

N-メチル-N-フェニル-N´-置換フェニル尿素の合成とその植物生理活性(微細藻類に対する作用も含む)

誌名	明治大学農学部研究報告 = Bulletin of the Faculty of Agriculture, Meiji University
ISSN	04656083
著者名	進藤, 登 早瀬, 郁夫
発行元	明治大学農学部
巻/号	75号
掲載ページ	p. 25-38
発行年月	1987年2月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



N-メチル-*N*-フェニル-*N'*-置換フェニル尿素の合成 とその植物生理活性 (微細藻類に対する作用も含む)

進藤 登・早瀬郁夫*

(昭和61年12月15日受理)

Studies on the syntheses of *N*-methyl-*N*-phenyl-*N'*-
Substitutedphenylureas and their activities
on the plants and algae.

Noboru SHINDO, Ikuo HAYASE

Synopsis

Twenty three compounds of *N*-methyl-*N*-phenyl-*N'*-substitutedphenylureas were synthesized and their biological activities were examined against the germination test, pre-emergence and post-emergence tests on rice plant, lettuce, radish and barnyardgrass, and also were examined against three species of microalgae. Hormonal activity of these chemicals was tested by laminajoint method.

The results of these studies showed that some activities to plants were appeared in these synthesized compounds but not so strong ones, and some compounds had the different activity between lettuce and radish.

The compounds, substituted with halogen at para position, showed hormonal activity by laminajoint test, and strong prohibiting activity at pre-emergence test to rice plant.

The compounds, substituted with ethoxy and halogen at para position of phenyl, were estimated that there were chemicals having strong prohibiting activity to the photosynthesis of *Anabaena* in microalgae.

1. 序 論

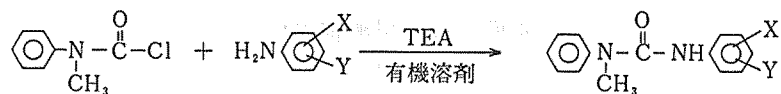
尿素系除草剤は主として Hill 反応阻害を作用機構とする非ホルモン型除草剤として知られ、そのほとんどが土壌処理剤として使用され幼少植物の根より吸収され、枯死させるものである。本研究はカルバミン酸塩化合物と置換アニリンを原料とし *N*-メチル-*N*-フェニル-*N'*-置換フェニル尿素系化合物を23種類合成し、化合物の植物生理活性を調べ、化学構造と生理活性との関連を研究したものである。とくに微細藻類に対する植物生理活性との関連も討論に加えた。

* 明治大学農学研究科終了現在岐阜県立第一女子高校

2. 合成実験

合成は常法によりカルバミン酸塩化物と置換アニリンより脱塩酸剤を用いて合成した。

(1) 反応式



(但し X, Y: H, Cl, I, Br, F, CH₃, OCH₃, OC₂H₅)

(2) 合成法

N-methyl-*N*-phenylcarbonylchloride と置換アニリンを有機溶媒（ベンゼン，トルエン，キシレン）中で TEA（トリエチルアミン）を脱塩酸剤とし加熱攪拌し反応させた。反応後，塩酸塩を除去し有機溶媒層を洗浄し，水を分離後，無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。ついで有機溶媒を留去し残渣をイソプロピルアルコールで再結晶させ精製した。

合成物の純度の確認には TLC, mp, IR, NMR によった。

反応温度は溶媒の沸点で6時間反応させて合成した。

(3) 合成物の分析

(i) 融点測定 (mp) YAZAWA MICRO MELTING POINT BY-1 型を用いた。

(ii) TLC は Kieselgel 60 F₂₅₄ を用い展開溶媒はベンゼン：酢酸エチル＝10：1の混合比のものを用いた。

(iii) 赤外吸収スペクトル (IR) は日立 260-30 を用い KBr 法により測定した。

(iv) 核磁気共鳴スペクトル (¹H-NMR) は日立 R-24B (60MHz) を用いた。内部標準物

質は T. M. S. を用い供試化合物は CCl₄ に溶かし，必要によっては DMSO-d₆ 又は CDCl₃ を用いた。合成化合物の1測定例として *N*-methyl-*N*-phenyl-*N'*-(3, 4-dimethylphenyl) urea の IR, ¹H-NMR の例を Fig. 1 に示した。

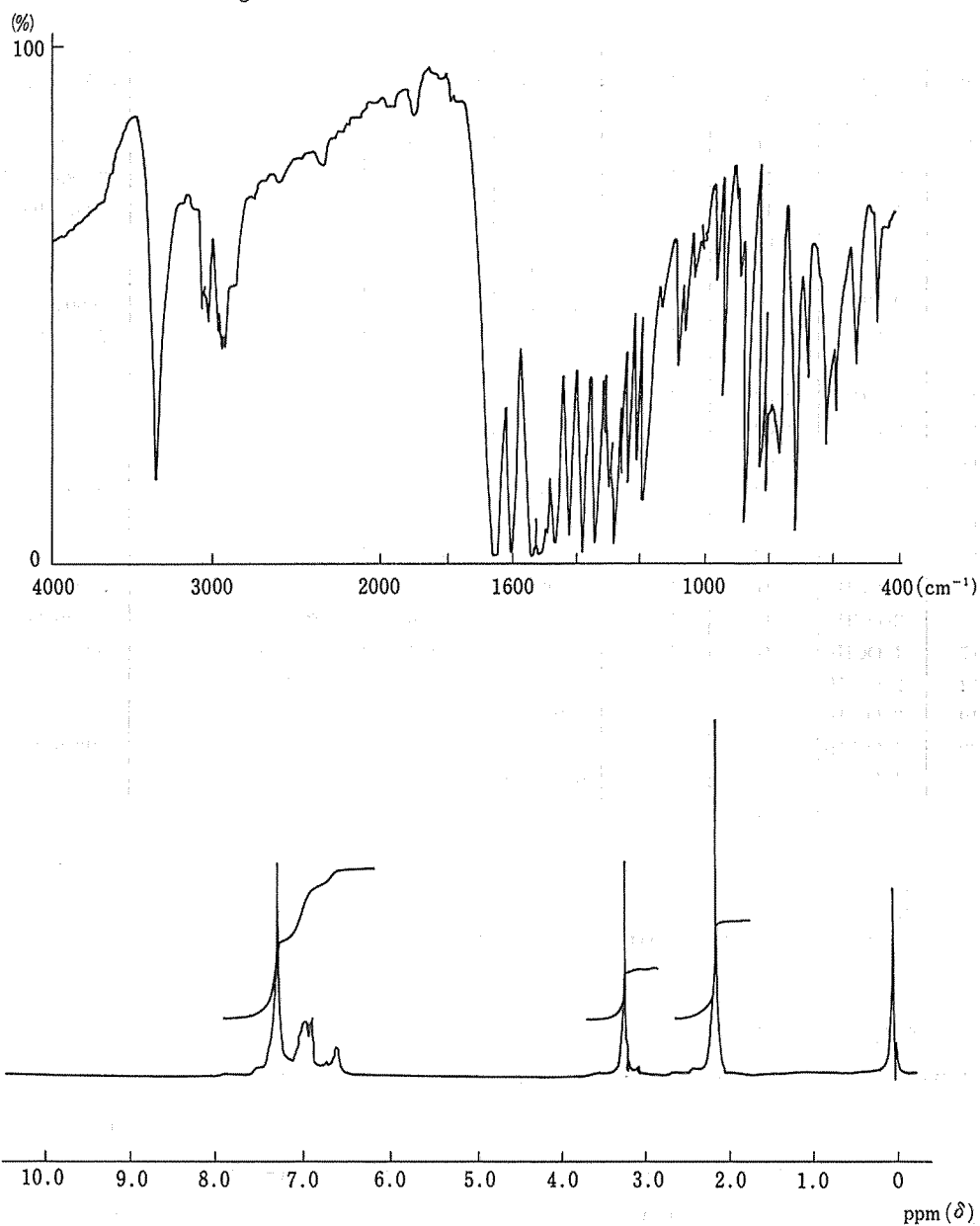
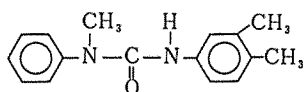
(4) 分析結果

23種の系列合成化合物の mp, 収率, C.A. Reg. No. をまとめて第1表に示した。この表より解るように既知化合物が多い。収率は再結晶のため一般に多くはなかった。

3. 生物試験

ジフェニル尿素系化合物は Hill 反応による除草作用が知られているが，本合成化合物群についての報告は多くない。またホルモン作用の有無の報告もほとんど知られていない。本論文では単子葉植物としてイネ，ヒユ，双子葉植物としてダイコン，レタスの4種について発芽発根試験，散布試験をおこない，またラミナジョイント試験によるホルモン作用の有無も調べた。

Fig.-1 IR and ¹H-NMR spectra of *N'*-(3,4-dimethylphenyl)-*N*-methyl-*N*-phenylure

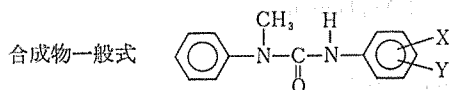


(1) 発芽発根試験

(i) レタスの場合

供試薬剤23種のエタノール溶液(100 ppm, 10 ppm, 1 ppm の3段階濃度)を調整し、ペトリ

Table-1 合成物一覽



No.	置換基		反応溶媒	融点(°C)	収率(%)	結晶, 及び外形	C.A. Reg. No.
	X	Y					
1	H	H	Be	97~99	37.2	白色粉状	612-01-1
2	3-Cl	H	Xy	96	31.3	透明立方結晶	77585-88-7
3	4-Cl	H	Xy	103	33.6	黄土色針状結晶	52072-95-4
4	2-Cl	4-Cl	Xy	94~96	46.4	白色粉状	
5	3-Cl	4-Cl	To	103~105	59.0	褐色粉状	
6	2-CH ₃	H	Xy	73~74	67.2	茶色立方結晶	86504-30-5
7	3-CH ₃	H	Xy	81	57.8	白色立方結晶	77585-85-4
8	4-CH ₃	H	Xy	120~121	73.8	黄土色針状結晶	77585-86-5
9	2-CH ₃	3-CH ₃	Xy	117	13.0	薄桃色菱形結晶	
10	2-CH ₃	4-CH ₃	To	85	47.2	黄土色粉状	
11	2-CH ₃	5-CH ₃	To	88	24.8	透明立方結晶	
12	2-CH ₃	6-CH ₃	To	95	48.2	透明立方結晶	39143-73-2
13	3-CH ₃	4-CH ₃	To	108	49.8	薄黄色粉状	
14	3-CH ₃	5-CH ₃	To	109~111	49.8	薄黄色立方結晶	
15	2-OCH ₃	H	Be	98	8.7	白色針状結晶	59849-57-9
16	3-OCH ₃	H	Be	95~97	39.6	白色針状結晶	59849-56-8
17	4-OCH ₃	H	Be	73	34.0	白色立方結晶	59849-55-7
18	2-OC ₂ H ₅	H	Be	118~119	73.6	白色立方結晶	
19	3-OC ₂ H ₅	H	Be	108	47.7	薄桃色針状結晶	
20	4-OC ₂ H ₅	H	Be	111~112	66.6	白色粉状	10219-42-8
21	4-I	H	To	107~109	46.6	白色針状結晶	
22	4-Br	H	To	125	62.1	薄青色粉状	77585-87-6
23	4-F	H	To	157	8.2	薄青色針状結晶	

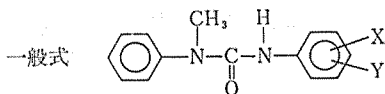
備考 a) 反応溶媒; Be: Benzene, To: Toluene, Xy: Xylene

b) 本表を引用する場合

CH₃ を Me, OCH₃ を OMe, OC₂H₅ を OEt と, 略記した。

皿(内径 8.5 cm) を用い常法により薬液を入れ, エタノールを蒸発させた。これに予めレタスの発芽促進させた種子の中より僅に発芽した種子をベトリ皿1枚に12粒ずつ入れ, 薬剤の入っていないコントロールと共に常法により Tween 80 の 100 ppm 水溶液を加えて 25°C, 72時間グロスチャンバー内に静置した。測定は72時間後, 茎と根の伸長を mm 単位で測定し, 色, 形態も観察した。これらの結果は Table 2 に示した。これによると殆どどの化合物は 100 ppm では抑制が強くなるが, 30%以下に抑制する化合物は No. 10 (2-Me, 4-Me), だけであり28%に抑制した。茎の抑制については, No. 10 のみが37%に抑制した。何れにせよ本化合物系統には強い除草作用はみられなかった。

Table-2 レタスの発芽発根試験結果



表内の値は、コントロールを100とした場合のパーセントである。

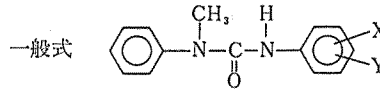
No.	置換基		根伸長			茎伸長			備考
	X	Y	1 ppm	10 ppm	100 ppm	1 ppm	10 ppm	100 ppm	
1	H	H	85.9	65.6	41.3	98.6	87.8	69.7	
2	3-Cl	H	75.4	70.8	32.4	98.6	84.6	44.9	10 ppm 根毛多し
3	4-Cl	H	61.2	77.3	58.4	59.3	78.5	55.2	
4	2-Cl	4-Cl	75.2	78.8	76.9	94.0	88.0	57.1	
5	3-Cl	4-Cl	82.5	69.7	49.1	93.0	84.6	43.8	
6	2-CH ₃	H	62.1	58.0	43.7	89.8	80.9	50.4	10 ppm, 100 ppm 根が真直
7	3-CH ₃	H	63.4	54.2	41.7	100.9	83.9	51.8	10 ppm 根毛多し
8	4-CH ₃	H	106.5	81.1	57.2	67.3	95.1	57.9	
9	2-CH ₃	3-CH ₃	116.4	106.8	83.5	111.9	81.5	48.1	
10	2-CH ₃	4-CH ₃	88.6	68.3	28.1	99.2	86.9	37.1	
11	2-CH ₃	5-CH ₃	107.3	99.0	65.3	95.2	89.3	45.3	
12	2-CH ₃	6-CH ₃	81.3	78.7	83.0	85.8	84.1	69.0	
13	3-CH ₃	4-CH ₃	82.0	49.2	55.4	98.1	70.1	67.7	10 ppm, 100 ppm 根にねじれ
14	3-CH ₃	5-CH ₃	60.2	55.0	78.3	57.1	65.1	90.4	
15	2-OCH ₃	H	92.1	99.8	76.5	105.0	100.3	81.2	
16	3-OCH ₃	H	96.7	63.4	29.3	114.4	101.0	66.3	
17	4-OCH ₃	H	78.6	76.9	62.9	91.2	83.5	36.4	
18	2-OC ₂ H ₅	H	92.4	104.6	81.9	91.1	85.6	70.6	
19	3-OC ₂ H ₅	H	111.9	81.5	48.1	112.0	113.1	77.7	100 ppm 根茎共にねじれあり
20	4-OC ₂ H ₅	H	75.8	73.2	42.7	101.1	108.8	90.4	
21	4-I	H	48.4	78.9	75.2	69.2	51.1	53.1	根毛少なし
22	4-Br	H	67.6	81.2	55.6	76.0	85.3	43.3	根に曲がり
23	4-F	H	93.4	102.8	57.2	98.4	102.7	57.9	
	IAA		32.58	13.8	—	71.5	7.9	—	1 ppm, 10 ppm 根に分岐あり
	2,4-D		8.7	—	—	20.71	—	—	
	DCPA		72.8	83.2	23.1	105.4	91.5	29.6	
	エルボタン		66.9	71.9	63.0	118.0	100	81.7	

備考：“—”は、完全抑制を示す。

(ii) ダイコンの場合

レタスの場合とほぼ同様の方法で試験薬剤を調整し、種子の前処理、種子の仕込みも前述と同様にし、僅かに発芽した種子を12粒づつ1皿に入れ、25°Cで48時間、グロスチャンパーに静置した後測定に供した。これらの結果をTable 3に示した。根の伸長を30%以下に抑制した化合物はNo. 3 (4-Cl) No. 22 (4-Br)であり茎の抑制はNo. 10 (2-Me, 4-Me)が最も強く47%に抑制したのみであった。また低濃度で120%以上の根の伸長を示したものはNo. 6 (2-Me),

Table-3 ダイコンの発芽発根試験結果



表内の値は、コントロールを 100 とした場合のパーセントである。

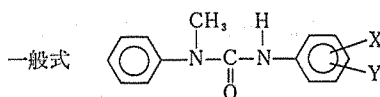
No.	置 換 基		根 伸 長			茎 伸 長			備 考
	X	Y	1 ppm	10 ppm	100 ppm	1 ppm	10 ppm	100 ppm	
1	H	H	78.9	78.6	48.9	118.1	117.5	81.0	
2	3-Cl	H	59.9	76.0	39.6	88.9	98.6	93.1	
3	4-Cl	H	40.6	23.3	19.7	62.6	60.4	53.4	100 ppm 根にねじれ
4	2-Cl	4-Cl	86.5	84.6	41.3	104.8	112.8	123.8	葉が下向き
5	3-Cl	4-Cl	98.5	83.4	70.0	93.0	114.2	116.4	
6	2-CH ₃	H	124.0	120.5	89.0	110.9	104.3	92.6	
7	3-CH ₃	H	68.8	54.9	33.2	93.4	97.2	87.4	根にねじれ
8	4-CH ₃	H	42.9	40.6	54.5	67.5	51.9	76.5	根毛少なし
9	2-CH ₃	3-CH ₃	118.0	105.0	67.9	83.2	87.2	71.3	
10	2-CH ₃	4-CH ₃	73.8	68.9	43.7	83.9	78.4	46.6	
11	2-CH ₃	5-CH ₃	79.9	71.7	44.0	83.4	92.6	62.7	100 ppm 根にちぢれ
12	2-CH ₃	6-CH ₃	125.6	118.7	73.8	111.4	116.4	90.9	
13	3-CH ₃	4-CH ₃	76.7	66.8	59.4	74.1	62.6	73.9	
14	3-CH ₃	5-CH ₃	55.6	65.1	86.1	82.2	81.9	86.4	10 ppm, 100 ppm 根毛多し
15	2-OCH ₃	H	93.3	87.7	51.3	87.5	85.1	65.7	
16	3-OCH ₃	H	75.8	90.2	54.0	106.5	94.7	96.7	
17	4-OCH ₃	H	75.2	58.5	46.5	106.5	108.2	87.7	
18	2-OC ₂ H ₅	H	111.4	93.5	101.8	102.8	106.5	107.7	10 ppm, 100 ppm 根毛多し
19	3-OC ₂ H ₅	H	88.0	90.1	51.6	102.4	103.2	90.2	100 ppm 根毛少なくまがりあり
20	4-OC ₂ H ₅	H	73.2	75.8	54.4	82.2	82.2	90.1	
21	4-I	H	78.4	59.2	41.8	89.7	88.9	75.1	
22	4-Br	H	43.2	41.7	25.6	100.7	105.7	106.6	
23	4-F	H	60.4	85.2	54.5	68.2	95.6	76.5	根毛少なし
	IAA		20.5	14.0	—	48.9	37.3	—	
	2,4-D		16.9	11.6	10.7	42.7	8.2	36.1	
	DCPA		85.3	87.2	25.9	91.2	79.3	46.7	
	エルボタン		108.5	98.1	76.5	75.7	68.4	83.7	

備考：“—”は、完全抑制を示す。

No. 12 (2-Me 6-Me), であり茎の伸長については No.4(2-Cl, 4-Cl) が 100 ppm で 124 % の伸長を示した。本系統の化合物は一般に抑制効果が弱い、オルト位に置換したものに根の生長促進作用を示すものが多く、パラ位に置換したものには逆に強い抑制を示すものが見られた。また No. 22 (4-Br) は根の伸長を強く抑制するが茎にはやや伸長作用を示す興味ある現象があった。

(2) ラミナジョイント試験

Table—4 ラミナ・ジョイント試験結果



合成物 No.	供 試 薬 剤		100 ppm		10 ppm	
	X	Y	実 測 値	%	実 測 値	%
1	H	H	16.75	71.85	14.14	60.67
2	3-Cl	H	22.40	96.09	31.70	136.04
3	4-Cl	H	52.67	225.92	20.17	86.50
4	2-Cl	4-Cl	22.57	96.82	12.50	53.62
5	3-Cl	4-Cl	23.86	105.30	13.57	58.22
6	2-CH ₃	H	18.10	77.69	16.22	69.59
7	3-CH ₃	H	15.13	64.88	13.75	58.98
8	4-CH ₃	H	14.71	63.12	13.27	56.93
9	2-CH ₃	3-CH ₃	19.30	82.79	15.50	66.49
10	2-CH ₃	4-CH ₃	16.00	68.63	10.00	42.90
11	2-CH ₃	5-CH ₃	15.90	68.16	15.13	64.96
12	2-CH ₃	6-CH ₃	15.67	67.21	12.71	54.54
13	3-CH ₃	4-CH ₃	12.38	53.08	12.36	53.03
14	3-CH ₃	5-CH ₃	13.44	57.69	13.27	56.93
15	2-OCH ₃	H	10.50	45.04	7.80	33.46
16	3-OCH ₃	H	15.86	68.02	10.78	46.23
17	4-OCH ₃	H	15.00	64.34	13.89	59.58
18	2-OC ₂ H ₅	H	11.35	48.68	39.84	110.89
19	3-OC ₂ H ₅	H	14.68	62.98	28.01	120.17
20	4-OC ₂ H ₅	H	15.47	66.38	38.79	166.40
21	4-I	H	12.89	55.32	41.61	178.49
22	4-Br	H	13.49	57.87	42.06	180.40
23	4-F	H	19.84	84.11	33.56	143.96
2, 4-D			27.18	168.85	34.25	212.77
IAA			21.34	91.54	39.80	170.79
Erbotan			18.59	79.76	23.30	100.08
control			23.31	100.00	23.31	100.00

備考：表中、実測値は角度 (deg.) を示す。

表内の値はコントロールの値を100とした時の値である。

本実験はホルモン作用を調べる実験であり、常法により稲（ニッポンバレ）を用いて実験した。その結果を Table 4 に示した。構造式よりホルモン活性は一般に少ないが 100 ppm の濃度では No. 3 (4-Cl) が 226%, 10 ppm の濃度では No. 2 (3-Cl) が 136%, No. 20 (4-OEt) 166%, No. 21 (4-I) 178%, No. 22 (4-Br) 180%, No. 23 (4-F) 144% のようにパラ位に Br, I, F, -OEt 基の置換したものは活性が高い。100 ppm の場合はパラ位に Cl の置換したものは 24-D よりも活性が高かったが、全般的に見て本系列化合物はホルモン作用が劣ることが解った。

Table-5 土壤処理及び茎葉処理試験

No.1	合成化合物 土壤処理試験・4週間後使用量 kg/10 a			茎葉処理試験・2週間後濃度 1000ppm						
	イ	ネ	レタス	ダイコン	イ	ネ	ヒ	エ	レタス	ダイコン
1	—	+	+	+	—	—	—	—	—	+
2	卍	—	—	—	—	—	—	—	+*2	—
3	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	+	—	—	+	—	—	—	—	×	卍
5	卍	—	—	E	—	—	—	—	—	—
6	卍	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	卍	—	+	E	—	—	—	—	—	—
8	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—
9	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+
10	卍	—	—	+	—	—	卍	—	—	—
11	卍	—	—	—	—	—	—	—	—	+
12	卍	—	+	—	—	—	—	—	—	卍
13	卍	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14	卍	—	—	—	—	—	—	—	—	卍
15	卍	—	—	—	—	—	+	—	—	+
16	+	—	E	—	—	—	—	—	—	+
17	卍	—	—	—	—	—	+	—	—	+
18	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+
19	卍	—	—	—	—	—	—	—	—	+
20	+	—	—	—	—	—	+	—	—	卍
21	卍	—	—	—	—	—	—	—	—	—
22	卍	—	—	—	—	—	—	—	—	—
23	卍	—	+*1	+*1	—	—	—	—	—	—
DCPA	卍	—	卍	—	—	—	—	×	×	×
エルボタン	×	—	×	×	—	—	卍	×	×	+
コントロール	—	—	—	—	—	—	卍	+	+	+

備考 薬害の程度 × (枯死) >卍>卍>卍>卍>+>- (コントロール)

*1 薬斑あり, *2 葉にねじれ, *3 葉にしおれ

(3) 土壤処理試験

本合成化合物は尿素系であるので土壤処理活性を調べた。

供試植物は稲 (ニッポンバレ), レタス (ペンレック), ダイコン (コメット) を用い, グロースチャンパーで僅かに芽出した種子を土壤に植込み, これに常法により調整した供試薬剤の1000 ppm 溶液を, 供試薬剤 1 kg/10 a の割合で土壤に散布した。

処理後3日目でダイコン, 7日目でレタス, 10日目でイネが芽を出し, 2週間後には比較のためのエルボタン区は枯死し, 本合成化合物にも影響が出はじめた。4週間目の状態を Table 5 に示した。これらの結果はイネについて可なり成育抑制を示した。影響の大きいものは No. 13 (3-Me, 4Me), No. 14 (3 Me, 5 Me), No. 22 (4-Br), No. 21 (4-I)。

レタス及び大根の場合は殆んど薬害も与えず, 本化合物は単子葉と双子葉植物間に選択性がある。

N-メチル-*N*-フェニル-*N'*-置換フェニル尿義の合成とその植物生理活性(微細藻類に対する作用も含む)

ることが解った。

(4) 茎葉処理試験

供試植物イネ(前述の品種)を常法により2週間生育させた幼苗を1ポット10苗ずつ植込み、3葉期まで温室内で育てた。ヒエ(大学構内で採集)も同様2週間生育させたものを1ポットに10苗ずつ植込み、3葉期まで温室内で育てた。レタス(前述の品種)は前処理でわずかに芽の出た発芽状態の均一なものを選び1ポット10粒ずつ植込み3葉期まで温室内で育てた。ダイコン(前述の品種)もレタスと同様の方法で1ポット10粒ずつ植込み3葉期まで温室内で育てた。

供試薬剤は常法により1000 ppmの濃度に調整した。界面活性剤としては Tween 80 を用いた。供試薬剤を前述の苗に対し1ポット当り7 ml ずつ霧状で散布し、葉が一面に濡れるように散布した。

試験結果は処理後2週間目に観察した。(i)イネは害がみられなかった。(ii)ヒエに多少薬害が生ずる化合物は、No. 10 (2-Me, 4-Me) 程度であり他は殆んど薬害がみられなかった。(iii)レタスは No. 4 (2-Cl, 4-Cl), のみが枯死を示したのみで他は薬害もみとめられなかったが No. 2 (3-Cl) は葉に多少ねじれの現象がみられた。比較サンプルの 2, 4-D, MCP は全部枯死した。(iv)ダイコンに薬害を示すものは可なり多く、強い活性を示した薬剤は No. 4 (2-Cl, 4-Cl) No. 12 (2-Me, 6-Me), No. 14 (3-Me, 5-Me) No. 20 (4-OEt, H) であり、比較サンプルのエルボタン® よりも強い作用を示した。

以上の結果より本系列化合物はイネ、ヒエ、レタスに対して No. 4 を除き生物活性は認められなかったがダイコンでは活性を示す化合物が多いことが判明した。比較サンプルのエルボタン® はレタスを枯死させたがダイコンには弱い活性を示したことから本化合物群の植物生理活性との比較により同じ双子葉植物間でも非常に大きな差のあることが判明した。これらの試験結果は Table 5 に示した。

(5) 微細藻類に対する試験

高等植物に対する薬剤の作用を調べた文献は多いが微細藻類に対する報告は明治大学農研報 No. 71 に示した様に若干の報告があるにすぎない。

本報文は系列合成化合物群の微細藻類に対する作用を調べたもので、ことに同化作用に影響を与える光合成および呼吸量の変化から 660 nm における吸光度の変動によるクロロフィル含量、ならびに溶存酸素計により微細藻類に対する薬剤間の種類と作用との関係を検討した。また薬剤に作用させた微細藻類の形態的な変化についても顕微鏡による観察をおこなった。

(i) 使用微細藻類: *Cyanobacterium* *Anabaena cylindrica* (IAM M-1)

Green algae *Chlamydomonas reinhardtii* (IMA-C-238)

Closterium-peracerosum-stigosum littorale Complex (Kas 4-30)

(ii) 培養培地： それぞれの微細藻類に対し通常用いられる培地を使用した。(詳細は文献⁴⁾を参照)

微細藻類名	培地名 (略称)
<i>Anabaena</i>	MDM
<i>Chlamydomonas</i>	MBM
<i>Closterium</i>	CT

(iii) 培養方法： それぞれの微細藻類を培地の入った 200 ml 三角フラスコに植え、室温(約25 °C)で1200 Luxの蛍光灯照明下で振とう培養をおこなった。実験は植継ぎ後、1週間程度の対数増殖期にある微細藻類を用いた。

(iv) 薬剤： 供試薬剤は本合成化合物の他に参考迄尿素系除草剤エルボタン[®]を含め数種の重要市販除草剤についても試験をおこない検討した。薬剤はそれぞれ原体換算で 1, 10, 100 ppm に調整した。

(v) 使用器機： (a)溶存酸素計は大橋式酸素計, (b)光度計は ERMA PHOTOELECTRIC PHOTOMETER TYPE: SN, (c)振とう培養機 RECIPRO SHAKER Thomas Sci., Co., (d)光源は日立 FL 20 55 D/18 G 昼光色, 光合成量の測定は三菱ネオルミスーパー FCL 30 W 89白色を用いた。

(vi) 測定： 微細藻類の生長に対し薬剤がどれだけ影響を及ぼすかについては、一定濃度の薬剤を投与し、光度計によりクロロフィルの変色をクロロフィルの最大吸収に近い660 nmにおける吸光度測定により調べた。実験はスクリュウキャップ式の試験管のそれぞれに微細藻類に対する培地 7 ml を入れ、これを常法通りオートクレーブで滅菌処理した。これに微細藻類の懸濁培養液 2 ml を加えた。実験に適した微細藻類の懸濁培養液は約4日間 25 °C, 3000 Lux でグロースチャンバー内で生育させた対数増殖期のものを用いた。これに薬剤稀釈液 1 ml を入れることにより試験管内の最終濃度を 0.1, 1, 10 ppm に調整した。薬剤を入れた後、ミキサーで攪拌し直ちに吸光度を測定した。

(vii) 試験結果： 薬剤添加後、8日目と14日目に吸光度の測定を行った。これらの結果は Table 6 にまとめた。すなわち *Anabaena* については No. 18 (2-OEt), No. 21 (4-I), No. 22 (4-Br), No. 23 (4-F) は減少の傾向を示し、増加の傾向を示したのものには No. 4 (2-Cl, 4-Cl), No. 9 (2-Me, 3-Me), No. 16 (3-OMe) であり、*Chlamydomonas* の場合は一般に OD₆₆₀ が減少しなかった。また 10 ppm の濃度で強い増加傾向を示した化合物は No. 1 (無置換), No. 4 (2-Cl, 4-Cl), No. 15 (2-OMe) であった No. 21 (4-I), No. 22 (4-Br), No. 23 (4-F) の化合物は 0.1 ppm の濃度では増加が大きいと 10 ppm 以上では逆に減少傾向を示した。*Closterium* に対しては 0.1 ppm の No. 18 (2-OEt), No. 23 (4-F) の強い増加を示したものを除き特に減少傾向を示すものもなく著しい増加を示すものもなかった。

N-メチル-N-フェニル-N'-置換フェニル尿義の合成とその植物生理活性(微細藻類に対する作用も含む)

Table-6 合成物による微細藻類の吸光度の経時変化(14日目の値)

藻の種類 ppm 化合物 No.	<i>Anabaena</i>			<i>Chlamydomonas</i>			<i>Closterium</i>		
	0.1	1	10	0.1	1	10	0.1	1	10
1	110	120	100	120	105	205	120	120	125
2	90	85	120	110	100	90	110	120	85
3	90	85	125	105	100	90	145	130	115
4	260	265	245	160	145	210	140	135	155
5	100	100	90	95	100	100	105	95	105
6	110	90	80	115	110	55	100	100	80
7	75	105	80	130	100	95	130	85	75
8	75	85	95	100	100	105	130	125	90
9	250	105	120	165	100	110	105	100	105
10	100	105	110	100	100	125	110	95	105
11	105	100	100	100	100	100	100	100	100
12	105	100	100	100	100	100	100	100	100
13	95	100	95	100	105	100	100	100	100
14	100	100	100	100	100	110	100	100	130
15	110	125	125	155	185	175	115	105	125
16	125	135	135	120	125	145	130	130	60
17	95	120	120	95	125	155	110	105	115
18	101	40	40	175	120	100	185	105	145
19	65	80	90	95	90	90	105	110	95
20	60	102	90	110	110	95	105	105	80
21	45	45	35	190	95	105	155	150	105
22	50	40	65	195	130	95	85	140	115
23	45	55	70	175	115	100	250	120	145

備考 コントロールの変動を差引いた値を0日目の吸光度を100として示した。

Table-7 市販除草剤による微細藻類の吸光度の経時変化

藻の種類 薬剤名	0.1 ppm		1 ppm		10 ppm	
	8日目	14日目	8日目	14日目	8日目	14日目
<i>Anabaena</i>						
スエップ®	87	75	98	97	77	62
2,4-D	103	108	91	86	98	99
ロンスター®	103	102	59	64	55	49
クロレートソーダ	90	85	96	85	90	70
エルボタン®	93	87	81	100	78	57
ラウンドアップ®	65	61	94	94	88	76
エスレル®	123	110	102	97	128	105
X-52	99	100	79	68	89	84
クサガード®	52	62	89	128	79	81
<i>Chlamydomonas</i>						
エエップ®	111	109	127	101	126	100
2,4-D	118	110	90	90	120	116
ロンスター®	141	138	93	83	106	100

(つづく)

(前頁よりのつづき)

藻の種類 薬剤名	0.1 ppm		1 ppm		10 ppm	
	8日目	14日目	8日目	14日目	8日目	14日目
クロレートソーダ	113	119	105	110	114	106
エルポタン®	111	104	142	150	129	104
ラウンドアップ®	124	113	122	114	106	80
エスレル®	118	119	117	109	118	100
X-52	101	125	108	77	95	71
クサガード®		127	96	113	105	110
<i>Closterium</i>						
スエップ®	99	131	63	92	140	155
2,4-D	116	116	94	123	111	120
ロンスター®	105	118	111	138	150	175
クロレートソーダ	92	118	72	80	50	56
エルポタン®	115	123	94	92	118	126
ラウンドアップ®	88	72	132	225	102	171
エスレル®	72	91	25	41	67	72
X-52	65	65	68	100	40	53
クサガード®	103	121	90	93	97	105

(備考) コントロールの変動を差引いた値を0日目の吸光度とし、これを100とした。

以上3種の微細藻類を通じて本合成化合物を見ると、No. 21 (4-I), No. 22 (4-Br), No. 23 (4-F) は *Chlamydomonas Closterium* (但し No. 22 は除く) でよく増加しているが *Anabaena* では減少に働く傾向があった。参考までに尿素除草剤を含む各種の市販除草剤の作用について Table 7 に示した。これによると *Chlamydomonas* に対しエルポタン®の1 ppm 及びロンスター®の0.1 ppm では可なりの増加を示した。*Closterium* ではラウンドアップ®の1 ppm 及びロンスター®ならびにスエップ®の10 ppm が大きい増加を示し、エスレル®, X-52, クロレートソーダなどは減少の傾向を示した。

以上の結果より吸光度の増加、減少をどう考えるかは議論のあるところであろうが、吸光度の増加を微細藻類の増殖の結果とすれば、本合成化合物群は *Anabaena* に対してパラ位にハロゲンの入った化合物が抑制傾向が強く、*Chlamydomonas* 及び *Closterium* に対しては一般に変化が認められないが若干の促進傾向を示すものが多く、前述のパラ位にハロゲンの入った化合物に大きい増加を示すものが多い。

3種の微細藻類に対し No. 4 (2-Cl, 4-Cl) は促進傾向が強く、つぎに No. 15 (2-OMe) が強い傾向を示した。抑制傾向を示すものは *Anabaena* の場合前述のパラ位にハロゲンの入った化合物の他に No. 18 (2-OEt) の1 ppm, 10 ppm であった。

(viii) 顕微鏡による形態観察： 14日後の試験管を顕微鏡で観察した。*Anabaena* の場合には休眠胞子の形成が多く見られ、*Chlamydomonas* では細胞内部と細胞膜との間にすぎ間の出来るものが多く見られ *Closterium* では細胞内部がひも状に萎縮するものや細胞内にすぎ間の出来る

Table-8 単位時間あたりの発生酸素量

(単位: $\times 10^{-6} \text{mg} \cdot \text{O}_2 / \text{mg (d. w.)} \cdot \text{min}$)

No.	合成	0 ppm	1 ppm	10 ppm	100 ppm
1		2.02	1.96	2.64	1.66
2		2.28	2.00	1.43	1.69
3		2.12	1.97	1.53	2.39
4		1.51	1.32	1.23	0.91
5		1.93	2.14	1.53	1.42
6		2.41	1.67	0.64	4.02
7		1.52	1.28	1.18	1.13
8		1.67	3.64	2.59	-0.17
9		1.85	1.44	1.39	1.23
10		2.12	1.77	1.25	0.89
11		1.73	1.51	1.40	1.33
12		1.68	1.62	1.51	1.45
13		1.95	2.09	2.33	1.71
14		2.22	1.99	1.31	1.19
15		2.08	1.79	1.56	1.39
16		2.11	2.20	1.82	1.55
17		2.34	1.94	1.58	1.39
18		1.79	1.68	1.39	1.26
19		2.02	1.82	1.60	1.68
20		2.03	1.76	2.15	0.37
21		1.01	1.01	1.24	1.10
22		1.79	1.79	1.53	1.32
23		2.01	1.76	1.57	1.18
物市販薬剤名					
	ス エ ッ プ	2.91	0.56	0.23	0.13
	2,4-D	1.88	3.06	4.31	4.42
	ロ ン ス タ ー	1.27	3.30	1.73	1.20
	ク ロ レ ー ト ソ ー ダ	2.48	1.39	1.22	1.31
	エ ル ボ タ ン	3.27	0.99	3.64	1.37
	ラ ウ ン ド ア ッ プ	2.63	3.24	2.63	2.23
	エ ス レ ル 10	1.91	0.60	-1.08	-0.88
	X-52	2.81	2.42	2.06	1.30
	ク サ ガ ー ド	1.63	1.96	1.80	0.83
	DCPA	3.00	3.08	3.57	2.10

備考: 0 ppm はコントロールを示す。

使用微細藻類: *Anabaena, cylindrica*

るものが多かった。(写真省略)

(ix) 溶存酸素計による酸素量の測定: 本報では薬剤が微細藻類に対し短時間にどのような影響を与えるか測定し検討した。実験は微細藻類の培養液 60 ml に対し, 薬剤濃度が 1, 10, 100 ppm となるように薬剤を投入し炭酸 buffer を等量加え測定溶液とした。これを 2500 Lux の均

一光にあて発生した酸素量を測定した。測定時間は15分間とし、測定中は攪拌を続けた。Table 8 は *Anabaena* を用いた場合の実験で単位時間あたりの発生酸素量を示す。これらの数値より薬剤が高濃度になるにしたがって酸素量は減少する。100 ppm で減少量の大きい化合物はNo. 8 (4-Me), No. 20 (4-OEt), No. 10 (2-Me, 4-Me) であった。

(x) 実験結果

これらの試験の結果、吸光度が増加しても薬剤による形態変化を示す場合があり、必ずしも微細藻類が増殖しているとは限らないことが明らかとなった。また発生酸素量の測定と吸光度の変化との間にとくに相関がみられなかった。

4. 結果と考察

イネ、ヒユ、レタス、ダイコンについて発芽発根試験、土壌処理試験、茎葉処理試験、ラミナジョイント試験をおこない、藍藻類1種、緑藻類2種の微細藻類については吸光度の変化、光合成による酸素発生量、顕微鏡による形態観察をおこなった。これらの結果は各実験において詳述した。これらの結果をまとめることは困難であるが植物生理活性の立場より次のようにまとめた。

レタスとダイコンは双子葉植物であるが本実験では非常に差があり抑制作用を示した化合物はレタスでは No. 10 (2-Me, 4-Me), ダイコンでは No. 3 (3-Cl) であり、促進作用を示した化合物はレタスでは No. 9 (2-Me, 3-Me), No. 19 (3-OEt), ダイコンでは No. 6 (2-Me), No. 12 (2-Me, 6-Me) であるが、いずれも大きな値ではなかった。ラミナジョイント試験でハロゲン、エトキシ基がパラ位に置換したものに 10 ppm の濃度の場合可なりのホルモン活性を示したものがあつたが 2,4-D ほど強くはなかった。土壌処理試験ではイネに対し強い抑制を示したものが多く、ダイコン、レタスは殆んど薬害がみられなく、単子葉植物が本系列化合物に弱いことが判明した。さらにラミナジョイント試験で活性の大きい No. 21 (4-I), No. 22 (4-Br) などはイネの土壌処理試験で強い抑制力を示したことは興味あることと思う。

微細藻類に対する作用は本合成化合物も市販除草剤も藻類の種類により作用が異なるものが多く、*Anabaena* に対してパラ位にエトキシ、ならびにヨウ素、臭素、フッ素が置換したものが抑制力が強かった。なお参考迄言すると作物に生長作用の強いエスレル® が微細藻類の種類により強く抑制作用を示すことも判明した。

5. 謝 辞

本研究の微細藻類に関する部分は本学教授山本鎔子博士の御指導と御協力を賜ったことを述べ感謝の意を表します。

引用文献

- 1) 早瀬郁夫：明治大学農学研究科修士論文 p. 80 (1985)。