

### 【概要】

オオカナダモは水草で自然状態では紅葉しない。しかし切断したオオカナダモの葉を糖の水溶液に浸すと紅葉することがわかっている。また紅葉はアントシアニンという赤色の色素が蓄積することで起こる。私たちは紅葉を促進する条件を調べた。

切断したオオカナダモの葉にフルクトース、グルコース、スクロース、キシロースの4種類の糖を使用し、どの糖が紅葉促進するかどうか調べた。フルクトース、グルコース、スクロースは紅葉促進した。フルクトースの異性体で希少糖のキシロースではほとんど効果がなかった。

葉を短時間で紫外線照射することにより紅葉を促進するかどうか調べた。短時間の紫外線照射は促進し長時間の紫外線照射は抑制した。

過酸化水素で短時間処理することにより紅葉を促進するかどうか調べた。0.1 μM ~ 1 μMでは促進し、高濃度では抑制した。

以上の結果からオオカナダモにおける紅葉促進のモデルを提案した。

*Egeria Densa*, is an aquatic plant that doesn't usually turn red. However, removed leaves turn red when certain sugar is supplied. When anthocyanin's red pigment accumulates in a leaf, the leaf turns red. We researched the conditions under which the accumulation of anthocyanin increases. Specifically, we researched the effect of sugar treatment. Fructose promoted anthocyanin accumulation the most.

Additionally, Ultraviolet irradiation for 30 minutes promoted anthocyanin accumulation, and Ultraviolet irradiation for more than 60 minutes inhibited anthocyanin accumulation.

The treatment of hydrogen peroxide(0.1 μM to 1 μM) promoted anthocyanin accumulation.

These results suggest that active oxygen like hydrogen peroxide is effective for anthocyanin accumulation.

### 【研究動機と目的】

モミジをはじめとする陸上植物では秋になると紅葉する。紅葉はアントシアニンという赤い色素が紅葉することで起こる。水草のオオカナダモは自然状態では紅葉しないが切断した葉を糖の水溶液に浸すと紅葉することが知られている。しかし、切断したオオカナダモの葉の紅葉の仕組みは詳しくはわかっていない。そこで私たちはオオカナダモの紅葉がどのような外部環境が、より促進するか調べることを目的としてこの実験を行った。

### 【一般の紅葉について】

秋になると葉柄の付け根で離層（細胞どう

しの接着が弱くなる)ができ、葉と茎の間の物質の移動が妨げられる。そのため、光合成により葉で作られた糖が葉に蓄積する。また、気温低下によりクロロフィルの分解が進む。その結果、紅葉する葉では糖から複雑な生合成経路を経て、赤い色素であるアントシアニンが蓄積すると言われている。

### 【実験器具】

オオカナダモ(校内の水槽で生育させたもの)  
フルクトース、スクロース、グルコース、キシロース(それぞれ 0.25 mol/L)

過酸化水素 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0.1 μM, 1 μM, 10 μM, 10 μM)

メタノール・塩酸 (1%)

蒸留水

ペトリ皿 (プラスチック)

10 mL メスシリンダー

ピンセット

ブラックライト蛍光ランプ 波長 315 nm ~  
400 nm の波長域 (UV-A)

分光光度計測定用セル (プラスチック)

1 mL 遠心チューブ

パラフィルム

## 【実験方法】

### I 培養法

切断したオオカナダモの葉 3 枚をそれぞれのペトリ皿にいれ、0.25 mol/L の糖の水溶液をそれぞれ 10 mL で培養した。ペトリ皿の周りを蒸発しないようにパラフィルムで巻いた。光は白色光 1500 lux の連続照射光、25°C で 7 日間置いた。

### II アントシアニン抽出

切断葉を 1 mL 遠心チューブに入れ、メタノール塩酸 (1%) を 1 mL 加え、冷蔵庫に 1 日置いた。その上澄み液をセルに移しかえ、メタノール塩酸 (1%) 3 倍に希釈した。

### III アントシアニン測定

抽出溶液を分光光度計で波長 530 nm における吸光度を測定しこの値を相対的アントシアニン量とした。このアントシアニン量を紅葉の指標とした。

## 【実験結果】

実験 1 アントシアニン蓄積に対する糖の種類の影響

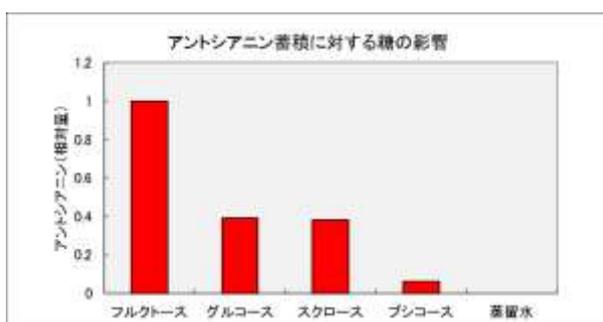


図 2 アントシアニン蓄積に対する糖の種類の影響

フルクトースを使用したときのアントシアニン量の相対地 0.299 を 1 とし、他はその相対地で表わした。以後のグラフはすべてこのような表し方にした。蒸留水中ではアントシアニン蓄積は全くなかった。フルクトース、グルコース、スクロースはアントシアニン蓄積を促進した。フルクトースの異性体であるプシコースはほとんど効果がなかった。以上のことから、アントシアニン蓄積には、糖が必要であることがわかった。フルクトースは最も効果的であったことから以後の培養ではフルクトースを使用した。

実験 2 アントシアニン蓄積に対する紫外線の影響

予備実験においてガラス容器で培養した場合は、プラスチック容器を使用した時と比べ、紅葉があまりみられなかった。調べてみるとガラス容器は紫外線を通しにくいことがわかった。また、ブドウやリンゴなどの果実の着色(アントシアニン蓄積による)は紫外線が有効であることを示した。

そこでオオカナダモの紅葉も紫外線が有効ではないかと考え、アントシアニン蓄積に対する紫外線の影響を調べた。

方法

切断したオオカナダモの葉 3 枚をそれぞれのペトリ皿にいれ、0.25 mol/L のフルクトースの水溶液に入れた。一定時間紫外線照射 ( $600 \mu W / cm^2$ ) した後、白色光 1500 lux の連続照射光、25°C で 7 日間置いた。その後アントシアニン抽出、測定を行った。

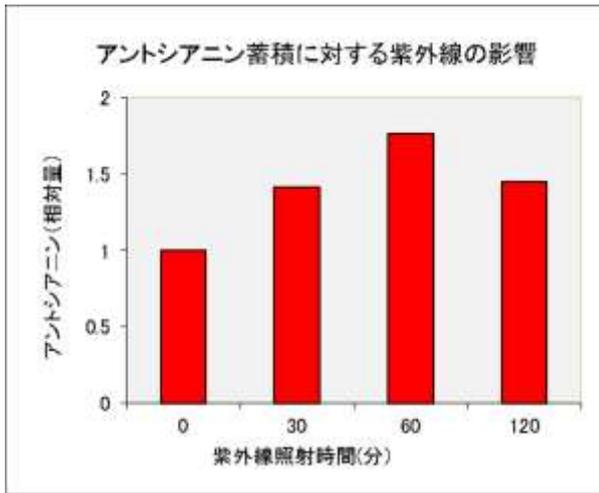


図3 アントシアニン蓄積に対する紫外線の影響

30分以上の紫外線照射は紫外線照射しないうちよりもアントシアニン蓄積が多かった。特に60分では多く、1.7倍以上蓄積した。以上のことから、一定時間の紫外線照射はアントシアニン蓄積を促進することがわかった。

### 実験3 アントシアニン蓄積に対する過酸化水素の影響

調べてみると植物に紫外線があたると活性酸素が発生するとわかった。そこでオオカナダモの紅葉には活性酸素が関係していると考えた。活性酸素の一種で身近で入手しやすい過酸化水素のアントシアニン蓄積に対する影響を調べた。

#### 方法

切断したオオカナダモの葉3枚をそれぞれのペトリ皿にいれ、0.25 mol/Lのフルクトースの水溶液に入れ、同時に過酸化水素も加え、2時間白色光1500luxの連続照射光、25℃で置いた。その後、切断した葉を取り出し蒸留水で洗浄し、0.25 mol/Lのフルクトースの水溶液に入れ、白色光1500luxの連続照射光、25℃で7日間置いた。その後アントシアニン抽出、測定を行った。

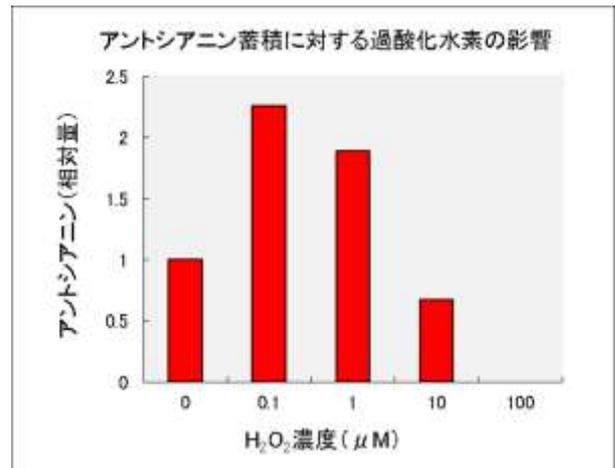


図4 アントシアニン蓄積に対する過酸化水素の影響

0.1 μM, 1 μMのH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>がアントシアニン蓄積を促進した。特に0.1 μMではH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を加えない場合に比べて2倍以上蓄積した。10 μM以上ではアントシアニン蓄積は抑制された。100 μMでは全く蓄積が見られず、葉の緑色が消えた。

#### 【考察】

オオカナダモのアントシアニン蓄積には糖が必要であり、フルクトースが最も有効であることがわかった。アントシアニン蓄積には紫外線照射や、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (活性酸素) 処理により促進された。紫外線照射により、活性酸素が発生すると言われている。以上のことから、オオカナダモにおける紅葉の促進の仕組みとして図5のように考えた。

### オオカナダモにおける紅葉促進モデル

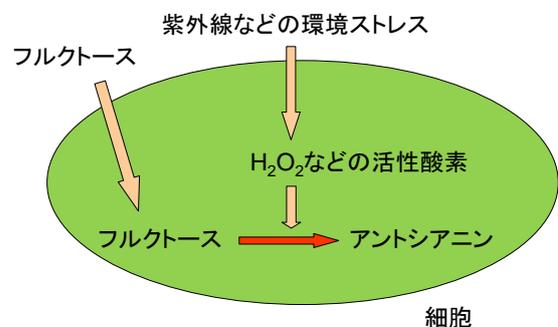


図5 オオカナダモにおける紅葉促進モデル  
オオカナダモの切断葉は外部環境からフルクトースを取り込み、それをアントシアニン合成

の材料とする。細胞内で生じた活性酸素がフルクトースからアントシアニン合成反応の促進の引き金あるいは信号の役割をしている。

図4の結果のように、高濃度の  $H_2O_2$  はアントシアニン蓄積を阻害し、葉の緑色がなくなったことから、有害であるといえる。フルクトースを与え、白色光を照射した条件ではアントシアニンを蓄積した。また、植物の光合成の際には、活性酸素が発生すると言われている。以上のことから、フルクトースを与え、白色光を照射した条件下でのアントシアニンの蓄積は白色光照射により光合成が行われ、そのときに発生した活性酸素が引き金となったと考えられる。

活性酸素は生物にとって有害だと考えられてきた。アカメガシワなどの若い葉が春先に表皮細胞でアントシアニンを蓄積することによって、太陽光に含まれる紫外線による害作用を防いでいると言われている。以上のことから植物は高濃度では有害な活性酸素を低濃度では、環境の変化に応答するための信号として利用するようになったのではないか。そうすることにより、より適切に環境の変化に適応できるようになったと考えた。

オオカナダモは特定外来生物として扱われ、特定の場所で大量に繁殖するなどして様々な問題を引き起こしている。また、アントシアニンは動物に対する様々なはたらきが期待されている物質である。オオカナダモによるアントシアニンの蓄積の仕組みが解明されれば、オオカナダモをアントシアニン生産植物として活用することが期待できる。

#### 【参考文献】

百瀬 忠征 (1996) 東京都生物教育研究会誌 No. 36 1-6

日本植物生理学会

<http://www.jspp.org/17hiroba/question/index.html>

植物色素研究法 植物色素研究会 (2004)

#### 【感想】

この研究で、探求する楽しさを知ることができた。実験データがなかなか安定しなかったなど、苦勞したことがたくさんあったが、最終的にはオオカナダモが紅葉する条件を見つけることができた。この研究が将来に役立ってほしい。