

ヒノキテルペン類の  
成分変動に及ぼす  
エチレンの影響に関する研究

Studies on the Effects of Ethylene on  
the Variations of Chemical Compositions of  
Terpenes in Hinoki.

加藤 定信

1 9 9 4

目次	頁
緒論 .....	1
第1章 ヒノキ, スギ針葉テルペン類の 樹木個体内における化学組成変動 .....	8
1.1 緒言 .....	8
1.2 実験方法 .....	10
1.2.1 針葉採取地点 .....	10
1.2.2 針葉の採取および針葉精油成分分析 .....	10
1.3 結果と考察 .....	12
1.3.1 ヒノキ, スギ針葉精油収率 .....	12
1.3.1.1 ヒノキ針葉精油収率 .....	12
1.3.1.2 スギ針葉精油収率 .....	12
1.3.2 ヒノキ, スギ針葉精油テルペン類の 成分変化 .....	16
1.3.2.1 ヒノキ針葉テルペン類成分 .....	16
1.3.2.2 スギ針葉テルペン類成分 .....	18
1.4 結論 .....	26
第2章 エチレンガスおよびエスレルによる ヒノキ幼苗から放散されるテルペン類の 化学組成変化 .....	28

2.1	緒言	2 8
2.2	実験方法	2 9
2.3	結果と考察	3 1
2.3.1	エチレンガスによるテルペン類の 放散量変化	3 1
2.3.2	エスレル処理によるテルペン類の 放散量変化	4 1
2.4	結論	4 8
第3章 エチレンガスによるヒノキ幼苗から 放散されるテルペン類の変動形態		
3.1	緒言	4 9
3.2	実験方法	4 9
3.3	結果と考察	5 0
3.3.1	エチレンガスによるテルペン放散量の 変動形態	5 0
3.3.2	エチレンの作用発現開始時期および 作用持続時間	7 1
3.4	結論	7 8
結言		7 9
総括		8 1

謝 辞	8 5
引用文献	8 6
SUMMARY	9 1

## 緒論

樹木中に二次代謝物質として存在するテルペン類は、種々の生理活性を有する。樹木から周辺環境に放出されることによって、周辺植物の生化学的反応に影響を及ぼし、発芽、成長などの主要な生理現象を阻害あるいは促進し、また、昆虫や微生物に対して、誘引活性あるいは忌避活性を示す (Muller 1974, 小清水 1990, 藤井ら 1987)。例えば、シソ科に属するサルビアは、カリフォルニアの牧草地帯においてカラスムギやハマチャヒキからなる草原に侵入し、乾燥期にはその周囲に1~2mの裸地帯が形成され、さらにその外縁部でもイネ科雑草の生育が顕著に抑制される。この現象は、サルビアの葉から、カンファーや1, 8-シネオールなどの揮発性モノテルペン類が放出されて、乾期に土壤中に蓄積されるためと言われる (Mullerら 1965, Mullerら 1964)。ユーカリは、1年生草本植物の成長を阻害することが知られており、その主な阻害物質は1, 8-シネオール、 $\alpha$ -ピネンであると言われている。また、テルペン類はククイムシ類や、ゾウムシ類、鱗翅目幼虫に対して誘引活性を示す。その主な誘引活性物質は、 $\alpha$ -ピネン、カンフェン、 $\beta$ -ピネン、ミルセン、リモネンおよびそれらの混合物などである (Moralら 1970)。虫害に対する防御効果は、テルペン物質の量や構成成分、樹木の生理学的条件、菌の毒性や

攻撃の回数に依存する (Johnsonら 1987)。また、モノテルペン類の生物学的効果は、それらの異性体の組成に大きく依存している。マツ科の樹木に多く含まれる1-リモネンは、比較的毒性が低いが、ミカン科の樹木に多く含まれるd-リモネンは、種子の発芽や生殖器官の成長を非常に強く阻害する。d- $\alpha$ -ピネン、1- $\beta$ -ピネン、d- $\beta$ -カレンやテルピノレンもd-リモネンと同様な阻害効果を示す。また、キクイムシが放出する集合フェロモン1-cis-ベルベノールは、1- $\alpha$ -ピネンが腸内細菌によって変換されて生じることがわかっている (Croteauら 1985)。

先駆昆虫、つまり1匹目の昆虫が樹木を攻撃したとき、その昆虫は通常の化学組成の樹脂と出会う。そしてその昆虫が、その樹脂に出会うと、樹脂中の主要モノテルペン物質に刺激されて揮発性の集合フェロモンを放出する。この集合フェロモンに誘引され、次々と昆虫がやってきて集中攻撃を受けることになる。傷害や菌の侵入に対する樹木の反応は、まず第一に傷害部で病原体の栄養を奪い、傷害を区分化するために自己分解細胞の層が発達する。第二に近接の柔組織が傷害樹脂道に分化し、傷害部や辺材部に二次的な樹脂(傷害誘導樹脂)を分泌して傷害部の周辺に反応帯を形成する。通常の樹脂と比較して二次的樹脂中のモノテルペン成分組成は、抗菌および昆虫忌避成分の割合が増加し、このようなモノテルペン成分組成の変化は、新たにモノテルペン類が生合成される

ことによると考えられている (Croteauら 1985)。反応帯の形成と同時に移行帯も形成される。これらの隣接した組織は辺材から感染部を隔離し、青白い移行帯は、辺材に隣接し、反応帯は傷害部と隣接する。反応帯の形成に対してキクイムシなどの昆虫は、傷害部から樹脂を取り除こうとしたり、あきらめたりする。樹脂合成能が低下している場合、昆虫は容易に傷害部に穴を開け、菌は妨害されることなく蔓延する。二次的な樹脂合成や過敏な反応もまた、菌の成長にとって重要な要因となる。樹脂の流出が充分であれば菌の成長は阻害されるが、二次的な樹脂は木部に貯蔵された炭化水素から誘導されるので、膨大な数の昆虫の飛来を媒介とした菌の侵入は、この炭素源を消耗させ、その結果、樹脂の合成能は低下し、樹木は傷害を受け易くなる。すなわち二次的樹脂の流出の速度と期間が、病原菌の侵入を阻止できるか否かを決定する。キクイムシがコロニーを形成しようとする場合、3種の異なったモノテルペン組成に出会うことになると考えられる。皮層樹脂泡や樹脂道に蓄えられた通常の樹脂は、先駆昆虫を阻止するために用いられ、皮層モノテルペン物質はしばしば昆虫防御の指標として用いられる。その後、昆虫の攻撃によって傷害部の柔組織が分化し、新たな樹脂を分泌するという過敏な傷害反応が引き起こされる。また、二次的な菌の侵入は、傷害部からかなりの距離をもった辺材部から、菌誘導樹脂を浸出させる。この過程は菌か樹木が死ぬまで持続する。このような感

染に対する反応の引き金となる化学信号の多くは、昆虫によって生産されるよりもむしろ菌由来のものであることが明らかになっている。バージニアパインに生きた病原菌を接種すると、死んだ病原菌を接種した場合の30倍以上の樹脂が流出する (Croteauら 1985)。このように樹木はそれぞれの感染段階で、樹脂量やその組成をうまく変化させて対応している。以上のような現象を示すことにより、テルペン類は樹木個体の維持および、森林生態系の維持において、重要な役割を持つ。

また、テルペン類は樹種によってその組成は独特であり、それはそれぞれが自然環境に適応するために固有の生合成パターンを生み出してきたことによる。テルペン類は前述のように、昆虫や微生物に対して誘引および忌避活性を示すため、テルペン類の化学組成が樹種によって独特であるのは、光、水、温度、および土壌によってさまざまに変化する植生と、そこで生活する動物との生態系によるものと考えられる。その結果、樹木個体の存在を脅かす、または欠かせない他の生物に対しての防御および誘引手段として、さまざまなテルペン類が生み出されたと考えられる。同一樹種においても環境が異なることによって、テルペン類の化学組成は変動する

(Changら 1991, Merk 1988, Dagan 1982, Schönwitzら 1989)。モノテルペンの化学組成に大きな変動形態が見られるのは、キクイムシなどの昆虫の侵入に選択的に対抗しているためと考えられている。Sturgeonら (1982)



は、ポンドローサパインのウェスタンパインビートルに対するリモネンの忌避性と、集合フェロモンの前駆物質として働く $\alpha$ -ピネンとのバランスを詳細に報告している。高濃度のリモネンだけではパインビートルの攻撃に対する忌避性は十分ではなく、高濃度のリモネンと低濃度の $\alpha$ -ピネンが混合されて初めて、コロニー化を阻止する。このようなテルペン類の変動形態によって、環境とテルペン類の化学組成との関係を推測することも可能であろう。

また、テルペン類の化学組成は年間のサイクルによって変動し (Dagan 1988, 谷田貝ら 1983), 直接的な外的傷害によって変動する (Cook 1988, Wolter 1984)。さらには、周辺植物に生じた傷害を察知し、その傷害を未然に防御するために、能動的に変動することも推測できる。何故なら、針葉テルペン類の化学組成変化に関与するテルペン類の放散は、気孔の開閉とは関係がなく、葉面から揮発に近い形で、直接大気中に発散されるため (太田 1985), 大気中に存在する化学成分が直接テルペン成分もしくは、その生合成過程に作用し、テルペン成分の化学組成を変化させると考えることができるからである。そして、テルペン成分の化学組成に影響を及ぼす可能性をもつ大気中の化学成分として、エチレンが考えられる。植物ホルモンの一つとして知られるエチレンは、菌類の一部や大部分の高等植物などで生成され、果実の成熟を促進する作用があり、成熟開始直前に、多量

に生成されるので成熟ホルモン(ripening hormone)と考えられている。また、栄養組織にオーキシンや接触、病傷害、薬物処理などの各種のストレスが与えられると生成量は激増する(下川 1988)。この植物がエチレンを生成する際の特徴は、果実が成熟する際に、テルペン類の成分割合および含量が変化すること(Kekelidzeら 1989)や、樹木が傷害、菌接種、薬物処理などの各種のストレスを受けた際に、テルペン類が放出されることや含量が増加すること(Savageら 1991, Wolterら 1984, Birchenら 1979, Cheniclet 1987)と一致する。従って、これらの事実はエチレンの生成量の変化に反応して、テルペン成分の組成も変化することを示唆している。

これらのようなテルペン類の化学組成の変動を把握することは、樹木および森林の生態における相互作用の機構を理解する上で大きな手がかりとなる。

そこで本論文ではテルペン類の化学組成における、樹木個体間の変動とその季節的変動、および周辺環境に対する防御と考えられる反応による変動について検討した。

本論文の構成とその概要を以下に示す。

第1章において、ヒノキ、スギ針葉精油中のテルペン類の化学組成を、同一環境に生育する樹木個体間の変動とそれらの季節変動について検討した。

第2章では、樹木の外的傷害に対する防御反応によるテルペン類の化学組成の変動の可能性を、エチレンに対するヒノキの反応について検討し、また、エチレン発生

剤であるエスレルを用いて、ヒノキの疑似傷害反応によるテルペン類の化学組成の変動を検討した。

第3章では、第2章で調査したエチレンによるヒノキから放散されるテルペン類の化学組成の変動形態を、更に詳細に検討し、また、エチレンの作用発現開始時期および、エチレンの作用の持続時間を検討した。

## 第1章 ヒノキ, スギ針葉テルペン類の樹木個体内における化学組成変動 (加藤ら 1993A)

### 1. 1 緒言

樹木間および樹木と他の生物間における相互作用に關与するテルペン類は, 自然生態系を維持する上で, 重要な役割を持つ (トーキンら 1980)。その相互作用とは, 植物によって環境中に放出された微量化学物質が, 周辺植物に移行吸収されて生化学的反應に影響を及ぼし, 発芽, 成長などの主要な生理現象を阻害あるいは促進すること, および昆虫や微生物などが植物の揮発成分の影響を受け, 誘引あるいは退避行動をとることなどを言う (小清水 1990, 中山 1976)。これらの現象は樹木の生理機能および森林の生態を理解する上で不可欠な要素であり, 多くの研究者が, 環境大気中のテルペン類の化学組成に関する報告 (谷田貝 1984, 1988, Yokouchiら 1984) や, テルペン類の生物活性について報告 (Nordlander 1990, Birgersson 1989, 谷田貝ら 1985, 坂井ら 1989) している。樹体内の精油生合成機能に影響を及ぼす因子を把握することは, 森林生態における相互作用の機構を理解する上で大きな手がかりとなる。そして, その森林および樹木の生態を理解することは, 絶対的酸素供給者であると同時に, 気候を緩和し, 保水機能を持つ森林の生態を破壊しない木材利用の實踐につながる

ると考えられる。そのためには、まず樹木個体のテルペン類の化学組成の変動を解明することが必要となる。

テルペン類の化学組成は同一樹種においても、周辺環境の変化によって変動する。何故なら、樹木の遺伝因子の中には環境に適応するための因子を備えており、環境の変化によって特定の因子が強調されることによって、テルペン類の化学組成が変動すると考えられるからである。

巨視的に見て同一の環境で生育する同一種の樹木のテルペン類の化学組成の変動形態を解明することにより、変動要因を推測することが可能である。テルペン類の化学組成の変動に関する研究を積み重ねることにより、テルペン類の化学組成を調査することで、樹木の状態や周辺環境の状態、例えば昆虫や微生物の分布状態などを推測することが可能となることも考えられる。

そこで本研究では、ヒノキ(*Chamaecyparis obtusa* Endl.)およびスギ(*Cryptomeria japonica* D. Don)針葉のモノテルペン類の個体内における成分組成および、量的変動を、季節変化を通してそれぞれ異なった3地域で生育している樹木について検討した。

## 1. 2 実験方法

### 1. 2. 1 針葉採取地点

針葉の採取地は、島根県松江市内で、ヒノキについて3地点（地点A, B, C）、スギについて3地点（地点D, E, F）を選んだ。それぞれの地点でヒノキは1990年6月から12月まで、スギは1990年5月から12月までの期間、1ヶ月単位で各地点について2本（個体番号を1, 2とした）の樹木から針葉を採取した。採取地点をTable 1-1に示す。なお、針葉を採取した6地点とも、同一樹種の植林地である。

### 1. 2. 2 針葉の採取および針葉精油成分分析

針葉は最下枝の先端部分から約100g採取し、採取後1時間以内に精油定量装置（第11改正日本薬局法準拠）を用いて精油の留出が認められなくなるまで約10時間水蒸気蒸留を行い、精油を得た。得られた精油は、ガスクロマトグラフ(GC)およびガスクロマトグラフ-質量分析計(GC-MS)を用いて分析した。GCおよびGC-MS分析条件は以下のとおりである。

GC: Shimadzu GC-14A, 検出器: FID, カラム: Shimadzu CBP20-M25-025 (PEG20M TYPE), 昇温プログラム: 70~230℃, 5℃/min, キャリヤーガス: He (0.6ml/l)

GC-MS: Hitachi M-80B (GC部 Hitachi GC263, カラム等の条件はGCに同じ), イオン化電圧: 70eV

Table 1-1. Collecting sites of tree samples.

Sites	Locations	Altitudes (m)	Sample Nos.	Diameters at breast heights (cm)	Tree heights (m)	Distances between two samples (m)
Hinoki						
A	Tyosui-zan	300	A-1	25	8	6
			A-2	20	7	
B	Dake-san	150	B-1	10	3.5	2
			B-2	10	4	
C	Shin-yama	100	C-1	5	4.5	1.5
			C-2	4	4	
Sugi						
D	Takizora-yama	420	D-1	12	5	4
			D-2	15	6	
E	Shin-yama	100	E-1	12	7	3
			E-2	8	5	
F	Shimane Univ.	3	F-1	9	5.5	3
			F-2	6	5	

## 1. 3. 結果と考察

### 1. 3. 1 ヒノキ, スギ針葉精油の収率

#### 1. 3. 1. 1 ヒノキ針葉精油収率

3地点における6月から12月までの1ヶ月毎のヒノキ針葉精油収率をFig.1-1に示す。地点Aでは、10月から11月にかけて、2試料間に異なった季節変動が見られ、地点Bでは、6月から7月にかけて、2試料間に異なった季節変動が見られたが、精油収率における差異は全般的に少なかった。地点Cでは、2試料とも、ほぼ同様な季節変動を示したが、精油収率において両者間に著しい差異が見られた。針葉精油収率は、地点毎に異なった季節変動を示した。平均収率の差は、地点Aでは1.29%、地点Bでは0.05%、地点Cでは2.47%であった。地点Cのように同様な季節変動を示しながら、精油収率に個体間で大きな差異が見られるのは、生育環境の類似と精油の生合成すなわち、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリルCoA (HMG-CoA) から、メバロン酸を経て、ゲラニルピロリン酸に至る生合成経路(大石 1990)に関与する遺伝形質の差異によるところが大きいと考えられる。

#### 1. 3. 1. 2 スギ針葉精油収率

3地点における5月から12月までの1ヶ月毎のスギ針葉精油収率をFig.1-2に示す。地点Dでは、試料D-1が8月に最大収率を示し、その後減少したのに対して、試料D-2は、9月に最大収率を示し、その後ほぼ一定であり、地点Dの



2試料は、8月から9月の間に異なった季節変動を示したが、それ以外の月はおおむね同様の季節変動を示した。地点Eでは、2試料ともに11月に最大収率を示し、地点Fでは、2試料ともに7、10、12月に収率の増加が見られた。これらのように地点毎の2試料の季節変動は、地点Dの8月から9月の間を除いておおむね同様な変動を示した。これは精油収率が気候に従って変動することを示しており、かつ、地点毎に異なった季節変動を示していることから、局地的気候に従っている、すなわち微少な気候変化に影響を受けることを示唆している。さらには、森林生態における相互作用により、周辺の植生や昆虫、微生物などによる影響を受けている可能性もある。地点Dの2試料間で8月から9月にかけて異なった月変動を示したのは、一時的かつ、急激であるため、何らかの外的傷害が加わったことによるものと思われる。また地点Dでは、2個体間の平均収率差が0.36%で、地点Eでは0.08%と非常に小さく、地点Fでは0.39%であり、地点D、Fにおいて2試料間の平均収率に差異が見られた。これらの収率差が生じるのは、各地点の2試料間の季節変動が類似しているため、各個体の遺伝的な精油生合成機能と、光合成量の相関によるものであろう。光合成量では、特に日射量が大きな要因であると思われる。

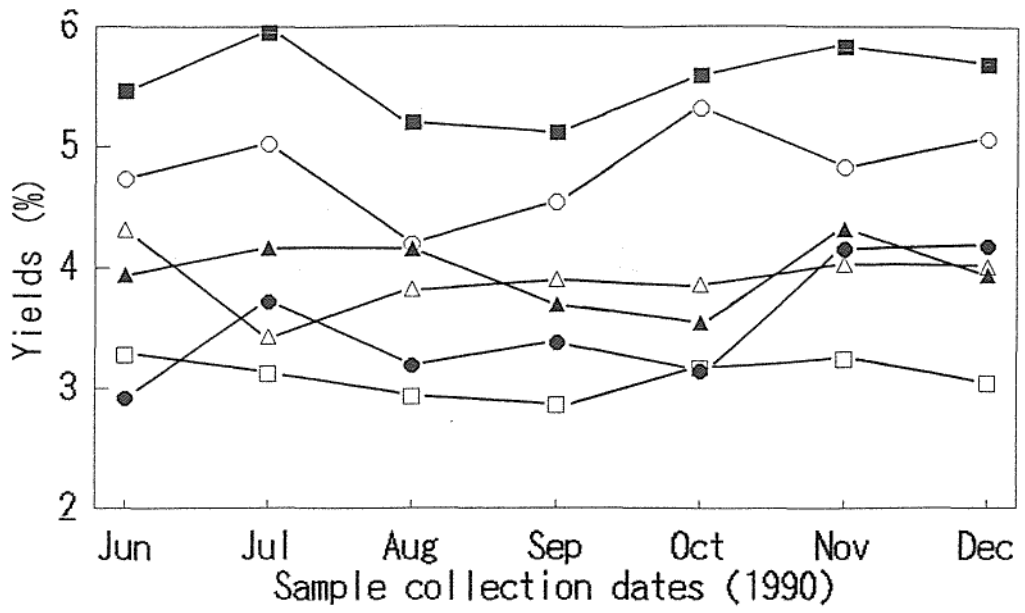


Fig. 1-1. Yields of hinoki needle oils.

Legend: ○: A-1, ●: A-2,  
 △: B-1, ▲: B-2,  
 □: C-1, ■: C-2.

Note: Sample Nos. in Figs 1-1, 1-2, 1-4, and 1-6  
 should refer to Table 1-1.

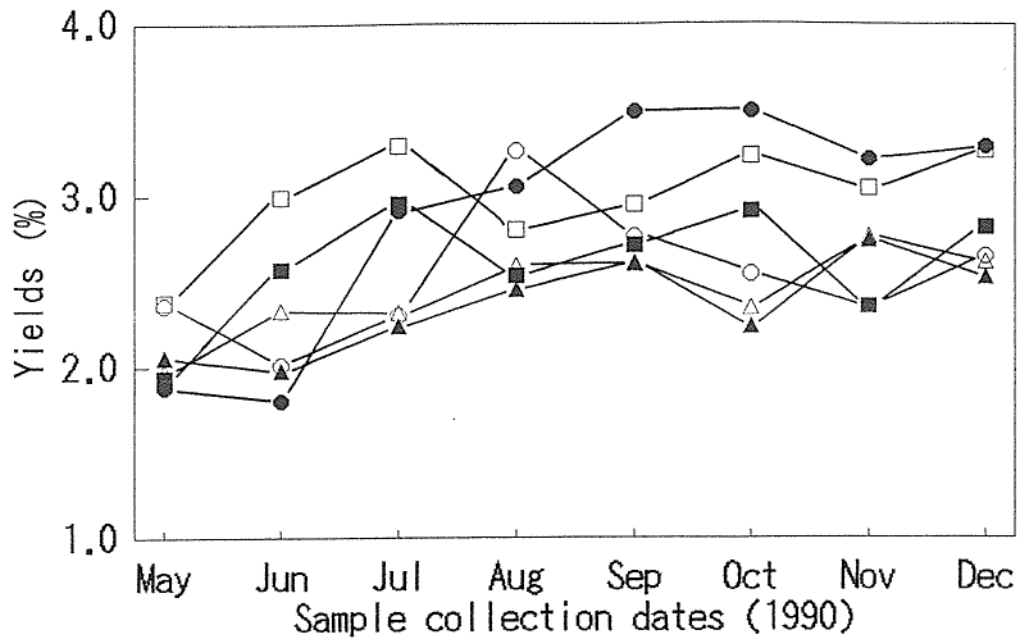


Fig.1-2. Yields of sugi needle oils.

Legend: ○: D-1, ●: D-2,  
 △: E-1, ▲: E-2,  
 □: F-1, ■: F-2.

## 1. 3. 2 ヒノキ, スギ針葉精油中テルペン類の 成分変化

### 1. 3. 2. 1 ヒノキ針葉テルペン類成分

ヒノキ針葉のテルペン類の成分として $\alpha$ -ピネン, カンフェン,  $\beta$ -ピネン, サビネン, ミルセン,  $\alpha$ -テルピネン, d-リモネン, 1, 8-シネオール,  $\gamma$ -テルピネン, p-シメン, テルピノレン, ボルニルアセテート, テルピネン-4-オール, テルピニルアセテートの14種を同定した。これらの成分のうち, 多量に含まれていたサビネン, d-リモネン, テルピニルアセテートについて各地点における含量の季節変動をFig.1-3に示す。含量は針葉の全乾重量1kgに対する成分量(ml)で示す。

地点Aでは, サビネンにおいて9月から11月にかけて, 2試料間に異なった季節変動が見られ, テルピニルアセテートにおいては, 10月から12月にかけて, 異なった季節変動が見られた。地点Bでは, サビネン, テルピニルアセテートにおいて, 2試料間の季節変動に著しく大きな差異が見られた。このように2試料間で異なった季節変動は, 精油収率においては見られなかった。地点Bの2個体間における, 精油収率とテルペン成分の季節変動との差異が見られることから, テルペン類の生合成過程において, ゲラニルピロリン酸までの生合成過程と, そこから種々のテルペン化合物が生合成される過程とは, 異なる遺伝因子および, 環境因子の作用を受けると推測される。地点Cでは, サビネン, d-リモネンにおいて, 11月に2試料

間で異なった季節変動が見られた。

各地点における量的差異を見ると、地点Aにおいて平均含量でテルピニルアセテートに1.69ml (A-1>A-2)、地点Bにおいてサビネンに2.38ml (B-1<B-2)、d-リモネンに1.18ml (B-1>B-2)、テルピニルアセテートに3.14ml (B-1>B-2)、地点Cにおいてサビネンに4.96ml (C-1<C-2)、d-リモネンに3.09ml (C-1<C-2)、テルピニルアセテートに4.55ml (C-1<C-2)の量的差異が見られた。

Fig.1-4に、各個体の含量の多いテルペン類の7ヶ月間の平均相対割合を示す。これは同定した14種のテルペン成分を、GC分析におけるピーク面積から求めた割合である。A-1, A-2, B-1が、テルピニルアセテート、ボルニルアセテート、テルピネン-4-オールの割合において、類似のパターンを示した。C-1, C-2は、A-1, A-2, B-1で見られたパターンと比較すると、ボルニルアセテートおよび、テルピネン-4-オールの割合に相違が認められた。また、B-2では、他の試料と比較して、サビネンが著しく大きな割合を示し、d-リモネン、テルピニルアセテートの割合が小さいことがわかる。そこで、B-2における、これら3成分の季節変動の相関を見ると、サビネン、d-リモネン間に0.88の負の相関が、サビネン、テルピニルアセテート間に0.89の負の相関が、また、d-リモネン、テルピニルアセテート間に0.97の正の相関が見られた。これは、これら3成分の生合成経路に、遺伝によるものなのか、環境によるものなのかは不明であるが、何らかの強い作用

が働いていることによるものと推測される。テルペン類の前駆物質であるメバロン酸は、生体の細胞に取り込まれると、酵素を触媒として効率よくテルペンに変換される（井上ら 1976, 今堀ら 1990）。そしてこの樹木生体内における酵素の活性は、遺伝、年間を通しての樹木の生体活動および、微少な環境変化、すなわち樹木周辺の植生、昆虫、微生物の存在などによって、様々に変化することが考えられるため、テルペン類もこの活性変化に呼応して量および質的に変化するものと推定される。特に、 $\alpha$ -ピネン、サビネン、d-リモネンなどの環状モノテルペンは、ゲラニルピロリン酸、およびネリルピロリン酸からそれぞれの閉環酵素の作用によって生合成されるため（大石 1990）、B-2におけるサビネン、d-リモネン間の高い負の相関には、これらの閉環酵素の活性が大きく関与しているものと考えられる。また、リモネンは酢酸中で硫酸により、 $\alpha$ -テルピニルアセテートに変換すること（有機合成化学協会編 1979）から、B-2に見られるd-リモネン、テルピニルアセテート間の高い正の相関にも、樹木生体内における酵素の活性が大きく関与しているものと考えられる。

#### 1. 3. 2. 2 スギ針葉テルペン類成分

スギ針葉のテルペン類の成分として、 $\alpha$ -ピネン、カンフェン、 $\beta$ -ピネン、サビネン、3-カレン、ミルセン、 $\alpha$ -テルピネン、d-リモネン、1, 8-シネオール、 $\gamma$ -テルピネン、p-シメン、テルピノレン、テルピネン-4-オール

の13種を同定した。これらの成分のうち、特に多量に含まれていた $\alpha$ -ピネン、サビネン、テルピネン-4-オールについて含量の季節変動をFig.1-5に示す。

地点Dでは、D-1において $\alpha$ -ピネン、サビネンに大きな季節変動は見られず、テルピネン-4-オールに季節変動が見られた。精油収率の季節変動はテルピネン-4-オールに大きく依存していた。D-2においては、3成分とも精油収率と同様な季節変動を示した。精油収率の季節変動において見られた8月から9月の間の2試料間の差異は、D-1のテルピネン-4-オールの減少と、D-2の $\alpha$ -ピネン、サビネンの増加に依存していた。地点Eでは、3成分ともに2試料は同様な季節変動を示した。地点Fでは、精油収率における季節変動には、2試料間に差異が見られなかったにもかかわらず、 $\alpha$ -ピネンにおいて2試料間の季節変動に、大きな差異が見られた。F-1では、 $\alpha$ -ピネンが精油収率の季節変動を支配し、サビネン、テルピネン-4-オールはほぼ一定であった。F-2では、 $\alpha$ -ピネンとテルピネン-4-オールが精油収率の季節変動を支配し、サビネンはほぼ一定であった。地点Fのように、2個体間の精油収率において、量的差異は見られるが、その季節変動は類似していたのに対し、テルペン分量およびその季節変動が異なるのは、精油の生合成過程において、HMG-CoAから、メバロン酸を経て、ゲラニルピロリン酸にいたる生合成過程と、そこから種々のテルペン化合物が生合成される過程において、これらの過程に影響を及ぼす遺伝因子および

その遺伝因子に作用する環境因子が異なることを示唆している。

各地点における成分の量的差異を見ると、 $\alpha$ -ピネンに2個体間の平均収量において、地点Dでは2.5ml (D-1 < D-2)、地点Fでは3.35ml (F-1 > F-2)の量的差異が見られた。また、地点Dにおいて10月から12月にかけて、2個体間のサビネン量に差異が見られた。テルピネン-4-オールにおいては、地点Dの5月に、2個体間に4.2ml (D-1 > D-2)の差異が見られ、6月にはD-1が急激に減少した。また、地点Fで2個体間に平均収量で1.82ml (F-1 < F-2)の量的差異が見られた。

Fig. 1-6に、各個体の含量の多いテルペン類の8ヶ月間の平均相対割合を示す。これは、同定した13種のテルペン成分のGC分析におけるピーク面積から求めた割合である。D-1ではテルピネン-4-オールが、F-1では $\alpha$ -ピネンが、それぞれ著しく大きな割合を占めた。ミルセン、d-リモネン、 $\gamma$ -テルピネンには、地点間および2試料間に大きな差異はなかった。すなわち、地点Eでは、テルペン成分割合がほぼ類似したが、地点D、Fの2試料間には、それぞれテルピネン-4-オール、 $\alpha$ -ピネンの量的割合に差異が明らかに見られた。

地点DではD-1におけるテルピネン-4-オールの割合が、地点FではF-1における $\alpha$ -ピネンの割合が2試料間の差異の大きな要因となったが、それと同時に、D-1では $\alpha$ -ピネンの、またF-1ではテルピネン-4-オールの割合が小さ



いことがわかる。そこで、D-1およびF-1の $\alpha$ -ピネンとテルピネン-4-オールの間を調べてみると、D-1で、0.85の負の相関が、またF-1で0.94の負の相関が見られた。この負の相関は、サビネン、テルピネン-4-オール間(D-1:  $r=-0.90$ , F-1:  $r=-0.72$ )にも見られた。通常、テルピネン-4-オールは、サビネンを希硫酸で振とうすると容易に生成する。このことからテルピネン-4-オールは、 $\alpha$ -ピネンおよびサビネンから樹木生体内において、生合成されるものと考えられ、D-1, F-1では、これらの生合成系に他の試料と異なる遺伝形質を持つか、外的傷害などの特異な環境因子が加わっているものと考えられる。

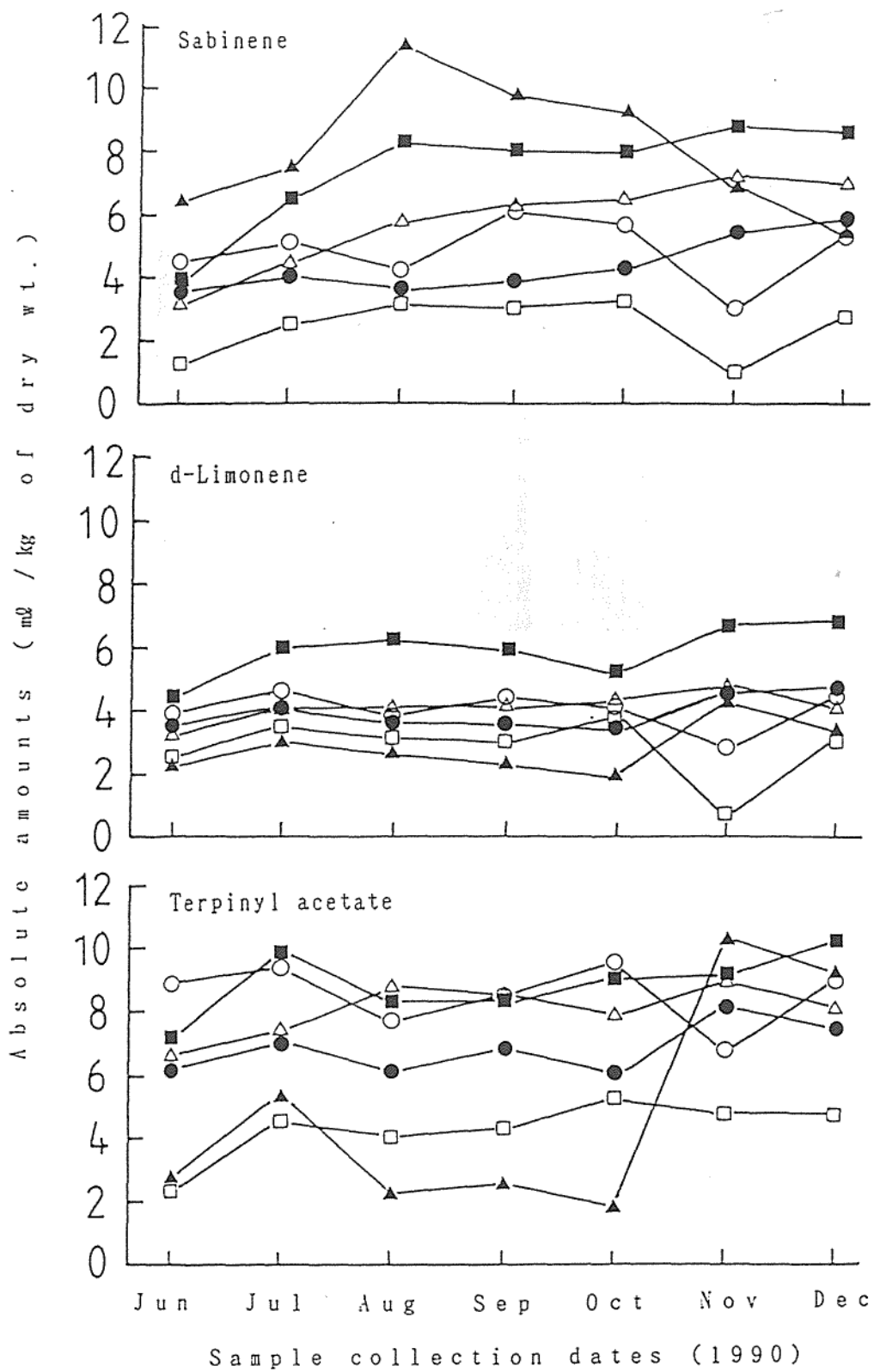


Fig.1-3. Absolute amounts (ml/kg of dry wt.) of main terpenes in hinoki needle oils.

Note: Legend is the same as in Fig.1-2.

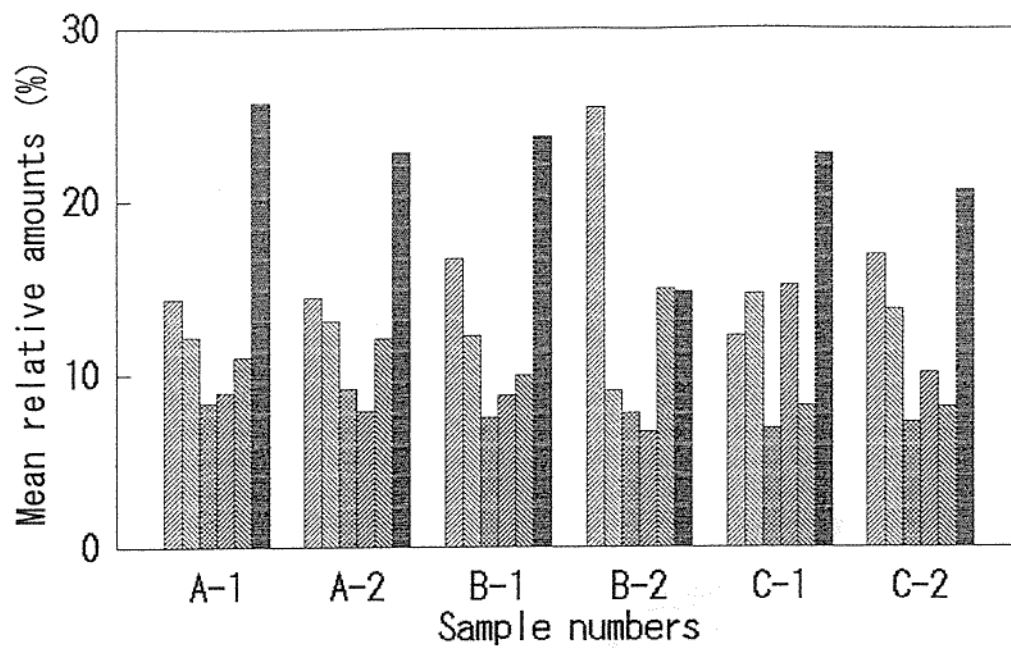


Fig.1-4. Mean relative amounts of main terpenes in hinoki needle oils during seven months.

Legend: : sabinene, : d-limonene,  
 :  $\gamma$ -terpinene, : bornyl acetate,  
 : terpinen-4-ol, : terpinyl acetate.

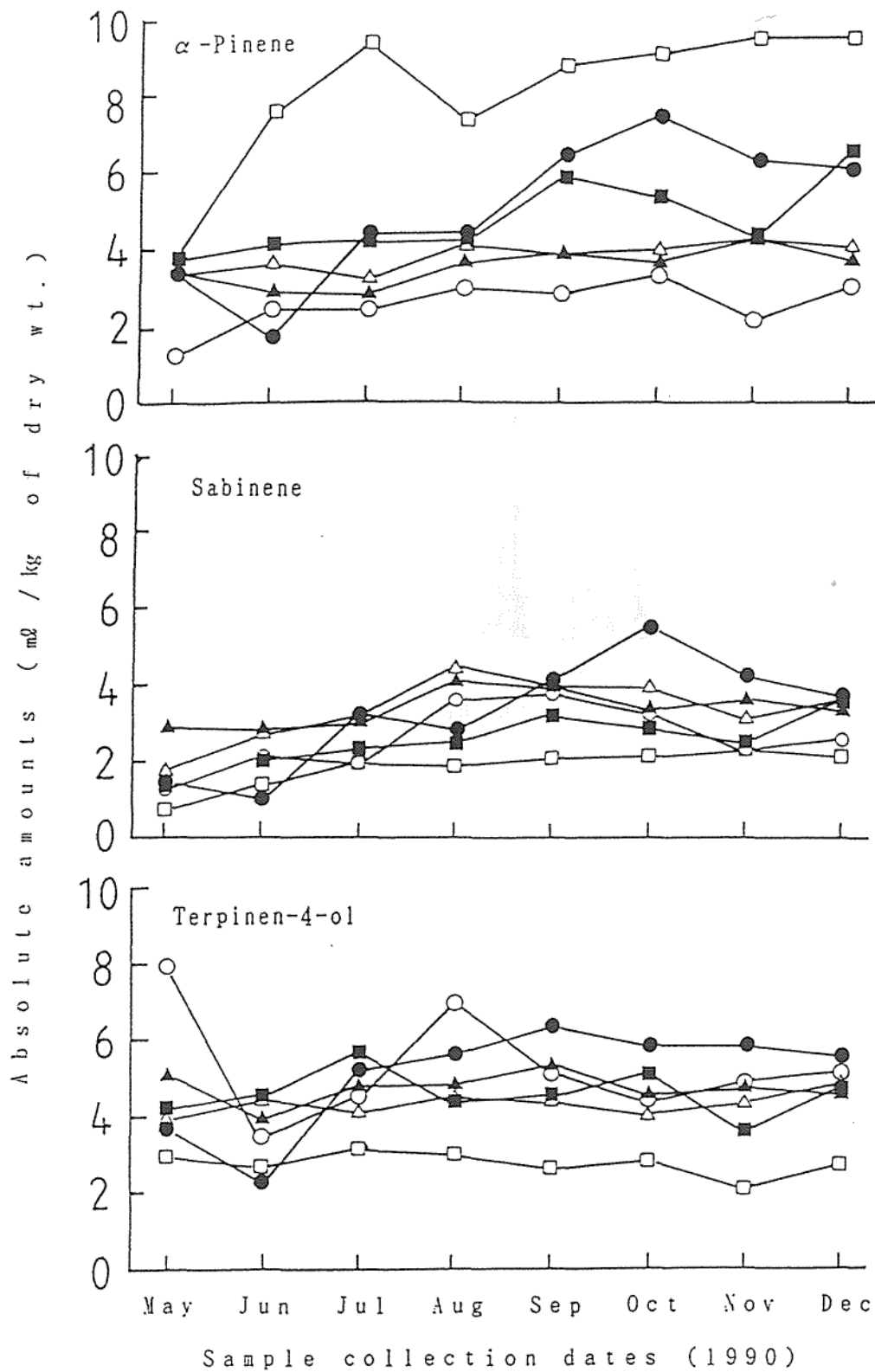


Fig.1-5. Absolute amounts (ml/kg of dry wt.) of main terpenes in sugi needle oils.

Note: Legend is the same as in Fig.1-1.

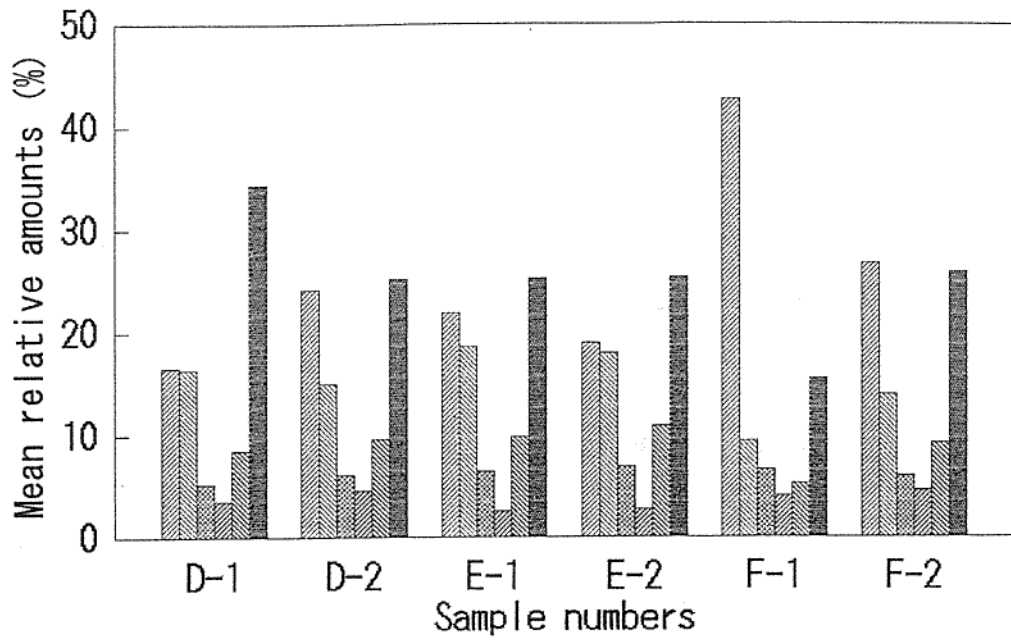


Fig. 1-6. Mean relative amounts of main terpenes in sugi needle oils during eight months.

Legend:  $\square$  (diagonal lines):  $\alpha$ -pinene,  $\square$  (cross-hatch): sabinene,  
 $\square$  (cross-hatch): myrcene,  $\square$  (diagonal lines): d-limonene,  
 $\square$  (diagonal lines):  $\gamma$ -terpinene,  $\square$  (cross-hatch): terpinen-4-ol.

#### 1. 4 結論

本実験において、同一地域で生育するヒノキ、スギの針葉精油収率とその季節変動、および主要テルペン成分の含量とその季節変動に、種々の形態が見られることが明らかとなった。同一地域の2試料間において、これら4因子が、(1)ほぼ類似するもの、(2)異なるもの、(3)精油収率の季節変動は類似するが、精油収率が異なり、テルペン成分の含量とその季節変動が異なるもの、(4)精油収率とその季節変動は類似するが、テルペン成分の含量とその季節変動が異なるものが見られた。また、ヒノキ、スギの針葉精油の主成分であるテルペン類には、ヒノキでは主に、サビネン、d-リモネン、テルピニルアセテートの量的な季節変動に個体差が見られ、スギでは主に、 $\alpha$ -ピネン、サビネン、テルピネン-4-オールの量的な季節変動に個体差が見られ、特異なテルペン成分割合を示した試料には、一部のテルペン成分間に高い相関が見られた。

これらのことから、針葉精油収率と、そこから生成する種々のテルペン化合物の含量の季節変動は、必ずしも一致しないことがわかる。これは、テルペン類の生合成過程において、ゲラニルピロリン酸までの生合成過程、すなわち精油収率として現れる過程と、そこから種々のテルペン化合物が生合成される過程とは、異なる遺伝因子および環境因子の作用を受けるということを示唆して

いる。

## 第2章 エチレンガスおよびエスレルによる

### ヒノキ幼苗から放散されるテルペン類の 化学組成変化 (加藤ら 1993B)

#### 2. 1 緒言

第1章において、ヒノキ、スギ針葉テルペン類の個体間における量的変動を、季節変動を通して検討した結果、針葉テルペン類の化学組成に個体差が見られた。この個体差は、他にもさまざまな樹種で見られ (Rudloffら 1975, 1985, Dagan 1988, Merk 1988), これらの個体差の生じる要因として、遺伝および樹木の周辺環境などが考えられているが、これら個体差の生じる機構については、いまだ解明されていない。

緒論で述べたように、植物が各種の傷害を受けると、多量のエチレンを生成するが、このような傷害によるエチレンの生成は、正常な生育状態で生成されるエチレンとはその生理的役割を異にするとされており (Abeles 1973), 傷害によって生成したエチレンは樹脂の進出を促し (Wolterら 1984), 傷害を受けたことのある樹木は、傷害を受けたことのない樹木と比較して、内樹皮に高濃度のモノテルペンを有する (Cookら 1988)。山中 (1986) は、針葉樹の樹幹が傷害を受けると、まず師部および形成層で生成される傷害エチレンによって傷害部の組織にフェノール類の生産が誘導され、微生物の進入



を阻止する。さらに、師部傷害樹脂道が形成され、病原菌や昆虫の進入に対して樹脂の浸出で防御する。その後、カルスや傷害組織を形成して内部の生活組織を保護する。このように、各種の傷害に対して、樹木は生理的ならびに形態的な一連の防御反応により樹体の自己保存を計ると推論している。

エチレンの生成によって、一連の傷害反応が開始されるのであれば、テルペン類の化学組成に変動が生じるのも当然のことと考えられる。さらに、エチレンはガス状植物ホルモンであることから、容易に周辺大気中に放出される。その放出されたエチレンを周囲の健全木が感知することによる傷害に対する未然の防御反応、すなわち樹木間相互作用を示すことも考えられる。

以上のことから、本研究ではエチレンが樹木から放出されるテルペン類の化学組成に影響を与えると推定し、その推定に基づいて、樹木が生育する周辺大気中にエチレンが混入された場合、および植物のエチレン発生剤であるエスレルを処理した場合における、樹木から放散されるテルペン類の組成変化をヒノキの幼苗（3年生）を用いて検討した。

## 2. 2 実験方法

ヒノキの幼苗（3年生、樹高：28～39 cm）を3本植えたポットをガラスハウス（80×67×44 cm、温度：23℃（±0.5℃）、湿度：80%（±5%）、照明時間：6:00～22:00）中に置き、

密閉して12時間放置した後、エチレン濃度1, 10, 100ppmの実験では、翌日9時から0, 3, 6, 9, 12, 22時間後の大気をTENAX法 (Yatagai 1984) により捕集 (300ml/min, 2hr) し、コントロールとした。そして、ガラスハウスを12時間開放し、その後再び密閉し、12時間放置した。そこで各濃度のエチレンをガラスハウス中に混入し、同様に所定の時間毎に大気を捕集した。エチレン濃度1000ppmの実験では、ポットをガラスハウス中に置き、密閉し12時間放置した後、翌日から4日間毎日、9時から21時まで3時間毎に大気を同様に捕集した。前半の2日間をコントロールとし、3日目の9時にエチレン処理の場合は1000ppm濃度のエチレンをガラスハウス中に混入した。また、エスレル処理の場合は、ポットをガラスハウス中に置き、密閉し12時間放置した後、翌日9時から0, 3, 6, 9, 12, 22時間後の大気を捕集し、コントロールとした。そして、ガラスハウスを12時間開放し、その後再び密閉し、12時間放置した。そこで0.5%濃度のエスレル溶液を100ml葉面に全面散布し、同様に所定の時間毎に大気を捕集した。捕集された大気は、随時ガスクロマトグラフ (GC) 分析 (Shimadzu GC-14A, DB-WAX(30m × 0.25mm i.d.), 60~70℃ 2℃/min, 70~245℃ 5℃/min, He:1.7ml/min, 51:1) に供した。エスレルは、日産化学工業株式会社製の日産エスレル10 (2-クロロエチルホスホン酸10%含有) を使用した。

## 2. 3 結果と考察

### 2. 3. 1 エチレンガスによるテルペン類の 放散量変化

第1章においてGCおよびガスクロマトグラフ-質量分析計により同定したヒノキ針葉中の11種のテルペン成分（ $\alpha$ -ピネン，カンフェン，サビネン，ミルセン，d-リモネン， $\gamma$ -テルピネン，p-シメン，テルピノレン，ボルニルアセテート，テルピネン-4-オール，テルピニルアセテート）について考察を行った。まず，気中に混入するエチレン量であるが，通常エチレンの作用発現開始の濃度は0.01ppm，最大の作用の半分の効果を現わすための濃度は0.1ppm，そして飽和濃度は1ppmと言われており（下川 1988），本実験では，気中に混入することから，エチレンを1ppm気中に混入することから始めた。

エチレンを1ppm，ヒノキ幼苗が生育するガラスハウス中に混入することによる，ヒノキ幼苗から放散されるテルペン類の化学組成の変化を調査したが，変化は見られず，エチレン濃度を10ppmにして再度実験を行っても，変化は見られなかった。さらに，エチレン濃度を100ppmにして実験を行ったところ，若干の変化が見られた（Fig. 2-1, 2-2）。Fig. 2-2の無処理時の放散量とFig. 2-1のエチレン100ppm混入時の放散量変化を比較すると，エチレンを100ppm混入した時には，無処理時に見られなかったサビネン，ミルセン，d-リモネンの放散量の増加が，翌

日の7時から9時の間に見られた。しかし、顕著な変化は見られなかったため、さらにエチレン濃度を1000ppmにして実験を行ったところ、大きな変化が認められた。

Fig.2-3, Fig.2-4にそれぞれ試料1, 試料2におけるエチレンを気中に1000ppm混入した際のテルペン放散量変化を、放散量の多かった6成分(サビネン, ミルセン, d-リモネン,  $\gamma$ -テルピネン, p-シメン, テルピノレン)について示す。試料1(Fig.2-3)では、テルピノレン以外の5成分の放散量がエチレン混入により増加した。特にサビネンにおいて、非常に大きな変化が見られた。放散量変化は、エチレン混入直後から見られ、12~14時間後まで放散量は一定で、24~26時間後にさらに放散量は増加し、27~29時間後に急激に減少した。試料2(Fig.2-4)では、試料1とは異なり、テルピノレンだけに、大きな変化が見られた。エチレン混入後12時間目に放散量の増加が見られ、24~26時間後に急激に増加した。他の5成分には、大きな変化は見られなかった。このように、エチレンを1000ppm混入することにより、モノテルペン類の放散量に2種類の大きな変化が生じた。そして、その2種類の変化はサビネンおよびテルピノレンの放散量において、非常に対称的であった。サビネンの放散量が増加した試料では、テルピノレンの放散量の増加は余り見られず、テルピノレンの放散量の増加が見られた試料には、サビネンの放散量の増加が余り見られなかった。試料1に見られるサビネンの放散量の増加と、試料2に見られるテルピノレ

ンの放散量の増加は、植物体内での、エチレンの作用機構および代謝機構が、テルペン生合成機構に、影響を及ぼすことによると思われる。エチレンの作用機構は、エチレンそのものが受容体に作用して生化学的反応を引き起こすとともに、エチレンがエチレン酸化酵素（エチレンモノオキシゲナーゼ）により、エチレンオキシドに変化し、受容体に結合して生化学的反応を引き起こすと考えられていることから（下川 1988）、樹体のエチレン酸化酵素の活性の程度により、エチレンのテルペン生合成系への作用形態が変化し、対称的な二種類の変化を示したのかも知れない。これら2試料で見られた放散量の変化は、生体外のエチレンに対する反応であり、他の生物が放出したエチレンにより、テルペン類の放散が促進されることを示している。すなわち、植物は他の植物が何らかの傷害を受けた際に放出されるエチレンを感知することによって、自らが傷害を受ける前に、事前に防御反応を示すということを示唆している。

Fig.2-5に斬新落葉現象を起こしていた試料3における生体外エチレンによるテルペン放散量変化を示す。植物体は落葉に先立ち、植物体内のエチレン量および体外のエチレン量が急増すること（下川 1988）が知られており、無処理時のテルペン放散量が多いのは、前記のエチレンの影響を含めた離層形成時に生じる生体内の変化によるものと思われる。エチレンを気中に混入しても、顕著な変化は示していないが、エチレン混入期間と無処理

期（コントロール）のテルペン成分の平均放散量の差異を調べると（Fig.2-6），エチレン混入によるサビネン，d-リモネンを主としたテルペン成分の放散量の増加が認められる。Fig.2-6に示されるように，4日間無処理のコントロール（後半2日間と前半2日間の差異）に対して，エチレン処理した3試料とも，平均放散量においてテルペン成分の増加が見られ，エチレンがヒノキ幼苗からのテルペン類の放散を増加させることを示している。

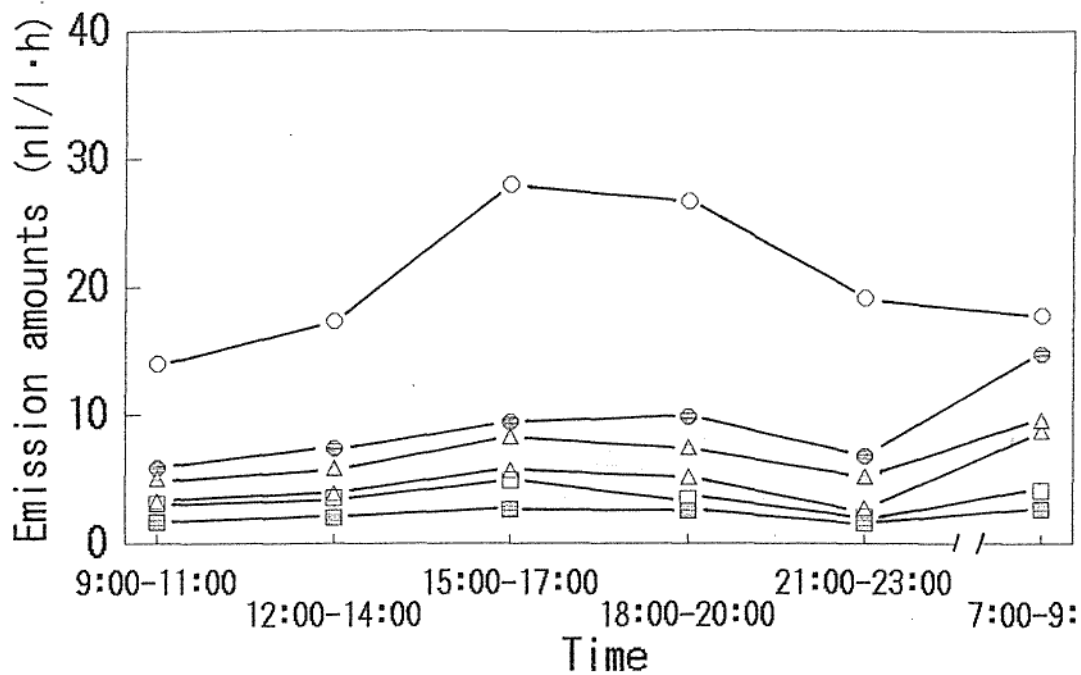


Fig. 2-1. Amounts of emissions of terpenes from the ethylene treatments (100ppm) of hinoki seedlings.

Legend: ○:  $\alpha$ -pinene, ●: sabinene, △: myrcene,  
 ▲: d-limonene, □: p-cymene, ■: bornyl acetate.

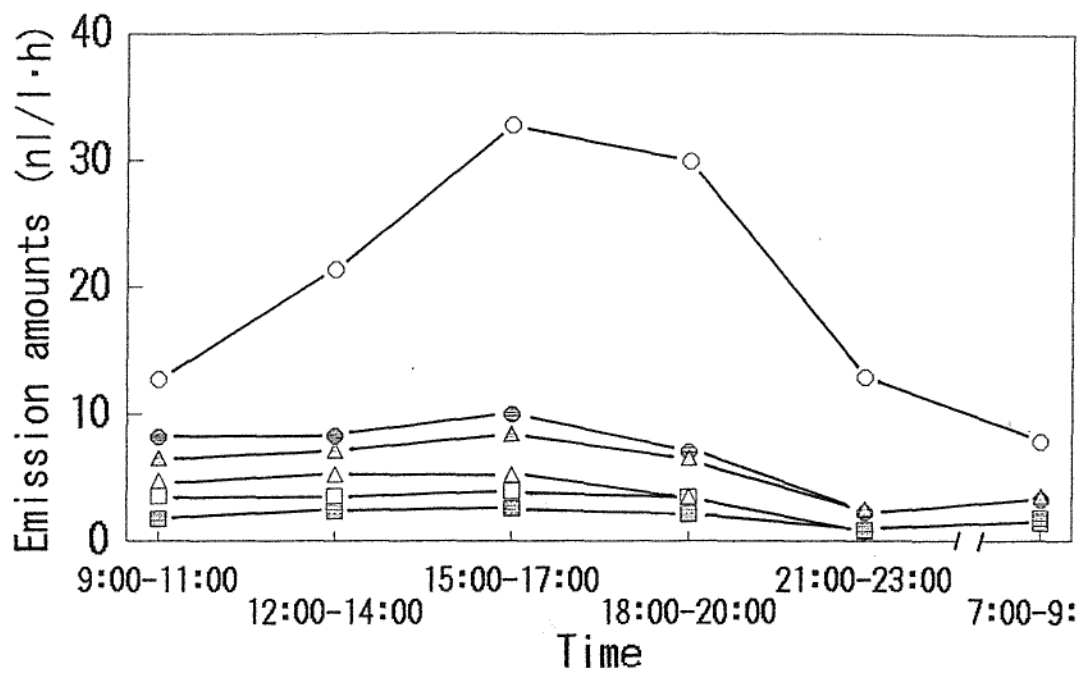


Fig. 2-2. Amounts of emissions of terpenes from hinoki seedlings:  
 Legend: ○:  $\alpha$ -pinene, ●: sabinene, △: myrcene,  
 ▲: d-limonene, □: p-cymene, ■: bornyl acetate.



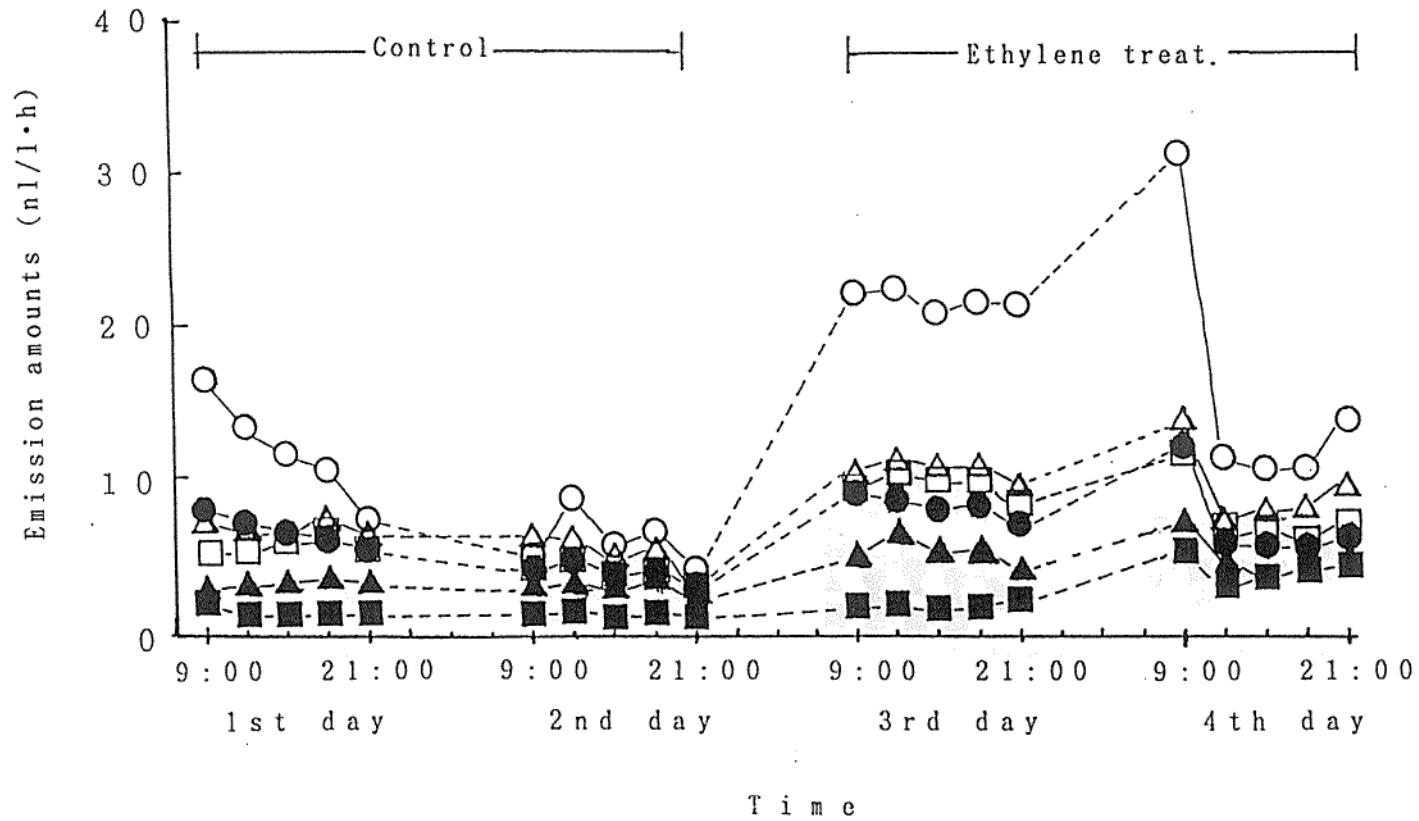


Fig.2-3. Amounts of emissions of terpenes from the controls and ethylene treatments of hinoki seedlings (Sample 1).

Legend: ○: sabinene, ●: myrcene, △: d-limonene,  
▲:  $\gamma$ -terpinene, □: p-cymene, ■: terpinolene.

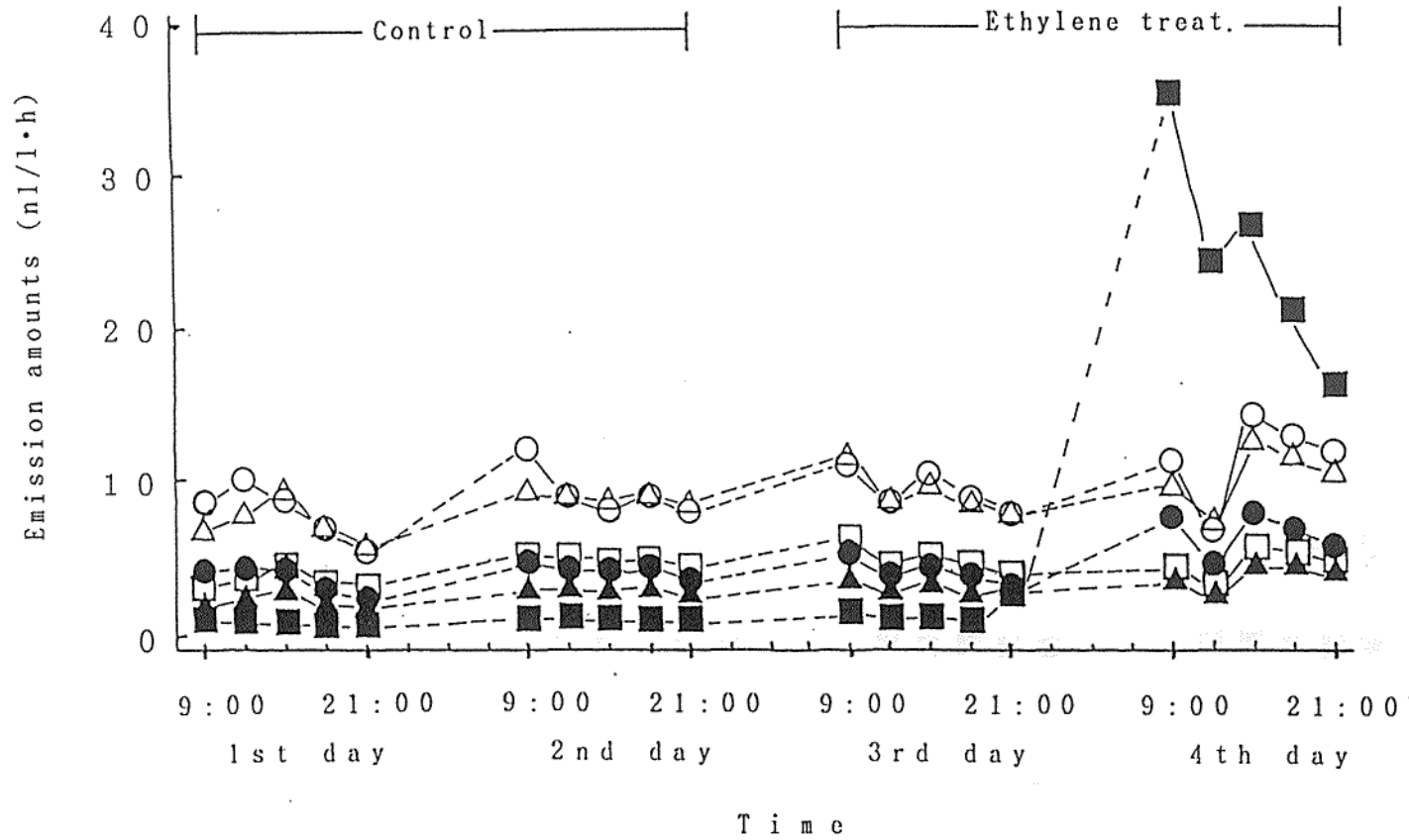


Fig. 2-4. Amounts of emissions of terpenes from the controls and ethylene treatments of hinoki seedlings (Sample 2).

Legend: ○: sabinene, ●: myrcene, △: d-limonene,  
▲: γ-terpinene, □: p-cymene, ■: terpinolene.

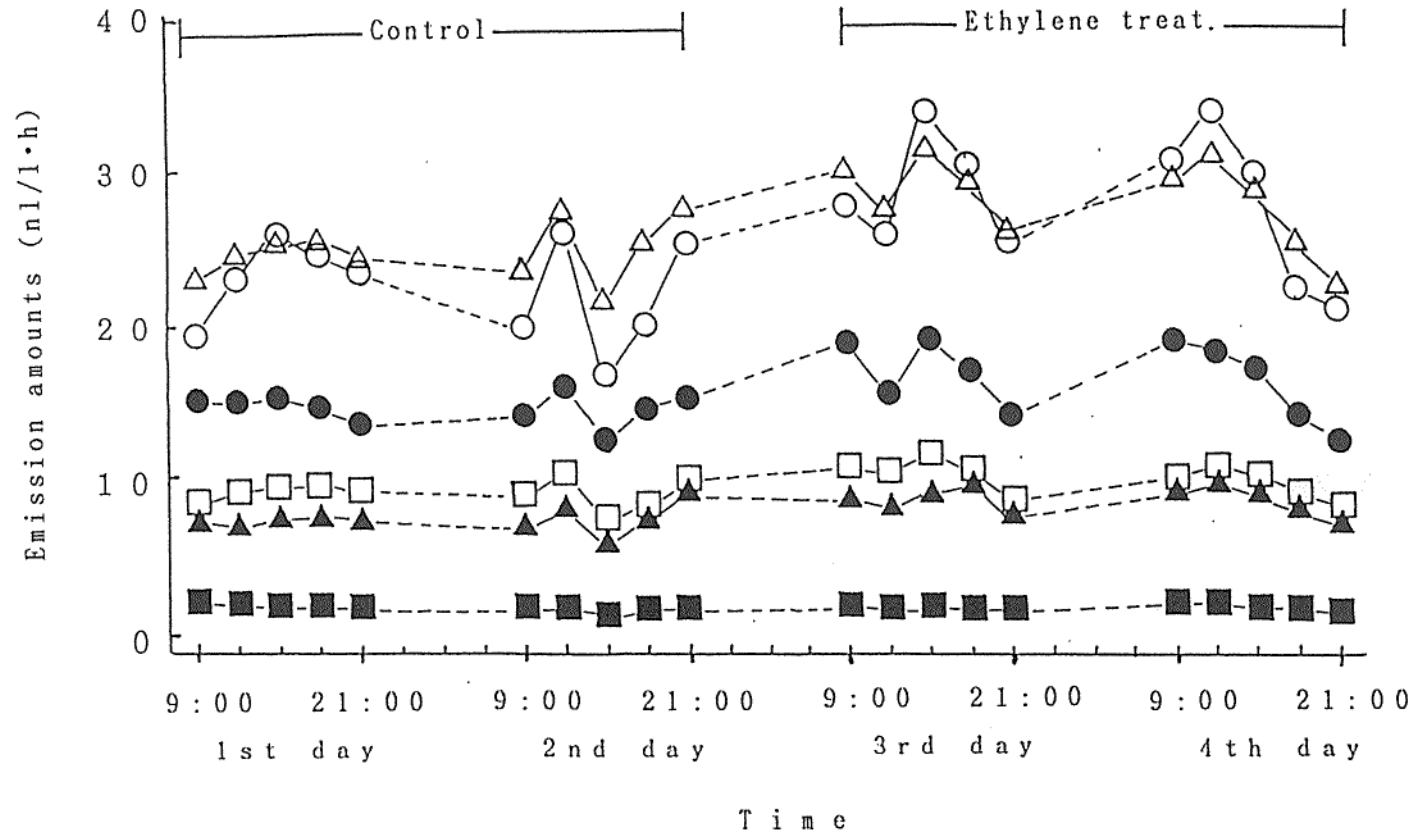


Fig.2-5. Amounts of emissions of terpenes from the controls and ethylene treatments of hinoki seedlings (Sample 3).

Legend: ○: sabinene, ●: myrcene, △: d-limonene,  
▲:  $\gamma$ -terpinene. □:  $\alpha$ -cymene. ■: terpinolene

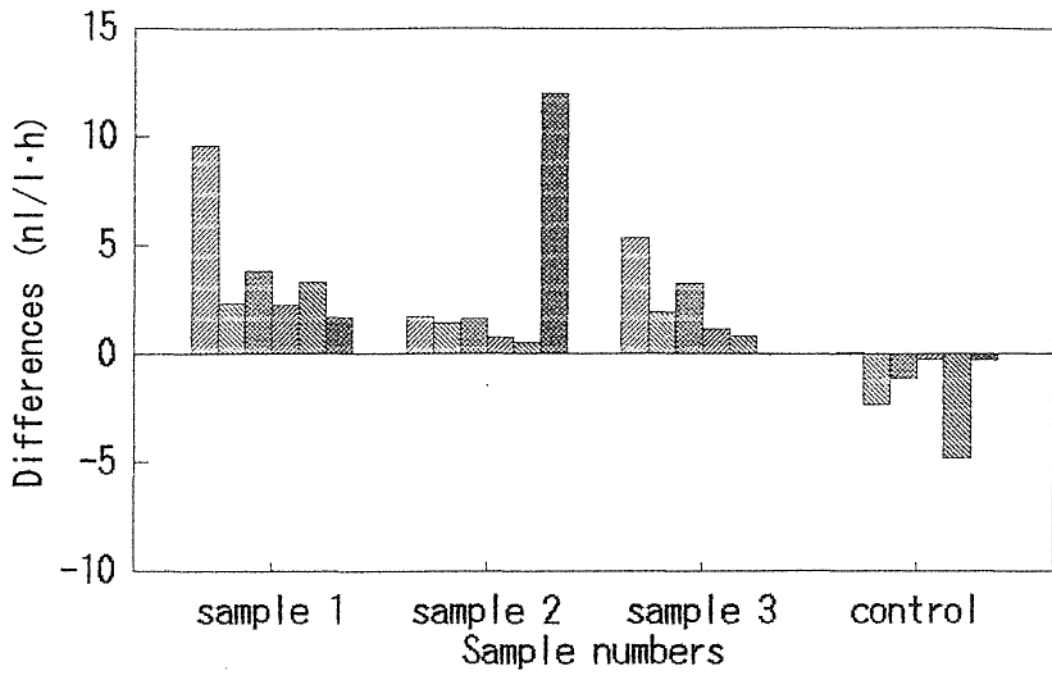


Fig.2-6. Differences in average amounts of emissions of terpenes between the ethylene treatments and controls of hinoki seedlings.

Legend: : sabinene, : myrcene, : d-limonene,  
:  $\gamma$ -terpinene, : p-cymene, : terpinolene.

Note: Control in the figure means the differences in the average amounts of emissions of terpenes between the last two and first two days of hinoki seedlings which were not treated with ethylene.

## 2. 3. 2 エスレル処理によるテルペン類の 放散量変化

Fig.2-7, Fig.2-8にそれぞれ試料4, 試料5におけるエチレン発生剤であるエスレルを処理した場合のテルペン放散量変化を, 放散量の多かった6成分 ( $\alpha$ -ピネン, サビネン, ミルセン, d-リモネン, p-シメン, ボルニルアセテート) について示す。なお, このエスレルと呼ばれる薬剤は, 2-クロロエチルホスホン酸の構造を有し, pH 4以上でエチレンを発生する。試料4(Fig.2-7)では, コントロールにおいて $\alpha$ -ピネンの放散量が最も多く, ついでd-リモネンの放散量が多かった。ところが, エスレル処理によって, コントロールでは放散量が僅かであったボルニルアセテートの多量の放散が見られた。また, d-リモネンが $\alpha$ -ピネンの放散量を上回った。試料5(Fig.2-8)では, コントロールにおいて全体的に放散量は徐々に低下した。特にサビネンは大きく減少した。ところが, エスレル処理することによって, サビネンおよびボルニルアセテートの放散量が増加し,  $\alpha$ -ピネンの放散量が減少した。エスレル処理することによって2試料とも, ボルニルアセテートの放散量が増加し, 相対的に $\alpha$ -ピネンの割合が減少した。針葉樹はテルペン類や他の防御物質を蓄積して傷害に対応するが, 傷害を受ける前に蓄えられていた代謝物質が, 離れた場所から転流によって傷害部に到達するのか, 傷害部分で新たに生合成されるのかが明確ではなかったが, Lewinsohnら (1991) の実験によって

少なくとも数種の針葉樹において、傷害を受けると傷害部のモノテルペンシクラーゼ活性が激増することが明らかにされており、針葉樹は樹種によって傷害の際のテルペン生合成に関する防御法が異なることが解明されてきている。ロジポールパインのように、正常樹脂道を持ち常に多量の樹脂を生合成しているものは、傷害の際にその蓄積された樹脂を放出するが、グランドファーのような樹脂量の少ないものは傷害の際に樹脂が急激に生合成される。さらに、グランドファーの樹幹に傷害を起こすとモノテルペンシクラーゼ活性が増加するだけでなく、 $\alpha$ -ピネンおよび $\beta$ -ピネンの割合が増加する (Savageら 1991)。草本植物にエスレル処理しても、伸長成長は阻害されるが、精油量は増加する (Farooqiら 1988)。正常樹脂道を有しないヒノキはグランドファー型であり、エスレル処理によって増加したボルニルアセテートは新たに生合成されたものであると考えられる。ボルニルアセテートは、ピネンを氷酢酸、ホウ酸と加熱還流させて分留するか、あるいはピネンをギ酸水溶液で処理すると生じることから、エスレル処理することによって、生体内で $\alpha$ -ピネンがボルニルアセテートに転化している可能性がある。樹木が病虫害を受けると、初期の段階にテルピネン-4-オールやボルニルアセテートなどの含酸素モノテルペンが放出されるという報告 (Bergerssonら 1989) もあり、本研究の結果と適合する。また、エスレルは植物に散布されると、植物体内の加水分解酵素の働きによ

って、植物組織中においてエスレルが遊離酸に分解され、エチレンが発生すると考えられている（高橋 1973）ため、エチレンを気中に混入する生体外エチレンに対して、エスレル処理は生体内エチレンを発生させる。ボルニルアセテートの放散量の増加は、生体外エチレンに対しては見られなかったため、生体内エチレン特有の反応と思われる。エチレンは植物体が傷害を受けた際やパラコート処理（Birchenら 1979）などによって、多量に放出される。Telewskiら（1983）は、3ヶ月の幼苗にエスレル処理を施し、3ヶ月後に成長量をコントロールと比較したところ、樹高は約半分、樹幹の直径が厚く、樹皮が発達し、針葉の長さが短いことが観察され、また、イメージアナライザーによる組織観察では、エスレル処理によって仮道管が短く細くなり、細胞壁の肥大によって仮道管内腔が圧迫されて減少する。また、木部では樹脂道の占める割合が非常に増加すると報告している。このような現象が生じるのは、エチレンが直接作用しているのか、オーキシシンとジベレリンのバランスのとれた比率が、エチレンがオーキシシンの転流を阻害することで崩されるためなのかは明らかになっていないが、エスレル処理によって樹体内にかなりの変化が生じ、いわば、植物体が傷害を受けた際の反応と類似の反応を示す（Wolterら 1984）。さらに推察すると、エスレル処理はエスレル溶液を散布することによって生じる接触刺激によって、メチオニンからS-アデノシルメチオニン（SAM）、1-アミノ

シクロプロパン-1-カルボン酸 (ACC) を経て生合成されるエチレン (下川 1988, 松岡 1990, 丸茂 1990) を生成し, かつ, エスレルが加水分解酵素によって生成するエチレンによって, 通常のエチレンによる反応を増大させていると考えることもできる。菌に感染した植物にエスレル処理を施すと, 植物の種類とその植物に侵入する病原菌の種類によって, 病原菌の成長を増進したり, 逆に阻害したりとさまざまな効果を示す。キュウリの葉に菌 (*Colletotrichum lagenarium*) を接種すると, 3日後にはエチレンが多量に発生し, 菌の成長を促進する。それとともにパーオキシダーゼ活性も大きく増加する (Bilesら 1990)。このようにエチレンは, パーオキシダーゼやヒドロキシプロリン-リッチグリコプロテイン (HRGP) などのタンパク質を誘導することが解っており, この作用がさまざまな変化を示す要因ではないかと現在考えられているが, エチレンの作用は非常に多様でその原因が解明されていないため, 個々の種について調査しなければならない。

本研究において, 生体外エチレンは, 植物体内で生体内エチレンが発生するような過程を経ていないため, 他の生物が放出したエチレンと考えることができる。そのため, エスレル処理によるボルニルアセテートの放散量の変化は, 傷害反応であると推定され (この処理が樹体の抵抗性を増加させるか否かは不明), 生体外エチレンによるテルペン放散量の変化は, 前述のように, エチレ



ンを感知することによる，植物体の防御反応であると推察できる。成熟木と幼苗のモノテルペンシクラーゼ活性は類似し，幼苗はテルペン類を基にした防御機構の評価に有効である（Lewinsohnら 1991）ことから，Baldwinら（1983）の，樹木中の成分の化学的不均一性は，空気伝達による樹木の相互作用によるものであるという示唆および，また，その空気伝達物質は，エチレンではないかという推論と，本研究の結果は合致する。

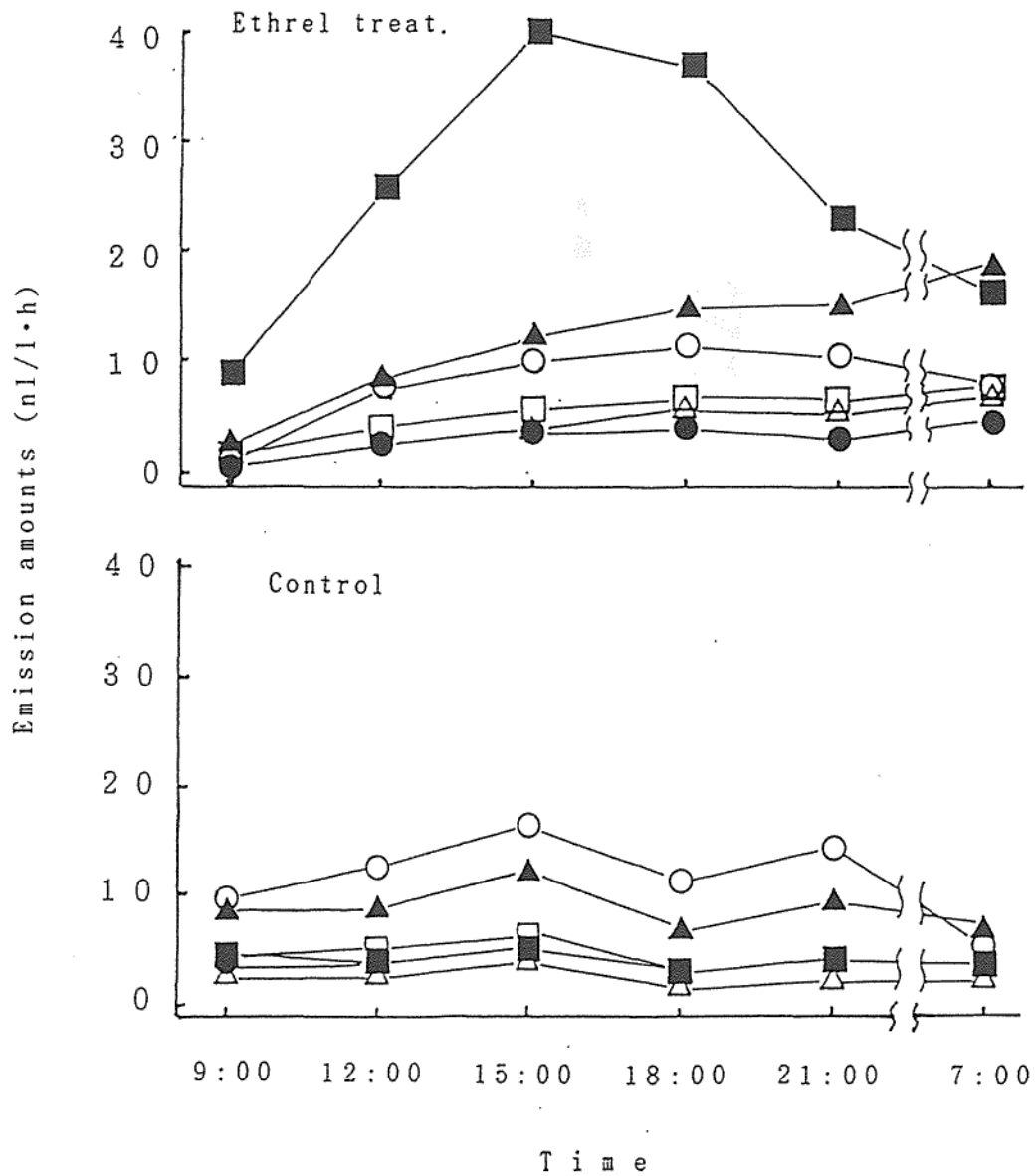


Fig. 2-7. Amounts of emissions of terpenes in the ethrel treatments (upper) and controls (bottom) of hioki seedlings (Sample 4).

Legend:  $\circ$ :  $\alpha$ -pinene,  $\bullet$ : sabinene,  $\triangle$ : myrcene,  
 $\blacktriangle$ : d-limonene,  $\square$ : p-cymene,  $\blacksquare$ : bornyl acetate.

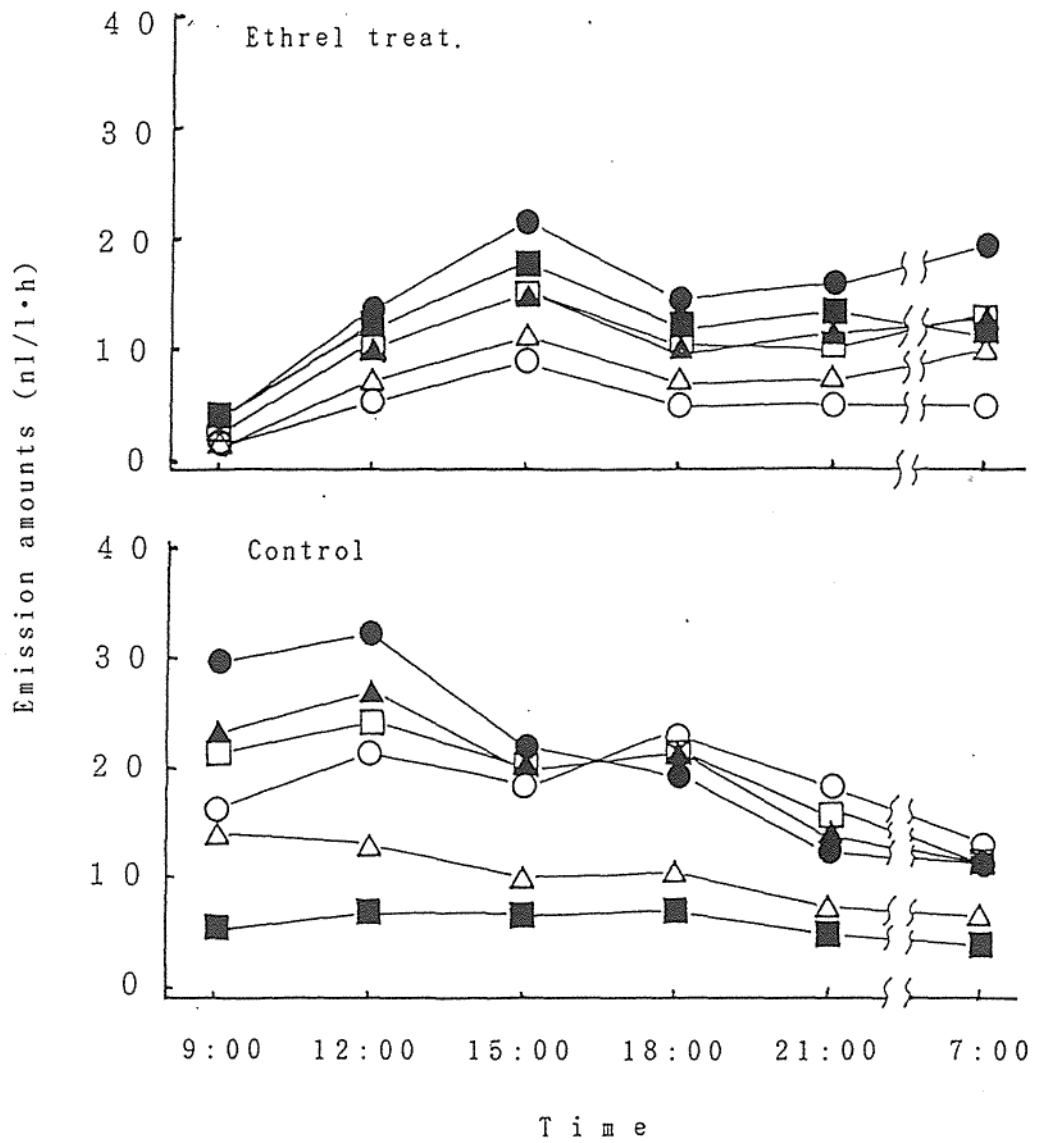


Fig. 2-8. Amounts of emissions of terpenes in the ethrel treatment (upper) and controls (bottom) of hioki seedlings (Sample Legend: ○:  $\alpha$ -pinene, ●: sabinene, △: myrcene, ▲: d-limonene, □: p-cymene, ■: bornyl acetate.)

## 2. 4 結論

第1章において明らかとなった同一樹種間のテルペン類の化学組成における個体的変動について、個体変動が生じる原因の2大要因である遺伝因子と環境因子の、環境因子の点から考察した。そこでテルペン類の変動要因と、エチレンが樹木から放散される要因とが類似することから、ガス状植物ホルモンであるエチレンに着目し、エチレンがテルペン類の化学組成に影響を与えると推定した。その推定に基づいて、エチレンによるヒノキ幼苗から放散されるテルペン類の化学組成の変化を究明した結果、エチレンをヒノキ幼苗が生育する環境大気中に、1000ppm混入することによって、テルペン放散量が変化した。放散量変化は、試料によって異なり、サビネンが多量に放散されたものと、テルピノレンが多量に放散されたものが見られた。また、0.5%濃度のエスレルを葉面に全面散布処理することによって、ボルニルアセテートの放散量が増加し、 $\alpha$ -ピネンの放散量が減少した。エチレンを気中に混入した場合と、エスレル処理した場合のテルペン放散量の変動が異なったことから、樹木が他の生物から放出されたエチレンを感知することにより、防御反応としてテルペン類の化学組成を変動させる、すなわち樹木間相互作用を示すことが示唆された。

### 第3章 エチレンガスによるヒノキ幼苗から放散される テルペン類の変動形態（加藤ら 1994）

#### 3. 1 緒言

第2章において、ヒノキの幼苗が生育するガラスハウス内に、エチレンを混入させることにより、ヒノキ幼苗から放散されるサビネンおよびテルピノレンの放散量が、大きく変化し、またエスレル処理によるテルペン成分の放散量変化と大きく異なったことから、エチレンによるテルペン成分の放散量変化は、樹木の防御作用であることが示唆された。これらの変化をさらに的確に把握するため、本章では9試料（27本）のヒノキの幼苗を用いて、エチレンによるヒノキ幼苗から放散されるテルペン類の放散量と放散割合の変化および、エチレンの作用の発現開始時期と持続時間をさらに検討した。

#### 3. 2 実験方法

ヒノキの幼苗（3年生，樹高：35～47cm）を3本植えたポットをガラスハウス（80 × 67 × 44cm，温度：23℃（±0.5℃），湿度：80%（±5%），照明時間：6時～22時）中に置き，密閉して12時間放置し，翌日の9時にTENAX法により無処理時のガラスハウス内の大気を捕集（300ml/min，2hr）し，12時にエチレンをガラスハウス中に1%濃

度になるように混入して、同様に大気を捕集した。翌日の9時まで19時間放置した後、再び大気を捕集した。エチレンの作用発現開始時期の測定では、エチレン混入までは同様に大気を捕集し、エチレンを混入した直後および、翌日の0時、3時、6時、9時に大気を捕集した。また、エチレンの作用の持続時間の測定では、エチレンを混入する4、2、1日前の12時に大気を捕集し、エチレンを混入した直後および1、2、5、10日後の12時に随時大気の捕集を行った。捕集した大気は随時、ガスクロマトグラフ(GC)分析(Shimadzu GC-14A, DB-WAX(30m × 0.25mm i.d.), 60~70°C 2°C/min, 70~245°C 5°C/min, He:1.7ml/min, 51:1)に供した。

### 3. 3 結果と考察

#### 3. 3. 1 エチレンガスによるテルペン放散量の変動形態

ヒノキの幼苗が生育するガラスハウス中に、エチレンを1%混入することによって、9試料のうちの8試料で、ヒノキ幼苗から放散されるサビネンの放散量が増加し、5試料でテルピノレンの放散量が増加した(Fig.3-1~3-9)。サビネンの放散量が増加した試料には、エチレン混入直後から増加し、21時間後にさらに増加したものが3試料、エチレン混入直後に増加し、21時間後には一定のものが3試料、エチレン混入直後には増加せず、21時間後に増加

したものが2試料見られた。テルピノレンの放散量が大きく増加したのは、5試料とも、エチレン混入から21時間後に測定した時であった。

エチレンを混入することによって変化した、ヒノキ幼苗から放散されるサビネンとテルピノレンの2成分を合わせて考えると、エチレン混入によってサビネンの放散量が増加したもの(Type 1)、テルピノレンの放散量が増加したもの(Type 2)、サビネンとテルピノレンの両成分が増加したもの(Type 3)の3タイプが見られた。

Type 1(Fig.3-3,3-5,3-6,3-9)ではエチレン混入直後にサビネンの放散量だけが増加し、21時間後にもミルセン、d-リモネン、テルピノレンで若干の増加は見られるものの、サビネンだけが大きく増加した。Type 2(Fig.3-1,3-4)では、エチレン混入直後にサビネン、ミルセンが若干増加し、21時間後にテルピノレンが非常に大きく増加した。ミルセンにも若干の増加が見られた。Type 3(Fig.3-2,3-7,3-8)では、サビネンがエチレン混入直後から21時間後まで増加を続け、ミルセン、テルピノレンが21時間後に増加し、エチレンを混入することによって、サビネン、もしくはテルピノレンの放散量に大きな変化が見られた。Type 2のようにテルピノレンの放散量の大きな変化が見られるものと、そうでないものとが見られるのは、どのような要因によるのか、非常に興味深い問題である。

次にこれらエチレン混入によるモノテルペン放散量の変化を主要成分であるサビネン、ミルセン、d-リモネン、

γ-テルピネン, p-シメン, テルピノレンについて検討した (Fig. 3-10~3-15)。サビネンの放散量 (Fig. 3-10) では, 試料Aを除き, エチレンを混入してから21時間後には, 処理前より放散量が増加した。試料Aにおいても, エチレン混入直後には放散量の増加が見られた。前述のように, サビネンの放散量はエチレン混入によって大きく増加した。ミルセンの放散量 (Fig. 3-11) においても, 試料Aを除いた8試料でエチレン混入による放散量の増加が見られた。特に, 試料Gにおいて顕著な放散量の増加が見られた。d-リモネンの放散量 (Fig. 3-12) においては, エチレン混入による放散量の増加が見られたのは, 試料CおよびGだけで, 残りの7試料には顕著な変化は見られなかった。γ-テルピネンの放散量 (Fig. 3-13) では, 試料B, C, E, F, Gで若干の増加が見られたが, 他の4試料には変化が見られなかった。p-シメンの放散量 (Fig. 3-14) では, 試料Cにのみ, 放散量の増加が見られた。テルピノレンの放散量 (Fig. 3-15) では, 前述のようにエチレン混入から21時間後に5試料で顕著な放散量の増加が見られた。特に試料Dにおいて, 顕著な増加が見られた。

Table 3-1に, エチレン混入による, ヒノキ幼苗から放散されるサビネンおよびテルピノレンの放散割合を示す。この放散割合は, ヒノキ幼苗から放散されるテルペン類の主要成分9種, サビネン, ミルセン, d-リモネン, γ-テルピネン, p-シメン, テルピノレン, ボルニルアセテート, テルピネン-4-オール, テルピニルアセテートを,



100として表したものである。エチレン混入によるサビネンの放散割合の変化を見ると、エチレン混入直後には放散割合に大きな変化はなく、2日目に9試料中7試料で割合が減少した。しかし、2日目の放散量は9試料中7試料で増加している。また、テルピノレンの放散割合の変化を見ると、エチレン混入直後にはほとんど変化は見られず、2日目に5試料で2.2~10.0倍の放散割合の増加が見られた。モノテルペン類は、3-ヒドロキシメチル-3-グルタリルCoA (HMG-CoA) からメバロン酸、ゲラニルピロリン酸 (GPP) を経て生合成される (大石 1990) が、その生合成量を調節しているのは、主としてHMG-CoAの還元を触媒する HMG-CoAレダクターゼの活性度であろう (井上ら 1976) と言われており、また、GPPから各種モノテルペンへの変換は、モノテルペンシクラーゼによって行われている (Lewinsohnら 1991)。モノテルペンシクラーゼは、メバロン酸経路における他の生成物からテルペンに炭素を流用する働きを持つ分岐酵素であるため、テルペン生合成において非常に重要な役割を担う。また、樹木のモノテルペンシクラーゼ活性の程度によって、さまざまなモノテルペンの異性体の相対量が決定される (Savageら 1991)。これらのことから、エチレン混入後2日目のサビネンの放散割合の減少と放散量の増加および2日目のテルピノレンの放散割合の増加は、これらの変化が生合成によるものであるとすれば、エチレンもしくは、エチレンの代謝物質が、HMG-CoAレダクターゼの活性およびテルピ

ノレンの合成を触媒する酵素の活性を促進することによると推察される。また、サビネンはエチレン混入直後に放散量の増加が9試料中7試料に見られたのに対し、テルピノレンの放散量の増加は、翌日にしか見られなかった。このサビネンとテルピノレンの放散量変化の時間的差異は、エチレンとその代謝物質であるエチレンオキシドに対するサビネン合成酵素とテルピノレン合成酵素の反応の差異によるものと推定される。

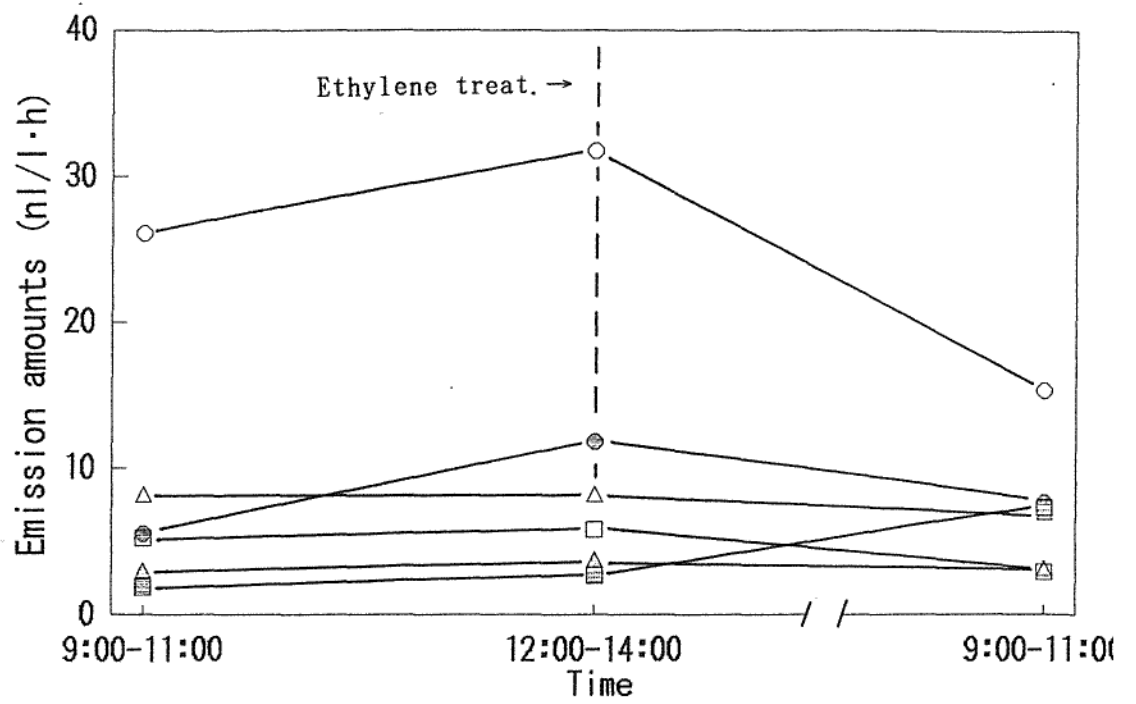


Fig. 3-1. Effects of ethylene treatments on the amounts of emission of monoterpenes from hinoki seedlings (Sample A, Type 2).

Legend: ○: sabinene, ●: myrcene, △: d-limonene,  
 ▲:  $\gamma$ -terpinene, □: p-cymene, ■: terpinolene.

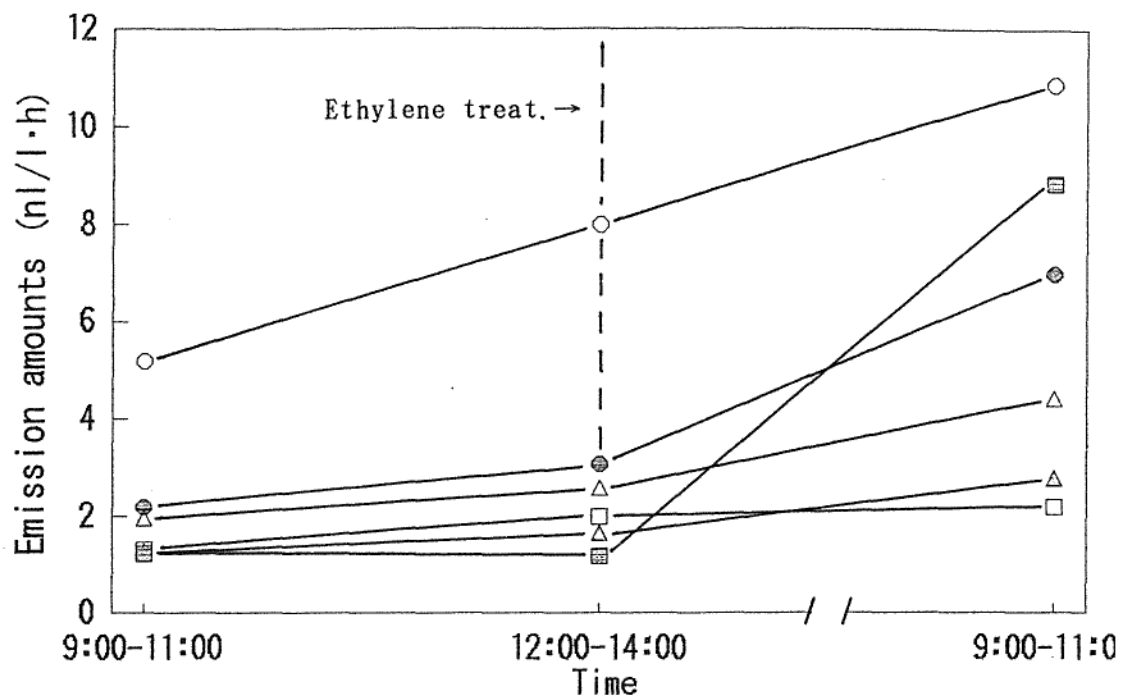


Fig. 3-2. Effects of ethylene treatments on the amounts of emissions of monoterpenes from hinoki seedlings (Sample B, Type 3).

Legend: ○: sabinene, ●: myrcene, △: d-limonene,  
▲:  $\gamma$ -terpinene, □: p-cymene, ■: terpinolene.

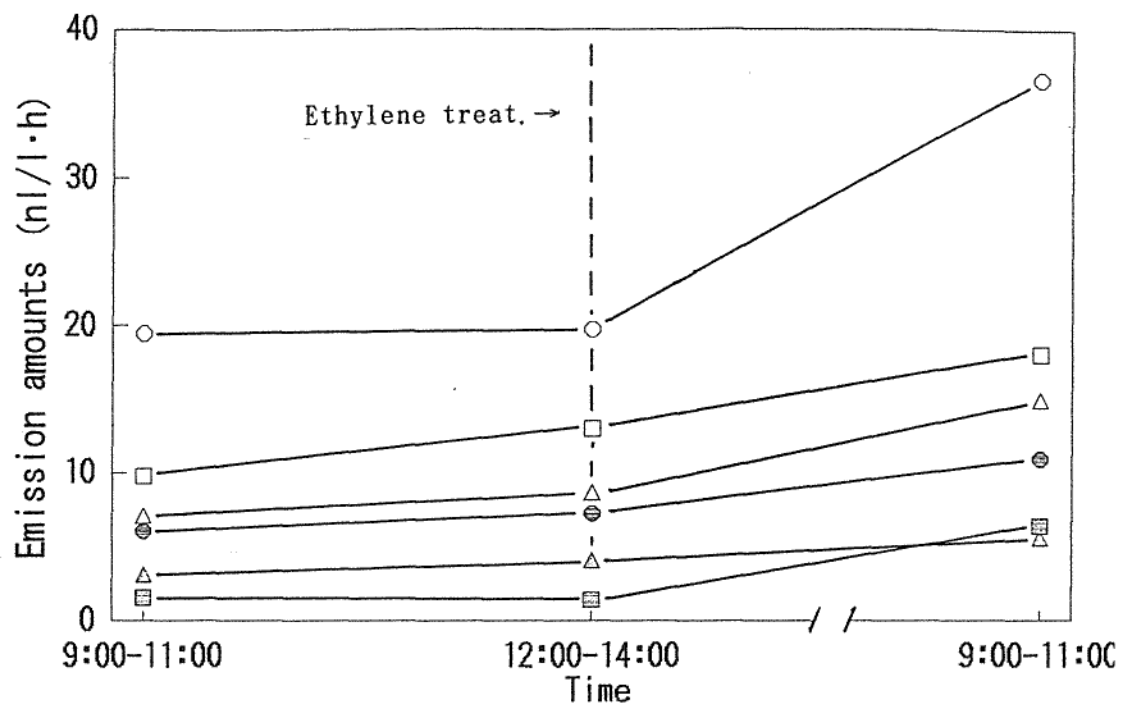


Fig. 3-3. Effects of ethylene treatments on the amounts of emissions of monoterpenes from hinoki seedlings (Sample C, Type 1).

Legend: ○: sabinene, ●: myrcene, △: d-limonene,  
 ▲: γ-terpinene, □: p-cymene, ■: terpinolene.

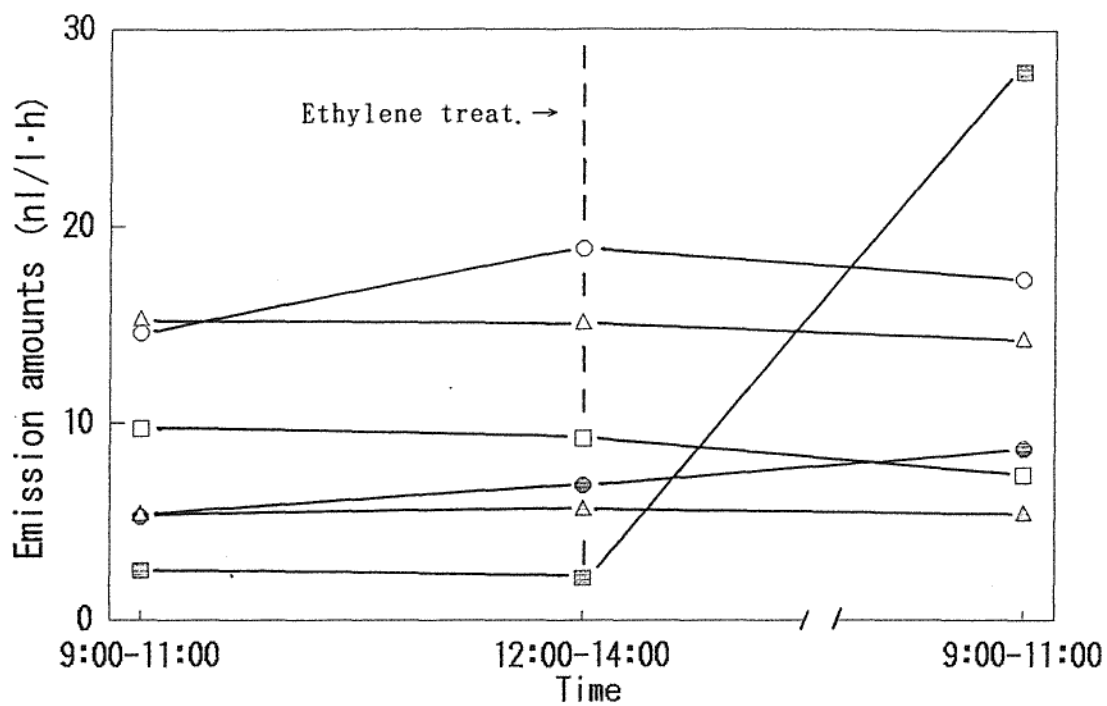


Fig. 3-4. Effects of ethylene treatments on the amounts of emissions of monoterpenes from hinoki seedlings (Sample D, Type 2).

Legend: ○: sabinene, ●: myrcene, △: d-limonene,  
 ▲:  $\gamma$ -terpinene, □: p-cymene, ■: terpinolene.

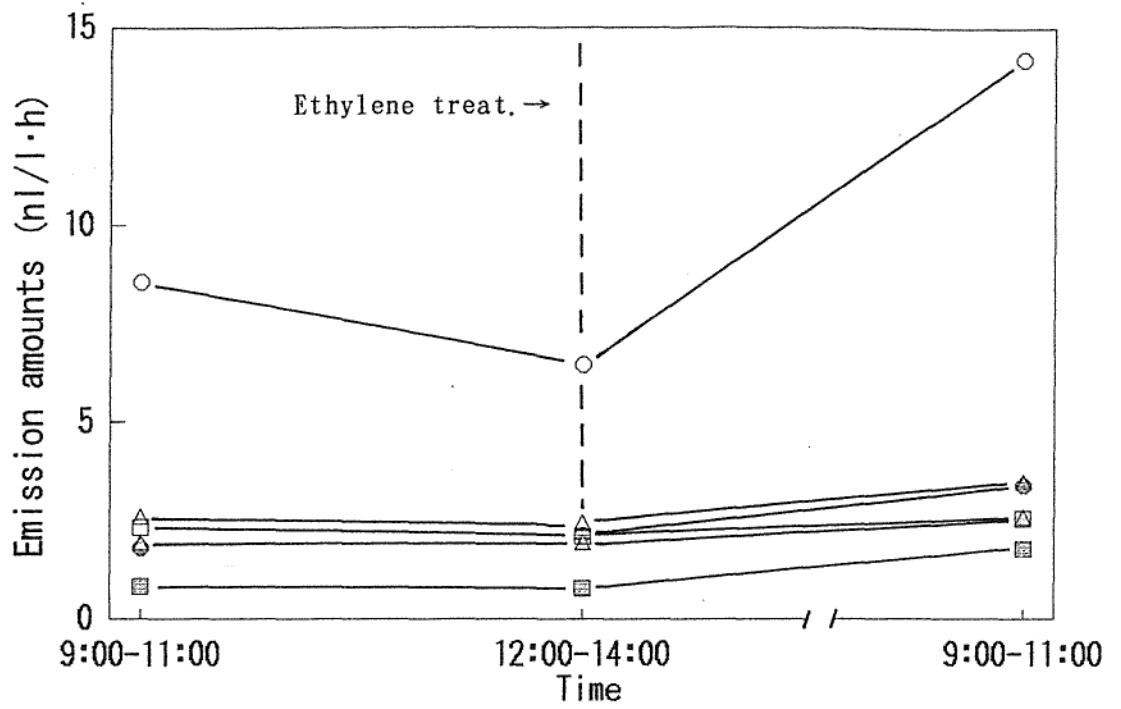


Fig. 3-5. Effects of ethylene treatments on the amounts of emissions of monoterpenes from hinoki seedlings (Sample E, Type 1).

Legend: ○: sabinene, ●: myrcene, △: d-limonene,  
 ▲:  $\gamma$ -terpinene, □: p-cymene, ■: terpinolene.

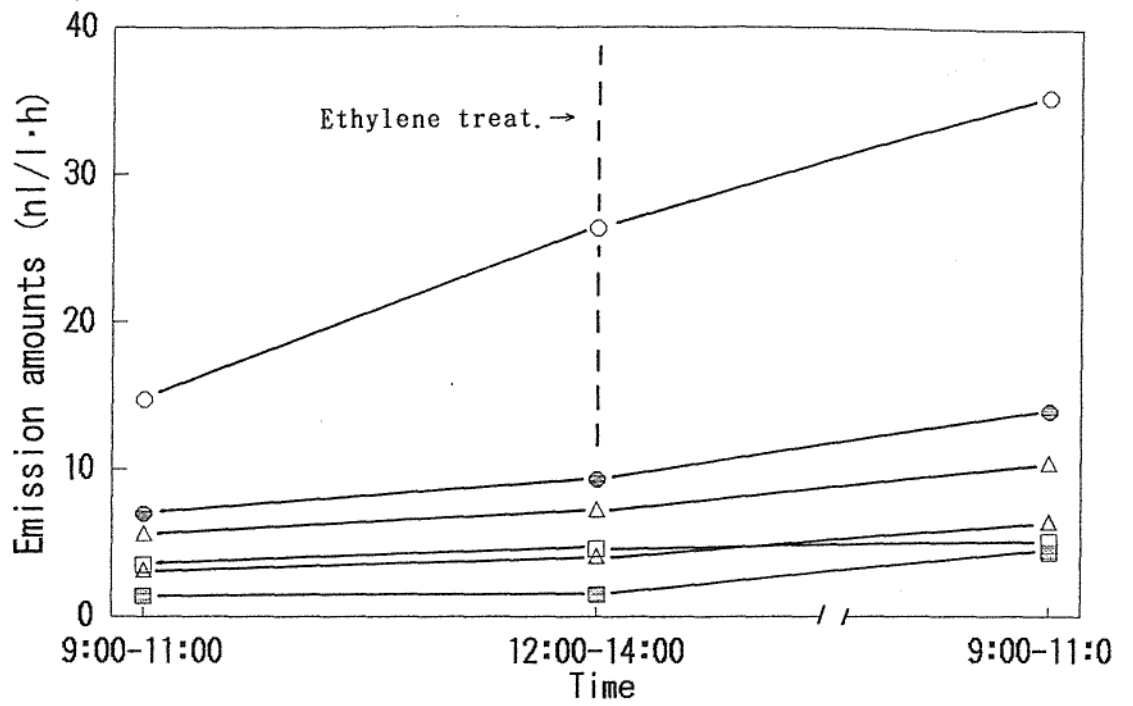


Fig. 3-6. Effects of ethylene treatments on the amounts of emissions of monoterpenes from hinoki seedlings (Sample F, Type 1).

Legend: ○: sabinene, ●: myrcene, △: d-limonene,  
 ▲:  $\gamma$ -terpinene, □: p-cymene, ■: terpinolene.



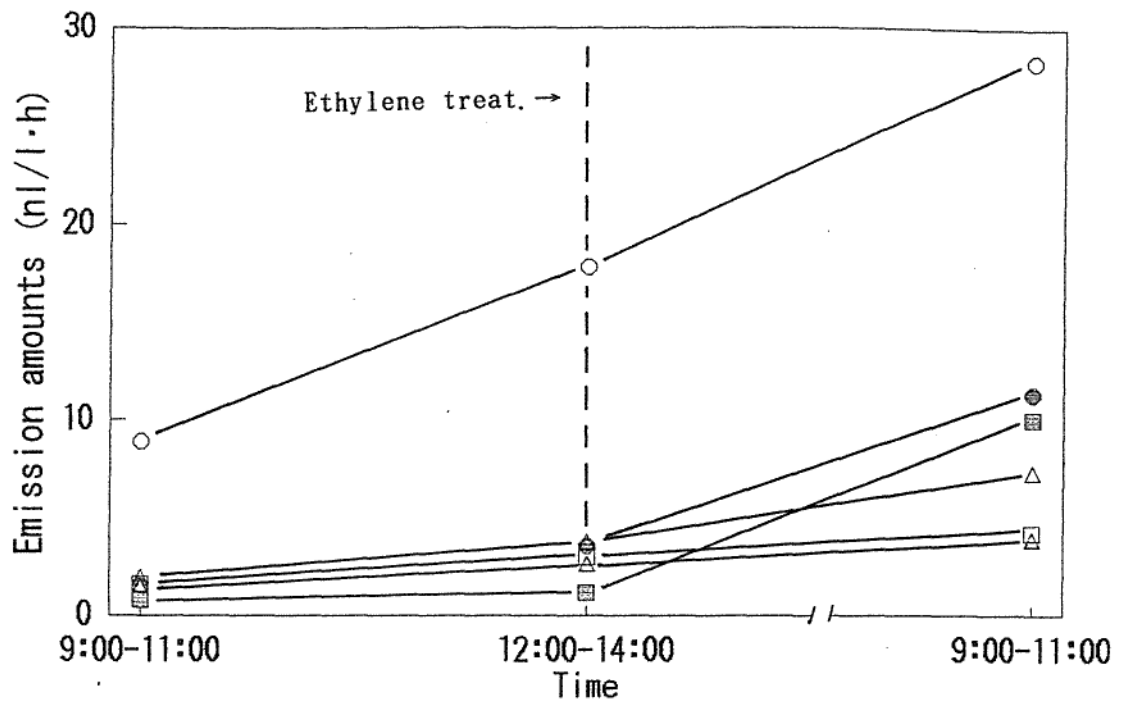


Fig. 3-7. Effects of ethylene treatments on the amounts of emissions of monoterpenes from hinoki seedlings (Sample G, Type 3).

Legend: ○: sabinene, ●: myrcene, △: d-limonene,  
 ▲:  $\gamma$ -terpinene, □: p-cymene, ■: terpinolene.

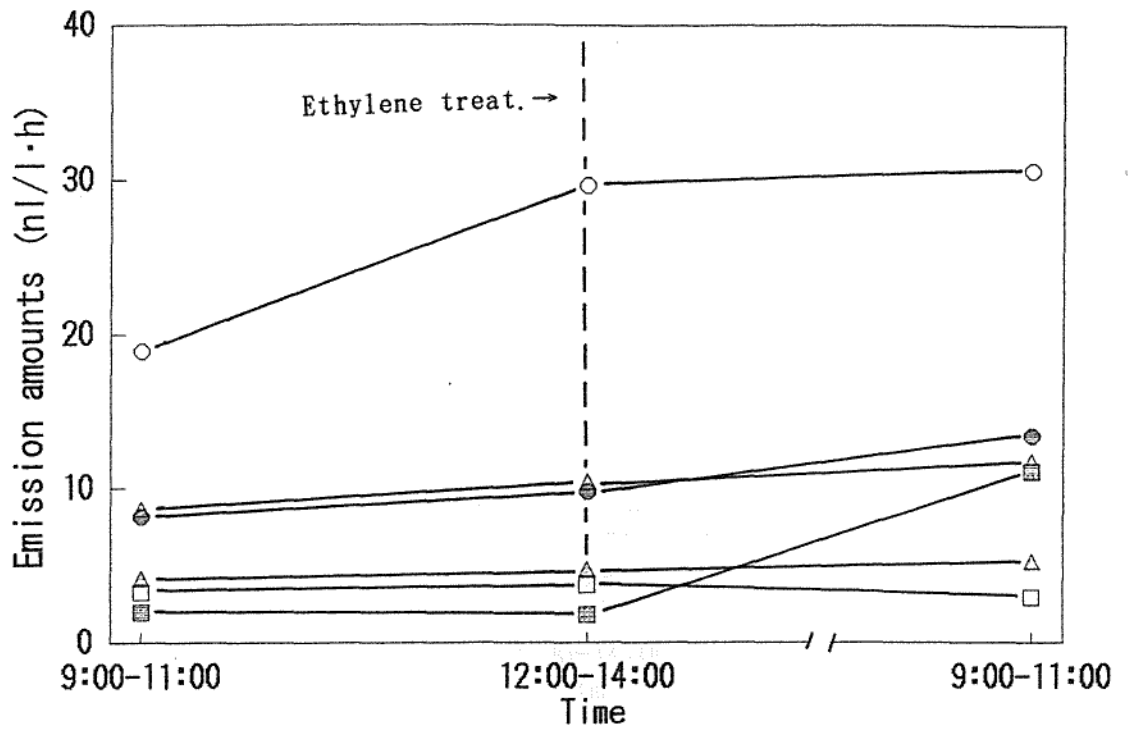


Fig. 3-8. Effects of ethylene treatments on the amounts of emissions of monoterpenes from hinoki seedlings (Sample H, Type 3).

Legend: ○: sabinene, ●: myrcene, △: d-limonene,  
 ▲:  $\gamma$ -terpinene, □: p-cymene, ■: terpinolene.

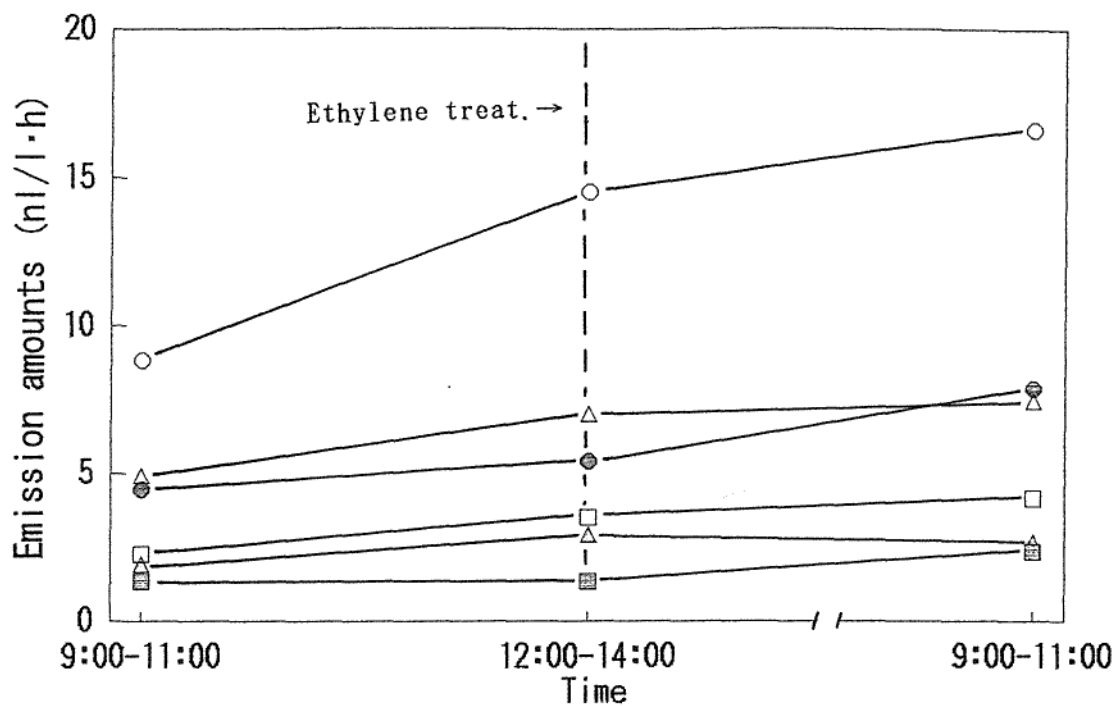


Fig. 3-9. Effects of ethylene treatments on the amounts of emissions of monoterpenes from hinoki seedlings (Sample I, Type 1).

Legend: ○: sabinene, ●: myrcene, △: d-limonene,  
 ▲:  $\gamma$ -terpinene, □: p-cymene, ■: terpinolene.

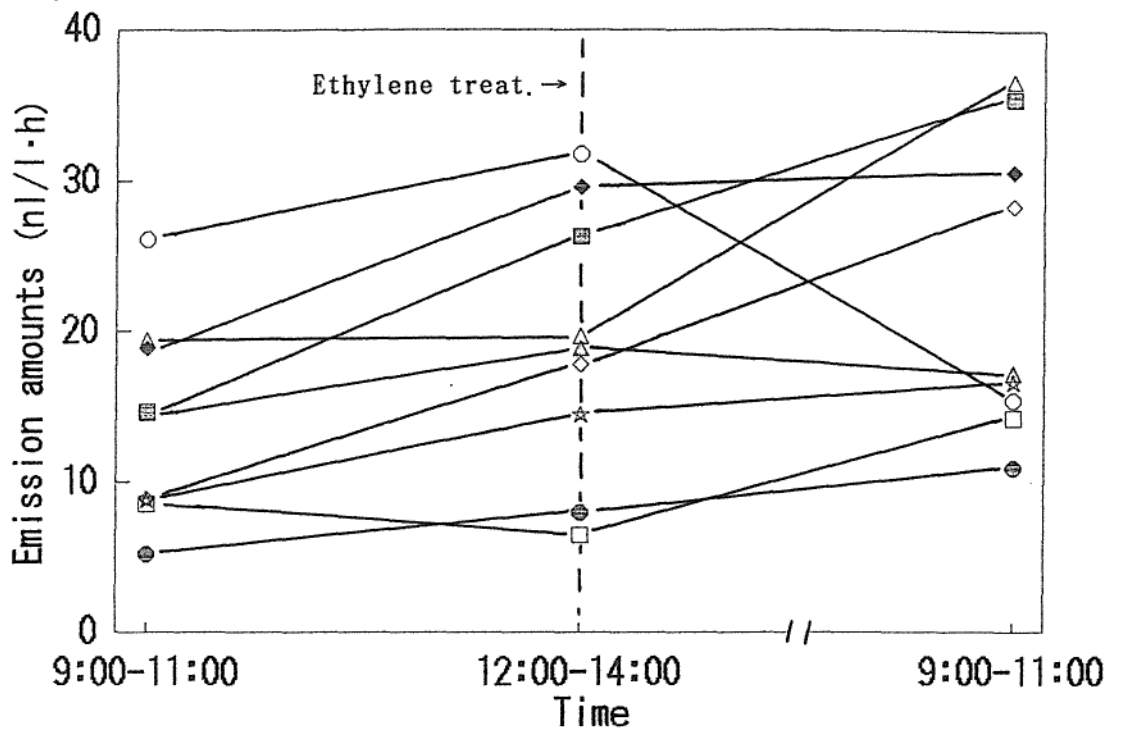


Fig. 3-10. Effects of ethylene treatment on the amounts of emissions of sabinene from hinoki seedlings (Sample A-I).

Legend: ○:A, ●:B, △:C, ▲:D, □:E, ■:F, ◇:G, ◆:H, ☆:I

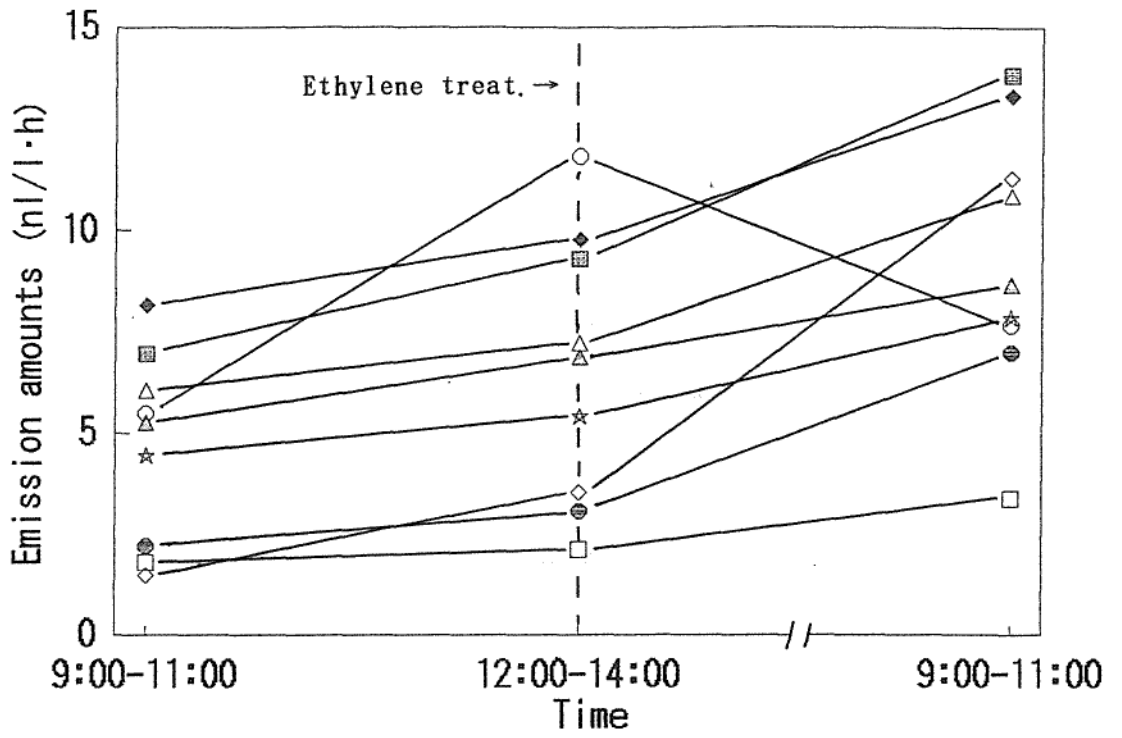


Fig. 3-11. Effects of ethylene treatment on the amounts of emissions of myrcene from hinoki seedlings (Sample A-I).

Legend: ○:A, ●:B, △:C, ▲:D, □:E, ■:F, ◇:G, ◆:H, ☆:I

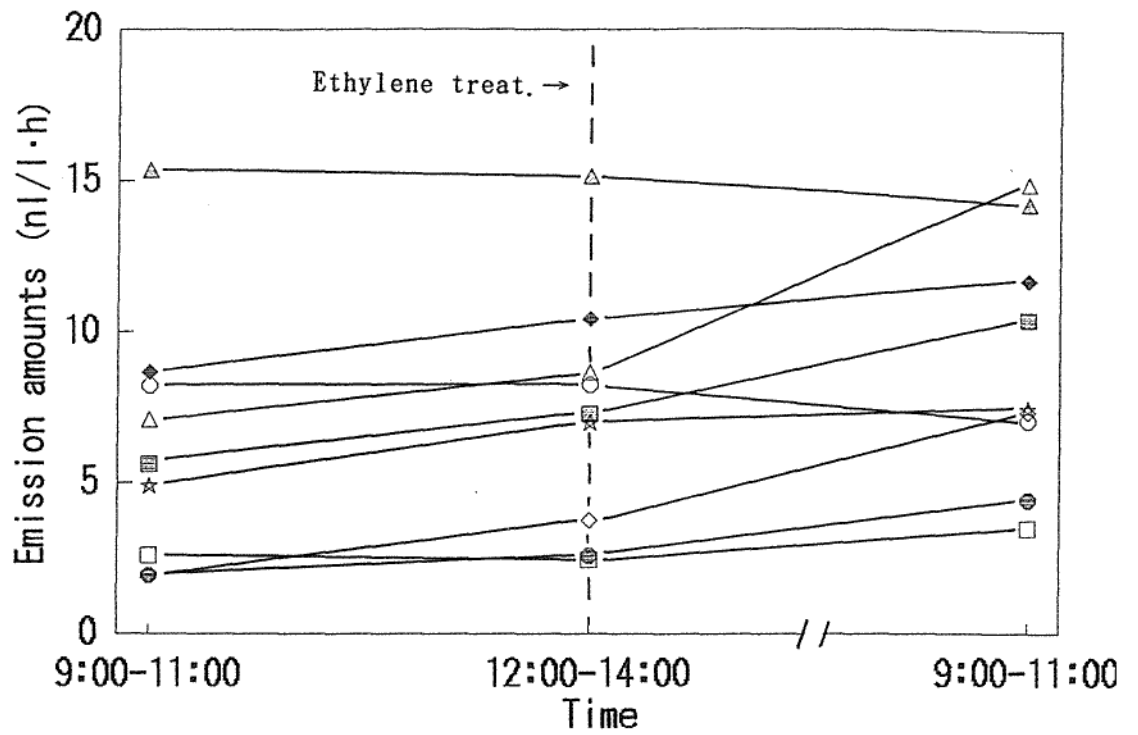


Fig. 3-12. Effects of ethylene treatment on the amounts of emissions of d-limonene from hinoki seedlings (Sample A-I).  
 Legend: ○:A, ●:B, △:C, ▲:D, □:E, ■:F, ◇:G, ◆:H, ☆:I

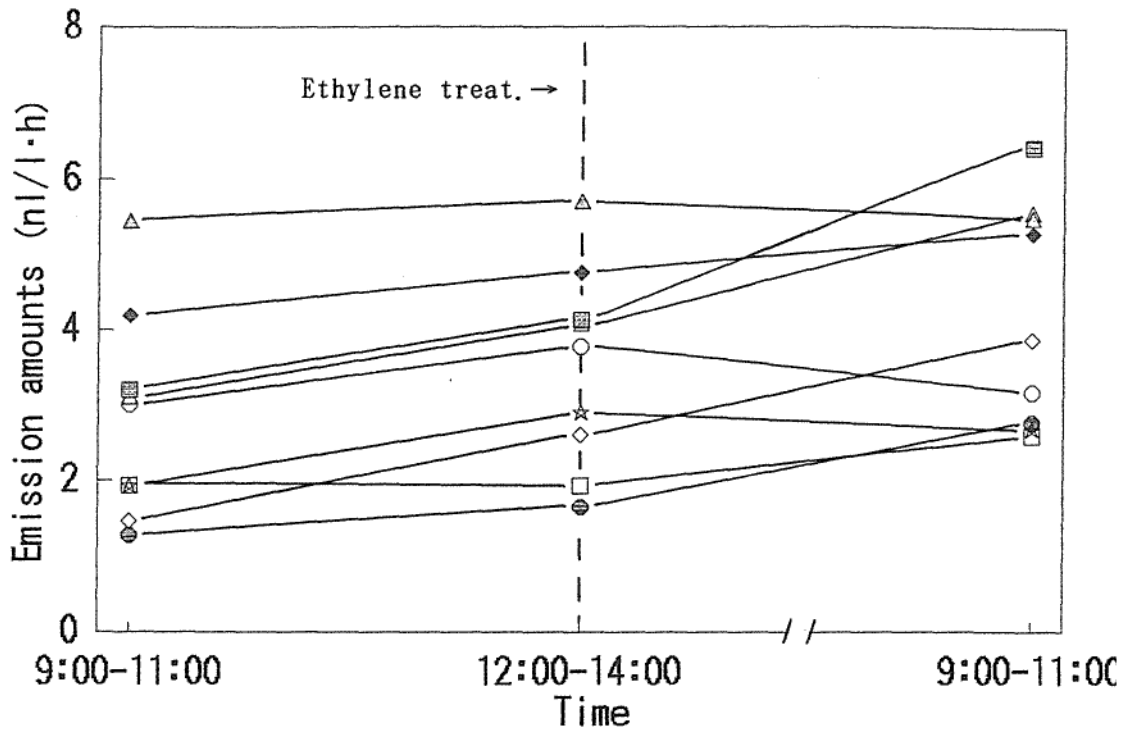


Fig. 3-13. Effects of ethylene treatment on the amounts of emissions of  $\gamma$ -terpinene from hinoki seedlings (Sample A-I)  
 Legend: ○:A, ●:B, △:C, ▲:D, □:E, ■:F, ◇:G, ◆:H, ☆:I

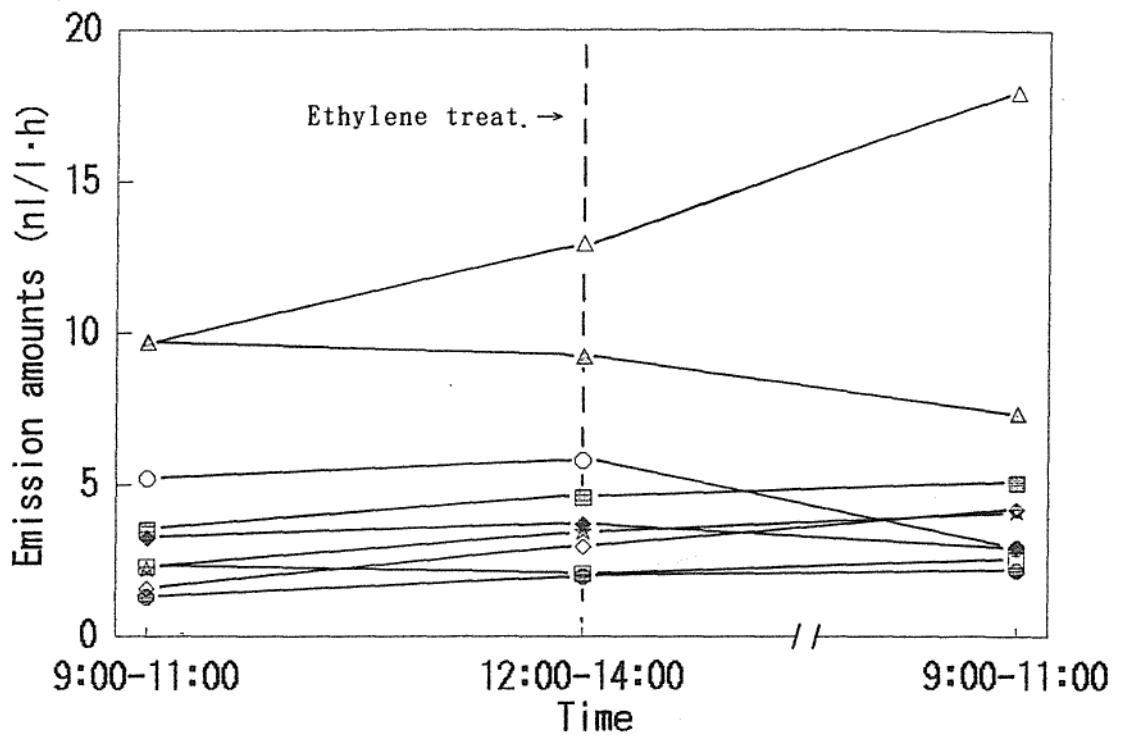


Fig. 3-14. Effects of ethylene treatment on the amounts of emissions of p-cymene from hinoki seedlings (Sample A-I).

Legend: ○:A, ●:B, △:C, ▲:D, □:E, ■:F, ◇:G, ◆:H, ☆:I



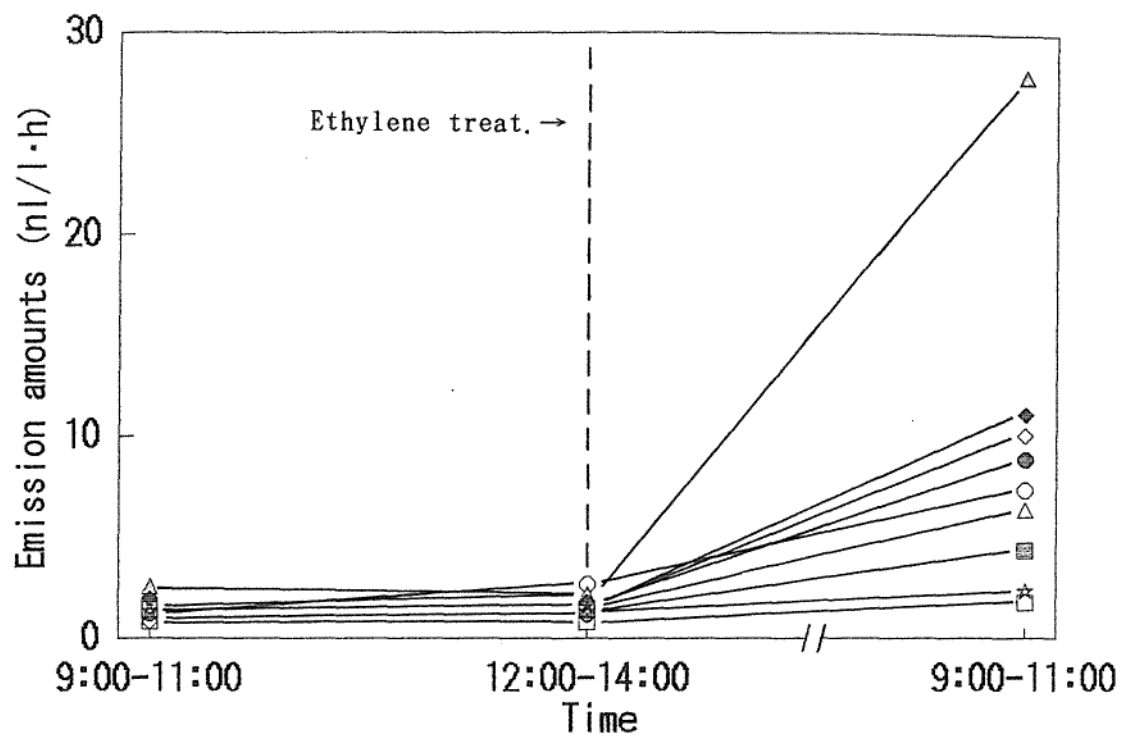


Fig. 3-15. Effects of ethylene treatment on the amounts of emissions of terpinolene from hinoki seedlings (Sample A-I)  
 Legend: ○:A, ●:B, △:C, ▲:D, □:E, ■:F, ◇:G, ◆:H, ☆:I

Table 3-1. Variations in the proportions (%) of the emission amounts of sabinene and terpinolene in the main monoterpenes emitted from hinoki seedlings by ethylene treatment.

Samples	Sabinene			Terpinolene		
	9:00 1st day	12:00 Ethylene treat.	9:00 2nd day	9:00 1st day	12:00 Ethylene treat.	9:00 2nd day
A	44.0	43.4	30.0	3.1	3.6	14.2
B	34.6	37.5	26.9	8.2	5.5	21.8
C	36.9	32.2	36.3	2.9	2.3	6.3
D	21.4	25.6	17.0	3.7	2.9	37.0
E	38.7	33.0	43.7	3.7	4.0	5.4
F	36.9	44.9	42.7	3.5	2.5	5.2
G	50.5	52.2	40.3	4.4	3.3	14.3
H	36.4	43.5	37.0	3.8	2.6	13.4
I	30.8	36.2	35.9	4.7	3.3	5.1

### 3. 3. 2 エチレンの作用発現開始時期および

#### 作用持続時間

エチレン混入によるテルピノレンの放散量変化は、混入後2日目に見られる。このテルピノレンの放散量変化の発現開始時期を、さらに詳細に検討した(Fig.3-16,3-17)。

エチレン混入直後にサビネンの増加が見られないFig.3-16, 増加が見られるFig.3-17ともに、2日目の3時～5時の間に、テルピノレンの放散量が増加し始めた。この実験期間中の夜明けが午前4時過ぎであったため、テルピノレンの放散量の増加は光合成開始と同時に生じると考えられる。この推定から、エチレンによるテルピノレン放散量の促進に必要なのは暗黒期である可能性があるため、一連の実験を一晩中照明し続けて行ったところ、同様にテルピノレンの放散量の増加が見られた。これは暗黒期が不要で、エチレンの作用発現に必要なのは時間であることを示唆しているが、光量および日周期などに関して不明な点が多いため、さらに検討する必要がある。

Fig.3-17では、テルピノレンとともにサビネン、ミルセンも2日目の6時～8時にかけて大きく増加した(Type 3)が、Fig.3-16では放散量の増加が見られたのはテルピノレンだけであり(Type 2)、サビネンやミルセンの放散量が増加した試料に比べて、テルピノレンの放散量の増加が非常に大きかった。これは、エチレンの作用によって活性が増加したモノテルペンシクラーゼは、テルピノレンの合成を触媒する酵素だけで、また、他成分の放散量

の減少が見られないため、HMG-CoAレダクターゼの活性増加によって増大したGPPが、テルピノレンに変換されたことによると思われる。テルピノレンは、GPPから直接変換され、テルピノレンを前駆体として、さまざまなテルペン成分がさらに生成されるため (Croteau 1980, Rudloff 1975)、本研究で見られたテルピノレンの増大によって、テルピノレン由来のテルペン成分が生成することも考えられる。

次に、エチレンの作用の持続時間をFig.3-18に示す。サビネンの放散量は、エチレン混入直後および1日後に増加し、2日後には通常の放散量を示した。テルピノレンの放散量においては、エチレンを混入してから1日後に、急激な放散量の増加が見られ、その後、サビネンと同様に2日後には通常の放散量を示した。このことからエチレンがサビネン、テルピノレンの放散量に及ぼす作用は非常に即応的で短期間であると言える。樹木が樹幹に傷害を受けると樹木のモノテルペンシクラーゼ活性が著しく増大し、通常生合成されるモノテルペンと、その化学組成を異にする (Gijzenら 1991)。そして、Lewinsohnら (1991, 1992)の報告によると、樹幹に傷害を受けたサブアルペンファーのモノテルペンシクラーゼ活性は2日以内に3倍に増加し、1週間以内に10倍に増加する。これらエチレンの作用発現およびその持続時間と比較すると、大きな時間的差異が見られることや、無傷害の状態での反応であることから、エチレンによるテルペン類の放散

量変化は、外部に対する何らかの防御反応であると考えられる。昆虫に対する特定の忌避性や菌に対する毒性を持つモノテルペン物質は、通常の樹脂よりも主に傷害誘導樹脂に多く含まれる (Raffaら 1982)。マツゾウムシは $\alpha$ -ピネンに誘引されるが、リモネンが $\alpha$ -ピネンの1/50程度放散されるだけで、完全にマツゾウムシの誘引を阻害することから (Nordlander 1990)、エチレンの作用によりサビネンやテルピノレンが通常より多量に放散されることによって、ヒノキ樹脂胴枯病を引き起こす *Monochaetia* 属菌や、樹幹からの激しい樹脂流出を病徴とするヒノキナラタケ病の *Armillaria mellea* など (山中 1984)、さまざまな外敵に対する防御作用が期待できる。また、グランドファーに菌を接種することによってモノテルペンの蓄積が増加し、その後4年間観察し続けたところ、二次的モノテルペンの蓄積が少ない樹木よりも枯死する割合が少ないことから (Raffaら 1982)、あらかじめエチレン処理することで樹木の防御能力が高まる可能性が考えられる。そして、エチレンの作用によるサビネンとテルピノレンの放散量の増加には時間的差異が見られることから、サビネンとテルピノレンはそれぞれ防御する対象が異なる、例えば、ある昆虫に対する防御作用としてサビネンが放出され、その昆虫に付随するある微生物に対してテルピノレンが放出されるなどのように、二段階の防御反応を示すことも考えられる。植物の病気は、単に病原菌と宿主とが出会っただけで起こるもので

はなく、病原菌の感染に対する活性化、自力による宿主侵入行動、宿主体内定着を経て、病徴が発現する（西村 1975）。その感染に至る様式は病原菌と宿主植物の組み合わせによって千差万別である。樹木の病気が流行している中で、生き残る樹木があるのは、同一種内のテルペン成分組成が多様であることに大きく依存している。それは、いくつかの樹木のテルペン成分組成が昆虫の攻撃に対して効果的に働き、生き残るという確率を増加させる。このようにテルペン類の化学組成に微妙な差異を生じることが、おそらく病気が流行している中で生き残る針葉樹の決定的な要因であろう。

エチレンによるヒノキ幼苗からのサビネン、テルピノレンの多量の放散現象がいかなる反応なのか、今後の課題として残る。

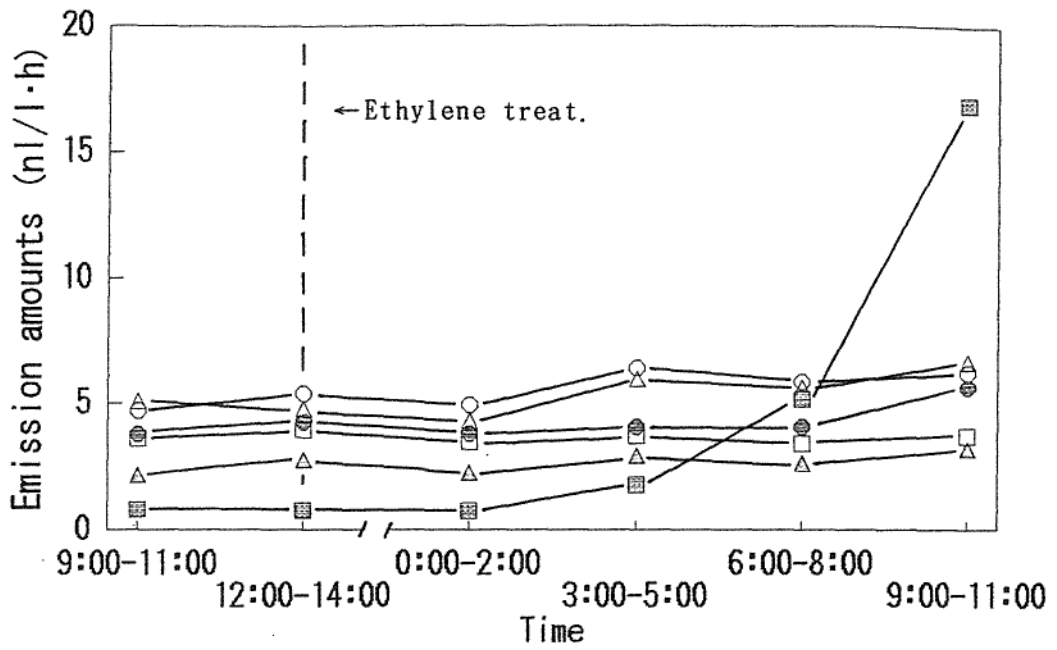


Fig. 3-16. Tests to see the starting time effecting the amounts of emissions of monoterpenes from hinoki seedlings by ethylene treatments (Type 2).

Legend: ○: sabinene, ●: myrcene, △: d-limonene,  
 ▲: γ-terpinene, □: p-cymene, ■: terpinolene.

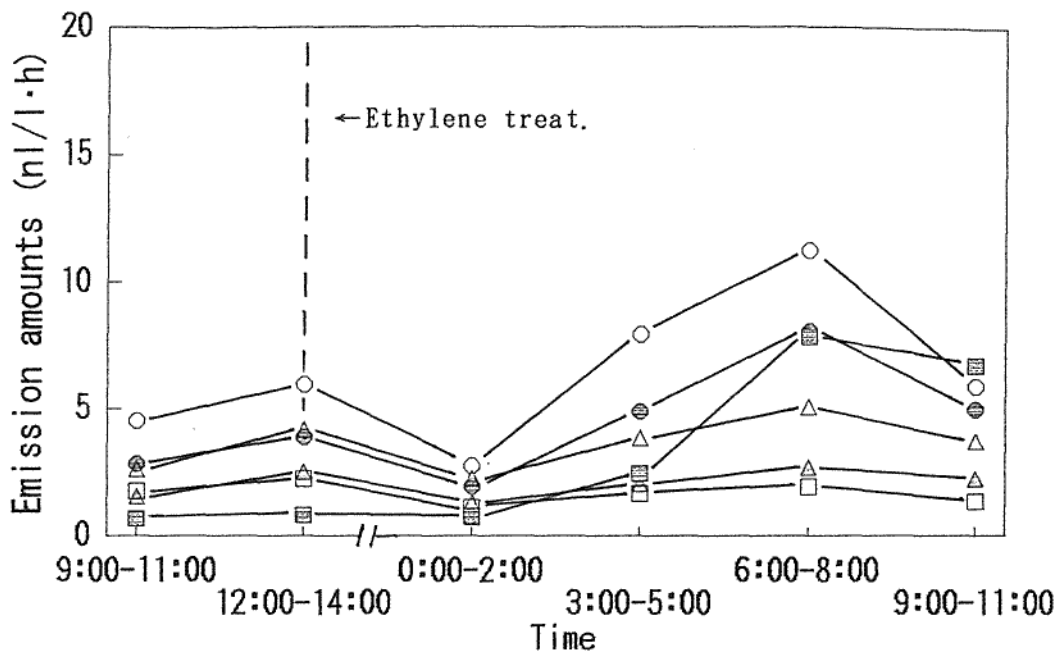


Fig. 3-17. Tests to see the starting time effecting the amounts of emissions of monoterpenes from hinoki seedlings by ethylene treatments (Type 3).

Legend: ○: sabinene, ●: myrcene, △: d-limonene,  
▲: γ-terpinene, □: p-cymene, ■: terpinolene.



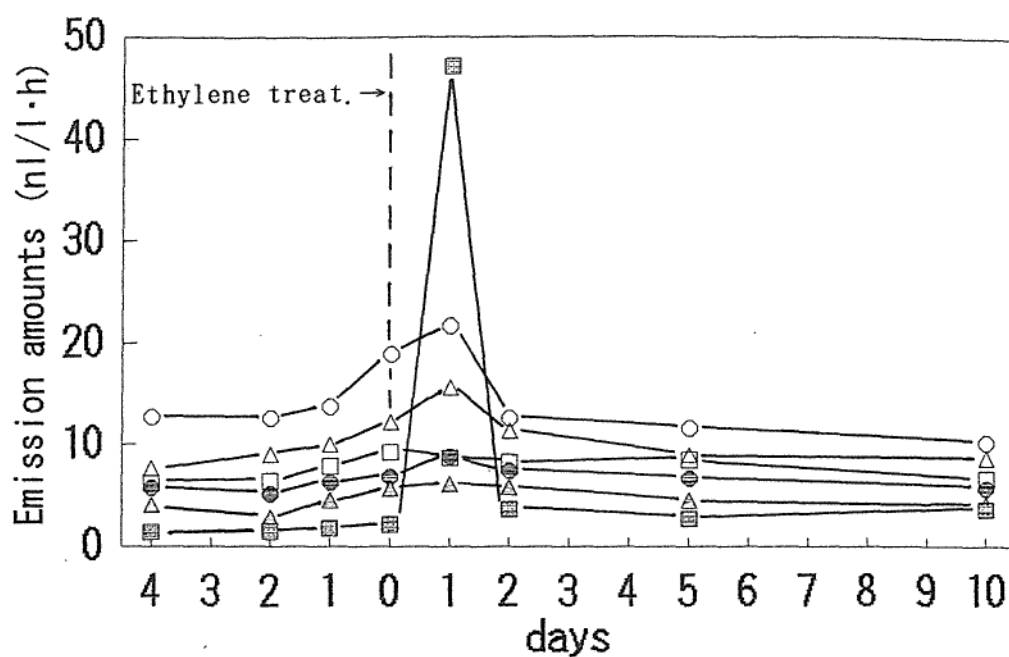


Fig. 3-18. Tests to see the duration effecting the amounts of emissions of monoterpenes from hinoki seedlings by ethylene treatments.

Legend: ○: sabinene, ●: myrcene, △: d-limonene,  
▲: γ-terpinene, □: p-cymene, ■: terpinolene.

### 3. 4 結論

第2章で見られたエチレン混入によるテルペン成分の放散割合の変化についてさらに検討した結果、1%濃度のエチレンをヒノキの幼苗が生育する環境大気中に混入することにより、9試料中8試料で、ヒノキ幼苗から放散されるサビネンの放散量が増加し、5試料でテルピノレンの放散量が増加した。テルピノレンの放散量の増加は、エチレンを混入してから2日目に見られ、2.2~10倍の放散割合の増加を示した。次に、テルピノレンの放散量の発現開始時期について検討した結果、夜明けとともに放散量が増加することが明らかとなった。また、エチレンの作用は、エチレン混入直後および1日後に見られ、2日後には通常の放散量を示し、エチレンがヒノキ幼苗から放散されるテルペン類の化学組成に及ぼす作用は、非常に即応的で短期間であることが判明した。エチレンの作用によるサビネンとテルピノレンの放散量の増加には時間的差異が見られるため、サビネンとテルピノレンはそれぞれ防御する対象が異なるものと考えられる。それは、ある昆虫に対する防御作用としてサビネンが放出され、その昆虫に付随するある微生物に対してテルピノレンが放出されると言うように、二段階の防御反応を示すことが推定される。

## 結言

針葉樹中に特に多く含まれる、さまざまな生理活性を有するテルペン類は、樹種固有の化学組成を示し、また、同一樹種においてもその化学組成は、生育環境によって変動するが、その変動機構はいまだ解明されていない。

本研究ではまず、同一環境下で成長するヒノキ、スギ針葉精油中のテルペン類の個体間における量的変動を、季節変動を通して調査し、ヒノキ、スギ針葉精油に個体差をもたらすモノテルペン成分を明らかにし、また、個体差をもたらした一部のモノテルペン成分に、高い相関が見られることを明らかにした。しかし、これらモノテルペン成分に影響を及ぼす因子を解明するには至らなかった。今後、テルペン成分に個体差をもたらす主要モノテルペン類の生化学的役割の解明が必要である。

次に、植物ホルモンであるエチレンが針葉樹テルペン類に及ぼす影響を、ヒノキ幼苗から放散されるテルペン類を分析し、その成分変動から考察した。その結果、エチレンを混入することにより、サビネンおよびテルピノレンが多量に放散され、テルペン類の化学組成が大きく変動することが明らかとなった。また、そのエチレンの作用には時間差が見られ、かつ即応的で短期間であることが解明された。この考察により、エチレンが樹木の未熟の防御作用、すなわち樹木間相互作用の媒体となるこ

とで、針葉中テルペン類の化学組成が大きく変動することが示唆された。しかし、テルペン生合成に及ぼすエチレンの影響、特定のテルペン成分が多量に放散される生化学的機構等、今後解明すべき課題は多く残されている。

## 総括

防虫，発育制御，接触阻害，抗菌，抗カビ，植物成長制御作用など，広範な生理活性を有し，森林生態系における相互作用に大きく関与するテルペン類は，自然界に多数かつ，多量に存在し，それら個々の生理的役割はほとんど未知に等しい。これらテルペン類の生理的役割を解明することは，絶対的生産者である森林を知る上で，非常に重要である。そして，その生理的役割を解明していくには，樹木中のテルペン類の変動形態を知る必要がある。何故なら，テルペン類の変動形態と，環境因子および遺伝因子を併せて考察することにより，テルペン類の生理的役割が解明されていくからである。そこで，本研究では，テルペン類の変動形態を解明することを目的として，樹木個体の変動とその季節的変動，および周辺環境に対する防御と考えられる反応による変動について考察を行い，以下の結果を得た。

1. 同一地域で生育するヒノキ，スギの針葉精油の個体的変動を季節変動を通して検討した結果，精油収率とその季節変動および主要テルペン類の含量とその季節変動には，同一地域の試料間において，種々の形態が見られることが明らかとなった。精油収率の季節変動はおおむね類似するが，収率には個体差が見られ，ヒノキ，スギ

の針葉精油の主成分であるテルペン類には、ヒノキでは主に、サビネン、d-リモネン、テルピニルアセテートの量的な季節変動に個体差が見られ、スギでは主に、 $\alpha$ -ピネン、サビネン、テルピネン-4-オールの量的な季節変動に個体差が見られ、特異なテルペン成分割合を示した試料には、一部のテルペン成分間に高い相関が見られた。

これらのことから、針葉精油収率と、そこから生成する種々のテルペン化合物の含量の季節変動は、必ずしも一致しないことがわかる。これは、テルペン類の生合成過程において、ゲラニルピロリン酸までの生合成過程、すなわち精油収率として現われる過程と、そこから種々のテルペン化合物が生合成される過程とは、異なる遺伝因子および環境因子の作用を受けるということを示唆している。

2. 同一樹種間のテルペン類の化学組成における個体的変動を、環境因子の点から考察した。テルペン類の変動要因と、エチレンが樹木から放散される要因とが類似することから、ガス状植物ホルモンであるエチレンに着目し、エチレンがテルペン類の化学組成に影響を与えると推定した。その推定に基づいて、エチレンによるヒノキ幼苗から放散されるテルペン類の化学組成の変化を検討した結果、エチレンをヒノキ幼苗が生育する環境大気中に、1000ppm混入することによって、テルペン放散量が変化した。放散量変化は、試料によって異なり、サビネン

が多量に放散されたものと、テルピノレンが多量に放散されたものとが見られた。また、0.5%濃度のエスレルを葉面に全面散布処理することによって、ボルニルアセテートの放散量が増加し、 $\alpha$ -ピネンの放散量が減少した。エチレンを気中に混入した場合と、エスレル処理した場合のテルペン放散量の変動が異なったことから、樹木が他の生物から放出されたエチレンを感知することにより、防御反応としてテルペン類の化学組成を変動させる、すなわち樹木間相互作用を示すことが示唆された。

3. エチレン混入によるテルペン成分の放散割合の変化をさらに検討した結果、1%濃度のエチレンをヒノキの幼苗が生育する環境大気中に混入することにより、9試料中8試料で、ヒノキ幼苗から放散されるサビネンの放散量が増加し、5試料でテルピノレンの放散量が増加した。テルピノレンの放散量の増加は、エチレンを混入してから2日目に見られ、2.2~10倍の放散割合の増加を示した。次に、テルピノレンの放散量の発現開始時期を検討した結果、夜明けとともに放散量が増加することが解明された。また、エチレンの作用は、エチレン混入直後および1日後に見られ、2日後には通常の放散量に戻り、エチレンがヒノキ幼苗から放散されるテルペン類の化学組成に及ぼす作用は、非常に即応的で短期間であった。

エチレンの作用によるサビネンとテルピノレンの放散量の増加には時間的差異が見られるため、サビネンとテ

ルピノレンはそれぞれ防御する対象が異なるものと考えられる。それは、ある昆虫に対する防御作用としてサビネンが放出され、その昆虫に付随するある微生物に対してテルピノレンが放出されると言うように、二段階の防御反応を示すことが推定される。

以上の結果から、針葉樹テルペン類の化学組成は、微少な環境変化に鋭敏に呼応して変動し、常に一連の防御機構を働かせて樹木個体を維持しているものと思われる。



## 謝 辞

本研究を行うにあたり、終始御懇切な御指導、御鞭撻を頂きました島根大学農学部生物材料工学研究室の城代進教授、古野 毅助教授、上原 徹助手に深く感謝の意を表します。

また、本研究について有益な御助言と御指導を賜った島根大学農学部、片桐 成夫教授、中尾 哲也助教授、金子 信博助教授、尾添 嘉久助教授、鳥取大学農学部、作野 友康教授、本研究の遂行に際して多くの便宜と援助を賜った島根県立緑化センター、遠田 博業務課長ならびに職員の方々に深く感謝いたします。

多くの御協力を頂きました本研究室の学生の方々にも深く感謝いたします。

## 引用文献

- Baldwin, I.T.; Schultz, J.C.: *Science*, 221(15),  
277-278 (1983).
- Biles, C.L.; Abeles, F.B.; Wilson, C.L.:  
*Phytopathology*, 80(8), 732-736 (1990).
- Birchen, R. et al.: *American Journal of Botany*, 66,  
1208-1218 (1979).
- Birgersson, G.; Bergström, G.: *Journal of Chemical  
Ecology*, 16(4), 1307-1320 (1990).
- Chang, J.; Hanover, J. W.: *Can. J. For. Res.*, 21,  
1796-1800 (1991).
- Cheniclet, C.: *J. Exp. Bot.*, 38, 1557-1572 (1987).
- Cook, S. P.; Hain, F. P.: *Can. J. For. Res.*, 18,  
33-37 (1988).
- Croteau, R.: "Fragrance and Flavor Substances",  
D & PS Verlag, 1980, p.13-36.
- Croteau, R.: *Chem. Rev.*, 87, 924-959 (1987).
- Croteau, R.; Johnson, M. A.: "Biosynthesis and Bio  
degradation of Wood Components", Academic  
Press, 1985, p.379-439.
- Croteau, R.; Cane, D. E.: *Methods in Enzymology*,  
110, 383-405 (1985).
- Dagan, C. B.: "Mechanisms of Woody Plant Defences

- Against Insects”, Springer Verlag, 1988,  
p.93-116.
- Dagan, C. B. et al.: *Physiol. Veg.*, 20(4), 775-795  
(1982).
- Farooqi, A. H. A.; Sharma S.: *Plant Growth  
Regulation*, 7(1), 39-45 (1988).
- 藤井 義晴, 安田 環 : ぶんせき, 4, 231-237 (1987).
- Gijzen, M.; Lewinsohn, E.; Croteau, R.: *Archives  
of Biochemistry and Biophysics*, 289(2), Sep,  
267-273 (1991).
- Gijzen, M.; Lewinsohn, E.; Croteau, R.: *Archives  
of Biochemistry and Biophysics*, 294(2), May  
1, 670-674 (1992).
- 今堀 和友, 山川 民夫監修 : ” 生化学辞典 第2版 ” ,  
東京化学同人, 1990, p.1063.
- 井上 博之, 上田 伸一, 井上 謙一郎, 武田 美雄 :  
” 天然物化学 ” , 廣川書店, 1976, p.165.
- Johnson, M. A.; Croteau, R.: *American Chemical  
Society Symposium Series 325*, 76-92 (1987).
- 加藤 定信, 上原 徹, 古野 毅, 城代 進 : 木材学会誌,  
39(3), 322-327 (1993A).
- 加藤 定信, 上原 徹, 古野 毅, 城代 進 : 木材学会誌,  
39(9), 1084-1088 (1993B).
- 加藤 定信, 上原 徹, 古野 毅, 城代 進 : 木材学会誌,  
40(3), 発表予定 (1994).

- Kekelidze, N.A.; Lomidze, E.P.: *Flavour and  
Fragrance Journal*, 4, 37-41 (1989).
- 小清水 弘一: 化学と工業, 43(10), 56-58 (1990).
- Lewinsohn, E.; Gijzen, M.; Savage, T. J.; Croteau,  
R.: *Plant Physiol.*, 96, 38-43 (1991).
- Lewinsohn, E.; Gijzen, M.; Croteau, R.: *Plant  
Physiol.*, 96, 44-49 (1991).
- Lydia, Merk, et al.: *Trees*, 2, 45-51 (1988).
- 松岡 英明: *MOL*, 8, 41-46 (1990).
- 丸茂 晋吾: 化学と工業, 43(10), 1667-1671 (1990).
- Merk, L. et al.: *Trees*, 2, 45-51 (1988).
- Moral, R.; Muller, C. H.: *The American Midland  
Naturalist*, 83(1), 254-282 (1970).
- Muller, C. H.: *Bulletin of the Torrey Botanical  
Club*, 92(1), 38-45 (1965).
- Muller, C. H.: *Bulletin of the Torrey Botanical  
Club*, 93(1), 332 (1966).
- Muller, C. H., et al.: *Science*, 143, 471 (1964).
- Muller, C. H.: "Allelopathy in the Environmental  
Complex", *Handb-Veg-Sci*, 1974, p.71-85.
- Muller, W. H.; Muller, C. H.: *Bulletin of the  
Torrey Botanical Club*, 91(4), 327-330 (1964).
- 中山 包: 化学と生物, 14(1), 51-56 (1976).
- Nordlander, G.: *Journal of Chemical Ecology*, 16(4),  
1307-1320 (1990).

- 西村 正暘：化学と生物， 13(5)， 304-308 (1975).
- 大石 武編著：“天然物化学”， 朝倉書店， 1990，  
p.20-24.
- 大田 啓一：化学と生物， 23(2)， 91-98 (1985).
- Raffa, K. F.; Berryman, A. A.: *The Canadian Entomologist*, 114, 797-810 (1982).
- Rudloff, E. V.; *Biochemical Systematic and Ecology*, 2, 131-167 (1975).
- Rudloff, E. V.; Lapp, M.S.: *Can. J. For. Res.*, 15, 801-808 (1985).
- 坂井 盛， 山崎 徹：木材学会誌， 35(6)， 537-542 (1989).
- Savage, T.; Croteau, R.: *Naval Stores Review*, September/October, 6-11 (1991).
- Schönwitz, R.; Merk, L.; Ziegler, H.: *Flavour and Fragrance Journal*, 4, 149-153 (1989).
- Shain, L.: *Phytopathology*, 69(10), 1143-1147 (1979).
- 下川 敬之：“エチレン”， 東京大学出版会， 1991，  
p.9-10, 47-62, 89-93.
- Sturgeon, K. B.; Mitton, J. B.: "Bark Beetles in North American Conifers", University of Texas Press, 1982, p.350-384.
- 高橋 信孝：“植物調整物質の園芸的利用”， 誠文堂新光社， 1973， p.151.
- Telewski, F.W.; Wakefield, A.H.; Jaffe, M.J.:

- Plant Physiol.* 72, 177-181 (1983).
- トーキン B. P. , 神山 恵三 : ” 植物の不思議な力  
= フィトンチッド ” , 講談社, 1980, p.149-166.
- Wolter, K. E.; Zinkel, D. F.: *Can. J. For. Res.*,  
14, 452-458 (1984).
- 山中 勝次 : 木材学会誌, 30(5), 347-353 (1984).
- Yatagai, M.: *Mokuzai Gakkaishi*, 30(2), 190-194  
(1984).
- 谷田貝 光克 : 木材学会誌, 30(2), 190-194 (1984).
- 谷田貝 光克, 土師 美恵子 : 木材学会誌, 31(5),  
409-417 (1985).
- Yatagai, M.; Takahashi, T.: *Mokuzai Gakkaishi*, 29  
(3), 274-279 (1987).
- Yatagai, M. et.al.: *Mokuzai Gakkaishi*, 34(1),  
42-47 (1988).
- 谷田貝 光克 : 木材学会誌, 37(7), 583-589 (1991).
- Yokouchi, Y. ; Hijikata, A. ; Ambe, Y. :  
*Chemosphere*, 13(2), 255-259 (1984).
- 有機合成化学協会編 : ” 有機化学ハンドブック ” ,  
技報堂出版, 1979, p.1242.

Studies on the Effects of Ethylene on  
the Variations of Chemical Compositions of  
Terpenes in Hinoki.

Sadanobu Katoh

Major in Biological Production Science,  
The United Graduate School of Agricultural Science,  
Tottori University, Tottori, Japan 680.

SUMMARY

Terpenes are important components to keep the growth of tree individuals and the ecosystem of woods. Because they have various physiological activities, such as inhibiting fungal growths, repelling bark beetles and controlling plant growths.

It is important to understand the variation forms of terpenes in trees on account of clarifying the physiological role of terpenes. Therefore the effects of ethylene on the variations of chemical compositions of terpenes in hinoki were investigated.

Conclusions obtained from the experimental results are as follows:

1) The chemical compositions of terpenes in needle oils of hinoki (*Chamaecyparis obtusa Endl.*) and sugi (*Cryptomeria japonica D. Don*), each of which was growing on three different sites, were investigated to learn the quantitative variations among tree individuals under the same environment through out a period of six or seven months. Their needles were steam-distilled, and the needle oils were subjected to analyses by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry to identify their components. There were differences in terpene patterns between the tree individuals at each of the three sites.

In hinoki, The amounts of sabinene, d-limonene, and terpinyl acetate were main factors for individual variations. And large correlations in monthly variations among several terpene components were found in a tree individual showing a singular terpene component proportion.

In sugi, the main components in needle oils were  $\alpha$ -pinene, sabinene, and terpinen-4-ol. Three types of terpene patterns which were characterized



by the amounts of  $\alpha$ -pinene and terpinen-4-ol, were observed. The amounts of  $\alpha$ -pinene and terpinen-4-ol were the main factors for individual variations. Large negative correlations in monthly variations between  $\alpha$ -pinene and terpinen-4-ol were found in some tree individuals including large quantities of  $\alpha$ -pinene or terpinen-4-ol.

The seasonal variations in the yields of needle oils in tree individuals did not agree necessarily with those in the amounts of some terpene components.

2) I investigated the variations of chemical compositions of terpenes emitted from hinoki (*Chamaecyparis obtusa* Endl.) seedlings by ethylene. When ethylene gas was injected into a glass house containing hinoki seedlings, the amounts of emissions of sabinene or terpinolene increased.

An increase in the amounts of emission of bornyl acetate and a decrease in the amount of emission of  $\alpha$ -pinene were observed when the hinoki seedlings were treated with ethrel.

Because there were differences in variations of the amounts of emissions of terpenes between the gas mixtures of ethylene and the treatment with

ethrel, it was suggested that the seedlings themselves show a defense response by perceiving ethylene emitted from other organisms, that is, an interaction between trees.

3) I investigated the variations of the amounts of emissions of monoterpenes emitted from hinoki (*Chamaecyparis obtusa Endl.*) seedlings (three years old, 9 samples and each of them having 3) by ethylene gas.

We observed three increase patterns of the emission amounts of monoterpenes, when ethylene gas was injected into a glass house containing hinoki seedlings. The first type was that the amounts of emissions increased only for sabinene (4 samples). The second type was that only terpinolene increased (2 samples). The third type was that both sabinene and terpinolene increased (3 samples). The emission amounts of sabinene increased immediately after ethylene gas was injected into the glass house. The emission amounts of terpinolene increased at the following dawn after the treatment with ethylene gas. The emission amounts of both sabinene and terpinolene returned to the ordinary values on the second day

after the treatment with ethylene gas, it became clear that the action of ethylene gas on the emission amounts of monoterpenes was quick-responding and short-working.

Because there were differences in the time increasing the emission amounts by ethylene gas between sabinene and terpinolene, the two-staged defense responses by perceiving ethylene gas may be shown.