

特集：プラントアクティベーター

抵抗性誘導型殺菌剤チアジニル（ブイゲット®）の開発

日本農薬株式会社 津幡 健治・山本 好伸

はじめに

チアジニル(1)(図-1)は、日本農薬(株)が開発した抵抗性誘導型の新規殺菌剤である。これまでに数多くの殺菌剤が開発されてきている中で、抵抗性誘導を作用機構とする殺菌剤はごくわずかである。また、様々な化学構造を有する抵抗性誘導型殺菌剤の検討がなされてきたが、そのほとんどが開発されるには至らなかった。チアジニルは、化学構造的には1,2,3-チアジアゾール-5-カルボン酸アニリドであり、ヘテロ環部分に特徴がある。本剤は、育苗箱施用剤および本田水面施用剤としてもいもち病(葉いもち)に安定した効果持続性を示すとともに、作用機構が抵抗性誘導であることから、薬剤に対する耐性発達リスクが低いと考えられる(山口, 2003; YAMAGUCHI et al., 2005)。さらにイネいもち病だけでなく、イネ白葉枯病やもみ枯細菌病等の細菌病にも有効である。

日本では2003年4月に登録を取得し(商品名ブイゲット®)、育苗箱施用分野ではブイゲット箱粒剤のほか、殺虫剤、殺菌剤との混合剤9種を、本田水面施用分野ではブイゲット粒剤のほか、いもち病防除と除草作業が同時に可能な除草剤との混合剤を登録、販売している。さらに韓国でも2003年に登録を取得し、販売を開始している。

本稿では、チアジニル創製の研究開発の経緯、構造活性相関、生物活性、安全性・代謝・分解、作用機構等について述べる。

I 研究開発の経緯

いもち病は、水稻栽培において最も重要な病害であり、筆者らも殺菌剤開発の重要なターゲットの一つとして新規開発に長年取り組んできた。本化合物系統の探索研究に着手した1992～93年にもいもち病が日本で大発生し、北日本を中心に甚大な被害をもたらした。当時のいもち病防除では本田散布や本田水面施用に加えて、

育苗箱施用による葉いもち病防除が西南暖地を中心に行われていたが、主要な水稻作付地帯で長期の効果持続性が要求される北日本地域においては十分な防除効果を発揮できなかった。その後、1990年代に入り長期残効性を有するいもち病用薬剤の研究開発が進められたことから、将来的な防除技術として「長期持続型箱処理剤」を視野に入れた研究が必要と考え、薬剤耐性発達リスクが低いなどの特長をもつ抵抗性誘導という作用機構に着目して研究を進めた。

一方、殺菌剤探索合成研究において、合成中間体の活用による新規活性構造の創出を試みていた。合成中間体としてヒドラゾン誘導体(3)の反応を検討している中で、あまり見慣れない1,2,3-チアジアゾール(4)というヘテロ環に容易に変換できる反応があることに注目した(図-2; HURD and MORI, 1955)。中間体であるヒドラゾン誘導体はケトンやアルデヒドのようなカルボニル化合物(2)を原料とするので多様な構造が構築可能であり、それに対応して1,2,3-チアジアゾールの4位および5位の置換基は幅広く変換できることが想定された。このヘテロ環の珍しさと多様な構造変換が可能であることに強い興味をもち、新規な活性を求めて4位および5位に種々の置換基をもつ1,2,3-チアジアゾール誘導体の合成展開を行った(図-3)。また、当時、チバガイギー社から出願された特許にベンゾ-1,2,3-チアジアゾール誘導体(13)(図-4)が植物の防御機構を刺激・活性化することにより病害を防除する旨の記載があった(シュル

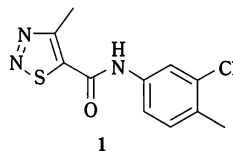


図-1 チアジニルの化学構造

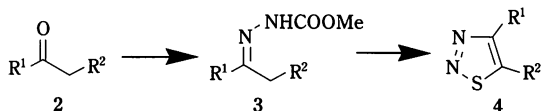


図-2 1,2,3-チアジアゾールの合成(文献2)より引用)

Development of a Novel Plant Activator for Rice Diseases, Tiadinil. By Kenji Tsubata and Yoshinobu Yamamoto

(キーワード: チアジニル, ブイゲット, 抵抗性誘導型殺菌剤, プラントアクティベーター, 1,2,3-チアジアゾール)

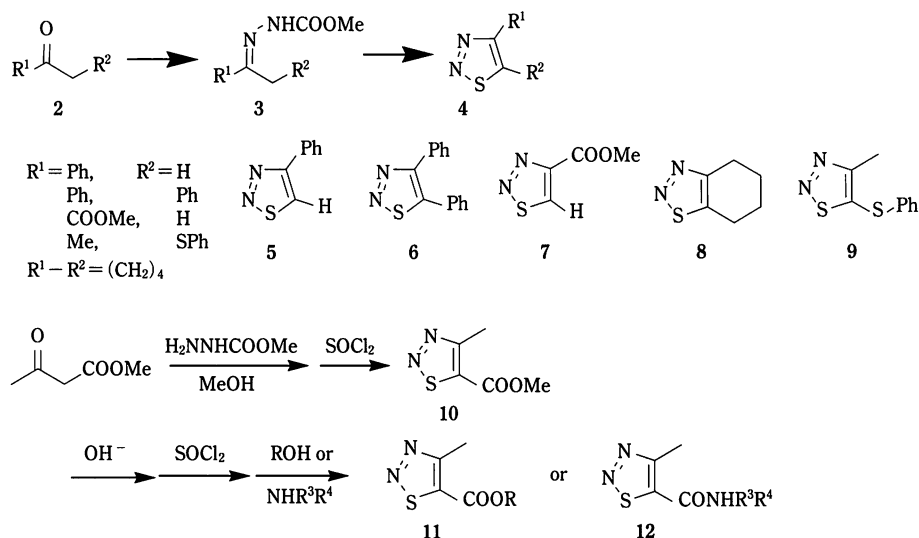


図-3 1,2,3-チアジアゾール誘導体の合成

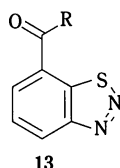


図-4 特許出願されたベンゾ-1,2,3-チアジアゾール誘導体

ターら, 1989; クンツら, 1993)。この特許化合物も1,2,3-チアジアゾール構造が特徴的であると思われた。抵抗性誘導をもたらしのは1,2,3-チアジアゾールという化学構造にあるのではないかと考え、抵抗性誘導剤の創出を目標として1,2,3-チアジアゾール誘導体の探索を行った。多数の誘導体を合成したが、イネいもち病に対し高い活性を示したのは、1,2,3-チアジアゾール-5-カルボン酸誘導体のみであった(黒田ら, 1996)。そこで育苗箱施用にも本田水面施用にも使用できる剤の創出を目標として最適化を行い、速効性と効果持続性のバランス、薬害、水溶解度、製剤容易性、製剤安定性、製造コスト、安全性等を総合的に判断してチアジニルを選抜した。

II 構造活性相関

様々な置換基を有する誘導体の中で、高活性を示す4位(R₁)および5位(R₂)の置換基は、次に示すようなものであった。

4位: メチル, エチル, *n*-プロピル, *i*-プロピル, *t*-

ブチル等鎖長1-3のアルキル基で、ハロゲン原子やメトキシ基などヘテロ原子の置換は活性を低下させた。適度な脂溶性が重要と考えられた。

5位: エステル, アニリド, アルデヒド, ヒドロキシメチル等加水分解や酸化により、カルボン酸を生成するものが高活性を示すと考えられた。適度な水溶解度と加水分解性が重要で、最適化の結果、3-クロロ-4-メチルアニリド体が選抜された(津幡ら, 1999)。

III 名称および性状

一般名: チアジニル (tiadinil)

商品名: ブイゲット® (V-GET®)

試験名: NNF-9850

CAS registry No.: 223580-51-6

化学名: 3'-Chloro-4, 4'-dimethyl-1, 2, 3-thiadiazole-5-carboxanilide

分子式: C₁₁H₁₀ClN₃OS

分子量: 267.74

外観: 淡黄色固体

融点: 112.2°C

水溶解度: 13.2 mg/l (20°C)

蒸気圧: 1.06 × 10⁻⁶ Pa (25°C)

オクタノール/水分配係数: log Pow: 3.68 (25°C)

IV 生物活性

チアジニルを含有する育苗箱施用粒剤は、6 g(a. i.)/箱 (12%粒剤, 50 g/箱相当) の移植当日および緑化期

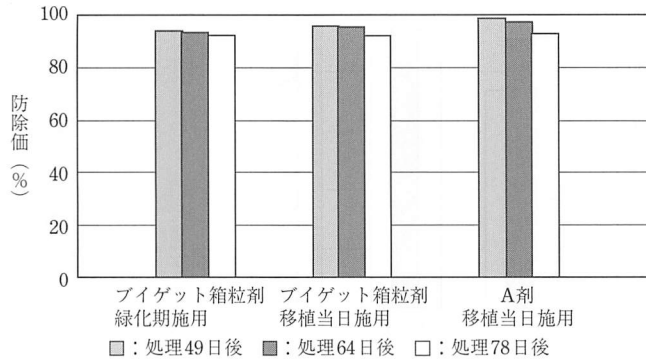


図-5 バイゲット箱粒剤の処理時期別葉いもち防除効果（育苗箱施用）
日本農薬社内圃場試験，2006年。

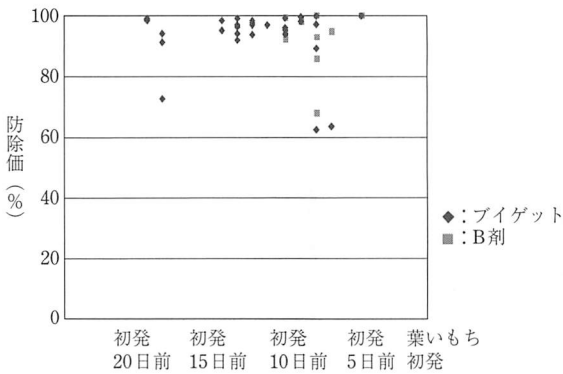


図-6 バイゲット粒剤の処理時期別葉いもち防除効果（本田水面施用）
日本農薬社内圃場試験，1998～2003年。

処理で本田移植 80 日後以降でも安定した葉いもち防除効果を示すことが圃場で確認された（図-5）。

また，本田水面施用粒剤は，180 g(a. i.)/10 a（6% 粒剤，3 kg/10 a 相当）の葉いもち初発 7～20 日前湛水処理で既存剤の初発 10 日前処理と同等の高い葉いもち防除効果を示し，予防的に処理することで葉いもちの初発が多少ずれた場合にも対応できると考えられた（図-6）。また，除草剤との混合剤による移植 5～15 日後処理は，育苗箱処理粒剤の移植当日処理と同等の効果持続性を示した（図-7）。

すなわちチアジニルは溶出制御などの製剤技術を適用しやすい原体物性を有していることから，長期の効果持続性が要求される育苗箱施用や除草剤との同時処理に加えて，速効的な効果が求められる本田水面施用でも高い性能を発揮する。また，本剤は，いもち病の発病程度や

土壌種，漏水の有無，湛水深および移植深度などの効果変動要因の影響は小さく，既存の薬剤に耐性を有するいもち病菌菌株にも有効であった（図-8）。

さらに，本剤は，いもち病以外に本田でのイネ白葉枯病，イネもみ枯細菌病に効果を示すほか，本田処理でごま葉枯病菌による穂枯れにも有効であり，一剤で複数病害の同時防除が可能な性能を有している（梅谷ら，2002）。

現在，チアジニル剤は上記施用方法のほかに本田側条施用や育苗箱緑化期施用でも登録を取得し，様々な防除技術に対応している。さらに，育苗箱施用分野において省力性の高い大規模育苗に対応するために，播種時覆土前処理専用剤として殺虫剤との混合剤を登録申請中である。

V チアジニルの安全性

1 哺乳類への安全性評価

哺乳動物に対するチアジニル原体の急性毒性試験の結果，雌雄のラットに対する経口および経皮 LD₅₀ 値は，それぞれ 6,147 mg/kg 以上および 2,000 mg/kg 以上であった。チアジニル原体および製剤は，いずれも普通物に分類され，眼および皮膚に対する重篤な刺激性・感作性は認められない。また，発がん性，変異原性，催奇形性および繁殖毒性が認められないことが確認されている。

2 環境生物への安全性評価

チアジニル原体あるいは製剤の魚類，水生甲殻類，藻類等の水棲生物，ミミズおよびカイコ，ミツバチ等の有用昆虫に対する各種試験から，環境生物に対する安全性は比較的高いものと考えられた。

3 代謝・分解性および残留性

¹⁴C 標識チアジニルを用いたラット，イネおよび土壌

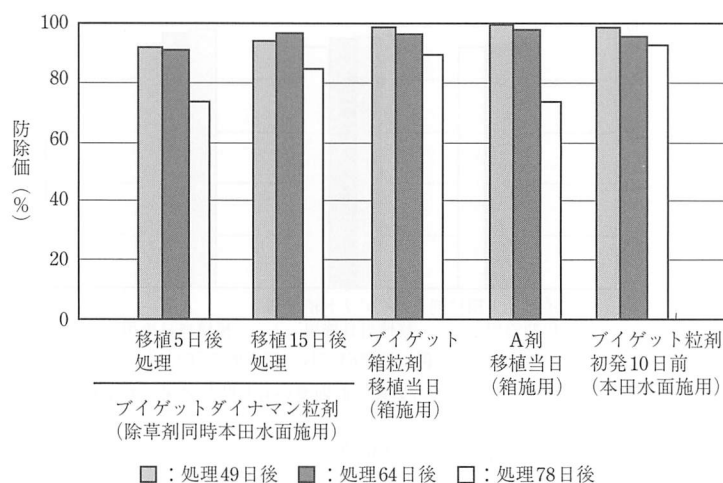


図-7 除草剤同時施用におけるブイゲット剤の葉いもち防除効果
日本農薬社内圃場試験, 2006 年.

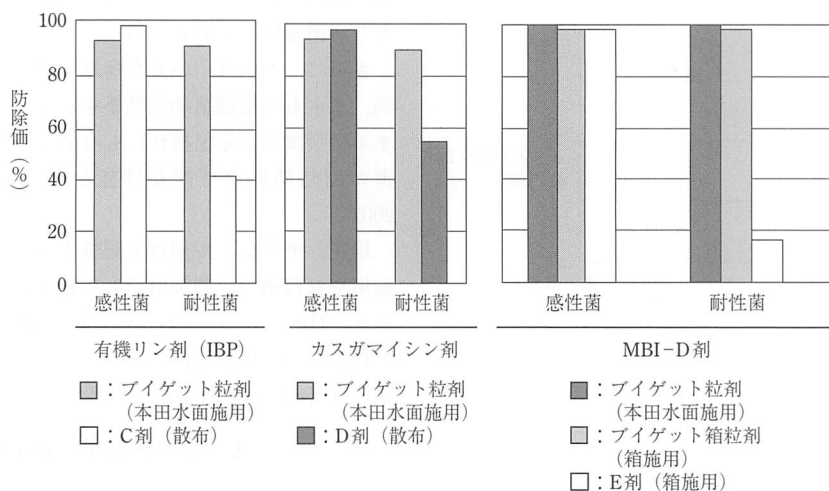


図-8 各種耐性菌に対するブイゲット剤の葉いもち防除効果

などにおける動態および代謝についての検討の結果, ラットに関しては, 投与後 24 時間までに投与放射能の 88% 以上が糞および尿中へと排泄され, 放射能が特異的に貯留する臓器/組織は認められなかった。次に水稻においては, 可食部への放射能の移行は極めて低いレベルに留まった。動物および植物においては, 本化合物は主に, アミド結合の加水分解, フェニル環 4 位メチル基の酸化およびチアジニル環 4 位メチル基の酸化などにより, 土壌においてはアミド結合の加水分解などにより代謝されることが明らかとなった。さらには, 土壌および動物では炭酸ガスの生成も認められ, 最終的に無機化されることも判明した。作物残留試験の結果, 玄米中に

はチアジニルは検出されなかった。

VI 作用機構

チアジニルは, いもち病菌の形態形成に対して影響を与えず, 直接的な抗菌力を示さない。すなわち, チアジニルは寒天平板希釈法で菌糸生育および菌叢の着色 (メラニン) 化を阻害しないほか, セロファン膜法 (ARAKI et al., 1977) 検定においては, $100 \mu\text{g/ml}$ でいもち病菌の胞子発芽, 発芽管伸長, 付着器形成および着色 (メラニン) 化をほとんど阻害せず, 付着器からの侵入菌糸によるセロファン膜の貫通およびセロファン膜下の侵入菌糸の伸展も無処理と同様に認められた。

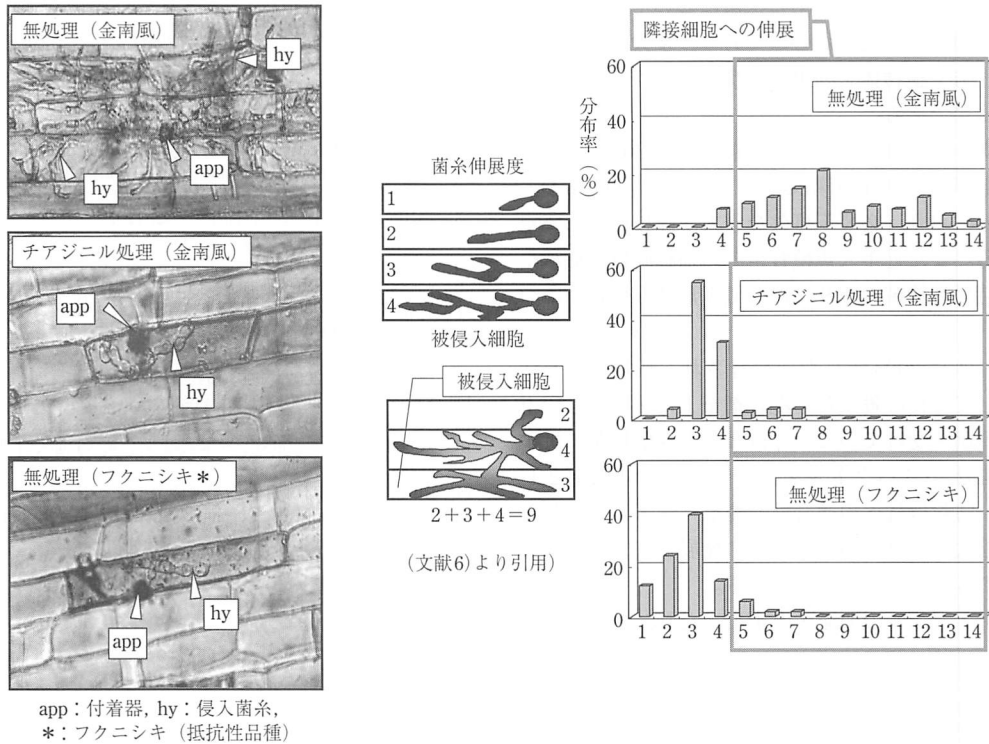


図-9 いもち病菌に感染を受けた細胞から隣接細胞への侵入菌糸の進展

一方、チアジニルを処理したイネ組織を用いた葉鞘検定法（高橋，1958）ではいもち病菌が侵入した細胞が過敏反応を示すとともに侵入菌糸を細胞内に閉じ込めてしまうことで隣接細胞への菌糸進展が強く阻害されていた（図-9）。

この現象は、イネのある品種が非親和性いもち病菌レースの感染を受けたときの抵抗性反応と極めて類似していた。また、チアジニルを処理したイネ体にもいもち病菌の感染が起きますと、細胞内でのカロースや H_2O_2 が蓄積すること、抵抗性関連遺伝子 *PBZ1*, *RPR1*, およびフェニルアラニンアンモニリアーゼ遺伝子 *PAL-ZB8* などの発現量が増加することが認められている。以上の結果より、チアジニルはイネが本来保有している宿主抵抗性を誘導することで高い防除効果を発現するものと考えられる（竹元ら，2002；YASUDA et al., 2004；富田，2004）。

なお、チアジニルのイネにおける主要な代謝物の一つとして4-メチル-1,2,3-チアジアゾール-5-カルボン酸（SV-03）があるが、チアジニルを施用したイネ葉身中での本代謝物濃度と防除効果の間に相関が認められたことから防除効果発現にはイネ体内での本化合物生成

が重要であることが示唆されている（八十川ら，2005）。

一方、シロイヌナズナなどを用いた研究により、植物の抵抗性発現にはサリチル酸が誘導伝達物質として関与する場合があることが知られているが、チアジニルおよび主代謝物であるSV-03を処理したタバコ葉では、サリチル酸の蓄積を伴わずに抵抗性が誘導される。これらのことから、チアジニルおよび主代謝物であるSV-03は、プロベナゾールとは異なり、サリチル酸誘導性シグナル伝達経路の内、サリチル酸の下流に作用していると推定されている（YASUDA et al., 2006）。またキュウリを用いた実験でもチアジニルおよびSV-03は、アシベンゾラル-S-メチル同様、サリチル酸からNPR1に至る部分に作用して抵抗性を誘導していることが示唆された（山下ら，2006）。

おわりに

1990年代初頭から水稻主要病害のいもち病に対する新規な薬剤の開発を目指した本格的な探索研究を開始したが、その発端は1,2,3-チアジアゾールというユニークなヘテロ環への興味と、抵抗性誘導という作用性への

着眼にあったと言える。本剤の探索においてはその作用性の点から植物体の関与が必須であり、多大な労力を要したが、一方で植物体を利用した探索手法の有用性を再認識した次第である。

今や長期持続型の育苗箱処理剤は、2006年には5,300 tが出荷されて育苗箱処理市場全体の約60%を占めるに至っており、必要不可欠な省力防除技術として定着している。また近年大規模育苗での播種時処理機械や田植え同時処理機械の普及に伴い処理形態も変化しつつある。

チアジニルは2003年に農薬登録され、新規いもち病防除剤として各種の殺虫殺菌混合剤を上市・販売し、市場で高い評価を受けている。今後とも既存耐性菌に対する効果や幅広いスペクトルを活かした基幹防除剤として、新しい防除機材への適合性と農家ニーズに合致した製品群の拡大により水稻防除技術の発展と省力化に少しでも貢献できればと願う次第である。

最後にチアジニルの開発・上市に当たり、多大なご指

導、ご援助をいただいた日本植物防疫協会並びに独立行政法人および公立の各試験機関の先生方に重ねて厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 1) ARAKI, F. and Y. MIYAGI (1977): J. Pestic. Sci. 2: 457 ~ 461.
- 2) HURD, C. D. and R. I. MORI (1955): J. Am. Chem. Soc. 77: 5359 ~ 5364.
- 3) 黒田 潔ら (1996): 特開平 8-325110.
- 4) クンツら (1993): 特開平 5-97829.
- 5) シュルターら (1989): 特開昭 64-90176.
- 6) 高橋喜夫 (1958): 植物防疫 12: 339 ~ 345.
- 7) 竹元 剛ら (2004): 日本植物病理学会報 68: 264.
- 8) 富田啓文 (2004): 植物防疫 58: 33 ~ 37.
- 9) 津幡建治ら (1999): 特開平 11-199575.
- 10) 梅谷訓永ら (2002): 日本植物病理学会報 68: 264.
- 11) YASUDA, M. et al. (2004): J. Pestic. Sci. 29: 46 ~ 49.
- 12) ——— (2006): J. Pestic. Sci. 31: 329 ~ 334.
- 13) 八十川伯朗ら (2005): 日本農薬学会第30回大会講演要旨集: 41.
- 14) 山口 勇 (2003): 日本の農薬開発: 18 ~ 32.
- 15) YAMAGUCHI, I. and M. FUJIMURA (2005): J. Pestic. Sci. 30: 67 ~ 74.
- 16) 山下真生ら (2006): 日本植物病理学会報 72: 246.

(新しく登録された農薬 16 ページからの続き)

「殺菌剤」

- シモキサニル・ベンチアバリカルブイソプロピル水和剤
21991: エキナイン顆粒水和剤 (日本曹達) 07/08/01
シモキサニル: 60.0%, ベンチアバリカルブイソプロピル: 10.0%
ばれいしょ: 疫病: 収穫 7 日前まで
- メトコナゾール水和剤
21997: 芝美人フロアブル (クレハ) 07/08/01
メトコナゾール: 20.0%
芝 (ベントグラス): グラスボット病, 葉腐病 (ブラウンパッチ), 炭疽病: 発病初期
芝 (日本芝): 葉腐病 (ラージパッチ): 発病初期

「除草剤」

- オキサジアルギル・オキサジクロメホン水和剤
21990: サプライズフロアブル (バイエルクロップサイエンス) 07/08/01
オキサジアルギル: 17.0%, オキサジクロメホン: 15.0%
日本芝: 一年生雑草
- グリホサートイソプロピルアミン塩・フルミオキサジン粉粒剤
21992: グラスジャック微粒剤 (日本グリーン&ガーデン) 07/08/01
21993: ネコソギ W クイック (レインボー薬品) 07/08/01

グリホサートイソプロピルアミン塩: 3.0%, フルミオキサジン: 0.10%

樹木等 (公園, 庭園, 堤とう, 駐車場, 道路, 運動場, 宅地, 鉄道等): 一年生雑草, 多年生広葉雑草

- ピリフタリド・プレチラクロール・ベンスルフロンメチル水和剤

21996: アピロトップ L フロアブル (シンジェンタシード) 07/08/01

ピリフタリド: 3.0%, プレチラクロール: 12.5%, ベンスルフロンメチル: 1.5%

移植水稻: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ウリカワ, ミズガヤツリ, ヒルムシロ, セリ (北陸を除く), アオミドロ・藻類による表層はく離 (関東・東山・東海を除く)

- プロジアミン水和剤

21998: クサブロック (シンジェンタジャパン) 07/08/01
プロジアミン: 65.0%

日本芝: 一年生イネ科雑草, 一年生雑草 (キク科を除く)

西洋芝 (バーミューダグラス): 一年生イネ科雑草, 一年生雑草 (キク科を除く)

西洋芝 (ベントグラス): 一年生イネ科雑草, 一年生雑草 (キク科を除く)

西洋芝 (ブルーグラス): 一年生イネ科雑草, 一年生雑草 (キク科を除く)

樹木等 (公園, 堤とう, 駐車場, 道路, 運動場, 宅地, のり面, 鉄道等): 一年生雑草 (キク科を除く)