

日本ナシ黒はん病菌(*Alternaria kikuchiana* Tanaka)に対する抵抗性に関する研究(第10報)

誌名	園藝學會雜誌
ISSN	00137626
著者	大川, 勝徳 鳥潟, 博高
巻/号	41巻2号
掲載ページ	p. 119-126
発行年月	1972年6月

日本ナシ黒はん病菌 (*Alternaria kikuchiana* TANAKA) に対する抵抗性に関する研究 (第10報)

日本ナシに含まれるフェノール性物質と菌の産出する
品種選択性毒物質による葉のかつ変との関係

大川勝徳・鳥潟博高
(名古屋大学農学部)

Studies on Resistance of Japanese Pear to Black Spot Disease Fungus
(*Alternaria kikuchiana* TANAKA).

X. Relationship between Phenolic Compounds Contained in
Japanese Pear and Brown of the Leaf with Host-Specific
Toxin produced by Fungus.

Masanori OHKAWA and Hirotaka TORIKATA
Faculty of Agriculture, University of Nagoya, Chikusa, Nagoya

Summary

Phenolic compounds were separated with chromatographical and chemical techniques from extracts of Japanese pear tissue. And they were identified as arbutin, chlorogenic acid, chlorogenic acid isomers, caffeic acid, quinic acid, catechin and its isomer.

The young leaf contained more amount of arbutin, caffeic acid and quinic acid than old one, but did not contain catechins. Much amount of chlorogenic acids were contained in the leaf without any distinction of its age.

Infecting with host-specific toxin produced by the fungus, the young leaf of susceptible variety (Nijusseiki) has been browned at a short time and decreased the content of arbutin and chlorogenic acid. On the other hand, the young leaf of resistant variety (Chōjūrō) remained green upon the same product treatment and no effect on the content of those phenolic compounds.

Reacting the phenolic compounds with polyphenol oxidase extracted from the young leaf of susceptible variety, arbutin and chlorogenic acid were oxidized and browned immediately.

So from above results, authors believed that arbutin and chlorogenic acid may have close contact with brown of the leaf infected with that metabolic product.

緒言

フェノール性物質の存在ならびに含量変化と病害抵抗性との関係に言及した研究は Walker らをはじめとして数多くあり、さらにフェノール類に關与する酵素と抵抗性についても研究がなされている(6, 26).

西洋ナシに含まれるフェノール性物質はクロロゲン酸類やアルブチンなど6種類あり、その他ケルセチンやケンフェロールにグルコースやアラビノースなどをもつ配糖体が数種見出されている(27)。日本ナシの場合、含

まれているフェノール性物質についての研究はほとんどなく、刈米らが葉にアルブチンの存在することを報告しているにすぎない(12)。

西洋ナシの場合、火傷病の抵抗因子が抵抗性品種に含まれるとの報告があり(13)、さらにこの火傷病の抵抗要因はアルブチンのアグリコンであるヒドロキノンであるとしている(11, 23)。

本研究はまず日本ナシの葉に含まれているフェノール性物質を明らかにし、さらに日本ナシ黒はん病菌の代謝産物で品種選択性毒物質である K-III によるフェノール

1971年9月16日受理

性物質の含量変化を調べ、フェノール性物質と K-III との関係を明らかにする目的で行なつた。

ナシに含まれるフェノール性物質について

本実験は健全なナシに含まれるフェノール性物質の種類、品種間および age による含量変化を明らかにする目的で行なつた。

実験材料 実験材料として二十世紀の葉および幼果、長十郎の葉を用いた。供試葉は展開直後の極幼葉、幼葉、成葉および老葉である。

実験方法および結果 材料を 70%

メタノールで抽出し、抽出液をロータリーエバポレーター (50°C 以下) で濃縮した。濃縮液をセライトを通じてろ過し、クロロフィルを除去した後、東洋ろ紙 No. 51-A に定量吸着させ、つぎの溶媒で展開した。

第 1 次=ブタノール：酢酸：水 (4:1:5 v/v)

第 2 次=酢酸：水 (6:94 または 15:85 v/v)

検出は UV (366 mμ), アンモニア性硝酸銀 (6N アンモニア:1% 硝酸銀=1:1v/v), 硝酸銀飽和硝酸銀水溶液 (0.1 ml にアセトンを加え 20 ml とする。硝酸銀の沈殿を溶解するため数滴の水を滴下する。ついで展開したろ紙をそれに浸し、乾燥した後、0.5% 水酸化ナトリウムのアルコール溶液を噴霧する), Pauly 試薬(7), アンモニアおよび 1% 水酸化ナトリウムなどである。

二十世紀および長十郎の葉から得られたメタノール抽出物のペーパークロマトグラムを第 1 図に示した。

すなわち 14 個のスポットを認めた。ま

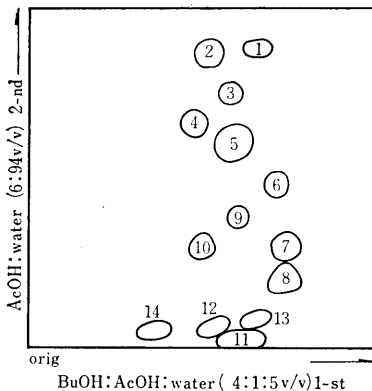


Fig. 1. Paper chromatogram of methanol fraction extracted from Japanese pear leaves.

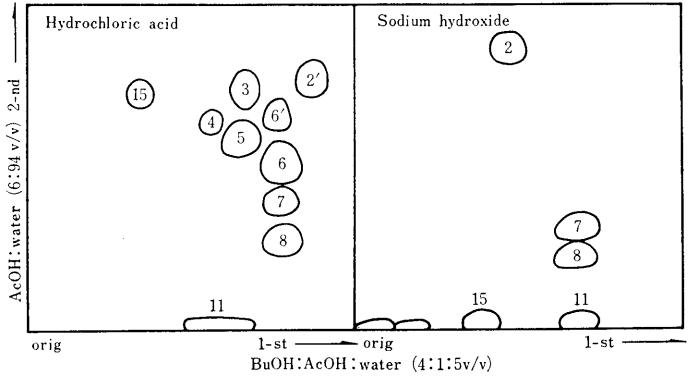


Fig. 2. Paper chromatograms of methanol extract treated with hydrochloric acid and sodium hydroxide.

たメタノール抽出物を塩酸および水酸化ナトリウムで分解したもののペーパークロマトグラムを第 2 図に示した。ついで 14 個のスポットの Rf 値, 各種試薬による反応を第 1 表に, また二十世紀および長十郎の各葉令中, ならびに二十世紀幼葉中に含まれる各スポット量を第 2 表に示した。すなわちスポット-1 および 2 は Pauly 試薬によつて赤色を呈し, ほかのスポットと容易に区別できた。スポット-3, 4 および 5 は呈色反応および UV から, とともに関連化合物と思われた。スポット-9 および 10 はともに Pauly 試薬で淡黄色を呈し, また塩酸パニンによりピンク色を呈したことから両者は関連化合物と思われた。これらのスポットのうちで主成分はスポット-2, 5, 7, 8, 11, 12 および 14 でとくにスポット-2, 5, 7

Table 1. Diagram of color of each spot reacted with various reagents.

Spot No.	Rf value		UV	Reagent reaction							
	1-st	2-nd		Ag		Pauly ²⁾		NH ₃ ⁺		NaHCO ₃	
				VC ¹⁾	UV	VC	UV	VC	UV	VC	UV
1	0.67	0.88	—	DBr	—	R	R	—	—	—	—
2	0.53	0.85	—	DBr	—	R	R	—	—	—	B
3	0.60	0.78	B	Br	—	Y	BGr	YGr	YGr	Y	Br
4	0.48	0.75	B	—	—	—	—	YGr	YGr	Y	Br
5	0.60	0.66	B	Br	—	Y	BGr	YGr	YGr	Y	Br
6	0.72	0.48	B	—	—	—	—	—	BGr	—	—
7	0.75	0.31	B	Br	—	pBr	BGr	YGr	BGr	Y	BGr
8	0.75	0.21	B	Br	—	pBr	BGr	YGr	BGr	Y	BGr
9	0.61	0.38	—	—	—	pY	—	—	—	—	—
10	0.51	0.30	—	—	—	pY	—	—	—	—	—
11	0.67	0.03	B	—	BGr	—	—	YGr	YGr	—	—
12	0.53	0.05	D	Br	—	pBr	—	Y	Y	Y	Y
13	0.67	0.08	D	—	—	pBr	DGy	pY	DY	YBr	Y
14	0.37	0.05	B	—	BGr	—	—	Y	YGr	—	BGr

1) : Visible color, 2) : Diazotized sulfanilic acid.

B : Blue, Br : Brown, D : Dark, Gr : Green, Gy : Gray, p : pale, R : Red, Y : Yellow.

Table 2. Relation between each spot content and leaf age.

Spot No.	leaf age								Young fruit of Nijusseiki
	Nijusseiki				Chōjūrō				
	1	2	3	4	1	2	3	4	
1	≡	≡	+	—	≡	≡	≡	±	—
2	≡	≡	≡	+	≡	≡	≡	+	≡
3	+	+	—	—	+	+	±	—	≡
4	+	+	+	+	+	+	+	+	—
5	≡	≡	≡	+	≡	≡	≡	≡	≡
6	—	—	+	+	—	—	+	+	+
7	+	±	—	—	≡	+	—	—	+
8	≡	≡	+	+	≡	+	+	+	+
9	—	—	—	—	—	—	—	+	±
10	—	—	—	+	—	—	+	+	+
11	+	≡	≡	+	—	—	—	+	—
12	+	≡	≡	+	+	+	—	—	—
13	+	+	+	+	+	+	—	—	—
14	+	≡	≡	+	—	—	≡	≡	—

Content : ≡ > + > ± > —.

1 : very young, 2 : young, 3 : mature, 4 : old.

および8が顕著であつた。

a. スポット-1 および 2 について

メタノール抽出物を東洋ろ紙 No. 51-A につけ 酢酸：水 (6 : 94 v/v) の溶媒で展開し、スポット-1 および 2 のバンドを切り取り、ろ紙よりメタノールで抽出した。スポット-2 を分離するためろ紙からのメタノール抽出液を濃縮し、さらにブタノール：酢酸：水 (4 : 1 : 5 v/v) で展開した後、スポット-2 のバンドを切り取り、メタノールで抽出した。スポット-2 を N/1 塩酸で分解しブタノール：酢酸：水 (4 : 1 : 2 v/v) 下降法で展開し、硝酸銀、Pauly および Folin-Denis の各試薬で検出した。その結果を第 3 図に示した。なお標品としてアルブチン、グルコースおよびヒドロキノンも供した。

スポット-2 は塩酸でグルコースとヒドロキノンを分解されたこと、またスポット-2 の Rf 値、各試薬による反応テストなどからスポット-2 をアルブチンと同定した。

スポット-1 は未同定であるが、本物質は二十世紀および長十郎の葉の age が進むに従い減少した。また二十世紀幼果には存在しなかつた。

スポット-2 の場合、二十世紀および長十郎の葉ならびに二十世紀幼果のいずれでも多量に存在していた。

b. スポット-5 の分離ならびに同定とスポット-3 および 4 について

生葉 1 kg に 70% イソプロパノール 4l を供し、室温で抽出し、抽出液をろ過後ロータリーエバポレーターで 1/3 に濃縮した。濃縮液をろ過後 0°C で 24 時間

放置し、その後セライトでろ過した。ろ液を M/1 硫酸で pH 2.6 に調節した後、1l のブタノールで抽出し、抽出液を 250 ml の水で 2 回洗浄した。ついでロータリーエバポレーター (50°C 以下) で沈殿ができるまで濃縮し、さらに 1l のクロロホルムを加えた。0°C で 24 時間放置後、ろ過し淡黄色粗結晶物を得た。この粗結晶物をブタノールに溶かし、クロロホルムを加え再結晶をくり返し、白色の結晶を得た。本物質はペーパークロマトグラフィーで展開するとスポット-5 に相当し、元素分析値はつぎのとおりでクロロゲン酸類と推定した。

元 素 (%)	C	H	O
実 験 値	54.38	4.96	40.66
計 算 値	54.24	5.12	40.64

(クロロゲン酸)

またスポット-3 および 4 については種々の呈色反応、Rf 値ならびに水酸化ナトリウムと塩酸による分解などによりスポット-5 と類似していることからクロロゲン酸類と推定した。

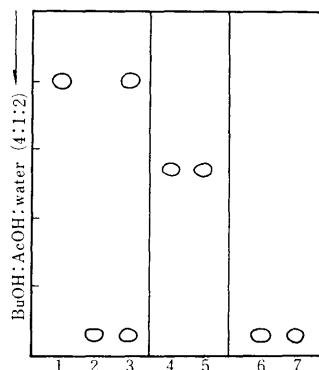
スポット-3 は二十世紀および長十郎の幼葉に存在し、age の進行にともない消失した。二十世紀幼果に存在していた。

スポット-4 は二十世紀および長十郎の幼葉に少量存在し、age が進むと含量を増した。二十世紀幼果には存在しない。

スポット-5 は二十世紀および長十郎の幼葉、二十世紀幼果ともに多量に存在していた。

c. スポット-7 および 8 について

クロロゲン酸の構成物質であるカフェイン酸とキナ酸を標品としてスポット-7 および 8 をペーパークロマト



1 : glucose, 2 : hydroquinone, 3 : methanol ext. treated with hydrochloric acid. 4 : arbutin, 5 and 7 : methanol ext., 6 : hydroquinone.

Fig. 3. Paper chromatograms of methanol extract and its extract treated with hydrochloric acid.

グラフィーで展開した結果を第4図に示した。

スポット-7は二十世紀および長十郎の幼葉に存在し、ageが進むと消失する。二十世紀幼果には少量存在する。

スポット-8は二十世紀および長十郎の幼葉に多量に存在し、その後ageが進んでもかなり存在していた。二十世紀幼果にも少量存在する。

標品のクロロゲン酸をN/1水酸化ナトリウムで分解することにより、スポット-7および8を得たこと、スポット-7および8のUVならびに各種試薬による呈色反応などから、スポット-7をカフェイン酸、スポット-8をキナ酸と推定した。

d. スポット-9および10について

生葉からのメタノール抽出物をペーパークロマトグラフィーでつぎのように分離し、スポット-9および10を得た。

まず東洋ろ紙 No. 51-A でブタノール：酢酸：水 (4 : 1 : 5 v/v) により、下降法でスポット-9および10を含むバンドを分離し切り取った。切り取つたる紙からブタノールで抽出した後、ブタノール抽出部をさらに酢酸：水 (6 : 94 v/v) で展開し、前記と同じ方法で抽出し、スポット-9および10を得た。含量はスポット-10が9より多く、本物質は塩酸パニリン試薬 (10%パニリンエタノール：濃硫酸=5 : 3 v/v) で紅色を呈し、フラバノール型タンニンと思われ、さらに標品カテキンと同時に展開した結果、スポット-9がカテキン、スポット-10はその異性体と推定した(2)。なお塩酸パニリン試薬で呈色したスポットは9および10のみであつた。これらの物質は二十世紀および長十郎ともにageの進んだ葉に存在し、また二十世紀幼果にも存在していた。

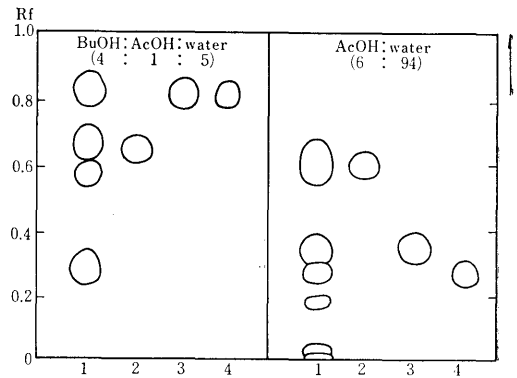
e. スポット-12および13について

これらの物質はUV下で暗かつ色を呈し、用いた溶媒のうち、第2次の溶媒ではRf値が低い。また塩酸および水酸化ナトリウムによる分解で、これらのスポットは分解した。1%炭酸水素ナトリウム噴霧による呈色は黄色でそのUVは濃黄色のけい光を発する。以上の結果からこれら物質をフラボンまたはフラボノール関連化合物と推定した。

これらの物質は二十世紀の葉の各ageに存在するが、幼果には存在しない。また長十郎では若いageに存在するが、成葉以後の葉には存在しない。

f. スポット-6, 11および14について

これら物質は未知物質である。第2図から生葉のメタノール抽出物の塩酸分解により、スポット-8が生成されるが、スポット-6はスポット-8とほぼRf値が一致



Reagent: Pauly solution

1 : extract, 2 : chlorogenic acid, 3 : caffeic acid, 4 : quinic acid.

Fig. 4. Identification of caffeic acid and quinic acid separated from leaf by paper chromatography

していることから、またUVけい光も青色であることなどから、スポット-6は他のスポットの構成成分と思われる。スポット-6は二十世紀および長十郎の両品種とも、幼葉にはなく、ageの進んだ葉に存在していた。また二十世紀幼果にも存在していた。スポット-11はUVで強い青色のけい光を呈し、アンモニア性硝酸銀試薬の噴霧後、UV下で青緑色のけい光を発し、アンモニアで黄緑色を呈した。

スポット-14はUVで強い青色のけい光を発し、アンモニア噴霧後、濃い黄色を呈した。塩酸により分解される。

スポット-11および14は二十世紀の各ageに存在したが、長十郎ではageの進んだ葉にのみ存在した。また二十世紀果実には存在していなかった。

K-IIIのフェノール性物質含量への影響

K-IIIは日本ナン黒はん病菌の代謝産物で、り病性品種の幼果、幼葉に対し、え死を起し、抵抗性品種のそれにはえ死を起さない品種選択性毒物である。

本実験は本物質をり病性品種である二十世紀の幼葉に処理し、葉に含まれるフェノール性物質の変動を調べ、K-IIIによるかつ変とフェノール性物質との関係を明らかにすることを目的とした。

実験材料および方法 K-IIIを0.4%炭酸水素ナトリウムに溶かし、濃度を1,000 ppmに調節した。供試葉は二十世紀および長十郎の幼葉で1区につき生葉3gを供した。

処理時間は14および18時間で、処理後前記と同じ条件でペーパークロマトグラフィーを行ない、呈色反応か

Table 3. Effect of host-specific metabolic product on content of each spot.

Spot No.	Nijusseiki				Chōjūrō				Compound		
	0 hr	14 hr		18 hr		0 hr	14 hr			18 hr	
		T	C	T	C		T	C		T	C
1	卍	卍	卍	一	卍	卍	卍	卍	卍	卍	?
2	卍	卍	卍	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍	arbutin
3	卍	卍	卍	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍	chlorogenic acid isomer
4	±	+	+	一	±	±	±	一	+	+	band-510
5	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	chlorogenic acid
6	±	±	±	一	一	±	+	+	+	+	?
7	卍	卍	卍	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍	caffeic acid
8	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	quinic acid
9	±	一	一	一	一	±	一	+	+	+	catechin
10	±	+	+	一	卍	一	一	一	一	一	catechin isomer
11	卍	卍	卍	卍	卍	一	+	+	+	卍	?
12	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	flavone or flavanone
13	卍	卍	卍	卍	卍	+	+	+	+	+	
14	+	+	+	卍	+	一	一	一	一	+	?

C : control, T : treatment, content : 卍 > 卍 > + > ± > 一.

ら含量を一 < + < 卍 < 卍 におけ含量を比較した。

実験結果 実験結果を第3表に示した。

すなわち二十世紀処理後 14 時間では処理区，対照区ともほとんど含量変化が認められなかつた。しかし処理区の葉ではえ死反応の徴候がわずかに認められた。処理後 18 時間で，処理区は対照区と比較して含量の差が認められた。すなわちアルブチン類ではスポット-1 が対照区の卍に対して処理区で一を示し，スポット-2 は対照区の卍に対し処理区で+を示し，いずれも減少した。クロロゲン酸類ではスポット-3, 4 および 5 が対照区の卍，卍，卍に対し処理区でそれぞれ+，一，卍を示し，減少した。

コーヒー酸およびキナ酸では対照区の卍および卍に対してそれぞれ±および卍を示した。カテキン類ではスポット-10 は処理対照区とも一で，スポット-11 は対照区の卍に対して処理区で一を示した。フラボン又はフラバノン類では処理および対照両区に差が認められなかつた。未知物質のうち，スポット-6 は処理と対照両区に差を認められず，スポット-11 でも同様に差を認められなかつた。

スポット-14 では対照区の+に対して処理区で卍を示し，増加した。

長十郎の場合，処理後 14 および 18 時間の両区とも，処理区は対照区と比較して差がなかつた。

二十世紀の幼葉と果実はともにナン黒はん病菌に犯されること，また K-III によつて，ともにかつ変することはすでに述べた (17)。一方第 2 表の結果から両者に共通するフェノール性物質はアルブチン (スポット-2)，

クロロゲン酸類，コーヒー酸およびキナ酸，カテキン (スポット-10) である。とくに幼果でもアルブチンとクロロゲン酸類がフェノール性物質の主成分であつた。第 3 表より，アルブチンおよびクロロゲン酸類の含量は二十世紀幼葉で K-III により著しく減少した。

Polyphenol oxidase によるアルブチンおよびクロロゲン酸のかつ変
 ナンの葉に含まれる主要なフェノール性物質として，アルブチンおよびクロロゲン酸があり，さらにクロロゲン酸の分解物であるコーヒー酸とキナ酸，およびカテキン類も存在することが判明した。

そしてこれらのフェノール性物質は前記の結果から K-III 物質によつて葉のかつ変の基質になるものと考えられることから，本実験はアルブチンおよびクロロゲン酸が葉から抽出した polyphenol oxidase によつてかつ変するかどうかを明らかにする目的で行なつた。

実験材料および方法 二十世紀幼葉を 30 分間，0°C で予措した後，3g (生葉) を M/30 リン酸緩衝液 (pH 6.7) 50 ml でホモゲナイズし，ガーゼ 4 枚でろ過した。ついでろ液を 13,000 rpm × 20 sec 遠心分離し，その上澄液を 50 ml に定容後粗酵素として供試した。

基質はアルブチン (半井化学 K. K.) および先にナン葉から分離し，精製したクロロゲン酸 (スポット-5) である。アルブチンを基質としたかつ変反応では M/100 アルブチンに粗酵素 0.2 ml を加えた。またクロロゲン酸を基質としたかつ変反応では 3mM クロロゲン酸に 0.1 ml の粗酵素を加えた。対照区として粗酵素を加熱処理したものを供した。30°C，暗黒下で静置した後，5，10 および 15 分後に取り出し，メタノール 2 ml を加えて反応を停止させた。ついでアルブチンの場合には 380 mμ，クロロゲン酸の場合 420 mμ の波長で吸光度を測定した。

実験結果

Polyphenol oxidase によるアルブチンおよびクロロゲン酸のかつ変を第 5 図に示した。

すなわちアルブチンの場合，処理後 5，10 および 15 分で透過率はそれぞれ 91.5，81.0 および 57% であつた。一方クロロゲン酸の場合，処理後 5，10 および 15 分で各各 57.0，28.8 および 20.0% を示し，アルブチ

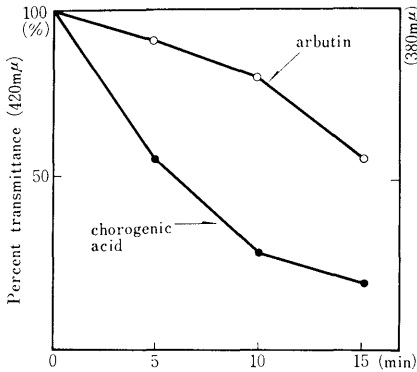


Fig. 5. Degrees of brown of chlorogenic acid and arbutin reacted with polyphenol oxidase.

ンよりもクロロゲン酸の方が高いかつ変度を示した。

以上の結果から、アルブチンおよびクロロゲン酸はともにナシの葉の polyphenol oxidase のかつ変基質となることが明らかとなった。

考察および結論

植物病原菌に対する抵抗の要因として、植物に含まれるフェノール性物質に関する研究は大別するとつぎの2つになる。まずフェノール含量が多く、この物質が病原菌の発芽や侵入を阻止し、結果的に抵抗性を発揮する。

すなわち、Walker らは黄色タマネギの *Colletotrichum circinans* に抵抗性として、タマネギに含まれるフラボン類、アントシアニン類およびカテコールなどのフェノールが抵抗因子となつていると報告している(26)。

他方、健全な植物では抵抗、り病両品種間にフェノール含量の差がなくとも、病原菌の侵入直後にフェノール代謝が高まり、結果的に抵抗性を発揮する場合がある。すなわち、Lee らはジャガイモの *Verticillium wilt* に対する抵抗性について、抵抗性品種では菌の侵入にともないクロロゲン酸の含量が高まり、結果的に菌による感染は阻害されると報告している(15)。ジャガイモの *Verticillium wilt* に関する研究はその後 McLean, Patil によつても行なわれ、クロロゲン酸と抵抗性との関係が論ぜられている(16, 18)。そして Patil により抵抗性品種はフェノール類を合成する能力の大きいことが菌への抵抗性と結びついているとしている(19)。

日本ナシの場合、黒はん病菌に抵抗性品種である長十郎とり病性品種である二十世紀とはフェノール性物質のパターンが同一であり、その含量についてもほぼ差がないものと思われた。また K-III 物質処理により、抵抗性品種の特定のフェノールの含量が増すことはない。したがつてフェノール物質の存否ならびに含量差により抵抗

性を説明できないものと思われた。

つぎに本実験により存在を認められた各フェノールについて述べる。

アルブチンは西洋ナシや日本ナシの果実や葉からすて Durkee や刈米らにより分離され(4, 12), *Pyrus* 属の特徴のひとつとして考えられている(27)。また Durkee らによると西洋ナシの未熟果実にはより多くのアルブチンならびにその誘導体が含まれていると報告されている(4)。

アルブチンは β -glucosidase により加水分解され、1分子のグルコースとヒドロキノンとをそれぞれ生ずる。分解物であるヒドロキノンは植物病原菌の抵抗因子と考えられている研究がある。西洋ナシの火傷病(*Erwinia amylovora*)の場合、Keil らにより抵抗性品種の組織の抽出物から菌の生長を抑制する物質の存在が報告され(13)、さらに Hildebrand らにより抵抗部位では β -glucosidase 活性が高く、またヒドロキノン含量も多いとしている(9, 10, 11)。

同様な結果を Smale も報告している(23)。

日本ナシの場合、アルブチンは若葉から成葉までは多量に含まれ、二十世紀幼果にも含まれている。

ヒドロキノンは健全な組織に遊離型で多量に存在するとは考えがたい。すなわちヒドロキノンはその還元力の強さから生体の中毒死の原因と考えられるからである。

日本ナシの場合も本物質は主要なフェノールとしては存在しない。すなわちナシ体では遊離のヒドロキノンは大部分アルブチンのような glucoside の型に turn over されるものと考えられる。

クロロゲン酸ならびにその関連化合物は Sondheimer により西洋ナシやリンゴの果実から分離されている(24)。

植物体のこれらの物質存在はコーヒー豆の成分についての研究で行なわれており、その分離、同定の詳しい研究は Barnes らおよび Sondheimer らのものがあつた(2, 24, 25)。

クロロゲン酸は1分子ずつのコーヒー酸とキナ酸から成り立つており、これら化合物と植物病原菌との抵抗性との関連について Lee の研究がある(15)。すなわち、ジャガイモの *Verticillium wilt* に対する抵抗性の要因としてクロロゲン酸含量の多いことを報告した。そして菌はクロロゲン酸を利用し、炭素源とするが、量が多いと菌の生長が抑制されるとしている。またクロロゲン酸や、コーヒー酸はジャガイモの *Helminthosporium carbonium* に対する抵抗要因として考えられている。クロロゲン酸類の植物に対する作用機作として Robiv ら

は IAA oxidase 活性の阻害を見出し (20), さらに Schwimmer は phosphorylase activity の阻害を報告している (22).

そして phosphorylase activity の阻害程度はクロロゲン酸が一番強く、ついでコーヒー酸、そしてキナ酸の順となつている。日本ナシの場合、クロロゲン酸およびその関連化合物はフェノール成分中かなりの割合をしめているが、それらの存在意義については不明であり、今後の研究に待たねばならない。

カテキン類と植物病原菌との関係について言及した報告はあまりない。カテキン類については主に茶の成分として研究された (2, 21).

カテキンの生合成を考えると、その A 環は酢酸-マロン酸経路、B 環はシキミ酸経路を経て合成される。

シキミ酸経路の前半にキナ酸やコーヒー酸があり、後半フェニルアラニンをプレカーサーとしてクロロゲン酸が合成される。そして pathway は $C_6-C_3-C_6$ 化合物の合成と結びついている。日本ナシの場合カテキン類はフェノール成分中主要なものではなく、むしろ age の進んだ時点で、他のフラボノールとともに蓄積されるものと思われる。

アルブチンやクロロゲン酸類のかつ変について論議する。

Forhne によるとユキノシタには約 3% のアルブチンが含まれるが、このアルブチンはユキノシタから抽出した polyphenol oxidase によつて酸化されると報告されている (5)。

また Hattori らによるとナシのクロロプラスト内の酵素により酸化され、二通りの経路を経て、かつ変化していくと報告している (8)。他方クロロゲン酸やカフェイン酸もジャガイモの場合かつ変の基質となることが報告されている (3)。日本ナシの二十世紀の葉の場合、K-III によつてかつ変されるが、その基質としてはアルブチンやクロロゲン酸類であることと思われた。しかし K-III 処理による二十世紀幼葉の呼吸増加はかつ変に先だち起こることから (17)、幼葉のかつ変は K-III 処理による結果的な現象と思われ、K-III の品種選択性を解明するには他の面の研究が必要であると思われた。

摘 要

1. 日本ナシの葉にはフェノール性物質として、アルブチン、クロロゲン酸、クロロゲン酸の異性体、コーヒー酸、カフェイン酸およびカテキン類の存在が認められた。
2. フェノール物質のうち主要なものはアルブチンとクロロゲン酸類であり、これら物質はナシの二十世紀幼

果にも多量に含まれていた。

3. 長十郎と二十世紀との間にはこれらフェノールパターンの差がなく、また含量の差もないものと思われた。

したがって日本ナシの黒はん病菌の抵抗性機作をフェノール性物質の存否ならびに含量変化では説明できないものと思われた。

4. フェノール性物質のうち、アルブチンやクロロゲン酸類は幼葉から成葉まで多く含み、age が進むと減少する。他方カテキン類は age が進むと含量が多くなつた。

5. K-III を二十世紀幼葉に処理し、フェノール性物質の含量変化を調べた結果、アルブチンおよびクロロゲン酸類の著しい減少が認められた。

6. アルブチンとクロロゲン酸をナシの葉から抽出した polyphenol oxidase で酸化させた結果、両物質ともかつ変した。したがってこれら両物質とも K-III による葉でのかつ変の基質となるものと考えられた。

引用文献

1. BARNES, H. M., J. R. FELDMAN and W. V. WHITE. 1950. Isochlorogenic acid. Isolation from coffee and structure studies. *J. Amer. Chem. Soc.* 72: 4178—4182.
2. BRADFIELD, A. E. and E. C. BATE-SMITH. 1950. Chromatographic behaviour and chemical structure. II. The tea catechins. *Biochem. Biophys. Acta* 441—444.
3. CHENG, R. C. and F. HANNING. 1955. Phenolic compounds in potato tissue. *Food Research* 20: 506—511.
4. DURKEE, A. B., F. B. JOHNSTON, P. A. THIVIERGE and P. A. POAPST. 1968. Arbutin and a related glucoside in immature pear fruit. *J. Food Sci.* 33: 461—463.
5. FORHNE, von D. 1964. Über die fermentative Oxydation des Arbutins in *Bergenia-Blättern*. *Planta. Med.* 12: 140—148.
6. GOODMAN, R. H., Z. KIRÁLY and M. ZAITLIN. 1967. The biochemistry and physiology of infectious plant disease p. 187—231. London.
7. 橋本庸平. 1970. 薄層クロマトグラフィー. 52—53. 東京.
8. HATTORI, S. and M. SATO. 1963. The oxydation of arbutin by isolated chloroplasts of arbutin-containing plants. *Phytochem.* 2: 385—395.
9. HILDEBRAND, D. C. and M. N. SCHROTH. 1963. Relation of arbutin-hydroquinone in pear blossoms to invasion by *E. amylovora*. *Nature* 4866: 513.
10. HILDEBRAND, D. C. and M. N. SCHROTH. 1964.

- Antibiotic activity of pear leaves against *Erwinia amylovora* and its relation to β -glucosidase. *Phytopath.* 54 : 59—63.
11. HILDEBRAND, D. C. and M. N. SCHROTH. 1964. Arbutin-hydroquinone complex in pear as a factor in fire blight development. *ibid.* 54 : 640—645.
 12. 刈米達夫, 木村雄四郎, 1923. 梨葉の成分. 薬学会誌. 43 : 247—251.
 13. KEIL, H. L. and R. A. WILSON. 1962. Inhibition of *E. amylovora* by tissues, extracts, and ash from resistant and susceptible pears. *Phytopath.* 52 : 1219.
 14. KUC, J., R. E. HENZE, A. J. ULLSTRUP and F. W. QUACKENBUSH. 1956. Chlorogenic and caffeic acids fungistatic agents produced by potatoes in response to inoculation with *Helminthosporium carbonium*. *J. Amer. Chem.* 78 : 3123—3125.
 15. LEE, S. and D. J. LE TOURNEAU. 1958. Chlorogenic acid content and *Verticillium* wilt resistance of potatoes. *Phytopath.* 48 : 268—274.
 16. MCLEAN, J. G., D. J. LE TOURNEAU and J. W. GUTHRIE. Relation of histochemical tests for phenols to *Verticillium* wilt resistance of potatoes. *Phytopath.* 51 : 84—89.
 17. 大川勝徳・鳥潟博高. 1971. 日本ナン黒斑病菌 (*Alternaria kikuchiana* TANAKA) に対する抵抗性に関する研究 (第9報) 園学雑. 40 : 207—211.
 18. PATIL, S. S., R. L. POWELSON and R. A. YOUNG. 1962. The relation of chlorogenic acid and total phenols in potato to infection by *Verticillium albo-atrum*. *Phytopath.* 52 : 364.
 19. PARIL, S. S., M. ZUCKER and A. E. DIMOND. 1966. Biosynthesis of chlorogenic acid in potato roots resistant and susceptible to *Verticillium albo-atrum*. *ibid.* 56 : 971—974.
 20. RABIN, R. S. and R. M. KLEIN. 1957. Chlorogenic acid as a competitive inhibitor of indolacetic acid oxidase. *Arch. Biochem. Biophys.* 70 : 11—15.
 21. ROBERTS, E. A. H. and D. J. WOOD. 1951. A study of the polyphenols in tea leaf by paper chromatography. *Biochem. J.* 49 : 414—422.
 22. SCHWIMMER, S. 1957. Phosphorylase inhibitor in potato separation from activator and possible relation to chlorogenic acid. *Nature* 4577 : 149—150.
 23. SMALE, B. C. and H. L. KEIL. 1966. A biochemical study of the intervarietal resistance of *Pyrus communis* to fire blight. *Phytochem.* 5 : 1113—1120.
 24. SONDEHEIMER, E. 1958. On the distribution of caffeic acid and the chlorogenic acid isomer in plants. *Arch. Biochem. Biophys.* 74 : 131—138.
 25. SONDEHEIMER, E., C. D. SZYMANSKI and J. W. CORSE. 1961. Isolation of chlorogenic acid and its isomers from coffee. *Agri. Food Chem.* 9 : 146—149.
 26. WALKER, J. C. and K. P. LINK. 1935. Toxicity of phenolic compounds to certain onion bulb parasites. *Botan. Gaz.* 96 : 468—484.
 27. WILLIAMS, A. H. 1960. Phenolics in plants in health and disease. *J. B. PRIDHAM (Ed.): pp.* 1—7. New York.