2-Methylpyridine-4-carboxylic Acid の植物生育障害作用の機構に関する研究 (第3報) 重金属塩添加に依る 2-Methylpyridine-4-carboxylic Acid の障害作用の除去に就て

玉利勤治郎, 加治 順 (新潟大学農学部)

昭和 27 年 9 月 24 日 受理

Studies on the Mechanism of Injurious Action of 2-Methylpyridine-4-carboxylic Acid on Plant-growth. Part 3. Studies on the Elimination of Injurious Action of 2-Methylpyridine-4-carboxylic Acid on Plant-growth by Addition of Metal-ion.

By Kinjiro TAMARI and Jun KAJI (Faculty of Agriculture, Niigata University)

2-Methylpyridine-4-carboxylic acid の植物生育障害作用の本質が, 第1報に述べた如く chelation の機構に依つて Fe^{+++} , Cu^{++} 等の金属イオンを植物体中で捕捉し, 之に依つて鉄ポルフィリン系呼吸酵素の形成及び作用を阻害し, 結局呼吸障害を起す事にあるならば, fusarinic acid の場合と同様重金属塩を添加する事に依つてその障害作用はかなり除去され得る筈である。かかる観点に立つて著者等は此の試験を試みた。試験の方法は径 4.5 cm, 深さ 3 cm のガラスポットに脱脂綿を 0.5 cm の厚さに敷き試験液 (pH 5.5~5.8) 20 cc を注入し, 之に試験穀 (農林 1 号) 20 粒を浸して毎日 20 cc の目盛迄蒸発せる水分を補いつつ 30° に 5 日間生育せしめた発芽穀に就て根長, 芽長, 呼吸, Catalase power, Peroxidase power を測定して重金属塩の添加に依つて 2-methylpyridine-4-carboxylic acid の障害作用が如何に除去されるかを検討した。

2-Methylpyridine-4-carboxylic acid の濃度は 0.02% 即ち 0.0028 N とし, 之に添加する金属塩は Ca 添加区*は CaO を 0.0028 N となるように添加し, 又 Fe^{+++} , Cu^{++} , Mn^{++} , Ca^{++} 併用添加区は chelation する力の最も強い Fe^{+++} を主体として之に微量の Cu^{++} , Mn^{++} , Ca^{++} を補う即ち $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ を 0.002 N, CuSO_4 , MnSO_4 , CaO を何れも 100 万分の 6** の濃度となるように添加した。

発芽生育 (根長及び芽長) に及ぼす障害作用の除去試験 5 日間生育後の発芽穀の根長及び芽長に就て推計学的処理を施した結果は Table 1 の如くであつて, CaO 添加に依つて障害作用はかなり除き得るが, Fe^{+++} , を主体として Cu^{++} , Mn^{++} , Ca^{++} を併用添加する事に依つて危険率 5% を以て完全に障害作用は除去し得ると言い得る。又その生育状態は写真に示す如くである。

Table 1.

	Number of sprouted rice grain.	Mean of root length and confidence limits of population mean, $\alpha=0.05$	Mean of sprout length and confidence limits of population mean, $\alpha=0.05$
Control (Dist. water)	20	61.2 mm $\pm$ 6.52 mm	50.4 mm $\pm$ 3.15 mm
2.M.4.C.	20	26.3 // $\pm$ 3.12 //	20.1 // $\pm$ 1.25 //
2.M.4.C. + Ca^{++}	20	48.1 // $\pm$ 4.31 //	45.5 // $\pm$ 3.31 //
2.M.4.C. + Fe^{+++} , Cu^{++} , Mn^{++} , Ca^{++}	20	58.3 // $\pm$ 5.01 //	50.5 // $\pm$ 4.12 //

2.M.4.C.: 2-methylpyridine-4-carboxylic acid 0.0028 N

Ca^{++} : CaO 0.0028 N

Fe^{+++} , Cu^{++} , Mn^{++} , Ca^{++} : $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 0.002 N, CuSO_4 $\frac{6}{1000,000}$, MnSO_4 $\frac{6}{1000,000}$, CaO $\frac{6}{1000,000}$

発芽穀の呼吸に及ぼす障害作用除去試験 前述の如くガラスポット中試験液を浸した脱脂綿上に 5 日間生育せしめた試験穀 10 粒宛を, Warburg の検圧計に附した特殊容器⁽¹⁾に入れて 30° の恒温槽中で 30 分間振盪後呼吸せる酸素量を測定した (尙記載する迄もなく酸素吸収量は検圧計の読みに零点及び熱* 圧計の読みを加減し, それに容器恒数を乗じて求めた)。いずれも測定は 4 回宛行つてこれに推計学的処理を施した結果は Table 2 の如くであつて, CaO

A Control
B 2.M.4.C. (2-Methylpyridine-4-carboxylic acid)
C 2.M.4.C. + Ca^{++}
D 2.M.4.C. + Fe^{+++} , Cu^{++} , Mn^{++} , Ca^{++}

* 実用的には石灰添加が最も簡単である。

** 植物生育に Cu^{++} の障害作用の顕われない濃度。

添加区及び $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, CuSO_4 , MnSO_4 , CaO 併用添加区共に有意水準 5% に於ては対照区と有意な差は認め

Table 2. Respirated O_2 Gas (c. m. m.) by 10 Test Rice Seedlings, measured by the Warburg Manometric Method.

Temperature of water bath : 30° . Shaking time : 30 minutes. The gas in the vessel : air. Number of rice seedlings : 10. Volume of 10% KOH solution in the vessel : 0.5 cc

	Volume	Vessel constant	Absorbed volume of O_2 gas, (c. m. m.)	Mean of absorbed O_2 gas and confidence limits of population mean. $\alpha=0.05$
Control (Distilled water)	V. F. = 0.5 V. G. = 21.5	$\text{KO}_2=1.97$	118.3; 114.2 113.5; 116.0	115.5 c. m. m. ± 3.40 c. m. m.
2. M. 4. C.	V. F. = 0.5 V. G. = 21.7	$\text{KO}_2=1.99$	77.4; 74.3 73.5; 76.1	75.3 // ± 3.48 //
2. M. 4. C. + Ca^{++}	V. F. = 0.5 V. G. = 20.9	$\text{KO}_2=1.92$	112.3; 105.4 107.2; 108.2	108.3 // ± 4.72 //
2. M. 4. C. + Fe^{+++} , Cu^{++} , Mn^{++} , Ca^{++}	V. F. = 0.5 V. G. = 21.8	$\text{KO}_2=2.00$	114.3; 107.2 108.0; 111.7	110.3 // ± 5.22 //

られない, 即ちこれ等の塩の添加に依つて 2-methylpyridine-4-carboxylic acid の呼吸に対する阻害作用は除去される事が認められる。

初め発芽生育中に於ける Catalase 及び Peroxidase の形成に及ぼす阻害作用の除去試験 前記の如くして 5 日間生育せしめた発芽粒 10 粒宛をとつて先ず catalase 力はこれ迄も述べた如く HENNICH'S の方法に依つて試験した。即ち生育粒 10 を剥皮・磨細し之に Mol./15 K_2HPO_4 (pH 7.2) 25 cc を混じて 15 分間放置後遠心分離して上澄液 10 cc をとり、この中に含まれる Catalase に依つて 30 分間で分解された H_2O_2 に相当する $\text{N}/20 \text{KMnO}_4$ の cc 数を以て catalase 力を表示した。又 Peroxidase 試験は BACH-ZUBKOWA の方法に依つた。即ち同じくその 10 粒を剥皮・磨細して Mol./15 KH_2PO_4 (pH 5.5) 15 cc で peroxidase を溶出し、その 6 cc を用いて 30 分間に 0.02 NH_2O_2 で酸化された guaiacol の mg 数を以て peroxidase power を表示した。而して総て parallel に 2 つ宛測定して (その差は殆ど 2% 以内に止る) その平均値で表示した。いずれの場合も 4 回宛値を求め、その母平均の信頼限界を求めて比較検討した結果は Table 3 の如くであつて、catalase 試験に於て 2-methylpyridine-4-carboxylic acid は CaO 添加に依つてその阻害作用の

Table 3.

	Catalase power test			Peroxidase power tests		
	Catalase power, $\text{N}/20 \text{KMnO}_4$ cc equivalent to the H_2O_2 , which is decomposed by catalase	Mean of catalase power and confidence limits of population mean. $\alpha=0.05$		Peroxidase power, Guaiacol mg, which is decomposed by peroxidase in the presence of H_2O_2 .	Mean of peroxidase power and confidence limits of population mean. $\alpha=0.05$	
Control (Dist. water)	5.59 5.45 5.36 5.24	5.41 ± 0.23		3.45 3.30 3.19 3.26	3.30 ± 0.18	
2. M. 4. C.	3.92 3.80 3.71 3.82			2.63 2.55 2.42 2.52		
2. M. 4. C. + Ca^{++}	5.12 4.93 4.85 4.80	4.93 ± 0.22		3.18 3.00 2.90 2.96	3.01 ± 0.19	
2. M. 4. C. + Fe^{+++} , Cu^{++} , Mn^{++} , Ca^{++}	5.19 5.14 5.20 5.07			3.25 3.19 2.97 3.18		
		5.15 ± 0.21			3.15 ± 0.18	

大部分を除かれるが、厳密には有意水準 5% に於て対照と有意な差が見られる。一方 Fe^{+++} を主体として微量の Cu^{++} , Mn^{++} , Ca^{++} を併用添加する事に依つて全く阻害作用は除去され、有意水準 5% に於て対照と有意な差は認められない。

又 Peroxidase 試験に於ては CaO 添加区, $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, CuSO_4 , MnSO_4 , CaO 併用添加区いづれも有意水準 5% に於て対照と有意な差は認められないのであつて阻害作用は除去される。尙これ等試験を行うに當つて、添加する塩類自体の植物生育に及ぼす影響が考えられるのであるが、之には予め厳密な blank test を行つてその影響のない事を確めた (重金属塩添加に依る fusarinic acid の阻害作用除去に関する報告参照⁽²⁾)。

結 論

2-Methylpyridine-4-carboxylic acid の植物生育阻害作用は実際問題としては CaO の添加に依つてかな

り除去し得るが未だ不充分である。Chelation の力の最も強い Fe^{+++} を主体として之に微量の Cu^{++} , Mn^{++} , Ca^{++} 等を補足して添加する事に依つてほぼ完全に阻害作用を除去し得る事を認めた。この事は 2-methylpyridine-4-carboxylic acid の阻害作用の本質が fusarinic acid と同様 chelation の機構にある事を裏書きしていると考えられる。

終りに臨み御指導御鞭撻を頂いた恩師東大名譽教授藪田貞治郎博士、東大教授住木諭介博士に謹んで謝意を表するとともに研究費の大部分を文部省自然科学研究費に仰いだ事を記して深く感謝する次第である。

(1) 玉利, 加治: 農化, 26, 223 (1952).

(2) 同; 印刷中

Summary

If the injurious effect of 2-methylpyridine-4-carboxylic acid on plant growth is entirely caused by its intermolecular chelation with metal ion, then this effect must be eliminated by addition of metal ion. On this consideration authors discussed in this paper on the elimination of injurious effect of this acid on plant growth, on respiration, on the formation of catalase and peroxidase, and authenticated that the injurious action of this acid was considerably eliminated by addition of equivalent CaO and then perfectly by addition of Fe^{+++} with a little amount of Cu^{++} , Mn^{++} and Ca^{++} by 5% level of significance.

黒斑病甘藷の病理化学的研究 (第 6 報)

罹病甘藷よりのクマリン成分の分離とその生理

瓜谷 郁三, 星谷 馨夫 (東京大学農学部 農芸化学科)

昭和 27 年 7 月 9 日 受理

Phytopathological Chemistry of the Black-rotted Sweet Potato. Part 6. Isolation of Coumarin Substances from Sweet Potato and Their Physiology

By Ikuzo URITANI and Iwao HOSHIYA

(Dept. of Agr. Chem., Faculty of Agriculture, Univ. of Tokyo)

黒斑病菌が甘藷を侵害する際、甘藷に起る異状代謝を解明するため、その間の化学成分の消長を明らかにせんとし、その一つとして polyphenol 成分の分離を実施したが⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾、更に罹病甘藷を切断してその面を蛍光ランプに曝すと、青色に蛍光を発する成分が生成されていることを発見した。生理的に異状を起した植物中にかかる蛍光成分の生成される例として、BEST⁽⁴⁾は tomato spotted wilt virus に侵された煙草より scopoletin (6-methoxy-7-hydroxy coumarin) を分離し、SHIRLEY⁽⁵⁾等は roll-leaf virus に罹つた馬鈴薯より同一成分を分離した。尚 SBORVIE⁽⁶⁾は活性度の減退した馬鈴薯、冷凍馬鈴薯及び *Rhizoctonia* 菌に侵された試料に於て、IVERSON⁽⁷⁾等は ring rot に罹つた馬鈴薯に於て青色蛍光成分が生成することを報告した。黒斑病甘藷に於て蛍光成分が生成され、少し遅れて polyphenol 成分が集積されて来る事実より、蛍光成分はクロロゲン酸に類似の構造を有するものと推定し、更に前記文献をも参考にして、本成分は scopoletin の如き coumarin 成分であろうと想像して POWER⁽⁸⁾ が *Ipomea orizabensis* 及び *Jalap* より抽出した方法を参考にして抽出を試みた。併し POWER の場合に比しその量少量のため、更にクロマトグラフィ、昇華等を併用して結晶化に導いた。

実

験

1. 蛍光成分の抽出、分離

(i) 粗成分の分離: 樹脂成分少く、蛍光の見易い白色種の農林号を選び、約 3 mm の輪切にし、黒斑病菌胞子液を接種後 25° に 20~24 時間放置した。この切片は紫外線照明により表面も内部も鮮青色に光る。かかる諸切片約 25 kg を methyl alcohol を加え摺碎後 2 日間温浸し濾別した残渣を更に 2 回温浸した。かくして得られた濾液を合し減圧濃縮し、その濃縮液を約 10 日間 chloroform で連続抽出し、chloroform 液を少量に減圧濃縮し、次に 1% 炭酸ソーダ溶液に転溶した。此の溶液を硫酸で pH 4.2 とし再び chloroform で連続抽出し、抽出液を乾固し粉末状の粗成分を得た。