

オオカナダモの紅葉

徳島県立城南高等学校

応用数理科 3 年

長尾夏希 前川璃乃

目次

- 1, 研究概要
- 2, 研究の動機と目的
- 3, 予備実験 1 検証内容について
- 4, 予備実験 2 検証に使用する溶液濃度並びに溶質の検証
- 5, 実験 1 3 %スクロースによるアントシアニン合成と光の関係についての検証
6. 実験 2 3 %スクロースによるアントシアニン合成と光の関係並びに葉の新旧についての検証
7. 実験 3 葉の新旧によるアントシアニン合成速度の検証
8. 実験 4 非常に強い光があるとスクロース溶液がなくてもアントシアニン合成が起こるのかの検証
9. 今後の展望
10. 参考文献

1. 研究概要

通常紅葉しないオオカナダモを用い、紅葉の主要因であるアントシアニン合成を人工的に誘導する条件を明らかにすることを目的として研究を行った。先行研究より、通常は紅葉しない 3%スクロース溶液中でアントシアニン合成が起こることが知られているが、その環境要因等は十分に知られておらず、検証を行った。予備実験から、3%スクロース溶液によるアントシアニン合成には光が必要であることや葉の新旧が関与していることが示唆され、光条件および葉の新旧に着目して検証を行った。その結果、光強度が高いほどアントシアニン合成が促進され、特に新しい葉では古い葉に比べてアントシアニンが合成される細胞数が多く、反応も速いことが分かった。また、非常に強い光 (1500000lux) 下では、スクロース溶液を用いずともアントシアニン合成が起こったことから、3%スクロース溶液によりアントシアニン合成が促される反応は強光による「光阻害」から身を守るための反応である可能性が示唆された。また、アントシアニン合成が起こる順は、茎、葉の維管束、葉全体の順であることから、アントシアニン合成を促す物質が葉から茎、そして葉に伝達される経路が示唆された。

2. 研究の動機と目的

日本には紅葉という落葉植物の葉が落葉するに先立って、赤または黄に変わる自然現象がある。その紅葉を季節や植物の種類を問わずに起こしたいと考え、私たちは、植物を人工的に紅葉させる方法を調べていく中で、オオカナダモを使用した先行研究があることを知った。通常紅葉では、光合成色素であるクロロフィル分解が起こり、その後アントシアニンの合成が起こる。先行研究から、オオカナダモをスクロース水溶液につけておくことで、通常な紅葉しないオオカナダモにおいて、紅葉の際に合成されるアントシアニンを合成させることができる。この現象に興味を持った私たちは「どのような環境条件でこの現象がより起こりやすくなるのか」を調べることにした。この現象は、20℃程度の温度などの環境条件によって引き起こされることが分かっているが、詳しいことを調べるが出来なかった。そのため、どのような環境条件でこの現象が起こりやすいのかを調べることにした。

オオカナダモの紅葉を人工的に安定して起こせるようになれば、季節を問わず紅葉を楽しめる観光資源としての可能性が広がると考えた。さらに、紅葉を促進するアントシアニンは生活習慣病の予防や美肌効果があるポリフェノールを含んでおり、本研究を応用すれば、アントシアニンを簡単に合成できる新たな方法としても期待できると考え、検証を行うこととした。

3. 予備実験1 検証内容について

オオカナダモの葉だけのものと、茎についた状態の葉を 3%スクロース溶液内に入れて、20℃の窓辺に 1 週間放置すると、葉だけのものは、62 枚の葉の内 12 枚が赤くなり、茎についたものには変化が見られなかった。そのため、本研究では、葉を茎から切り取って利用することとした。

まず、検証内容を考えていく上で、先行研究では温度に注目したもの見当たらなかったため、低温条件や高温条件ではではどのようなになるのか検証した。10℃、20℃、25℃のインキュベーター内で 3%スクロース溶液、

6%スクロース溶液、0.2%食塩水にオオカナダモの葉を入れ、色の変化を観察した。すると、どの溶液でもアントシアニン合成が起こらなかった。先行研究や以前の窓側での実験と結果が異なったため、要因を考えたところ、インキュベーター内は光が少なく暗いためでないかと考えた。つまり、スクロースによるアントシアニン合成はある程度の強さの光がないと引き起こされるのではないかと考え、文献を調べたが、見つけることができなかったため、その検証を行った。

4. 予備実験2 検証に使用する溶液濃度並びに溶質の検証

まず検証に使う溶質と濃度について検証した。3%スクロース溶液がオオカナダモのアントシアニン合成に最適であるとの先行研究があったが、実験に使用する最適な濃度と溶質を検証してみた。スクロース並びにマルトース濃度をそれぞれ 0%、3%、5%、8%、10%とし、25℃の日のあたる窓際に置き 1 週間後に様子を観察した。結果は 3%スクロース溶液につけたものだけが変化したため、検証実験は 3%スクロース溶液で行った。

5. 実験1 3%スクロースによるアントシアニン合成と光の関係についての検証

仮説

3%スクロース溶液によるオオカナダモのアントシアニン合成は光によって引き起こされる

準備物

・オオカナダモ(学名:Egeria Sensa)・3%スクロース溶液 ・LED ライト

実験方法

①3%スクロース水溶液を 100mL ビーカーに 50mL 入れたものを 6 つ用意する。

②それぞれのビーカーにオオカナダモの葉 5 枚を茎から切り取って入れ、太陽光が当たる窓際(約 10000lux)、太陽光+LED ライトを加えた場合(約 15000lux)(図 1)、光なしの環境にそれぞれ2つずつ置き、1週間経過させる。

③1週間経過培養後、葉の様子を目視並びに顕微鏡で観察する。

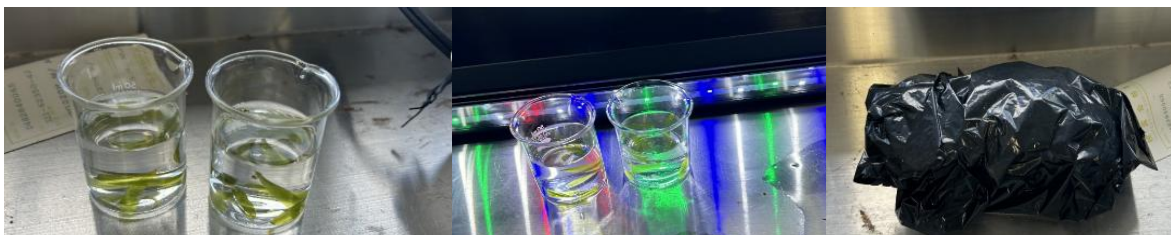


図1 それぞれの光環境での培養の様子（右から太陽光約 10000 lux、太陽光+LED ライト約 15000 lux、光なし 0 lux）

どの葉もアントシアニン合成が起こらなかった。先行研究や予備実験と大きく違う結果であったため、原因を考えたところ、この実験に使用した葉は購入してから時間がたっており、葉緑体が少なくなり、緑色が薄くなっている葉(図 2)のためと考えた。この現象を踏まえ、新たな仮説を設定し、検証を行った。

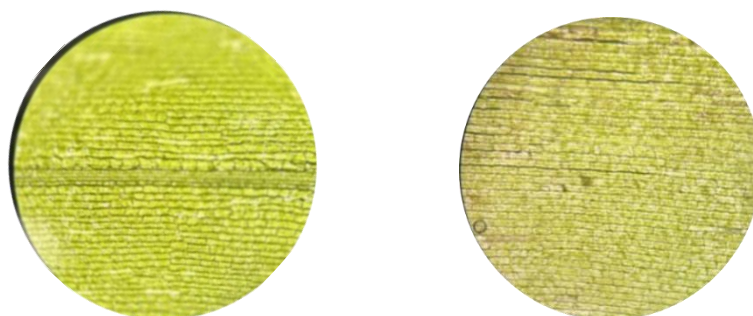


図 2 観察したオオカナダモの葉（左が若い葉、右が古い葉）

6. 実験2 3%スクロースによるアントシアニン合成と光の関係並びに葉の新旧についての検証

仮説

3%スクロース溶液によるオオカナダモのアントシアニン合成は光によって引き起こされるが、新しい葉に対し強く起こる。

準備物・実験方法

実験1と同じだが、新しい葉と古い葉でそれぞれ同じ検証を行う。それぞれ 5 枚のオオカナダモの葉について、赤くなっている面積割合を求め、5 枚の平均値を出した。

アントシアニン合成面積の定量方法

オオカナダモの葉を紙に乗せ、写真を撮影する。その後格子状のマスを写真に重ね、葉が存在する格子のうち、色が赤く変化しているものの割合を計測した(図 3)。

色が変化しているものの面積割合(%)

= 色が赤く変化しているものの格子数 / 葉が存在する格子数 × 100

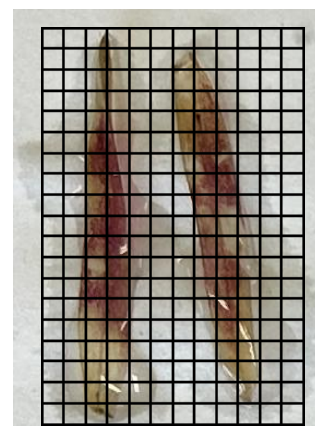


図 3 オオカナダモの葉の写真に格子状のマスを重ねたもの

結果

仮説のとおり、新しい葉と古い葉では、反応に違いが見られた。10000lux において、赤い部分の面積割合は古い葉 49%に対し、新しい葉では 92%と 1.88 倍高かった。また、太陽光+LED ライト環境下である 15000lux では、赤い部分の面積割合は古い葉では 42%と太陽光環境下 10000lux より減少したが、新しい葉では 100%であり、増加した。さらに 0lux では、古い葉では全く赤い部分が見られなかったが、新しい葉では 20%ほど、少し赤い部分が見られた(図 4)。

顕微鏡画像を比較すると、0lux では古い葉ではアントシアニン合成が起こっている細胞はない。新しい葉ではアントシアニン合成が起こっているが、色が薄い(図 5)。10000lux と 15000lux の環境下を比較すると、古い葉では 10000lux の方でアントシアニン合成が起こっている細胞が多く見られた(図 7)。一方、新しい葉では 15000lux の方でアントシアニン合成が起こっている細胞が多く、赤色の色合いも濃かった。

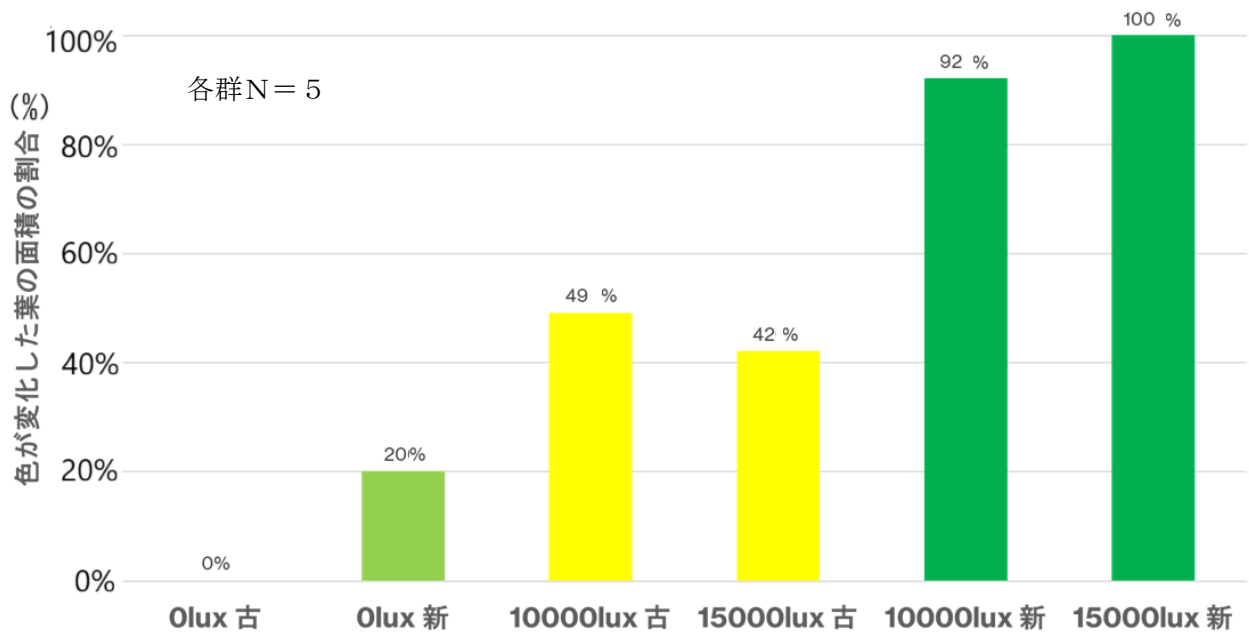


図 4 それぞれの光環境並びに葉の新旧で赤くなった面積

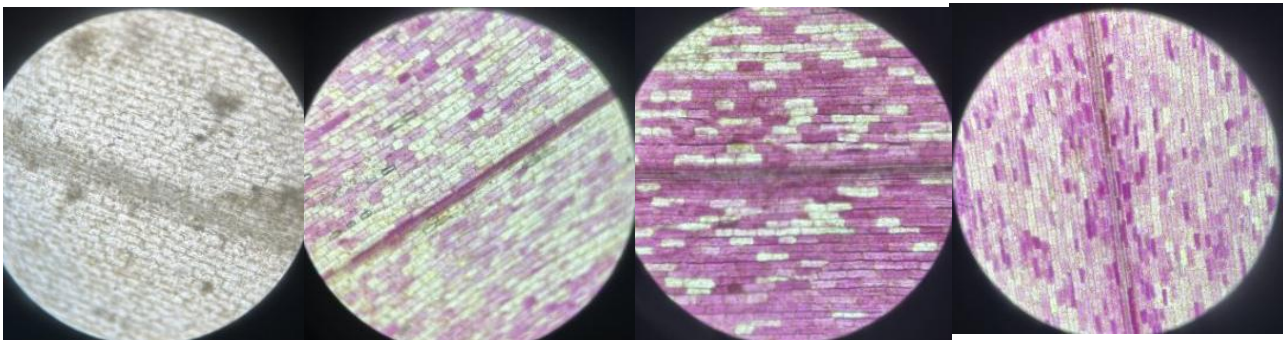


図 5 0lux (光なし) における顕微鏡画像
(左: 古い葉、右: 新しい葉)

図 6 10000lux (太陽光) における顕微鏡画像
(左: 古い葉、右: 新しい葉)

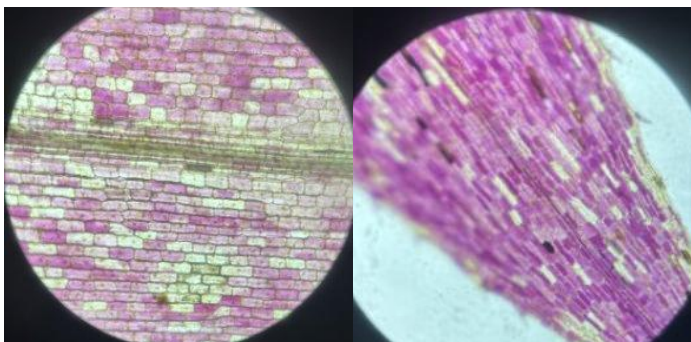


図 7 15000lux (太陽光+LED ライト) における顕微鏡画像(左: 古い葉、右: 新しい葉)

考察

光りがない環境であれば、3%スクロースに浸しても、新しい葉でも20%ほどしか赤くならず、色も薄いことから、3%スクロース溶液がアントシアニン合成を引き起こすにはある程度の強さの光が必要であると考えられる。また、10000lux や 15000lux で、新しい葉と古い葉を比較すると、新しい葉においては 10000lux よりも 15000lux で赤色の面積が 92%から 100%に増加すると共に赤色も濃くなっていることから、新しい葉では、強い光を受容することができ、強い光の受容により、アントシアニン合成が強く引き起こされることが示唆された。

7. 実験3 葉の新旧によるアントシアニン合成速度の検証

実験2より、新しい葉は古い葉に比べて、より強い光が受容でき、より強くアントシアニン合成が促されることが示唆されたため、実験3では新しい葉と古い葉を3%スクロース溶液に浸したときのアントシアニン合成が起こる速度と光りの強さについて検証した。

仮説

新しい葉では、弱い光より強い光の方がアントシアニンを合成する速度が速くなる。

実験方法

今までの実験と条件を変えずに実施する。実験をした週は曇りの日が多かったため、窓際の光りの強さは約 5000lux であった。LED ライトで明かりを加えることで約 10000lux とした。この条件で、3%スクロース溶液にオオカナダモの葉 5 枚を浸し、3 日後に顕微鏡で観察した。赤い細胞が少なかったため、5 日後に再び顕微鏡で観察。赤い細胞が見られてきたため、9 日後まで毎日顕微鏡で観察し、赤い細胞の割合を求め、5 枚の葉の平均を求めた。

色が変わった細胞の割合の求め方

実験2よりも検証の精度を上げるために、観察視野における全細胞数における赤色の細胞数の割合を求めることとした。維管束中心に光学顕微鏡 40 倍(10×40)で観察し、写真を撮影した。その後、撮影した写真をカラー印刷し、顕微鏡視野の半分における全細胞数と色が赤く変化した細胞数を数え、全細胞数におけるアントシアニン合成が起きた細胞数の割合を求めた。なお、それぞれ 5 枚の葉において割合を求め、平均値算出した。

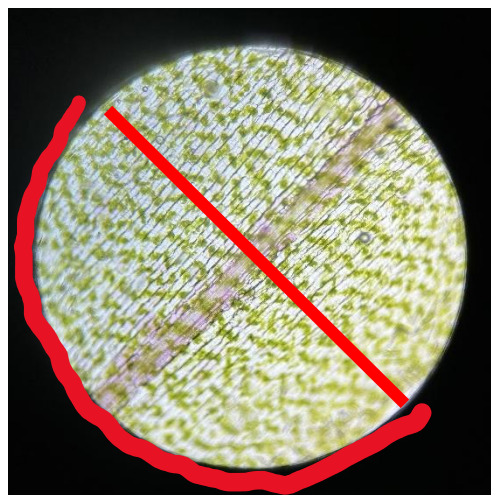


図8 観察した顕微鏡画像（5枚の葉で顕微鏡視野半分の細胞をカウントし、平均を求めた）

結果

5日後では、古い葉において、5000lux で 0%、10000lux で 1.4%であり、ほとんどアントシアニン合成が起きていないが、新しい葉では、5000lux で 12.6%、10000lux で 17.9%とアントシアニン合成が進んでいる。6 日後以降は古い葉でもアントシアニン合成が進んでいるが、5000lux、10000lux 共に新しい葉を上回ることにはなかった。さらに、新しい葉では、9日目に 10000lux 環境下で、アントシアニン合成が起こっている細胞は 89.6%となりっており、ほとんどの細胞でアントシアニン合成が行われていた(図 8)。

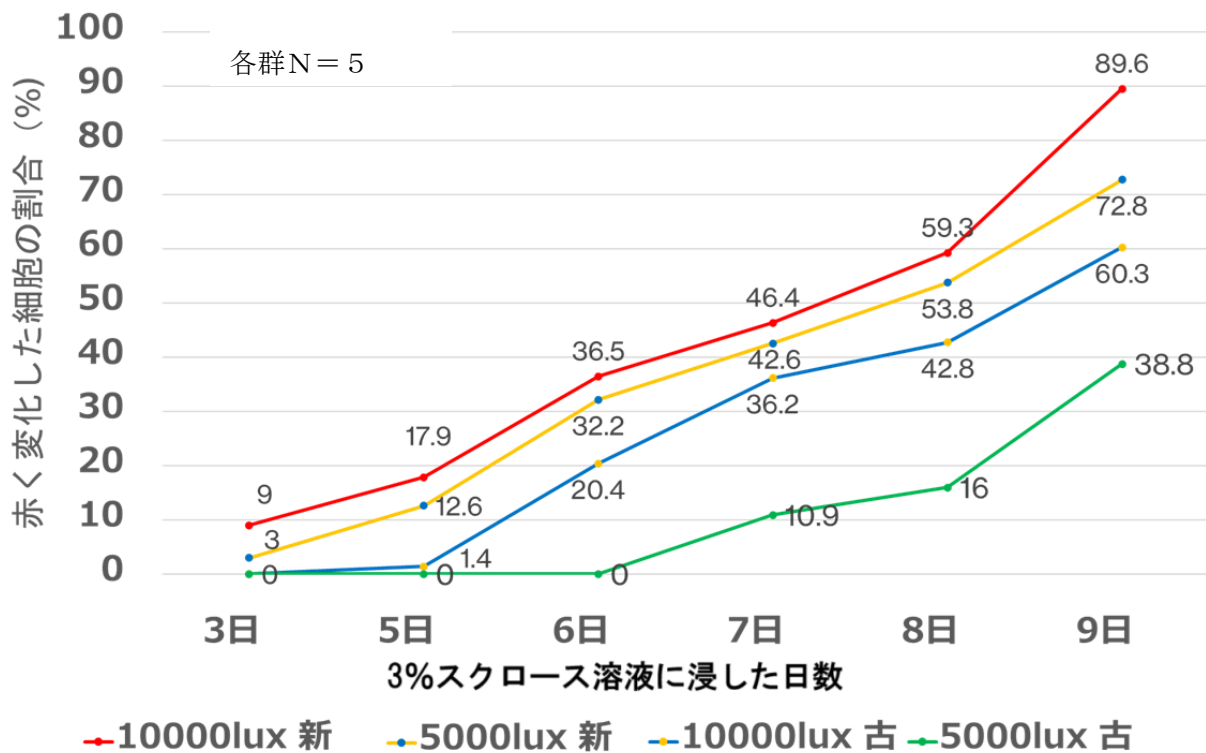


図 8 光強度(10000 lux・5000 lux)と葉の新旧によるアントシアニン合成細胞割合の経日変化

考察

新しい葉では、古い葉に比べて光に対して早く反応し、アントシアニン合成を行っている共に、時間が経過により、アントシアニン合成を行う細胞が増え続けている。このことから、新しい葉は古い葉に比べ、光の感受性が高く、光に対し早く反応することができると考えられる。また、10000lux の光りでは、5000lux と比べ、培養初期から赤い細胞の割合が高くなるため、10000lux の方が、3%スクロース溶液に反応し、アントシアニン合成が促されることが示唆される。

また、10000lux の光を当てた時の葉の細胞を観察していると、あることに気がついた。10000lux の光りを当てた状態では、緑色が濃く、一部に集中しているのに対し、通常の蛍光灯の光(約 2500lux)では、緑色が薄く、全体に見られる(図 9)。気になって調べてみると、これは、「葉緑体運動」と呼ばれる現象で、強い光から葉緑体が逃れるために、細胞の端に縦に集まる現象である(図 10)。このことから 10000lux の光は、オオカナダモにとって強すぎる光であり、アントシアニンの合成は強すぎる光による「光阻害」から守るための反応であることが示唆される。つまり、新しい葉においては、このような「光阻害」から身を守る反応が起こりやすいと言える。

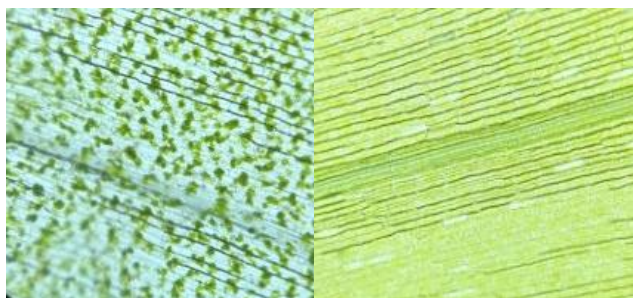


図 9 オオカナダモの顕微鏡写真(左:10000lux 照射 緑色が一部で濃い、右:2500lux 照射下 緑色が薄く、均一である)

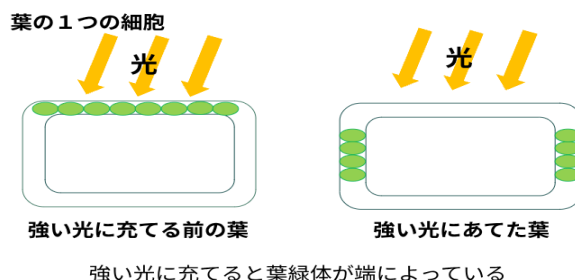


図 10 葉緑体移動についてのモデル図

この現象を見つけた後、通学路にある通常紅葉しない常緑樹であるカナメモチの垣根が気になった。よく見てみると、新芽の部分だけ赤くなっており、アントシアニン合成が行われている。この現象は、私たちがオオカナダモの検証実験で得られた結果とよく似ている。新芽が赤くなる現象は、葉が柔らかく紫外線に弱い新芽を紫外線から守るため、多くの植物で見られる現象として知られている。3%スクロース溶液により引き起こされるオオカナダモのアントシアニン合成は、この現象と同じでないかと考えた。そのため、非常に強い光であれば、スクロース存在下でなくても、アントシアニン合成が起こると仮説を立て、次の検証実験を行った。



図 11 通学路にあるカナメモチの垣根(新芽のみ赤くなっている)

8. 実験4 非常に強い光があるとスクロース溶液がなくてもアントシアニン合成が起こるのかの検証

実験 3 から新しい葉に対し、非常に強い光環境下で生育させれば、スクロース溶液に浸さなくても、アントシアニン合成が起こる可能性が示唆されたため、検証を行った。また、強い光によってアントシアニン合成が引き起こされるならば、最初の検証で赤くならなかった茎付きの葉でもアントシアニン合成が起こり赤くなる可能性を考え、こちらも併せて検証することとした。

仮説

強い光環境下であれば、スクロース溶液がなくてもアントシアニン合成が起こる

強い光環境下ならば、スクロース溶液により茎についた葉でもアントシアニン合成が起こる

実験方法

- ①3%スクロース溶液と水 300mL を 500mL ビーカー入れ、それぞれに茎から切り離した葉5枚とオオカナダモそのまま2本(どちらも葉は新しい)を入れた。
- ②太陽光(約 10000lux)が当たる窓辺と強い光を発する LED ライト (keelang LED ライト 4500000 ルーメン) を 50cm の高さから 24 時間当てた環境(ルクスメータの測定で 1500000lux)で、それぞれ 2 週間生育させた。
- ③1 週間後並びに 2 週間後の葉と茎の様子を目視並びに顕微鏡で観察した。

結果

太陽光下(10000lux)の実験においては、今までの検証と同じ結果であったが、24 時間 1500000lux を光照し続けた環境下では、今までにない現象が見られた。1 週間後、切り離した葉において水での生育でアントシアニン合成が行われ、赤くなっていた。

また、1 週間後 1500000lux 照射下の環境では茎に付いたオオカナダモにおいて、茎が赤くなっているのが確認できた。さらに、2 週間後に観察したところ、茎は赤くなくなっており、葉で赤い細胞が増えていた。3%スクロース溶液においても、茎が赤くなった後、葉が赤くなった(表 1)。

		水		3%スクロース溶液	
		1 週間後	2 週間後	1 週間後	2 週間後
茎についた葉	茎	非常に赤くなった ◎	赤くなくなった ×	少し赤くなった △	赤くなった ○
	葉	少し赤くなった ○	非常に赤くなった ◎	赤くならなかった ×	赤くなった ○

表 1 茎付きオオカナダモを 1500000lux の光環境下で培養した際の色の変化

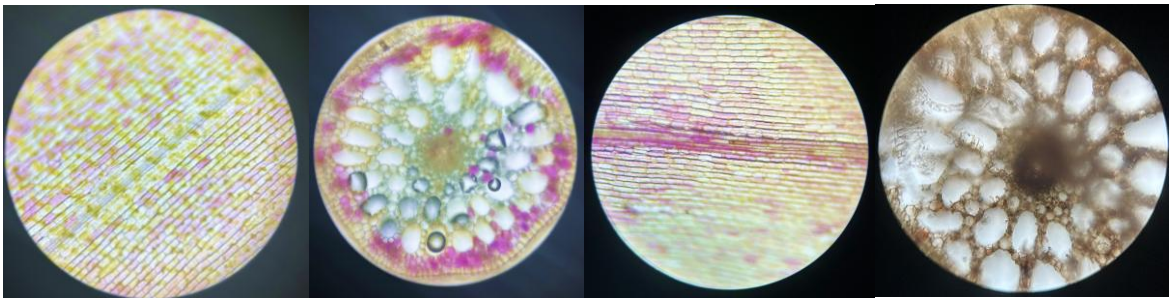


図 12 茎付きオオカナダモを 1500000lux の光環境下において水で培養した際の色の変化 (左から 1 週間後の葉、1 週間後の茎、2 週間後の葉、2 週間後の茎)

考察

1500000lux の光を 24 時間照射し続けた結果、水でもアントシアニン合成が進み、3%スクロース溶液における反応と同じ反応が起こった。非常に強い光の環境下ならば、3%スクロース溶液でなくてもアントシアニン合成が起こる。つまり、3%スクロース溶液は、「光阻害」から身を守る反応を強めている可能性が示唆された。

また、反応の経路についても新たな可能性が示唆された。3%スクロース溶液では水より反応が遅れたが、初めに茎、次に葉が赤くなっている(表 1)。また、今までの葉の観察では、すべて維管束部分からアントシアニン合成が始まっていた(図 13)。これらの現象から、3%スクロース溶液によりアントシアニン合成が引き起こされていく経路は、葉で受容された光により、アントシアニン合成を促す物質が合成され、その物質が茎に移動し、茎が反応したと考えられる。その後、葉にもアントシアニンを合成する物質が維管束部分から葉全体に伝わり、アントシアニン合成が起こると考えられる。今まで茎についていた葉でアントシアニン合成が起こらなかったのは、茎にアントシアニン合成を促す物質が流れて、茎が反応していたタイミングであったため、観察できなかった可能性が考えられる。まとめると、アントシアニン合成を促す物質は、葉で合成され、茎に流れ出て茎で反応し、その後葉にも伝わり、葉で反応が起こる可能性が示唆された。

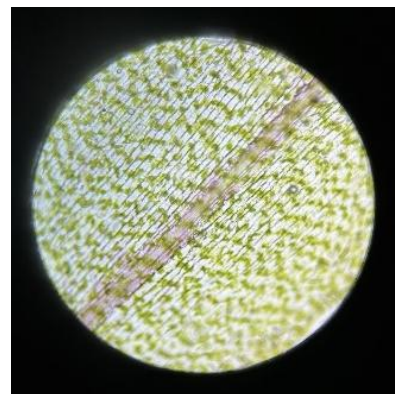


図 13 維管束部分から赤くなる
オオカナダモの葉

9. 今後の展望

本実験では、茎から葉と反応経路の順が示唆されたが、十分に検証ができなかった。例えば 10000lux の光環境下において 3%スクロース溶液で生育した際、葉や茎でのアントシアニン合成がどのように順で起こっているのか調べることで、この現象の順が明確にできると考える。

また、本実験は葉を茎から切り取って培養したため、観察後、葉は枯れていた。3%スクロース溶液で起こる反応が、常緑樹の新芽で起こる「光阻害」から身を守る反応と同じだとすれば、アントシアニン合成が起こった後、再び元に戻る可能性がある。実験 4 の水での培養においては、赤かった茎の赤色がなくなったが、生育が上手いかず、細胞が死んでしまった可能性が高い。例えば、3%スクロース溶液でアントシアニン合成を引き起こした後、通常の水で生育させ、アントシアニンが分解されるか検証したい。それらの検証で、3%スクロース溶液がアントシアニン合成を引き起こす反応が、新芽で起こる「光阻害」から身を守る現象と反応と同じか検証できると考える。

10. 参考文献

・鈴木宏典・他 2 名(岡山県立岡山一宮高等学校)。「紅葉の仕組みと環境要因の解明」、『岡山県立岡山一宮高等学校課題研究論文集録』。

- ・キャノンサイエンスラボ・キッズ.「紅葉のしくみ」. キャノンサイエンスラボ・キッズ公式サイト.
- ・日本植物生理学会.「どうして秋になると紅葉するのか?」.『みんなのひろば』.
- ・門田明雄(首都大学東京 理工学研究科 生命科学専攻).「葉緑体の運動メカニズム」.