

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 26 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2014～2017

課題番号：26304024

研究課題名(和文) つるの巻き付きを防止する生理活性物質を含む植物の探索と作用物質の同定

研究課題名(英文) Screening and identification of bioactive natural chemicals inhibiting climbing of plants

研究代表者

藤井 義晴 (Fujii, Yoshiharu)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・卓越教授

研究者番号：10354101

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,000,000円

研究成果の概要(和文)：ガーナ、ケニア、スーダン、カメルーン、カンボジア、マレーシア、ベトナム、トルコ、イラン、ロシア、中国の雲南省、内モンゴル自治区などに出張したり現地研究者と連絡研究を行い、アレロパシー活性の強い植物を検索した。選抜した植物を重力屈性阻害活性、蔓の巻き付き防止活性を検定する系で検定した。アメリカネナシカズラを用いるつるの巻き付きを防止する検定法を開発した。これらの系によりクズ、シラゲクサフジ、アメリカネナシカズラ等のつる植物のつるの巻き付きを阻害する物質を数種見出した。これらの物質が実際にクズのつるの巻き付きを阻害する検定試験を実施し、現地においても蔓の巻き付きを阻害する活性のある成分を得た。

研究成果の概要(英文)：In Ghana, Kenya, Sudan, Cameroon, Cambodia, Malaysia, Vietnam, Iran, Turkey, Russia, China and other countries, screening of allelopathic activity were done with the help of research scientists in their countries. From the selected plants with potent allelopathic activity, screening for gravitropism and prevention of climbing were done, and several candidate plants were selected. A new bioassay specific for climbing was developed by using Cuscuta pentagona, a noxious invasive weed. Among these plants, isolation and identification of natural chemicals connected with activities were done and several candidate chemicals were isolated. With these candidate chemicals, pot test with kudzu at green house and field tests were conducted and several candidate chemicals were identified.

研究分野：化学生態学

キーワード：アレロパシー つる植物 巻き付き防止 雑草防除 重力屈性 生理活性物質

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 除草剤の50%はグリフォサートである。人間に対する毒性が低く広く普及している。しかし近年抵抗性雑草が増加しその代替が求められている。しかし合成物からの開発は行き詰っており、天然物であるアレロケミカルから新たな作用機構を持つ除草剤の開発が望まれている。世界のトップメーカーであるシンジェンタ社は近年、アレロケミカルを範とする新除草剤メソトリオンを開発しアレロケミカルに対する期待が高まっている。

(2) 我々の研究グループでは、これまでにアレロパシーの探索研究を行い、その作用を経路毎に特異的に検出する生物検定法を開発し、この方法を用いて日本の植物を中心に約4,000種を検索し、15,000件のデータを蓄積している(Fujii ら, 1991, 2003, 2007, 2013)。また、現場で作用しているアレロケミカルを分析し実証する手法として「全活性法」を提唱し(Hiradate & Fujii, 2004, 2005)、新規生理活性物質を18種発見し、新規物質 Zeylanoxide 類、Durantanin 類、高活性物質 cis-ケイ皮酸誘導体等に関する5件の特許を申請・取得している。

## 2. 研究の目的

(1) これまでの検索で強いアレロパシー植物の生育している可能性が高い世界の5つのフロラを対象にアレロパシー活性を精査し、つるの巻き付きを防止する生理活性物質を開発することを目的に研究を実施する。これまでに開発したアレロパシーに特異的な生物検定法である、葉から出る物質による作用を検定する「サンドイッチ法」、揮発性物質による作用を検定する「ディッシュパック法」、根から出る物質による作用を検定する「プラントボックス法」を用いて検索する。

(2) 選抜された植物について、重力屈性を阻害する活性を検定する手法を用いて検定する。つるの巻き付きを防止する物質の活性

は、インゲン、クズ、アメリカネナシカズラなどのつる性植物を用いてポット試験および屋外試験で検定する。

(3) つるの巻き付きを防止する活性を検定する手法を開発する。インゲン、シラゲクサフジ、クズ、アメリカネナシカズラ等を検定植物とする。

## 3. 研究の方法

(1) 調査対象地域：世界の6つのフロラは全北植物区系界(北半球全部)、旧熱帯植物区系界(アフリカ~アジア)、新熱帯植物区系界(中南米)、ケープ植物区系界(南アフリカケープ州)、オーストラリア植物区系界、南極植物区系界に分類される。栽培作物の起源としてバビロフが提唱した8つの遺伝子中心も考慮して調査地域を設定した。

(2) 地域の大学等に出張し、現地研究者と共同でアレロパシー活性を検定する。一次検定には応募者が開発したアレロパシーの特異的検定法である「サンドイッチ法」と「ディッシュパック法」を用い現地で検定する。検定結果を活性解析プログラムを用いて計算する。

(3) つるの巻き付き防止検定法には、インゲン、シラゲクサフジ、クズ、アメリカネナシカズラ等を検定植物として用いる。クズを用いたポット試験、実証試験も検討する。

## 4. 研究成果

(1) イランのフェルドウシ大学と共同で植物の探索を行った。その結果、サフラン等に強い活性を見出した。サフランに含まれる植物生育阻害物質としてサフランアル(safranal)(図1の(1))を検出した。

ロシアコーカサス山脈の標高2000~3000mの山岳地帯でモスクワ大学の研究者と調査を行った。オオハナウドの類に活性があり、作用成分はアンゲリシン(angelicin)(図1の(2))等のフロクマリン類と揮発性成分の

オクタナール(octanal)であった。

(2) 中国雲南省の雲南漢方薬大学等の協力で探索した結果、黄連に強い活性を見出した。活性の一部はベルベリン(berberine)(図1の(3))で説明できた。内モンゴル農業大学の協力でモンゴルの砂漠の植物から探索を行った。

(3) マレーシアのマラヤ大学の研究者と共同でマレーシアの植物を検索した結果、サラワク州の植物に強い活性を見出した。その成分の一部を同定した。

(4) カメルーンのプロエア大学の研究者と共同でカメルーンの植物の探索を行った結果、トウダイグサ科の植物に強い活性を得た。

(5) ガーナのガーナ大学の研究者と共同で研究を行い、現地において探索を行った結果、いくつかの薬用植物に強い活性を見出した。

(6) スーダン農業省およびスーダン科学技術大学の研究者らと共同で現地で探索を行った結果、アフリカバオバブ *Adansonia digitata* に強い活性を見出した。揮発性の植物生育阻害物質を見出した。

(7) ケニアのジョモケニヤッタ農業大学の研究者と共同で現地で検索した結果、クレオメ属植物に強い活性を見出した。活性成分はイソチオシアネート誘導体と推定された。また、オーストラリアからアフリカに導入された薬用植物 *Castanospermum australe* に強い活性を見出した。その活性成分がカスターノスペルミン(castanospermine)(図1の(4))と推定した。

(8) パキスタン、カンボジア、ベトナム、トルコ等の研究者と共同研究を行い現地研究者が現地で薬用植物等から探索を行った。

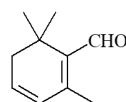
(9) 昭和薬科大学の薬用植物園にある世界各国から収集された植物の活性を検定した結果、いくつかの有力な候補植物を得た。

(10) これまでに得られた有望な植物から、つるの巻き付きに關与する物質を検定する手法を用いて作用成分の単離を行い数種の

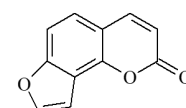
活性成分を得た。得られた作用成分についてはプロトプラストを用いた細胞への影響も調べた。

(11) つるの巻き付き防止検定法として、アメリカネナシカズラを用い3日で検定できる実験室規模の検定法を開発した。シラゲクサフジを用いて温室規模で巻き付きを検定する手法を開発した。インゲンを用いたポット試験を行った。クズを用いたポット試験、実証試験を実施した。これらの手法で新たなつるの巻き付き阻害物質を3種得た。

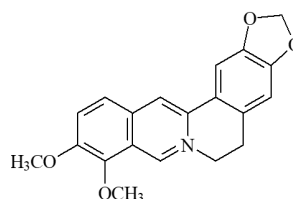
(12) 最終的に、現場でくずなどのつるの巻き付きを防止できる可能性が高い物質を3系統に絞りこんだ。これらの簡単な実用化試験を試み、日本国特許を2件申請した。



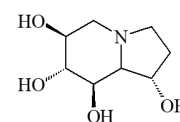
(1) safranal



(2) angelicin



(3) berberine



(4) castanospermine

図1 同定されたおもな物質

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計22件)

Kwame Sarpong Appiah, Hossein Mardani Korrani, Asma Osivand, Sylvia Kpavitey, Christiana Amoatey, Yosei Oikawa and Yoshiharu Fujii, Exploring Alternative Use of Medicinal Plants for Sustainable Weed Management, Sustainability, 2017, 9(online): Online (1-24)、査読有、

DOI : 10.3390/su9081468

藤井義晴、和佐野直也、田村尚幸、唐内里緒、穴戸宏造、吉田昌裕、森田(寺尾)美代、新藤充、重力屈性阻害物質を利用した蔓の巻

き付き防止技術開発の試み、関東雑草研究会報、2017、27(1):27-29、査読有

藤井義晴、植物の重力屈性に影響を与える物質の農業利用を模索する、農耕と園芸、2016、2016(7):54-57、査読無

Hossein Mardani, Elena Kazantseva, Vladimir Onipchenko and Yoshiharu Fujii, Evaluation of allelopathic activity of 178 Caucasian plants species, International Journal of Basic and Applied Sciences, 2016, 5(1):75-81、査読有、

DOI: 10.14419/ijbas.v5i1.5631

Lawrence Monah Ndam, Afui Mathias Mih, Aaron Suh Tening, Ausgustina Genla Nwana Fongod, Nkegua Anna Temenu and Yoshiharu Fujii, Phytochemical analysis, antimicrobial and antioxidant activities of *Euphorbia golondrina* L.C. Wheeler (*Euphorbiaceae* Juss.) - an unexplored medicinal herb reported from Cameroon., SpringerPlus, 2016, 5: 264-279、査読有、

DOI: 10.1186/s40064-016-1928-8

Kwame Sarpong Appiah, Zhenhao Li, Ren-sen Zeng, Shiming Luo, Yosei Oikawa and Yoshiharu Fujii, Determination of allelopathic potentials in plant species in Sino-Japanese Floristic Region by sandwich method and dish pack method International Journal of Basic and Applied Sciences, 2015, 4(4):381-394、査読有、

DOI: 10.14419/ijbas.v4i4.5147

Naoya Wasano, Tomoko Takemura, Raihan Ismil, Baki Bakar, and Yoshiharu Fujii, Transcriptomic evaluation of plant growth inhibitory activity of Goniothalamine from the Malaysian medicinal plant *Goniothalamus andersonii*, Natural Product Communications, 2015, 10(5):725-727、査読有

Maryia Mishyna, Nikolai Laman, Valery

Prokhorov and Yoshiharu Fujii, Angelicin as the principal allelochemical in *Heracleum sosnowskyi* fruit., Natural Product Communications, 2015, 10(5):767-770、査読有

Maryia Mishyna, Nikolai Laman, Valery Prokhorov, John Solomon Maninang and Yoshiharu Fujii, Identification of octanal as plant growth inhibitory volatile compound released from *Heracleum sosnowskyi* fruit., Natural Product Communications, 2015, 10(5):771-774、査読有

Hossein Mardani, Takayuki Sekine, Majid Azizi, Maryia Mishyna and Yoshiharu Fujii, Identification of safranal as the main allelochemical from Saffron (*Crocus sativus*). Natural Product Communications, Natural Product Communications, 2015, 10(5):775-777、査読有

〔学会発表〕（計 82 件）

宝龍, 白梅栄, 阿都沁夫, 藤井義晴、砂漠植物のアレロパシー検定と高活性植物サジの発見、日本雑草学会第 57 回講演会、2018/04/15

Taheri Parisa, Arouiee Hossein, Azizi Majid, Yoshiharu Fujii, Alternative approach to management of Rhizopus rot of peach (*Punus persica*) using essential oil from the weedy medicinal plant *Thymus vulgaris* L., 日本雑草学会第 57 回講演会、2018/04/15

Appiah Kwame Sarpong, Amoatey Christiana Adukwai, Yosei Oikawa, Yoshiharu Fujii, Carnosic Acid as the Principal Allelochemical in *Rosmarinus officinalis* leaves、日本雑草学会第 57 回講演会、2018/04/15

Mardani Korrani Hossein, Osivand Asma,

Yoshiharu Fujii, Allelopathy of Saffron corm and stigma、日本雑草学会第57回講演会、2018/04/15

Asma Osivand, Hiroshi Araya, Yoshiharu Fujii, Assessment of Allelopathic Potential of 10 wild Japanese Mushrooms、日本雑草学会第57回講演会、2018/04/15

小林賢太郎、唐内里緒、藤井義晴、アメリカネナシカズラを用いた蔓植物の巻き付きを抑制する植物由来生理活性物質の探索、日本雑草学会第57回講演会、2018/04/14

Yoshiharu Fujii, Controlling *Prosopis juliflora* (Sw.) DC in arid land by allelochemicals affecting gravitropism, The 11th Qatar University Life Sciences Symposium (QULSS2017) on “Water Resources and Management: Future Challenges”, 2017/12/03

Yoshiharu Fujii, A trial for making database for allelopathic activities by Specific Bioassays: Sandwich Method, Plant Box Method, Dish-Pack Method, 8th World Congress of Allelopathy, 2017/07/24

〔図書〕(計7件)

最新農薬原体・キー中間体の創製 2017、藤井義晴、シーエムシー出版、2017/05、pp.535-545 (第9章 アレロパシーの強い植物の探索とアレロケミカルの同定・利用)

Plant Toxins, Yoshiharu Fujii, Springer Science, 2017/02, pp.25-36 (Toxic Chemicals from Invasive Alien Plants),

テルペン利用の新展開、藤井義晴、シーエムシー出版、2016/08、pp.232-241 (アレロケミカル由来の天然テルペン類と農業への利用)

植物たちの静かな戦い - 化学物質があやつる生存競争 - 、藤井義晴、化学同人(DOJIN選書071)、2016/08、1-209【単著】

農薬からアグロバイオレギュレーターへ

の展開-病害虫雑草制御の現状と将来-《普及版》、藤井義晴、シーエムシー出版、2016/04、pp.217-229 (第9章天然物の動向)、

〔産業財産権〕

出願状況(計2件)

名称: シス桂皮酸類縁体、重力屈性調節剤  
発明者: 藤井義晴、新藤充、和佐野直也、田村尚幸

権利者: 東京農工大学

種類: 特許

番号: 特許、特願 2015-042924

出願年月日: 平成27年3月4日

国内外の別: 国内

名称: 新規化合物及び重力屈性調節剤

発明者: 藤井義晴、和佐野直也、田村尚幸、吉田昌裕

権利者: 東京農工大学

種類: 特許

番号: 特許、特願 2015-104742

出願年月日: 平成27年5月22日

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等: 藤井義晴-教育と研究  
<http://kenkyu-web.tuat.ac.jp/Profiles/39/0003820/profile.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤井 義晴 (FUJII, Yoshiharu)

東京農工大学・大学院農学研究院・卓越教授  
研究者番号: 10354101

(3) 連携研究者

木村 園子ドロテア (KIMURA, Sonoko-Drothea) 東京農工大学・大学院農学研究院・准教授

研究者番号: 60397015

(平成27年4月にドイツへ転出、The Leibniz Centre for Agricultural Landscape Research (ZALF) の Institute of Land Use Systems 教授。フンボルト大学教授を兼任)

及川 洋征(OIKAWA, Yosei)

東京農工大学・大学院農学研究院・助教

研究者番号：70323756

岡崎 伸(OKAZAKI, Shin)

東京農工大学・大学院農学研究院・准教授

研究者番号：40379285

#### (4)研究協力者

新藤 充(SHINDO, Mitsuru)

吉田 昌裕(YOSHIDA, Masahiro)

荒谷 博(ARAYA, Hiroshi)

和佐野 直也(WASANO, Naoya)

ジョン・ソロモン・マニン(John Solomon MANINANG)

アピア・クワメ・サルポン(Appiah Kwame SARPONG)

アモアテイ・クリスティアナ・アドゥクワイ(Amoatey Christiana ADYKWEI)

マジド・アジジ(Majid AZIZI)

ホセイン・マルダニ(Hossein MARDANI)

マリア・ミシヤ(Maryia MISHYNA)

エレナ・カザンセヴァ(Elena KAZANYSEVA)

ヴラジミール・オニペンコ(Vladimir ONIPCHENKO)

タヘリ・パリス(Taheri PARISA)

アロウイ・ホッセイン(Arouiee HOSSEIN)

アスマ・オシヴァンド(Asma OSIVAND)

宝 龍(BAO Long)

白 梅栄(BAI Meirong)

阿 都沁夫(A Douqinfu)

康 高娃(KANG Gowa)

李 振豪(LI Zhenhao)

阿仁也(Aniya)

曾 任森(Ren-sen ZENG)

曾 英子(ZENG Yingzi)

シミン・ルオ(Shiming LUO)

ロレンス・モナ・ンダム(Lawrence Monah NDAM)

アフィ・マティアス・マイ(Afui Mathias MIH)

ライハン・イスマイル(Raihan ISMIL)

バキ・バカール(Baki BAKAR)

田村 尚幸(TAMURA, Naoyuki)

唐内 里緒(TONAI, Rio)

小林 賢太郎(KOBAYASHI, Kentarou)、他5名