- (4) O. RAHN : *Injury and Death of Bacteria by Chemical Agents*, *Biodynamica* (1945).
- (5) H. WEISS : *J. infect. Diseases*, 28, 70 (1921)
- (6) J. R. ESTY and K. MEYER : *J. infect. Diseases*, 31, 650 (1922).
- (7) O. B. WILLIAMS : *J. infect. Diseases*, 44, 421 (1929)
- (8) 坂口謹一郎, 天羽幹夫 : 本誌, 25, 104 (1951).
- (9) M. W. JENNISON and G. P. WADSWORTH : *J. Bact.*, 39, 389 (1940).
- (10) H. NEURATH and *et al.* : *Chemical Reviews*, 34, 157 (1944).
- (11) A. S. STEARN : *Ergeb. Enzymforsch.*, 7, 1 (1938).
- (12) S. GLASSTONE, K. LAIDLER and H. EYRING : *The Theory of Rate Processes*, P. 5, McGraw-Hill, (1941).

Summary

(1) The phenomena of death by heat of spores of three aerobic bacilli, *Bacillus natto*, *Bacillus megatherium*, and *Bacillus mycoides*, were pursued and discussed. The spores were suspended in neutral phosphate buffer and heated in a glass tube and then subcultured or plated out by nutrient broth (agar) and glucose broth (agar).

(2) The survivor curves obtained by plotting the logarithm of the number of survivors against the heating time were nearly straight (as shown in Fig. 2), however the death rate constants calculated by the equation for monomolecular chemical reaction decreased with the time of exposure (Table 1). It should be noticed that the survivor curves of various initial spore concentrations, though they are linear, do not parallel each other and the slope of the curves becomes larger as the initial spore concentration decreases. This fact will mean that the death rate constant K is not a fixed value for spores of a certain strain. Using the general relation between spore concentration and survival time obtained in the previous paper⁽¹⁾, it was shown that the death rate constant (K) and the initial spore concentration (N) can be related by the following equation,

$$K = C \times \left(\frac{1}{N} \right)^n \times \log N$$

where C and n are constants.

(3) The temperature coefficients of the death of spores of three aerobes caused by heat in neutral phosphate buffer were computed as follows (between 95° and 100°C).

Bac. natto..... $Q_{10}=16.97$, *Bac. megatherium*..... $Q_{10}=6.25$, *Bac. mycoides*..... $Q_{10}=13.17$

(4) The activation energy and the thermodynamic functions, such as E_{Ar} , ΔH , ΔS , ΔF , about the death reaction of spores of each strain were evaluated per one spore.

The values as shown in Table 4 are in the same order with those of protein denaturation.

(5) From these results, it was concluded that the spore of bacteria would lose its ability to reproduce, i.e., die, when a single protein molecule in the cell was denatured by heat as previously stated by O. Rahn⁽³⁾.

Fusarinic Acid の植物生育阻害作用の機構に関する研究 (第 4 報)

Fusarinic Acid 及び α -Picolinic Acid の水稻發芽種子の

呼吸作用に及ぼす阻害型式及び阻害度の比較並び考察

玉利勤治郎, 加 治 順 (新潟大学農学部)

昭和 27 年 1 月 30 日 受 理

Studies on the Mechanism of Injurious Action of Fusarinic Acid on Plant-growth. Part 4.
Investigation of Types and Intensities of Injurious Actions of Fusarinic acid and α -Picolinic acid on Rice Seedlings' Respiration.

By K. TAMARI and J. KAJI (Dept. of Agr., Niigata Univ.)

前報に於て著者等は fusarinic acid の植物生育阻害作用は chelation の形成に依つて此の物質が植物体中

の微量の鉄、銅等を捕捉する結果として鉄ポルフィリン系呼吸酵素の形成が阻害される事がその要因をなしている事、又 fusaric acid と構造的に類縁の化合物に就て試験せる結果は chelate ring をよく形成する能力ある物質には植物生育阻害作用も顕著であるが、然らざる物質では阻害作用も見られず、両者の間には極めて深い関聯性があるとの結論が得られた。以上の如く fusaric acid の阻害作用は此の物質が chelation を形成する事に少くとも主要因の一つが存在している事は明かとなつたのであるが、尙此の他に要因が存在するのでないかという第二の問題に到達する。fusaric acid の化学構造を考察する時 chelation の機構の他に尙植物生育阻害作用の重要な因子として考えられ得るものは 5 位に側鎖として存在する *n*-butyl 基である。今仮りに chelation の機構が阻害作用の最も本質的な要因であるならば、その阻害作用の型式は fusaric acid の chelation の基本構造を示す α -picolinic acid のそれと全く同じ型に属す筈である。又若し 5 位に存在する側鎖の *n*-butyl

基がそれ自体独自の重要な役割を演じているならば fusaric acid, α -picolinic acid 両者の阻害作用の型式はかなり異つた型で顯われる筈である。例えば 8-hydroxy-quinoline はこれ等両阻害物質

と類似の chelation をなす物質であるにも拘らずその阻害作用は異つた型式を示す。これは此の物質が phenol 型の OH 基を有するためであると考えられる。かかる観点から著者等は fusaric acid の阻害作用の最も本質的な要因が懸つて chelation の機構に存するか否かを確かめるため、fusaric acid と α -picolinic acid の阻害作用の型式を厳密に比較検討する事に此の度の実験の焦点を置いたのであつて、先ず WARBURG に依る呼吸阻害試験の結果を推計学的に考察した。

今呼吸の阻害度 H の薬液の濃度の対数 $\log G$ に対する相関係数を相関分析法に依つて検定すれば、その間には極めて高い標本相関係数 ($r=0.96\sim 0.98$) を以て回帰直線の方程式 (標本回帰式) が得られる。これを次の式で表す

$$H = n \log G - n \log \phi + 0.5$$

H ...呼吸阻害度, n ...回帰直線の方角係数, G ...薬液濃度 (mole)

ϕ ... $H=0.5$ の時の G の値, 即ち呼吸作用を 50% 阻害する薬液の濃度

茲に n は回帰直線の方角係数であるが、とりも直さず、阻害作用の型式を示す値であり、 ϕ は阻害作用の強さを指示する (強さの逆数) 値である。然して fusaric acid 及び α -picolinic acid に就て n 値の値を求めて推計学的に比較検討した結果、両者は極めて良く一致する事が分つた。この事は両阻害物質の呼吸阻害の機構が同一型式に属する事を示すものである。8-hydroxy-quinoline, CuSO_4 は明かに異つた阻害の型式を示す、又第 5 報に述べる所であるが catalase, peroxidase 等鉄ポルフィリン系呼吸酵素に対する阻害作用試験に於てもその結果は全く同一である。

次に ϕ の値は前にも述べた如く呼吸作用を 50% 阻害する薬液の濃度で、とりも直さず阻害作用の強さの逆数を示しているが、此の値を比較検討する時は fusaric acid と α -picolinic acid との間に推計学的に有意水準 5% に於て有意な差が見られ、前者の方が小さい。即ち fusaric acid が α -picolinic acid より阻害作用の強い事を示すものである。8-hydroxy-quinoline は阻害作用は更に強い。又以上と同じ事が次報で述べる鉄ポルフィリン系呼吸酵素の阻害に於ても見られるのである。然してこの事は前報に於ける水稻の発芽生育試験の結果並びに chelation の強さの測定で得られた値と全く一致するものである。これに対して著者等は電子論的に次のような解釈を試みた。即ち fusaric acid に於ては 5 位に存在する *n*-butyl 基の $-E$ 効果 (Electromelic effect) に依つて pyridine 核の之に接する二重結合に分極*を起して ortho 位に電子密度の増加を来

* Alkyl 基の $-E$ 効果に依つて之に隣接する二重結合に分極を起す最も簡単な例は $\text{CH}_3-\text{CH}=\text{CH}_2$ の場合、

作用せしめる場合 $\text{CH}_3\text{CHClCH}_3$ を生ずる事実によつて良く知られている。

し更に惹いて pyridine 核の N 原子の電子密度を高める* 結果を招来し、従つて N → M の配位結合が強められ、結局 chelation が強まる理である。

即ち 5 位の側鎖の *n*-butyl 基はその $-E$ 効果によつて、chelation を強める事に依つて fusarinic acid の阻害作用を強めている理で、結局阻害作用に於ては二次的な作用を有している事になる。又此の理論はそのまま前報で述べたいわゆる picolinicarboxylic acid (2-methylpyridine-4-carboxylic acid)** にも適用される事であつて 2 位の methyl 基がその $-E$ 効果に依つて chelation を強めていると解される。

以上の如く alkyl 基の $-E$ 効果に依つて chelation が強められているという事になれば carboxyl 基の如く $+E$ 効果を有するものは逆にその chelation を弱め従つて阻害作用が極めて減弱する筈である。然してこの事は前報で詳しく述べた如く quinolinic acid に植物生育阻害作用が殆どなく、又 chelation の強さを測定した値も極めて弱いという事実によつて裏書きされている。但し quinolinic acid に就ては carboxyl 基の $+E$ 効果の考え方の他に今一つの考え方が存在する。即ち pyridine 核の 2 位と 3 位に相隣つて 2 個の carboxyl 基が存在するが此の際 3 位の carboxyl 基が立体的・力学的に 2 位の carboxyl 基と pyridine 核の N 原子との間の chelation 形成を阻害するのでないかという点である。若し後者の考え方を無視して良いものならば、即ち阻害作用の減弱が總て 3 位の carboxyl 基の $+E$ 効果に原因するものならば isocinchomeronic acid に於ても quinolinic acid と全く同様その阻害作用は極めて微弱であるべきである。又もし isocinchomeronic acid にかかりの阻害作用が見られるならば、前に述べた如く 3 位の carboxyl 基の立体構造的影響相が当存在している事になる。これに就ては目下実験中で追つて報告の予定である。

尙之と關聯して、MCCALVIN 一派もその chelation に関する研究に於て、salicylaldehyde の chelation

の強さが図式の如く側鎖にカルボン酸エステルを入れる事に依つて著しく弱められる事を観察して、その説明を側鎖のカルボン酸エステルの ester resonance effect が chelate ring の安定性を阻害する結果であるとしている。

実 験 の 部

呼吸作用阻害の試験方法は第 1 報の呼吸作用阻害試験の項で述べたと同様ガラスポット中で各阻害物質のそれぞれの濃度の液を浸した脱脂綿上に試験菌 (農林 1 号) を浸して生育せしめ、その 10 粒宛をとつて第 1 報に説明した特殊容器に入れ、WARBURG の検圧計に依つて吸収酸素量を測定した。尙生育期間は 3 日・4 日・5 日とした。今阻害物質の或るモル濃度 G に於ける吸収酸素量の平均値を I 、又対照試験のそれを I_0 とすれば、呼吸阻害度は $H=1-I/I_0$ で表わされる。Table 1 は各阻害物質の各濃度に就て呼吸阻害度を求めたものである。実験はそれぞれ 4 回宛 3 日・4 日・5 日間生育の綫に就て同様に試みた。然して各 H と $\log G$ との間の相関係数を相関分析法によつて検定すれば前にも述べた如く極めて高い標本相関係数を以て標本回帰式 $H=n \log G - n \log \phi + 0.5$ が得られる。

茲に n は阻害型式を示す回帰直線の方角係数で、 ϕ は呼吸作用 50% 阻害時のモル濃度である。

斯くして各の標本回帰式から得られる n 値、 ϕ 値に就て推計学的に検討を加えた結果は Table 2 に示す如く、阻害型式 n はそれぞれ 3 日間、4 日間、5 日間生育の綫に就て何れも fusarinic acid と α -picolinic acid の間に有意水準 5% で有意な差は認められない。又 ϕ 値に依つて阻害の強さを比較すれば両者の間には有意な差があり、前者が後者よりもやや強い。又 CuSO_4 は全く阻害の型式も異りその作用も強い。Fusarinic acid と 8-hydroxyquinoline を比較した結果は Table 3, Table 4 に示す如くであつて両者の阻害型式には有意な差が

* Pyridine 核の N 原子は α 及び γ 位から電子を索引する。

** 1908 年 SCHREINER 及び SHOREY が北米 Takoma 地方の不毛土壤から、又 1916 年麻生慶次郎博士が鳥取県下の不毛土壤から分離した植物生育阻害物質。

認められる。然してその考察は前に述べた所である。阻害の強さは chelation の強さと同様 8-hydroxyquinoline が明かに強い。

Table 1. Experiment on the Respiration of Rice Grains (Norin No. 1), which are cultured under the injurious effect of fusarinic acid, α -picolinic acid and CuSO_4 at 30° for 3~5 days. The respiration of rice grains was measured by the WARBURG manometric method.

Temperature of water bath ; 30°											
Shaking time ; 30 minutes											
The gas in the vessel ; air											
Number of rice grains ; 10											
Volume of 10% KOH solution in the vessel ; 0.5 cc											
lRespired O_2 gas volume by the rice seedlings, cultured under the injurious effect of fusarinic acid etc.											
l_0Respired O_2 gas volume by normally cultured (control) rice seedlings.											
$H=1-l/l_0$Coefficient of respiration hindrance.											
		Fusarinic acid		α -Picolinic acid		CuSO_4					
		H		H		H					
Test rice seeds are cultured for 3 days.	G (mol.)	0.00042		0.00056		0.00084		0.00112			
		0.155	0.146	0.048	0.061	0.572	0.579				
		0.136	0.128	0.046	0.070	0.557	0.570				
		0.405	0.451	0.286	0.324	0.654	0.675				
		0.455	0.453	0.296	0.314	0.637	0.652				
Test rice seeds are cultured for 4 days.		0.595	0.622	0.548	0.590	0.714	0.735				
		0.580	0.581	0.546	0.547	0.705	0.721				
		0.738	0.756	0.702	0.686	0.798	0.810				
		0.716	0.733	0.671	0.675	0.784	0.791				
		0.185	0.202	0.070	0.082	0.588	0.589				
Test rice seeds are cultured for 5 days.		0.188	0.190	0.078	0.100	0.578	0.570				
		0.496	0.500	0.200	0.217	0.698	0.686				
		0.469	0.493	0.203	0.230	0.688	0.686				
		0.563	0.557	0.429	0.452	0.765	0.758				
		0.547	0.562	0.406	0.431	0.750	0.757				
		0.622	0.629	0.538	0.532	0.807	0.806				
		0.656	0.630	0.500	0.546	0.805	0.792				
		0.182	0.207	0.054	0.114	0.608	0.600				
		0.209	0.215	0.118	0.110	0.588	0.581				
		0.338	0.387	0.115	0.187	0.683	0.680				
		0.379	0.376	0.183	0.187	0.673	0.665				
		0.494	0.520	0.304	0.387	0.743	0.733				
		0.504	0.504	0.379	0.349	0.732	0.729				
		0.595	0.640	0.453	0.520	0.784	0.780				
		0.621	0.624	0.523	0.516	0.771	0.762				

要 約

Fusarinic acid の植物生育阻害作用の本質が全く chelation の形成に依つて植物体中の微量の金属元素を奪い、為めに鉄ポルフィリン系の呼吸酵素等の形成を阻害する点にあるならば、chelation 形成の基本構造を同じくする α -picolinic acid とその阻害の型式は同一であるべき筈であるとの見解に基いて、呼吸阻害に対する両物質の阻害型式を推計学的に比較検討した結果、両者は同一であるとの結論を得た。但し呼吸作用 50% 阻害の濃度に依つて比較した両物質の阻害

Table 2. Comparison of the Character and intensity of Rice Seeds Respiration Hindrance by n Value and ϕ Value, obtained from regression equation : $H=n \log G-n \log \phi +0.5$.

HCoefficient of respiration hindrance.

nInclination coefficient of regression line.

ϕThe mole concentration, which hinders rice seeds' respiration by 50%

	Rice seeds culturing days.	n		Mean of n values and confidence limits of population mean. $\alpha=0.05$		ϕ mol. $\times 10^{-6}$		Mean of ϕ values and confidence limits of population mean. $\alpha=0.05$	
Fusarinic acid	3	1.245	1.272	1.234	722	692	0.000715		
	4	1.184	1.236	± 0.054	725	720	± 0.000030		
	5	0.860	0.851	0.877	753	740	0.000746		
	4	0.930	0.868	± 0.073	747	745	± 0.000049		
	5	0.805	0.912	0.884	883	800	0.000835		
α -Picolinic acid	3	0.860	0.868	± 0.023	831	826	± 0.000063		
	4	1.420	1.377	1.368	811	791	0.000815		
	5	1.368	1.307	± 0.082	826	834	± 0.000041		
	4	1.052	1.017	0.997	1040	1028	0.00105		
	5	0.937	0.981	± 0.085	1124	1020	± 0.000059		
CuSO_4	3	0.895	0.912	0.901	1370	1130	0.00120		
	4	0.912	0.886	± 0.037	1130	1190	± 0.00011		
	5	0.465	0.482	0.469	276	264	0.000277		
	4	0.465	0.465	± 0.017	294	277	± 0.000018		
	5	0.465	0.447	0.462	253	252	0.000244		
	4	0.473	0.465	± 0.018	233	237	± 0.000011		
	5	0.377	0.377	0.379	196	204	0.000210		
	5	0.377	0.386	± 0.013	213	229	± 0.000016		

Table 3. Experiment on the Respiration of Rice Grains (Norin No. 1), which are cultured under the injurious effect of fusarinic acid and 8-hydroxy-quinoline at 30° for 5 days.

G (mol.)	Fusarinic acid		8-Hydroxy-quinoline	
	H		H	
0.00014	0.053	0.026	0.278	0.218
	0.047	0.046	0.305	0.338
0.00028	0.209	0.184	0.423	0.360
	0.176	0.184	0.437	0.465
0.00042	0.332	0.325	0.612	0.558
	0.315	0.311	0.600	0.611
0.00056	0.497	0.474	0.693	0.695
	0.490	0.470	0.699	0.718
0.00112	0.589	0.591	0.768	0.723
	0.580	0.561	0.763	0.767

Table 4.

	n	Mean of n values and confidence limits of population mean. $\alpha=0.05$		ϕ mol. $\times 10^{-6}$		Mean of ϕ values and confidence limits of population mean. $\alpha=0.05$	
Fusarinic acid	0.643	0.672	0.645	721	743	0.000755	
	0.647	0.620	± 0.032	755	800	± 0.00041	
8-Hydroxy-quinoline	0.591	0.618	0.573	323	394	0.000328	
	0.558	0.526	± 0.025	312	283	± 0.000031	

作用の強さは fusaric acid が α -picolinic acid より大きい。この点に関して著者等は fusaric acid の 5 位に側鎖として存在する *n*-butyl 基の $-E$ 効果に依つて、その chelation の強さを高めているためであるとの結論を与えた。尙實際 chelation の強さを測定した値の比較は第 3 報に述べた如くであつて、fusaric acid が α -picolinic acid より大きい値を示している。結局 fusaric acid に於ては阻害作用の本質はその chelation 形成にあり、側鎖の *n*-butyl 基はその $-E$ 効果で chelation を強める事に依つて二次的な効果を及ぼしている事になる。側鎖の *n*-butyl 基にはそれ独自の阻害作用は考えられない。若し然りとすれば当然 α -picolinic acid とは異つた阻害型式を示すべき筈である。

8-Hydroxy-quinoline は同じく chelation を形成する物質であるが、上記両物質とは阻害の型式を異にする。これは phenol 型の OH 基を有する事にも一因があるのでないかと考えられる。

本研究を遂行するに当つて御指導と御力添えを頂いた恩師東大名誉教授藪田貞治郎博士、東大教授住木論介博士及び試験枳を分与して頂いた新潟県農事試験場の各位に厚く謝意を表する共に、その研究費の大部分を文部省自然科学研究費に仰いだ事を附記して茲に深く感謝する次第であると。

Summary

If the injurious action of fusaric acid is entirely derived from its intermolecular chelation, the type of injurious action of this acid must be quite identical with that of α -picolinic acid, which has the same fundamental chelation formula with fusaric acid. The authors therefore investigated the types of injurious action of these acids on rice seedlings' respiration, and concluded that these two types were quite identical. But in regard to the intensity of injurious action, fusaric acid has higher power than α -picolinic acid on this point. The authors gave an electron-theoretical elucidation that the *n*-butyl side chain on the 5 position of fusaric acid intensifies the intermolecular chelation by its $-E$ effect.

Fusaric Acid の植物生育阻害作用の機構に関する研究 (第 5 報) Fusaric Acid 及び α -Picolinic Acid の水稻発芽種子に於ける Catalase power 及び Peroxidase Power に及ぼす阻害型式の比較

玉 利 勤 治 郎, 加 治 順 (新潟大学農学部)

昭和 27 年 1 月 30 日 受理

Studies on the Mechanism of Injurious Action of Fusaric Acid on Plant-growth. Part 5.
Investigation of Types and Intensities of Injurious Action of Fusaric acid, α -Picolinic acid, Copper sulphate and 8-Hydroxy-quinoline on Catalase Power and Peroxidase Power in Rice sprouts.

By K. TAMARI and J. KAJI (Dept. of Agric., Niigata Univ.)

著者等は fusaric acid に於ては chelation の形成は確かに植物生育阻害作用の一つの大きな因子ではあるが、側鎖の *n*-butyl 基の存在も亦一つの因子ではないかとの考えを有していた。果してこれが阻害の一つの大きな因子であるか否かは、fusaric acid と chelation 形成の基本構造は同じくするが側鎖に *n*-butyl 基を有しない α -picolinic acid と阻害作用の型式を比較すれば解決し得られるという見解をとつた。即ち側鎖の *n*-butyl 基がそれ独自に重要な阻害作用の因子をなしているならば、当然 fusaric acid と α -picolinic acid は異つた阻害作用の型式をとるべき筈である。従つて第 4 報に於て著者等は先ず両阻害物質の発芽呼吸作用に及ぼす阻害の型式を推計学的に比較検討した。その結果両者は全く同一である事が明かとなつた。但し呼吸作用 50% 阻害の濃度に依つて比較した阻害作用の強さは fusaric acid が α -picolinic acid より大きいのである。此の点に関して著者等は fusaric acid はその 5 位に側鎖として存在する *n*-butyl 基の $-E$ 効果に依つてその chelation を強められている点を電子論的に説明した。尙實際 chelation の強さを測定比較した結果は第 3 報で述べた所である。従つて fusaric acid に於て側鎖の *n*-butyl 基は、その $-E$ 効果に依つて chelation を強めているという点から第二次的に阻害作用に関与している事になる。