

サンドイッチ法による多様な植物種におけるアレロパシー活性の検索

班員 大松 美咲、長田 愛純、星野 遥音、松田 一輝
担当教諭 谷野 智了

キーワード：アレロパシー、サンドイッチ法、伸長、重量増加、吸水

Allelopathy is a phenomenon in which plants use chemicals to inhibit or promote the growth of other plants in order to favor their own survival. In this study, we observed a llelopathic activity in plant species in our surroundings. Our study suggests that the allelopathic substances in many plant species are not interfering with growth by inhibiting water absorption by other plants, but are using a different method.

1 はじめに

アレロパシーとは、植物が自己の生存を有利に展開するために、化学物質を使って他の植物の成長を抑制または促進する現象のことを指す⁽¹⁾。農業界では、雑草防除策の1つとして、化学物質の特定や、多様な植物種におけるアレロパシー活性の有無の検証がなされてきた。一方で、そのようなアレロパシー活性が吸水、細胞分裂、光合成、植物ホルモンによる反応といった様々な植物の成長過程において、どのように影響しているのかについては不明な点が多く残されている⁽¹⁾。そこで、本研究では身近に生育する多様な植物種のアレロパシー活性を検証することだけでなく、アレロパシー物質が植物の成長にどのように影響しているのかを調べることを最終的な目的とした。アレロパシー活性の検証方法として、サンドイッチ法⁽²⁾⁽³⁾という手法を用いた(図1)。サンドイッチ法とは、アレロパシー活性の検証に広く用いられている方法であり、供試植物の乾燥葉から溶け出した化学物質が検定植物に与える影響を芽生えの長さで評価できる方法である。

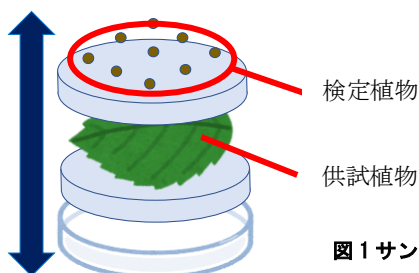


図1 サンドイッチ法(展開図)

2 材料と方法

1. 供試植物(表1)の生葉を60℃の環境下で2日間通風乾燥させ、密閉袋(ジップロック)中で室温下で保存した。
2. シャーレに1で用意した供試植物乾燥葉0.30gを敷き(図2)、その上に0.50%の質量パーセント濃度で寒天粉を蒸留水に溶かして作った寒天培地をシャーレの高さの半分まで流し込んだ(図3)。
3. 2で流し込んだ寒天培地が固化した後、さらに寒天培地を流し込み、葉を挟みこんだ状態で固化させた(図4)。
4. 寒天培地表面に重量を測定した検定植物の種子9個を等間隔に並べた(図5、図6)。重量に関しては、9個の種子の重量をまとめて測定した(図7)。
5. 4を湿度100%、温度20℃、暗黒下で5日間培養した。
6. 5日目に検定植物を採取し、長さ重量を測定した。長さに関しては、芽生えの長さのみを測定し、種子部分を除いた長さとした(図8)。重量に関しては、4と同様の方法で測定した。



図2 サンドイッチ法の断面図①

図3 サンドイッチ法の断面図②



図4 サンドイッチ法の断面図③



図5 サンドイッチ法の断面図④

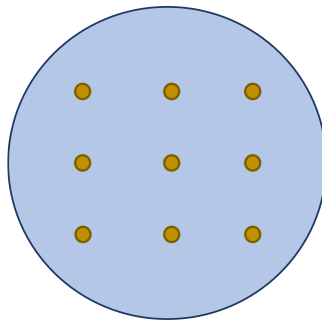


図6 種子の並べ方(培地上面)

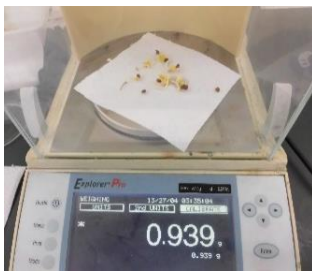


図7 重量の測定方法



図8 長さの測定方法

表1 実験に用いた植物の科名・植物名・学名

科	植物名・学名
供試植物	
イネ	
ヨシ	<i>Phragmites australis</i>
ウリ	
キュウリ	<i>Cucumis sativus</i>
キク	
セイタカアワダチソウ	<i>Solidago altissima</i>
ハルジオン	<i>Erigeron philadelphicus L</i>
ツワブキ	<i>Farfugium japonicum</i>
ククイモ	<i>Helianthus tuberosus</i>
フキ	<i>Petasites japonicus</i>
キク	<i>Chrysanthemum morifolium</i>
キンボウゲ	
ヘレボルス	<i>Helleborus</i>
ショウガ	
ミョウガ	<i>Zingiber mioga</i>
ヒルガオ	
サツマイモ	<i>Ipomoea batatas</i>
ミカン	
ミカン	<i>Citrus unshiu</i>
ミズキ	
ヤマボウシ	<i>Cornus kousa</i>
モクセイ	
ネズミモチ	<i>Ligustrum japonicum</i>
ユキノシタ	
ガクアジサイ	<i>Hydrangea macrophylla f.</i>
ヒマラヤユキノシタ	<i>Bergenia stracheyi</i>
ユリ	
アスパラガス	<i>Asparagus spp</i>
検定植物	
キク	
レタス	<i>Lettuce sativa</i>
アブラナ	
カイワレ大根	<i>Raphanus sativus L.</i>

3 結果

測定した検定植物の長さや重量をもとに、供試植物ごとにコントロールと比較した値を算出し、それぞれ伸長率、重量増加率とした。以下はその算出方法である。

伸長率

$$= (\text{実験群の長さ} / \text{コントロールの長さ}) \times 100$$

重量増加率

$$= (\text{実験群の重さ} / \text{コントロールの重さ}) \times 100$$

各供試植物種の検定結果は以下の通りである。

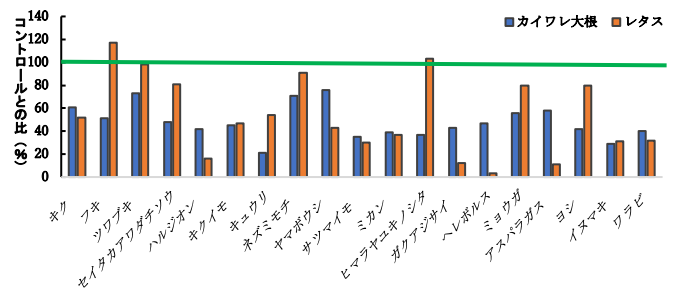


図9 各植物種における伸長に対するアレロパシー効果

ほとんどの供試植物は検定植物の伸長を抑制していた。また、一部の植物種は検定植物の伸長を促進していた(図9)。

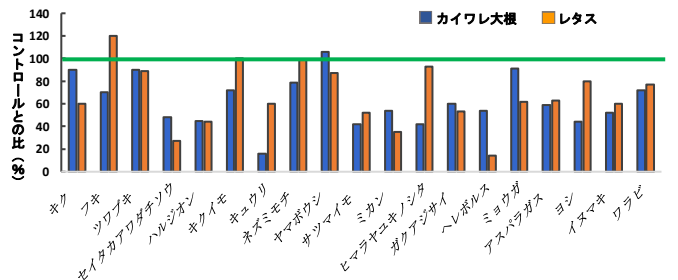


図10 各植物種における重量増加に対するアレロパシー活性

図8からほとんどの供試植物は検定植物の重量増加を抑制していた。また、一部の植物種は重量増加を促進していた。

また、図9、10のグラフを比較すると、供試植物により、検定植物の伸長が抑制されていれば、重量増加も抑制されているといった同様の傾向を示す種が多く確認できた(図11)。一方、セイタカアワダチソウ、ククイモ、ミョウガ、

アスパラガスなどの一部の種は伸長と重量増加に対するアレロパシー活性の傾向が異なっていた(図12)。例えば、セイタカアワダチソウは検定植物(レタス)の伸長成長よりも重量増加を大きく抑制していた。反対に、アスパラガスは検定植物(レタス)の重量増加よりも伸長を抑制していた。これらのことは、必ずしも、伸長成長と重量増加は相関していないことを示唆している。

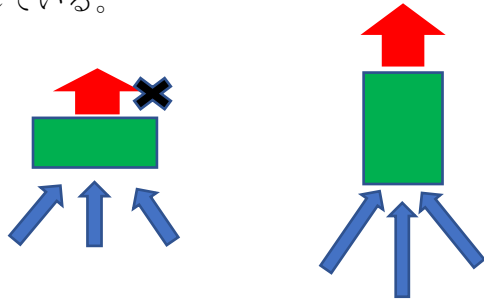


図11 同様の傾向を示すもの

図12 異なる傾向を示すもの

そこで、次の5通りの場合が考えられる。①アレロパシー物質が吸水にそもそも影響していない場合、②アレロパシー物質が吸水を促進し、吸水した分だけ検定植物が伸長成長している場合、③アレロパシー物質が吸水を促進するが、伸長成長に寄与していない場合、④アレロパシー物質が吸水を抑制し、それに伴って伸長成長が抑制されている場合、⑤アレロパシー物質が吸水を抑制するが、伸長成長は抑制されていない場合の5つである。これら5つの場合を検証するために、芽生えの長さを一定にそろえてから比較する必要があると考えた。今回は、検定植物が1cm伸長するために必要な吸水量を算出した。算出方法は以下のとおりである。

$$\begin{aligned} & \text{吸水量 (g/cm)} \\ & = \text{重量増加量 (g) / 芽生えの長さ (cm)} \end{aligned}$$

また、アレロパシー物質が検定植物への吸水に与える影響を評価するために吸水率を算出した。算出方法は以下のとおりである。

$$\begin{aligned} & \text{吸水率 (\%)} \\ & = (\text{実験群の吸水量} / \text{コントロール群の吸水量}) \times 100 \end{aligned}$$

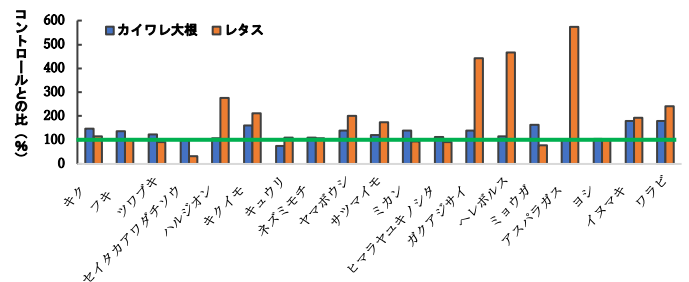


図13 各植物種における吸水率のコントロールとの比較

4 考察

〈重量増加量を吸水量ととらえた理由〉

本研究では、24時間、湿度100%・温度20℃・暗黒下で検定植物を培養した。したがって、検定植物は光合成を行っておらず、寒天培地中に含まれている水分のみを吸水して重量が増加していると考えられる。したがって、重量増加量は単純に検定植物が吸水した量としてとらえることができる。

〈1cm伸長するために必要な吸水量を算出した理由〉

研究を進める過程で検定植物の伸長が抑制されているが、芽生えが横方向に太くなっている様子が観察された。芽生えの太さを測定することは手技的に困難であったため、重量を測定し、芽生えの長さで割れば、検定植物の横方向への肥大成長についても推察できると考えた。

〈セイタカアワダチソウについて〉

図13より、セイタカアワダチソウはレタスの吸水を何らかの物質で抑制していることがわかる。また、図9と図10より、セイタカアワダチソウは伸長よりも重量増加を抑制していた。したがって、セイタカアワダチソウは吸水を抑制しているが伸長は抑制していないため、検定植物の芽生えは細長くなっていると予想される。

セイタカアワダチソウは地下茎でつながっているため、春先から夏にかけて一斉に伸長し、

秋ごろに群落を形成する。そのため、多量の水分を必要とすることから、周囲の植物の吸水を抑制することで、自身の生育環境を整えているのかもしれない。

〈アスパラガスについて〉

図13より、アスパラガスはレタスの吸水を促進していることが分かる。また、図9と10より、アスパラガスは重量増加よりも伸長を抑制している。したがって、アスパラガスは吸水を促進し、伸長を抑制しているため、検定植物の芽生えは太く短くなっていると予想される。

アスパラガスは長期間湿った土壤にさらすと生育が悪化するという報告がある。そのため、周囲の植物の吸水を促進することで、自身の生育環境を整えているのかもしれない⁽⁴⁾。

5 今後の課題

今後は、植物細胞の横方向の成長について、マイクロメーターなどを用いて測定し、定量的な解析を行っていききたい。また、外形の大きさだけでなく、内部の細胞の伸長方向も観察し、形態学的な観点からアレロパシー物質の影響について調べていききたい。細胞の伸長成長と肥大成長にはオーキシンをはじめとする複数の植物ホルモンが関与していることが広く知られている⁽¹⁾。例えば、ジベレリンとブラシノステロイドは伸長成長を促進し、エチレンは肥大成長を促進することが広く知られている。そのため、形態学的な観点から、アレロパシー物質と植物ホルモンの関係について推察することができるのではないかと考えている。

また、今回、顕著なアレロパシー活性を示したセイタカアワダチソウやアスパラガスなどの供試植物については、高校の実験室レベルでも抽出可能な方法を試したり、大学の研究室と連携して成分分析(GC-MS)を行うことでアレロパシー物質の正体を絞り込んでいきたい。

さらに、それらの絞り込んだ化学物質を多様な植物にさらすことで、その化学物質が植物間の相互作用においてどのような機能を持つか解

明できると考えている。

6 参考文献

- (1) 藤井義晴. 植物のアレロパシー. 1990. vol. 28, no. 7, p. 471-478
- (2) 猪谷富雄, 平井健一郎, 藤井義晴, 神田博史, 玉置雅彦. サンドイッチ法による雑草および薬用植物のアレロパシー活性の検索. 雑草研究. 1998. vol. 43(3), p. 258-266
- (3) 谷口太一, 大石州紀, 岡博昭. アレロパシーの教材化とその実践—学校実習における「課題研究」の授業を中心に—. 教育実践研究. 2018. no. 12, p. 17-29
- (4) 柳井洋介, 芳賀紀之, 浦上敦子. アスパラガス連作圃場の継続的高土壌水分状態と株の生育不良が相関する. 農研機構. 園芸学研究. 2013. vol. 12, No. 1, p. 75-82
- (5) 猪谷富雄, 宮川良亮, 山本涼平, 妹尾拓司, 山浦 高夫. 山科植物資料館で採取した薬用植物などのアレロパシー活性. 近畿作物・育種研究会.
- (6) 藤井義晴, 濱野満子. アレロパシー ; 植物が放出する化学物質による他の生物との相互作用-とくに植物が放出する揮発性物質が他の生物に及ぼす作用-. 日本生気象学会. 日本生気象学会雑誌.