

植物の生理と除草剤のターゲット

筑波大学応用生物化学系 臼井 健二

雑草防除のために施用された除草剤は、植物と接触し体内に浸透し、植物の持つ重要な生理機能を阻害・攪乱し、生育抑制や殺草作用を示す。その過程及び関係する生理的機能は様々であるが、大ざっぱには、1) 吸収・膜透過、2) 作用点への移行・運搬、3) 化学的形態変化・代謝、4) 作用点・部位での作用、酵素・代謝系・膜機能などの阻害・損傷、5) 細胞・器官・組織における二次的影響、そして 6) 生育抑制や枯殺に至る。

根や茎葉の外皮やクチクラは最初に除草剤と接触する。細胞膜透過は一般に極性が低く脂溶性のものが透過し易いが、極性の高いものでもエネルギーを使って能動的に透過すると考えられる。細胞壁のセルロース、リグニン生合成、能動輸送のプロトン (H^+) ポンプ・ATPase など作用点とされている。作用点・部位に至るまでに除草剤は活性化や不活性化(解毒分解)等の代謝を受ける場合が多い。作用点・部位は様々であり、最も基本的なあるいは低濃度短時間で阻害される部位は第一次作用点と呼ばれ、それから二次、三次的作用が示される。通常1つだけでなく幾つかの作用が組み合わさって殺草作用が現れる。植物の主要な生理機能・代謝系として、エネルギー獲得・化学エネルギーへの変換をする光合成、物質生産・生体成分の生合成系の炭酸固定(同化)、窒素固定同化、糖

やデンプン・脂質・アミノ酸・蛋白質・核酸等の生合成系、それらの代謝系(解糖、TCA回路、呼吸など)、二次代謝系、さらに物質の移動、発芽・分化・細胞分裂・伸長・生殖など形態形成や生育の調節、環境応答、遺伝などがある。これらに対応して多くの酵素・基質があり相互に関連して調節・代謝が行われている。二次、三次的影響として生体成分の欠乏、細胞分裂の阻害、膜や器官の損傷、水分や電解質の漏出、生育異常・抑制などが生じてくる。

酵素の活性部位、基質結合部位や阻害部位、また生体成分への結合には、化合物の基本構造や特異的な感應基が関与するが、それらにより阻害部位・作用点が異なり、多様な作用点に対して様々な化合物が除草剤として用いられている。除草剤は対象雑草以外の生物や生態系に作用しないことが必要であり、また、似た性質を持つ雑草と作物を区別しわずかな差を利用して防除する必要がある。これらの選択性は主として薬剤の吸収移行、代謝、作用点の薬剤感受性の差によっている。近年低毒性で高い選択性が求められることから、除草剤の作用点・部位、標的(ターゲット)として、植物特有で必須な機能、代謝系や生体成分が有用と考えられ、光合成、アミノ酸・脂質・クロロフィル生合成系、植物ホルモン作用等を標的とする除草剤が多数開発されている^{1,2)}。

次に主な植物の生理機能・代謝系を標的・作用点とする除草剤について概説する。

1. 光合成電子伝達系とその阻害

植物での光合成は葉緑体で行われる。光エネルギーは明反応でチラコイド膜上に存在するクロロフィル、カロチノイド、チトクローム、水分解系や酸化還元物質・酵素等からなる電子伝達系とATP合成酵素系により化学的エネルギーに変えられ、酸素が発生する(図-1)³⁾。明反応で作られた還元剤のNADPHと高エネ

ルギー中間体のATPを用いてストロマで行われる暗反応により二酸化炭素が固定され糖・炭水化物が生成される。

除草剤の尿素系、トリアジン系、酸アミド系、フェノール系などは、ヒル反応・光合成電子伝達系を強く阻害する(ヒル反応阻害の濃度 I_{50} は、 $10^{-7} \sim 10^{-6} \text{ M}$)。これら除草剤の阻害部位は、分光学的研究、フォトアフィニティラベル化合物を用いた研究や除草剤抵抗性植物のアミノ酸変異と阻害活性との関係などより、光化学系IIのD1蛋白のプラストキノン(PQB)結

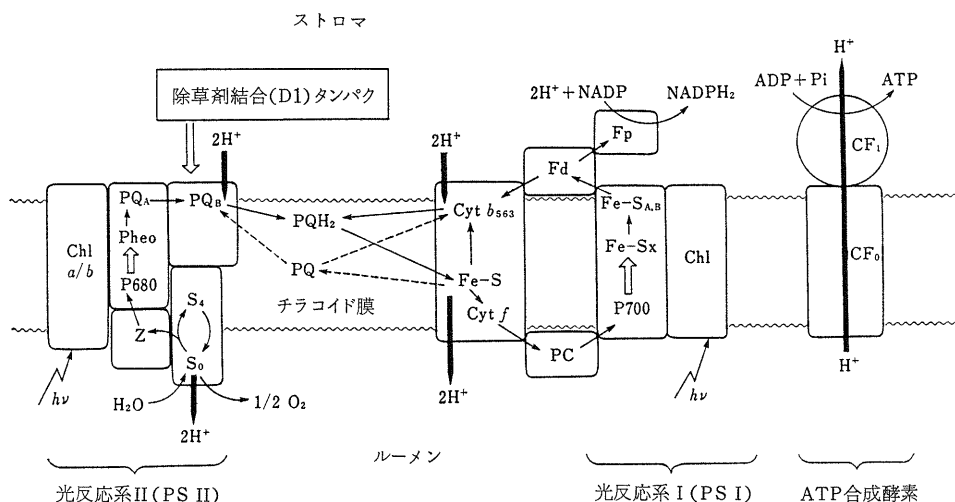


図-1 光合成電子伝達系と阻害剤結合部位³⁾

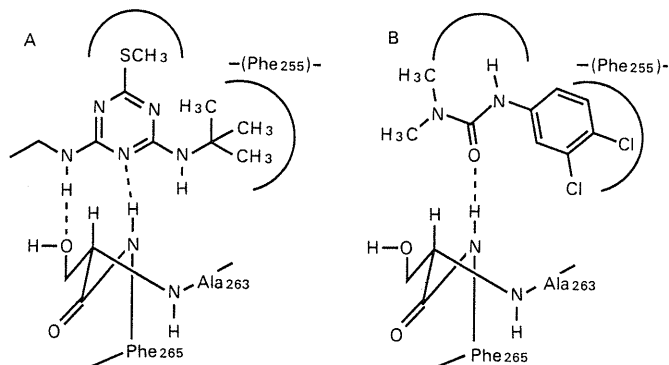


図-2 トリアジン系、尿素系除草剤のPQB結合部位への結合⁴⁾

合部位であり、結合に関与するアミノ酸も明らかとされている(図-2)⁴⁾。即ちPQB結合部位に除草剤が強く結合し、プラストキノンとの結合を阻害し、PQAからPQBへの電子伝達が阻害される。これによりNADPH、ATPや光合成産物・炭水化物が欠乏し、また、余ったエネルギーにより発生する活性酸素により膜系が破壊され殺草活性が現われる。一方、除草剤の結合による

D1蛋白質のターンオーバーの抑制更に光損傷よりの修復の障害による葉緑体機能の喪失に起因するとの説もある。

2. 光合成色素（クロロフィル，カロチノイド）生合成とその障害

光合成において，クロロフィルは光エネルギーを集め，カロチノイドは活性酸素を消去し膜系の損傷を防ぐ働きをしている。これらの生合成系の障害は光合成の障害，活性酸素による膜脂質の過酸化損傷・膜系の破壊，クロロフィル分解，白化をもたらし殺草活性を示す。

1) プロトポルフィリノーゲンIX酸化酵素

（Protox）とその障害

クロロフィル生合成は主に葉緑体のチラコイド膜上で行われる。その経路は図-3のようである^{2, 5)}。ジフェニルエーテル系，環状フタルイミド，ピラゾールやオキサジアゾンなどの除草剤は，茎葉部処理後数時間で細胞の膜系を破壊し，細胞質を漏出し，萎凋や白化などの可視障害を引き起こし，更に枯死に至らしめる。通常これらの除草剤は明所・光の存在化で活性を示すので光要求型或いは光白化型と呼ばれる。作用機構は，最近低濃度での（ I_{50} ， 10^{-9} ～ 10^{-8}

M）チラコイド膜に存在するProtoxの障害が見いだされ，第一次作用点とされた。障害は基質のプロトポルフィリノーゲンIXと拮抗的に行われる。Protox阻害剤の立体構造が，X線構造解析，静電ポテンシャルや分子軌道法による解析より，プロトポルフィリノーゲンIX分子の半分と良く似ていることがその要因と考えられている。Protoxの障害により集積したプロトポルフィリノーゲンIXが系外でプロトポルフィリンIXに酸化され，その強い光増感作用で大量の活性酸素（ 1O_2 ）が発生し，膜脂質が過酸化され，膜系が破壊され葉緑体や細胞が壊される。

クロロフィル生合成の前駆体の5-アミノレブリン酸の大量投与によってもプロトポルフィリンIXの集積，白化が起きる。テトラピロール生合成の阻害剤処理により，ジフェニルエーテルやアミノレブリン酸の作用が抑制されることも知られている。

2) カロチノイド生合成

カロチノイド（テトラテルペン， C_{40} ）生合成系はプラスチド（色素体）にあり，アセチルCoAよりメバロン酸，ゲラニルゲラニルピロリン酸などを経てイソプレノイド，テルペン生

合成経路により行われる（図-4）。主な酵素はプラスチドの膜系に結合している。

白化型と呼ばれるピリダジノン，ピリミジノン，ピロリドン，ピリミジノンな

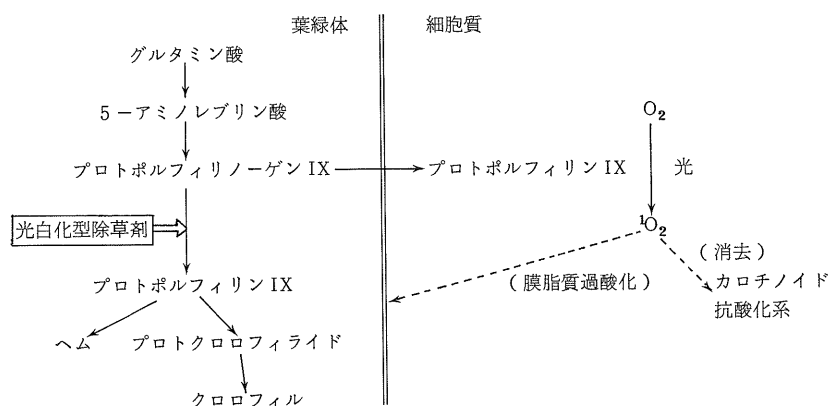


図-3 クロロフィル生合成系と光白化型除草剤の作用機構

(アニオン) (O_2^-) を生成し、膜脂質を過酸化する。光合成以外の電子伝達系からも電子を受け取るため動物に対する毒性もかなり強いが、通常の使用では土壤に強く吸着されるという。

5. アミノ酸生成とその阻害

植物での窒素同化は通常アンモニアの取り込みで始まる。グルタミン合成酵素 (GS) によりアンモニアがグルタミン酸に付加されグルタミンを生じ、これとリンクしてグルタミン酸合成酵素 (GOGAT) によりグルタミンのアミド基がTCA回路でできた2-オクソグルタル酸に転移され2分子のグルタミン酸が生じる。グルタミン酸のアミノ基は他の2-オクソ酸に転移され種々のアミノ酸ができ、更に、蛋白質、核酸やポルフィリンの生合成に用いられる。グルタミン合成、芳香族アミノ酸や分岐鎖アミノ酸などの植物に特有で動物にはない必須アミノ酸の生合成系は除草剤の有望な標的とされている²⁾。

1) グルタミン合成酵素

グルタミン合成酵素は分子量39~49kDの $\alpha \sim \delta$ 等のサブユニットの8量体からなる分子量320~340kDの可溶性酵素で、器官特異性があり、植物や成育段階・条件で存在・発現割合は変わるが、茎葉部には細胞質 (GS1) と葉緑体 (GS2)、根部にGSrまたは根粒にGSnが存在し、GS1, GSr, GSnは主として養分のアンモニアの同化、GS2は光呼吸で生じたアンモニアの再同化の役割を果たしていると言われる。

グルホシネート (ホスフィノスリシン) やピアラホスは、微生物の代謝産物であるが、グルタミン酸と構造が似ており、ピアラホスはアラニルアラニン基が取れて、GSをグルタミン酸

と拮抗的に阻害する (I_{50} , 数 μM)。これによりグルタミン合成が阻害され、続くグルタミン酸や他のアミノ酸も減少し、アミノ酸代謝が阻害・攪乱され、更にC₃植物では光呼吸により生じたグルオキシル酸がリブローズビスリン酸カルボキシラーゼを阻害し、また、集積したアンモニアの害により光合成・炭酸固定も阻害され、殺草活性が現れるという。C₄植物では光合成阻害は少ないとされるが、選択性は高くない。

2) EPSP合成酵素、シキミ酸経路、芳香族アミノ酸生成

芳香族化合物は通常シキミ酸経路により生合成され、芳香族アミノ酸を経て二次代謝経路に入る。

含リンアミノ酸系除草剤のグリホサートは、芳香族アミノ酸のフェニルアラニン、チロシン、トリプトファン生合成に通じるシキミ酸経路の5-エノールピルビルシキミ酸3-リン酸 (EPSP) 合成酵素を強く阻害する (I_{50} , 0.1~数 μM)。EPSP合成酵素は、ホスホエノールピルビン酸をシキミ酸3-リン酸に転移する反応を触媒し、グルホシネートによる阻害は、ホスホエノールピルビン酸に拮抗、シキミ酸3-リン酸に不拮抗である。

3) 分岐鎖アミノ酸生成

植物での分岐鎖アミノ酸の生合成経路は、バリン、ロイシンと、イソロイシンの経路とはほぼ2つに分けられるが、幾つかの段階は共通しており、その最初の酵素は2分子のピルビン酸からアセト乳酸を生じると、2-オクソ (α -ケト) 酪酸とピルビン酸とから α -アセトヒドロキシ酪酸を生じる反応の両方を触媒し、アセト乳酸あるいはアセトヒドロキシ酸合成酵素 (ALSあるいはAHAS) と呼ばれる。ALS

は、チアミンピロリン酸 (TPP) と Mg^{2+} を要求しフラビンアデニンジヌクレオチド (FAD) が安定性に必要とされている。

反応は、まずピルビン酸が酵素に結合した TPP に結合し脱炭酸されてヒドロキシエチル中間体となり、これにピルビン酸または 2-オクソ酪酸が結合してアセト乳酸あるいはアセトヒドロキシ酪酸が生成される。ALS は最終産物の分岐鎖アミノ酸によりフィードバック阻害を受ける。植物 ALS は通常プラスチドに存在するが比較的不安定であり、単量体 (分子量 60 ~ 73 kD) ではアミノ酸によるフィードバック阻害がなく、通常 4 量体で存在し、基質の存在化で解離、FAD で凝集すると考えられる。

近年、スルホニルウレア (SU)、イミダゾリノン (IM)、トリアゾロピリミジンスルホンアミド (TP)、ピリミジニルカルボキシ (PC、ピリミジニルサリチル酸) 系等の多数の ALS 阻害除草剤が開発され、広く用いられている。SU 剤は、ALS の阻害が、ピルビン酸と拮抗あるいは拮抗との混合型で、 I_{50} は多くの植物種で $10^{-9} \sim 10^{-8} M$ と低濃度であり、低薬量で広範な雑草に優れた防除効果を示し、構造の少しの改変で優れた選択性が発揮され種々の作物を対象に用いられている。IM による ALS 活性の阻害の I_{50} は数 μM であるが、ピルビン酸と拮抗的な阻害、またはほぼ不可逆的に阻害することなどにより、比較的低薬量で有効である。TP や PC は、ALS 活性の阻害、 I_{50} や阻害形式が SU と類似している。ALS 阻害剤は、ヒドロキシエチル中間体と 2 番目のピルビン酸あるいは 2-ケト酪酸との結合を阻害すると考えられている。ALS 阻害剤抵抗性細胞や植物の ALS の塩基あるいはアミノ酸配列の解析より、SU あるいは TP 抵抗性は主に

Pro 196/197 の、IM、PC 抵抗性は Ser 653/Trp 573 の変異によっており、これらアミノ酸に関連した部位が阻害剤の結合に関与していると考えられる。ALS 阻害により分岐鎖アミノ酸が著しく減少し、アミノ酸代謝が攪乱され、蛋白質核酸含量も低下し、更に細胞分裂も阻害され、成育抑制・殺草に至ると考えられる。選択性は主として植物体内での代謝・解毒活性の差によっている。芳香環や側鎖の水酸化と抱合は不活性化となるが、IM や PC のエステルの加水分解は活性化である。

その他分岐鎖アミノ酸生合成系のケトールアシドリダクトイソメラーゼ、イソプロピルマレートイソメラーゼの阻害剤も見いだされている。また、トリプトファン合成酵素やフェニルアラニンアンモニアリアーゼ等も標的として検索されている。

6. 細胞分裂とその阻害

細胞分裂は茎や根端の分裂組織、維管束部の形成層など特定の部位で行われる。体細胞分裂は、複雑な過程を持つが、核酸や蛋白質の合成、染色体、紡錘体や核膜の出現、消失を伴う。紡錘体 (糸) はチューブリンという球状蛋白質が約 10^8 個会合した微小管とそれに付随する蛋白質とからなる。

細胞分裂に影響する除草剤は多くあるが、直接あるいは間接的に微小管に作用し、それらはチューブリン重合阻害・紡錘体形性阻害による細胞分裂の前中期での停止、紡錘体微小管形成の攪乱、核膜形成微小管の形成攪乱のほぼ 3 つに分けられる。ジニトロアニリン、ホスホンアミド系除草剤は、遊離チューブリンからの微小管の重合を阻害し、紡錘体や動原体系が生成されず、細胞分裂は前中期で停止する。プロナミ

ド等はチューブリンに結合し、微小管の伸長あるいは安定性を抑制し、短い不完全な微小管とする。カーバメート系の幾つかの除草剤は、微小管の正常な配列を阻害し、多数の紡錘体を形成し多核とする。また核膜形成体微小管形成を阻害し多核とするものもある。

7. 植物ホルモン、オーキシシン作用とその阻害・攪乱

植物ホルモンは適時に適切な濃度で存在し、植物の成育過程で種々の調節を行っている。オーキシシン（インドール酢酸）は、プロトンポンプへの作用・酸生長、細胞壁成分の分解・生合成酵素の活性化による伸長や維管束分化、アミノシクロプロパンカルボン酸合成酵素の誘導によるエチレン発生などの機能を持つ。これらは、主にオーキシシン受容体を経て $m-RNA$ の増加、酵素の誘導が起き、細胞応答が起きると推定されている。2,4-DやMCP等のフェノキシ系や安息香酸系化合物などは合成オーキシシンとして強い活性を持ち、分解され難く高濃度で活性が持続して異常に作用し、感受性植物は生長点の細胞分裂・伸長異常、基部の肥大、アントシアニン合成阻害等の代謝・成育異常を起こし枯死に至る。ナプロアニリドやクロメプロップなどは加水分解された酸が活性体と考えられている。最近では多量のエチレン発生がオーキシシン型除草剤の作用の重要な要因と推定されている。選択性は植物種による作用点・受容体の違いや有無によると考えられるが、水酸化等の解毒代謝や β 酸化による活性化の差にもよる。

8. 酸化的リン酸化（呼吸によるATP生成）

呼吸では酸素を取り込み炭水化物を消費し炭酸ガスを放出しているが、ミトコンドリアの電

子伝達系でTCA回路で生成したNADHやFADHより生じた H^+ ポテンシャルを利用してATPを生成している。

ペンタクロロフェノール（PCP）は酸化的リン酸化を脱共役により阻害し、殺草活性を示したが、人畜・魚毒性が高い。フェノール系やベンズイミダゾール系の化合物は光合成電子伝達阻害のほかに酸化的リン酸化を脱共役により阻害し、殺草活性を示す。

9. 除草剤の代謝

植物における除草剤の代謝は、酸化、還元、加水分解、生体成分との抱合等があるが、植物種、除草剤種により様々であり、活性化・不活性化等、除草剤の効果、選択性と深く関わっている⁶⁾。加水分解やP-450等による酸化反応は不活性化の場合が多いが活性化もある。不活性化の抑制は効果の増強となり共力剤とされる。薬害軽減剤は、不活性化の促進となるP-450やグルタチオン抱合を行うGST活性を誘導・活性化する。標的・作用点に適した除草剤もこれらの代謝を考慮して構造が決められている。

10. おわりに

以上既に知られている作用部位・標的と除草剤の例を記したが、今後より有効な、選択性・安全性、抵抗性や難防除雑草、栽培体系に対処・適した除草剤の開拓が必要であろう。既知の作用点は多くの研究・開発にも拘らず、植物の生理・代謝系から見て多くないように思われる。新しい標的・作用点の解明は、植物での生理生化学的実体がまだ十分解明されていない面もあり困難な点が多いと思われるが、更なる研究の成果に期待したい。

引用文献

- 1) Kirkwood, R.C. (ed) (1991)
"Target Sites for Herbicide
Action", Plenum Press, New
York.
- 2) 松本 宏・臼井健二 (1994) 化学と生物
32, 447-455.
- 3) 吉田茂男 (1988) 化学と生物 26, 506-
515.
- 4) 米山弘一 (1991) 雑草研究 36, 17-26.
- 5) 松本 宏 (1994) 植物の化学調節 29, 79
-88.
- 6) 臼井健二 (1992) 雑草研究 37, 15-27.



こりゃい〜や、軽くて楽だ!

省カタイプ・10アール当り

1キロ散布



少量化で省力化。

初・中期一発処理除草剤

フジガラス® 1キロ粒剤

フジガラス普及会
デュボン株式会社
ゼネカ株式会社
事務局
日本農業株式会社
東京都中央区日本橋1丁目2番5号

芝生の造成と管理 — 芝草管理者のために —

眞木芳助／編集
B5判 定価20,000円

環境保全のための資源として芝生の需要が増している。本書は芝生の造成から管理にいたる芝生づくりのすべてをゴルフ場の例を中心に分かりやすく解説。

全国農村教育協会

〒110 東京都台東区台東1-26-6(植調会館)
Tel. 03-3833-1821 Fax. 03-3833-1665