

## 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  
鈴木 宏典 藤原 雅也 三澤 亮介

## 1. 要約

普段紅葉しないオオカナダモを用いて、どの糖が紅葉誘導に有効であるかを調べた。紅葉誘導に有効な糖を限定し、以下の実験を行った。紅葉誘導に与える光の影響を調べるために、紫外光と可視光を照射し、違いを比較した。紅葉と光合成活性の関連性についても調べた。また、落葉樹のカエデと常緑樹のナンテンとサザンカを用いて、糖によって紅葉が誘導されるかどうかや、温度や光の影響についても調べた。

紅葉誘導に有効な糖は、果糖、ショ糖、ブドウ糖であった。糖で紅葉誘導を行った場合、紫外光では、UVAと短時間照射のUVB、可視光では、青色の光と赤色の光が、紅葉を促進させる効果があるが、UVCと長時間照射のUVBと緑色の光は紅葉を抑制する。イオン水で培養した場合、短時間照射のUVB・UVCが紅葉を促進させる効果がある。光合成活性は、クロロフィルが減少してもほとんど低下しないが、アントシアニンが生成されることで急激に低下してくる。また、常緑樹でも糖を加え低温にすることにより紅葉が誘導されることが確認できた。

## 2. 緒言

紅葉とは、秋にみられる自然現象であるが、そのメカニズムはほとんど解明されていない。百瀬<sup>1)</sup>によると、オオカナダモは糖によって紅葉を誘導させることができる。オオカナダモや常緑樹や落葉樹を実験材料にして、光(紫外光と可視光)の条件を変えて紅葉に与える影響を調べたり、紅葉の進行と光合成活性の関係を調べることで紅葉のメカニズムを解明しようと試みた。

## 3. 目的

黄葉はクロロフィルが分解されるだけだが、紅葉はクロロフィルが分解されてアントシアニンが生成されることで起こる。黄葉も紅葉も同じように落葉してしまう葉であるのに、紅葉する葉は何のためにアントシアニンを生成するのかを疑問に思った。そこで、紅葉のメカニズムや、紅葉に影響を及ぼす要因を調べてみることにした。

## 4. 研究内容

## &lt;実験材料1&gt;

オオカナダモは、ペットショップでアナカリスとして売られているものを用いた。

## 実験1. 紅葉の誘導における糖の種類の影響

## &lt;方法&gt;

(1) 培養法<sup>1)</sup>

下記の5種類の糖を用い、紅葉の誘導における糖の種類の影響を調べた。

ブドウ糖、果糖、ショ糖、麦芽糖、乳糖

シャーレを用い、各糖の0.1mol/Lの濃度の水溶液8mLに、オオカナダモの切断した葉8枚を入れ、24±1℃、930luxのインキュベーター内で1～10日間培養した。

対照実験として、糖の水溶液の代わりに、イオン水を用いた。

(2) アントシアニンの吸光度の測定<sup>1)</sup>

各培養日毎の葉4枚から、0.1%塩酸4mLで、アントシアニンを一晩・暗で抽出し、抽出液の514nmにおける、吸光度を測定した。

514nmの波長設定は、0.1%塩酸によって抽出された抽出液の吸収スペクトルを調べると、図1のように、吸収スペクトルのピークが514nmに現れたからである。

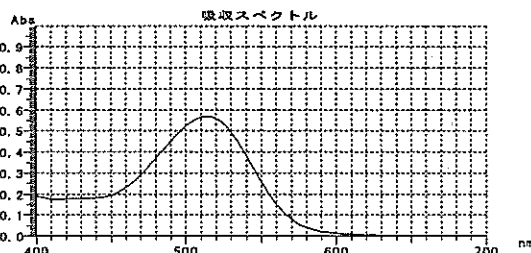


図1 アントシアニンの吸収スペクトル

## (3) クロロフィルの吸光度の測定

クロロフィルも同様にして、葉4枚からメタノールとアセトンを3:1で混ぜた抽出液4mLで、一晩・暗で抽出し、抽出液の664nmにおける、吸光度を測定した。

664nmの波長設定は、メタノールとアセトンを3:1で混ぜた抽出液の吸収スペクトルを調べると、図2のように、クロロフィルの吸収スペクトルのピークが、664nmに現れたからである。

400～500nmのピークは、キサントフィルやクロロフィルが混合しているので、今回は、664nmでの測定を行った。

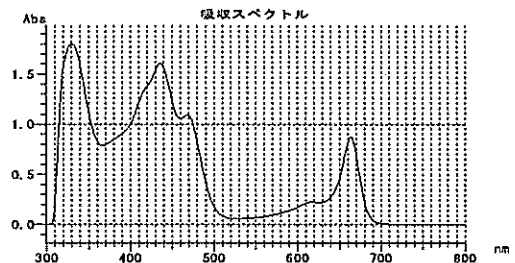


図2 クロロフィルの吸収スペクトル

## (4) ショ糖で培養した場合の葉への糖の取り込まれ方の確認

ショ糖には還元性がないことを利用して、培養前のショ糖水溶液、2日間培養後のショ糖水溶液に、フェーリング反応を行い、オオカナダモの葉を培養後のショ糖水溶液が、どのように変化したかを確認した。

## &lt;結果&gt;

図3より、アントシアニンの吸光度を比較すると、果糖、ショ糖、ブドウ糖、麦芽糖の水溶液で培養したものがアントシアニンの生成量が多いことがわかる。培養3～4日目からアントシアニンの生成が始まり、5～6日目でピークを迎えるものが多い。イオン水で培養したものは、アントシアニンはほとんど生成されない。

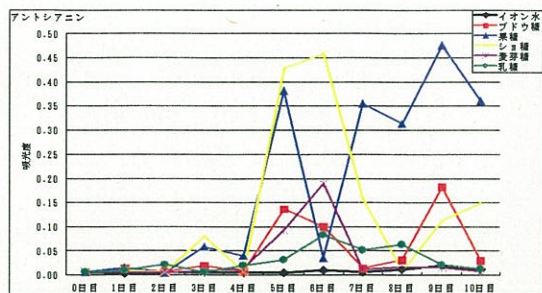


図3 糖の種類によるアントシアニン量の変化

また、図4より、クロロフィルの吸光度を比較すると、イオン水ではクロロフィルの減少量が小さいのに対し、糖の水溶液中で培養したものはすべて、クロロフィルの減少量が大きいことが確認できる。

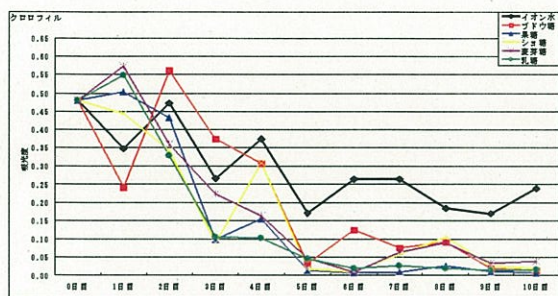


図4 糖の種類によるクロロフィル量の変化

紅葉の誘導に及ぼす糖の影響を見るために、培養日数毎に写真を撮り比較を行った。(図5)

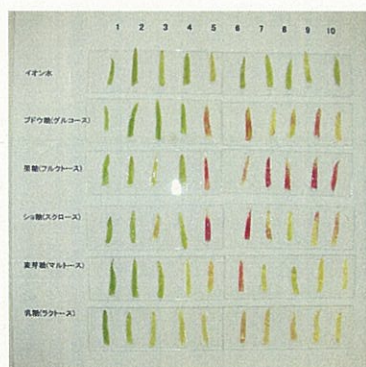


図5 紅葉の誘導に及ぼす糖の種類の影響 (数字は培養日数を表す)

5日目に紅葉がはっきり確認できたので、5日目のアントシアニンの量とクロロフィルの量を、糖の種類によって比較した。

図6より、培養5日目では、ショ糖、果糖、ブドウ糖の水溶液中で培養した葉のアントシアニンの生成量が高いことがわかる。クロロフィルの量に関しても、上記の3種類の糖の値が、極端に低くなっている。

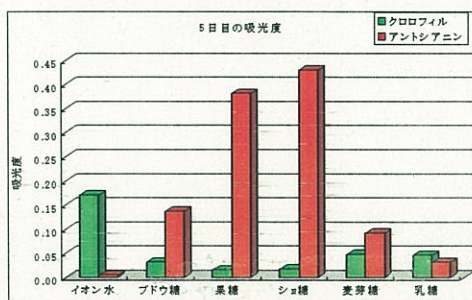


図6 培養5日目の紅葉誘導に与える糖の種類の影響

ショ糖は二糖類、果糖とブドウ糖は単糖であるので、ショ糖で培養した場合、葉がどの糖の形で吸収を行っているかをフェーリング反応で確認した結果、培養後のショ糖水溶液の反応の結果から、わずかではあるが還元性を示す結果が現れた。(図7)



図7 培養後のショ糖水溶液のフェーリング反応

紅葉は、まず、クロロフィルが分解され減少し、それに伴い、アントシアニンが生成されることによって起きることが確認できる。(図8)

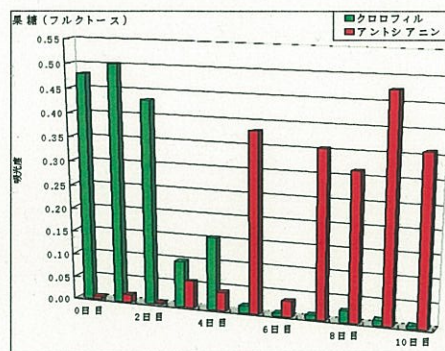


図8 果糖で培養したときの日毎の変化

<考察>

アントシアニンの生成量を比較すると、紅葉の誘導に最も有効な糖は、ショ糖、果糖、ブドウ糖、であることがわかる。

フェーリング反応の結果から、ショ糖は一部、果糖とブドウ糖に分解されたと考えられるが、ショ糖も多く残っているため、ショ糖のまま、もしくは、果糖やブドウ糖に分解してから吸収を行っていると考えられる。

上記の3種類の糖は、光合成の結果、生成される糖であるので、細胞内へ積極的に取り込まれ、アントシアニン生成に利用されたと考えられる。また、アントシアニンの生成量が高い糖ほど、クロロフィルが分解されていることがわかる。

イオン水には、クロロフィルを分解する効果も、アントシアニンの生成を促進させる効果もないことがわかる。

実験に使ったすべての糖は、クロロフィルの分解を促進する効果がある。このことから、クロロフィルの分解は、糖を加えたことによるストレスによるものと考えられる。

乳糖や麦芽糖には、アントシアニンを生成する効果はあまりない。

乳糖は動物に特有の糖であるため、植物細胞には、その分解能力がなく、アントシアニンの生成には利用できなかったのではないかと考える。

麦芽糖も、光合成によって葉が合成する糖の種類ではないので、葉では分解されにくく、アントシアニンの生成には用いられにくかったのではないかと考える。

糖によるクロロフィルの分解に必要な日数は、5日程度であり、紅葉の誘導にかかる日数は、5~7日であることがわかった。

実験2. 紅葉の誘導におけるUVの影響

<方法>

(1) UVの照射方法

①UVAについて

シャーレに水で濡らしたろ紙を敷き葉を並べ、UVA(強度 420 μw/cm<sup>2</sup>, 葉からの距離は10cm) で一定時間(3~18時間) 照射した。紫外線源には、ブラックライト(波長 370.0nm) を用いた。

②UVBについて

シャーレに水で濡らしたろ紙を敷き葉を並べ、UVB(強度 390 μw/cm<sup>2</sup>,

葉からの距離は20 cm) で一定時間(30秒~5時間)照射した。

紫外線源には、殺菌灯(波長306.0nm)を用いた。

③UVCについて

シャーレに水で濡らしたろ紙を敷き葉を並べ、UVC(強度345 $\mu$ w/c m<sup>2</sup>、葉からの距離は20 cm) で一定時間(5秒~5分)照射した。

紫外線源には、殺菌灯(波長253.7nm)を用いた。

(2) 培養法

紅葉の誘導におけるUVの影響を調べるために、3種類のUVを照射し、実験1で紅葉の誘導に効果があった3種類の糖(ブドウ糖、果糖、ショ糖)の0.1mol/Lの濃度の水溶液8mLまたは、イオン水8mLに、オオカナダモの葉10枚を入れ、24 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C、1700luxのインキュベーター内で5日間培養した。

対照実験として、UVを照射していない葉も同様に培養した。

(3) アントシアニンとクロロフィルの吸光度の測定

実験1と同様の抽出液を用い、各条件毎に得られた5枚の葉を、4mLの抽出液に入れ、一晚・暗中で抽出し、吸光度を測定した。

(4) 顕微鏡による細胞の観察

色素の生成の状態、葉緑体の量、原形質流動の有無を観察した。

<結果>

①UVAについて

図9、図10、図11より、イオン水では、9時間と12時間で若干紅葉が見られるが、ほとんど変化が見られない。3種類の糖の水溶液で培養した場合は、6時間を越えたあたりから紅葉が促進されているのがわかる。

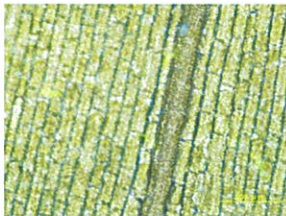


図9 オオカナダモ

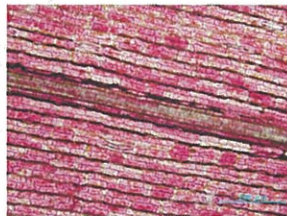


図10 9時間UVAを照射後培養した葉

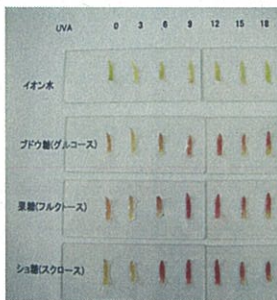


図11 UVA照射後5日間培養した葉の状態

吸光度からも、UVAの照射時間が3時間の場合は、照射しない場合に比べて、アントシアニンの値が低くなっている。また、6時間以上では、照射時間が長くなるにつれて、アントシアニンの値の上昇が見られるが、15時間ではすべての糖で値が減少し、18時間でショ糖と果糖については、再び値が高くなっている。(図12)

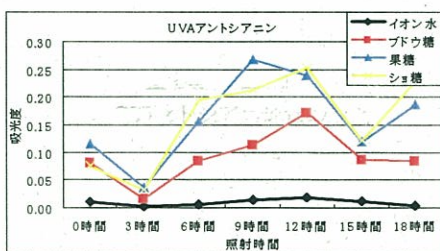


図12 UVA照射時間の違いによるアントシアニン量の変化

クロロフィルについては、糖の水溶液で培養したものは、照射時間が長くなるにつれて値の減少が見られるが、15時間以上では、若干だが値が上昇している。イオン水では、値の変動が大きいが総合的にみると、あまり減少がみられない。(図13)

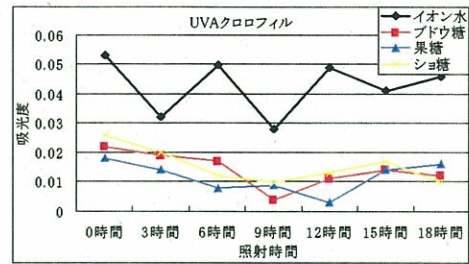


図13 UVA照射時間の違いによるクロロフィル量の変化

②UVBについて

UVBは、5分以上照射した場合は、アントシアニンの生成は抑制され、1時間以上照射した場合は、原形質流動も見られなくなり、葉緑体もかなり破壊されていた。(図14)

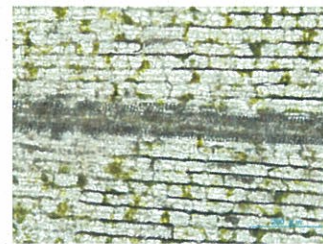


図14 1時間UVBを照射後培養した葉

図15より、UVBの場合は、イオン水でも0.5分、2分、3分では、紅葉が促進されることが確認できる。糖の水溶液で培養した場合は、3分以内で紅葉が促進されている。

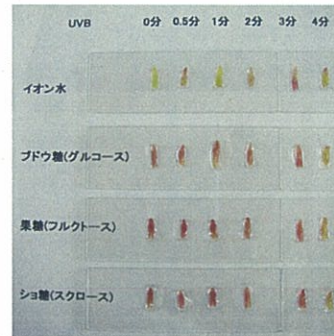


図15 UVB照射後5日間培養した葉の状態

吸光度からアントシアニンの量はイオン水でも糖の水溶液でも照射時間3分以内であれば、照射時間が長くなるに伴って、値が高くなっている。4分を過ぎると、急に値が低くなる。(図16)

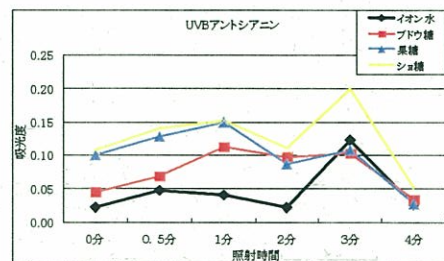


図16 UVB照射時間の違いによるアントシアニン量の変化

クロロフィルについては、糖の水溶液で培養した場合は、UVBの照射時間が長くなっても特に変化は見られなかった。イオン水で培養した場合、照射時間1分のときにクロロフィル量が照射していないものに比べて、1.7倍に増加している。(図17)

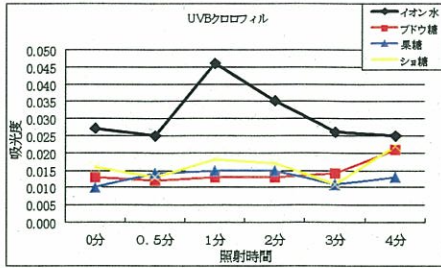


図17 UVB照射時間の違いによるクロロフィル量の変化

③UVCについて

UVCは、30秒以上照射した場合は、アントシアニンの生成は抑制され、5分以上照射した場合は、原形質流動も見られなくなり、葉緑体もかなり破壊されていた。(図18)

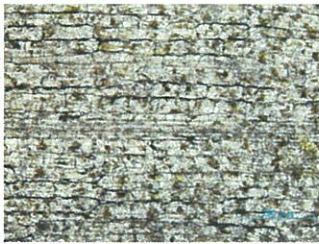


図18 5分間UVCを照射後培養した葉

図19より、UVCの場合は、イオン水でも10秒では、わずかではあるが紅葉が促進されることが確認できる。糖で培養した場合は、果糖の場合は、15秒以内で、ブドウ糖とショ糖の場合は、10秒以内で紅葉していることが確認できる。

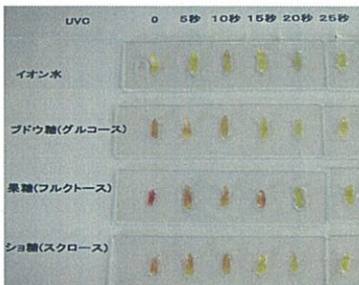


図19 UVC照射後5日間培養した葉の様子

吸光度からアントシアニンの量は、果糖とブドウ糖の水溶液で培養した場合は、照射時間が0分の場合が最も値が高く、照射時間が長くなるにつれ、徐々に値が減少し、20秒を過ぎると、紅葉の誘導を行っていない葉(水槽の中で育てている葉)と同じになる。ショ糖で培養した場合は、照射時間が10秒のときに、生成量が増加しその後減少する。イオン水で培養した場合は、照射時間が10秒以内であれば、アントシアニンの生成が促進される。(図20)

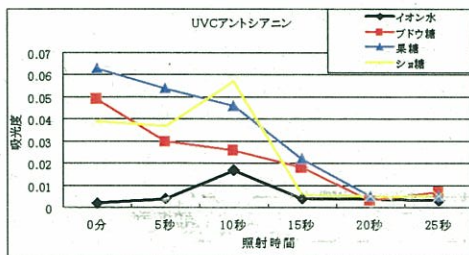


図20 UVC照射時間の違いによるアントシアニン量の変化

クロロフィルの値に関しては、最も紅葉している0分が値が低く、糖の水溶液で培養した場合は15秒以内、イオン水で培養した場合は10秒以内で照射時間が長くなるにつれて、値が高くなっている。(図21)

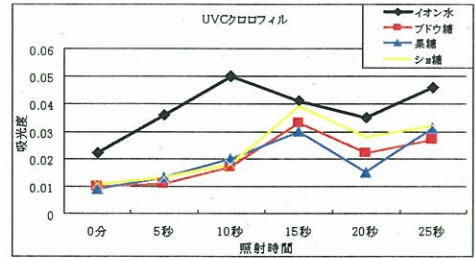


図21 UVC照射時間の違いによるクロロフィル量の変化

<考察>

①3種類の糖の水溶液で培養した場合

UVAでは6時間以上12時間までであれば、照射時間が長いほどアントシアニンの生成が促進される。自然界では、通常、日照時間が15時間を越えることはないので、15時間では促進効果が下がったのではないかと考える。

UVBでは照射時間が3分以内であれば、アントシアニンの生成が促進されている。UVBは、長時間照射することで植物の成長を抑制する効果もあり、4分以上の照射では、アントシアニンを生成するために必要な酵素などが、破壊されてしまうのではないかと考える。

UVCはDNAに損傷を与える波長であるため、照射するとアントシアニンを生成するために必要な酵素自体が作られなくなるので、アントシアニンの生成が抑制されてくると考えられる。果糖とブドウ糖の水溶液で培養した場合は、照射時間が長くなると、アントシアニンの生成が減少するのに対して、ショ糖の水溶液やイオン水で培養した場合は、照射時間が10秒のときがもっともアントシアニンが生成されている。ショ糖と果糖・ブドウ糖の細胞への取り込まれ方の違いを確認できれば、アントシアニン生成の仕組みがわかるのではないかと考える。

②イオン水で培養した場合

UVAは太陽光に多く含まれる光であるため、水だけでは実験1の結果と同様に紅葉誘導は起こらなかった。紅葉誘導にはやはり糖が必要である。

一方で、UVBを照射したときは、水だけでも関わらず、アントシアニンが生成されている。普段、オオカナダモは水中で生育しているため、今回実験で照射したような強さのUVBがあたることはない。そのため、自らの細胞を守るために、紫外線を吸収する効果があるアントシアニンを生成したり、紫外線を吸収する効果があるクロロフィルを増加させたと考えられる。

UVCでは、糖の水溶液で培養した場合とは逆に、10秒まではUVCを照射した方がアントシアニンの生成が促進されている。UVCから細胞を守るために、アントシアニンの生成を行ったと考えられる。

実験3. 紅葉の誘導における光の色の影響

<方法>

(1) 光の照射方法

- ①赤色LED (波長635nm、照度1800lux)
- ②青色LED (波長474nm、照度290lux)
- ③黄色LED (波長530nmと635nm、照度6500lux)
- ④緑色LED (波長530nm、照度3000lux)

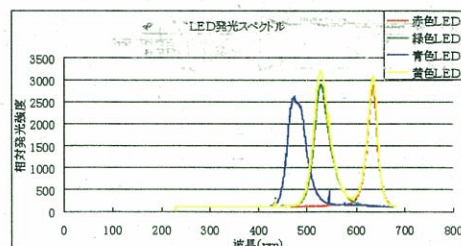


図22 LED発光スペクトル

## (2) 培養方法

紅葉の誘導における光の色の影響を調べるために、図23に示した装置を用い、上記①～④の光を連続照射しながら、 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ で5日間培養した。培養液には、 $0.1\text{mol/L}$ の果糖水溶液とイオン水を用いた。

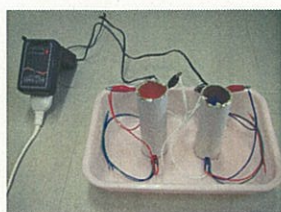


図23 照射装置

## (3) アントシアニンとクロロフィルの吸光度の測定

実験1と同様の抽出液を用い、各条件毎に得られた5枚の葉を、4mLの抽出液に入れ、一晚・暗中で抽出し、吸光度を測定した。

## &lt;結果&gt;

## ①果糖水溶液で培養した場合

青色と赤色と黄色の光を照射した場合、アントシアニンの生成が促進されている。緑色の光を照射した場合は、アントシアニンの生成が抑制されていた。(図24)

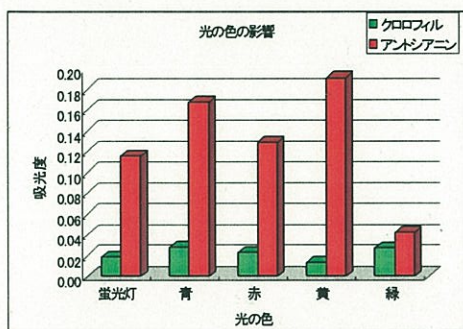


図24 光の色の影響 (果糖水溶液で5日間培養)

## ②イオン水で培養した場合

光の色に関係なく、アントシアニンは生成されなかった。(図25)

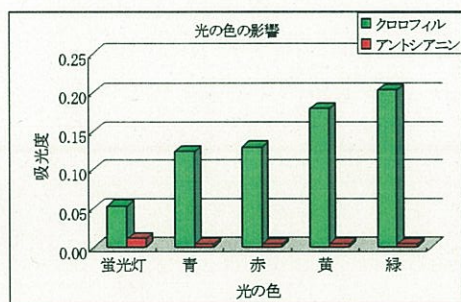


図25 光の色の影響 (イオン水で5日間培養)

## &lt;考察&gt;

青色と赤色の光は、光合成に用いられる光であるので、アントシアニンの生成にも促進効果があると考えられる。今回の実験では青色の光は、赤色の光に比べて、かなり照度が低いにもかかわらず、アントシアニンの生成促進効果が高い。アントシアニンの生成には、青色の光が最も有効であると考えられる。アントシアニンなどのフラボノイド系の色素の生成には、フィトクロムが関与するといわれているので、赤色の光は、フィトクロムにも影響を与え、アントシアニン生成を促進したと考えられる。黄色の光は、赤色と緑色の光が混合した状態になっているので、赤色の光の影響が強くて、アントシアニンが生成されたのではないかと考えられる。緑色の光はもともと光合成に用いられない光であるので、アントシアニンの生成には効果がなかったのではないかと。

イオン水で培養した場合は、光の色の影響はみられず、紅葉促進には糖の存在が必要であることが確認できた。

## 実験4. 培養日数の違いによる光合成活性の測定

## &lt;方法&gt;

## (1) 培養法

実験1で紅葉の誘導に効果があった3種類の糖(ブドウ糖、果糖、ショ糖)の $0.1\text{mol/L}$ の濃度の水溶液8mLまたは、イオン水8mLに、オオカナダモの葉20枚を入れ、 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 $1300\text{lux}$ のインキュベーター内で7日間培養した。

## (2) アントシアニンの吸光度の測定

実験1と同様の抽出液を用い、各条件毎に得られた5枚の葉を、4mLの抽出液に入れ、一晚・暗中で抽出し、吸光度を測定した。

## (3) クロロフィルの定量

クロロフィルは、葉5枚をジメチルホルムアミド4mLで一晩、低温・暗中で抽出した。

抽出液の663.8nmと646.8nmと750.0nmにおける吸光度を測定し、以下の計算式により、クロロフィル量を求めた。

$$\text{クロロフィルa} : 12.00 \times (A_{663.8} - A_{750.0}) - 3.11 \times (A_{646.8} - A_{750.0})$$

$$\text{クロロフィルb} : 20.78 \times (A_{646.8} - A_{750.0}) - 4.88 \times (A_{663.8} - A_{750.0})$$

Porra, R.J., Thompson, W.A., and Kriedemann, P.E. (1989) BBA 975:384-394

## (4) 顕微鏡による細胞の観察

色素の生成の状態、葉緑体の量、原形質流動の有無を観察した。

## (5) 光合成活性の測定

PAM 蛍光装置を用いて、培養後の葉3枚ずつを紙の上に重ねて並べ、光合成活性を各条件につき6回測定した。

## &lt;結果&gt;

図26より、イオン水で培養した場合、葉緑体は、2日目まではあまり変化はみられないが、3日目になると急激に減少し、色も悪くなっていく。その後は、あまり減少がみられなかった。



図26 イオン水で培養した場合

図27より、ブドウ糖の水溶液で培養した場合、葉緑体は3日目から色が悪くなり、5日目以降は減少がみられた。

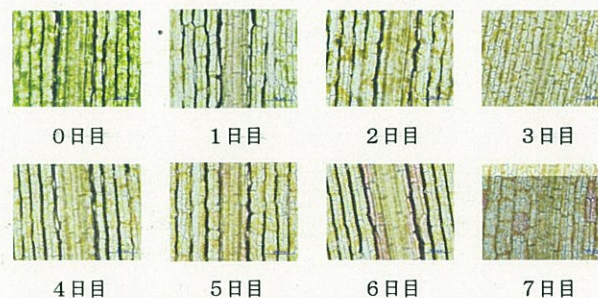


図27 ブドウ糖の水溶液で培養した場合

図28より、果糖の水溶液で培養した場合、葉緑体は3日目から色が悪くなり、4日目以降は減少がみられた。

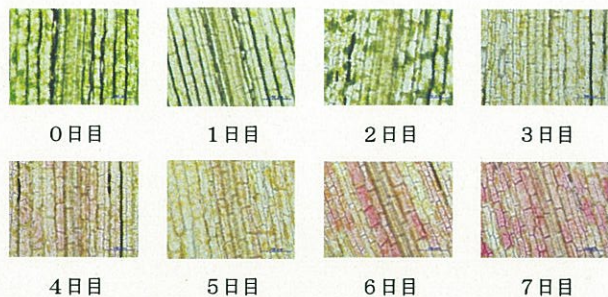


図28 果糖の水溶液で培養した場合

図29より、ショ糖の水溶液で培養した場合、葉緑体は3日目から色が悪くなり、3日目以降減少がみられた。

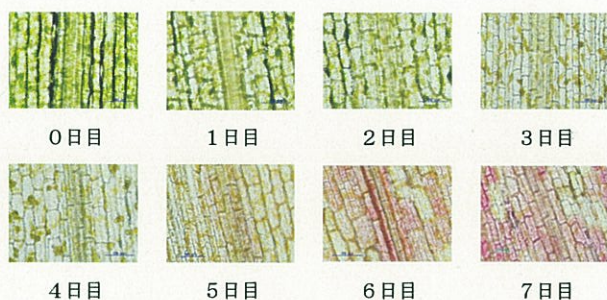


図29 ショ糖の水溶液で培養した場合

アントシアニンの吸光度を比較すると、糖の水溶液で培養した場合、果糖では4日目から、ショ糖・ブドウ糖では5日目から、アントシアニンの生成がみられ、果糖では6日目でピークをむかえ、ショ糖・ブドウ糖では7日目がもっとも生成量が多くなっていた。イオン水で培養した場合、やはり、アントシアニンの生成はみられなかった。(図30)

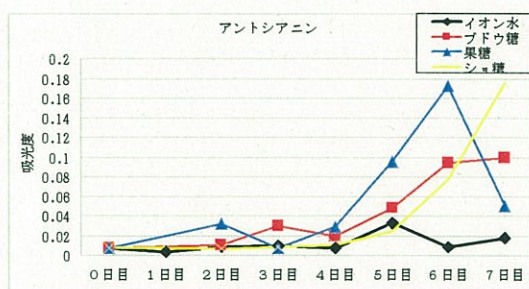


図30 アントシアニン量の変化

クロロフィルaもクロロフィルbもショ糖・ブドウ糖の水溶液で培養した場合培養1日目が、果糖水溶液・イオン水で培養した場合培養2日目がもっとも値が高く、3日目にはすべての培養液で急激に減少した。イオン水は、それ以降はあまり変化はみられなかったが、糖の水溶液では、さらに減少が進み、ほとんどなくなってしまった。(図31、図32)

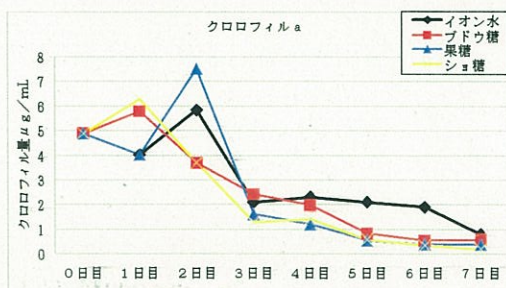


図31 クロロフィルa量の変化

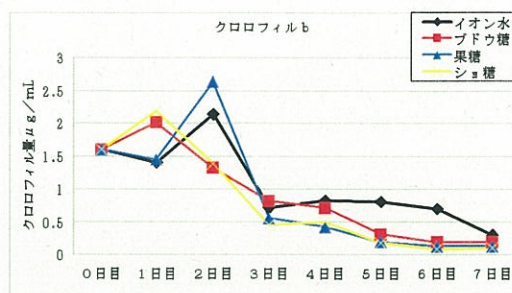


図32 クロロフィルb量の変化

光合成活性は、イオン水で培養した場合は、培養日数に関係なくほとんど値の変化はみられない。糖の水溶液で培養した場合は、5日目までは緩やかに減少し、6日目を以降急激に減少した。(図33)

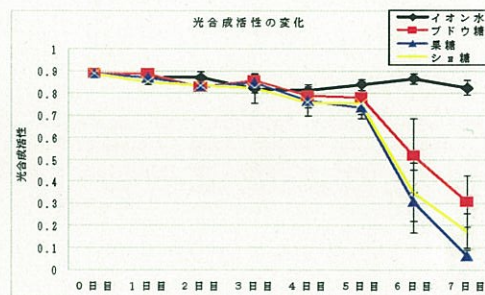


図33 光合成活性の変化

#### <考察>

##### ①糖の水溶液で培養した場合

葉緑体の色が悪くなってくると同時に、クロロフィルa・bの量も減少してることがわかった。クロロフィルa・bの量は培養3日目に急激に減少するが、光合成活性は3日目での減少はみられず、6日目を以降急激に減少していた。このことから、光合成活性の減少は、クロロフィルの減少によるものではないといえる。

アントシアニンは、5日目を以降生成量が増加してくる。これは、光合成活性の減少の時期と同時であることから、アントシアニンが生成されることにより、光合成活性が下がったといえる。アントシアニンは図1より、400nm~600nmの波長の光を吸収することがわかる。生成されたアントシアニンにより光合成に必要な青色の領域の光が吸収されてしまい、光合成活性が下がったと考える。

##### ②イオン水で培養した場合

クロロフィルa・bの量は、3日目に急激に減少するが、光合成活性は7日目までほとんど変化しない。上記で述べたように、光合成活性の減少が、クロロフィルの減少によるものではないという裏づけとなる。

さらに、アントシアニンは、生成されていないことから、上述したように光合成活性の減少は、生成されたアントシアニンによるものではないといえる。

#### <実験材料2>

自然の状態では紅葉が起こる落葉樹のカエデ、紅葉しない常緑樹のサザンカ、条件によっては紅葉することもある常緑樹のナンテンを用いた。

#### 実験5. 紅葉の誘導における糖の影響

##### <方法>

##### (1) 培養法

下記の3種類の糖で、紅葉の誘導における糖の種類の影響を調べた。ブドウ糖、果糖、ショ糖  
シャーレを用い、各糖の0.1mol/Lの濃度の水溶液8mLに、葉を穴あけパンチで抜いた切片を50枚入れ、 $9 \pm 1^\circ\text{C}$ 、850luxのインキュベーター内で1~35日間培養した。

対照実験として、糖の水溶液の代わりに、イオン水を用いた。

(2) アントシアニンとクロロフィルの吸光度の測定

実験1と同様の抽出液を用い、各条件毎に得られた4枚の葉を、4mLの抽出液に入れ、一晩・暗中で抽出した。

実験に用いた葉のアントシアニンとクロロフィルの吸収スペクトルを測定した結果、アントシアニンは、サザンカで512nm、ナンテンで514nm、カエデで500nmに吸収スペクトルのピークが現れたが、今回の実験では514nmに統一して吸光度を測定した。クロロフィルは、すべての葉で664nmに吸収スペクトルのピークが現れたので、664nmで吸光度を測定した。(図34、図35)

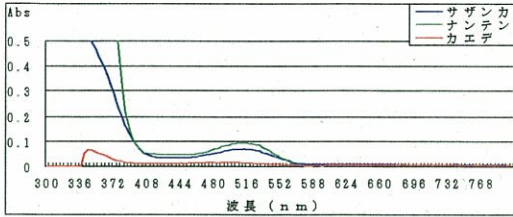


図34 葉のアントシアニンの吸収スペクトル

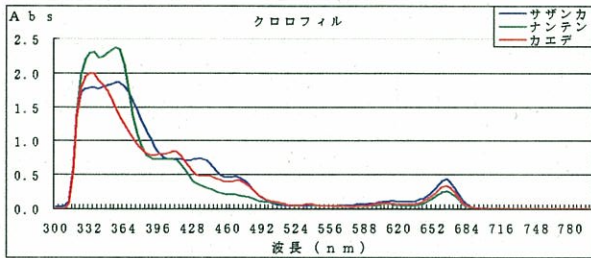


図35 葉のクロロフィルの吸収スペクトル

(3) 顕微鏡による細胞の観察

紅葉している部位や、色素の生成の状態や、葉緑体の量を観察した。

(4) ショ糖で培養した場合の葉への糖の取り込まれ方の確認

ショ糖には還元性がないことを利用して、培養前のショ糖水溶液、果糖水溶液、ブドウ糖水溶液と、二日間培養をした後のショ糖水溶液に、フェーリング反応を行い、葉を培養後のショ糖水溶液の変化を確認した。

<結果>

図36より、常緑樹のサザンカやナンテンでも糖を加えることにより紅葉を誘導することが確認できた。

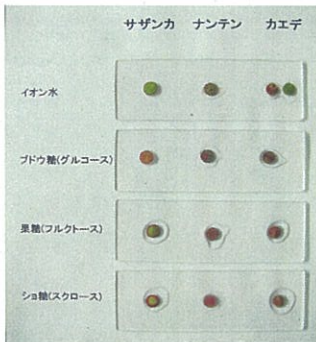


図36 35日間培養した後の葉の様子

①サザンカ (常緑樹)

図37、図38より、サザンカは切片の周辺部のみ紅葉している様子が観察できる。

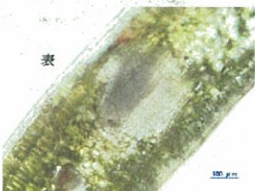


図37 サザンカ

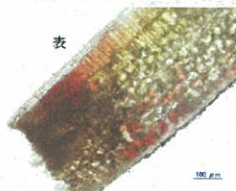


図38 サザンカ (紅葉)

糖の水溶液で培養した場合、切片の周辺部がはじめ黒くなり、2週間目を過ぎたあたりから、アントシアニンの生成量が急激に増加し紅葉が進んでいく。28日目までは、糖の種類による差はあまりみられなかった。イオン水で培養した場合は、紅葉はほとんどみられなかった。(図39)

クロロフィルは日数を追うごとに減少していく傾向が見られる。(図40)

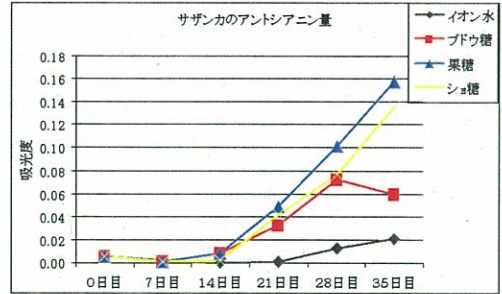


図39 サザンカのアントシアニン量の変化



図40 サザンカのクロロフィル量の変化

②ナンテン (常緑樹)

図41、図42より、ナンテンは葉の表皮細胞(表側、裏側)の部分とさく状組織にアントシアニンが生成され、紅葉が起こっている。

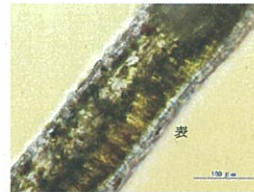


図41 ナンテン

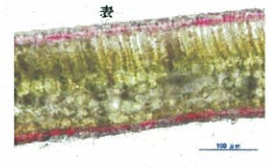


図42 ナンテン (紅葉)

糖の水溶液で培養した場合、2週間目を過ぎたあたりから、アントシアニンの生成量が増加し、葉の表面が赤くなり紅葉していく。ナンテンでは、果糖とショ糖で紅葉誘導が促進されている。ブドウ糖では、サザンカのとくと同様に28日目以降、アントシアニンの減少がみられた。イオン水で培養した場合でも、若干紅葉がみられた。(図43)

クロロフィルは2週間目を過ぎたあたりから、減少していく傾向がみられる。(図44)

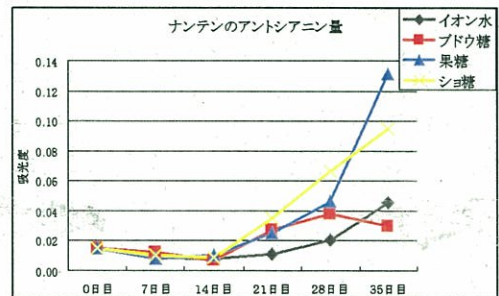


図43 ナンテンのアントシアニン量の変化

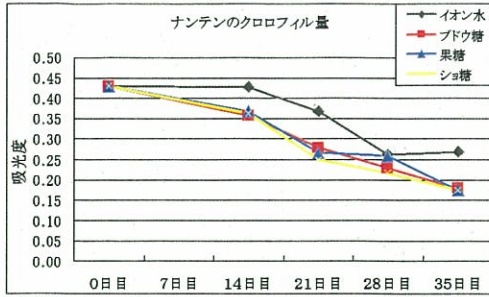


図44 ナンテンのクロロフィル量の変化

③カエデ (落葉樹)

図45、図46、図47より、カエデは葉の表皮細胞(表側のみ)と葉脈の表面の部分にアントシアニンが生成され、紅葉が起こっている。紅葉が進むにつれ、海綿状組織や裏側の表皮細胞にもアントシアニンが生成されてくる。

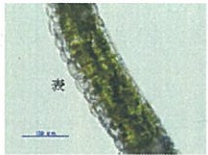


図45 カエデ

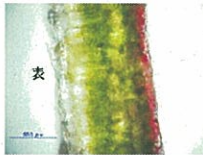


図46 カエデ (紅葉)

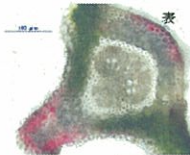


図47 カエデ (紅葉)

糖の水溶液中で培養した場合、果糖の場合は日を追うごとに紅葉が進んでいくが、ショ糖とブドウ糖では、2週間までは紅葉が進むが、それ以降は色が悪くなっていく様子がみられた。カエデの場合は、他の葉とは異なりイオン水が最も紅葉が促進されていた。(図48)

クロロフィルは、日を追うごとに減少していく傾向がみられる。(図49)

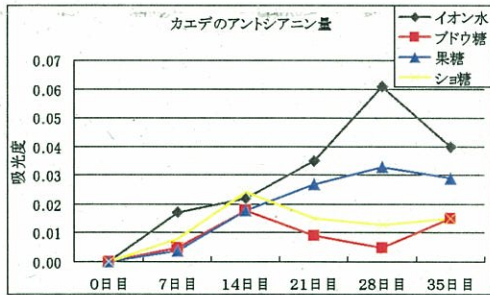


図48 カエデのアントシアニン量の変化

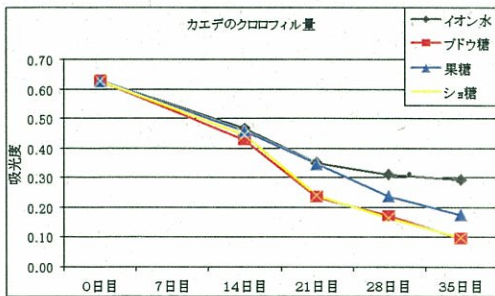


図49 カエデのクロロフィル量の変化

ショ糖で培養した場合、葉がどの糖の形で吸収を行っているかをフェーリング反応で確認した結果、培養後のショ糖水溶液の反応の結果から、わずかではあるが還元性を示す結果が現れた。(図50)



図50 培養後のショ糖水溶液のフェーリング反応

<考察>

フェーリング反応の結果から、いろいろな葉もオオカナダモと同様に、ショ糖の一部を果糖とブドウ糖に分解しているが、どの糖の種類で吸収を行っているかは、現段階では確定することはできない。

①糖の水溶液中で培養した場合

常緑樹のサザンカとナンテンは、オオカナダモと同じように糖により紅葉の誘導を行うことができた。

サザンカの場合は、紅葉は切片の周辺部のみで起こるが、これは、切断面から糖の吸収が行われ、その部分のみでアントシアニンが生成されたと考えられる。サザンカの葉の表面は、クチクラ層で覆われているため、表面から糖の吸収が行えなかったため、内部までは紅葉しなかった。

ナンテンの場合は、主に表側と裏側の表皮細胞で紅葉がみられる。これは、葉の表面や切断面から糖が吸収され、アントシアニンが生成されたためである。

ブドウ糖の水溶液中で培養した場合は、サザンカもナンテンも28日目以降、アントシアニン量が減少してしまった。ブドウ糖は、他の糖に比べて葉が痛みやすいのではないかと考える。

落葉樹のカエデは、常緑樹に比べて紅葉が早く起こった。もともと落葉樹なので、切片にされたことで離層が形成されたのと同じ状態になり、細胞自体にプログラムされているアントシアニンの生成過程が進行したため、紅葉誘導が進んだと考えられる。他の葉に比べて葉が柔らかく薄いので糖の水溶液中で長期間培養すると、葉が痛み、3週間目以降は葉の色が悪くなってきた。

葉におけるアントシアニンの分布を自然の紅葉と比較した場合、自然に紅葉した場合は、石倉<sup>2)</sup>によると、さく状組織や海綿状組織の一部にアントシアニンが観察されて表皮細胞には観察されないが、今回の実験では、ナンテンやカエデは表皮細胞にアントシアニンが多くみられた。自然の状態では、さく状組織や海綿状組織で光合成をしていて、その部分の細胞に糖が蓄積されている。その糖を利用してアントシアニンを生成している。しかし、今回の実験では、糖の水溶液中に浸けたことで、葉の表面や切断面の細胞が積極的に糖を取り込み、取り込んだ糖を利用してアントシアニンを生成したため、表皮細胞が紅葉したと考える。

②イオン水で培養した場合

常緑樹のナンテンは、秋に紅葉することもある植物であり、アントシアニンを生成するプログラムを持っていると考えられるので、イオン水でも紅葉したのではないかと。

また落葉樹のカエデは、糖の水溶液中で培養した葉よりも、イオン水で培養した葉の方がアントシアニンの生成量が多く、紅葉が進んでいた。もともと自然の状態では紅葉する植物なので、特に糖を加えなくても切片にし、低温にさらすことで紅葉が進んだと考える。落葉樹に関しては、糖による紅葉誘導の効果はあまりないことがわかった。

実験6. 紅葉の誘導における明暗周期と温度周期の影響

<方法>

(1) 培養法

3種類の糖(ブドウ糖、果糖、ショ糖)の0.1mol/Lの濃度の水溶液8mLに、葉を穴あけパンチで抜いた切片を50枚入れ、5±1℃・0luxの条件で1.5時間、20±1℃・2800luxの条件で9時間の周期をつけ、インキュベーター内で1~35日間培養した。この明暗・温度設定は、本校周辺の紅葉の時期の気象条件に合わせた。

対照実験として、糖の水溶液の代わりに、イオン水を用いた。

(2) アントシアニンとクロロフィルの吸光度の測定

実験1と同様の抽出液を用い、各条件毎に得られた4枚の葉を、4mLの抽出液に入れ、一晩・暗中で抽出し、吸光度を測定した。



<結果>

図5 1より、明暗・温度周期をつけたところ、サザンカやナンテンは、糖を加えることにより紅葉が誘導されたが、カエデは、糖を加えてもイオン水でも紅葉はほとんど誘導されなかった。

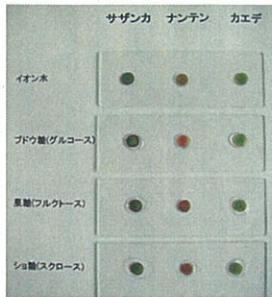


図5 1 28日間培養した後の葉の様子

①サザンカ (常緑樹)

糖の水溶液で培養した場合、1週間目を過ぎたあたりから、アントシアニンの生成量が急激に増加し紅葉が進んでいく。糖の種類による差はあまりみられなかった。イオン水で培養した場合は、紅葉はほとんどみられなかった。(図5 2)

クロロフィルは、日数を追うごとに減少していく傾向が見られる。イオン水で培養した葉も、糖の水溶液で培養した葉と同じだけクロロフィルが分解されていた。(図5 3)

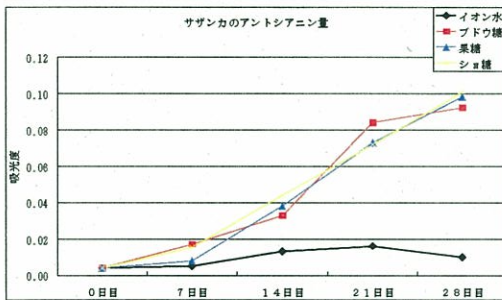


図5 2 サザンカのアントシアニン量の変化

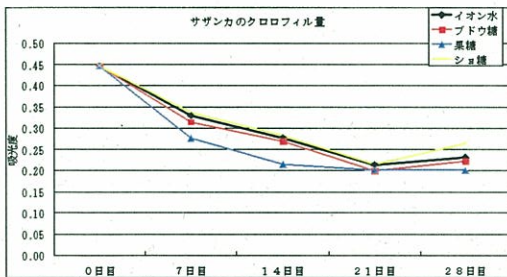


図5 3 サザンカのクロロフィル量の変化

②ナンテン (常緑樹)

糖の水溶液で培養した場合、1週間目を過ぎたあたりから、アントシアニンの生成量が増加し紅葉が進んでいく。糖の種類による差はあまりみられなかった。イオン水で培養した場合でも、若干紅葉がみられた。(図5 4)

クロロフィルは、1週間目までに急激に減少し、それ以降も減少を続けた。(図5 5)

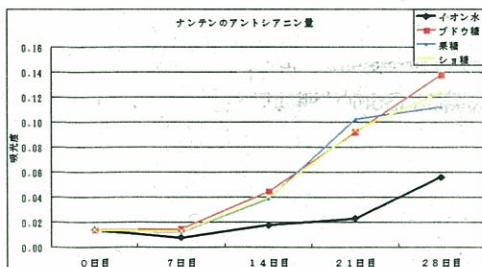


図5 4 ナンテンのアントシアニン量の変化

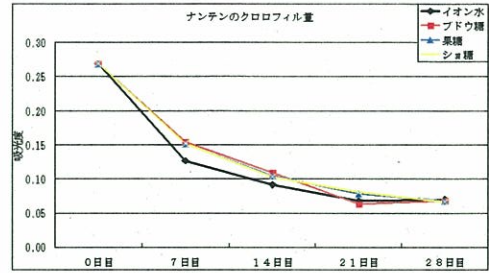


図5 5 ナンテンのクロロフィル量の変化

③カエデ (落葉樹)

糖の水溶液で培養した場合も、イオン水で培養した場合も、アントシアニンの生成はほとんどみられなかった。(図5 6)

クロロフィルは、日を追うごとに少しずつ減少した。(図5 7)

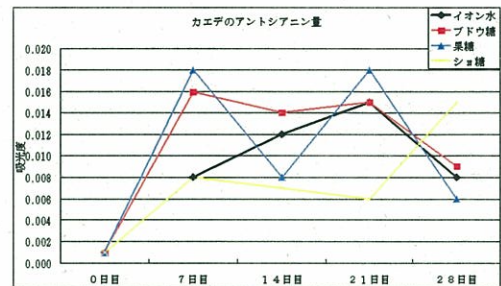


図5 6 カエデのアントシアニン量の変化

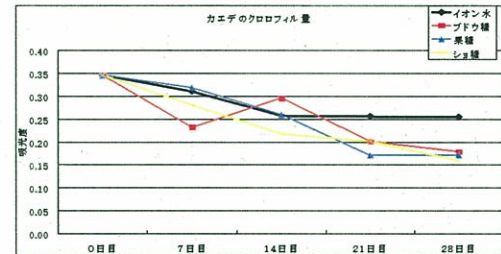


図5 7 カエデのクロロフィル量の変化

<考察>

①サザンカ・ナンテン

明暗・温度周期をつけることによって、サザンカとナンテンは、実験5と比較して、紅葉が促進されていた。イオン水で培養した場合でも、クロロフィル量は糖の水溶液で培養したときと同じぐらい減少していた。実験5では、イオン水で培養した場合は、糖で培養した場合に比べて、クロロフィル量の減少は少なかった。これは、明暗周期をつけたことにより、光があたっている時間が短くなったため、クロロフィルの分解が早まったと考えられる。クロロフィルの分解に伴いアントシアニンの生成が起こるので、アントシアニンの生成も早まったのではないかと。

②カエデ

明暗・温度周期をつけることによって、カエデは、紅葉が促進されると考えていたが、実験5と比較して、紅葉を促進するどころかほとんど紅葉しなかった。自然の紅葉では、最低温度が8℃以下になり日中との温度差が大きければ大きいほど、きれいに紅葉するといわれている。この実験では、自然での条件に合わせたか、紅葉しなかった。これは、明暗をつけたことで、自然の状態と比較しても、サザンカ・ナンテンと同様に照度不足が原因と考えられる。照度不足でもサザンカ・ナンテンは、糖を加えることによって紅葉誘導が促進される。カエデは落葉樹であるので、実験5からもイオン水でもっとも紅葉が促進されることから、照度不足になることによって、光合成ができにくくなり、葉に蓄積される糖の量が低下するため、アントシアニン生成が抑制されたのではないかと。

## 5. まとめと今後の課題

オオカナダモを糖の水溶液で培養した場合、紅葉を誘導するのに有効な要因は、6~12時間のUVA照射、3分以内のUVB照射、青色光、赤色光であり、イオン水で培養した場合は、3分以内のUVB、10秒以内のUVCであることが確認できた。

光合成活性に関しては、クロロフィルが減少してもほとんど低下しないが、アントシアニンが生成されることで急激に低下してくることがわかった。

紅葉の誘導に有効な糖は、ショ糖、果糖、ブドウ糖で、ショ糖の水溶液で培養した場合、ショ糖は果糖とブドウ糖に分解されていることがわかったが、どの種類の糖として吸収しているかまでは、確認できなかった。

常緑樹においても、糖により紅葉を誘導することができた。糖の水溶液に触れている部分の細胞に、アントシアニンが生成されていることを確認した。

落葉樹では、糖による紅葉誘導の効果は低く、イオン水で培養した場合が、もっともよく紅葉していた。

今後、カエデ、サザンカ、ナンテンを用いて、UVを照射したときの影響について調べていく予定である。

UVに関しては、今後オゾン層の破壊により照射量の増加が懸念されている。自然界の紅葉にどのような影響がでるのかを、知ることができるかもしれない。

離層が形成された後、光合成を続けることで活性酸素が発生しやすい状態になってしまうので、アントシアニンにより光合成を抑制したり、アントシアニンの好酸化作用を利用して活性酸素を取り除くために、アントシアニンを生成し紅葉するのではないかと考える。そこで、紅葉の進行と活性酸素の関連性を調べることで、何のために植物が紅葉するのかを解明していく予定である。

### \*引用文献

- 1) 百瀬 忠征 オオカナダモの紅葉現象の解析 (都生研会誌)
- 2) 石倉 成行 カエデ科植物の紅葉 (植物と自然)

### \*参考文献

- 百瀬 忠征 オオカナダモの紅葉現象の解析 (都生研会誌)  
 石倉 成行 カエデ科植物の紅葉 (植物と自然)  
 小笠原 正一 紫外線の生物への影響を学ぶ (遺伝 1998年9月号)  
 綾 美幸・山本 勝博 紅葉のメカニズムにせまる (大阪と科学養育)  
 原色牧野植物大図鑑 (北隆館)