

四つ葉のクローバーの発生条件

3618 北原美菜 3524 西生真優 3531 久田真子 3604 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ることを目的とし、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。初めに、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、四つ葉の株は三つ葉の株に比べて奇形率が高くなった。また、子葉展開段階の分裂組織を刺激した後、硫安液肥を付与する実験を行った。結果、奇形率は低く分枝数は少なかった。以上より、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。また、硫安液肥は四つ葉のクローバーの発生率を低下させると考えられる。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出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 2 cm 程度大)、育苗箱



▲写真1 使用したシロツメクサの種



▲写真2 (左) 使用した培養土



写真3 (右) 左から…柄付き針、はさみ、点火棒

【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。

【実験期間】

播種日から30日後にデータの集計を行う。



▲写真4 (左) 柄付き針を使用した実験の様子
写真5 (右) 柄付き針と点火棒の使用方法



▲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 (本)
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

発芽直後の分裂組織に負荷を与えた試験区(試験区②③)がコントロール(試験区①)より奇形率が高く、分枝数が多かった。

… (i)

発芽直後・本葉展開直後の株を切断した試験区(試験区⑥⑦⑧)がコントロール(試験区①)より生存率が低く、分枝数が少なかった。

… (ii)



▲写真9 葉の不定形(奇形)

【考察】

(i) から、発芽直後の分裂組織に負荷を与えることがシロツメクサの分枝に影響を与えると考えられる。

(ii) から、切断後の個体は再生力が弱く、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に負荷を与えた試験区（試験区④⑤）・本葉展開直後の株を切断した試験区（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の一つである可能性があると考えられる。

《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（播種前に湿らせておく）、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

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。

【実験期間】

播種日から 7 日後に子葉展開後の分裂組織に負荷を与える試験区（試験区②③⑥）の操作を行う。また、播種日から 12 日後に本葉展開後の分裂組

織に負荷を与える試験区（試験区④⑤）の操作を行う。その後、播種日から 30 日後にデータの集計を行う。



▲写真 10（左） クリップを使用した実験の様子
写真 11（右） 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 (本)
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

子葉展開後の分裂組織に負荷を与えた試験区（試験区②③⑥）・本葉展開後の分裂組織に負荷を与えた試験区（試験区④）が共通してコントロール（試験区①）より分枝数が多かった。

… (i)

本葉展開後の分裂組織に負荷を与えた試験区（試験区④）では奇形が見られなかった。また、本葉展開後の分裂組織に負荷を与えた試験区（試験区⑤）がコントロール（試験区①）より分枝数が少なかった。

… (ii)

子葉展開後の分裂組織に切り込みを入れた試験区（試験区⑥）では奇形が見られなかった。

… (iii)

【考察】

(i) から、分裂組織に負荷を与え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。

(ii) から、本葉展開後の分裂組織に負荷を与えることは株への影響が小さいと考えられる。

(iii) から、分裂組織に切り込みが入った株は再生力が弱く、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。また、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】

出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、四つ葉のクローバーが発生する。

実験 1・2 で育成した、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」、遺伝子などの内的要因により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 2 cm 程度大)、育苗箱

三つ葉の株・四つ葉の株を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 ポットにつき株を 1 株ずつ植栽する。

【実験期間】

植栽日に全試験区の操作を行う。その後、植栽日から 30 日後にデータの集計を行う。

【結果】

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

▲表 3 実験 3 の結果

三つ葉の株の分枝点に負荷を与えた試験区 (試験区①②) が四つ葉の株の分枝点に負荷を与えた試験区 (試験区③④) より分枝数が多い。

… (i)

四つ葉の株の分枝点に負荷を与えた試験区 (試験区③④) が奇形率 5% 以上で三つ葉の株の分枝点に負荷を与えた試験区 (試験区①②) より高い。

… (ii)

【考察】

(i) から、三つ葉の株の分枝点に負荷を与えることで分枝が促進され、分枝数が増加すると考えられる。

(ii) から、四つ葉の株の分枝点に負荷を与え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負荷を与えたことが、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、個体特性として、四つ葉の株は、三つ葉の株に比べて、負荷により奇形を発生させる可能性が高いと考えられる。

《実験 4》

【仮説】

葉と茎の生育を促進するはたらきを持つ硫安（窒素肥料）を付与することで傷ついた細胞が早く再生し、四つ葉のクローバーが発生する。

また、土壌窒素量が多いほど株が受ける負荷が大きくなり、より多くの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）、赤玉土（播種前に湿らせておく）、硫安（窒素肥料、※以下「硫安液肥」と表記する）、柄付き針、バット、ポット、小石（直径 2 cm 程度大）、育苗箱、計量ボトル、計量スプーン



▲写真 13 (左) 使用した赤玉土



写真 14 (右) 使用した硫安（窒素肥料）

※硫安液肥として使用する場合、5g/L が適当であるとされている。



▲写真 15 (左) 計量ボトルに入れた硫安液肥



写真 16 (右) 使用した計量スプーン

【実験方法】

試験区を下記の通りにする。

- ①子葉展開後の分裂組織を柄付き針で傷つける
- ②子葉展開後の分裂組織を柄付き針で傷つけ、1.25g/L の硫安液肥を 5ml 付与する
- ③子葉展開後の分裂組織を柄付き針で傷つけ、5.0g/L の硫安液肥を 5ml 付与する
- ④子葉展開後の分裂組織を柄付き針で傷つけ、7.5g/L の硫安液肥を 5ml 付与する

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 1 粒ずつ蒔く。

硫安液肥を 5ml 付与する試験区（試験区②③④）では、硫安液肥の効果を長期間にわたって継続させることを目的とし、1 週間おきに各試験区の設定濃度で硫安液肥を 5ml ずつ付与する。

【実験期間】

播種日から 12 日後に全試験区の操作を行う。その後、硫安液肥を 5ml 付与する試験区（試験区②③④）で、1 週間おきに各試験区の設定濃度で硫安液肥を 5ml ずつ付与していき、播種日から 30 日後にデータの集計を行う。



▲写真 17 硫安液肥を付与する実験の様子

【結果】

試験区	奇形率(%)	分枝数(本)
①	0.0	17
②	8.3	12
③	0.0	11
④	0.0	11

▲表4 実験4の結果

1. 25g/Lの硫酸液肥を5ml付与した試験区(試験区②)で奇形が見られた。また、5.0g/Lの硫酸液肥を5ml付与した試験区(試験区③)・7.5g/Lの硫酸液肥を5ml付与した試験区(試験区④)では奇形が見られなかった。

…(i)

硫酸液肥を5ml与えた試験区(試験区②③④)が子葉展開後の分裂組織に負荷を与えた試験区(試験区①)よりも分枝数が少なかった。

…(ii)



▲写真18 1.25g/Lの硫酸液肥を5ml付与した試験区(試験区②)で見られた葉の不定形(奇形)

【考察】

(i)(ii)から、土壌窒素量が多いほど株が受ける負荷が大きいとは言えないと考えられる。

以上より、土壌窒素量は少ない方が四つ葉のクローバーを発生させる可能性があると考えられる。また、この実験では植物の三大栄養素の窒素(硫酸)のみを付与し、リンやカリウムについて加味していなかったため、このことも奇形率や分枝数の結果に影響している可能性があると考えられる。さらに、この実験を行ったのが寒暖差の厳しい時期で、植物の成長が順調でなかったことも奇形率や分枝数の結果に影響している可能性がある。

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19 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

麻生昇平 他. 1991. マメ科植物特にダイズの栽培期間中における中耕・培土と追肥窒素の影響に関する研究