

HCG035-04

会場:104

時間:5月22日 11:35-11:55

閉鎖生態系におけるアレロパシー活性の測定 Assessment of allelopathic activity in closed ecosystems

藤井 義晴^{1*}

Yoshiharu Fujii^{1*}

¹ 農業環境技術研究所

¹ NIAES

アレロパシーは、植物が放出する化学物質が、他の生物に、生育阻害や促進、あるいはその他の何らかの作用を及ぼす現象である。植物は、発芽→生長→開花→結実→枯死というライフサイクル（生活環）を持つ。著者らは、これまでにアレロパシーに特異的な検定法として、プラントボックス法、サンドイッチ法、ディッシュパック法を開発してきた。これらの方法はアレロパシーに特異的な生物検定であり、アレロパシー活性を評価・比較することができる。しかし、植物の生育初期における作用を対象に検定しており、植物の一生への影響を評価することはできなかった。そこで、閉鎖環境下において、植物のライフサイクル全体に及ぼす影響を評価する手法（ライフサイクルアセスメント）を開発し、アレロパシー物質の作用を遺伝子レベルで検定した。

1：ライフサイクルアセスメント（LCA）法の確立

容器材料の選定：カプラーにより通常の2倍の高さ（20cm）としたプラントボックス（Magenta社製）を用いて、シロイヌナズナを播種から約7週間後の開花結実期まで無菌的に栽培することができた。また、アグリポット（キリンビール製）を用いると7週間まで微生物汚染なしに容易に栽培することが可能であった。供試植物（影響を受ける植物）としては、短い時間でライフサイクルを完結できるシロイヌナズナとファストプランツを検討した。アレロパシー活性を与える植物としては、著者らがこれまでに報告したムクナ（*Mucuna pruriens*）を4週間、つるが伸び始めるところまで成長させ影響を及ぼす植物とした。シロイヌナズナの場合、アグリポット、およびプラントボックスを用いて、7週間の開花結実期まで栽培すること、またムクナと混植することが可能であった。ファストプランツ（Fast Plants: *Brassica rapa*の変種で、スタンダード、アストロプランツ、ロゼットの3種）を検討した。アグリポットでは4週間の培養で、スタンダードがつぼみ、アストロプランツが結実、ロゼットが開花まで進んでいた。スタンダードは生育が良く、アグリポットやプラントボックスの天井に届いてしまった。ロゼットは体長が短いため、固体ごとの伸長を比較することが困難であった。以上の結果、無菌培養でライフサイクルを完結させる検定には、アストロプランツがより短時間でライフサイクルを完結できるので最適であった。しかし、後述するDNAマイクロアレイには、これまでにアレイが作成されているシロイヌナズナが最適であった。

2:DNA マイクロアレイによるアレロケミカルの作用の遺伝子レベルの影響解析

ムクナ（*Mucuna pruriens*）のアレロケミカルであるL-DOPAを投与したとき、顕著に増幅された遺伝子は、cytochrome P450, WRKY transcription factor, RAS-related protein, oligopeptide transporter, basic helix-loop-helix protein (transcription factor) などストレス関連遺伝子が多かった。また概日リズムに関与する遺伝子、細胞死を加速させる遺伝子、acyl CoA reductase, ankyrin repeat family protein などが、対照区に対して5倍以上増幅されていた。これまでに報告のあるメラニン合成系、PAL (EC 4.3.1.5) と POD (EC 1.11.1.7) 活性が増加したが、鉄・亜鉛・銅の欠乏によるストレスに関連する遺伝子も発現することが分かった（Planta, 233, 231-240 (2011)）

ソバ（*Fagopyrum esculentum*）から8種のアレロパシー化合物を同定しているが、その中でも重要な2種の化合物、ルチンと没食子酸について、マイクロアレイを用いて分析した。ルチンは最も強い全活性を、没食子酸は最も強い比活性を示す化合物である。解析は、20日齢のシロイヌナズナについておこなった。上記の化合物に6時間暴露したところ、没食子酸では168の遺伝子が、ルチンでは55の遺伝子が、それぞれ高発現した。しかし、両者に共通して高発現となったのは、14遺伝子であった。本研究により、ストレスに反応して植物を制御する重要な遺伝子のいくつかが明らかになった。誘導された遺伝子は、異なる機能に分類されるもので、代表的なものは、「代謝」、「細胞レスキュー・細胞防御および毒性」、「細胞間情報伝達機構」および「転写」などであった（Journal Experimental Botany, 59, 3099-3109 (2008)）。

本手法は、閉鎖生態系におけるアレロパシーの関与を検討するための手法として有用である。

キーワード: アレロパシー, アレロケミカル, 閉鎖生態系, ライフサイクルアセスメント

Keywords: allelopathy, allelochemical, closed eco-system, life cycle assessment