

音の植物の伸長への影響とそのメカニズム

松川健人 仁田峠達也 山内悠理子 馬詰知佐 江畑ひなた 藤田湧至 前澤徹馬
兵庫県立神戸高等学校 総合理学科 2年

音が植物の成長に影響を与えている(クラシック音楽を聞かせるとよく伸びるなど)ことは以前から仄めかされているが、これらのことの多くが科学的根拠に欠けている。そこで私たちは“植物の伸長”に焦点を当て、音が植物の伸長に影響を与えているのか検証した。また、そのメカニズムをIAA合成阻害剤、IAA受容体阻害剤を用いて解明する実験も行った。その結果、400Hzの正弦波が、IAA合成酵素 TAAとYUCの発現量を増加させIAAの合成量が増加し、植物の伸長を促進させている可能性が示された。

1. はじめに

1.1. 研究動機と目的

音の植物への影響について多くの研究が世界各地でなされており、植物の伸長への影響についても研究が行われている。しかし音の植物の伸長への影響に関する研究はその手法などに問題点があることが多く、最終的な結論には至っていない。また、そのメカニズムを研究したものも多くない。そこで私たちはより信頼性のある実験系を考案し、音の植物の伸長への影響があるのか検証し、そのメカニズムの一部を解明しようとした。

1.2. 先行研究と本研究の特徴

先行研究^{[6][7]}では高周波の音で植物の伸長が促進されていると報告されていたり、逆に低周波の音で植物の成長が促進されているとも報告されていたりし、はっきりしなかった。また、植物の伸長が音によって影響を受けていることを示すため、植物の長さをノギスなどで実際に測定していることが多かった。私たちはこの測定方法に問題があり、それが様々な矛盾する結果を生んでいると考え、植物の長さを画像解析を用いてより高い精度で測定することにした。さらに、先行研究では音の周波数に焦点が当てられており、成長のどの部分に音が影響を与えるのかは研究されてなかった。本研究では音が植物の伸長に影響を与えるメカニズムの一部を IAA 合成阻害剤、IAA 受容体阻害剤を用いて解明する研究も行い、そのメカニズムの一部を示唆的ではあるが解明することに成功した。

2. 植物の長さの測定方法について

私たちは植物の長さを画像解析により測定した。植物とカメラの距離を固定し、植物を飼育しているケースの後ろに方眼をカメラとの距離を一定に保ったまま配置した状態で写真を撮影した(図1)。カメ

ラ、植物、方眼の位置関係は同一の実験内で統一した。

後ろの方眼の最小目盛りを相対値1と設定し、ImageJというソフトで植物のシュート(先端から茎の付け根の部分)の長さの相対値を測定した。茎の付け根が画像に写っていない場合は画像に写っている部分全てを測定し、植物の長さとした。Z軸方向(奥行方向)の植物の曲がり具合はこの測定方法では測れないが、得られたデータを基に誤差を見積もったところ0.01%以下であったので無視する。

本研究では植物の長さを測定したとは特別な断りがない限りこの方法で植物のシュートの長さを測定したことを指す。

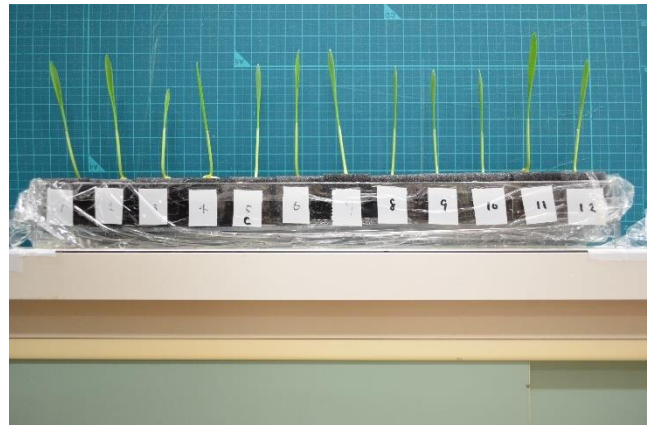


図1: 画像解析時の写真

3. 実験 I

3.1. 仮説と目的

私たちは「音が植物の伸長を促進させている」という仮説を立て、少なくとも特定の周波数の音において音が植物の伸長を促進させていることを確認することを目的とした。

3.2. 実験材料と方法

実験植物としてエンバク (*Avena sativa*) を用いた。実験環境は図2のようにインキュベーター (SANSYO

社)内に音の干渉の影響を少なくするため吸音材 (sonorize 社)を敷き詰め、スピーカー (HARMAN 社) と LED 照明 (オーム電機社)を配置した。

・実験期間 24 時間の場合

スポンジの上にエンバクの種子を配置し、人工気象器 (NK Systems 社) 内で 120 (±5) 時間、水耕栽培 (水道水を使用) を行い、植物の長さが同等の個体を抽出し、自作の栽培容器に移した。30℃に保ったインキュベーターに植物を入れて、音を暴露した実験 (以後、音ありと表記する) と音を暴露していない実験 (以後、音なしと表記する) で 24 時間後測定を行った。



図 2 : インキュベーター内の様子

・実験期間 48 時間の場合

スポンジの上にエンバクの種子を配置し、バイオトロン内で 96 (±5) 時間、水耕栽培 (水道水を使用) を行い、植物の長さが同等の個体を抽出し、自作の栽培容器に移した。30℃に保ったインキュベーターに植物を入れて、音ありと音なしで 48 時間後測定を行った。

どちらの場合も 1 条件あたり 24 個体を用いた (実験によって不足しているものもある)。

実験前と実験後でそれぞれ一眼レフカメラ (Nikon 社) を用いて写真を撮影し、植物の長さを測定した。ここで、

$$\text{伸長率} = \frac{\text{実験後の植物の長さ}}{\text{実験前の植物の長さ}}$$

で定義した。

実験に用いた音は WaveGene で正弦波の音を出力した。また、音の大きさ (振幅) はすべての実験で統一して行った。

3.3. 結果

音なしの実験群と音を暴露した各周波数の実験で、有意水準 5% で t 検定を行った。図において帰無仮説が棄却されたものを○、棄却されなかったものを×とした。また、伸長率の平均値が音なしの実験群の平均値よりも大きいものを+、小さいものを-とした。

表 1 : 音の周波数と伸長率の差

	80Hz		400Hz		1000Hz		2000Hz		10000Hz	
	平均値の差	有意差	平均値の差	有意差	平均値の差	有意差	平均値の差	有意差	平均値の差	有意差
1	-	×	+	×			+	○		
2	+	○	+	○			+	○	+	○
3							-	×		
4							+	×		
5			-	×	-	×	+	×		
6			+	○	+	×	+	×		
7					+	○				
8					-	×				
9					-	×				
10					-	×				
11					-	×				
12			+	○						
13			+	×						
14			+	×						
15			+	×						
16			+	×						
17			-	×						
18			+	○						
19			+	×						
20			+	×						

3.4. 考察

80Hz と 10000Hz は実験回数が少なく、伸長が促進されているかは現在もなお不明である。1000Hz は 7 回中、有意差が出た実験が 1 回と少なく、-の結果も多く、伸長が促進されているとは言えない。2000Hz は+となっている結果は比較的多いが、有意差が出たのは 2 回だけであり、伸長が促進されているかは現在もなお不明である。400Hz は+となった結果が多く、有意差が出たものも 4 回存在する。またすべての実験において、有意的に音なしの実験群の方の伸長率が大きかったという結果は得られていない。

これらを合わせて考えると、特に 400Hz の正弦波が植物の伸長を促進させたとは言いきれないが、伸長が促進される傾向があると考えられる。

4. 実験 II

4.1. 仮説と目的

私たちは音が植物の IAA 合成経路の反応を促進させているという仮説を立てた。そこで私たちは合成経路や遺伝子応答を一部阻害することで音ありと音なしの差をより顕著に生じさせることができるのではないかと考えた。

4.2. IAA とその合成経路、遺伝子応答^{[1][2][3]}

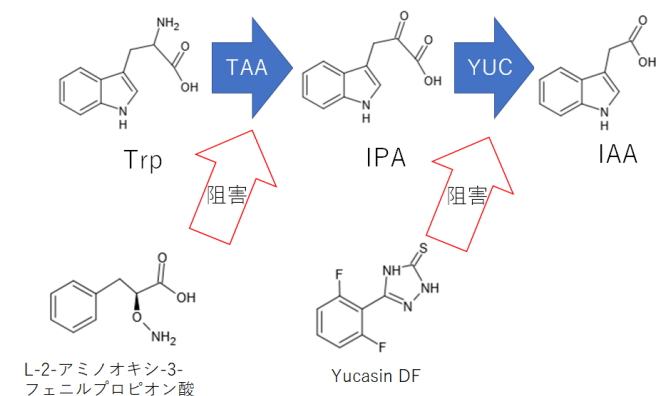


図 3 : IAA 合成経路

IAA (インドール-3-酢酸, C₁₀H₉NO₂) とは植物ホルモンであるオーキシンの一種であり、植物の伸長を促

す作用がある。IAA はトリプトファン(Trp)から酵素 TAA と YUC の作用によりインドール-3-ピルビン酸 (IPA)を経由し、合成される。(図3)

オーキシン応答性遺伝子群を発現させる ARF は IAA 濃度が低いとき Aux/IAA リプレッサーと結合しオーキシン応答性遺伝子群を発現させることができない。IAA 濃度が高いときは IAA とオーキシン受容体である TIR1/AFB が結合した多量体が ARF と Aux/IAA リプレッサーが結合したヘテロ 2 量体と結合し Aux/IAA リプレッサーがユビキチン化されプロテアソームにより分解されることでオーキシン応答性遺伝子群を発現することができるようになる。

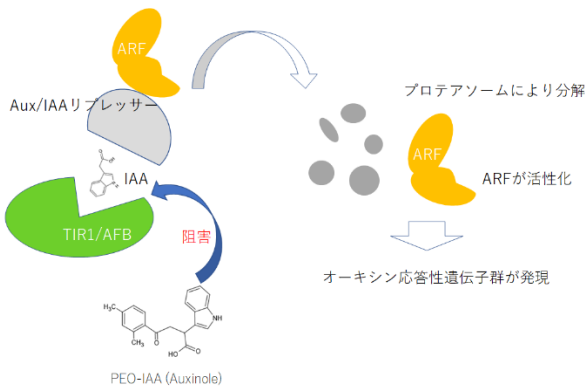


図4：オーキシンの遺伝子応答

転写調節を介さないオーキシニングナルも存在するが(酸成長説)、今回は省略する。

4.3. IAA 合成阻害剤について

用いた阻害剤は L-2-アミノオキシ-3-フェニルプロピオン酸(C₆H₅CH₂CH(OH₂)COOH, 以後 L-2 と略記する)、Yucasin DF (C₈H₅F₂N₃S, 以後 Yu と略記する)である。L-2 は TAA の働きを阻害し、Yu は YUC の働きを阻害して IAA の生合成を阻害する。

4.4. IAA 受容阻害剤について

Auxinole (C₂₀H₁₉NO₃, 以後 PEO と略記する)である。PEO は TIR1 の IAA 結合部位に結合し、Aux/IAA リプレッサーを分解されなくし、オーキシン応答性遺伝子群の発現を阻害する。

4.5. 予備実験

4.5.1. 目的と方法

それぞれの阻害剤が効果を発揮する濃度を特定した。実験植物と実験環境は実験 I と同様で、試験管内に設置したスポンジの上にエンバクの種子を配置し、脱塩水 4.5ml とそれぞれの実験群に水溶液(L-2(2 μM), L-2(20 μM), L-2(50 μM), L-2(500 μM), Yu(10 μM), Yu(50 μM), Yu(100 μM), Yu(500 μM), PEO(5.5 μM), PEO(55 μM), PEO(550 μM), DMSO(0.1%), 脱塩水)を加えて綿栓をし、人工気象器内で約 144 時間飼育し

た(1条件あたり10個体)。実験後、植物の長さを測定した。DMSOを用意したのはそれぞれの阻害剤を希釈する際にDMSOを用いたからである。

4.5.2. 結果

表2：予備実験の結果

	DMSO	L-2	Yu	PEO
2 μM		×		
10 μM			×	
20 μM		×		
50 μM		○	×	
100 μM			○	
500 μM		○	○	
5.5 μM				×
55 μM				○
550 μM				○
0.10%	×			

脱塩水を加えた実験群と阻害剤を加えた実験群、脱塩水を加えた実験群と DMSO を加えた実験群でウイロコクソンの順位和検定を行った。帰無仮説が棄却されたものを○、棄却されなかったものを×とした。また、伸長率の平均値が音なしの実験群の平均値よりも大きいものを+、小さいものを-とした。この結果から、植物の伸長を抑制する効果があり、濃度が薄いものを選ぶと、L-2 は 50 μM、Yu は 100 μM、PEO は 55 μM と決定された。これは植物が伸長するが有意的に伸長が最低限阻害されるようにするためである。また DMSO と脱塩水では p = 0.62 となり、DMSO の植物の伸長に影響がないことが示された。

4.6. 方法

実験植物と実験環境は実験 I と同様。試験管内に設置したスポンジの上にエンバクの種子を配置し、脱塩水 4.5ml を加えて綿栓をし、人工気象器内で発芽するまで約 72 時間飼育した後インキュベーター内で音あり(400Hz)と音なしで 72 時間後測定を行った。この際、実験前に L-2(50 μM)を 0.5ml 加えた実験群、Yu(100 μM)を 0.5ml 加えた実験群、PEO(55 μM)を 0.5ml 加えた実験群、ジメチルスルホキシド 0.1%水溶液(C₂H₆SO, 有機溶媒。以後 DMSO と略記する)を 0.5ml 加えた実験群、脱塩水 0.5ml を加えた実験群を用意した。

1条件あたり10個体を用いた。

実験後に一眼レフカメラを用いて写真を撮影し、植物の長さを測定した。

実験に用いた音はWaveGeneで正弦波の音を出力した。また、音の大きさ(振幅)はすべての実験で統一して行った。

4.7. 結果

表3：実験Ⅱの結果

	脱塩水		DMSO	
	平均値の差	有意差	平均値の差	有意差
1	+	×	+	×
2	+	×	-	×
3	-	×	+	×
4	+	○	+	○

	L-2		Yu		PEO	
	平均値の差	有意差	平均値の差	有意差	平均値の差	有意差
1	+	○	+	○	+	×
2	+	×	+	×	+	×
3	+	×	+	×	+	○
4	+	○	+	×	+	×

同じ水溶液を加えた、音ありの実験群と音なしの実験群同士で、有意水準5%でウィルコクソンの順位和検定^[8]を行った。図において帰無仮説が棄却されたものを○、棄却されなかったものを×とした。また、伸長率の平均値が音なしの実験群の平均値よりも大きいものを+、小さいものを-とした。

4.8. 考察

脱塩水を加えた実験同士では有意差は1回しか出ず、+になったものは3回あった。これは実験Ⅰと同様、伸長が促進されているとは言いきれない。これはDMSOを加えた実験群でも同じである。

逆にL-2を加えた実験同士、Yuを加えた実験同士では+になった実験が4回、有意差が出た実験がL-2では2回となりYuでは1回となり、脱塩水を加えた実験群の結果より多かった。これは、阻害剤を加えたことによって伸長の差がより顕著に生じと考えられる。よって、音はTAAとYUCの発現量を増加させ、IAAの合成量を増加させた可能性がある。これはTAAとYUCの発現量を測定することができれば直接示すことができるだろう。

またPEOについてもL-2、Yuの実験と同様の結果となった。PEOは遺伝子応答を阻害する効果があるが、音ありと音なしで差が生じた。これは、私たちが阻害剤を効果があり、可能な限り低い濃度で用いたため、阻害の効果が完全ではなかったと考えられる。そのため、音がオーキシンの遺伝子応答に影響を与えているかは現在もなお不明である。

5. 結論

実験Ⅰ、実験Ⅱから400Hzの正弦波は植物の伸長を促進させたと考えられる。他の周波数の音については現在もなお不明である。また、そのメカニズムの一部は、音がTAAとYUCの発現量を増加させ、また遺伝子応答に関わる反応を促進させることである可能性がある。また、音により遺伝子の発現量が増

加したという研究も存在しており^{[4][5]}、IAA合成酵素の量が音により増加することは十分にあり得ると考えられる。

6. 今後の展望

実験Ⅱで音によってTAAとYUCの量が増加している可能性が示されたので、今後は阻害剤の段階的に濃度を上げて有意差を生じさせることができるような実験を行っていきたい。

また、植物が伸長するメカニズムは今回研究を行った遺伝子応答の他にも存在し、また他の段階でそこに音が影響を及ぼしているか調べていきたい。

さらに、音が植物の伸長以外にも影響を及ぼしていると主張する論文も存在し、それを検証し、影響があるならばそのメカニズムを調べていきたい。

本研究では解明できた点は必ずしも多くはないが、音が植物に与える影響について若干なりとも寄与できたと思われる。

7. 謝辞

本校教諭の財田雄智先生、繁戸先生、本校サイエンスアドバイザーの皆様には本研究についてご指導頂いたことに心からの感謝の意を表します。また阻害剤を提供して頂いた岡山理科大学理学部生物化学科教授の林謙一郎先生、助言をくださった岡山理科大学理学部生物化学科の准教授濱田隆宏先生、東京農工大学応用植物生化学研究室教授の笠原博幸先生に深く感謝致します。

[参考文献・参考URL]

- [1] 林謙一郎, 2012, オーキシンの受容と信号伝達の分子機構
- [2] 林謙一郎, 2014, オーキシンの生合成と信号伝達経路における化学調節剤
- [3] 林謙一郎, 2012, Rational Design of an Auxin Antagonist of the SCF^{TR1} Auxin Receptor Complex
- [4] 桑田昌宏, 2018, Cell type-specific suppression of mechanosensitive genes by audible sound stimulation
- [5] Reda Hassanien Emma Hassanien, 2014, Advances in Effects of Sound Waves on Plants
- [6] 兵庫県立神戸高等学校, 2012, 植物の成長と「音」
- [7] 兵庫県立神戸高等学校, 2014, 植物の成長と音
- [8] ウィルコクソンの順位和検定(マンホイットニーのU検定), www.gen-info.osaka-u.ac.jp/MEPHAS/wilc1.html, (2020/1/27 現在)