

平成21年5月28日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18405018
 研究課題名（和文）熱帯・亜熱帯性雑草ツノアイアシの他感作用による雑草制御機構の解析
 研究課題名（英文）Analysis of allelopathic activity of itchgrass for weed control

研究代表者
 小林 勝一郎（KOBAYASHI KATSUICHIRO）
 筑波大学・大学院生命環境科学研究科・教授
 研究者番号：40087606

研究成果の概要：

熱帯・亜熱帯性畑地雑草ツノアイアシは、MBOA を土壌へ放出し、植物生育抑制作用を示した。この生育抑制作用は、土壌中の水に溶存している MBOA が他の雑草に吸収されて発現した。MBOA は、ツノアイアシの根に近いほど多量に存在し、また、雑草抑制作用は、根から遠くなるに伴って低下した。MBOA は、本雑草の根部とともに茎葉部にも含まれるので、タイ国のように、圃場において茎葉部をマルチ資材として利用した場合には、土壌からの水分蒸発を抑制するとともに、MBOA のような他感物質による雑草制御効果が期待される。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	4,300,000	0	4,300,000
2007年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2008年度	2,100,000	630,000	2,730,000
年度			
年度			
総計	8,700,000	1,320,000	10,020,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・作物学・雑草学

キーワード：ツノアイアシ、他感作用、雑草制御、マルチ

1. 研究開始当初の背景

除草剤利用による雑草制御と異なり、他感作用を利用した雑草制御は、環境に負荷を与えることなく雑草制御を可能とするものとして注目されている。しかし、これまでの他感作用に関する研究は、土壌を介さない実験系(水耕法や寒天法など)で実施されているものがほとんどで、実際の生育現場である土壌中における作用発現、特に、現地圃場における雑草制御に関する研究例はきわめて少な

い。また、土壌中における他感物質の挙動との関わりで雑草制御を解析した研究例はなく、他感作用利用による雑草制御技術開発に関する基礎的情報が求められている。

2. 研究の目的

タイ国東北部においては、熱帯・亜熱帯雑草ツノアイアシ(*Rotteboellia exaltata* L. f)の茎葉部が、カリフラワー等の野菜栽培地域において土壌からの蒸発抑制とともに雑草

制御を期待してマルチ資材として利用されている事例に着目した。現地におけるマルチ資材としての本雑草の利用実態を精査するとともに本植物に含まれる他感物質の検索ならびに雑草制御機構を解析した。これまでに、他感作用については多くの研究結果が報告されているが、他感作用を有するとされる植物(ドナー植物)の生育現場における作用発現については、不明のままになっている。

本研究では、ツノアイアシの他感作用について、自生現地圃場における他感作用発現を確認し、また、一方では、現地圃場および実験室実験によって、他感物質を単離・同定し、次いで、検出された他感物質を供試し、土壤中における挙動および作用を検討し、両者の関連解析を中心として、他感作用発現機構を基礎的側面から解析した。さらに、こうして得られた結果に基づき、これに関与する環境要因について検討し、環境負荷の少ない雑草制御技術の発展に寄与する基礎的知見を得ようとした。また、本研究は、雑草利用による雑草制御に関する点においてユニークであり、これまでにない新知見が得られるものとして期待された。

3. 研究の方法

(1)タイ国東北部(ランパン地域)現地圃場において、ツノアイアシの生育および本雑草と他雑草との競合を調べ、現地圃場における他感作用について検討した。また、ツノアイアシ敷き藁処理区(マルチ区)と対照区を設定し、本雑草のマルチ利用による他感作用発現について精査するとともに、本雑草が生育していた土壌を供試し、現地の大学(ラジャマンガラ技術大学)におけるポット試験により生育土壌の他感作用について検討した。なお、生物検定においては、現地に生育する数種の雑草や各種作物を供試した後、これらの感受性に関する予備実験の結果および種子の入手や育成の難易などから、ハツカダイコンおよびイネを検定植物とし、また、催芽直後の種子を供試した初期生育に対する作用を調べた。

(2)筑波大学構内でのポット栽培において、茎葉部および根部の乾燥粉末を処理した土壌による生物検定を実施し、本雑草から植物生育阻害物質が土壌に放出されているかなど、他感作用発現に関する基礎的側面について検討した。この際に、茎葉部粉末および根部粉末を処理した土壌の pH, 電気伝導度など、他感物質以外に植物生育を抑制する要因についても検討した。

(3)現地圃場から採取したツノアイアシ植物体を供試し、80%メタノールによる抽出液の濃縮後に、濃縮液のヘキサンの抽出、ついで酢酸エチルによる抽出を実施した。酢酸エチル層は、さらに、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分画した後に、各画分試

料を生物検定に供試した。生育抑制作用が認められた画分を活性画分として高速液体クロマトグラフィー/質量分析器等を利用した化学的操作により、本雑草に含まれる他感作用候補物質を検索した。

(4)上記操作によって、抽出・単離・同定した他感作用候補物については、同一の標準品を購入・供試し、植物生育抑制作用ならびに土壌中における挙動(土壌吸着、代謝分解など)を経時的に調べることにより、本化合物の挙動と作用に関する基礎的性質を解析した。なお、その際には、本研究代表者により開発された二層遠心管法により土壌水を採取し、土壌中における本化合物の存在を土壌(固相)との吸着態と土壌水における溶存態とに分けて、それぞれを、生物検定および挙動実験に供試し、本雑草に含まれている他感作用候補物質の存在形態と作用発現との関連を解析した。なお、土壌中における MBOA の測定は、高速液体クロマトグラフィー(分析システム:LC10A、カラム:YMC-Pack ODS-AM S-5 μ m 150 \times 6.0mm I.D.、検出器:SPD 10A VP、検出波長:280nm、移動相:アセトニトリル/蒸留水=40:60、流速:1ml/min、検出限界:0.01 μ g/ml、保持時間:5.8min)により測定した。

(5)現地圃場およびポット栽培におけるツノアイアシ生育土壌を、根からの距離に応じて、非根域土壌(植物体を抜き取った後の周辺土壌)、根域土壌(抜いた根を軽くもみ、落下した土壌)、根圏土壌(根域土壌を採取した後根に付着していた土壌)、および非生育地土壌に分け、それぞれの土壌ごとに上記物質の存在量および生育抑制作用を調べた。

(6)なお、これらの実験の一部については、性質の異なる土壌を供試し、生育抑制作用と挙動における土壌間比較を実施し、本物質の他感作用発現に対する土壌要因の関与について解析した。

4. 研究成果

1)現地のツノアイアシ生育圃場においては、ヒメイヌビエ、オジギソウ、コセンダングサなどの雑草の生育が著しく阻害されていた。また、本雑草の茎葉部および根部粉末の土壌処理により、いずれも、処理量に依存して検定植物として供試したハツカダイコンに対して生育抑制作用を示したが、根部粉末の活性が高く、また、茎葉部に比べ根部伸長に対する抑制作用が顕著であった(図1)。

こうした結果より、本雑草体内には生理活性物質が存在すること、および、この物質は、土壌中へ放出され他感作用を発現している可能性が示唆された。

(2)上記の実験において、茎葉部粉末および根部粉末を処理した土壌の pH, 電気伝導度など、他感物質以外に植物生育を抑制する各

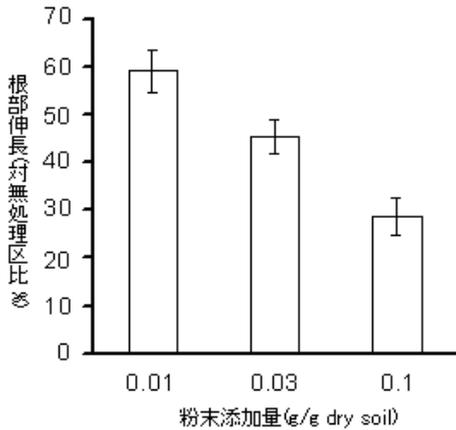


図1 茎葉粉末処理土壌におけるハツカダイコンの根伸長

種の要因を精査し、粉末処理土壌における生育抑制作用は、本雑草に含まれる生理活性物質による他感作用であることを明らかにした。また、二層遠心管法により、生育検定に供試した植物粉末処理土壌から採取した土壌水を海砂に添加し、生物試験を実施したところ、粉末添加土壌における場合と同様な生育抑制作用が認められた(図2)。

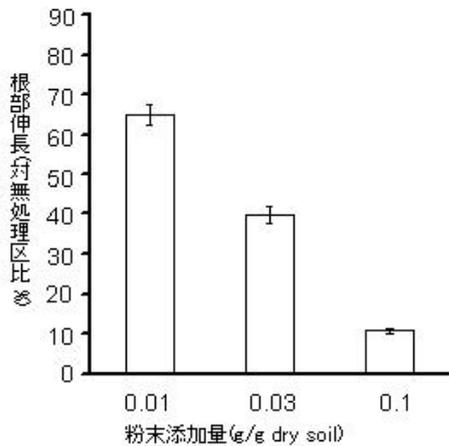


図2 茎葉部粉末処理土壌から採取した土壌水を添加した海砂におけるハツカダイコンの根伸長

これらの結果より粉末処理土壌における生育抑制作用は、土壌水中に含まれる他感物質によって発現するものと考えられた。

(3) ツノアイアシの根部および茎葉部からの抽出液に含まれている他感物質(候補)として6-methoxy-2-benzoxazolinone (MBOA)を検出した。MBOAは、植物生理活性物質として知られていたが、本研究における生物検定法として用いた土耕法および海砂法による生物検定においても、生育抑制作用を確認し、本物質は植物体より土壌へ放出されて他感作用を発現することが想定された。

(4) 現地圃場および栽培ポットのいずれにおいても、本雑草の生育土壌中には、MBOA

が存在することを確認し、本物質がツノアイアシに含まれる他感物質であることが明らかになった。

(5) 現地圃場および栽培ポットにおいて生育している本雑草の根からの距離が異なる場所の土壌を採取し、根部より土壌中へ放出されたMBOAの分布および作用を調べると、生育抑制作用は、根圏土壌、根域土壌および非根域土壌の順で低下した(図3)。また、これらの土壌ごとにMBOAの存在量を調べたところ、根から土壌へ放出されたMBOA量も、根からの距離に準じて低下し、上記の生育抑制作用と同じ傾向を示した(表1)。

これらの結果は、MBOAが本雑草の根から土壌中へ放出される他感物質であり、その存在量に依存して他感作用が発現することを示した。

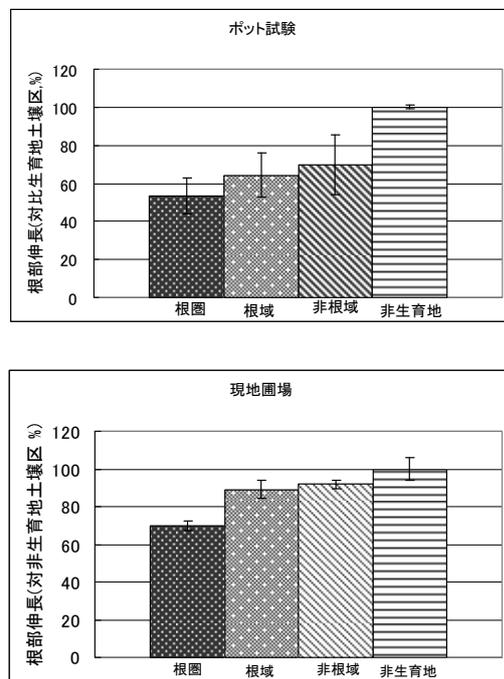


図3 区分した土壌におけるイネの生育

表1 根圏土壌区分法によるMBOAの土壌中の存在量 (nmol/g 乾燥土壌)

区分け域	ポット試験	タイ現地圃場
根圏	9.2±1.2	3.2±0.6
根域	5.3±0.5	1.6±0.0
非根域	2.8±0.9	0.5±0.2
非生育地	n.d.	n.d.

n.d.: 検出限界以下

(6) 土壌に処理されたMBOAは、処理後の時間経過に伴って急激に存在量が低下したが、存在形態別にみると、処理後のいずれの時間

においても、溶存態 MBOA に比べて吸着態 MBOA の存在量が多く、また、溶存態量の低下が顕著であった。こうした存在形態別の挙動は、土壌が異なっても、同様な傾向を示したが、土壌あたりの全存在量および吸着態量は、有機物含量の多い土壌ほど多く、また、溶存態濃度は、有機物含量が少ないほど高かった。

(7) 上記のような MBOA の挙動と生育抑制作用に関する実験結果に基づき、両者の関連性を解析した結果、土壌中における MBOA の生育抑制作用は、土壌の性質にかかわらず、いずれにおいても、土壌水における溶存態濃度に依存して発現していることが明かにされた。

以上の結果から、土壌中におけるツノアイアシの他感作用は、根から放出された MBOA の土壌水中における溶存態濃度に依存して発現しているものと思われる。また、圃場において茎葉部をマルチ資材として利用した場合には、土壌からの水分蒸発の抑制とともに、雑草制御効果も期待される。なお、本成果は、雑草の他感作用を利用した雑草制御において新たな基礎的知見を提供するものと思われる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

① Kobayashi K, Itaya D, Mahatamiuchouke P and Ponptom T, Allelopathic potential of itchgrass(*Rotteboellia exaltata* L.f.) powder incorporated into soil, Weed Biology and management, 8, 64-68(2008), 査読あり

[学会発表] (計 5 件)

①山村望、山路恵子、小林勝一郎、熱帯性雑草ツノアイアシ(*Rotteboellia exaltata* L.f.) の他感他感物質 6-methoxy-2-benzoxazolinone の土壌中における分布と作用発現、日本雑草学会第 48 回大会、2009.4.12.

②Kobayashi K: Behavior and phytotoxic activity of allelochemical in soil. Fifth International Congress on Allelopathy, Sagatra Spring, U.S.A, 2008.9.23.

③板屋大吾、山路恵子、小林勝一郎、ツノアイアシ(*Rotteboellia exaltata* L.f.)に含まれる生理活性物質の検索とその他感作用、日本雑草学会第 47 回大会、2008.4.19.

④Itaya D, Mahatamiuchouke P, Yamaji

K and Kobayashi K, Allelopathic potential of itchgrass(*Rotteboellia exaltata* L.f.) in soil. 4th Asia-Pacific Conference on Chemical Ecology, Tsukuba, 2007. 9.12.

⑤板屋大吾、小林勝一郎、Pornprom M, Mahatamiuchouke P、土壌中における熱帯性雑草ツノアイアシ(*Rotteboellia exaltata* L.f.)の他感作用、日本雑草学会第 46 回大会、2007.4.15.

6. 研究組織

(1)研究代表者

小林 勝一郎(KOBAYASHI KATSUICHIRO)
筑波大学・大学院生命環境科学研究科・教授
研究者番号：40087606

(2)研究分担者

山路 恵子(YAMAJI KEIKO)
筑波大学・大学院生命環境科学研究科・准教授
研究者番号：00420076

(3)連携研究者

なし