

cis-DMEの高純度結晶化と そのバイオアッセイ

～セイタカアワダチソウ由来の生物農薬の開発を目指して～

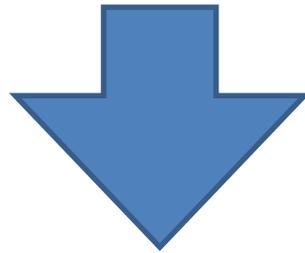
並木中等教育学校 5年 遠山 大樹



○動機



セイトカアワダチソウは、自身が生合成する化学物質 **cis-DME** を根から分泌して、他の植物の生育を阻害する作用(アレロパシー)を持っている。



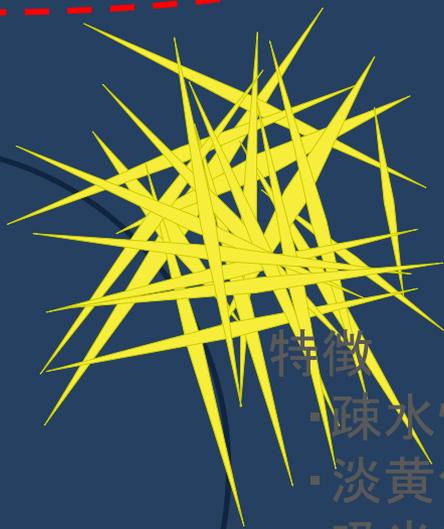
生物農薬を
開発できるのではないか

セイトカアワダチソウ





○目的



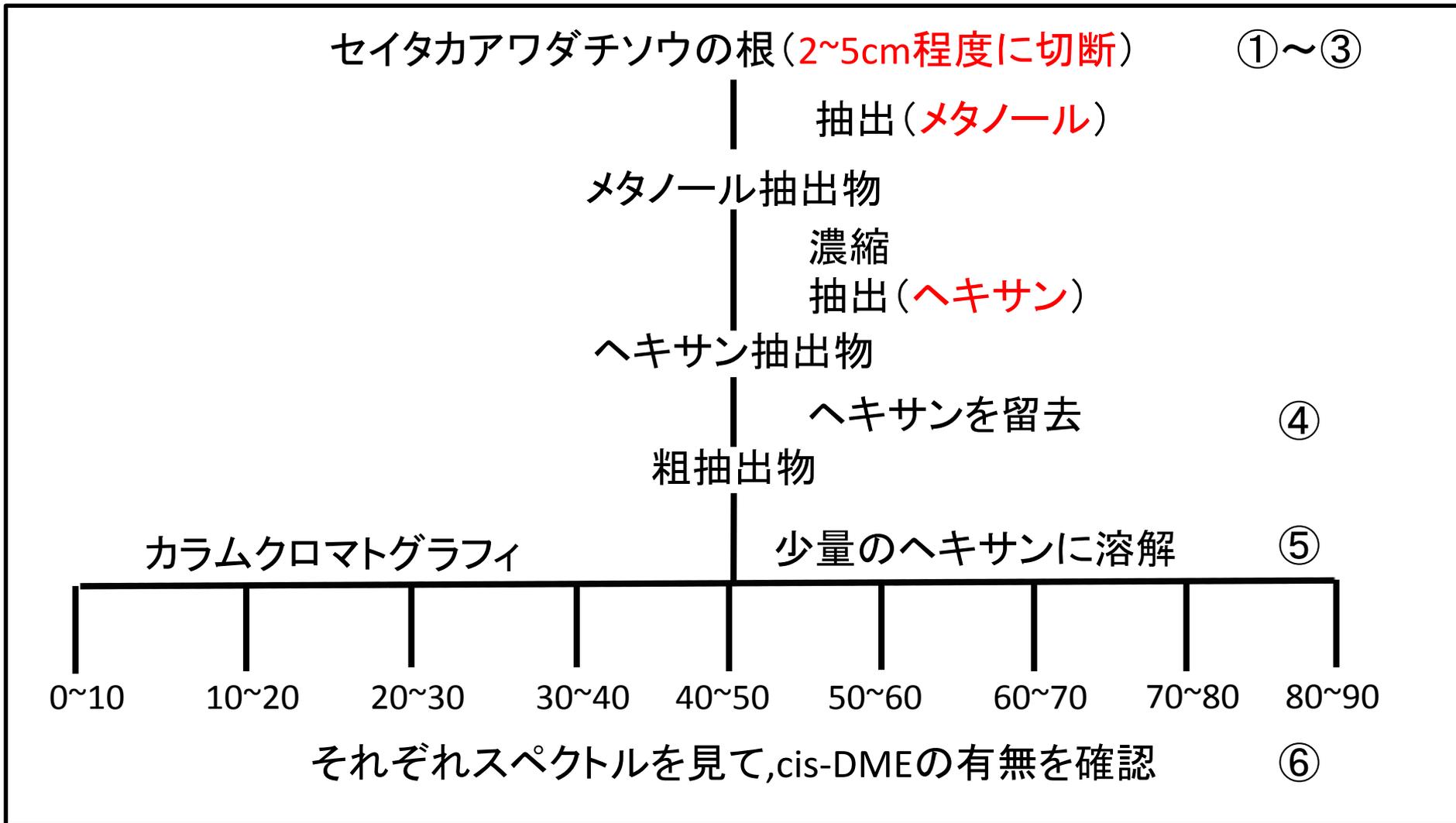
特徴

- ・疎水性
- ・淡黄色針状結晶をつくる
- ・吸光スペクトル

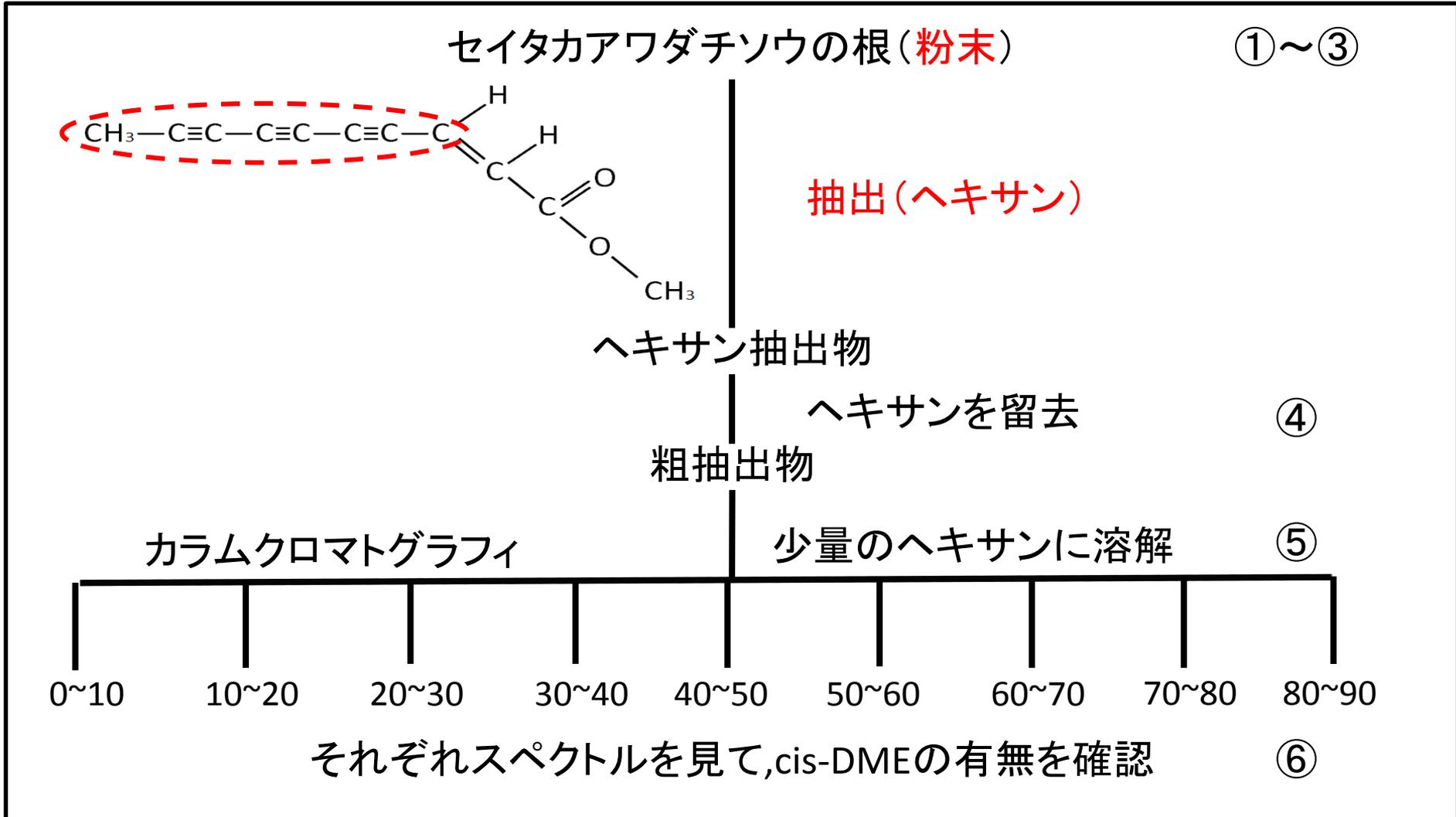
cis-DME 245 (e: 1.16×10^5), 256 (1.32×10^5), 286 (1.60×10^4), 304 (3.38×10^4), 324 (4.96×10^4), 348nm (4.35×10^4)

cis-DMEの作用と特性を明らかにする

○実験1



○実験1

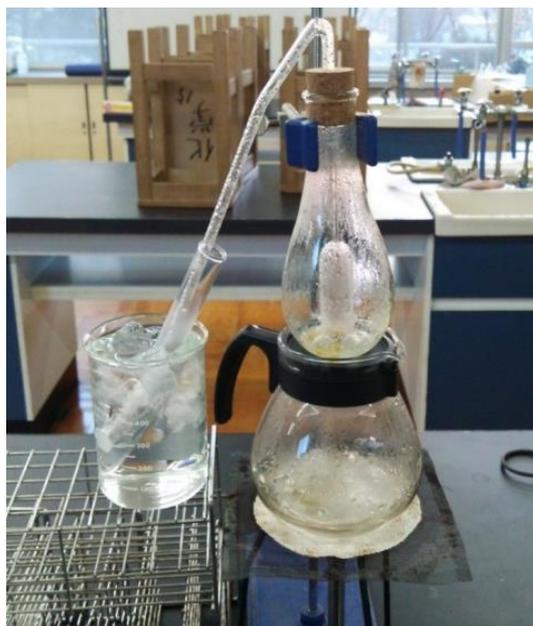


○実験1



セイタカアワダチソウの根(粉末)

①~③



水蒸気蒸留の様子

抽出(ヘキサン)

ヘキサン抽出物

ヘキサンを留去

④

粗抽出物

水蒸気蒸留

⑤

留出液

スペクトルを見て,cis-DMEの有無を確認

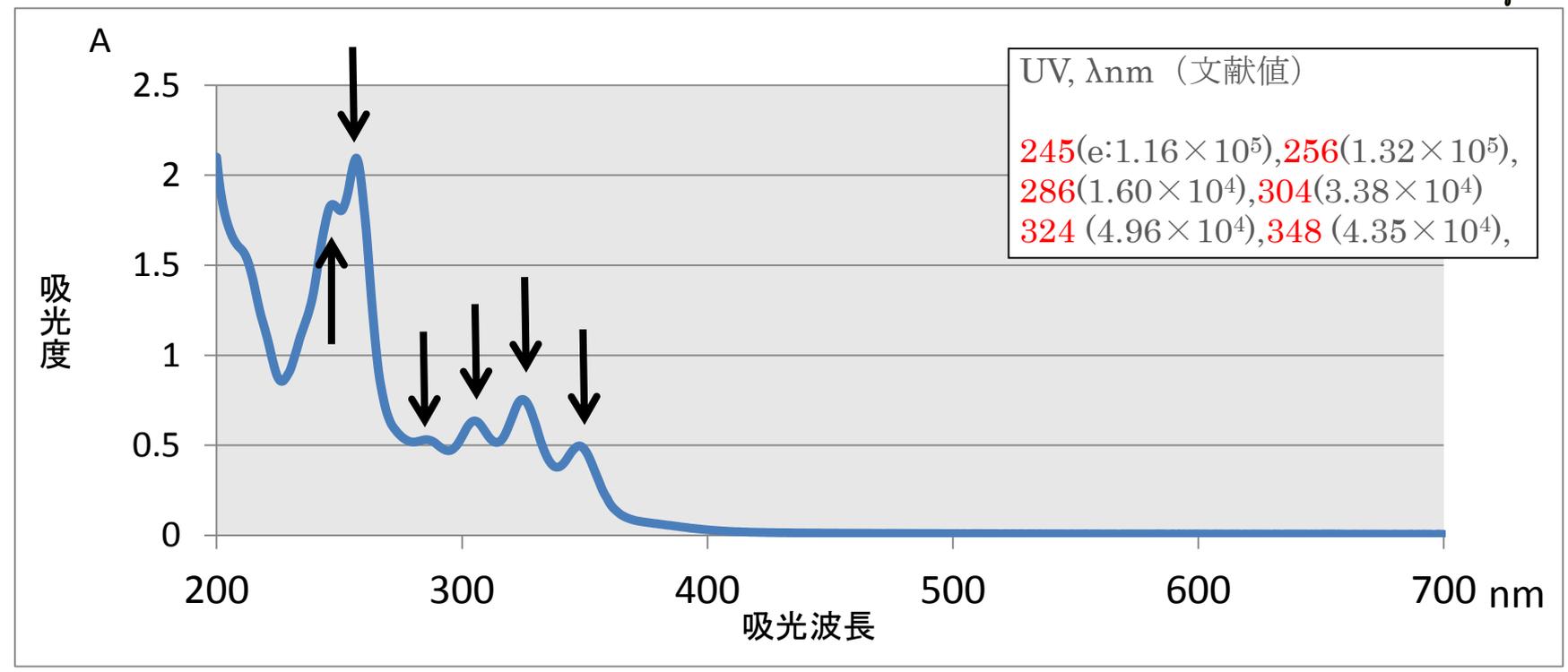
⑥

○結果



純度の高い**結晶**ができた

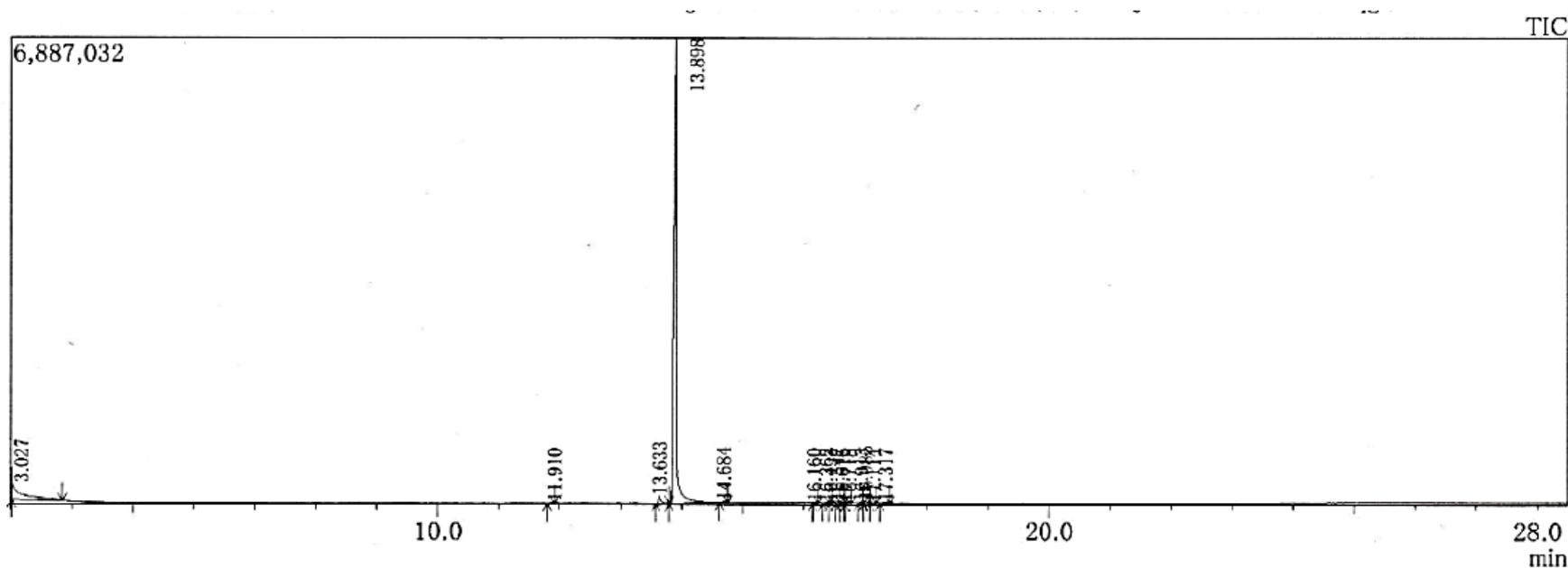
○結果



結晶の吸光スペクトル

cis-DMEと**同定**された

○結果



ガスクロマトグラフィ・質量分析計の結果

純度 **94.75%**

〇まとめ



セイタカアワダチソウの根からcis-DMEを効率的に抽出するには、

セイタカアワダチソウの根(粉末)を、
有機溶媒(ヘキサン)を用いて抽出し、
その抽出液を水蒸気蒸留するとよい。

そして、cis-DME が得られる。

他の植物に対して、生長を阻害する。

実際にどのような影響を与えているの??

○実験2



- 対象; レタス(キク科),
カイワレダイコン(アブラナ科)
- 条件; ①水,
② 0ppm(水+溶媒, control),
③ 1ppm, ④ 5ppm,
⑤10ppm, ⑥20ppm,
⑦50ppm, ⑧100ppm
※③, ④, ⑦, ⑧は一部実験のみ

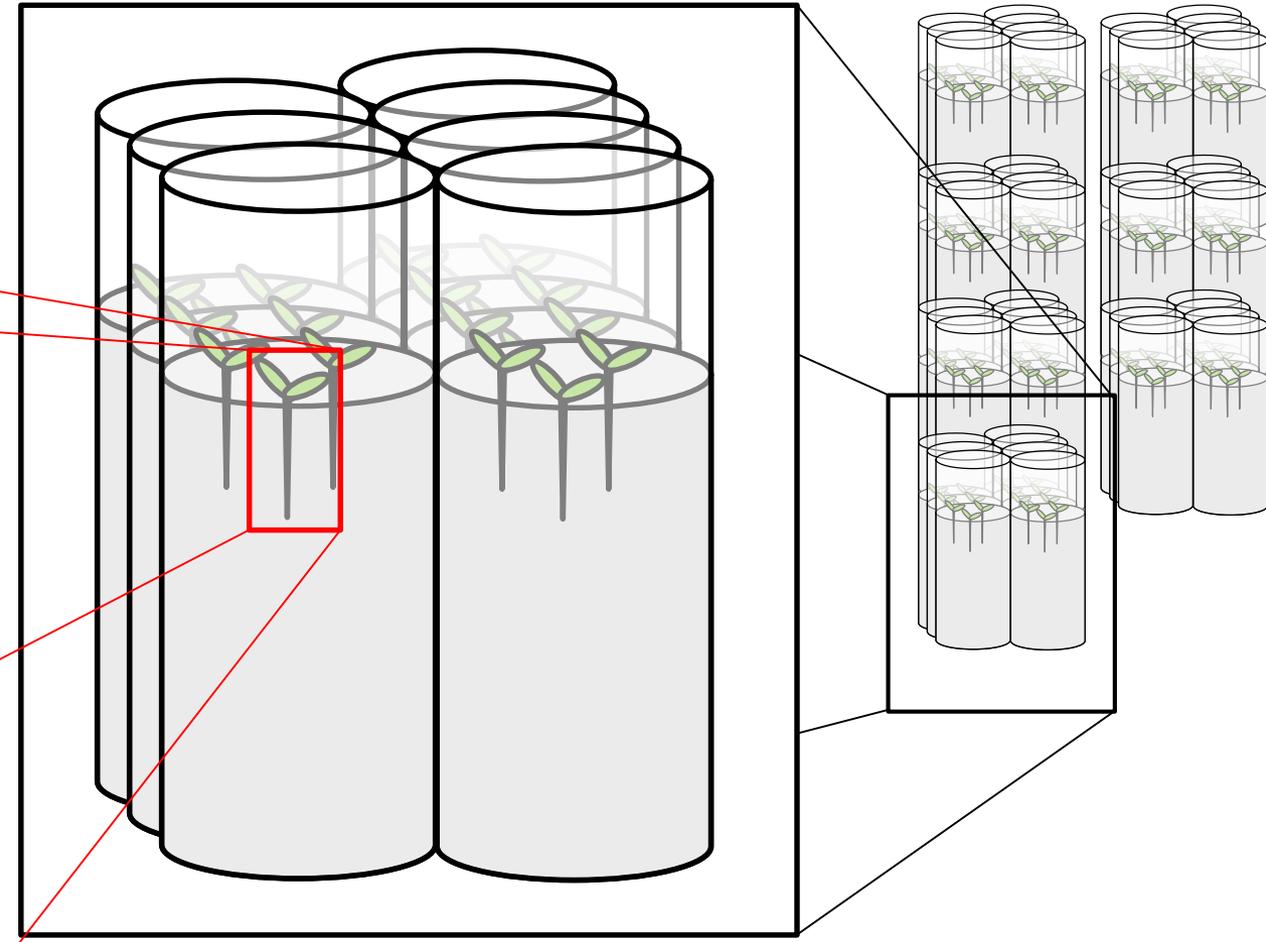
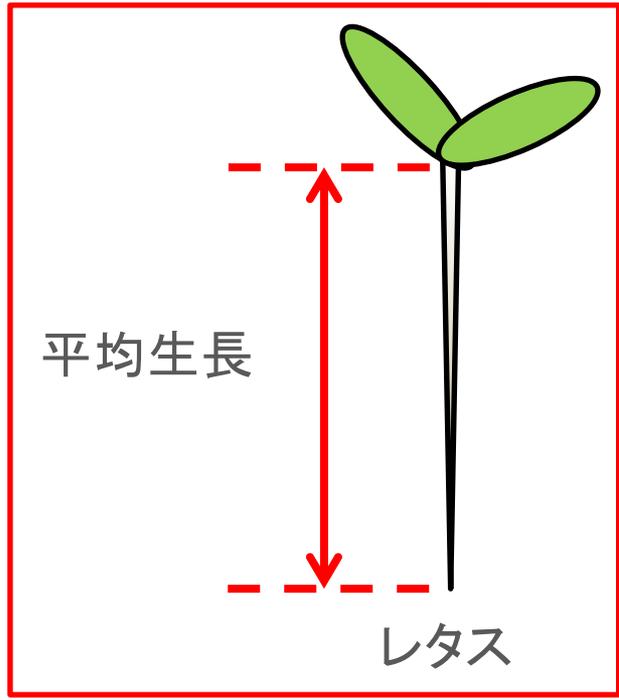


寒天培地

○実験2



- 測定項目;
 - 発芽率
 - 平均生長

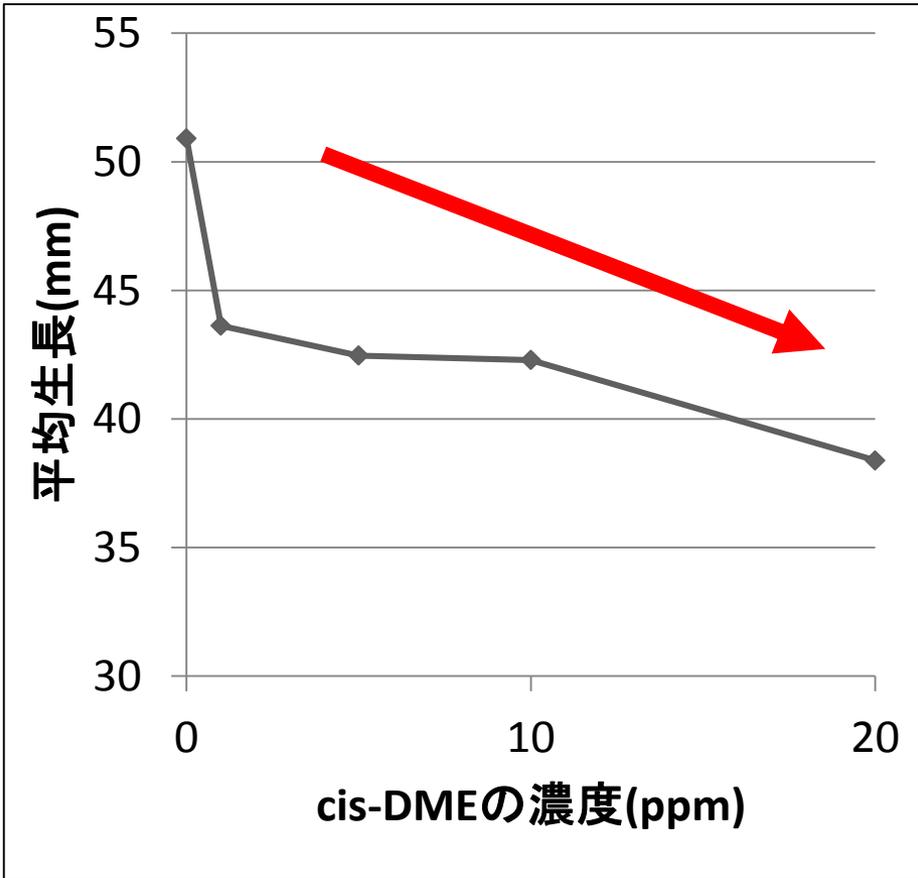


1条件21個体



○結果

・カイワレダイコン(アブラナ科)



・イネ(イネ科, 先行研究より)

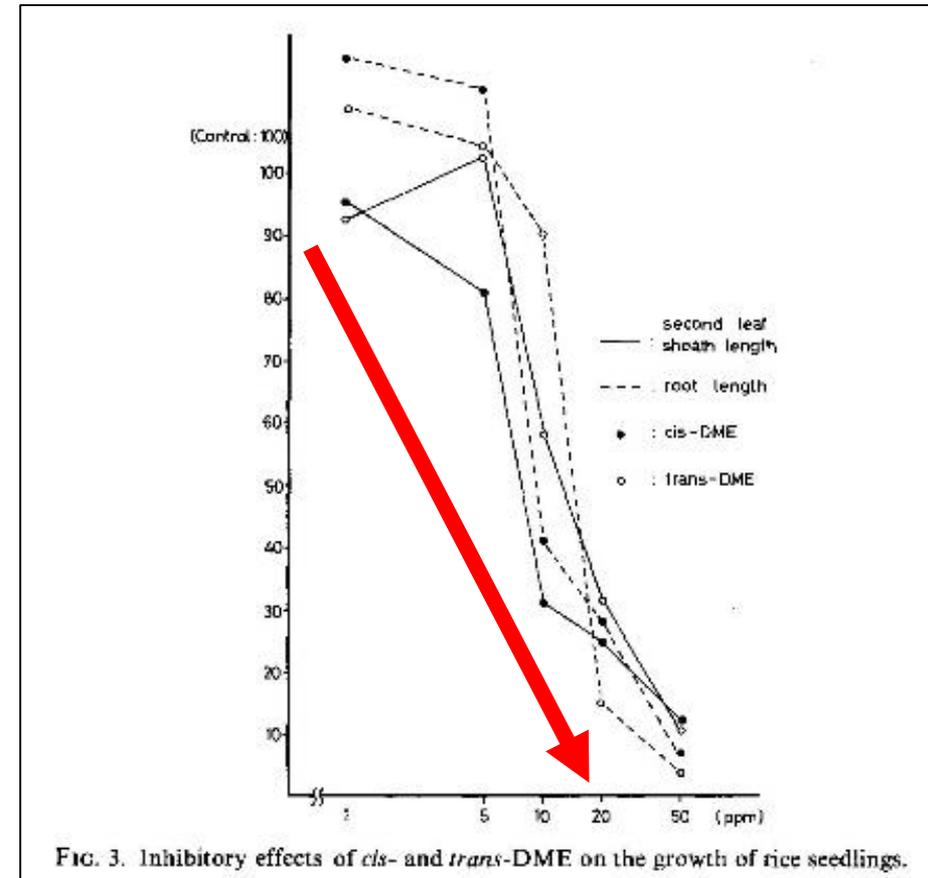


FIG. 3. Inhibitory effects of *cis*- and *trans*-DME on the growth of rice seedlings.

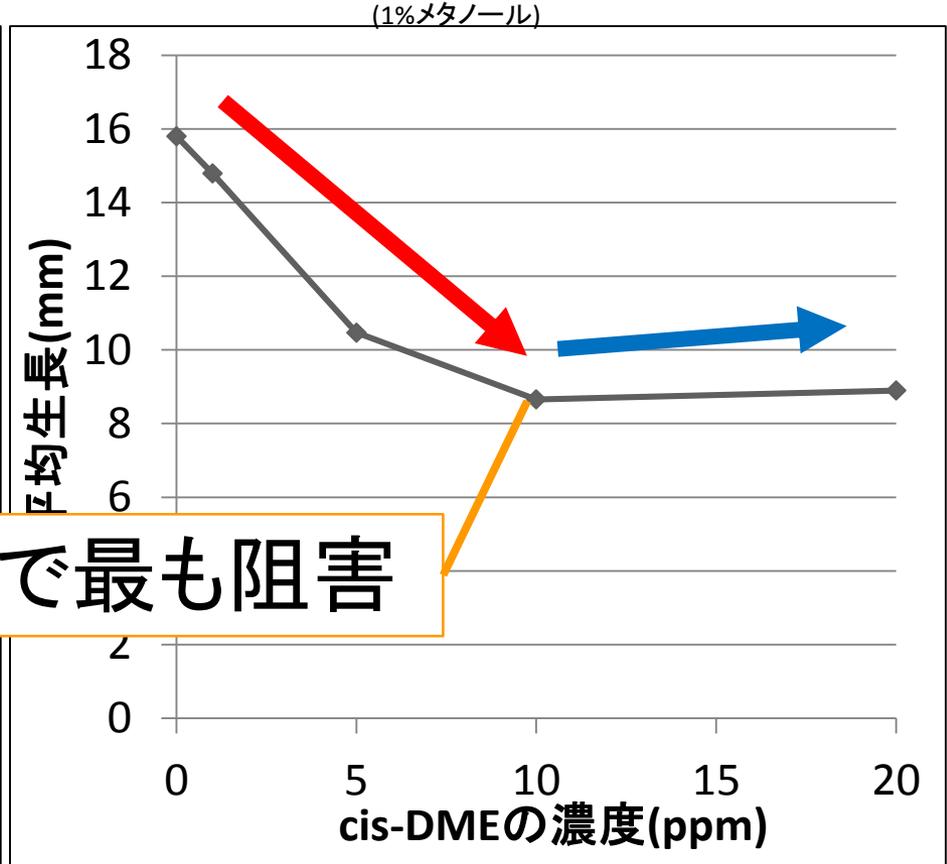
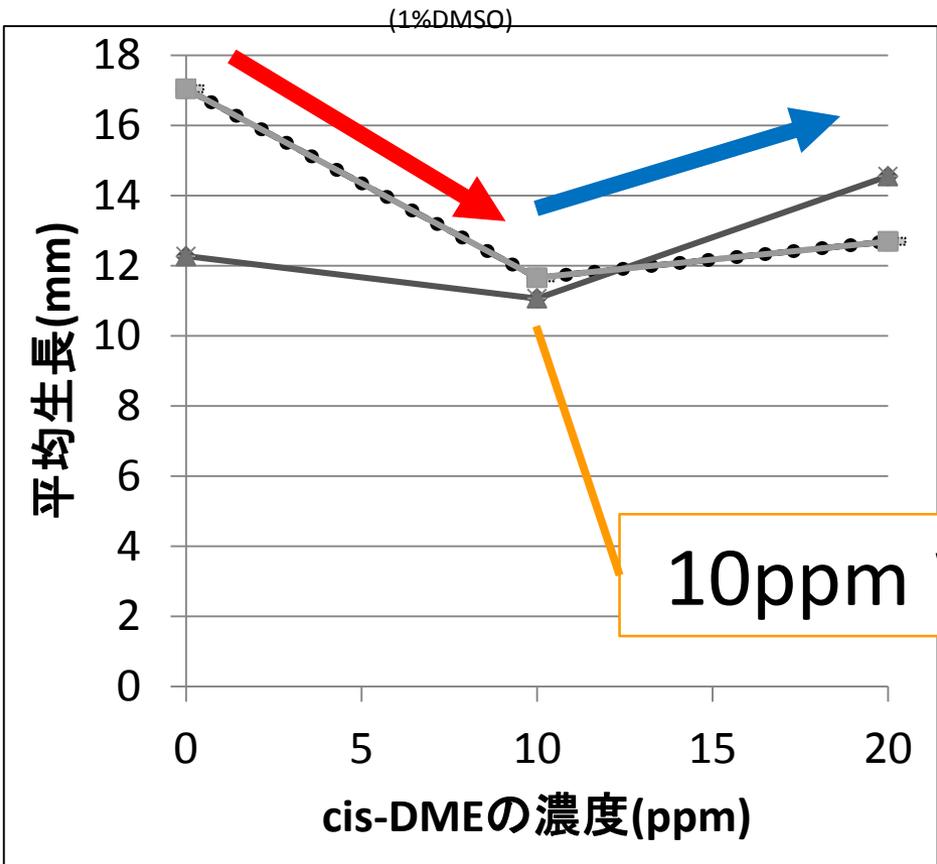
C10-POLYACETYLENES AS ALLELOPATHIC SUBSTANCES IN DOMINANTS IN EARLY STAGES OF SECONDARY SUCCESSION

濃度が大きくなるにつれて生長阻害は大きくなる



○結果

・レタス(キク科)



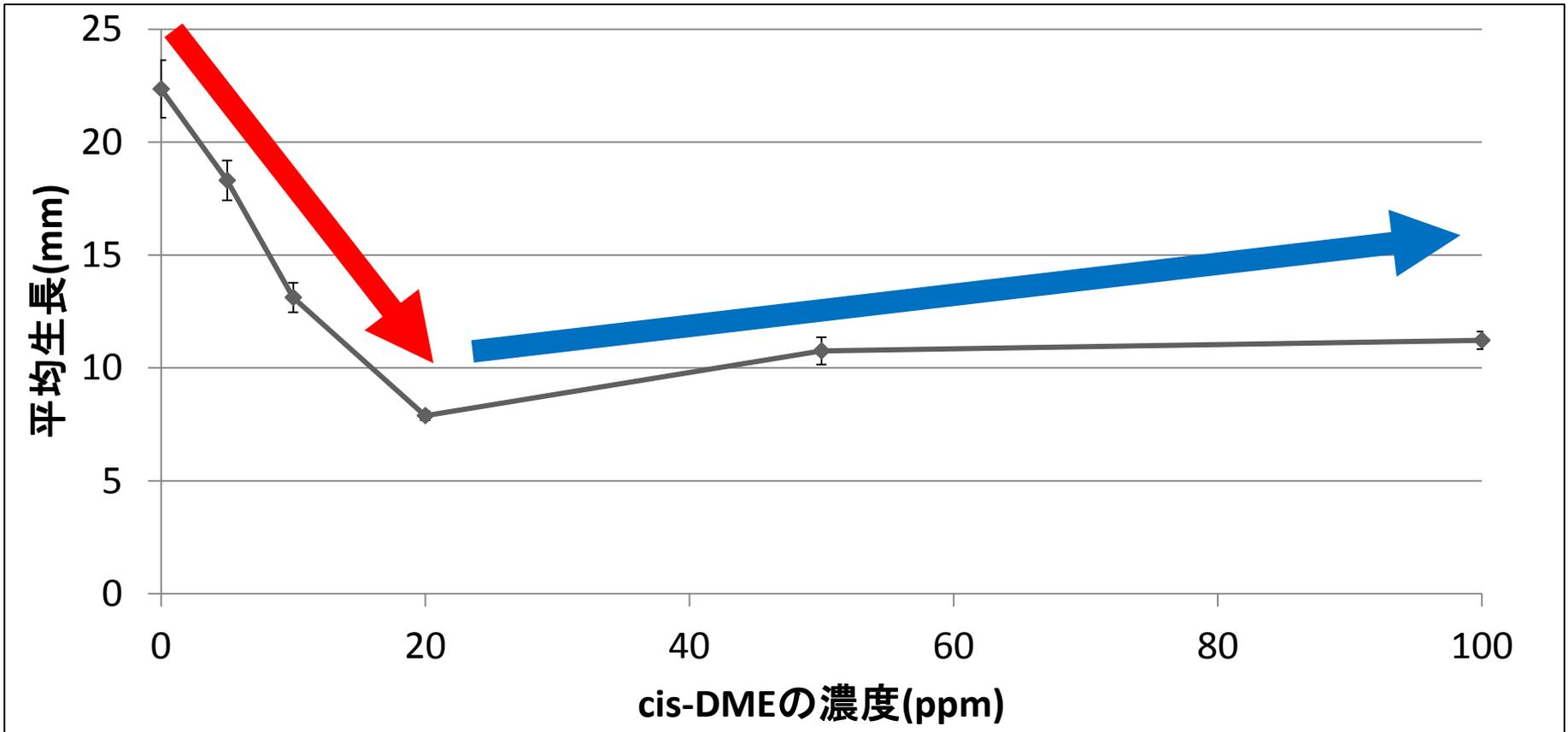
10ppm で最も阻害

最も生長阻害を及ぼす濃度がある

○結果

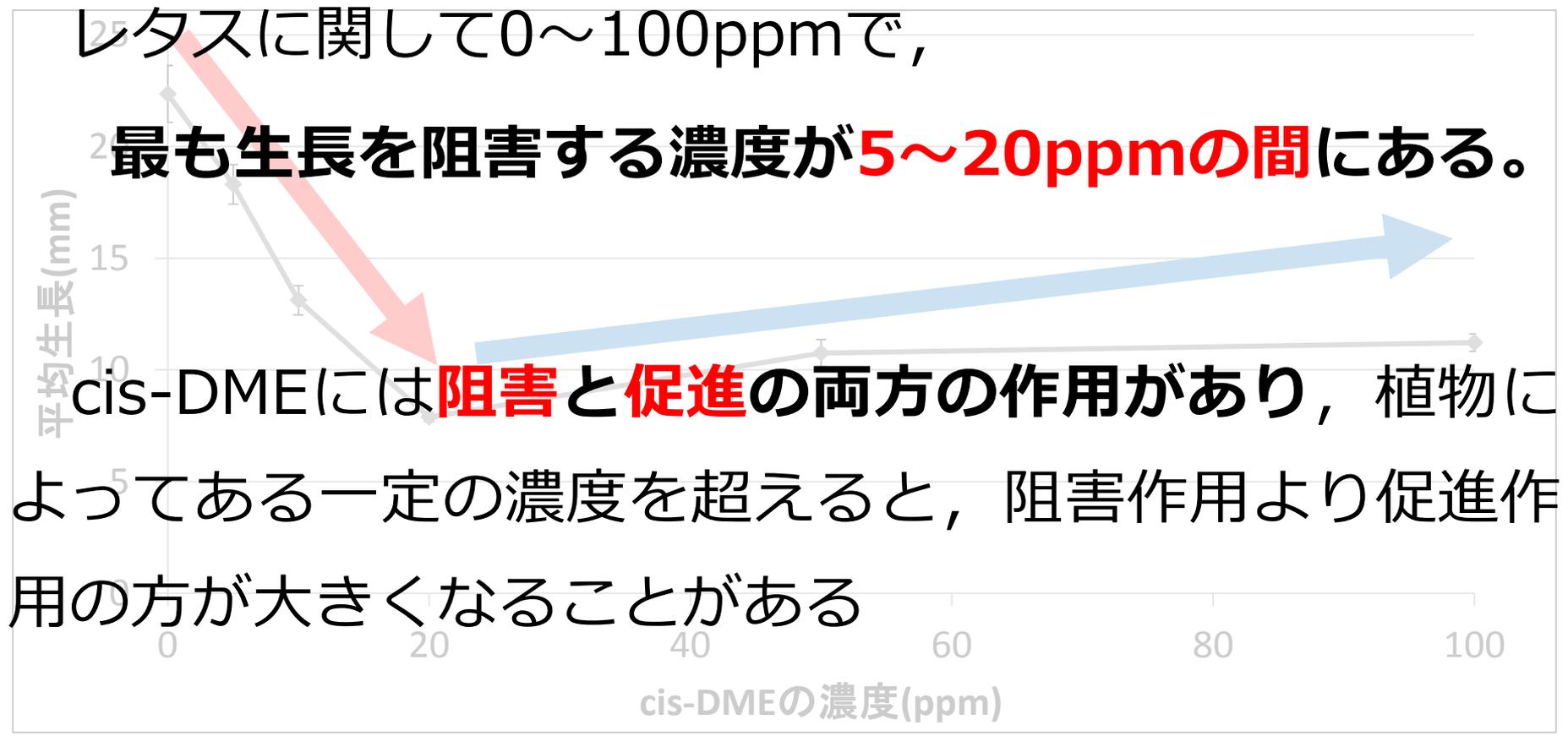


・レタス(キク科)

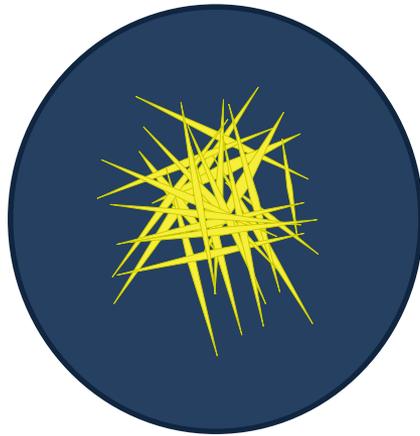


最も生長阻害を及ぼす濃度がある

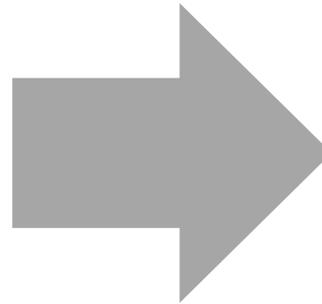
○考察



○実験3



cis-DME



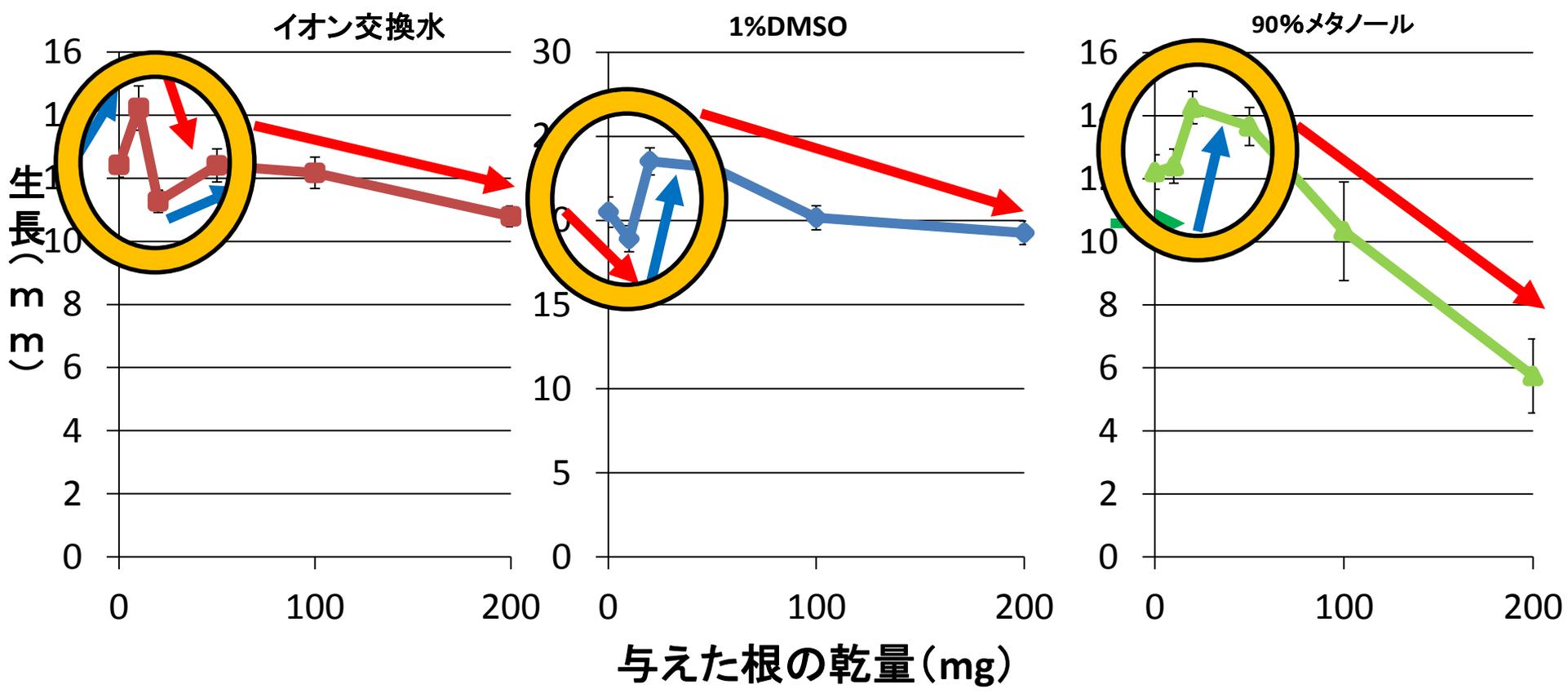
セイタカアワダチソウ

抽出液 → 1% DMSO
→ イオン交換水
→ 90% メタノール



○結果

・レタス(キク科)

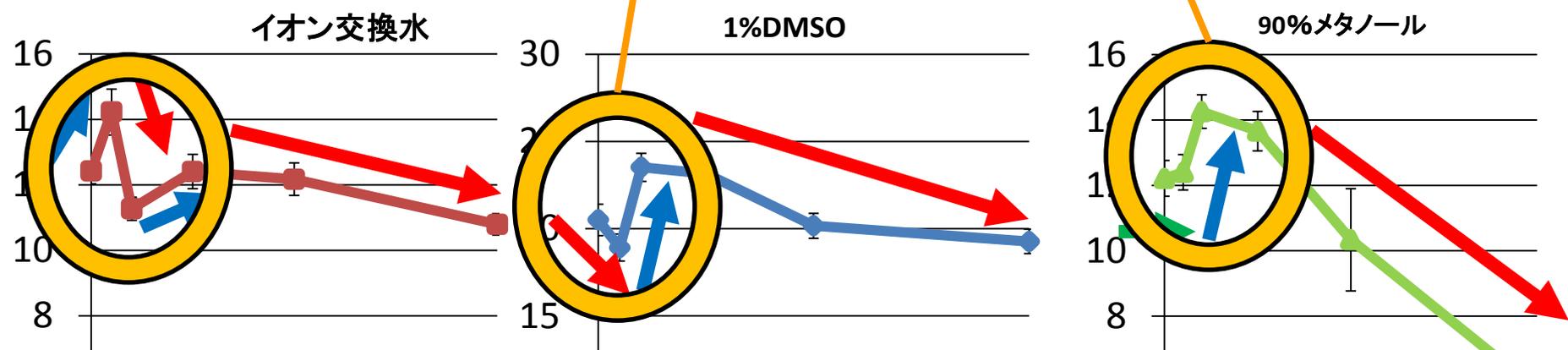


低濃度における作用に違いがある



○考察

cis-DMEの影響



- セイタカアワダチソウの根には**阻害作用**がある
- **少量の根**を与えた場合, **促進作用**をもつ
→ cis-DMEの促進効果があらわれている

低濃度における作用に違いがある



○考察

・イオン交換水

→cis-DMEが十分に抽出されなかった

→親水性の物質には促進作用を持つものがある。

・1%DMSO・90%メタノール

→cis-DMEが抽出された

低濃度における作用に違いがある

〇まとめ



- cis-DMEの結晶を得るには、セイタカアワダチソウの根（粉末）を、ヘキサンで抽出し、水蒸気蒸留する。
- cis-DMEは生長に関して 阻害作用と促進作用の両方を持っている。
- セイタカアワダチソウの根は 適量与えると、促進作用を示す。



○参考文献

- (1)AKIO KOBAYASHI, SHIGEO MORIMOTO, YOSHIARI SHIBATA, KYOHEI YAMASHITA and MAKOTO NUMATA, 1980, C10-POLYACETYLENES AS ALLELOPATHIC SUBSTANCES IN DOMINANTS IN EARLY STAGES OF SECONDARY SUCCESSION, *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 6, No. 1
- (2)HIROSHI SAIKI and KIMIO YONEDA , 1981 , POSSIBLE DUAL ROLES OF AN ALLELOPATHIC COMPOUND, cis-DEHYDROMATRICARIA ESTER , *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 8, No. 1
- (3)辻 久生, 谷 由美, 上田 博夫, 1977, セイタカアワダチソウの根茎に含まれる抗菌性物質について, *農芸化学会誌* 第51巻, 第10号, p.609~615
- (4)IKUTARO ITO, KATSUICHIRO KOBAYASHI and TADAKATSU YONEYAMA, 1998, Fate of Dehydromatricaria Ester Added to Soil and its Implications for the Allelopathic Effect of *Solidago altissima* L. , *Annals of Botany* 82: 625–630,
- (5)Rong Tsao and Morifusa Eto, 1996, *Chemosphere*, LIGHT-ACTIVATED PLANT GROWTH INHIBITORY ACTIVITY OF cis-DEHYDROMATRICARIA ESTER, ROSE BENGAL AND FLUOREN-9-ONE ON LETTUCE (*Lactuca sativa* L.), Vol. 32, No. 7, pp. 1307-1317
- (6)白井有樹, 土田悠太, 竹内賢, 2008~2012, cis-DMEの高純度結晶化とそのバイオアッセイ I~V (茨城県立並木中等教育学校)
- (7)大籠南, 森田 美佳, セイタカアワダチソウで自然農薬を作ろう! (宮崎県立五ヶ瀬中等教育学校)

〇おわりに

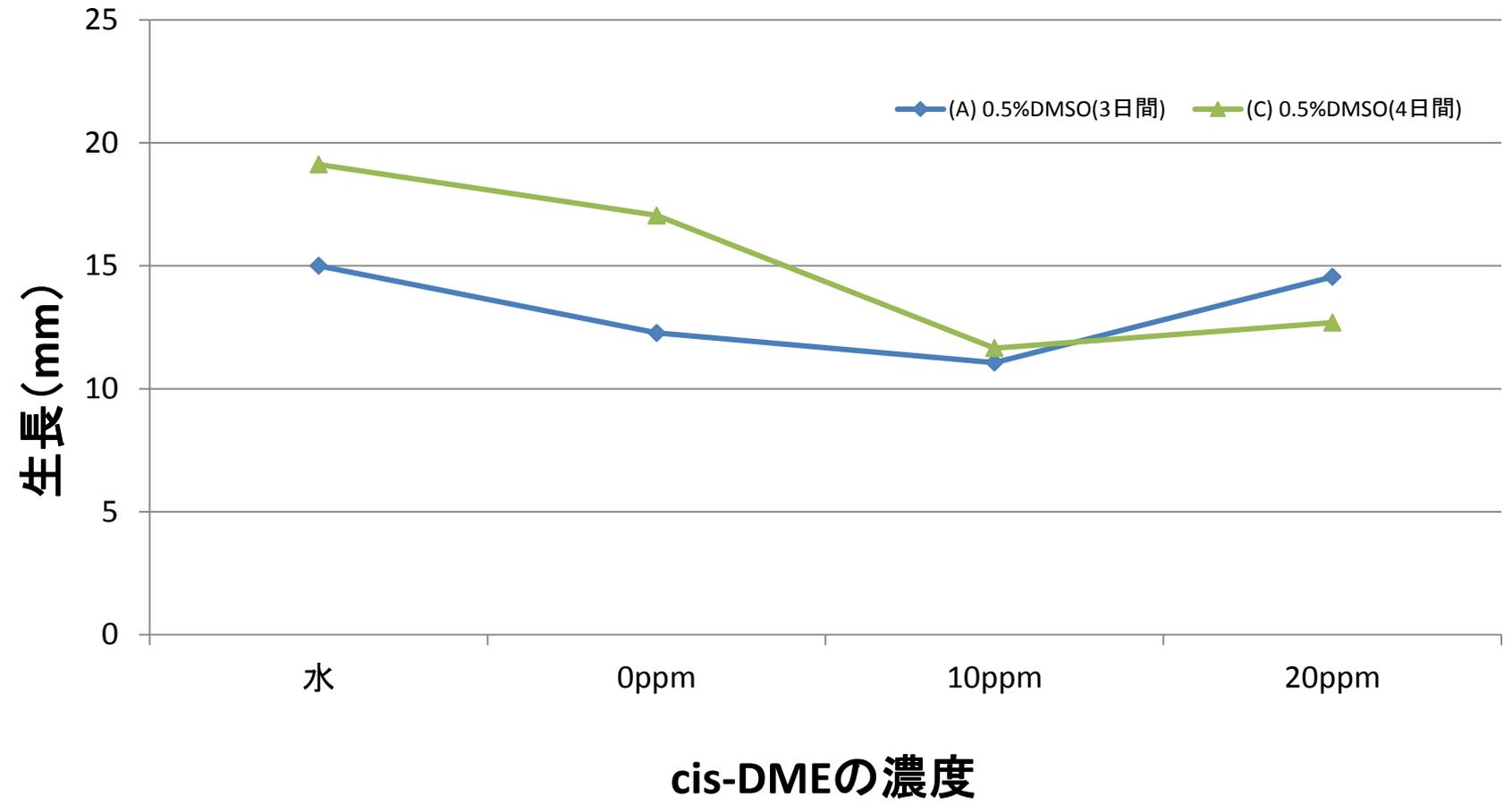
本研究は公益財団法人日本科学協会サイエンスメンター制度に採用されました。東京農工大学の藤井義晴先生，国立環境研究所の中嶋信美先生には大変貴重な助言を頂きました。本研究を実施するにあたり，粉川雄一郎先生，吉村大介先生(ともに並木中等教育学校・科学研究部顧問)のご指導を頂きました。

心より感謝を申し上げます。

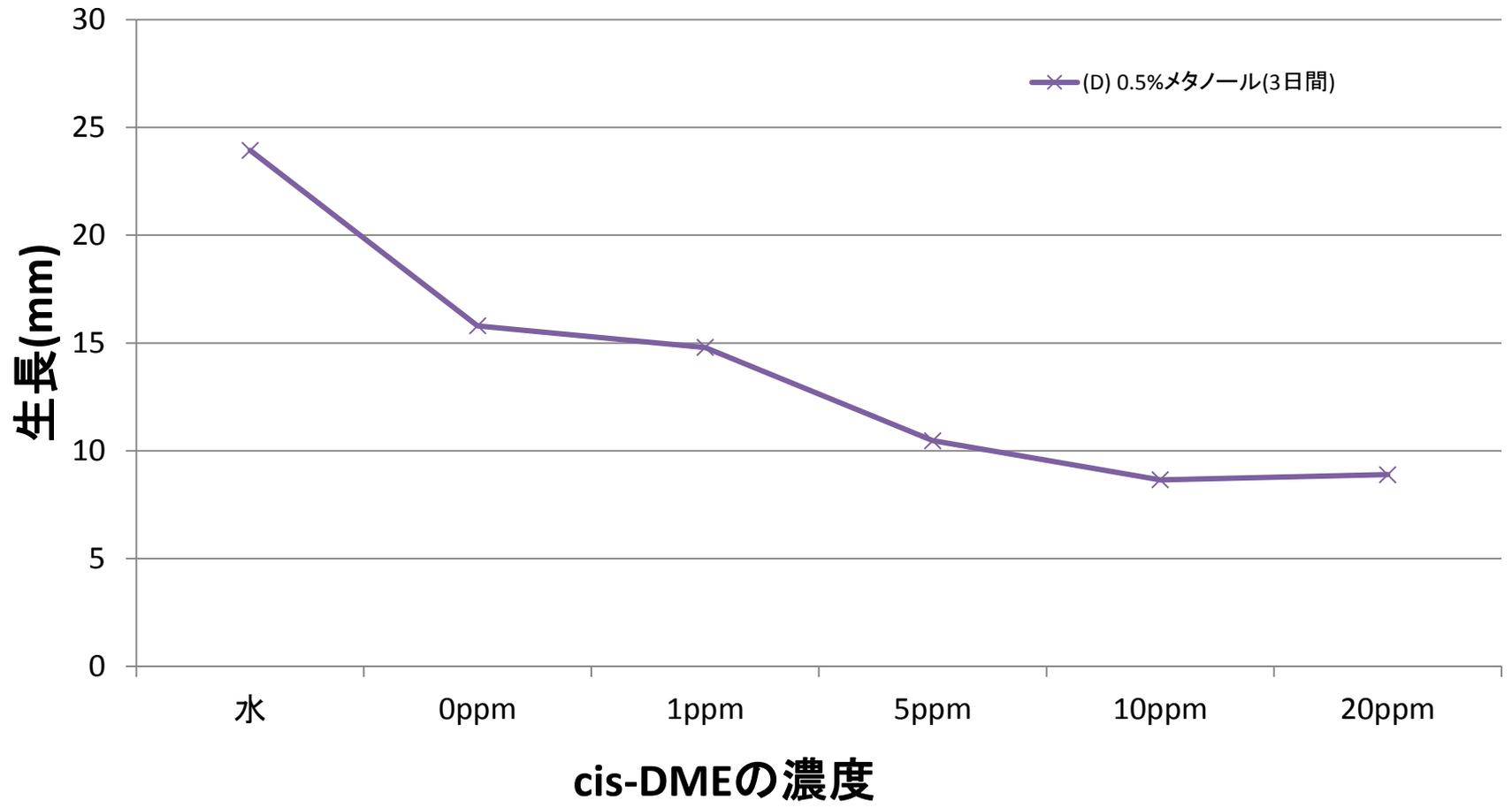
御清聴ありがとうございました。



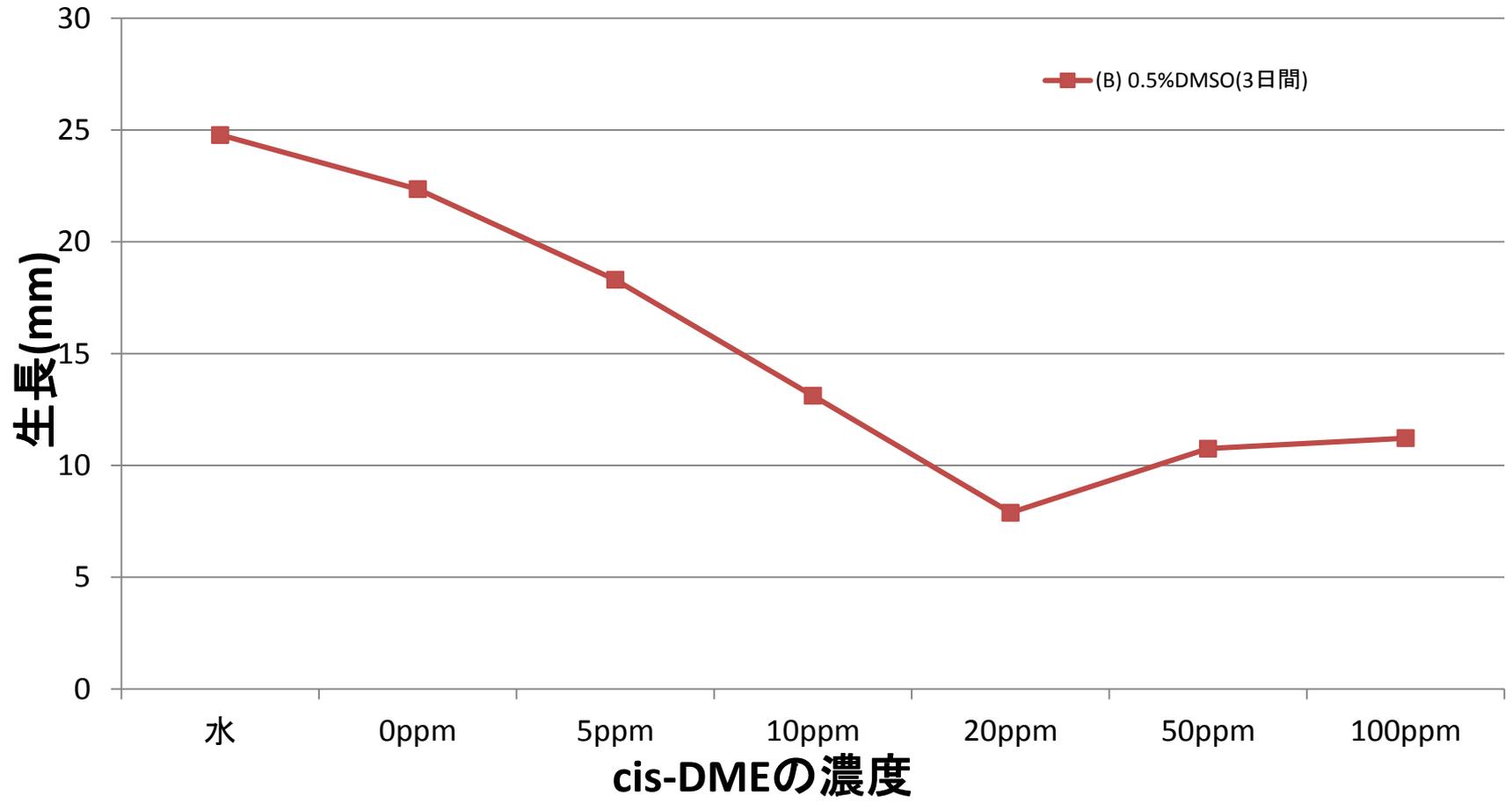
cis-DMEがレタスに与える影響①



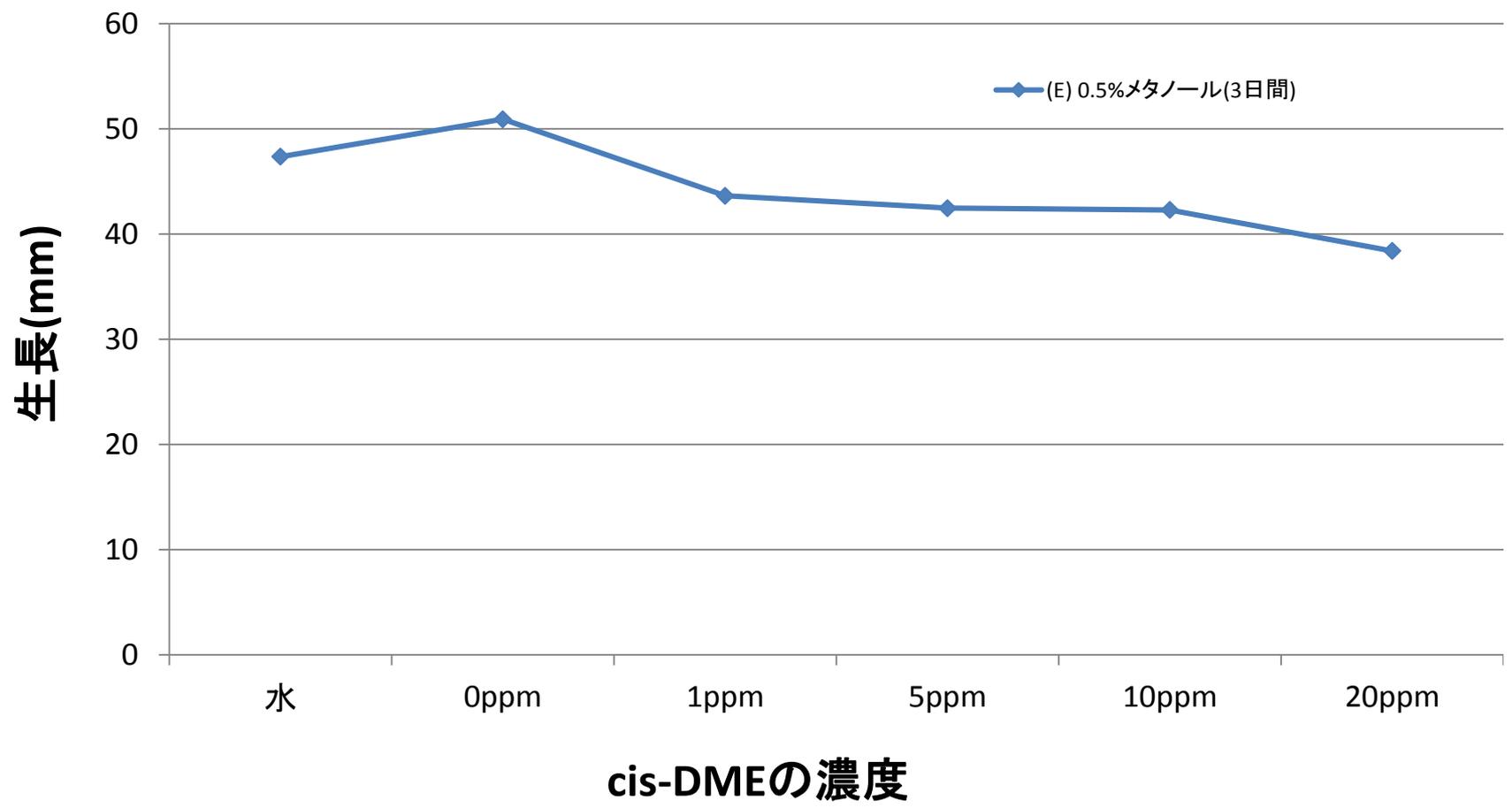
cis-DMEがレタスに与える影響②



cis-DMEがレタスに与える影響③

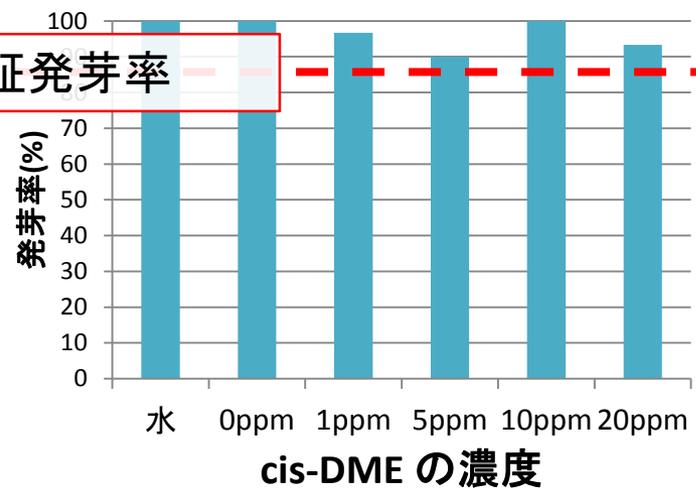
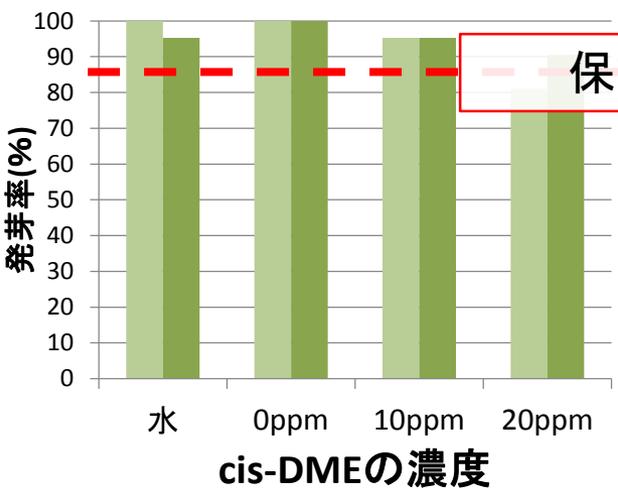


cis-DMEがカイワレダイコンに与える影響③

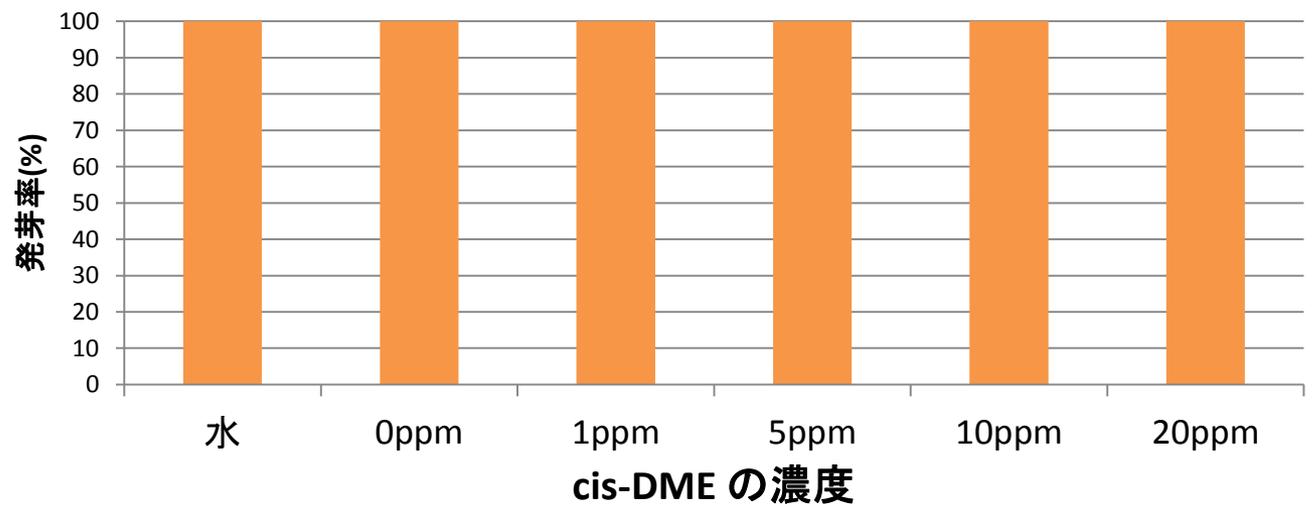




○結果（発芽に関して）

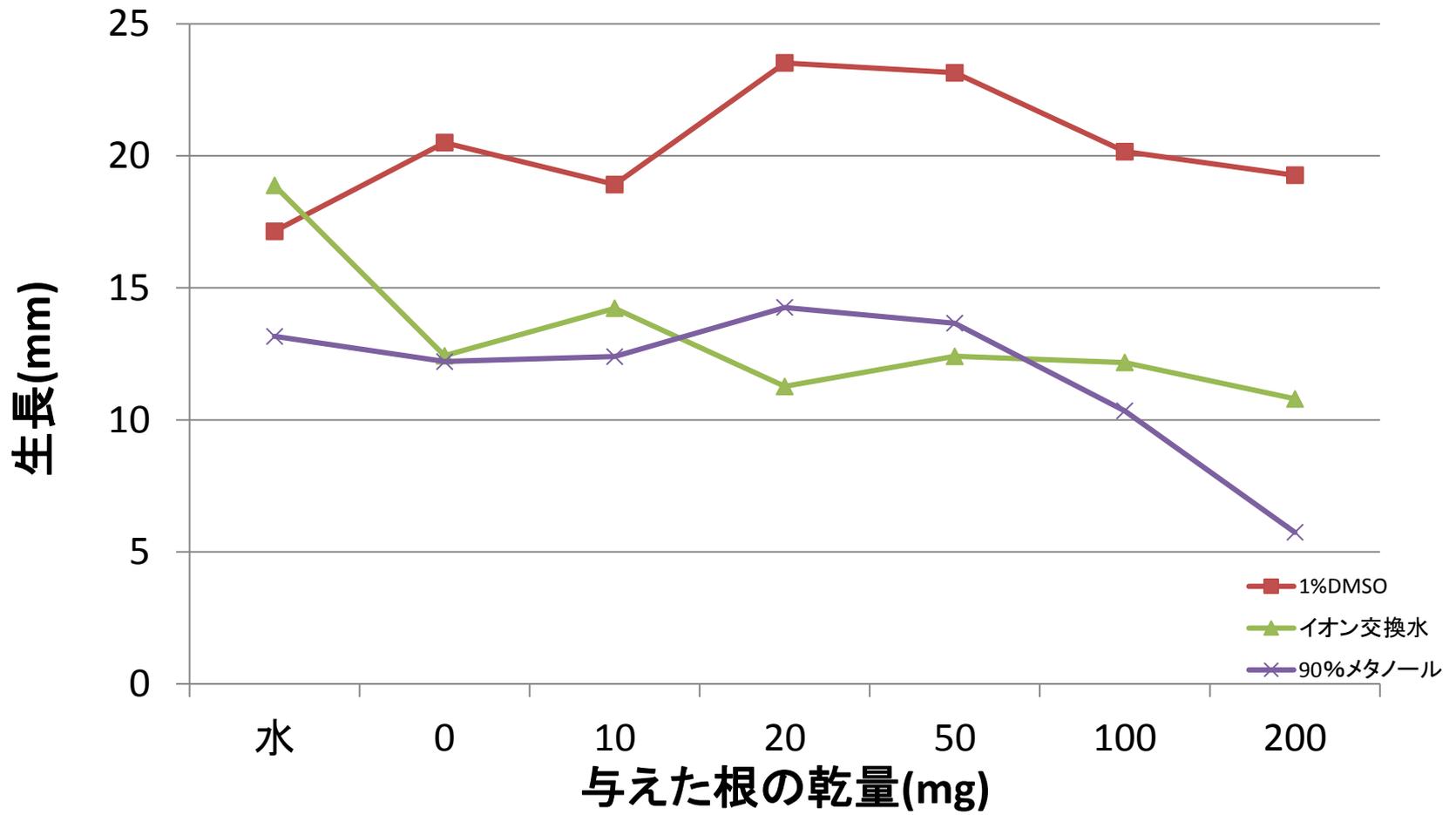


・レタス(キク科)
保証発芽率より高い
↓
発芽には**影響しない**



・カイワレダイコン(アブラナ科)
発芽率は100%
↓
発芽には**影響しない**

セイタカアワダチソウがレタスに与える影響 (生長)



セイタカアワダチソウがレタスに与える影響 (発芽)

