

# 水稻に安全性の高いフェンキノトリオンの選択性機構と利用場面

クミアイ化学工業株式会社  
生物科学研究所

大野 修二・山本 峻資

## はじめに

フェンキノトリオン (ブランドネーム: エフィーダ<sup>®</sup>, 図-1) は, クミアイ化学工業株式会社が創製・開発した新規水稻用除草剤である。作用性は 4-hydroxyphenyl pyruvate deoxygenase (4-HPPD) 阻害で, ノビエ, クログワイを除く広範な水田雑草に対して殺草スペクトラムを有するとともに, 水稻に対して高い安全性を示すことが報告されている (玉井ら 2014; 小林ら 2014)。これらの特長のうち, 本稿では水稻安全性に焦点を当て, フェンキノトリオンのイネに対する選択性の機構を解説するとともに, その安全性を活かした直播水稻場面での適用性について紹介する。

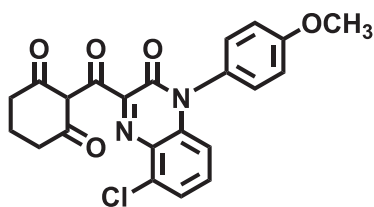


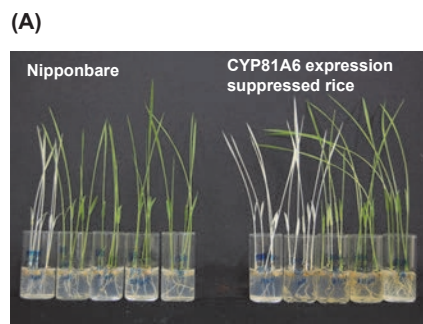
図-1 フェンキノトリオンの化学構造式

## 1. フェンキノトリオンのイネ体内での代謝機構

フェンキノトリオンの水稻安全性要因について, まず草種間の標的酵素への親和性の違いを検証するため, イネとシロイヌナズナ由来のリコンビナント HPPD 酵素に対するフェンキノト

リオンの酵素阻害活性を評価した。その結果, どちらの HPPD 酵素に対しても高い阻害活性を示したことに加え, 単子葉類・双子葉類の HPPD 酵素のアミノ酸配列はイネとシロイヌナズナの配列と 70% 以上の高い相同性を示し, フェンキノトリオンと結合するアミノ酸残基もすべて保存されていた (Yamamoto *et al.* 2021)。一方, 本剤を処理したイネ幼苗を分析すると, 同じ 1, 3-ジケトン骨格を有する既存 HPPD 阻害剤に見られないフェンキノトリオンに特異的な代謝物としてフェンキノトリオンの脱メチル体とそのグルコース抱合体が検出された。この脱メチル化のような酸化反応を触媒する酵素は一般的に Cytochrome P450 (以下, P450) が知られている。ジャポニカ種において除草剤の代謝に関与する P450 は CYP81A6 のみが知られているため, 本酵素がフェンキノトリオンを代謝するかについて検証した。

まず, CYP81A6 遺伝子の発現が



抑制されたイネ系統を作出し, 原品種である日本晴とフェンキノトリオンに対する感受性を比較したところ, CYP81A6 遺伝子抑制系統品種の感受性は 20 倍程度増加した (図-2)。この結果から, フェンキノトリオンの水稻安全性は CYP81A6 の代謝分解によることが推定された。次に, 本酵素が前述したフェンキノトリオンの脱メチル化反応を触媒するか検証するため, CYP81A6 のリコンビナント酵素を作製し, *in vitro* による代謝試験を実施した。その結果, 空ベクター導入株由来粗酵素溶液ではフェンキノトリオンのみが検出された一方で, CYP81A6 導入株由来粗酵素反応溶液からはフェンキノトリオンの脱メチル体も検出された (図-3)。ここで, この脱メチル体はフェンキノトリオンの HPPD 阻害活性に必要な 1, 3-ジケトンとキノキサリン環構造を有しており, 実際に高い HPPD 阻害活性が認められた (Yamamoto *et al.* 2021)。

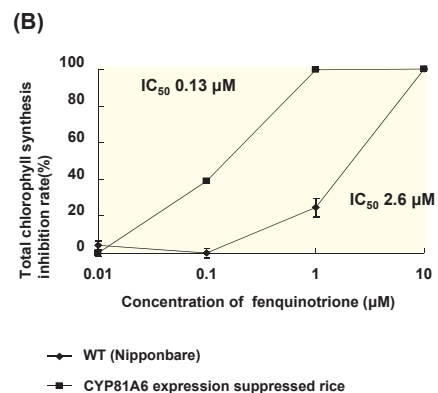


図-2 CYP81A6 発現抑制イネにおけるフェンキノトリオン感受性の評価 (A) 播種 7 日後のイネを示す。フェンキノトリオン濃度は左から順に 10, 1, 0.1, 0.01 μM, 無処理区とし, 無処理区には 0.1% DMSO を添加した。(B) 日本晴および CYP81A6 発現抑制イネにおけるフェンキノトリオン処理時の総クロロフィル合成阻害率を示した。

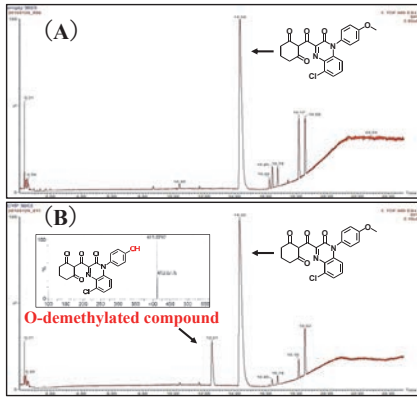


図-3 フェンキノトリオン代謝反応液の LC/MS 分析

(A) 空ベクター導入株由来粗酵素反応液の HPLC クロマトグラム。(B) CYP81A6 と OsCPR 粗酵素反応液の HPLC クロマトグラム。枠内は RT=12.5 のマススペクトルを示す。

しかしながら、脱メチル体のイネに対する活性はフェンキノトリオンに比べて大きく低下していたことから、この脱メチル体はイネ体内にて速やかにグルコース抱合を受けることで無害化されると推察された。

以上のことから、フェンキノトリオンの水稻安全性要因は CYP81A6 による脱メチル化反応と、それに続くグルコース抱合による無害化であることが明らかとなった。

## 2. トリケトン系 4-HPPD 阻害剤感受性品種における安全性

近年、主食用米の需要の減少、食糧安全保障を背景とした国産飼料への需要の高まり、助成金を中心とした政策面での推進などの要因から、飼料用イネの栽培が増加傾向にある。飼料用米等（米粉用米、WCS 用稲、新市場開拓用米などを含む）の作付面積は、2009 年にはわずか 0.4 万 ha であったが、2021 年には 11.6 万 ha まで増加している（農林水産省農産局穀物課 2022a）。飼料用米の栽培には食用品種が流用される他、各地域での栽培に適した多収品種の利用も増加しており、2021 年には飼料用米栽培面積の

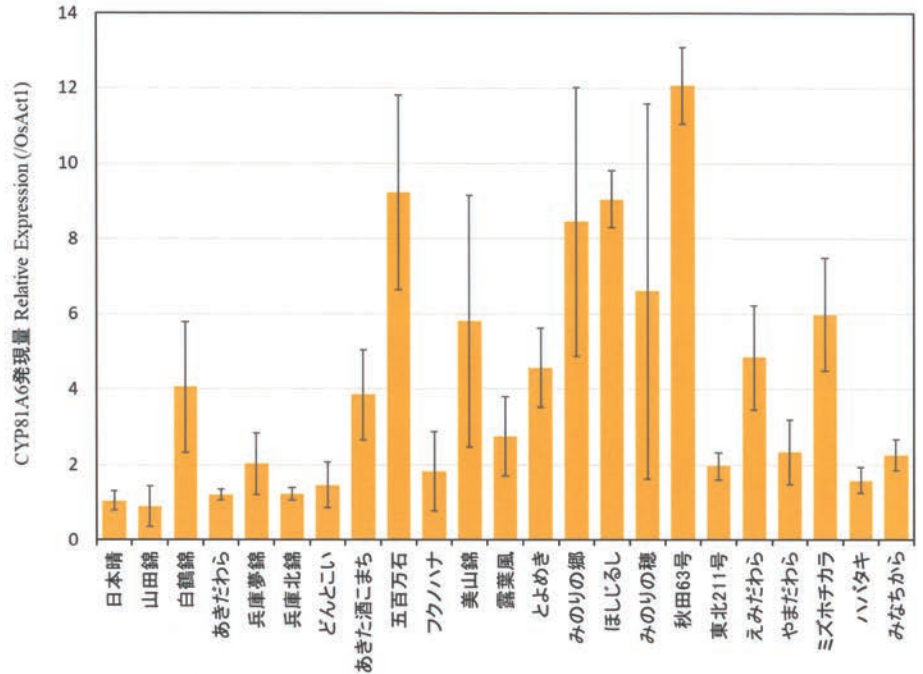


図-4 各水稻品種における CYP81A6 遺伝子発現解析（佐藤ら 2022 より改編）  
Hoagland's No.2 固形培地で 1 週間栽培した各水稻品種における CYP81A6 遺伝子の発現量をリアルタイム RT-PCR により測定した。実験は 3 連で行った。

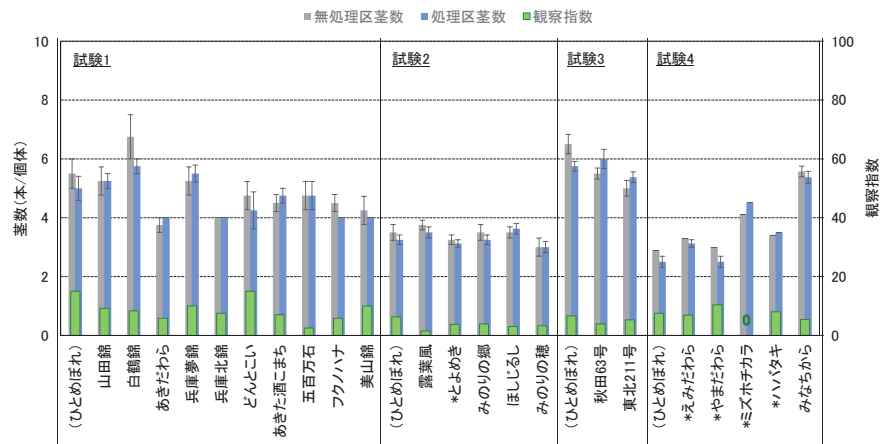


図-5 フェンキノトリオンの水稻 22 品種に対する感受性試験（佐藤ら 2022 より改編）  
各品種にフェンキノトリオン 10%水和剤 30g a.i./10a を湛水処理し、0= 葉害無し～100= 完全枯死（20 以上が許容外の葉害）の基準で観察指数調査を実施。また、個体ごとの茎数を測定し無処理区と比較した。  
\*印はトリケトン系 HPPD 阻害剤に感受性を示すことが報告されている品種。  
[試験条件] 試験 4 は砂質植壤土、2 葉期移植イネの移植当日処理、その他の試験は植壤土、表面直播イネの 1 葉期処理。観察調査は処理後 11～17 日、茎数調査は処理後 20～36 日に実施。

4 割弱を占めている。これら多収品種のいくつかはトリケトン系 4-HPPD 阻害剤に対する感受性が高く、甚大な葉害を生じる場合があることが報告されている（渡邊ら 2010）。フェンキノトリオンもトリケトン構造を有する 4-HPPD 阻害剤であるため品種間での感受性差を確認する必要があると考え、上記の多収品種を含む水稻品種

22 種の感受性について、分子生物学的手法および生物検定により確認した（佐藤ら 2022）。

前項で述べたように、フェンキノトリオンの水稻安全性要因は CYP81A6 による代謝分解に起因する。そこで、CYP81A6 遺伝子の保存性と遺伝子発現量を調べることでフェンキノトリオンのこれら品種に対する安全性を評

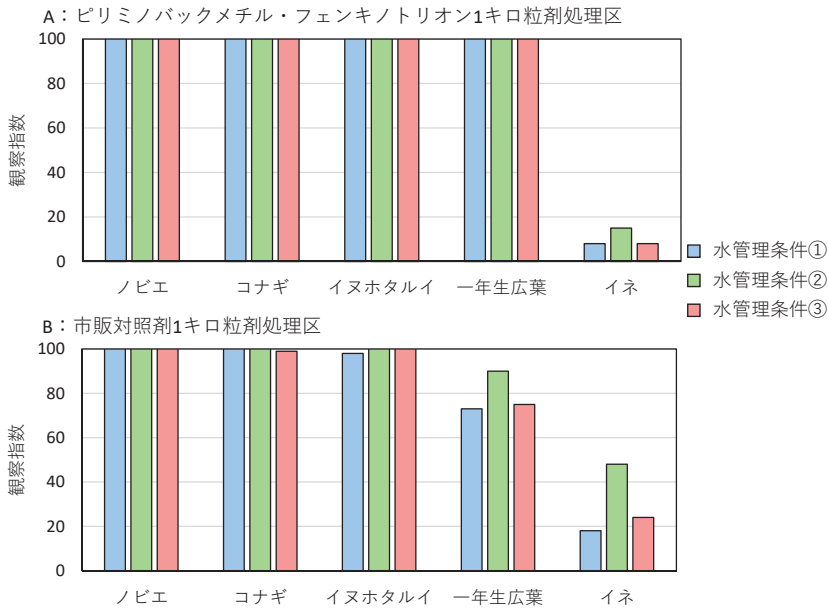
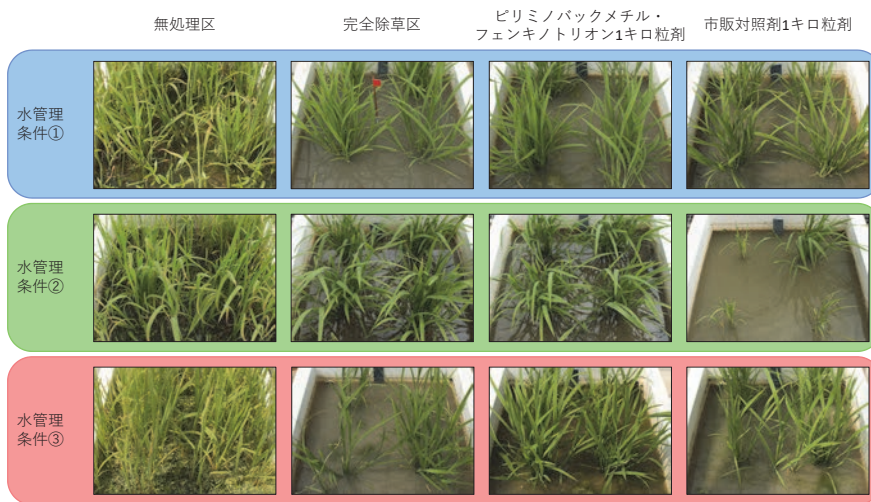


図-6 ピリミノバックメチル・フェンキノトリオン1キロ粒剤の直播水稻播種直後処理における水管理条件の違いによる生物効果 (処理後30日) (永松ら2018より改編)

[試験条件] 試験規模: 0.5m×0.5m (作土層15cm) 屋外ポット, 反復: 2, 土壌: 埴壤土, 供試イネ: 0.5倍量鉄コーティング粉 (品種: あいちのかおり), 供試雑草: タイヌビエ, イヌホタルイ (植代時に土壌混和), コナギ (土壌表層に播種), 一年生広葉雑草 (自然発生), 評価方法: 0 = 作用なし ~ 100 = 完全枯死の基準で観察調査 (除草効果は90以上が極大, 葉害は20未満が許容内) 水管理条件①: 湛水深4cmで薬剤処理し, 処理後7日に全落水, 処理後9日に走水を行った。水管理条件②: 湛水深0.5-1cmで薬剤処理し, 落水状態で管理。処理後4, 7, 9日に走水を行った。水管理条件③: 湛水深4cmで薬剤処理し, 処理後10日まで入落水を行わず自然減水させた。いずれの条件でも処理後10日 (イネ1葉期) に湛水深4cmまで入水し, 以降は湛水状態を維持した。

図-7 ピリミノバックメチル・フェンキノトリオン1キロ粒剤の直播水稻播種直後処理における水管理条件の違いによる生物効果 (処理後30日の様子) (永松ら2018より改編)



価した。これら品種のcDNA配列のシークエンスの結果, すべての品種でデータベース記載の配列 (Genbank Accession No. DM143459) と完全一致した。加えて, 播種1週間後の幼苗における本遺伝子の発現量をリアルタイムRT-PCRにより定量した結果, すべての品種が日本晴と同等以上の高いレベルで発現していることが確認された (図-4)。

生物検定では, 温室内ポット試験において, 表面播種湛水直播のイネ1葉期処理または2葉期移植水稻の移植当日処理で, フェンキノトリオンの影響について調査した (図-5)。観察

調査の結果, 供試した22品種はいずれも極軽微な生育抑制が見られたのみで, 白化などの葉害症状は観察されず, 茎数調査においても無処理区と同等の生育が認められた。トリケトン系4-HPPD阻害剤に対して感受性を示すことが報告されている品種に対しても, フェンキノトリオンは高い安全性を示した。これらの結果から, フェンキノトリオンは品種を問わず高い水稻安全性を有しており, 飼料用多収品種栽培なども含めた幅広い場面で利用できる資材であると考えられた。

### 3. 水稻湛水直播栽培場面での適用性

水稻の直播栽培は, 経営面積の拡大が進む状況の中で水稻栽培の省力化技術の一つとして注目されており, その面積は2020年には約3.5万haまで増加し水稻作付面積全体の約2.4%を占めている (農林水産省農産局穀物課2022b)。水稻直播栽培においては以前から雑草防除が課題に挙げられることが多いが, 湛水直播栽培では播種時に除草剤を散布する技術が確立されたことで作付面積の拡大が後押しされた。高い水稻安全性を有するフェン

キノトリオンも播種時処理の適用を取得しているが、湛水直播栽培の水管理に関しては、播種後の湛水が水稻の出芽、苗立ちに影響を及ぼすこと（古畑2009）や、芽干しの有無や期間により雑草の生育量が変化し水稻との競合に影響を及ぼすこと（川口ら1998）などが報告されていることから、様々な水管理体系における効果、葉害を評価する必要があると考え、モデル試験系にて検討を行った（永松ら2018）。

試験は屋外設置のFRPポット（0.5m×0.5m）で行った。0.5倍量で鉄コーティングしたイネ籾を代掻きした土壌の表面に播種し、播種当日に薬剤処理を行った。水管理条件として、①湛水深4cmで薬剤処理、処理後7日目に全落水し再入水まで落水状態で管理（一般的な水管理）、②湛水深0.5～1cmで薬剤処理、再入水まで落水状態で管理（落水期間が長く除草剤の効果が低下しやすい条件）、③湛水深4cmで薬剤処理後、入落水を行わず湛水状態を維持（湛水期間が長く除草剤の葉害が出やすい条件）、の3条件を設定した。いずれの条件でも播種後10日（イネ1葉期）に再入水し、以降は湛水状態を維持した。試験の結果、ピリミノバックメチル・フェンキノトリオン1キロ粒剤処理区では、いずれの条件においてもノビエ、コナギ、イヌホタルイ、一年生広葉雑草に対して極大効果を示した（図-6）。完全除草区のイネの生育は、湛水状態が続いた水管理条件③において他の管理条件と比べて劣る条件となったが、ピリミ

ノバックメチル・フェンキノトリオン1キロ粒剤処理区ではいずれの条件においても良好な水稻安全性を示した（図-7）。なお本試験では、効果が低下しやすく葉害が出にくいと想定していた水管理条件②において、市販対照剤の葉害が強くなる結果となったが、この要因として落水管理期間中に土壌の過乾燥を防ぐために度々走水を行ったことで、浅い田面水中で薬剤成分が高濃度化し、イネへの影響が強くなった可能性が考えられた。

本試験より、ピリミノバックメチル・フェンキノトリオン1キロ粒剤は水管理条件に因らず安定した除草効果と水稻安全性を有すると考えられ、湛水直播栽培の様々な管理方法の中でも有効に利用できる資材であると考えられた。

## おわりに

フェンキノトリオンは創製当初から水稻安全性の高さが際立っており、このことが選抜の決め手の一つとなった。この水稻安全性のメカニズムを本稿で述べたような生化学的、分子生物学的手法により解明できたことは、除草剤の選択性に関する研究において重要な知見になったと考えている。また、これらの理論に基づき、実際の利用場面を想定した実証研究を積み重ねることでフェンキノトリオンの特性をより明確にすることができ、今日の普及基盤を構築することができたと考えている。今後もフェンキノトリオンの優れた特性を現場の課題解決に活用してい

ただけるよう、鋭意研究に取り組んでいく。

## 参考文献

- 古畑昌巳 2009. 湛水直播水稻の出芽・苗立ち向上に向けて、日本作物学会紀事 78, 153-162
- 川口俊ら 1998. 湛水条件下における直播水稻と雑草の競合に及ぼす芽干しの影響. 雑草研究 43, 54-46
- 小林方美ら 2014. 新規除草剤フェンキノトリオンに関する研究（第2報）—水稻用除草剤としての特性— . 日本農薬学会第39回大会講演要旨集, 76
- 永松敦ら 2018. ピリミノバックメチル・フェンキノトリオン1キロ粒剤を用いた湛水直播水稻栽培における雑草防除技術に関する研究 . 日本雑草学会第57回大会講演要旨集, 99
- 農林水産省農産局穀物課 2022a, 飼料用米をめぐる情勢について, <https://www.maff.go.jp/j/seisan/kokumotu/attach/pdf/siryouqa-51.pdf> (2022年9月14日アクセス)
- 農林水産省農産局穀物課 2022b, 令和2年産水稻直播栽培の面積, <https://www.maff.go.jp/j/syouan/keikaku/soukatu/attach/pdf/chokuha-6.pdf> (2022年7月7日アクセス)
- 佐藤敦ら 2022. 水稻22品種のフェンキノトリオンに対する感受性, 日本作物学会第253回講演会要旨集, 111
- 玉井龍二ら 2014. 新規除草剤フェンキノトリオンに関する研究（第1報）—合成及び構造と活性— . 日本農薬学会第39回大会講演要旨集, 128
- 渡邊寛明ら 2010. 飼料用イネや米粉等の新規需要米向け多収水稻品種の4-HPPD阻害型水稻除草剤に対する感受性 . 第229回日本作物学会講演会講演要旨集, 32
- Yamamoto, S. *et al.* 2021. Mechanism of action and selectivity of a novel herbicide, fenquinotriene. *J. Pestic. Sci.* 46, 249-257.