

## 学位論文全文に代わる要約 Extended Summary in Lieu of Dissertation

氏名： 木村 露子  
Name

学位論文題目： アカマツのアレロケミカルに関する研究  
Title of Dissertation

### 学位論文要約： Dissertation Summary

アレロパシーとは植物が生産、放出する化学物質が他の植物の生長を抑制あるいは促進する現象のことであり、この原因となる物質をアレロパシー物質という。アカマツ(*Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.)はマツ科マツ属の常緑針葉樹であり、日本においては最も一般的なマツである。アカマツ林の樹下には光が十分に当たるにもかかわらず、下草がまばらにしか生えていないことが知られている。更に、アカマツの樹下に生育できる種が限られていることから、その独特の植生にはアカマツのアレロパシーが関与していると考えられる。これまでに、アカマツのアレロパシー物質を特定するための研究が行われており、アカマツの葉に含まれるアレロパシー候補物質として 9,13-epidioxyabiet-8(14)-en-18-oic acid, abscisic acid  $\beta$ -D-glucopyranosyl ester, 1-mono (16-hydroxyhexadecanoyl) glycerol, フェノール類などが単離されている。

森林生態系におけるアレロパシーでは、土壤有機層から供給される物質も重要であると考えられている。また、葉や落葉から放出されるアレロパシー物質が土壤に蓄積することによって、周囲の植物の生長に影響を与えていると考えられるが、十分に明らかにされていない。そこで本研究では、アカマツの葉、落葉、土壤のアレロパシー活性を明らかにし、1年間定期的にサンプリングしたアカマツの葉のアレロパシー活性を測定した。更に、落葉と土壤の含水メタノール抽出物に含まれるアレロパシー物質の単離、同定を試みた。

まず、アカマツの葉、落葉、土壤の含水メタノール抽出物を生物検定に供し、検定植物の発芽及び生長に与える影響を測定した。その結果、アカマツの葉、落葉及びアカマツ林の土壤の含水メタノール抽出物は濃度依存的にイタリアンライグラスの発芽を抑制した。しかし、クレスの発芽が抑制されたのは 300 mg D.W. equivalent extract/mL の落葉含水メタノール抽出物を処理したときのみであり、アカマツの葉及び土壤抽出物を投与したクレスの発芽率には対照区との差が認められなかった。

また、アカマツの葉、落葉及びアカマツ林の土壤の含水メタノール抽出物は7種全ての検定植物の生長を濃度依存的に抑制した。300 mg D.W. equivalent extract/mL の濃度において、アカマツ葉の含水メタノール抽出物は全ての検定植物の根の生長を 20 %以下に抑制し、メヒシバの子葉鞘の生長を 50 %以下、その他の検定植物の下胚軸または子葉鞘の生長を 25 %以下に抑制した。一方、落葉の含水メタノール抽出物は全ての検定植物の根の生長を 25 %以下に抑制し、イヌビエの子葉鞘の生長を 75 %以下、その他の検定植物の下胚軸または子葉鞘の生長を 50 %以下に抑制した。土壤の含水メタノール抽出物は 3000 mg D.W. equivalent extract/mL の濃度において、全ての検定植物の根の生長を 25 %以下に抑制し、メヒシバ、イヌビエの子葉鞘の生長を 55 %以下、その他の検定植物の下胚軸または子葉鞘の生長を 25 %以下に抑制した。また、抽出物が検定植物の生長を 50 %に抑制するために必要な濃度 ( $I_{50}$  値) をもとに比較すると、アカマツ葉の抽出物に最も感受性の高い検定植物はレタスとチモシー、落葉ではクレス、土壤はレタスであり、抽出物によって感受性の高い検定植物に差が認められた。これらの結果はアカマツの葉と落葉はアレロパシー活性を有し、アカマツ由来のアレロパシー物質が樹下の土壤に放出、蓄積されることを示唆している。しかし、葉と落葉、土壤の抽出物で検定植物の感受性に差が認められたことから、これらの抽出物には異なる

るアレロパシー物質が存在していることが示唆された。

1年間定期的にサンプリングしたアカマツの葉のアレロパシー活性を測定したところ、12月の葉の抽出物を除く全ての葉の含水メタノール抽出物はクレスの下胚軸と根の生長を抑制した。6月の含水メタノール抽出物は12月の抽出物よりも有意に強い生長抑制活性を示した。6月の抽出物は10 mg dry equivalent extract/mLの濃度で、クレスの下胚軸及び根の生長をそれぞれ68.1%、82.5%に抑制した。イヌビエに対する含水メタノール抽出物の生長抑制活性はクレスよりも低かった。100 mg dry equivalent extract/mLに濃度を上昇させると、より強い生長抑制活性を示した。しかし、サンプリング時期の異なる全ての抽出において、イヌビエの生長抑制活性に有意差は認められなかった。この結果から、アカマツの葉はサンプリング時期に関わらずアレロパシー活性を有しており、その活性の強さは月によって変化していることが示された。しかし、活性の変動のパターンはクレスとイヌビエで異なっており、その原因はアカマツの葉のアレロパシー物質の混合物に対するクレスとイヌビエの感受性の違いによるものであると考えられた。

自然生態系におけるアレロパシーを証明するためには、光や水、栄養素の競合などの植物の生長にかかわる要素と区別し、化学物質による相互作用を明らかにする必要がある。そのため、アレロパシー物質の特定するための研究は数多く行われている。そこで、アカマツの落葉及び土壤に含まれるアレロパシー候補物質の単離同定を試みた。アレロパシー候補物質の精製にはシリカゲルカラム、セファデックス LH-20 カラム、C<sub>18</sub> カートリッジ、HPLC の各種カラムを用い、アカマツの葉、落葉、土壤のアレロパシー候補物質を比較するため、アカマツの葉の活性物質の分離と同じ条件で行った。更に、分離した後の全ての画分を抽出した植物体の重量をもとに算出した濃度で生物検定に供することにより、アレロパシーに寄与している物質をスクリーニングした。

まず、アレロパシーの放出源として重要である落葉含水メタノール抽出物の精製を行い、最終的にアカマツ落葉に含まれる主要な4つのアレロパシー候補物質を単離した。そのうち2つは9,13-epidioxyabiet-8(14)-en-18-oic acid, abscisic acid  $\beta$ -D- glucopyranosyl esterであった。クレスを用いた生理活性試験の結果、9,13-epidioxyabiet-8(14)-en-18-oic acid の  $I_{50}$  値は約 500  $\mu$ M であり、abscisic acid- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester の  $I_{50}$  値は約 1.5  $\mu$ M であった。これらのアレロパシー候補物質はアカマツの葉からも単離されていることから、葉に含まれるアレロパシー候補物質が落葉の状態になっても保持されており、落葉からも放出されていることが示唆された。また、アレロパシー候補物質 A は 10.0 g D.W. equivalent extract/mL で、クレスの下胚軸の生長を対照区と比較して 22.5% に、根の生長を 17.9% に抑制した。アレロパシー候補物質 D は 8.0 g D.W. equivalent extract/mL でクレスの下胚軸の生長を 52.9% に、根の生長を 25.5% に抑制した。しかし、アレロパシー候補物質 A 及び D の化学構造は明らかにされていないが、葉のアレロパシー候補物質のスクリーニングでは検出されなかったことから、落葉の分解過程で生じるアレロパシー候補物質である可能性が示唆された。

更に、土壤で直接周囲に作用するアレロパシー物質を明らかにするため、土壤の含水メタノール抽出物からアレロパシー候補物質の単離を行った。最終的に土壤に含まれる主要なアレロパシー候補物質として methyl 15-hydroxy-7-oxo-dehydroabietate と 7-oxodehydroabietic acid を単離した。クレスに対する methyl 15-hydroxy-7-oxo-dehydroabietate の  $I_{50}$  値は約 1000  $\mu$ M であり、7-oxodehydroabietic acid の  $I_{50}$  値は約 200  $\mu$ M であった。更に、アカマツ林の土壤に含まれるアレロパシー候補物質の類縁体として 15,16-bisnor-13-oxolabda-8(17),11E- dien-19-oic acid と methyl 8,11,13,15- abietatetraen-18-oate を単離した。これらの物質は土壤に樹脂酸が蓄積する際の主要な成分であることが示唆された。

以上の結果から、アカマツ落葉には4種類以上、土壤には2種類以上のアレロパシー候補物質が含まれることが明らかになった。アカマツの葉、落葉、土壤のアレロパシー候補物質を比較すると、各抽出物に含まれる主要なアレロパシー候補物質の組成は異なっていた。葉、落葉、土壤の含水メ

(様式 5) (Style5)

タノール抽出物によって感受性の高い検定植物が異なっていたのは、これらの主要なアレロパシー候補物質の組成の違いによるものと考えられる。また、落葉と土壌にはアカマツの葉とは異なる活性物質が主要な活性物質となっていることから、アカマツのアレロパシーには分解による影響が大きいことが示唆された。アカマツから単離された活性物質のクレスに対する $I_{50}$ 値をもとに比較すると、1-mono(16-hydroxyhexadecanoyl) glycerolが最も強く、abscisic acid  $\beta$ -D-glucopyranosyl ester, 7-oxodehydroabietic acid, 9,13-epidioxyabiet-8(14)-en-18-oic acid methyl 15-hydroxy-7-oxo-dehydroabietateの順に強い活性を有していた。土壌で検出されなかった活性物質もアカマツのアレロパシー活性に部分的に貢献している可能性があるが、アレロパシー物質は植物体に含まれているだけでなく、環境に放出されて作用している必要がある。従って、物質自体の活性が強い1-mono(16-hydroxyhexadecanoyl) glycerolよりも、土壌に蓄積していると考えられる methyl 15-hydroxy-7-oxo-dehydroabietateや7-oxodehydroabietic acidはアカマツのアレロパシーへの寄与がより大きいと考えられる。アカマツ植物体から環境へ大量に供給され、土壌微細物の働きによって活性態に異性化されるアビエタンジテルペンの化合物群はアカマツのアレロパシーにおいて重要な役割を果たすことが示唆された。