

選択性除草剤に関する研究

第8報 DCPAの吸収と茎葉における分解について

児玉 治・赤塚 尹巳

Studies on Selective Herbicides

VIII. Absorption and degradation of DCPA in leaf and stem

OSAMU KODAMA and TADAMI AKATSUKA

1. 諸 言

DCPA (Propanil) は、イネーヒエ およびその他の雑草間に極めて顕著な選択性を示す除草剤である。この選択性機構は、イネ茎葉中にDCPA分解酵素が多量に存在することより、本酵素の働きによると考えられていた¹⁻²⁾。その後、本酵素の精製が試みられ、赤塚等³⁾によりはじめ可溶化に成功し、精製酵素を得、これを aryl acylamidase I とし、この酵素の存在の有無が、選択性の発現に本質的役割を果たしていることを明らかにした。

その後、赤塚等⁴⁾よりタイヌビエは、aryl acylamidase I とは基質特異性等が異なり、DCPAを水解しない aryl acylamidase II を見出し、本酵素の精製と性質について報告した。今回、aryl acylamidase I の作用を生体内で確認する為、まずイネおよびタイヌビエの茎葉部を試料とし、葉面ないし茎よりDCPAを吸収させ、一定時間後植物体内でのDCPAの分解について検討した。その結果、イネの場合吸収したDCPAの約90%が、3,4-dichloroaniline(DCA)に分解し、一方タイヌビエにおいては、吸収したDCPAは顕著な分解を受けず、主にDCPAの形で存在することを確認した。

また aryl acylamidase I は、細胞内で顆粒酵素として安定な状態でDCPAの分解に関与していると考えられ⁷⁾、intact cellの aryl acylamidase I の酵素活性と細胞磨砕液の酵素活性を比較した結果、intact cell においても強い酵素活性を示すことを認めた。以下これらの結果について報告する。

2 実験方法

試料植物

イネ(4~5葉期)およびタイヌビエ(出穂期)を試

料として用いた。

吸収試験

試料植物の根を除去し、葉面吸収の場合は、葉面の両側より0.02% DCPA溶液で絶えず湿らせた濾紙をはさみ、葉面よりDCPAの吸収を行ない、茎より蒸留水を吸収させ一定時間後葉面吸収した葉に含まれるDCPAおよびDCAを定量した。また茎よりDCPAを吸収させる場合には、一定時間茎より0.02% DCPA溶液を吸収させた後、茎葉中に含まれるDCPAおよびDCAを定量した。

DCAの測定

植物体内でDCPAの分解により生じたDCAをP-ジメチルアミノ桂皮アルデヒドとカップリングさせ比色定量する著者等⁵⁾の方法を用いた。

一定時間DCPAを吸収した試料を蒸留水で充分洗い附着しているDCPAを除去し、乳鉢を用いて3N-塩酸1ml当たり試料100mgを含む磨砕液(10%磨砕液)を調製した。磨砕液を1.0,000 x g, 5分間遠心分離を行い、1.0,000 x g上澄液に含まれるDCAの濃度を測定した。すなわち、上澄液0.5 mlに0.1% P-ジメチルアミノ桂皮アルデヒド・エタノール溶液2 mlを加え、15分後540 nmの吸光度よりDCAの濃度を求めた。

DCPAの測定

DCAの測定に用いた10%磨砕液の1.0,000 x g上澄液を、100℃、1時間加熱処理してDCPAを加水分解しDCAとし、全DCAの濃度をP-ジメチルアミノ桂皮アルデヒドを用い上記の方法により求め、加熱処理後に生じたDCAよりDCPAを定量した。

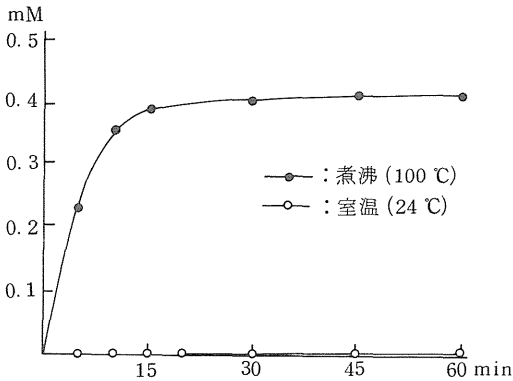
酵素活性の測定

イネまたはタイヌビエの葉100mgを約1 mm幅にはさみを用いて切り、切片とし、消化試験管に入れ、 $\frac{1}{15}$ M-リン酸緩衝液(pH7.0)2 mlを加え、40℃、5分後0.02% DCPA溶液2 mlを加え消化試験管を振とうさせながら

酵素反応を行った。一定時間後、0.2 N-塩酸 0.5 ml に反応液 0.5 ml を加え、酵素反応を停止した後、酵素反応により遊離した DCA を、0.1 % P-ジメチルアミノ桂皮アルデヒド・エタノール溶液 2 ml を加え 15 分後 540mm における吸光度より測定した。なお磨砕液を試料とする場合には、葉 100 mg を乳鉢を用い充分磨砕し、 $\frac{1}{15}$ M-リン酸緩衝液 (pH7.0) にて 2 ml としたものを試料とし、上記の方法により酵素活性を求めた。1 分間に 1 μ mole の DCA を遊離する酵素量を 1 単位とし、葉 1 g 当りの酵素単位で活性を表示した。

3. 実験結果と考察

0.02 % DCPA 溶液 2 ml と 6 N-塩酸 2 ml を混合し、混液の煮沸時間と DCPA の分解により生じた DCA の濃度との関係を第 1 図に示した。この結果、ほぼ 45

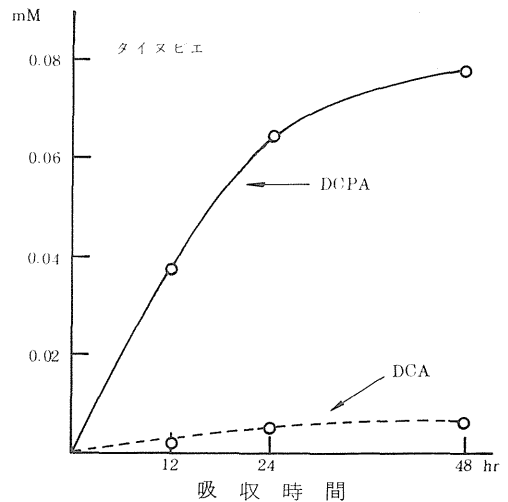
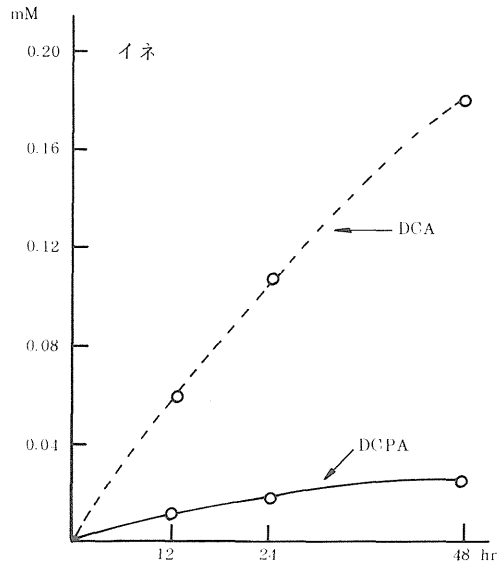


第 1 図. DCPA の加水分解時間と DCA 濃度との関係

分の加熱処理で分解は終了し、分解により生じた DCA の濃度は 0.42 mM である。完全に DCPA が DCA に分解した場合には、DCA の濃度は 0.45 mM となり加水分解によりほぼ 100 % 近く DCA に分解することが認められた。以後加熱処理は 1 時間行うこととした。なお室温では酸による DCPA の分解はほとんど認められなかった。

第 2 図において、イネおよびタイヌビエの葉面より吸収した DCPA の葉面内での変化と吸収時間との関係を示した。この結果、イネ葉面より吸収した DCPA はただちに分解を受けて DCA に変化し、吸収した DCPA の約 90 % は分解を受け DCA の形で葉の内部に存在している事が明らかとなった。この結果よりイネに散布した DCPA は吸収後、速やかに DCA に分解する為、DCPA の影響を顕著に受けないと考えられる。

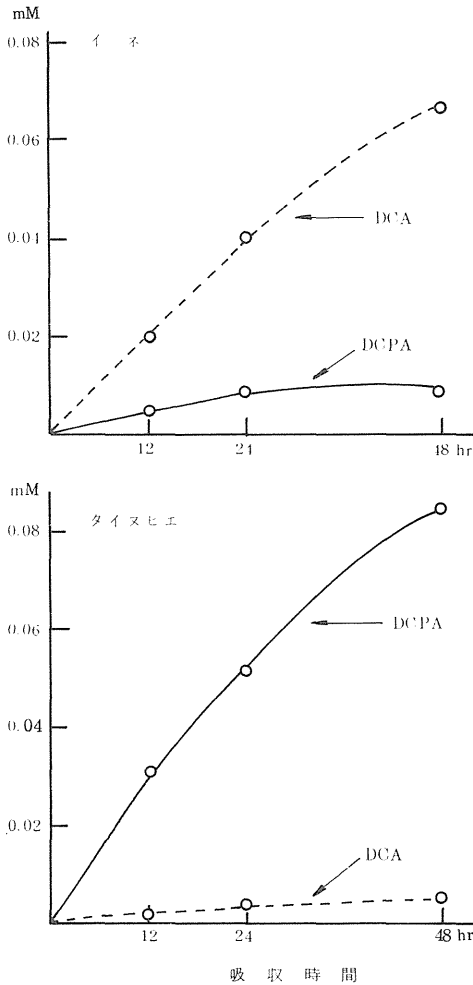
一方 DCPA 散布により枯死するタイヌビエについても、



第 2 図. 葉面吸収した DCPA の葉での分解
* DCPA および DCA の濃度は 10 % 磨砕液の 10,000 xg 上澄液中の mM で表わした。

イネと同様に DCPA の葉面吸収を行った。その結果吸収した DCPA は、時間の経過に従って増加するが、分解により生じた DCA の濃度は、ほとんど増加が認められなかった。その為タイヌビエに散布した DCPA は、吸収後変化を受けず、DCPA のままで葉の内部に存在し Hi11 反応を阻害し枯死すると考えられる。

上記の結果をさらに確認する為、イネおよびタイヌビエの茎より一定時間 0.02 % DCPA 溶液を吸収させ、茎葉



第3図. 茎より吸収したDCPAの茎葉での分解
 ※ DCPAおよびDCAの濃度は、10% 磨碎液の1.0000 xg上澄液中のmMで表わした。

部に存在するDCPAおよびDCAを定量した。この結果を第3図に示した。葉面吸収の場合とほぼ同じ傾向が認められ、イネの場合には吸収したDCPAの90%近くがDCAに分解しており、一方タイヌビエの場合には、吸収したDCPAの顕著な分解は認められなかった。イネにおいては吸収したDCPAの分解が著しいことより、細胞内のaryl acylamidase Iの活性が強いと推定され、

intact cellのaryl acylamidase Iの活性と、細胞組織を乳鉢を用いて磨碎した磨碎液のaryl acylamidase Iの活性を比較した。(第1表)その結果

第1表 葉切片および葉磨碎液のaryl acylamidase I活性の比較

試料	活性 [※]
イネ切片	0.036
イネ磨碎液	0.080
タイヌビエ切片	<0.0001
タイヌビエ磨碎液	<0.0001

※活性は、fresh weightのg当たりの酵素単位で表わした。

intact cellの酵素活性は、磨碎液の約 $\frac{1}{2}$ を示した。このことからaryl acylamidase Iが細胞内でboundした状態においても強い酵素作用を示すことを確認した。その為、イネに散布したDCPAは吸収後、顆粒酵素であるaryl acylamidase Iにより速やかに分解され、直接DCPAの影響を顕著に受けないものと考えられる。一方タイヌビエの場合には、葉切片および磨碎液のいずれもほとんどaryl acylamidase Iの活性が認められず、タイヌビエではDCPAの分解はほとんど起こらないことを確認した。

4. 文 献

- 1) McRae, D. H., R. Y. Yih and H. F. Wilson: Abst. Weed Soc. Amer., 87(1964)
- 2) 足立明朗・利根川和江・上島俊治: 農薬生産技術, No 15, 11 (1966)
- 3) 赤塚尹巳・深沢幸義: 農化大会講演要旨集, p.395 (1971)
- 4) 赤塚尹巳・笠倉紀夫: 農化大会講演要旨集 p.416 (1972)
- 5) 児玉治・赤塚尹巳: 茨大農学術報告, 22, 49 (1974)
- 6) 赤塚尹巳: 農薬科学, 1, 55 (1973)
- 7) 児玉治・赤塚尹巳: 農化大会講演要旨集, p. 27 (1975)

Summary

DCPA (Propanil) is used as a herbicide to control weeds such as barnyard grass in cultivated rice fields. In this paper, absorption and degradation in rice plant and barnyard grass were investigated using DCPA. When DCPA solution (0.02%) was applied on the leaves of rice plant and barnyard grass, DCPA was converted to DCA more than 90% in rice plant leaves. But in barnyard grass leaves, DCPA was scarcely degraded. In the case of absorption of DCPA from the stem, the same result was obtained. The activity of aryl acylamidase I in intact cell of rice leaves was equal to half aryl acylamidase I in the rice homogenates.

These results support the mechanism of selective herbicidal action between rice plant and barnyard grass which reported by Akatsuka.⁶⁾