

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 20 日現在

機関番号：80122

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25450221

研究課題名(和文)カラマツ類の樹皮における二次代謝物と組織による化学的防御戦略の解明

研究課題名(英文) Strategies of chemical defense by secondary metabolites and tissue in the bark of Larix species

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・森林研究本部林産試験場・主査

研究者番号：20446313

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：カラマツ類〔グイマツ(*Larix gmelinii* var. *japonica*)、カラマツ(*L. kaempferi*)、グイマツ雑種F1(グイマツ×カラマツ)]の内・外樹皮における二次代謝物(主要テルペノイド、主要フラボノイド、可溶性糖類)の組成、含有量、分布を調査した。また、二次代謝物および栄養性物質の分布状況や外敵種(植食性小型ほ乳類、害虫、樹病)に対する抵抗性の関係から、カラマツ類の樹皮における化学的防御戦略について推定した。

研究成果の概要(英文)：The quantitative composition and distribution of the secondary metabolites and nutritional substances in the inner and outer bark of Kuril larch (*Larix gmelinii* var. *japonica*) and Japanese larch (*L. kaempferi*), and their interspecific hybrid F1 (*Larix gmelinii* var. *japonica* × *L. kaempferi*) were investigated. In this study, it was shown that the strategies of chemical defense in the bark of these *Larix* species would be metabolites and the resistance to species of natural enemies (e.g. small herbivorous mammals, insects, and tree pathogens).

研究分野：化学生態学

キーワード：針葉樹 樹皮 化学的防御 二次代謝物 栄養物質 生合成 栄養物質 量的遺伝

1. 研究開始当初の背景

樹木樹皮の重要な機能のひとつは、病原菌や植食性動物などの外敵から樹木自身を物理的および化学的に防御することである。樹皮の二次組織は、内側に生きている二次師部（内樹皮）外側に死滅したリチドーム（外樹皮）から構成される。二次師部は形成層の外側の細胞から分化し、光合成同化物質およびその誘導化物質である一次代謝物、すなわち“糖類”などの栄養物質を輸送、集積、貯蔵するが、これらは外敵による恒常的な攻撃・搾取の対象となる。その対抗策として、針葉樹の二次師部では、テルペノイドやフラボノイドをはじめとする毒性など多様な生理活性を有する二次代謝物をそれぞれ特異の内分泌構造で恒常的に生合成するとともに貯蔵するといった、外敵に対する恒常的防御（以下、化学的防御）を進化させてきたことが論考されている。一方、リチドームは、非透水性コルク層の周皮により二次師部外側部を取り込みながら分化し、陽光、風雨、外敵から二次師部や形成層などの生組織を物理的防御する最前線と考えられているが、化学的防御に関する知見はきわめて乏しい。また、現生種の組織観察や化石記録などから、維管束植物の防御を担当する内分泌構造の分布状況は、進化過程において内在性から外在性の傾向があることが指摘されているが、木本植物の樹皮組織内に関する知見はほとんど見あたらない。したがって、樹皮組織における防御物質、栄養物質、内分泌構造の分布状況を検討することは、樹木の化学的防御を進化生態学的に論考する上で重要であると考えられる。

北海道に植栽されるカラマツ類において、ある種の樹病菌に対しては、カラマツ>グイマツ×カラマツ（グイマツ雑種F1、以下、F1）>グイマツの順に罹病抵抗性が高く、抵抗性と樹皮のフラボノイド量との関連が示唆されている。一方、ある種の植食性小型哺乳類の樹皮食害に対して、グイマツ>F1>カラマツの順に被食抵抗性が高く、抵抗性は樹皮の主要テルペノイド量に起因することが示唆されている。また、成長速度に関しては、カラマツ F1 グイマツの順に高いことが認められている。これらより、両樹種の自生地における最大の外敵種に対して最も有効な樹皮における防御物質の選択と、それに相応する成長への投資配分に基づく化学的防御戦略を進化させてきたこと、高い種間交雑能を示すカラマツ属において両樹種の化学的防御は雑種第一代に量的遺伝することが示唆される。しかし、雑種を含めた同属樹種において外敵種に応じた化学的防御戦略に言及した研究は国内外でも見あたらない。

2. 研究の目的

- (1) カラマツ類の樹皮における二次代謝物の組成および分布の解明
樹木解剖学的見地に基づき、テルペノイド

およびフラボノイドなどの防御物質、内分泌構造の樹皮組織における分布状況と樹皮組織形成との関係、各種の防御物質の化学的防御の強度を検討する。

- (2) カラマツ類における化学的防御戦略の解明

樹病菌および植食性動物などの外敵種の生態に相応した各種の防御物質の量的組成、生合成経路における生合成コスト、組織内における貯蔵コストの化学的防御に関するベネフィットにおよぼす影響を調査し、同属樹種間における化学的防御戦略の相違を明らかにする。

3. 研究の方法

- (1) 防御物質・栄養物質の二次師部およびリチドームにおける組成・分布の検討

グイマツ、カラマツ、F1の各複数個体から同一時期に大枝または樹幹から樹皮を採取し、樹皮組織解剖学に基づき、最内側の周皮コルク皮層を境界として、二次師部とリチドームに分離する。得られた二次師部およびリチドームの有機溶媒抽出物を調製して各分析試料とし、テルペノイド（30成分）についてはガスクロマトグラフィー-質量分析計（GC-MS）、フラボノイド（4成分）については高速液体クロマトグラフィー（HPLC）などの分析機器を用いて、量的組成を分析する。一方、樹皮組織のアルコール抽出物および残さより、栄養物質である可溶性の単・少糖類（5成分）、貯蔵性のデンプンの量的組成を、HPLCや紫外線吸光度計などの分析機器を用いて分析する。防御物質・栄養物質の分布状況を把握するために、統計的解析（リチドームおよび二次師部での対比較、各樹種間での多重比較など）を行う。

- (2) 防御物質の化学的防御の強度の検討

防御物質の組成と強度を把握することは、化学的防御のコスト-ベネフィットを理解するために重要であると考えられる。外敵から受ける栄養物質への嗜好性の効果を打ち消すための防御物質の効果を表す指標として、(1)の結果から防御物質/栄養物質比（重量比）を算出するとともに、先行研究における樹病菌および植食性哺乳類に対するカラマツ類樹種・雑種の抵抗性強度との相関を解析し、防御物質の量的組成との関係や各防御物質の化学的防御の強度について検討する。

- (3) 内分泌構造の二次師部およびリチドームにおける組成・分布の検討

防御物質の貯蔵コストは樹皮組織の生・死により有・無となることから、二次師部およびリチドームにおける、防御物質の生合成および貯蔵を担当する細胞構造の分布状況を把握することは、化学的防御のコスト-ベネフィットを理解するために重要であると考えられる。実体顕微鏡などを用いて、樹皮組織

中の樹脂道、樹脂嚢などの内分泌構造を観察するとともに、サイズ・数量・位置の画像データを解析する。

(4) 防御物質、栄養物質、内分泌構造の樹皮組織内分布と樹皮組織形成機構との関係の検討

防御組織である樹皮において、防御物質、栄養物質、内分泌構造の分布におよぼす組織形成機構を検討することは、化学的防御の獲得過程に関する進化生態学的情報を得るために重要である。カラマツ類の樹皮は、樹皮組織を内外および生死を分割する周皮の形態により、“うろこ状リチドーム”と呼ばれる。(1)、(2)で得られた防御物質、栄養物質、内分泌構造の樹皮組織内分布と、生組織である二次師部内の微細組織や周皮の分化過程および死滅組織であるリチドームの形成機構との関係について樹種間で比較検討する。

(5) 防御物質の生合成・貯蔵コストの化学的防御におよぼす影響の検討

テルペノイドはフラボノイドと比較して、生合成経路や毒性が異なるために、生合成・貯蔵コストなどが高価であることが指摘されている。したがって、各種の防御物質の生合成経路における生合成コスト、樹皮組織内における貯蔵コストを検討することは、長期的な樹木生理にも影響を与えることから、化学的防御戦略を論考する上で重要である。

(1)~(3)で得られた結果をもとに、各種の防御物質に関して、生合成経路において利用される生体エネルギー物質であるATPやNADPH₂などの分子数収支から算定される生合成コストや、樹皮組織の生・死などから算定される貯蔵コストと、化学的防御の強度や樹木成長への投資配分との関係について解析し、化学的防御のコスト・ベネフィットについて樹種間で比較検討する。

(6) 外敵種に応じた防御物質の化学的防御戦略におよぼす影響の検討

樹木の化学的防御は外的環境との相互作用により獲得されたことが論考されているため、樹木の自生地における主要外敵からの被病圧および被食圧などを考慮することは重要である。(4)、(5)で得られた結果に基づき、カラマツ類の樹皮組織における外敵種(樹病菌および植食動物)の生態に応じた化学的防御戦略について樹種間で比較検討する。

4. 研究成果

(1) 防御物質・栄養物質の二次師部およびリチドームにおける組成・分布の検討

グイマツ家系(G1×G1)、カラマツ家系(L1自然交配)、F1家系(G1×L1)の枝樹皮において、3樹種間および内・外樹皮間における、主要な二次代謝物(テルペノイド 36種、フ

ラボノイド3種)および糖類(4種)の組成を明らかにした。主要テルペノイド(3-カレン、ラリキソール他などや総テルペノイド)の含有量はグイマツ>F1>カラマツの順に高かったが、フェノール性成分(主要フラボノイド、総フラバノール、総フェノール)の含有量はカラマツ>F1>グイマツの順に高かった。また、糖類(グルコース、スクロース他などや総デンプン)の含有量は3樹種ともに同程度であった。3樹種ともに、主要テルペノイドの含有量は外樹皮の方が内樹皮よりも高かったが、フェノール性成分および糖類は内樹皮の方が外樹皮よりも高かった。

(2) 防御物質の化学的防御の強度の検討

カラマツ類の病虫獣害に対する抵抗性に関与する二次代謝物を推定した。エゾヤチネズミ、カラマツハラアカハバチ、カラマツ先枯病に対する抵抗性はグイマツ>F1>カラマツの順に、ナラタケ病、カラマツ落葉病に対する抵抗性はカラマツ>F1>グイマツの順に高いことが、既往の調査より多数報告されている。これらの調査報告および(1)の結果より、に関してはテルペノイド、に関してはフラボノイドにおける抵抗性強度が高いことが推定された。

(3) 内分泌構造の二次師部およびリチドームにおける組成・分布の検討

グイマツ家系(G1×G1)、カラマツ家系(K1自然交配)、F1家系(G1×K1)の枝樹皮において、3樹種間および内・外樹皮間における、内分泌構造(樹脂道、樹脂嚢)の面積・密度を明らかにした。3樹種ともに、外樹皮および内樹皮の横断面には、オレオレジンを含む樹脂道および樹脂嚢がいくつも存在していた。グイマツ、F1の外樹皮および内樹皮における樹脂嚢および樹脂道の面積および密度は、カラマツのそれよりも有意に高かった。3樹種ともに、外樹皮の樹脂嚢の面積および密度は内樹皮のそれよりも有意に高かった。

(4) 防御物質、栄養物質、内分泌構造の樹皮組織内分布と樹皮組織形成機構との関係の検討

3樹種ともに、主要テルペノイドの含有量は外樹皮の方が内樹皮よりも高かった(H25成果)。内分泌構造は生きている内樹皮および外樹皮の形成過程で取り込まれて死滅した内樹皮に存在していたことから、その分布の要因は樹皮の発達過程と強く関連していることが示唆された。

(5) 防御物質の生合成・貯蔵コストの化学的防御におよぼす影響の検討

二次代謝物の生合成経路に基づきテルペノイド、フラボノイドの単位量の生成に必要なエネルギー物質(ATP、NADHもしくはNADPH)量を算出し、前者の方が後者よりも多くのエ

エネルギー物質を必要とすることを明らかにした。本結果とカラマツ類の樹皮における二次代謝物の含有量から、グイマツ、カラマツ、F1 樹皮におけるテルペノイドとフラボノイドの全量合成に必要なエネルギー物質量を算出した。グイマツは、カラマツと比較して二次代謝物の生合成に多くのエネルギーを要しており、化学的防御のコストが高いと判断された。また、グイマツではテルペノイドを死滅組織である外樹皮に偏在させているが、これによりグイマツ生組織における被毒を防ぎ、貯蔵コストを低減させる観点から合理的と推察された。

(6) 外敵種に応じた防御物質の化学的防御戦略におよぼす影響の検討

グイマツの自然分布域にはエゾヤチネズミなどの小型植食性動物が生息しており、この獣害に対してグイマツは、生合成コストは費やすがテルペノイドを合成し、これを外樹皮により集積させ、貯蔵コストを抑えながら抵抗する防御戦略を進化させたと推定された。一方、カラマツの自然分布域にはナラタケ病等の木材腐朽菌が分布しており、この侵入に対してカラマツはフラボノイドを合成し、生組織である内樹皮に多く集積させて抵抗する防御戦略を進化させたと推定された。

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1件)

関 一人 (2013) 北海道のカラマツ類の樹皮に含まれる特性と有用性. 林産誌 41(12) 月号: 8-12. (査読無)

[学会発表](計4件)

関 一人, 折橋 健 (2013) カラマツ類の枝樹皮組織における二次代謝物の集積. 第45回日本木材学会北海道支部研究発表会. 2013/11/28.

関 一人, 折橋 健 (2014) カラマツ類の枝樹皮組織における二次代謝物と糖質の組成と分布. 第64回日本木材学会北海道支部研究発表会. 2014/03/15.

関 一人, 折橋 健 (2014) カラマツ類の枝樹皮組織におけるジテルペノイドと内分泌構造. 第45回日本木材学会北海道支部研究発表会. 2014/11/12.

Seki, K., Orihashi, K. (2015) Characterization of secondary metabolites, nutritional substances, and internal secretory structures in the branch bark tissues among two larch species and their hybrid F₁. IAWPS International Symposium on Wood Science and Technology 2015: Tokyo, Japan, March 15-17, 2015.

[図書](計 件)

[産業財産権]
出願状況(計 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 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

<http://www.fpri.hro.or.jp/gijutsujoho/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・主査

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・研究主任

研究者番号: 60446292

(3) 連携研究者

()

研究者番号: