

第 5 章 総合考察

5-1 はじめに

土壌中におけるプレチラクロールは、一般的には移動性は小さく、土壌表層 1 cm 以内に偏在して「処理層」を形成し、イネ-ヒエ間で選択性を示すことが多い(Murakami 1990; Kobayashi *et al.* 1999a)が、ある条件においてイネの生育を抑制する場合がある(山口と福島 1997a, 1997b; Kobayashi *et al.* 1999a)。一方、プレチラクロールによるイネ生育抑制作用は、ダイムロン(Ogasawara *et al.* 1991; Deng *et al.* 2001)やフェンクロリム(Christ 1985; Shim *et al.* 1990a; Han & Hatzios 1991; Deng *et al.* 1995; Deng & Hatzios 2002)との混合処理で軽減されることが水耕法において明らかにされている。また、土壌中については、直播イネの種子にフェンクロリムを施用することによりプレチラクロールによる生育抑制を軽減することも知られている(Quadranti *et al.* 1983; Rufener *et al.* 1983; Burhan *et al.* 1985)。

このような除草剤によるイネ生育抑制作用に対する他の薬剤による軽減効果は、プレチラクロール以外の除草剤についても認められ、ダイムロンに関しては、水耕法の場合には、ベンスルフロンメチル(BSM) (Shirakura *et al.* 1996; Omokawa *et al.* 1996)やピラゾスルフロンエチル(PSE) (Yun *et al.* 1999)に対して軽減効果を発現し、圃場およびポット試験では、前述の BSM とメフェナセット(Kim *et al.* 1993)をはじめ、ピリブチカルブ(佃ら 2000)およびカフェンストロール(神崎ら 1993)に対して、軽減効果を発現することが知られている。なお、ジメピペレートに関しても、BSM (Yuyama *et al.* 1986; 藤田と芝山 1988, 1989a; Shirakura *et al.* 1988; 池田と菅谷 1989; 李ら 1992; Yun *et al.* 1999)や PSE(Kobayashi *et al.* 1995; Yun *et al.* 1999)、さらにはオキシフルオルフェンやクロメプロップ(池田と菅谷 1989; 李ら 1992; Lee *et al.* 1993)との混合処理に

より、それらの除草剤の生育抑制が軽減されることが知られている。薬害軽減効果は、植物体内に吸収された後に、除草剤の解毒代謝が薬害軽減剤によって促進されること(Yuyama *et al.* 1986; Shim *et al.* 1990a; Han & Hatzios 1991; Lee *et al.* 1993; Simarmata & Penner 1993; 鄧ら 1995、1996; Shirakura *et al.* 1996; Deng *et al.* 1997; Yun *et al.* 1999; Deng *et al.* 2001; Deng & Hatzios 2002)、あるいは除草剤と競合してその植物への取り込みを阻害するなど(Shirakura *et al.* 1988; Omokawa *et al.* 1996)、作用点に達する除草剤の量を減らして発現することが多い。プレチラクロールのイネ生育抑制作用に対しては、フェンクロリムとの混合処理により、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GST)活性を高め、プレチラクロール-グルタチオン抱合体の生成を促進することによって軽減効果が起こることが知られている(鄧ら 1995,1996; Deng *et al.* 1997; Deng & Hatzios 2002)。一方、ダイムロンと混合処理した場合は、GSTによる抱合反応よりも、SU剤における場合(Shirakura *et al.* 1996; Omokawa *et al.* 1996; Yun *et al.* 1999)と同様に、プレチラクロールのイネへの吸収の抑制ならびに酸化代謝と関係する可能性が示唆されている(Deng *et al.* 2001)。

一方、土壌中における除草剤の植物に対する生育抑制作用については、その土壌中での存在形態、中でも土壌水中の薬剤濃度と密接に関係していることが明らかにされている(杉山ら 1990a, 1990b; Sugiyama & Kobayashi 1993; Kobayashi *et al.* 1994, 1996, 1999a; 1999b; Onoe *et al.* 1995; Nakamura *et al.* 1996; Takahashi *et al.* 2000)。しかし、土壌中における薬害軽減剤の挙動および発現機構と関連してイネの生育抑制軽減効果を調べた報告はない。

本研究では、プレチラクロールのイネ生育抑制作用に対するダイムロンおよびフェンクロリムの軽減効果について、土壌間ならびに薬剤間差異の点から検討し、土壌水中濃度と軽減効果の関係を中心に解析した。また、使用現場(水田)を想定して、減水条件下における生育抑制軽減効果についても調べ

た。さらに、各剤の活性発現を直接的に支配していると考えられる土壌水中濃度に着目し、プレチラクロール、ダイムロンならびにフェンクロリムの土壌吸着をはじめ、土壌中における脱着ならびに分解性についても調べ、土壌水中濃度を支配する要因についても検討した。こうした一連の研究により、プレチラクロールのイネ生育抑制作用に対するダイムロンおよびフェンクロリムの軽減効果の土壌間差異の発現における土壌要因の役割を総合的に明らかにしたいと考えた。また、土壌中における生育抑制軽減効果の発現機構の解析によって得られた知見は、プレチラクロールの生育抑制作用に対するダイムロンとフェンクロリムの軽減効果に限らず、除草剤全般にわたる生育抑制に対する他の薬剤による軽減効果の土壌中における発現機構の総合的理解に対しても、基礎的な情報を与えるものと考えられた。

5-2 プレチラクロールのイネ生育抑制作用に対するダイムロンおよびフェンクロリムの軽減効果と土壌中における挙動との関係

プレチラクロールは、土壌表層に「処理層」を形成し、通常はイネに対して生育抑制が起こりにくいとされている(Murakami 1990)が、実際にはイネに対して生育抑制をもたらす場合もある(山口と福島 1997a, 1997b; Kobayashi *et al.* 1999a)。一方で、プレチラクロールの生育抑制作用は、水耕法ならびに土耕法のいずれの場合でもダイムロン(Ogasawara *et al.* 1991; Deng *et al.* 2001)またはフェンクロリム(Quadranti *et al.* 1983; Rufener *et al.* 1983; Burhan *et al.* 1985; Christ 1985; Shim *et al.* 1990a; Han & Hatzios 1991; Deng *et al.* 1995; Deng & Hatzios 2002)と混合処理することにより軽減されることが知られている。そこで本研究では、はじめに、土壌要因を含まない条件、すなわち水耕法において各剤の作用に関する基本的情報について検討した。その結果、水耕法では、プレチラクロール単独処理で、イネに対して生育抑制作用を発現した

場合でも、ダイムロンならびにフェンクロリムは、この生育抑制を軽減した。さらに、その軽減効果はダイムロンよりフェンクロリムで大きいことが確認された。こうした水耕法におけるフェンクロリムの顕著な軽減効果は、GST 活性の増大によるプレチラクロールとグルタチオン抱合の促進により発現することが知られ(Shim *et al.* 1990a; Han & Hatzios 1991; Deng *et al.* 1995; 鄧ら 1995、1996; Deng *et al.* 1997; Deng & Hatzios 2002)、また、ダイムロンの場合は、GST 活性による代謝解毒反応が主因ではなく、むしろ、プレチラクロールのイネへの吸収抑制に関係する要因、あるいは酸化による代謝要因が挙げられている(Deng *et al.* 2001)。従って、上述した水耕法における両剤の軽減効果の差は、培地(水耕液)中においてイネと各剤が接触した後のプレチラクロールの吸収・移行や代謝作用の相違等、植物体内におけるプレチラクロールの挙動に対する両軽減剤の作用が関係していること、すなわち、各剤が植物との接触後の作用によって発現されることを示している。

一方、土壌中における除草剤の活性は土性、中でも土壌中の有機物含量の相違により変動することが知られている(Kobayashi 1996、1999; 小林 2002)。そこで、有機物含量の異なる竜ヶ崎土壌(有機炭素 0.88 %)ならびに取手土壌(有機炭素 2.00 %)を用いて、混和処理におけるプレチラクロールによるイネの生育抑制作用ならびにダイムロンおよびフェンクロリムによる軽減効果を調べた結果、同一処理濃度での軽減効果は竜ヶ崎土壌が取手土壌に比べて大きかった。有機物含量の相違による除草剤による殺草活性の変動は、土性の異なる土壌を用いて比較検討されている(Kobayashi *et al.* 1994; Onoe *et al.* 1995; Nakamura *et al.* 1996)が、ダイムロンおよびフェンクロリムのプレチラクロール生育抑制作用に対する軽減効果においても、土壌中におけるこれらの挙動が重要な役割を果たしていることが示唆された。また、軽減効果の薬剤間差異については、水耕法の結果と異なり両土壌ともダイムロンがフェン

クロリムよりも大きい軽減効果を示し、土壌中における両軽減剤の挙動(吸着ないしは分解など)が主な要因として関与していると示唆された。一方、減水条件下での湛水処理におけるプレチラクロールによるイネの生育抑制ならびにダイムロンおよびフェンクロリムによる軽減効果は、0.5 cm の移植深度で混和処理とほぼ同程度の活性を示したが、移植深度が 2 cm と深い場合はこれらの生育抑制ならびに軽減効果がほとんど発現しなかった。この結果から、土耕法におけるイネの軽減効果は、薬剤の土壌中での吸着、分解、移動を通して形成される薬剤「処理層」と吸収部位が接触することにより発現すると推定された。このようなダイムロンおよびフェンクロリムの軽減効果は、植物の薬剤吸収部位と処理層と作用発現との関係において、水田におけるプレチラクロールの選択殺草性に関する先行研究(Murakami *et al.* 1983; Murakami 1990; Kobayashi *et al.* 1999a)と同様な要因によって発現していると考えられた。すなわち、水耕法および土耕法で得られた結果は、ダイムロンやフェンクロリムによる軽減効果には、これらが土壌中においてイネに接触する以前の挙動によって変動することを明らかにした(以上第 2 章)。

そこで第 3 章では、プレチラクロール、ダイムロンならびにフェンクロリムの土壌中における挙動について検討した。

混和処理の場合には、処理直後の土壌水中濃度は各薬剤とも取手土壌に比べて竜ヶ崎土壌で高く、また薬剤間ではダイムロンとプレチラクロールはほぼ同程度であるのに対して、フェンクロリムはダイムロンとプレチラクロールに比べるとかなり低かった。しかし、処理直後の固相吸着量においては、土壌間ないしは薬剤間での顕著な差異は見られなかった。また、各薬剤の経時変化について調べたところ、実験期間中(6 日間)、土壌水中濃度の経時的減少率は土壌吸着量の減少率に比べて大きく、また薬剤間比較ではプレチラクロールでの減少率が最も大きく、フェンクロリム、ダイムロンの順に低下

し、その差は主に分解に依存することが示唆された。これに対して、土壤間で比較すると、プレチラクロールは取手土壤に比べて竜ヶ崎土壤で減少が大きかったが、ダイムロンとフェンクロリムの減少に土壤間差異は見られなかった。一方、混和处理におけるダイムロンおよびフェンクロリムの生育抑制軽減効果と土壤中での存在形態との関係について解析した結果、土壤水中濃度が同じであれば、イネに対するプレチラクロールの生育抑制を対照区の 25 %まで回復させる値である I_{25} を示す各軽減剤の濃度は、竜ヶ崎と取手両土壤でほぼ同じで、水耕法における値ともほぼ一致することを示した。このような結果は、プレチラクロールの生育抑制作用に関する Kobayashi *et al.* (1999a)の報告と同様に、ダイムロンおよびフェンクロリムの軽減効果も土壤中の全存在量でなく土壤水中濃度に依存することを示している。

湛水处理の場合は、田面水中濃度ならびに土壤表面から 0-1 cm 層の土壤水中濃度は、各薬剤、各土壤とも経時的に減少したが、供試した 3 剤のうち、フェンクロリムの減少率が最も大きかった。一方、0-1 cm 層の固相吸着量ならびに全存在量は、プレチラクロールとダイムロンで経時的に増加したが、フェンクロリムでは変化が小さかった。フェンクロリムは、田面水中における濃度の低下も顕著であり、本剤の分解には、光などの化学的要因も関与している(Hatzios 1998)ことが考えられる。さらに、0.5 cm 移植でのダイムロンおよびフェンクロリムの処理時における 0-1 cm 層の土壤水中濃度が同じであれば竜ヶ崎、取手の両土壤とも同程度の軽減効果を示し、両剤の軽減効果は土壤表層の土壤水中濃度に依存して発現することが明らかにされた。

以上のように、土耕法におけるプレチラクロールのイネ生育抑制作用に対する両剤の軽減効果は、土性の相違に関係なく直接的には土壤水中濃度に依存し、特に処理層中の濃度と深い関係にあることが明らかにされた。また、ダイムロンとフェンクロリムならびに竜ヶ崎と取手土壤の間の軽減効果の差

も、それらの土壌水中濃度の差に起因することが示された。このことは、除草剤の土壌水中濃度が土壌中における殺草活性を決定していること (Kobayashi 1996、1999; 小林 2002)と一致するものであり、土壌中における生育抑制軽減効果の発現においても、土壌水中濃度が重要であることを示した。

5-3 プレチラクロール、ダイムロンおよびフェンクロリムの土壌水中濃度を支配する土壌要因

このように、土壌中におけるプレチラクロールのイネ生育抑制作用に対するダイムロンとフェンクロリムの軽減効果を支配する直接の要因は、これらの土壌水中濃度であることが明らかにされたが、この土壌水中濃度と土壌吸着、脱着、分解との関係を明確にする必要があった。土壌水中濃度を支配する主因と考えられる土壌吸着性については、吸着平衡時の土壌吸着を測定する「従来法」(鉄塚 1981)および二層遠心管を用いた遠心分離法による土壌中の薬剤を測定する方法(Kobayashi *et al.* 1994)の両方を行った。従来法は、吸着平衡時において、上澄みの濃度を初期の処理濃度から差し引くことにより吸着量を算出し、上澄みの濃度と算出した吸着量との関係から吸着性を検討する(鉄塚 1981)が、使用現場の水分状態ならびに土壌水中濃度と吸着量との関係を反映できない欠点を有する。これに対して、二層遠心管法は、土壌水中濃度および土壌固相吸着量との関係を直接的に解析することが可能で (Kobayashi *et al.* 1994、1996、Kobayashi 1996、1999)、しかも、使用現場での土壌中の薬剤の動態と活性の直接的な関係がより明瞭に把握できる (Kobayashi *et al.* 1994; Kobayashi 1996、1999; 小林 2002)と考えられる。従来法による吸着の強さと二層遠心管法による吸着の強さは、供試土壌および供試薬剤間で類似した結果を示し、乾土あたりの吸着の強さ(K_d 値)は、竜ヶ崎土壌より取手土壌で高く、プレチラクロールとダイムロンではほぼ同程度であ

り、フェンクロリムは前2剤より高かった。有機炭素あたりの吸着の強さ(K_{oc} 値)は、薬剤間では K_d 値と同様の傾向であったが、土壌間ではほぼ同程度となり、本研究で供試した薬剤の土壌吸着が土壌中の有機物含有量に強く依存することが示唆された。この結果から、土壌中におけるイネのプレチラクロール生育抑制作用に対するダイムロンとフェンクロリムの軽減効果の直接的要因となる土壌水中濃度は、土壌有機物吸着を主体とした土壌吸着と密接な関係を持つことが示された。また、従来法と二層遠心管法の K_d 値および K_{oc} 値を検討した結果、各土壌、各薬剤とも二層遠心管法でやや大きかった。この理由としては、本研究で実施した従来法(鵜塚 1981)では、滅菌土壌の供試により吸着量に評価される可能性がある微生物や光などによる分解を極力排除して測定したのに対し、二層遠心管法では、使用現場に近い条件を反映させるために非滅菌条件で行ったので、微生物等の代謝による要因が加わり、差が生じたと考えられた。

一方、土壌中におけるプレチラクロール、ダイムロンおよびフェンクロリムの脱着の解析から、各薬剤の脱着の強さは吸着の強さと逆に、ダイムロンとプレチラクロールがフェンクロリムよりも大きく、また、脱着回数に関係なく、脱着の強さは各薬剤ともほぼ一定であった。この傾向は、テニルクロールの場合(Onoe *et al.* 1995)とほぼ一致し、このことは湛水処理時での薬剤の下方移動性の薬剤間差と密接に関係していると考えられる。土壌間で比較してみると、竜ヶ崎土壌が取手土壌よりも1.5倍程度の脱着量であったが、湛水処理における移動性の土壌間差とは密接な関係が見られなかった。この理由として、土壌水分含量ならびに土壌固相容積が竜ヶ崎土壌に比べて取手土壌で高いことなどの要因が考えられるが、その解明は今後の検討課題となった。

また、プレチラクロール、ダイムロンおよびフェンクロリムの土壌水中濃

度と分解との関係について検討するために、非滅菌土壌と滅菌土壌を用いて経時的に土壌水中濃度を調べた。各薬剤とも、非滅菌土壌では処理期間(6日間)を通して経時的に減少したが、滅菌土壌ではほとんど減少が見られず、土壌水中におけるプレチラクロール、ダイムロンならびにフェンクロリムの経時的減少には土壌微生物が関与していることが明らかにされた。プレチラクロールの微生物に依存した分解は Fajardo *et al.* (2000)の室内実験による土壌中の経時変化でも確認されている。さらに、非滅菌土壌における土壌水中濃度の減少の薬剤間差について検討したところ、プレチラクロールの分解が最も大きく、フェンクロリム、ダイムロンの順に小さくなった。土壌中でのプレチラクロールの半減期は観音台土壌(軽埴土、黒ボク土)を用いた室内実験の結果から、酸化条件で16.0日、還元条件で11.3日と報告(Fajardo *et al.* 2000)されていて、ダイムロンの50日(保古 1994)ならびにフェンクロリムの17-35日(Tomlin 1999)より短く、分解速度が比較的速いことを示すものであり、このことが、土壌水中濃度の薬剤間差が生じる主な理由と考えられる。湛水条件における0-1 cm層の土壌水中濃度の経時的減少は、プレチラクロールでは竜ヶ崎土壌が取手土壌よりも大きかったが、両土壌ともフェンクロリムがプレチラクロールやダイムロンに比べて顕著であった。フェンクロリムは土壌中の半減期は17-35日(Tomlin 1999)とプレチラクロールの11.3~16.0日(Fajardo *et al.* 2000)より若干長い、水中での半減期が26時間(Hatzios 1998)とプレチラクロールの200日以上(pH 1~9) (村上と長谷川 1993; 金沢 1996)に比べて非常に短く、本剤の分解は光および加水分解に起因するところが大いと思われる。従って、非滅菌条件下における土壌水中濃度の減少の薬剤間ならびに土壌間差には、微生物要因以外にも、光や温度などの化学的要因も関係している可能性が考えられ、こうした点についてはさらに検討を重ねる必要がある。これに対して、土壌固相あたりの吸着量ならびに全存在量は、

土壤水中濃度ほどの顕著な減少ではなかったが、竜ヶ崎土壤のプレチラクロールとダイムロンでやや大きかった。これは、微生物分解によって減少した土壤水中に溶存する薬剤濃度の減少に伴う脱着の大きさが関与しているものと考えられる(以上第4章)。

本研究の結果を総合すると、土壤中におけるプレチラクロールのイネ生育抑制作用に対するダイムロンおよびフェンクロリムの軽減効果は、処理層中の土壤水中濃度に依存して発現し、この濃度は土性の相違により変動するが、薬剤間で比較した場合、フェンクロリムに比べてダイムロンの軽減効果が大きかった。これらの軽減効果の差は土壤間ならびに薬剤間の土壤水中濃度の差異に起因し、土壤水中濃度の差は、主として土壤有機物吸着に依存した土壤吸着を主因とし、これに微生物などの生物的要因ならびに化学的要因なども関与しているものと考えられる(Fig. 5-1 および Table 5-1)。

5-4 土壤中における生育抑制軽減効果の発現機構と除草剤の合理的利用法

本研究では、土壤中におけるプレチラクロールのイネ生育抑制作用に対するダイムロンおよびフェンクロリムの軽減効果もまた、土壤水中濃度との関係が深いことが示された。すなわち、土壤中におけるダイムロンおよびフェンクロリムの軽減効果の発現機構は、プレチラクロールによる殺草活性の発現機構(Kobayashi *et al.* 1999a)と同様に、土壤有機物吸着が主因であると考えられる土壤吸着や脱着、さらには微生物を主因とする分解によって支配される土壤水中のダイムロンならびにフェンクロリムの濃度に依存して発現することが明らかにされた(Fig. 5-1)。土壤中における生育抑制作用の軽減効果については、いわゆる「生育試験」の面からこれまでも数多くの研究が行われ、ダイムロンの軽減効果については、圃場またはポット試験において、ベ

ンスルフロンメチルおよびメフェナセット(Kim *et al.* 1993)や、ピリブチカルブ(佃ら 2000)に対してもその効果が認められているが、その発現機構については、全く不明である。本研究では、土壤中におけるプレチラクロールの生育抑制作用に対するダイムロンならびにフェンクロリムの軽減効果が土壤水中濃度に依存することを明らかにしたが、土壤水中濃度に依存して軽減効果が発現するということは、土壤中に処理した薬害軽減剤全般にわたって適用できるものと考えられる。従って、プレチラクロールとダイムロンおよび、プレチラクロールとフェンクロリムの組み合わせにとどまらず、他の除草剤と薬害軽減剤ならびにイネ以外の作物に対象を広げて、本研究で示された解析法、すなわち、生育抑制軽減効果におよぼす土壤水中濃度とそれに関与する吸着、脱着、分解等の要因との関連性について検討することにより、土壤中における生育抑制軽減効果の発現機構が総合的に解明されるものと期待される。また、このことは、使用現場における合理的な薬剤の使用や新規薬剤の開発などに寄与するものと思われる。

ところで、本研究での知見で示されたように、各剤の土壤水中濃度は処理量に比べて非常に低く、実際に土壤水中に溶存していて、直接作用発現に関与していると考えられるものは、全処理量の数%~10%前後である。また、処理されたものの大部分は土壤吸着態として存在しており、その一部は脱着によって土壤水中濃度に補填されるものの、ほとんどは作用に直接関与することがないと考えられる。従って、本研究で得られた成果は、作物への軽減効果を発現させる土壤水中の溶存態濃度を持続的に保持するような徐放性製剤の開発などに対して、有益な情報を提供することができるものと期待される。

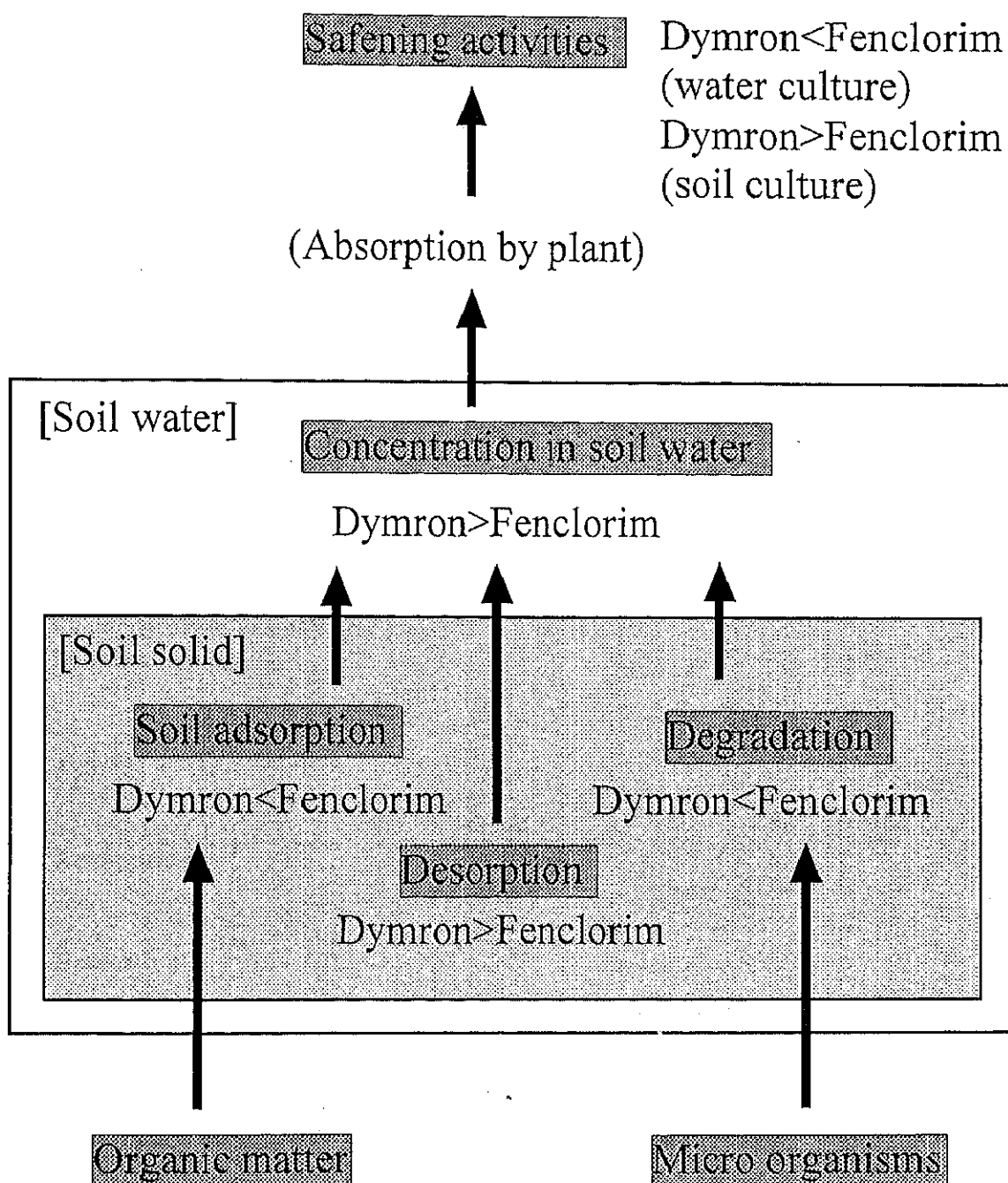


Fig. 5-1. Proposed mechanism of safening activities of dymron and fenclorim in soil.

Table 5-1. The relationship between the phytotoxicity of pretilachlor and the safening effects of dymron and fenclorim on rice and the movements of these chemicals in Ryugasaki and Toride soils.

		Phytotoxicity	Safening effect	
		Pretilachlor	Dymron	Fenclorim
Growth				
Water culture		6	5	6
Soil-mix application	Ryugasaki	4	4	3
	Toride	3	3	2
Soil-surface application				
Transplanting at 0.5cm	Ryugasaki	4	4	3
	Toride	3	3	2
Transplanting at 2cm	Ryugasaki	1	1	1
	Toride	1	1	1
Concentration in soil water				
Soil-mix application	Ryugasaki	4	4	2
	Toride	3	3	1
Soil-surface application				
	Ryugasaki	4	4	2
	Toride	3	3	1
Adsorption				
	Ryugasaki	3	3	5
	Toride	4	4	6
Desorption				
	Ryugasaki	3	3	2
	Toride	2	2	1
Downward mobility				
	Ryugasaki	2	2	1
	Toride	2	2	1
Degradation				
	Ryugasaki	4	2	3
	Toride	3	2	3

0(none) ~ 6(greatest or most)