学会受賞論文

(業績賞)

植物病原菌のライフ・サイクルに立脚した殺菌剤の開発

本間保男, 有本裕

理化学研究所

Fungicides Developed on the Basis of the Life Cycles of Plant Pathogens

Yasuo HOMMA and Yutaka ARIMOTO

The Institute of Physical and Chemical Research, Wako, Saitama 351, Japan

There are 1,200 crop diseases caused by pathogenic fungi in Japan. Control of these diseases is of vital importance to a sufficient and stable supply of foodstuff. The development of safe agricultural chemicals free of mammalian toxicity and environmental pollution are urgently needed. The authors believe the protection against processes of infection to be one of the most important factors in combatting fungal diseases. The processes of rain-borne and air-borne fungal infections were investigated with reference to various growth stages in their life cycles after they were noted on the surface of a host plant. We isolated antifungal substances, including citrinol and one of the phytoalexins, and their chemical structures were determined. Furthermore, studies were made on the response of host plants to stimulations by causal fungi. On the basis of information obtained, especially on the nature of the relationships between host plants and parasites, the successful development of two fungicides, soybean lecithin and sodium bicarbonate, was made. The former has a preventive effect against vegetable powdery mildews, and the latter has a curative effect against vegetable, rose, apple and pear powdery mildews in particular. Because of the non-mammalian-toxicity of both soybean lecithin and sodium bicarbonate, they are expected to be useful for application during crop harvest.

諸 言

植物病原菌に起因する農業作物の病害は約 1,200 種に及ぶ¹⁾。病害による収穫の減収は約 20% と概算されている。これら病害の防除は食糧確保の面からきわめて重視され、主要な防除薬剤の数は約 100 種とされており、人畜毒性など安全性で問題ない薬剤は少なく、その開発が望まれている。糸状菌による病害防除のために重要な要因と考えられる一つに伝染経路がある。糸状菌の伝染経路には大きくは雨媒伝染、風媒伝染、土壌伝染とがある。筆者らはこの三つの伝染経路のうち、相対比しうるものとして前二者、すなわち雨媒伝染および風媒伝染の各数例を取り上げ、これら代表例の生活史の中で展開される寄主植物体への到達から生活史中の主要な生育過程

を追及し、あわせて病原体による刺激に対して誘導された寄主植物の反応についても追及し、得られた知見を元にして新殺菌剤の開発を試みた。

植物病原菌の life cycle の観察

1. カンキツ黒点病菌 (*Diaporthe citri*: 雨媒伝染) の life cycle

カンキツ黒点病と軸腐病はともに同一病原菌 *Diaporthe citri* (Faw.) Wolf に起因する病害である。黒点病は圃場のカンキツの葉、枝、果実(樹上果)に発生し、軸腐病は貯蔵中の果実に発生する。ともに被害が大きく、カンキツ産業上重視すべき病害である。

黒点病菌 (*D. citri*) はカンキツ枯枝上に柄子殻を形成し、柄子殻中の柄胞子が降雨の際に水滴や飛沫とともに

Fig. 1 Seasonal changes of citrus melanose and stem-end rot disease.

Table 1 Relation of period of wetness to infection.

Period of wetness (hr)	Development of disease (%) ^{a)}	
	Leaf	Fruit
10	0	0
12	0	24
14	30	24
16	30	20
18	70	24
20	80	32
22	80	28
24	80	64

^{a)} Percentage of disease development with 10 drops on leaf and 25 drops on fruits at 25°C.

飛散し、カンキツの若い枝葉、果実などに付着し、小黑点状、ときに涙斑状または泥塊状の病斑が生じる。果実はそのために著しく外観を損ずるが、樹上で腐敗（軸腐病）に至ることはない (Fig. 1)。黒点病の発生要因について検討したところ、果実や葉などが本病菌により感染するには降雨による「ぬれ」の時間が密接な関係を有し、25°C 付近で最短 12 時間以上ぬれていることが必要で²⁾、実験室においてこの時間は発芽の maximum に一致する (Table 1)。また最適温度 (25°C) では発病まで 1~2 日間、10°C では 7 日間の潜伏期間を要した。気孔 (67%) およびクチクラ貫通した菌糸はすべてクチクラ下菌糸を形成し、その後表皮細胞内に侵入し、壁内を伸長して細胞縫合部から、あるいはさらに、細胞縫合部の細胞壁内を伸長し、表皮細胞壁内に侵入後、生育が抑制されていた (Fig. 2)³⁾。

また、表皮細胞の細胞壁内および縫合部の細胞壁内で、生育を阻止された菌糸も認められ、そのほとんどは

Fig. 2 Hyphal invasion of cell wall of epidermis 20 days after inoculation.

cu: cuticle layer, ep: epidermal cell, ph: penetrated hyphae.

Picture by transfer electron microscope (TEM).

死滅しており、組織内には菌糸生育を抑制する因子の存在が示唆された。果実に対する感染期間は温度あるいは「ぬれ」の時間に支配され、6 月上旬、中旬から 9 月下旬ないし 10 月上旬ごろまでと考えられた。このような長期にわたって感染が起こり、発病するが、いずれも皮層に黒点が生じるのみで、樹上で全果が腐敗することはほとんど認められなかった。一方、果実を収穫し貯蔵した場合には 3 月中、下旬から軸腐病が著しく発生した (Fig. 1)⁴⁾。

病原菌が果実内部へ侵入する経路については現在までにいくつかの説が提出されている。そのひとつは果実のがく下部に果盤があり、果実の成熟につれて、果盤下に離層が形成され、果盤周辺の病原菌がその間隙から果実内部へと侵入するというものである⁵⁾。

Table 2 Occurrence of stem-end rot in Satsuma mandarin fruits after tree inoculation with *D. citri*.

Part inoculated ^{a)}	Total pieces of fruit ^{b)}	No. of fruits with stem-end rot						Total	Percentage
		Feb.		Mar.		Apr.			
		14	28	14	28	12	28		
Mother branch	74	1	0	0	1	2	10	14	19
Bearing shoot	69	0	0	0	0	1	2	3	4
Pedicle	61	1	2	5	1	2	2	13	21
Uninoculated	68	1	0	0	0	0	0	1	2

Mother branch with bearing shoot

^{a)} Inoculation was done on 10th September.^{b)} Fruit was picked on 4th December.

本研究では病原菌の侵入は果梗、結果枝などの傷口から容易に行なわれ、無傷の場合でも侵入可能であると認められた (Table 2)⁴⁾。いったん果梗部などから侵入した病原菌は維管束を通じて果盤までは容易に移動するが、そこに潜伏して樹上ではそれ以上容易に侵入しえないことが確かめられた。貯蔵後期に果盤を通過した病原菌は三つに分岐した側面、背面、腹面維管束を通して周辺に蔓延しながら果頂部へ進展し、果梗基部から腐敗を起こし、ついに全果が腐敗するものであることが確かめられた⁴⁾。

2. 病原菌侵入に対応した植物体の反応

若い枝葉や樹上果が黒点病菌の感染を受けても腐敗しない原因を知るために果実の果皮油胞内部、油胞貫通、および油胞間に針で付傷し、病原菌を接種すると油胞内部付傷区では腐敗が認められず、油胞液をガラス毛细管でぬき取りその 25~100% 溶液中の柄孢子発芽および発芽管伸長は 75% 液中で抑制され、90% 溶液以上ではすべて発芽が抑制された (Table 3)。このことからカンキツ果実の果皮には本菌の侵入を抑制する因子の存在が考えられた^{1,6,7)}。

そこで、カンキツ果実の果皮を碎き、有機溶媒で抽出を試みたところ、病原菌柄孢子発芽を著しく阻害する画分が得られた⁹⁾。この画分をさらに溶媒で処理したのち、LH-20 カラムクロマトグラフィで分子ふるいを行

Table 3 Effect of concentrations of oil gland juice on conidial germination of *D. citri*.

Conc. of oil gland juice ^{a)}	Conidial germination (%)	Index of germ tube length ^{b)}
25	100	100
50	100	100
75	11.5	16.5
85	3.0	14.5
90	0	0
100	0	0

^{a)} Oil gland juice was diluted in distilled water.^{b)} Index of germ tube length (X) was calculated by the following equation:

$$X = \{(1n_1 + 2n_2 + 3n_3 + 4n_4 + 5n_5)/5N\} \times 100,$$

where n_1 - n_5 indicate the number of conidia with germ tube length equal to less than four times, less than ten times, less than fifteen times and more than fifteen times of major axis of conidia, respectively. Observation was done 24 hours after dropping conidial suspension.

ない、OD 380 nm の 1 ピークから淡黄色針状結晶を単離した⁹⁾。本物質は中性および酸性側では水に不溶であるが、アルカリ性側ではよく溶けるため、炭酸水素ナト

リウムの溶液に溶解し、黒点病菌柄胞子の発芽に及ぼす影響を調べたところ、柄胞子の発芽は強く阻害された。後に炭酸水素ナトリウムが *Penicillium digitatum* に効果のあることを見いだしたのは本実験によって誘導されたものである¹⁰⁾。本物質は元素分析、UV吸収、IR、MS、および nmr など機器解析の結果、5,7,4'-trihydroxy-6'-methoxyfravanone ($C_{16}H_{14}O_6$) と推定され、シトリノール (citrinol) と命名された^{9,11)}。

このように果皮抽出液中には病原菌をあらかじめ阻害する因子が分布する。ここでとくに注目したいのは病原菌が果実深部へ進展していくさい、長い場合には9カ月間にもわたり抑制を受ける果梗基部のうちとくに果盤から果盤直下の組織はきわめて重要な役割を演じていると考えられた点である。果梗基部を果盤、果盤下組織、その部位に接続する維管束の3部分に分離した。これらから溶媒抽出を試み、各区分が病原菌柄胞子発芽に抑制作用を有するか否かを調べた。その結果、果盤から果盤下組織の抽出区分では柄胞子発芽および発芽管伸長を顕著に阻害した (Fig. 3)。この区分から結晶を除くと両 stage への抑制作用が消失してしまうことを認めた¹²⁾。一方、走査電顕観察の結果、離層が形成される部位から下部 (果盤下組織) に多量の結晶が析出している状況が観察された。これら結晶を溶媒抽出し、確立された方法によって再結晶化を行なった。得られた結晶の物理、化学的性質は前記果実表皮に分布する結晶と一致した¹³⁾。収穫直後 (11月下旬)、貯蔵後期 (3月上旬)、貯蔵末期 (4月上旬) のそれぞれの果実の果盤下組織からの抽出区分の柄胞子発芽に及ぼす影響を citrinol の含有量と比較した。収穫直後では柄胞子の発芽は強く阻害され、多量の citrinol が得られたが、貯蔵の後期および末期の抽出区分では柄胞子の発芽はほとんど抑制されず、また citri-

nol はほとんど得られなかった。果盤下組織の抽出液の柄胞子発芽阻害効果と citrinol の量との間には平行関係がみられた。したがって、本病原菌が果実の果梗基部に長い間潜伏するのは果盤下組織から内部への蔓延が阻止されているためである。しかし果実の貯蔵後期には結晶が消失していき、4月下旬には走査電顕観察でも有機溶媒抽出でも citrinol はほとんど認められなくなった。これは果実がいったん収穫されると citrinol の合成は中断され、果実内に蓄積されていた citrinol が代謝されるためと思われる。このようにカンキツは病原菌による感染以前に抑制因子を生合成し、果実などの腐敗から自らを保護する働きを有する。

一方、黒点病の病斑形成過程における観察結果から、病原菌の侵入を受けた細胞では細胞質が顆粒化し、つづいて褐変した。病原菌接種7日後には約4層の細胞が褐変し、やがて葉の面に垂直あるいは褐変部を中心とした放射状に異常分裂して細胞群が形成された¹⁴⁾。形成された病斑上に柄胞子を接種したところ、発芽率は96%抑制された。罹病部位からエタノール抽出を試みて、生体重の10倍に希釈した抽出液は柄胞子発芽を100%抑制した。罹病および健全部の抽出液の *tlc* の結果では、健全区には見られないスポットが罹病区から検出され (Fig. 4)、その溶出液から針状結晶が単離された。本物

Fig. 3 Relation between extract of each part of stem-end and inhibition of *D. citri* growth.

Fig. 4 Separation of a phytoalexin in melanose spots on silica gel G layer.

Solvent; Benzene : Acetone (4 : 1).

Visualization in UV light.

1: alcoholic extract of melanose spots on citrus,

2: isolated phytoalexin, 3: alcoholic extract of healthy tissues of citrus.

Fig. 5 Defense mechanisms of citrus against *Diaporthe citri*.

質は柄孢子発芽に抑制効果を有し、ファイトアレキシンの一種と推定された¹⁵⁾。そのほか4種のファイトアレキシシンが単離された。一方、病斑組織の抽出区分には大別して二つの活性区分が見いだされた。一つは表皮細胞の褐変に關する因子であり、他は細胞の伸長、肥大および分裂に關する因子で、これはカルス形成を誘導するものである。解剖学的觀察から細胞の褐変、ファイトアレキシシンの生成、細胞の異常分裂、カルス形成、周皮形成の一連の現象は黒点病斑のみならず、そうか病菌の侵入、銅の薬害、人工的傷害などによっても誘導された。しかし、この一連の反応は表皮細胞を除去した部位では見られないことから考え、外部から与えられた傷などに対する防衛反応と考えられる¹⁶⁾。現在褐変因子および細胞分裂誘導因子の単離を試み、異常分裂機構の究明中である。寄主植物であるカンキツは本来あらかじめ抑制因子を生合成によって貯えるが、新たな病原菌などの侵入による刺激に対し、ファイトアレキシシンをも生合成することによって2重に抑制作用を試み、与えられた傷に対しては細胞の異常分裂、カルス形成、周皮形成によって修復を試みるわけである (Fig. 5)。これら得られた知見は防除薬剤の開発にきわめて有力な資料となった。

3. ピーマンうどんこ病菌 (*Leveillula taurica*: 風媒伝染) の life cycle

ピーマンの裏面葉上における *Leveillula taurica* (Lév.) Arn. の分生孢子の発芽は接種後 2~3 時間で 70% に達した。各分生孢子の発芽管は1本であり、接種後3時間で発芽管の先端には付着器を形成しはじめた。付着器は2種類のものが観察され、発芽直後に形成されるこぶし状のものと菌糸がかなり伸長した後に形成される橋脚状のものが見られた。後者は2分岐性を有し、3回の分岐を経て橋脚状を呈した。これらの付着器は吸器を形成することなく、たんに発芽管あるいは菌糸を葉面に固定する役割を演じているようである。菌糸は、はじめ曲がりくねって伸長し、直接気孔から内部へ侵入する例も見られたが、多くの場合は分岐して、侵入した。最初の侵入が終わった後もさらに伸長しながら分岐し、分岐した菌糸の先端が気孔から侵入する場合もあった¹⁷⁾。

L. taurica はうどんこ病菌の中でも数少ない内部寄生性うどんこ病菌とされている¹⁸⁾。したがって、本菌はいったん気孔から侵入、葉組織内で増殖の後、再び気孔から外部へ分生子柄、分生孢子を突出する。しかし、本菌は外生菌糸を形成し、その上にも分生子柄ならびに分生孢子が形成され (8%)、必ずしも内部寄生性菌としての

性質だけではないことが認められた¹⁹⁾。これは従来の知見では知らなかった事実である²⁰⁾。分生子柄形成後約20時間で分生子柄先端に第一分生孢子が形成された。第一分生孢子は舟形を呈したが、次に形成される分生孢子は円筒型で、両者の形態は著しく異なった。また分生子柄は時に分岐し、それぞれに分生孢子的形成することも認められた。分生孢子は表面に多くの刺状突起を有した。このような突起は分生子柄上にも認められ、分生孢子直下から分生子柄の約3分の2のところまで形成されるが、分生子柄基部にはまったく認められなかった¹⁹⁾。分生孢子はきわめて付着しやすいく、またスライドグラス上で移動すると分生孢子的の跡がまれにつくことなどから、分生孢子的の表面には粘着物質が分泌されているのではないかと考えられる。感染部位は100%葉の裏面の気孔を通してである。そのほか風媒伝染性の病原菌としてキュウリうどんこ病菌の生育過程を検討した。分生孢子的の発芽には1~2日、分生孢子的形成には5~7日を要すること、20°C以下の温度条件が加わることによって子のう殻形成に至ることを明らかにした²¹⁾。

植物病原菌の生育過程阻害実験法の確立

生育過程について同一実験系で検討できる方法を探索し、タマネギりん片法を確立した²²⁾。タマネギ第3~4層りん片裏面表皮1cm角を湿室に保ち、イネいもち病菌、カンキツ黒点病菌など発芽時に水滴を必要とする病原菌の孢子懸濁液を点滴し、孢子発芽、付着器形成、付着器侵入、分生子柄形成あるいは柄子殻形成、分生孢子的形成などを観察し、または薬液中での生育過程ないしは水滴と薬液とを交換することによって各生育過程に及ぼす薬剤の影響をも観察することが可能となった^{23,24)}。以上雨媒伝染性、風媒伝染性または両性質をあわせもつ病原菌など数例の生育過程の観察結果に基づき、殺菌剤の選抜を試みた。

1. 病原菌の life cycle から考えた殺菌剤の選抜方法

1) 予防的効果

供試植物体にあらかじめ供試剤を散布し、風乾後に病原菌の接種を試みる方法である。この方法では、①病原菌の発芽、②付着器形成、③病原菌の宿主植物体への侵入などに及ぼす薬剤の影響が推定できる。

2) 治療的効果

供試植物体にあらかじめ供試菌を接種し、所定時間後に供試剤を散布し、①病原菌の分生子柄形成、②病原菌の分生孢子的形成、③病斑形成などに及ぼす薬剤の影響が推定できるものである。

In vitro の実験結果によると、大豆レシチンは予防的

に処理することによって、病害防除効果を発揮することが示された。一方、重曹はキュウリうどんこ病菌の分生孢子的を破壊する働きがあることから接種5日後に発生した病斑に供試剤散布を試み、病斑の消失あるいは病斑の異常を調査し、以後製剤方法に検討を加えた。両実験法実施にさいしては供試菌の生育過程の基礎的知識が重要と考えられる。

2. 病原菌の life cycle に着目した作用機構

上記雨媒伝染性病原菌 (*Diaporthe citri*)、風媒伝染性病原菌 (*Leveillula taurica*, *Sphaerotheca fuliginea*) および風媒-雨媒伝染性病原菌 (*Pyricularia oryzae*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*) などの生育過程の観察結果から、供試剤の適用時期を検討し、それによって供試剤の特徴を把握した。同時に細部にわたる各生育過程に供試剤を処理することにより、作用機構解明に役立つことを明らかにした。

大豆レシチンおよび重曹農薬の開発

1. アミノ酸農薬

約1,000種のアミノ酸誘導体について、4.5あるいは5.5葉期のイネ苗を供し、いもち病予防効果を検討し、7種の有効物質を得た (Table 4)^{25,26)}。その中から *N*-lauroyl-L-valine を選び、化学構造と抗いもち病活性について検討した。*N*-lauroyl-L-valine の構成成分である lauric acid, L-valine の単独または混合では予防効果はきわめて低く、アミノ酸の異性体の間で活性を比較すると $D \geq L > DL$ の順であった。*N*-lauroyl-L-valine の Na, K, Ca 塩およびメチル、エチル各エステルの間では Na, K 塩だけが遊離酸と差がなかったが、その他のものは劣り、valine を他のアミノ酸で置き換えた場合には、L-proline, L-methionine, L-leucin, DL-alanine などに L-valine と同程度の効果が認められた。一方 lauric acid (C_{12}) を他の脂肪酸で置き換えた場合には、脂肪酸部分の炭素数が C_{12} より増加あるいは減少するにつれて予防効果が低下した。そこで予防効果のある *N*-lauroyl-L-valine がいもち病菌の生活史すなわち孢子発芽、付着器形成、菌糸侵入、菌糸伸長ならびに孢子形成などの生育過程のどこにもっとも作用するかを調べ、さらに D-異性体および DL-体との比較を試みた。L-体、D-体および DL-体の Na 塩はいずれも付着器形成をもっとも強く、ついで菌糸伸長を阻害した²⁷⁾。また *N*-lauroyl-L-valine をいもち病菌菌糸に作用させると、260, 280 nm 吸収物質の漏出が認められ、その漏出量は防除価とよく関連した。漏出物質は数種の核酸関連物質、蛋白質、アミノ酸、ブドウ糖などで、非特異的であ

Table 4 Effective amino acid derivatives against rice blast.

Amino acid derivatives	Concentration (ppm)	Preventive value (%)		Phytotoxicity
		Two days ^{a)}	Two hours ^{a)}	
<i>N</i> -Lauroyl-glycine	500	22	41	—
	1,000	55	51	—
	2,000	66	61	—
<i>N</i> -Lauroyl-L-valine	500	65	75	—
	1,000	70	88	—
	2,000	84	97	—
Dodecyl-DL-alaninate·HCl	500	69	72	—
	1,000	70	75	—
	2,000	80	86	—
Dodecyl-DL-valinate·HCl	500	44	75	—
	1,000	76	72	—
	2,000	80	83	—
<i>N</i> -Phenacetyl-glycine	500	23	44	—
	1,000	45	57	—
	2,000	69	66	—
<i>N</i> - α -Naphthylacetyl-L-valine	500	46	55	—
	1,000	50	67	—
	2,000	61	78	—
<i>N</i> - α -Naphthylacetyl-L-leucine	500	50	50	—
	1,000	57	68	—
	2,000	75	81	—
None	0	0	0	—

^{a)} Time till inoculation after amino acid derivative treatment.

Table 5 The effect of food additives on various plant diseases.

Food additives ^{a)}	Preventive value (%)					
	Rice		Citrus		Cucumber	
	Blast	Leaf blight	Melanose	Canker	Anthracnose	Powdery mildew
Soya lecithin	74	75	20	12	42	75
Sodium polyphosphate	40	50	21	13	8	12
Calcium chloride dihydrate	61	67	7	31	61	21
Ferrous lactate	29	0	—	50	53	8
D-Tartaric acid	61	36	15	17	29	11
DL-Tartaric acid	53	24	26	39	44	34
Glycerine	53	16	84	24	0	62
Check	0	0	0	0	0	0

^{a)} Concentration was tested at 2,000 ppm.

った。また異性体の浸透力の強さは、 $L > DL \geq D$ の順であり、菌体内物質の漏出量も、 $L > DL > D$ の順であって、*N*-lauroyl-L-valine はいもち病菌糸に対して、界面活性剤として作用し、菌糸表層を変性させ、菌体内物質を漏出させると考えられる²⁸⁾。

2. 大豆レシチン農業

多数の食品添加物の植物病害防除活性を検討した。その一つの大豆レシチンはイネいもち病などの予防効果のあることが認められた (Table 5)^{29,30)}。大豆レシチンは天然由来の物質で、コレステロール排泄剤など医薬とし

Fig. 6 ED₅₀ values of isomers of *N*-lauroylvaline for each growth stage of *P. oryzae*.

Δ: Sodium *N*-lauroyl-L-valinate, ●: Sodium *N*-lauroyl-D-valinate, ○: Sodium *N*-lauroyl-DL-valinate.

て用いられ、食品用乳化剤でもある。そこで本剤の特徴を知るためにいもち病菌を供し、その生育過程に及ぼす本薬剤の影響を検討した。それによると、大豆レシチンは 5ppm の低濃度で、いもち病菌の侵入を特異的に阻害した。また本剤は 10ppm 以上で分生胞子の形成を 60% 阻害し、500ppm では付着器の形成を約 80% 抑制し、さらに 1,000ppm ではほぼ完全にそれを抑制した (Fig. 7)。一方、キュウリうどんこ病菌の場合には、大豆レシチンは分生胞子の発芽や菌糸伸長には顕著な阻害作用を示さなかったが、処理葉面上で伸長した菌糸の先端部周縁に薄膜が形成され、新たに形成された分生胞子が分生子鎖から離脱できずに、そのままたれ下がり破裂し³¹⁾、このような分生胞子は病原性を失っていた (Fig. 8)³²⁾。このような特徴をいかして本剤は野菜類うどんこ病の予防的防除薬剤として現在実用化されている。

3. 重曹農薬

カンキツ果皮、果盤下組織に分布する病原菌抑制物質 citrinol は水不溶、アルカリ可溶性であるために炭酸水素ナトリウム (重曹) の水溶液に溶解された。この citrinol 水溶液は *D. citri* に有効であったので *P. digitatum* に対する活性を検討中に、重曹が *P. digitatum* に効果のあることを見いだした^{33,34)}。重曹は胃酸過多症、胸やけ、痛風、尿酸過多、アシドーシス性疾患などの医薬として、またふくらし粉、パン、ビスケットなどの食品

添加物として用いられている安全性の高い物質であり、河川、海水など自然界や動植物体内にもイオンの形で分布する必須な微量成分でもある (Table 6, 7)^{35,36)}。したがって安全農薬開発の観点から検討を加え、重曹をカンキツ緑かび病のほかにキュウリうどんこ病にも適用し、効果のあることが確認された³⁷⁾。しかし散布後の風乾によって結晶が葉面の毛耳やその根元などに析出し、効果が不安定であった³⁸⁾。そのために界面活性剤などを添加して結晶化を抑え、均一に葉面に付着させることによって効果の安定化を試みた³⁹⁾。5種の乳化剤、大豆レシチン、グリセリン脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、コンドロイチン硫酸ソーダ、シヨ糖脂肪酸エステル 0.1% を添加することにより、重曹のミカン緑かび病防除効果は助長ないしは安定化する傾向であった³⁹⁾。またこれらの乳化剤のうち、コンドロイチン硫酸ソーダ、グリセリン脂肪酸エステル、シヨ糖脂肪酸エステルの添加により、キュウリうどんこ病の治療効果は助長されることがわかった⁴⁰⁾。一方、界面活性剤では、カチオ

Table 6 Usual components in river water (mg/l).

Ion	Japan	World
Na ⁺	6.7	6.3
K ⁺	1.19	2.3
Mg ²⁺	1.9	4.1
Ca ²⁺	8.8	15.0
Cl ⁻	5.8	7.8
HCO ₃ ⁻	31.0	58.4
SO ₄ ²⁻	10.6	11.2
Fe	0.24	0.67
SiO ₂	19.0	13.1

(Ikkoku, 1972)

Table 7 Grams and percentages of ions contained in 1 kg seawater (chlorine 19%).

Ion	g/kg	%
Cl ⁻	18.980	55.04
Br ⁻	0.065	0.19
BO ₄ ²⁻	2.649	7.68
HCO ₃ ⁻	0.140	0.41
F ⁻	0.001	0.00
HBO ₃	0.026	0.07
Mg ²⁺	1.272	3.69
Ca ²⁺	0.400	1.16
Sr ²⁺	0.013	0.04
K ⁺	0.380	1.10
Na ⁺	10.556	30.61
Total	34.482	99.99

(Rikanenpyo, 1966)

Fig. 7 Effect of soybean lecithin on the appressorial morphology of *Pyricularia oryzae*.
 1: A conidial germination on the control rice leaf. c: conidium, g: germ tube, a: appressorium, r: rice leaf surface.
 2: A conidial germination on soybean lecithin treated rice leaf. No appressorium formed on the treated leaf. c: conidium, g: germ tube, r: rice leaf surface.

Fig. 8 Effect of soybean lecithin on the conidial morphology of *Sphaerotheca fuliginea*.
 1: A conidiospore on the control cucumber leaf 13 days after inoculation. c: conidiospore.
 2: A conidiospore on the lecithin (2,000 ppm) treated cucumber leaf 13 days after inoculation. c: conidiospore.

ン系界面活性剤 0.1% の添加によって、カンキツ黒点病抑制効果が発揮され、また非イオン系ならびにカチオン系界面活性剤 0.01% の添加によって、イネいもち病

の抑制効果が助長された。一方、アニオン系界面活性剤の添加によって、ピーマンならびにキュウリうどんこ病の発生が抑制された³⁹⁾。

以上の実験結果から、重曹に添加する補助剤の選び方には法則のようなものがある。すなわち雨媒伝染性病原菌 *D. citri* (柄胞子は水滴中で発芽) の防除には重曹-カチオン、風媒-雨媒伝染性の *P. oryzae*, *P. digitatum* (分生胞子は水滴中で発芽) には重曹-非イオン系あるいは一部カチオン、アニオン系、また風媒伝染性病原菌 *S. fuliginea*, *L. taurica* など (分生胞子の発芽に水滴不要)

には重曹-アニオン系組合せで防除効果がすぐれていることであった。

またグリセリン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステルは重曹のこれらの病害に対する防除効果を安定的に高めた。そこでわれわれは、安全性の点から、グリセリン脂肪酸エステルを補助剤として選び、重曹製剤を調製した。本剤の作用特性を知る目的で、キュウリうどんこ病

Fig. 9 Effect of sodium bicarbonate formulation on the conidial morphology of *Sphaerotheca fuliginea*. 1: Newly formed conidia and conidiophores (Check). c: conidium, cp: conidiophore, m: mycelium. 2: Sodium bicarbonate formulation (2,000 ppm) treated conidia and conidiophores. Conidia were not burst, but were deformed by the treatment and small unidentified projections appeared on their surfaces. c: conidium, cp: conidiophore, m: mycelium.

Fig. 10 Diagram of growth stage of *Sphaerotheca fuliginea* and inhibitory site of SBC formulation.

Arrow indicates sodium bicarbonate formulation (SBC) treatment.

1: Normal, 2: SBC treatment before inoculation, 3: SBC treatment after inoculation, 4: SBC treatment at hyphal elongation, 5: SBC treatment at the emergence of conidiophore, 6: SBC treatment at conidial formation, 7: inoculation of SBC treated conidia.

菌 *S. fuliginea* の各生育過程に及ぼす影響を検討し、次のような結果が得られた。1) 直接重曹製剤 2,000 ppm を散布することによって、分生孢子発芽の 80~100% を阻害した。2) 菌糸伸長には水処理と大差はなく、強い阻害効果は認められない。3) 分生子柄形成の抑制率は 38% であって、あまり抑制的ではなかった。4) 分生孢子形成は約 20 時間で無処理区 1 分生子柄当り 5 個であったが、重曹製剤処理区ではまったく形成されなかった。5) 新生分生孢子に重曹製剤を処理したところ、表面に小突起ができ (Fig. 9)、わずかな圧力で細胞壁が破れ、内容物がとび出した。このような分生孢子を接種しても発病にいたらず、そのうえ、重曹製剤は分生孢子の飛散を著しく抑制した (Fig. 10)⁴¹⁾。なおトップジン、ベンレート、TBZ 耐性 *P. digitatum*, *P. italicum* およびモレスタン耐性 *S. fuliginea* に対し、著しく抑制的であった⁴²⁾。

本剤は治療的効果がすぐれているので、その特徴を生かし野菜類うどんこ病防除薬剤として登録申請中であるが、その他バラ、リンゴ、ナシなどの果樹類うどんこ病のほか、カンキツ貯蔵病害である緑かび病や青かび病にも有効であるので^{43,44)}、現在適用病害の拡大を進めている。

以上殺菌剤開発に先立ち、供試病原菌のライフ・サイクルに基づく生育過程を究明し、そのさいに病原菌の感染に対応して示される寄主植物の反応をも重視しながら検討を進めた。これらの基盤に立ち、供試化合物の施用方法などを検討し、新農薬を創製した。今後この方向での研究をいっそう発展させる予定である。

本研究遂行にあたり、ご指導とご助言をいただいた理化学研究所微生物薬理研究室主任研究員見里朝正博士に心から感謝いたします。ご協力いただいた関係者、室員諸氏に謝意を表わします。果樹試験場支場長山田駿一博士、農林水産技術情報協会理事北島 博博士、農林水産技術会議事務局長岸 国平博士には研究途上において種々有益なご助言を賜り、東京大学名誉教授与良 清先生には終始懇切なご指導を賜り、また神戸大学松中昭一教授には適切なご助言と試薬の分与をいただいた。ここに感謝申し上げます。レシチン農薬の開発研究にさいしては味の素(株)の関係者、重曹農薬の製剤化にあたっては、理研ビタミン(株)日高 徹部長はじめ各位、および保土谷化学(株)中研生物試験室の関係者各位の多大なご協力をいただいた。ここに謝意を申し述べる次第です。

引用文献

- 1) 日本有用植物病名目録 1 (1975), 2, 3 (1965)
- 2) 本間保男・山田駿一: 園試報告 **B 9**, 85 (1969)
- 3) 有本 裕・本間保男・見里朝正: 日植病報 **46**, 575 (1980)
- 4) 本間保男・山田駿一: 園試報告 **B 9**, 99 (1969)
- 5) G. E. Brown & W. C. Wilson: *Phytopathology* **58**, 736 (1968)
- 6) 本間保男・有本 裕・見里朝正: 日植病報 **45**, 9 (1979)
- 7) 本間保男・高橋広治: 科学 **45**, 538 (1975)
- 8) 本間保男・有本 裕・見里朝正: 日植病報 **40**, 180 (1974)
- 9) 本間保男・有本 裕・見里朝正: 日植病報 **45**, 81 (1979)
- 10) 本間保男: 今月の農薬 **23**, 104 (1979)
- 11) 本間保男・有本 裕・見里朝正: 日植病報 **40**, 180 (1974)
- 12) 本間保男: 植物防疫 **29**, 138 (1975)
- 13) 本間保男・高橋広治・有本 裕・見里朝正: 日植病報 **43**, 322 (1977)
- 14) 有本 裕・本間保男・見里朝正: 日植病報 **45**, 543 (1979)
- 15) 有本 裕・本間保男・見里朝正: 日植病報 **46**, 63 (1980)
- 16) 有本 裕・本間保男・見里朝正: 日植病報 **45**, 543 (1979)
- 17) Y. Homma, Y. Arimoto, H. Takahashi, T. Ishikawa, I. Matsuda & T. Misato: *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* **46**, 140 (1980)
- 18) E. S. Salmon: *Ann. Mycol.* **3**, 82 (1905)
- 19) Y. Homma, H. Takahashi, Y. Arimoto, T. Ishikawa, I. Matsuda & T. Misato: *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* **47**, 143 (1981)
- 20) E. S. Salmon: *Ann. Bot.* **20**, 187 (1906)
- 21) 本間保男・有本 裕・見里朝正: 日植病報 **46**, 377 (1980)
- 22) 本間保男・高橋広治・有本 裕・小島文栄・見里朝正: 日植病報 **43**, 70 (1977)
- 23) K. Tomono, Y. Arimoto, Y. Homma & T. Misato: *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* **45**, 444 (1979)
- 24) 本間保男・有本 裕・見里朝正: 農薬誌 **5**, 611 (1980)
- 25) Y. Homma, T. Shida & T. Misato: *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* **39**, 90 (1973)
- 26) 志田俊郎・本間保男・見里朝正: 農化 **48**, 515 (1974)
- 27) Y. Homma, T. Nakajima, T. Shida & T. Misato: *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* **39**, 338 (1973)
- 28) T. Shida, Y. Homma & T. Misato: *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* **47**, 175 (1981)
- 29) T. Misato, H. Wakamatsu, T. Natsume, A. Yoshioka & K. Kishi: *Ann. Phytopathol. Soc.*

- Jpn.* **41**, 73 (1975)
- 30) 本間保男: 植物病理化学最近の進歩, 富山宏平他編, 植物病理化学最近の進歩刊行会, p. 173, 1978
- 31) Y. Homma, H. Takahashi, H. Mizuno & T. Misato: *J. Pesticide Sci.* **2**, 33 (1977)
- 32) 本間保男・有本 裕・松田 泉・石川武丕・見里朝正: 日本農薬学会第2回大会講演要旨集, p. 112, 1977
- 33) Y. Arimoto, Y. Homma & T. Misato: *J. Pesticide Sci.* **2**, 163 (1977)
- 34) 本間保男: 今月の農薬 **24**, 102 (1980)
- 35) 一国稚己: 無機地球化学, 培風館, p. 50, 1972
- 36) 東京天文台編纂: 理科年表 (1966)
- 37) 有本 裕・本間保男・石川武丕・小島文栄・松田泉・見里朝正: 日本農薬学会第2回大会講演要旨集, p. 203, 1977
- 38) 本間保男・有本 裕・石川武丕・松田 泉・見里朝正: 日本農薬学会第1回大会講演要旨集, p. 136, 1976
- 39) Y. Homma, Y. Arimoto & T. Misato: *J. Pesticide Sci.* **6**, 145 (1981)
- 40) 本間保男・有本 裕・日高 徹・見里朝正: 日植病報 **47**, 135 (1981)
- 41) Y. Homma, Y. Arimoto & T. Misato: *J. Pesticide Sci.* **6**, 201 (1981)
- 42) Y. Homma, Y. Arimoto & T. Misato: Symposium Resistance to Fungicides in Plant Pathogens, Wageningen, The Netherlands, 1981
- 43) 日本植物防疫協会: 委託試験成績 (第26集), p. 640, 1981
- 44) 日本植物防疫協会: カンキツ農薬連絡試験成績 (第18集), p. 379, 1981