

アミノ酸関連化合物の生物活性

高野 三郎*

Biological Activity on the Related Compound of Amino Acid

Saburo TAKANO

緒言

化合物が生物に及ぼす影響については、従来より様々な研究がなされてきたが、著者らもビタミンがラットの成長を促進することを認め報告してきた¹⁾。ところで、ビタミンもアミノ酸も従来から人間や生物にとって栄養となる物質としての評価が高い。アミノ酸や脂肪酸の栄養生化学的面も検討する一方、これら化合物の他の応用面も検討した。アミノ酸を主体とした化合物の農業利用への研究では、当初に遊離アミノ酸のL-メチオニン、L-システインなどの両含流アミノ酸が植物種子の発芽促進効果を認め報告した²⁾。さらにこの研究ではN-フェニルアセチルアミノ酸が双子葉植物の発芽を強く阻害するが、水稻種子などの単子葉植物の発芽には殆ど影響を与えなかったことから、その実用の可能性が示唆された。さらに、稲の主病原菌の一つとされているいもち病菌の生育とアミノ酸の関係について、大畑はL-メチオニン、L-ロイシンなどがいもち菌の発芽管の伸長などを抑制することを示した³⁾。

そこで、今回はこれらの結果にもとずき、手持ちの毒性の考えられないアミノ酸関連化合物の中に各種植物病原菌に対し生育抑制作用を示すものがあるとの考えから実験を進め

て検討したところ、若干の知見を得たので報告する。

なお、今回用いたアミノ酸関連化合物は脂肪酸の一種、ラウリル酸とアミノ酸の縮合物N-ラウリル-L-バリン、N-ラウリル-L-ベタインおよびヤシ油とアミノ酸の縮合物であるN-ココイル-L-アルギニンエチルエステル(CAEと略)などである。

実験方法

1. 実験材料

用いたアミノ酸関連化合物は上記のように脂肪酸とL-アミノ酸の縮合物である。なお、ヤシ油から作られたCAEの脂肪酸部はラウリル酸、カプリル酸、カブロン酸などである。

これらアミノ酸関連化合物は各種植物病原菌に対する菌生育抑制の実験に際し、10 µg-500 µg/mlとなるように調製した。用いた各種植物病原菌の菌株はパナナ炭そ病菌 *Gloeosporium musarum*、イネ紋枯病菌 *Rhizoctonia solani*、イネいもち病菌 *Pyricularia oryzae* Cavara、ナシ黒班病菌 *Alternaria kikutiana* Tanaka、ソラ豆の赤色斑点病菌 *Botrytis fabae* Sardina、ソラ豆のさび病菌 *Uromyces fabae*、キュウリの斑点細菌病菌 *Pseudomonas lachrymans* Carens などである。これら各種植物病原菌の菌生育抑制試験に用いた基礎培地はポテトグルコース培地である⁴⁾。

*たかの さぶろう 文教大学教育学部

2. 各種植物病原菌生育抑制試験

あらかじめ基礎培地で前培養した各種植物病原菌を滅菌生理食塩水に懸濁した後、その菌液1mlとアミノ酸関連化合物を10 µg-500 µg/mlに調製した培地を混合して滅菌ペトリ皿へ注入し、25℃, 96時間培養し、生じたコロニー数より菌抑制効果を判定した。なお、アミノ酸無添加の培地を対照とした。

3. 孢子発芽に関する試験

アミノ酸関連化合物については、100または1,000 µg/ml, CAEおよび他の薬剤については10~1,000 µg/mlの溶液で、顕微鏡下で一視野あたり50内外のバナナ炭そ病菌および各種植物病原菌の孢子懸濁液をつくり、これを一滴カバーグラスにのせ、ペトリ皿中に静置し、蓋をした後、27℃, 24時間培養し、孢子より発芽した発芽管の伸長をマイクロメーターで測定し効果を判定した。

実験結果および考察

アミノ酸や脂肪酸の生体内での栄養代謝的な効果は古くから知られていることであるが、当初ここで取り上げた農業利用上での農薬面への発想は殆ど利用面から省みられなかった。一つは毒性が低い反面その効果も期待しにく

いこと、アミノ酸は栄養素としてのイメージが強く、農薬としては使用されにくいだろうという抵抗感がみられた。しかしながら、イネいもち病菌に効果があったメチル水銀やボルドー液などの重金属農薬が毒性などの面から次々に使用が禁止されるにおよび他の毒性の低い化合物のいろいろな応用面が考えられるようになった。前記の大畑のアミノ酸によるイネいもち病菌の発芽管伸長抑制と大森らによるアミノ酸関連化合物の双子葉植物に対する発芽抑制の報告などが端緒となり、今回の研究が推進された。CAEは毒性が低く、マウスによる急性毒性試験ではLD50が10.75g/Kgであった。サルモネラ菌を用いた変異原性試験でも陰性を示した。さらに、モノステアリルトリメチルアンモニウムクロライド (MSAC) やジステアリルジメチルアンモニウムクロライド (DSAC) とCAEの生分解性の試験でも前2者より明らかに高い生分解性を示した。CAEは白色結晶状の粉末であり、酢酸エチルにはわずかしが溶けず、冷水、トルエンには溶けにくい。しかし、エチルアルコール、エチレングリコール、温水には溶解する。また、界面活性作用があり、Stalagmometerによって比表面張力を求めた結果は0.536であった。また、起泡力、乳化力を併せもち、防臭効果もある上、CAE自体は無

Table 1 CAEの安全性

項目	結果	方法
急性毒性	LD50 10.75 g/kg	マウス、経口
変異原性	陰性	サルモネラ菌
皮膚感作性	陰性	モルモット

Table 2. Properties of CAE

(1) Solubility

Temp. °C	10	30	40	50
g / ml	1	5	7	56

(2) Melting point . 180 ~ 185 °C

アミノ酸関連化合物の生物活性

臭である。これらの結果をもとに先ず、CAEの各種植物病原菌生育抑制試験を行ったところ、バナナに甚大な被害をもたらすといわれるバナナの炭そ病菌に対し、カビ止め剤として用いられるチアベンダゾール (TBZ) と同等に近い効力をもつことが確認された。即ち、N-ラウロイル-L-バリンが20 µg/mlで弱いながら菌生育抑制作用をしめたのに対し、CAEは10 µg/mlで菌生育抑制効果を示した (Table.3)。一方、イネ紋枯れ病菌に対してはCAEとN-ラウロイル-L-バリンは50 µg/mlでそれぞれ強い菌生育抑制効果を示した。さらに、イネいもち病菌に対して、CAEは400 µg/ml、N-ラウロイル-L-ベタインが500 µg/ml

で菌生育抑制効果を示した。N-ラウロイル-L-バリンは100 µg/mlでより強い菌生育抑制作用を示した (Table.4)。さらに、他の植物病原菌に対するCAEの効果を検討した。ナシ黒斑病菌ではCAEとN-ラウロイル-L-バリンは100 µg/mlで菌生育抑制効果を示した。一方、ソラ豆の赤色斑点病菌に対しCAEは200 µg/mlで、キュウリの斑点細菌病菌では300 µg/mlで菌抑制効果がみられた (Table.5)。これらの結果より、CAEは特にバナナの炭そ病菌の防除には有効な物質であることが示唆された。次に、CAEなどのアミノ酸関連化合物を用いて各種植物病原菌の胞子発芽試験を実施した。先ず、バナナ炭そ病菌に対する効果を

Table 3. Inhibitory Action of C A E and N-Lauroyl-L-valine as Reflected by Colony Appearance of Plant Pathogen Anthracnose of Banana, *Gloeosporium musarum*

Chemicals	Concentration (µg/ml)	Average counts/ l petri dish		Colony appearance rate relative to the control
		Control	Chemicals added	
C A E	10	50.4	23.3	46.2 **
	20		0	0 **
	50		0	0 **
N-Lauroyl-L-valine	10	50.4	45.6	90.5
	20		32.9	65.3 *
	50		11.8	23.4 **
Thiabendazole	10	50.4	0	0 **
	20		0	0 **

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

Table 4. Inhibitory Action of C A E, N-Lauroyl-L-valine and N-Lauroyl-betaine as Reflected by Colony Appearance of Plant Pathogen

Chemicals	Concentration (µg/ml)	Average counts/ l petri dish		Colony Appearance rate relative to the control
		Control	Chemicals added	
Sheath Blight of Rice Plant, <i>Rhizoctonia solani</i>				
C A E	50	24.4	4.2	17.2 **
	100		5.0	20.5 **
	500		0	0 **
N-Lauroyl-L-valine	50	24.4	5.2	21.3 **
	100		4.8	19.7 **
	500		0	0 **
Rice Blast Fungus, <i>Pyricularia oryzae</i>				
C A E	300	5.0	4.3	86.0
	400		2.9	58.0 **
	500		0.5	10.0 **
N-Lauroyl-L-valine	100	16.9	0.1	0.6 **
	500		0	0 **
N-Lauroyl-betaine	100	16.5	15.7	95.7
	500		0	0 **

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

Table 5. Inhibitory Action of C A E and N-Lauroyl-L-valine as Reflected by Colony Appearance of Plant Pathogen

Chemicals	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Average counts/ 1 petri dish		Colony appearance rate relative to the control
		Control	Chemicals added	
Black spot of pear, <i>Alternaria kikuchiana</i> Tanaka				
C A E	70	14.7	12.2	83.0
	100		8.1	55.1 **
N-Lauroyl-L-valine	100	14.7	7.1	48.3 **
	200		4.2	28.6 **
	300		0	0 **
Chocolate or red spot of Broad bean, <i>Botrytis fabae</i> Sardina				
C A E	100	17.4	14.7	84.5
	200		8.9	51.1 **
	250		0	0 **
Bacterial leaf spot of cucumber, <i>Pseudomonas lachrymans</i> Carens				
C A E	100	26.0	20.9	80.4
	300		0	0 **
	500		0	0 **

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

Table 6. Effect of C A E and N-Lauroyl-L-valine on the Spore Germination of Plant Pathogen Anthracnose of Banana, *Gloeosporium musarum*

Chemicals	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Hyphal elongation			
		minimum (μ)	maximum (μ)	average (μ)	ratio (%)
Control		232.5	545.0	397.5	100.0
C A E	50	55.0	217.0	103.5	26.0 **
	100	12.5	62.5	27.8	7.0 **
	500		0	0	0 **
N-Lauroyl-L-valine	100	45.0	167.5	87.8	22.1 **
	500		0	0	0 **

** indicate significance of difference from control in hyphal elongation at the 1 % level of probability as estimated by t-test.

Table 6. Effect of C A E and N-Lauroyl-L-valine on the Spore Germination of Plant Pathogen Anthracnose of Banana, *Gloeosporium musarum*

Chemicals	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Hyphal elongation			
		minimum (μ)	maximum (μ)	average (μ)	ratio (%)
Control		232.5	545.0	397.5	100.0
C A E	50	55.0	217.0	103.5	26.0 **
	100	12.5	62.5	27.8	7.0 **
	500		0	0	0 **
N-Lauroyl-L-valine	100	45.0	167.5	87.8	22.1 **
	500		0	0	0 **

** indicate significance of difference from control in hyphal elongation at the 1 % level of probability as estimated by t-test.

検討した。その結果、CAEは50 $\mu\text{g/ml}$ で、N-ラウロイル-L-パリンは100 $\mu\text{g/ml}$ で発芽管の伸長を抑制した (Table.6)。さらに、ソラ

豆さび病菌での試験ではN-ラウロイル-L-ベタインが30 $\mu\text{g/ml}$ で弱いながらも発芽管の伸長を抑制する効果を示した。一方、N-ラウロイ

アミノ酸関連化合物の生物活性

Table 7, Effect of C A E , N-Lauroyl-L-valine and N-Lauroyl-betaine on the Spore Germination of Plant Pathogen Rust of Broad bean , *Uromyces fabae* (Persoon)

Chemicals	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Hyphal elongation			
		minimum (μ)	maximum (μ)	average (μ)	ratio (%)
Control		374.0	550.0	488.4	100.0
C A E	10	374.0	572.0	470.8	96.4
	20	22.0	66.0	26.4	5.4 **
	30	22.0	66.0	33.9	6.9 **
N-Lauroyl-L-valine	10	378.4	651.2	472.6	96.8
	20	44.0	176.0	101.6	20.8 **
	30	26.4	110.0	47.1	9.6 **
N-Lauroyl-Betaine	10	272.8	602.8	431.2	84.6
	30	211.2	576.4	309.8	63.4 *
	50	48.4	92.4	70.4	14.4 **

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

Table 8, Effect of C A E on the Spore Germination of Plant Pathogen

Chemicals	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Hyphal elongation			
		minimum (μ)	maximum (μ)	average (μ)	ratio (%)
Rice Blast Fungus , <i>Pyricularia oryzae</i>					
Control		325.0	525.0	440.0	100.0
C A E	100	237.5	450.0	333.8	75.9 **
	200	55.0	150.0	107.0	24.3 **
	300	15.0	62.5	31.3	7.1 **
Chocolate or red spot of Broad bean , <i>Botrytis fabae</i> Sardina					
Control		10.0	62.5	30.8	100.0
C A E	100	0	12.5	4.0	13.0 **
	200	0	0	0	0 **
Bacterial leaf spot of cucumber , <i>Pseudomonas lachrymans</i> Carens					
Control		162.5	295.0	215.0	100.0
C A E	100	37.5	130.0	72.0	33.5 **
	150	7.0	50.0	19.8	9.2 **
	200	0	0	0	0 **

** indicate significance of difference from control in hyphal elongation at the 1 % level of probability as estimated by t-test.

ル-L-バリンとCAEでは20 $\mu\text{g/ml}$ で抑制効果がみられ、特に、CAEの効果は顕著であった (Table.7)。一方、CAEのその他の植物病原菌に対する効果を検討したところ、イネいもち病菌、ソラ豆の赤色斑点病菌ならびにキュウリの斑点細菌病菌に対し、100 $\mu\text{g/ml}$ でそれぞれの菌の発芽管を抑制する効果を示した (Table.8)。以上のことより、CAEはここに示した各種植物病原菌に対し菌生育抑制作用ならびに発芽管の伸長抑制効果を示し、実用上でも有用な物質であることが示された。今後、他の効果などについて検討を加えたいと考えている。

参考文献

1) 舛重正一, 高野三郎, 鈴木隆雄, 佐橋佳一: ビタミン, 1969, p. 424.

- 2) 大森正司, 高野三郎, 山田貢佑, 長谷川忠男, 鈴木隆雄, 佐橋佳一: Amino Acid & Nucleic Acid, 1972, p98.
- 3) 大畑貫一: 農業技術研究所報告, C, 20, 1966, p1.
- 4) 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. 285.