

アレロパシーの評価法

四国農業試験場 藤井 義晴

1. はじめに

アレロパシー（他感作用）は、植物から放出される化学物質が、他の植物（広義には微生物や昆虫も含む）に何らかの影響を及ぼす現象を意味する。アレロパシーは、生態学、天然物有機化学、植物生理・生化学、作物栄養学の境界領域の問題であり、研究成果が直接農業に役立つ可能性のある分野として期待されている。とくに、雑草防除、連作障害防止、間作や混植などの面で生態系調和型農業に役立ち、また新たな生理活性物質の発見も期待されている。しかし、体内成分として植物の生育を制御する物質が見出されても、その物質が実際に体外に放出されて作用していることを証明した研究は少ない。自然環境においては、光・水・栄養素などの競合とアレロパシーを識別することが困難な場合が多く、ある現象に果たすアレロパシーの寄与を評価した研究はきわめて少ない。

そこで本稿では、著者のグループが行ってきたアレロパシーの検索と評価に関する研究を紹介し、アレロパシー評価法について考えたい。

2. アレロパシーを評価するための基本因子

アレロパシーの本質は、それぞれの現象が様々な条件に規定されたものであることであり、

常にアレロパシーを現すような現象や植物はないことに注意すべきである。従って「A植物の他感物質はSである」というように決めつけるのは誤りである。アレロパシーは実際には特定の現象のみをさすのではなく、多種多様な要素を含む複雑な現象である。したがって、「A植物はアレロパシー植物で、常にアレロパシーを示す」と考えるのは誤りである。アレロパシーは、特定の生物と特定の生物の組合せで起こる現象であり、その作用は、特定の物質（単一のこともあれば複合のこともある）が、特定の植物の条件の下で、特定の作用経路（根からの滲出、葉からの揮散、葉や残渣からの溶脱など）を経て、特定の環境条件（土壌構成要素、微生物などの生物的要素、光や水分条件、気象条件などの環境条件）下で、特定の生理作用（阻害あるいは促進など）を行う現象である。第1表にこれらの基本因子をまとめた。

アレロパシーの作用経路は、①葉など地上部から揮発性物質として放出される揮散（volatilization）、②生葉あるいは植物体残渣から放出される溶脱（浸出、leaching）、および③根など地下部から滲み出る滲出（exudation）、に分けられるので、各経路別の評価が必要である。以下これらの経路毎の評価法について概説する。

第1表 アレロパシーに関する因子

アレロパシーに関する因子	クログルミを例にとると
基本となる現象	
①現象（抑制作用・優占現象など）	①クログルミの根域に植えたトマト枯死
植物に由来する因子	
②作用を与える植物（種・品種など）	②クログルミ（ <i>Juglans nigra</i> ）
③作用を受ける植物（種・品種など）	③トマト、アルファルファ
④作用を受けない植物（種・品種など）	④イネ科植物
他感物質に由来する因子	
⑤他感物質（種類・単独か複合か） （その生成条件）	⑤ユグロン（juglone） 前駆体が酸化されて生成
⑥放出部位と作用経路（根から滲出・葉から溶脱・揮散）	⑥葉や根から前駆体（1,3,5-trihydroxynaphtalene） が放出される
⑦作用（阻害・促進など）	⑦生育阻害
作用の発現に影響する因子	
⑧植物条件（齢・光・温度・その他の環境条件）	
⑨土壌・環境条件（種類・水分・物理性・粘土鉱物などの 含有成分・土壌微生物など）	

3. 揮発性物質の分析¹⁾

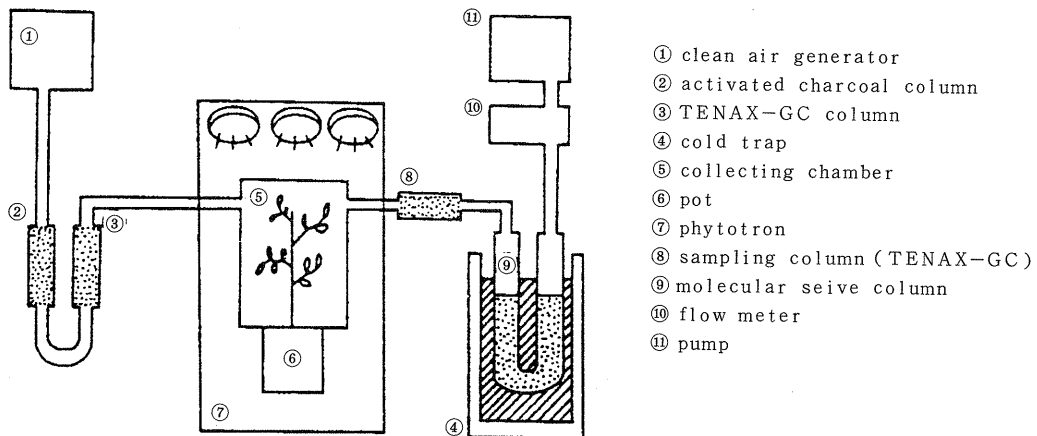
生きている植物の地上部から放出される揮発性物質（経路①）を常温吸着法にて捕集し、GC-MSにて分析・同定する手法を開発した（第1図）。本手法によって、沸点40～200℃で分子量500以下の揮発性物質をpptの感度で検出・同定することができた。各種植物から放出される揮発性物質を調べた結果、草本類からは主として脂肪酸カルボニル化合物が、樹園地や森林の樹木の葉からはテルペン類が、花からは芳香族化合物を主体とする多様な特徴的成分

が検出された。しかし、植物体からの放出量は一個体あたり0.1～100μg/hであり、大気中の濃度は多くても数ppb以下と微量で、他の植物の生育に直接及ぼす影響は小さいと考えられた。

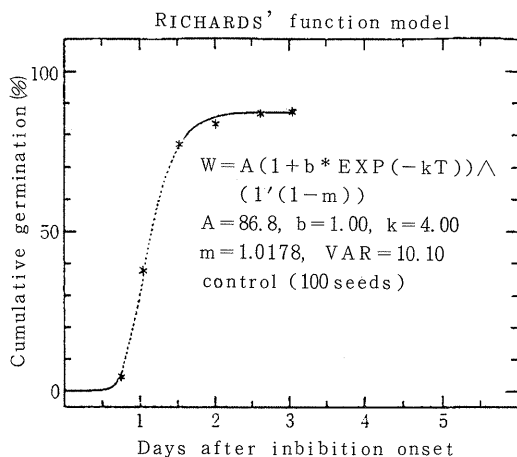
4. 植物体内成分の分析^{2～5)}

植物体内成分の抽出液の分析から、アレロパシー候補植物の検索を試みた。

まず、バイオアッセイを定量化するため、発芽・生育曲線にロジスチック生長曲線のひとつ



第1図 揮発性アレロパシー候補物質捕集法



第2図 Richards関数によるレタス種子発芽曲線のシミュレーション

*は実験値、点線はシミュレーションの結果をあらわす。

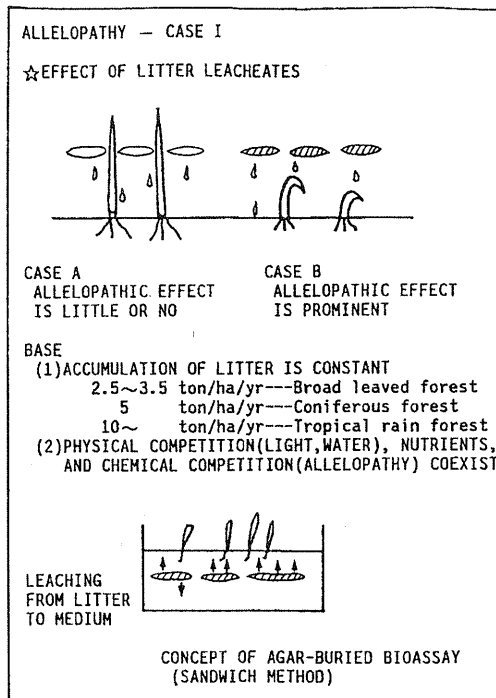
である Richards 関数をあてはめる解析手法(第2図)を開発した²⁾。この手法を用いて、植物体抽出液の活性を評価する際に留意すべき、浸透圧等の条件を設定した。

開発した手法を用いて、一般作物と耕地周辺雑草等、約130試料からアレロパシー候補植物を検索した³⁾。その結果、従来報告のあるセイタカアワダチソウ、ヨモギ、ヒマワリ、クズ、ライムギに加えて、新たにムクナ、ヨウシュヤマゴボウ、ドクダミ、サトイモ等にも活性を見出した。

検索された植物には薬草が多かったので、薬用植物約70種から検索した⁴⁾。その結果、一般植物よりも高い頻度で活性を持つものが検出された。最も強い活性を持っていたのは、オキナグサとセンニンソウであり、作用物質はプロトアネモニン(protoanemonin)であった⁵⁾。

5. 落葉から溶脱する物質による作用の検定⁶⁾

落葉・落枝から溶脱する物質による作用(経



第3図 サンドイッチ法の原理

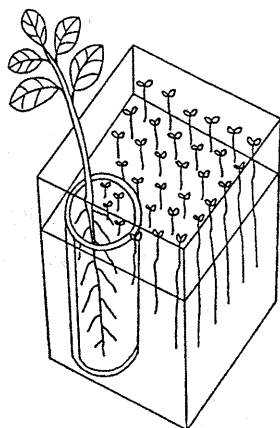
路②)を検定する手法(サンドイッチ法)を開発した(第3図)。その原理は落葉を寒天培地に包埋し、葉から溶脱する物質を寒天中に移動させ、化学物質による効果のみを検索するものである。本法を用いて約200種の、主に樹木の落葉を検定した。その結果、最も強い活性を持っていたのはユーカリであった。一般的に落葉広葉樹の活性は弱く、針葉樹(ヒマラヤシダー、セコイア)、マメ科植物(ギンネム、ムクナ)、熱帯植物(アブラギリ、コーヒー)の活性が強かった。この他、クリ、カエデ、プラタナス、イチョウ等にも強い生育阻害活性が検出された。活性の強い落葉をマルチすることで、アレロパシーを利用した雑草防除技術として利用できる可能性がある。

6. 根から滲出する物質による作用の検定⁷⁾

生きている植物の根から滲出する化学物質に

よる作用（経路③）を検索するために、寒天培地中で検定植物と被検査植物を混植して生育に及ぼす影響を調べる新たな手法（プラントボックス法）を開発した⁷⁾。本手法は、植物組織培養用プラントボックス内で検定植物の根を、透析膜あるいはナイロン網製膜で仕切り、根の周囲の格子点に被検定植物を栽培してその生育

を調べるもので（第4図）、根から出る物質による作用のみを検定することが出来る。本手法によって、ムクナ⁸⁾、ナタメ⁸⁾、ヘアリーベッチ⁹⁾、エンバク⁸⁾、ハルガヤ⁸⁾、エニシダ¹⁰⁾等では根の

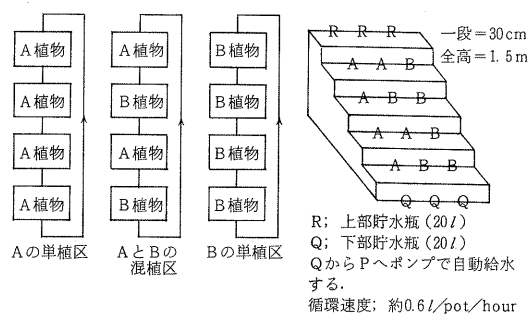


第4図 プラントボックス法の概要

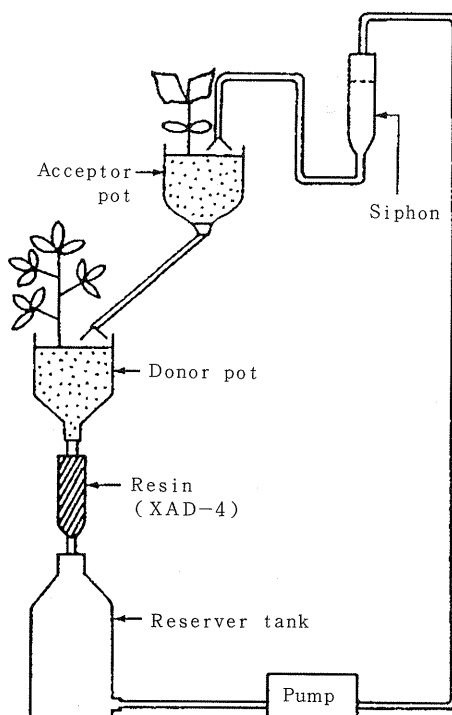
近傍でレタスの根の伸長を顕著に阻害する活性が認められた。また、イネの品種間差をこの手法で評価して、アレロパシー活性の強い品種の選抜を試みた¹¹⁾。更に、体内成分の分析で活性の強かった薬草や香辛料植物についても検定し、アニスなど数種の有望植物を検出した¹²⁾。本手法は、実際に混植したときの作用を評価することができる有力な方法になりうると考えている。これまでにアレロパシーが示唆されている植物を本手法で検定した結果、活性が強いものが多かったが、ほとんど活性のないものもあった。今後更に検討して、実用的なアレロパシー検定法に発展させたい。

7. ポット試験規模の検定^{13~16)}

根から出る物質による作用を検定する手法として、階段栽培法（第5図）と根滲出液循環栽培



第5図 階段栽培法 (Stairstep method) によるアレロパシー識別装置の概略



第6図 根滲出液循環栽培法によるアレロパシー検定用混植栽培の模式図

法（第6図）を検討し、新たに、無影日長温室を利用して、光の競合と養分の競合をなくす手法（無影日長栽培法）を開発し、候補植物を検定した。

トマトの評価¹³⁾: トマトは葉や根の抽出液が植物生育阻害作用を持つことが報告され、土耕栽培で混植試験すると混植相手植物の生育を顕著に阻害する。しかし、階段栽培法と無影日長

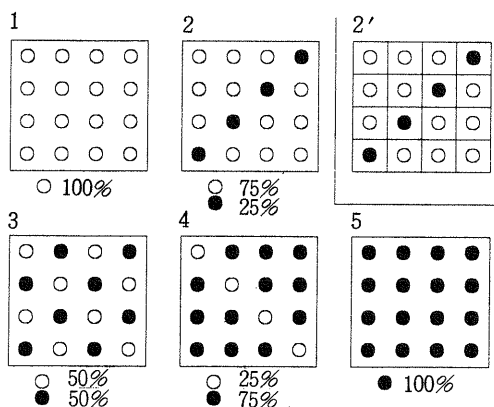
栽培法の結果、トマトには根の滲出液による混植栽培時の阻害作用は認められず、土耕栽培で観察される抑制作用は、主に光と養分の競合であると推定された。

シロザの評価¹⁴⁾：階段栽培法と根滲出液循環栽培法の結果、共に幼植物から育てたときにはシロザによる生育阻害はなかったが、シロザを成植物とした後でキュウリを移植した場合にはキュウリの生育阻害が認められた。この作用はXAD-4樹脂カラムを循環液接続部に入れることでなくなることから、根から滲出される物質による作用であることが示唆された。さらに、シロザは土壤微生物が関与したときに他の植物の生育を阻害する活性が著しく強くなることが明らかとなった¹⁵⁾。

ムクナの評価¹⁶⁾：ムクナの場合にも、階段栽培法でレタスの生育を阻害する活性が認められた。

8. 圃場試験規模の検定^{16, 17)}

栽培密度を一定にして栽植割合を変化させる混植法である置換栽培法 (Substitutive design) を検討し、その改良法として根部に



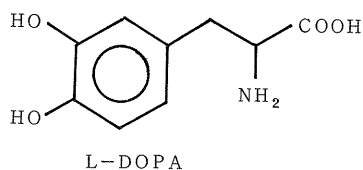
第7図 置換栽培法 (Substitutive Design) による混植方法と根部に仕切りを入れる改良法¹⁷⁾の原理

仕切り区を設け、地下部の競合を評価する手法 (第7図)を開発した。本手法でエンバク、リクトウ、サトイモ、ムクナ、トウモロコシ等の混植を行った結果、エンバクと混植したラッカセイでは、根の相互作用があるとき生育が阻害され葉色が薄くなる現象が観察された¹⁷⁾。また、ムクナは雑草発生量の総量を抑制する作用があるが、イネ科植物の生育を阻害せず、トウモロコシとは共栄関係にあることが判明した¹⁶⁾。

9. ムクナのアレロパシーと作用物質

一連の検索の結果最もアレロパシーが期待される植物として、熱帯原産のマメ科緑肥作物であるムクナ (*Mucuna pruriens*)を選んだ¹⁸⁾。まず、ムクナの連作跡地における春先の雑草発生状況を、トマト、ナス、リクトウの連作跡地と比較調査した結果、ムクナ栽培跡地のみ、オランダミミナグサ等の発生が全く見られず、全雑草発生量が顕著に抑制されていた¹⁹⁾。

そこで、ムクナの植物体からレタスを検定植物として植物に対して生育阻害作用を示す成分を抽出し、その化学構造を分析した結果、L-3,4-dihydroxyphenylalanine (ドーパ) (第8図) が同定された²⁰⁾。ドーパのレタスやオランダミミナグサの幼根伸長阻害における EC_{50} は濾紙上では 50 ppm、寒天培地中では 5 ppm であり⁸⁾、後者はクマリンに匹敵する活性であった。ムクナの葉や根には生体重の約 1% に達するドーパが含まれており、水耕栽培液



第8図 ムクナに含まれるアレロパシー候補物質ドーパ

中には約 1 ppm, 根に付着した水には 50 ppm 程度含まれていた。寒天培地試験のムクナの根の近傍では 10~20 ppm に達し、混植したレタスの生育を阻害するのに十分な濃度であった²⁰⁾。

ドーパの作用の強弱は植物によって大きく異なり、キク科、ナデシコ科等に対する阻害は強かったが、イネ科植物に対する阻害は小さかった。この結果はポット・圃場試験の結果と一致している。ドーパおよび関連物質が 8 種類の植物の発芽・生育に及ぼす影響を調べた結果、ドーパの光学異性体の活性はドーパとほぼ同等であること、ドーパの前駆体であるフェニルアラニンとチロシンには阻害作用はないこと、カテコールと *tert*-butylcatechol はドーパと同程度の活性があることから、3,4-位の水酸基が活性発現に必要であると推定された²¹⁾。ドーパ関連化合物による根の伸長阻害と酸素添加酵素リポキシゲナーゼ阻害の間には高い正の相関が認められたこと等から、ドーパの作用機作は、根の伸長に関与している酸素添加酵素の阻害であるとの仮説を提示した。

10. まとめと展望

アレロパシーは、ある植物が放出する特定の物質が、特定の条件下で、特定の経路を経て、特定の植物に影響を及ぼす現象であり、普遍的な現象ではないことに注意する必要がある。本稿では著者の研究のみを紹介したが、アレロパシーを示唆する報告はこれまでに 1,000 報以上ある^{22), 23)}。また、アレロパシーの識別・評価法については文献²⁴⁾にある程度まとめられているので参照されたい。

今後、これまでに開発した評価法を用いて既報のアレロパシー植物の検定を行い、新たなアレロパシー候補植物の検定を行い、新たなアレ

ロパシー候補植物を見出し、アレロパシー発現に関わる因子を調べ、これを安全で安定した生産が可能な環境調和型農業に役立てたい。具体的には、ムクナとヘアリーベッチの総合的な利用に関する研究を行いたいと考えている。

引用文献

- 1) 藤井義晴・渋谷知子・安田 環 (1986): 植物由来の揮発性微量物質 — その検出法と種間特性 —, 農業環境技術研究所報告, 1, 69~82.
- 2) 藤井義晴・渋谷知子・安田 環 (1990): 他感作用物質検索のための発芽・生育試験のロジック関数 (Richards 関数) を用いた解析, 雑草研究, 35, 353~361.
- 3) 藤井義晴・渋谷知子・安田 環 (1990): 発芽・生育試験による雑草・作物からの他感作用植物の検索, 雑草研究, 35, 362~370.
- 4) 藤井義晴・古河 衛・早川嘉彦・菅原和夫・渋谷知子 (1991): 発芽・生育試験による薬用植物からの他感作用候補植物の検索, 雑草研究, 36, 36~42.
- 5) 藤井義晴・古川 衛・渋谷知子・浅川征男 (1989): オキナグサ・センニンソウに含まれる他感作用候補物質, 雑草研究 (別), 34, 91~92.
- 6) 藤井義晴・渋谷知子 (1991): 寒天培地を用いた他感作用検定手法(1)落葉・落枝の浸出物による他感作用の検索, 雑草研究, 36 (別), 150~151.
- 7) 藤井義晴・渋谷知子 (1991): 寒天培地を用いた他感作用検定手法(2)根の滲出物による他感作用の検索, 雑草研究, 36 (別), 152~153.
- 8) 藤井義晴・渋谷知子 (1992): アレロパシーに特異的な活性評価法の確立 — プラントボックス法を用いた寒天培地中での混植試験による候補植物の探索 —, 雑草研究, 37 (別), 156~157.
- 9) 藤井義晴・渋谷知子 (1992): ヘアリーベッチ (*Vicia villosa*) のアレロパシー — 活性

- の評価と圃場における雑草抑制 —, 雑草研究, 37 (別), 160~161.
- 10) 渋谷知子・藤井義晴・根本正之・浅川征男 (1992): エニシダ (*Cytisus scoparius*) のアレロパシー — 作用経路と発現にかかわる土壌因子 —, 雑草研究, 37 (別), 162~163.
 - 11) 藤井義晴・渋谷知子・奥野員敏 (1992): イネ (*Oryza sativa*) のアレロパシー — プラントボックス法によるアレロパシーを持つ可能性のあるイネの探索 —, 雑草研究, 37 (別), 158~159.
 - 12) 宮浦理恵・市川匡史・藤井義晴 (1992): 香辛料植物のアレロパシー — 寒天培地を用いた作用経路別の活性評価 —, 雑草研究, 37 (別), 168~169.
 - 13) 藤井義晴・渋谷知子・安田 環 (1991): 無影日長栽培法と階段栽培法によるトマトの他感作用の検証, 土肥誌, 62, 150~155.
 - 14) 安田 環・渋谷知子・藤井義晴 (1991): 階段栽培法によるシロザの他感作用の検証, 土肥誌, 62, 252~257.
 - 15) 渋谷知子・藤井義晴・浅川征男 (1992): シロザ (*Chenopodium album*) のアレロパシー — 活性の評価と微生物の関与 —, 雑草研究, 37 (別), 164~165.
 - 16) 藤井義晴・安田 環・渋谷知子・米元志保 (1991): 無影日長栽培法と階段栽培法によるムクナ他感作用の検証, 土肥誌, 62, 258~264.
 - 17) 藤井義晴・渋谷知子・安田 環 (1991): 置換栽培法とその改良法による他感作用検証の試み — リクトウ, サトイモ, エンバクの検定 —, 土肥誌, 62, 357~362.
 - 18) 藤井義晴 (1990): マメ科植物「ムクナ」とは — 利用価値の再評価と新たな可能性について —, 農業および園芸, 65, 835~840, 945~948.
 - 19) 藤井義晴・渋谷知子・宇佐美洋三 (1991): ムクナ (*Mucuna pruriens*) の栽培跡地における雑草発生状況と他感作用の関与, 雑草研究, 36, 43~49.
 - 20) Fujii, Y., Shibuya, T. and Yasuda, T. (1990): L-3,4-Dihydroxyphenylalanine as an allelochemical candidate from *Mucuna pruriens* (L.) DC. var. utilis, Agr. Biol. Chem., 55, 617~618.
 - 21) 藤井義晴・蔵野俊則・渋谷知子 (1990): L-DOPA およびその関連物質の植物生育阻害活性, 農化誌, 64, 72.
 - 22) 藤井義晴 (1990): 植物のアレロパシー, 化学と生物, 28, 471~478.
 - 23) E. L. ライス著, 八巻敏雄・安田 環・藤井義晴共訳, 「アレロパシー」, 学会出版センター, 1991.
 - 24) 藤井義晴: 他感物質分析法, 「植物栄養実験法」, pp. 352~360, 博友社, 1990.

新刊

Short Review of Herbicides & PGRs, 1991 6th edition

(英語版)

B 5 判 377 頁 定価 25,000 円 (税込)

除草剤のデータ集として高い評価を得てきた本書にこの度、新たにPGRのデータを追加した。最新の情報により、世界各国で扱われている植物成長調節剤131剤の一般名、商品名、メーカー、構造式、化学式、物理・化学性、毒性、適用、作用性のデータを除草剤の部と同じく一覧表にまとめた。また、除草剤については第5版発行後に発表された45化合物を加え、さらに従来の化合物にも新しいデータを追加。

呈内容見本

全国農村教育協会

〒110 東京都台東区台東1-26-6(植調会館) 電話/03-3833-1821 FAX/03-3833-1665