

# 葉から出る物質によるアレロパシー(他感作用)活性 を検定する「サンドイッチ法」 ～ 鯉淵学園構内の植物の検定結果 ～

平澤 朋美<sup>1</sup>, 藤井 義晴<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup> 鯉淵学園農業栄養専門学校 アグリビジネス科, <sup>2</sup> 他感作用研究所

(受付: 2026年2月16日/受理: 2026年3月6日)

**摘要:** 植物が放出する天然化学物質が他の生物に影響を及ぼす現象であるアレロパシーは、有機農業における雑草や病害虫防除技術として重要である。アレロパシーの作用経路の中で、茎葉や落葉などから放出される物質による作用を検定する手法である「サンドイッチ法」は簡便な方法であるが、圃場や生態系で実際に働いている物質の作用を検出することができるので、有機農業で利用できる植物を選抜することが可能である。そこで、この手法を用いて鯉淵学園構内で採取した植物体を用いた検定を行ったので、結果を報告する。

キーワード: アレロパシー, サンドイッチ法, ヘアリーベッチ, 有機農業

## I はじめに

農業面でのアレロパシー現象は、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として観察されることが多い。植物自身が持つ天然の病害虫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。

農業と関係の深いアレロパシー現象を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。

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。

そこで本稿では、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」<sup>1,2)</sup>を用いて、鯉淵学園構内の植物について検定した結果を報告する。

## II 茎葉や残渣から溶脱する物質による作用 を検定する「サンドイッチ法」の要領

サンドイッチ法は、アレロパシー(他感作用)の3つの作用経路の内、植物の茎葉や植物体残渣などから溶脱(leaching, リーチング)する化学物質による作用を検定するための手法である<sup>2,3)</sup>。

### 1. 寒天溶解法

- ① 耐圧ねじ口瓶に、蒸留水 1,000 mL に対して 7.5 g の低温ゲル化寒天(ナカライテスク社製、あるいは同等品の純度の高いもの)を入れる(0.75 % w/v)。
- ② ①をオートクレーブに入れる。設定温度は、115℃で15分とする。
- ③ オートクレーブから取り出した寒天は、固まらないように40℃のウォーターバスの中に置く。低温ゲル化寒天が固まる温度は約33℃なので、40℃に設定するが、純度が異なる寒天

<sup>1</sup> 〒319-0323 茨城県水戸市鯉淵町 5965

<sup>2</sup> 〒305-0031 茨城県つくば市花室 1011

\*東京農工大学名誉教授

の場合はやや高く設定してもよい。

## 2. 器材とサンプル処理

- ①サンプル数+対照区（コントロール）のマルチディッシュ（ヌンク社製の6穴マルチディッシュあるいは同等品）、ラベルを用意する（図1）。

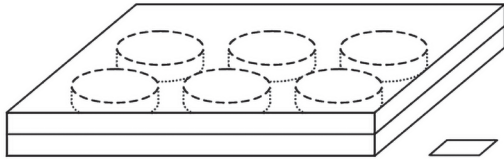


図1. 6穴マルチディッシュとラベル

- ②ラベルに植物名と播種日（播種日が不明の場合は採取日）を記入し、マルチディッシュのフタに貼る（図2）。

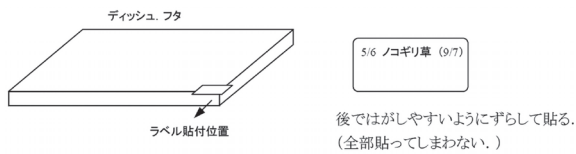


図2. ラベルを張る位置と張り方

- ③植物をハサミで穴に入る大きさに切り、ディッシュに入れる。このとき、植物体を細かく切り刻まないようにする。葉から自然に溶脱して寒天に移動する物質の活性を測定するためである。10 mg と 50 mg を 5 反復で入れ、箱内に入れない区を設けるのを正式法とするが、多量のサンプルを検定する場合は各 3 反復とし同じディッシュで検定する（図3, 4）。

※上段 3 つは 10mg, 下段 3 つは 50mg.

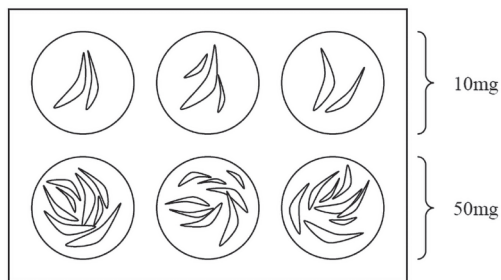


図3. 試料の入れ方（簡便法）

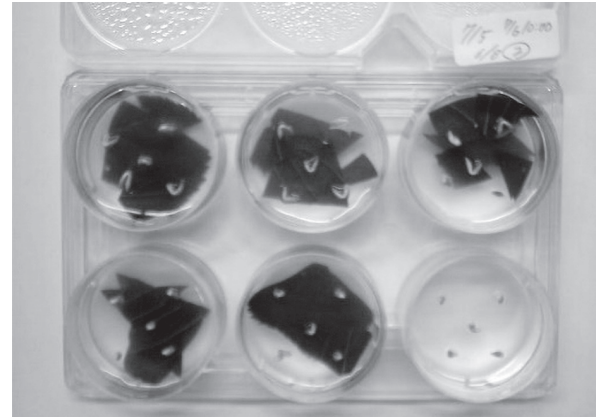


図4. 試料の入れ方（正式法）

寒天に添加する量は、実際に畑や森林で自然に蓄積する葉の量が1ヘクタールあたり、年間でほぼ3トンであること、マルチディッシュは面積が10 cm<sup>2</sup>で、10 mL（約10 g）であることから、包埋量は、1トン相当として10 mg、5トン相当として50 mgとした。

## 3. 寒天注入

- ①各 5 mL を分注器（ピペットマン 5 mL 用）で注入する。寒天を注入する際に、分注器の先端が穴の中の植物に触れないように、穴から少し離して注入する（図5）。

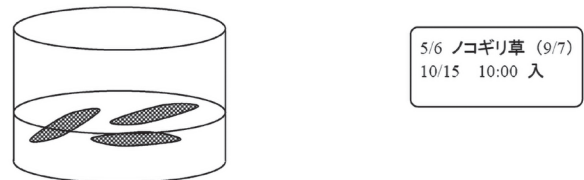


図5. 1回目の寒天添加後の状態（葉は表面で固まる）

- ②寒天がある程度固まった後に、浮上してくる植物体があればピンセット等で沈める。
- ③寒天が固まったら、再び 5 mL を上部より加えて重層する（図6）。

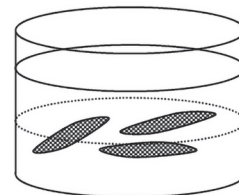


図6. 寒天を重層した状態

図6のように、植物体を寒天でサンドイッチ状にするので、この方法を「サンドイッチ法」と呼ぶ。

なお供試植物の種子を置床するまで空中落下菌を防ぐため紙で蓋をする（図7）。

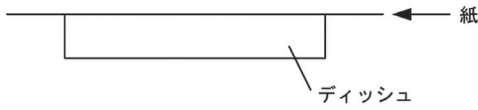


図7. 注入し終わったディッシュに紙を乗せる（結露するのでフタはしないこと）

#### 4. レタス置床法

生物テスト用として、レタス種子を供試する。品種名は、プラントボックス法<sup>1)</sup>と同じ、Great Lakes 366が望ましいが、同等品のレガシーでもよい。

- ①種子をシャーレに小出しし、ピンセットで置床していく。各穴に5粒ずつとし、中心、上下左右に離して置く（接近していると相互に作用することがあるため）。ラベルに置床した時間を記入する。（00:00～）。
  - ・種子は寒天に突き刺さず、寒天の上に置くだけにする（図8、9）。

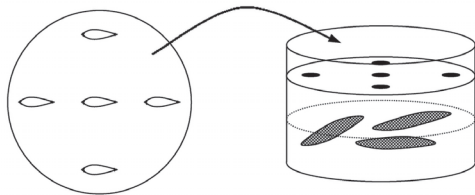


図8. レタス種子の置き方



図9. ラベル記入法

- ②置床し終わったら、マルチディッシュのフタをして、周囲をセロテープで密封する。密閉するのは寒天の水分が蒸発するのを避けるためと、揮発性の阻害物質の影響を避けるためである（図10）。

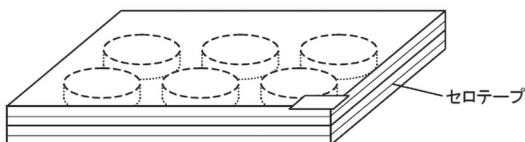


図10. ディッシュの周囲をテープで密閉する

- ③20℃の恒温槽（インキュベーター）で、3日間温置（インキュベート）する。20℃はレタスの発芽最適温度なので、できれば20℃が好ましいが、対照区を取って比較するのであれば15～25℃の範囲で行ってもよい。

#### 5. 測定方法

3日後、インキュベーターから出したものを測定する。測定がすぐに行えない時は、10℃の冷蔵庫に保存しておく。

- ・各穴、5本のうち3本を選んで測定する。一番長いものと、一番短いものを除く。
- ・地下部（根、R）と地上部（H）を測定する。

### Ⅲ 結果と考察

これまで25年間にサンドイッチ法による測定を約1万2千回くりかえし、約4,600種の植物の活性を検定してきた<sup>4,5)</sup>。10mgの検定結果は正規分布する（図11）。

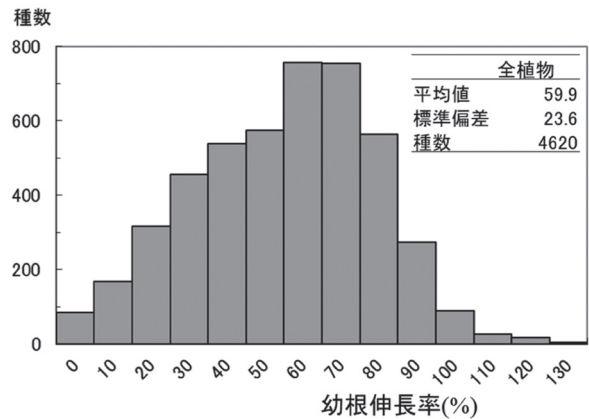


図11. これまでに25年間に実施した結果の分布図

表1に2025年の夏に実施した、鯉淵学園構内で採種した植物の葉を用いた検定結果を示す。これまでの検索で活性が強く、すでに有機農業で利用されているヘアリーベッチ、機能性成分を含むので、鯉淵学園で栽培と研究が開始されたムクナ（ハッシュウマメ）の活性が強かった。外来植物で、道路際で全国的に蔓延が危惧されるナガミヒナゲシの活性も上位であった。

表 1. 鯉淵学園構内の植物のアレロパシー活性のサンドイッチ法による検定結果

植物名	幼根長	下胚軸長
ヘアリーベッチ	16	48
ムクナ	20	59
ナガミヒナゲシ	24	81
ブント	32	59
ワルナスビ	38	67
アキノノゲシ	45	101
チャノキ	56	117
シイノキガズラ	56	105
ダイオウショウ	58	93
アップルミント	59	117
ティーツリー	90	141
対照区	100	100

\*表中の数字は対照区の伸長に対する % を示す。

#### IV まとめと今後の研究の展望

今回は、鯉淵学園構内の植物 11 種を用いて検定したが、鯉淵学園内には約 100 種の樹木と 80 種以上の作物・雑草が生育しているので、今後これらの葉を採取して、サンドイッチ法で検定し、鯉淵学園

に生育する植物の活性を明らかにし、今後の農業や園芸に役立てたい。

#### V 引用文献

- 1) 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.
- 2) Y. Fujii, S. S. Parvez, M. M. Parvez, Y. Ohmae and O. Iida (2003), Screening of 239 medicinal plant species for allelopathic activity using the sandwich method. *Weed Biol. Manage.* **3**: 233-241.
- 3) Y. Fujii, *et al.* (2004), Assessment method for allelopathic effect from leaf litter leachates. *Weed Biol. Manage.* **4**(1): 19-23.
- 4) C. I. O. Morikawa, R. Miyaura, M. L. Tapia, Y. Figueroa, E. L.R. Salgado and Y. Fujii (2012), Screening of 170 Peruvian plant species for allelopathic activity by using the Sandwich Method. *Weed Biol. Manage.* **12**(1): 1-11.
- 5) Y. Sothearith, K. S. Appiah, T. Motobayashi, I. Watanabe, C. Somaly, A. Sugiyama and Y. Fujii (2020), Evaluation of allelopathic potentials from medicinal plant species in Phnom Kulen National Park, Cambodia by the Sandwich Method. *Sustainability* **13**(1): 264-273.