

ストレス環境下における植物の防御機能についてpart 2

～アントシアニンの生合成のメカニズムと部位の法則～

茨城県立並木中等教育学校 科学研究部
3年次 門和樹 出張俊輔 庄田龍平

1 研究の動機

昨年の研究では、強光性ストレスによって植物に蓄積されるアントシアニンの量は光に当てる時間が多いほど増加するということがわかった。しかし、アントシアニンはどの部位から生成されるか、どのようなメカニズムで生成されるのか、という2点は調べていなかった。そのため、本年度の実験はその2点を主体としたものにしたと思い、本研究を行うこととした。

2 研究の目的

アントシアニンの生合成のメカニズムと部位の法則を見出すことを目的とする。

3 仮説

アントシアニンはストレスを受けるとクロロフィルが分解されアントシアニンが生合成されると考えた。また、アントシアニンは光が強く当たる方向に葉に近い方から蓄積すると考えた。

4 実験の方法

<実験1-1>

- ①光を0時間、4時間、8時間、12時間与えたブロッコリースプラウトを育てた。
- ②時間ごとに茎と葉をそれぞれ0.8gを水3mL溶媒として入れてすり潰した。
- ③それぞれ3000rpmの遠心分離機に5分間かけた。
- ④③の物の上澄み液を20000rpmの遠心分離機に5分間かけた。
- ⑤④の物の上澄み液を20000rpmの遠心分離機に5分間かけた。
- ⑥⑤の物の吸光度を測りアントシアニンの量とクロロフィルの量を比較した。
- ⑦同様の操作をクロロフィルを計測するためにエタノールを溶媒にした場合も行った。

<実験1-2>

- ①光を毎日12時間与えたブロッコリースプラウトを育てた。
- ②発芽したスプラウトの葉を片方取り、実験1の②～⑥と同様の操作を行い通常のものと比較とした。
- ③同様の操作を葉を両方取ったものでも行った。

<実験2>

- ①ブロッコリースプラウトの種を10個トレーに乗せて育てた。
- ②カメラを使い1時間に1枚写真を撮った。
- ③取った写真からアントシアニンがどのタイミングでどこから蓄積されていくかを調べた。

<実験3>

- ①トレーに種を撒き5日間毎日12時間光を当てて育てた。
- ②育てたものの葉を切り取り位相差顕微鏡を使用し、葉の裏表のアントシアニンの分布を調べた。
- ③葉の表裏それぞれを顕微鏡を用い細胞レベルまで拡大し、表面の細胞を観察し、アントシアニンの分布の差を調べた。また、茎も同様の操作を行った。

④葉を縦に切り断面を観察し、アントシアニンが葉のどの部分に蓄積されているか調べた。

〈実験4〉

- ①ブロッコリースプラウトをトレーにのせ、育てた。
- ②育てているブロッコリースプラウトは毎日10時から14時まで光が当たらない場所に置いた。
- ③8時間光を当てたものも育て、実験1の②～⑥と同様の方法でアントシアニンの量を比較した。

〈実験5〉

- ①密閉容器の中にブロッコリースプラウトを入れ、水上置換法で集めたエチレンガスを容器の容積4.5Lの200ppm(0.9mL)入れ、密閉した。
- ②ブロッコリースプラウトを5日間、毎日2時間光に当てて人工気象器で育てる。その間、密閉容器は開けず、水の量が減ったら水が出てくる水やり機を使用した。
- ③エチレンガスを与えたものと、与えていないもののアントシアニンの量を計測し、それぞれを比較した。

〈実験6〉

- ①ブロッコリースプラウトを発芽するまで育てた。
- ②発芽後片方に毎日 10^{-6} molのオーキシンを約4mL霧吹きで与え、もう片方はコントロールとしてそのまま育てた。
- ③オーキシンを与えたものと与えてないもののアントシアニンの量を計測し、それぞれを比較した。

5 結果と考察

〈実験1-1〉

【結果】



図1 葉のアントシアニンとクロロフィルの量 図2 茎のアントシアニンとクロロフィルの量

【考察】

図1、2より光を当てる時間が長くなるにつれアントシアニンの量もクロロフィルの量も多くなっていた。このことから、クロロフィルはアントシアニンを生合成するために使われているが光が当たることによってクロロフィルも同時に作られていると考えられる。よって、アントシアニンが増加するとクロロフィルが減少するといった相関はないと考えられる。

〈実験1-2〉

【結果】

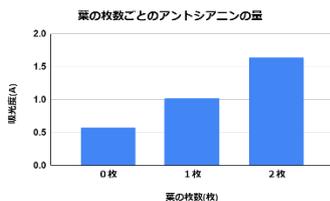


図3 葉の枚数ごとのアントシアニンの量

【考察】

図3から葉の枚数が少なくなるほどアントシアニンの量が減少した。このことから、葉がなくなるとその分の生合成されるクロロフィルが少なくなることからアントシアニンの生産量も比例して減少していくと考えられる。

<実験 2>

【結果】



表1 ブロッコリースプラウトの時間ごとの写真 下の方からだんだんアントシアニンが蓄積されていた。

【考察】

表1より下の方からだんだんアントシアニンが蓄積されていた。このことから、アントシアニンは葉などで生成されたあとだんだんに根の近くに行き根の近くから蓄積されていくか、または、茎の根元にも光受容してストレスを感じる部位があるのではないかと考えられる。

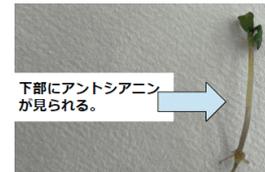


図4 下部にアントシアニンが蓄積しているスプラウト

<実験 3>

【結果】

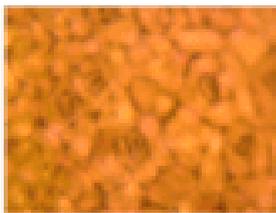


図5 葉の表側の表面の細胞



図6 葉の裏側の表面の細胞



図7 茎の表面の細胞

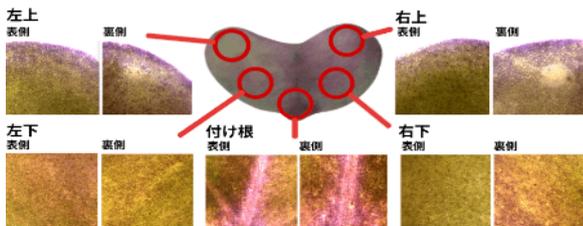


図8 部位ごとのアントシアニンの分布



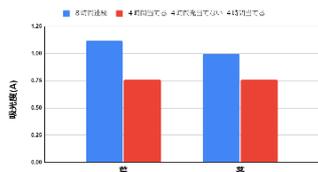
図9 葉の中心の縦の断面

【考察】

アントシアニンが葉の表側に比べて、裏側に多く発生したことから、葉の裏側の方が本来日光に当たりにくく、強光性ストレスに対する耐性が低いのではないかと考えた。また、葉の一部が黄色に変色し、葉の縁や茎と葉の縁など葉の他の部分のアントシアニンの色に変化があった。この差はphの差によって色が変わったとは考えにくいので、葉などの部位ごとに生成されるアントシアニンの種類が違うのではないかと考えた。また、実験2では茎の付け根からアントシアニンが蓄積されていった。このことから、アントシアニンは主に葉で生合成されると葉の縁や茎の下部から蓄積していき、だんだんスプラウトの茎の上部などの中心の方へと順に蓄積していくと考えられる。

<実験 4>

【結果】



葉のアントシアニンの量が連続的に光を当てた時に多い。

図10 光を連続で当てた時とそうでないときのアントシアニンの量の変化

【考察】

光を連続的に当てたときとそうでないときでスプラウトのアントシアニンの量に大きな差ができた。このことから、光を連続的に当てているとき強光性ストレスを受けやすく、アントシアニンが生合成されやすいと考えられる。また、一度光を遮断すると、光によるストレスがなくなるため再びアントシアニンを作り出すのに時間がかかると考えられる。

〈実験5〉

【結果】

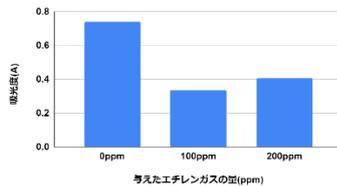


図11 エチレンガスを与えた時のアントシアニンの量の変化

【考察】

エチレンガスをブロッコリースプラウトに与えたとき、ブロッコリースプラウトのアントシアニンの量が減少した。このことから、エチレンガスを植物に与えると茎が肥大化し茎の長さは短くなることによって表面積が減り、強光性ストレスを受けにくくなると考えられる。また、エチレンガスの量を2倍にしたときアントシアニンの量に大きな差は見られなかった。このことから、エチレンガスの量とアントシアニンの蓄積量は関係ないと考えられる。

〈実験6〉

【結果】

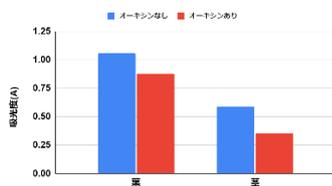


図12 オーキシンを与えた時とそうでないときのアントシアニンの量

【考察】

オーキシンをブロッコリースプラウトに与えたとき、オーキシンを与えなかったものよりアントシアニンの量が少なくなった。このことから、オーキシンによる成長促進作用によってブロッコリースプラウトは成長するがアントシアニンの生合成は促進されないと考えられる。また、オーキシンの成長促進作用によって葉、茎がどちらも大きくなっていった。このことから、茎や葉が大きくなりスプラウト1つあたりの重さが大きくなり、0.8g分のスプラウトの数が減少したことによりアントシアニンが減少していると考えられる。上記のことから、葉や茎の大きさが変わっても、一定時間で受けるストレスの量は変わらないと考えられる。

6 まとめ

- ・アントシアニンは、葉で主に生合成されている。
- ・アントシアニンは、葉の裏側や縁、茎の下部から蓄積されていく。
- ・光を連続で与えた時、アントシアニンは多く生合成される。
- ・エチレンガスやオーキシンを与えてもアントシアニンの生合成は促進されない。