

オオカナダモの葉緑体運動に関する条件考察

静岡県立榛原高等学校
理数科 2 年 安達雄也 他 4 名

1 要約

葉緑体の観察・実験素材であるオオカナダモでは、細胞質流動を容易に観察できることから、多用される。しかし、流動現象はその時々で観察されない場合も多い。また、細胞局部に葉緑体が凝集する定位運動が発生する場合もあり、葉緑体観察を妨げる。

私達は、これらの細胞質流動や定位運動が起こる環境条件について追究するため、通常の観察時に行う水槽で保管した藻体及び恒温機内で条件設定後、保管した藻体を用いて、一定期間を通じて観測（観察）を行った。

その結果、20～25℃の水温付近で流動現象の発生が高まるとともに、若い葉でその傾向が顕著であることを見出した。条件設定下では、低温時には照度に拘らず、定位運動が確認されたことから、低温による障害回避や光合成の効率を高めるための措置であることが示唆された。

2 序論

オオカナダモ (*Egeria densa*) の細胞質流動は、高等学校生物の教科書に載る有名な観察・実験である。しかし、いざ観察を行おうとすると、この細胞質流動がほとんど見られないことがある。また、そればかりか、葉緑体が凝集して、観察自体が困難なケースに出会う場合もある。これらの現象について、当初、私たちは、細胞質流動が起こりやすい条件について注目しながら、文献や先行研究等について調べを行った。その結果、細胞質流動の起こる条件について示した学術的データが皆無であるとともに、その傾向を記したウェブサイト上の資料を参考に試しても、観察結果が異なることが判明した。

一方、植物の葉緑体運動は、光合成を効率的に行うために、細胞内に張り巡らされたアクチンフィラメント上を、フォトリポピンを光センサーとしながら、モータータンパク質であるミオシンが葉緑体と共に、これに沿って動くと考えられており、その機序を示した研究は多数存在する¹⁾。

そこで、オオカナダモの細胞質流動や凝集（定位運動）といった葉緑体運動は、様々な環境要因と生理学的機構が複雑に相まって起こる現象であると考え、この現象が、どのような状況下で起こるのかを明らかにするため、以下の方法で考察することとした。

3 材料と方法

(1) 自然環境下（室内）での観察

オオカナダモの栽培種入手後（国産栽培された藻体をホームセンターにて購入、藻体の傷みを考慮して、観察期間中、2 度新たなものに入れ替えた）、実験室の窓際に設置した丸形水槽に一定量の水道水を入れて保管（図 1）、平日の午後 1 時頃に葉を採取、顕微鏡下で試料の状況（細胞の形状（長・短径）、視野中の細胞数）及び葉緑体運動の有無とその割合について、40 日間（2022 年 6～9 月）、観察を行った。同時に観察日の条件（天候、気温、水温、照度）を記録した。

観察に用いた試料は、茎頂から 5 cm と 15 cm の位置にある葉を採取、葉の先端から 5 mm の部位を切除後、蒸留水で封入し、プレパラートを作成した。測定は最表層の細胞を中心に 600 倍

にて行い、同時に記録撮影した（図2）。また、細胞質流動が目視で観察された際には、流動速度を推定できるよう、動画撮影を行った。各回の観察時間は、顕微鏡照明の光量の影響を考慮して、10分以内とした。

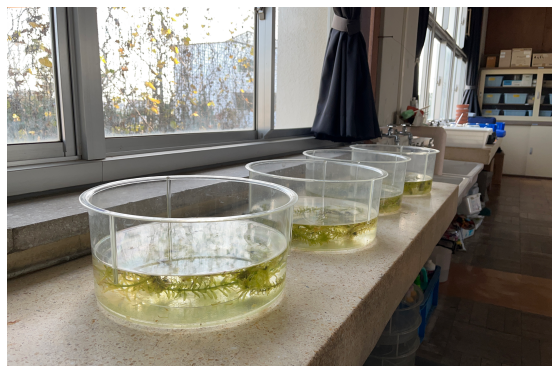


図1 自然環境下での保管状況

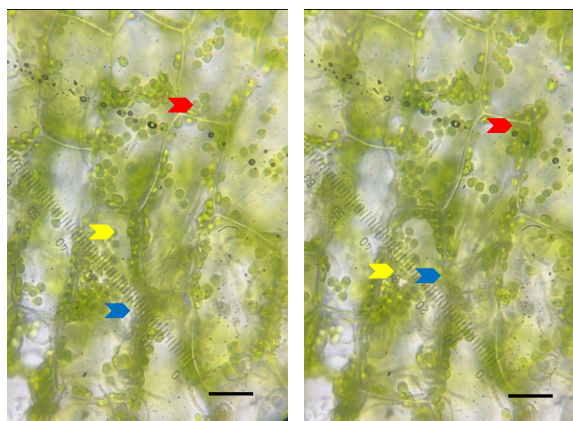


図2 オオカナダモの葉における細胞質流動
右：左図から8秒後の配置 Scale Bar: 25 μ m

(2) 条件設定下での観察

(1)での観察結果を受けて、以下のように条件設定した環境で藻体を保管した。

複数の藻体を1,000ml ビーカー内に一定量の水道水を入れて恒温機（島津BIOTEC-500）内に保管、照明と遮光ネットを調節しながら、藻体の茎長から5 cm付近の光量が1,000～5,000lux（1,000luxずつ5段階）となるよう設置（図2）、明期12時間（6:30～18:30）、暗期12時間（18:30～6:30）の環境下で保管した（図3）。

恒温機の温度設定は、水温が10℃、20℃、25℃、30℃となるようにしながら、各々の設定温度において、10日間ずつ細胞観察を行った。

観察葉は、平日12時から13時に、茎長から5 cm付近を採取、先端5 mmの部位を切除後、蒸留水で封入し、プレパラートを作成した。

測定は最表層の細胞を中心に600倍にて行い、細胞の形状（長・短径）、視野中細胞数、葉緑体運動の有無とその割合について記録と撮影を行った。また、目視で確認できない程度（1.0 μ m/S以内）の微細な細胞質流動を確認するため、各回、動画撮影を行い検証した。なお、観察に用いた藻体は、国内栽培されたものをホームセンターにて購入、温度設定を変更する（10日間）度、新たなものに入れ替えた。



図3 条件設定下での管理

4 結果

(1) 自然環境下（室内）での観察

観察結果について、図4、5に示す。

自然環境下において、細胞質流動が確認された割合（全観察試料に対する細胞質流動が確認された試料数）は、茎頂から5 cmの部位の葉では39.1%、茎頂から15cmの部位では24.9%であった。水温と細胞質流動との関係（図4：視野中細胞数に対する細胞質流動が確認された細

胞数の割合) では、25℃～30℃付近で細胞質流動が活発になる傾向が認められた。細胞の形状の平均値は、茎頂から 5 cm、15cmの葉とも長径75.0～85.0 μ m、短径30.0 μ m程度で、両者に違いは見られなかった。

照度と細胞質流動との関係(図5)では、両者の相関は認められなかった。また、照度は天候に左右され、観察前後にも刻々と変化していた。

40日間の全観察を通じて、細胞質流動はしばしば確認されたものの、葉緑体が凝集するといった定位運動は観察することができなかった。

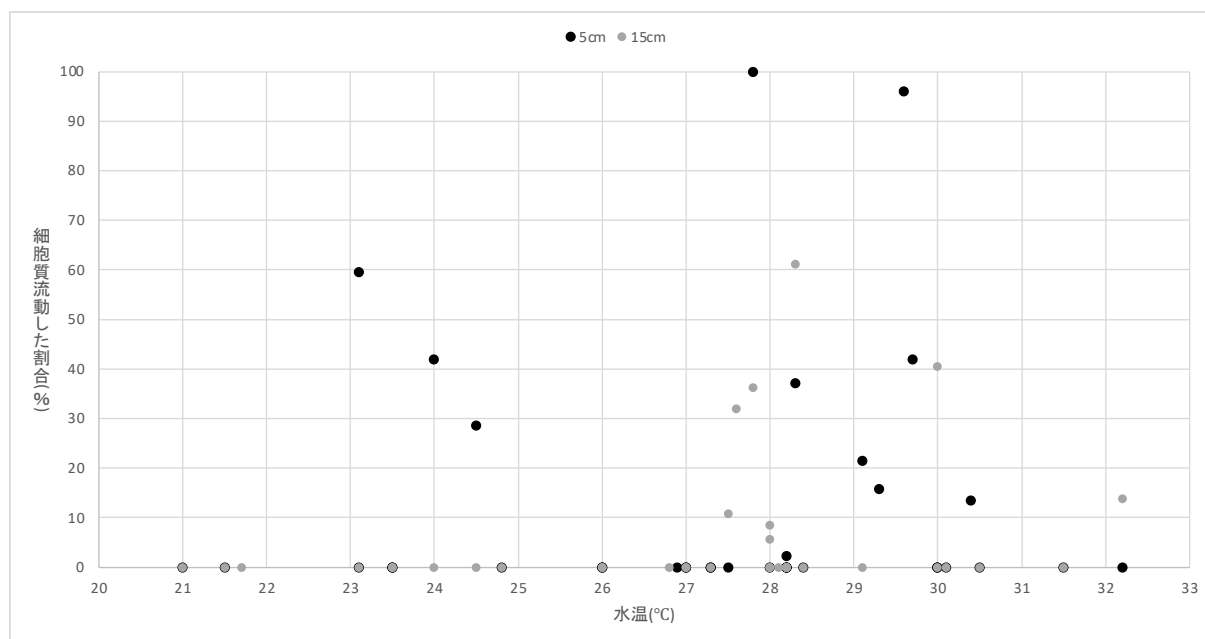


図4 水温と葉緑体運動(細胞質流動)の関係

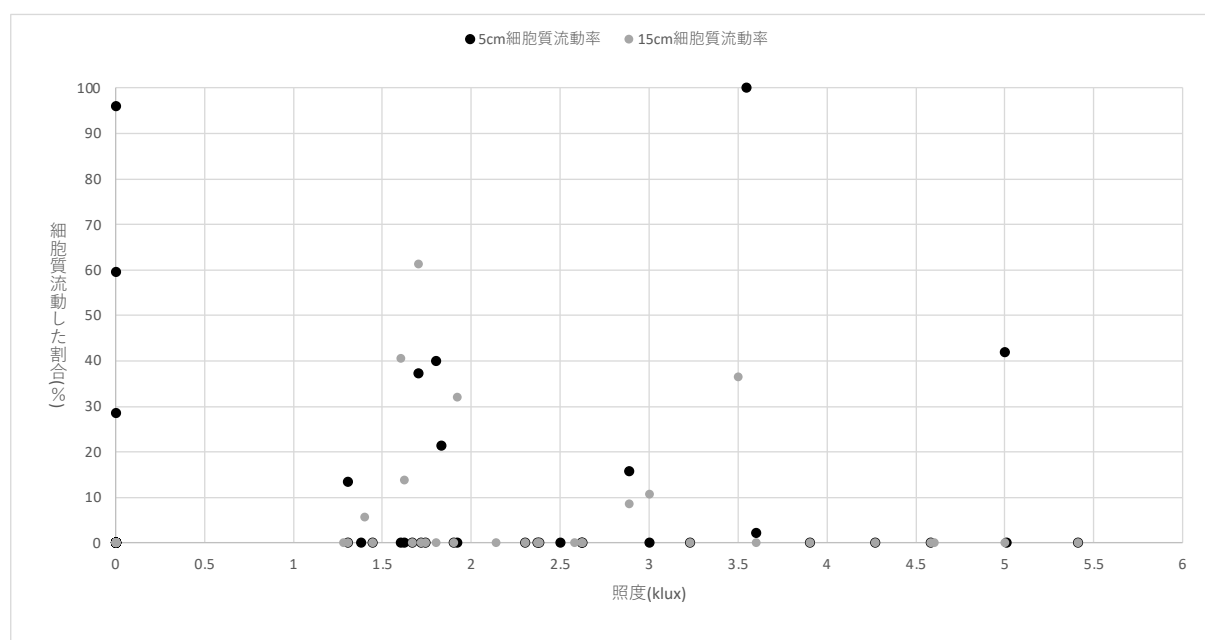


図5 観察時照度と葉緑体運動(細胞質流動)の関係

(2) 条件設定下での観察

観察結果について、表1に示す。

水温10℃及び20℃で保管した藻体では、葉緑体が細胞局部へと凝集する定位運動(図6)が観察された。低温ほど、その傾向は顕著に観察され、照度との相関は認められなかった。

水温20℃以上では、葉緑体の凝集(定位運動)は見られず、細胞質流動が観察された。流

動速度は、 $1.0\mu\text{m}/\text{S}$ と微細であり、水温の上昇とともに流動速度は上がる傾向にあった。一方、照度との相関は認められなかった。

表1 条件設定下での葉緑体運動（凝集・細胞質流動）の割合（％）

	[10℃]			[20℃]			[25℃]			[30℃]		
	凝集	分散	流動	凝集	分散	流動	凝集	分散	流動	凝集	分散	流動
1.0klux	33.1	56.9	0.0	2.0	88.6	9.4	0.0	52.9	47.1	0.0	90.7	9.3
2.0klux	14.3	85.5	0.3	7.2	85.3	7.5	0.0	97.5	2.5	0.0	84.9	15.1
3.0klux	27.2	72.8	0.0	14.3	77.7	8.0	0.0	94.0	6.9	0.0	91.4	8.6
4.0klux	32.6	67.4	0.0	46.2	53.8	0.0	0.0	97.2	2.8	0.0	66.9	33.1
5.0klux	43.5	56.5	0.0	61.5	37.6	0.9	0.0	88.6	11.4	0.0	97.8	2.2

注：分散は、葉緑体の凝集、細胞質流動とも見られず、分散して定位している状態

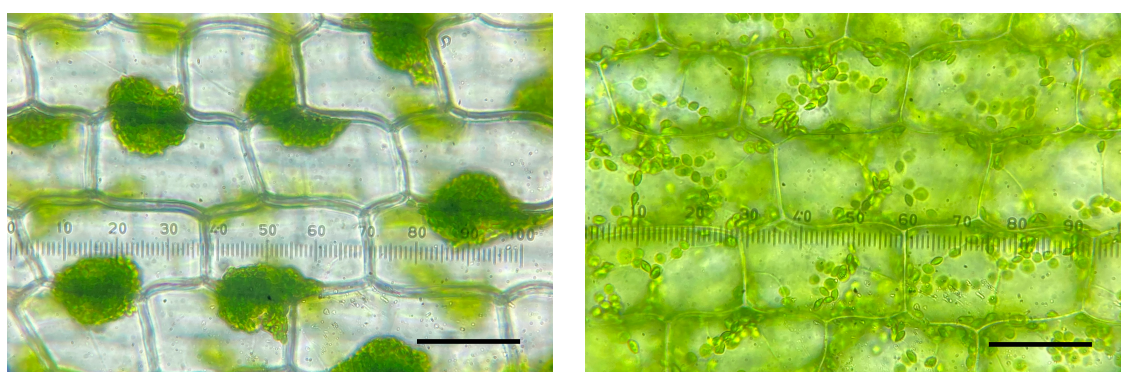


図6 葉緑体の凝集：定位運動（左）と25℃での分散配置（右）Scale bar:50 μm

5 考察

自然環境下での観察結果から、細胞質流動は、25℃～30℃で顕著になることが伺えた。これは、オオカナダモ自身が南アメリカの亜熱帯から温帯地域を原産とすることから、適水温において、積極的な細胞内輸送が行われ、葉緑体の配置を周期的に変化させたと考える。また、オオカナダモの光飽和点は4,500lux程度であり^{2) 3)}、室内での昼間光量は、1,000～6,000lux程度であることを考慮すると、この範囲では、光障害は起きにくく、同時に細胞質流動（細胞内輸送）への影響も少ないと推測される。他方、細胞質流動の頻度は、茎長からの葉の距離で異っており、これは、細胞成長（若葉及び成熟葉）または細胞内の液胞の発達に由来すると推測される。その関係性については、GFPと液胞膜タンパク質の融合遺伝子の導入を用いた液胞構造等の観察が必要であり、大学等、研究機関の協力を仰ぎながら継続して追究したい。

条件設定下では、10～20℃の低水温域において、細胞質流動は乏しく、葉緑体が細胞局部に凝集する定位運動が顕著に観察された。細胞質流動の停止は、細胞質流動を支えるモータータンパク質（ミオシン）の移動が、低温による酵素活性低下の影響を受けたと考える。また、定位運動は、隣り合う細胞の長辺側で互いに凝集する形で起こる（図6）ことから、原形質連絡を通じた物質の移動が関与しており、低温による障害を回避、または、低温時における光合成の効率を確保するための措置と考える。オオカナダモは低温や水質変化の悪条件にも耐え、増えやすいとされる⁴⁾が、その機序や詳細については、研究を継続しながら、明らかにしたい。

一方、流動速度の相違や低水温時にも一部流動が起こることは、細胞質流動が温度条件を中心

としながらも、他の環境要因にも影響を受ける可能性を示しており、光刺激や細胞成長との関連を探る必要があると考えた。

本研究は、現在も継続中であり、今後、葉緑体運動の起こる傾向をより精緻に明らかにすることによって、植物の生命現象の制御を知る手がかりとしたい。

6 所感

私たちは、より多くのデータを収集するために、ほぼ毎日研究室に通って観察を行い、継続することの重要性を認識した。観察を行ううちに多くの気づきや発見があり、大変興味深かった。これまで、このような研究をしたことがなかったため、当初はうまくいかない部分があり、研究の方法や論文のまとめ方など学ぶことが多くあった。本研究を通して学んだことを今後に活かしていきたい。

7 参考文献

- 1) 門田明雄：葉緑体の運動メカニズム バイオメカニズム学会誌, Vol135, No. 4, 245-250頁, 2011
- 2) 正元和盛 他：葉緑体デ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, 39-49頁, 2015
- 3) Rodrigues,R.B., Thomaz,S.M. : Photosynthetic and growth responses of *Egeria densa* to photosynthetic active radiation. Volume 92, Issue 4, pp281-284, 2010
- 4) Wikipedia:<https://ja.wikipedia.org/wiki/オオカナダモ>