

四つ葉のクローバーの発生条件

2616 北原美菜 2526 西生真優 2534 久田真子 2604 市岡穂乃芽

要旨

出現が稀である四つ葉のクローバーを安定的に発生させたいと考え、発生条件について外的要因に着目した研究を行っている。まず、子葉展開段階・本葉展開段階の分裂組織を刺激する実験を行った。結果、葉の不定形などの奇形が見られた他、分裂組織での分枝数の増加が見られた。次に、三つ葉の株・四つ葉の株の分枝点を刺激する実験を行った。結果、分枝数の増加が見られ、子葉展開段階・本葉展開段階の分裂組織を刺激した時より奇形率が高くなった。これらの結果から、分裂組織に負荷を与えることは分枝を促進し、奇形率を高めると考えられる。今後の展望として、シロツメクサの頂小葉・側小葉に切れ目を入れ、その後の葉の再生による葉の分葉を観察する。

1, 目的

自然下での発現率 0.001%~0.01%とされている四つ葉のクローバーが発生する原因を解明する。また、四つ葉のクローバーが発現するとされている外的要因の影響を解明する。

2, 実験

《実験1》

【仮説】

発芽直後の分裂組織に負荷を与えることでシロツメクサの葉の形成に影響を与え、四つ葉のクローバーが発生する。

【実験材料】

シロツメクサ“*Trifolium repens*”(種)、培養土、柄付き針、はさみ、点火棒、バット、ポット、小石(直径2cm程度大)、育苗箱



▲写真1 左から…柄付き針、はさみ、点火棒



▲写真2 使用した培養土



▲写真3 小石を入れたポット

【実験方法】

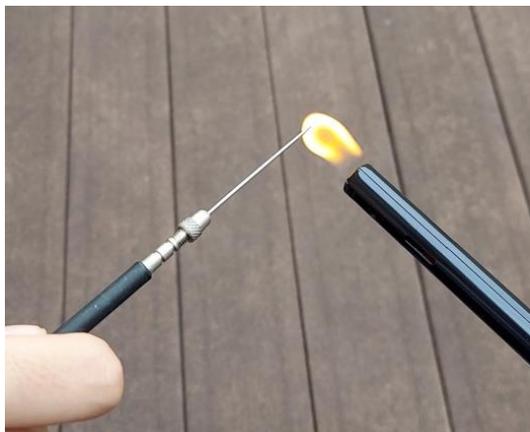
試験区を下記の通りとする。

- ①コントロール
- ②発芽直後の分裂組織を柄付き針で傷つける
- ③発芽直後の分裂組織を熱で潰す
- ④本葉展開直後の分裂組織を柄付き針で傷つける
- ⑤本葉展開直後の分裂組織を熱で潰す
- ⑥発芽直後の子葉を切断する
- ⑦発芽直後の株を根元から切断する
- ⑧本葉展開直後の子葉を切断する
- ⑨本葉展開直後の株を根元から切断する

各試験区にポットを10個ずつ用意し、1ポットにつき種を5粒ずつ蒔く。



▲写真4 柄付き針を使用した実験の様子



▲写真5 点火棒と柄付き針の使用方法



▲写真6 はさみを使用した実験の様子



▲写真7 発芽前の実験の様子



▲写真8 発芽後の実験の様子

【結果】

| 試験区 | 生存率 (%) | 奇形率 (%) | 分枝数 (個) |
|-----|------------|------------|------------|
| ① | 34.0 | 5.0 | 20 |
| ② | 74.0 | 6.1 | 49 |
| ③ | 74.0 | 23.7 | 51 |
| ④ | — | — | — |
| ⑤ | — | — | — |
| ⑥ | 36.0 | 0.0 | 19 |
| ⑦ | 30.0 | 0.0 | 19 |
| ⑧ | 28.0 | 0.0 | 18 |
| ⑨ | — | — | — |

▲表1 実験1の結果

※「—」は枯死によりデータなし



▲写真9 葉の不定形（奇形）

【考察】

発芽直後の分裂組織を柄付き針で傷つける試験区（試験区②）・発芽直後の分裂組織を熱で潰す試験区（試験区③）がコントロール（試験区①）より奇形率が高く、分枝数が多い。この結果から、発芽直後の分裂組織を刺激することがシロツメクサの分枝に影響を与えられらる。

発芽直後の子葉を切断する試験区（試験区⑥）・発芽直後の株を根元から切断する試験区（試験区⑦）・本葉展開直後の子葉を切断する試験区（試験区⑧）がコントロール（試験区①）より生存率が低く、分枝数が少ない。この結果から、切断後の株は再生力が弱く、株を切断することは四つ葉のクローバーの発生条件には関連しないと考えられる。

本葉展開直後の分裂組織を柄付き針で傷つける試験区（試験区④）・本葉展開直後の分裂組織を熱で潰す試験区（試験区⑤）・本葉展開直後の株を根元から切断する試験区（試験区⑨）は株の枯死により、データが得られなかった。実験後のポット内の培養土が乾いていたことから、株の枯死は水不足のためだと考えられる。

以上より、発芽直後の分裂組織に負荷を与えることは四つ葉のクローバーの発生条件とは考えにくい。



《実験2》

【仮説】

子葉展開後の分裂組織に負荷を与えることでシロツメクサの分裂機能に影響を与え、分枝を促進する。

【実験材料】

シロツメクサ “*Trifolium repens*” (種)、培養土 (種まき前に湿らせておく)、柄付き針、カッターナイフ、クリップ (分裂組織に加わる圧力を一定にする)、バット、ポット、小石 (直径2 cm程度大)、育苗箱

【実験方法】

試験区を下記の通りにする。

- ①コントロール
- ②子葉展開後の分裂組織を柄付き針で傷つける
- ③子葉展開後の分裂組織をクリップで潰す
- ④本葉展開後の分裂組織を柄付き針で傷つける
- ⑤本葉展開後の分裂組織をクリップで潰す
- ⑥子葉展開後の分裂組織に切り込みを入れる

【実験期間】

種まきから7日後に、子葉展開後の分裂組織を柄付き針で傷つける試験区 (試験区②)・子葉展開後の分裂組織をクリップで潰す試験区 (試験区③)・子葉展開後の分裂組織に切り込みを入れる試験区 (試験区⑥) の実験を行う。また、種まきから12日後に、本葉展開後の分裂組織を柄付き針で傷つける試験区 (試験区④)・本葉展開後の分裂組織をクリップで潰す試験区 (試験区⑤) の実験を行う。



▲写真10 クリップを使用した実験の様子



▲写真11 カッターナイフを使用した実験の様子

【結果】

| 試験区 | 生存率 (%) | 奇形率 (%) | 分枝数 (個) |
|-----|---------|---------|---------|
| ① | 54.0 | 0.0 | 80 |
| ② | 74.0 | 7.8 | 88 |
| ③ | 76.0 | 2.0 | 150 |
| ④ | 70.0 | 0.0 | 87 |
| ⑤ | 52.0 | 2.2 | 44 |
| ⑥ | 54.0 | 0.0 | 88 |

▲表2 実験2の結果

【考察】

試験区②③④⑥が共通してコントロール（試験区①）より分枝数が多い。この結果から、分裂組織を刺激することは分枝を促進し、分枝数を増加させると考えられる。

本葉展開後の分裂組織を柄付き針で傷つける試験区（試験区④）では奇形が見られなかった。これは、分裂組織への刺激が弱かったため、あるいは強すぎたために細胞を破壊してしまい再生機能が低下したと考えられる。

本葉展開後の分裂組織をクリップで潰す試験区（試験区⑤）ではコントロール（試験区①）より分枝数が少ない。これは、成長後の細胞がクリップにより破壊され、その後の細胞の再生が起らなかったためだと考えられる。

子葉展開後の分裂組織に切り込みを入れる試験区（試験区⑥）でも奇形が見られなかった。この結果から、分裂組織に切り込みを入れることは奇形や四つ葉のクローバーの発生には関連しないと考えられる。

以上より、子葉展開後の分裂組織に負荷を与えることでシロツメクサの分裂機能に影響を与え、分枝を促進すると考えられる。加えて、分枝点に負荷を与えることで奇形が増加する可能性があると考えられる。



▲写真12 シロツメクサの分枝点

《実験3》

【仮説】

発現段階で既に奇形株である四つ葉の株の分枝点に負荷を与えることで分枝数が増加し、奇形が発生しやすくなる。

圧力などの外的要因により奇形が発生する純粋な株を「三つ葉の株」、遺伝子など何らかの要因によって四つ葉のクローバーを発生させている奇形株を「四つ葉の株」として実験を行った。

【実験材料】

シロツメクサ “*Trifolium repens*”（三つ葉の株・四つ葉の株）、培養土（植栽前に湿らせておく）、柄付き針、カッターナイフ、クリップ、バット、ポット、小石（直径2cm程度大）、育苗箱

三つ葉の株・四つ葉の株は恵那高校で自生したシロツメクサの中から採集した。

【実験方法】

試験区を下記の通りにする。

- ①三つ葉の株の分枝点を柄付き針で傷つける
- ②三つ葉の株の分枝点をクリップで潰す
- ③四つ葉の株の分枝点を柄付き針で傷つける
- ④四つ葉の株の分枝点をクリップで潰す

各試験区にポットを40個ずつ用意し、1ポットにつき1株ずつ植栽する。

【結果】

| 試験区 | 奇形率(%) | 分枝数(個) |
|-----|--------|--------|
| ① | 1.7 | 59 |
| ② | 3.2 | 93 |
| ③ | 6.6 | 36 |
| ④ | 5.3 | 38 |

▲表3 実験3の結果

【考察】

三つ葉の株の分枝点を刺激した試験区（試験区①②）が四つ葉の株の分枝点を刺激した試験区（試験区③④）より分枝数が多い。この結果から、三つ葉の株の分枝点を刺激することで分枝が促進され分枝数を増加させると考えられる。

四つ葉の株の分枝点を刺激した試験区（試験区③④）が奇形率5%以上と三つ葉の株の分枝点を刺激した試験区（試験区①②）より高い。この結果から、四つ葉の株の分枝点を刺激することで奇形率が高くなると考えられる。これは、既に奇形株である四つ葉の株に刺激を与えたことが、シロツメクサの葉の形成に影響を与えたためだと考えられる。

以上より、四つ葉の株は外的刺激で分枝数が増加し、奇形が発生しやすいと考えられる。加えて、三つ葉の株の分枝点に負荷を与えるより四つ葉の株の分枝点に負荷を与える方が、四つ葉のクローバーが発生する可能性が高いと考えられる。

3, 今後の展望

乾燥の防止ができる培地内でシロツメクサを育成する。その後、育成したシロツメクサの頂小葉・側小葉にそれぞれ切れ目を入れる。その切れ目が再生し葉が分葉するのか、再生することなく葉が枯死するのか、そもそもシロツメクサに再生機能があるのか。葉の再生による葉の分葉を観察する。



▲写真13 シロツメクサの葉の形成

4, 参考文献

京都府立嵯峨野高校サイエンス部生物.

2011. 外的刺激による四つ葉のクローバーの発現

岐阜県立恵那高等学校. 2017. 四つ葉のクローバーの繁殖方法

白井里歩. 2012. クローバーの栽培実験 No.4 ~多葉の遺伝株は存在するのか~

久保田, 信. 2017. 四つ葉のクローバーと二つ葉のクローバー

吉本光希. 2019. 植物の必須栄養素から考える植物オートファジーの必要性

佐々木厚. 1999. 輪ギクの接触刺激による生長抑制

大山正. 1952. X線照射によるシロツメクサの畸形葉とその復元能力の細胞学的意義

長野敬 他. 2019. 四訂版サイエンスビュー 生物総合資料. 実教出版

嶋田正和 他. 2017 (検定). 改訂版生物. 数研出版