謝の意を捧げると共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附記して衷心より感謝します

- (1) 玉利, 加治: 農化, 26, 302 (1952).
- (2) L. SACCONI: *Ann. chim.* (Rome), 40, 386-95, (1950); *C. A.*, 45, 9053 (1951).

Summary

(1) We measured the chelation intensity of fusarinic acid and its analogous chelation substances with Cu^{++} or Fe^{+++} by a polarographic method. The order of the chelation intensity of these substances is as follows; Fusarinic acid $>$ α -picolinic acid 2-methylpyridine-4-carboxylic acid $>$ fusarinic acid ethylester $>$ nicotinic acid; and this order is identical with that of the injurious actions of these substances on plant growth.

(2) We measured the diminution of Fe^{+++} -ion by a polarographic method in the test with rice seedlings cultured on the cotton wool, which absorbs respectively the solution of above mentioned substances and found that, the more chelation of substance is strength the more Fe^{+++} -ion in rice plant diminishes.

This fact shows that the mechanism of fusarinic acid's injurious action on Fe-porphyrin-enzyme, such as cytochrome, catalase, peroxidase, is ascribable to the chelation of this acid.

(3) We measured the power of chelation power of various heavy metal-ion with fusarinic acid.

The order of the chelation power of heavy metal-ion is as follows; $\text{Fe}^{+++} > \text{Cu}^{++} > \text{Cd}^{++} > \text{Ni}^{++} > \text{Co}^{++}$

The chelation power and the reduction-potential of heavy metal-ion are inversely proportional.

Fusarinic Acid の植物生育阻害作用の機構に関する研究 (第 7 報)

重金属塩添加に依る Fusarinic acid の阻害作用の除去に関する研究

玉利勤治郎, 加 治 順 (新潟大学農学部)

昭和 27 年 8 月 25 日 受 理

Studies on the Mechanism of Injurious Action of Fusarinic Acid on Plant-Growth,
a Metabolic Product of the Causative Mould of "Bakanae" Disease of Rice Plant.

Part 7. Studies on the Elimination of Injurious Action of Fusarinic
Acid on Plant-growth by Addition of Heavy Metal-ion.

By Kinjiro TAMARI and Jun KAJI (Fac. of Agr., Univ. of Niigata)

Fusarinic acid の植物生育阻害作用の機構の本質が chelation に依つて植物体中で微量の Fe^{+++} , Cu^{++} 等の金属イオンを捕捉し, ために鉄ポルフィリン系呼吸酵素の形成阻害を来すにある事は, これ迄詳しく論じた所であるが, 斯る理論からすれば Fe, Cu, Mn 等の金属塩の微量を添加する事に依つて, その阻害作用がかなり除去され得る筈である. これを実験的に確かめるために Fe^{+++} 或は Cu^{++} を単独に乃至は chelation power の最も強い Fe^{+++} (第 6 報参照) を主体として, 之に Cu^{++} , Mg^{++} , Mn^{++} 等の微量を併用して添加する場合, fusarinic acid の阻害作用が如何に除去されるかを試験した. Fusarinic acid の溶液はそれぞれ 0.00014 N (0.0025%), 0.00028 N (0.005%), 0.00042 N (0.0075%), 0.00056 N (0.01%), 0.00112 N (0.02%) を用い之に $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 或は CuSO_4 を単独に添加する場合は上記溶液に之等金属塩がそれぞれ等 normal 溶存するように調製し, $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ を主体として微量の各金属塩を併用, 添加する場合は $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ を上記各濃度のそれぞれ 3/4 に相当する normal に, 又 CuSO_4 , MnSO_4 , MgSO_4 はそれぞれ 6/1000, 000 (CuSO_4 自体が阻害を示さぬ濃度) を溶存するようにし, 何れも pH 5.5~5.8 に調製した. 試験の方法は径 4.5 cm (深さ 3 cm) のガラスポット脱脂綿を 0.5 cm の厚さに敷き, それぞれ上記試験液 20 cc 宛を注加し, 之に試験粒 (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 5 日間生育せしめて, 呼吸作用, catalase 力及び

peroxidase 力を調べて, fusarinic acid の阻害作用が金属塩の添加に依つて如何様に除去されるかを検討した. 尚金属塩添加自体の籾の生育に対する影響が考えられるので, 最後に blank-test として金属塩自体が直接籾の呼吸に対する作用を試験したが, この実験に使用した濃度の範囲に於ては+, -何れの影響も認め得なかつた.

呼吸試験 Warburg 検圧計に第 1 報に記載せる如き特殊の容器を接続し, 之に生育籾 10 粒を入れて 30° の恒温槽中に 30 分間振盪せしめて吸収 O_2 量を測定した (記載する迄もなく酸素の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). Fusarinic acid の或る濃度 (G) の溶液を作用せしめた場合の呼吸酸素量を I_G (2 個の平均値) とし, 対照の呼吸酸素量を I_0 とすれば, この際の呼吸阻害度は $H_G = 1 - I_G/I_0$ である. 然して各濃度に就て得られる阻害度 H の値の $\log G$ に対する相関係数を相関分析法に依つて検定すれば, 極めて 1 に近い ($r = 0.87 \sim 0.95$) 標本相関係数を以て次の如き標本回帰式が得られる. $H = n \log G - n \log \phi + 0.5$ ϕ ...呼吸作用を 50% 阻害する mol. 濃度

Fusarinic acid 及び之にそれぞれ金属塩を添加した場合の各に就て 4 回宛この標本回帰式を求め, 斯くして得られた ϕ 値に就て平均値及び母平均の信頼限界を求めて金属イオン添加に依る阻害除去が認められるか否かを検討すると共に, 更に次に述べる如くして阻害除去の程度を調べた. 即ち阻害の強さは ϕ 値に逆比例する故, k/ϕ (k ...constant value) で表わされる. 今 fusarinic acid の阻害の強さを k/ϕ とし, 一方 fusarinic acid に金属塩を添加した場合の阻害の強さを k/ϕ' とすれば, $k/\phi'/k/\phi = \phi/\phi'$ は fusarinic acid の阻害の強さを 1 とした場合, fusarinic acid に金属塩を添加した時の阻害の強さを示す値となる. 以上を一括して示せば Table 1 の如くであつて, 金属塩を添加する時は有意水準 5% に於て ϕ 値に有意な差が認められ, 阻害の除去が明かに示される. 尚 Fe^{+++} 或は Cu^{++} を単独に添加したのでは fusarinic acid の阻害作用は約 50% が除去されるに過ぎないが, chelation power の最も強い Fe^{+++} を主体とし, 之に微量の Cu^{++} , Mn^{++} , Mg^{++} 等を兼用して添加する場合はかなり完全に阻害作用を除去する事が出来る.

Table 1. Elimination of Injurious Action of Fusarinic Acid on Rice Seedling's Respiration by Addition of Metal-ion.

ϕ ...mol./l of fusarinic acid, which hinders respiration of rice seedling by 50%
 ϕ' ... ϕ value, when metal-ion is added to fusarinic acid solution.

	ϕ and $\phi' \times 10^4$	Mean of ϕ value and confidence limits of population mean. $\alpha = 0.05$	ϕ/ϕ' Differential ratio of injurious action
Fusarinic acid	7.21; 7.43 7.55; 8.00	0.000755 $\pm$ 0.00004	1 (control)
F. acid + Fe^{+++}	14.00; 13.50 15.30; 16.50	0.001480 $\pm$ 0.00012	0.51
F. acid + Cu^{++}	10.20; 11.30 10.85; 11.71	0.001102 $\pm$ 0.00008	0.68
F. acid + Fe^{++} + Cu^{++} + Mn^{++}	36.90; 42.70 48.30; 56.50	0.00461 $\pm$ 0.00062	0.16
F. acid + Fe^{+++} + Cu^{++} + Mn^{++} + Mg^{++}	39.2 48.7 53.4 58.8	0.0050 $\pm$ 0.00070	0.15

Fusarinic acid の作用の下に籾を生育せしめる場合の Fe-porphyrin 系呼吸酵素の形成阻害を金属塩添加で除去する試験 呼吸試験の項に述べた如くして調製したそれぞれの薬液に 5 日間生育せしめた籾 10 粒宛を剥皮磨細して, catalase 試験の場合は HENNICH'S の方法, 又 peroxidase 試験の場合は BACH-ZUBKOWA の方法に従つて, いずれも第 1 報⁽¹⁾ に詳述したと同様にしてそれぞれ potency を求めた. 尚前者は catalase に依つて分解された H_2O_2 に相当する $N/20 KMnO_4$ の cc 数を以て, 又後者は H_2O_2 の存在で peroxidase に依つて酸化される guaiacol の mg 数を以て表示される. 然して実験は総て parallel に 2 つ宛試みてその平均値を求めたが, その差は殆ど 2% 以内に止る. 今 fusarinic acid の或る濃度 (G) の液を作用せしめた場合の catalase potency, 或いは peroxidase potency を I_G で表し, 対照のそれを I_0 とすれば, 薬液に依る阻害度は $H_G = 1 - I_G/I_0$ で表わされる. 然して各濃度に就て得られる阻害度 H に就てそれぞれ $\log [H/(1-H)]$ を求め, この値の $\log G$ に対する相関係数を相関分析法に依つて検定すれば極めて高い ($r = 0.85 \sim 0.90$) 標本相関係数を以て次式の如き標本回帰式が得られる.

$$\log \left(\frac{H}{1-H} \right) = n \log G - n \log \phi \quad \phi \dots H = 1/2 \text{ の時の } G \text{ の値即ち catalase power 或は peroxidase power を 50\% 阻害する mol. 濃度.}$$

然して呼吸作用の場合と全く同様に fusaric acid 並びに之に重金属塩を添加した場合の各に就て 4 回宛この標本回帰式を求める。斯くして得られる ϕ 値に就て平均値並びに母平均の信頼限界 ($\alpha = 0.05$) 及び ϕ/ϕ' 値を求めて金属イオン添加に依る fusaric acid の阻害作用の除去に就て検討した。その結果は catalase の場合は Table 2 に、又 peroxidase の場合は Table 3 に示す如くであつて、呼吸阻害の場合に述べたと全く同じ事が結論される。即ち金属イオンの添加に依つて fusaric acid の阻害作用は明かに除去される。然して Fe^{+++}

Table 2. Elimination of Injurious Action of Fusaric Acid on Catalase
Formation in Rice Seedling by Addition of Metal Ion.

ϕ ...mol./l of fusaric acid, which hinders catalase potency of rice seedling by 50%
 ϕ/ϕ' ϕ value, when metal-ion is added to fusaric acid solution.

	ϕ or $\phi' \times 10^4$	Mean of ϕ value and confidence limits of population mean. $\alpha = 0.05$	ϕ/ϕ' Differential ratio of injurious action
Fusaric acid	10.60; 10.10 9.62; 9.66	0.00100 $\pm$ 0.00007	1(control)
F. acid + Fe^{+++}	22.70; 20.10 24.80; 23.90	0.00229 $\pm$ 0.00018	0.43
F. acid + Cu^{++}	15.50; 14.40 17.10; 17.40	0.00161 $\pm$ 0.00011	0.62
F. acid + Fe^{+++} + Cu^{++} + Mn^{++}	68.6 ; 70.5 64.3	0.00678 $\pm$ 0.00078	0.22
F. acid + Fe^{+++} + Cu^{++} + Mn^{++} + Mg^{++}	69.1 ; 52.2 46.6 ; 62.5	0.00576 $\pm$ 0.00083	0.17

Table 3. Elimination of Injurious Action of Fusaric Acid on Peroxidase
Formation in Rice Seedling by Addition of Metal-ion.

ϕ ...mol./l of fusaric acid, which hinders peroxidase potency of rice seedling by 50%.
 ϕ/ϕ' ϕ value, when metal-ion is added to fusaric acid solution.

	ϕ or $\phi' \times 10^4$	Mean of ϕ value and confidence limits of population mean. $\alpha = 0.05$	ϕ/ϕ' Differential ratio of injurious action.
Fusaric acid	6.56; 6.88 6.66; 6.95	0.000676 $\pm$ 0.000032	1(control)
F. acid + Fe^{+++}	9.89; 9.73 9.95; 9.80	0.000984 $\pm$ 0.000041	0.68
F. acid + Cu^{++}	9.61; 9.44 9.03; 9.11	0.000930 $\pm$ 0.000038	0.72
F. acid + Fe^{+++} + Cu^{++} + Mn^{++}	29.5 ; 30.5 34.4 ; 33.3	0.00319 $\pm$ 0.00020	0.21
F. acid + Fe^{+++} + Cu^{++} + Mn^{++} + Mg^{++}	35.1 ; 36.8 40.3 ; 39.5	0.00379 $\pm$ 0.00018	0.17

塩単独の添加では阻害作用は約 50%, 又 Cu^{++} 塩単独の添加では約 30% が除去されるのみであるが、 Fe^{+++} を主体として微量の Cu^{++} , Mn^{++} , Mg^{++} を兼用して添加する時は阻害作用の約 80~85% が除去される。尚 fusaric acid の溶液、或いは之に金属を添加した溶液を作用せしめて粃を生育させた状態は写真に示す如くである。最後に blank test として、これ等添加する金属塩自体が粃の生育に及ぼす影響を調べて置く必要があるの

Table 4. Respirated O_2 Volume (c.m.m.)
by 10 Rice Seedlings (Norin No.
1, cultivated for 4 days at 30°)
for 30 minutes at 30°

	Respirated O_2 volume (c.m.m.)	Mean of absorbed O_2 gas (c.m.m.) and confidence limits of population mean. $\alpha = 0.05$ $n = 4$
Control	101.7; 104.3	103.7 $\pm$ 1.77
(Dist. water)	98.6; 110.0	
$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	95.0; 106.2	101.6 $\pm$ 1.93
0.0056 N	105.2; 100.2	
$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 0.0056 N		
+ CuSO_4 6/1000,000	101.5; 113.1	105.4 $\pm$ 1.98
+ MnSO_4 6/1000,000	97.8; 109.3	
+ MgSO_4 6/1000,000		

で厳密な検討を加えた。金属塩溶液としては $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ の 0.0056 N 溶液に CuSO_4 , MnSO_4 , MgSO_4 のそれぞれ 6/1,000,000 宛を添加した溶液を使用し、対照には再蒸溜水を使用して呼吸作用に及ぼす影響を試験した。

試験方法はこれ迄述べたと同様で、4 日間生育の粃 (農林 1 号) 10 粒を Warburg の特殊容器に入れ、30° 恒温槽中に 30 分間振盪せしめて吸収した O_2 の cmm 数に依つて呼吸量を求める。然して各 4 回宛測定を行い母平均の信頼限界を求めて比較検討した。その結果は Table 4 に示す如く金属塩溶液を作用せしめても有意水準 5% に於て対照と有意な差は認められない。

即ちこれに依つて金属塩添加に依る fusaric acid の阻害作用除去試験に於ては粃の生育に及ぼす金属塩自然

- A. control
 B. I Fusarinic acid 0.02%
 +Fe⁺⁺⁺+Cu⁺⁺+Mn⁺⁺
 II F. acid 0.01%
 +Fe⁺⁺⁺+Cu⁺⁺+Mn⁺⁺
 III F. acid 0.0075%
 +Fe⁺⁺⁺+Cu⁺⁺+Mn⁺⁺
 IV F. acid 0.005%
 +Fe⁺⁺⁺+Cu⁺⁺+Mn⁺⁺
 C. I Fusarinic acid 0.02%
 II F. acid 0.01%
 III F. acid 0.0075%
 IV F. acid 0.005%

直接の影響は考慮する必要がない事を確かめた。

- A. control
 B. I Fusarinic acid 0.02%
 +Fe⁺⁺⁺+Cu⁺⁺+Mn⁺⁺
 II F. acid 0.01%
 +Fe⁺⁺⁺+Cu⁺⁺+Mn⁺⁺
 C. I F. acid 0.02%
 +Fe⁺⁺⁺
 II F. acid 0.01%
 +Fe⁺⁺⁺
 D. I F. acid 0.02%
 +Cu⁺⁺
 II F. acid 0.01%
 +Cu⁺⁺
 E. I Fusarinic acid 0.02%
 II Fusarinic acid 0.01%

結 論

本報に於てはこれ迄の理論に立脚して Fe⁺⁺⁺, Cu⁺⁺等の金属塩の添加に依つて fusarinic acid の阻害作用が如何様に除去されるかを経験した。fusarinic acid の溶液を以て籾を生育せしめる際、之に等 normal の Fe⁺⁺⁺ 塩、或は Cu⁺⁺ 塩を添加する時は推計学

的に検討して明かに阻害作用の除去は認められるが、但し極めて不充分である。然るに chelation power の最も強い Fe⁺⁺⁺ を主体として之に微量の Cu⁺⁺, Mn⁺⁺, Mg⁺⁺ 等を補つて添加する時はかなり完全に近く fusarinic acid の阻害作用を除く事が出来る。例えば呼吸作用に就て言えば、Fe⁺⁺⁺ 添加では F. acid の阻害作用の約 50%, Cu⁺⁺ 添加では約 30% が除去されるのみであるが、Fe⁺⁺⁺ を主体として之に微量の Cu⁺⁺, Mn⁺⁺, Mg⁺⁺ を補つて添加した場合には阻害作用の約 85% を除去する事が出来る。尙 blank test として金属塩自体が直接籾の呼吸に及ぼす影響を検討したが此の実験に使用した範囲の濃度に於ては何等の影響も認め得なかつた。

本研究を遂行するに当り御指導を頂いた恩師東大名誉教授藪田貞治郎博士、東大教授住木諭介博士に厚く感謝の意を捧げると共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附記して衷心より感謝致します。

(1) 玉利, 加治 : 農化, 26, 223 (1952).

Summary

We studied on the elimination of the injurious action of fusarinic acid on rice seedlings' respiration and the power of catalase and peroxidase. We found the injurious action of this acid is to be eliminated partially by the addition of equivalent normal of Fe⁺⁺⁺ or Cu⁺⁺ and then almost all by the addition of Fe⁺⁺⁺ together with a slight amount (6/1000,000) of Cu⁺⁺, Mg⁺⁺ and Mn⁺⁺.