

解 説

スルホニルウレア系除草剤の第一次作用点と選択性機構

武 田 俊 司

デュポンジャパン農業科学研究所

(昭和62年8月20日受理)

The Primary Site of Action and Selectivity Mechanism of Sulfonylurea Herbicides

Shunji TAKEDA

*Agricultural Science Laboratory, Du Pont Japan Ltd.,
Yatabe-machi, Tsukuba-gun, Ibaraki 305, Japan*

デュポン社中央研究所の Levitt 博士が、除草活性を有するスルホニルウレア化合物を発見したのは、1975年6月のことである。以来1980年までの間に除草活性の高い誘導体が数多く合成されてきた。筆者らが水稻除草剤開発のスクリーニングのために送られてくる合成試料を、はじめて手にしたのは1977年の初頭であるから、スルホニルウレア除草剤の研究開発の初期段階から、この渦中に入っていたことになる。スルホニルウレア除草剤が最初に公開されたのは、1977年10月のベルギー特許においてであるが、その後1985年末までに公開された特許件数は約120件、そのうちデュポン社が保有している比率は85%である。このような研究開発の成果としてデュポン社は、選択性除草剤として chlorsulfuron (Glean®, DPX-W4189), metsulfuron methyl (Ally®, DPX-T6376), bensulfuron methyl (Londax®, DPX-F5384), chlorimuron ethyl (Classic®, DPX-F6025) などを商品化している。

スルホニルウレアが一躍脚光を浴びたのは、1980年に開催された英国作物保護会議において、Palm ら¹⁰⁾ による chlorsulfuron のムギ類の選択除草作用に関する報告と、Ray¹¹⁾ あるいは DeVillers ら⁴⁾ による生理生化学的研究の発表であろう。とくに、本剤が ha 当り 5~20 g (ai) のような極低薬量で除草効果を現わし、これまでの常識を破る高い活性が注目された。さらに、1982年には京都で開かれた第5回国際農薬化学会議において、Levitt はスルホニルウレアの合成と構造活性について講演し⁸⁾、

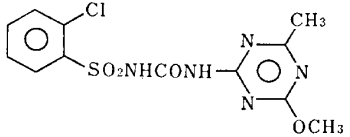
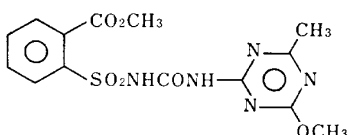
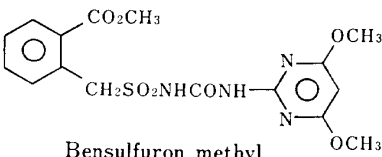
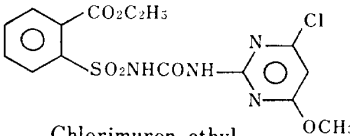
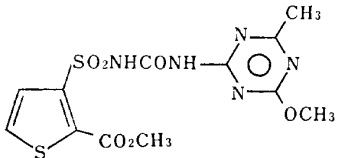
またその業績に対してスイス農薬工業会賞が贈られた。1984年にいたると、La Rossa, Ray, Chaleff らはそれぞれの学問領域でスルホニルウレアの作用機構について研究し、その第一次作用点がアセトラクテート合成酵素 (ALS) の阻害であることを突きとめた。一方、Sweetser らは植物の代謝解毒による選択性機構を、松中ら⁹⁾ は植物・動物間の高度選択毒性機構を明らかにした。

本稿では、chlorsulfuron について行なわれたデュポン社研究陣の成果を中心におき、スルホニルウレア除草剤の作用特性を述べるとともに、生化学的経路における第一次作用点の解明と選択性機構についてその概要を述べる。

スルホニルウレアの構造、適用および毒性

スルホニルウレア除草剤の一般構造は Fig. 1 に示すように aryl-sulfonylurea bridge-heterocycle の3部分から構成されている。アリール部分ではブリッジに対しオルト位にハロゲン、低級アルキル、カルボアルコキシ基で置換されたフェニル基が最高の除草活性を表すが、カルボキシ基や水酸基の置換は活性が失なわれる。フェニル基のほかチオフェン、フラン、ピラゾール、ピリジンなどのヘテロ環も活性を有する。ヘテロ環部分は4,6-位に低級アルキル、アルコキシ基で置換されたトリアジンとピリミジンの活性が最も高いが、トリアゾールやピリジンもかなりの活性を示す。スルホニルウレア部分を修飾すると、一般に活性は低下するが、選択性が増すよう

Table 1 Chemical structure and application of sulfonylurea herbicides.

Structure/Common name	Trade name(s)	Use	Rate (g ai/ha)
 Chlorsulfuron	Glean®	Cereals	4-26
 Metsulfuron methyl	Ally®/Allie®/Gropper®	Cereals	2-8
 Bensulfuron methyl	Londax®	Rice	20-75
 Chlorimuron ethyl	Classic®	Soybeans	8-13
 DPX-M6316	Harmony®	Cereals	10-35

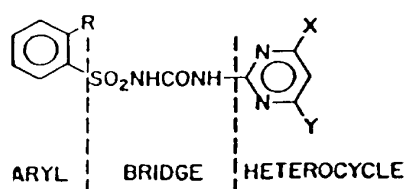


Fig. 1 General structure of sulfonylurea herbicides.

ある。

Table 1 に 1987 年までに商品化された選択性除草剤の構造、一般名、商品名および適用を、Table 2 はそれら除草剤の急性・慢性毒性などを示す。

除草活性と選択性

Chlorsulfuron のムギ類, bensulfuron methyl (以下 BSM) の水稲に対して行なった除草試験の結果⁷⁾は Table 3, 4 のようである。Chlorsulfuron は ha 当り 4~24 g (ai) の範囲, BSM は 25~50 g で多くの雑草に高い防除効果が認められた。このようにスルホニルウレア除草剤は既存の除草剤に比較して、はるかに低い処理量で除草が達成される。

スルホニルウレアの植物に対する作用は、雑草の発芽には影響しないが発芽後の生長を速やかにかつ強く抑制する。その被害症状は薬剤処理後短時間に生育の停止が

Table 2 Toxicological properties of sulfonylurea herbicides.

	Chlorsulfuron	MSM ^{a)}	BSM ^{a)}	CME ^{a)}
Acute toxicity				
Oral LD ₅₀ in rat	5546 mg/kg	>5000 mg/kg	>5000 mg/kg	4102 mg/kg
Dermal LD ₅₀ in rabbit	>3400 mg/kg	>2000 mg/kg	>2000 mg/kg	>2000 mg/kg
Skin, irritation in guinea pig	Negative	Mild	Negative	Mild
Inhalation (4 hr) LC ₅₀ in rat	>5.9 mg/l	>5.3 mg/l	>5.0 mg/l	>5.0 mg/l
Chronic toxicity				
2-yr feeding-NOEL in rat	100 ppm	500 ppm	750 ppm	250 ppm
Reproduction, teratogenicity mutagenicity				
Reproduction-NOEL in rat	500 ppm (3-gen.)	500 ppm (2-gen.)	7500 ppm (2-gen.)	250 ppm (2-gen.)
Teratogenicity-NOEL in rat	2500 ppm	40 mg/kg	500 mg/kg	30 mg/kg
Mutagenicity	Negative in 5 assays	Negative in 5 assays	Negative in 6 assays	Negative in 4 assays
Aquatic & wildlife				
Rainbow trout LC ₅₀	>250 ppm	>150 mg/l	>150 mg/l	>1000 mg/l
Daphnia LC ₅₀	370 ppm	>150 ppm	>100 mg/l	1000 mg/l
Mallard duck LD ₅₀	>5000 mg/kg	>2510 mg/kg	>2510 mg/kg	>2510 mg/kg

^{a)} MSM: Metsulfuron methyl, BSM: Bensulfuron methyl, CME: Chlorimuron ethyl.

Table 3 Herbicidal activity of chlorsulfuron with preemergence application.

Rate g ai/ha	% control or injury								Wheat
	ms ^{a)}	cl ^{b)}	vl ^{c)}	mg ^{d)}	gf ^{e)}	cg ^{f)}	wo ^{g)}	cg ^{h)}	
4	90	60	70	80	60	0	0	30	0
8	100	60	80	90	60	30	0	50	0
16	100	80	90	90	60	60	0	50	0
32	100	80	95	95	80	60	0	60	0
64	100	80	100	90	80	60	0	70	0

^{a)} *Brassica* sp., ^{b)} *Xanthium* sp., ^{c)} *Auhtilon* sp., ^{d)} *Ipomoea* sp., ^{e)} *Setaria* sp., ^{f)} *Bromus* sp.,
^{g)} *Abena* sp., ^{h)} *Digitaria* sp.

Table 4 Herbicidal activity of bensulfuron metyl in simulated paddy.

Rate g ai/ha	Timing DAT ^{a)}	(pot test)								Rice injury	
		Weed control (%)									
		Eo	Cd	Mv	Bl	Ea	Sj	Cs	Sp	V.C. ^{c)}	D.W. ^{d)}
25	3	0	100	100	100	100	90	100	90	0	105
50		50	100	100	100	100	95	100	95	0	102
100		70	100	100	100	100	100	100	100	15	90

^{a)} Days after transplanting.

^{b)} Eo: *Echinochloa* sp., Cd: *Cyperus difformis*, Mv: *Monochoria* sp., Bl: Annual broadleaf weeds, Ea: *Eleocharis* sp., Sj: *Scirpus* sp., Cs: *Cyperus serotinus*, Sp: *Sagittaria* sp.

^{c)} Visual count (%).

^{d)} Dry weight of shoot (% of control).

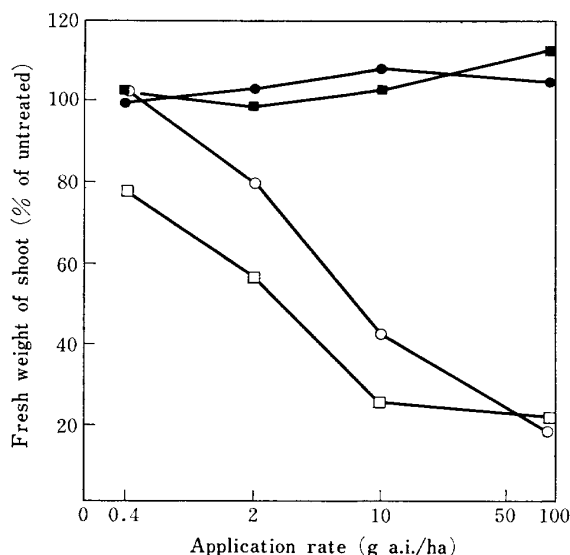


Fig. 2 Sensitivity of various crops to bensulfuron methyl.

● rice, ■ wheat, ○ Chinese cabbage, □ spinach.

起り、二次的な症状として生理作用の低下、葉脈の退色、葉身のクロシスなどが生じ、ネクロシスを経て枯死するにいたる。

上記の試験結果によって chlorsulfuron と BSM がムギとイネにそれぞれ選択性があることがわかる。この選択性をさらに明確にするために、イネ科作物と広葉作物の間の感受性の差異について検定した。Fig. 2 に示すようにイネとコムギはハクサイ、ホウレンソウに比較して、100 倍以上も耐性でありその差は顕著であった。

生育停止と細胞分裂阻害との関連

スルホニルウレアはごく微量で感受性雑草の生育を速やかにストップさせる。Ray^{11,12)} と DeVillers ら⁴⁾ はこの生育阻害作用をひき起こす生理生化学的要因を調べた。Ray はトウモロコシ苗を chlorsulfuron を加えた水耕液で育成すると、トウモロコシの根部伸長は 1 ppb の濃度で、また茎葉部の伸長は 10 ppb の濃度で明白に抑制されることを確かめた (Fig. 3)。つぎに 10 ppm の chlorsulfuron をトウモロコシ苗に散布したのち、経時的に苗の生長を測定した結果、処理苗の生育は無処理のそれに比較して、処理後 2 時間で明らかに生育の減少をもたらし、8 時間までに無処理の 80% を抑制することを認めた (Fig. 4)。これらの結果から、chlorsulfuron の植物に対する作用点として、1~10 ppb の低濃度で 4 時間以内に反応することが条件づけられる。

このような生育伸長の急速な抑制は、細胞分裂か細胞伸長のいずれかを阻害することを示唆している。細胞伸

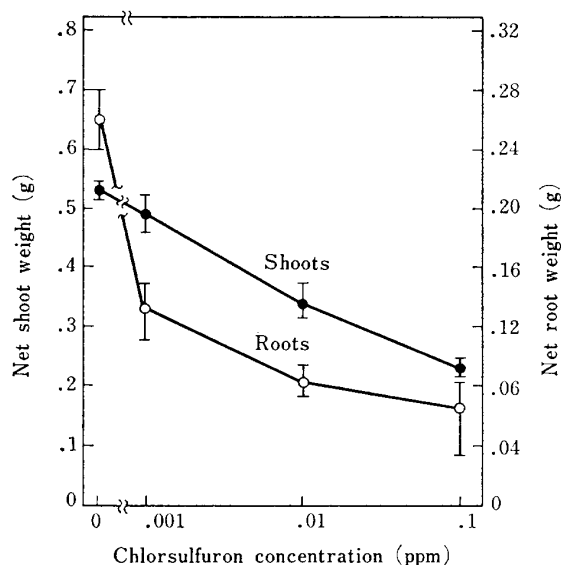


Fig. 3 Net increase in the fresh weight of roots and shoots of corn seedlings grown for 48 hr in the presence of chlorsulfuron in solution culture (T.B. Ray^{11,12)}).

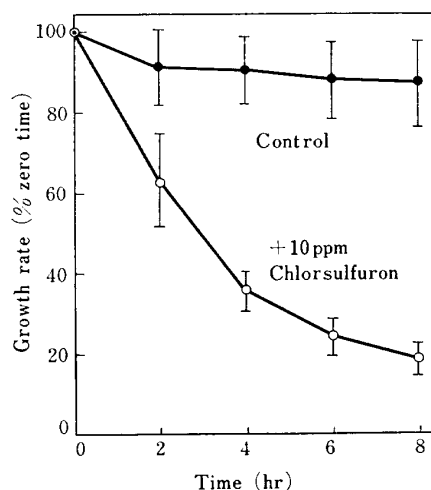


Fig. 4 Effect of foliar application of chlorsulfuron on the growth rate of corn seedlings as measured with an LVDT.

Each point is the mean of four replicates. The error bars the standard errors of the means. The average zero-time rate is 35.4 ± 3.04 nm/min (T.B. Ray^{11,12)}).

長に關与する植物生長ホルモン、インドール酢酸、サイトカイニン、ジベレリンの細胞伸長作用に対する chlorsulfuron の影響を調べたが、本剤の 10 ppm までの濃度で影響が認められなかった。これと対照的に、細胞の増殖活動を示す細胞分裂指数を求めると、Table 5 に示すように 1 ppm の chlorsulfuron および 10 ppb の BSM

Table 5 Effect of chlorsulfuron and BSM on the mitotic index in root tips of *Vicia faba* and *Pisum sativa*.

Treatment	Plant	Mitotic index
Control	<i>V. faba</i>	6.4±0.42
+1 ppm chlorsulfuron	<i>V. faba</i>	0.9±0.15
Control	<i>P. sativa</i>	7.2±0.5
+10 ppb BSM	<i>P. sativa</i>	1.3±0.2

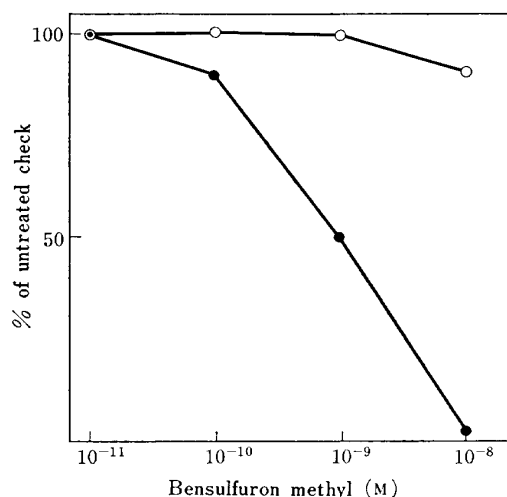


Fig. 5 Effect of bensulfuron methyl on cell division and elongation.

● cell division, ○ cell elongation.
(M. Tsuchizawa, et al.²⁰⁾).

処理の分裂指数は、対照無処理に比較して顕著 (80% 以上) に減少したが、分裂期 (前期～終期) の分布パターンには変化がみられなかった。また、土沢ら²⁰⁾ は単細胞のミカヅキモ (*Closterium acerosum*) を実験材料として BSM を処理したとき、 1×10^{-9} M の濃度で細胞分裂を 50% 阻害したが、細胞伸長には影響を与えなかったことを報告している (Fig. 5)。

Rost¹⁵⁾ はエンドウの根細胞を用いて細胞分裂について詳細に調べ、chlorsulfuron が細胞分裂周期における G₂ 期から M 期への進行を妨げること、そして、二次的に G₁ 期から S 期 (DNA 合成) への移行を抑えることを報告している。

以上の結果から、スルホニルウレア除草剤の植物における生育停止作用は、細胞分裂阻害によって引き起こされることが確かめられた。

細胞分裂阻害要因の検索

細胞分裂に関与する生理生化学的プロセスには、

DNA、タンパク質、RNA などの生合成および光合成・呼吸などが考えられる。Ray^{12,13)} や DeVillers ら⁴⁾ あるいは他の研究者らは、これらに対する chlorsulfuron の影響について調べたが、細胞分裂阻害と生化学的プロセスとの間で整合性のある関係を明らかにすることができなかった。

1. DNA 生合成の阻害

(1) トウモロコシ根細胞の DNA における ³H-チミジンの取りこみに与える chlorsulfuron の影響を調べた結果、chlorsulfuron は ³H-チミジンの取りこみを強く阻害するが、分離した細胞核に直接処理したときには、DNA 合成に影響が認められなかった。

(2) *In vitro* で、DNA ポリメラーゼ活性に対し chlorsulfuron の阻害作用がなく、チミジンキナーゼの活性にも影響がみられなかった。

(3) ヌクレオシド前駆体に対し ³H-チミジン取りこみ阻害を生じなかった。

以上の事実は本剤が DNA あるいはヌクレオシドの生合成に直接的な影響がないことを示している。

2. タンパク質、RNA の生合成

Chlorsulfuron が細胞分裂を 80~90% 阻害する条件 (2.8 μM chlorsulfuron, 4 hr) で、タンパク質合成への影響はなかったが、RNA 合成に対しては 28% 程度の減少がみられたにすぎなかった。

3. 光合成・呼吸

スルホニルウレアの構造中にあるウレア部分とトリアジン環に注目して、光合成の阻害を考える研究者が多かったが、分離されたクロロプラストからの O₂ の発生と ¹⁴CO₂ 固定および蛍光分析などの方法で検討した結果、いずれも影響が認められなかった。

第一次作用点の発見と展開

1. バクテリアにおける作用点の発見

La Rossa と Schloss⁶⁾ はバクテリアがスルホニルウレアの作用点を検索するのに、好適な実験材料となるのではないかと考え、数種のバクテリアについて sulfometuron methyl (非選択性スルホニルウレア、以下 SMM) に対する感受性を調べた。SMM は最少培地では *Citrobacter freundii* と *Acinetobacter* sp. の生育を妨げたが、野生型 *Salmonella typhimurium* の SMM による生育抑制はバリン (Val) の存在下においてのみ認められた (Table 6)。この Val 存在下における阻害はイソロイシン (Ile) によって回復するが、他の 18 種の L-アミノ酸では回復しない。このことは SMM が分岐鎖アミノ酸の生合成のある段階を阻害していることを示唆するものであ

る。また、SMM と Val の処理によって guanosine 5'-diphosphate 3'-diphosphate (ppGpp) と guanosine 5'-triphosphate 3'-diphosphate (pppGpp) が蓄積するが、この蓄積は SMM の生育阻害において最初に生起する現象であると推測される。

relA 変異株はアミノ酸生合成オペロンの機能が一部欠損しているので、relA 株における酵素は最少培地と Val 含有培地では低い感受性を示す。野生型 *S. typhimurium* と対照的に、SMM の存在で TA2439 変異株の阻害は Ile, メチオニン, パントテン酸によって回復するが、この栄養要求性は ilvG 変異株の表現型と似ている。このような結果は SMM が ilvG 遺伝子の生成する ALS

イソ酵素Ⅱを阻害することを示唆する。

野生型 *S. typhimurium* LT2 の抽出液の ALS 活性は、1 mM の SMM で完全に抑制されるが、*S. typhimurium* のイソ酵素Ⅱ (*E. coli* HB 101/pDU 9) について 0~1 μM の SMM 処理による5時間までの影響を調べ、Fig. 6 のような二相性の曲線が得られた。また、ALS を 50% 抑制する SMM の濃度は、はじめの定常状態で $660 \pm 60 \text{ nM}$ 、終りのそれでは $65 \pm 25 \text{ nM}$ であった。これらのことは、SMM の ALS イソ酵素Ⅱの阻害が、ゆっくり

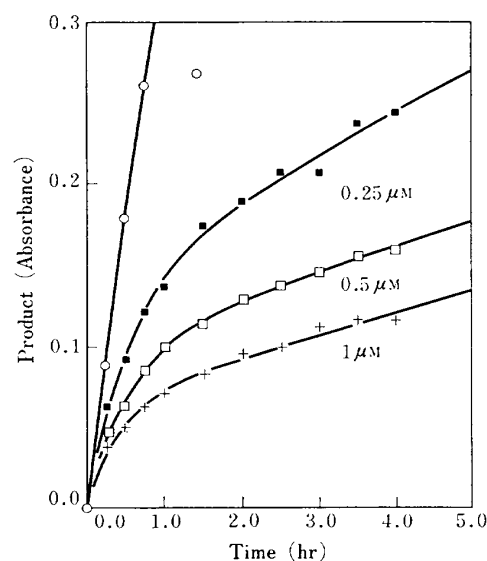


Fig. 6 Assay time courses for *S. typhimurium* acetolactate synthase isozyme II (*E. coli* HB 101/pDU9) in the absence (○) and presence of 1(+), 0.5(□), or 0.25 (■) μM sulfometuron methyl.

The enzyme concentration in these assays was 0.6 nM (R. A. La Rossa & J. V. Schloss⁶⁾).

Table 6 Reversal and potentiation of sulfometuron methyl growth inhibition (R. A. La Rossa & J. V. Schloss⁶⁾).

Medium addition (mg 1 ml)	Inhibition zone ^{a)} (mm diameter)	
	LT2 (rel A ⁺)	TA2439 (rel A ²)
None	<6	31
Casamino acids (0.05)	<6	<6
Isoleucine (0.083)	<6	<6
Methionine (0.05)	<6	<6
Pantothenate (0.022)	<6	9
Valine (0.083)	32	44
Valine (0.083) and isoleucine (0.083)	<6	<6

^{a)} Caused by 40 μg of sulfometuron methyl.

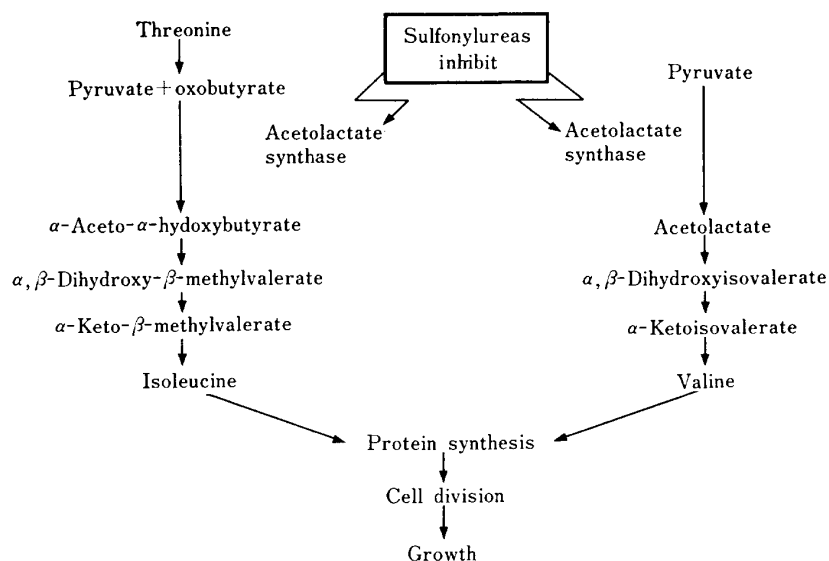


Fig. 7 Biosynthetic pathway for valine and isoleucine.

りではあるが堅い結合をしていることを示している。

ALS は Fig. 7 に示すようにバクテリア、菌類、高等植物の分岐鎖アミノ酸生合成経路における key enzyme であるが、この酵素によって触媒される反応は、FAD、チアミンピロリン酸、 Mg^{2+} を必要とする。そして、ALS は (1) 2 分子のピルベートを縮合して α -アセト乳酸を、(2) 1 分子のピルベートと α -ケト酪酸を縮合して α -アセト- α -ヒドロキシ酪酸を生成し、バリンとイソロイシンに導く。

このように、野生型 *S. typhimurium* およびその突然変異株を用いた実験結果は、スルホニルウレア除草剤の第一次作用点が、ALS 阻害であることを強く示唆するものであった。

2. 高等植物における作用点の解明

La Rossa らのバクテリアを用いた先駆的な研究によって、スルホニルウレア除草剤の生化学経路における作用点が見いだされた。この研究の成果は、Ray と Chaleff らの高等植物における生化学・遺伝学的研究へと展開していった。このような多面的な研究によって、スルホニルウレアの第一次作用点は、植物の細胞分裂に關与する必須アミノ酸、Val と Ile の生合成経路におけるアセトラクテート合成酵素 (ALS) の活性阻害であることがほぼ決定的となった。

ここでは、Ray¹⁴⁾ によってなされた実験を中心において、chlorsulfuron の第一次作用点解明の成果について記述する。

(1) エンドウ切断根を無菌培養し chlorsulfuron による根伸長の阻害を調べた。本剤は 1 ppb の濃度で根の伸長を明らかに抑制し、30 ppb では対照無処理の根伸長の 80% 以上を阻害した。この培地にカゼイン加水分解物を加えると、阻害の回復が認められた (Fig. 8)。

(2) カゼイン加水分解物の保護作用に關与する L-アミノ酸を探索するために、20 種の L-アミノ酸について前記の根部培養を行なうと、分岐鎖アミノ酸の中で Val-Ile の組合せが、本剤の伸長阻害作用を顕著に軽減することを確かめた (Table 7)。また、種々の濃度の chlorsulfuron にそれぞれ 100 μ M の Val と Ile を加えたとき、280 nM の chlorsulfuron の存在下でも根伸長の阻害を防いだ (Fig. 9)。

(3) 本剤の作用点をより明確にするために、24 nM の chlorsulfuron を含む培地に Val-Ile の生合成経路における初期および終期段階の中間体、ピルビン酸とトレオニン、 α -ケトイソ吉草酸と α -ケト- β -メチル吉草酸を加え、根部伸長阻害の軽減作用について調べた。その結果、前者は阻害の軽減作用がなかったが、後者は軽減作

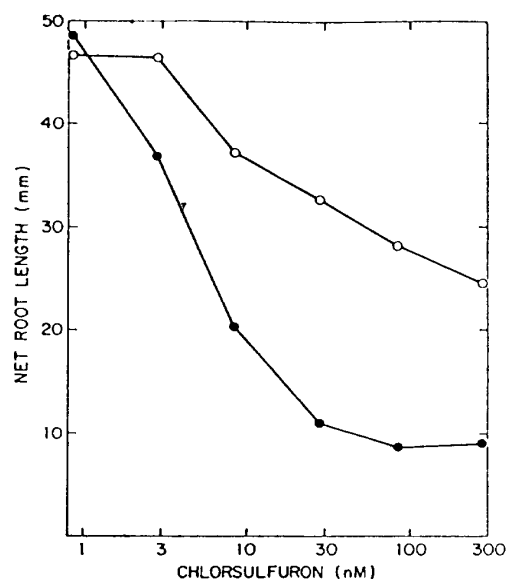


Fig. 8 The effect of casein hydrolysate on the growth of pea roots in the presence of various concentrations of chlorsulfuron.

Each point is the average net length of 10 roots. Control without casein hydrolysate supplement (●): with 0.1% w/v casein hydrolysate supplement (○) (T.B. Ray¹⁴⁾).

Table 7 Effect of various combinations of Val, Leu, Ile, and Ala on the growth of excised pea roots (T. B. Ray¹⁴⁾).

Supplement	Avg. net root length (mm)	
	Control	28 nM chlorsulfuron
No addition	52.8±1.1	10.3±0.3
Leu, Ile, Ala, Val	48.8±1.8	50.2±1.0
Leu, Ala, Val	49.2±1.6	29.3±0.5
Leu, Ile, Ala	44.1±1.2	11.1±0.5
Leu, Ile, Val	42.9±1.0	47.4±0.8
Ile, Ala, Val	45.0±1.1	34.1±1.2
Leu, Ile	24.7±2.3	11.0±0.5
Leu, Val	50.9±1.0	18.8±0.5
Leu, Ala	50.9±1.0	10.7±0.3
Ile, Val	44.8±0.8	42.0±1.2
Ile, Ala	50.9±0.9	10.7±0.4
Val, Ala	44.6±1.1	20.2±1.3
Leu	26.1±2.4	11.9±0.5
Ala	54.1±1.5	10.4±0.5
Ile	34.8±0.8	10.1±0.3
Val	47.6±1.1	20.9±0.5

The concentration of each amino acid was 100 μ M. The values are the average net lengths of 10 roots $\pm$ SE.

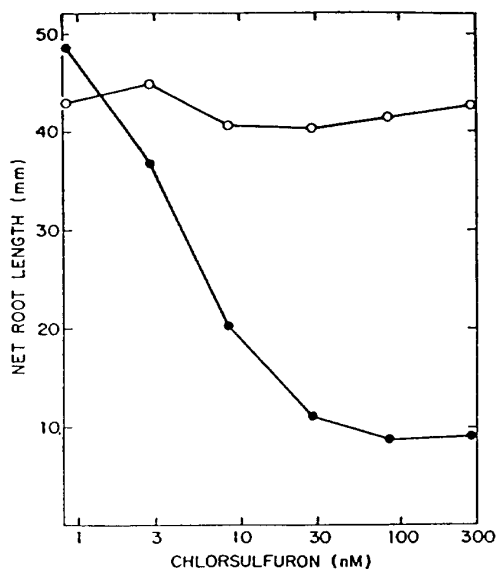


Fig. 9 The effect of 100 μM each of Val and Ile on the growth of pea roots in the presence of various concentrations of chlorsulfuron.

Each point is the average net length of 10 roots. Control without amino acid supplement (●): with 100 μM valine and isoleucine (○) (T.B. Ray¹⁴).

Table 8 Effect of various intermediates of the Val-Ile pathway on the growth of excised pea roots in the presence of 28 nM chlorsulfuron (T. B. Ray¹⁴).

Supplement	Concn. (mM)	Avg. net root length (mm)	
		Control	28 nM chlorsulfuron
No additions		49.6 $\pm$ 0.8	5.8 $\pm$ 0.4
Pyruvate+threonine	0.1	51.0 $\pm$ 1.3	6.5 $\pm$ 0.5
α -Ketoisovalerate+ α -keto- β -methylvalerate	1	29.8 $\pm$ 1.0	20.6 $\pm$ 0.6
Valine+isoleucine	0.1	44.8 $\pm$ 1.4	41.6 $\pm$ 1.2

The values are the average net lengths of 10 roots $\pm$ SE.

用が認められた (Table 8).

以上の結果は SMM の *S. typhimurium* ALS 阻害と同様に、高等植物においても Val-Ile の生合成を触媒する ALS を阻害することを示している。

(4) そこで、ALS に対する chlorsulfuron の影響を確かめるために、エンドウから抽出した ALS 酵素液についてその阻害作用を調べた。その結果を Fig. 10 に示すが、本剤 24 nM と 72 nM はエンドウの ALS によるアセト乳酸の生成を顕著に抑えることがわかった。さらに、

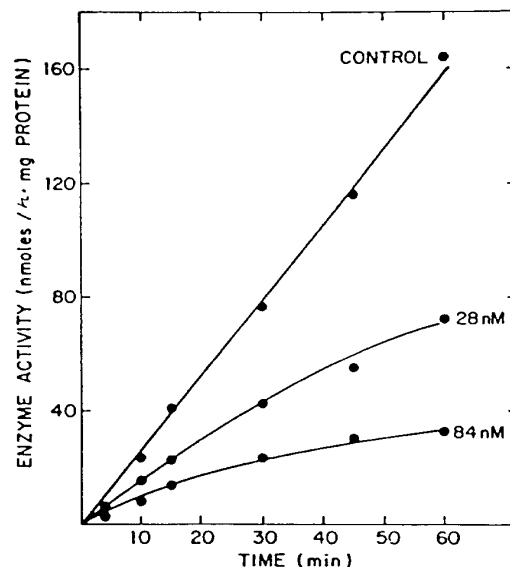


Fig. 10 Rate curves for acetolactate formation by acetolactate synthase in the presence of 28 nM and 84 nM chlorsulfuron (T.B. Ray¹⁴).

Table 9 Inhibition of ALS from crops and weeds by various sulfonylurea herbicides.

ALS sources	I ₅₀ (nM)			
	Chlor-sulfuron	MSM ^{a)}	BSM ^{a)}	CME ^{a)}
Pea	20.9	13.9	63.8	6.0
Wheat	21.8	30.1	13.6	5.1
Rice	24.0	29.9	16.3	5.8
Soybean	32.4	37.4	74.6	7.7
Morning-glory	24.3	54.2	97.9	6.8
Wild mustard	10.9	12.6	9.0	3.1
Barnyardgrass	24.3	21.8	15.1	3.6

^{a)} MSM: Metsulfuron methyl, BSM: Bensulfuron methyl, CME: Chlorimuron ethyl.

種々の植物から得られた ALS について chlorsulfuron による活性阻害を検定したが、ALS の 50% 阻害値は 11~98 nM の範囲で (Table 9)、耐性植物と感受性植物の ALS の間で差異を認めなかった。また、この ALS 阻害濃度と前述したエンドウ根部伸長阻害濃度とは同じ水準であった。

(5) Chaleff と Ray²⁾ は細胞培養で chlorsulfuron に対し 100 倍以上の抵抗性をもつ、単一半優性核遺伝子突然変異のタバコを作出した。これらの変異植物はスルホニルウレア除草剤による阻害にきわめて高い耐性 (I₅₀>8600) を示した。また、Chaleff と Mauvais³⁾ はタバコ

細胞培養によって得られた chlorsulfuron 抵抗性変異体と正常で感受性変異体の同型接合体は、前者が chlorsulfuron 抵抗性、後者が感受性であるが、異型接合体は両者の中間的な感受性を示すことを明らかにした。したがって、無傷植物での抵抗性と ALS 酵素レベルでのそれとは平行であった。

上記した高等植物における生化学的、遺伝学的証拠は、ALS がスルホニルウレア除草剤の第一次作用点であるという決定的な証明を与えた。

選択性機構

選択性をもたらす生理生化学的要因としてあげられるのは、薬剤の植物体内への吸収・浸透、体内移行、作用点での感受性、および代謝解毒の差異である。スルホニルウレアの場合、前の三者は耐性植物と感受性植物の間において、明らかな差異を認めることができなかった。したがって、本剤の選択性は耐性植物における代謝解毒作用によるのではないかと考えられた。

1. 代謝半減期

スルホニルウレアの生化学的選択性について最初に報告した Sweetser ら¹⁶⁾ は、chlorsulfuron に対する感受性がコムギ、オオムギ、野生エンバクなどのイネ科植物とテンサイ、野生カラシナおよびダイズなどの広葉植物の間で顕著に異なることを認めた。そこで、¹⁴C 標識 chlorsulfuron をこれらの植物に処理し、24 時間後の葉中の放射活性を調べると、耐性植物では処理された標識化合物のわずか 5% が検出されたのみで 95% は代謝されていたが、感受性植物では 80~97% が未代謝のまま検出された。

Table 10 Metabolism of sulfonylurea herbicides by isolated leaves of sensitive and tolerant plants (P. B. Sweetser, *et al.*^{17,18)}).

Plant	Metabolism half-life (hr)			
	Chlor-sulfuron	MSM	BSM	CME
Wheat	0.8-2.2	2.0-3.9	—	—
Corn	3.5-5.0	5.5-7.6	—	—
Soybean	>30	>30	—	1-3
Rice	—	—	2.6-4.2	—
Wild mustard	>30	>30	—	—
Cocklebur	>30	>30	—	>30
Umbrella plant	—	—	>50	—
Arrowhead	—	—	>50	—

Abbreviation of sulfonylurea herbicides is the same as shown in Table 9.

選択性スルホニルウレア除草剤の耐性作物と感受性の雑草における代謝半減期は Table 10 に示すように、chlorsulfuron と metsulfuron methyl (MSM) のコムギにおいてはそれぞれ 0.8~2.2 と 2.0~3.9 時間、BSM のイネでは 2.6~4.2 時間、chlorimuron ethyl (CME) のダイズでは 1~3 時間の範囲であったが、感受性畑作雑草の野生カラシナ、オナモミで 30 時間以上、水田雑草における BSM は 50 時間以上経過しても、代謝半減期に達しなかった。

このように、耐性植物と感受性植物の代謝半減期の間には大きな差異が認められた。

2. 代謝解毒機構

上記したようにスルホニルウレア除草剤は耐性作物によって速やかに代謝されるが、それぞれの化合物の耐性作物における代謝を図示すると Fig. 11 のようである。コムギにおける chlorsulfuron と MSM の代謝は、まずベンゼン環の 5-位にヒドロキシ置換を生じたのち、速やかに 5-グルコース抱合体を形成し無毒化する。Erbes⁵⁾はこの二段階の無毒化過程のうち、前のヒドロキシ置換にはオキシゲナーゼが、後者のグルコース抱合にはグルコシルトランスフェラーゼの関与を示唆した。一方、オオムギにおいてはスルホニルウレブリッジの -C(=O)-N- 結合をアミダーゼ分解することによって、不活性のスルホンアミドとアミノトリアジンを生成する。Brown と Ray¹⁾はダイズでの CME の代謝は、図の R₂ の位置の Cl をダイズ中に含まれるホモグルタチオンと結合することで不活性化することを、Takeda ら^{18,19)}はイネにおける BSM は R₃ 位置のメトキシ基が不安定な -OCH₂-OH 中間体を生じてから速やかにヒドロキシ基に変換する、いわゆる mixed function oxidase による酸化的 O-脱アルキル化の代謝による解毒化を示した。

3. 代謝物の除草活性と ALS 阻害との関係

Chlorsulfuron, MSM, BSM および CME のそれぞれ

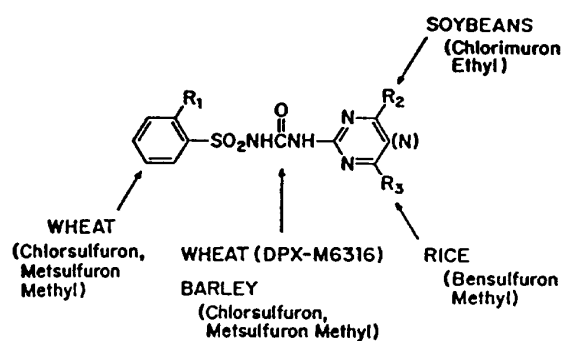


Fig. 11 Metabolism scheme of sulfonylurea herbicides.

Table 11 Plant response to metabolites of ben-sulfuron methyl (BSM).

Compound	Rate (g ai/ha)	Herbicidal activity					
		Rice	Eo	Cd	Mv	Sj	Bl
Metabolite I	4000	0	0	0	0	0	0
Metabolite II	4000	0	0	0	0	0	0
Metabolite III	4000	0	0	0	0	0	0
Metabolite IV	4000	0	0	0	0	0	0
BSM	25	1	3	10	10	8.5	10

Rating: 0–10 scale.

Rice: cv. Nihonbare, Eo: *Echinochloa oryzicola*,
Cd: *Cyperus difformis*, Mv: *Monochoria vaginalis*,
Sj: *Scirpus juncoides*, Bl: Annual broadleaves.

Table 12 I_{50} values (rice acetolactate synthase) for bensulfuron methyl and metabolite I from rice.

Compound	I_{50} (ppb)
BSM	6.9±0.7
Metabolite I	19,900±5100

の適用作物における代謝物は感受性雑草に対して不活性であるが、ここでは BSM の代謝物を例にして、両者の除草活性と ALS 阻害との間の相関関係について述べる。

Table 11 に示すように、イネの BSM 代謝物は感受性雑草に対し、4000 g ai/ha の高薬量でも除草活性をまったく現さなかったが、親化合物は 25 g ai/ha の微量処理で高い活性を示した。このように、代謝物と親化合物の間で除草活性に大きな差異が認められた。一方、代謝物 I のイネ ALS に対する 50% 阻害値 (BSM の濃度) は親化合物のその約 3000 倍であり (Table 12), 除草活性における代謝物 I と親化合物間の差と、両者間の ALS 阻害値の差がほぼ同水準であることがわかった。したがって、スルホニルウレアの除草活性と ALS 阻害の間には高い相関関係が認められることから、本剤の植物における作用点が ALS 阻害であること、および選択作用性は耐性作物における代謝解毒能によって生ずることが示唆される。

む す び

Levitt がスルホニルウレア除草剤を発明してから 12 年を経た現在、デュポン社は数種の製品を世に出し、この分野での先駆者としての地位を確立した。その上、今

までに述べたように、スルホニルウレアの多角的な研究によりその第一次作用点を突きとめ、さらに、選択性機構の多面的な解毒作用を明らかにした。スルホニルウレアの先例のない高い除草活性と動物・環境に対する安全性は、雑草防除技術に大きな進歩をもたらすと同時に、この分野での研究開発の一つの方向を指し示すものと思われる。

引用文献

- 1) H. M. Brown & T. B. Ray: Abstr. WSSA Meet., Vol. 26, p. 86, 1986
- 2) R. S. Chaleff & T. B. Ray: *Science* **223**, 1148 (1984)
- 3) R. S. Chaleff & C. J. Mauvais: *Science* **224**, 1443 (1984)
- 4) O. T. DeVillers, M. L. Vandenplas & H. M. Koch: Proc. Br. Crop Prot. Conf. Weeds, Vol. 1, p. 237, 1980
- 5) D. L. Erbes: *Pestic. Biochem. Physiol.* in press
- 6) R. A. La Rossa & J. V. Schloss: *J. Biol. Chem.* **259**, 8753 (1984)
- 7) G. Levitt, H. L. Ploeg, R. C. Weigel & D. J. Fitzgerald: *J. Agric. Food Chem.* **29**, 416 (1981)
- 8) G. Levitt: Proc. 5th Int. Congr. Pestic. Chem. (IUPAC), "Pesticide Chemistry, Human Welfare and the Environment," Vol. 1, Pergamon Press, Oxford, p. 243, 1982
- 9) S. Matsunaka, M. Nakata, H. Hioki, Y. Noguchi & O. Yoshitake: Proc. Br. Crop Prot. Conf. Weeds, Vol. 1, p. 139, 1985
- 10) H. L. Palm, J. D. Riggelman & D. A. Allison: Proc. Br. Crop Prot. Conf. Weeds, Vol. 1, p. 1, 1980
- 11) T. B. Ray: Proc. Br. Crop Prot. Conf. Weeds, Vol. 1, p. 15, 1980
- 12) T. B. Ray: *Pestic. Biochem. Physiol.* **17**, 10 (1982)
- 13) T. B. Ray: *Pestic. Biochem. Physiol.* **18**, 262 (1982)
- 14) T. B. Ray: *Plant Physiol.* **75**, 827 (1984)
- 15) T. L. Rost: *J. Plant Growth Reg.* **3**, 51 (1984)
- 16) P. B. Sweetser, G. S. Schow & J. W. Hutchison: *Pestic. Biochem. Physiol.* **17**, 18 (1982)
- 17) P. B. Sweetser: Proc. Br. Crop Prot. Conf. Weeds, Vol. 3, p. 1147, 1985
- 18) S. Takeda, P. B. Sweetser, R. C. Ackerson & T. Yuyama: Proc. 11th APWSS Conf., p. 156, 1985
- 19) S. Takeda, D. L. Erbes, P. B. Sweetser, J. V. Hay & T. Yuyama: *Weed Res. Jpn.* **31** (2), 157 (1986)
- 20) 土沢 誠, 湯山 猛, 横山昌雄: 雑草研究 **32** (別号), 179 (1987)