

鉄化合物処理トマト下胚軸におけるファイトアレキシ ン（リシチン）と抗菌性物質（トマチン）の検出

生 井 恒 雄・上 田 朋 法・村 山 哲 也*

山形大学農学部生物生産学科生産生態制御学講座

*山形大学農学部生物資源学科生物資源利用化学講座

（平成16年10月1日受理）

Detection of a Phytoalexin (Rishitin) and an
Antifungal Compounds (Tomatine) in Tomato Hypocotyls
Treated with Water Solution of Some Iron Compounds

Tsuneo NAMAI, Tomonori UEDA and Tetsuya MURAYAMA*

Section of Agricultural Ecology and Engineering, Departments of Bioproduction,

*Section of Bioresource Utilization, Departments of Bioresource Engineering,

Yamagata University, Tsuruoka 997-8555, Japan

(Received October 1, 2004)

Summary

Treatment of tomato seedlings with iron solutions suppresses bacterial wilt. To clarify how, we studied the accumulation of rishitin (a phytoalexin) and tomatine (an antifungal saponin) in tomato hypocotyls. Roots of tomato seedlings at the 5th or 6th leaf stage were dipped in 250 ppm of $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, or $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Significantly increased concentrations of rishitin and tomatine (relative to controls) were detected in the hypocotyls at 48 h after treatment. We suggest that the appearance of bacterial wilt is delayed in iron-treated tomato seedlings by phytoalexins and antifungal compounds accumulated in the hypocotyls tissues, the primary site of infection by pathogenic bacteria.

Rishitin was also accumulated in potato tubers spray-treated with solutions of each iron compound. This result suggests that the iron compounds elicit phytoalexin production in potato tuber tissues. The degree of activity differed among the iron compounds.

Key words: phytoalexin and antifungal compound, tomato plants, iron treatment

緒 言

これまで著者らは、トマトの重要病害の一つである青枯病に対する有機合成化学薬剤を削減した防除技術の開発のため鉄化合物に注目して種々の試験を行い、鉄化合物の浸根処理が本病の発病抑制効果があることを報告してきた（藤田，1996：佐藤，1991：古川，1990：生井ほか，1997）。前報（生井ほか，2004）では、鉄化合物処理による本病の発病抑制のメカニズムを明らかにするた

め、浸根処理後のトマト下胚軸組織における植物病害抵抗性関連酵素，パーオキシダーゼ（POX）およびリボキシゲナーゼ（LOX）活性の経時的変化を検討した。その結果，POX活性は鉄化合物処理直後から急激に高まった。一方，LOXは必ずしも処理直後に急激な活性増加は認められなかったが，水処理対照区では処理後日数の経過とともに活性が急激に低下したのに対し，鉄化合物処理区では処理後も数日間は活性が高い傾向が持続した。このように，調査した2酵素とも処理後数日間は

キーワード：ファイトアレキシニンおよび抗菌性化合物，トマト，鉄化合物処理

水処理対照区のそれよりは明らかに活性が高く推移することが明らかになった。これらの結果から、鉄化合物水溶液の浸根処理はトマトの病害抵抗性関連酵素の活性を高めることで、病害に対する抵抗性に関する代謝系が活性化され、これが本病細菌の侵入後の増殖過程に影響し、結果的に発病の遅延に関与しているものと推察された。

他方、植物の病害に対する抵抗性の発現には、病原菌の感染後新たに合成・蓄積されるファイトアレキシンあるいはポストヒビチンなどの抗菌性化合物が重要な役割を果たしていることが知られている（大内，1991）。そのうちファイトアレキシンは、植物に病原微生物が感染した場合だけでなく、水銀をはじめ重金属塩など非生物的要因の処理によっても合成・蓄積が誘導される（赤塚ほか，1997；Bostok，1982；Suleman，1996；Woodward，1986）。そこで本実験では、鉄化合物水溶液を浸根処理したトマトの下胚軸組織において、ナス科植物のファイトアレキシンの1種であるリシチン（富山，1986）とトマトに蓄積される抗菌性物質として知られるステロイドアルカロイドのトマチン（Amemiya，1986；Awiyant，1993；Defago，1983，Pegg，1986；Suleman，1996）の蓄積増がみられるかどうかを確認する目的でそれらの化合物の検出と、処理後の量的変動を検討した。

加えて、本試験で供試した鉄化合物の非生物エリッターとしての活性をさらに明確にするため、ジャガイモ塊茎組織を用い、ファイトアレキシンが誘導・蓄積されるか否かを確認し、活性があれば用いた鉄化合物間で差が見られるかについて検討した。

材料及び方法

1. リシチンのジャガイモ塊茎からの抽出

標品とするリシチンを得るため、これまでの報告（Monden，1995；Murai，1995）に従って、非生物のエリッターとして知られる過酸化水素水をジャガイモ塊茎に処理しリシチンを誘導し抽出した。その手順は図1に示した。

供試ジャガイモ：市販のジャガイモ、品種「男爵」を用いた。

リシチン誘導のための供試試薬：市販の30%過酸化水素水（和光純薬）を用い、濃度が750 μ Mになるよう調製して供試した。

処理方法：ジャガイモ塊茎の皮を剥き、合計2kgのス

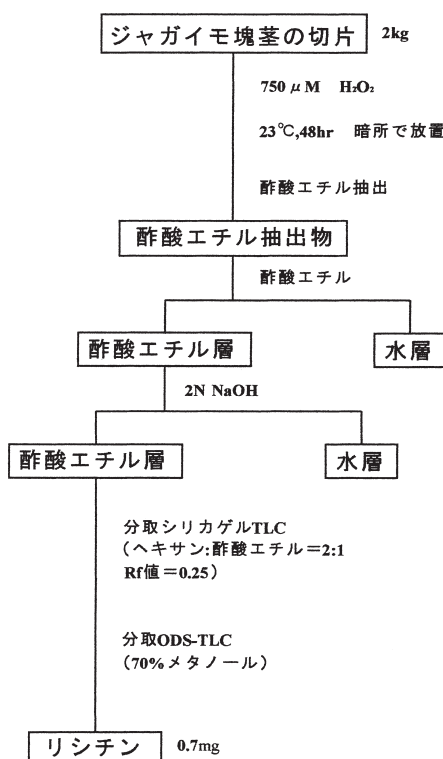


図1 ジャガイモ塊茎組織からのリシチンの抽出法

ライスを作製した。濾紙を敷いたプラスチック製容器（25 x 30 x 10cm）に200gずつスライスを並べ、その上から過酸化水素水を50ml噴霧してから密封し、23℃・暗所で48時間放置し、ジャガイモスライス組織にリシチン合成を誘導した。

ジャガイモ体内成分の粗抽出：過酸化水素水処理終了後、ジャガイモスライスにメタノールを加えながらミキサーで磨砕した。磨砕後ペースト状になったジャガイモは、50%メタノールを時々添加しながら減圧濾過を行い、濾液を回収した。その後、残渣にメタノール、酢酸エチル（3：10）溶液を添加して2時間減圧濾過を行い、途中で酢酸エチルを2回添加して酢酸エチル層を回収した。回収した酢酸エチル層を減圧濃縮した後、酢酸エチル層に再溶解し、有機溶媒層と水層に分画した。この有機溶媒層を十分水洗した後、飽和食塩水および無水硫酸ナトリウムを用いて脱水し、減圧濃縮して、粗抽出物を得た。処理ジャガイモからのリシチンの単離：リシチン合成の誘導後、ジャガイモスライスを酢酸エチルに浸漬し18時

間以上静置した。浸漬処理後、濾液を減圧濃縮して酢酸エチル抽出物を得た。酢酸エチル層を十分に水洗した後、2 N NaOHで脂肪酸類をケン化して除き、飽和食塩水及び無水硫酸ナトリウムで脱水後濃縮して抽出物を回収した。

濃縮物をTLC上にスポットし、展開溶媒としてヘキサン：酢酸エチル＝2：1を用いて展開し0.5%バニリン硫酸で噴霧した。噴霧直後赤く発色し、数分後に青に変化する特有のスポット (R_f 値=0.25) を目安に分取シリカゲルTLCにより精製を行い、この抽出物を分取ODS-TLC (Merck Art. 13124, HPTLC-Fertigplatten RP-18 W F₂₅₄S, 展開溶媒：70%メタノール) により再度精製した。また、このようにして得られた抽出物がリシチンであることを確認するため $CDCl_3$ に転溶後、 1H -NMRスペクトルによる構造解析を行った。

リシチンのベンゾイル化：単離したリシチンの機器による検出感度を上げるため、図3の手順に従ってベンゾイル化を試みた。すなわち、単離したリシチン0.7mgに、十数滴のピリジンと数滴の塩化ベンゾイルを添加して一夜放置後、酢酸エチルに転溶して有機溶媒層と水層に分画した。このようにして得た有機溶媒層を十分に水洗してから飽和シュウ酸水溶液で塩基性ピリジンを除き、飽和 $NaHCO_3$ 水溶液でアルカリにした後、減圧濃縮した。これを再び酢酸エチルに転溶し分取TLC (展開溶媒：ヘキサン：酢酸エチル＝2：1) によりリシチンのベンゾイル化化合物を得た (図2)。また、リシチンのベンゾイル化化合物の確認は、 $CDCl_3$ に転溶後、 1H -NMRスペクトルによる構造解析により行った。

2. 鉄化合物処理トマト茎におけるリシチン及びトマチンの検出：供試トマトの品種、栽培方法、供試鉄化合物、

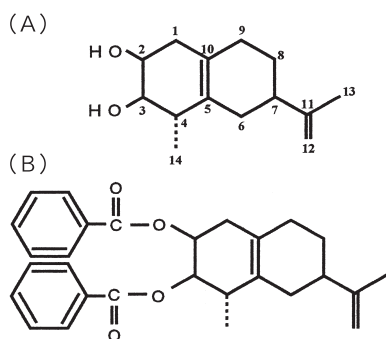


図2 リシチンとリシチンのベンゾイル化化合物の構造
(A)：リシチン (B)：リシチンのベンゾイル化化合物

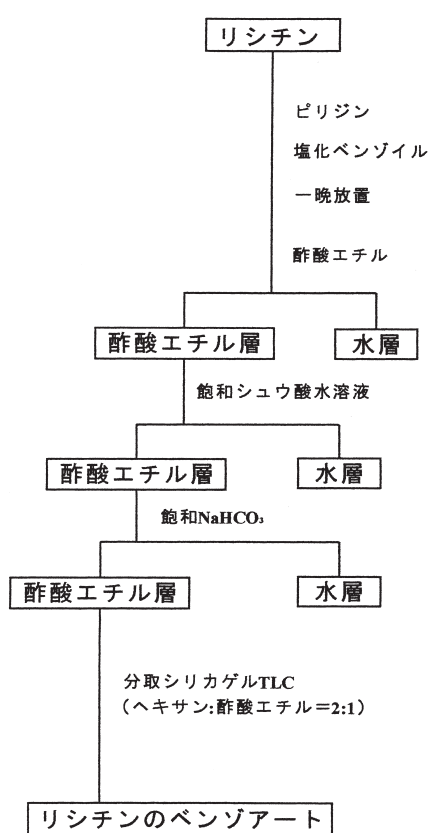


図3 リシチンのベンゾイル化法

鉄化合物の処理方法などについては前報 (生井ほか, 2004) と同様である。すなわち、ポット栽培したトマト品種桃太郎の5～6葉期の苗を用いた。鉄化合物は硫酸アンモニウム鉄 (Ⅲ) 12水和物； $FeNH_4(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ (以下鉄ミョウバンと略す)、塩化鉄 (Ⅱ) 4水和物； $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ (以下塩化鉄と略す)、硫酸鉄6水和物； $Fe(NH_4)_2 \cdot 6H_2O$ (以下モール鉄と略す) である。鉄化合物は250ppmの脱塩水の溶液とし、48時間漬根処理した。鉄処理終了時を処理直後 (0日目) とし、24時間後を1日、48時間後を2日目とした。鉄化合物処理トマトの茎部からリシチン及びトマチンの抽出は図4に従って行った。各処理区当たり12本のトマトを用い、茎の地際部から第1葉付着部までの下胚軸を約30g採取し、24時間以上メタノール抽出を行った。抽出液を濾過後、減圧濃縮して粗抽出物を得た。その後、粗抽出物を酢酸エチルに転溶して、上記方法と同様に酢酸エチル層と水層に分画

し、酢酸エチル層を脱水後減圧濃縮した。また、この水層を含む酢酸エチルに不溶な画分については、水飽和1-ブタノールに転溶して、再度有機溶媒層と水層に分画後、そのまま減圧濃縮しブタノール抽出物を得た。

酢酸エチル抽出物は、前述と同様の方法でベンゾイル化を行い、これをリシチンの測定に供試した。すなわち、ジャガイモの組織から誘導したリシチンのベンゾアートを標品として、HPLCによる測定（カラム：関東化学株式会社 Mightysil RP-4 GP 150-4.6, 検出器：UV吸収, 測定波長：228nm, 流速：0.5ml/min, 溶媒：90%メタノール）を行った。測定に際しては標品を1.0mlの90%メタノールに溶解して2 μ l注入後、上記条件下で測定を行い、そのチャートの面積を基準とし、量的な比較を行った。一方、ブタノール抽出物をトマチンの測定に供試した。

鉄化合物処理トマトにおけるリシチンのHPLCによる測定：サンプルを90%メタノール1mlに溶解し、可溶部分だけを綿濾過で全量回収した後、同様の溶媒で5倍希釈した。そして上記方法に従って、この希釈液を1 μ l注入してHPLCによる測定を行った（図5）。

鉄化合物処理トマトにおけるトマチンのHPLCによる測定：ブタノール抽出物を、0.5%酢酸を含む70%メタノール1mlに溶解して可溶部分だけを全量回収した後、200倍希釈した。その後、市販の α -トマチン（SIGMA）を標品として、HPLCによる測定（カラム：関東化学株式会社 Mightysil RP-4 GP 150-4.6, 検出器：UV吸収, 測定波長：220nm, 流速：0.5ml/min, 溶媒：0.5%酢酸を含む70%メタノール）を行った（図6）。すなわち、上記条件下で、1 mg/mlになるよう同溶媒に溶解した標品を用いて、検量線を作成した。この検量線を基準として、サンプルの希釈液1 μ lを注入し、鉄化合物処理トマト茎におけるトマチン量をHPLCで測定した。

3. 供試鉄化合物のエリシター活性の確認

供試した3種の鉄化合物のエリシター活性を確認するため、ジャガイモ品種メークインを用いて各化合物の水溶液250ppmを上記方法と同様に500gのジャガイモスライス（2 cm角）に噴霧処理してリシチン合成を誘導した。また、対照区として脱塩水を同様にジャガイモに処理した。

誘導処理後、上記方法と同様に酢酸エチル層を分画し、それを分取シリカゲルTLCで精製した。抽出物を減圧

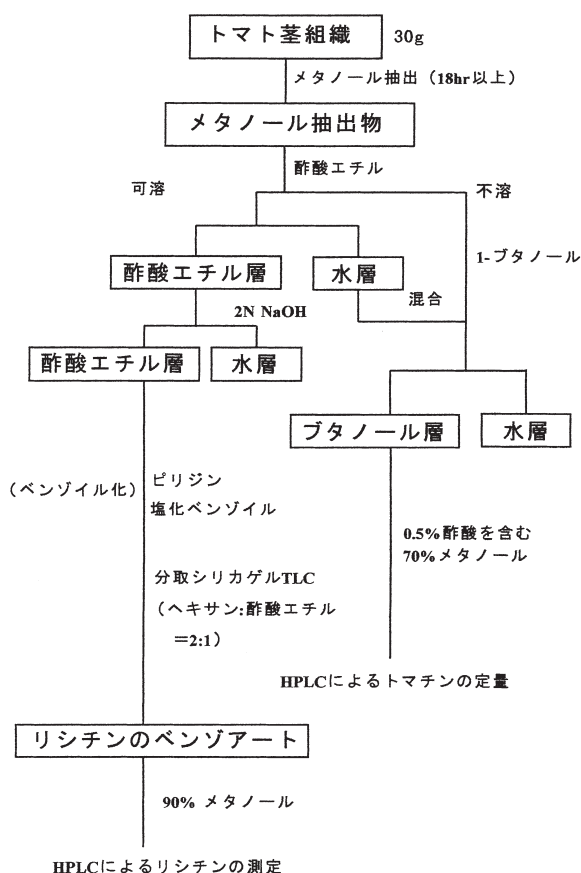


図4 トマト下胚軸組織からのリシチンとトマチンの抽出法

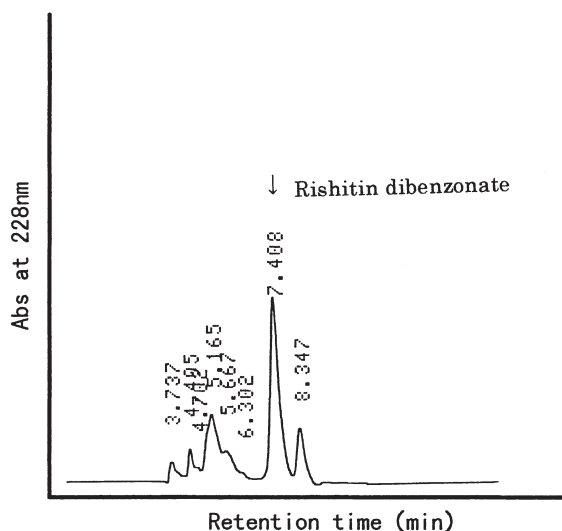


図5 リシチンベンゾイル化合物のHPLCクロマトグラム

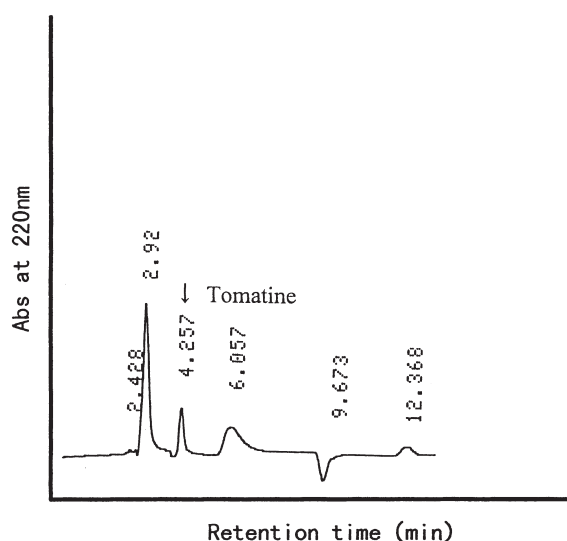


図6 トマチン（標品）のHPLCクロマトグラム

濃縮後、クロロホルムに転溶し同様にベンゾイル化を行い、クロロホルムを3回添加しながら窒素ガスで溶媒を留去した。その後同様に分取TLCでリシチンのベンゾイル化合物を得た。

鉄化合物処理ジャガイモにおけるリシチンのHPLCによる測定：過酸化水素水を処理したジャガイモから得られたリシチンのベンゾアートを標品として、HPLCによる測定（カラム：関東化学株式会社 Mightysil RP-4 GP 150-4.6, 検出器：UV吸収, 測定波長：228nm, 流速：0.5ml/min, 溶媒：90%メタノール）を行った。すなわち標品を1.0mlの90%メタノールに溶解して2 μ l注入後、上記条件下で測定を行い、これを基準とした。その後、同様の溶媒1 mlに鉄化合物処理ジャガイモから得られたリシチンのベンゾアートを溶解し、HPLCを行った。なお、サンプルが微量であったため定量は行えず、鉄ミョウバン処理区と水処理対照区のリシチンのチャート面積の比からエリシター活性を判定した。

結 果

過酸化水素処理ジャガイモからのリシチンの単離

ジャガイモ塊茎を2 cm角のスライスとしてリシチン合成を誘導し酢酸エチルで抽出を行った。酢酸エチル抽出物を分取シリカゲルTLC及び分取ODS-TLCで精製した結果0.7mgの抽出物が得られた。この抽出物を ^1H -

NMRスペクトルによって構造解析したところ、図7に示すスペクトルデータが得られた。そこで、リシチンが示す ^1H -NMRスペクトルのシグナルの文献値〔 δ 1.14 (14-CH₃, d), 1.75 (13-CH₃, s), 3.18 (3-H, t), 3.63 (2-H, br. dd), 4.64 (12-H, br. s), 4.74 (12-H, br. s)] (Afzal, 1986) と比較した結果、この抽出物がリシチンであることが確認された。

リシチンの検出感度を上げる目的で、リシチンをベンゾイル化し、 ^1H -NMRスペクトルによる構造解析により確認した（図8）。

鉄化合物処理トマト茎におけるリシチンの検出

鉄化合物処理トマト茎と水処理対照区のトマト茎におけるリシチンの含有量を比較した結果を表1.に示した。

鉄ミョウバン処理区においては、水処理対照区に比べ処理直後（0日目）で水処理対照区の2倍以上であったが、1日目にはわずかに減少し2倍弱のリシチン量となった。しかし、2日目にはリシチン量は水処理対照区と同等となり、処理後日数の経過とともに次第に減少する傾向が見られた。

塩化鉄処理区においては、処理直後（0日目）で対照区の4倍以上のリシチンが検出された。処理後1日目ではリシチン量は次第に減少したがそれでも3倍を超えた。しかし、処理2日目には鉄ミョウバン処理区と同様にその量ははだいに減少し、水処理対照区とほぼ同量の1.1倍となった。

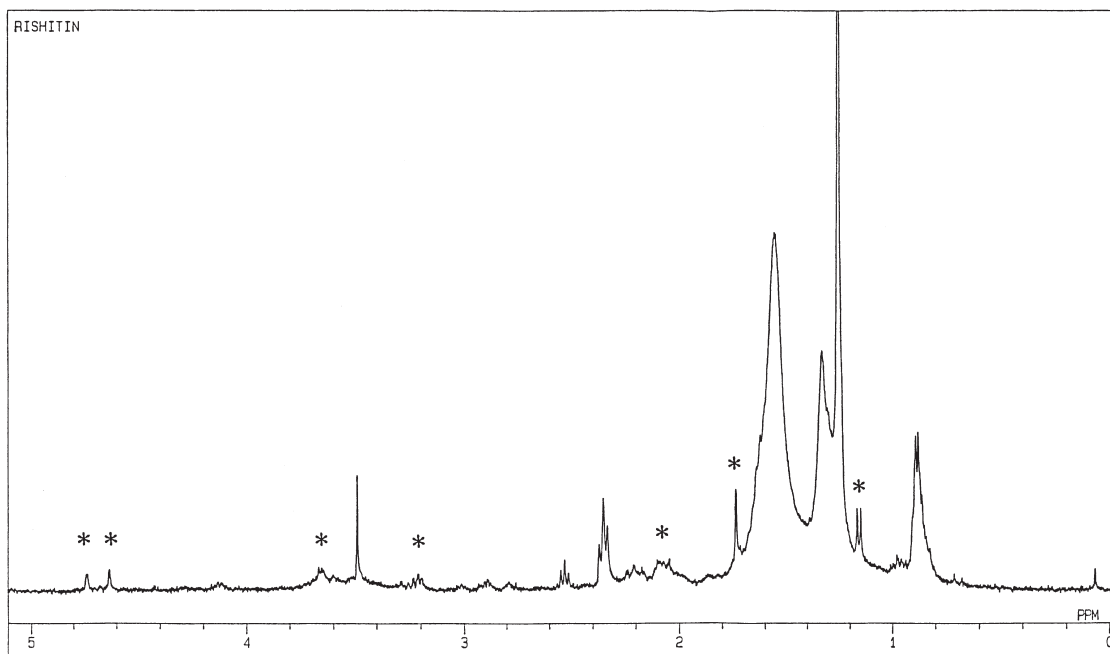
モール塩処理区においては、処理直後（0日目）で対照区の3倍以上、1日目では2.5倍量のリシチンが検出された。しかし、処理後2日目には他の2鉄化合物処理区が水処理対照区と同等程度に減少したのに対してむしろ

表1. 鉄化合物処理トマト下胚軸組織におけるリシチンの蓄積

処 理 区	処理直後 (0日目)	処理後 1日目	処理後 2日目
蒸 留 水	1.0	0.9 ^{a)}	— ^{b)}
鉄ミョウバン	2.2	1.9	1.0
塩 化 鉄	4.2	3.1	1.1
モ ー ル 鉄	3.1	2.5	6.7

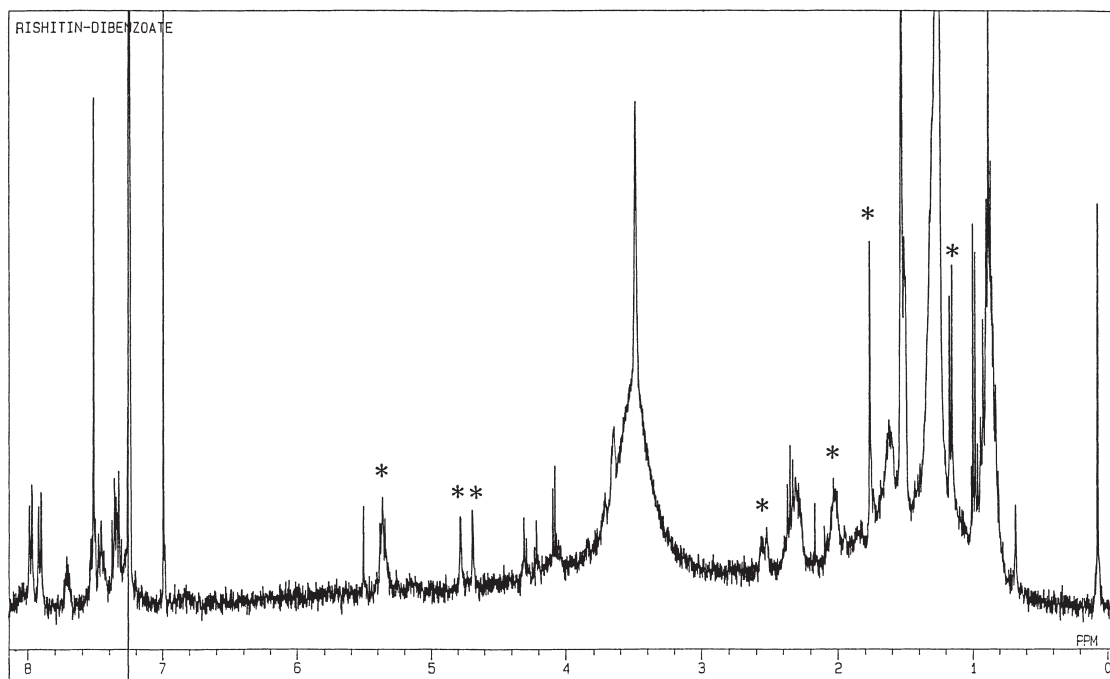
a)：処理直後を1.0としたHPLCチャートの面積比で示した。

b)：調査しなかった。



* リシチンが示すピーク

図7 過酸化水素水処理ジャガイモ塊茎より抽出したリシチンの ^1H -NMRスペクトラム (400MHz, CDCl_3)



* リシチンのベンゾアートが示すピーク

図8 リシチンベンゾワートの ^1H -NMRスペクトラム (400MHz, CDCl_3)

増加し、6倍を超えた。

また、水処理対照区の処理直後（0日目）と1日目のリシチン蓄積量を比較したところ、処理後1日目では処理直後より約10%減少することが確認された。

鉄化合物処理トマト茎におけるトマチンの検出

次に、鉄化合物処理トマト茎におけるトマチンを定量した結果を表2に示した。

鉄ミョウバン処理区では、処理直後で110 $\mu\text{g/g}$ 生茎、1日目で94.5 $\mu\text{g/g}$ 生茎、2日目で62.0 $\mu\text{g/g}$ 生茎と処理後日数が経過するにつれてしだいに減少する傾向が見られた。

塩化鉄処理区では処理直後（0日目）に106 $\mu\text{g/g}$ 生茎、1日目に105 $\mu\text{g/g}$ 生茎、2日目には急激に減少し43.3 $\mu\text{g/g}$ 生茎となった。

また、モール塩では処理直後で213 $\mu\text{g/g}$ 生茎、1日目で151 $\mu\text{g/g}$ 生茎、2日目では減少し62.0 $\mu\text{g/g}$ 生茎となった。

なお、水処理対照区では処理直後で86.0 $\mu\text{g/g}$ 生茎、1日目で72.2 $\mu\text{g/g}$ 生茎、2日目には66.7 $\mu\text{g/g}$ 生茎のトマチンが検出され、いずれの処理区でも処理直後より、処理後日数が経過するにつれてトマチン量が減少する傾向が見られた。このようにトマチンは処理後1日目までは水対照区よりも蓄積量が多かったが、2日目には同等かもしくは少なくなった。

鉄化合物のエリシター活性の検定

市販の3種の鉄化合物を処理したジャガイモ塊茎スライスから抽出されたリシチンをベンゾイル化して得られたリシチンのベンゾアートをHPLCで測定し、対照区として用いた水処理の結果と比較した結果を表3に示した。

表2. 鉄化合物処理トマト下胚軸組織におけるトマチンの蓄積

処 理 区	処理直後 0日目	処理後 1日目	処理後 2日目
蒸 留 水	86.0 ^{*)}	72.2	66.7
鉄 ミ ヨ ウ バ ン	110.0	94.5	62.0
塩 化 鉄	106.0	105.0	43.3
モ ー ル 鉄	213.0	151.0	66.0

*)： $\mu\text{g/g}$ 生茎重

処理48時間目では鉄ミョウバン処理区で対照区の1.5倍、塩化鉄で2.4倍、モール鉄で4.8倍のリシチンが検出された。以上から本試験で用いた3種の鉄化合物には共通してエリシター活性があることが明らかになった。化合物間ではモール鉄が最も強い活性を示す傾向が見られた。

表3. 供試鉄化合物のエリシター活性

処理化合物	リシチン蓄積 (倍) ^{*)}
鉄 ミ ヨ ウ バ ン	1.5
塩 化 鉄	2.4
モ ー ル 鉄	4.8

*)：蒸留水処理区を1.0としたHPLCチャートの面積比で示した。

考 察

トマトの幼苗の根に鉄化合物水溶液を浸漬処理すると、青枯病の発病抑制が認められる。そのメカニズムの一つとして、鉄化合物処理により侵入した病原細菌の増殖の場となるトマト下胚軸組織にファイトアレキシンや抗菌活性成分であるトマチンなどの合成・蓄積が誘導される可能性が考えられ、それを確認するため本試験を行った。

まずリシチンは市販品が存在しないため、標品を得る目的でジャガイモ塊茎に非生物のエリシターとして知られる過酸化水素水を処理し、リシチンの抽出を試みた。その結果、ジャガイモの塊茎からリシチンを単離することができたが、その量が少なかったため検出感度を高める目的で、ベンゾイル化してリシチンの検出を行った。

次にトマト幼植物の根に鉄化合物水溶液を浸漬処理し、下胚軸組織におけるリシチンとトマチンの検出を試みた。その結果リシチンは、処理直後（0日目）には水処理対照区に比べ鉄ミョウバン処理区で2.2倍、塩化鉄処理区では4.4倍、モール塩処理区では2.4倍の蓄積が検出された。処理後1日目では、鉄ミョウバン、塩化鉄、モール鉄のすべての化合物処理区とも、蓄積量が減少する傾向が認められ、この傾向は、鉄ミョウバン、塩化鉄処理区の2化合物処理区では2日目も続いた。しかし、モール鉄処理区では、これらの化合物処理区とは異なりかえって増加する結果となった。この理由は不明であり、今後さらに検討を要する。

一方、トマチンは市販のトマチンを用いて検量線を作

成し定量を行った。その結果、いずれの鉄化合物処理区においても、水処理対照区よりトマチンの蓄積増が認められた。また、全ての区で処理直後（0日目）が最もトマチン量が多かったが、処理後1日目になるとトマチン量が減少する傾向が見られ、2日目には水処理対照区と同等かそれ以下になる傾向がみられた。

以上の結果から、トマトの根に鉄化合物水溶液を処理することにより、トマトの下胚軸組織でリシチン及びトマチンが水処理対照区に比べ量的に多く合成・蓄積されることが確認された。また、その量から、処理終了直後のきわめて早い段階からファイトアレキシンや抗菌物質の誘導・合成が行われていることを示唆している。しかし、リシチンは体内で別の化合物に変換されるとされるため、しだいに減少することも想像される結果である。ただし、本実験で抽出されたリシチンが実際に本病菌の増殖抑制作用を持つ濃度であるかは定かではなく、*in vitro*での試験を行う必要があると思われる。トマチンに関しては、Arwiyant *et al.* (1993) は、*in vitro*で培地当たり100 μ gのトマチンの濃度処理で本病菌に対して阻止帯が形成されるとされている。本実験では処理直後にはその値以上のトマチンの蓄積が認められたことから、処理トマトの茎内における青枯病細菌の増殖抑制作用と何らかの関係があると考えられる。以上のことから、鉄化合物処理により下胚軸に合成蓄積された抗菌物質が直接または間接的に本病菌の増殖抑制に重要な影響を与え、本病の発病開始時期を遅らせる原因となるものと推察される。

鉄化合物が示す病害抵抗性誘導作用を今後実用化するための基礎的なデータを得るために、ジャガイモ塊茎組織に3種鉄化合物の水溶液を処理し、鉄化合物の非生物のエリシターとしての位置づけを検討した。その結果、用いた鉄化合物の種類により検出されたリシチン量に差が見られたものの、いずれの鉄化合物水溶液とも共通してエリシター活性を持つことが確認された。これまで鉄化合物は非生物のエリシターとして必ずしも認識されてこなかったが、本試験により鉄化合物もその範疇に入ることが明らかとなった。

供試した鉄化合物の種類により検出されるリシチン量に差が見られ、水処理対照区に比較して処理48時間目で鉄ミョウバン処理により約1.5倍、塩化鉄で2.4倍、モール鉄で4.8倍量のリシチンが検出された。村井らの報告では過酸化水素は蒸留水より2倍以上のエリシター活性

を持っていると報告されている^{36, 38)}。このことからすると、塩化鉄、モール鉄の2化合物は過酸化水素よりエリシター活性が高い可能性があることも明らかとなった。また、トマトに処理した場合の処理後の時間経過とリシチン量の変動については、用いた化学物質により異なり、特にモール鉄では他の2化合物が急激に低下するのに比較して、かえって増加するなど特異的な傾向が見られた。今後、モール鉄のこの特徴を生かして抵抗性誘導剤への利用などの可能性も考えられ、さらに詳細に検討する必要があると思われる。

摘 要

これまでの研究により鉄化合物水溶液をトマトの根に浸漬処理を行うと青枯病に対する発病抑制が見られることを明らかにした。本研究では、そのメカニズムを明らかにする目的で、鉄化合物水溶液を処理したトマトにおけるナス科植物のファイトアレキシンであるリシチンとトマトの抵抗性にかかわる抗菌物質の一つであるトマチンの検出を試みた。市販の3種の鉄化合物水溶液（250ppm）をポット栽培した5～6葉期のトマト根に処理し、下胚軸のリシチンの蓄積量を調べた結果、両化合物が水処理対照区に比較して増加した。特に、処理直後（0日目）の蓄積量が多く、3化合物のうち鉄ミョウバン、塩化鉄の2化合物処理トマトでは処理後の日が経過するにつれしだいに減少する傾向が見られた。しかし、残りのモール鉄では処理終了2日目にむしろ増加した。トマチンもリシチンと同様に処理直後（0日目）の蓄積量が多かったが、34いずれの化合物処理区でも処理後の日が経過するにつれしだいに減少する傾向が見られ、2日目には水処理区のそれと同等になった。以上の結果から、鉄化合物処理をしたトマトで認められる青枯病発病抑制は、トマト下胚軸内にいてファイトアレキシンであるリシチンやトマチンなどの抗菌性物質の蓄積などを含む複数の抵抗性反応が誘導されることで、トマト下胚軸内における本病菌の初期増殖を抑制し、発病開始期の遅延や病勢軽減などの現象が起きると推察された。また、供試鉄化合物の水溶液をジャガイモ塊茎の切片に処理し、塊茎中のリシチンの合成蓄積の量を指標としての鉄化合物のエリシター活性の程度を検討した。その結果、いずれの鉄化合物もエリシター活性が認められたが、化合物の種類によりその程度に差が見られ、3種の化合物のな

かでモール鉄のエリシター活性が特に高い傾向が認められた。

引用文献

- 1) Afzal, M. and Al-Oriquat, G. (1986). ^{13}C -and proton-MNR of sesquiterpenoid and related phytoalexin. HETROCYCLES 24 : 2943-2961.
- 2) 赤塚伊巳・児玉 治 (1977). イネのファイトアレキシンー化学構造, 生合成, 動的防御機構ー.植物病害の化学: 講談社, 東京, pp.156-164.
- 3) Amemiya, Y., Yamaguchi, K., Hirano, K. and Jida, W. (1986). Suppression of Fusarium wilt of tomato by use of cross protection. Technical bulletin, Faculty of Horticulture, Ciba University : 37, 79-83.
- 4) Awiyant, T., Sakata, K., Goto, M., Tsuyumu, S. and Takikawa, Y. (1993). Induction of tomatine in tomato plant by an avirulent strain of *Pseudomonas solanacearum*. Ann. Phytopathol. Soc. Japan 60 : 421-430.
- 5) Bostok, R. M., Laine, R. A. and Kuc, J. A. (1982). Factors affecting the elicitation of sesquiterpenoid phytoalexin accumulation by eicosapentaenoic and arachidonic acids in potato. Plant Physiology 70 : 1417-1424.
- 6) Defago, G., Kern, H. and Sedlar, L. (1983). Genetic analysis of tomatine insensitivity, sterol content and pathogenicity for green tomato fruits in mutants of *Fusarium solani*. Physiol. Plant Pathol. 22 : 39-43.
- 7) 藤田雅一 (1996). 鉄化合物処理によるトマト青枯病発病抑制効果に関する研究. 山形大学大学院農学研究科修士論文.
- 8) 古川勝弘 (1990). 鶴岡市黄金管内における青枯病に関する研究. 山形大学農学部卒業論文.
- 9) Monden, T., Toida, T., Nakamura, H., Sato, N. and Murai, A. (1995). Isolation of an endogenous elicitor induced by hydrogen peroxide from potato. Chemistry Letters. 173-174.
- 10) Murai, A., Yoshizawa, T., Toida, T., Sato, M., Moden, T. and Masamune, T. (1995). Hydrogen peroxide as a dynamic trigger for phytoalexin production. Chemistry Letters. 171-172.
- 11) 生井恒雄・藤田雅一・富樫二郎 (1997). 鉄化合物処理によるトマト青枯病の発病抑制. 山形大学紀要(農学) 12 : 407-412.
- 12) 生井恒雄・上田朋法 (2004). 鉄化合物処理トマト下胚軸におけるトマト青枯病菌の消長と植物病害抵抗性関連酵素POX, LOX活性の経日的変化. 山形大学紀要(農学) 14 : 95-103.
- 13) 大内成志 (1991). 感染生理学と学術的課題, 植物感染生理学の進歩, 植物病理学会, 名古屋, pp. 217-226.
- 14) Pegg, G. F. and Woodward, S. (1986). Synthesis and metabolism of a α -tomatine tomato isolines in relation to resistance of *Verticillium albo-atrum*. Physhiol. Mol. Plant Pathol. 33 : 33-46.
- 15) 佐藤正広 (1991). トマト青枯病の増殖に及ぼす鉄塩の影響. 山形大学農学部卒業論文.
- 16) Suleman, P., Tohamy, A. M., Seleh, A. A. and Madkour, M. A. (1996). Variation in sensitivity to tomatine and rishitin among isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and strain not pathogenic on tomato. Physhiol. Mol. Plant Pathol. 48 : 131-144.
- 17) Takagi, K., Toyoda, M., Shimizu, M., Satoh, T. and Saito, Y. (1994). Determination of tomatine in food by liquid chromatography after derivatization. J. Chromatogr. 659 : 127-131.
- 18) 富山宏平 (1976). 異常と正常へー感染植物における過敏反応の生化学ー. 化学と生物 12 : 778-782.
- 19) Woodward, S. and Pegg, G. F. (1986). Rishitin accumulation elicited in resistant and susceptible isolines tomato by mycelial extract and filtrates from culture of *Verticillium albo-atrum*. Physhiol. Mol. Plant Pathol. 29 : 337-347.