

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 25 日現在

機関番号：82107

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25450029

研究課題名(和文) ヒマラヤシーダー落葉に含まれるアレロケミカルの構造決定と土壤中での活性評価

研究課題名(英文) Identification of allelochemical in fallen leaves of Hemalayan Cedar

## 研究代表者

加茂 綱嗣 (KAMO, Tsunashi)

国立研究開発法人 農業環境技術研究所・生物多様性研究領域・主任研究員

研究者番号：60345759

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：ヒマラヤシーダーの落葉は野外において著しく雑草の成長を阻害することから、その成分の同定、土壤中での活性評価等を試みた。各種機器分析により、活性成分はアブシジン酸と同定した。火山灰土壌、沖積土壌および石灰質土壌のいずれもこの化合物の植物成長阻害活性を低下させなかった。試験により土壌へ吸着されにくいことが判明し、その理由は極性よりは立体的な要因が大きいことが示唆された。また、年間を通して落葉量を測定した結果、春から夏に落葉のピークがあることが確認された。その時期は落葉直後のアブシジン酸濃度も最も高かった。このことから、野外においてもアブシジン酸が雑草の成長抑制に寄与している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Fallen leaves of Hemalayan Cedar inhibit the growth of neighboring plants. We elucidated the chemical structure of the active compound and evaluated its plant growth activity in soils. By spectral analyses, it was identified as abscisic acid. It showed the activity in the presence of volcanic ash soil, alluvial soil, or calcareous soil. This compound was hardly absorbed by soils, which could be attributed to stereochemical factors rather than the degree of polarity. We quantified the amount of fallen leaves throughout the seasons and confirmed that they reached the maximum between spring and summer. The concentration of abscisic acid in fresh fallen leaves was also the largest in these seasons. These observations implied that abscisic acid might play a role in weed growth inhibition in the field.

研究分野：天然物化学

キーワード：アレロパシー アブシジン酸

### 1. 研究開始当初の背景

現代農業において農薬が果たす重要な役割は、人類の生活を支える基盤となっている。仮に全ての農薬の使用を中止すると、水稻・小麦・大豆は約 30%、りんごでは 97%の減収になると試算されている。農薬の中でも除草剤は、農家の労働の大半を占めていた草引きから人々を解放した点で貢献が大きい。1960 年代以降、農薬が人体や環境へ与える悪影響が広く研究者や市民の関心を集め、その後の除草剤開発では安全性が最も優先された。その結果、グリホサートなど、動物への有害性が低く環境中で速やかに分解される優れた原体を主成分とする除草剤が用いられるようになった。しかし、耐性雑草の出現により、現在も新たな剤の開発が必要とされている。

除草剤開発の基礎となるリード化合物の探索は、化学合成の他に天然物のスクリーニングによって行われている。天然物を対象とした探索の中で、ある種の植物が周囲の他の植物の成長を抑制する能力（アレロパシー）に着目し、その活性成分（アレロケミカル）を利用しようとする研究が従来から行われてきた。天然物は生態系において分解機構が備わっているはずなので、その化学合成品を農薬として使用しても環境中に長期間残留しにくく、リード化合物の優れたソースと考えられている。

ヒマラヤシーダーの落葉は野外で明瞭なアレロパシー現象が観察されるため、応用段階では活性成分が土壌中でも吸着されることなく活性を示すことが期待された。

### 2. 研究の目的

当グループがこれまでスクリーニングしてきた中で、ヒマラヤシーダーの落葉は野外において著しく雑草の成長を阻害することから、最も期待している天然資材であった。予備試験において、その落葉由来の活性成分は土壌中で吸着等により不活性化されず、むしろ活性が向上することが示唆されていた。これは将来的に土壌に投与する際、大きな長所となると考えられた。

本研究では、ヒマラヤシーダー落葉中の植物成長阻害成分の同定、土壌中における活性評価、土壌中で活性が低下しない理由の解明を行い、新たな除草剤のリード化合物を提示することを目的とした。また、生態学的な観点から、野外における量的な変動も調べた。

### 3. 研究の方法

(1) ヒマラヤシーダーの落葉抽出物より生物試験を指標として活性成分を単離し、各種機器分析により構造決定を行った。

(2) ミモシンやジユクロンなど他の植物由来のアレロケミカルは、土壌の存在下では活性が大きく低下することから、試験化合物の水溶液へ寒天と土壌（火山灰土壌、沖積土壌ま

たは石灰質土壌）を添加して発芽試験を行う系を用い、土壌存在下での化合物の活性を評価した。

(3) 通常、土壌中では分解や吸着などにより化合物の活性が大きく低下することが多いことから、活性成分が土壌中で失活しない理由を検討した。

(4) 野外での効果について考察するため、ヒマラヤシーダーの落葉を野外で経時的にサンプリングし、落葉量や活性成分の含量を調べた。

### 4. 研究成果

(1) ヒマラヤシーダーの落葉を 80%メタノールにて室温で抽出し粗抽出液を得た。レタス幼根への成長阻害活性を指標とし、活性炭、シリカゲルカラム等を用いて酸性画分を精製した。各種機器分析により、単離した活性成分の活性本体はアブシジン酸であることを確認した。研究計画では、単離した化合物の種々の植物に対する成長阻害活性を測定する方法で、新たな除草剤のリード化合物としての可能性を検討することとしていたが、植物ホルモンとして先行研究データが蓄積されているアブシジン酸が活性本体として得られたことから、これらは文献等より容易に得られる情報であるため、この部分は研究計画を変更し、実施しなかった。

(2) 火山灰土壌、沖積土壌または石灰質土壌とアブシジン酸を含む寒天培地にレタス種子を播種して培養後に幼根伸長を測定すると、いずれの土壌を添加した場合も、土壌を含まない寒天培地と比較してアブシジン酸の成長阻害活性は低下しないか、わずかに上昇した。発芽処理した種子に対してはこの効果が認められなかったことから、アブシジン酸による種子の発芽阻害活性のみが土壌によって増強されたと考えられた。土壌の代わりにこれらの土壌の水溶性成分を添加しても同様の活性が認められたため、土壌中の成分によって植物のアブシジン酸代謝経路が不活性化されている可能性が考えられたが、アブシジン酸水酸化酵素である CYP707A に対する阻害活性は観測されなかった。

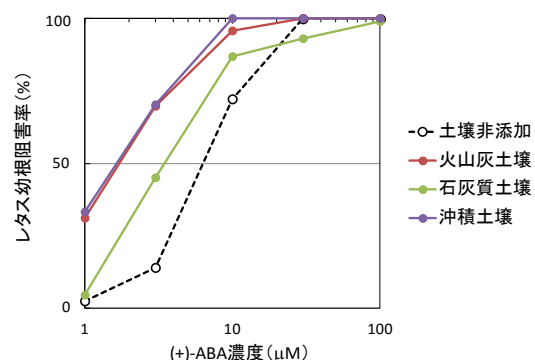


図 1. 土壌存在下でのアブシジン酸の活性

(3) アブシジン酸が土壤中で失活しない理由を検討するため、トランス桂皮酸やインドール酢酸とアブシジン酸の土壌への吸着を比較した。その結果、0.01 mg/mL の濃度で添加したアブシジン酸は、火山灰土壌、沖積土壌および石灰質土壌のいずれにもほとんど吸着されないことがわかった。一方、同濃度で添加したトランス桂皮酸やインドール酢酸は大部分が土壌に吸着された。計算上の分配係数から、これらの化合物と比較してアブシジン酸の親水性はより高いと考えられるため、土壌への吸着されにくさは、立体構造の差異などによると考えられる。

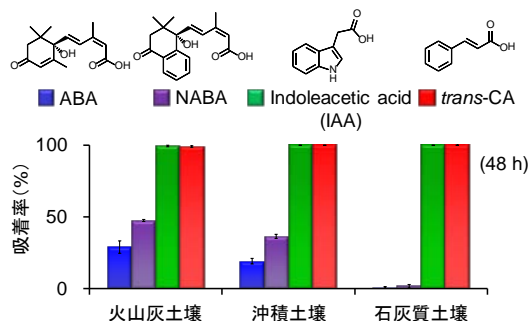


図 2. 土壌への吸着率の比較  
ABA (アブシジン酸)、NABA (アブシジン酸誘導体)、IAA (インドール酢酸)、trans-CA (トランス桂皮酸)

(4) 年間を通してヒマラヤシーダー林床における落葉を定期的にサンプリングし、その重量を測定した結果、ヒマラヤシーダーは春から夏にかけて多量に落葉することを確認した。その時期の落葉速度は、1 平方メートル当たり最大 300 mg 新鮮重/時であった。対照的に、冬季はその 1/10 程度まで落葉速度が低下していた。また、ヒマラヤシーダー生葉中のアブシジン酸濃度は年間を通して 3  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  以下であるが、落葉直後の濃度は季節によって大きく変動し、春から夏にかけては 5~15  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  程度まで上昇していることが明らかとなった。これらのことから、ヒマラヤシーダーは植物が繁茂しやすい春から夏にかけて落葉することでアブシジン酸を林床に供給し、それが土壌吸着により失活されにくいため下層植生の発達を抑え、水や養分の競合を緩和していることが示唆された。

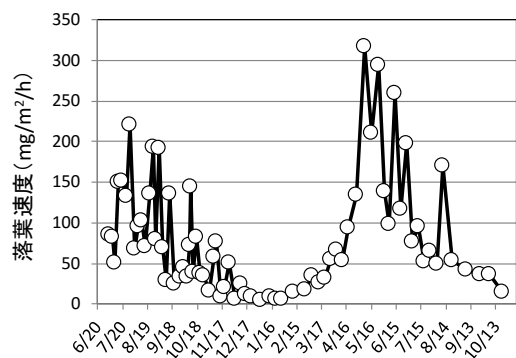


図 3. ヒマラヤシーダーの落葉速度

## 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 0 件)

[学会発表] (計 2 件)

- ① 櫻井 栄、加茂 綱嗣、平舘 俊太郎、轟 泰司、「ABA は土壌に吸着されにくい」、植物化学調節学会第 49 回大会、2014 年 10 月 18 日、京都大学農学部総合館 (京都市)
- ② 櫻井 栄、加茂 綱嗣、平舘 俊太郎、轟 泰司、「土壌中におけるアブシジン残の挙動と生物活性」、日本農薬学会第 39 回大会、2014 年 3 月 15 日、京都大学農学部総合館 (京都市)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]

ホームページ等 なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

加茂 綱嗣 (KAMO, Tsunashi)  
国立研究開発法人農業環境技術研究所・生物多様性研究領域・主任研究員  
研究者番号：60345759

### (2) 研究分担者

平舘 俊太郎 (HIRADATE, Syuntaro)  
国立研究開発法人農業環境技術研究所・生物多様性研究領域・上席研究員  
研究者番号：60354099

轟 泰司 (TODOROKI, Yasushi)

静岡大学・(連合)農学研究科(研究院)・  
教授  
研究者番号：30324338

(3)連携研究者  
なし