農学研究　61：149－159（1987）

オオムギの耐アブラムシ性要因

第2報　系統間の栄養成分の差異

積木久明・兼久勝夫・白神　孝・河田和雄

オオムギには4種のアブラムシ（トウモロコシアブラムシ *Rhopalosiphum maidis*，ムギクビレアブラムシ *R. padi*，ムギミドリアブラムシ *Schizaphis graminum*，ムギヒゲナガアブラムシ *Sitobion akebie*）が寄生し，系統によってその寄生程度が異なることが前報[7]で明らかにされている．しかし，オオムギのアブラムシに対する耐性の要因については不明である．

他の昆虫と同様アブラムシの寄主選択行動は大きく分けて寄主植物の発見・認知と定着に区分される[2)5)]．寄主植物の発見・認知の誘引因子として，種々の揮発性物質が知られているが[2)5)]，この化学物質以外に有翅のアブラムシ成虫の寄主選択には視覚が重要な働きをしており[8)]，植物の色が誘引因子の1つとして重要と考えられている[13)14)]．

寄主植物に飛来後，アブラムシの定着は植物の二次産物である表面ワックス[11)]，アルカロイド[1)23)]，フェノール物質[3)10)]などの抗生物質による影響が示唆され，また，アブラムシの発育と繁殖は寄主植物の栄養成分にも影響される[2)]．

本研究はオオムギの耐アブラムシ性の要因を主に栄養面から明らかにする目的で，岡山大学農業生物研究所の大麦系統保存施設が有する系統の中で，アブラムシ抵抗性系統と感受性系統の表面ワックス，クロロフィル，ケイ酸，カルシウム，糖，アミノ酸の含量を比較した．

本研究を行なうにあたり実験材料の提供ならびにオオムギに関する有益な御助言をいただいた大麦系統保存施設小西猛朗助教授に深謝する．さらに，作物遺伝学部門の各位と，植物病理学部門部田英雄氏からもオオムギに関する有益な御助言を得た．また，水質学部門中島進氏，西崎日佐夫氏にはケイ酸とカルシウムの分析の御援助を，生物化学部門鈴木幸雄教授には高速液体クロマトグラフィーの分析法の御指導をいただいた．ここに感謝の意を表する．

材料と方法

アブラムシの密度調査

1984年11月7日に播種されたオオムギ系統栽培圃場で，アブラムシの発生がみられる翌年4月中旬から6月上旬まで，系統別にアブラムシの密度調査を毎週行なった．アブラムシの密度は4種のアブラムシ（トウモロコシアブラムシ，ムギクビレアブラムシ，ムギミ

昭和62年1月12日受理

ドリアブラムシ，ムギヒゲナガアブラムシ）の合計で，その寄生程度に応じて０～４まで５段階で評価した[7]．

表面ワックスの定量と組成

葉ならびに葉鞘の一部を集め，秤量（10～40ｇ）後，100～150mℓのクロロホルムに20秒間浸漬し，表面ワックスを溶出した．表面ワックスのクロロホルムへの溶出をよくするため，浸漬中クロロホルム中で葉を数回ゆっくり動かした．表面ワックス溶出後，風を送りながら室温で全量が約５mℓになるまでクロロホルムを揮発させた．この濃縮液を遠心管に移し，3,000 r.p.m. で10分間遠心し，最上層の浮遊物と沈殿物が入らないようにクロロホルム層をピペットで分取した．浮遊物と沈殿物を各３mℓのクロロホルムで２回洗浄し，同様にクロロホルム層を分取した．分取したクロロホルム層を風乾後，減圧瓶に移し，重量が一定になるまで真空ポンプで吸引し，ワックス中に残ったクロロホルムを除去した．このようにして得られたワックスの重量を秤量し，単位重量当りの表面ワックス量を算出した．

表面ワックスの組成は上記で得られた試料をシリカゲル薄層クロマトグラフィー（20×20cm）により展開分離し，調査した．展開溶媒としてベンゼン：酢酸エチル＝85：15と石油エーテル：酢酸エチル＝95：５を用いた．展開後発色剤（アニスアルデヒド：メタノール：硫酸＝0.5：8.5：１）を散布し，110℃で10分加熱した．

クロロフィル，ケイ酸，カルシウム，糖，アミノ酸は Harborne の方法[4]を参考にしたFig. 1に従って各々抽出した．表面ワックスを除いた葉と葉鞘の一部を200～500mℓの70％メタノールとともにミキサーで磨砕した．

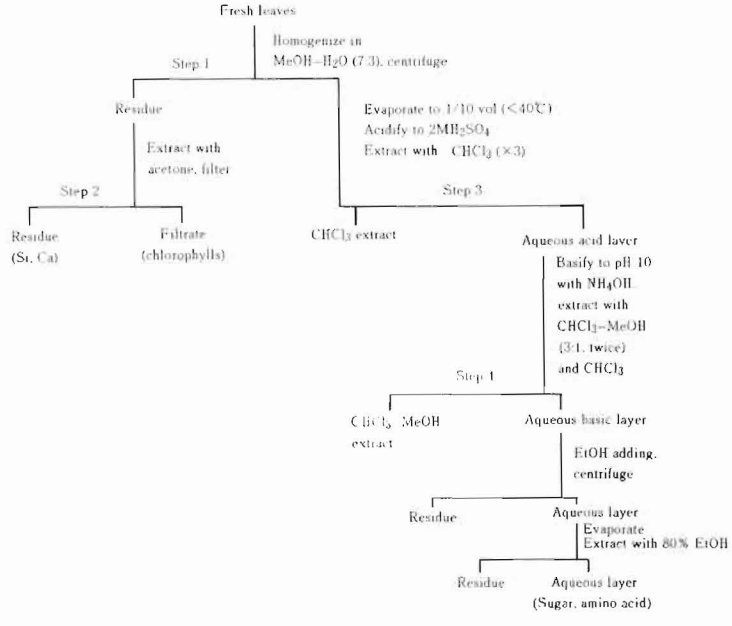

Fig. 1. Procedure for extracting fresh leaves of barleys and fractionating into different classes according to polarity

クロロフィルの抽出と定量

Step 1 の残渣に100～300mℓのアセトンを加えクロロフィルを抽出し，東洋沪紙No 2 で沪過した．沪液の一部をさらに必要に応じてアセトンで稀釈し，646nm と663nm で吸光度を測定し，クロロフィル a，b と全クロロフィル量を Arnon の式より算出した[15]．

ケイ酸とカルシウムの定量

Step 2 の残渣を風乾後，その 1 g をニッケルルツボにとり，電気炉で 1 晩450℃で灰化した．灰化試料に炭酸ナトリウム0.2 g と水酸化ナトリウム 2 g を加え混合した後，直火で加熱溶融した．この融成物を水に溶解し，硫酸で中和した後，全量を250mℓとし，ケイ酸とカルシウムの定量試料とした．

ケイ酸は上記試料に10％モリブデン酸アンモニウム溶液 2 mℓを加え，10分後425nm で吸光度を測定し，ケイ酸量を求めた[17]．

カルシウムは上記試料を原子吸光計（Jarrell Ash AA–8200）により定量した．

糖とアミノ酸の抽出と定量

Step 4 の水層に約80％になるようにエタノールを加え，80℃で 5 分間加熱し，冷却後，3,000 r.p.m. で10分間遠心した．沈澱物をさらに各 5 mℓの80％エタノールで 2 回洗浄し，集めた上清をロータリーエバポレーターで蒸発乾固させた．この乾固物を10mℓの80％エタノールに溶解し，遠心後その上清を糖とアミノ酸の分析試料とした．

全糖はこの上清の一部を必要に応じて水で稀釈し，アンスロン硫酸法で比色定量した[18]．糖の組成は高速液体クロマトグラフィー（Waters 社製）により分離し，定量した．用いたカラムは Cosmosil 3 NH_2，ϕ 3 mm×15cmで，液相はアセトニトリル：水＝75：25，流量は 1 mℓ/分であった．

アミノ酸の定性と定量はアミノ酸分析計（日本電子製 JLC 6AUH）を用いて，生体アミノ酸の分析常法によった．

結　　果

アブラムシの密度変化

本実験に用いたオオムギの系統名と，それらに寄生するアブラムシの密度との関係を，Table 1 に示す．アブラムシのオオムギへの寄生密度を全々寄生しないものから，非常によく寄生するものまで，その程度により 5 段階で示した．オオムギの系統の違いによっても，時期の違いによってもアブラムシの寄生密度は変化した．トウモロコシアブラムシ，ムギクビレアブラムシ，ムギヒゲナガアブラムシ，ムギミドリアブラムシの 4 種の寄生がみられた．観察を始めた前半はトウモロコシアブラムシが，後半はムギクビレアブラムシが優先種となった．他の二種は観察期間中少なかった．実験に用いたオオムギ系統の中でアブラムシが全々寄生しない絶対的な抵抗性 0 を示すものはなかった．そこで，程度 1 を示すものをアブラムシ抵抗性系統，程度 4 を示すものをアブラムシ感受性系統とみなした．本実験に用いたオオムギの中で感受性系統は f_9-gl_3-Hs-k（OUL 117），白トウ（OUJ 669），抵抗性系統はロシア 6 号（OUU 062），ZZ 2 nd（OUA 608）であった

このアブラムシの抵抗性の程度と表面ワックス，ケイ酸，カルシウム，クロロフィル，糖，アミノ酸との関係を明らかにするために，4月23日より5月28日までの各分析結果を抵抗性の程度別に区分し比較した．

表面ワックス量

表面ワックス量が多い系統ほどアブラムシの寄生密度は低い傾向にあった（Fig. 2）．しかし，生体重当りのワックス量とアブラムシの寄生密度との間にはそのような傾向ははっきりとはみられなかった．

ワックスの組成に関してもアブラムシ抵抗性系統と感受性系統で違いがみられるようであった（Fig. 3）．

クロロフィル含量

全クロロフィル含量はクロロフィルaとbの含量の和で示したものである．全クロロフィル含量は系統間でも非常に大きな違いがみられ，また，調査の前半から後半にかけて急速に低下し，標準偏差も大きくアブラムシの寄生密度の間には一定の傾向はみられなかった（Fig. 3）．全クロロフィルと同様，クロロフィルa，bともアブラムシの寄生密度との間に一定の傾向はみられなかった．クロロフィルaはbに対して2.5～5倍量高かった．

Table 1. Changes in aphid infestation levels on different barley strains

Strain	Okayama Univ. Accession no.	Observation date							
		Apr.23	May1	May8	May14	May22	May28	Jun.3	Jun.5
Kikaihadaka	OUJ 820	2		2	2	2	2	1	
f_9-gl_3-Hs-k	OUL 117	4		2			4		
K-gl_3	OUL 055	4				3			3
Turkey 95	OUT 043	2			2		2		3
Shiroto	OUJ 669	4			3		4		
Turkey 166	OUT 056	2	3	2	2	2	3		
Turkey 139	OUT 047	2				2		2	
Turkey 608	OUT 203	2			2			2	
Turkey 589	OUT 197	2				2			
Russia 6	OUU 062		1		1		1		
ZZ 2nd	OUA 608		1		1		1		

0: no infestation, 1: scare infestation, 2: small infestation,
3: medium infestation, 4: great infestation

ケイ酸とカルシウム含量

アブラムシ抵抗性系統から感受性系統までケイ酸含量とカルシウム含量はほぼ一定であった（Fig. 4）．しかし，ケイ酸含量，カルシウム含量とも系統間での差異が大きかった．オオムギではカルシウムの方がケイ酸に比べ多く含まれていた．

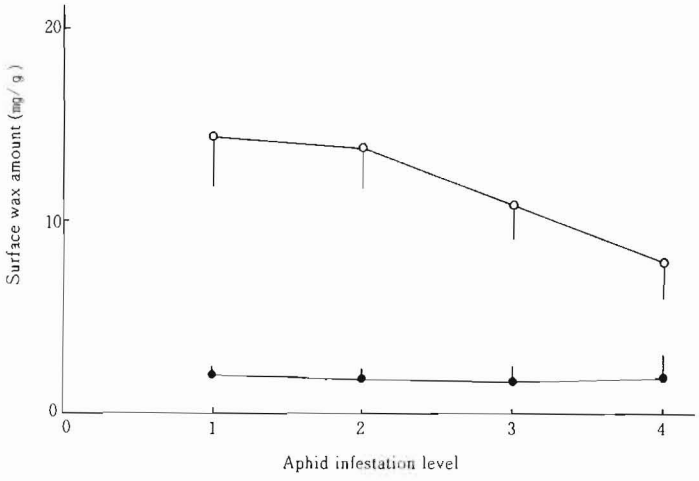

Fig. 2. Relationship between aphid infestation levels and amounts of surface wax on barley leaves.
●:/ g d. w. ○:/ g w. w. The vertical lines show the range of SD.

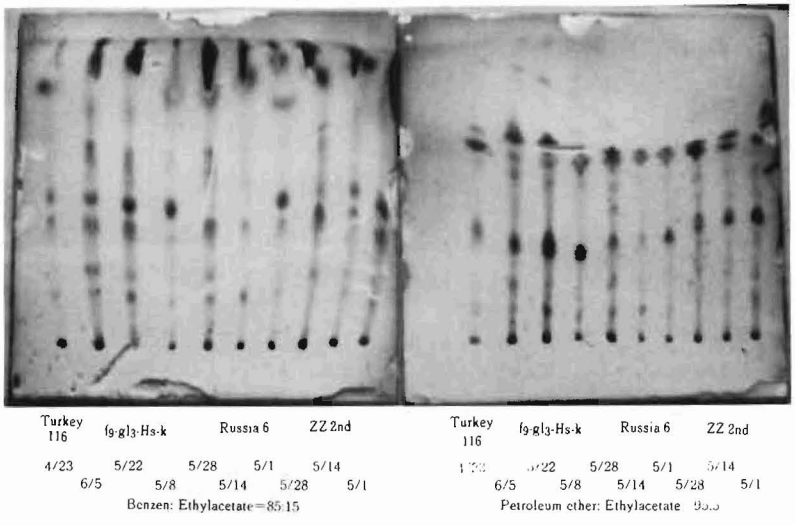

Fig. 3. Thin-layer chromatograms of surface wax on barley leaves

糖含量

アブラムシ感受性の系統は抵抗性系統に比べ糖含量は高い値を示したものの，糖含量が低い系統ほどアブラムシの寄生密度は高い傾向が見られた（Fig. 5）．このようにアブラムシの寄生程度別によるオオムギの糖含量の違いがはっきりしないため，観察期間中アブラムシの寄生密度が大きく変化した f_9-gl_3-Hs-k の糖組成と含量を時期を追って調査した（Table 2）．アブラムシの寄生密度が低い時には糖含量は低く，寄生密度が高い時には高かった．オオムギに含まれる糖は主にシュークロース，グルコース，フラクトースであり，そのうちでシュークロースの占める割合が最も高かった．そして，この糖の含量の変化とアブラムシの寄生密度の変化と一致していた．

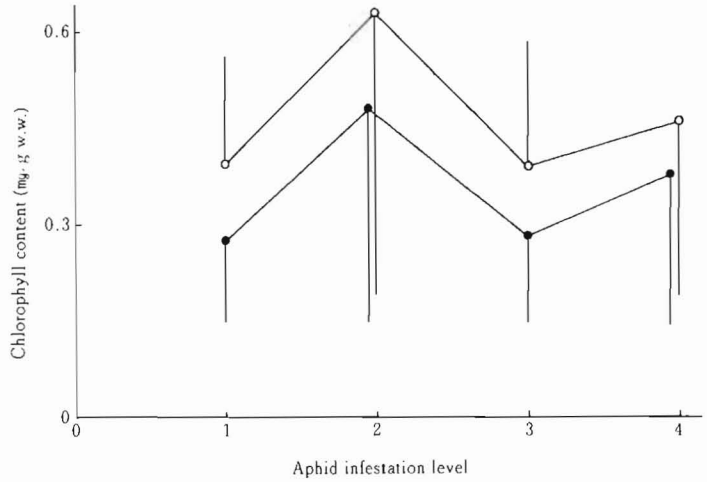

Fig. 4. Relationship between aphid infestation levels and contents of total chlorophylls and chlorophyll a in barley leaves
●: chrolophyll a ○: total chlorophylls The vertical lines show the range of SD.

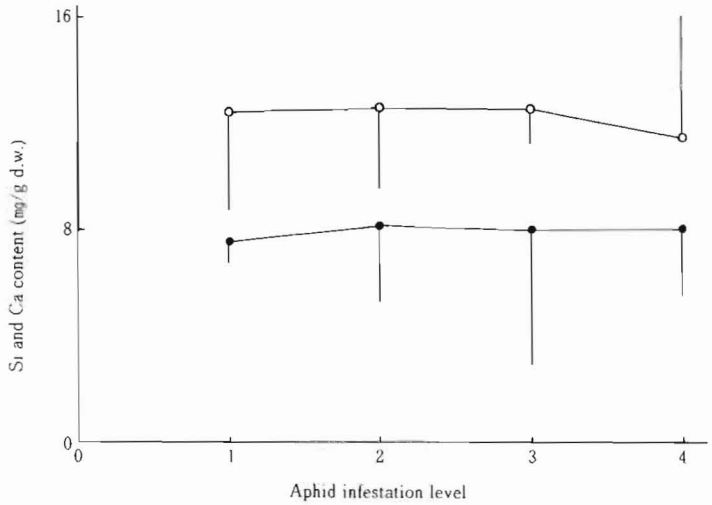

Fig. 5. Relationship between aphid infestation levels and contents of Si and Ca in barley leaves
●: Si ○: Ca The vertical lines show the range of SD.

アミノ酸含量

アブラムシに抵抗性を示す寄生程度1と2の系統間では遊離アミノ酸含量はほぼ一定であった（Fig. 5）．しかし，アブラムシの寄生密度が高くなるに従ってアミノ酸含量は高くなり，感受性系統で最も高かった．全アミノ酸と同様個々のアミノ酸の含量も重要と思われる．Table 3にその1例を示す．調査したアミノ酸のうちアスパラギン画分，プロリン，グリシンの増減とアブラムシの寄生密度の増減と一致しているようにみえた．

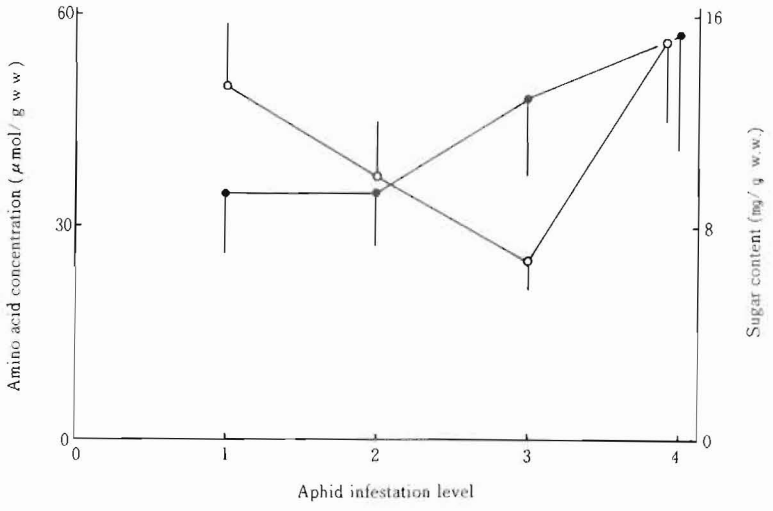

Fig. 6. Relationship between aphid infestation levels and concentrations of total free amino acid and sugar in barley leaves.
●: amino acid ○: sugar The vertical lines show the range of SD.

Table 2. Changes of sugar contents in the leaves of strain f_9-gl_3-Hs-k

	Sugar content (mg/g w.w.)			
	Apr. 23	May 8	May 28	Jun. 5
Fructose	1.8	0.5	4.2	2.4
Glucose	1.5	0.8	3.3	3.4
Sucrose	10.6	2.7	8.4	6.5

考　　察

有翅アブラムシによる寄主選択は視覚が重要な働きをしており[8]，特に黄色に誘引されることが知られている[9)13)]．本実験においてもアブラムシの発生初期にあたる4月下旬に，葉の緑がうすい系統である f_9-gl_3-Hs-k, K-gl_3にアブラムシの寄生が多くみられた．しかし，同様に葉の緑がうすい Turkey 95にはアブラムシの寄生は少なかった．クロロフィル含量は同一系統でも，調査期間中大きく変化し，オオムギの発育にともなって急速にその含量は低下した．また，系統間の変化も大きかった．その結果，アブラムシの寄生密度とクロロフィル含量に相関関係を認めることができなかったと推定される．

アブラムシ抵抗性のコムギには表面ワックスが多いことが知られており[11]，本実験でも表面ワックスが多いほどアブラムシの寄生密度は低かった．しかし，生体重当りの表面ワックス量とアブラムシの寄生密度との間には，乾燥重当りほどはっきりとした関係はみられなかった．これは，5月中下旬になると一部の系統で成熟がすすみ，葉の一部が枯れ始めたことにより，葉の生体重の変化が系統間で大きくなったためと考えられる．Turkey 95の葉の緑がうすいにかかわらず，アブラムシの寄生密度が低かった一原因として．

Table 3. Changes of free amino acid concentrations in the leaves of strain f_9-gl_3-Hs-k

	Amino acid concentration (μmol/g w.w.)		
	Apr. 23	May 8	May 28
Aspartic acid	0.50	3.76	2.16
Threonine	2.21	2.61	2.24
Serine	3.92	3.21	4.91
Asparagine+ glutamic acid	10.27	6.09	7.18
Glutamine	1.66	1.78	9.90
Proline	1.82	0.85	1.94
Glycine	0.24	0.45	0.29
Alanine	6.47	8.90	10.98
Valine	2.38	1.37	1.95
Methionine	0.11	0.02	0.04
Isoleucine	0.95	0.46	0.21
Leucine	0.72	1.01	0.57
Tyrosine	0.50	0.46	0.27
Phenylalanine	0.80	0.69	0.63
Ethanolamine	0.16	0.28	0.09
Lysine	0.18	0.68	0.78
Histidine	0.04	0.04	0.51
Arginine	0.01	0.18	0.46

表面ワックス量が多かったことによると推定される．

コムギの表面ワックスは炭化水素，エステル，アルコール，酸，ディケトンからなっており[22)23)]，アブラムシに感受性の系統ではそのうちのディケトンと炭化水素が少ない[11)]．オオムギにおいても系統により表面ワックスの組成に差がみられるようであったが，詳細なことは不明であり今後の問題である．

ケイ酸は，イネで組織に沈着し，組織をケイ質化させ，強剛性をますことにより，耐虫性を高めることが知られている[16)]．しかし，本実験でオオムギのアブラムシに対する抵抗性とケイ酸含量との間には明瞭な関係は認められなかった．また，オオムギに多く含まれるカルシウムもケイ酸同様アブラムシに対する抵抗性との間に相関はみられなかった．

アブラムシ抵抗性品種には抗生作用物質が多く含まれ，その毒作用によりアブラムシの繁殖と発育が抑制されることが知られており，また，栄養と摂食刺激物質であるアミノ酸や糖含量が低いことにより，アブラムシの繁殖と発育が低下することも知られている[2)5)]．本実験のオオムギにおいても糖とアミノ酸含量がアブラムシの寄生密度に関与しているようにみえた．オオムギ系統間での糖含量の違いと，アブラムシの寄生密度との間にはっきりとした一定の傾向はみられなかったが，アブラムシ感受性系統の糖含量が最も高かった．また，同一系統でアブラムシの寄生密度の時期別の変化と糖含量の変化をみた場合，糖含量の増減とアブラムシの寄生密度の増減は一致していた．糖の中で摂食刺激作用を有するシュークロースが最も多くオオムギに含まれ，この糖の含量変化とアブラムシの密度の変化はよく一致していた．アブラムシ抵抗性コムギでアミノ酸含量が少ないことが知られて

おり[14]，オオムギでも全アミノ酸含量が低いほどアブラムシの寄生密度は低かった．オオムギ苗で窒素施肥量が多いほどアブラムシの密度が高くなることも報告されており[6]，本結果を支持している．アブラムシ抵抗性系統で糖含量が高いにもかかわらずアブラムシの寄生密度が低かった原因として，表面ワックスが多いことによりアブラムシの摂食行動が抑制されたことと，糖含量は高くてもアミノ酸含量が低く，アブラムシにとって栄養価が低いことにより繁殖と発育が抑制されたためと考えられる．アミノ酸の中で摂食刺激作用を有すると思われる[12]アスパラギン画分，プロリン，バリンの量的変化とアブラムシの寄生密度の変化と一致していた．これらのアミノ酸以外にさらにアブラムシの寄生密度に影響を及ぼすと考えられるアミノ酸，例えば必須アミノ酸などについてさらに詳細な研究が必要である．しかし，アブラムシは師管から汁液を吸収しており，オオムギの師管の汁液と葉全体の抽出物中のアミノ酸組成はよく似ていることが報告されているが[21]，今後はオオムギのアブラムシ抵抗性と，糖やアミノ酸などの栄養成分との関連については，師管の汁液で調査する必要があろう．

要　　約

1．オオムギへのアブラムシの寄生密度を調査し，アブラムシ耐性の要因を栄養面から検討した．

2．調査した系統の中で，ロシア6号とZZ2ndがアブラムシに抵抗性を示し，白トウとf_9-gl_3-Hs-kが感受性を示した．アブラムシに完全抵抗性を示す系統はなかった．

3．表面ワックス量が多いほどアブラムシの寄生密度は低かった．表面ワックス組成もアブラムシ抵抗性系統と感受性系統で違いがみられるようであった．

4．クロロフィル，ケイ酸，カルシウム含量は系統の違い，調査時期の違いにより変化が大きく，アブラムシの寄生密度との間に相関関係をみつけることはできなかった．

5．アブラムシの寄生密度が低いほどアミノ酸含量は低かった．アミノ酸の中でアブラムシに摂食刺激作用を有すると思われるアスパラギン画分，プロリン，グリシンの増減がアブラムシの寄生密度の増減に関係しているようにみえた．

6．アブラムシ感受性系統で糖含量が一番高かった．同一系統で時期を追って調査した結果，糖含量の増減とアブラムシの寄生密度の増減は一致していた．しかし，抵抗性系統でも糖含量は高かった．抵抗性系統では表面ワックス量が多く，アミノ酸含量が低かったことにより，アブラムシの寄生密度が低くおさえられたものと推定される．

引　用　文　献

1．Corcuera, L. J. 1984. Effects of indole alkaloids from gramineae on aphids. Phytochemistry 23：539-541.

2．Dixon, A. F. G. 1985. Aphid ecology. p. 157. Blacki & Son Ltd.

3．Dreyer, D. L. and Jones, K. C. 1981. Feeding deterrency of flavonoids and related phenolics towards *Schizaphis graminum* and *Myzus persicae*: Aphid feeding deterrents in wheat. Phytochemistry 20：2489-2493.

4. Harborne, J. B. 1985. Phytochemical methods: A guid to mordern techniques of plant analysis. 2nd ed., p. 288. Chapman and Hall, New York.
5. 平野千里. 1971. 昆虫と寄生植物. 202頁. 共立出版, 東京.
6. Ito, Y. and Hirano, C. 1963. Population growth, longevity and fecundity of *Rhopalosiphum maidis* Fitch (Homoptera: Aphididae), on wheat and barley seedlings growth under different nutritional conditions. Jap. J. Appl. Ent. Zool. 7 : 132-139.
7. 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種アブラムシの発生消長. 農学研究 61 : 139-147.
8. Kennedy, J. K. 1976. Host-plant finding by flying aphids. Symp. Biol Hung. 16 : 121-123.
9. Kennedy, J. K. and Stroyan, H. L. G. 1959. Biology of aphids. Ann. Rev. Ent. 4 : 139-160.
10. Leszczynski, B. 1985. Changes in phenols content and metabolism in leaves of susceptible and resistant winter wheat cultivars infested by *Rhopalosiphum padi* (L.) (Hom., Aphididae). Z. ang. Ent. 100 : 343-348.
11. Lowe, H. J. B., Murphy, G. J. P. and Parker, M. L. 1985. Non-glaucousness, a probable aphid-resistance character of wheat. Ann. appl. Biol. 106 : 555-560.
12. Mittler, T. E. 1967. Gustation of dietary amino acids by the aphid *Myzus persicae*. Entomol. exp. appl. 10 : 87-96.
13. 中沢邦男. 1972. アブラムシ類によるキウリモザイクウイルスの伝搬とその飛しょう生態ならびに防除に関する研究. 秦野たばこ試報 72 : 1-134.
14. Niraz, S., Leszczynski, B. Ciepiela, A., Urbanska, A. and Warchol, J. 1985. Biochemical aspects of winter wheat resistance to aphids. Insect Sci. Applic. 6 : 253-257.
15. 小俣達男・村田紀夫. 1981. クロロフィル. 光合成研究法 (加藤, 宮地, 村田編) pp. 286-297, 共立出版, 東京.
16. 笹本馨. 1955. 水稲の珪酸と害虫 (第3報). 珪質化稲体の物理的性質とニカメイチュウ・イネツトムシ・イネカラバエの加害. 応用昆虫 11 : 66-69.
17. 樽谷俊和. 1956. ケイ酸塩中のケイ素の比色定量について. 日本化学誌 77 : 1324-1327.
18. Tsumuki, H. and Kanehisa, K. 1978. Carbohydrate content and oxygen uptake in larvae of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* Walker. Ber. Ohara Inst. Landwirt. Biol. 17 : 95-110.
19. Tulloch, A. P. 1973. Composition of leaf surface waxes of *Triticum* species: Variation with age and tissue. Phytochemistry 12 : 2225-2232.
20. Tulloch, A. P. and Weenink, R. O. 1971. Leaf wax of durum wheat. Phytochemistry 10 : 871-876.
21. Weibull, J., Brishammar, S. and Pettersson, J. 1986. Amino acid analysis of phloem sap from oats and barley: A combination of aphid stylet excision and high performance liquid chromatography. Entomol. exp. appl. 42 : 27-30.
22. Zuniga, G. E. and Corcuera, L. J. 1986. Effect of gramine in the resistance of barley seedlings to the aphid *Rhopalosiphum padi*. Entomol. exp. appl. 40 : 259-262.
23. 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.

Characters of Barley Resistance to Cereal Aphids

(2) Nutritional differences with the barley strain

Hisaaki TSUMUKI, Katsuo KANEHISA, Takashi SHIRAGA and Kazuo KAWADA

Summary

The degree of barley resistance to cereal aphids was surveyed in the field and the role of the nutritional components in the mechanisms of barley resistance was studied.

Among the barley strains tested, Russia 6 (OUS 062) and ZZ 2nd (OUA 608) possessed a relatively high level of resistance, and Shiroto (OUJ 669) and f_9-gl_3-Hs-k (OUL 117) were characterized by susceptibility. No strains possessing absolute resistance were observed.

The degree of the resistance was related to the amount and composition of surface wax on the leaves. Consequently, the surface wax seemed to be one of the most important factors influencing aphid infestation.

Since contents of chlorophylls, Si and Ca differed greatly with the strain and it's physiological stage, no distinct relationship between these contents and the levels of resistance was found.

Aphid infestation was positively correlated with the level of nutritional components, free amino acids, as well as the content of sugars. The lower degree of resistance seemed to be associated with higher values of total free amino acids and feeding stimulant amino acids; asparagine fraction, proline and valine. Furthermore, the total sugar content in the leaves of the susceptible strains was the highest. The high surface wax amount and low total free amino acid concentration in the leaves of the resistant strains may lead to an increasing resistance although these leaves have a high sugar content.