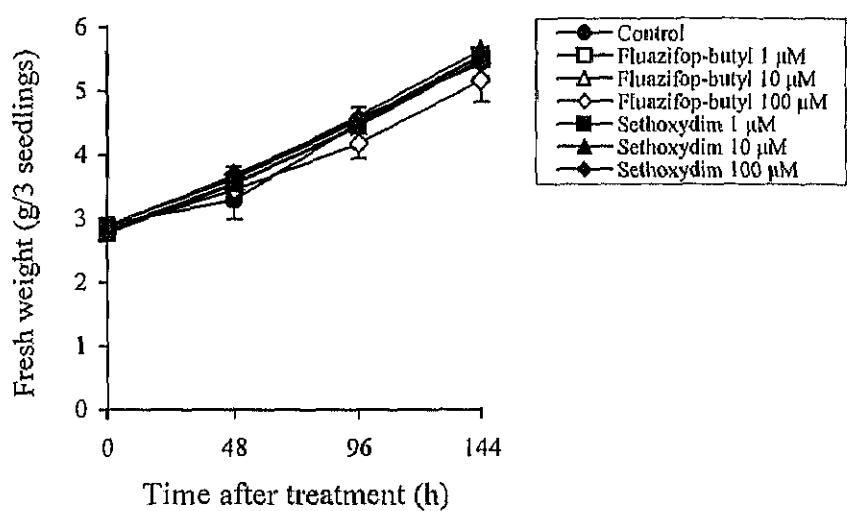


Fig. 1-14 Effect of fluazifop-butyl and sethoxydim on growth of pea seedlings.
Vertical bars represent mean \pm SE.

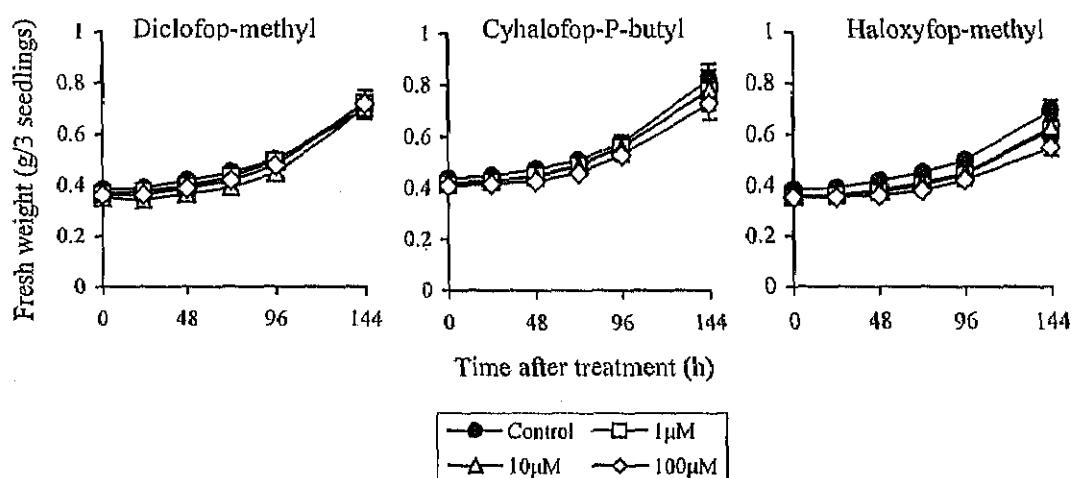


Fig. 1-15 Effect of diclofop-methyl, cyhalofop-P-butyl and haloxyfop-methyl on growth of *Acanthospermum hispidum* seedlings. Vertical bars represent mean \pm SE.

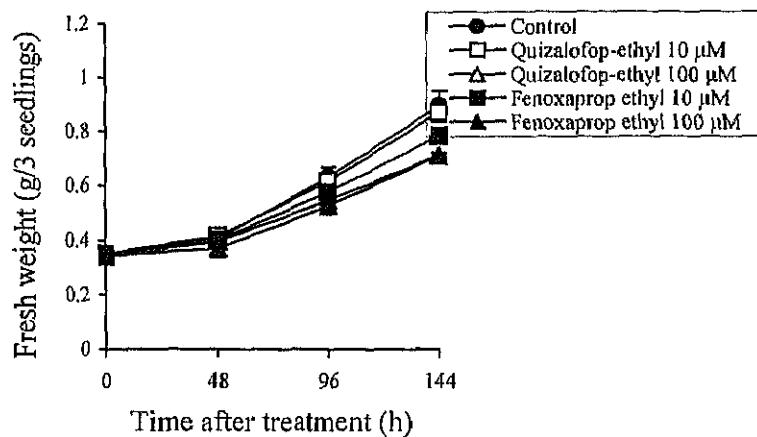


Fig. 1-16 Effect of quizalofop-ethyl and fenoxaprop-ethyl on growth of *Acanthospermum hispidum* seedlings. Vertical bars represent mean \pm SE.

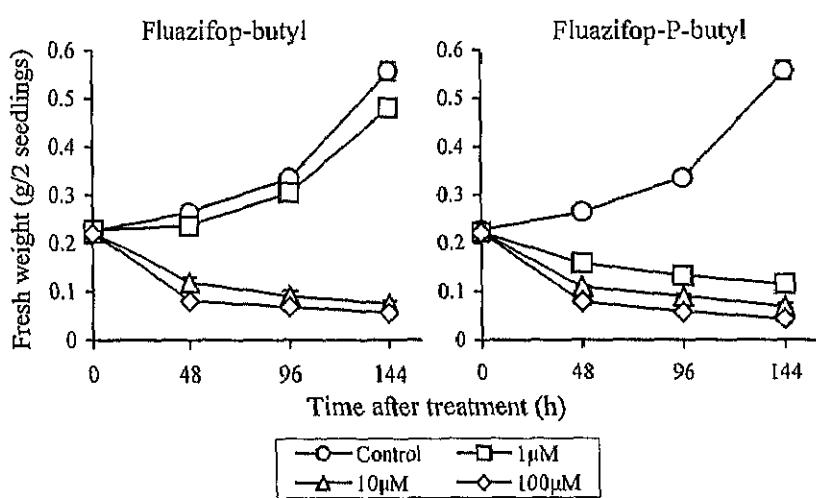
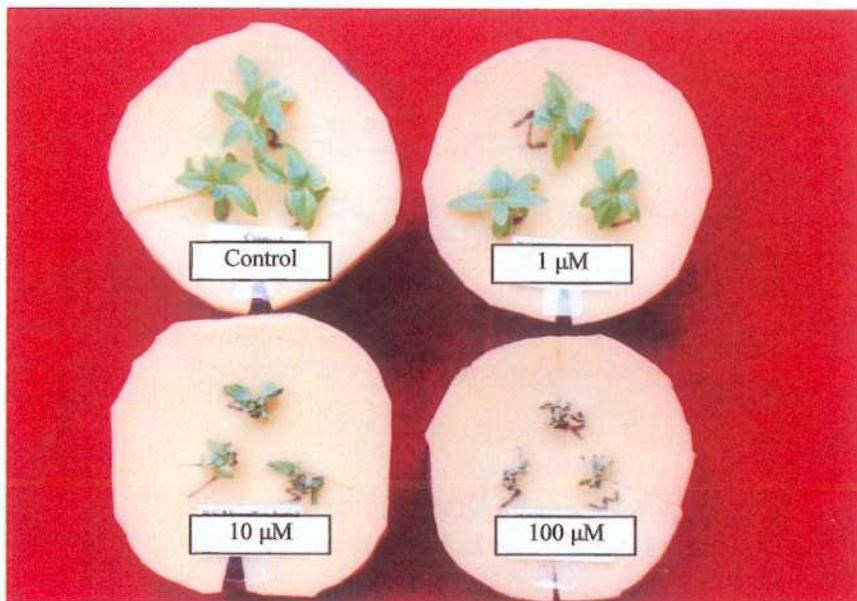


Fig. 1-17 Comparison of action of fluazifop-butyl and fluazifop-P-butyl on growth of *Acanthospermum hispidum* seedlings. Vertical bars represent mean \pm SE.

Fluazifop-butyl



Fluazifop-P-butyl

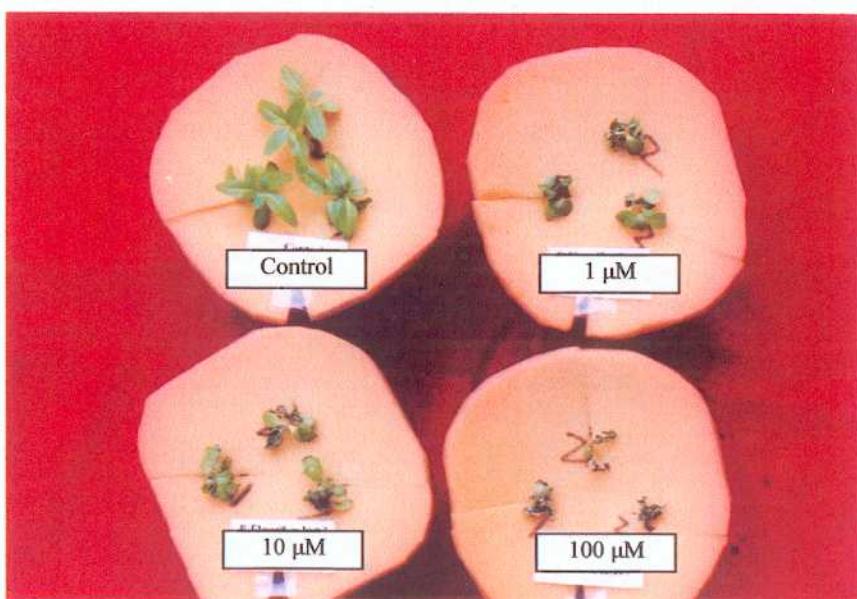


Fig. 1-18 Phytotoxic symptom of *Acanthospermum hispidum* treated with fluazifop-butyl and fluazifop-P-butyl 48 h after treatment.

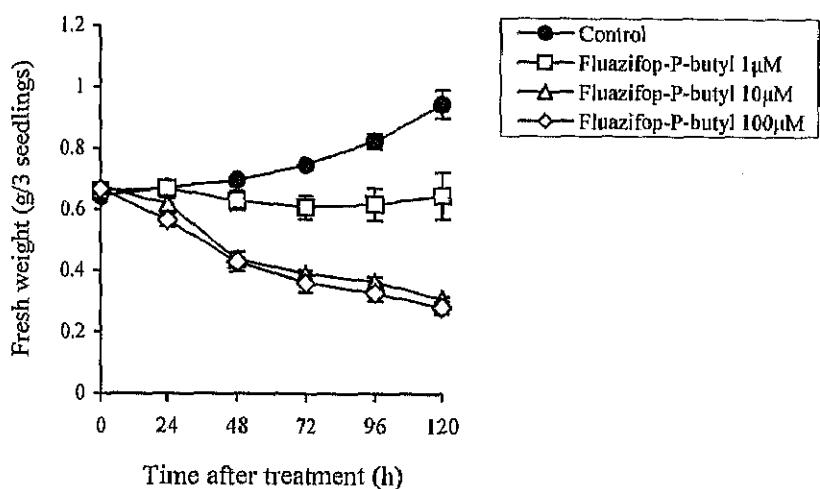


Fig. 1-19 Effect of fluazifop-P-butyl on growth of *Acanthospermum hispidum* seedlings at root treatment. Vertical bars represent mean±SE.

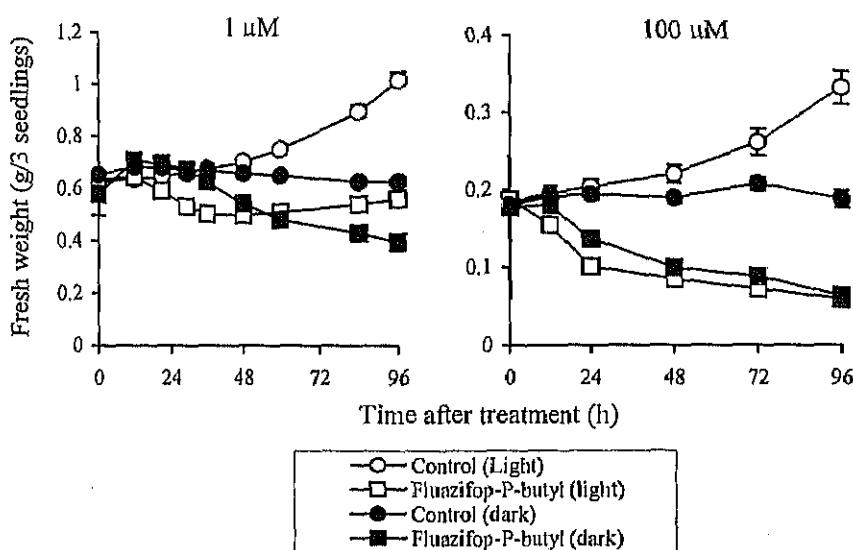
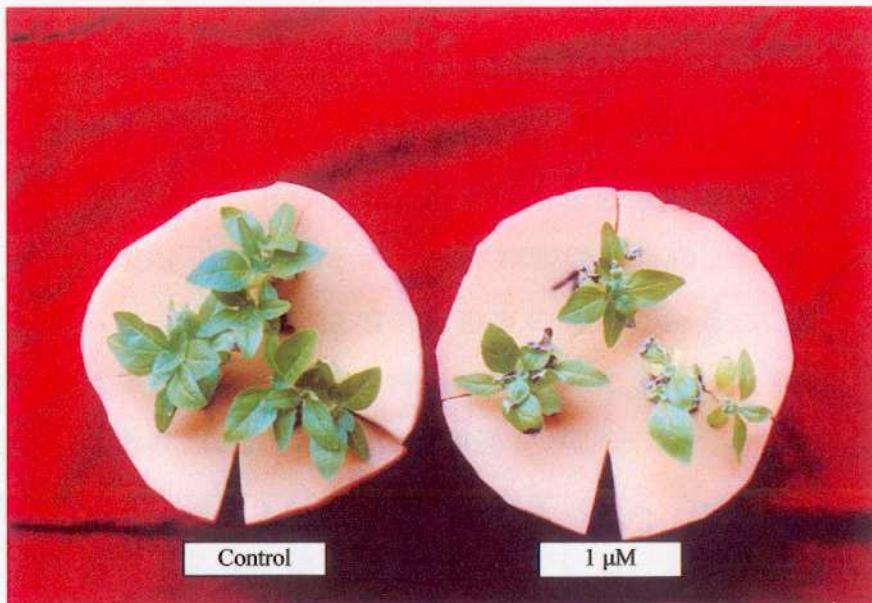


Fig. 1-20 Comparison of action of fluazifop-P-butyl on growth of *Acanthospermum hispidum* seedlings under light and dark conditions. Vertical bars represent mean±SE.

Light



Dark

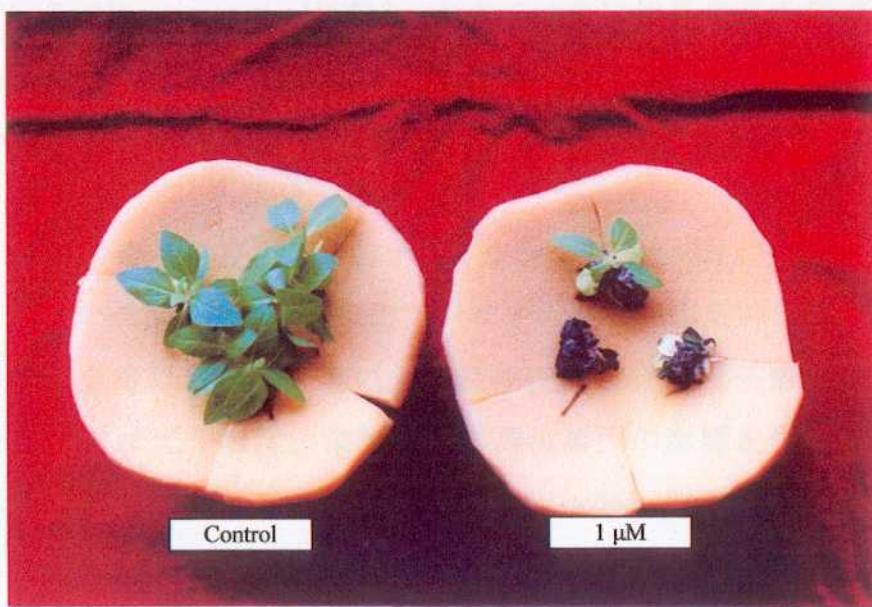


Fig. 1-21 Phytotoxic symptom of *Acanthospermum hispidum* treated with fluazifop-P-butyl, in light or dark condition, 96 h after treatment.