〔学会賞(業績賞)〕 受賞特別講演

多年生水田雑草の塊茎形成に対するオーキシン型除草剤の 阻害作用機構

小林 勝一郎（筑波大学応用生物化学系）

除草剤による雑草制御技術の普及や栽培法の変化等により、我が国の農耕地では多年生雑草の発生が増加し、その制御が重要な課題になっている。多年生雑草は、塊茎や根茎等の地下部器官による栄養繁殖性を一年生雑草と異なる最も顕著な特性とし、こうした特性が除草剤による生育制御を困難にしている主因となっている。除草剤による一年生雑草の生育制御機構については優れた知見が集積されているが、多年生雑草の生育制御機構に関する研究例は少なく、塊茎などの栄養繁殖器官の形成および機能に対する阻害作用機構はほとんど解明されていない。

本研究は、多年生水田雑草の塊茎形成に対するオーキシン型除草剤の阻害作用機構の解明を通して多年生雑草の栄養繁殖器官の生理生化学的特性を明らかにすることを目的として実施したものである。本研究の遂行にあたり終始懇切な御指導を賜った筑波大学教授石塚皓造博士、貴重な御助言と御協力をいただいた理化学研究所一瀬勝紀氏、百武博氏、ならびに有益なご助言とご協力をいただいた各位に対し心から感謝申し上げます。

生育および塊茎形成に対する作用性

ミズガヤツリやクログワイのような多年生雑草は、生育環境により分株や塊茎の形成が制御されているが、日長、温度等の調節により小型のままで短期間に塊茎形成を促進させることが可能である。また、砂耕栽培は被検植物の取扱を容易にし、薬剤の作用機構に関する研究においてきわめて有効であった。

オーキシン型除草剤ナプロアニリドならびにクロメプロップによる両雑草の茎葉、根に対する阻害作用は、生育が進んでからの処理、すなわち、処理時期の遅延に伴って低下した。しかし、根茎に対する作用は、処理時の生育相が異なっても常に顕著で、茎葉、根の生育を阻害しない条件でも、根茎には著しい奇型が発現し、これと平行して塊茎形成が阻害される (Table 1) 一方で、ミズガヤツリでは、分株形成が促進された。しかし、すでに形成が開始していた塊茎の肥大ならびに萌芽能は影響されなかった。従って、両剤による塊茎形成阻害は、根茎に直接的に作用して発現するもので、塊茎形成の開始、すなわち、根茎の塊茎あるいは分株への分化機能を攪乱することにより発現するものと考えられる。

2,4-D は両剤と類似した作用性を示した。ベンジルアデニン (BAP) はミズガヤツリに対し塊茎形成を阻害する一方で分株形成を著しく促進したが、クログワイに対しては、そうした作用は示さなかった (Table 2)。ジベレリン (GA) はクログワイの塊茎形成を強く阻害した。ナプロアニリドや GA は塊茎形成における同化産物の根茎先端での蓄積を著しく阻害したが、BAP は阻害しなかった。また、ナプロアニリドおよび BAP は

Kobayashi, K. : Mechanism of inhibitory action of auxin-type herbicides on tuberization of perennial paddy weeds.

クログワイ塊茎に対し休眠覚醒作用を示すこと (Fig. 1)、さらに、両除草剤による塊茎形成阻害作用において、ミズガヤツリには系統間差が認められた。従って、多年生雑草の塊茎形成には植物ホルモンが関与しているが、関与機構ならびに塊茎形成機構は種間のみならず系統間で異なるものと考えられる。

塊茎形成阻害機構

ナプロアニリドおよびクロメプロップはミズガヤツリあるいはクログワイの茎葉のRNA合成系に対し攪乱作用を示すが、その作用は処理時期が遅くなると低下した。しかし、根茎においては処理時期にかかわらず常に顕著な攪乱作用を示した (Fig. 2, 3)。また両除草剤は、塊茎形成過程における根茎の内部形態変化、すなわち、根茎先端部の葉原基下方に位置する髄柔細胞の分裂、伸長や肥大および細胞内でのデンプン蓄積の促進などを強く抑制する (Fig. 4)。このような結果から、ナプロアニリドやクロメプロップなどのオーキシシン型除草剤による両雑草の塊茎形成阻害は、それらの薬剤に対し常に高い感受性を持つ根茎における核酸合成系が攪乱され、その作用が塊茎形成に関与する根茎の髄柔細胞の分裂、伸長や肥大に対する作用として反映され、根茎先端部の肥大 (塊茎形成) の開始が阻害されることにより発現するものと思われる。

根および根茎によるナプロアニリドあるいはクロメプロップの吸収は経時的に増加し、さらに茎葉へと移行するが、その移行量は少なく、多くは根茎に留まり、特に先端部での偏在が顕著であった。また、両除草剤は、植物体内において比較的速やかに加水分解されて活性体となり、さらに生体成分との結合物へと変化するが、活性体の存在量は根茎で最大であった (Table 3)。一方、塊茎形成の開始前にミズガヤツリの

親株の地下部に処理したナプロアニリドあるいはクロメプロップは分株へと移行するが、分株に処理した場合には親株あるいは非処理分株へはほとんど移行しない (Table 4) 等、同化産物に類似した挙動を示し特定の株のみに処理した場合の非処理株の塊茎形成に対する阻害作用 (Table 5) と一致した。従って、両除草剤による多年生雑草の塊茎形成阻害作用は、根茎中に存在する両剤の活性体である分解産物によって塊茎形成に関与する根茎の機能が阻害されて発現されるものであり、また、両剤および代謝産物の植物体内における挙動は、器官や株の特性と密接に関係しているものと思われる。

Table | Effects of naproanilide treated at the five different growth stages on the growth and tuberization of *C. serotinus*¹⁾.

L. S. ¹⁾	Dosage (kg/ha)	Shoot			Root			Rhizome			Tuber			Whole
		No.	D. W. ²⁾ (mg)	Ab- nor- mal- ity ³⁾	D. W. (mg)	Ab- nor- mal- ity	No.	D. W. (mg)	Ab- nor- mal- ity	No.	D. W. (mg)	Ab- nor- mal- ity		
2	0	100%	100%		100%		100%	100%		100%	100%		100%	
		(3.3)	(2,001)		(117)		(21.7)	(1,336)		(35.0)	(1,222)		(4,676)	
	0.7	294	58	**	101	*	115	87	***	0	0		52	
	1.5	52	17	**	9	**	22	30	***	0	0		16	
	3.0	0	4	***	11	**	6	1	***	0	0		2	
At treatment		(1.0)	(39)		(10)		(0)	(0)		(0)	(0)		(49)	
3	0	100	100		100		100	100		100	100		100	
		(3.3)	(1,961)		(115)		(20.4)	(1,334)		(35.0)	(1,222)		(4,633)	
	0.7	312	34	*	83	*	92	67	***	0	0		49	
	1.5	112	28	**	35	**	36	35	***	0	0		23	
	3.0	70	15	**	18	**	12	7	***	0	0		9	
At treatment		(1.0)	(79)		(11)		(1.3)	(2)		(0)	(0)		(92)	
4	0	100	100		100		100	100		100	100		100	
		(2.3)	(1,806)		(104)		(17.7)	(1,312)		(35.0)	(1,222)		(4,444)	
	0.7	317	93	*	87	*	126	96	***	0	0		68	
	1.5	291	68	*	62	*	92	57	***	0	0		46	
	3.0	334	34	**	27	**	69	26	***	0	0		22	
At treatment		(2.0)	(234)		(23)		(4.0)	(24)		(0)	(0)		(281)	
5	0	100	100		100		100	100		100	100		100	
		(1.3)	(1,611)		(95)		(12.8)	(1,236)		(35.0)	(1,222)		(4,154)	
	0.7	385	70	*	81	*	116	127	***	17	21		73	
	1.5	977	93	*	155	*	113	77	***	9	6		64	
	3.0	1,077	75	**	58	*	63	55	***	3	3		48	
At treatment		(3.0)	(429)		(32)		(8.9)	(100)		(0)	(0)		(561)	
6	0	100	100		100		100	100		100	100		100	
		(0.3)	(470)		(4)		(4.3)	(450)		(60.7)	(2,182)		(3,105)	
	0.7	4,667	169	*	2,600	*	193	167	***	52	47		85	
	1.5	4,667	205	*	2,000	*	193	245	***	38	40		96	
	3.0	3,667	68	*	267	*	116	96	***	24	39		52	
At treatment		(2.7)	(1,214)		(58)		(13.0)	(727)		(17.3)	(475)		(2,474)	

1) Data are presented as a percent of the control except for values in parentheses indicating one per pot. Each value at harvest indicates the net growth after treatment.
2) L. S.: leaf stage at naproanilide-treated time.
3) D. W.: dry weight.
4) The number of asterisks (*) indicates the degree of abnormality observed at harvest, and none indicates no abnormality.

塊茎形成における薬剤感受性

ミズガヤツリやクログワイのような多年生雑草にとって根茎を有することは一年生雑草と異なる顕著な特徴である。根茎は、それ自体の生長のみならず、分株ならびに塊茎の形成母体としての特性を持ち、ある種の条件下でそうした機能が発現される。換言すれば、根茎は常に分株あるいは塊茎の発生母体としての分化能を内在し、これら器官の形成に必要な同化産物のみならず除草剤のような外部から与えた物質に対してもsink能が高くなっているものと想定される。また、このような状態にある根茎は、オーキシシン型除草剤や植物ホルモンのような形態形成に関与する物質によってその機能が阻害あるいは攪乱されることから、こうした作用を有する物質に対する根茎の感受性は常に高く保持されているものと考えられる。このように、多年生雑草の増繁殖に直接関与している器官である根茎は、これらの物質に対する感受性ならびにそれらの体内における挙動に対する対応において、茎葉や根とは異なった機能を有するものと想定される。

本研究は事例研究の一つにすぎず今後検討すべき課題も多く残されているが、除草剤等の諸物質に対する多年生雑草の感受性における根茎の「特異性」とも言うべき機能の理解は、多年生雑草の繁殖機構の解明とともに新薬剤の開発や利活用をはじめとした生育制御技術に有益な知見を与えるものと考えられる。

Table 2: Effects of naproanilide, gibberellin and BAP treated at pre-tuberization on the growth and tuberization of *C. serotinus* and *E. kuroguwai*¹⁾.

Weeds	Chemicals (5 mol/ha)	Shoot		Root		Rhizome		Tuber		Whole
		No.	Dry wt (mg)	Dry wt (mg)	No.	Dry wt (mg)	No.	Dry wt (mg)	Dry wt (mg)	
<i>C. s</i> ²⁾	0	100% (3.7)	100% (1925)	100% (144)	100% (18.3)	100% (340)	100% (13.4)	100% (136)	100% (2545)	
	Naproanilide	135	51	46	37	42	0	0	47	
	Gibberellin	89	80	65	67	84	177	185	85	
	B A P	386	105	74	213	50	0	0	90	
<i>E. k</i> ³⁾	0	100% (4.0)	100% (1288)	100% (161)	100% (19.6)	100% (155)	100% (12.7)	100% (691)	100% (1406)	
	Naproanilide	93	81	87	97	115	24	5	61	
	Gibberellin	100	120	124	92	136	2	3	87	
	B A P	93	54	85	112	106	87	42	56	

1) Data are presented as percent of control except for values in parentheses indicating one per pot.

2) *C. s*: *C. serotinus*

3) *E. k*: *E. kuroguwai*

Fig. 1. Effect of naproanilide, gibberellin and BAP on the dormancy of *E. kuroguwai* tuber stored at 5°C for several weeks¹⁾.

1) The number of the sprouted tubers was counted 2 weeks after incubation at 30°C.

Table 5 Effect of naproanilide, M-1 and M-2 on the shoot growth and tuberization of *C. serotinus*¹⁾.

Chemical (5mol/hr)	Plants ²⁾											
	n-2				n-1				M			
	Shoot D.W. ³⁾ (g)	Tuber Na (g)	Shoot D.W. ³⁾ (g)	%	Tuber Na (g)	Shoot D.W. ³⁾ (g)	%	%	Tuber Na (g)	Shoot D.W. ³⁾ (g)	%	%
Treatment ²⁾	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
Cont.	100 (399)	100 (2.7)	100 (57)	100 (812)	100 (9.3)	100 (156)	100 (593)	100 (2.3)	100 (35)	100 (457)	100 (3.3)	100 (71)
A Naproanilide	124	37	51	122	11	17	94	0	0	94	52	45
M-1	112	48	47	63	14	14	66	0	0	79	9	1
M-2	81	63	42	78	25	30	90	0	0	69	21	34
Cont.	100 (735)	100 (8.3)	100 (165)	100 (901)	100 (8.0)	100 (154)	100 (588)	100 (2.3)	100 (39)	100 (588)	100 (4.0)	100 (44)
B Naproanilide	88	124	130	137	159	201	113	130	108	55	0	0
M-1	93	84	93	113	138	145	114	100	103	42	0	0
M-2	79	108	88	108	75	97	100	87	67	39	0	0
Cont.	100 (70)	100 (1.3)	100 (36)	100 (828)	100 (15.0)	100 (407)	100 (578)	100 (1.3)	100 (25)	100 (580)	100 (5.0)	100 (80)
C Naproanilide	39	0	0	36	0	0	103	0	0	62	0	0
M-1	0	0	0	30	0	0	97	0	0	51	0	0
M-2	77	0	0	62	0	0	99	0	0	57	0	0

1) Data are presented as a percent of the control except for values in parentheses which indicate one per pot.

2) Plants are abbreviated as follows: M, mother plant; n-1, the largest daughter plant; n-1, daughter plants with the exception of n-1 plant; n-2, daughter plants of n-1 plant; n-2, daughter plants of n-1 plants.

Fig. 2. Effect of clomeprop (0.64 kg/ha) on RNA synthesis in shoot, root and rhizome of *C. serotinus*.

Fig. 3. Effect of various dosage rates of clomeprop on RNA synthesis in rhizome of *C. serotinus*.

Table 3. Metabolism of ^{14}C -clomeprop in shoots, roots, rhizomes and mother tubers of *C. serotinus*.

Organ	hr	Percent of clomeprop and its metabolites (%)							
		Clomeprop	DMPA-Me	DMPA-Me	OH-DMPA	Origin	Others	Water soluble	Residue
Shoots	6	88.6	2.5	0.5	0.1	0.6	0.1	4.2	3.4
	10	71.8	5.3	0.3	0.8	2.6	0.8	12.6	5.8
	24	63.7	6.5	0.4	1.2	4.2	1.2	17.2	5.6
	72	36.0	7.5	0.2	0.4	9.5	0.0	41.1	5.3
	168	20.0	4.4	0.2	2.5	10.5	0.4	53.6	8.4
Roots	6	91.9	0.9	0.8	0.1	0.3	0.2	1.4	4.4
	10	81.1	2.2	0.3	0.1	0.8	0.2	4.1	11.3
	24	80.2	2.6	0.3	0.1	1.4	0.4	5.0	10.0
	72	62.7	4.3	0.1	0.1	3.9	0.3	15.2	13.4
	168	30.5	4.8	0.2	0.2	7.2	0.3	31.1	25.7
Rhizomes	6	71.5	17.6	0.9	0.3	2.7	0.2	5.4	1.4
	10	55.5	17.4	0.2	0.6	3.9	1.2	17.7	3.5
	24	44.2	14.5	0.3	0.1	7.1	0.6	30.0	3.2
	72	25.5	10.8	1.0	0.5	10.6	0.8	47.3	3.5
	168	12.8	5.8	0.1	0.3	9.9	0.5	65.0	5.6
Mother tubers	6	95.1	2.2	0.3	0.3	0.4	0.0	0.4	1.3
	10	94.4	2.3	0.2	0.1	0.4	0.2	1.5	0.9
	24	93.4	2.6	0.0	0.0	0.6	0.4	0.6	2.4
	72	88.7	3.7	0.1	0.0	0.7	0.4	3.4	3.0
	168	75.3	5.9	0.4	0.0	2.6	0.9	10.8	4.1

DMPA-Me: methyl 2-(2,4-dichloro-3-methylphenoxy)propionate
 OH-DMPA: 2-(2,4-dichloro-3-hydroxymethylphenoxy)propionic acid
 Origin: dichloromethane-soluble fraction remaining at the origin on TLC plates
 Others: sum of other unknown dichloromethane soluble metabolites
 Water soluble: water soluble metabolites
 Residue: metabolites not extracted by acetone-water (2:1, v/v)

Fig. 4. Effect of clomeprop on morphological and anatomical changes in the pith of rhizome of *C. serotinus*.

●—●— Untreated control under short-day condition.
 ○—○— Untreated control under long-day condition.
 ▲—▲— Clomeprop treatment (0.64 kg/ha) under short-day condition.
 □—□— Clomeprop treatment (0.64 kg/ha) under long-day condition.

Table 4. ^{14}C -Radioactivity in *C. serotinus* plant at various times after application of ^{14}C -naproanilide to the underground part of mother or daughter plant (treatment A and B).

Plant	Part	Time after treatment (hr)							
		Treatment A				Treatment B			
		6	24	72	168	6	24	72	168
Mother plant	Shoot	3	4	8	10	0	0	0	0
	Root	509	173	156	148	1	0	1	1
	Rhizome A ²⁾	388	334	378	80	1	1	1	1
	B ³⁾	28	47	51	44	2	0	2	1
	C ⁴⁾	—	—	—	—	(13)	(229)	(45)	(13)
n-1 plant	Whole	50	25	29	24	1	0	0	0
	Shoot	1	1	1	5	5	4	5	16
	Root	2	1	5	14	128	92	70	97
	Rhizome A	2	9	8	21	541	317	252	55
	B	—	3	3	13	—	—	117	398
n'-1 plant	Whole	1	2	2	8	79	48	38	32
	Shoot	3	6	3	5	0	0	0	0
	Root	4	9	10	23	0	0	0	1
	Rhizome A	—	14	20	22	1	0	1	0
	B	—	—	—	—	—	—	—	—
n'-2 plant	Whole	3	6	6	6	0	0	0	0
	Shoot	—	6	5	20	—	—	305	141
	Root	—	—	—	22	—	—	—	261
	Rhizome A	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	—	—	—	—	—	—	—	—
n'-2 plant	Whole	—	6	5	20	—	—	—	145
	Shoot	—	—	—	13	—	—	—	0
	Root	—	—	—	13	—	—	—	—
	Rhizome A	—	—	—	16	—	—	—	—
	B	—	—	—	—	—	—	—	—
n'-2 plant	Whole	—	—	—	13	—	—	—	0
	Shoot	—	—	—	—	—	—	—	—

1) Treatments are shown in Fig. 2.
 2) Rhizome A: rhizome with a top.
 3) Rhizome B: rhizome with a top which had already developed into a shoot.
 4) Rhizome C: rhizome connected to the n-1 plant.
 5) Bar (—) indicates that the part did not exist at harvest.