

アレロパシー（他感作用）活性に特異的な検定法(1) ～ 根から出る物質によるアレロパシー活性を検定する プラントボックス法 ～

藤井 義晴^{1,2,*}

¹ 鯉淵学園農業栄養専門学校 アグリビジネス科, ² 他感作用研究所

(受付: 2026年2月16日/受理: 2026年3月6日)

キーワード: アレロパシー, 生物検定法, プラントボックス法, 有機農業

I はじめに

アレロパシーは、「植物（広い意味では生物）が放出する化学物質が他の生物に阻害的、あるいは促進的な何らかの作用を及ぼす現象」を意味し、「他感作用」と訳されている^{1,2)}。

アレロパシーの現象は古くから観察されていたが、科学的に研究されるようになったのは1936年のモーリッシュによる定義と現象を紹介した「Allelopathie」という本が最初であり、その後、1982年に日本で農水省農業環境技術研究所にアレロパシーを専門に研究する「他感物質研究室」が設立された。1992年にはインドで国際会議が開催され、1996年にスペインで国際アレロパシー学会が設立され、研究が次第に盛んになっている²⁾。

農業面でアレロパシー現象が観察されるのは、作物の連作障害、雑草による作物の生育阻害現象や作物同士の共栄関係などが多い。植物自身が持つ天然の病虫害や雑草を抑制する作用でもあるため、有機農業における農業技術として重要である。その反面、植物やカビが生産する天然の毒物の働きも本来はアレロパシーであり、食品の安全性の面からも重要な現象である。ただし、自然界における現象には、光や水や栄養素の奪い合いによる競合も含まれているので、アレロパシーが作用していることをきちんと

証明した例は多くない。そのためアレロパシーと光や水や栄養素などとの競合を識別する検定法が必要となる^{3,4)}。

農業と関係の深いアレロパシー現象では、作用経路ごとに分類すると、a) 植物の根から滲み出た物質が周辺の他の植物の生育に影響する場合、b) 葉から出た物質が雨や露によって流れ落とされて周辺の生物に影響する場合、c) 葉から出る揮発性物質が他の生物に影響を及ぼす場合の3つがある。

a) の根から出る物質による作用は、被覆植物を混植する場合やアグロフォレストリーで果樹の下に作物を栽培する場合がある。混植した時に生育がよくなる共栄関係や雑草抑制作用もこの経路である。b) の葉から出る物質による作用では、植物の落ち葉や残渣が他の生物に影響を及ぼす場合もあるので、植物体を鋤き込んだ場合、落ち葉や残渣をマルチとして利用する場合、堆肥の中の生理活性物質の影響なども含まれる。c) の葉から出る揮発性物質が他の生物に影響を及ぼす場合では、作物に害を及ぼす昆虫や微生物の忌避や天敵の誘因作用がある^{4,5)}。

これまでに、これらの経路毎に特異的な検定法を開発し、その手法を用いてアレロパシー活性が強い植物を検定してきた。そこで本稿では、これまでに発表した手法の具体的な方法について説明し、検索結果について紹介する。まず、植物の根から滲み出た物質が、周辺の他の植物の生育に影響する場合の検定法である「プラントボックス法」について説明する。

¹ 〒319-0323 茨城県水戸市鯉淵町 5965

² 〒305-0031 茨城県つくば市花室 1011

*東京農工大学名誉教授

II 根から滲出する物質による作用を検定する「プラントボックス法」の開発

アレロパシー（他感作用）の3つの作用経路の内、植物の根から滲出（exudation）される化学物質による作用を検定するための手法について説明する^{4,5,6}。

1. 寒天溶解法

- ① 耐圧ねじ口瓶に、蒸留水 1000 mL に対し、7.5 g の低温ゲル化寒天 (0.75 % w/v) を入れる。この量はプラントボックス（マジェンタボックスなど）の4個分に相当。1個が250 mL。
- ② ①をオートクレーブに入れる（115℃で15分、ただし止まってもすぐ出すと熱いので、100℃以下になったら取り出す）。
- ③ オートクレーブから取り出した寒天は、均一に溶けるように軽く振った後、固まらないようにウォーターバス（40℃）の中に置く（触って人肌ぐらいの温度）。

2. 供試植物の育成とプラントボックス法への供試

- ① 前もって他で供試してきた植物を（砂耕栽培で1～2ヶ月くらい。根の乾物重が100～300 mg〔生体重で1～2 g〕くらいのもの）、ビニールポットから取り出す。水を張ったバットの中で、根を切らないように静かに取り出す（図1）。

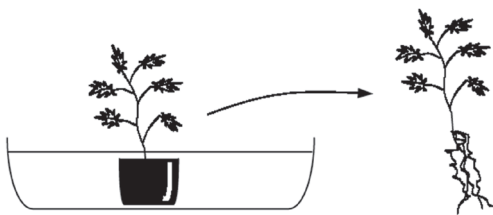


図1. 供試植物の洗浄と保持方法

- ② 取り出した植物の根をきれいに洗浄し（土をきれいに取り去る）、ティッシュで根の部分を包み、根が乾燥しないようティッシュにはたっぷり水と水をふくませておく（この時、ラベル〔名札〕も一緒に包み、間違えないようにする）（図2）。

※ティッシュで包んだ植物は、水を張ったバットの中に入れておく（萎縮させず、ピンとし

た状態を保つため）。



図2. 植物の根の保護方法

- ③ サンプル数+対照区（コントロール）のプラントボックス（マジェンタボックス）、根圏仕切筒、ラベルを用意する（図3）。根圏仕切筒は直径32 mmの塩化ビニル製パイプを寒天を入れる高さの65 mmに切断し、1/4の柱を残して窓を開け、ナイロンゴースを塩ビ用接着剤で貼り付けて作成する。接着剤の溶媒は60℃で乾かして飛ばすので影響はない（図4）。

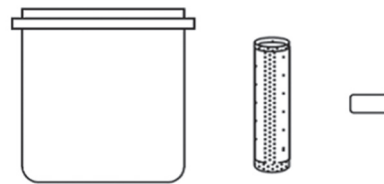


図3. プラントボックスと根圏仕切り筒

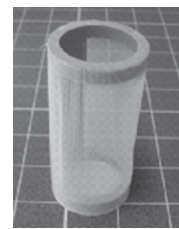


図4. 根圏仕切り筒

- ④ ラベルに、植物名と播種日（播種日は不明の場合は採取日）を記入しボックスに貼る（図5）。

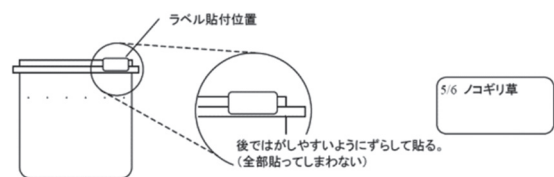


図5. ラベルを張る位置

- ⑤ 根圏仕切り筒（筒と略す）の中に植物を入れ

る（根部を筒の中に入れる）。根部は目安として、乾燥重で 100 mg 程度、生重として約 1～2 g 程度のものを用いる（図 6）。

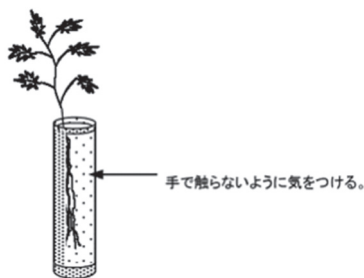


図 6. 根の入れ方（回しながら入れるとよい）

⑥ プラントボックスに⑤で準備した根圏仕切り筒の植物を入れ、セロテープで固定する（図 7）。

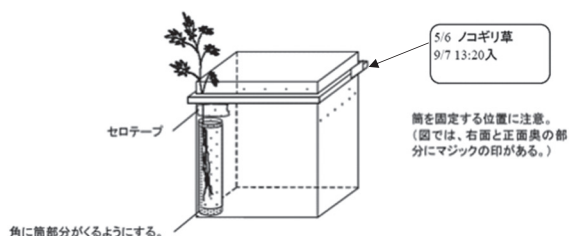


図 7. プラントボックスに根圏仕切り筒を入れる方法とラベルの位置

⑦ 溶解した寒天を、ボックスの矢印をつけたところ（6.5 cm のところ＝約 250 mL）まで入れる。寒天を入れる時はできるだけ泡を作らないように気をつけ、やむを得ず泡がある場合はスポイトや針で泡を取り除いておく。また寒天を入れた時間をラベルに記入する（00:00 入）。※耐圧ねじ口瓶からそのまま入れる。分注器は使わない。

⑧ 寒天を入れ終えたボックスは、氷水を入れたパットに入れる。※急速に冷やして寒天を固まらせる（30 分程度）（図 8）。

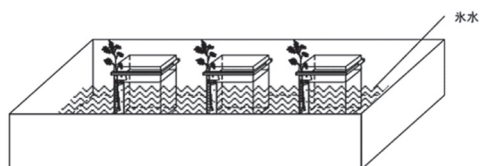


図 8. 寒天を入れたあとのプラントボックスの冷やし方

3. 置床法

検定用の種子としてレタスを用いる。品種は「グレートレックス 366」か「レガシー」が好ましい。

レタスは感受性が高く、双子葉植物の代表とし多くの前例があるので選んだ。

① 寒天が固まったら、レタスの種子を置床する（種子は手で触ると微生物によるコンタミの原因となるので注意する）。1 ボックスにつき 33 粒。置床位置は、図 9 を参照。この際、ラベルに図 10 のように、種子を置床した時間を記入する（例として、13:20 など）。なお、植物名の左の日付けは、使用した植物の苗の栽培を開始した日である。

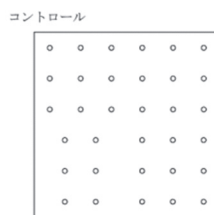
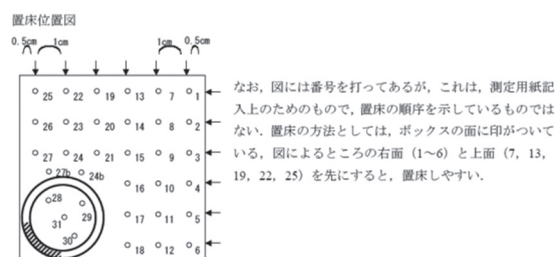


図 9. レタス種子を刺す位置



図 10. ラベルの記入方法

このとき注意すべき点を次に示す。

- ・シャーレに小出しして、ピンセットで置床する。
- ・ピンセットで種子をはさむ時、つぶさないように軽くはさむ。
- ・種子を刺す向きは、図 11 のように、紡錘形の種子の尖った方から根がでるので、尖った方を下にして刺す。
- ・種子を落とした種子は捨てる。また、幼芽部分に誤って寒天が付着した場合は、その種子も捨てる（出芽に影響がある）。
- ・雑菌が入らないよう、おしゃべりをせずに、できればマスクをして速やかに置床する。

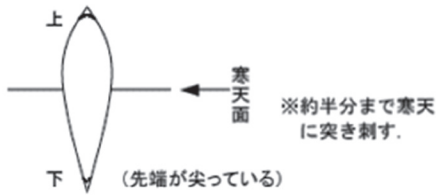


図 11. レタス種子の刺し方

- ② 置床し終えた後、プラントボックスにサランラップをかぶせる (図 12)。
- ③ プラントボックスに黒ビニールポットで作成したカバーをつけ、黒いビニルで根部を覆うようにする。これは、レタスの根を垂直に伸張させるためである。根部を暗くしないと、根は光と反対の方向に曲がり、プラントボックスの壁面に根がぶつかると、エチレンが出て根の伸びが悪くなるためである (図 13)。

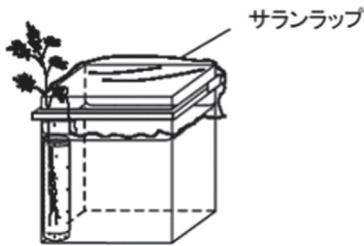


図 12. 完成したらラップをかける



図 13. ボックス下部を黒く覆う

- ④ トレイにボックスを並べ、5 日間人工気象器に入れる。25/20℃ (12/12h) 毎日ボックスの状態を確認し、寒天が割れないように根圏仕切り筒の中に適宜蒸留水を添加する (図 14)。

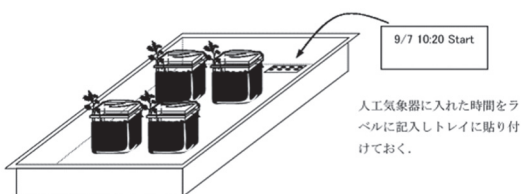


図 14. 人工気象室での設置方法

4. 写真撮影

- ① 実験終了時の処置。

- ・実験をストップした日、時間を対照区 (コントロール) のトレイのラベルに記入する。
- ・黒ビニールポットとラップをはずし、3 個程度、一緒に並べて 3 方向から撮影する。窓際など明るいところで撮影するか、側面から光を当てて、根がよく写るようにする (図 15, 16, 17)。

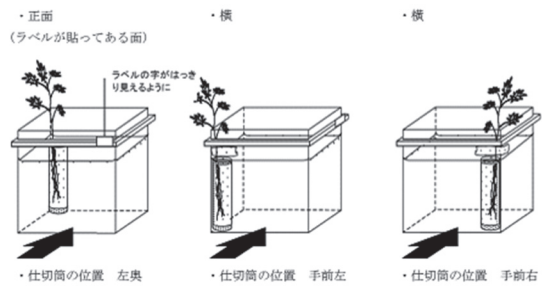


図 15. 終了時の写真撮影方法



図 16. 窓際で撮影した写真。左は対照区。(撮影装置もあるが窓際で十分である)

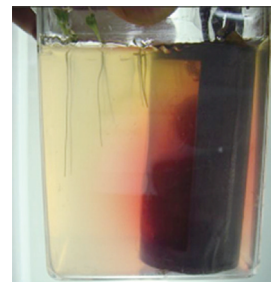


図 17. レッドビートで行った例。根から出た色素の及ぶ範囲でレタス根の伸長が抑制される。

5. 測定方法

方眼紙で測定する。用紙に線を引いて読みやすくする。用紙はクリアファイルに入れる。地下部 (根, R : Radicle) と地上部 (H : Hypocotyl) を測定する (図 18 参照)。

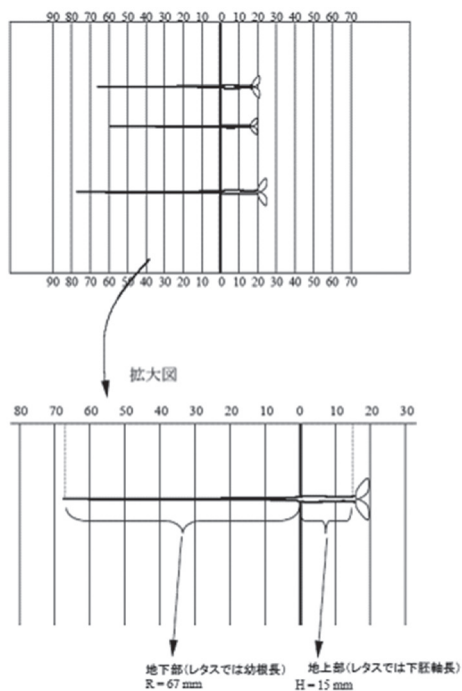


図 18. 地上部と地下部（根）の長さの測定方法

6. 後片付け方法と次の実験準備

事前に、それぞれの植物に対して 2 枚ずつの薬包紙を用意しておく。それに、植物名をマジックで記入。1 枚にはプラントボックスに貼ってあったラベル（植物名、播種日〔又は採取日〕、寒天を入れた時間、種子を置床下時間がかかっている）を貼る（図 19）。



図 19. 地上部と根（地下部）に分けて乾燥させるための準備

- ① 測定し終わったらプラントボックスから植物を取り出す。このとき、根が切れないように慎重に行うこと（図 20）。

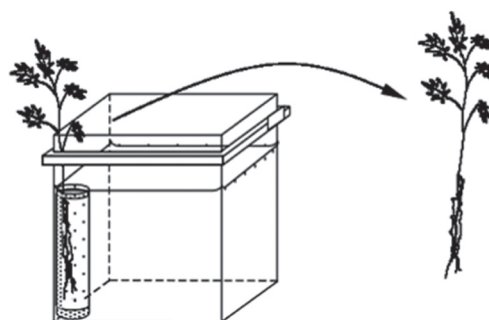


図 20. 根の取り出しと洗浄

- ② 根を洗う（寒天をよく除く）。
- ③ タオルで水分を取る。
- ④ ティッシュ、キムタオルで水気をよく切る。
- ⑤ 地上部と根をハサミで切り離す（図 21）。



図 21. 根を切断する

- ⑥ 地上部、根の重さを計り、測定用紙に記入する。
※計量時、薬包紙に乗せられるくらいの適当な大きさに切るとよい。
- ⑦ 計量の終わった地上部と根を、それぞれ薬包紙の上に乗せる（図 22）。



図 22. 地上部と根（地下部）に分けて乾燥させる

- ⑧ ⑦ を金網に入れる。

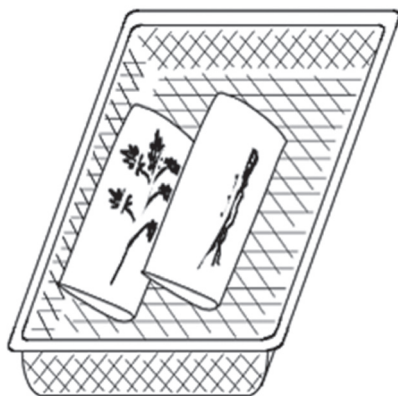


図 23. 乾燥方法

- ⑨ 金網を乾燥機に入れ、通風乾燥する。後で成分を測定することを考え、60℃で1～2日間、必要最小限の温度と時間で乾燥させる（図23）。
- ⑩ 1～2日後、乾燥機から取り出した植物（地上部、根）は、重量を計った後（測定用紙に記入）、チャック付きビニル袋に入れる（この試料をサンドイッチ法に供試することができる）（図24）。



図 24. 終了後の保管方法

Ⅲ 活性の表示方法と結果の事例

プラントボックスの結果は、図25に示すように、検定植物であるレタスの幼根の長さを縦軸に、供試植物の根からの距離を横軸にプロットし、傾きを一次回帰直線で回帰し、根からの距離がゼロ、すなわち供試植物の根の近傍での長さを計算し、同時に試験しておいた供試植物を入れない対照区の値と比較

して、根からの滲出物による阻害活性とする。

図25は、結果の一例を示したものであるが、左図のエゾノスズシロ類の活性が高かった。右図のハッカでは、葉から出る特有の揮発性成分による影響は認められるが、根から出る物質による影響はほとんど認められなかった。なお、揮発性物質による影響を検定する手法としては、ディッシュパック法という方法を開発しているので、別の総説として紹介したい。

プラントボックス法を開発してから、これまで25年間に測定を約1万回くりかえし、約2,500植物の活性を検定してきた⁷⁻⁹⁾。検定結果は正規分布を確認している。表1に作物の活性の例を示す。ムクナ豆（ハッシュウマメ）については前号で紹介した¹⁰⁾が、ムクナ豆は最強の活性を示す植物のひとつである。葉に含まれるシアナミドや、根に共生するエンドファイトが作る成分による病害虫抑制効果も高いことから、有機農業で普及しつつあるヘアリーベッチの活性も強い。表1で示している「活性」の単位は「%」であり、図25で、供試植物の根からの距離がゼロの縦軸と接する場所、すなわち供試植物の根の表面における検定植物（レタス）の根の長さの対照区の根の長さに対する伸長率を示しており、この値が小さいほど、供試植物の根から出る物質が検定植物の根の伸長を強く阻害することを示している。

Ⅳ まとめと今後の展望

本稿では、プラントボックス法しか紹介できなかった。アレロパシー検定法としては、葉から出た物質が雨や露によって流れ落とされて周辺の生物に影響する場合の検定法として「サンドイッチ法」を、葉から出る揮発性物質が他の生物に影響を及ぼす場合の検定法として「ディッシュパック法」、根圏土壤に含まれる成分を検定する「根圏土壤法」、植物が発芽してから開花・結実までのライフサイクルに及ぼす影響を検定する「ライフサイクルアセスメント法」などを開発している。以後、これらの方法についても紹介し、鯉淵学園において検索を行って、アレロパシーの検索を継続したい。

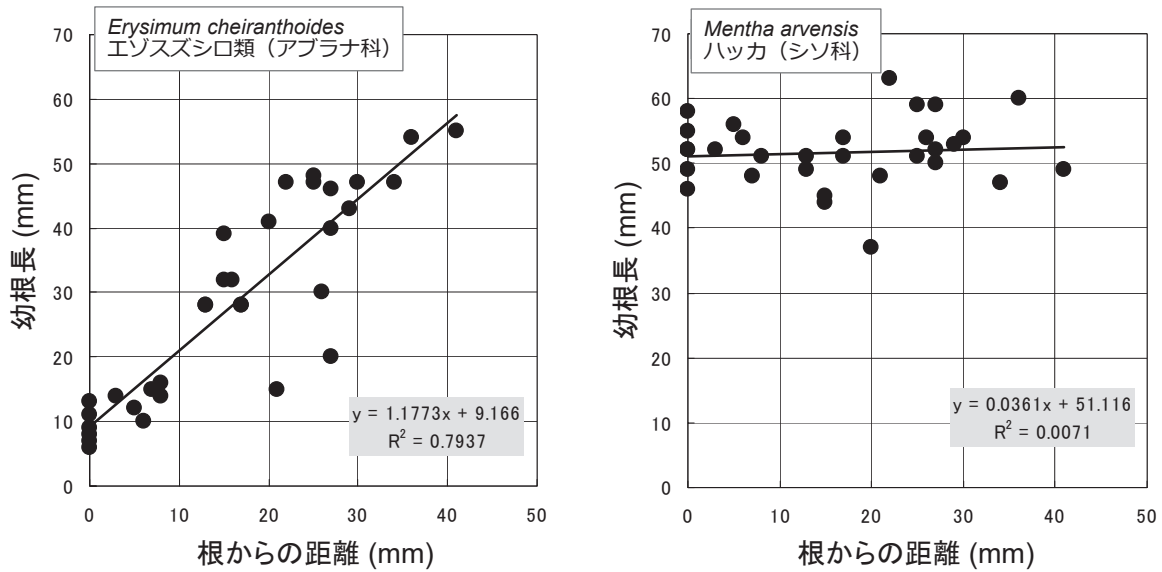


図 25. プラントボックス法の結果の例（左：エゾノスズシロ類，右：ハッカ）

表 1. プラントボックス法による作物のアレロパシー活性

学名	和名	科名	活性*
<i>Mucuna pruriens cv. ana</i>	ムクナ	マメ科	9
<i>Triticum polonicum</i>	ポーランドコムギ	イネ科	13
<i>Vicia faba</i>	ソラマメ	マメ科	15
<i>Avena barbata</i>	野生エンバク	イネ科	18
<i>Vicia villosa</i>	ヘアリーベッチ	マメ科	19
<i>Linum usitatissimum</i>	アマ	アマ科	20
<i>Symphytum officinale</i>	コンフリー	ムラサキ科	21
<i>Medicago polymorpha</i>	ウマゴヤシ	マメ科	21
<i>Secale cereale</i>	ライムギ	イネ科	22
<i>Avena sativa</i>	エンバク	イネ科	25
<i>Canavalia ensiformis</i>	タチナタマメ	マメ科	26
<i>Triticum aestivum</i>	コムギ	イネ科	34
<i>Hordeum vulgare</i>	オオムギ	イネ科	38
<i>Cajanus cajan</i>	キマメ	マメ科	40
<i>Amaranthus tricolor</i>	ハゲイトウ	ヒユ科	42
<i>Sorghum bicolor</i>	モロコシ	イネ科	44
<i>Medicago sativa</i>	ルーサン	マメ科	51
<i>Lycopersicon esculentum</i>	トマト	ナス科	52
<i>Zea mays</i>	トウモロコシ	イネ科	60
<i>Astragalus sinicus</i>	レンゲ	マメ科	67
<i>Cucumis sativus</i>	キュウリ	ウリ科	67
<i>Helianthus annuus</i>	ヒマワリ	キク科	69
<i>Allium fistulosum</i>	ネギ	ユリ科	76
<i>Glycin max</i>	ダイズ	マメ科	84

*) 活性は、供試植物の根表面におけるレタスの幼根伸長率で示した。

V 引用文献

- 藤井義晴 (2000), アレロパシー—他感物質の作用と利用—, 農文協 (自然と科学技術シリーズ), pp. 1-230.
- 藤井義晴 (2016), 植物たちの静かな戦い—化学物質があやつる生存競争—. 化学同人 (DOJIN 選書 071), pp.1-209.
- 藤井義晴, 古川 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.
- 藤井義晴 (1994), アレロパシー検定法の確立とムクナに含まれる作用物質 L-DOPA の機能. 農業環境技術研究所報告 **10**: 115-218.
- Y. Fujii (2003), Allelopathy in the natural and agricultural ecosystems and isolation of potent allelochemicals from Velvet bean (*Mucuna pruriens*) and Hairy vetch (*Vicia villosa*). *Bio. Sci. Space* **17**: 6-13.
- Y. Fujii, D. Pariasca, T. Shibuya, T. Yasuda, B. Kahn and G. R. Waller (2007), Plant-box method: A specific bioassay to evaluate allelopathy through root exudates. ALLELOPATHY: NEW CONCEPTS AND METHODOLOGY pp. 39-56.
- M. Azumi, M.Z. Abdullah and Y. Fujii (2004), Exploratory study on allelopathic effect of selected Malaysian rice varieties and rice field weed species. *J. Tropic. Agric. Food Sci.* **28**(1): 39-54.
- E. Nishihara, M. M. Parvez, H. Araya, S. Kawashima and Y. Fujii (2005), L-3-(3,4-dihydroxyphenyl) alanine (L-DOPA), an allelochemical exuded from velvetbean (*Mucuna pruriens*) roots. *Plant Growth Regul.* **45**(2): 113-120.
- L. Bao, X. Zhao, G. Kang, K. Suzuki, T. Ismail, Y. Fujii and S. Motoki (2024), Assessment of the allelopathic activity of various parts of Platycodon (*Platycodon grandiflorus*) and its mitigation by activated carbon. *Agronomy* **14**(2): 385-400.
- 藤井義晴 (2025), ムクナ豆 (ハッシュウマメ) の起源・栽培方法・機能性と今後の利用の展望. 鯉淵学園教育研究報告 **35**: 3-13.