

原著論文

浮遊シダ植物の雑種アゾラにおけるアレロパシー作用

築地孝典¹・佐藤和彦¹・高橋和成²

Allelopathy of a hybrid *Azolla* aquatic floating fern

Takanori TUKIJI¹, Kazuhiko SATO¹ and Kazunari TAKAHASHI²

Abstract: We verified the allelopathy of *Azolla cristata* × *filiculoides*, an aquatic floating fern often covering the surfaces of the agricultural water reservoirs today. The *Azolla* plant actually had influence on the plant growth underwater. Growth of lettuce seedlings was affected by some fugacious substance or water soluble one. The higher the concentration of the exudate from *Azolla* plant, the stronger inhibition of the lettuce's growth was observed. The [stem length] / [root length] ratio of lettuce seedlings showed a higher value on the *Azolla* extract medium than the agar medium, indicating that the allelopathy more strongly affected the extension of root than that of stem. The *Azolla* plant showed a strong allelopathy affecting the growth of lettuce and white clover, but less effect for the growth of grasses, suggesting a selective allelopathy of the *Azolla*, of which proliferation outside of the paddy field would greatly affect the regional ecosystem and biodiversity.

Key words: a species of genus *Azolla*, *Azolla cristata* × *filiculoides*, aquatic floating fern, allelopathy, selective affection

I. はじめに

岡山県南部の溜め池や堀で血の池のように水面のほとんどが赤く染まっている光景が最近になって目立つようになった(図1)。こうした現象は各地で散見され、大阪城の内堀でも水面が赤くなることがあり、市民には不気味に感じている人もいる(<http://go.travel.mag2.com/e/mag2/traveler/mini-kuma/album/10489823/>)。これらは、浮遊性のシダ植物であるアカウキクサ類(*Azolla*属)の一種が水面を覆うために起こっている。日本には在来種として、アカウキクサ(*Azolla imbricata*)とオオアカウキ

クサ(*A. japonica*)が分布している(角野 1999, 岩槻 1992)。しかし、これらの在来種は絶滅危惧種(環境庁 2000)に指定され、希少でほとんどみることがない。今日、溜め池や溝などで繁殖しているアカウキクサ類は、アイガモ農法にともない農業用の緑肥として水田に導入された外来種と交雑した雑種アゾラと言われ、水田から逸出して広がっている(Suzuki et al. 2005)。アカウキクサ類は、一般に暖帯から熱帯の湖沼・水田・水路・溝などの日当たりのよいところで生育するため、温暖な瀬戸内気候にある岡山県南部のため池は格好の生育地になって広がっている

※本研究は、2010年9月11日中部大学で開催された日本植物学会第74回大会の高校生ポスター発表部門で優秀賞を受賞。

- 〒700-0005 岡山市北区理大町1-1 岡山理科大学附属高校 中・高一貫コース6年生 Okayama University of Science High School, 1-1 Ridai-cho, North region, Okayama 700-0005, Japan
- 〒700-0005 岡山市北区理大町1-1 岡山理科大学附属高校 教諭 Okayama University of Science High School, 1-1 Ridai-cho, North region, Okayama 700-0005, Japan. E-mail: kumakusu03@yahoo.co.jp

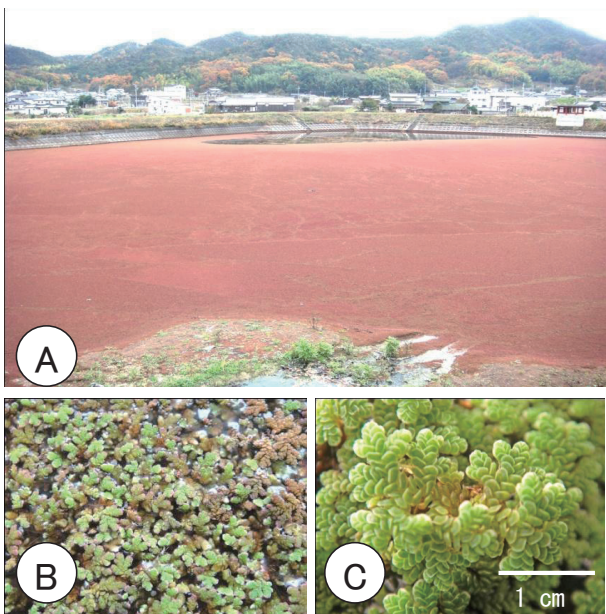


図1. 岡山県南部の溜め池(2009年12月)とアイオオアカウキクサ. A: 水面が赤く覆いつくされた溜め池(浅口市鴨方町六条院), B・C: アイオオアカウキクサ(*Azolla cristata* × *filiculoides*)の拡大写真.

と考えられる.

アカウキクサ類は水面の一面に優占して繁茂するため、他の植物の生育を抑制するアレロパシー作用をもつことが推察される. アレロパシー(他感作用)とは、ある植物が他の植物あるいは動物や微生物の生長を抑えたり、あるいは生長を促進したり引き寄せたりする効果のことを言う(藤井 2000). アレロパシーは、一般には農業における連作障害として知られ、高校生物教科書でも植物による化学戦略の一例として課題研究の事例で取り上げられている(田中他 2010). 藤井(2000)は、農業耕作放棄地からの植生の遷移に草種間で根から浸出するアレロパシー物質が関係していることを紹介している. アレロパシー活性の探索は主として農地生態系の植物を対象に行われ、多くの雑草や薬用植物で行われている(猪谷ほか 1998). しかし、水生植物についての報告は少なく、浮遊性のシダ植物を対象とした研究はない. 本研究では、水田から逸出して広がり、在来種との競合が危惧される外来性の雑種アゾラ(以下アゾラとする)を対象として、そのアレロパシー作用を検証した.

II. 方法

1. 材料

岡山県浅口市鴨方町六条院中の溜め池に繁茂するアカウキクサ類を2010年2月に採取し、岡山理科大学附属中学校理科室の水槽で栽培した. この植物個体の特徴は、個体が形態的に小型であり、根に明瞭な根毛があること、表皮細胞に2細胞性の突起が混じることであった. これらの形質により、兵庫県立人と自然の博物館の鈴木武先生は、アイオオアカウキクサ(*Azolla cristata* × *filiculoides*)と同定した. この種は、ニシノオアカウキクサ(*Azolla filiculoides*)とアメリカオアカウキクサ(*Azolla cristata*)との間の人工雑種で、いわゆる雑種アゾラである(鈴木 2010). 本種は、ここ数年岡山県内で見つかったという(鈴木先生談).

浮遊性のアゾラによる沈水植物への影響は、岡山市内の河川で採集したオオカナダモを使用した. さらに、アレロパシーの検証は、一般に行われているサンドイッチ法(藤井・渋谷 1991)によるバイオアッセイで行った. 検定植物には、市販のレタス、クローバー、エバーグリーン(イネ科)の種子を利用した.

2. 沈水植物に対するアゾラの影響

無傷なオオカナダモの茎の先端から5 cm長で切り取った3本の茎を500mlビーカーの水道水500mlで栽培した(図2 AB). 実験条件として、上部を黒紙で被陰して遮光したもの、水面全体にアゾラを浮遊したものを、アゾラ栽培水に入れたものを設定し、それぞれ3反復で実験した. ビーカーは窓際に置き、窓からの直射日光は当たらないが水平方向からの光は十分に当たる条件にした. 12日後に各実験区から得られた9本のオオカナダモの茎の長さ(乾燥重量(70°Cで一定量になるまで乾燥した重量)を測定し、それらの平均値を求めた.

3. 揮発性物質によるアレロパシーの検証

揮発性物質によるアレロパシーの検証は、500mlビーカー中の水100mlにアゾラを浮遊させ、同じ

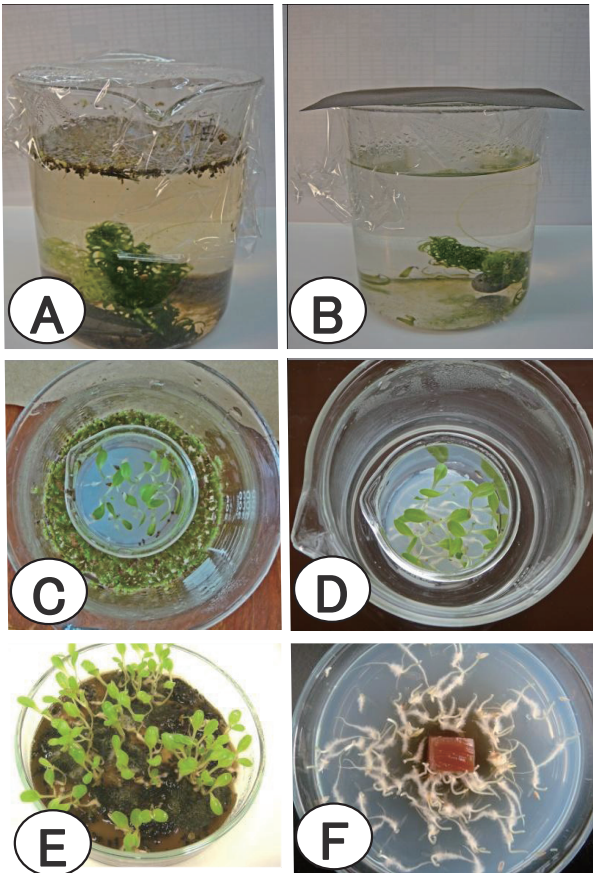


図2. 実験方法. A: オオカナダモとアゾラ. B: オオカナダモを黒紙で被陰. C: アゾラの揮発性物質のレタスへの作用. D: レタスのみ. E: 寒天サンドイッチ法による検証. F: 浸出液寒天ブロックからの距離とレタスの生育との関係.

ビーカー内の寒天培地でレタスを栽培した. サランラップで全体を密閉し, 明るい室内で8日間置いた(図2CD). 対照実験として, アゾラを入れていないビーカーでレタスを栽培した.

4. 滲出液によるアレロパシーの検証

藤井・渋谷(1991)の方法によるサンドイッチ法を参照して, 寒天培地を作成した. 70℃で一昼夜乾燥したアゾラの葉状体を9cm径のシャーレの底に敷き, その上に約50℃の2%寒天溶液を約20ml流し込んだ. 寒天がゲル化し冷めた後に検定植物として利用したレタス種子を30個撒いた. アゾラをそれぞれ1ヶ月間と5ヶ月間栽培した水槽(28cm径×20cm深)の水で, 寒天培地を作成し, 同様にレタス種子を栽培した.

5. 熱水抽出液によるアレロパシーの検証

抽出液は, 乾燥した植物体3gに精製水300mlを

加え, オートクレーブして得た. これに寒天6gを加えて溶かし, 抽出液の寒天培地とした. 抽出液の原液は, 段階的に1/2倍(50%), 1/5倍(20%), 1/20倍(5%), 1/80(1.25%)に希釈して寒天培地を作成した. 対照実験は2%寒天平板培地で行った.

6. 検定植物の生長量の比較

検定植物には市販のレタス, シロツメクサ, 芝の一種のエバーグリーン(イネ科)の種子を用いた. 一枚の培地には, 種子30個をまき, 実験室の明所に置いて, 4日~6日後に発芽率と胚軸, 幼根長を測った. 幼根長は, 寒天培地から芽生えを抜き取り, グラフ用紙の上で長さを測った. それぞれの培地で, 個体長とT/R比(胚軸/幼根)の平均値と標準偏差を求めた. それらの平均値は, 統計ソフト(EXCEL統計エスミ 東京)を利用してチューキの多重比較により有意差を確認した.

III. 結果

1. アゾラの沈水植物への影響

水平方向からの光は十分に当たっている沈水したオオカナダモで, 実験処理の違いによる茎の伸長を比較した(図3). アゾラが水面に浮遊する共存処理では, オオカナダモの茎の伸長と乾燥重量は対照より大きくなった. 栽培容器の上部を黒紙で遮光した場合には, オオカナダモの生長は抑制された. アゾラを長期栽培(5ヶ月間)した水槽水では, 対照に比べて伸長量と乾燥重量が減少した. このように, 短期的にアゾラが水面にあっても沈水植物は生育阻害されなかったが, アゾラを長期栽培した水には, オオカナダモの生育を抑制する作用があった.

2. 揮発性物質の作用

アゾラを水槽で栽培していると生くさい特有のにおいを発していることが分かった. そこで, アゾラとレタスを同じ容器に密閉して栽培した. 密閉容器中にアゾラがあると, レタスの個体長は対照よりも小さくなった. また, T/R比がやや高くなったことから, 根の伸長が抑制されることが分かった(図

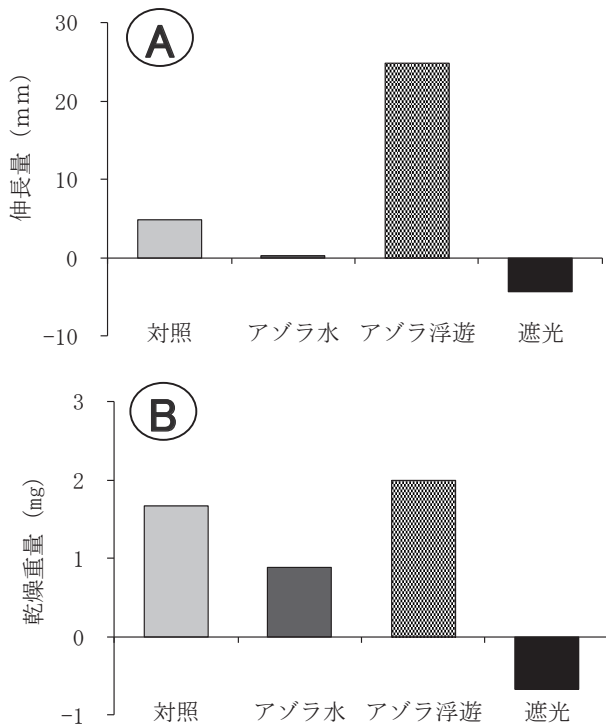


図3. 沈水植物オオカナダモの伸長成長への影響. A:伸長生長. B:乾燥重量. 先端から5 cmで切り取った茎における生長量の増減を処理間で比較(12日後).

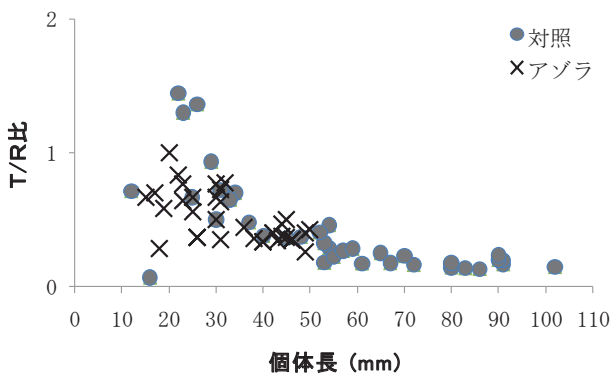


図4. アゾラからの揮発性物質によるアレロパシー.

4). アゾラの生きた植物体からは、揮発性物質が放出され、それにより検定植物のレタスの生育が抑制された。

3. 水中への滲出液によるアレロパシー作用

アゾラを栽培した水槽水によるアレロパシー作用を検証した。アゾラの短期栽培水(1ヶ月)では水質に濁りはなかったが、長期栽培(5ヶ月間)した水槽では枯死したアゾラで水が少し黒ずんでいた。長期栽培水では、短期栽培水よりもレタスの個体長がよ

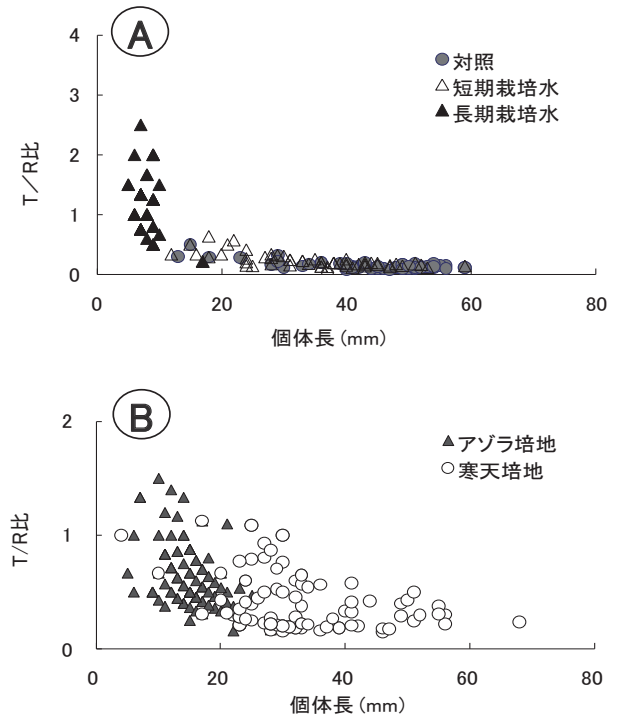


図5. アゾラからの浸出液によるレタス生長への影響. A:アゾラ栽培水槽水のレタス生長への影響. B:寒天サンドイッチ法によるアレロパシーの検証.

り強く抑制され、T/R比が高くなった(図5A)。これにより、アゾラの生きた植物体からは水中にアレロパシー物質が滲出していることが確認された。こうしたアレロパシー作用は、乾燥アゾラを寒天に混ぜたサンドイッチ培地でも確認された(図5B)。アゾラの生きた植物体からアレロパシー物質が滲出しているだけでなく、枯死してもアレロパシー物質が植物体に残留し、滲出することが明らかであった。

4. 抽出液の濃度による影響

乾燥アゾラからの抽出液原液を50%~1.25%に段階的に希釈したところ、希釈にともなって、レタスの個体長は伸長し、T/R比が低下した(図6)。抽出液の濃度が濃いときは、個体の生育が強く抑制され、幼根は培地に侵入せず培地表面をはっていた。さらに、抽出液寒天ブロックの周囲でレタスを育てたところ、抽出液からの距離で生育状態が異なった(図7)。抽出液から離れるほど個体長は大きくなりT/R比は小さくなった。つまり、抽出液濃度の違いからアレロパシー物質は濃いときに作用し、拡散して濃度が薄くなるとその効果は失われていくことが分

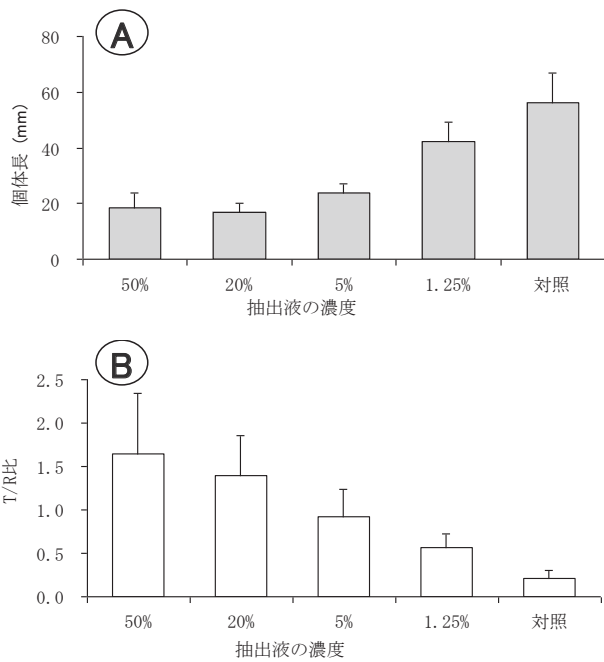


図6. 抽出液の濃度とアレロパシーの関係. A: レタス幼植物の個体長. B: T/R比.

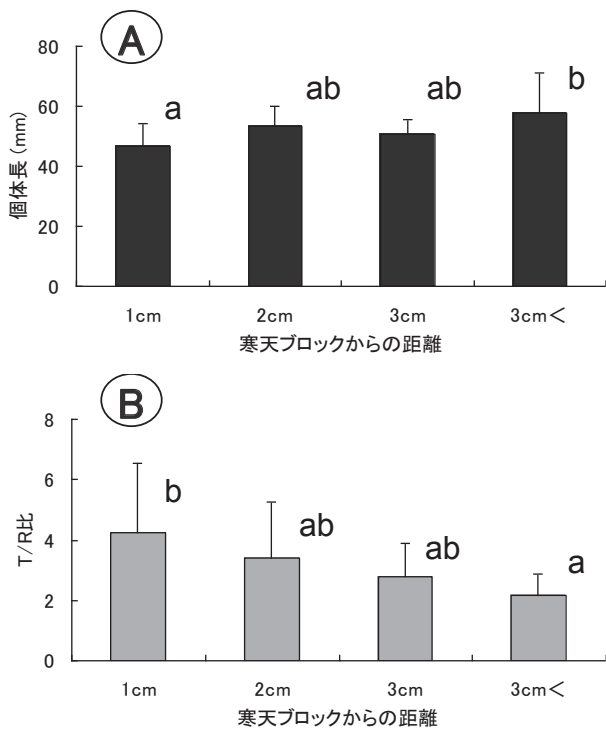


図7. 抽出液の拡散とアレロパシーの関係. A: レタス幼植物の個体長. B: T/R比. a, ab, cはチューキの平均値の多重比較によるグループ分けを示す(図Aの個体長では $p < 0.05$, 図BのT/R比では $p < 0.01$).

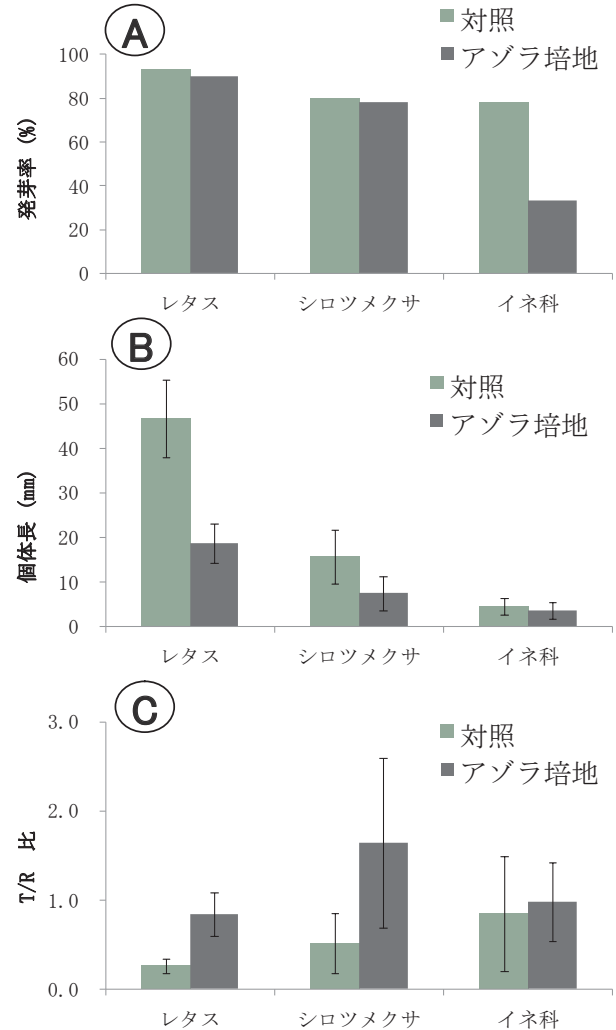


図8. アゾラアレロパシーの選択的作用. A: 発芽率. B: 幼植物の個体長. C: T/R比.

かった. 抽出液は滅菌しているため, 細菌などの微生物がアレロパシーに働いているとは考えられなかった. アレロパシー物質が水中に蓄積されて高濃度になると強い作用が現われると考えられる.

5. 選択的作用

アレロパシー作用の強さを植物間で比較した(図8). レタス, シロツメクサ, イネ科のエバーグリーンで抽出液培地と寒天培地(対照)でそれぞれ4日間生育させたときの生育状態を比較した. レタスとシロツメクサでは個体長の生育抑制は顕著にみられ, T/R比は対照よりも高くなった. ところが, イネ科のエバーグリーンでは, 発芽率の抑制が見られたが, 個体長はあまり抑制されず, T/R比にも変化がなかった. 以上のことから, アゾラのアレロパシーはイネ

科にはほとんど影響が無く、選択的に作用することが分かった。

IV. 考察

アゾラのアレロパシーは、イネ科のエバーグリーンに対しては影響が少なく、レタスやシロツメクサにはより強い抑制作用をもった。このようなアゾラによるアレロパシーとその選択的な作用は今まで実証されていなく、本研究ではじめて確認された。

アジアではラン藻類と共生し窒素固定作用をもつアゾラを稲の緑肥とする利用が広く行われている (<http://www.asahi-net.or.jp/~it6i-wtnb/Azollarevived.html>)。日本では1993年からアゾラ - アイガモ農法がはじまり、水面被覆による雑草抑制とカモの餌として一部で効果的に利用されている (古野 2004)。しかし、実際の水田ではアゾラによるイネ科のヒエに対する除草効果は無いといわれている。本研究から、アゾラの除草効果は単なる被陰によるものではなく、イネ科を除く雑草に対する選択的なアレロパシー効果と考えられる。

アレロパシー作用は、多くの野菜栽培でもいや地現象などから明らかにされている (土屋・大野 1992)。また、植物群落の種組成や遷移の初期段階でもアレロパシーが作用している例がある (沼田 1997)。そこでは、ブタクサ、ヒメジョオン、セイタカアワダチソウなどの外来植物による裸地からの典型的な優占種の交代にアレロパシーが関係している。さらに、高等植物ばかりではなく植物プランクトンの藻類でも、水の華をつくるラン藻類のミクロキスチスの毒素もアレロパシーの一つである。このように地域の生態系には植物間の様々な化学戦略があり、それにより成り立っている生物相互の関係があることが考えられる。本研究により明らかになったアゾラのアレロパシーは、水田から逸出した雑種アゾラが水田以外で繁茂すれば、地域の生態系や生物多様性へ大きな影響を与える可能性を示唆している。すでに地域の市民からは、赤い池が気味悪いという感想もあり、不快な景観をつくっていることは明らかであり、水田以外の環境へのアゾラの逸出が

起こらない厳密な管理と利用が求められる。

外来性のアゾラによる生態系に関わる被害としては、在来種で絶滅危惧種のアカウキクサ (*A. imbricata*) とオオアカウキクサ (*A. japonica*) に対する生育場所の競合や駆逐、遺伝子汚染である。環境省は、2005年6月から外来生物法により、外来生物のうち日本の生態系に甚大な影響をあたえたり、農作物の生産や人間の健康に被害をあたえるおそれのある侵略的な外来生物の侵入や、拡大を防止したり、すでに侵入したものの防除をしたりする活動をしている (<http://www.env.go.jp/nature/intro/index.html>)。現在、外来種のアゾラ (*Azolla cristata*) は北九州から瀬戸内沿岸地方に広がっており、特定外来生物として、駆除の対象となっている。人為交雑ではアゾラ属内で雑種を形成することが確認されており (Suzuki et al. 2005)、外来性のアゾラによる絶滅危惧種の遺伝的攪乱も危惧されている。

雑種アゾラは、水稲には影響がない水田の緑肥として導入されている有用植物で、新たな農業技術の開発によって生み出された生物である。今日ではアレロパシー作用をもつ植物は、特定の植物を利用した雑草や害虫を防除する生物農薬として注目されている。アゾラのアレロパシーは選択的に作用するため、天然除草剤の開発への応用が期待される。しかし、特に侵略的外来種は、生態系へ大きな影響を与えと言われ (Ragan & Erik 2000, 池田 2007)、雑種アゾラが移動先で分布拡大すると、在来種の絶滅につながるおそれがある。アレロパシー作用をもつ雑種アゾラの水田以外での繁茂は、植物だけでなく動物種を含めた生態系全体へ影響する可能性があり、まさに人間活動による攪乱である。今後は、在来種と外来種や雑種が競合することを想定して、それらのアレロパシー作用の強度を比較研究する必要があると考える。

謝辞

研究の推進にあたり、アドバイスいただいた立教大学極限生命情報研究センターの黒岩常祥教授、倉敷市立自然史博物館の狩山俊吾学芸員に感謝しま

す。さらに、本研究の実験材料が雑種アゾラのアイオオアカウキクサであることを同定して下さった、兵庫県立人と自然の博物館の鈴木武先生に厚く御礼申します。

摘要

1. 雑種アゾラのアイオオアカウキクサ (*Azolla cristata* × *fliculoides*) が、アレロパシー作用をもつことがはじめて確認された。

2. アゾラは水中にアレロパシー物質を滲出し、空中にも揮発性物質を放出していた。

3. アゾラのアレロパシーは、検定植物として利用した市販のレタスとシロツメクサに対して根の伸長を強く抑制する作用を示したが、イネ科のエバグリーンとの生長にはほとんど影響を与えなかった。このように、アゾラのアレロパシーは選択的に作用した。

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-. 農山漁村文化協会.

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.

古野隆雄(2004). アイガモ水稻同時作: 61-82pp. 農山漁村文化協会.

猪谷富雄・平井健一郎・藤井義春・神田博史・玉置雅彦(1998). 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探索. 雑草研究 43: 258-266.

池田透監修(2007). 外来生物が日本を襲う!. 青春出版社.

今村寿明(1994). 化学で勝負する生物たち? アレロパシーの世界<2>. 裳華房.

岩槻邦男編(1992). 日本の野生植物 シダ: 285. 平凡社.

角野康郎(1999). 日本水草図鑑: 12. 文一総合出版.

環境庁編(2000). 改訂・日本の絶滅のおそれのある野生生物. 植物 1: 430. 環境庁.

沼田 真(1977). 植物群落と他感作用. 化学と生物 15: 421-418.

Ragan M. C. & Erik T. A. (2000). Invasive plants versus their new and old neighbors: A mechanism for exotic invasion. *Science* 290: 521-523.

鈴木 武(2010). 特定外来生物アメリカオオアカウキクサを含む外来アゾラの現状. 外来生物の生態学 種生態学会編. 181-194pp. 文一総合出版.

Suzuki T., Watanabe I. & Shiraiwa T. (2005). Allozyme types of water fern *Azolla japonica* and its relatives (Azollaceae) growing in Japan. *Acta Phytotax. Geobot.* 56: 71-83.

田中隆荘他19名(2010). 高等学校改訂生物II. 第一学習社.

土屋一成・大野芳和(1992). 野菜栽培におけるアレロパシーの解析. 野菜・茶業試験場研究報告 A(野菜・花き) 5: 37-44.

(2010年11月9日受理)

