

## 第4章 Fluazifop-butylによるエチレンの生成と生成されたエチレンの作用

### 4.1 序論

エチレンは、植物ホルモンの一種としてよく知られている。Fig. 4-1で示すように、メチオニン（Met）を前駆物質とし、SAM（S-アデノシルメチオニン）からACC synthaseにより、ACC（1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸）を生成し、続いてACC oxidaseによりエチレンを合成する経路が一般的な生合成経路である（McKeon et al., 1995）。植物の生理変化（果実成熟、花の老化）、および環境ストレス（物理的な傷害、低温障害、湛水刺激、渇水）、あるいはオーキシシン（IAAなど）の作用により、エチレンの生成は促進される。これらの生成促進は、SAMからACCを合成する段階の促進が主要因であると考えられている（兵藤・楊, 1994）。一方、ACCからエチレンへの段階は植物の成熟により促進されるが、嫌気条件、35°C以上の高温条件、および脱共役剤・ $\text{Co}^{2+}$ ・フリーラジカル消去剤、などによって阻害される（兵藤・楊, 1994）。

エチレンの生理活性としては、休眠打破、発芽促進、伸長生長促進、屈地性、分化（開花阻害および雌雄性の決定）、老化の加速度化および離層形成促進（落葉、落果）、果実の成熟促進など、植物生活環の制御や分子レベルでの作用（物質代謝の制御、酵素活性の制御）があげられる。また、エチレンの生合成は、除草剤処理によっても促進されることが報告されている。最も早い報告では、Morgan and Hall（1962）により、ワタとソルガムにおいて、2,4-D処理によるエチレンの誘導が報告された。その後、Abeles（1968）、HolmとAbeles（1968）らによっても、この剤によるエチレン誘導が確認された。その後、picloram（Hall and Soni, 1991; Hall et al., 1985; Morgan and Baur, 1970）、dicamba（Stacewicz-Sapuncakis et al., 1973）、glyphosate（Abu-Irmaileh et al., 1979; Lee and Dumas, 1983）、clopiralid（Hall and Soni, 1991; Hall et al., 1985）および quinclorac（Sunohara and Matsumoto, 1997; Sunohara et al., 1999; 春原, 2000）などの除草剤でも同様な作用を有することが報告された。これらの除草剤の中で、glyphosate以外はすべて、オーキシシン活性を有するものであるため、エチレン誘導は、オ

ーキシシ化合物に共通の性質であると考えられている。

一方、AOPP系除草剤の中でも、diclofop (acid/methyl) がエチレン生合成を顕著に促進することが Shimabukuro らの研究により明らかにされている (De Prado et al., 1999; Shimabukuro and Hoffer, 1996)。広葉植物である leafy spurge (*Euphorbia esula*)、イネ科植物である diclofop-methyl 感受性のエンバク (*Avena sativa*) および抵抗性のコムギ (*Triticum aestivum* L.) を用いた diclofop-methyl の作用機構に関する報告では、コムギでは体内での diclofop-methyl の急速な解毒代謝が行われるため、薬剤によるエチレンの発生はほとんど見られなかった (Shimabukuro and Hoffer, 1996)。しかし、leafy spurge の未成熟葉 (抵抗性) と成熟葉 (感受性) においては、diclofop-methyl 処理後 7 時間に、コントロールと比較して、それぞれ 278%、616% のエチレンが確認され、エンバクにおいても、176~226% の発生が確認されている (Shimabukuro and Hoffer, 1996)。De Prado et al. (1999) は、diclofop-methyl が感受性植物 (*Lolium multiflorum*; *Alopecurus myosuroides*) における有効なエチレン誘導剤であることを証明し、さらに彼らは、diclofop-methyl の殺草作用は、誘導されたエチレンによる老化作用によるものではないかと推測した。

上記のように、2,4-D などのオーキシシ活性を有する除草剤は、エチレン生合成系を活性化し、大量のエチレンを誘導するが、アンチオーキシシ作用を持つ AOPP 系除草剤である diclofop-methyl でも同様の作用を持つことが確認されている。しかし、diclofop-methyl 以外の AOPP 系除草剤に関しては、同様な報告がないことから、本章では感受性および耐性植物における AOPP 系除草剤 fluazifop-butyl のエチレン誘導効果を調べ、その作用メカニズムとの関連性を解明することを目的とした。

## 4.2 除草剤による各植物におけるエチレン誘導効果の比較

### 4.2.1 目的

各植物における各剤のエチレン誘導効果の確認を目的とした。

#### 4.2.2 材料と方法

<材料>

供試植物：*A. hispidum*；*A. australe*；コセンダングサ (*B. pilosa*)

エンバク（前進）；エンドウ（早生赤花蔓無豌豆）

供試薬剤：Fluazifop-P-butyl; Sethoxydim; Quizalofop-ethyl; Fenoxaprop-ethyl

<方法>

第一章と同様の育成方法により、5種の植物幼苗を育てた。各幼苗の茎葉部を薬剤溶液に2時間浸漬処理後、植物をバイアル瓶に移し、乾燥防止のため、1~3mlの蒸留水を添加し、ゴム蓋とアルミカバーで密封し、暗条件下でチャンバー内に放置した。その後、経時的に瓶から気体を1ml採取し、ガスクロマトグラフでエチレンの量を測定した。*A. hispidum*には fluazifop-P-butyl、quizalofop-ethyl、fenoxaprop-ethyl 及び sethoxydim を供試し、残りの植物には fluazifop-P-butyl のみを供試した。得られたデータは  $\mu\text{l/g f.w.}$  に換算して表示した。ガスクロマトグラフの設定条件を以下に示す。

カラム：Unipak S (GL science Co.) を充填した 3mm×2m のガラスカラム

カラムオープン温度：60℃

キャリアガス (N<sub>2</sub>) 流速：50 ml/min;

H<sub>2</sub> ガスの圧力：60kPa

空気：50kPa

注入温度：120℃

検出器：FID

検出器温度：120℃

エチレン標準ガス (GL Science) を用いて検量線を作成した。検出限界は 0.02ppm。

#### 4.2.3 結果と考察

Fluazifop-butyl に感受性を示す3種の植物について調べた結果、Fig. 4-2 で示すように、両種の *Acanthospermum* 属植物である *A. hispidum* および *A. australe* では、fluazifop-P-butyl による顕著なエチレン誘導効果が見られた。誘導効果は、

処理濃度に依存的であり、100 $\mu$ M では、処理後 12 時間で、それぞれコントロールの約 10 倍 (*A. hispidum*) と 15 倍 (*A. australe*)、1~10 $\mu$ M では 24 時間以降にエチレンの誘導が見られた。これは両植物の幼苗に症状が発生する時間とよく一致していた。しかし、fluazifop-butyl に感受性であるエンバクでは、エチレンの誘導はほとんど見られなかった。これはエンバクで見られた diclofop-methyl のエチレン誘導効果 (Shimabukuro and Hoffer, 1996) とは異なる結果であった。一方、fluazifop-butyl に耐性を示す広葉植物であるエンドウおよび *B. pilosa* では、エチレンが誘導されず、かえってコントロールより発生量が低かった (Fig. 4-3)。

一方、*A. hispidum* に生育抑制作用がない sethoxydim、quizalofop-ethyl および fenoxaprop-ethyl は共にエチレンの発生を誘導しなかった (Fig. 4-4, 4-5)。

これらの結果から、供試植物の中で、*Acanthospermum* 属だけが特異的に fluazifop-P-butyl で、エチレンが誘導されたことが明らかとなった。これは生物試験の結果とよく一致しており、またエンバクと *Acanthospermum* 属に対して、fluazifop-butyl の作用機構が違っていることを示唆していた。

#### 4. 3 Fluazifop-butyl による *Acanthospermum hispidum* の生育抑制に対するエチレン作用阻害剤の影響

##### 4. 3. 1 目的

上記の生物試験で fluazifop-P-butyl だけが *A. hispidum* のみにおいて特異的にエチレンの発生を顕著に誘導することが分かった。そこで、誘導されたエチレンが、殺草作用の原因物質であるのかどうかを確認するため、本実験では、PPOH (Yamamoto et al., 1992) や NBD (Kato et al., 2000; Lee and Lin, 1996) のようなエチレンの作用阻害剤 (レセプターへの結合の競合阻害剤) を用いて、生育抑制に対する影響を調べた。

##### 4. 3. 2 材料と方法

<材料>

供試植物： *A. hispidum* (4 葉期の幼苗)

供試薬剤： Fluazifop-P-butyl; NBD; PPOH

## <方法>

### (1) NBD 処理による実験

NBD は揮発性の高い試薬であるため、完全に密封した条件下で処理を行った。*A. hispidum* の幼苗の茎葉部を、fluazifop-P-butyl 5 $\mu$ M 溶液に 2 時間浸漬して処理後、水耕液を入れたバイアル瓶に移し、それを 1 L のビーカー内に静置し、サランラップとパラフィルムで厳重に密封した。NBD の処理は、前もってあけた穴から注入することにより行い、注入後、素早く穴をセロハンテープで封じた。グロースチャンバー内で生育させ、経時的にその症状を観察し、NBD を注入してから 72 時間後の新鮮重を測定した。

### (2) PPOH 処理による実験

*A. hispidum* の幼苗の茎葉部(根部と接しているところは含まない)を fluazifop-P-butyl 5 $\mu$ M 溶液に 2 時間浸漬後、根部を各 PPOH の溶液に浸した状態で、チャンバー内で生育させた。その後経時的に症状の発生や新鮮重を調査した。

## 4.3.3 結果と考察

*A. hispidum* における fluazifop-P-butyl のエチレン発生効果の殺草活性への関与を検討するために、PPOH や NBD のようなエチレン作用阻害剤による生育抑制軽減効果を調べた。Fig. 4-6 と Fig. 4-7 で示したとおり、両剤による軽減効果は共に見られず、エチレンが直接殺草作用に関与している可能性が低いことが示唆された。そこで、エチレン生合成系が fluazifop-butyl の作用機構に関与しているのであれば、生合成系におけるエチレン以外の生成物質が、殺草作用に関与している可能性が考えられた。

## 4.4 Fluazifop-butyl のエチレン誘導効果および生育抑制に対するアミノシクロプロパンカルボン酸シンターゼ阻害剤の影響

### 4.4.1 目的

前節の結果より、殺草作用の原因物質はエチレンではないことが示唆された。そこで、本実験はエチレン生合成の律速酵素で、ホルモンによる活性促進が報告されているアミノシクロプロパンカルボン酸シンターゼ (ACC synthase) に注

目し、同酵素の阻害剤である AVG (Nandwal et al., 2000) およびアンチオーキシン剤である PCIB (Hadfi et al., 1998; Taguchi et al, 2001) を用いて、エチレン生合成系の作用機構への関与を検討することを目的とした。

#### 4.4.2 材料と方法

<材料>

供試植物：*A. hispidum* (4葉期の幼苗)

供試薬剤：Fluazifop-P-butyl; AVG; PCIB; 2,4-D

<方法>

##### (1) エチレン生合成への影響

Fluazifop-P-butyl 5  $\mu$ M と PCIB (100~500 $\mu$ M) あるいは AVG (1~500 $\mu$ M) の混合溶液で、2時間茎葉処理後、4.2.2と同様に処理し、バイアル瓶に移し、処理後24時間に、エチレン量を測定した。また、PCIBは元来アンチオーキシン剤であるため、オーキシン物質で誘導されるエチレンの発生を抑制することを確認するために、2,4-Dとの混合処理によるエチレンの発生への影響も同時に調べた。

##### (2) 生育抑制への影響

薬剤を2時間茎葉処理後、第一章の生物試験と同様の方法で本実験を行った。

#### 4.4.3 結果と考察

ACC synthase はエチレン生合成経路上での律速酵素としてよく知られている (McKeon et al 1995)。同酵素の触媒でエチレンの先駆物質である ACC が合成される。この酵素にはオーキシン誘導型アイソザイムとストレス誘導型アイソザイムの二種類があり、前者のほうはオーキシンの誘導により活性化されるが、後者のほうは様々なストレスによって活性化されることが知られている (McKeon et al 1995)。*A. hispidum* において fluazifop-P-butyl のみ特異的にエチレンの発生を顕著に誘導することが前節より分かっているが、その誘導のメカニズムはまだ明らかではない。

アンチオーキシン剤である PCIB は、オーキシン作用を抑制することにより、オーキシン誘導型のアイソザイムの活性化を抑制し、エチレンの生合成を阻害

する (Hadfi et al., 1998; Taguchi et al, 2001)。しかし、fluazifop-P-butyl 5 $\mu$ M で誘導されたエチレンの発生はほとんど抑制されなかった (Fig. 4-8)。つまり、PCIB が 2,4-D で誘導されたエチレン発生を顕著に抑制した (Fig. 4-9) のに対し、fluazifop-P-butyl で誘導されたエチレン発生は抑制されなかったことから、*A. hispidum* におけるエチレン誘導がオーキシン誘導型である可能性は低いと考えられた。

一方、1000 $\mu$ M の 2,4-D では、2,4-D 自身の作用により fluazifop-P-butyl 5 $\mu$ M のエチレン誘導を顕著に抑制したことが Fig. 4-10 で分かった。しかし、低濃度の 10 $\mu$ M では、その発生は促進された。

ACC synthase 阻害剤である AVG を用いると、AVG により濃度依存的に fluazifop-P-butyl 5 $\mu$ M で誘導されたエチレン発生が抑制された (Fig. 4-11)。特に、高濃度の AVG (500 $\mu$ M) ではコントロールと同程度の活性しかなかった。このことから、fluazifop-P-butyl が *A. hispidum* の中でオーキシン活性以外の原因により、エチレンの発生が誘導されたと考えられ、この誘導がストレス誘導である可能性が示唆された。

上記の実験で *A. hispidum* における fluazifop-P-butyl のエチレン誘導効果が AVG で顕著に抑制されることが明らかとなった。そこで、さらに AVG による ACC synthase 抑制下での fluazifop-P-butyl の生育抑制軽減効果を調べた。その結果、供試された AVG の 300 と 500 $\mu$ M では濃度依存的に fluazifop-P-butyl 5 $\mu$ M による生育抑制がある程度軽減された (Fig. 4-12)。fluazifop-P-butyl 5 $\mu$ M 処理では、処理後 20 時間で上位葉葉脈の変色、萎れ、茎先端部分の褐色化が見られ、その後次第に枯死に至るが、AVG と混合処理すると、症状の発生が約 24 時間程度遅くなり、症状としては、茎先端部の褐色化も軽く緑が残ったままであり、処理後 10 日目に新葉の発生がみられ、その後回復傾向にあり、fluazifop-P-butyl 単独処理時と比較して、軽減されることが分かった。処理後 48 時間の様子を Fig. 4-13 に示す。これらの結果から、エチレン生合成系が *A. hispidum* における fluazifop-butyl の作用機構に関与していることが示唆された。

しかし、500 $\mu$ M の AVG では、fluazifop-P-butyl によるエチレンの発生を完全に抑制したのにも関わらず、その生育抑制は完全に解除できなかったことから、生育抑制作用にはエチレン生合成以外のものが関与している可能性が考えられ

る。

一方、fluazifop-P-butyl によるエチレンの発生を顕著に抑制した 2,4-D 1000 $\mu$ M でも、その生育抑制の軽減効果が見られた (Fig. 4-14, 4-15)。しかし、2,4-D による軽減のメカニズムはまだ分かっていない。

#### 4.5 Fluazifop-butyl のエチレン誘導効果および生育抑制に対する抗酸化物質の影響

##### 4.5.1 目的

2.4 では、fluazifop-butyl により *A. hispidum* の細胞膜が破壊されることが確認された。エンバクにおいても、fluazifop-butyl により膜破壊が起こり、これらは ACCase の抑制によるものであると考えられるが、*A. hispidum* の場合、エンバクと異なる作用機構で枯殺される可能性が示唆され、膜破壊も異なるメカニズムで発生すると推測される。一方、活性酸素やフリーラジカルによって、膜脂質の過酸化を起こし、生体膜が破壊される報告が数多くある (寺尾 1989)。そこで本実験では、vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol) (Combs and Regenstein, 1980; Harman et al., 1976; 中村, 1989)、vitamin C (二木, 1989)、ethoxyquin (Combs and Regenstein, 1980; De Koning, 1998, 2002) および tiron (Chen and Schopfer, 1999; Galle et al., 2000) の四つの抗酸化物質による生育抑制作用の軽減を調べ、fluazifop-butyl の作用機構への活性酸素種、およびフリーラジカルの関与、またエチレン発生との関連性を検討した。

##### 4.5.2 材料と方法

<材料>

供試植物 : *A. hispidum* (4 葉期の幼苗)

供試薬剤 : Fluazifop-P-butyl; Vitamin C; Vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol)  
Ethoxyquin; Tiron

<方法>

(1)、生物試験

*A. hispidum* の幼苗の茎葉部を薬剤と抗酸化物質の混合溶液に 2 時間浸漬処理



後、第一章と同様の方法で生育させ、経時的に新鮮重や症状の発生を調査した。同時に、vitamin E と ethoxyquin による前処理（2 時間）も行った。

#### (2)、エチレン発生への影響

(1)の生物試験で生育抑制軽減効果が確認された薬剤に関して、生物試験と同様に処理した幼苗からのエチレン発生を測定した。

### 4.5.3 結果と考察

Vitamin E の場合、Fig. 4-16 と Fig. 4-17 で示したように、混合処理では高濃度の 1000 $\mu$ M で、顕著に fluazifop-P-butyl 5 $\mu$ M による *A. hispidum* の生育抑制を軽減したことが確認された。また、vitamin E で 2 時間前処理した場合、抑制軽減効果はやや低かったものの効果が見られた。また、fluazifop-P-butyl のエチレン誘導効果に対する影響を調べたところ、Fig. 4-18 で示したとおり、1000 $\mu$ M では明らかな抑制効果が見られた。

Ethoxyquin の場合、混合処理、前処理ともに 1000 $\mu$ M で 5 $\mu$ M fluazifop-P-butyl による生育抑制を大きく軽減した (Fig. 4-19, 4-20)。Vitamin E と同様に前処理のほうが、低い効果であったけれども、葉脈の褐色化や葉の脱水などの症状はほとんど見られなかった。1000 $\mu$ M ethoxyquin 単独処理では、*A. hispidum* の葉に若干の傷害が観察されたが、特に生育に問題はなかった。また、fluazifop-P-butyl によるエチレンの誘導効果は、vitamin E と同様に顕著に抑制された (Fig. 4-21)。

一方、vitamin C および tiron の場合、両方ともに、すべての濃度で軽減効果はほとんど見られなかった (Fig. 4-22~25)。

Vitamin E と ethoxyquin は共にフリーラジカル消去剤である (Combs and Regenstein, 1980; De Koning, 1998, 2002; Harman et al., 1976; 中村, 1989)。よって、これらの結果より、活性酸素やフリーラジカルの生成が fluazifop-butyl の作用機構に関与している可能性が示唆された。また、vitamin C と tiron が水溶性である (Galle et al., 2000; 二木, 1989) のに対して、vitamin E と ethoxyquin は脂溶性であり、脂質の過酸化防止作用を持つ (Combs and Regenstein, 1980; De Koning, 1998, 2002; Harman et al., 1976; 中村, 1989)。このことから、活性酸素の発生源が、脂溶性物質が作用できる膜内にあることが示唆された。さらに、fluazifop-butyl によるエチレン誘導は膜内で発生する活性酸素により引き起こされる可能性が考

えられ、AVGによる生育抑制が、十分に回復しなかったことから、膜脂質の過酸化がエチレン誘導よりも先に引き起こされ、これが殺草作用の主要因である可能性が示唆された。

#### 4.6 要約

これまでの結果から、エンバクおよび *A. hispidum* において、fluazifop-butyl が共に膜に影響することが確認されたが、両植物におけるその作用メカニズムは異なることが明らかとなった。そこで、本章では、*A. hispidum* における fluazifop-butyl の作用メカニズムを解明するために、植物ホルモンの一つであるエチレンの誘導および膜脂質の過酸化への影響を調べることにした。

(1) Fluazifop-butyl 感受性植物である *A. hispidum*、*A. australe* は fluazifop-butyl 処理により、濃度依存的に顕著なエチレン誘導が確認されたが、エンバクでは見られなかった。このことから、*A. hispidum* における fluazifop-butyl の作用メカニズムは、エンバクの場合と異なることがさらに示唆された。

(2) Fluazifop-butyl に耐性を示す植物であるエンドウ、および *B. pilosa* では、薬剤処理によるエチレン誘導は確認されず、また、*A. hispidum* に殺草効果のない AOPP 系除草剤である quizalofop-ethyl、fenoxaprop-ethyl、および CHD 系の sethoxydim によっても、エチレン誘導は見られなかった。これらのことから、*Acanthospermum* 属のみにおいて、fluazifop-butyl により、特異的にエチレンが誘導されることが明らかとなった。

(3) *A. hispidum* 幼苗に対する fluazifop-P-butyl の生育抑制はエチレン作用阻害剤である PPOH と NBD で軽減されなかったことから、エチレンが直接作用することにより生育抑制作用が引き起こされる可能性が小さいことが示唆された。

(4) アンチオーキシシン剤である PCIB は合成オーキシシンである 2,4-D で誘導されたエチレン発生を顕著に抑制したのに対し、fluazifop-P-butyl で誘導されたエチレン発生は抑制しなかったこと、およびそのエチレン発生は ACC synthase 阻害剤である AVG で濃度依存的に顕著に抑制されたことから、*A. hispidum* における fluazifop-butyl によるエチレンの誘導は、オーキシシン誘導型ではなく、ストレス誘導型であると推定された。

(5) AVG (500 $\mu$ M) で混合処理し、エチレンの生合成が完全に抑制された時、fluazifop-P-butyl による生育抑制が軽減されたことは、エチレン生合成経路が fluazifop-butyl の作用機構に関与していることを示していた。しかし、生育抑制への軽減効果は完全ではなかったことから、エチレン生合成系の関与が殺草作用の主要因である可能性は低いことが示唆された。

(6) *A. hispidum* において fluazifop-butyl が電解質漏出を引き起こすことから、抗酸化物質との混合処理による生育抑制軽減効果を調べた。水溶性物質である vitamin C や tiron との混合処理では軽減されなかったのに対し、1000 $\mu$ M の脂溶性物質である vitamin E や ethoxyquin との混合処理では、顕著に軽減された。このことから、膜脂質の過酸化が *A. hispidum* における fluazifop-butyl の作用点であると考えられた。また、vitamin E や ethoxyquin との混合処理で、fluazifop-P-butyl によるエチレンの誘導が顕著に抑制された。しかし、その抑制の程度は、AVG より小さいにもかかわらず、生育抑制軽減効果は AVG の場合より大きかったことから、膜脂質の過酸化がエチレン誘導よりも先に引き起こされ、これが殺草作用の主要因である可能性が示唆された。

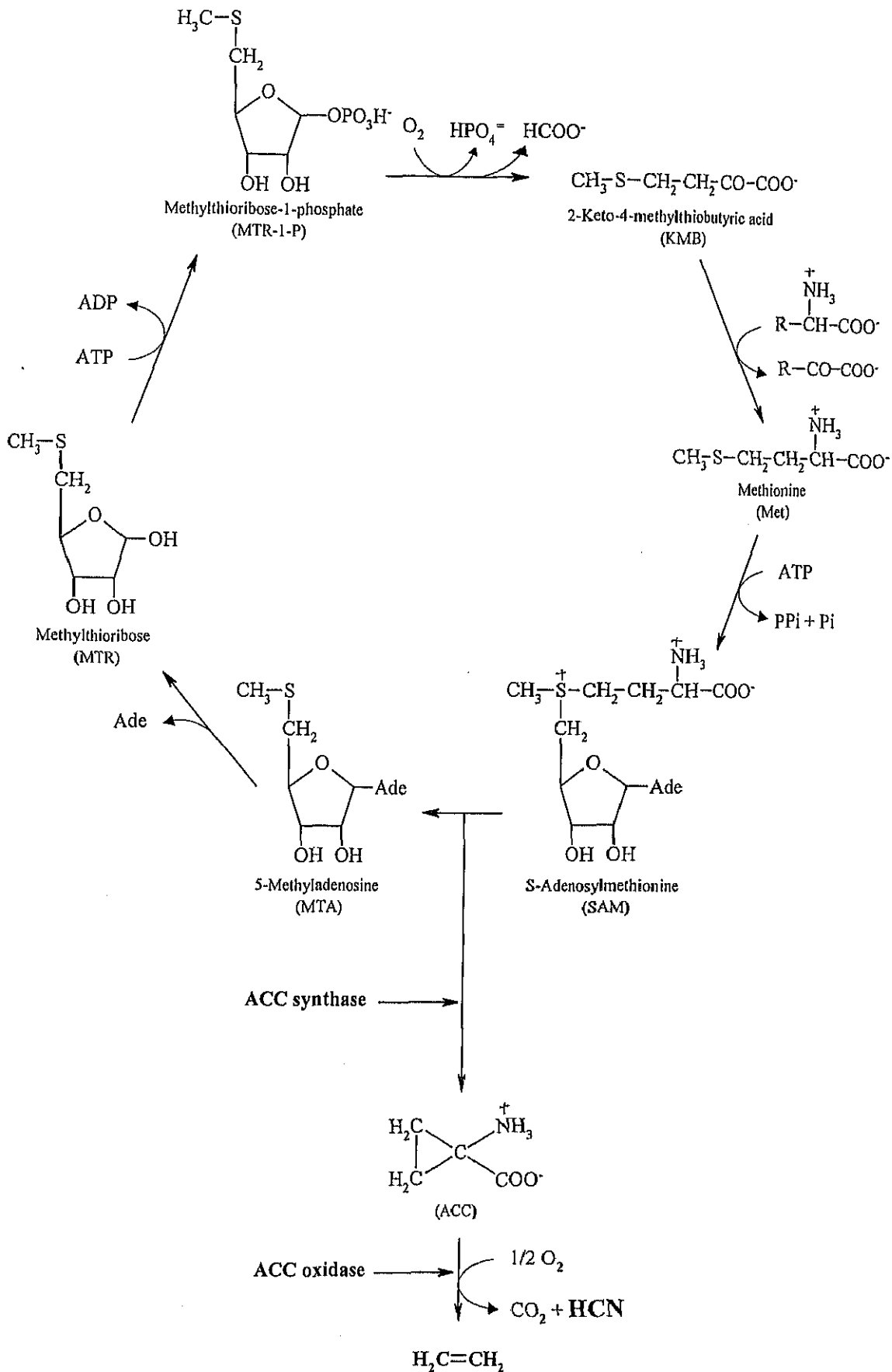


Fig. 4-1 Methionine cycle in relation to ethylene biosynthesis (McKeon et al. 1995).

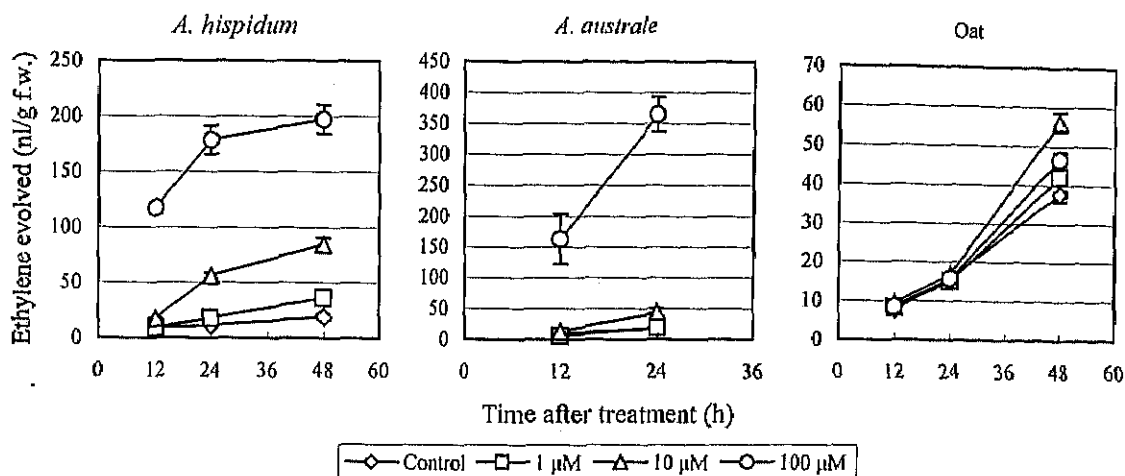


Fig. 4-2 Ethylene evolution from the seedlings of three fluazifop-butyl-susceptible plants, *Acanthospermum hispidum*, *A. australe* and oat, induced by fluazifop-P-butyl. Vertical bars represent mean±SE.

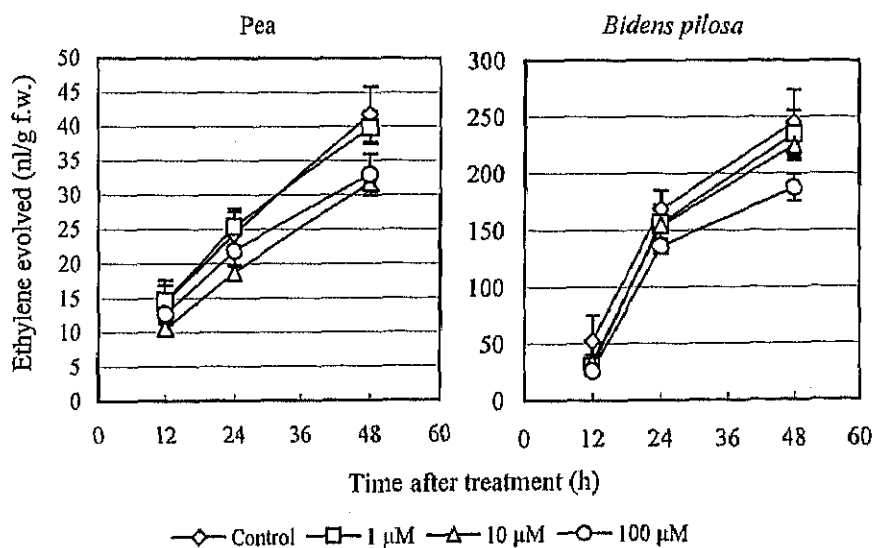


Fig. 4-3 Ethylene evolution from the seedlings of two fluazifop-butyl-tolerance plants, pea and *Bidens pilosa*, induced by fluazifop-P-butyl. Vertical bars represent mean±SE.

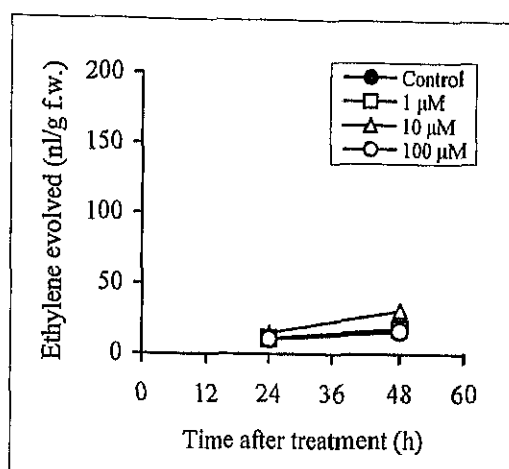


Fig. 4-4 Ethylene evolution from the seedlings of *Acanthospermum hispidum* induced by sethoxydim. Vertical bars represent mean $\pm$ SE.

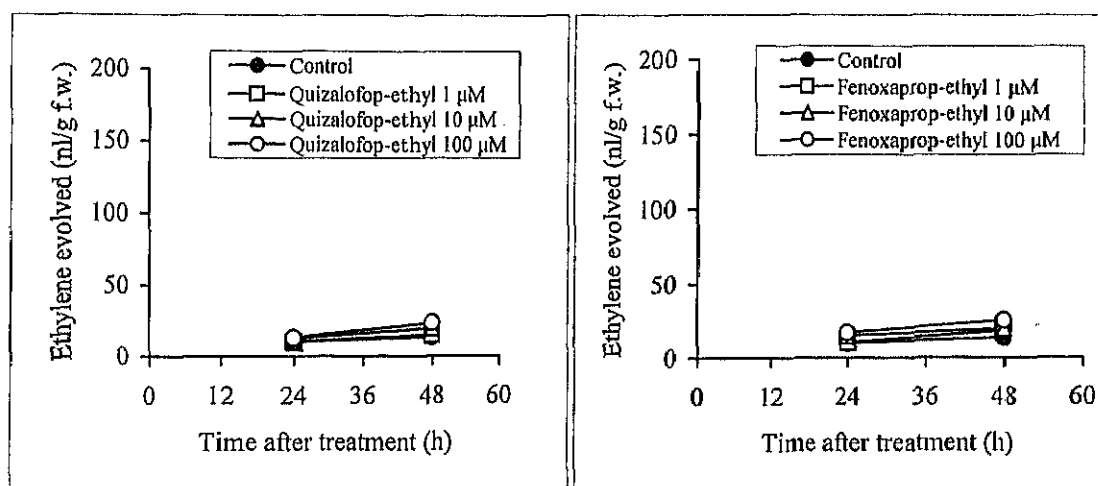


Fig. 4-5 Ethylene evolution from the seedlings of *Acanthospermum hispidum* induced by quizalofop-ethyl and fenoxaprop-ethyl. Vertical bars represent mean $\pm$ SE.

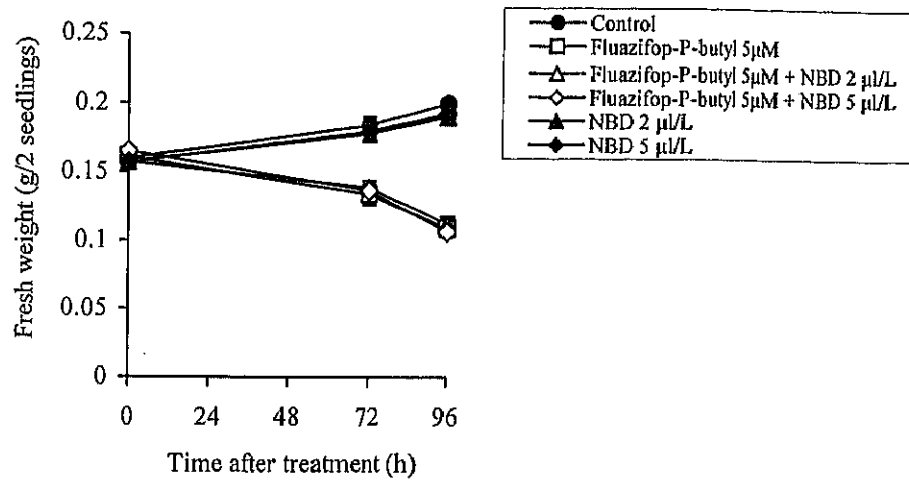


Fig. 4-6 Effect of NBD on growth inhibition of *Acanthospermum hispidum* seedlings induced by fluazifop-P-butyl. Vertical bars represent mean±SE.

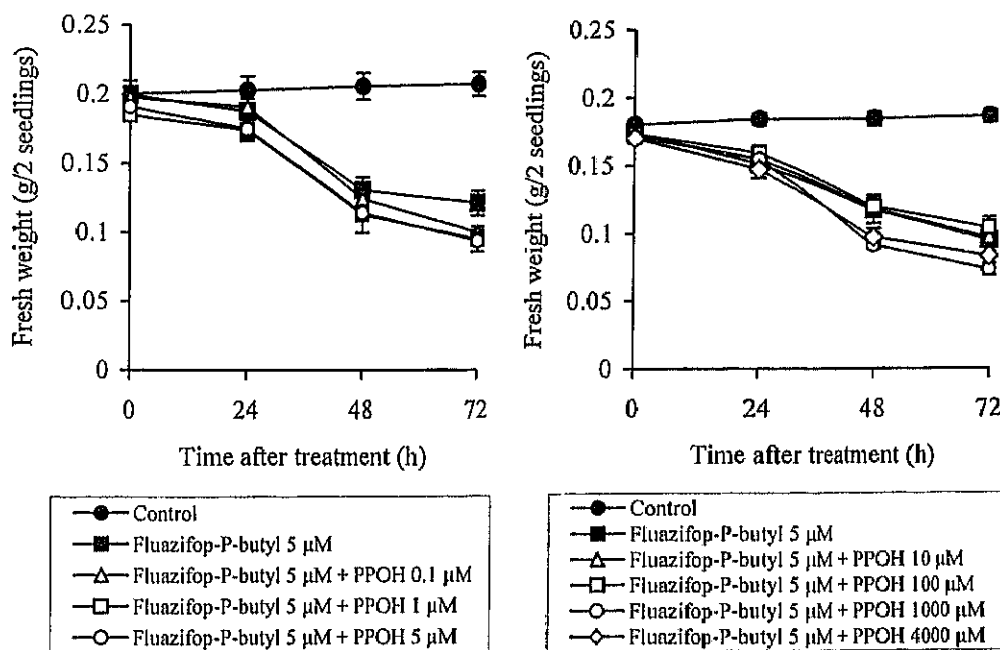


Fig. 4-7 Effect of PPOH on growth inhibition of *Acanthospermum hispidum* seedlings induced by fluazifop-P-butyl. Vertical bars represent mean±SE.

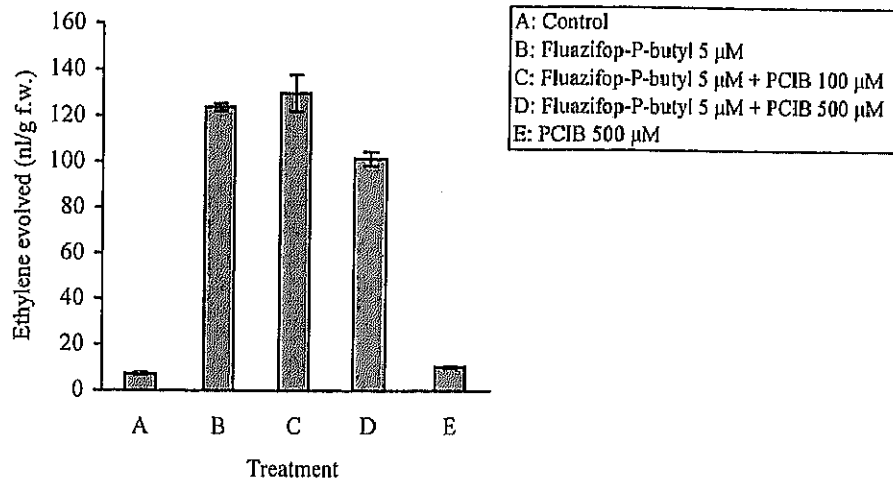


Fig. 4-8 Effect of PCIB on ethylene evolution from *Acanthospermum hispidum* seedlings induced by fluazifop-P-butyl. Vertical bars represent mean $\pm$ SE.

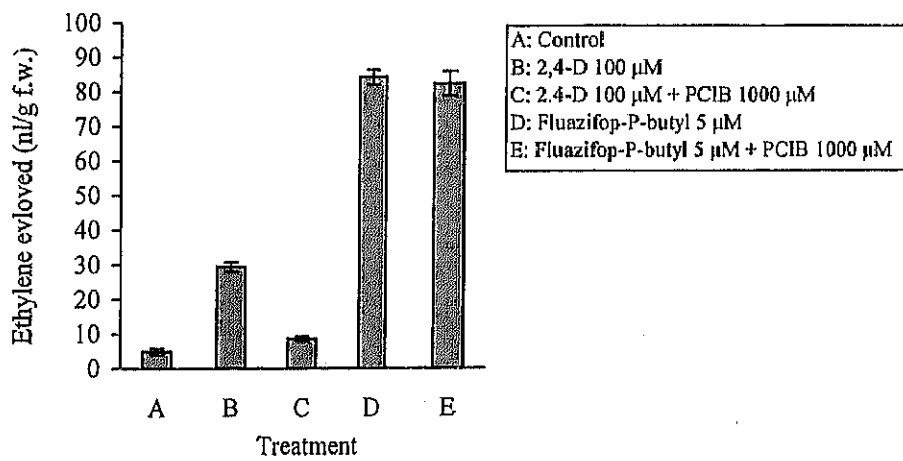


Fig. 4-9 Effect of PCIB on ethylene evolution from *Acanthospermum hispidum* seedlings induced 2,4-D and fluazifop-P-butyl. Vertical bars represent mean $\pm$ SE.



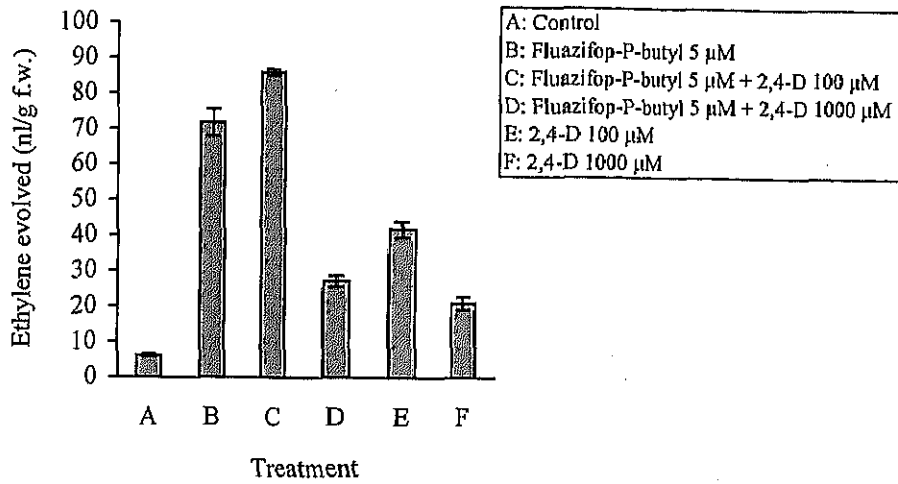


Fig. 4-10 Effect of 2,4-D on ethylene evolution from *Acanthospermum hispidum* seedlings induced by fluazifop-P-butyl. Vertical bars represent mean±SE.

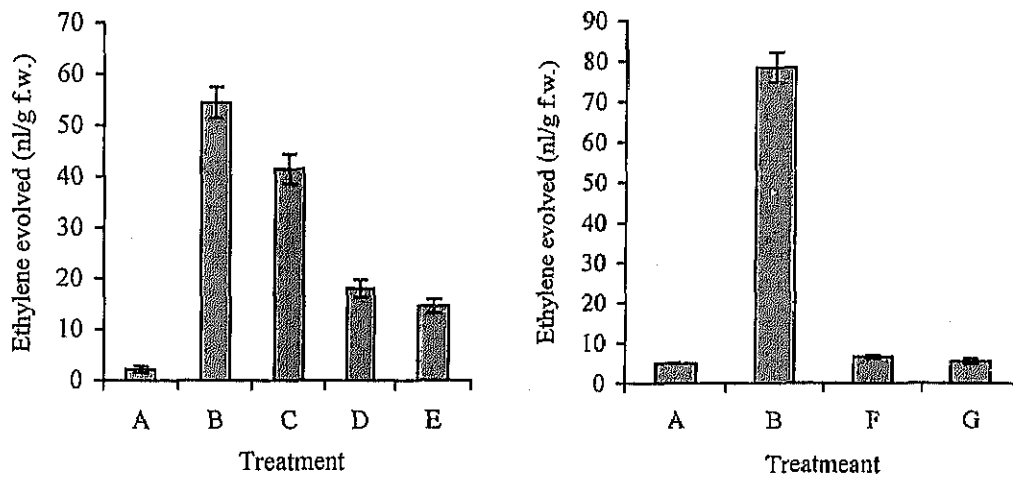


Fig. 4-11 Effect of AVG on ethylene evolution from *Acanthospermum hispidum* seedlings induced by fluazifop-P-butyl. A: Control; B: Fluazifop-P-butyl 5 μM; C: Fluazifop-P-butyl 5 μM + AVG 1 μM; D: Fluazifop-P-butyl 5 μM + AVG 10 μM; E: Fluazifop-P-butyl 5 μM + AVG 100 μM; F: Fluazifop-P-butyl 5 μM + AVG 500 μM; G: AVG 500 μM. Vertical bars represent mean±SE.

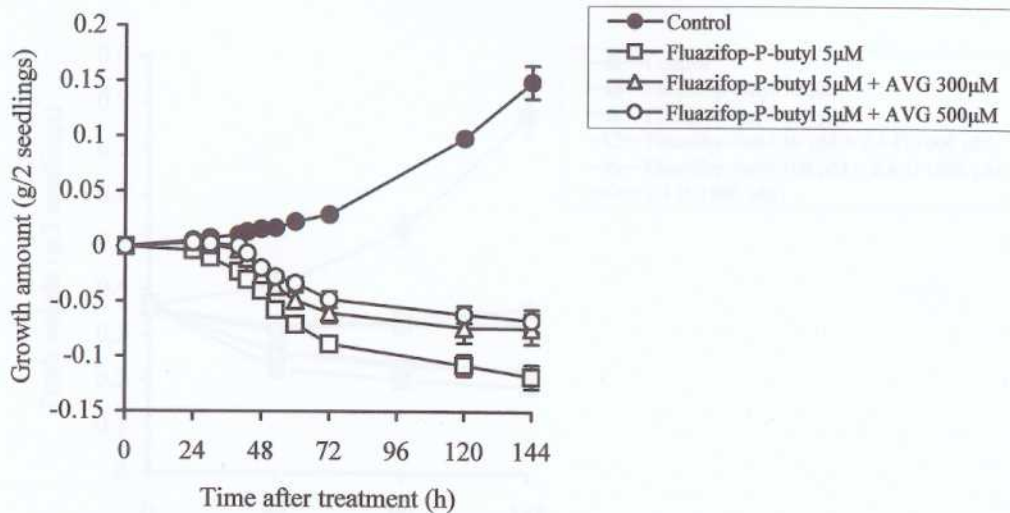


Fig. 4-12 Effect of AVG on growth inhibition of *Acanthospermum hispidum* seedlings by fluazifop-P-butyl. Vertical bars represent mean $\pm$ SE.

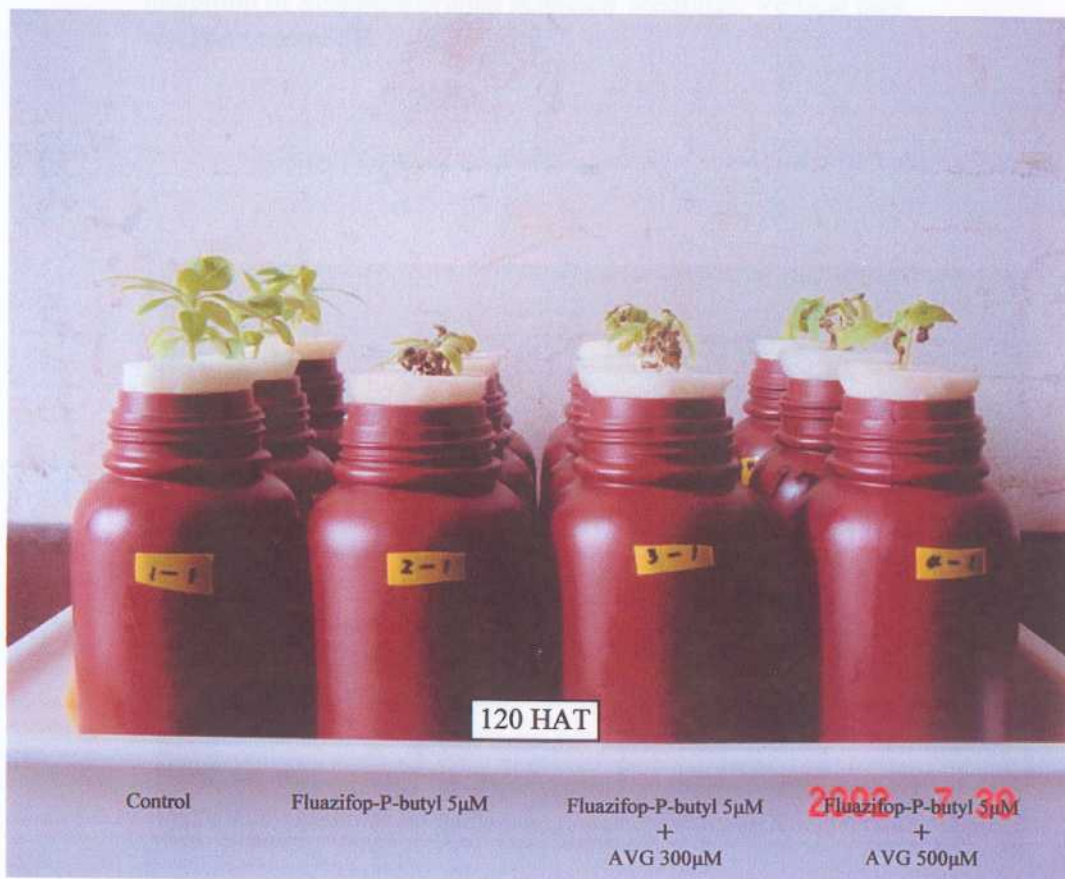


Fig. 4-13 Growth responses of *Acanthospermum hispidum* seedlings to mixtures of fluazifop-butyl and AVG. The picture was taken 120 hours after treatment.

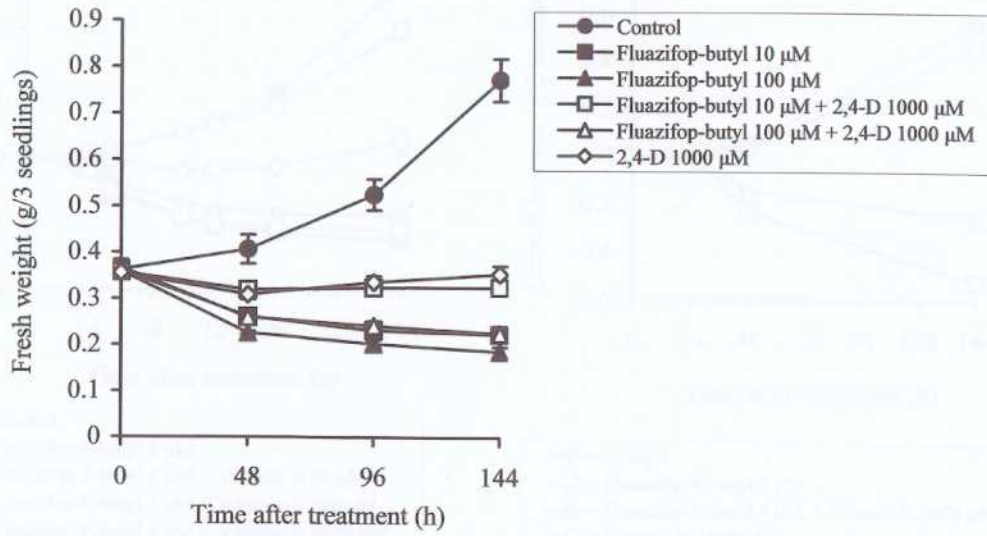


Fig. 4-14 Effect of 2,4-D on fluazifop-butyl-induced growth inhibition of *Acanthospermum hispidum* seedlings. Vertical bars represent mean $\pm$ SE.

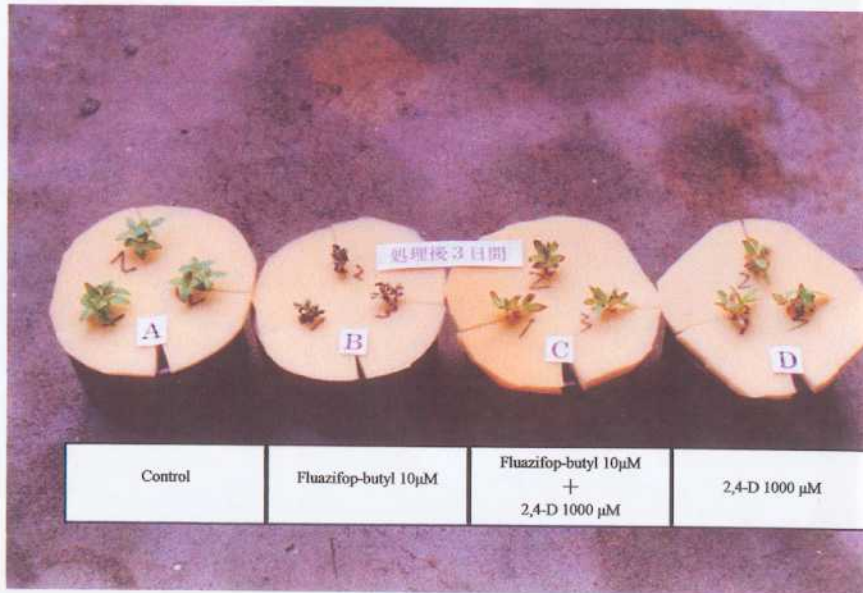


Fig. 4-15 Growth responses of *Acanthospermum hispidum* seedlings to mixtures of fluazifop-butyl (FB) and 2,4-D. The picture was taken one week after treatment.

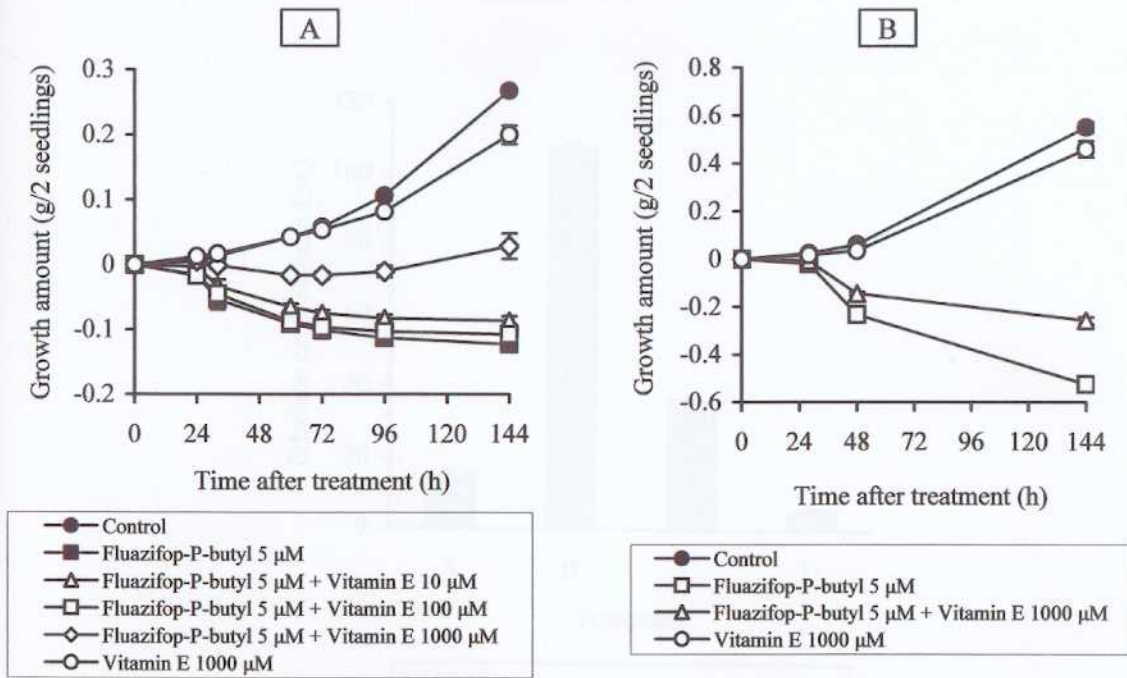


Fig. 4-16 Effect of vitamin E on growth inhibition of *Acanthospermum hispidum* seedlings induced by fluazifop-P-butyl with mixture treatment of two compounds. Vertical bars represent mean±SE. (A) and pre-treatment of vitamin E (B)

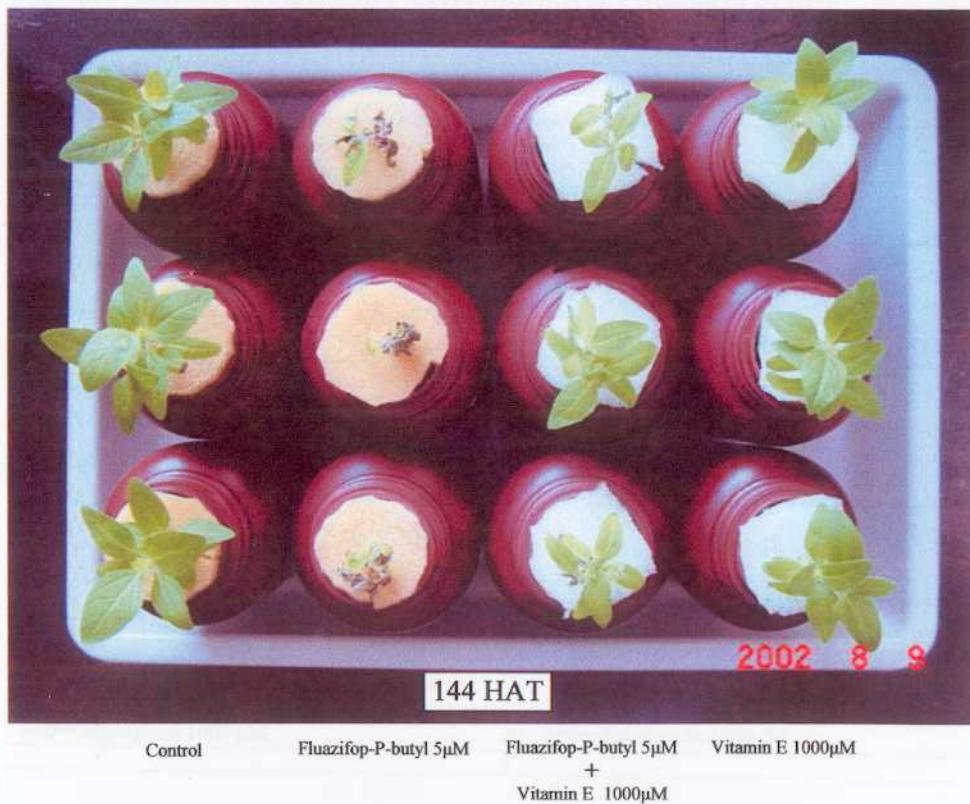
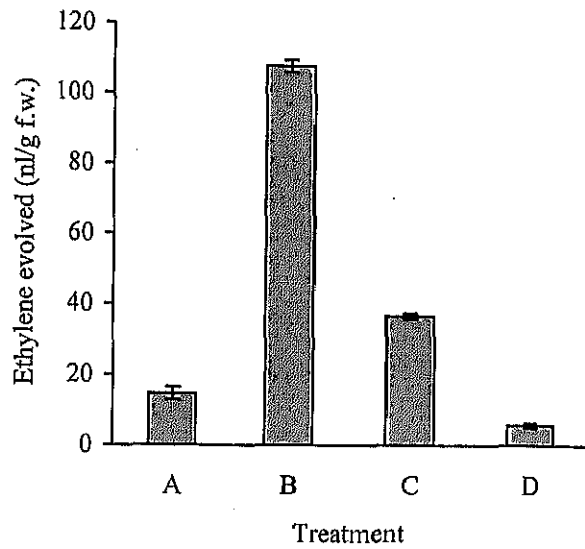


Fig. 4-17 Growth responses of *Acanthospermum hispidum* seedlings to mixtures of fluazifop-butyl and Vitamin E. The picture was taken 144 hours after treatment.



A: Control  
 B: Fluazifop-P-butyl 5 µM  
 C: Fluazifop-P-butyl 5 µM + Vitamin E 1000 µM  
 D: Vitamin E 1000 µM

Fig. 4-18 Effect of vitamin E on ethylene evolution from *Acanthospermum hispidum* induced by fluazifop-P-butyl with mixture treatment of two compounds. Vertical bars represent mean±SE.

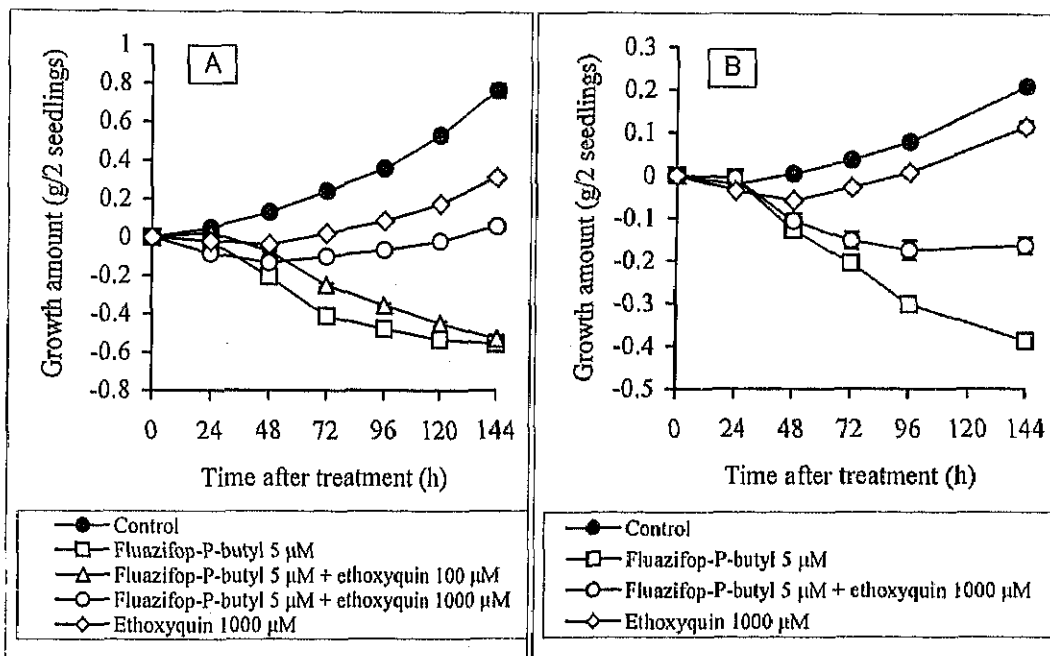


Fig. 4-19 Effect of ethoxyquin on growth inhibition of *Acanthospermum hispidum* seedlings induced by fluazifop-P-butyl with mixture treatment of two compounds (A) and pre-treatment of ethoxyquin (B). Vertical bars represent mean±SE.



Fig. 4-20 Growth responses of *Acanthospermum hispidum* seedling to mixtures of fluazifop-butyl and ethoxyquin. The picture was taken one week after treatment.

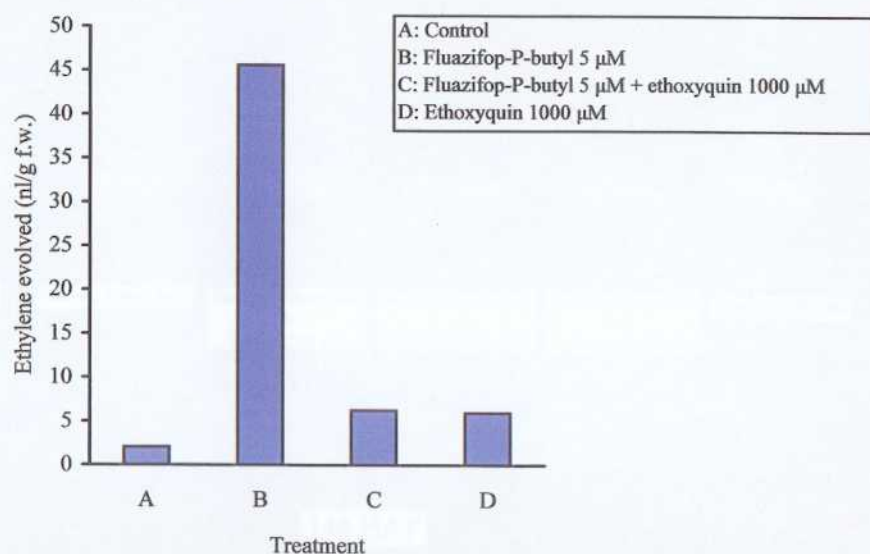


Fig. 4-21 Effect of ethoxyquin on ethylene evolution from *Acanthospermum hispidum* induced by fluazifop-P-butyl with mixture treatment of two compounds. Vertical bars represent mean $\pm$ SE.

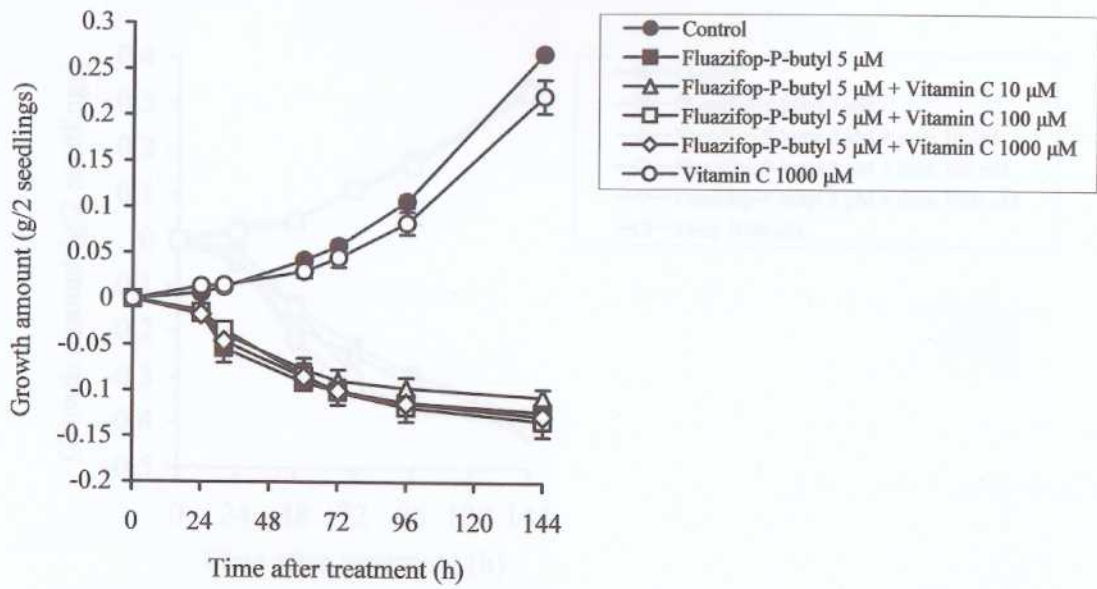


Fig. 4-22 Effect of vitamin C on growth inhibition of *Acanthospermum hispidum* seedlings induced by fluazifop-P-butyl with mixture treatment of two compounds. Vertical bars represent mean  $\pm$  SE.



Fig. 4-23 Growth responses of *Acanthospermum hispidum* seedlings to mixtures of fluazifop-butyl and vitamin C. The picture was taken one week after treatment.

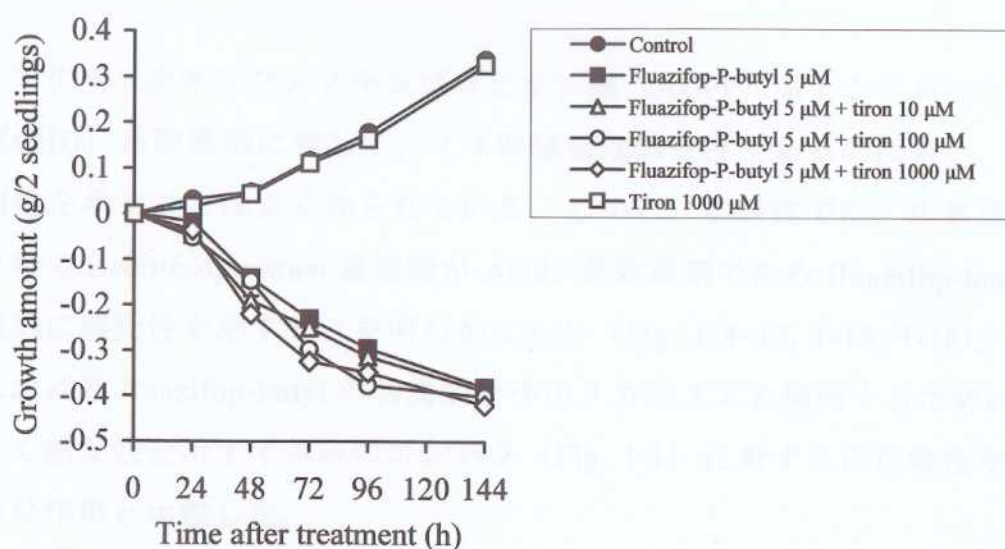


Fig. 4-24 Effect of tiron on growth inhibition of *Acanthospermum hispidum* seedlings induced by fluazifop-P-butyl with mixture treatment of two compounds. Vertical bars represent mean $\pm$ SE.



Fig. 4-25 Growth responses of *Acanthospermum hispidum* seedling to mixtures of fluazifop-butyl and tiron. The picture was taken 144 hours after treatment.