[農化 第 50 卷, 第 8 号, p.377~380, 1976]

N-アシルアミノ酸エステルの 植物病原菌生育阻害作用

高野三郎, 長谷川忠男, 鈴木隆雄,
鍵渡徳次*, 中村重正*, 向 秀夫*
(東京農業大学農学部農芸化学科, *農学科)

昭和 51 年 2 月 20 日受理

The Growth Inhibitory Action of *N*-Acyl Amino Acid Ester on Plant Pathogens

By Saburo TAKANO, Tadao HASEGAWA,
Takao SUZUKI, Tokuji KAGIWATA*,
Shigemasa NAKAMURA* and Hideo MUKO

Department of Agricultural Chemistry,
*Department of Agriculture,
Tokyo University of Agriculture,
Sakuragaoka-1, Setagaya-ku, Tokyo

N^α-cocoyl-L-arginine ethyl ester DL-2-pyrrolidone-5-carboxylic acid salts (abbreviation: CAE) was prepared by neutralization with pyrrolidone carboxylic acid after condensing fatty acids of coconut oil and L-arginine ethyl ester. Tests for protection of plant pathogens were performed because of wide antimicrobial action of CAE.

As the results of investigation in laboratory, CAE in the medium had shown remarkable antimicrobial effects to anthracnose of banana, rust of broad bean, sheath blight of rice plant, black spot of pear respectively.

Field tests were carried out and growth inhibitory actions to plant pathogens were clearly shown at such concentration as 500 μg/ml to chocolate or red spot of broad bean, 70 μg/ml to black spot of pear and scab of pear, 150 μg/ml to rust of pear, and 500 μg/ml to bacterial leaf spot of cucumber and downy mildew of cucumber. A slightly inhibitory action to powdery mildew of cucumber was also found. (Received February 20, 1976)

N^α-ココイル-L-アルギニンエチルエステル-DL-2-ピロリドン-5-カルボン酸塩 (以下 CAE と略) は、やし油の脂肪酸部と L-アルギニンエチルエステルを脱水縮合

し、ピロリドンカルボン酸で中和して塩としたものである⁽¹⁾。CAE は低毒性で界面活性効果を有し、広範囲な抗菌作用を示すところから、各種植物病原菌に対する効果を検討したところ、*N*-ベンゾイルアミノ酸や *N*-フェニルアセチルアミノ酸⁽²⁻⁴⁾と比較して、より良好な効果を認めたので報告する。

1. CAE の成分組成

CAE は味の素 KK より分譲されたもので、その成分組成は *N*^α-ラウロイル-L-アルギニンエチルエステル-DL-2-ピロリドン-5-カルボン酸塩約 55%, *N*^α-ミリスチル-L-アルギニンエチルエステル-DL-2-ピロリドン-5-カルボン酸塩約 25%, *N*^α-カプロイル-L-アルギニンエチルエステル-DL-2-ピロリドン-5-カルボン酸塩約 10%, *N*^α-パルミトイル-L-アルギニンエチルエステル-DL-2-ピロリドン-5-カルボン酸塩約 6%, *N*^α-カプリオイル-L-アルギニンエチルエステル-DL-2-ピロリドン-5-カルボン酸塩約 4% である。

2. 供試植物病原菌および培地

供試植物病原菌株は、イネ紋枯病菌 *Rhizoctonia solani*, イネいもち病菌 *Pyricularia oryzae*, パナナ炭そ病菌 *Gloeosporium musarum*, ナシ黒斑病菌 *Alternaria kikuchiana* Tanaka, ソラ豆のさび病菌 *Uromyces fabae*, ソラ豆の赤色斑点病菌 *Botrytis fabae* Sardina, キュウリの斑点細菌 *Pseudomonas lachrymans* Carens と、圃場試験時の調査菌株ナシの赤星病菌 *Gymnosporangium haraeaeum* Sydow, ナシの黒星病菌 *Venturia nashicola* Tanaka et Yamamoto, キュウリのべと病菌 *Pseudoperonospora cubensis* (Berkeley et curtis) Rostowzew, キュウリのうどんこ病菌 *Sphaerotheca fuliginea* (Schlechtendahl) Pollacci を用い、培地はジャガイモ半合成培地を使用した。

3. 培地上における試験

培地に CAE を 10~1000 μg/ml となるように添加し、これに各種植物病原菌を接種し、27°C, 72~96 時間培養後のコロニー数を測定し、これより有意差検定を行ない判定した。また、胞子の発芽管の伸長をマイクロメーターで測定し、判定した。

4. パナナ果実における CAE の生育阻害作用

新鮮で未熟なバナナの青い房を良く水洗後風乾し、まず CAE とチアベンダゾール (TBZ と略) の 100 または 1000 μg/ml 溶液に浸漬し、再び風乾後、バナナ果皮表面に滅菌した木綿針で傷をつけ、その部分にバナナ炭

Table I. Inhibitory Action of CAE, N-Lauroyl-L-valine and N-Lauroyl-betaine on Colony Appearance and Spore Germination of Plant Pathogen

Chemicals	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	a : colony appearance rate relative to the control, b : hyphal elongation ratio													
		(1)		(2)		(3)		(4)		(5)		(6)		(7)	
		a (%)	b (%)	a (%)	b (%)	a (%)	b (%)	a (%)	b (%)	a (%)	b (%)	a (%)	b (%)	a (%)	b (%)
CAE	10	46.2**								96.4					
	20	0 **								5.4**					
	30									6.9**					
	50		26.0**	17.2**											
	70							83.0							
	100		7.0**	20.5**			75.9**	55.1**			84.5	13.0**	80.4	33.5**	
	200						24.3**				51.1**	0 **		0 **	
	250										0 **				
	300					86.0	7.1**						0 **		
	400					58.0**									
N-Lauroyl-L-valine	500		0 **	0 **		10.0**							0 **		
	10	90.5								96.8					
	20	65.3*								20.8**					
	30									9.6**					
	50	23.4**		21.3**											
	100		22.1**	19.7**		0.6**		48.3**							
	300							0 **							
N-Lauroyl-betaine	500		0 **	0 **		0 **									
	10									84.6					
	30									63.4**					
	100														
Thiabendazole (TBZ)	500					95.7									
	10	0 **				0 **									
	20	0 **													

(1) anthracnose of banana, *Gloeosporium musarum*; (2) sheath blight of rice plant, *Rhizoctonia solani*; (3) rice blast fungus, *Pyricularia oryzae*; (4) black spot of pear, *Alternaria kikuchiana* Tanaka; (5) rust of broad bean, *Uromyces fabae* (Persoon); (6) chocolate or red spot of broad bean, *Botrytis fabae* Sardinia; (7) bacterial leaf spot of cucumber, *Pseudomonas lachrymans* Carens.

** indicate significant growth effect and significance of difference from control in hyphal elongation at the 1% level of probability as estimated by *t*-test (* 5% level).

そ病菌孢子懸濁液を 1 滴滴下し, これを 25°C, 5 日間培養し, これより直径が 15 mm 以上の病斑を計数し判定した。

5. 圃場試験における CAE の菌生育阻害試験

1) ソラ豆赤色斑点病防除試験

① 供試薬剤および濃度, 区制, CAE は 100, 500, 1000 $\mu\text{g/ml}$ とし, 他にダイセン水和剤 1800 $\mu\text{g/ml}$ (エチレンジチオカルバミド酸鉛剤) と無散布の 5 区を 3 連制で設け, 3 回, 1 区 10 l 散布した。

② 発病調査は, 20 茎の頂葉より 3 段目の小葉を罹病程度別に分類調査し, 罹病度を算出した。罹病程度: 多: 病斑面積が 60~100% の葉のもの, 中: 病斑面積が 30~60% のもの, 少: 病斑面積が 1~30% のもの, 無:

病斑面積が 0~1% のもの。

以上より

$$\text{罹病度}^{(b)} = \frac{3 \times \text{多} + 2 \times \text{中} + 1 \times \text{少} + 0 \times \text{無}}{3 \times \text{調査全葉数}} \times 100$$

とした。

2) ナン病害防除試験

① 供試薬剤, 濃度と区制, CAE は 70, 150, 300 $\mu\text{g/l}$ ml とし, 他にポリオキシン水和剤 100 $\mu\text{g/ml}$, 慣行防除 (ポリオキシン水和剤 150 $\mu\text{g/ml}$ 散布) の 5 区 3 連制で, 薬剤は 3 回 1 区 10 l 散布した。1 区は 1 太枝を用いた。

② 発病調査は, 10 個の短果枝について全葉数, 罹病葉数を調査し, 罹病葉率を算出した。

3) キュウリ病害防除試験

Table II. Effects of Fungicides on the Lesion Formation of Anthracnose on Fresh Banana Fruits

Chemicals	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Number of disease spot over 15 mm diameter/number of inoculation on a banana	Rate of an attack of disease (%)
Control		16/40	40.0
CAE	100	8/40	20.0*
CAE	1000	5/40	12.5**
Thiabendazole (TBZ)	100	6/40	15.0**
Thiabendazole (TBZ)	1000	4/40	10.0**

On drop of the spore suspension was inoculated in 40 spots injured by a needle on a rind of banana that was soaked in the drug solution after wash and the air dry. Then kept at 25°C for 120 hours.

** indicate significant growth effect at the 1% level of probability as estimated by *t*-test (* 5% level).

Table III. Ratio of Inhibitory Action Calculated from the Number of Contracted Leaves of Broad Bean and Pear Sprinkled with CAE in the Field Area

Chemicals	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Contracted leaves number rate (%)			
		(1) ^{a)}	(2) ^{b)}	(3) ^{b)}	(4) ^{b)}
CAE	70	74.5	5.4	1.8	1.0
	100				
	150		3.5	1.2	1.9
	300	36.1	4.6	0	1.3
	500				
	1000	49.4			
Zinc ethylenebis (dithiocarbamate)	1800	31.7			
Polyoxin	100		2.4	1.5	3.4
Control		58.9 ^{c)}	7.4 ^{d)}	3.8 ^{d)}	3.6 ^{d)}

(1) chocolate or red spot of broad bean, *Botrytis fabae* Sardina; (2) rust of pear, *Gymnosporangium haraeae* Sydow; (3) scab of pear, *Venturia nashicola* Tanaka et Yamamoto; (4) black spot of pear, *Alternaria kikuchiana* Tanaka.

a) degree of contract a disease = $\frac{3 \times \text{abundant} + 2 \times \text{medium} + 1 \times \text{few} + \text{none}}{3 \times \text{all leaves number for investigation}} \times 100$.

b) degree of contract a disease = $\frac{\text{every number of contract a disease}}{3 \times \text{all leaves number of 10 pieces of short blanch using for investigation}} \times 100$.

c) no sprinkled. d) The hibitual prevention were done before starting of investigation.

Table IV. Ratio of Inhibitory Action Calculated from the Number of Contracted Leaves of Cucumber Sprinkled with CAE in the Field Area

Chemicals	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Contracted leaves number rate relative to the control (%)		
		(1)	(2)	(3)
CAE	500	28.3**	89.8	21.4*
	1000	16.3**	38.9**	28.5*
Copper hydroxide chloride	1470	34.8**	15.7**	135.7
8-Hydroxyquinolinatocopper	772	33.7**	7.4**	0 **

** indicate significant growth effect at the 1% level of probability as estimated by *t*-test (* 5% level).

(1) downy mildew of cucumber, *Pseudoperonospora cubensis* (Berkeley et curtis) Rostowzew ; (2) powdery mildew of cucumber, *Sphaerotheca fuliginea* (Schlechtendahl) pollacci ; (3) bacterial leaf spot of cucumber, *Pseudomonas lachrymans* Carens.

① 供試薬剤, 濃度と区制, CAE は 500, 1000 $\mu\text{g/ml}$, 他に塩基性塩化銅 1470 $\mu\text{g/ml}$, 8-ヒドロキシキノリン銅 772 $\mu\text{g/ml}$, 他に慣行防除区 (マンゼブ散布) を設け, 5 区とし薬剤は 4 回, 1 区 7~8 l を散布した。

② 発病調査は, 20 株の 800 葉中の罹病葉数を数え, 罹病葉率を算出した。

培地上の CAE の効果はバナナ炭そ病菌で著しく, その 10 $\mu\text{g/ml}$ の添加で, 本菌の増殖抑制効果がみられた。他の植物病原菌では, イネ紋枯病菌で 50 $\mu\text{g/ml}$, イネいもち病菌で 400 $\mu\text{g/ml}$, ナシ黒斑病菌で 100 $\mu\text{g/ml}$, ソラ豆の赤色斑点病菌で 200 $\mu\text{g/ml}$, 最近キュウリの病原菌で注目をひくキュウリの斑点病菌で 300 $\mu\text{g/ml}$ で菌増殖抑制効果を示した。また, バナナ炭そ病菌の孢子発芽管の伸長を, 50 $\mu\text{g/ml}$ で抑制する効果が認められた。一方, イネいもち病菌で 100 $\mu\text{g/ml}$, ソラ豆のさび病菌の夏孢子は 20 $\mu\text{g/ml}$, ソラ豆の赤色斑点病菌で 100 $\mu\text{g/ml}$, キュウリの斑点細菌では, 100 $\mu\text{g/ml}$ で孢子発芽管の伸長を抑制した (Table I)。さらに, 前回⁽⁴⁾同様バナナの果皮を用いた実験で, CAE は 100 $\mu\text{g/ml}$ でバナナ炭そ病菌生育抑制作用を示した (Table II)。今回は, さらに圃場でも CAE の効果を検討した。まず, ソラ豆の赤色斑点病菌で 500 $\mu\text{g/ml}$, 次にナシは赤星病菌で 150 $\mu\text{g/ml}$, 黒星病菌と黒斑病菌で 70 $\mu\text{g/ml}$ で菌生育抑制効果が認められた (Table III)。さらにキュウリでは, ベと病菌と斑点細菌に 500 $\mu\text{g/ml}$ で強い菌生育抑制効果がみられ, うどんこ病菌では 1000 $\mu\text{g/ml}$ で菌生育抑制効果を示した (Table IV)。

圃場試験ではソラ豆, ナシ, キュウリを対象とし, それぞれの病原菌に対する CAE の効果を検討した。ソラ

豆の赤色斑点病菌で菌生育抑制効果がみられ, ナシでは黒斑病菌の黒星病菌に強い菌生育抑制効果がみられた。また赤星病菌にも阻害効果を示したが, 本菌はソラ豆のさび病菌とともに純活物寄生菌の一種であり, 本菌に対して CAE が阻害効果を示したことは, 注目すべきことである。

さらに, キュウリの斑点細菌に強い生育抑制効果を示したが, 最近ビニールハウスなどで本菌による被害が数多く報告されており⁽⁶⁾, 興味深い。また CAE は葉害, 新芽の生長阻害もみられず, 既存の薬剤と比較してもその有効性が期待できる。

終りにのぞみ, 試料の CAE 提供していただいた味の素社, 奥村信二氏, 中森茂氏に謝意を表するとともに, 直接実験に協力していただいた青木誠一郎, 河野誠一郎の 2 氏, また圃場試験に便宜を与えられた神奈川県中部病害虫防除所の内田貞男所長に厚くお礼申し上げます。

本報告の概要は昭和 50, 51 年度日本農芸化学会大会で講演した。

- (1) 日本特許公告, 47-313.
- (2) 高野三郎, 鈴木隆雄, 佐橋佳一: 農化, 46, 309 (1972).
- (3) 高野三郎, 長谷川忠男, 向 秀夫, 鈴木隆雄: 農化, 48, 325 (1974).
- (4) 高野三郎, 長谷川忠男, 向 秀夫, 中村重正, 鈴木隆雄: 農化, 49, 123 (1975).
- (5) 明日山秀文, 向 秀夫, 鈴木直治: 植物病理実験法, 日本植物防疫協会, 1965, p. 283.
- (6) 上田 進, 別宮岩義, 南条治彦: 農業および園芸, 50, 813 (1975).