植物の異物に対する認識とその解毒機構

臼井 健二*

キーワード：除草剤, 解毒代謝, P-450, グルタチオントランスフェラーゼ, 酵素誘導

Key words: Herbicides, metabolic detoxification, P-450, glutathione S-transferase, enzyme induction

はじめに

除草剤などの化学物質は、植物体内に入り作用点に達し作用を引き起こすまでに、多くの場合、植物による代謝的变化を受ける。化合物の構造により変化する形も様々であるが、それらは作用活性がより高い形に変化する活性化、作用活性が低くなる不活性化（あるいは解毒）および作用活性とは無関係の変化である。

除草剤等の薬物は作用を発揮するのに必要な構造・官能基をもつが、細胞膜の脂質の層を通過し生物体内に入り易くするため化合物の極性が低められ、官能基がマスクされ、あるいは脂溶性基や安定性基が導入されている場合が多い。体内に入った薬物は、マスクがはずれ、活性化され、あるいはそのままの形で作用点に達し作用する、あるいはその間に不活性化され効力を失う。雑草など防除対象の生物中では活性化され易いが解毒されにくく、一方作物など防除対象でない生物においては活性化されにくく解毒され易いものが、除草剤として選ばれている場合が多い。薬剤代謝活性、特に解毒代謝活性の植物間の差異は、選択(作用)性の主要な要因の1つとなっており、一般に解毒代謝活性の大きい植物が耐性を示す。

化学物質は、通常、生物体内で酸化、還元、加水分解などの反応（第1段階）を受け極性基（-OH, -CHO, -COOH, -NH₂, -SH など）が導入され、次

いでそれらが生体成分のグルコース、(ホモ)グルタチオン、アミノ酸、アシル基などの抱合反応（第2段階）を受け不活性化され、更にCO₂迄分解されたり生体成分に組み込まれたりする⁷¹⁾。

これらの反応は非酵素的な場合もあるが多くは酵素によって触媒される。それらの主なものは（重複する呼び方もあるが）、薬物酸化酵素（mixed function oxidase, mfo）、チトクローム P-450 依存酸素添加酵素(P-450 と略記)、アルコール脱水素酵素、エステラーゼ（カルボキシエステラーゼ、アシルアミダーゼ）、UDPG N-グルコシル転移酵素、(ホモ)グルタチオン転移酵素（glutathione S-transferase, GST）などである。典型的な反応様式と関係する酵素系を第1表に示す。

生物は、大古より環境中の様々な化学物質に接し、自身の構成成分でない、特に有害な物質を異物として認識し、解毒したり体外に排泄したりして来たと考えられる。こうして積み重ねられて来た防御系、異物代謝・解毒系が近年の種々多数の合成化合物についても対処できるのであろう。

ここでは、幾つかの植物による代表的な除草剤の代謝様式および関連する酵素系を見ながら植物による異物の認識、選択（作用）性、除草剤抵抗性あるいは薬害軽減作用等との関連等について考察したい。

1. 主な除草剤の代謝・解毒反応と選択性・抵抗性

(1) スルホニルウレア系除草剤

近年開発された一連のスルホニルウレア系除草剤は、従来の1/10以下という極めて低薬量（2~75 g/ha 程度）で広範な一年生広葉、多年生雑草の防除に有効であり、官能基の少しの変化で優れた選択性が発揮され、各々主要な作物を対象として製剤が開発されている^{4,5,11,78,79)}。その一次作用点は分岐アミノ酸のバリン、ロイシン、イソロイシン生合成の共通

* 筑波大学応用生物化学系

Kenji Usui: Mechanisms of the Recognition of Xenobiotics and Their Detoxification in Plants.

(1992年1月30日受理)

第1表 植物における除草剤の主な代謝反応様式と関連する酵素系

代謝反応様式	酵素系の事例
酸化	
芳香環の水酸化	薬物酸化酵素 (mfo, P-450, 水酸化酵素)
アルキル基の水酸化	(")
アルコール・アルデヒドの酸化	アルコール・アルデヒド脱水素酵素, P-450
O-, N-脱アルキル	薬物酸化酵素 (mfo, P-450, デメチラーゼ等)
S-原子の酸化 (スルホキシ化, スルホン化)	(")
酸化的脱アミノ	(")
還元	
還元的脱アミノ	デアミナーゼ
加水分解	
カルボン酸エステル	カルボキシエステラーゼ
リン酸エステル	(アリール)エステラーゼ, フォスファターゼ
(アシル)アミド, カーバメート	(アシル)アミダーゼ, エステラーゼ
エポキシド	エポキシドヒドロラーゼ
抱合体 グルコシド	グルコシダーゼ
アミノ酸, ペプチド	トランスペプチダーゼ, アミノペプチダーゼ
抱合 (転移)	
グルコース抱合	UDP-グルコシルトランスフェラーゼ
グルタチオン	グルタチオン S-トランスフェラーゼ
ホモグルタチオン	(")
アミノ酸	アシルトランスフェラーゼ
メチル化	メチルトランスフェラーゼ
アシル化	アシルトランスフェラーゼ
アセチル化 マロニル化	マロニル CoA トランスフェラーゼ

の初段階の反応を触媒するアセトラクテート合成酵素 (ALS あるいはアセトヒドロキシ酸合成酵素) の阻害 (非拮抗的) であることが見出されて以来, 種々の型の ALS 阻害剤およびアミノ酸生合成阻害剤が除草剤として開発・検索されている。

スルホニルウレア化合物による ALS の阻害活性は種々の植物種で調べられているが, 50% 阻害濃度

は大略 $10^{-9} \sim 10^{-8}$ M で大差なく殺草性とも相関せず, 選択性は植物体内での代謝的解毒反応に依っている。

スルホニルウレア化合物の代謝と選択性との関係は最初にクロルスルフロンの示された^{5,11)}。耐性の小麦ではクロルスルフロンのベンゼン環の5位に水酸基が導入され, 次いで集積せず速やかにグルコース抱合体となり解毒される。この水酸化は¹⁸Oを用いた実験から分子状酵素に由来することがわかり, これには酵素添加酵素 (P-450) が関与している。またグルコース抱合反応は UDPG-グルコシルトランスフェラーゼ (グルコース転移酵素) によって行われる。一方, クロルスルフロンはまた, 耐性の広葉植物の nightshade や flax ではトリアジン環側鎖のメチル基が水酸化され ($-\text{CH}_2\text{OH}$ となり), 更に素早くグルコース抱合される。これらの水酸化体はまだ ALS 阻害活性があり, グルコース抱合体となって初めて不活性となる。クロルスルフロンの選択性は水酸化に続くグルコース抱合という代謝的解毒の強弱に依存すると言えよう。

メツルフロンの小麦あるいは大麦における代謝も上記クロルスルフロンの同様2カ所での水酸化とそれに続くグルコース抱合が認められている²⁾。この際尿素ブリッジのアミダーゼによる開裂の可能性も示されている。

稲作用除草剤のベンスルフロンのメチル (ウルフ, ザーク, プッシュなどの成分) はイネによる代謝分解が雑草よりはるかに速い^{78,80)}。イネにおける主要代謝物としてピリミジン環のメトキシの O-脱メチル体が見出され, この脱メチル体は ALS 阻害活性および殺草活性を示さず, O-脱メチル反応により解毒される。更に, 尿素ブリッジ (アミノカルボニル基) が加水分解により開裂したスルホンアミド体, それに由来するホモサッカリンおよび (ベンゼン環の) メチルエステルがカルボキシエステラーゼにより加水分解され酸となったものも見出され, これらも殺草活性を示さない。イネ品種 (インド型, 日本型) のベンスルフロンのメチルに対する感受性の差およびジメビレート等チオカーバメート系除草剤や尿素系のダイムロン等混用によるベンスルフロンのメチルの害の軽減も, 代謝的解毒活性, 特に O-脱メチル化の差あるいは促進と関連している^{66,76)}。

同じく稲作用除草剤のピラズルフロンのエチル

(シリウスなど) のイネにおける代謝も O-脱メチル化反応が主要と考えられ選択性の要因となっている。

チフェンスルフロンメチルは小麦(葉)において解毒分解され、O-脱メチル体(8%), 尿素ブリッジアミノカルボニル基の開裂により生じたスルホンアミド体とトリアジンアミン体(24%), エステルの加水分解による脱エステル体(チフェンスルフロン, 26%) およびスルホンアミド結合の開裂により生じたトリアジンウレア体(22%)が見出されている^{11,13)}。この場合はエステルの加水分解(脱エステル), 尿素ブリッジおよびスルホンアミドの開裂が主である。これらは ALS 阻害活性を示さず, 従って殺

草活性も示さない。大豆もまたチフェンスルフロンメチルに耐性であるが, その大部分はエステルの加水分解に由来する。

クロリムロンエチルは耐性を示す大豆により速やかに代謝されるが, アオゲイトウ, オナモミでははるかに遅い^{11,12)}。主要な解毒代謝経路はピリミジン環の塩素のホモグルタチオン(hGSH) 抱合置換(75%)であり, エチルエステルの加水分解(25%)も行われる。両代謝物とも ALS 阻害活性は示さない。ホモグルタチオン抱合はマメ科植物に特有であり, トウモロコシではグルタチオン抱合が行われる⁵¹⁾。トウモロコシでの主要な代謝経路はベンゼン環およびピリジミジン環の水酸化であり水酸化体が集

	①	②		③	④	⑤		⑥		⑦
反応	コムギ flax など	コムギ	オオムギ	イネ	イネ	コムギ	ダイズ	ダイズ	トウモロコシ	トウモロコシ
(1)	++	++	++						(+)	(+)
(2)	++	++	++							
(3)				++	++	+				
(4)				+		++			(+)	
(5)						++				
(6)				+		++	++	+		
(7)								++		
(8)									(+)	
(9)									(++)	(+)

第1図 植物におけるスルホニルウレア系除草剤の代謝と選択性への関わり

① クロルスルフロン ② メツルフロンメチル ③ ベンスルフロンメチル ④ ピラゾスルフロンエチル ⑤ チフェンスルフロンメチル ⑥ クロリムロンエチル ⑦ プリミスルフロン

関わり程度; ++, ++大。() は感受性種あるいは *in vitro* での代謝の程度を示す。

積する。そのグルコース抱合、アミノカルボニル基の開裂(スルホンアミド体生成)も見出されているが、水酸化以外の解毒反応が弱いと考えられトウモロコシは耐性ではない。

プリミスルフロン(トウモロコシ用)は、黄化トウモロコシ幼植物ミクロソーム標品でのベンゼン環およびピリジン環の水酸化が、 O_2 および NADPH (および NADH) を要求し、CO やテトシクラシスあるいはチトクローム c で阻害され、薬害軽減剤処理により活性が増大するので、この水酸化は誘導性 P-450 系によって行われることが明らかとなっている²⁸⁾。そしてピリミジンあるいはベンゼン環の水酸

化に対してみかけの K_m は 137 と 47 mM, V_{max} は 427 と 261 pmol/mg 蛋白/hr とされている。

以上のようにスルホニルウレア系除草剤の選択性は代謝的解毒活性の差に依存している。それらを第 1 図にまとめた。

(2) イミダゾリノン系除草剤

イミダゾリノン系除草剤もスルホニルウレア化合物より高濃度ではあるが ALS を不拮抗的に阻害し、殺草活性を示す⁴¹⁾。選択性は耐性植物による急速な解毒代謝によるとされている⁴⁸⁾。

イマザメタベンズメチルは、小麦やトウモロコシではベンゼン環側鎖のメチル基の水酸化により不活

第 2 図 グルタチオンあるいはホモグルタチオン抱合される除草剤
矢印の右側の基が外れる。文献 69 を改変。

性化され、更にその水酸基がグルコース抱合を受け完全に解毒される¹⁴⁾。カラスムギ (*Avena fatua*) のような雑草は、これら解毒反応が弱い上に、メチルエステル部位の加水分解によって、より活性のカルボン酸を生じ、感受性を示す。イマゼタピルに対し大豆は、ピリジン環側鎖のエチル基を水酸化し、耐性を示す。

(3) アリールオキシフェノキシプロピオン酸系除草剤

ジクロホップメチル、フルアジホップブチル、ハロキシホップメチル、キザロホップエチルなどのアリールオキシフェノキシプロピオン酸系除草剤は、イネ科植物に選択的に作用を示し、他の植物にはこの作用がないので、綿花、flax、落花生、大豆、テンサイ、トマトなどの広葉作物中のイネ科雑草の防除に茎葉処理剤として用いられている (0.2~0.5 kg a.i./ha)^{4,23)}。ジクロホップメチルは小麦作におけるカラスムギ、foxtail などの防除にも用いられている。これら薬剤の作用点として細胞膜のプロトン勾配の攪乱によるオーキシシン活性の阻害のほか極低濃度で脂肪酸の de novo 生合成の阻害、アセチル CoA カルボキシラーゼ (ACC) の阻害が見出されている⁵⁴⁾。ACC の阻害は光学異性体の D (R(+)) 体の酸が活性体である。また ACC の阻害はイネ科植物に特異的で (I_{50} 0.1-0.4 μ M) 広葉植物は阻害されにくく (I_{50} 100 μ M 以上)、これにより選択性が示される。

ジクロホップメチルの小麦とカラスムギとの選択性は解毒代謝即ち末端フェニル基の水酸化とそれに続くグルコース抱合の差異によっている⁸¹⁾。メチルエステルの加水分解による酸の生成は両者でほとんど変わらないが、小麦では主要な酸の末端フェニル基の水酸化とそれに続くグルコース抱合活性が、カラスムギにおける酸のグルコース抱合より強く、その結果選択性が現れる。フェニル基 O-グルコシド化合物は量的には少ないが、カラスムギ懸濁培養細胞でも代謝物として得られている。

末端フェニル基の環の水酸化は更に詳しく調べられ、4-OH (2, 3-Cl), 4-OH (2, 5-Cl), 5-OH (2, 4-Cl) 体が各々ほぼ 20, 55, 25% で見出され、2, 4-D の場合と同様前 2 者は NIH shift によって生じたと考えられている⁸¹⁾。酸化反応にはアレーンオキシド (エポキシド) 中間体が想定されている。2, 4-D では、NIH shift による 4-OH-2, 3-D および 4-OH-2,

5-D (後者が主) のほかにシフトしない 3-OH-2, 4-D, 更に脱塩素した 4-OH-2-Cl 体が見出されており、これら環の水酸化が選択性 (耐性) と関連している。

フェノキサプロップエチル、キザロホップエチル、ジフェノペンテンエチルもエステルの加水分解による酸の生成とその抱合や酸側鎖の (3-) 水酸化、その他エーテル結合の開裂などの代謝が見出されている^{46,53,75)}。

上記ベンゼン環の水酸化は NIH shift 反応から推測されるように P-450 系によると考えられる^{57,91)}。このことは、黄化小麦幼植物のミクロソーム標品によるジクロホップの環の水酸化は O_2 と NADPH を要求し、テトシクラシス、NADPH-cyt c 還元酵素や CO で阻害されたことから立証されている。ジクロホップに対する見かけの K_m は 41.6 あるいは 9.3 μ M, V_{max} は 5.7 nmol/mg 蛋白/hr の値である。また、幼植物のフェノパルビタール処理により活性が著しく増大する。

アリールオキシフェノキシプロピオン酸系除草剤に対する抵抗性植物の例はあまり多くないが、ジクロホップメチルに対して annual ryegrass で見出されている⁷⁴⁾。クロルスルフロンの交叉抵抗性を持つものは、解毒代謝が抵抗性要因となっていると思われる。

(4) トリアジン系除草剤

トリアジン系除草剤は主な尿素系や酸アミド系除草剤と同様、ブラストキノン (PQ) 結合 D_1 蛋白に結合し、光合成電子伝達系を阻害することにより殺草活性を示す。トリアジン系除草剤の選択性は植物による解毒代謝と大きく関連している^{34,69)}。

2-クロロ-s-トリアジンはトウモロコシでは根部の内生ベンゾキサジノンにより化学的に脱塩素され水酸化される。また Cl 基が還元型グルタチオン (GSH) と置換するグルタチオン抱合のほか、N-脱アルキル反応により解毒される。トリアジン環の -S-CH₃ (チオメチル) 基側鎖はスルホキシド化された後グルタチオン抱合される。

アトラジン (ゲザプリム) のグルタチオン抱合は主に茎葉のグルタチオン S-トランスフェラーゼにより行われ茎葉処理の場合の主要解毒経路となっている。その結果、トウモロコシや他の一年生イネ科植物におけるアトラジン耐性はグルタチオン抱合活

性とよく相関している。しかし、感受性のイヌビエ (*Echinochloa crus-galli*) やキンエノコロ (*Setaria glauca* (L.) Beauv.) では GST 活性が不十分である。また、N-脱アルキル反応は、これらより耐性の低い種での主要反応であるが、モノ脱アルキル体が依然光化学系 II の阻害活性を有し、反応速度も大きくなく必ずしも耐性に寄与していない。

チオメチル-S-トリアジンとは、N-脱アルキル反応の他にチオメチル基が酸化されスルホキシドを生じ、水溶性を増すと共に反応性を増し(活性化)、速やかにグルタチオンあるいはホモグルタチオン抱合、あるいは加水分解により水酸化され解毒(毒性が低下)される。トウモロコシの茎葉と懸濁培養細胞でアトラジン代謝が、イネとタイヌビエ植物体でシメトリン代謝が、ジャガイモと小麦の懸濁培養細胞でアトラジンとターブトリン代謝が各々比較され、幾つかの差異が見出されている^{24,26,56)}。ターブトリンではN-エチル基の ω 水酸化が、アトラジンではグルタチオン抱合化合物より生じたと思われるシステイン(抱合)体も見出されている。

as-トリアジン系のメトリブジン(センコル)は上記諸反応の他に還元的脱アミノ反応あるいは脱アミノ体および親化合物のアミノ基のN-グルコシル化(グルコース抱合)による解毒反応が選択性と関連しているようだ^{27,39)}。メトリブジンはトマト、ジャガイモ、大豆、サトウキビ、アルファルファ、ニンジンが耐性で大麦や小麦、牧草にも用いられる。メトリブジンは大豆では-SCH₃がスルホキシ化され更にホモグルタチオン抱合する反応も主要な解毒代謝となっている。メトリブジンが低濃度(μ M)の時は脱アミノ反応、高濃度(0.1 mM 以上)のときは親化合物の抱合反応が優越すると考えられている。親化合物および脱アミノ体から-SCH₃がとれたジクト、脱アミノジクトも少量認められている。大豆葉でのメトリブジンの脱アミノ反応系はパーオキシゾームに局在し *in vitro* で還元剤の GSH、アスコルビン酸あるいはシステインおよび FMN (あるいは FAD) および cyt c を必要とする。

グルコース抱合は UDP-グルコース:メトリブジン N-グルコシルトランスフェラーゼによって行われ、トマト培養細胞で N-グルコシド化合物が FAB-MS 等により同定されている¹⁹⁾。

メトリブジンの代謝は共力剤 MZH2091 により脱

アミノ反応が強く阻害される。アトラジンの代謝も共力剤トリディファンにより阻害されるが、GST の阻害によると考えられる⁶⁾。

アトラジンを基質とする GST 活性は、トウモロコシやソルガムでは主に茎葉にあり、後で述べるクロロアセトアミド化合物と比べかなり低く、葉害軽減剤(safener)処理による活性増大も見出されていない²⁵⁾。

アトラジン抵抗性の雑草バイオタイプは数多く見出されている。そのほとんどが D₁ 蛋白のアミノ酸の変異によりアトラジンが結合しにくくなったものであるが、GST 活性の増大によりアトラジンのグルタチオン抱合による解毒が促進される例も見つかっている^{3,36)}。アトラジン抵抗性のイチビの Maryland biotype は野生型に比べ茎で 9 倍、葉で 2 倍速くアトラジンをグルタチオン抱合により代謝した。植物体中の GSH 含量は両型で差がなかったが、茎葉の GST 活性はアトラジン基質で 4.4~3.6 倍抵抗性型の方が高く、K_m はほとんど変わらず、V_{max} は 3 倍高く、抵抗性は V_{max} の増大による。CDNB(1-chloro-2,4-dinitrobenzene)を基質とする GST の変化は少ない。

(5) *p*-ニトロジフェニルエーテル系除草剤

フロロジフェンはピーナツ懸濁培養細胞でグルタチオン抱合代謝によりエーテル結合が切れ、S-(2-nitro-4-trifluoromethyl-phenyl) glutathione と *p*-nitrophenol を生じる⁶⁹⁾。グルタチオン抱合体は更にシステイン抱合体を経て、マロニルシステイン抱合体に変化することも見出された。同様にアシフルオルフェンやフォメサフェンでホモグルタチオンあるいはグルタチオン抱合の事例が知られている。

フロロジフェンの選択性もグルタチオン抱合活性(フロロジフェンに対する GST 活性)と関連し、耐性種のワタ、トウモロコシ、落花生、エンドウ、ダイズやオクラで高く、感受性のキュウリ、トマトや marrow で低い。最近、とうひ懸濁培養細胞で、速やかに代謝され、グルタチオン抱合体を生成し、システイン抱合体を経てグルコース抱合体、S-glucoside および S-(3-thio-2-O-glucosyl) lactic acid 抱合体として集積することが明らかにされている⁵²⁾。

クロメトキシニル(エックスゴーニ)は *p*-ニトロフェニル基側鎖の-OCH₃ が O-脱メチル反応を受け抱合化合物へと代謝解毒されるが、この活性がイネ

で強くタイヌビエで弱いことより選択性が示される⁴³⁾。

(6) 尿素系除草剤

フェニル基の4 (para) 位にCl基をもつモニュロンやDCMUはN-脱メチル化を受ける(モノ脱メチルは殺草活性をもつ)が、ワタを除いて他の作物は更にもう一個N-脱メチル(N-ジ脱メチル)され-NH₂となる解毒反応が弱く、選択性が狭い⁶⁹⁾。しかし、4位にメチル基が入ったクロロトルロンは選択性が高まり、小麦および大麦にも使用される。これはメチル基が水酸化され更に遅くはあるが酸へと解毒されるためと考えられる。ダイムロンも水酸化に続く抱合や尿素結合の開裂によるp-tolyl ureaの生成反応により選択性が生じ、稲作用除草剤として多年生雑草の防除に用いられる。感受性種の*Lolium perenne*, カラスムギやblack grass (*Alopecurus myosuroides*) などではN-モノ脱アルキル活性はあるが解毒代謝活性が低い。

小麦幼植物の根にクロロトルロンあるいはイソプロトルロンを与えた時、主として環の水酸化メチル(-CH₂OH)体とその抱合体およびモノN-脱メチル体に代謝される¹⁵⁾。小麦懸濁培養細胞でのクロロトルロンの代謝は植物体と同様であったが代謝物中N-モノ脱メチル体が最も多くその糖抱合体も見出されている¹⁶⁾。また共力剤1-アミノベンゾトリアゾール(ABT)やP-450の阻害剤バクロブトラゾールやテトシクラシスを共存させるとクロロトルロンあるいはイソプロトルロンの代謝が著しく抑制される。またシオメトリニル、ジクロルミドや2, 4-D前処理によりクロロトルロンの代謝が促進される。ABTはフェニル基メチルの水酸化を優先的に抑制するように思われる。同様にワタやトウモロコシの懸濁細胞でもP-450阻害剤のテトシクラシスによりN-脱メチル化および環メチルの水酸化の両代謝が抑制される¹⁸⁾。

これらクロロトルロンのN-脱メチル化、メチル基の水酸化反応はP-450により行われると考えられ、Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) 塊茎やワタ幼植物のミクロソーム画分で実験されている⁶⁹⁾。トウモロコシのP-450系では環メチルの水酸化体が最も多く、次いでN-モノ脱メチル体が、またN-ジ脱メチル体が最も少なく見出され、阻害剤(テトシクラシスおよびバクロブトラゾール)による

環メチル基の水酸化阻害、および種子のCGA154281 (antidote) 処理による活性の増大(約50%)が見出されている²⁹⁾。更に、シオメトリニル前処理小麦懸濁培養細胞ミクロソームを用いてクロロトルロンの環メチル基の水酸化とN-脱メチル反応は異なるP-450により触媒されることが示されている⁶⁴⁾。

(7) 酸アミド系除草剤(2-クロロアセトアミドを除く)

光合成電子伝達阻害型のDCPA(プロパニル)はイネではアリアルアシルアミダーゼ(I)により加水分解され3, 4-ジクロロアニリンとプロピオン酸を生じ解毒される。ヒエはその活性を有しないためイネ、ヒエ間で選択性が示されるが、アリアルアシルアミダーゼIの活性は、メヒシバ、オヒシバ、シコクビエでは示されず、*Oryza* 属内の野生稲間で著しく異なり、選択性の主要因となっている¹⁷⁾。

ホルモン型除草剤のナプロアニリド(ウリベスト)は植物体内で速やかにアシルアミド結合が加水分解され2-(2-naphthoxy) propionic acidを生じて活性を示す。次いで耐性のイネ幼植物では速やかにナフタレン環の水酸化そのO-グルコース抱合により解毒されるが、ウリカワでは活性のプロピオン酸およびそのメチルエステル体が多く、また2-ナフトールおよび2-ヒドロキシ-1, 4-ナフトキノンも少量見出され、解毒代謝の差が選択性の要因となっている⁶⁸⁾。両葉片における加水分解活性の差も示されている。ミズガヤツリ類でもプロピオン酸体、メチルエステル体が見出され、イネでは少ないことが選択性に関連している。

クロメプロップ(CMP)も同様に耐性のアズキ、イネと感受性のトマト、ダイコンの間でCMPのアシルアミドの加水分解から生じたプロピオン酸体(DMPA)の濃度およびその3-メチル基の水酸化された3-CH₂-OH-DMPAとそのグルコース抱合体となる解毒代謝速度に差があり選択性が示される⁶⁶⁾。CMPの加水分解反応もカーバメート系殺虫剤NACにより阻害され、NACはCMPに共力効果を示す。

(8) チオカーバメート系除草剤

EPTCは選択性除草剤としてトウモロコシ、綿花、豆類など広範囲の作物中の雑草防除に用いられる。主要な初期代謝経路は酸化によるスルホキシンド、スルホンの生成(活性化)とそれらの速やかなグル

タチオン抱合(解毒)であり、選択性と強く関係していると考えられる^{34,85)}。グルタチオン抱合化合物 S-(dipropylcarbonyl) glutathione は更に代謝されグルタミン酸, グリシンがはずれたシステイン体, 次いで, システイン体および脱アミノシステイン体とマロニル CoA とから N-マロニルシステインおよび O-マロニルチオ乳酸体となり蓄積する⁴⁹⁾。これら代謝物をトウモロコシ, ワタ, 大豆植物およびトウモロコシと落花生培養細胞と比較すると N-マロニルシステイン体は全ての組織にあるが, O-マロニルチオ乳酸体はワタの根部および大豆植物, 落花生の培養細胞では見出されていない。

EPTC のスルホキシドへの酸化は NADPH 依存ミクロソーム酵素, P-450 によると考えられ, スルホキシドのグルタチオン抱合は非酵素的にも行われるが GST により酵素的に行われる。グルタチオン抱合体のシステイン体への変化はペプチダーゼによりグルタミン酸, グリシンがはずれ, マロニル化はマロニル CoA トランスフェラーゼによると考えられる。

EPTC のトウモロコシの薬害に対してナフタリックアンヒドライドやジクロロミド処理による軽減と EPTC の解毒代謝促進との関連性について多くの研究がなされている³⁴⁾。ジクロロミド処理によりトウモロコシ体内の GSH 含量および GST 活性が増大するが, GSH 含量の増加は必ずしも解毒代謝の促進とは相関していない。また, ジクロロミドは EPTC のスルホキシド化を促進し, 解毒代謝を促進, 軽減作用を示すとの仮説も出されている。動物でよく知られているように, 植物においても種々の化合物により GST, P-450 などの薬物代謝関連酵素が同時に誘導され, 除草剤代謝の促進, 薬害軽減が行われると推測される。

ベンチオカーブ(サターン)の植物体中での代謝は古くから研究され, N-脱メチル, 環の水酸化, SC=O 結合の開裂によるベンジルアルコール生成とそれらの抱合反応などが見出されている⁶⁸⁾。オルソベンカーブ(ランレイ)は, 大豆, 小麦, トウモロコシ, メヒシバにおいて, スルホキシドに酸化された後, 加水分解によりベンジルアルコール(2-Cl)に, 更に酸(2-クロロ安息香酸)となり両者がグルコース抱合を受ける経路と, スルホキシド体よりシステイン体(S-2(chlorobenzyl) cysteine)更に N-

マロニルシステイン体となる経路が主体であるが, 環の水酸化(4-OH, -5-OH), N- β -hydroxyethyl 化とその N-vinyl 化, N-脱メチル化も幾らか行われる⁴²⁾。システイン体の形成はスルホキシド体のグルタチオンあるいはホモグルタチオン抱合を経て行われるものと考えられる。

(9) クロロアセトアミド系除草剤

主要代謝としてアセトアミドの塩素の位置でグルタチオン抱合する反応がよく知られている³⁴⁾。この反応は主に GST により酵素的に行われるが非酵素的にも行われる。耐性および感受性植物で 2-クロロアセトアミド系除草剤に対する選択性と解毒代謝活性, GST 活性および/あるいは GSH+hGSH 量がかなりよく相関している^{8,10)}。プレチラクロール(ソルネット)に対してイネ科植物間では GST 活性とよく相関する⁷³⁾。

プロバクロールの大豆での代謝は詳しく調べられており, まず, ホモグルタチオン抱合の後, ペプチダーゼでグルタミン酸と β -アラニンがはずれシステイン体となりマロニル CoA トランスフェラーゼで N-マロニルシステイン体となって集積し, 一部は更にそのスルホキシドに酸化される⁵⁰⁾。システイン体はまたそのままあるいは脱アミノ反応の後スルホキシド(S-チオ乳酸スルホキシド体)となる。スルホキシド化システイン体は, N-マロニルシステイン体となるものと一部, システインスルホキシドがとれてアルコール体となり次いで UDPG トランスフェラーゼで O-グルコシドとなり最終的に糖部がマロニル化され O-マロニルグルコース抱合体となる。他のクロロアセトアミド系除草剤(アセトクロール, アラクロール, メトラクロールなど)も同様と考えられる³⁴⁾。

クロロアセトアミドの酸化代謝研究事例は数少ないが, ソルガムのミクロソーム画分で, メトラクロールと type II のスペクトルが得られる, メトラクロールの O-脱メチル化反応(2-chloro-N-(2-ethyl-6-methylphenyl)-N-(2-hydroxy-1-methylethyl)acetamide 生成)が NADPH と O₂ を要求し, CO や ピペロニルブトキシド, テトシクラシス, トリディファンなどの P-450 阻害剤により阻害されることなどが見出されている⁶¹⁾。

(10) その他

ベンタゾンの各種植物体および懸濁培養細胞によ

る6-および8-水酸化とそれらのグルコース抱合代謝、ピクロラムの leafy spurge (*Euphorbia esula* L.)によるグルコースエステル抱合、N-グルコシド、ゲンチオビオースエステル抱合代謝、フェンメディファムのテンサイによるN-水酸化とそのヘキソース抱合代謝等が見出されている。

2. 薬物代謝酵素の誘導—薬害軽減作用

(1) GST とその isozyme

チオカーバメート系およびクロロアセトアミド系除草剤の薬害軽減作用と解毒代謝について多くの研究がなされている³⁴⁾。植物体あるいは種子の薬害軽減剤 (safener) 処理によりクロロトルロンやEPTCの場合と同様著しくクロロアセトアミド除草剤の代謝活性が高まる。これは、GSH 含量の増大およびクロロアセトアミドとのグルタチオン抱合特に GST 活性が高まることに由来する。

これらの研究は、主にトウモロコシあるいはソルガムにおいてジクロルミド、ナフタリックアンヒドライド、フルラゾール、シオメトリニル、オキサベトリニル (CGA-92194), CGA-133205, CGA-154281, BAS 145-138 を用いて、イネではプレチクロールに対してフェンクロリム (CGA-123407) を用いて行われている^{10,20,25,31,32,35,38,47,65,88,90)}。

トウモロコシでは種子の種々の safener 処理により、黄化幼植物の GST 活性がナフタリックアンヒドライド、フルラゾールやジクロルミドにより2~3倍増大することが認められている⁶⁵⁾。更に GST をカラムで分離部分精製するとジクロルミド処理により元のピーク (GST I) が大きくなると共にもう1つ別のピーク (GST II) が出現し、この GST II は I と比べ Vmax がアラクロール基質では同じであるのに対し CDNB では 1/2 に下がっている。また I がサブユニットが MW29000 のホモダイマーであるのに対し、II は 29000 と 27000 のヘテロダイマーである。即ちジクロルミド処理をするとアラクロールを基質とする特異性のより高い GST isozyme が誘導されるものと考えられている。メトラクロールの場合もソルガムの4種の safener 処理によりメトラクロールを基質とする GST 活性が特異的に増大する³⁵⁾。

基質とする除草剤による GST 活性の違い (基質特異性) があることも明らかとなり、トウモロコシ

葉では Km が CDNB 6.7, メトラクロール 0.3, アトラジン 0.04 mM である²⁴⁾。これに対しトウモロコシ培養細胞では、アトラジンに対する活性は低いが2つの isozyme が存在し、それぞれ GST I で 13.3, 1.7, ND, GST II で 13.3, 0.9, ND であることから、基質特異性をもつ GST isozyme の存在が再確認されている。葉 GST と細胞の GST I の性質は似ており、MW 55,000 (MW 26300 の2量体) で等電点は pH 4.3~4.9 である。

後にこのトウモロコシ GST isozyme は等電点が 4.9, 4.7, 4.5 の3個あることが明らかとされている²⁵⁾。これとは別にアラクロールとの抱合で調べるとサブユニット MW 29,000 (GST I), 27,000 (II), 26,000 (III) である⁶⁰⁾。

Safener 処理により GST isozyme が誘導 (酵素蛋白の de novo 合成) されることは、トウモロコシ GST を code する mRNA がフルラゾール処理により8日齢黄化組織で3~4倍に増えること、トウモロコシ幼植物の DDCA 処理により GST (MW 26,000 のサブユニット) を code する mRNA 活性が根で約9倍高まることおよび抗体 (抗血清) を用いた免疫沈澱法による GST 蛋白が増加すること等により立証されている^{26,84)}。尚、トウモロコシ GST I の遺伝子構造 (塩基配列) が解明されているが動物 GST と明らかな相同性をもつアミノ酸配列はないという⁷²⁾。しかし、その後の研究では GST I, III と動物 GST のアミノ酸配列は、ある程度類似性を示すという⁸²⁾。

ソルガム種子をフルラゾール、オキサベトリニル、CGA-123205, ナフタリックアンヒドライド、ジクロルミドの各種 safener 処理し、2日齢の黄化幼植物の茎葉部より抽出した GST を Mono-Q 陰イオン交換クロマトで分離すると、無処理では CDNB について1個、メトラクロールについても小さな1個 (No. 7) のピークが見られ、safener 処理により CDNB の活性が高まるが、それ以上にメトラクロールに対する活性の高まった新たなピーク (isozyme) が4~5個出現する²⁰⁾。これら GST (isozyme) の誘導は黄化植物をオキサベトリニル処理すると約4時間後から見られ24~36時間後に最大となる。またこの誘導 (活性増大) はそれぞれ転写、翻訳の阻害剤 cordycepin やシクロヘキシミドによりほぼ完全に阻害され de novo 合成と判明している。更に基質のメトラクロール処理によっても safener 処理と同様

な GST(メトラクロール)isozyme が誘導された。イネ幼植物においてプレチラクロール処理によって GST 活性の増大(誘導)が観察されている。

以上のように植物には基質特異性の異なる GST isozyme があり, safener 処理によりあるいは(比較的耐性植物においては)除草剤自身によって除草剤(および safener)を基質とする特異的な GST isozyme が誘導され, グルタチオン抱合解毒代謝が促進され葉害が軽減されるものと考えられる。

(2) ミクロソーム P-450 系の誘導と特異性・分子多様性

動物 P-450 は様々な動物種にわたって数十個の分子種があり分子多様性を示し, 多様な化合物の酸化(還元)反応に対応しているが, 本来の機能はステロイド(ホルモン)やプロスタグランジンの合成・代謝, 脂肪酸の ω 酸化など生体成分の代謝である。これらの P-450 の中から特に異物代謝の活性の高い分子種(異物代謝型 P-450)が分化出現して来たと考えられている⁷¹⁾。

異物代謝型 P-450 は, 通常体内に少量しか存在しないが, 異物(化合物)が体内に入るとそれに応答して酵素量および活性が増大する誘導型であり, 植物においても動物と同様と考えられる。safener 処理により増大する除草剤に特異的な GST も同様であろう。

植物 P-450 も, 通常体内のステロイド, ジベレリン合成, 脂肪酸の ω 酸化やフェニルプロパン・フラボノイド代謝のほかに, 先に述べたように種々の除草剤等異物の酸化代謝を行っていると考えられているが, 動物 P-450 と比べ活性が低いため明確ではなかったが近年多くの研究により明確となって来ている^{7,21,30,33,45,55,63,67,77,83)}。また薬物による誘導, 基質特異性, 分子多様性や cDNA によるアミノ酸配列なども明らかとなりつつある。

小麦細胞ミクロソーム画分でクロロトルトンの環メチル基の水酸化および N-脱メチル反応は異なる P-450 により触媒されることが示されているが, 両活性の他にラウリル酸水酸化酵素, 桂皮酸-4-水酸化酵素活性および P-450 量は農薬や safener 前処理(2, 4-D, メコプロップ, プロクロラズ, クロロトルロン, シオメトリニル, オキサベトリニル, CGA 133205)により増大する⁶³⁾。この時, 前処理化合物により酵素活性の増大する割合(比率)が異なる(シ

オメトリニルによる N-脱メチル化が最大で約 5 倍)。このことは, 異なる P-450 種の存在を示す。また種々の尿素系化合物添加によりメチル基水酸化, N-脱メチル化活性が異なる程度で阻害され, 基質特異性も示されている。

黄化小麦莖葉組織のミクロソーム画分で水酸化活性(ジクロホップの環の水酸化, クロルスルフロンのフェニル基の 5 水酸化)がナフタリックアンヒドライド, エタノール, フェノバルビタール前処理により 5~20 倍促進され, ナフタリックアンヒドライドとエタノールの効果は相加的である³⁰⁾。水酸化活性の見かけの K_m (μM) は薬剤前処理によりクロルスルフロンのジクロホップで 2~3 倍高濃度となる。尚, トリアスルフロンの水酸化活性には NADPH を要求するが, この活性は各種 P-450 阻害剤や除草剤で阻害される。リニユロンの主代謝物として 3-(3, 4-dichlorophenyl)-1-methoxy urea が見出されている。以上, 除草剤水酸化の各種阻害剤, 誘導剤や基質に対する反応の違いより, 小麦ミクロソームは基質特異性と反応速度論的性質の異なる多くの別個の P-450 を含むと考えられる。そしてこれらの酵素が広スペクトルの小麦用除草剤の耐性および選択性の重要な要因となっている。

これらのことは程度の差はあれ他の除草剤・植物にも当てはまるだろう。

3. 植物による異物の認識

病原菌の感染やエリシターにより防御遺伝子が発現し様々な防御反応が起き, 例えば防御物質のファイトアレキシン生合成に関与する P-450 が誘導されることもよく知られるようになった。また小麦ではうどんこ病菌により GST が誘導され²²⁾, カーネーションの花弁ではエチレンに反応した成熟過程で GST が生成することも見出されている⁵⁸⁾。

動物では dioxin のような平面構造をもつ芳香族炭化水素や β -ナフトフラボンのようなフラボノイドは phase I および II の酵素(P-450 や GST)を誘導するが, 平面状芳香族炭化水素にはその受容体(Ah リセプター)があり, P-450 遺伝子の 5' 上流領域の xenobiotic-regulatory elements に結合し, 遺伝子を活性化し, 転写を促進することが知られている⁷⁰⁾。GST の誘導も同様な機構が考えられる。除草

剤の代謝や薬剤代謝酵素の誘導において除草剤や誘導剤のような化合物あるいは病原菌などは異物として認識されていると思われる。

植物（生物）による異物の認識はまず異物が生体成分と結合することにより始まるだろう。その1つは酵素との結合、もう1つは受容体との結合が考えられる。それらの結合部位において鍵と鍵穴のように構造的にうまく合い、水素結合、イオン結合や疎水結合による結合力（親和性）の大きいものが大きな活性を示すとされている。このことは、アトラジンやスルホニルウレア抵抗性のバイオタイプが D_1 蛋白あるいは ALS のアミノ酸が変異することにより、結合が抑制され、阻害が減少することからも示されている。

植物は、病原性微生物の侵入に際しては、セルラーゼやペクチナーゼで細胞壁が分解され、また自身のキチナーゼやグルカナーゼを働かせて微生物細胞壁の多糖（ペクチン、キチンやキトサン）を分解する。また、損傷を受けた時は自らペクチナーゼでペクチンを分解する。分解により生じた特異的なオリゴ糖類は細胞膜上の受容体に結合し、エリシターとして認識され、シグナル伝達物質（セカンドメッセンジャー）が生成・放出される。この伝達物質が核内に入り防御遺伝子を活性化し、ファイトアレキシン、加水分解酵素、プロテインインヒビター、抗ウィルス性蛋白や細胞壁成分などの防御物質が生産される⁸⁹⁾。このエリシター受容体や伝達物質の実体についてはまだ明確ではないが、エリシターと受容体には特異性および種特異性もあり、防御反応系でのオーキシンの関与も示唆されている。

比較的低分子の異物代謝においても、異物代謝酵素および受容体との結合が考えられる。基質や阻害剤と酵素との結合、反応および阻害状態については、通常の反応速度論のほか、除草剤と safener との、また生長調節剤と基質との化学構造上の類似やそれらと酵素（P-450）との結合状態がコンピューターによる軌道計算法、X 線回折法などにより調べられ、一層明確となってきた^{44,87)}。GST や P-450 は複数の isozyme (multiple form) と重複する基質特異性により幅広い化合物に活性を示すが基質特異性もかなり高く、isozyme による結合部位のわずかな違いも想定される。GST は化合物の電子密度の低下した求電子中心を還元型グルタチオンの解離基 GS^- （チ

オレートアニオン）が攻撃し付加あるいは置換する反応を触媒する。多くの isozyme（分子多様性）があり、幅広い重複基質特異性を持ち、反応形式は random bi-bi とされている。GSH 結合部位（G-site）と求電子化合物の結合する疎水性部位（H-site）があり前者（G-site）はその結合モデル（domain）も示されている¹⁾。

受容体についても同様であろう。オーキシシン（IAA）は受容体（結合蛋白）と結合すること、また遺伝子を活性化することにより作用を発現することが知られているが、2, 4-D（型除草剤）がオーキシシン結合蛋白と結合し、結合活性と生長促進とが関連することも明らかとなりつつある⁸⁹⁾。

薬物代謝活性誘導の場面での除草剤や safener の受容体の存在はまだ知られていないが、Ah リセプターやエリシターによる誘導と同様な機構による誘導の可能性もあるだろう。

除草剤や safener による誘導でも遺伝子の活性化・発現、転写促進があり、オーキシシン誘導性遺伝子の調節をモデルに、リプレッサーやアクチベーターへの結合による3つのモデル（negative, direct positive, indirect positive control）が提唱されている⁴⁰⁾。

おわりに

植物を含めて生物はその出現時より環境中の様々な化学物質に接し生体成分として取り込み利用すると共に不要・有害なものは異物として解毒・排泄するよう進化して来たと考えられる。異物代謝酵素系は種々の莫大な数の異物との接触・摂食などにより断続的にあるいは一時的に大量に入る外来物に対処するため、広い基質特異性と分子多様性あるいは誘導という生体防御機構を発達させて来たと考えられる。そのため現在の多様な合成化合物にも対応できるのであろう。

除草剤の選択作用性、薬害軽減作用あるいは抵抗性は植物による除草剤の代謝・解毒と関連している部分が多い。これらに関する酵素学および分子遺伝学的研究の今後一層の発展により更に理解が深まるだろう。

引用文献

- 1) Adang, A.P.E., J. Brussee, A. van der Gen and

- G.J. Mulder 1990. *Biochem. J.* **269**, 47-54.
- 2) Anderson, J.J., T.M. Priester and L.M. Shalaby 1989. *J. Agric. Food Chem.* **37**, 1429-1434.
- 3) Anderson, M.P., J.W. Gronwald 1991. *Plant Physiol* **96**, 104-109.
- 4) 馬場正紀・縄巻 勤 1989. 日本農芸化学会誌 **63** (10), 1630-1635.
- 5) Beyer, Jr., E.D., M.J. Duffy, J.V. Hay and D.D. Schlueter 1988. In "Herbicides, 3", 117-189.
- 6) Boydston, R.A. and F.W. Slife 1986. *Weed Sci.* **34**, 850-858.
- 7) Bozak, K.R., H. Yu, R. Sirevag, R.E. Christoffersen 1990. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **87**, 3904-3908.
- 8) Breaux, E.J. 1986. *J. Agric. Food Chem.* **34**, 884-888.
- 9) Breaux, E.J. 1987. *Weed Sci.* **35**, 463-468.
- 10) Breaux, E.J., J.E. Patanella and E.F. Sanders 1987. *J. Agric. Food Chem.* **35**, 474-478.
- 11) Brown, H.M. 1990. *Pestic. Sci.* **29**, 263-281.
- 12) Brown, H.M. and S.M. Neighbors 1987. *Pestic. Biochem. Physiol.* **29**, 112-120.
- 13) Brown, H.M., V.A. Wittenbach, D.R. Forney and S.D. Strachan 1990. *Pestic. Biochem. Physiol.* **37**, 303-313.
- 14) Brown, M.A., T.Y. Chiu and P. Miller 1987. *Pestic. Biochem. Physiol.* **27**, 24-29.
- 15) Cabanne, F., D. Huby, P. Gaillardon, R. Scalla and F. Durst 1987. *Pestic. Biochem. Physiol.* **28**, 371-380.
- 16) Canivenc, M.C., B. Cagnac, F. Cabanne and R. Scalla 1989. *Plant Physiol. Biochem.* **27**, 193-201.
- 17) Chen, J.J. and S. Matsunaka 1990. *Pestic. Biochem. Physiol.* **38**, 26-33.
- 18) Cole, D.J. and W.J. Owen 1987. *Plant Sci.* **50**, 13-20.
- 19) Davis, D.G., P.A. Olson, H.R. Swanson and D.S. Frear 1991. *Plant Sci.* **74**, 73-80.
- 20) Dean, J.V., J.W. Gronwald and C.V. Eberlein 1990. *Plant Physiol.* **92**, 467-473.
- 21) Donaldson, R.P. and D.G. Luster 1991. *Plant Physiol.* **96**, 669-674.
- 22) Dudler, R., C. Hertig, G. Rebmann, J. Bull and F. Manch 1991. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **4**, 14-18.
- 23) Duke, S.O. 1988. In "Herbicides, 3" 71-116.
- 24) Edwards, R. and W.J. Owen 1986. *Planta* **169**, 208-215.
- 25) Edwards, R. and W.J. Owen 1988. *Planta* **175**, 99-106.
- 26) Edwards, R. and W.J. Owen 1989. *Pestic. Biochem. Physiol.* **34**, 246-254.
- 27) Fedtke, C. 1991. *Pestic. Sci.* **31**, 175-183.
- 28) Fonné-Pfister, R., J. Gaudin, K. Kreuz, K. Ramsteiner and E. Ebert 1990. *Pestic. Biochem. Physiol.* **37**, 165-173.
- 29) Fonné-Pfister, R. and K. Kreuz 1990. *Phytochem.* **29**, 2793-2796.
- 30) Frear, D.S., H.R. Swanson and F.W. Thalacker 1991. *Pestic. Biochem. Physiol.* **41**, 274-287.
- 31) Fuerst, E.P. and J.W. Gronwald 1986. *Weed Sci.* **34**, 354-361.
- 32) Fuerst, E.P., G.L. Lamoureux and W.H. Ahrens 1991. *Pestic. Biochem. Physiol.* **39**, 138-148.
- 33) Gabriac, B., D. Werck-Reichhart, H. Teutsch and F. Durst 1991. *Arch. Biochem. Biophys.* **288**, 302-309.
- 34) Gronwald, J.W. 1989. In "Crop Safeners for Herbicides" pp. 103-128.
- 35) Gronwald, J.W., E.P. Fuerst, C.V. Eberlein and M.A. Egli 1987. *Pestic. Biochem. Physiol.* **29**, 66-76.
- 36) Gronwald, J.W., R.N. Anderson and C. Yee 1989. *Pestic. Biochem. Physiol.* **34**, 149-163.
- 37) Gunia, W., W. Hinderer, U. Wittkampf and W. Barz 1991. *Z. Naturforsch.* **46c**, 58-66.
- 38) Han, S. and K.K. Hatzios 1991. *Pestic. Biochem. Physiol.* **39**, 281-290.
- 39) Hatzios, K.K. 1989. In "Herbicides, 3" pp. 191-243.
- 40) Hatzios, K.K. 1989. In "Crop Safeners for Herbicides" 65-101.
- 41) Hawkes, T.R., J.L. Howard and S.E. Pontin 1989. In "Herbicides and Plant Metabolism" pp. 113-136.
- 42) Ikeda, M., T. Unai and C. Tomizawa 1986. *Weed Res., Japan* **31**(3), 283-243.
- 43) Ishizuka, K., H. Matsumoto and H. Hyakutake 1988. *Weed Res.*, **33**(1), 41-48.
- 44) Katagi, T., N. Mikami, T. Matsuda and J. Miyamoto 1987. *J. Pestic. Sci.* **12**, 627-633.
- 45) Kochs, G. and Grisebach 1989. *Arch. Biochem. Biophys.* **273**, 543-553.
- 46) Koeppel, M.K., J.J. Anderson and L.M. Shalaby 1990. *J. Agric. Food Chem.* **38**, 1085-1091.

- 47) Kreuz, K., J. Gaudin and E. Ebert 1989. *Weed Reserch* **29**, 399-405.
- 48) Ladner, D.W. 1990. *Pestic. Sci.* **29**, 317-333.
- 49) Lamoureux, G.L. and D.G. Rusness 1987. *J. Agric. Food Chem.* **35**, 1-7.
- 50) Lamoureux, G.L. and D.G. Rusness 1989. *Pestic. Biochem. Physiol.* **34**, 187-204.
- 51) Lamoureux, G.L., D.G. Rusness and F.S. Tanaka 1991. *Pestic. Biochem. Physiol.* **41**, 66-81.
- 52) Lamoureux, G.L., D.G. Rusness, P. Schroder and H. Rennenberg 1991. *Pestic. Biochem. Physiol.* **39**, 291-301.
- 53) Lefsrud, C. and J.C. Hall 1989. *Pestic. Biochem. Physiol.* **34**, 218-227.
- 54) Lichtenthaler, H.K. 1990. *Z. Naturforsch.* **45c**, 521-528.
- 55) Malliot-Vernier, P., H. Schaller, P. Benveneste and G. Beliard 1990. *Plant Physiol.* **93**, 1190-1195.
- 56) 松本 宏 1988. *雑草研究* **33**(2), 97-104.
- 57) McFadden, J.J., D.S. Frear and E.R. Mansager 1989. *Pestic. Biochem. Physiol.* **34**, 92-100.
- 58) Meyer Jr., R.C., P.B. Goldsbrough and W.R. Woodson 1991. *Plant Mol. Biol.* **17**, 277-281.
- 59) Mito, N., I. Sori, M. Miyakado and S. Tanaka 1991. *J. Pestic. Sci.* **16**, 435-439.
- 60) Moore, R.E., M.S. Davies, K.M. O'Connel, E.I. Harding, R.C. Wiegand and D.C. Tiemeier 1986. *Nucl. Acid Res.* **14**, 7227-7235.
- 61) Moreland, D.E., F.T. Corbin and W.P. Novitzky 1990. *Z. Naturforsch.* **45c**, 558-564.
- 62) Moreland, D.E., W.P. Novitzky and P.E. Levi 1989. *Pestic. Biochem. Physiol.* **35**, 42-49.
- 63) Mougin, C., N. Polge, R. Scalla and F. Cabanne 1991. *Pestic. Biochem. Physiol.* **40**, 1-11.
- 64) Mougin, C., F. Cabanne, M.C. Cabanne and R. Scalla 1990. *Plant Sci.* **66**, 195-203.
- 65) Mozer, T.J., D.C. Tiemier and E.G. Jaworski 1983. *Biochem.* **22**, 1068-1072.
- 66) Ohno, A., J.Y. Pyon, K. Ishizuka and H. Matsumoto 1991. *Weed Res., Japan* **36**(1), 27-35.
- 67) O'Keefe, D.P. and K.T. Leto 1989. *Plant Physiol.* **89**, 1141-1149.
- 68) Oyamada, M., T. Tanaka, Y. Takazawa and T. Takematsu 1986. *J. Pestic. Sci.* **11**(2), 197-203.
- 69) Owen, W.J. 1989. In "Herbicides and Plant Metabolism" pp. 171-198.
- 70) Nebert, D.W. and J.E. Jones 1989. *Int. J. Biochem.* **21**, 243-252.
- 71) 佐藤 了・大村恒雄 1988. *薬物代謝の酵素系* pp. 238.
- 72) Shah, D.M., C.H. Hironaka, R.C. Wiegand, E.I. Harding, G.G. Krivi and D.C. Tiemeier 1986. *Plant Mol. Biol.* **6**, 203-211.
- 73) Shim, I.E., K. Usui and K. Ishizuka 1990. *Weed Res., Japan* **35**(1), 25-35.
- 74) Shimabukuro, R.H. and B.L. Hoffer 1991. *Pestic. Biochem. Physiol.* **39**, 251-260.
- 75) Shimabukuro, R.H., W. Walsh and B.L. Hoffer 1989. *Pestic. Biochem. Physiol.* **33**, 57-68.
- 76) Shirakura, S., T. Yuyama and K. Ishizuka 1988. *Weed Res., Japan* **33**(4), 271-277.
- 77) Stewart, C.B. and M.A. Schuler 1989. *Plant Physiol.* **90**, 534-541.
- 78) 武田俊司 1987. *日本農芸化学会誌* **12**, 759-768.
- 79) 武田俊司・湯山 猛・R.C. Ackerson 1989. *雑草研究* **34**(2), 87-93.
- 80) Takeda, S., D.L. Erbes, P.S. Sweetser, J.V. Hay and T. Yuyama 1986. *Weed Res., Japan* **31**(2), 157-163.
- 81) Tanaka, F.S., B.L. Hoffer, R.H. Shimabukuro, R.G. Wien and W.C. Walsh 1990. *J. Agric. Food Chem.* **38**, 559-565.
- 82) Timmerman, K.P. 1989. *Physiol. Plant.* **77**, 465-471.
- 83) Werck-Reichhart, B. Gabriac, H. Teutsch and F. Durst 1990. *Biochem. J.* **270**, 729-735.
- 84) Wiegand, R.C., D.M. Shah, T.J. Mozer, E.I. Harding, J. Diaz-Collier, C. Sanders, E.G. Jaworski and D.C. Tiemeier 1986. *Plant Mol. Biol.* **7**, 235-243.
- 85) Wilkinson, R.E. 1988. In "Herbicides, 3" pp. 245-300.
- 86) Wongwattana, C. and K. Ishizuka 1988. *Weed Res., Japan* **33**(3), 200-208.
- 87) Yenne, S.P. and K.K. Hatzios 1990. *J. Agric. Food Chem.* **38**, 1950-1956.
- 88) Yenne, S.P., K.K. Hatzios and S.M. Meredith 1990. *J. Agric. Food Chem.* **38**, 1957-1961.
- 89) 吉川正明 1990. *植物細胞工学* **12**, 695-703.
- 90) Zama P. and K.K. Hatzios 1986. *Weed Sci.* **34**, 834-841.
- 91) Zimmerlin, A. and F. Durst 1990. *Phytochem.* **29**, 1729-1732.