

剤開発の隘路にもなっているが、畑作では多くの作物に適用できる除草剤が望まれている。また、利用技術の面から既存の除草剤の見直しによって、有効利用をはかることも必要である。

5. お わ り に

当地域では、最近、専業農家がわずかにふえているが、圧倒的に多い第二種兼業農家もふえる傾向を示している。そして特徴的なことは、農業専従者の高齢化と総農家に占める「農業専

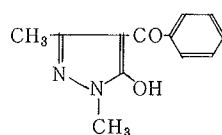
従者」のいない農家が増加し、労働力の脆弱化が進んでいる点である。したがって、除草剤の散布技術にしても、大型機械による防除技術の確立が必要であると同時に、現状では手作業で処理できる簡便な防除の機械化や作業法などの集約的技術も必要とされている。複雑できめのこまかい対応が求められており、今後さらに問題点を整理し、農業の動向に対応できる除草剤利用技術を確立する必要がある。

ピラゾレートの白化作用について

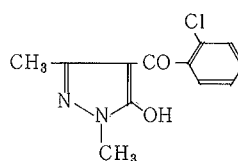
三共株式会社農薬研究所 川久保克彦

ピラゾレート除草剤(サンバード)の有効成分であるピラゾレート〔4-(2,4-ジクロロベンゾイル)-1,3-ジメチル-5-ピラゾリル-*p*-トールエンスルホネート……第1図のⅣ〕の除草活性は、約10年前に筆者の研究室で発見されたもので、以来多くの検討が重ねられて開発に成功した化合物である。さいわい、日本植物調節剤研究協会を通じて行なわれた公式試験においても、その実用性が評価され、上記の除草剤名で登録されるに至っている。

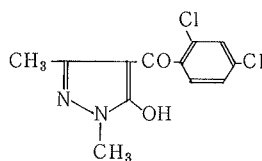
ピラゾレートの除草作用の特徴は、これを処理すると発生してくる雑草に白化現象(クロロシス)を誘起することで、クロロシスとなった雑草は次第に枯死する。ピラゾレートは、広範な種の雑草にクロロシスを発現するが、除草効果の点からはタイムピエ・ウリカワ等に対する防除力がとくに大きく、他方水稻にはほとんど影響を与えない。したがって、この化合物は、



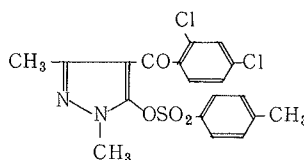
I



II



III (DTP)



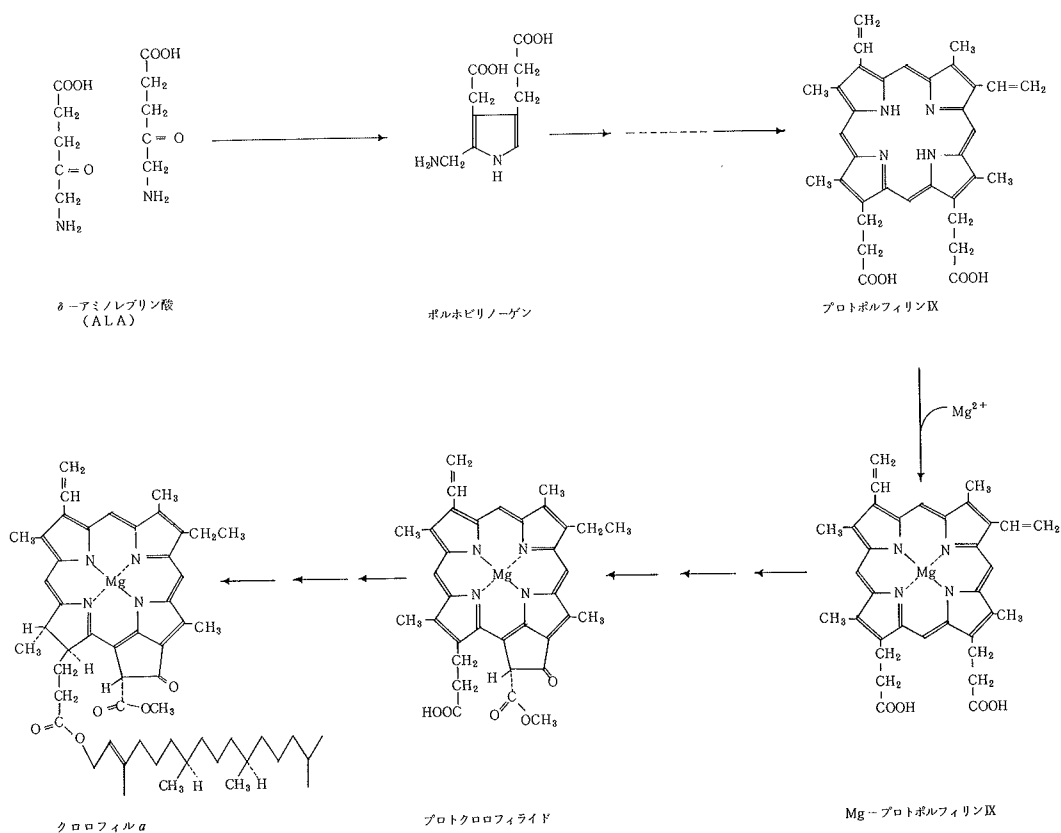
IV (ピラゾレート)

第1図 ピラゾレートの発見の経緯

水田除草剤として好適な特性を備えている。

ここでピラゾレートの発見に至るまでの経緯を、化学構造上で簡単に振り返ってみると、第1図に示す通りである。ピラゾレートの基本骨核となった化合物Ⅰは早くから合成されていたが、除草活性が微弱だったため注意を引かなかった。ところが、化合物Ⅱが合成され、しらべてみるとこれが著しいクロロシス作用を有し、強い除草活性を示し、かつ水稻に高度の選択性をもつ化合物であることがわかった。また、当時の問題多年草のウリカワにも極めて高い活性をもつものであることが見出された。その間、化合物ⅠからⅡに至るまでに10か月余りの時間が空費されている。以後、この化合物の誘導体の検索が集中的に行なわれ、その結果、効力・

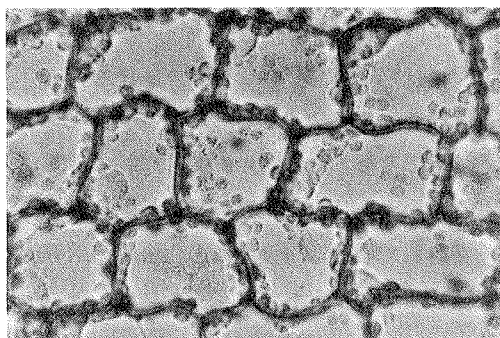
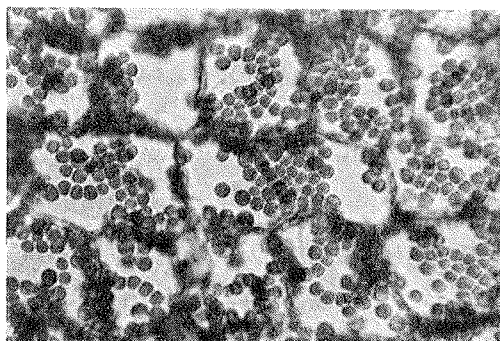
殺草スペクトル・水稻に対する薬害等の諸点から、化合物Ⅲ(DTP)が選抜された。しかし検討を続けて行くうちに、DTPは高温の気象条件で水稻にクロロシスを生ずる場合のあることがわかり、さらに水稻への安全性の高い化合物を求めてⅣのピラゾレートに至った。この図から明らかなように、ピラゾレートはDTPの薬害軽減をねらってこれを人為的に *p*-トルエンスルホン酸のエステルとしたものである。*p*-トルエンスルホン酸自身は、クロロシス作用をもっていない。これらのことから、DTPがピラゾレートの活性本体に相当するものであることは容易に推察できる。そこで、以下ではDTPについて、そのクロロシス作用を述べてみたい。



第2図 クロロフィル生合成経路³⁾の略図

一般的に言って、植物がクロロシスを呈するのは、細胞中にあるべきはずの葉緑素（クロロフィル）をいろいろな原因で欠いているからである。このクロロシスを目にするのはよくあり、例えば自然的に発生するもので白子（アルビノ）がある。また、微量元素Feの欠乏状態の植物にも、クロロシスが見られることはよく知られている。除草剤でクロロシスを誘起するものも幾つか知られていて、例えばアミノトリアゾール、ジクロルメイト、フルリドン、メトフルラゾン、メトキシフェノン等がある。これらの除草剤によるクロロシス誘起の作用機構は、次のように説明されている。すなわち、これらはいずれも植物体内でカロチノイド生合成を阻害し、その結果クロロフィルの光破壊を招き、クロロシスを誘起する¹⁾。他方、これらの化合物はクロロフィルの生合成を直接阻害する働きはもっていないようである。DTPのカロチノイド生成阻害作用についてはどうであろうか。直接的な証明は無いが、ピラズレートにカロチノイド生合成阻害作用は全く認められていない²⁾ので、その活性本体であるDTPもこの阻害作用は持ち合わせていないものと思われる。

さて、高等植物はその茎葉細胞中に葉緑体（クロロプラスト）とよばれる粒状体をもち、クロロフィルはクロロプラストの中で生合成されることが明らかにされている。最近では、クロロプラスト内の構造が電子顕微鏡によって微細に観察されていて、その内部にはチラコイドとよばれる扁平な袋状の膜構造の発達していることがわかってきている。クロロフィルは、この膜上に形成され、光合成はここで営まれる仕組みになっている。一方、クロロフィルの生合成は、第2図に示す経路で進行する。すなわち、2分子の δ -アミノレブリン酸(ALA)からピロー



上：無処理葉，下：DTP処理のクロロシス葉，DTP 60 g/a 湛水処理後温室内で4葉期まで育成。

第3図 ウリカワの葉切片の光学顕微鏡写真(560倍)

ル環のポルホビリノーゲンがつくられ、さらにこれが4分子縮合してポルフィリン核を形成した後、数過程を経てプロトポルフィリンIXとなる。次いで、このポルフィリン核の中央にMg原子が挿入されて後、プロトクロロフィライドを経て、最終のクロロフィルとなる。細胞中において、クロロフィルの生合成とチラコイド膜構造の発達とは相互に密接な関係があり、クロロフィルの生成阻害が起こるとチラコイド膜の形成阻害、さらにはクロロプラスト自体の形成阻害にもつながるとされている。

DTPを湛水処理(処理量60 g/a)してクロロシスを発現させたウリカワの葉をとり、その切片を光学顕微鏡で観察した結果を第3図の写真で示す。写真によれば、DTPはウリカワのクロロフィルの生成を著しく抑制すると同時に、

クロロプラストの形成をも強く阻害している。これとは別に、最近、電子顕微鏡によるミズガヤツリのクロロシス葉の観察も行なわれていて、その結果によるとDTPはミトコンドリアの膜系の発達に全く影響を与えずにクロロプラストのチラコイド膜構造の形成のみを著しく阻害していることが明らかにされている⁴⁾。以上の観察は、DTPがクロロフィル生合成の阻害に深い関りのあることを示すものと考えられる。

DTPの作用性をしらべているうちに、この化合物には試験管中のクロロフィルを直接破壊する働きのあることが発見された。すなわち、80%アセトン水で植物色素を抽出し、これにDTPを添加すると、抽出液の緑色が褐色に変化する。薄層クロマトグラフィーで検定してみると、クロロフィルのみが変化し、カロチンやキサントフィルは影響をうけないことがわかった。しかも同じ結果が、HClの酸添加でも得られた。もともとクロロフィルは不安定な色素で、光や酸で変性することは広く知られている。ことにクロロフィルのMg原子は不安定で、酸によって容易に離脱する。クロロフィルからMgの除かれた物質は褐色を呈し、フェオフィチンとよばれる。したがって、上の試験ではDTPがクロロフィルをフェオフィチンに変化させたものと推定された。この点を確認するため、クロロフィルを抽出し、DTP添加で変性した色素の可視部の吸光度を比色計で測定したところ、第1表に示したような吸収ピークが得られた。この結果から、DTPはHClと同様、クロロフィルをフェオフィチンに変化させることがわかった。

DTPは、ピラゾール環5位にエノール性OH基をもち、このOH基は解離し、解離定数 $pK_a = 4.1$ を示す。したがって、DTPも酸である。そこで、これと同程度ないし、より強い

第1表 DTPのクロロフィル変性効果⁵⁾

色 素	吸 収 ピ ー ク (nm)					
クロロフィル <i>a</i>	661	613	573	528	428	
クロロフィル <i>a</i> + DTP	667	607	530	502	407	
クロロフィル <i>a</i> + HCl	667	607	530	503	407	
フェオフィチン <i>a</i>	667	605	537	505	407	
クロロフィル <i>b</i>	642	592			452	
クロロフィル <i>b</i> + DTP	653	598	556	518	432	410
クロロフィル <i>b</i> + HCl	653	598	553	518	433	411
フェオフィチン <i>b</i> ⁶⁾	655		550	520	434	413

注) クロロフィルのアセトン溶液にDTPまたはHClの溶液を添加した後抽出した色素をエーテル溶液として比色した。

酸性を示す有機酸を選び、DTPとこれらの酸のフェオフィチン形成作用(脱Mg効果)の強さを比較してみた。その結果を第2表に掲げた。

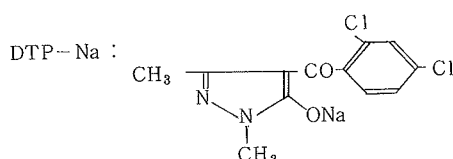
第2表 DTPと各種有機酸のフェオフィチン形成効果の比較⁵⁾

クロロフィル溶液 に添加する有機酸	添加後の溶液のpH		形成された フェオ フィチン の量比(%)
	直 後	30分後	
無 添 加	6.70	6.72	2.7
DTP	4.48	4.65	100
酢 酸	5.98	5.98	5.2
グリコール酸	4.86	4.90	6.1
2,4-ジクロロ安息香酸	4.66	4.68	7.4
モノクロロ酢酸	4.32	4.40	10.6
ピルビン酸	3.90	3.93	19.7
ジクロロ酢酸	3.52	3.59	37.7
DTP-Na	7.69	7.60	6.2
酢酸+DTP-Na	6.67	6.60	8.2
グリコール酸+DTP-Na	5.88	5.87	15.3
2,4-ジクロロ安息香酸 +DTP-Na	5.70	5.75	15.3
モノクロロ酢酸+DTP-Na	5.54	5.58	23.6
ピルビン酸+DTP-Na	5.39	5.43	30.0
ジクロロ酢酸+DTP-Na	4.80	4.86	65.5

注) アセトン水に溶かしたクロロフィル *a* 溶液に0.01 Mの有機酸溶液を一定量添加。添加30分後に形成されたフェオフィチン *a* を抽出し、アセトン溶液にして測定。

ただし、表で脱Mg効果は、生じたフェオフィチンの量比で示してある。この表で、各有機酸

の脱 Mg 効果は、その反応液の pH 値が低下するにしがって増大した。これらの有機酸中 DTP と同程度の pH 値を示したものには、2,4-ジクロロ安息香酸およびモノクロロ酢酸があるが、この 2 つの酸の脱 Mg 効果は DTP の $\frac{1}{10}$ にすぎなかった。また、最も酸性の強かったジクロロ酢酸ですら、DTP の $\frac{1}{3}$ の効果にすぎなかった。さらに興味深いことは、DTP の Na 塩



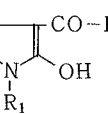
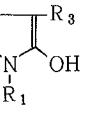
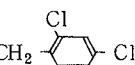
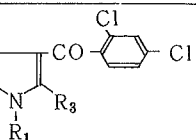
は単独では脱 Mg 効果をほとんど示さないのに、有機酸と一緒に添加すると反応液の pH 値を高めていながら脱 Mg 効果を逆に増大している点である。これらの事実は、DTP がクロロフィルに水素イオンを特異的に導入して Mg を離脱させる働きが特別に強いものであることを示している。他方、DTP の化学構造は、金属原子とキレートを形成する構造でもあるので、この脱 Mg 効果はキレート形成能によるのではないかと疑われる。しかし、DTP と Mg のキレートとしての安定性は極めて小さく、DTP-Na 塩程度のものにすぎないことが別試験で明らかにされている。このことから、脱 Mg 効果が DTP のキレート形成作用で起こるとは考えられない。

ところで、DTP の *in vitro* の脱 Mg 作用と植物にあらわれるクロロシス現象とは関連があるであろうか。この点をしらべる目的で、DTP の誘導体の脱 Mg 作用とクロロシス作用を試験した結果が第 3 表に示されている。この表で、1 に分類された化合物はピラゾール環の OH 基が解離性であると考えられるもので、このグループに属する全てが脱 Mg 作用と同時に

ミズガヤツリにクロロシス作用を示した。これに対し、2 に属する化合物はその OH 基には解離性がないと考えられるもので、いずれの化合物も脱 Mg 作用もクロロシス作用も示さなかった。また 3 は、ピラゾール環に OH 基をもたない化合物のグループで、このグループのいずれも 2 と同様脱 Mg 作用もクロロシス作用も示さなかった。以上の結果は、ピラゾール環の解離性の OH 基が脱 Mg やクロロシスを誘起するためには基本的に必要なものであること、かつ脱 Mg 作用とクロロシス作用の間に深い関係のあることを示唆している。

以上に述べた DTP の *in vitro* の脱 Mg 効果は、*intact* な植物でも発現するものであろうか。第 2 図に示したクロロフィル生成中間体のうち、Mg-ポルフィリンはクロロフィル同様酸によって容易に Mg 原子を離脱されることが知られている。したがって、DTP にも同じ効果が期待できる。そうであれば、DTP はクロロフィル生成の過程に何らかの影響を与えるものと考えられる。一般に植物を暗黒中で発芽育生すると、その軟白苗中にプロトクロロフィライドが生成蓄積する。しかし、その生成量はわずかであり、またこれ以前の間体は極めて微量でしか存在しない。ところが、軟白苗に暗黒下で δ -アミノレブリン酸 (ALA) を投与すると、プロトクロロフィライドや他の中間体の生成蓄積を促進できることが、多くの人によって確かめられている。そこで筆者は、ダイコンの軟白苗をつくり、その子葉をとり出し、暗黒下で ALA を与えてクロロフィル生成系を促進しながら DTP を同時に投与して、この生成系への影響をしらべてみた。第 4 図はその結果の一部であるが、クロロフィルの中間体の中でプロトポルフィリンおよびプロトクロロフィラ

第3表 DTP誘導体のフェオフィチン形成作用とクロロシス作用⁵⁾

化合物	R ₁	R ₂	R ₃	フェオフィチン 形成作用*	ミズガヤツリに対する クロロシス作用 (mM)		
					0.5	0.1	0.05
1 	CH ₃	CH ₃	CH ₃	+	+	+	-
	CH ₃	CH ₃	CH ₂ - 	+	+	+	+
	CH ₃	CH ₃	OC ₂ H ₅	+	+	-	-
	CH ₃	CH ₃		+	+	+	+
	CH ₃	CH ₃		+	+	+	+
	CH ₃	CH ₃		+	+	+	+
	H	CH ₃		+	+	-	-
	C ₂ H ₅	CH ₃		+	+	+	+
		CH ₃		+	+	+	-
	CH ₃	H		+	+	+	+
	CH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₃		+	+	+	+
2 	CH ₃	CH ₃	H	-	-	-	-
	CH ₃	CH ₃	CH ₃	-	-	-	-
	CH ₃	CH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	-	-	-	-
	CH ₃	CH ₃	S- 	-	-	-	-
	CH ₃	COOCH ₃	H	-	-	-	-
		CH ₃	CH ₂ - 	-	-	-	-
3 	CH ₃	CH ₃	H	-	-	-	-
	CH ₃	CH ₃	Cl	-	-	-	-
	CH ₃	CH ₃	CH ₃	-	-	-	-

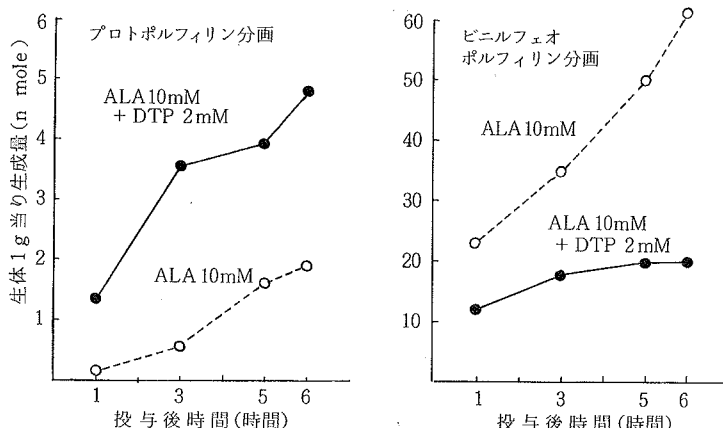
注) +……フェオフィチン形成作用またはクロロシス作用あり.

//

なし。

* スイトウからアセトンで抽出した色素溶液に60%アセトン水に溶かした化合物を添加.

イド（酸で抽出するため測定したのはこれからMgのはずれたビニルフェオポルフィリンである）の経時的な消長をしらべたものである。図から明らかな通り、DTP投与によってビニルフェオポルフィリン分画の生成が極端に抑制され、逆にプロトポルフィリン分画の蓄積はDTPによって高め



第4図 DTP投与後のプロトポルフィリンおよびビニルフェオポルフィリン分画の生成量

られている。これらの事実は、DTPがクロロフィルの生合成を著しく阻害するものであることを明示しており、しかもこの阻害はDTP添加後かなり早い時間から起こっているので、DTPのprimaryな作用点がここにあるのではないかと推定される。この阻害が、チラコイド膜構造の発達を阻害し、クロロシスを誘起するものと考えられる。ところで、上記の結果だけではDTPがどのようにしてクロロフィルの生成を阻害したのか説明できていない。しかし、

これまで述べてきた通り、DTPがクロロフィルに水素イオンを特異的に導入してMgを離脱させる働きの強いこと、この水素イオン導入のためにはピラゾール環の解離性のOH基が必要であること、そしてこのOH基は同時にクロロシス発現にも基本的に必要なものであったこと、さらにはクロロフィル生成系のMg中間体も酸で容易にMg離脱が起こることなどから、DTPのクロロフィル生成阻害はその脱Mg作用によるものと思われる。

引用文献

- 1) Fedtke C. (1982). Biochemistry and Physiology of Herbicide Action. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, PP. 99~113.
- 2) 竹松哲夫他, 1982. ピラジン系化合物K 503のクロロフィル形成阻害作用. 雑草研究第27巻別号第21回講演会講演要旨集: 93~94.
- 3) Castelfranco P. A. and S. I. Beale, 1981. Chlorophyll biosynthesis. In M. D. Hatch, N. K. Boardman eds, The Biochemistry of Plants 8, Photosynthesis. Academic Press, New York London Toronto Sydney San Francisco, PP. 375~421.
- 4) 前田英三, 1983. サンバードの活性本体デストシルピラゾレート(DTP)を処理したミズガヤツリの葉の電子顕微鏡観察, 新農薬 37(1): 102 表紙.
- 5) Kawakubo K. et al., 1979. A mechanism of chlorosis caused by 1,3-di-

methyl-4-(2,4-dichlorobenzoyl)-5-hydroxy-pyrazole, a herbicidal compound. Plant Physiol 64: 774~779.

- 6) Goedheer J.C, 1961. Visible absorption and fluorescence of chlorophyll and its aggregates in solution. In L.P. Vernon, G.R. Seely eds, The Chlorophylls, Academic Press, New York, PP. 147~184.

昭和57年度秋冬作野菜花き関係 除草剤・生育調節剤試験成績概要

財団法人 日本植物調節剤研究協会 技術部

昭和57年度秋冬作野菜花き関係除草剤・生育調節剤試験成績検討会は、昭和58年6月23~24日の両日、白鳥園（長野県埴科郡戸倉町上山田 TEL. 02627-5-0400）において、試験場関係者38名、委託関係者等35名参集のもとに開催された。

この検討会では、前回未検討を含め除草剤18試験(60点)、生育調節剤22試験(42点)について、試験担当者より報告があり、活発な討議の後に慎重に審議された。

試験成績に対する判定結果は、次表のとおりである。

昭和57年度 秋冬作野菜花き関係除草剤・生育調節剤試験薬剤一覧ならびに判定表

1. 除 草 剤

作物名 〔作型・栽培法〕	薬剤名・剤型 (商品名)	有効成分および含有率(%)	委託者名	試験実施場所 (場所数)	試験の種類〔ねらい、対象雑草〕、処理時期；散布薬量(製品/a)等；処理方法	新継の別 今回判定	判定理由 または内容
1. 野菜一般 〔露地普通〕	(1) Dowco -453乳	未公開 ……30	ダウケミカル日本	野菜試久留米支場、植調研。 (2)	基礎〔効果および薬害の検討、畑地一年生イネ科雑草〕は種後出芽前後および生育期、雑草生育初期；全面茎葉処理。 ・詳細は試験成績集録参照	新規 継	・適用性試験へ移行しつつ作用性試験も実施する。
2. キャベツ 〔夏～秋まき露地移植〕	(1) RH- 2915乳 (ゴール)	オキシフロフェン：2-クロル-1-(3-エトキシ-4-ニトロフェノキシ)-4-(トリフルオルメチル)ベンゼン ……24	東京有機化学工業	埼玉園試、福岡農総試園研、鹿児島農試大隅支場。 (3)	適用性〔効果および薬害の検討、ハコベを除く畑地一年生雑草〕 定植前7～5日および直前、雑草発生前；5, 10, 20 ml；全面土壌処理。	継続 実・継	実：〔夏～秋まき露地移植；一年生雑草全般〕 定植前、雑草発生前～始期、10～20ml/a, 全面土壌処理。 継：薬量(濃