

〔論文〕

イネ葉片のエリシター処理により生成する 揮発性化合物の同定

姚 群

1. 緒言

植物性テルペノイドはその特徴的な芳香と生理活性のために注目されてきた。揮発性のテルペンは、草食動物の天敵を引きつけることにより、間接的な防御機構を持つことになる。植物の二次代謝産物の中では、テルペノイドは、イソペンテニルニリン酸 (IPP) の基本的な構成要素から得られる構造的に多様な化合物である。それらが含むIPPユニットの数によると、ほとんどのテルペノイドが3つの群に分けられる。即ち、モノテルペン (C_{10})、セスキテルペン (C_{15})、およびジテルペン (C_{20}) である。

生態系における生物間では、植物-植食者間や植食者-捕食者間などに見られる「食う-食われる」という直接的な関係が1980年代より「植物が昆虫などの植食者に食べられた場合、その植食者の捕食性天敵を誘引する物質を生産・放出する」という現象が明らかになった。「植物-捕食者間の情報化学物質を介した相互作用」という新たな生物間相互作用に関する知見が蓄積されてきた。その中

で、植物が自ら防衛する手段として揮発性の化学物質を放出し、それによって天敵の寄生の発見効率を向上させ、結果として植食者による被害が低減するという作用は植物の間接防衛と考えられている。

植物-植食者-捕食性天敵の三者系における食害株からの匂いを介した相互作用に関する研究は、1983年オランダのSabelis, Baan¹⁾によって報告された。“ハダニ食害リマママメが捕食性カブリダニを誘引する”という実験結果から始まる。捕食性ダニが健全葉の匂いよりハダニ食害葉の匂いを好むことを実験室内で実証した。食害葉の誘引性をもたらす本体としては、食害葉そのもの、その上のハダニ、ハダニ分泌物 (糸, 糞, 脱皮殻等) 等の可能性が考えられる。彼らは、それぞれの効果オルファクトメーターを用いて調べた結果、食害葉そのものが捕食性ダニの一種チリカブリダニに対し最も高い誘引性を示すことも明らかにしている。捕食性の天敵を誘引する食害葉の揮発性化合物は複数の揮発成分によって構成される。ナミハダニに食害されたリマママメの場合、Dicke²⁾等は4種のテルペンとサリチル酸メチル (MeSA) が食害特異的に放出されることを報告した。

植物-ハダニ-ハダニ捕食者の三者系の研究は、植物-鱗翅目幼虫-捕食寄生性昆虫の三者系である。寄生蜂ならびに寄生蠅は、最初は寄主に寄生するが、最終的に寄主を殺してしまうため、捕食寄生者と呼ばれている。Turlings³⁾等はヤガ科幼虫の内部寄生蜂がシロイチモジョトウに食害されたトウモロコシ株に誘引されることを見出した。シロイチモジョトウに食害されたトウモロコシから誘導的に放出される揮発性化合物は12種類確認されている。Turlings, Fritzsche⁴⁾はこれらの揮発性成分は、青葉アルコールのような炭素数6を基本とする緑の香り、インドール、モノテルペン、セスキテルペンに分けられることを報告した。

また、Koch⁵⁾やOzawa⁶⁾等は植物が植食者や病原菌により攻撃を受けた時に放散する揮発性化合物は、植物防御物質として近年注目されている。

植物が病原菌により侵入を受けたときに新たに蓄積する低分子抗菌活性物質をファイトアレキシンという。イネのファイトアレキシンに関しては、現在までにジテルペン化合物14種類、フラボノイド化合物1種類が報告されている。即ち、イネの成長阻害物質としてKato⁷⁾等により発見されたモミラクトンA、モミラクトンBを1977年 Cartwright⁸⁾等はイネのファイトアレキシンとして報告した。1983年赤塚⁹⁾等はイネのファイトアレキシンとしてイネいもち病罹病葉から新規物質としてジテルペン化合物を発見し、オリザレキシンA⁹⁾と命名し、その後同研究グループによりオリザレキシンB,C¹⁰⁾, D¹¹⁾, E¹²⁾, F¹³⁾, S¹⁴⁾のジテルペン化合物が報告された。

1995年Koga¹⁵⁾等の研究によりイネファイ

トアレキシンとして、さらにファイトカサンA, B, C, D, Eのジテルペン化合物が報告された。

また、Kodama¹⁶⁾等よりフラボノイド化合物であるサクラネチンがイネのファイトアレキシンとして報告された。ファイトアレキシンの病害抵抗性への関与や機能についてはまだ明らかにされていないが、エリシター処理やいもち病感染によりモノテルペンやセスキテルペン等の揮発性化合物がイネ葉片より放出されることも報告^{17, 18)}されている。

イネのファイトアレキシンを誘導するエリシターの研究は塩化銅(II)¹⁹⁾、ジャスモン酸²⁰⁾、メチオニン²¹⁾、キトオリゴ糖²²⁾、紫外線照射²³⁾等の報告がある。エリシター処理により誘導される揮発性成分について固相マイクロ抽出法²⁴⁾を用いて生成する揮発性成分として(Z)-3-hexen-1-ol, limonene, linalool, サリチル酸メチルなど多数のセスキテルペン類を同定した報告がある。

本研究では、イネ葉片にエリシターとして塩化銅(II)、ジャスモン酸およびサリチル酸を用いて誘導する揮発性化合物について、Adams²⁵⁾の最新のデータベースを用いて同定を行った結果、多数の揮発性化合物を確認した。これらの結果はObara¹⁷⁾、Cheng¹⁸⁾等の実験結果とよく一致した。

しかし本研究において新たに2種のセスキテルペンとしてsesquithujeneとsesquisabineneの同定を行った。以下、これらの実験方法及び実験結果を報告すると共に、これらの結果に対する若干の考察も行ったので併せて報告する。

2. 実験材料および実験方法

i) 実験材料

イネ品種は日本晴 (*Oryza sativa* L. cv. Nipponbare) を用いた。

ii) イネの栽培方法

イネの種子を100倍希釈の殺虫剤 (スミチオン乳剤, サンケイ化学) 及び殺菌剤 (スポルタックスタミーナSE, アグロス) に26°C, 暗所で24時間浸漬させた。24時間後, 薬液を捨てバットの上で半日乾燥させ, 水道水で2, 3回軽く洗浄した。その後, 種子を水道水に浸漬して26°C, 暗所で4~5日間発芽させた。発芽後, 水道水を捨て, 新聞紙を敷いたバットに種子を広げ, 発芽している種子のみ選別した。下層に芝の目土, 上層に培土 (くみあい粒状培土K, クミアイ化学) を1:1の割合で入れたポット (直径9cm, 高さ11cm) に20粒ずつ播種し, 連続光下, 26°Cのインキュベーター内で生育させた。このとき, 霧吹きで培土を湿らせて水分を与えた。葉が10~15cm伸長した後 (播種後約7日), 芝の目土を入れたプランターに3つポットの中の培土ごと植え替えた。植え替え後, 必ず施肥を行った (ハイポネックス ジャパン, マグアンプK複合肥料, 約15g)。屋外の温室において灌水条件で約2ヶ月間栽培したものを使用した。

iii) 標準試料および試薬

(Z)-3-hexen-1-olは和光純薬工業株式会

社より, (±)-linalool, n-octaneは片山化学工業株式会社より, サリチル酸メチル, β-caryophylleneは東京化成工業株式会社よりそれぞれ購入した。(±)-ジャスモン酸はジャスモン酸メチルの加水分解により得られたものを用いた。

iv) エリシター処理方法

塩化銅 (II), ジャスモン酸, サリチル酸を蒸留水に溶解しそれぞれ0.5mM, 0.5mM, 1mMの濃度の水溶液とした。ジャスモン酸とサリチル酸は, アセトン (終濃度0.1%以下) に溶解してから上記の濃度に調製した。それぞれのエリシター溶液 (10mℓ) をペトリ皿 (9cm i.d.) に入れ, はさみで切断したイネ葉片 (2.5cm×120枚) を浮かべた (26°C, 明所)。

v) 固相マイクロ抽出法

エリシター処理をしたイネ葉片を, 内部標準物質としてn-octane ($10\mu\text{g m}\ell^{-1}$ アセトン溶液, $4\mu\ell$) を加えた蒸留水 (0.5mℓ) を入れたセプタム付きバイアル瓶 (10mℓ容) に入れ密封し, そのヘッドスペースから固相マイクロ抽出法 (SPME fiber: 65μm polydimethylsiloxane / divinylbenzene coated silica fiber, Supelco) を用いて揮発性化合物を抽出した (35°C, 30min) (Fig. 1)。揮発性化合物はGC-MSによって以下の条件で検出を行った。

固相マイクロ抽出法
(SPME; Solid Phase Micro Extraction)

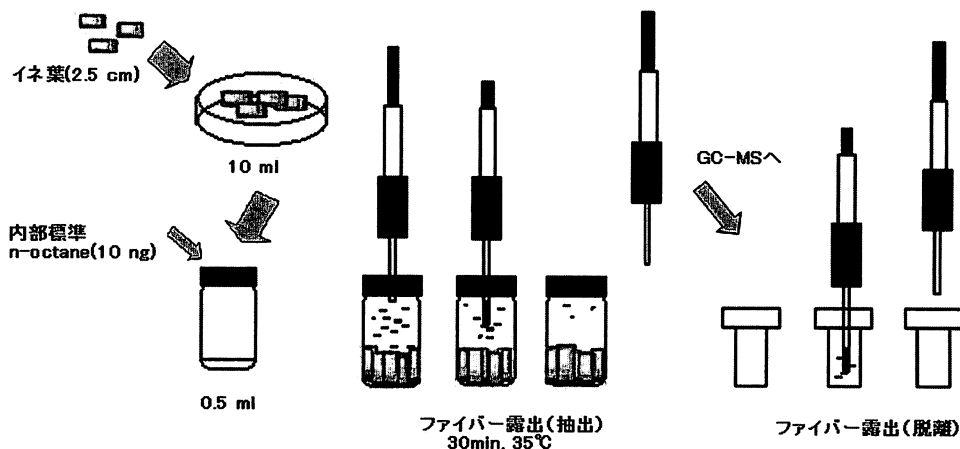


Fig. 1. 固相マイクロ抽出法 (SPME ; Solid Phase Microextraction, Pawliszyn 1997)

vi) GC-MSの測定条件

GC : Agilent Technologies 6890 N Network GC System

MS : JMS-GC mate II/B GC-MS SYSTEM

カラム : J&W Scientific HP-5, 長さ 30m, 内径0.32mm, 液相の厚さ0.25 μ m

昇温条件 : 60°C 1分保持 ; 60°C \rightarrow 180°C (1分当たり 3°C上昇)

180°C 10分保持

キャリアガス流速 : 1.0 ml/min

インジェクション温度 : 225°C

スプリットレス導入 : 60 s

測定範囲 : m/z 30~300

スキャン速度 : 1 s/scan

設定分解能 : 500

キャリアガス : 超高純度ヘリウム

イオン化法 : EI (70 eV)

vii) 標準試料を用いた保持時間の補正方法

本研究でのGC-MS測定の結果と同一に用

いたデータベースでは、用いたキャピラリーカラムの違いなどにより保持時間が異なっていたため、保持時間の補正を行った。補正には (Z)-3-hexen-1-ol, linalool, MeSA, geraniol, β -caryophylleneを標準試料として用いた。標準試料の10 μ g m^{-1} アセトン溶液をそれぞれ4 μ lずつ加えた蒸留水 (0.5 ml)をセプタム付きバイアル瓶(10 ml容)に入れ密封し、そのヘッドスペースから固相マイクロ抽出法 (SPME fiber : 65 μ m polydimethylsiloxane / divinylbenzene coated silica fiber, Supelco) を用いて抽出した (35°C, 30min)。標準試料はGC-MSによって上記の条件で検出を行った。

標準試料の実測保持時間に対してデータベース上の保持時間をプロットして、Microsoft Excel 2007の多項式近似による回帰曲線を作成した。この回帰曲線を用いて試料中のピークの保持時間を補正して、データベース上の保持時間との比較を行った。

3. 実験結果

実験結果はFig. 2～Fig. 8およびTable. 1に示した通りである。さらに、新たに得られた2種のセスキテルペンのマススペクトルをFig. 9およびFig.10に示し、Fig.11には2種のセスキテルペンの化学構造式を示した。

Fig. 2はイネ葉片を切断直後の揮発性化合物GC-MSのクロマトグラムを示した。この結果よりみどりの香りの一つとして知られている(Z)-3-hexen-1-ol (1)が検出された。また、モノテルペン類のlinalool (2)、サリチル酸メチル (3)、セスキテルペン類の β -elemene (4)、 β -caryophyllene (5)が検出された、(Z)-3-hexen-1-ol (1)は切断から1～2時間後にはほとんど検出されなくなった(データ非表示)。

Instrument: JEOL GCmate
Inlet: GC

Ionization mode: EI+

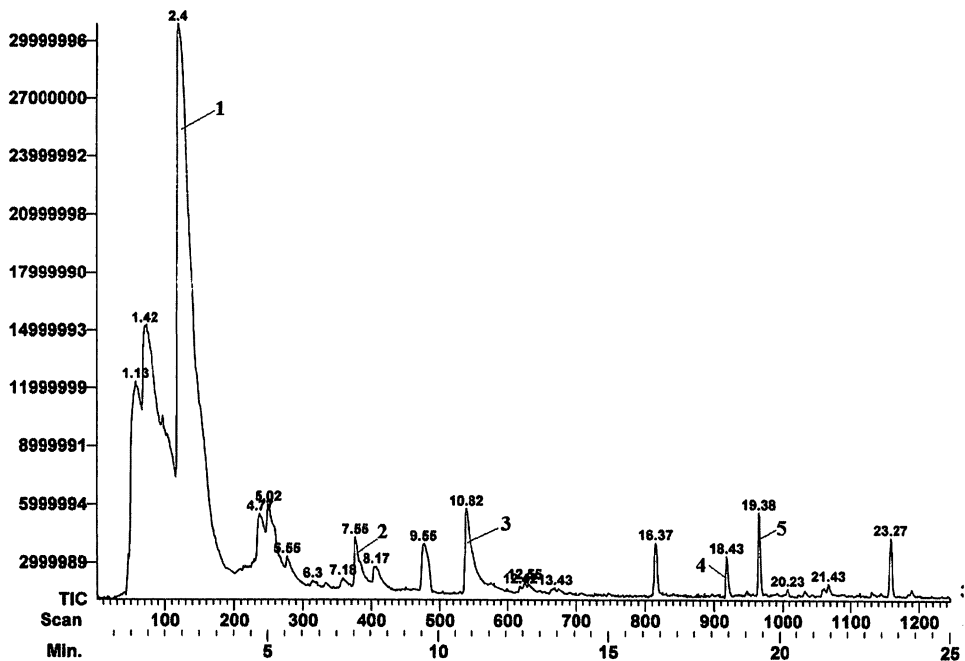


Fig. 2. 切断直後の揮発性成分のGC-MSクロマトグラム [(Z)-3-hexen-1-ol (1), linalool (2), MeSA (3), β -elemene (4), and β -caryophyllene (5).]

Fig. 3はイネ葉片を7時間ジャスモン酸処理により誘導された主な揮発性化合物GC-MSのクロマトグラムを示した。この結果よりイネ葉片からは主にlinalool (1) や

セスキテルペン類が検出された。(Z)-3-hexen-1-ol とMeSAは切断直後のイネ葉片から検出されたが、7時間経ったイネ葉片からはほとんど検出されなかった。

Instrument: JEOL GCmate
Inlet: GC

Ionization mode: EI+

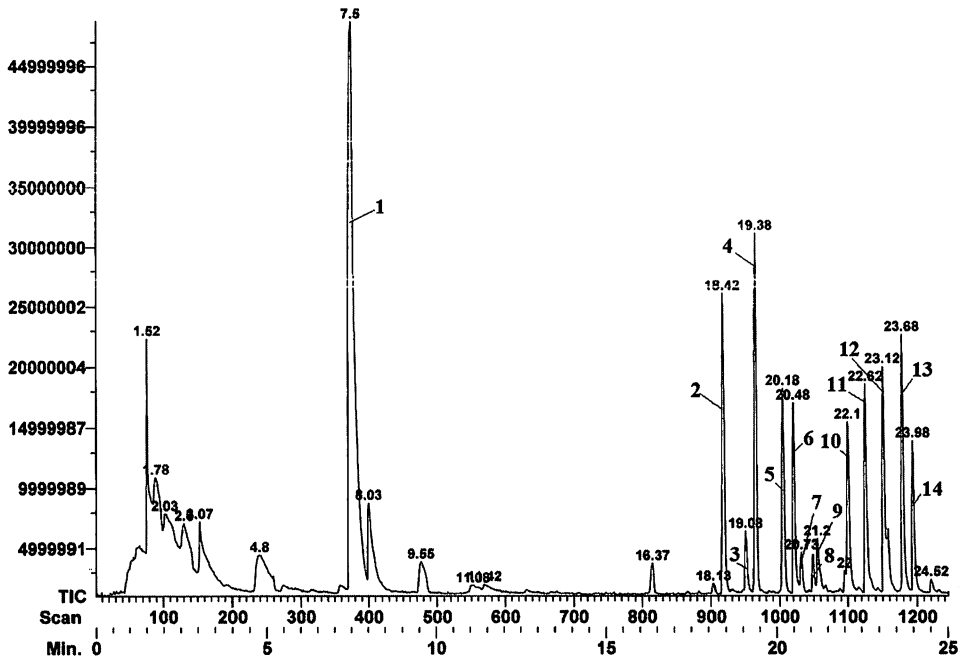


Fig. 3. 7時間ジャスモン酸処理によって誘導された主な揮発性化合物のGC-MSクロマトグラム
[linalool (1), β -elemene (2), sesquithujene (3), β -caryophyllene (4), α -bergamotene (5), (Z)- β -farnesene (6), α -humulene (7), sesquisabinene (8), aromadendrane (9), α - γ -curcumene (10), α -zingiberene (11), β -bisabolene (12), β -sesquiphellandrene (13), and (E)- γ -bisabolene (14).]

Fig. 4はイネ葉片を28時間ジャスモン酸処理により誘導された主な揮発性化合物GC-MSクロマトグラムを示した。この結果よりネ葉片からは主にセスキテルペン類が検出された。Linalool (1) は処理7時間後で

放出量のピークを向かえたが、28時間処理では減少していた。 β -elemene (2) や β -caryophyllene (4) 等スキテルペン類の放出量が7時間処理後とほとんど同じであった。

Instrument: JEOL GCmate
Inlet: GC

Ionization mode: EI+

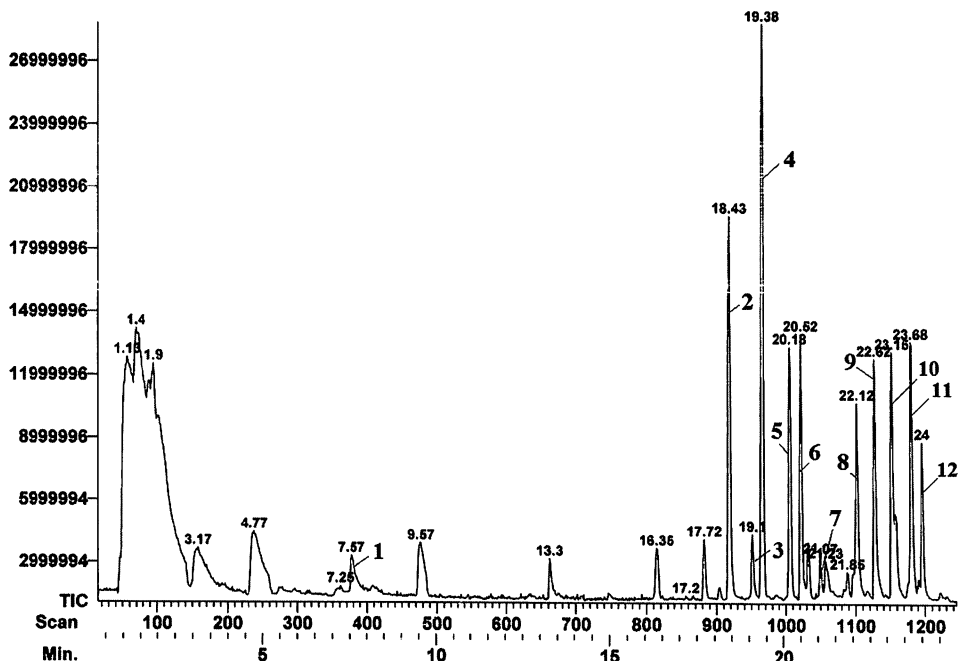


Fig. 4. 28時間ジャスモン酸処理によって誘導された揮発性化合物のGC-MSクロマトグラム [linalool (1), β -elemene (2), sesquithujene (3), β -caryophyllene (4), α -bergamotene (5), (Z)- β -farnesene (6), sesquisabinene (7), α - γ -curcumene (8), α -zingiberene (9), β -bisabolene (10), β -sesqui phellandrene (11), and (E)- γ -bisabolene (12).]

Fig. 5はイネ葉片を7時間塩化銅(Ⅱ)処理により誘導された主な揮発性化合物GC-MSクロマトグラムを示した。この結果よりイネ葉片から放散される揮発性成分の主成分はLinalool(1)やセスキテルペン類が

検出された。しかし、これらの化合物全体の放出量はジャスモン酸7時間処理後の放出量より多くなかった。(Z)-3-hexen-1-olとMeSAが検出されなかった。

Instrument: JEOL GCmate
Inlet: GC

Ionization mode: EI+

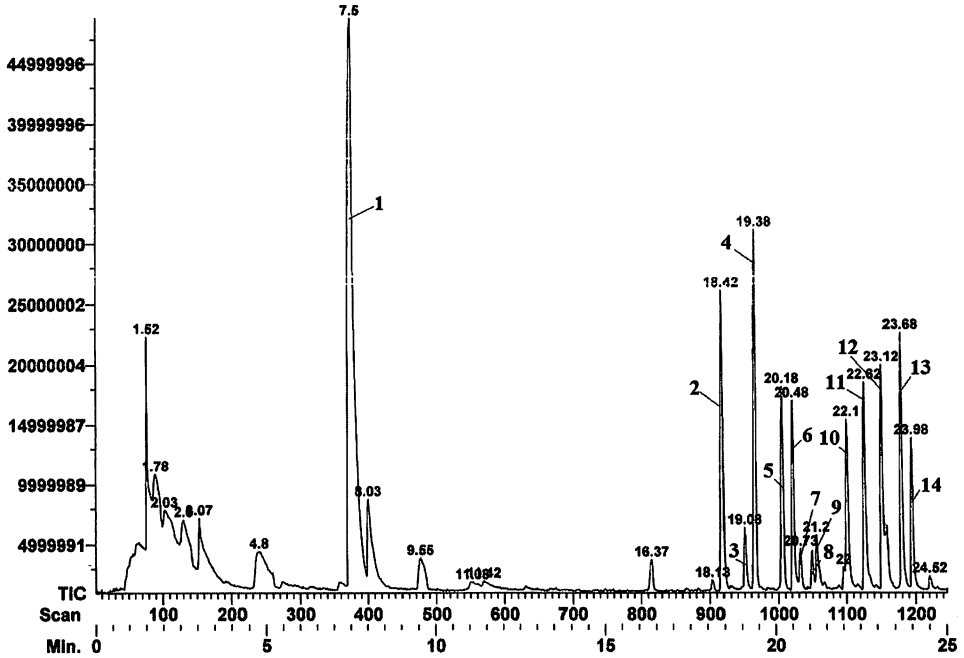


Fig. 5. 7時間ジャスモン酸処理によって誘導された主な揮発性化合物のGC-MSクロマトグラム [linalool (1), β -elemene (2), sesquithujene (3), β -caryophyllene (4), α -bergamotene (5), (Z)- β -farnesene (6), α -humulene (7), aromadendrane (8), α - γ -curcumene (9), α -zingiberene (10), β -bisabolene (11), β -sesquiphellandrene (12), and (E)- γ -bisabolene (13).]

Fig. 6はイネ葉片を28時間塩化銅(Ⅱ)処理により誘導された主な揮発性化合物GC-MSクロマトグラムを示した。この結果よりイネ葉片から主にセスキテルペン類が検出された。Linalool (1)は減少していた。セスキテルペン類の α -bergamotene (5), (Z)- β -farnesene (6), α - γ -curcumene (10), α -zingiberene (11), β -bisabolene (12), β -sesquiphellandrene (13), and (E)- γ -bisabolene (14)が28時間塩化銅(Ⅱ)処理にとり顕著な増加が確認された。

Instrument: JEOL GCmate
Inlet: GC

Ionization mode: EI+

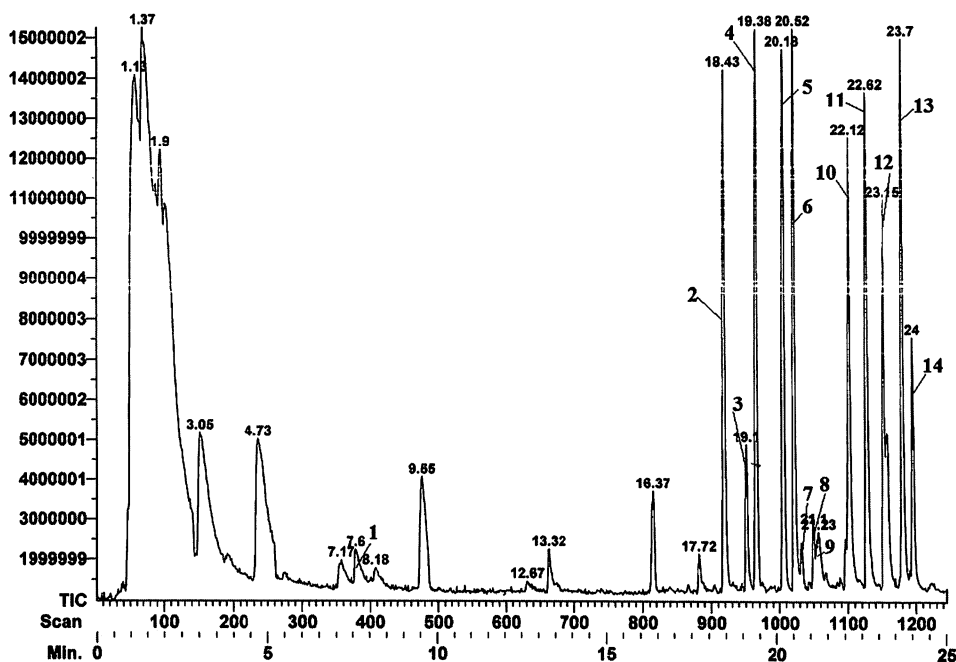


Fig. 6. 28時間塩化銅(Ⅱ)処理によって誘導された揮発性化合物のGC-MSクロマトグラム [linalool (1), β -elemene (2), sesquithujene (3), β -caryophyllene (4), α -bergamotene (5), (Z)- β -farnesene (6), α -humulene (7), sesquisabinene (8), aromadendrane (9), α - γ -curcumene (10), α -zingiberene (11), β -bisabolene (12), β -sesquiphellandrene (13), and (E)- γ -bisabolene (14).]

Fig. 7はイネ葉片を7時間サリチル酸処理により誘導された主な揮発性化合物GC-MSクロマトグラムを示した。この結果よりイネ葉片から放散される揮発性成分の主成分は

Linalool (1), サリチル酸メチル (2) やセスキテルペン類が検出された。サリチル酸メチル(2)が7時間や28時間ジャスモン酸、塩化銅(II)処理後検出されなかった。

Instrument: JEOL GCmate
Inlet: GC

Ionization mode: EI+

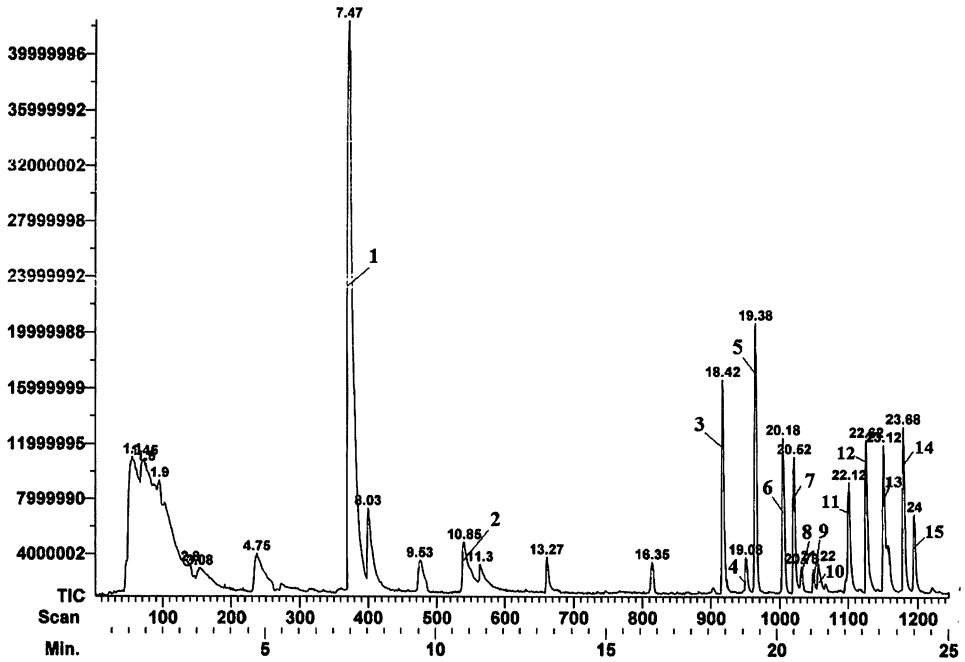


Fig. 7. 7時間サリチル酸処理によって誘導された主な揮発性化合物のGC-MSクロマトグラム [linanool (1), MeSA (2), β -elemene (3), sesquithujene (4), β -caryophyllene (5), α -bergamotene (6), (Z) - β -farnesene (7), α -humulene (8), sesquisabinene (9), aromadendrane (10), α γ -curcumene (11), α -zingiberene (12), β -bisabolene (13), β -sesquiphellandrene (14), and (E) - γ -bisabolene (15).]

Fig. 8はイネ葉片を28時間サリチル酸処理により誘導された主な揮発性化合物GC-MSクロマトグラムを示した。この結果よりイネ葉片から放散される揮発性成分の主成分はLinalool (1) やセスキテルペン類であった。

Linalool (1) の放出量が7時間後減少したが28時間塩化銅 (II), ジャスモン酸処理より検出量が多くなった。サリチル酸メチルは検出されなかった。

Instrument: JEOL GCmate
Inlet: GC

Ionization mode: EI+

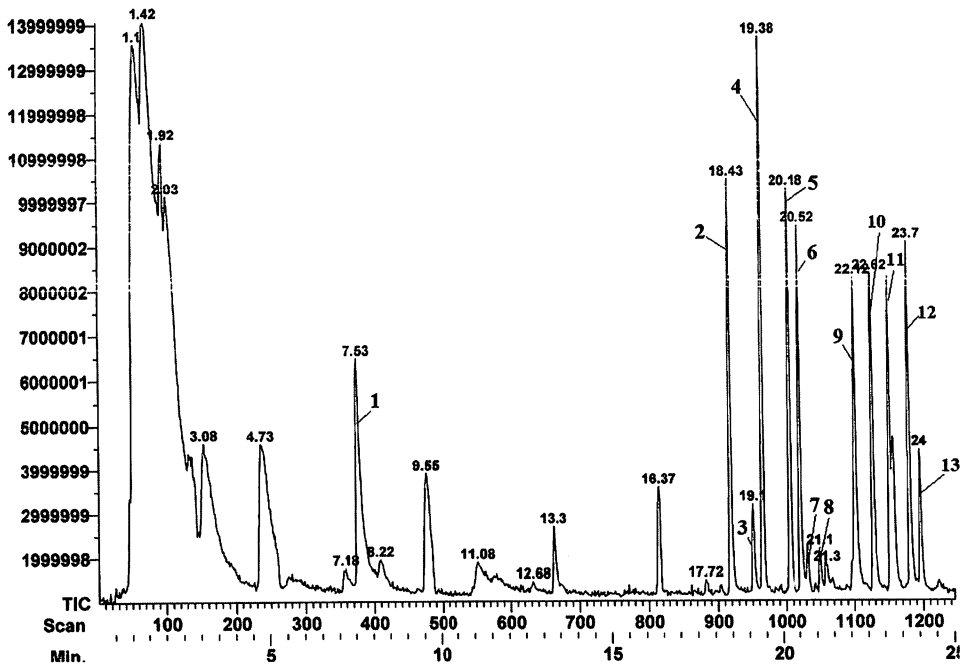


Fig. 8. 28時間サリチル酸によって誘導された主な揮発性化合物のGC-MSクロマトグラム
[linalool (1), β -elemene (2), sesquithujene (3), β -caryophyllene (4), α -bergamotene (5), (Z) - β -farnesene (6), α -humulene (7), sesquisabinene (8), α γ -curcumene (9), α -zingiberene (10), β -bisabolene (11), β -sesquiphellandrene (12), and (E) - γ -bisabolene (13).]

Table 1はイネ葉片を塩化銅(Ⅱ)、ジャスモン酸、サリチル酸によるエリシター処理によって誘導された揮発性化合物についてまとめ示したものである。この結果より得られた揮発性化合物は処理したエリシターおよび処理時間(7時間, 28時間)によって構成内容が異なっていた。

処理時間が7時間のイネ葉片からは主にモノテルペン類linalool(2)やセスキテルペン類が検出された。各処理によって放散される揮発性成分の種類はほとんど同じであった。ただし、ジャスモン酸、サリチル酸処理によって得られた揮発性化合物の検出量は塩化銅(Ⅱ)処理よりも多く誘導されていた。linalool(2), β -elemene(5), β -caryophyllene(7)等は各エリシター処理により検出量が増加した。7時間処理により検出量が多くなり、28時間処理で検出量が減少した。

エリシター未処理のイネ葉片の切断直後の

試料からは(Z)-3-hexen-1-ol(1)やMeSA(3)検出されたが、塩化銅(Ⅱ)、ジャスモン酸、サリチル酸等の7時間処理したイネ葉片からはほとんど検出されなかった。7時間処理したイネ葉片から放散される揮発性成分の主成分linalool(2)は処理7時間で検出量が最大に達した、その後、検出量が減少した。

処理時間が28時間のイネ葉片からは主にセスキテルペン類が検出された。特に、塩化銅(Ⅱ)処理により新しく検出したsesquithujene(6)とsesquisabinene(11)のうち前者は顕著に増加したが後者はあまり増加しなかった。(Z)- β -farnesene(9)と β -sesquiphellandrene(16)は共に著しく増加したが、ジャスモン酸、サリチル酸処理により生成する揮発性成分とくに β -sesquiphellandrene(16)の検出量は著しく減少した。

Table 1. エリシター処理7時間, 28時間後誘導されるイネ葉片揮発性成分

揮発性化合物	Rt(min)	補正Rt(min)	文献Rt(min)	エリシター 処理時間 (h)	Rate of volatile release (ng/vial, equivalent of n-octane)		
					CuCl ₂	JA	SA
(Z)-3-hexen-1-ol (1)	2.4	4.00	4.06	7	—	—	—
				28	—	—	—
linalool (2)	7.5	11.05	11.32	7	91	178.36	188.63
				28	7.35	10.59	22.81
methyl salicylate (3)	10.83	15.34	15.35	7	—	—	—
				82	—	—	—
α -copaene (4)	17.72	23.47	23.49	7	—	—	—
				28	7.04	13.24	—
β -elemene (5)	18.43	24.25	24.15	7	38.99	95.82	74.2
				28	46.56	62.63	36.86
sesquithujene (6)	19.1	24.97	24.84	7	8.93	23.55	16.27
				28	160.3	14.04	11.21
β -caryophyllene (7)	19.38	25.27	25.36	7	58.02	114.2	92.1
				28	49.84	91.88	48.12
α -bergamotene (8)	20.18	26.12	25.99	7	27.16	66.81	55.57
				28	48.21	42.7	36.08
(Z)- β -farnesene (9)	20.52	26.48	26.33	7	21.2	62.43	46.44
				28	49.85	44.64	33.22
α -humulene (10)	20.72	26.69	26.82	7	8.98	17.02	14.06
				28	7.96	12.81	7.88
sesquisabinene (11)	21.1	27.08	27.05	7	—	16.47	13.08
				28	9.3	10.71	7.69
aromadendrane (12)	21.23	27.22	27.16	7	7.47	21.3	13.75
				28	8.84	10.02	6.77
α - γ -curcumene (13)	22.12	28.12	27.96	7	16.36	56.75	41.15
				28	41.04	34.26	29.05
β -zingiberene (14)	22.62	28.63	28.53	7	26.32	68.07	54.8
				28	44.73	40.93	29.38
β -bisabolene (15)	23.15	29.15	29.04	7	21.28	73.47	53.41
				28	35.94	42.02	29.15
β -sesquiphellandrene (16)	23.7	29.69	29.7	7	25.3	83.22	59.22
				28	49.04	4.35	31.9
(E)- γ -bisabolene (17)	24	29.98	30.03	7	12.74	51.13	30.83
				28	24.77	28.32	15.56

Table. 1. エリシター処理7時間, 28時間後に誘導されるイネ葉片の揮発性成分

内部標準物質n-octane ($10 \mu\text{g m}^{-1}$, $4 \mu\ell$)揮発性化合物の量 = (揮発性化合物のピーク面積) / (内部標準物質のピーク面積) $\times 40$

これらの結果のうち特に注目すべきことは Fig. 2～Fig. 8 および Table 1 から判るように 2 種の新たなセスキテルペン sesquithujene 及び sesquisabinene を同定したことである。これらのセスキテルペンは著者の実験によりはじめて確認した化合物である。

Sesquithujene のマススペクトルを Fig. 9 に示した。また, sesquisabinene のマススペ

クトルを Fig. 10 に示した。これらの揮発性化合物のマススペクトル及び保持時間 Rt (sesquithujene の補正保持時間 Rt: 24.97, データベースの保持時間 Rt: 24.84, sesquisabinene の補正保持時間 Rt: 27.08, データベースの保持時間は Rt: 27.05.) より Fig. 11 に示した化学構造であることを明らかにした。

Instrument: JEOL GCmate
Inlet: GC

Ionization mode: EI+

Scan: 951

Base: m/z 32; 56.3%FS TIC: 4403264

R.T.: 19.1

#Ions: 240

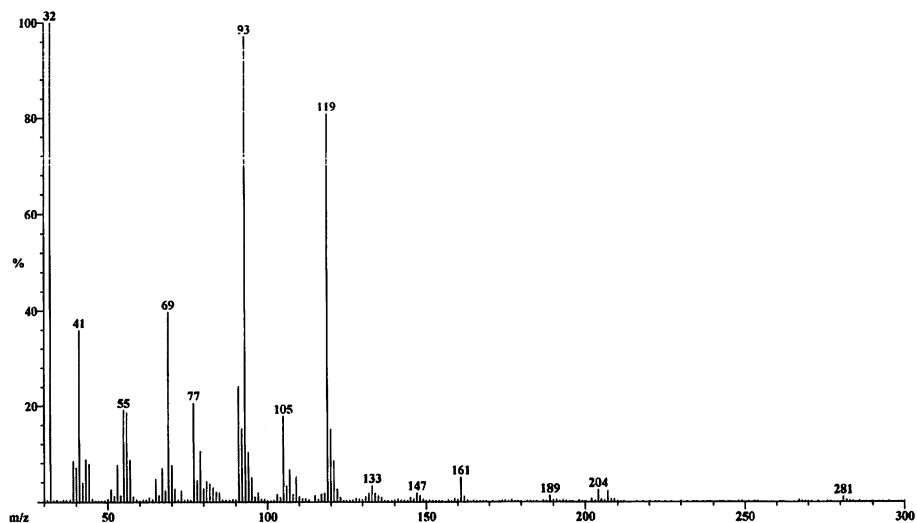


Fig. 9. Sesquithujene のマススペクトル

Instrument: JEOL GCmate
Inlet: GC

Ionization mode: EI+

Scan: 1050
Base: m/z 32; 54.8%FS TIC: 3013264

R.T.: 21.1

#Ions: 277

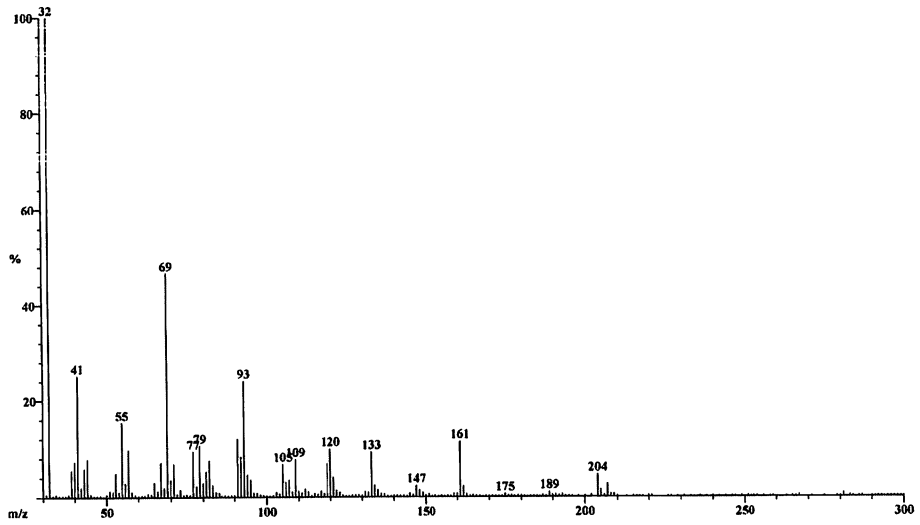


Fig. 10. Sesquisabineneのマススペクトル

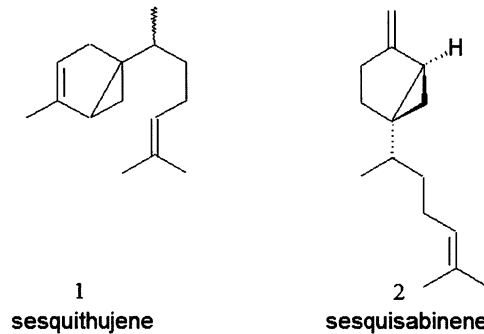


Fig. 11. エリシター処理によりイネ葉片から新たに検出された揮発性化合物sesquithujene (1) sesquisabinene (2) の化学構造.

4. 考察

イネ葉片をエリシター（塩化銅 (II), ジャスモン酸, サリチル酸）処理し, 揮発性成分を固相マイクロ抽出法にて抽出し, GC-MSを用いて分析を行った。エリシター処理により新たに生成される揮発性成分として, Sesquithujene, sesquisabinene の 2種のセスキテルペン類を同定した。

本研究の結果では, エリシターに応答して, まず, “みどりの香り”である (Z)-3-hexen-1-ol, 続いて, モノテルペン類, 次にセスキテルペン類が放散された。これまでのイネ葉片の揮発性化合物に関する研究は, 主に, (Z)-3-hexen-1-ol, limonene, linalool, サリチル酸メチル, β -caryophylleneなどが検出されたが, 著者は彼らの結果を確認した。

Obara¹⁷⁾ はイネの病原菌であるいもち病菌をイネ葉に感染させ, 揮発性成分の分析も行い, モノテルペンおよびセスキテルペンを検出している。一方, Cheng¹⁸⁾ らは揮発性成分のうちセスキテルペン類の生合成に関与すると推定される (E)- β -caryophylleneシクターゼ遺伝子 (OsTPS) を同定した。OsTPS 3 mRNAはジャスモン酸メチルによって発現が誘導され, 24時間周期のリズムで発現量が変動することを示している。

これまで行われている研究では害虫に食害された葉からの揮発性成分の報告が多く, 植物と病原菌の関係の報告は少なかった。病原菌の報告では, Croft²⁶⁾ は植物病原細菌である *Pseudomonas syringae* pv. *Phaseolicola* が感染したインゲン (*Phaseolus vulgaris*)

の葉から揮発性成分を検出したが, 彼等が同定した揮発性成分は (E)-2-hexenalなどのみどりの香りであった。病原菌と揮発性成分の関係に関しては未解明の部分が多く, 病原菌は植物がもつ様々な抵抗性機構を乗り越えるため, 酵素, 毒素などを分泌し, 感染を成功させていると考えられる。揮発性成分はイネの病害抵抗性になんらかの役割を果たしていると考えられる。揮発性成分の生成機構, およびその機能を探ることにより将来それらの役割も明らかにされるであろう。

謝辞

本研究に当り, 終始御指導を賜りました茨城大学名誉教授児玉治博士, 同大学教授戸嶋浩明博士及び同大学準教授長谷川守文博士に対し心から感謝致します。

また, 本研究に対し, 適切な御指導を戴きました本学教授赤塚伊巳博士に衷心より感謝致します。

参考文献

- 1) Sabelis, M. W. and Baan van der, H. E., Location of distant spider mite colonies by phytoseiid predators.: Demonstration of specific kairomones emitted by *Tetranychus urticae* and *Panonychus ulmi*. *Entomol. Exp. Appl.*, 33, 303-314 (1983) .
- 2) Dicke, M., Maas van der, K. J., Takabayashi, J., Vet, L. E. M.: Learning affects response to volatile alleochemicals by predatory mites. *Proc. Exp. Appl. Entomol.*, 1, 31-36 (1990c) .
- 3) Turlings, T. C. J., Tumlinson, J. H., and Lewis, W. J.: Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. *Science.*,

- 250, 1251-1253 (1990) .
- 4) Turlings, T. C. J., and Fritzsche, M. E.: Attraction of parasitic wasps by caterpillar damaged plants. *Novartis Found Symp.*, 223, 21-32 (1999) .
 - 5) Koch, T., Krumm, T., Jung, V., Engelberth, J., Boland, W.: Differential induction of plant volatile biosynthesis in the lima bean by early and late intermediates of the octadecanoid signaling pathway. *Plant Physiol.*, 121, 153-162 (1999) .
 - 6) Ozawa, R., Arimura, G., Takabayashi, J., Shimoda, T., Nishioka, T.: Involvement of jasmonate and salicylate related signaling pathways for the production of specific herbivore induced volatiles in plants. *Plant Cell Physiol.*, 41, 391-398 (2000) .
 - 7) Kato, T., Kabuto, C., Sasaki, N., Tsunagawa, M., Aizawa, H., Fujita, K., Kato, Y., Kitahara, Y., Takahashi, N.: Momilactones, growth inhibitors from rice, *Oryza sativa* L. *Tetrahedron Lett.*, 39, 3861-3864 (1973) .
 - 8) Cartwright, D., Langcake, P., Pryce, R. J., Leworthy, D. P., Ride, J. P.: Chemical activation of host defence mechanisms as a basis for crop protection. *Nature.*, 267, 511-513 (1977) .
 - 9) Akatsuka, T., Kodama, O., Kato, H., Kono, Y., Takeuchi, S.: 3-Hydroxy-7-oxo-sandaracopimaradiene (Oryzalexin A) , a new phytoalexins isolated from rice blast leaves. *Agric. Biol. Chem.*, 47, 445-447 (1983) .
 - 10) Kono, Y., Takeuchi, S., Kodama, O., Akatsuka, T.: Absolute configuration of Oryzalexin A and structures of its related phytoalexins isolated from rice blast leaves infected with *pyricularia oryzae*. *Agric. Biol. Chem.*, 48, 253-255 (1984) .
 - 11) Sekido, H., Endo, T., Suga, R., Kodama, O., Akatsuka, T., Kono, Y., Takeuchi, S.: Oryzalexin D (3, 7-Dihydroxy- (+) -sandaracopimaradiene) , a new phytoalexin isolated from blast infected rice leaves. *J. Pesticide Sci.*, 11, 369-372 (1986) .
 - 12) Kato, H., Kodama, O., Akatsuka, T.: Oryzalexin E, a diterpene phytoalexin from UV-irradiated rice leaves. *Phytochemistry.*, 33, 79-81 (1993) .
 - 13) Kato, H., Kodama, O., Akatsuka, T.: Oryzalexin F, a diterpene phytoalexin from UV-irradiated rice leaves. *Phytochemistry.*, 36, 299-301 (1994) .
 - 14) Kodama, O., Li, W. X., Tamokami, S., Akatsuka, T.: Oryzalexin S, a novel stemarane-type diterpene rice phytoalexin. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 56, 1002-1003 (1992) .
 - 15) Koga, J., Shimura, M., Oshima, K., Ogawa, N., Yamauchi, T., Ogasawara, N.: Phytocassanes A, B, C, and D, novel diterpene phytoalexins from rice, *Oryza sativa* L. *Tetrahedron.*, 51, 7907-7918 (1995) .
 - 16) Kodama, O., Miyakawa, J., Akatsuka, T., Kiyosama, S.: Sakuranetin, a flavanone phytoalexin from ultraviolet-irradiated rice leaves. *Phytochemistry.*, 31, 3807-3809 (1992) .
 - 17) Obara, N., Hasegawa, M., Kodama, O.: Induced volatiles in elicitor-treated and rice blast fungus-inoculated rice leaves. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 66, 2549-2559 (2002) .
 - 18) Cheng, A. X., Xiang, C.Y., Li, J. X., Yang, C. Q., Hu, W. L., Wang, L. J., Lou, Y.G., Chen, X.Y.: The Rice (E) - β -caryophyllene synthase (OsTPS3) accounts for the major inducible volatile sesquiterpenes. *Phytochemistry.*, 68, 1632-1641 (2007) .
 - 19) Kodama, O., Yamada, A., Yamamoto, A., Takemoto, T., Akatsuka, T.: Induction of phytoalexins with heavy metal ions in rice leaves. *J. Pesticide Sci.*, 13, 615-617 (1988) .
 - 20) Tamogami, S., Rakwal, R., Kodama, O.: Phytoalexin production elicited by exogenously applied jasmonic acid in rice leaves (*Oryza sativa* L.) is under the control of cytokinins and ascorbic acid. *FEBS Lett.*, 412, 61-67 (1998) .
 - 21) Nakazato, Y., Tamogami, S., Kawai, H., Hasegawa, M., Kodama, O.: Methionine-induced phytoalexin production in rice leaves. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 64, 577-583 (2000) .
 - 22) Yamada, A., Shibuya, N., Kodama, O., Akatsuka, T.: Induction of phytoalexin formation in suspension-cultured rice cells by N-acetylchitoooligosaccharide. *Biosci. Biotechnol.*

- Biochem.*, 57, 405-409 (1993) .
- 23) Kodama, O., Suzuki, T., Miyakawa, J., and Akatsuka, T.: Ultraviolet-induced accumulation of phytoalexins in rice leaves. *Agric. Biol. Chem.*, 52, 2469-2473 (1988) .
- 24) Pawliszyn, J., ed.: "Solid Phase Microextraction", Wiley-vch, New York, (1997) .
- 25) Adams, R.P.: Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Mass Spectroscopy (1989) .
- 26) Croft, K. P. C. Jüttner, F., Slusarenko, A. J.: Volatile products of the lipoxygenase pathway evolved from *Phaseolus vulgaris* (L.) leaves inoculated with *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola*. *Plant Physiol.*, 101, 13-24 (1993) .