

## 第2章 アンチオーキシン作用と電解質漏出促進効果

### 2.1 序論

植物細胞は、細胞核のほかに、細胞壁と原形質膜からなる表層系、液胞や核、小胞体、リソソーム、ゴルジ体、ミトコンドリア、ペルオキシソームおよび葉緑体などの膜構造系、そして細胞質基質などの系の三つの基本構造系から成り立っている（増田, 1977）。その中で、細胞壁や液胞、ペルオキシソーム、グリオキシソームおよび葉緑体は植物に特有の構造である。これらの細胞の構造成分はそれぞれ異なる生理機能を持っている。たとえば、細胞壁は植物の形を作るのに必要であり、細胞膜は物質の通過をコントロールする役目がある。また、膜や細胞質、各小器官では、様々な生化学反応によって、植物の生長や異物に対する耐性発現に必要な物質が生成されている。しかし、このような生理機能が一旦攪乱されると、生長が阻害され、場合によっては死をもたらすこともある。除草剤の多くは直接、あるいは二次的に植物の生理機能を攪乱する作用を持っている（Devine et al., 1993b）。本章では主に伸長生長を誘導する植物ホルモンであるオーキシンおよび重要な役割を果たす細胞膜に注目し、薬剤によるこれらへの影響と、生育抑制への関与を検討した。

#### 2.1.1 植物の伸長生長におけるオーキシンの役割およびアリールオキシフェノキシプロピオン酸系除草剤のアンチオーキシン作用

植物の生活環における一連の生育過程、たとえば種子形成、休眠、生長、分化、老化などは光や温度、栄養などの環境要因の影響を受けながら、植物の持つ遺伝情報にしたがって進められている。しかし、“植物の生長は生長素なしには起こらない”と Went(1928)が指摘したように、生長素つまり植物ホルモンが、植物の生長現象に重要な役割を果たしている。植物ホルモンは、植物によって生産される調節物質であり、低濃度で植物の生理過程を調節する物質と定義されている（増田ら, 1971）。これまで、植物からオーキシン、ジベレリン、サイトカイニン、エチレン、アブシジン酸、ブラシノステロイドの6つの植物ホルモンが発見されている。中でも、オーキシンは最初に認識された植物ホルモン

で、植物の屈性の現象において刺激を伝える物質として単離され、また、様々な生長調節効果を誘引することが知られている（増田ら, 1971）。オーキシンが茎や幼葉鞘の伸長生長を引き起こすことはよく知られている事実であり、ジャガイモやキクイモ塊茎組織、カルス、果実などの細胞の拡大生長の誘導に関わっている。このような細胞生長に対する作用のほか、オーキシンにより細胞分裂の促進、不定根形成促進等も誘導される。

現在知られている植物固有のオーキシンは indole-3-acetic acid (IAA) である。そのほか、合成オーキシン物質としては 2,4-D、NAA などがよく知られている。これらの化合物は低濃度の場合、植物内生オーキシンの IAA と同じようなオーキシン作用を示す（増田ら, 1971）。

植物細胞の伸長生長に対するオーキシンの作用メカニズムはまだ完全に分かっていないが、現在のところオーキシンが細胞から局所的に  $H^+$  を分泌させ、それによって細胞壁を軟化させ、一方向に細胞を伸ばすと考えられている（増田, 1977）。つまり、オーキシンは膜に結合した水素イオンポンプを直接あるいは間接的に活性化すると考えられている。水素イオンポンプが活性化されると、細胞膜付近の細胞壁の pH は通常の 7.0 から 4.5 にまで低下する。低 pH になると細胞壁内のセルロース繊維間の水素結合が減少し、加えて、細胞壁内に存在する蛋白質や多糖類を分解する酵素なども活性化され、細胞壁を局所的に弱く、軟らかくして細胞の伸長が引き起こされる（Darnell et al., 1989; 増田, 1977）。

オーキシン作用の生物検定には様々な方法があるが、よく用いられているのは伸長検定法である（倉石, 1981）。そこで、本研究では、まずエンバクの子葉鞘伸長法を用いて、実験を行うことにした。

上記のように植物の生長段階ではオーキシンが関与しているが、diclofop-methyl が、オーキシンに対して拮抗作用を有することが Shimabukuro らにより報告された（Shimabukuro et al., 1978）。また、diclofop-methyl (100  $\mu$ M) が処理後 3-4 時間内に、IAA によるエンバクの子葉鞘伸長を完全に抑制したのに対し、diclofop では抑制されなかったこと（Shimabukuro et al., 1982）、fenoxaprop は IAA が誘導するトウモロコシの第一節間伸長を 29% しか抑制しなかったこと（Snipes et al., 1987）、fluazifop はトウモロコシにおけるオーキシン誘導による子葉鞘伸長を全く抑制しなかったこと（Barrett and Olson, 1984）、エンバクの子

葉鞘伸長でもわずかの抑制しか見られなかったこと (Shimabukuro and Walsh, 1986) が報告されている。これらの結果から、AOPP 系除草剤において酸型よりエステル型のほうが IAA で誘導する子葉鞘の伸長生長を抑制しやすいことが示唆されている。

アンチオーキシンの作用機構は、まだ明らかにされていないが、次のようないくつかの仮説が立てられている。(A)、オーキシンレセプター上の競争：diclofop-methyl と 2,4-D が原形質膜にあると想定されるオーキシンレセプター上での結合を競争して、オーキシンの膜への作用を抑制することが示唆されている (Barnwell and Cobb, 1994; Hall et al., 1982)。(B)、原形質膜機能の攪乱—proton ionophore 作用：Wright and Shimabukuro (1987) は diclofop acid の作用における proton ionophore モデルを 1987 年に提唱した。これは、diclofop acid が原形質膜を通して拡散する一方で、pH 勾配 (細胞内側が高い) に応じて解離し、プロトンを細胞質に放出するとするものである。そして、脱プロトンされた除草剤の反方向拡散は膜ポテンシャル (細胞壁側が低い) により阻止され、細胞壁側から他のプロトンを受け取って再び細胞質内に放出する。この作用により原形質膜の本来の  $H^+$ -ATPase による膜電位化学ポテンシャルが崩れることが示唆されている。

このようなアンチオーキシン作用が AOPP 系除草剤の第一次作用である可能性が長期にわたり議論されてきた。

### 2.1.2 膜の透過性に関する研究—電解質漏出に対する影響

高等植物の細胞では、強固な外壁で囲まれている原形質膜は他の生物の原形質膜と同じようにイオン、栄養素、代謝産物の細胞内外への移動を制御する大きな生理機能を果たしている (Finean et al., 1981)。それは、ほとんどの物質に対してはその移動を制限する単なる障壁として働くだけであるが、糖、アミノ酸、ある種の陽イオンのように代謝上重要な物質に対しては、原形質膜の役割は特異的である。原形質膜は濃度勾配に従って、それらの物質を透過しやすくする特別な機構がある。さらに、代謝エネルギーを利用し、細胞に必要な物質を濃度勾配にさからって蓄積し、一方では、細胞内での濃度が低く維持されなくてはならない物質を排除するという機構を備えている場合もある。原形質膜はま

た、ホルモンのような外部刺激に対する細胞の応答の引き金となる機能も保有している (Finean et al., 1981)。一旦、原形質膜が何らかの原因で破壊されれば、その生理機能が攪乱され、植物生長に重大な影響を及ぼすことは必至である。また、透過制御機能の欠失により、細胞内での植物の栄養素である電解質の漏出も予想される。このことから、電解質漏出の測定は、薬剤の膜に対する影響を調べる方法の一つとなっている。

Brezeanu ら (1976) により、diclofop とその methyl エステル体が、細胞膜の完全性を破壊することが報告された。また、Wright and Shimabukuro (1987) は、エンバクの子葉鞘を用い diclofop-methyl が細胞膜のポテンシャル ( $E_m$ ) を脱分極することを報告した。抵抗性品種も脱分極されるが、diclofop-methyl 除去後に再分極されるのに対し、感受性品種のほうは再分極できないことからこの膜ポテンシャルへの影響は diclofop-methyl の作用メカニズムである可能性が示唆されている。更に Crowley and Prendeville (1979) は、diclofop-methyl が intact cells の膜機能を破壊し、原形質膜上のイオンバランスを崩すことを報告した。50 $\mu$ M の diclofop-methyl では、エンバクの葉からの電解質漏出を促進させたことから、その作用が植物に対する毒性に関与していると予測した。一方、CHD 系除草剤に関してはこのような作用は現在のところ報告されていない。

そこで、本章の目的は、(1) fluazifop-butyl と sethoxydim のアンチオーキシン作用の確認及びそれらの作用の両剤の作用機構への関与；(2) 両剤の膜に対する影響を明らかにすることとした。

## 2.2 Fluazifop-butyl と sethoxydim によるエンバクの子葉鞘伸長に対する影響

### 2.2.1 目的

序論で述べたように、diclofop-methyl などの AOPP 系除草剤のオーキシン作用に対する阻害効果は既に証明されている (Barnwell and Cobb, 1993; Qureshi and Born, 1979; Shimabukuro and Hoffer, 1996; Shimabukuro et al., 1978, 1982; Snipes et al., 1987)。そこで、本研究では fluazifop-butyl 及び CHD 系除草剤である sethoxydim によるオーキシン作用の阻害効果の確認を目的とした。

## 2.2.2 材料と方法

<材料>

供試植物： エンバク（前進）

供試薬剤： AOPP：Fluazifop-butyl

CHD：Sethoxydim

Auxins：2,4-D; IAA

2,4-D と IAA の純度は共に 98.0%であった。

<実験項目および方法>

本実験はオーキシン作用の検定によく用いられている子葉鞘伸長測定法を用いた（倉石, 1981）。

### (1) エンバクの子葉鞘伸長における 2,4-D および IAA の有効濃度の確認

子葉鞘の準備： 2%次亜塩酸ナトリウム溶液で消毒したエンバクの種子を一晩吸水させた後、湿らせたパーミキュライトに播種し、25℃、暗条件下で生育させた。この間子葉鞘の徒長を防ぐため、発芽してから毎日 2 時間ずつ弱赤色光を与え、約 5 日間で 2.5cm 程度の子葉鞘を得た。

薬剤処理方法： 本実験の目的は外来オーキシンによるエンバクの子葉鞘伸長を確認することであるため、子葉鞘中に含まれている内生オーキシンを出来るだけ除去した後、実験を行った。子葉鞘の先端 2mm を切除し、残った部分をペトリ皿の中に 5 時間置いて、内生のオーキシンを極性移動させた。容器内を保湿するために蓋の内側に吸水したペーパーを敷いた。更に先端の 3mm を切除し、切断所から 5mm のものを切片にして 2,4-D および IAA の各処理液（1.1%アセトンを含む）中に入れて、暗条件 48 時間処理した後、子葉鞘の長さを測定した。

### (2) 2,4-D および IAA によるエンバクの子葉鞘伸長に対する fluazifop-butyl と sethoxydim の影響

(1)と同様な方法で子葉鞘を前処理してから、切片をオーキシン単独処理あるいは除草剤との混合処理液中に入れて、48 時間後に長さを測定した。

### (3) Fluazifop-butyl および sethoxydim による子葉鞘伸長抑制効果に対する 2,4-D 及び IAA の影響

エンバクの子葉鞘に含まれている内生オーキシンによる伸長促進を抑制する

両除草剤の阻害作用を確認するために、切り取った子葉鞘を極性移動処理せず、その先端部の 5mm を切除した後、すぐ下部の 5mm を切片にして fluazifop-butyl 及び sethoxydim の単独処理、及びオーキシンの混合処理液中に入れて暗条件下、48 時間処理後に子葉鞘の長さを測定した。

### 2.2.3 結果と考察

#### <エンバクの子葉鞘伸長誘導と 2,4-D および IAA の有効濃度>

オーキシンは植物の伸長生長を誘導するホルモンとして、よく知られている(増田ら, 1994)。植物体内に存在している天然のオーキシンはインドール酢酸(IAA)であるが、それ以外にいくつかの合成化合物も、外部から吸収させると、IAA と同じくオーキシン活性を示すことから、合成オーキシンと呼ばれている(増田ら, 1994)。2,4-D はその代表的なものであり、低濃度ではエンバクの子葉鞘伸長を促進する効果を有する(Zimmerman and Hitchcock, 1942)。しかし、diclofop-methyl のような AOPP 系除草剤は、このようなオーキシン作用を阻害することがすでに報告されている(Barnwell and Cobb, 1993; Qureshi and Born, 1979; Shimabukuro and Hoffer, 1996; Shimabukuro et al., 1978, 1982; Snipes et al., 1987)。本研究でも、植物内生のオーキシンによる子葉鞘伸長を、fluazifop-butyl にはその濃度依存的に抑制したことが確認された(Fig. 2-1)。しかし、それだけではアンチオーキシン作用であることを断定するのに不十分であるため、さらに外部からオーキシン化合物を与えて、誘導される伸長生長に対する除草剤の影響を調べる必要もあると考えられる。そこで本実験では、植物本来のオーキシン化合物である IAA と合成のオーキシン化合物である 2,4-D を用いて、エンバクの子葉鞘伸長法により実験を行った。しかし、除草剤の影響を調べる前に、まずエンバク子葉鞘伸長に対する両オーキシン化合物の誘導効果および有効濃度を調べる必要があった。そこで、エンバク子葉鞘に含まれている植物の内生オーキシンを極性移動で除去した後、両化合物による伸長促進効果を調べた。Fig. 2-2 に示すように、2,4-D と IAA は共に 0.1 $\mu$ M から 10 $\mu$ M の処理では濃度依存的にエンバクの子葉鞘伸長を促進したが、100 $\mu$ M になると、10 $\mu$ M より伸長促進率が顕著に抑制された。これらの結果から、外部から投与される IAA および 2,4-D のようなオーキシン化合物により、子葉鞘の伸長が促進されること、つまり、

両化合物のオーキシン作用が確認された。また、それ以後の混合実験に用いる 2,4-D および IAA の濃度は子葉鞘伸長誘導活性の最も高い濃度である 10 $\mu$ M にした。

<2,4-D および IAA によるエンバクの子葉鞘伸長に対する fluazifop-butyl と sethoxydim の影響>

Fig. 2-3 に示すように、fluazifop-butyl は、2,4-D および IAA によるエンバクの子葉鞘伸長を濃度依存的に強く抑制した。2,4-D の場合、fluazifop-butyl 無添加では、コントロールに対して 228%まで伸びたが、1、10、100 $\mu$ M の fluazifop-butyl 添加により、子葉鞘伸長はそれぞれ 143、56、54%まで低下した。IAA に対しても同じ傾向が見られた。しかし 1、10 $\mu$ M の fluazifop-butyl 処理では差が見られず、2,4-D ほど顕著な抑制効果ではなかった。一方、sethoxydim においても fluazifop-butyl と同様な傾向が見られ、1、10、100 $\mu$ M 処理で濃度依存的に 2,4-D および IAA によるエンバクの子葉鞘伸長促進効果が抑制された (Fig. 2-4)。これらの結果から、fluazifop-butyl および sethoxydim のオーキシン活性阻害作用が確認された。しかし、これだけではまだアンチオーキシン作用を有するとは言えず、さらに、両剤のオーキシン活性阻害作用がオーキシン化合物の添加により軽減されるのかを調べる必要がある。そこで、次に両剤の子葉鞘伸長抑制効果に対する IAA と 2,4-D の影響を調べた。

<Fluazifop-butyl 及び sethoxydim による子葉鞘伸長抑制に対する 2,4-D と IAA の影響>

その結果、植物内生のオーキシンで誘導された子葉鞘の伸長は、fluazifop-butyl 及び sethoxydim の処理により抑制されたが、2,4-D や IAA の添加により、抑制効果が軽減されることが Fig. 2-5, 2-6 で明らかとなった。しかし、オーキシン化合物の濃度が 100 $\mu$ M になると、その軽減効果は低くなり、特に 1000 $\mu$ M の場合では子葉鞘の伸長が大きく抑制された。これは、高濃度のオーキシン物質が殺草活性を有するためであると考えられる。

以上の結果から、fluazifop-butyl にもアンチオーキシン作用があることが分かった。これは AOPP 系除草剤がアンチオーキシン作用を有するという以前の報告 (Barnwell and Cobb, 1993; Qureshi and Born, 1979; Shimabukuro and Hoffer, 1996; Shimabukuro et al., 1978, 1982; Snipes et al., 1987) をさらに支持する結果で

あった。一方、本研究から以前報告されていない CHD 系除草剤においても、sethoxydim が同じくアンチオーキシン作用を有することが明らかとなった。これで、両系の除草剤には化学構造が全く異なるのにもかかわらず、作用特性などはほとんど同じであるものと考えられた。

## 2.3 Fluazifop-butyl と sethoxydim によるエンバクの生育抑制に対するオーキシン化合物の影響

### 2.3.1 目的

Diclofop-methyl のような AOPP 系除草剤のアンチオーキシン作用はイネ科植物に殺草作用を示す第一次作用であるのかについて、いまだに議論している (Barnwell and Cobb, 1993; Qureshi and Born, 1979; Shimabukuro and Hoffer, 1996; Shimabukuro et al., 1978, 1982; Snipes et al., 1987)。そこで、本研究はこの問題を解明するために、エンバクの幼苗を用い、植物個体レベルで、先にアンチオーキシン作用が確認された fluazifop-butyl および sethoxydim の生育抑制効果に対するオーキシン化合物の影響を調べた。

### 2.3.2 材料と方法

<材料>

供試植物：エンバク（前進）

供試薬剤：Fluazifop-butyl; Sethoxydim; 2,4-D; IAA

<実験項目および方法>

本実験はすべて茎葉処理法により行なった。

(1) Fluazifop-butyl による生育抑制に対する 2,4-D の影響

Fluazifop-butyl の 0、1、4、7、10 $\mu$ M と 2,4-D の 0、100、400、700、1000 $\mu$ M をそれぞれ組み合わせて 25 組の処理を行った。各処理液中のアセトンは 1.1% に調整した。処理直前と処理後 6 日目に幼苗の新鮮重を測定した。得られたデータは、Isobole 法 (千坂, 1973) により解析し、等効果線を作成することにより、拮抗作用を確認した。

(2) その他の実験



エンバクにおける fluazifop-butyl と IAA、sethoxydim と 2,4-D および sethoxydim と IAA の混合処理実験は Fig. 2-10, 2-11 で示した濃度の組み合わせで行なった。処理直前と処理後経時的に新鮮重を調査した。

### 2.3.3 結果と考察

Fig. 2-7 は fluazifop-butyl の 0、1、4、7、10 $\mu$ M と 2,4-D の 0、100、400、700、1000 $\mu$ M をそれぞれ組み合わせて 25 組の混合処理を行った結果である。図に示すように、fluazifop-butyl 単独では、濃度依存的にエンバクの生育抑制効果が大きくなった。しかし 2,4-D の添加により、各濃度の生育抑制効果は濃度依存的に軽減された。fluazifop-butyl 1 $\mu$ M の場合、2,4-D 100 $\mu$ M で明らかな軽減効果が見られたが、fluazifop-butyl の濃度が 4、7、10 $\mu$ M に増加していくと、同濃度の 2,4-D の軽減効果は順次に低下する傾向にあった。一方、高い 2,4-D 濃度 (1000 $\mu$ M) の場合、2,4-D 自身の影響で葉にクロロシスが生じ、新鮮重が低下した。Fig. 2-9 は処理後一週間目の写真である。この写真の地上部伸長の変化からも、fluazifop-butyl の濃度の増加に対応して、拮抗効果の発現に必要な 2,4-D の濃度も増加することが分かる。また、白化症状は、2,4-D の添加により、発現しない場合もあれば、白化部位が茎葉伸長に伴ってより上部に移る場合もあった。これは 2,4-D と fluazifop-butyl の作用メカニズムを考える上で興味深い現象であると考えられる。

一方、この 25 組の処理データを、Isobole 法(千坂, 1973)を用いて fluazifop-butyl と 2,4-D の等効果線を作成し、拮抗作用を分析したところ、Fig. 2-8 に示すように、30%~45%抑制したときの等効果点が全て相加的等効果線の右上にあることから、fluazifop-butyl への 2,4-D の拮抗作用が確認された。

Fluazifop-butyl と植物固有のオーキシシンである IAA の混合処理ではこのような軽減効果は見られなかった (Fig. 2-10)。また、sethoxydim の場合、2,4-D と IAA のそれぞれ 100、1000 $\mu$ M の 2 濃度の混合処理を行った。結果は fluazifop-butyl と同じ傾向であった。Fig. 2-11 で示したとおり、sethoxydim 10 $\mu$ M 処理の殺草効果は 2,4-D 1000 $\mu$ M ではある程度拮抗されたのに対し、同濃度の IAA では見られなかった。

しかし、1000 $\mu$ M IAA ではエンバクの葉に白い小斑点が多数確認されたことか

ら、IAA が植物に吸収されていることは明らかである。よってこのことから、fluazifop-butyl と sethoxydim のアンチオーキシン作用が、エンバク殺草の第一次作用である可能性は低いと考えられる。両剤のアンチオーキシン作用が殺草作用に直接に大きな影響を与えているとは考えにくく、2,4-D による生育阻害の拮抗作用は fluazifop-butyl の作用を抑制するその他のメカニズムによるものだと考えられた (Barnwell and Cobb, 1994)。

## 2.4 Fluazifop-butyl と sethoxydim による電解質の漏出への影響

### 2.4.1 目的

本実験では、fluazifop-butyl および sethoxydim による、エンバクおよび *A. hispidum* の葉からの電解質漏出を測定することにより、原形質膜への影響を検討した。

### 2.4.2 材料と方法

#### <材料>

供試植物：エンバク（前進）； *A. hispidum*； エンドウ（早生赤花蔓無し豌豆）

供試薬剤：Fluazifop-butyl； Sethoxydim

#### <方法>

(1) リーフディスクを用いた実験 本実験は Crowley と Prendeville (1979) の方法を参考にして行った。Fluazifop-butyl と sethoxydim で 2 時間茎葉処理したエンバクおよび *A. hispidum* の葉から直径 4mm のリーフディスクを作成し、10ml の蒸留水に浮かべ、経時的に溶液中の電気伝導度を測定した。また、薬剤未処理の植物からも同様なリーフディスクを作成し、除草剤溶液に浮かべながら、経時的に測定を行った。また、エンバクでは処理した幼苗の茎葉部から、先端の 2.5cm だけを切り取り、蒸留水に浸漬して測定した。

(2) *In vivo* での実験 生物試験と同じく茎葉処理した植物をチャンバー内で生育させ、処理後 24、48、96、144 時間に茎葉部（エンバク：種子と接しているところから切断する）あるいは全ての本葉（*A. hispidum* とエンドウ）を切り取った。新鮮重を測定後、10ml の蒸留水に浸し、25℃にて、3 時間ゆっくり振

動し、溶液中の電気伝導度を電気伝導計(CM-30S, TOA Electronics Ltd.)で測った。

#### 2.4.3 結果と考察

電解質漏出は膜の透過性を評価する一つの指標である。正常な植物膜では、電解質の漏出は制御されているが、一旦何らかの影響で膜の構造が破壊されれば、大量の電解質の漏出が発生する (Duke et al., 1992)。AOPP 系除草剤の一つである diclofop-methyl が、エンバクのリーフディスクにおける電解質漏出を促進したという報告がある (Crowley and Prendeville, 1979)。そこで、本実験では、エンバクや *A. hispidum* および対照植物のエンドウに対する fluazifop-butyl と sethoxydim の電解質漏出効果を調べた。

まず、エンバクの幼苗に対する影響を調べたところ、Fig. 2-12 で示すように、fluazifop-butyl と sethoxydim の両剤が共に処理後 48 時間以降に、エンバクの茎葉部からの電解質漏出を促進した。また、処理後の経過時間に依存して作用は大きくなり、144 時間では両剤による電解質の漏出量は約 3 倍になった。これは蒸留水に 1 時間浸漬したときの結果であるが、3 時間浸漬した場合には、約 5 倍になった。しかし、48 時間での促進はわずかであるので、Crowley と Prendeville (1979) の報告したような速やかな作用は見られなかった。一方、その時間的な変化は生物試験の結果とよく一致しており、電解質漏出はエンバクの幼苗に対する生育抑制の増大や茎葉基部に現れる症状の激化に伴い、増加すると考えられる。

次は、*A. hispidum* の幼苗に対する影響であるが、Fig. 2-13 で示したとおり、fluazifop-butyl 10 $\mu$ M で *A. hispidum* の幼苗を処理したときに、茎葉部から顕著な電解質漏出が見られたが、同濃度の sethoxydim では何の影響も見られなかった。また、対照植物であるエンドウにおいても影響は見られなかった。一方、エンバクと比べ、*A. hispidum* に対する fluazifop-butyl の影響がはるかに大きいことも分かった。処理後 48 時間ではコントロールよりすでに 3 倍量の電解質が漏出されたのに対し、エンバクではわずかであった。また、処理後 96 時間になると、*A. hispidum* においてコントロールより 33 倍高い量が漏出されたが、エンバクの場合 3 倍程度であった。これは、両植物に対する生育抑制の発現の強さとよく一致している。

以上の結果から、両剤に感受性を示す植物においてのみ、両剤で電解質の漏出を促進することが分かった。これは、fluazifop-butyl がエンバク、*A. hispidum* において、また sethoxydim がエンバクにおいて、なんらかの作用でそれぞれの原形質膜に影響を与え、膜構造の破壊 (Duke et al., 1992; Shcherbakova and Kacerska, 1983) を引き起こした結果であることを示している。しかし、エンバクより、*A. hispidum* のほうは漏出が起こり始める時間が早く、漏出された量もはるかに多かったため、*A. hispidum* では膜の破壊がより速やかに起こると考えられた。このことから、両植物の膜への影響は、違うメカニズムで起こっていることが示唆された。

しかし、エンバクと *A. hispidum* のリーフディスクや葉の先端部 (2.5cm) を用いて行った実験ではコントロールと比べ、何の影響も見られなかった (データ省略)。この結果から、作用部位は、葉ではなく、茎葉基部にある可能性が示唆された。さらに、第 1 章の生物試験で示したように、薬剤の作用が茎葉基部の分裂組織に最初に発現することから、両除草剤の作用部位が茎葉基部の分裂組織にあることが推察された。

## 2.5 要約

本章では、fluazifop-butyl と sethoxydim のアンチオーキシシン作用の確認及びそれらの作用の両剤の作用機構への関与、また、両剤の膜に対する影響について検討を行った。

(1) Fluazifop-butyl と sethoxydim は共にアンチオーキシシン作用を有することが確認された。

(2) エンバクの幼苗に対する fluazifop-butyl と sethoxydim の生育抑制効果は、2,4-D により拮抗されたのに対し、植物内生のオーキシシン物質である IAA では、拮抗されなかったことから、両剤のアンチオーキシシン作用は第一次作用である可能性が低いことが示唆された。2,4-D による生育阻害の拮抗作用は fluazifop-butyl の作用を抑制する未知のメカニズムによるものと考えられた。

(3) Sethoxydim では、エンバクのみで電解質の漏出を促進したが、fluazifop-butyl の場合、エンバクと *A. hispidum* の両植物において共にこの作用を

示すことから、膜への影響が示唆された。しかし、エンバクより、*A. hispidum* において漏出が起こり始める時間が早く、漏出された量もはるかに多かったため、*A. hispidum* では膜の破壊がより速やかに起こると考えられた。このことから、両植物の膜への影響は、違うメカニズムで起こっていることが示唆された。

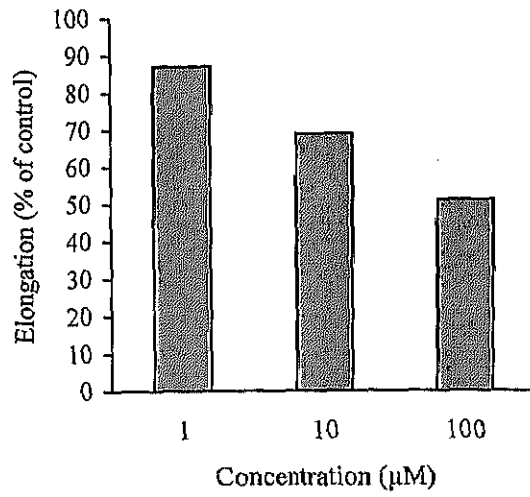


Fig. 2-1 Effect of fluzifop-butyl on elongation of oat coleoptile segments. Elongation of non-treated segments (control) was  $1.45 \pm 0.006$  mm.

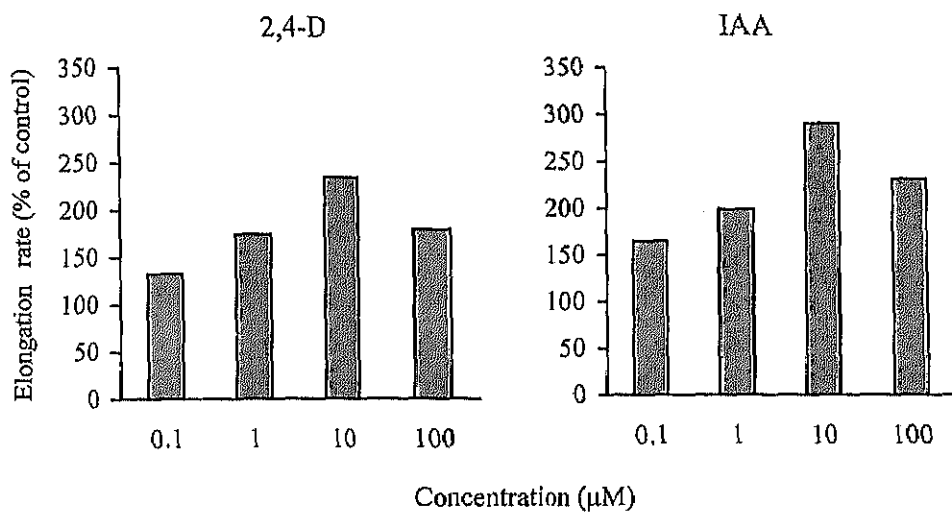


Fig. 2-2 Effect of 2,4-D and IAA on elongation of oat coleoptile segments. Elongations of non-treated segments (control) were  $0.64 \pm 0.008$  and  $0.68 \pm 0.003$  mm for 2,4-D and IAA, respectively.

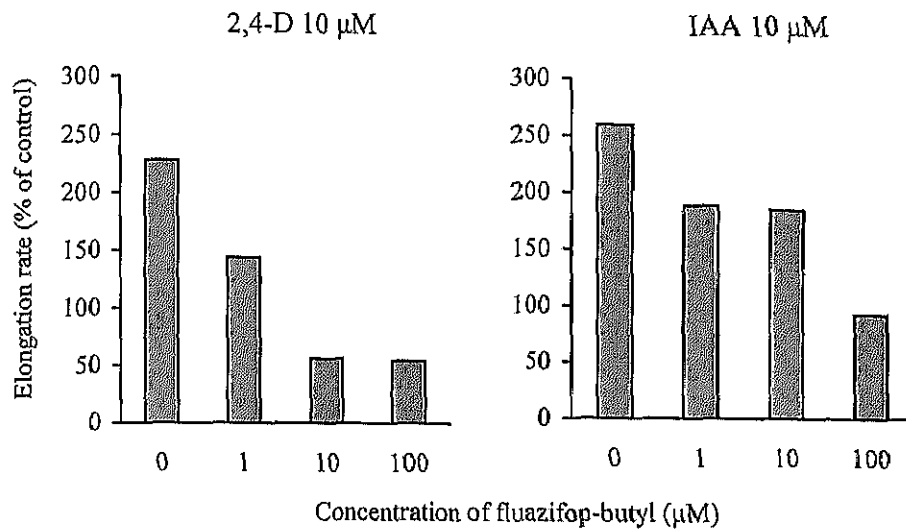


Fig. 2-3 Effect of fluazifop-butyl on elongation of oat coleoptile segments induced by 2,4-D and IAA. Elongations of non-treated segments (control) were  $0.57 \pm 0.005$  and  $0.69 \pm 0.009$  mm for 2,4-D and IAA, respectively.

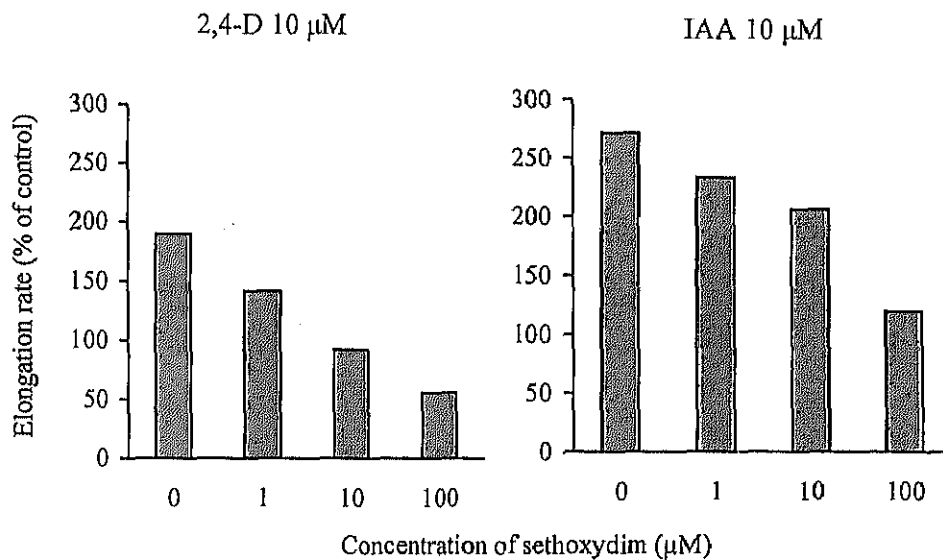


Fig. 2-4 Effect of sethoxydim on elongation of oat coleoptile segments induced by 2,4-D and IAA. Elongations of non-treated segments (control) were  $0.62 \pm 0.008$  and  $0.66 \pm 0.004$  mm for 2,4-D and IAA, respectively.

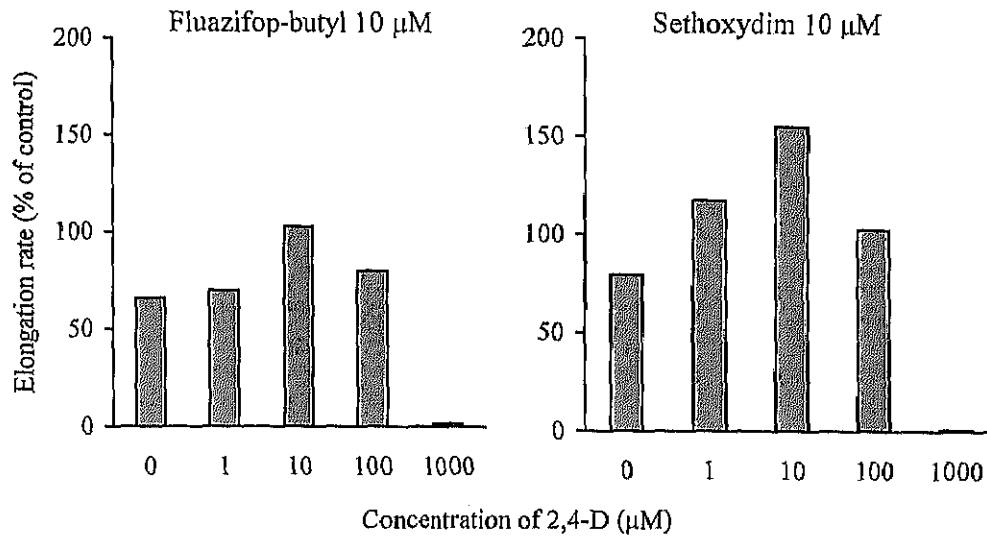


Fig. 2-5 Restoration of fluazifop-butyl- and sethoxydim-inhibited elongation of oat coleptile segments by 2,4-D. Elongations of non-treated segments (control) were  $1.28 \pm 0.008$  and  $1.49 \pm 0.013$  mm for fluazifop-butyl and sethoxydim, respectively.

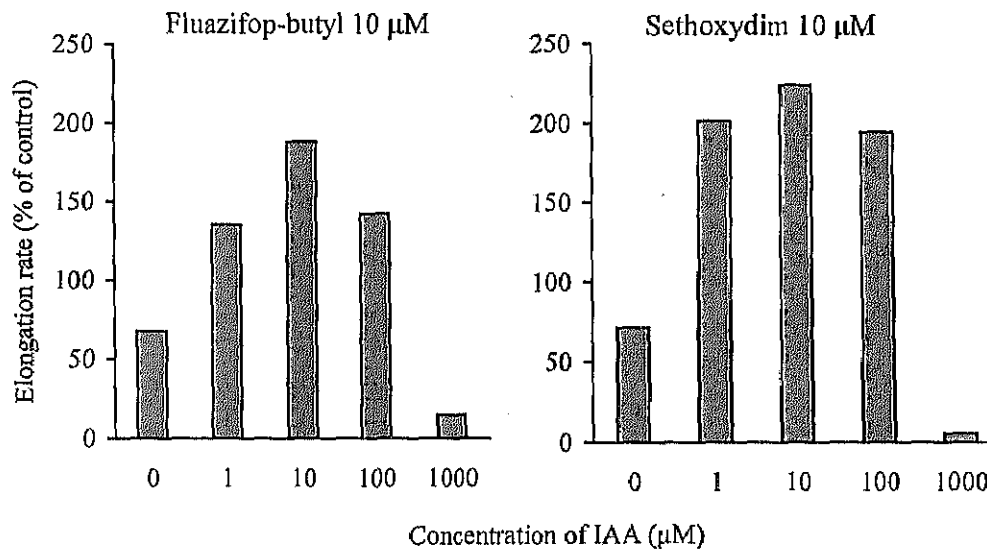


Fig. 2-6 Restoration of fluazifop-butyl- and sethoxydim-inhibited elongation of oat coleptile segments by IAA. Elongations of non-treated segments (control) were  $1.02 \pm 0.004$  and  $1.12 \pm 0.007$  mm for fluazifop-butyl and sethoxydim, respectively.



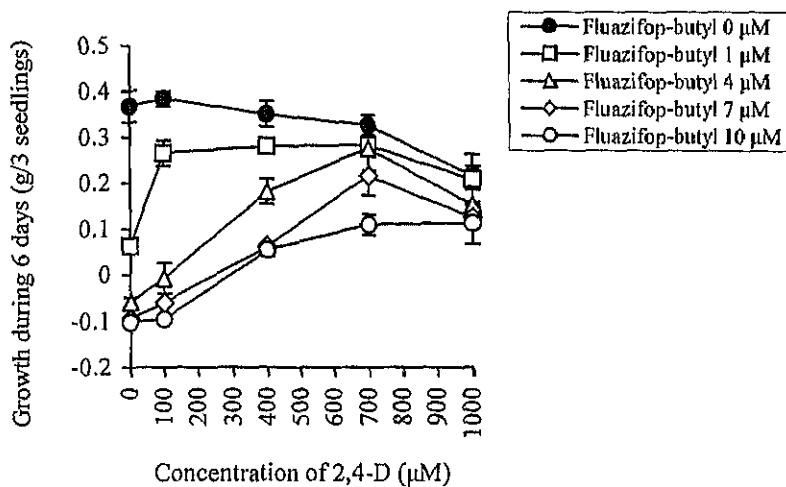


Fig. 2-7 Effect of 2,4-D on fluazifop-butyl-induced growth inhibition of oat seedlings. The data was obtained at 144 h after treatment. Vertical bars represent mean±SE.

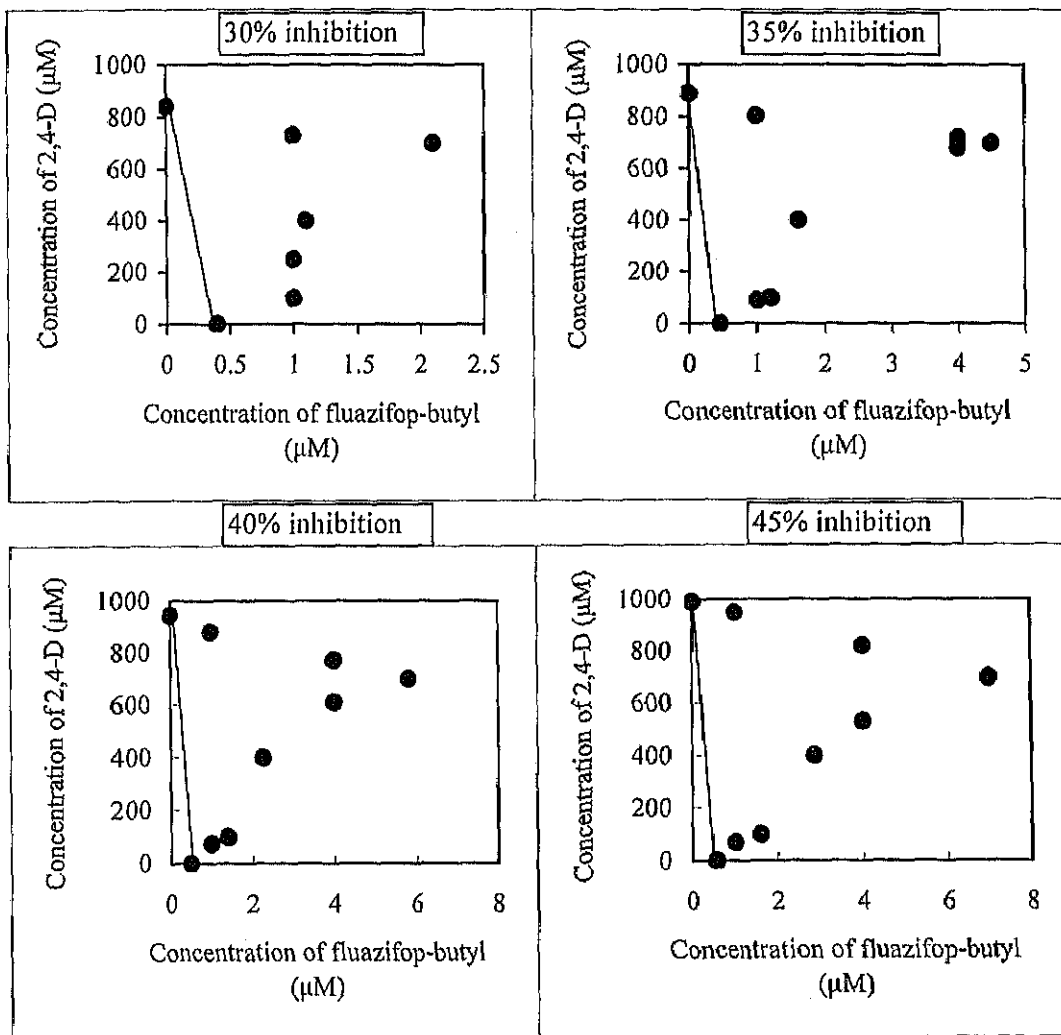


Fig. 2-8 Type of growth responses (oat seedlings) to mixtures of fluazifop-butyl and 2,4-D.



Fig. 2-9 Growth responses (oat seedling) to mixtures of fluazifop-butyl and 2,4-D. The pictures were taken one week after treatment.

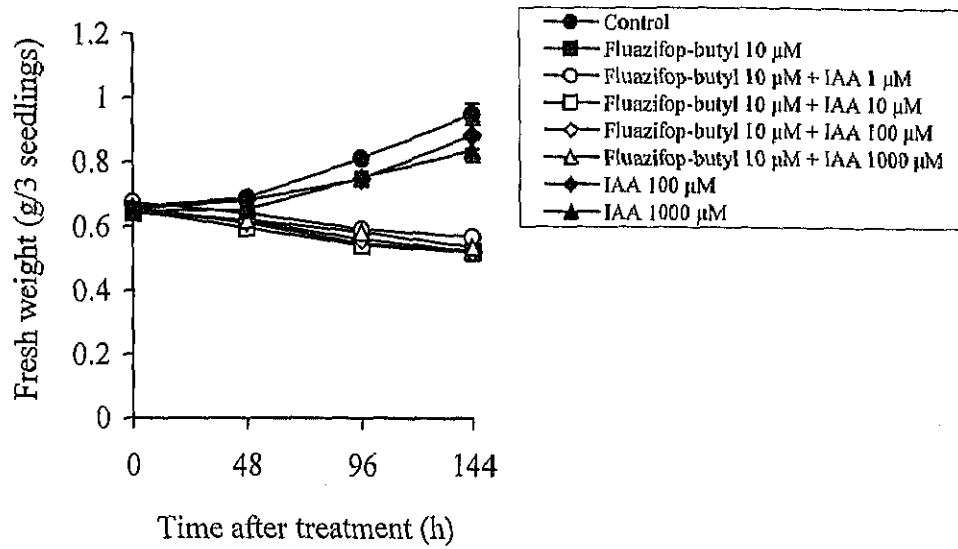


Fig. 2-10 Effect of IAA on fluazifop-butyl-induced growth inhibition of oat seedlings. Vertical bars represent mean±SE.

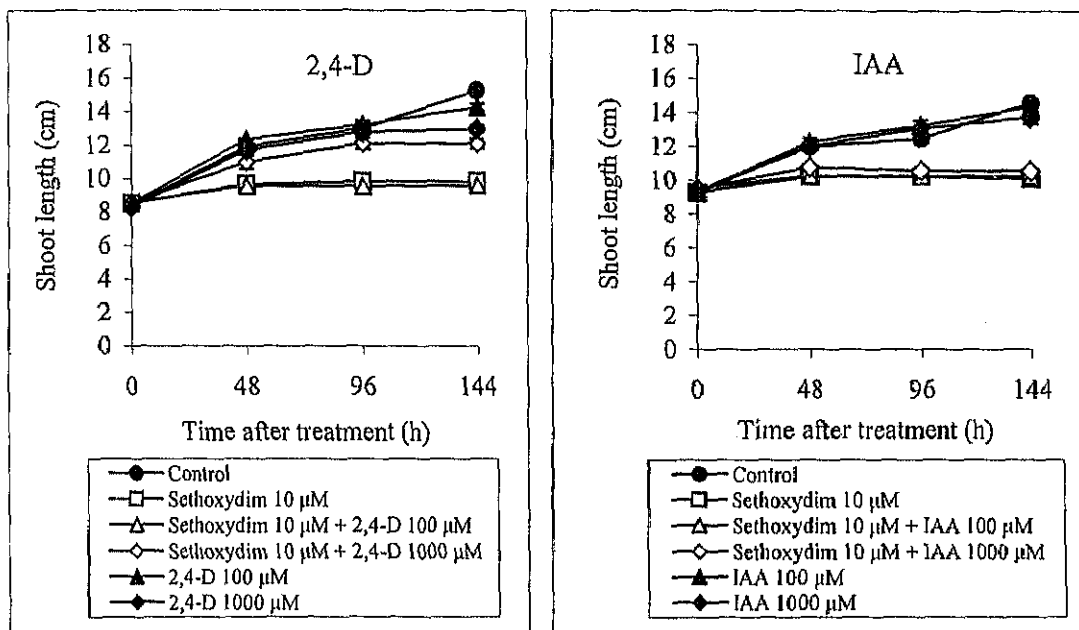


Fig. 2-11 Effect of 2,4-D and IAA on sethoxydim-induced growth inhibition of oat seedlings. Vertical bars represent mean±SE.

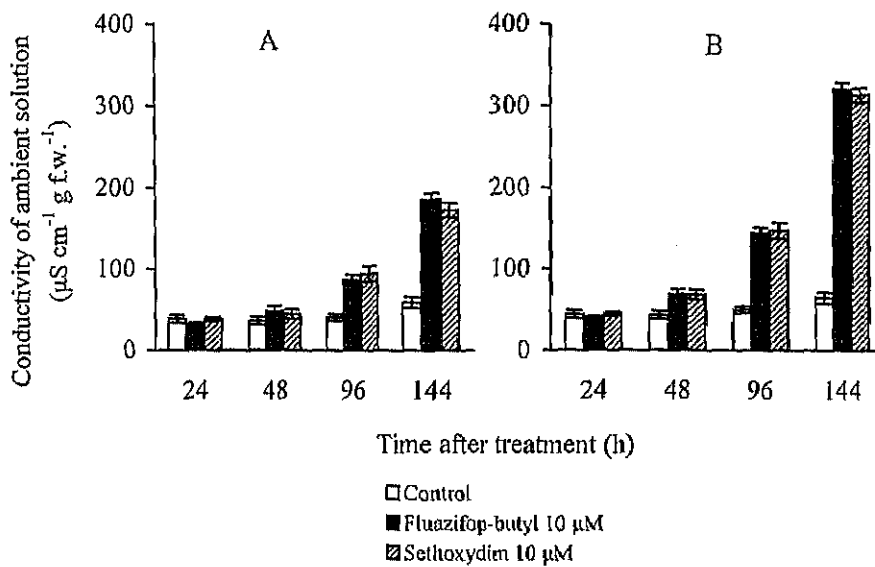


Fig. 2-12 Effect of fluzifop-butyl and sethoxydim on electrolyte leakage from excised leaves of oat seedlings. The seedlings were grown for 24, 48, 96, 144 h after herbicide treatment. The leaves were excised and immersed in the distilled water for 1 h (A) or 3 h (B). Vertical bars represent mean±SE.

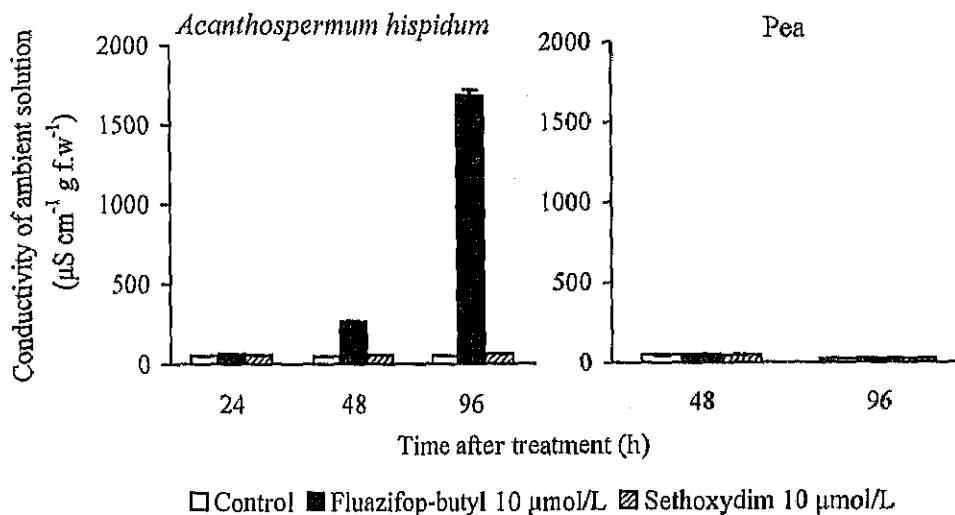


Fig. 2-13 Effect of fluzifop-butyl and sethoxydim on electrolyte leakage from excised leaves of *Acanthospermum hispidum* and pea seedlings. The seedlings were grown for 24, 48, 96 h after herbicide treatment. The leaves were excised and immersed in the distilled water for 3 h. Vertical bars represent mean±SE.