

アブラムシ抵抗性物質グラミンの オオムギの生育に伴う変化

兼久勝夫・Rustamani, Maqsood A.・
積木久明・笠原敏彦・白神 孝

Changes of Gramine Contents as an Aphid Resistant Substance with Barley Growth

Katsuo KANEHISA, Maqsood A. RUSTAMANI, Hisaaki TSUMUKI
Toshihiko KASAHARA and Takashi SHIRAGA

Barley plants may be severely damaged by aphids, mainly because they may transmit viruses, suck food and disrupt tissues. There are resistant lines and susceptible lines in barley to aphids. Gramine is an indole alkaloid and is toxic to animals including aphids. The changing amounts of gramine from seedling to mature stages were investigated on 27 lines from 1989 to 1991. Barley was sown around November 20 in the former year and harvested in early June. Higher amounts of gramine in seedling stages in all lines were detected, then it gradually decreased with barley growth until 2 to 3 weeks before the earing stages. At this time aphids had appeared on the barley leaves and increased in population. The susceptible lines had a tendency of greater decrease in gramine content than the resistant lines at the time of aphid population growth. The maximum aphid population was observed from the end of April to early May. The gramine content was almost constant at this time.

The degradation mechanisms may be important factors determining the difference of resistant and susceptible lines at the aphid population growth stage. The susceptible lines may have a higher activity of degradation mechanism.

Key words : Gramine content, Barley, Aphid, Resistant lines, Susceptible lines,

緒 言

西日本においては、オオムギ *Hordeum vulgare* L. に4種のアブラムシが寄生し、大発生するとかかなりの被害をもたらす。それらの出現比率はムギクビレアブラムシ *Rhopalosiphum padi* (L.) 60~70%、キビクビレアブラムシ *R. maidis* (F.) 20~30%、ムギミドリアブラムシ *Schizaphis graminum* (Rondani) 5~8%、*Sitobion akebiae* (Sinji) (2~3%) であり、オオムギの多くの系統間において寄生数で百倍以上の差が見られている (河田ら 1988, Kanehisa *et al.* 1990)。

近年、植物の害虫に対する抵抗性と感受性の差の要因物質として植物中の第二次代謝産物が注目されている。プロトインドールアルカロイドのグラミン、3-N,N-dimethyl-aminomethyl-indole, はクサヨシ属 *Phalaris* の牧草で検出され、羊やハタネズミに中毒を生じさせて毒性物質として注目されている (Gallagher *et al.* 1964)。このグラミンはオオムギにおいてもアブラムシ類に対する吸汁忌避ないし毒性物質として作用していることが判明してきた (Corcuera *et al.* 1984, Kawada and Lohar 1989, Kanehisa *et al.* 1990, Rustamani *et al.* 1992)。

オオムギのグラミン含量は圃場においてアブラムシの寄生しない幼苗期と寄生の見られる成熟期でかなり変化している。オオムギの生育に伴うグラミン含量の変化を1989、1990及び1991年の3年間において、20以上の系統について調べた。

本実験に使用したオオムギ種子は大麦系統保存施設より分譲して頂いた。武田和義教授及び施設の諸氏に感謝申し上げます。

材 料 と 方 法

オオムギ 供試した系統は岡山大学資源生物科学研究所附属大麦系統保存施設で保有し、栽培している系統から、圃場観察により種々の寄生程度を示したものを選抜し、使用した。その特性等については“Catalogue of Barley Germplasm Preserved in Okayama University” (Takahashi *et al.* 1983) に記載されている。11月20日頃に播種し、翌年6月上旬に収穫した。

アブラムシ指数 オオムギに寄生したアブラムシ類は4種を合わせて、一茎当りの寄生数でアブラムシ指数として比較した。即ちアブラムシの寄生の見られる4月初旬から収穫前にかけて、1週間おきに寄生数を数えて、計8回を合計し、1茎当りに換算し、指数とした (Kanehisa *et al.* 1990)。

グラミンの抽出法 Zuniga *et al.* (1985) の方法に準じた。穂から第2と第3番目の葉の10gを80 mlの0.1%アンモニア性メタノールで磨砕し、ガーゼで濾過し、真空濃縮した。これを8 mlの0.1 M塩酸に溶かし、濃アンモニア水でpH9.0に調整した後、クロロホルムに分配した。それを濃縮して、高速液体クロマトグラフィーにより定量した。

高速液体クロマトグラフィー 島津 HPLC 5A, 検出器 SPD-2A, Hibar カラム (Cica-Merck) を使用し、250nmで検出した。分離溶出液には0.05 M 磷酸緩衝液 (pH3.5) とアセトニトリルの (80:20) の混合液を使用し、1ml/分の送液で分離した。グラミンは6~7分

後に分離検出できた。0.01 μ g 以上は検出できた。

結 果

アブラムシ指数

アブラムシ類の繁殖過程は毎年ほぼ同じであった。即ち、平均気温が10℃位になり、オオムギが急速に伸長する4月上旬頃に、葉に飛来し、寄生し、繁殖を始めた。当初は *R. maidis* が優先種であったが、4月下旬になると *R. padi* が優先種であった。この頃から5月上旬にかけて、寄生数はピークに達した。その後、天敵の増加、オオムギの成熟等により、漸次寄生数は減少した。他の2種は出現時期を通じて散見する程度で大きなコロニーとして増殖することはなかった。

Table 1 に供試したオオムギ系統の1986年から1991年のアブラムシ指数を示す。この指数

Table 1. Annual fluctuation of aphid index of barley lines

Lines	Accession No.	1986	1987	1988	1989	1990	1991	mean
f ₉ -gl ₃ -Hs-k	O U L-117	43	102	68	29	56	45	57
Kmut-239 (gl ₅)	O U M-294	67	20	49	25	13	24	30
K-gl ₃ -Bl	O U L-056	50			13		14	26
Aizu-6	O U J-628	37	17	20	26	16	8	20
Kirin choku-1	O U J-511	39	13	15	23	17	23	20
Kmut-174	O U M-288	15	23	13	18	18	37	20
Goseshikoku	O U J-128	20	17	19	25	7.8	5.7	16
Aizu-4	O U J-522				23	12	10	15
Kimugi	O U L-012	16			22	9.8	11	15
Kashimamugi	O U J-532				12	15	8.0	12
Kyoto-nakate	O U J-812				4.2	13	15	10
Maruchin-1	O U J-438				13	12	4.6	10
Akashinriki	O U J-659	16	7.0	8.0	8.6	6.6	6.4	9.4
Smyrna	O U L-908	6.2	13	13	8.1	1.5	11	9.3
Koike-rokkaku-2	O U J-426				13	7.3	3.8	8.0
Kikai-hadaka	O U J-820					5.5	10	7.7
Mushingchiang-3	O U C-627				8.0	11	3.5	7.5
Amagi-nijo	O U J-241			12	6.5	5.5	2.6	6.5
Goseshikoku-sai-1	O U J-634				11	4.3	1.1	5.3
Jomoson-2	O U N-673	2.0	6.1	4.5	7.5	6.6	4.4	5.0
Shinshinriki-1	O U J-059		5.5	5.0	6.3	3.8	3.8	4.9
Mushingchang-1	O U C-026					6.3	1.9	4.1
Nihon ichi	O U J-172					4.9	2.5	3.7
<i>H.s. transcasicum</i>		2.0	4.0	2.4		1.7	3.1	2.6
<i>H.s.</i> -4969		0.7	2.2	3.4	1.0	4.4	0.2	2.0
<i>H.s.</i> -2294		0.9	2.5	4.8	1.2	1.0	0.8	1.8
<i>H.s.</i> -2558		0.7	0.8	4.2	1.0	1.9	2.3	1.8

H.s. : *Hordium spontanium* (Wild)

は年により降雨，低温等の気象要因と寄生天敵や捕食天敵の生物的要因の年次変動により，大きく変動した。しかし，極端な感受性を示した f₉-gl₃-Hs-k, Kmut-239 (gl₅), Kmut-294, K-gl₃-Bl, Aizu-6 と Kirin-choku-1 等の系統と極端な抵抗性を示した *Hordeum spontanium* の4系統と Nihon-ichi, Mushingchiang-1 や Shinshinriki 等の系統を比較すると，アブラムシ類の寄生程度で明瞭な差があった。供試した全体の中では，中間的性質の系統が多かった。これらにおいても数年間の調査で，指数の差が認められた。一応，指数が20以上の系統を感受性系統とし，指数が5以下の系統を抵抗性系統として，比較することにした。

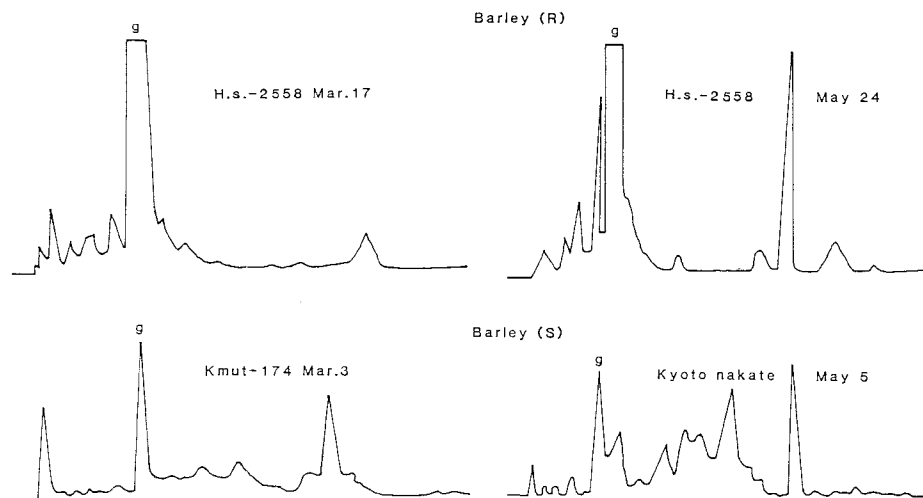


Fig. 1. HPLC profile of ammonia methanol extract. g: peak of gramine, R: resistant line, S: susceptible line.

グラミン含量のオオムギの生育に伴う変化

オオムギ葉からのアンモニア性メタノール抽出物のクロマトグラムの例を Fig. 1 に示す。グラミンは顕著な成分として検出できた。アンモニア性メタノール抽出物中には，多数の他の未同定の少量成分が同時に存在していた。これらは生育に伴って増減した。グラミンからの分解物と推定されるインドール化合物は成熟期から老熟期になるに伴って増量して検出された。

Table 2 に1989年の，Table 3 に1990年の，Table 4 に1991年のオオムギの生育に伴う第2と第3葉におけるグラミン含量の変化を示す。Table 2 の播種は前年の11月17日に行った。従って12月17日のサンプルは播種後30日経過した幼苗である。

全ての系統において幼苗はグラミンを多量に含有していた。3月下旬から4月上旬迄の伸張生育期にグラミン含量は減少し，出穂2-3週間前から稔実期にかけて最低含量となり，この時期は変化が殆どなく，老熟期になると葉の乾燥により，単位生体重当りでは増加して換算された。

アブラムシ指数20以上の感受性の系統は抵抗性の系統に比較して，幼苗期からグラミン含量は少量であったが，それでもかなりの含有量が検出された。これらの系統はアブラムシの繁殖期とぶつかる出穂前から出穂期にかけてグラミンの減少が著しく，ごく少量しか含有し

Table 2. Gramine contents in barley lines ($\mu\text{g/g}$ f.w.) in 1989

lines	Dec.19	Jan. 26	Feb. 21	Mar. 23	Apr.10	Apr.24	May 8	May 22
Height (cm)	7-10	10-15	15-20	20-30	30-50	early earring	late earring	mature
f ₉ -gl ₃ -Hs-k	16	13	5.3	2.0	0.22	0.31	0.22	1.0
Kmut-294	30	8.0	3.5	2.0	0.52	1.0	0.21	0.22
Aizu-6		9.8	4.5	0.7	0.26	0.14	0.32	0.24
Goseshikoku-1hen	45	15	4.7	3.0	3.5	2.5	4.5	4.0
Shin-shinriki		75	15	15	7.5	13	6.9	14
Jomoson-2	104	8.0	9.3	7.5	4.0	2.5	6.0	9.0
H.s.-2558	250	75	24	22	20	49	35	68
H.s.-4969	330	130	130	80	48	95	45	76

 Table 3. Gramine contents in barley lines ($\mu\text{g/g}$ f.w.) in 1990

Lines	Feb. 27	Mar. 15	Mar. 29	Apr. 11	Apr. 25	May 9	May 23
f ₉ -gl ₃ -Hs-k	11	2.4	0.22	0.26	0.64	0.72	1.4
Kmut-239(gl ₃)	3.5	0.96	0.70	0.58	0.28	0.78	1.0
Aizu-6	4.5	3.4	0.70	0.24	0.64	0.76	2.2
Kirin-choku-1	1.8	1.7	1.5	1.8	0.12	2.2	2.4
Aizu-4	4.2	1.2	0.70	0.50	0.18	0.42	1.0
Mushingchiang-3	2.6	1.4	0.96	0.86	0.70	2.0	0.72
Akashinriki	9.0	7.4	7.6	7.6	4.9	3.6	3.6
Koike-rokkaku-2	17	6.8	6.4	6.4	7.8	4.6	3.8
Kikai-hadaka	20	11	7.4	11	7.6	6.6	4.0
Jomoson-2	9.3	2.4	1.0	0.76	1.5	8.2	3.8
Nihon ichi	22	17	11	20	19	9.6	8.8
H.s.-transcapicum	34	14	13		3	4.6	5.6
H.s.-4969	48	30	11	21	9.6	27	6.8
H.s.-2294	15	20	9.2	6.8	10	15	18
H.s.-2558	38	25	20	37	39	57	37

 Table 4. Gramine contents in barley lines ($\mu\text{g/g}$ f.w.) in 1991

Lines	Apr. 1	Apr. 15	Apr. 29	May 13	May 27
K-gl ₃ -Bl	1.1	0.22	0.31	0.24	
Kmut-174	0.82	0.06	0.03	0.35	0.23
Amagi-nijo	0.58	0.66	0.34	0.35	
Kyoto-nakate	1.3	0.12	0.13	0.47	
Maruchin-1	7.1	5.6	1.6	0.56	
Smyrna	6.8	3.4	2.3	2.1	
Kimugi	10	6.6	5.8	5.7	
Kashimamugi	12	11	2.5	1.8	
Mushinchiang-1	23	13	12	12	
H.s.-4969	21	43	33	30	

ていなかった。アブラムシ指数が5以下の抵抗性の系統は幼苗期からすでにグラミン含量は多量であったが、アブラムシ類の繁殖期とぶつかる生育期の減少が少ないことが特徴であった。

グラミン含量は各系統によって個有であり、栽培年次、場所や気象要因による変動が少なく、遺伝子により支配されていることを示した。

考 察

植物の耐虫性の解明は様々な要因から検討されているが、近年第二次代謝産物の関与が注目されている。オオムギに寄生するアブラムシ類に対してはグラミンが重要な物質として注目され、その生物活性作用も数種のアブラムシの人工飼育試験液への添加で確かめられている (Corcuera *et al.* 1984, Zuniga *et al.* 1988, 兼久ら1987, Kanehisa *et al.* 1990, Rustamani *et al.* 1992)。初冬の圃場におけるオオムギの幼苗期にはアブラムシの寄生は見られず、人為的に寄生繁殖させて調べると、幼苗における寄生性は比較的に系統間の差が少なく、春に自然圃場で観察される程の系統間の差が見られなかった (兼久ら1987)。幼苗から収穫前までのグラミン含量の変化を調べて比較考察する重要性が考えられた。

供試した全ての系統で幼苗は多量のグラミンを含有しており、冬期から早春の生育期に徐々に減少し、アブラムシ類が飛来して繁殖する春期に最低含有量になっていることが判明した。しかも、アブラムシの寄生に対して感受性の系統はグラミンの含有量の減少が顕著であった。西日本のオオムギ栽培にあつては、最低含有量を示す時期がアブラムシの寄生繁殖期になっており、大発生した年に問題となっている。抵抗性の系統も生育に伴ってグラミン含量は減少したが、多量に含有したまま成熟期になっていた。系統間の分解酵素等の関与の差が推定された。

プロトインドールアルカロイドであるグラミンのトリプトファンからの合成系はN-メチルトランスフェレーズの関与が推定されている (Leland *et al.* 1985)。分解系は複雑で、今後の研究を待つ状態である。老熟期の抽出物を薄層クラマトグラムで調べると (Kanehisa *et al.* 1990)、老熟に伴ってグラミンは減少し、同時にインドール基を有する2, 3の成分が増加しているのが見られた。

グラミンはアブラムシ類が吸汁する篩管部からは検出されず、表皮細胞と柔組織に分布している (Argandona *et al.* 1987)。オオムギからは検出されず、コムギとトウモロコシにあつて、耐虫性物質として知られるDIMBOA (2, 4-dihydroxy-7-methoxy-1, 4-benzoxazin-3-one) は篩管部と柔組織に存在すると報じられている (Long *et al.* 1987, Corcuera 1990)。グラミンを多量に含有する野生系の幼苗においても、アブラムシを人為的に強制的に寄生繁殖させることができた。しかし、感受性を示す系統などよりは増殖力は弱かった (兼久ら1987)。感受性系統のKmut-239 (gl₅) なども幼苗期には多量のグラミンを含有しており、しかも、かなりアブラムシを増殖させていた。このことからアブラムシ類の吸汁行動の可塑性とグラミンの存在部位による影響を推定させた。またグラミンの作用力の限界を示していた。

摘 要

オオムギはアブラムシ類の被害を受けることがある。ウイルス病の伝搬者として、また栄養分の略奪者と組織細胞の破壊者として、害を及ぼしている。オオムギの系統の中にはアブラムシに対して、抵抗性の系統と感受性の系統がある。インドールアルカロイドであるグラミンはアブラムシを含む各種の動物に対して、毒性を有している。抵抗性と感受性の両者を含む27系統のオオムギについて、幼苗から成熟期迄のグラミン含量の変化を1989, 1990, 1991年の3年間にわたって調べた。オオムギは前年の11月20日頃播種し、翌年6月上旬に収穫した。

全ての系統において幼苗は多量のグラミンを含有していた。抵抗性系統は感受性系統よりも多量に含有していた。この違いは、幼苗期においても成熟期におけるのと同じであった。全系統において、出穂前までの伸張生育期にグラミン含量は漸次減少した。4月初旬の減少し終わった時期に、アブラムシ類は飛来し、繁殖を始めた。4月下旬から5月上旬にアブラムシ類の密度は最高に達した。この時期に近づくに伴い抵抗性系統と感受性系統の明瞭な違いが見られ、グラミン含量の差も明瞭であった。グラミン含量は収穫まで余り変化せず、葉の老熟に伴う水分消失のため、単位重量当りの換算値では多量になっていた。

感受性系統は抵抗性系統に比べて、アブラムシ類が飛来し、繁殖する時期に、グラミンの分解が盛んで、少量のグラミンのみしか検出されなかった。分解に関与する機構が感受性系統では抵抗性系統よりも高いことが、系統間の差の大きな原因と推定された。

キーワード：グラミン含量、アブラムシ、オオムギ、抵抗性系統、感受性系統。

引 用 文 献

- Argandona, V. H., Zuniga, Z. E. and Corcuera L. J. 1987. Distribution of gramine and hydroxamic acid in barley and wheat leaves. *Phytochemistry* 26: 1917-1918.
- Corcuera, L. J. 1984. Effect of indole alkaloids from gramineae on aphid. *Phytochemistry* 23: 539-541.
- Corcuera, L. J. 1990. Plant chemicals and resistance of cereals to aphids. *Royal Swedish Academy of Sciences AMBIO* 19: 365-367.
- Gallagher, C. H., Koch, J. H. Moore, R. M. and Steel, J. D. 1964. Toxicity of *Phalaris tuberosa* for sheep. *Nature* 204: 542-545.
- 兼久勝夫・積木久明・白神 孝・河田和雄. 1987. オオムギの耐アブラムシ性要因. 第3報 人工飼育法による耐性物質の検索. *農学研究* 61: 161-170.
- Kanehisa, K., Tsumuki, H., Kawada, K. and Rustamani, M. A. 1990. Relations of gramine and aphid populations on barley lines. *Appl. Entomol. Zool.* 25: 251-259.
- 河田和雄・兼久勝夫・積木久明・福岡まり子・白神 孝. 1987. オオムギの耐アブラムシ性要因. 第1報 オオムギ圃場における4種アブラムシの発消長. *農学研究* 61: 139-147.
- Kawada, K. and Lohar, M. K. 1989. Effect of gramine on the fecundity, longevity and probing behaviour of the greenbug, *Schizaphis graminum*. *Ber. Ohara Inst. landwirt. Biol. Okayama Univ.* 19: 199-204.
- Leland, T. J. and Hanson, A. D. 1985. Induction of a specific N-methyltransferase enzyme by long-term

- heat stress during barley leaf growth. *Plant Physiol.* 79 : 451- 457.
- Long, B. J., Bowman, J. S. and Routly, D. J. 1987. Relationship of hydroxamic acid content in corn and resistance to the corn leaf aphid. *Crop Sci.* 17 : 55-58.
- Rustamani, M. A., Kanehisa, K., Tsumuki, H. and Shiraga, T. 1992. Additional observations on aphid densities and gramine contents in barley lines. *Appl. Entomol. Zool.* 27 : 151-153.
- Takahashi, R., Yasuda, S., Hayashi, J., Fukuyama, T., Moriya, I. and Konishi, T. 1983. Catalogue of barley germplasm preserved in Okayama University. *Inst. Agric. Biol. Sci. Okayama Univ., Kurashiki*, pp.1-217.
- Zuniga, G. E., Salgado, M. S. and Corcuera, L. J. 1985. Role of an indole alkaloid in the resistance of barley seedlings to aphids. *Phytochemistry* 24 : 945-947.
- Zuniga, G. E., Varanda, E. M. and Corcuera, L. J. 1988. Effect of gramine on the feeding behavior of the aphids *Schizaphis graminum* and *Rhopalosiphum padi*. *Entomol. exp. appl.* 47 : 161-165.