

イネの茎内の稚葉・幼穂に含まれる遊離アミノ酸について

— イネカラバエに対するイネ品種の抵抗性との関連において —

安達 一明・長坂 啓助・中野 淳一

(学 長) (食品学研究室) (島根大学農学部)

On the Free Amino Acids Contained in Leaf and Ear Buds in the Stems of Rice Varieties

— A Consideration in Relation to the Resistance of
Rice Varieties to Stem Maggot Injuries —

Kazuaki ADACHI, Keisuke NAGASAKA, Junichi NAKANO

はじめに

イネの害虫の一種イネカラバエ (*Chlorops oryzae* M.) の侵害に対するイネの抵抗性に関して、イネ品種はその強弱について3群に類別することができることを、著者は明らかにしている。しかしながら抵抗性程度の差異が生じている機作の根本的な点については不明確に終わっている。

もっとも、抵抗性が弱く被害の大きい品種では、イネ体に侵入した幼虫が生育を全うすることが可能であるのに対し、抵抗性が強く被害の小さい品種では、幼虫がイネ体内で生育を全うすることが困難で斃死するものが多いことが、既に明らかになっている。この場合に、イネ体内の組織の機械的構造が幼虫の生死を支配する程品種によって差異があるとは考えられないから、化学的成分の相違がその原因と考えるのが至当である。すなわち第1にはイネ体の柔組織がイネカラバエ幼虫の食餌として栄養的に適しているか否か、第2にはイネ体に幼虫に対する有毒性物質が存在するか否かに、問題の焦点がしばられてくる。

このような想定を裏付ける立場から、品種によるイネカラバエ幼虫の生育程度の量的差異を確かめようと試みたが、稲体内の生長点近くの最深部に侵入して存在しているのが通例の幼虫(うじ)を、相当

数収集することは容易でない。そこでそれに代る方法として蛹(さなぎ)の殻の長さを測定することを案出した。というのは、生長を全うして幼虫がイネ体を離れるに際し、イネの茎の最上位の止葉(早生の場合)ないし上より第2・第3位(晩生になるほど下位)葉の、葉鞘内部にはい上がって蛹化するという習性に気付き、羽化後に残った蛹殻を収集したのである。その長さを測定した結果は表1の通りである。この表に示す通り、抵抗性程度(図1参照)が品種により異なるにつれ、幼虫の生育程度に差異が生じることが明かになったのである。

分析用イネ材料の養成

イネカラバエは、これまでの研究では日本型のイネ品種に対して寄主選択性は認め難い。その点からすれば、タンニン・アルカロイド・配糖体等の虫の

表1 寄主イネ品種別のカラバエ蛹殻長

供試品種 (抵抗性)	mm 蛹殻長 $\bar{x} \pm s$ (個数)	差の t 検定		
		対 B	対 C	対 D
A. 奥羽188号(最強)	6.193 \pm 0.637 (15)	n. s.	*	*
B. 農林6号(強)	6.306 \pm 0.505 (33)	—	*	*
C. 農林8号(弱)	6.539 \pm 0.559 (77)	—	—	n. s.
D. 農林23号(弱)	6.582 \pm 0.602 (56)	—	—	—

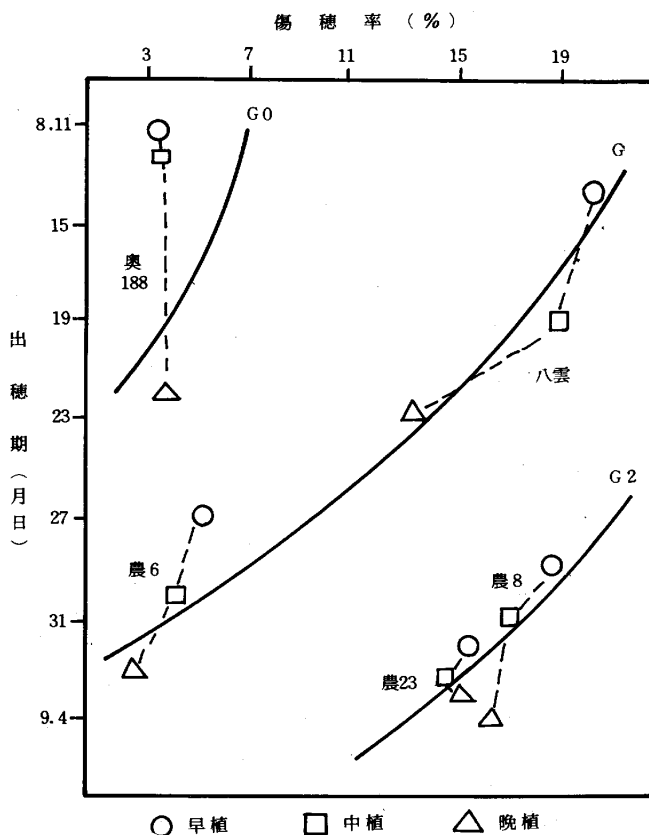


図1 出穂期対傷穂率の係に基づく抵抗性程度の群別

栄養上無関係か、あるいは好ましくない第2次物質の存在が品種によって異なる想定するよりは、アミノ酸・炭水化物・ビタミン・脂質等の、虫の栄養上必要な第1次物質の質量の相違を、まず想定した方が妥当であろう。

よって本研究では、葉裏に産卵されふ化したイネカラバエ幼虫が、侵入して食害するイネの茎内の最深奥の基部、すなわち稚葉部および形成中の幼穂部を取り出して、その部分に包含される遊離アミノ酸を分析することにした。

1) 供試品種 (図1参照)

- 最強 (G₀) 奥羽188号
 - 強 (G₁) 農林6号・八雲
 - 弱 (G₂) 農林8号・農林23号
- } 5品種

注解：イネカラバエによる被害を、数量的に表現する最も適格な形質は傷穂率 (= 100 × 傷穂数 / 全穂数) である。ところが傷穂は、幼穂がイネ茎内で形成され生長する段階で食害された結果生じたものであるから、幼穂形成とのタイミングによって、その程度に差を生じる。従って抵抗性は、一元的に傷穂率の大小だけでは判定できず、幼穂の形成時期と直接結び付く出穂期と、傷穂率との

二元的要素により、平面上に群別されて判定されなければならない。

2) 栽培法 島根大学農学部圃場を使用。

1982年5月1日播種、5月18日移植。30cm×15cm 1本植。5月18日基肥・6月25日分けつ肥・7月20日穂肥。

3) 分析材料採取 7月9日～19日の間、幼穂形成期 (結果において出穂前22日～26日に当たった) に各品種200茎 (約30株分) を採取。この各茎の葉鞘部を順次むいて除去し、幼穂 (約2mm) 及びこれを取り巻く2, 3枚の稚葉柔組織基部を、長さ2cm (太さ1.5mm弱) で切り取る。これを一括して凍結乾燥機で水分を除去して、デシケーターで保存し、分析試料調製前にすりつぶして粉末とする。

試料の調製と分析の手順

粉末化した試料0.5gを精秤し、これに75%エタノール50mlを加え、80℃で15分間還流加熱抽出した。冷却後これを濾過し、残渣は75%エタノール30mlで再抽出を2回行った。合せた濾液は-20℃で一夜放置し、微細な沈殿物を濾過除去し、濾液をロータリエバポレーターで50℃で蒸発乾固させ、これにクエン酸リチウム緩衝液 (pH 2.2) 10mlを加えてよく溶かした。これを3,000 rpmで10分間遠心分離機にかけ不溶物を除去したものを検液とし、高速型アミノ酸分析計 (日立835型) にかけて、クロマトグラムを得た。

分析結果と考察

高速アミノ酸分析計にかけた5サンプルのクロマトグラムのうち570 mμの分の一例として、農林23号のそれを図2に示した。そして自動読取計でアミノ酸ほかの種類別の面積、濃度 (nμ/l) が印字されて呈示された。各種の物質は一定の時刻 (1分の100分の1単位) で析出され、約50種が記録されたが、ごく微量で化合物名も確認され難かったものは除き、アミノ酸を主体に相当量存在するもの36種の濃度を、100分率に換算して表示したのが表2である。

この表で示される通り、アミノ酸の20種以上が包含されていることが明かにされた。種類別で量が多いのは、約20%のグルタミン酸・アスパラギン、ついで12～11%代のセリン・アスパラギン酸、8～6%のグルタミン・アラニンである。このような傾向

は、植物組織中の遊離アミノ酸含量を調査した数多くない研究例に通じるものがある。

食植性昆虫のアミノ酸要求は、石井象二郎等によると、生育生存上の必須アミノ酸の種類は哺乳動物の場合と一致するという。そしてこの方面の研究を

著しく進展させたのは、カイコやニカメイガを研究材料とした人工飼料による実験方法の開発に負うところが極めて大きい。伊藤智夫²⁾はカイコに対する栄養上の必要度から、アミノ酸をつぎの5群に分類した。

- (1) 必須アミノ酸1群 10種：表2備考欄(1)
- (2) 必須アミノ酸2群 2種：表2備考欄(2)
- (3) 準必須アミノ酸 1種：表2備考欄(3)
- (4) 非必須アミノ酸1群 3種：表2備考欄(4)
- (5) 非必須アミノ酸2群 2種：表2備考欄(5)

必須アミノ酸(1)は、他種の昆虫の場合と等しく、昆虫体内では生合成されず、食餌によって供給されることを要し、(2)は昆虫体内に生合成の回路はあるが、やはり相当量食飼中に存在する必要があるという。

一方イネカラバエについては、この種の研究は行われていない。その大きな要因は人工飼育が全く不可能であるからである。イネカラバエ(双翅目)はカイコ(鱗翅目)と近縁とは云い難く、前者に対して後者の栄養代謝の方式をそのまま適用することは、できないであろうが、(1)(2)の必須アミノ酸は、相当量(メチオニン・アルギニンを除き)がイネに含まれ、イネカラバエ幼虫の口に入り栄養となっていることが推定される。

その場合に、イネ品種のアミノ酸の種類と濃度の相違が、抵抗性の差異と結び付きうるであろうか。検討したところでは、そのような明瞭な関係は見出し難いというのが今回の結論である。必須アミノ酸(2)と非必須(4)(5)の比³⁾なども、カイコの生長に関係するという実験もあり、問題の要因は複雑であるに違いない。ただしイネカラバエ幼虫の生育態様は、実験材料に用い易い他の昆虫とはいささか異なることに注意する必要がある。すなわち葉鞘や葉の裏面の産卵からふ化した幼虫は、ひとたび茎の内部に入りこむと、決して外部に出ることなく約30

図2 イネ茎内の遊離アミノ酸クロマトグラム(品種農林23号)

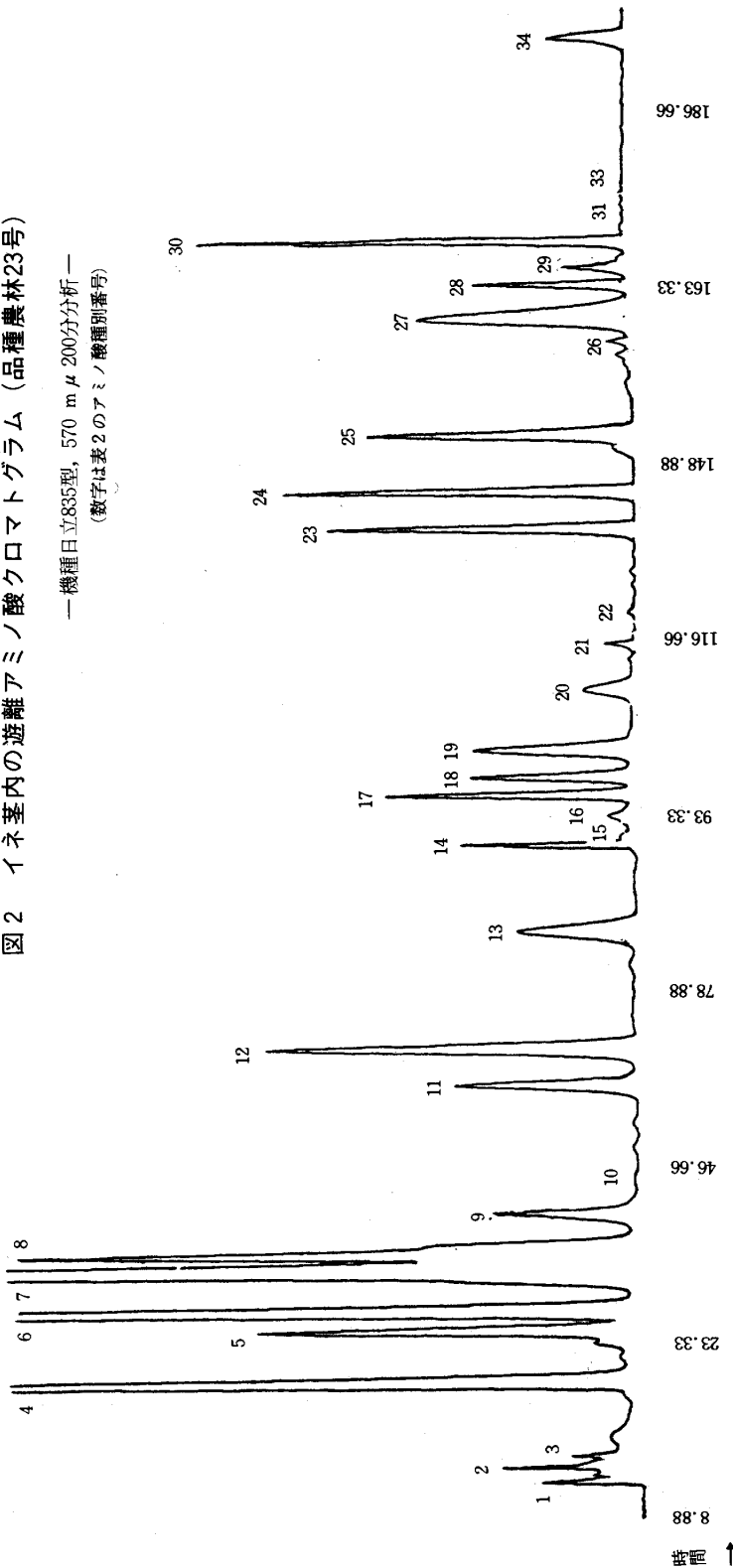


表2 アミノ酸等の種別濃度 (%)

水稻品種 アミノ酸等	I. 農林8号	II. 農林23号	III. 農林6号	IV. 八雲	V. 奥羽188号	平均	備考
	(1)(2)(3)(4)(5)						
1. フォスフォセリン	0.990	0.726	0.654	0.477	0.554	0.680	
2. フォスフォエタノールアミン	1.033	1.072	0.828	0.582	0.877	0.878	
3. 尿 素	0.726	1.057	0.000	0.849	0.556	0.638	
4. アスパラギン酸	9.059	9.935	12.315	12.617	14.439	11.673	(2)
5. スレオニン	2.899	4.110	5.428	4.906	4.104	4.289	(1)
6. セ リ ン	14.782	13.475	12.163	10.575	12.859	12.770	(4)
7. グルタミン酸	22.919	22.759	21.017	16.944	15.500	19.828	(2)
8. グルタミン	4.312	8.158	8.984	13.442	5.700	8.119	
9. サルコシン	1.911	1.706	1.699	1.015	0.630	1.392	
10. α・アミノアディピック酸	0.000	0.000	0.065	0.091	0.248	0.081	
11. グリシン	2.421	2.175	1.952	1.985	3.270	2.361	(4)
12. アラニン	8.649	4.679	5.484	4.736	6.850	6.080	(4)
13. バ リ ン	2.006	2.154	2.277	3.544	4.283	2.853	(1)
14. シスチン	1.022	0.879	0.998	0.830	0.827	0.911	(5)
15. メチオニン	0.000	0.013	0.000	0.036	0.247	0.059	(1)
16. シスタチオン	0.287	0.208	0.399	0.264	0.000	0.232	
17. イソロイシン	1.408	1.809	2.715	3.837	2.568	2.467	(1)
18. ロイシン	1.219	1.395	1.592	2.272	3.543	2.004	(1)
19. チロシン	1.955	2.035	2.165	2.517	2.422	2.219	(5)
20. フェニールアラニン	0.804	0.818	0.732	0.904	1.321	0.916	(1)
21. β・アラニン	0.166	0.183	0.184	0.223	0.380	0.227	
22. β・アミノイソブチル酪酸	0.050	0.049	0.055	0.054	0.061	0.054	
23. α・アミノ酪酸	1.441	2.629	2.129	1.392	6.696	2.857	
24. エタノールアミン	2.985	3.000	2.722	2.477	1.862	2.609	
25. アンモニア	4.830	3.114	2.911	2.856	2.122	3.167	
26. オルニシン	0.091	0.135	0.127	0.071	0.135	0.112	
27. トリプトファン	2.993	4.056	3.878	3.213	1.444	3.117	(1)
28. リ ジ ン	0.890	1.064	1.047	1.306	2.033	1.268	(1)
29. 1.メチルヒスチジン	0.154	0.043	0.563	0.039	0.066	0.173	
30. ヒスチジン	1.786	2.740	2.557	2.883	1.856	2.364	(1)
31. 3.メチルヒスチジン	0.000	0.008	0.000	0.006	0.006	0.004	
32. アンセリン	0.000	0.033	0.029	0.021	0.019	0.020	
33. カルノジン	0.000	0.021	0.016	0.019	0.028	0.017	
34. アルギニン	0.947	0.893	0.866	0.934	0.555	0.839	(1)
番外 アスパラギン	8.440	14.226	19.662	34.944	21.220	19.718	
ク プロリン	2.240	2.763	2.057	1.969	3.146	2.435	(3)

注：1. 番外の2種は、440m μ で分析したクロマトグラムの数値を、これらを挟む他のアミノ酸の2組(570m μ と440m μ)の数値の比較によって補正した数値である。なおアスパラギンは6と7、プロリンは10と11の間に出現する。

2. 備考欄の区分は本文中に記載。

日の幼虫期を、密室状態で茎内で過ごす。したがって食飼の栄養性の欠落は、自由に移動する他の昆虫の場合以上に、幼虫の斃死、イネの側からいえば抵抗性の大きな要因になりうると考えられる。その観点からすれば、グルタミン酸の品種による含量の差が、抵抗性と逆の関係にあるのは、興味あるところであって、なお今後追究を試みたい。

本研究を行うに当たり、分析材料の収集調製に、島根大学作物学専攻学生諸氏の多大な協力を得た。また高速型分析計の使用の一切に関して、国立療養所松江病院研究検査科森山喜芳技官の十二分な援助を得た。共に銘記して深甚な謝意を表します。

まとめ

- (1) イネカラバエに対する抵抗性の異なるイネ5品種を供試し、幼穂形成期に、幼虫の好餌となる茎内の稚葉及び幼穂をとり出し、高速型アミノ酸分析計により遊離アミノ酸のクロマトグラフィ分析を行った。
- (2) 幼虫の生育に必要とみなされるアミノ酸12種は

すべて析出され、その濃度はグルタミン酸・アスパラギンで約20%、セリン・アスパラギン酸で12%、グルタミン・アラニンで8~6%等の順に、量的変異が認められた。

- (3) イネ品種によるアミノ酸種別の量的の差異と、イネカラバエ抵抗性程度の相違の関係は、若干の興味ある知見を得たが、なお今後の追究を必要とする。

引用文献

- 1) 安達一明：水稻のイネカラバエ耐虫性の品種間差異ならびにその抵抗性の遺伝に関する研究 島根農科大学育種学研究室 (1961)
- 2) Toshio Ito : Proc. Japan Acad. 48, 613 (1972)
- 3) 堀江保宏ほか：蚕糸試報告 24, 345 (1970)

(昭和59年1月31日受理)