

機関番号：80122

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20580166

研究課題名（和文） 樹木の分子系統および動植相互作用系に着目した化学的防御と投資配分機構の実証的研究

研究課題名（英文） Tree chemical defense and investment allocation based on tree molecular phylogeny and plant-animal interaction.

研究代表者

関 一人 (SEKI KAZUTO)

地方独立行政法人北海道立総合研究機構・研究員

研究者番号：20446313

研究成果の概要（和文）：

北方系針葉樹であるカラマツ属の化学的防御機構の解明を目的として、植食性小型哺乳類（野ネズミ）に対する被食抵抗性物質に関して生物操作実験を通じて検討し、ある種の樹脂成分に被食抵抗性が高いことを明らかにした。また、被食抵抗性物質を含む樹脂成分の生合成の種間の差は、樹木成長に影響を及ぼすことを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

The chemical defense against small mammalian herbivores in boreal tree, *Larix*, was investigated. In this study, it was shown that some resin components were highly resistant to vole via the feeding bioassay, and the difference of the resin-component biosynthesis among *Larix* species could have effect on the tree growth.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：化学生態学

科研費の分科・細目：森林学・森林科学

キーワード：化学生態、針葉樹、植食性小型哺乳類、植物二次代謝物、生合成、植物成長、代謝コスト、種分化

1. 研究開始当初の背景

北方森林生態系では、植食性哺乳類のゼネラリストは冬期間において草本を入手することが困難となり、もっぱら樹木を採食対象とするため、樹木はきわめて過酷な被食圧を受ける。とりわけ、野ネズミなどの植食性小型哺乳類から受ける樹木の種子や稚苗の被食は、樹木の成長や更新、植生遷移に多大な影響を与えることが示唆されている。このた

め、同生態系に現生する樹木の一部は動植相互作用を通じて被食に対して強力な化学的防御を進化させたことが論考されている。

化学的防御と成長との間にはトレードオフの関係が存在することが、植物防御戦略に関する最適投資配分理論として展開されており、このような進化生態学的理論は樹木の化学的防御戦略を理解する上でも重要であると考えられている。しかし、当該理論の実

証に関する報告は国内外においても著しく限られている。

そこで本研究では、北方針葉樹であるカラマツ属の野ネズミ（タイリクヤチネズミ）に対する被食抵抗性物質（以下、抵抗性物質という）を明らかにする。また、カラマツ属におけるこれらの抵抗性物質の組成を調べ、その生合成代謝と成長との投資配分パターンを検討する。

2. 研究の目的

(1) 野ネズミに対するカラマツ属の抵抗性物質の解明

ユーラシア大陸で地理分布の共通性の有無を示す野ネズミおよび針葉樹を研究対象とし、生物操作実験によりカラマツ属の抵抗性物質の特定とその抵抗性強度を明らかにする。

(2) カラマツ属における抵抗性物質と成長速度に関する投資配分パターンの解明

植物の化学的防御と成長への最適投資配分に関する進化生態学的理論に基づき、カラマツ属の分子系統と動植相互作用系に着目したうえで、抵抗性物質の生合成と成長速度から投資配分関係を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 樹木の抵抗性物質の特定に向けた物質精製と人工飼料開発

①物質の精製

野ネズミに対して抵抗性の高いグイマツ樹皮の有機溶媒抽出物をクロマト分析するとともに、抵抗性候補物質を単離精製する。

②人工飼料の開発

野ネズミに対するカラマツ属の抵抗性物質を特定するための生物操作実験に使用する目的で、得られた候補物質を木質系粉砕物に所定量含浸させたのちに、ペレット状の人工飼料にするための成形器具の製作を試みた。それを用いた生物操作実験に向けて、適切な人工飼料を調整する条件について検討した。

(2) 樹木の抵抗性物質の特定と化学的特性の検討

①抵抗性物質の特定

野ネズミに対する針葉樹の抵抗性物質を特定する目的で、樹皮における天然含有率に準じて、抽出物、画分、抵抗性候補物質を樹皮粉に添加・成形して人工飼料を調製し、処理区とした。これとは別に、抽出物、画分、化合物を添加しない人工飼料を調製し、対照区とした。林地で捕獲したのち、屋内で一定期間飼育した野ネズミに対して、処理区および対照区の人工飼料を同時に供試し、その摂食量を比較検討した。

②抵抗性物質の化学構造

抵抗性を示した化合物を、赤外線分光分析法、核磁気共鳴分光分析法、質量分光分析法などの各種分光分析法により検討し、その化学構造を解析した。

(3) 樹木の分子系統および動植相互作用系の、化学的防御および投資配分におよぼす影響の検討

①カラマツ属の分子系統と抵抗性物質

カラマツ属および野ネズミの自然分布と樹脂成分組成の関係について検討する。

②化学的防御と樹木成長に関する投資配分

カラマツ属の分子系統における、樹脂成分の生合成と樹木成長への投資配分パターンについて検討する。

4. 研究成果

(1) 樹木の抵抗性物質の特定に向けた物質精製と人工飼料開発

①物質の精製

グイマツ樹皮の有機溶媒抽出物をクロマト分析し、化学的防御に関する候補物質を確認した。溶媒 pH に対する溶解性の差に基づいて、抽出物を数画分に分離したところ、各物質の分離が向上し、単離精製がほぼ可能であることを確認した。各画分より候補物質を効率的に単離するために、順相担体-有機溶媒系および逆相担体-有機溶媒・水系などのクロマトグラフによる分離に関して条件検討を行った。一部の物質の単離については、溶媒のイオン強度を調製する必要があった。また、再結晶法に関する溶媒選択などの条件検討の結果、各画分よりいくつかの候補物質をグラム単位で単離精製することが可能となった。

②人工飼料の開発

鋼材から試作した金型成形器具を用いて、木質系粉砕物の粒度および充填量、圧力、時間などの適切な成形条件を得ることができた。野ネズミを用いて当該試作人工飼料について予備的検討を行い、摂食量などの評価結果より、生物操作実験において適切なペレット飼料が得られることを確認した。

(2) 樹木の抵抗性物質の特定と化学的特性の検討

①抵抗性物質の特定

抽出物、画分を添加した処理区の摂食量は、対照区と比較して有意に低かった。数種の抵抗性候補物質では、天然含有率の添加レベルの処理区において、その摂食量は対照区と比較して有意に低かった。また、天然含有率より低い添加レベルでは、両者の摂食量に明らかな差は認められなかった。

②抵抗性物質の化学構造

抵抗性を示した化合物はイソプレノイドに属し、精油や樹脂に含有される主要成分であることが確認された。

①、②のことから、野ネズミに対するカラマツ属の化学的防御の一因は、おもに樹脂を組成するいくつかのイソプレノイドとその濃度に起因することを明らかにした。

(3) 樹木の分子系統および動植相互作用系の、化学的防御および投資配分におよぼす影響の検討

①カラマツ属の分子系統と抵抗性物質

ユーラシア大陸に分布するカラマツ属の分子系統において、種間の樹脂成分組成の変異性は、変種間のそれと比較して高い傾向を示した。野ネズミと地理的分布が共通するカラマツ属の種および変種では、共通しない種および変種と比較して、樹皮における樹脂成分の含有量およびそれに組成される抵抗性物質の割合は高い傾向を示した。ユーラシア大陸に分布するカラマツ属における樹脂成分の生合成代謝に基づいた化学的防御の進化的獲得は、カラマツ属と野ネズミとの地史的な地理的分散における動植相互作用の有無などとの関連性が示唆された。

②化学的防御と成長に関する投資配分

カラマツ属の分子系統の樹種および変種において、樹脂成分の樹皮における含有量と成長速度には、負の相関関係が認められた。この一因として、樹脂成分はその生合成過程において、他の二次代謝物と比較して多数の還元反応を伴うために生合成代謝コストが高価となることから、成長を抑制することが考えられた。このことから、カラマツ属の化学的防御と成長との間にはトレードオフの関係が存在することが示唆され、植物防御戦略に関する最適投資配分理論と符合することが考えられた。

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 2 件)

- ①Sato, M., Seki, K., Kita, K., Moriguchi, Y., Hashimoto, M., Yunoki, K., Kofujita, H., Onishi, M. (2009) Comparative analysis of diterpene composition in the bark of the hybrid larch F1, *Larix gmelinii* var. *japonica* × *L. kaempferi* and their parent trees. J. Wood Sci. 55: 32-40. (査読有)
- ②Sato, M., Seki, K., Kita, K., Moriguchi, Y., Yunoki, K., Onishi, M. (2008) Prominent differences in leaf fatty acid composition in the F1 hybrid compared

with parent tress *Larix gmelinii* var. *japonica* and *L. kaempferi*. Biosci. Biotechnol. Biochem 72: 2895-2902. (査読有)

[学会発表] (計 3 件)

- ①Seki, K., Orihashi, K., Saito, N. (2009) Localization of terpenoid accumulation in the bark tissues in *Larix gmelinii* var. *japonica*, as a chemical defense of conifers. 25th Annual Meeting of International Society of Chemical Ecology. 2009/8/25, Neuchâtel, Switzerland.
- ②Seki, K., Orihashi, K.: (2010) Disposition of defensive and nutritional substances in the bark of *Larix gmelinii* var. *japonica* in chemical defense. British Ecological Society, Annual Symposium 2010: The integrative role of plant secondary metabolites in ecological systems. 2010/4/12, Brighton, UK.
- ③ Seki, K., Orihashi, K., Saito, N., Nakata, K. (2010) Chemical defense of terpenoids in boreal conifer against herbivorous vole. 26th Annual Meeting of International Society of Chemical Ecology. 2010/8/2, Tours, France.

[図書] (計 1 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 雑種識別方法

発明者: 関 一人、佐藤真由美、岸野正典、来田和人、内山和子、大西正男

権利者: 関 一人、佐藤真由美、岸野正典、来田和人、内山和子、大西正男

種類: 特許

番号: 特願 2009-064128

出願年月日: 平成 21 年 3 月 17 日

国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ等

http://www.fpri.hro.or.jp//gi_jutsujoho/default.htm

6. 研究組織

(1) 研究代表者

関 一人 (SEKI KAZUTO)

地方独立行政法人北海道立総合研究機構・林産試験場・研究員

研究者番号: 20446313

(2)研究分担者

折橋 健 (ORIHASHI KEN)

地方独立行政法人北海道立総合研究機
構・林産試験場・研究員

研究者番号：60446292

(3)連携研究者