

アブラムシ抵抗性物質, DIMBOA, のコムギにおける消長

兼久勝夫・RUSTAMANI, M.A.・鄭文儀・積木久明・白神孝

Quantitative Variations of a Resistance Substance, DIMBOA, against Aphids in Wheat Varieties.

Katsuo KANEHISA, Maqsood Awan RUSTAMANI, Wen-Yi CHENG,
Hisaki TSUMUKI and Takashi SHIRAGA

Aphids sometimes severely infest wheat plants, mainly sucking phloem sap and disrupting tissues, and in a few cases act as virus vectors. There are resistant and susceptible varieties of wheat against aphids. DIMBOA (2, 4-dihydroxy-7-methoxy-1, 4-benzoxazin-3-one) is a substance causing resistance to animals including aphids. The change in the amounts of DIMBOA with growth in eight wheat varieties was estimated in 1990 and 1991.

Wheat seeds were sown at mid-November in the former year and harvested in mid-June. Aphids appeared from early April, increased with the growth of the wheat, and finally decreased with the senescence of the wheat.

Rhopalosiphum maidis appeared early in the season, *R. padi* appeared late, *Schizaphis graminum* and *Sitovion akebiae* appeared intermittently in the season. *S. graminum* appeared more frequently on wheat than barley.

DIMBOA was detected from wheat but not from barley. Gramine (N, N-dimethyl-indole-3-methanamine) was detected from barley, and is known as an important resistance substance. However gramine could not be detected in wheat. DIMBOA was found in higher amounts in young wheat, and gradually decreased with growth. A clear relationship between the aphid population and DIMBOA amounts could not be observed. However, all the wheat varieties used in this experiment seemed to have resistance against aphids. The resistance was compared with barley

susceptible lines. DIMBOA was presumed to share the property of resistance with aconitic acid in wheat.

Key words: DIMBOA content, Wheat, Aphid, Resistant variety, Susceptible variety

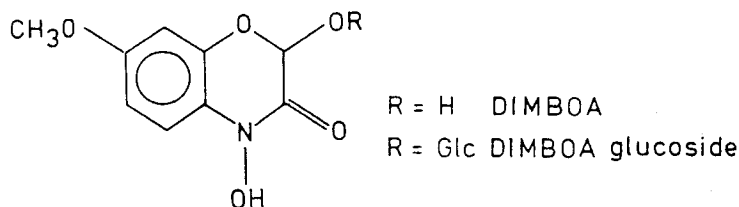
緒 言

日本の西南暖地においてはコムギは冬作物であり、最大の害虫は春期に発生の盛んなアブラムシ類である。篩管からの栄養成分の奪取、吸汁行動による植物の構造破壊、アブラムシ特有の甘露分泌によるスス病の発生から光合成阻害などがあり、ウィルス病のベクターとしても知られている (Rabbinge *et al.* 1981, 河田ら1988)。4月初めにトウモロコシアブラムシ *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) とムギミドリアブラムシ *Shizaphis graminum* (Rondani) がまず繁殖し、ついでムギクビレアブラムシ *R. padi* (Linnaeus) が繁殖する。ムギミドリアブラムシとムギヒゲナガアブラムシ *Sitobion akebie* (Shinji) は散発的に繁殖する。コムギではオオムギに比べてムギミドリアブラムシの寄生が目立ち、加害部は黄色に変色する。

岡山大学資源生物科学研究所の有する8,000余のオオムギの系統間にはアブラムシの寄生数で百倍以上の差が見られている。また、コムギも数百の系統が栽培されており、寄生に差が見られる系統がある。オオムギにおいては、抵抗性要因としてインドールアルカロイドであるグラミン (Kanehisa *et al.* 1990, Rustamani *et al.* 1992) やワックス (Tsumuki *et al.* 1989) などが報ぜられている。しかし、オオムギからは DIMBOA (2,4-dihydroxy-7methoxy-1,4-benzoxazin-3-one) は検出されていない (兼久ら1993)。一方、コムギからはグラミンは検出されず、DIMBOA が検出されて、抵抗性物質として報ぜられている (Klun *et al.* 1967, Corcuera *et al.* 1984, Niemeyer *et al.* 1988, Leszczynski *et al.* 1992, Nicol *et al.* 1992)。

DIMBOA はコムギのサビ病の胞子の発芽を抑制することが認められて (Elnaghy *et al.* 1962) 以来耐病性や耐虫性物質として注目されてきた。健全植物においてはグルコース配糖体として存在し、病原菌や害虫の被害にあってからアグルコンの DIMBOA が遊離して、作用を発揮すると報じられている (Corcuera *et al.* 1984, Leszczynski *et al.* 1990)。また、多くの禾本科植物に含有されているアコニット酸も弱いながらもアブラムシ抵抗性物質と考えられている (Rustamani *et al.* 1992)。

研究所で栽培中のコムギ品種について、寄生数に差がありそうな品種を予備的に選別し、品種間のアブラムシ寄生数と DIMBOA 含量の関係を調べ、既報のオオムギにおける抵抗性要因やアコニット酸との関係を考察した。



本実験に使用したムギ類の種子は大麦系統保存施設より分譲して頂いた。安田昭三名誉教授、武田和義教授に深謝申し上げる。また、DIMBOAの純品は北海道農業試験場の斉藤修博士から分譲して頂いた。深謝申し上げます。本研究の経費の一部は大原奨農会の奨学寄付金による。

材料および方法

コムギ 毎年11月中旬に播種し翌年6月中旬に収穫した。1988年から1990年の3年間、当研究所の遺伝制御学分野で栽培中のコムギの中から250品種について一茎当りのアブラムシの寄生数を調べて、アブラムシ指数として抵抗性か感受性を比較し、DIMBOA含量の比較を行う品種を選別した。これらについて1990年と1991年にDIMBOA含量の比較を行った。1品種につき約200茎を栽培した。

アブラムシ指数 コムギに寄生した4種のアブラムシの寄生数を数えて指数として比較した。すなわちアブラムシの寄生の見られる4月初旬から6月初旬にかけて、1週間に1回の割合で寄生数を数えて、シーズンを通じて合計し(6~7回)1茎当りに換算して、抵抗性か感受性かを比較した(Kanehisa *et al.* 1990)。

DIMBOAの抽出法 Woodward *et al.* (1978)の方法に準じた。穂から第2と3番目の葉の5gか10gを蒸留水で磨碎し、ガーゼで濾過し、0.1M塩酸でpH3として10,000gで冷却遠心分離し、上清液をとり、等量のエチルエーテルで3回分配抽出した。これを濃縮して、高速液体クロマトグラフィーで定量した。

薄層クロマトグラフィー シリカゲル(Merck 60G)を吸着剤に用いて、メタノール、クロロフォルムと酢酸(50:50:2)を展開剤として使用した。発色剤は塩化鉄溶液を使用した。即ち5gFeCl₃·6H₂Oを50mlのEtOHと0.5mlの濃塩酸の混合液に溶かし、展開し、風乾後に噴霧した。DIMBOAは濃藍色を呈した。

高速液体クロマトグラフィー 島津HPLC 5A、検出器SPD-2A、Hibarカラム(CICA Merck)を使用し、280nmで検出した。分離溶出液には0.05Mリン酸緩衝液(pH3.5)とアセトニトリルの混合液(80:20)を使用し1ml/分の送液で分離した。各純品との保持時間とピークの高さを比較して定量した。DIMBOAは10分前後に分離検出された。

DIMBOA等の経口毒性試験 オオムギ(キカイ裸)の幼苗で飼育したムギミドリアブラムシの2令幼虫を用いてCress and Chada (1971)の人工飼育液を調整し、所定の濃度のDIMBOA液を添加してパラフィルムの二重の膜内に入れ、吸汁させて生存期間の比較で毒性を調べた。オオムギにおいて抵抗性物質とされているグラミン(Kanehisa *et al.* 1990)と多くの禾本科植物で抵抗性物質とされているアコニット酸(Rustamani *et al.* 1992)との比較を行った。

結 果

1. アブラムシ指数

アブラムシ類の繁殖過程は毎年ほぼ同じであった。即ち、平均気温が10℃位になり、コムギもオオムギも急速に伸長する4月上旬に飛来し、繁殖を始めた。当初はトウモロコシアブラムシが優先種であったが4月下旬になるとムギクビレアブラムシが優先種となった。年に

よって若干の変異が見られた。ムギクビレアブラムシは5月中・下旬に急激に繁殖することがあった。このような年には、オオムギより遅く成熟するコムギは多数の寄生を受けることがあり、葉よりも穂に寄生が目だっていた。オオムギにおいて見られる100匹以上の大きなコロニーは見られなかった。

ムギミドリアブラムシはオオムギよりもコムギに多数の寄生が見られた。比較的早い時期に顕著であり、吸汁場所は黄色に変色した。しかし、30匹以上の大きなコロニーを作ることなく、分散するようであった。

Table 1. Aphid index^{a)}

Variety	No. of stem*	1989	1990	1991**	1992
Wheat					
Nourin-1	120	17.0	7.0	2.6(6.2)	
Chinkou-1	105	11.0	3.7	5.6(7.2)	7.1
Mubou-Chinshi	110	9.4	18.0	12.5(19.0)	7.9
Nakasoushu-Kinai	100	8.1	5.4	2.0(4.3)	2.7
Nourin-54	105	1.2	13.0	2.5(4.5)	3.5
Nourin-56	110	1.8	5.5	1.0(3.2)	2.1
Nourin-61	120	5.0	1.7	2.8(6.1)	2.6
Shirasagi	100		2.3	1.1(4.5)	9.8
Shiro-Emidashi	110	0.7	7.8	6.3(9.1)	
Barley					
OIJ-628(S)	155	26.0	16.0	12.1	88.0
OUL-55(S)	130	15.0	30.0	76.0	210
OUL-117(S)	100	68.0	26.0	56.0	45.0
Ouw-603(R)	200	0.7	1.9	0.21	2.6
Ouw-604(R)	200	1.2	1.0	0.77	1.2

a): number of aphids per stem, counted once a week from early April until end of May or early June

(R): resistant variety, (S): susceptible variety

*: Number of stems examined for aphid infestation, **: In 1991, *Rhopalosiphum padi* increased late in the season. Indices in parentheses are values before June 4.

Table 1 に供試したコムギ9品種、農林1号、同54号、同56号、同61号、シラサギ、白笑出、珍好1号、無芒珍子および中相州機内とオオムギの代表的な感受性および抵抗性の系統のアブラムシ指数を示す。指数は、降雨や低温等の気象要因と寄生天敵や捕食性天敵等の生物的要因のため、年次や場所による変動があった。オオムギの代表的な感受性の系統の指数が常に20~100以上であることに比べて、コムギは指数が20以上にならず、ある年に20近くであっても翌年は10以下となり、遺伝的に感受性と特定される品種は選別出来ず、対照的にコムギは全て多少の強弱はあっても抵抗性の性質を示した。

Table 2 は、栽培圃場で調査できた品種について、3年間のアブラムシ指数を区分して示している。毎年調査で指数が5以下の品種が80%以上あり、しかも、調査期間中を通じて、毎年5以上のオオムギにおいてやや感受性としている系統に相当する栽培品種はコムギには見いだされなかった。すなわち、この点においても、供試したコムギ品種はすべて抵抗性を

Table 2. Variation of aphid indices in wheat varieties

Year	Total varieties	Number of varieties				
		>1.0	1.0-3.0	3.1-5.0	5.1-10.0	10.0<
1989	206	34	105	44	13	10
1990	208	86	86	19	17	0
1991	31	5	18	5	3	0

有する品種のみであった。

2. 薄層クロマトグラフィー

コムギの酸性抽出物を薄層クロマトグラフィーによって展開し、塩化鉄で DIMBOA を染色した結果を Fig. 1 に示す。供試した品種は全て DIMBOA を含んでいた。

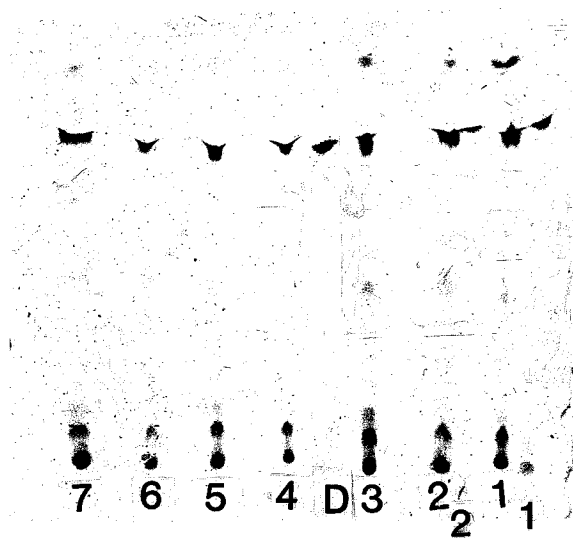


Fig. 1. Thin layer chromatography of DIMBOA in wheat varieties. Developing solvent was MeOH : CHCl₃ : 50% acetic acid (50 : 50 : 2), and colour developer was FeCl₃ reagent. D: DIMBOA, 1: Nourin-1, 2: Nourin-56, 3: Shiro-Emidashi, 4: Chinkou, 5: Nakasoushu-kinai, 6: Taiwan-1, 7: Shirasagi.

3. DIMBOA 含量のコムギの生育に伴う変化

コムギ葉からの0.1M 塩酸酸性抽出物を遠心分離し、上清液を HPLC によって分析したところ、非常に多数の物質のピークが検出された。しかし大きなピークとしてはアコニット酸（常法で3.7-4.0分にピーク）について DIMBOA（常法で10分にピーク）が顕著であった。DIMBOA は通常7～8分にピークを有する少量成分 (DIMBOA の 1/10～1/100) が付随していた。未同定であるが、類縁物質と推定している。また、4.0-4.5分にピークを有する成分が付随していた。未同定であるが DIMBOA 配糖体の可能性が高いと考えている。

Table 3 に1990年の、Table 4 に1991年の供試コムギの第2葉と第3葉における DIMBOA

DIMBOA のコムギにおける消長

Table 3. DIMBOA contents ($\mu\text{g} / \text{g}$ fresh leaf) and the number of aphids on wheat leaves in 1990

Variety	Feb. 23	Mar. 14	Mar. 28	Apr. 11	Apr. 24	May 7	May 22
Nourin-1	0.86(0)	0.75(0)	0.65(0)	0.61(3)	0.53(10)	0.42(6)	0.084(37)
Chinko-1	0.95(0)	0.78(0)	0.55(0)	0.55(0)	0.40(5)	0.26(18)	0.19 (14)
Mubou-Chinsi	0.44(0)	0.33(0)	0.30(0)	0.25(3)	0.25(5)	0.15(5)	0.10 (11)
Nakasoushu-kinai	0.88(0)	0.53(0)	0.39(0)	0.35(0)	0.30(15)	0.26(15)	0.10 (7)
Nourin-54	0.66(0)	0.51(0)	0.50(0)	0.48(0)	0.44(4)	0.35(4)	0.09 (24)
Nourin-56	0.72(0)	0.65(0)	0.60(0)	0.55(5)	0.45(7)	0.38(0)	0.025(24)
Nourin-61	1.3 (0)	0.98(0)	0.75(0)	0.60(0)	0.55(3)	0.50(6)	0.045(26)
Shirasagi	2.5 (0)	1.3 (0)	0.95(0)	0.80(0)	0.75(5)	0.55(13)	0.055(13)
Shiro-Emidashi	0.81(0)	0.68(0)	0.56(0)	0.49(3)	0.45(3)	0.40(11)	0.066(16)

Numbers in parentheses show the number of aphids on 5 grams of leaves.

Table 4. DIMBOA contents ($\mu\text{g}/\text{g}$ fresh leaf) in 1991 and the number of aphids on them

Variety	Mar. 25	Apr. 9	Apr. 23	May 7	May 21
Mubou-Chinshi	0.46(0)	0.32(0)	0.37(28)	0.24(28)	0.10 (36)
Nakasoushu-Kinai	0.52(0)	0.48(5)	0.32(14)	0.37(19)	0.077(39)
Nourin-54	0.65(0)	0.55(0)	0.60(14)	0.37(23)	0.082(28)
Nourin-56	0.71(0)	0.66(2)	0.52(6)	0.45(8)	0.10 (24)
Nourin-61	0.98(0)	0.68(0)	0.61(2)	0.40(11)	0.12 (36)
Shirasagi	1.1 (0)	0.95(0)	0.80(13)	0.67(13)	0.15 (19)
Shiro-Emidashi	0.44(0)	0.38(0)	0.32(17)	0.30(18)	0.055(81)

Numbers in parentheses show the number of aphids on 10 grams of leaves.

含量の変化を示す。全ての系統において幼苗期は多量を含有し、生育に伴って減少する傾向にあった。アブラムシの繁殖の最盛期に当たり、また出穂期・成熟期に当たる4月下旬から5月にかけてはDIMBOA含量は少量ながら増減があった。この増減は品種間において違いが見られた。両年のこの時期はトウモロコシアブラムシが多かった。Table 3と4の括弧内にはアブラムシの数が示されているが、5月下旬のものは主としてムギクビレアブラムシであった。この両年にはコムギが成熟してからムギクビレアブラムシが増殖した。DIMBOAはこの時期に減少していた。

4. DIMBOA等の経口毒性試験

Table 5にオオムギの幼苗で飼育したムギミドリアブラムシの2令幼虫を用いて人工飼育液にDIMBOAを添加して、吸汁させて生存期間の比較で毒性を調べた結果をグラミンとアコニット酸との比較で示す。グラミンが最も毒性が強く、0.003%で毒性を示した。次いでDIMBOAは0.01~0.03%で同じ程度の作用力を示し、アコニット酸は0.1%で同じ程度の作用力を示した。

Table 5. Survival percentage of *Schizaphis graminum* on diet with different concentrations of DIMBOA, gramine and (*E*)-aconitic acid

Treatment	Total number of aphids (aphids x trials)	Days													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Control	249 (3x35, 4x36)	98	86	79	76	73	72	67	59	53	49	48	47	39	25
H ₂ O	84(4x22)	94	44	7	0										
DIMBOA															
0.1%	36(3x12)	100	83	52	27	19	9	6	3	3	3	0			
0.05%	24(3x8)	100	85	71	50	38	29	21	17	8	8	0			
0.03%	36(3x12)	100	92	69	50	46	35	31	25	21	11	6	0		
0.02%	24(3x8)	100	92	79	54	46	42	29	25	21	21	12	4	0	
0.01%	36(3x12)	100	96	86	60	50	39	31	28	22	11	6	3	0	
0.003%	24(3x8)	100	96	96	83	58	50	42	33	29	25	21	12	0	
0.002%	36(3x12)	100	96	96	86	75	70	61	57	34	30	17	11	3	3
0.001%	36(3x12)	100	98	89	79	73	58	48	46	34	30	28	21	17	3
Gramine															
0.1%	36(3x12)	83	55	17	0										
0.03%	36(3x12)	97	61	44	6	0									
0.01%	36(3x12)	100	89	72	39	28	22	0							
0.003%	36(3x12)	100	92	92	75	50	50	42	17	17	8	3	0		
<i>(E)</i> -Aconitic acid															
0.3%	24(3x8)	100	83	63	38	30	25	16	16	8	8	0			
0.1%	24(3x8)	100	96	88	67	67	62	33	29	21	8	4	0		
0.03%	24(3x8)	100	100	96	79	75	71	67	62	50	33	29	8	8	4
0.01%	24(3x8)	100	100	96	83	75	75	75	62	50	33	29	21	12	4

考 察

春期に生育するムギ類の最大の害虫はアブラムシ類である。その耐虫性要因を調べるとオオムギはインドールアルカロイドのグラミンが顕著な耐アブラムシ成分として存在している (Corcuera *et al.* 1984, Kanehisa *et al.* 1990)。しかし DIMBOA は検出されなかった。反対にコムギは DIMBOA を含有し、グラミンを含有していなかった。また、多くの禾本科植物にあり、弱い耐アブラムシ性物質のアコニット酸はコムギの方がオオムギの数倍の含量が判明している (Rustamani *et al.* 1992)。また、オオムギの典型的な感受性の系統との比較で、本実験に使用したコムギ品種はアブラムシに対して、全て弱いながらも抵抗性を有すると考えられた。しかし、品種間の比較において、アブラムシ類の密度の増減と DIMBOA 含量の増減の相関は見られなかった。

ムギ類の抽出物の HPLC による解析では、多量成分としては上記の 3 物質が耐アブラムシ性物質として目だっている。その相対的な毒性と含有量がアブラムシに対して抵抗性か感受性かに関与していると考えられた。DIMBOA は植物体内で配糖体として存在する。この配糖体は、虫や細菌の加害を受けて、活性化されたグルコシダーゼによって加水分解されてアグリコンとして存在した DIMBOA が遊離して、耐生物作用を示す (Corcuera *et al.* 1984, Niemeyer *et al.* 1988) と理解されている。DIMBOA 配糖体らしきピークはあったが、未同

定である。4月下旬から5月にかけてのアブラムシ増殖期にコムギの生育に伴う DIMBOA の減少過程に多少の乱れが認められたが、この時期に虫の加害による配糖体からの DIMBOA の遊離が増加している可能性が考えられた。

アブラムシ類は植物の篩管液を吸汁している。DIMBOA とアコニット酸は水溶性であり、大部分が篩管液にあり、グラミンは難水溶性であり、柔組織 (Argandona *et al.* 1987) と表面構造の構成成分等 (Yoshida *et al.* 1993) に存在している。グラミンはアブラムシが口針を篩管に挿入する以前の通路における作用物質となっていると考えられる。経口毒性で比較した時、グラミンは最も作用力は高く、DIMBOA の約十倍の毒性を示した。アコニット酸は DIMBOA より若干弱い毒性を示した。

オオムギの多くの系統間のグラミン含量と耐アブラムシ性の間においては高い相関が得られている (Rustamani *et al.* 1992)。しかし、直接篩管から摂取される毒性物質でないだけに、比較的至高濃度が必要となっている。

DIMBOA とアコニット酸は篩管液にあり、直接に吸汁される故に、低毒性でもアブラムシの死亡を高めていると考えられた。DIMBOA もアコニット酸もアブラムシ体内での挙動は未解明であるが、体内での濃縮も考えられる。DIMBOA は、摂取した物質の解毒酵素として重要なグルタチオン S トランスフェラーゼの阻害剤であると報ぜられている (Leszczynski *et al.* 1992)。DIMBOA の0.01%は100 μ g/g 飼育液に相当する。新鮮葉の全体に対する篩管液の割合は不明であるが、摂取してからの体内濃縮を考えると十分に耐アブラムシ成分として機能していると考えられる。なお、アコニット酸は細胞呼吸のクレブスサイクルの拮抗阻害剤と考えられている (Saffran *et al.* 1949)。

コムギ類はアコニット酸を10~30 μ g/g 新鮮葉の割合で含有し、DIMBOA の約10倍の含有量であり (Rustamani *et al.* 1992)、共に篩管液にある。飼育試験においては DIMBOA の方が若干高い毒性を示したが、両者共に耐アブラムシ性成分として作用していると考えられた。協力効果の有無は未定である。Kazemi *et al.* (1992) は成熟期のコムギの5品種における比較で、ムギクビレアブラムシの増殖と DIMBOA の含有量も相関はなかったと報じている。本実験においても、DIMBOA の含有量と増殖との相関は見られなかった。しかし、本実験では全ての供試コムギ品種が多少ともアブラムシに対して抵抗性を有し、DIMBOA とアコニット酸がそれに関与すると考えている。

幼苗の抽出物の HPLC で耐アブラムシ性物質を検討すると、上述の3成分が大きな成分で、少量成分のピークは少ない。しかし、伸長期以後は沢山の少量成分が増えてくる。中程度の成分のピークも出現して来る。それらは未同定であり、作用力は不明である。フェノール性の耐アブラムシ性物質の存在は否定できないが、DIMBOA とアコニット酸以上に量的に抵抗性に関与している物質は見られなかった。

摘 要

コムギもオオムギと同様に系統・品種によってアブラムシによる寄生の程度に差が見られた。数百のコムギ品種について、寄生程度の調査を1989年に予備的にを行い、選別した8品種について、1990年と1991年にコムギの抵抗性物質とされている DIMBOA の消長を調べた。寄生程度の比較調査は1989年から1992年まで調べ、年と場所による変動を調べた。

数千のオオムギの系統間においてはアブラムシ類の寄生数で百倍以上の差があり、抵抗性と感受性の系統を容易に選別できている。しかし、コムギにおいて数十倍の寄生数を示す系統は見い出せなかった。系統間に年と場所での抵抗性と感受性の差が見られても、遺伝的であることが確認された系統はなかった。オオムギと比較して、供試した数百のコムギ系統の中には、アブラムシの寄生が非常に多い感受性系統はなく、供試した全てが多少とも抵抗性の形質を示した。

コムギの抵抗性物質である DIMBOA は冬期 2 月下旬で約 1 $\mu\text{g/g}$ 新鮮葉の含量であり、生育に伴って減少した。減少の程度は系統間で差が余りなかった。換言すると DIMBOA のない、あるいは極端に少量の系統はなく、全ての系統で抵抗性の一因となっていると考察された。

コムギにおいては、オオムギで顕著な抵抗性物質と考えられているインドールアルカロイドのグラミンは検出されなかったが、オオムギで検出されなかった DIMBOA が顕著な抵抗性成分として検出され、これによって両ムギの質的な差異が示された。コムギはもう一つの抵抗性物質である水溶性のアコニット酸をオオムギの約 10 倍も含有しており、コムギでは DIMBOA とアコニット酸の両者がアブラムシ抵抗性物質として作用していると考えられた。

キーワード：ハイドロキサム酸、コムギ、アブラムシ、抵抗性品種、感受性品種

引用文献

- Argandona, V.H., Zuniga, G.E. and Corcuera, L.J. 1987. Distribution of gramine and hydroxamic acid in barley and wheat leaves. *Phytochemistry* 26: 1917-1918.
- Corcuera, L.J. 1984. Effect of indole alkaloids from Graminae on aphids. *Phytochemistry* 23: 539-541.
- Corcuera, L.J., Argandona, V.H., Pena, F.J. and Niemeyer, H.M. 1982. Effect of a benzoxazinone from wheat on aphids. Proc. 5th Internat. Symp. "Insect plants relationship" (Visser, J.H. and Minks, A.K. eds.), 33-39. Center for Agric. Publishing and Documentation. Wageningen.
- Cress, D.C. and Chada, H.L. 1971. Development of a synthetic diet for the greenbug *Schizaphis graminum*, 2. Greenbug development as affected by zink, manganese, and copper. *Annals Entomol. Soc. Amer.* 64: 1240-1244.
- Elnaghy, M.A. and Linko, P. 1962. The role of 2-O-dihydroxy-7-methoxy-1, 4-benzoxazin-3-one in resistance of wheat to stem rust. *Physiol. Plant.* 15: 764-771.
- Kanehisa, K., Tsumuki, H., Kawada, K. and Rustamani, M.A. 1990. Relations of gramine and aphid populations on barley lines. *Appl. Entomol. Zool.* 25:251-259.
- 兼久勝夫・Rustamani, M.A.・積木久明・笠原敏彦・白神 孝, 1993. アブラムシ抵抗性物質グラミンのオオムギの生育に伴う変化. 岡大資生研報 1: 105-112.
- 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.
- Kazemi, M.H. and van Emden, H.F. 1992. Partial antibiosis to *Rhopalosiphum padi* in wheat and some phytochemical correlation. *Ann. Appl. Biol.* 121: 1-9.
- Klun, J.A., Tipton, C.L. and Brindley, T.A. 1967. 2, 4-Dihydroxy-7-methoxy-1, 4-benzo-xazin-3-one in

- resistance of maize to the European corn borer. J. Econ. Entomol. 60 : 1529-1533.
- Leszczynski, B. and Dixon, A.F.G. 1990. Resistance of cereals to aphids: Interaction between hydroxamic acids and the aphid *Sitobion avenae* (Homoptera: Aphididae). Ann. Appl. Biol. 117 : 21-30.
- Leszczynski, B. and Dixon, A.F.G. 1992. Resistance of cereals to aphids: Interaction between hydroxamic acids and glutathion S-transferases in the aphid *Sitobion avenae* (F.) (Homoptera., Aphididae). J. Appl. Entomol. 113 : 61-67.
- Niemeyer, H.M. 1988. Hydroxamic acids (4-hydroxy-1, 4-benzoxazin-3-ones), defence chemicals in the Graminae. Phytochemistry 27 : 3349-3358.
- Nicol, D., Copaja, S.V., Wratten, S.D. and Niemeyer, H.M. 1992. A screen of worldwide wheat cultivars for hydroxamic acid levels and aphid antixenosis. Ann. Appl. Biol. 121 : 11-18.
- Rabbinge, R., Dress, E.M. Vander, G.M., Verberne, F.C.M. and Wesselo, A. 1981. Damage effects of cereal aphids in wheat. Netherlands J. Plant Pathol. 87 : 218-232.
- Rustamani, M.A., Kanehisa, K. and Tsumuki, H. 1992. Aconitic acid content of some cereals and its effect on aphids. Appl. Entomol. Zool. 27 : 79-87.
- Rustamani, M.A., Kanehisa, K., Tsumuki, H. and Shiraga, T. 1992. Additional observations on aphid densities and gramine contents in barley lines. Appl. Entomol. Zool. 27 : 151-153.
- Saffran, M. and Prado, J.M. 1949. Inhibition of aconitase by trans aconitase. J. Biol. Chem. 180 : 1301-1309.
- Tsumuki, H., Kanehisa, K. and Kawada, K. 1989. Leaf surface wax as a possible resistance factor of barley to cereal aphids. Appl. Entomol. Zool. 24 : 275-281.
- Yoshida, H., Tsumuki, H., Kanehisa, K. and Corcuera, L.J. 1993. Release of gramine from the surface of barley leaves. Phytochemistry 34 : 1011-1013.