

(第5号様式)

## 学位論文審査の結果の要旨

氏名	岡田 峻
審査委員	主査 加藤 尚 副査 片岡 郁雄 副査 山内 聡 副査 金 哲史 副査 古本 敏夫

論文名

キウイフルーツの生育不良とアレロパシーに関する研究

審査結果の要旨

近年、高樹齢のキウイフルーツの成木において、枝葉や根が生育不良となり、収量が低下している。そこで、成木の跡地に新たな苗木の植え付けが行われているが、その苗木もまた生育不良となる。この原因の一つとして、アレロパシーの関与が考えられている。キウイフルーツの長期間の栽培により、葉や根から放出されたアレロパシー物質が土壌中に蓄積することで、成木や苗木の生育不良を引き起こしている可能性がある。すでに、キウイフルーツの根や葉および根圏土壌がアレロパシー活性を有していることが報告されているが、その原因物質は明らかになっていない。本研究では、キウイフルーツの根や葉、およびその栽培土壌から生育不良の原因と考えられるアレロパシー候補物質を単離、同定することを目的とした。

キウイフルーツの根や葉、およびその栽培土壌はそれぞれ 70%含水メタノールおよびメタノールを用いて抽出した。得られた根や葉、および栽培土壌の抽出物はそれぞれ生物検定に供した。キウイフルーツの根や葉、および栽培土壌の抽出物は、すべての検定植物の下胚軸または子葉鞘と根の生長を濃度依存的に抑制するとともに検定植物種によって異なる生長抑制活性を示した。この結果より、キウイフルーツの根や葉、およびその栽培土壌にはアレロパシー候補物質が含まれていることが確認された。また、これらの抽出物はキウイフルーツの生長も濃度依存的に抑制したことから、アレロパシー物質がキウイフルーツの成木や苗木における生育不良の一因であることが示唆された。

次に、根や葉、および栽培土壌の抽出物を液液分配、シリカゲルカラム、セファデックス LH-20カラム、C<sub>18</sub>カートリッジまたはフラッシュクロマトグラフィー、および HPLC を用いてこれらの抽出物をそれぞれ分離した。各分離段階で得られたすべての画分は生物検定に供し、強い抑制活性を示した画分を次の分離段階に進めることでアレロパシー候補物質の精製を行った。根の抽出物では HPLC (移動相: 35%含水メタノール) での分離において、保持時間 41 分 (物質 A) および 48 分 (物質 B) の画分に生長抑制活性が認められた。また、HPLC (移動相: 25%含水メタノール) での分離において、保持時間 71 分の画分 (物質 C) に生長抑制活性が認められた。さらに、葉の抽出物では HPLC (移動相: 50%含水メタノール) での分離において、保持時間 120 分の画分 (物質 D)

に生長抑制活性が認められた。そして、乾燥した葉の抽出物では HPLC（移動相：45%含水メタノール）での分離において、保持時間 70 分（物質 E）、120 分（物質 F）の画分に生長抑制活性が認められた。<sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, 質量分析計などから得られたデータを用いて構造解析を行った結果、物質 F はケルシトリンであることが明らかになった。ケルシトリンの  $I_{50}$  値(検定植物の生長を 50%に抑制するときの検定試料の濃度)はクレスの下胚軸に対して 10 mM 以上であり、根に対して 3.8 mM であった。さらに、HPLC（移動相：25%含水メタノール）での分離において、保持時間 160 分付近の画分（物質 G）に生長抑制活性が認められた。構造解析の結果、この物質は(-)-エピカテキンであることが明らかになった。(-)-エピカテキンの  $I_{50}$  値はクレスおよびキウイフルーツの下胚軸に対して 21.8 mM と 13.9 mM であり、根に対してそれぞれ 10.5 mM と 7.6 mM であった。また、キウイフルーツの栽培土壌抽出物も同様に分離していき、最終的に HPLC（移動相：35%含水メタノール）に供した。生物検定の結果、保持時間 60 分付近の画分（物質 H）に生長抑制活性が認められた。

以上の結果より、キウイフルーツの根には少なくとも 3 種類以上、葉には 4 種類以上、栽培土壌には 1 種類以上のアレロパシー候補物質が含まれていることが明らかになった。また、キウイフルーツの葉に含まれるアレロパシー候補物質として、ケルシトリンと(-)-エピカテキンを単離した。これらの物質は葉からの溶脱や落ち葉の分解を通じて土壌中への蓄積し、キウイフルーツのアレロパシーに関与するとともに、キウイフルーツの成木や苗木の生育不良に影響している可能性がある。本研究はキウイフルーツのアレロパシー物質が土壌中に蓄積することで、成木や苗木の生育不良を引き起こしている可能性を明らかにした初めての報告であり、これらの知見はアレロパシーの理解に貢献するとともに、持続的農業の構築にも応用できる可能性がある。

本論文に関する公開審査会は、令和 2 年 2 月 8 日に愛媛大学農学部において開催され、論文発表と質疑応答が行われた。引き続き行われた学位論文審査委員会で本論文の内容を慎重に審査した結果、審査委員全員一致して博士（農学）の学位を授与するに値するものと判定した。