

葉緑体デンプン観察のための植物素材探索

竹市稜子, [○]松茂良美穂, 正元和盛

Takeichi Ryoko, [○]Matsumora Miho, Masamoto Kazumori

熊本大学教育学部理科生物

【キーワード】二酸化炭素, デンプン, 葉緑体, 光合成

1. はじめに

中学校学習指導要領解説理科編(第2章(1)「植物の生活と種類」)では、「つくりの基本的な特徴と光合成に関する実験結果を関連付けてとらえること」が求められ、また、同時に「光合成が葉緑体で行われていることにも触れる」とある。小学校段階では、葉を用いたヨウ素デンプン反応によって「葉に日光が当たるとデンプンができる」ということを学習し、中学校段階では、オオカナダモでの葉緑体デンプン観察を行い、「葉緑体で光合成が行われている」ことを学習する。オオカナダモは入手が容易で、葉の細胞が大きく2層の細胞からなっているため細胞中の葉緑体の顕微鏡観察が容易であることが材料の選定の理由として考えられる。しかし、教科書では照度、温度、時間など教材準備の条件設定、実験指示が明確でないため、実験方法についての助言がなされている¹⁻³⁾など、生徒実験実施の困難性を伴うことがあるとされている。

そこで、本論文では、オオカナダモの代替えとなりうるヒヤクニチソウ葉からの単離細胞での葉緑体デンプン観察、ヒヤクニチソウでの光合成教材特性について検討し、その他の植物素材の探索も行った。

2. 材料と方法

(1) ヒヤクニチソウ葉からの単離細胞

ヒヤクニチソウ(*Zinnia elegans*, キク科, ジニア属)は、物理的破碎処理のみで葉の細胞を単離することができる³⁻⁷⁾。そこで、オオカナダモの代替えとして、ヒヤクニチソウ葉からの単離細胞での葉緑体デンプン観察^{3, 6, 7)}を行った。実験2日前に箱をかぶせ暗所

に置いたヒヤクニチソウを使用した。ヒヤクニチソウ葉は、茎頂近くの緑濃いものを選んだ。葉は対生しているため、一方はチャック付ポリ袋(ユニパック A-4 (70×50 mm, 厚さ 0.04 mm), 生産日本社)で密閉した。密閉処理と無処理の葉の中央部分に顕微鏡用光源ツイン LED 照明(HAD-TW3, 林時計工業 KK)で4時間光照射(照度約 60 klux)を行った^{3, 6)}。照射後、それぞれの葉から中央脈に沿って半分切り取り、たたき染めを行った。切り取った残り半分の葉の光照射部を葉の細胞単離に使用した。また屋外栽培の太陽光下の株でもチャック付ポリ袋処理を行い、葉緑体観察をした。

2) 葉の細胞の単離と葉緑体デンプン観察

マイクロチューブに5mm平方に切取った葉を入れ、ブルーチップを用いて10回ほど壁面にこすりつけるようにしながら押し潰した。これに精製水を0.05mL加え、さらに10回ほど葉を押し潰した。その溶液をスライドグラスに10μL取り、プレパラートを作成した。また必要に応じて、細胞単離後、1/2希釈ヨウ素液で染色し葉緑体デンプンをデジタル生物顕微鏡(BA210 EINT, 島津理化 KK)で観察した^{3, 6, 7)}。

(2) 他の植物からの葉細胞の単離

以下の植物種を用いた。できるだけ花に近い、又は茎頂に近い若い葉を使用して、葉を破碎処理し細胞を単離した。学名等は文献⁸⁾を参照した。センニチコウ(ヒユ科, センニチコウ属), ナデシコ(ナデシコ科, ナデシコ属), ヤマザクラ(バラ科, サクラ属), エンドウ(つるあり)(マメ科, エンドウ属), ク

ズ(マメ科, クズ属), パンジー(スミレ科, スミレ属), ニチニチソウ(キョウチクトウ科, ニチニチソウ属), ペチュニア(ナス科, ペチュニア属), ジャガイモ(ナス科, ナス属), キンギョソウ(ゴマノハグサ科, キンギョソウ属), キンセンカ(キク科, キンセンカ属), イチョウ(イチョウ科, イチョウ属), シロイヌナズナ(アブラナ科, シロイヌナズナ属).

3. 結果と考察

(1) ヒャクニチソウ葉からの単離細胞での葉緑体デンブンプン観察

陸上植物であるヒャクニチソウは葉細胞が簡単に単離できる³⁻⁷⁾。このことは、生徒実験によって光合成による葉緑体デンブンプン観察を行うことができ、オオカナダモの代替えとして使えることを示すと考える。

光照射した葉のたたき染めを行うと、密閉処理をしていない無処理葉では、LED 光が当たっていた部分のみ青紫色に染まり、ヨウ素デンブンプン反応が確認できた(図 1-1 左)。しかしチャック付ポリ袋で密閉した密閉処理葉は光照射部もそれ以外の部分もヨウ素デンブンプン反応は確認できなかった(図 1-1 右)。これは、密閉により光合成に必要な二酸化炭素が不足したためであると考えられる。

細胞単離後ヨウ素染色を行い、葉緑体デンブンプン観察を行うと、たたき染めと同様の結果が得られた。無処理葉では、ヨウ素デンブンプン反応を示した葉緑体を持つ単離細胞を視野全体に確認することができた(図 1-2)。密閉処理葉では、細胞全体がやや茶色に染色されるものの、ヨウ素デンブンプン反応を示す葉緑体はほとんど確認できなかった(図 1-3)。

(2) 他の植物からの葉細胞の単離

探索した身の回りの植物では、葉細胞を単離できる種として、ヒャクニチソウ、ダイズ、オオイヌノフグリ、クズなどが挙げられた。これらの細胞単離が行える種の共通点があるのかなどは今後の課題である。学校現場で教材として用いる際は細胞の大きいヒャクニチソウ、ダイズ、オオイヌノフグリなどが望ま

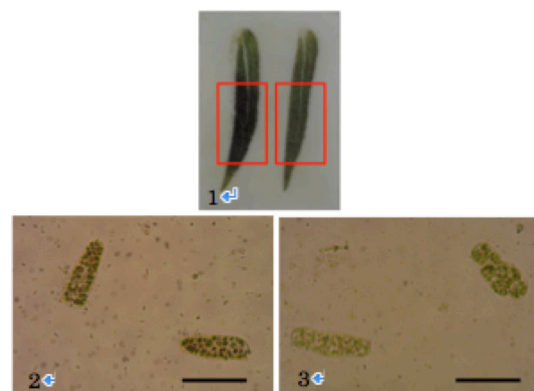


図 1 ヒャクニチソウ葉と細胞でのヨウ素デンブンプン反応

1; 非密閉(左), 密閉(右)での葉の LED 照射(赤枠部分)後の葉縦半分のたたき染め。照射部分の非密閉葉残り半分からの単離細胞(2), 密閉葉残り半分からの単離細胞(3)でのヨウ素デンブンプン反応。

しいと考える。

「植物の生活と種類」の単位では陸上植物の構造と機能について学習するので、二酸化炭素の平衡を考慮する水中で生育するオオカナダモを用いるよりも、維管束植物の特徴を示すことのできる陸上植物ヒャクニチソウを用いることがほうが、内容の連続性統一性からも利点があると考えられる。以上より、ヒャクニチソウなどはオオカナダモの代替えとして、葉緑体デンブンプン観察の実験材料として用いることができると考える。

謝辞

本研究は科学研究費補助金(基盤研究(C), 課題番号 25350257)の助成を得た。

参考文献

- 1) 新井直志:「オオカナダモを使った観察や実験 その(1), (2)」, 理科の教育, 63(742), (743), pp. 344-345, pp. 418-412, 2014.
- 2) 百瀬忠征: 32 巻 2 号; pp. 72-77, 32 巻 3 号; pp. 73-79, 「遺伝」, 1976, 裳華房.
- 3) 正元和盛・竹市稜子・坂田孝久・西田成一:「葉緑体デンブンプン観察のためのオオカナダモ葉・ヒャクニチソウ葉細胞の素材開発と理科教員実技研修での活用」, 熊本大学教育実践研究, 第 32 号, pp. 39-49, 2014.
- 4) Fukuda, H., Komamine, A.: Plant Physiol. 65, pp. 57-60, 1980.
- 5) 福田裕穂(2004):「植物の体づくりの謎に挑むー培養細胞と網羅的な遺伝子解析からのアプローチ」, pp. 5-7, No. 282, 理研ニュース.
- 6) 竹市稜子・正元和盛:「ヒャクニチソウを用いた光合成実験のための教材開発」, 熊本生物研究誌, 第 45 号, pp. 8-13, 2014.
- 7) 松茂良美穂・正元和盛:「葉の細胞単離と光合成について」, 熊本生物研究誌, 第 45 号, pp. 1-7, 2014.
- 8) 米倉浩司・梶田忠:「BG Plants 和名-学名インデックス」(YList), http://bean.bio.chiba-u.jp/bgplants/ylist_main.html (2014. 11. 6).