

## 新規除草剤 AAA-0965 のカロテノイド生合成系への影響

鈴木 崇哉 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 松本 宏 (筑波大学 生命環境系)

## 背景と目的

除草剤は作物生産性向上、または耕地等の管理において、雑草など不要な植物を枯らすことを目的として全世界で使われている。しかし同じ除草剤を使用し続けるとやがてその薬剤が効かない抵抗性雑草が出現することがある。さらに除草剤には全ての植物を枯らす非選択性のものである植物種には影響が少なくその他の植物種を枯らす選択性のあるものがある。したがって抵抗性雑草や除草剤の選択性等の面から、新規な除草剤を開発することが求められている。

除草剤 AAA-0965 は新規の水稲用薬剤であり特に広葉雑草やカヤツリグサ科雑草を防除に有効である。本剤は感受性雑草に白化症状を引き起こし、その症状からカロテノイド生合成系を阻害する剤と考えられているがその作用機構は解明されていない。既知のカロテノイド生合成系阻害剤には主にフィトエンデサチュラーゼ(PDS)と 4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ(4-HPPD)の 2 つを阻害するものが知られている。先行研究で本剤を処理した葉の症状は PDS 阻害剤よりも 4-HPPD 阻害剤に近いことが報告されているが、作用点も不明である。

本研究では AAA-0965 のカロテノイド生合成系への影響を調べるために、感受性であるレタスとウキクサを用いて生物試験を行い、さらにウキクサを用いて標的となる可能性のある酵素の産物を用いた添加回復試験を行うことにより本剤の標的に迫ることを目的とした。

## 材料

供試植物:

レタス(*Lactuca sativa* L. cv. Great Lakes366)

アオウキクサ(*Lemna paucicostata* Hegelm. cv. 6746)

供試薬剤:

AAA-0965

ベンゾフェナップ

(2-[4-(2,4-Dichloro-*m*-toluoyl)-1,3-dimethyl-1H-pyrazole-5-yloxy]-4'-methylacetophenone)

## 実験方法

## ・生物試験

発芽させたレタス種子を、培養管に入れた AAA-0965 を含む 0.5%寒天培地上に播種し、グロースチャンバー(明/暗:12h/12h, 25 °C/20°C)で生育させ、処理 4 日後の根長と新鮮重を測定した。また茎葉部を DMSO に 48 時間浸漬し分光光度計でカロテノイドとクロロフィル含量を測定した。

アオウキクサ 8 枚(2 枚×4 個体)を、シャーレ(直径 5cm 程度)に入れた AAA-0965 またはベンゾフェナップを含む SIS 培地に

浮かべ、グロースチャンバー(24h 連続明期, 25°C)で生育させ、処理 7 日後の葉状体数と新鮮重を測定した。また植物体を DMSO に 48 時間浸漬し分光光度計でカロテノイドとクロロフィル含量を測定した。

## ・アオウキクサを用いた添加回復試験

生物試験と同様にアオウキクサの葉状体が 2 枚のもの 4 個体を、シャーレ(直径 5cm 程度)に入れた AAA-0965 またはベンゾフェナップを含む SIS 培地に浮かべ、さらにそこに 4-HPPA とホモゲンチジン酸を加えた。その後グロースチャンバー(24h 連続明期, 25°C)で生育させ、処理 7 日後の葉状体数と新鮮重を測定した。また植物体を DMSO に 48 時間浸漬し分光光度計でカロテノイドとクロロフィル含量を測定した。

## 結果・考察

生物試験において、AAA-0965 はレタスでは 20  $\mu$ M 以上でカロテノイドとクロロフィル含量、40  $\mu$ M 以上で根長と新鮮重も減少させた。可視症状においては展開子葉が濃度依存的に白化症状を引き起こしていた。アオウキクサでは 1  $\mu$ M 以上で新鮮重と葉状体数の現象が見られ、5  $\mu$ M 以上でクロロフィルとカロテノイド含有量の現象が見られた。可視症状においては 1~5  $\mu$ M 程度では新しく展開した葉状体の変形が見られ、それ以上の濃度では新しく展開した葉状体が白化症状を引き起こしていた。これらの可視症状から本薬剤はカロテノイド生合成系に影響を及ぼしていることが示唆される。

アオウキクサにおける添加回復試験では、まず供試薬剤として 4-HPPD 阻害剤であるベンゾフェナップを用いて行った。その結果、ベンゾフェナップのみを加えた時のアオウキクサの生育がコントロールに比べて 30%程度だったのに対し、4-HPPD によって産生されるホモゲンチジン酸 150  $\mu$ M を加えた時の生育が 60%程度に回復した。このことから AAA-0965 によって低下した生育がホモゲンチジン酸の添加によって回復した場合、AAA-0965 が 4-HPPD 阻害剤であること、また回復しなければ AAA-0965 が 4-HPPD 阻害剤でない可能性が示唆される。

## 今後の予定

- ・アオウキクサを用いた添加回復試験を AAA-0965 でも行う。
- ・植物体から PDS の前駆物質であるフィトエンを抽出、TLC や HPLC で分離してフォトダイオードアレイでの検出を行う。
- ・アミノ酸解析やプロテオーム解析を行い、PDS 阻害剤や 4-HPPD 阻害剤との比較を行う。