

アレロパシー物質に関する最近の研究

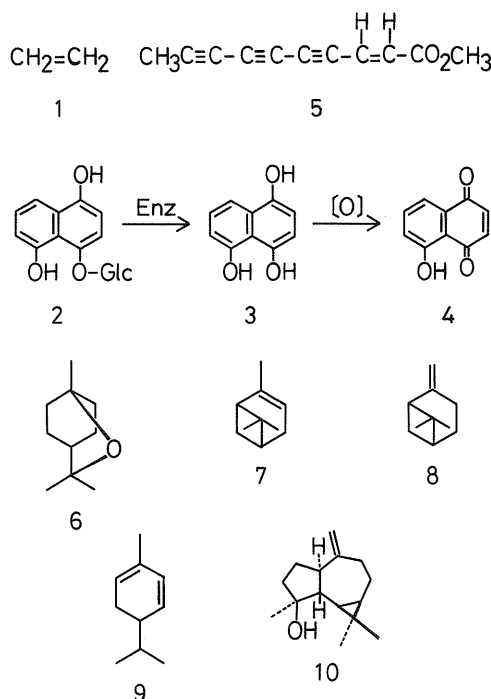
北海道大学農学部農芸化学科 水谷 純也

1. はじめに

生物は他の個体や他の生物種と競争したり、協力したり、さまざまな係わりをもって生活している。このような生物間相互作用においては、化学物質が重要な情報を与える役割を果たしていることが多い。生物の中でも植物は自らの意志によって生活の場を変えることができないため、与えられた環境に適応し、防衛的および攻撃的システムを備えて身を護り、種の繁栄を図っている。この防御機構は、植物が長い進化の過程において獲得したもので、ここでも化学物質が重要な役割を果たしている¹⁾。

Molisch (1937) はリンゴやナシなどの果実が ethylene (1) を生成し、果実からこの化学物質が拡散すると他の植物に顕著な影響を与えることを示した²⁾。このような植物間(微生物を含む)の生化学的相互作用を、Molisch はアレロパシー (Allelopathie, allelopathy) と呼んだが、そこには化学物質、すなわちアレロパシー物質の介在が考えられる。アレロパシーの語源はギリシャ語で“相互に感ずる”を意味する。“他感作用”という訳語も用いられている³⁾。アレロパシー物質としては ethylene (1) のような簡単な構造のものから、かなり複雑な構造のものまで広汎多岐にわたる多数の化合物が報告されている⁴⁻⁷⁾。しかし、多くのものはアレロパシー物質として完全

に証明されたものではなく、アレロパシー候補物質と呼ぶべきかもしれない。



古くからクルミの木の下には雑草が生え難いといわれている。これはクルミの葉などに含まれている 1,4,5-trihydroxynaphthalene (3) の 4-glucoside (2) が土中に落ちて土壤微生物の作用で加水分解を受けナフタレントリオール (3) となり、3 は空気中の酸素で容易に酸化されて juglone (4) というアレロパシー物質に変わるからだといわれている⁸⁾。キ

ク科のセイタカアワダチソウ (*Solidago altissima* L.) は北米原産の帰化雑草で、繁殖力の旺盛なものである。人工的裸地などで1, 2年で2次遷移の優先種になる。その根に *cis*-dehydromatricaria ester (5) という強い幼植物生長抑制物質が含まれており⁹⁾, その量は乾物当り 0.02 ~ 0.04 % で、しかもこの雑草の群落外縁部の根圏土壌中にも 5 ~ 6 ppm の 5 およびそのトランス異性体が検出された。この濃度はブタクサなどの1次優先種をはじめ多くの植物の発芽や生育に強い影響を及ぼす量であることがポット試験でも証明され、5 がアレロパシー物質であることがわかった¹⁰⁾。また del Moral および Muller (1970) はユーカリの1種 *Eucalyptus camaldulensis* 林の周囲にもイネ科などの草木の生育が阻止されてできた幅数 m の裸地を認め、アレロパシー物質として 1, 8-cineole (6) や α -pinene (7) を同定した¹¹⁾。

このように植物が作り出す化学物質がそのままの形で、あるいは放出されたのち微生物や光、空気などにより変換され新たな活性物質となって他の植物に作用を及ぼす。これまでアレロパシー候補物質は多数単離・同定されている。これらの物質は植物の二次代謝産物およびその変換物質である。化合物の種類は多岐にわたり、従ってその作用様式も多様であると考えられる。植物体内でアレロパシー物質またはその前駆体が生合成され、次にそれらが植物体外に放出されてそのままの形で、あるいは前駆体が活性化されて真のアレロパシー物質となり植物間相互作用に関与する。そこでアレロパシー物質の果たしている役割を明らかにする。さらにアレロパシー物質のその後の運命も含めてそれらの生態系における動態を完全に究明して、はじめて

アレロパシーの問題を解決したことになるであろう。このような観点からアレロパシー物質に関する筆者らの最近の研究を概観したい。

2. ユーカリ属植物 (フトモモ科) のアレロパシー物質

del Moral および Muller は *E. camaldulensis* からアレロパシー物質として 1, 8-cineole (6) や α -pinene (7) を同定し、アレロパシーを引き起こす経路として気化した状態で作用すると結論づけている。これまでオーストラリアなどで 6 を *E. camaldulensis* よりむしろ多量に生産するユーカリ種が数多く知られており、これらすべてのユーカリ林内に裸地が形成されているかというとうそうでもない。さらに 6 や 7 などは、レタス、メヒシバなど高等植物の芽生えに対する生長阻害活性を、寒天培地による従来のアッセイ法で調べても、*E. camaldulensis* 精油に比べかなり低い活性しか示さなかった¹²⁾。*E. camaldulensis* の新鮮葉から得られる精油には、6, 7, β -pinene (8), α -phellandrene (9) に加えて、より強力な植物生長阻害物質 (+)-spathulenol (10) が含まれていることがわかった (新鮮葉中 6 ~ 9 ppm)¹³⁾。レタス種子の発芽に対して、10 は 300 ppm 以下では阻害を示さないが、レタス芽生えの生長に対しては、10 ppm でも下胚軸の伸長を明らかに阻害した。従って、10 もアレロパシー候補物質と考えられる。

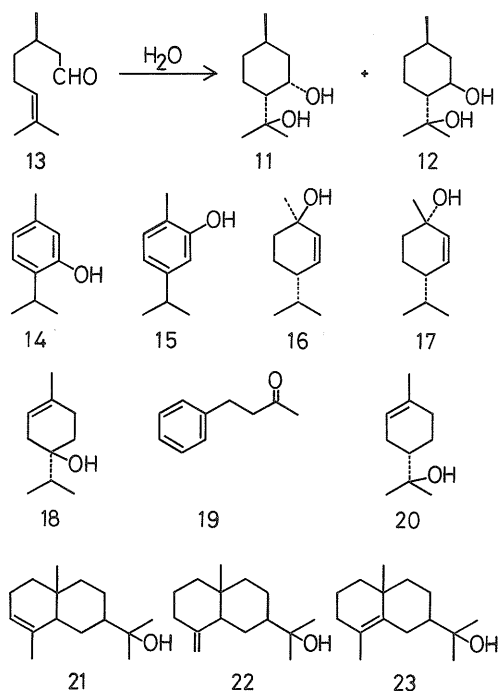
レモンユーカリ (*E. citriodora*) の葉から、レタス種子の発芽阻害物質として (±)-*p*-menthane-3, 8-*cis*-diol (11) (新鮮葉中 4.6 mg/g) および (±)-*p*-menthane-3, 8-*trans*-diol (12) (新鮮葉中 2.2 mg/g) が単離された¹⁴⁾。興味あることはこれら

diols は植物中にラセミ体として存在することである。diol 11 は 200ppm の濃度で、24 時間後のレタス種子の発芽を 96% 阻害したのに対して、12 は 27% 阻害した。不思議なことに、diols はレモンユーカリの幼植物中には存在しない。播種後 13 か月までは diols がまったく検出されず、その前駆体と考えられる (±)-citronellal (13) が生長につれて増加した。しかし、13 か月以降は 13 が劇的に減少し、それとは対照的に 11 および 12 が 2 : 1 の比率で増加した¹⁵⁾。このことは *cis*-および *trans*-diols が 13 から生物学的過程によって環化生成することを示唆する。合成した (+)-*cis* 体は 100~300ppm ($5.8 \times 10^{-4} \sim 1.7 \times 10^{-3}$ M) の濃度で、レタス (キク科)、ガーデンクレス (アブラナ科)、エノコログサ (イネ科) およびイヌビエ (イネ科) に対して種子発芽および不胚軸の伸長を阻害した。しかし、レモンユー

カリとイネに対してはほとんど阻害作用を示さなかった。*cis*-diol の選択毒性には興味を持たれる。*p*-menthane-3,8-diols が植物間相互作用において果たしている役割についてはまだ明らかにされていないが、レモンユーカリ成木の新鮮葉中 1kg 当り 5 g 以上も蓄積されることからみて、有力なアレロパシー候補物質と考えられる。

E. delegatensis の木の下にも他の植物があまり見られないこと、キャンベラ (オーストラリア) 近郊の山で *E. pauciflora* の林とある空間を隔てて互いに純林を形成していることに興味を持ち、植物生長阻害物質の検索を行った。*E. delegatensis* の新鮮葉から、植物生長阻害物質として thymol (14), carvacrol (15), (−)-*cis*-*p*-menth-2-en-1-ol (16), (+)-*trans*-*p*-menth-2-en-1-ol (17), (−)-terpinen-4-ol (18) および 4-phenylbutan-2-one (19) を単離・同定した¹⁶⁾。これら生長阻害物質のレタス芽生えに対する活性の強さと精油中の含量から判断して、16 (精油中の 6.4%) および 17 (5.1%) が主要なアレロパシー候補物質と考えられる。量的には少ないが、より活性の強い 15 (精油の 2.1%) の寄与も考える必要がある。なお精油の収率は新鮮葉の 3.4% である。また、これらの化合物はレタスに対するより若干弱いながら、イネ科雑草のメヒシバ、イヌビエ、エノコログサにもある程度の生長阻害活性を示すことから、*E. delegatensis* 葉中の主要な他感作用物質としての役割を果たしている可能性がある。

もう一方の純林を形成するユーカリ *E. pauciflora* の新鮮葉から、植物生長阻害物質として 14, 15, 16, 18, 19, (−)- α -terpi-



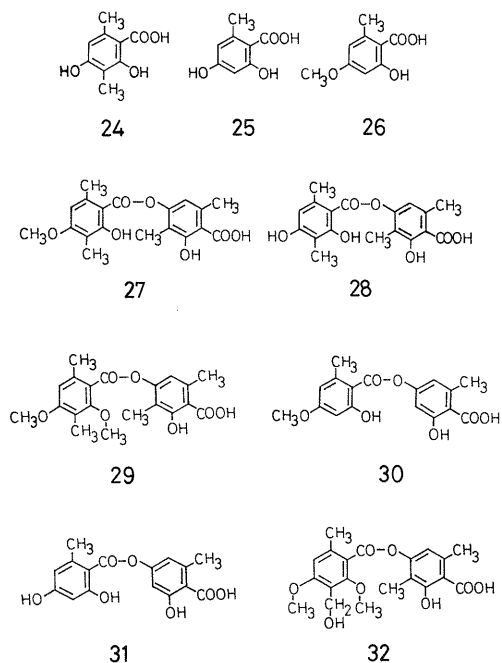
neol (20), α -, β -, および (+)- γ -eudesmol (それぞれ 21, 22, 23) を単離・同定した¹⁶⁾。活性が強いのは14および15であるが, 含量の多い19 (精油の 9.5%), 21 (5.7%), 22 (8.4%) および 23 (11.6%) が精油全体の活性が寄与しているものと判断した。なお精油の収率は新鮮葉の 2.6% である。

ユーカリ属植物からはアレロパシー物質のほかに多種多様な生理活性物質が見いだされている¹⁷⁾。

3. ナガサルオガセ *Usnea longissima* に含まれる植物生長阻害物質

サルオガセ属 (*Usnea*) やウメノキゴケ属 (*Parmelia*) の地衣類が樹木に着生して旺盛な繁殖をすると, 樹木の生長を阻害し, ついには枯らしてしまうといわれている。ナガサルオガセ (*U. longissima*) は樹枝状地衣で, 北海道東部の十勝地方や中央部の日高地方においてエゾマツ, トドマツなどの針葉樹に着生して影響を与えている。これまで barbatic acid, usnic acid, diffractaic acid, evernic acid など地衣酸類が *U. longissima* から単離・同定されているが, 植物の生長に及ぼす効果については調べられていなかった。乾燥 *U. longissima* からレタスの芽生えの生長を阻害する物質として, 既知の化合物 β -orcinolcarboxylic acid (24), orsellinic acid (25), 4-O-methyl-orsellinic acid (26), barbatic acid (27), 4-O-demethylbarbatic acid (28), diffractaic acid (29), evernic acid (30) および lecanolic acid (31) を, 新規化合物として 3- α -hydroxydiffractaic acid (32) を単離・同定し

た¹⁸⁾。



一般にフェノール酸の阻害活性は対応するデブシド (複数のフェノール酸が互いにカルボキシル基と水酸基でエステル結合したもの) より高く, β -orcinol 型のデブシドは orcinol 型のデブシドより高い活性を示した。6 種類のデブシドの中では28の活性が最も高かった。また A 環の 2 つの水酸基が両方ともフリー, あるいは両方ともメチル化されたものがより活性であった。32は 4.0×10^{-4} M の濃度で, コントロールに比べて幼根の伸長を 90%, 下胚軸の伸長を 60% 阻害した。量的には27および29が多く分離されたが, アレロパシー物質としての評価は今後の問題である。

4. 土壤微生物による (-)-Carvone の (+)-Bottrosipicatin への変換

植物間相互作用において, 植物体外に放出された化学物質が土壤微生物などによりアレロパ

シー物質に変換されたのち、その役割を果たす場合がある。スペアミント系ハッカ (*Mentha spicata*, シソ科) は草勢が強く、アレロパシー物質の存在が予想されながら明らかにされていない。このハッカの主成分は(−)-carvone (33) (スペアミント油の70%以上) であるが、33は非常に弱い活性しか示さない。ところが興味深いことに土壤から単離された放線菌 *Streptomyces* A-5-1 および *Nocardia* 1-3-11 が 33 を *cis*-carveol (34) に変換することが示された¹⁹⁾。同じく土壤から単離された *Streptomyces bottropensis* は 33 の主要な代謝産物である 34 をさらに代謝して新規二環式モノテルペン (+)-bottrospicatol (35a) に変換した²⁰⁾。

35a の立体化学を決定するために、33 から化学合成により (+)-bottrospicatol (35a) および (+)-isobottrospicatol (35b) を調製した。35a はさらに *p*-bromobenzoyl ester に導き、X線解析により絶対配置を構造式 35a のように決定した²¹⁾。次に (+)-carvone から同様に (−)-bottrospicatol (36a) および (−)-isobottrospicatol (36b) を合成した。興味あることは、35a の活性が最も強く 200ppm の濃度でレタス種子の発芽を 100% 阻害したのに対し、36b は 500ppm の濃度で

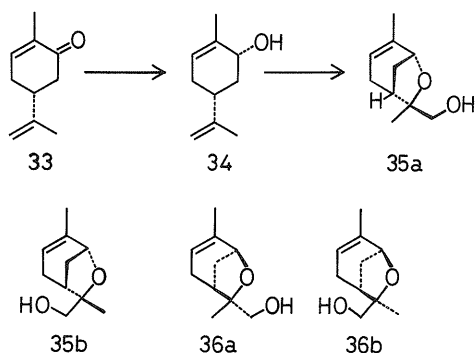
もほとんど阻害を示さなかったことである。スペアミントハッカの畑土壤から 35a はまだ検出されていない。

5. キレハヌガラシ (*Rorippa sylvestris*, アブラナ科) に含まれる芥子油

キレハヌガラシは帰化雑草の一種で、北海道に1950年代に入って来て現在畑地、牧草地などの難防除雑草の一つにあげられている。この雑草は繁殖力も旺盛で、他の植物種のテリトリーにも侵入して行く。周囲の植物に対してアレロパシー効果を与えているのではなかろうか。

キレハヌガラシの根を細断し、エーテル抽出、中性画分にレタス種子の発芽を強く阻害する活性が認められ、シリカゲルカラムクロマトグラフィー、調製用 TLC により新鮮根 500 g から 5.3 mg の収量 (10.6 ppm) で本体が単離された。合成した標品と物理化学的性質が一致したところから hirsutin (8-methylsulfinyloctyl isothiocyanate, 37) と同定した²²⁾。この化合物はアブラナ科の一種 *Arabis hirsuta* からすでに単離されているが、植物に対する生理活性はこれまで報告されていない²³⁾。37 は 200 ppm でレタス種子の発芽を完全に抑え、幼根および下胚軸伸長を 4×10^{-4} M (93.2 ppm) でそれぞれ 86% および 90% 阻害した。

一般に、アブラナ科植物には芥子油配糖体が含まれており、傷をつけると酵素ミロシナーゼが働いて芥子油 (主成分はイソチオシアネート) を生成する。クロガラシの種子、ワサビダイコンの根、ワサビの根茎などの芥子油配糖体は主成分が sinigrin (38) で、酵素により加水分解されて生成する辛味の本体は allyl isothiocyanate (39) である。この物質は強い抗菌



性を示し、病原菌に対する防御機構としての役割を果たしていることは明白である²⁴⁾。しかし、**37**は抗菌活性のほかに強い植物生長阻害活性を示す。

それでは果たしてキレハインガラシが hirsutin (**37**) を放出し、周りの他の植物を攻撃しているであろうか。図に示すような Stevens および Tang の根排出液循環装置²⁵⁾を用いて、donor pot (攻撃側ポット) にキレハインガラシ、acceptor pot にレタス芽ばえを植えて、根から排出されるアレロパシー物質の影響を調べた。その結果、開花期のキレハインガラシはレタス幼植物の生育を顕著に阻害する物質を排出しているように思われた。donor pot の下部に樹脂 XAD-4 のカラムを取りつけると生育阻害活性が除去された。何か疎水性物質がレタス幼植物の生育を阻害しているものと思われる。

根排出液循環装置
(植物間相互作用)

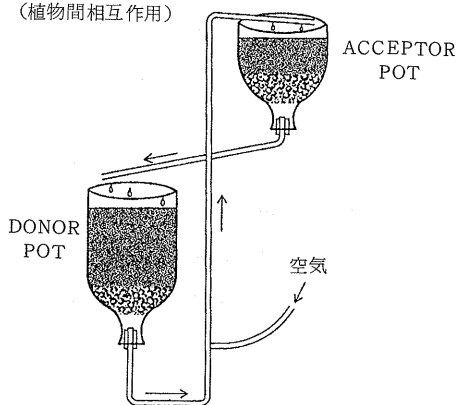


図 根排出液循環装置 (植物間相互作用)

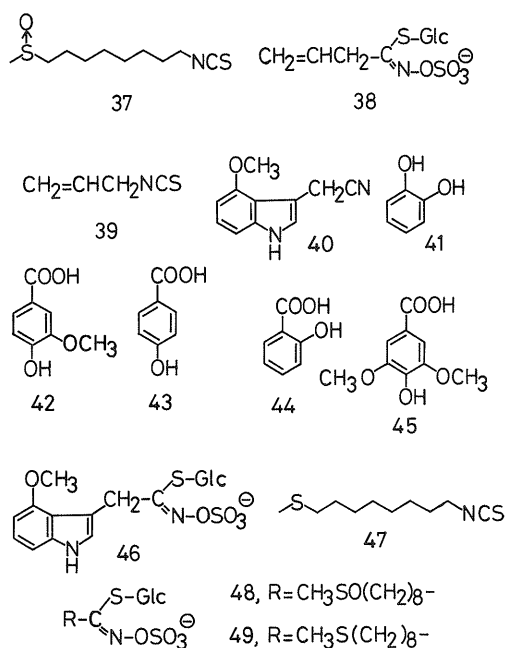
さらにキレハインガラシ根 5.4 kg から **37** のほかに 4-methoxyindole-3-acetonitrile (**40**, 45.9 mg, 根中濃度 8.5 ppm), pyrocatechol (**41**, 9.7 mg, 1.8 ppm), vanillic acid (**42**, 13.5 mg, 2.5 ppm), *p*-hydroxybenzoic acid (**43**, 8.1 mg,

1.5 ppm), salicylic acid (**44**, 2.3 mg, 0.4 ppm) および syringic acid (**45**, 2.0 mg, 0.4 ppm) を単離・同定した。開花期にキレハインガラシの根から排出され、XAD-4 樹脂に吸着されたフェノール化合物は溶出後トリメチルシリル化して、**37** はフェニルチオ尿素誘導体にして、それぞれ GC および TLC-UV で定量した。疎水性排出物の主成分は hirsutin (**37**) 13.0 $\mu\text{g}/\text{tree}/\text{day}$ および pyrocatechol (**41**) 9.3 $\mu\text{g}/\text{tree}/\text{day}$ であった。活性の強さおよびその量を考えると、根排出液循環装置を用いたバイオアッセイにおいてレタス幼植物の生育を阻害している疎水性物質は **37** および **41** であろう。

キレハインガラシの根に含まれている 4-methoxyglucobrassicin (**46**) に酵素が働いて生成する 4-methoxyindole-3-acetonitrile (**40**) は Nomoto および Tamura によってハクサイの根こぶから単離されているが²⁶⁾、キレハインガラシからははじめてである。**40** はレタス芽生えに対しては弱いながら生長阻害活性を示す。しかし、興味あることに **40** はキレハインガラシの根の発根を顕著に促進することがわかった。キレハインガラシの根には垂直根と横走根があり、多数の不定芽を形成する能力をもっている²⁷⁾。このことはキレハインガラシの潜在的な栄養繁殖能力の旺盛さを示しており、オーキシンの前駆体としての **40** の役割が示唆される。配糖体である **46** の含量は根に多く、5 月に最高に達しとくに横走根では 400 ppm 以上含まれていた。

レタス芽生えをキレハインガラシの根と接触させて生育させると、とくに横走根と接触させた場合により顕著な生育阻害が認められた。アレロパシー物質の本体と考えられる hirsutin

(37)と活性のほとんどないそのデオキシ体 deoxyhirsutin (47)の配糖体, glucohirsutin (48)および deoxyglucohirsutin (49)の動態を調べた。48, 49ともに根に多く含まれ, 5月に最高に達し最も含量の高かった横走根で48が2,000ppm以上も含まれていた。以上の結果はキレハイヌガラシの繁殖力が旺盛で, 他の植物種のテリトリーにも侵入して行くという現象に妥当な説明を与える。



6. お わ り に

アレロパシー物質に関する最近の研究について筆者らの研究を中心に述べたが, この分野の研究は国の内外で活発に行われており, 多くの成書があるので参照されたい^{5-7, 28-32)}。前にも述べたように, 植物間相互作用の場において真のアレロパシー物質としての役割を果たしているものは何かを知ることが最も重要である。しかし, アレロパシー物質を直接抽出, 単離することは難しい。従って, アレロパシー物質の抽出法についてはいろいろな方法が講じられている³³⁾。最近の機器分析を中心とした分析技術の進歩は目覚ましいものがあり, 植物間相互作用の現場から直接アレロパシー物質を抽出, 単離することも夢ではなくなってきたことも事実である。植物間相互作用において, ふつうは1種類でなく数種類あるいは多種類のアレロパシー物質が係わっているように思われる。これらアレロパシー物質の作用は相加的であったり, 相乗的であったり, または相殺的であったりする。アレロパシー物質の作用を正しく評価する生物検定法の確立もきわめて重要である。植物間相互作用をアレロパシーの観点から解明することによって, 生物学の理に適った雑草防除の道が開けるものと期待される。

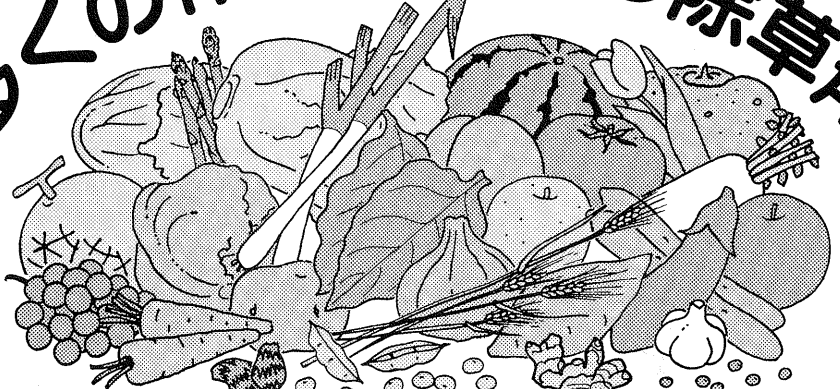
引 用 文 献

- 1) J. Mizutani: Plant Allelochemicals and Their Roles, in "Phytochemical Ecology: Allelochemicals, Mycotoxins, and Insect Pheromones and Allomones", ed. by C.-H. Chou and G. R. Waller, Institute of Botany, Academia Sinica, Taipei, ROC, 1989, pp. 155~165.
- 2) H. Molisch: "Der Einfluss einer Pflanze auf die andere-Allelopathie", Fischer, Jena, 1937; E. L. Rice: "Allelopathy", 2nd ed., Academic Press, Orlando, FL, 1984, p. 103.

- 3) 安田 環: 生態系におけるアレロパシーの意義と研究の現状, "植物間相互作用に關与する化学物質 —アレロパシー研究の現状と文献解題 —", 速水昭彦・西村 格・塩見正衛編, 農林水産省農業環境技術研究所, 1989, pp.1~11.
- 4) E. L. Rice: "Allelopathy", 2nd ed., Academic Press, Orlando, FL, 1984, pp.266~291.
- 5) A. C. Thompson (ed.): "The Chemistry of Allelopathy: Biochemical Interactions Among Plants", ACS Symposium Series 268, American Chemical Society, Washington, D. C., 1985.
- 6) A. R. Putnam and C. S. Tang (ed.): "The Science of Allelopathy", John Wiley & Sons, New York, 1986.
- 7) G. R. Waller (ed.): "Allelochemicals: Role in Agriculture and Forestry", ACS Symposium Series 330, American Chemical Society, Washington, D. C., 1987.
- 8) H. R. Bode: *Planta*, **51**, 440 (1958); J. B. Harborne: "Introduction to Ecological Biochemistry", 3rd ed., Academic Press, London, 1988, pp.280~282.
- 9) 河津一儀・中村彰夫・西野親生・小清水弘一・三井哲夫: 日本農芸化学会昭和44年度大会講演要旨集, 東京, 1969, p.130.
- 10) A. Kobayashi, S. Morimoto, Y. Shibata, K. Yamashita and M. Numata: *J. Chem. Ecol.*, **6**, 119 (1980).
- 11) R. delMoral and C. H. Muller: *Am. Midl. Nat.*, **83**, 254 (1970).
- 12) 西村弘行: 植物間競合における二次代謝産物の役割, *農化*, **62**, 986~989 (1988).
- 13) 中村健道: "ユーカリ属植物中の植物生長阻害物質に関する研究", 北海道大学大学院農学研究科農芸化学専攻修士論文, 1983.
- 14) H. Nishimura, K. Kaku, T. Nakamura, Y. Fukazawa and J. Mizutani: *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 319 (1982).
- 15) H. Nishimura, T. Nakamura and J. Mizutani: *Phytochemistry*, **23**, 2777 (1984).
- 16) 米田保雄: "ユーカリ属植物 *E. delegatensis* および *E. pauciflora* の他感作用に関する研究", 北海道大学大学院農学研究科農芸化学専攻修士論文, 1985.
- 17) 西村弘行(編): "未来の生物資源ユーカリ: そのバイオテクノロジーとバイオサイエンス", 内田老鶴圃, 1987.
- 18) Y. Nishitoba, H. Nishimura, T. Nishiyama and J. Mizutani: *Phytochemistry*, **26**, 3181 (1987).
- 19) Y. Noma: *Agric. Biol. Chem.*, **44**, 807 (1980).
- 20) Y. Noma, H. Nishimura, S. Hiramoto, M. Iwami and C. Tatsumi: *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 2871 (1982).
- 21) H. Nishimura, S. Hiramoto, J. Mizutani, Y. Noma, A. Furusaki and T. Matsumoto: *Agric. Biol. Chem.*, **47**, 2697 (1983).
- 22) J. Kawabata, Y. Fukushi, R. Hayashi, K. Suzuki, Y. Mishima, A. Yamane and J. Mizutani: *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 3361 (1989).
- 23) A. Kjaer and B. Christensen: *Acta Chem. Scand.*, **12**, 833 (1958).
- 24) 水谷純也: 化学と生物, **20**, 415 (1982).
- 25) G. A. Stevens and C. S. Tang: *J. Chem. Ecol.*, **11**, 1411 (1985).

- 26) M. Nomoto and S. Tamura: *Agric. Biol. Chem.*, **34**, 1590 (1970).
- 27) 池田正昭・岡 啓・伊藤操子: 雑草研究, **30**, 65 (1985).
- 28) E. L. Rice: "Allelopathy", 2nd ed., Academic Press, FL, 1984.
- 29) H. G. Cutler (ed.): "Biologically Active Natural Products: Potential Use in Agriculture", ACS Symposium Series 380, American Chemical Society, Washington, D. C., 1988.
- 30) J. B. Harborne: "Introduction to Ecological Biochemistry", 3rd ed., Academic Press, London, 1988.
- 31) 速水昭彦・西村 格・塩見正衛(編): "植物間相互作用に関与する化学物質 — アレロパシー研究の現状と文献解題 —", 農林水産省農業環境技術研究所, 1989.
- 32) C.-H. Chou and G. R. Waller (ed.): "Phytochemical Ecology: Allelochemicals, Mycotoxins, and Insect Pheromones and Allomones", Institute of Botany, Academia Sinica, Taipei, ROC, 1989.
- 33) 藤井義晴: 陸上植物におけるアレロパシー物質の抽出・単離・同定法, "植物間相互作用に関与する化学物質 — アレロパシー研究の現状と文献解題 —", 速水昭彦・西村 格・塩見正衛編, 農林水産省農業環境技術研究所, 1989, pp.99~109.

多くの作物に使える除草剤



トレファノサイド® 乳剤 粒剤2.5



シオノギ製薬

大阪市東区道修町3-12 千541

'88-3B52