

## ヒノキの fenitrothion (Sumithion®) による

## 異常落葉現象のメカニズム III

—落葉および内生エチレン生成条件とパーオキシダーゼ活性—

田 畑 勝 洋<sup>(1)</sup>

Katsuhiro TABATA: Mechanism of the Abnormal Leaf Abscission Phenomenon in  
Japanese cypress, *Chamaecyparis obtusa* Sieb et Zucc.,  
Caused by fenitrothion (Sumithion®) III  
—Factors concerned with leaf abscission and endogenous  
ethylene synthesis, and peroxidase activation—

**要 旨:** 1975 年、大阪府や高知県下の松くい虫防除事業散布地においてヒノキの異常落葉現象が発見された。その原因はすでにスミチオンなどのジメチルチオ磷酸やジメチル磷酸型の有機磷化合物であることが明らかにされている。この異常落葉現象は著しい内生エチレンの放出を伴い、 $O_2$  飽和条件下やあるいは  $CO_2$  吸収剤の下で促進され、 $CO_2$ , Br,  $N_2$  の飽和条件およびエチレン吸収剤や真空下では抑制された。RNA や蛋白質の合成阻害剤であるアクチノマイシンDやシクロヘキシミドは、スミチオンによる異常落葉を抑制する効果があった。AOA や PG のエチレン生成中間代謝物である ACC 合成阻害剤はスミチオンによる異常落葉を抑制する効果は認められず、内生エチレンの放出も阻害しなかった。感受性ヒノキのパーオキシダーゼはスミチオンによって活性化され、新たな酵素バンドの誘導が生じたが、非感受性ヒノキのパーオキシダーゼはスミチオンによる活性化は認められず、むしろ一部の酵素バンドが阻害された。以上のことからスミチオンによるヒノキの異常落葉現象のメカニズムは次のようであると推論した。すなわち、感受性ヒノキではおそらくエチレン生成に関与すると考えられるパーオキシダーゼがスミチオンによって著しく活性化される。そして多量の内生エチレンの放出が助長され、その結果、異常な落葉が誘起される。しかし、非感受性ヒノキではこのパーオキシダーゼがスミチオンによって活性化されることがなく、むしろ阻害されるため、内生エチレンの生成も落葉も抑制される。

## はじめに

1974 年、大阪府および高知県下の松くい虫防除事業散布地やその近接地に植栽されていたヒノキがスミチオン剤 (バインテックス, スミチオン 40%+EDB 20%) の空中散布後に枯死するという異常現象が認められ、翌年その原因がスミチオンであることが判明した<sup>7,11,12,14</sup>)。それ以来現在にいたるまでこの異常落葉現象に関して数多くの知見が得られているがそのいくつかを列記すると次のとおりである。

1) スミチオンによるヒノキの薬害はすべてのヒノキに出現するものではなく、発現率はおよそ 10% 前後である<sup>12</sup>)。2) ヒノキ個体の中にはスミチオンに対して異なった感受性をもつものがある<sup>5,12</sup>)。3) 本薬害は見かけ上健全と思われる鱗片葉が個々または集団状に脱落し、同時に著しい内生エチレンの放出が伴っている<sup>11,12</sup>)。4) 感受性の異なるヒノキにおけるスミチオンの取り込み量や分解代謝能力には何ら差が認められない<sup>13</sup>)。5) この異常落葉現象はスミチオン特有のものではなく、化学構造上、類似の骨格

をもつほとんどの有機リン化合物、すなわちジメチル麟酸型やジメチルチオ麟酸型の化合物によって生ずる<sup>12)</sup>。6) 外気温の比較的高い4月～10月では落葉に要する日数はスミチオン処理後平均4日であったが、気温の低下する11月から翌年3月ではその日数は長くなり、最も気温の低い2月では平均22.5日を要し、実験的には15°C以下では落葉の発現が遅延する<sup>6)</sup>。8) この落葉現象は明暗によって左右されない<sup>6)</sup>。以上、これら一連の事実は、スミチオンによるヒノキの異常落葉現象が植物ホルモンの一種であるエチレンの落葉作用に極めて類似している<sup>2,10)</sup>ことを示唆するものである。

本報では、以上に述べてきたスミチオンによる異常落葉現象がどのようなメカニズムによるものかを、内生エチレン生成条件およびその生成機構に関連すると考えられるパーオキシダーゼ活性との関係から検討したものである。

## 材料および方法

### 1. 供試ヒノキ

本実験に供試したヒノキ個体は林業試験場笠間実験林内の16年生のヒノキから選出されたもので、スミチオン0.1%乳剤の切枝試験により、スミチオン処理3日後に顕著な落葉現象が認められた個体(感受性ヒノキとする)、および同処理によってまったく異常が認められなかった個体(非感受性ヒノキとする)とである。

### 2. 供試薬剤

スミチオン50%乳剤、アクチノマイシンD、シクロヘキシミド製剤を、実験の目的に応じて希釈して使用した。

### 3. 内生エチレンの生成条件と落葉との関係

スミチオン50ppm乳剤に数秒間浸漬処理した感受性および非感受性ヒノキ(生重約2g)を50mlのガラス容器内に入れ、容器内をBr、N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>で飽和、あるいは真空状態にし、完全に密閉した後、3日後に容器内のヒノキ個体の内生エチレン放出量と落葉の有無を調査した。

また、同様な方法でエチレン吸収剤のK<sub>2</sub>MnO<sub>4</sub>やCO<sub>2</sub>吸収剤のSodalimeの効果についても調査した。

### 4. アクチノマイシンDおよびシクロヘキシミドによる落葉抑制効果

感受性および非感受性ヒノキ(生重約5g)に1ppmおよび2ppmのアクチノマイシンD水溶液を10分間吸収させた後、スミチオン5ppmおよび50ppm乳剤を葉面散布し、散布2日および5日後における落葉を調査した。また、シクロヘキシミドの1～1,000ppm溶液を同じく10分間吸い上げさせ、同濃度のスミチオン乳剤を葉面散布し、落葉の有無を調査した。

### 5. 落葉および内生エチレン生成に対するACCおよびエチレン生成阻害剤の効果

エチレン生成阻害剤のAOA( $\alpha$ -aminoxy acetic acid)、PG(propyl gallate)の2mM水溶液、STS(Silverthiosulfate complex)の4mM水溶液およびACC(1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic acid)1mM水溶液を感受性および非感受性ヒノキ(生重約5g)に24時間吸い上げさせた後、スミチオン50ppm乳剤を葉面散布し、処理後5日目に落葉の有無を調査した。また、同様に処理した感受性、非感受性ヒノキ(生重約2g)を50mlのガラス容器内に入れて密閉し、3～5日後に内生エチレン放出量と落葉を調査した。

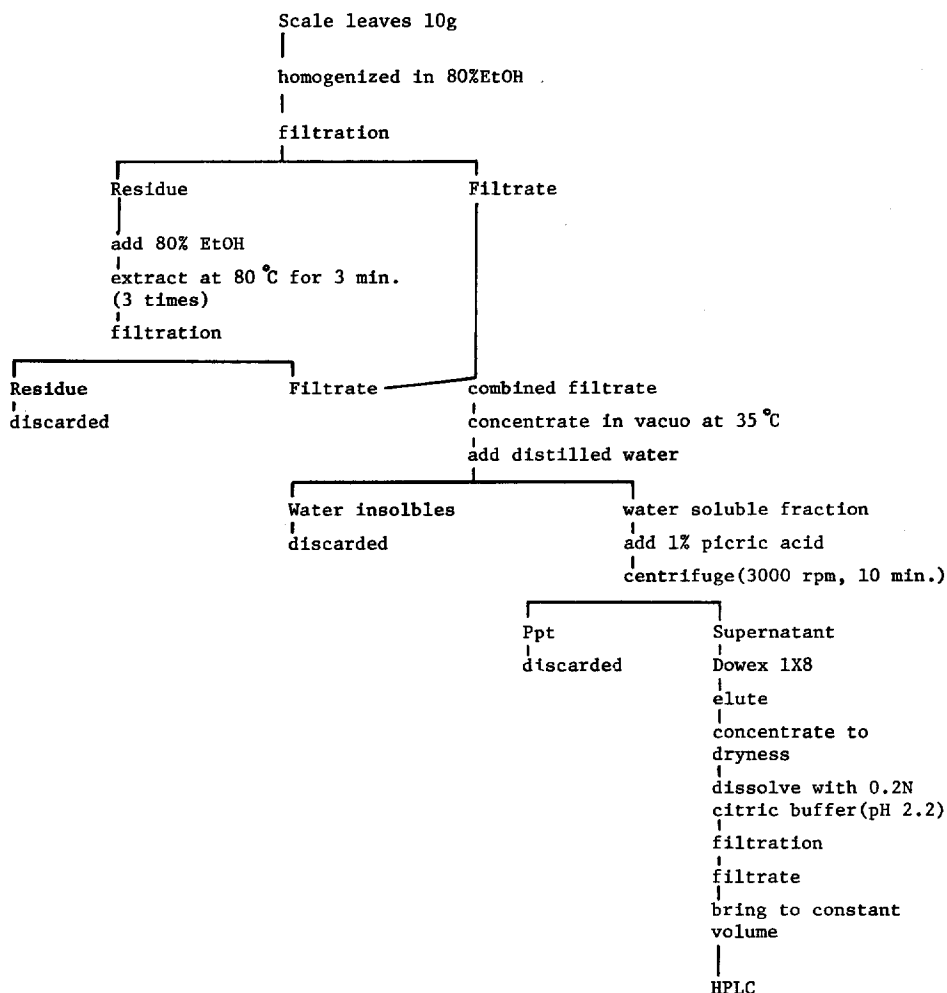


Fig. 1 ヒノキ葉中のアミノ酸分析  
Analysis of Amino acid in Hinoki scaleleaf

#### 6. アミノ酸含量と落葉との関係

スミチオン 50 ppm 乳剤を感受性および非感受性ヒノキ (生重約 50 g) に葉面処理し、水さして 6 日間室内に放置した。処理前、処理 2 日および 6 日後 (落葉開始直前) に、これらのヒノキ個体から約 10 g の鱗片葉を採集し、Fig. 1 に示した方法によって葉中のアミノ酸含量を測定した。アミノ酸分析は島津高速液体クロマトグラフ LC 2 型によった。分析カラムは ISC-09-S2504 で、検出器は島津蛍光検出器 (CRB-1B) である。また標準アミノ酸混合液は、アミノ酸自動分析用混合標準液 H 型 (和光純薬 K.K) のものを使用した。

#### 7. in vivo におけるパーオキシダーゼのスミチオンに対する反応

感受性および非感受性ヒノキにスミチオン 0.1% 乳剤を葉面散布し、水さして実験室内に放置した。スミチオン処理 1, 2, 3 および 5 日目 (落葉期前) に、各個体から鱗片葉 30 g を採集して液体窒素中

で細かく粉碎し、さらに 20% PVP および 0.1% triton X100 を含むリン酸バッファ液 200 ml (pH. 6.9) を加えて十分ホモジネートした後、14000 G で 2 時間遠心し、その上清を 0°C ± 2°C の低温室内で 50,000 カットのメンブレンフィルターによって 24 時間濃縮した。このようにして得られた酵素抽出液 10 μl を等電点電気泳動装置 (LKB 2117 Multiphor) にかき、常法によりパーオキシダーゼのアクリルアミドゲルゼイモグラムを得た。検出された酵素バンドは感受性ヒノキでは E, 非感受性ヒノキでは E' とし十極から一極に向かって番号をつけた。

8. 内生エチレンの分析

50 ml のガラス容器内に感受性および非感受性ヒノキ (生重約 2 g) を入れ、密閉し、一定時間後、ガスサンプリング用シリンジによって容器内の気相を 2 ml 採取し、FID ガスクロマトグラフによって内生エチレン放出量を分析定量した。内生エチレンのガスクロマトグラムおよび分析条件は Fig. 2 に示した。

結果および考察

1. 内生エチレンの生成条件と落葉との関係

スミチオンによるヒノキの内生エチレン生成条件と落葉との関係は Table 1 に示したとおりである。まず感受性ヒノキにおいては、スミチオンの処理のいかんにかかわらず O<sub>2</sub> 下では内生エチレンの放出量は多く、顕著な落葉が誘起された。一方、非感受性

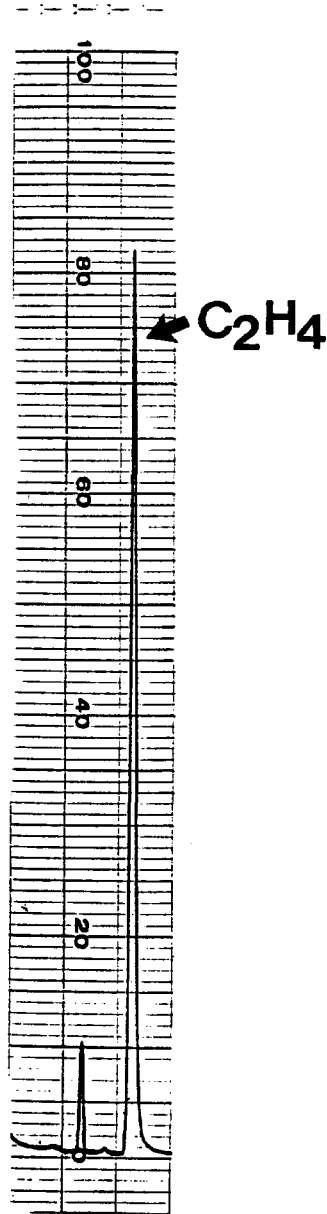


Fig. 2 感受性ヒノキの内生エチレンのガスクロマトグラムと内生エチレン分析条件

Gaschromatogram of endogenous ethylene in susceptible Hinoki and analytical condition of endogenous ethylene

- Gaschromatograph Shimazu GC-5A
- Column packing Active alumina 80/100 mesh
- Column Glass column 3 mmφ, 1 m
- Column Temp. 80°C
- Detector FID
- H<sub>2</sub> gas 55 ml/min.
- N<sub>2</sub> gas 65 ml/min.
- Air 0.6 l/min.

Table 1. スミチオンによる落葉および内生エチレン生成と環境因子との関係  
Influence of surrounding factors on the leaf abscission and endogenous ethylene synthesis in susceptible and non-susceptible Hinoki treated with sumithion.

環境因子 Surrounding factor	スミチオン処理5日後 5 days after treatment with sumithion			
	感受性ヒノキ Susceptible Hinoki		非感受性ヒノキ Non-susceptible Hinoki	
	落葉 Abscission	内生エチレン(ppm) Ethylene (ppm)	落葉 Abscission	内生エチレン(ppm) Ethylene (ppm)
Br	—	0.0	—	0.0
N <sub>2</sub>	—	1.1	—	0.0
K <sub>2</sub> MnO <sub>4</sub>	—	1.0		
CO <sub>2</sub>	—	1.6		
O <sub>2</sub>	+	16.6	—	9.4
Soda lime	+	13.5		
真空	—	0.0		
空気	+	4.4		
*O <sub>2</sub>	+	11.3	—	9.1

\* スミチオンを処理しなかったヒノキ  
\* Hinoki treated without sumithion

ヒノキでは O<sub>2</sub> 下において多量の内生エチレンの放出が認められた点においては感受性ヒノキと同様であったが、落葉は誘起されなかった。感受性ヒノキの場合、CO<sub>2</sub> および N<sub>2</sub> 下では内生エチレンの放出は抑制されており、落葉も認められなかった。また、Br および真空下では内生エチレンの放出が完全に抑制され、落葉の誘起も観察されなかった。したがってスミチオンによるヒノキの異常落葉現象は O<sub>2</sub> の存在下で促進され、CO<sub>2</sub>, Br, N<sub>2</sub> および真空下では抑制されることが明らかとなった。また、エチレン吸収剤の K<sub>2</sub>MnO<sub>4</sub> 下では発生した内生エチレンが K<sub>2</sub>MnO<sub>4</sub> によって吸収されるため、落葉は観察されなかった。逆に CO<sub>2</sub> 吸収剤の Sodalime 下では多量の内生エチレンの放出が認められ、著しい落葉が誘起された。それ故にこれまで述べた結果は、スミチオンによる内生エチレンの放出と落葉は植物ホルモンの一種であるエチレンの落葉作用<sup>2,15)</sup> によるものと極めてよく似た現象であり、同様のメカニズムによることを示唆している。

## 2. アクチノマイシンDおよびシクロヘキシミドによる落葉抑制効果

アクチノマイシンDおよびシクロヘキシミドの落葉抑制効果は Table 2 および Table 3 に示したとおりである。アクチノマイシンDやシクロヘキシミドは RNA や蛋白質の合成阻害剤であり、これらによってエチレン生成も阻害されることはすでによく知られていることである<sup>1)</sup>。本実験ではエチレンの阻害については調べていないが、これらの化合物の処理によって落葉が抑制されるものかどうかを検討した。その結果、アクチノマイシンDの前処理による落葉抑制効果はスミチオン 50 ppm 処理区では、認められなかったが、スミチオン 5 ppm 処理区では認められた。一方、シクロヘキシミドの前処理ではスミチオン 5 ppm および 50 ppm 処理区のいずれも落葉抑制効果を認めたが、別の薬害の併発も見られた。これらの結果から、アクチノマイシンDやシクロヘキシミドはスミチオンによる落葉の誘起を抑制することが判明した。このことは感受性ヒノキにおける RNA や蛋白質合成がスミチオンによって制御され、落葉が助

Table 2. スミチオンを処理した感受性および非感受性ヒノキの  
アクチノマイシンDによる落葉抑制効果

Effect of actinomycin D on the retardation of leaf abscission in  
susceptible and non-susceptible Hinoki treated with sumithion

系 統 Strain	スミチオン濃度 (ppm) Sumithion conc. (ppm)	落 葉 Leaf abscission					
		アクチノマイシン (ppm) Actinomycin D					
		1			2		
		処 理 後 日 数 Day after treatment			処 理 後 日 数 Day after treatment		
		0	2	5	0	2	5
感受性ヒノキ Susceptible Hinoki	50	—	—	+	+	±	±
	5	—	—	+	±	—	—
	0	—	—	—	—	—	—
非感受性ヒノキ Non-susceptible Hinoki	50	—	—	—	—	—	—
	0	—	—	—	—	—	—

Table 3. スミチオンを処理した感受性および非感受性ヒノキの  
シクロヘキシミドによる落葉抑制効果

Leaf abscission retardant effect of cycloheximide in susceptible  
and non-susceptible Hinoki treated with sumithion

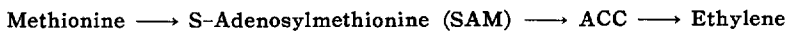
系 統 Strain	スミチオン濃度 (ppm) Sumithion conc. (ppm)	落 葉 Leaf abscission				
		シクロヘキシミド (ppm) Cycloheximide (ppm)				
		1000	100	10	1	0
感受性ヒノキ Susceptible Hinoki	50	*—	*—	*—	*±	+
	5	*—	*—	*—	*±	+
	0	*—	*—	*—	*—	—
非感受性ヒノキ Non-susceptible Hinoki	50	*—	*—	*—	*—	—
	0	*—	*—	*—	*—	—

\* 葉 害  
\* chemical injury

長されたり、抑制されたりすることを示唆するものであり、ABELES(1968)<sup>1)</sup>によるエチレンの RNA、蛋白質合成作用を裏付けるものと考えられる。

3. 落葉および内生エチレン生成に対する ACC およびエチレン生成阻害剤の効果

ADAMS and YANG(1977)<sup>4)</sup> はエチレン生成に関するメチオニン代謝経路を次のように推定した。



現在ではこのエチレン生成経路説が最も有力である<sup>6,16)</sup>。この推定経路で AOA ( $\alpha$ -aminoxyacetic acid) や STS (Silverthiosulfate complex) は S-adenosylmethionine から ACC への代謝、すなわ

Table 4. 感受性および非感受性ヒノキの落葉と内生エチレン放出に対する ACC およびエチレン生成阻害剤の効果

Effects of ACC and ethylene synthesis inhibitors to leaf abscission and endogenous ethylene evolution in susceptible and non-susceptible Hinoki treated vs untreated with sumithion

処 理 Treatment	感受性ヒノキ Susceptible Hinoki				非感受性ヒノキ Non-susceptible Hinoki			
	落 葉 Abscission		内生エチレン(ppm) Ethylene (ppm)		落 葉 Abscission		内生エチレン(ppm) Ethylene (ppm)	
	処理後日数 days after treatment		処 理 後 日 数 days after treatment		処理後日数 days after treatment		処 理 後 日 数 days after treatment	
	3	5	3	5	3	5	3	5
AOA+スミチオン	+	+	1.01	4.42	—	—	0.04	0.10
AOA	—	—	0.08	0.34	—	—	0.07	0.23
STS+スミチオン	—	—	2.27	7.83	—	—	1.05	0.93
STS	—	—	3.95	6.15	—	—	0.89	1.40
PG+スミチオン	+	+	1.15	4.36	—	—	0.02	0.14
PG	—	—	0.07	0.96	—	—	0.04	0.02
ACC+スミチオン	+	+	0.92	3.85	—	—	0.07	0.13
ACC	—	—	0.42	0.53	—	—	0.08	0.15
スミチオン	+	+	2.40	4.72	—	—	0.91	1.21
無処理	—	—	0.21	0.63	—	—	0.34	0.93

ち ACC 合成酵素を阻害する化合物であり、PG (Propyl gallate) や  $\text{COCl}_2$ , KCN などは ACC からのエチレン生成を阻害する化合物である。スミチオンによる内生エチレンの生成および落葉は、これらの阻害剤によってどういった影響を受けるものであろうか。その結果を Table 4 に示す。まず、AOA や PG を単独で取り込ませた感受性および非感受性ヒノキにおける内生エチレン放出量はごく微量であったが、これらの阻害剤を取り込ませた後、スミチオンを処理した場合においては、感受性ヒノキでは同個体のスミチオンの単独処理とほぼ同等量の内生エチレンの放出が認められ、落葉が誘起された。一方、非感受性ヒノキでは無処理やスミチオン単独処理の場合に比較して内生エチレンの放出量は極めて少なく、落葉も誘起されなかった。このようにスミチオンによる内生エチレンやそれに伴う落葉は、感受性ヒノキにおいては AOA や PG による阻害は認められず、したがってスミチオンによる内生エチレンの生成促進および落葉の誘起作用は極めて強いものと考えられる。しかしながら、非感受性ヒノキでは AOA や PG によって内生エチレン生成が明らかに抑制され、落葉の誘起も認められなかったことは同個体ではスミチオンによる内生エチレンの生成促進および落葉の誘導のいずれの作用も弱いと判断される。次に STS 処理における感受性および非感受性ヒノキの内生エチレンの放出と落葉は、感受性ヒノキでは STS の単独処理によっても多量の内生エチレンの放出がみられ、その放出量は明らかに同個体におけるスミチオンの単独処理の場合よりはるかに多かった。また、非感受性ヒノキの場合でも STS 単独処理個体から発生する内生エチレン量は同個体のスミチオンの単独処理とほぼ同等量であった。一方、STS を取り込

ませた後にスミチオンを処理した感受性ヒノキでは、内生エチレンの放出量は、処理 5 日後に著しく増大した。これに反し、非感受性ヒノキではスミチオンの処理のいかんにかかわらず内生エチレンの放出量は大きく、むしろ処理 5 日後では STS の取り込み後のスミチオン処理の内生エチレン放出量は減少している。このように STS の単独、あるいは STS 取り込み後のスミチオン処理は、莫大な量の内生エチレンが生成される。しかし、Table 4 からも明らかなように落葉はまったく誘起されておらず、このことがどのような作用によるものかは興味深いところである。

エチレンの前駆物質の ACC による内生エチレンの放出量は、感受性および非感受性ヒノキのいずれの場合もさきの AOA や PG の単独処理と同じく少なかったが、ACC の取り込み後にスミチオンを処理した感受性ヒノキでは内生エチレン放出量は同個体のスミチオン単独処理の場合と同レベルとなり、顕著な落葉が観察された。このことは、スミチオンにより内生エチレン生成が促進される時に組織中で ACC の生成が助長され、ACC 含量が増加したことを示唆するものであるが、前述した ACC 合成阻害剤の AOA や PG を取り込ませた後にスミチオンを処理した場合でも感受性ヒノキにおいては多量の内生エチレンの放出を伴う落葉が認められており、その原因がどのようなことによるものかははっきりしない。しかし、少なくとも次のような原因は考えられる。まず、取り込ませた AOA や PG は組織中で ACC 合成阻害作用が起り得るだけの作用量に到達していなかったか、あるいは十分な作用量であっても、これらの化合物による ACC 合成阻害作用がスミチオンあるいはその分解代謝物によって抑制されたかである。次には SAM から生成した ACC はフリーの型の他にアミノ基にマロン酸が結合した N-マロニル ACC (MACC)<sup>6)</sup>として存在するので、この結合型の MACC がスミチオンやその分解代謝物によって、ある酵素系が活性化され、フリーの ACC に分解されたか、またはスミチオンによる内生エチレン生成経路は ACC を中間体としない別の経路がヒノキに存在するかである。それにしてもヒノキにおける STS の結果は、以上に述べた原因とはまた別の観点からその作用性を検討すべきものと思われる。いずれにしてもこれらの問題は今後十分に検討しなければならない。

#### 4. アミノ酸含量と落葉との関係

*in vivo* において、DL-メチオニンを取り込ませた感受性ヒノキでは多量の内生エチレンの放出が認められ、顕著な落葉が誘起されている<sup>12)</sup>。メチオニンがエチレンの前駆物質<sup>8,9)</sup>であることはヒノキにおいても同様であり、メチオニンを基質としたエチレン生合成経路が存在することが明らかにされた。それ故に、メチオニンの感受性および非感受性ヒノキ葉中における量的な差が内生エチレン生成量の多少としてあらわれるものと考えられる。しかし、Table 5 に示した感受性および非感受性ヒノキ葉中のアミノ酸は量的にも質的にも差は認められず、とくにメチオニンはまったく検出されないかあっても痕跡程度であった。また、スミチオンを処理した場合においてもメチオニンは検出されなかった。しかし、全アミノ酸含量はスミチオンの処理前に比べて処理後では感受性、非感受性両個体とも増加しており、とくに感受性ヒノキではその傾向が強くあらわれた。メチオニンの供給はメチオニンからエチレンの生成経路において SAM が分解して ACC が生成されるさいに、MTA (5'-メチルチオアデノシン) が遊離し、これが加水分解されてアデニンが遊離し、MTR (5-メチルチオリポース) を生じ、MTR が再びメチオニンに戻るメチオニン生成の救済回路によるとされている<sup>9)</sup>。したがって、必ずしも葉中に含有されるメチオニンの多少によって内生エチレンの生成の増減が左右されるものではないのであろう。



Table 5. スミチオンの処理前および処理後における感受性および非感受性ヒノキのアミノ酸含量

Amino acid contents in susceptible and non-susceptible Hinoki before and after treatment with sumithion

アミノ酸 Amino acid	感受性ヒノキ Susceptible Hinoki			非感受性ヒノキ Non-susceptible Hinoki	
	処理前 before treatment	処理後日数 days after treatment		処理前 before treatment	処理後日数 days after treatment
		2	*6		
アスパラギン酸	20.8	20.4	27.4	20.4	22.2
スレオニン	15.6	11.7	17.6	12.8	17.2
セリン	4.4	6.9	6.3	6.4	5.6
グルタミン酸	38.8	36.9	77.7	41.1	38.4
グリシン	2.3	2.4	3.6	1.2	4.3
アラニン	3.9	6.3	10.1	3.7	10.5
バリン	1.7	2.1	3.1	2.0	4.5
メチオニン	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
イソロイシン	0.9	1.6	2.1	0.8	2.2
ロイシン	0.8	1.5	1.7	2.1	2.8
チロシン	1.5	1.2	1.4	0.9	1.9
フェニルアラニン	5.3	6.2	9.9	4.9	4.8
ヒスチジン	9.3	16.2	16.9	9.8	12.2
トリプトファン	5.9	9.1	8.4	8.2	6.3
合計	111.2	122.5	186.2	114.3	132.9

\* 落葉期直前  
\* Just before abscission

### 5. *in vivo* におけるパーオキシダーゼのスミチオンに対する反応

エチレンの前駆物質であるメチオナル<sup>10)</sup>や  $\alpha$ -ケト- $\gamma$ -メチルチオ酪酸(KMB)<sup>6)</sup>が、モノフェノールや  $Mn^{+2}$  の存在下にパーオキシダーゼなどの酸化酵素によって酸化的開裂をうけてエチレンが生成される。このメチオニンの *in vitro* における分解経路は、メチオニンの方が KMB よりすみやかにエチレンに取り込まれることから<sup>6)</sup>、さきにも述べたように現在では ACC を中間体としたエチレン生成経路が最も有力である。しかし、筆者はさきの ACC およびエチレン生成阻害剤の AOA, PG および STS の結果から、ヒノキには別のエチレン生合成経路が存在すると考え、上述したパーオキシダーゼが関与するエチレン生合成経路の再検討を試みた。Fig. 3 はスミチオンを処理した感受性および非感受性ヒノキのパーオキシダーゼザイモグラムを、落葉期直前まで経時的に示したものである。等電点電気泳動法によって検出された感受性ヒノキのパーオキシダーゼの酵素バンドは 19 本で、非感受性ヒノキのそれは 17 本であった。これらの酵素バンドのうち両個体間に共通するバンドは E<sub>4</sub> と E'<sub>3</sub>, E<sub>7</sub> と E'<sub>5</sub>, E<sub>12</sub> と E'<sub>9</sub>, E<sub>17</sub> と E'<sub>11</sub>, E<sub>18</sub> と E'<sub>12</sub> および E<sub>19</sub> と E'<sub>13</sub> の 6 本であり、それぞれ R<sub>f</sub> 値は 0.15, 0.24, 0.49, 0.71, 0.76 および 0.81 であった。スミチオンを処理した感受性ヒノキのパーオキシダーゼのザイモグラムは、処理 3 日後まではまったく変化は認められなかったが、落葉直前の 5 日後では酵素バンドのうち、E<sub>12</sub>, E<sub>18</sub> および E<sub>14</sub> に著しい活性の増加がみられ、さらに酵素バンド E<sub>6</sub> が新しく誘導された。一方、非感受性ヒノ

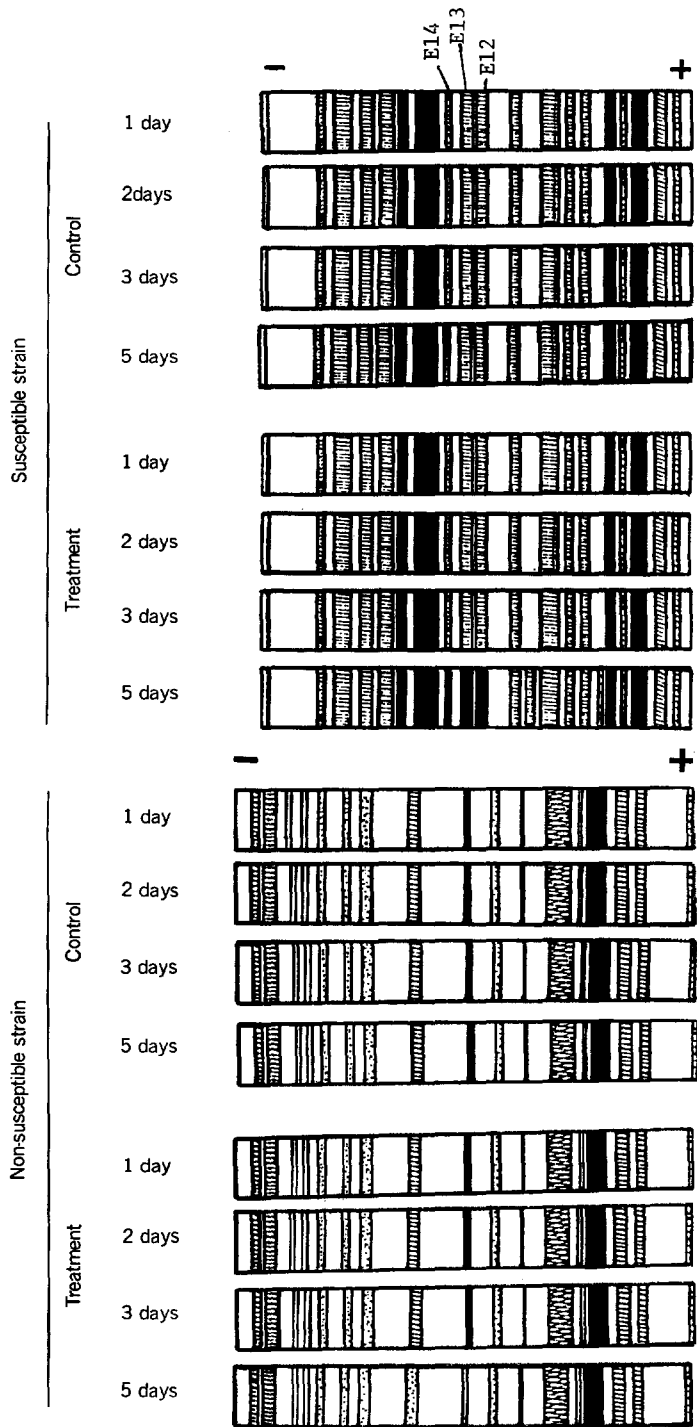


Fig. 3 スミチオン処理感受性および非感受性ヒノキにおけるパーオキシダーゼザイモグラム  
Peroxidase zymograms in susceptible and non-susceptible Hinoki treated with sumithion

キのパーオキシダーゼのザイモグラムでは、処理5日後に E'、および E'₁ の酵素バンドに阻害が認められた。すなわち、感受性ヒノキのパーオキシダーゼはスミチオンによって落葉直前に活性化され、さらに新たな酵素バンドの誘導が生ずるのに反し、非感受性ヒノキのパーオキシダーゼはスミチオンによって阻害される。したがって、メチオニンを基質としてエチレンが生成される生合成過程にパーオキシダーゼが関与しているとすれば、感受性ヒノキにおいてはパーオキシダーゼがスミチオンによって活性化され、その結果、多量の内生エチレンの放出がおり、異常な落葉が誘起されるが、非感受性ヒノキにおいてはパーオキシダーゼがスミチオンによって阻害され、エチレン生成がむしろ抑制されて落葉にはいたらなかったものと推論される。

## お わ り に

これまで述べてきた一連の結果を総括してみるとスミチオンによるヒノキの落葉と内生エチレン生成は、現象としてはいわゆる高等植物における落葉と内生エチレン生成との関係に極めて類似したものと考えられるが、内生エチレンの生成のメカニズムは、ACC合成阻害剤であるAOAやPGあるいはエチレン生成阻害剤のSTSの処理実験結果から、必ずしも同一のメカニズムとは考えられない点がいくつか指摘された。しかし、ヒノキにDL-メチオニンを取り込ませることによって内生エチレンが誘導されることはすでにわかっており、したがってヒノキにはメチオニンを前駆物質としたエチレン生合成経路が存在することは十分考えられる。本実験におけるパーオキシダーゼのスミチオンに対する反応では、感受性ヒノキのパーオキシダーゼはスミチオンによって活性化されており、これに反し、非感受性ヒノキのパーオキシダーゼはむしろ阻害されているのでヒノキにはACCを中間体としない別のエチレン生合成経路の存在も考えられる。しかしながら、それが、どのような経路であるのかまた、どこにパーオキシダーゼが関与しているのかは興味深い問題であるが今後の検討を待たねばならないところである。

## 謝 辞

本研究を遂行するにあたり、終始ご指導ご助言を賜った元林業試験場保護部林業薬剤科長、大久保良治氏に深謝するとともに、本文をご校閲下さった林業試験場保護部長、山口博昭博士、並びに同林業薬剤科長、柏 司博士に厚く御礼申し上げる。

## 引 用 文 献

- 1) ABLES, F. B. : Role of RNA and protein synthesis in abscission. *Plant Physiol.*, **43**, 1577~1586, (1968)
- 2) ABLES, F. B. : Ethylene in plant biology. Academic Press, New York, pp. 87~102, (1973)
- 3) ADAMS, D. O. and S. F. YANG : Methionine metabolism in apple tissue. *Plant Physiol.*, **60**, 392~396, (1977)
- 4) ADAMS, D. O. and S. F. YANG : Ethylene biosynthesis identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. *Proc. Nat. Acad. Sci, USA*, **76**, 170~174, (1979)
- 5) 細田隆治 : スミチオンによるヒノキの異常落葉現象に関する研究・林試研報, **320**, 13~51, (1982)
- 6) 兵藤 宏 : エチレン生合成の調節, *化学と生物*, **22**, 339~344, (1984)

- 7) KOBAYASHI, K.: Observation on the chemical injury of Hinoki, Japanese cypress (*Chamaecyparis obtusa*, Sieb. et Zucc.), by spraying of fenitrothion on the Toyohashi national forest. J. Jap. For. Soc., **63**, 60~63, (1981)
- 8) LIEBERMAN, M. and A. T. KUNISHI: An evaluation of 4-s-methyl-2-ketobutylic acid as an intermediate in the biosynthesis of ethylene. Plant Physiol., **47**, 576~580, (1971)
- 9) LIEBERMAN, M., et al.: Ethylene production from methionine. Biochem. J., **97**, 449~459, (1965)
- 10) MAPSON, L. W. and D. A. WARDALE: Biosynthesis of ethylene; enzymes involved in its formation from methional. Biochem. J., **107**, 433~442, (1968)
- 11) 田畑勝洋: フェニトロチオン (スミチオン) のヒノキに対する薬害。研究ジャーナル, **4**, 41~45, (1981)
- 12) 田畑勝洋・大久保良治: ヒノキの fenitrothion (Sumithion®) による異常落葉現象のメカニズム (I) 各種有機燐剤で処理したヒノキの落葉と内生エチレンの発生, 日林誌, **62**, 249~253, (1980)
- 13) 田畑勝洋・大久保良治: ヒノキの fenitrothion (Sumithion®) による異常落葉現象のメカニズム (II) <sup>14</sup>C-fenitrothion[*O,O*-dimethyl-*o*-(3-methyl-4-nitrophenyl)phosphorothioate] のヒノキ葉における代謝。日林誌, **62**, 350~353, (1980)
- 14) TABATA, K. and R. OKUBO: The abnormal Leaf abscission and its mechanism of Hinoki, *Chamaecyparis obtusa* S. et Z., caused by fenitrothion. Proc. XVII IUFRO World Cong., 603 (1981)
- 15) YANG, S. F.: The chemistry and biochemistry of plant hormones. Recent Adv. Phytochem., **7**, 131~164, (1973)
- 16) YEONG-BIAU YU and S. F. YANG: Biosynthesis of Wound ethylene. Plant Physiol., **66**, 281~285, (1980)

**Mechanism of the abnormal leaf abscission phenomenon in Japanese cypress caused by fenitrothion (Sumithion®) (III) Factors concerned with leaf abscission and endogenous ethylene synthesis, and peroxidase activation**

Katsuhiro TABATA<sup>(1)</sup>

Summary

In 1975 the abnormal leaf abscission phenomenon in Japanese cypress, *Chamaecyparis obtusa* Sieb et Zucc, was discovered in sumithion aerial spraying areas and their surroundings in Osaka and Kochi prefectures.

It was concluded that this serious damage was caused by sumithion and its related compounds, that is dimethylthiophosphate and dimethylphosphate type organophosphorus compounds. The abnormal leaf abscission was accompanied with remarkable endogenous ethylene evolution and accelerated by O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> absorbant and blocked with CO<sub>2</sub>, Br, N<sub>2</sub>, ethylene absorbant and the vacuo. Also the abnormal leaf abscission was retarded by actinomycin D and cycloheximide, inhibitors of RNA and protein synthesis. AOA and PG, inhibitors of ACC, ethylene intermediate metabolite, did not observe leaf abscission and endogenous ethylene evolution when sumithion was treated after these inhibitors were combined into susceptible Hinoki. Sumithion activated peroxidase and induced a new enzyme band on it in susceptible Hinoki. On the other hand, peroxidase in non-susceptible Hinoki was not activated and few enzyme bands on it were preferably inhibited by sumithion.

Base on the above findings, it was proposed that the mechanism of the abnormal leaf abscission and following endogenous ethylene evolution in Japanese cypress caused by sumithion was as follows: The peroxidase, which is concerned with ethylene synthesis, in susceptible Hinoki treated with sumithion is activated and then rapid increase of endogenous ethylene evolution is induced. As a result, the abnormal leaf abscission is accelerated however, the leaf abscission and endogenous ethylene evolution in non-susceptible one does not occur since the peroxidase is not activated and/or inhibited by sumithion.

---

Received July 4, 1984

(1) Forest Protection Division