

葉焼け現象について

～カロテノイド量と葉の内部構造から考える～

中島 歩美 町田 莉奈 森 和奏 山上 朋花
Nakashima Ayumi Machida Rina Mori Wakana Yamanoue Tomoka

1. 要旨

葉の内部構造とカロテノイドの量が葉焼けのしやすさに対しどのような関係があるのか調べるため、5種類の植物を使い、葉焼けに要する時間の計測、葉に含まれるカロテノイド量の定量、葉の内部構造の観察の3つの実験を行った。その結果、葉に含まれるカロテノイド量が多い植物の方がカロテノイドが少ない植物よりも葉焼けに要する時間が短い傾向が見られた。また、葉の色素層が発達している葉と発達していない（色素層が薄い）葉とでは、発達していない葉の方が葉焼けしやすい傾向が見られた。

2. 研究目的

マコデスペトラという葉脈が光って見える植物を育てていた際、短期間ではあるが直射日光に当ててしまい葉焼けをさせ、枯らしてしまった。短期間で葉焼けしたことに対し疑問を持ち、葉の内部構造を観察すると、葉緑体を含む色素層が校庭に生えている植物と比べて非常に薄いことが分かった。この観察より、葉の内部の色素層が薄いことで、光のダメージを受けやすく葉焼けが起こりやすいのではないかと考えた。また、先行研究より光合成色素の1つであるカロテノイドは葉焼けの原因である活性酸素の発生を抑え、取り除く作用や過剰な光エネルギーを熱エネルギーに変える作用をもっていることが分かっている。強光刺激を受けても、葉の内部にカロテノイドが豊富に含まれていれば、そのはたらきによって葉焼けがしにくいのではないかと考えた。よって、葉の内部構造と葉に含まれるカロテノイドの量が葉焼けのしやすさに関連があるのではないかと考え、研究を行った。

3. 今回使用した植物

今回使用した植物はマコデスペトラと、各種園芸サイトを参考に比較的入手しやすく、葉焼けしやすいとされている植物である、カポック、セロームの2種、葉焼けしにくいとされている、トラデスカンチア、アルテシマの2種を選択した。今回実験で使用したマコデスペトラはインターネット通販で、その他の植物は株式会社大創産業で購入し、実験に使用しない期間では教室内で育てた【表①】。

4. 先行研究

- ①. 葉焼けとは、強い光や高温、冷害、急な温度変化などが原因で、葉が茶色や白色に変色する生理障害の総称である。本研究で着目した強い光による葉焼けは、過剰な光エネルギーにより細胞内に発生する活性酸素によって引き起こされる。活性酸素が葉緑体のクロロフィルを分解すると、光合成が行われなくなり、葉は変色及び枯れてしまう。
- ②. 光合成色素にはカロテノイドやクロロフィルがあり、カロテノイドは黄色や赤色の光合成色素で葉緑体に含まれており、葉焼けの原因となる活性酸素を取り除く作用や過剰の光エネルギーを熱エネルギーに変える作用を持っている。クロロフィルは植物の葉緑体の中に含まれる緑色の光合成色素である。
- ③. 分光光度計で 663.6nm, 646.8nm, 470nm の3つの波長の吸光度を測定し、以下のウェルバーンの式【式①】に値を代入することで、クロロフィル a, クロロフィル b, カロテノイド量を算出することができる。

5. 実験① 葉焼けに要する時間を調べる

〈準備物〉

アルテシマ、カポック、セローム、トラデスカンチア、マコデスペトラ、LED ライト、アルミホイル、割りばし、針金、温室、照度計、暗幕、カメラ

〈実験方法〉

1. 温室の上から暗幕をかぶせて実験に関する光以外の光を遮断する。
2. 葉焼けさせる葉の面積を 1cm² (1 cm×1 cm) の区画のみにアルミホイルを用いて限定する。

3. 限定した部分のみに 72 時間の間, LED ライトで 78,000 ルクス of 光を照射する。その際 LED ライトが葉に垂直に当たるように, 曲がっている葉については割りばしと針金で固定する。また, 温室の室温は 25°C で統一する。
4. 24 時間ごとに観察と水やりをして葉焼け具合の写真を撮る。
5. 72 時間後に実験を終了し, 葉焼けの程度を各植物で比較する。

〈結果〉

葉焼けに要した時間が短い順に, トラデスカンチア・マコデスペトラ・カポック・セローム・アルテシマとなった。トラデスカンチア【写真⑥】・マコデスペトラ【写真⑦】は開始 24 時間後までに裏側まで白く変色しており, トラデスカンチアは 48 時間後には, アルミホイルが掛かっている部分(葉全体)も茶色に変色していた。カポック【写真⑧】, セローム【写真⑨】は 24 時間では変化はなく, 48 時間後に裏側まで白く変色していた。アルテシマ【写真⑩】は 48 時間では変化はなく, 72 時間後に表側が若干変色していたが裏側は変色していなかった。もっと細かい時間経過で追跡して観察すれば, 植物ごとの葉焼けの進行についてもっと詳しく調べられたと考える。

6. 実験② カロテノイドの定量

〈準備物〉

トラデスカンチア, マコデスペトラ, カポック, セローム, アルテシマ, 80 パーセントアセトン溶液, 液体窒素, 遠心分離機, 分光光度計, ピペット, ビーカー, 乳鉢, 乳棒, 氷, パラフィルム, 発泡スチロールの箱, 試験管

〈実験方法〉

1. サンプルとなる【実験①葉焼け実験前の】葉(トラデスカンチア, マコデスペトラ, カポック, セローム, アルテシマ)から穴あけパンチで一定の面積の切片を切り抜き, 各植物につき 5 枚のリーフディスクを作成する。
- 2.1 で作成したリーフディスクをそれぞれ液体窒素で凍らせて, 乳鉢・乳棒ですりつぶし, 80%アセトンを 4mL 注ぐ。【写真⑪】(アセトンは色素を抽出するのに使用)
(サンプルの温度が上がると, クロロフィルが分解されるので試験管は発泡スチロール製の箱にいた氷水の中で保存する)
- 3.2 で作成した抽出液を遠心分離機【写真⑫】に 5 分間かけ, 葉の残りかすと色素のとけた溶媒とを分離する。
葉の残りかすが白色になっていればよい。
4. 上澄み液【写真⑬】から分光光度計【写真⑭】を用いて吸光度を計測する。
5. 4 の吸光度を先行研究③のウェルバーンの式に代入しクロロフィル a・クロロフィル b・カロテノイド量を算出する。

〈実験前に立てた仮説〉

植物に強い光を与えると, 過剰な光エネルギーによって細胞内で活性酸素が生じる。この活性酸素が葉焼けの原因である。カロテノイドはこの活性酸素を取り除く作用を持っているので, 強光刺激を与えてもカロテノイドを豊富に含む葉では速やかに活性酸素が除去され, 葉焼けを防いでいると考えられる。よって, 葉焼けしにくい葉ほどカロテノイド量が豊富に含まれ, 葉焼けしやすい葉ほど, その量は少なくなるのではないかと考えた。

〈結果〉

カロテノイド量の多い方から, カポック・マコデスペトラ・セローム・アルテシマ・トラデスカンチアという順になった【グラフ①】。結果より, クロロフィル a 量は植物の種類による違いが大きく, クロロフィル b 量は, クロロフィル a ほどの違いは見られなかった。アルテシマとトラデスカンチアの結果を比較してみると, クロロフィル b 量にはほとんど違いは見られないが, カロテノイド量では差が見られることより, カロテノイド量を算出する上で重要な色素はクロロフィル a であることが分かる。また, 実験①の結果より, 葉焼けがしやすい傾向のあったマコデスペトラのカロテノイド量が 2 番目に多く, 葉焼けしにくいアルテシマのカロテノイド量が少なかったことから, 実験前に立てた仮説と反する結果となった。

7. 実験③ 葉の内部構造の観察

〈準備物〉

ニワトコの髄、マイクロトーム、アルテシマ、カポック、セローム、トラデスカンチア、マコデスペトラ、剃刀、時計皿、カバーガラス、スライドガラス、双眼顕微鏡

〈実験方法〉

1. 切り込みを入れたニワトコの髄に観察する葉を差し込み、マイクロトームを用いて葉の薄片を作る。
2. 双眼顕微鏡を用いて内部構造を観察する。
3. 葉の断面を上部細胞層（色素なし）・葉緑体を含む色素層・下部細胞層（色素なし）に分け、3つの層が葉に占める厚さマイクロメーターを用いて計測する。

〈結果〉

葉の色素層が厚い順にアルテシマ・カポック・セローム・マコデスペトラ・トラデスカンチアの順となった【写真⑮～⑱、表3】。特に、トラデスカンチア・マコデスペトラは、他の3種と比べて色素層が顕著に薄かった。前者は葉の表側の細胞層が発達しており、後者は裏側の細胞層が発達していた。葉そのものの厚さはセロームが最も薄く、内部構造に関してはアルテシマ・カポック・セロームの3者において、大きな違いは見られなかった。実験①より、葉焼けしにくい（葉焼けに時間を要する）葉であるアルテシマ・カポック・セロームでは、葉の内部構造で最も発達している部分は色素層であった。（トラデスカンチアは紫色の色素を含んでいるが葉緑体を含む層のみを色素層として計測しているため、紫色の色素層は下部細胞層に含むものとする。）

8. 考察と結論

実験①・②より葉焼けしやすい植物ほどカロテノイド量が多い傾向がみられた。これは、仮説に反する結果となった。この結果から、活性酸素を除去する作用をもつカロテノイドを豊富にもっていても葉焼けは起こり、逆にカロテノイド量が少なくても葉焼けしにくい植物があることが分かった。また、実験①・③のトラデスカンチア、マコデスペトラの結果に注目しても分かる通り、葉の色素層が発達していない（薄い）葉は、葉焼けしやすい傾向が見られた。色素層が薄いということは、葉に含まれる葉緑体が少ないと考えられる。よって、受けた光エネルギーを光合成に利用する割合は、色素層が厚い葉と比べて低く、過剰な光エネルギーによる葉のダメージが大きくなるのではないかと考える。また、比較的色素層が厚かった3種類（カポック・セローム・アルテシマ）に関しては、葉の内部構造に大きな差は見られなかった。このことから、極端に色素層が薄いと葉焼けがしやすいが、ある一定以上の色素層をもつと、その厚さは葉焼けに大きな影響を与えていないのではないかと考えられる。また、セロームは葉そのものの厚さは最も薄かったが、その内部構造のほとんどを色素層が占めており、葉焼けしにくい傾向が見られた。逆に、トラデスカンチアは葉そのものの厚さは用いた植物の中で2番目に厚かったが、色素層は最も薄く、最も葉焼けしやすかった。このことより、葉焼けのしやすさを決める要因として、葉のそのものの厚さではなく、その内部の色素層の厚さが重要であることが分かった。しかしながら、色素層の厚さと葉焼けのしやすさとの関係については十分なデータが得られていないので、今後試行回数を増やして考察していきたいと考えている。

9. 今後の展望

今回の実験では葉焼け前のカロテノイド量しか定量してなく、強光刺激を受けた後のカロテノイド量については調べることが出来ていない。それぞれの植物において、実験処理後のカロテノイド量の比較もすべきであったと考えている。なぜならば、カロテノイドは細胞内で合成される色素であり、環境条件によって合成される量が増える可能性も考えられるからだ。そこで、植物は葉焼けするような強光刺激を受けた際に、自身の葉を守るため、カロテノイド量を変化（増加）させるのではないかと仮説を立てた。その検証のため、今後以下の実験を行いたいと考えている。

〈実験方法〉

実験①で用いた温室と同じ温室で、植物に強光刺激を与える前にカロテノイド量を定量する。その後強光刺激を与え、一定期間さらした後、再びカロテノイド量を定量して刺激前の量と比較する。予備実験として実験①で最も葉焼けしにくいという結果が出たアルテシマを用いて強光刺激実験と定量実験を行い、そのあと他の植物でも実験を行う。

<仮説と予測される結果>

植物は光刺激から葉を守るため、受けた光刺激に応じて植物内のカロテノイド量を変化させている。強光刺激を受けた際には、カロテノイドの合成が促進されて細胞内部のカロテノイド量が増加する。これによって、生じた活性酸素が速やかに除去されて葉焼けしにくくなり、強光刺激から葉が守られるのではないかと考えた。よって葉焼けのしやすさは、元々葉に含まれるカロテノイド量だけでなく、変化する環境条件に応じて植物がどれだけカロテノイド量を変化させるかが関わっているのではないかと考えた。

予測される実験結果としては、実験①よりカロテノイド量が少なく、最も葉焼けしにくかったアルテシマのカロテノイド量が強光刺激によって最も増加すると予測する。また、葉焼けしやすかった植物（トラデスカンチア、マコデスペトラ）のカロテノイド量は実験前後の変化が低いと考えている。

10. 参考文献

野田 響 (2012) 「クロロフィル・カロテノイド定量抽出法」アセトンとらりもん

<http://pen.envr.tsukuba.ac.jp/~torarimon/?%A5%AF%A5%ED%A5%ED%A5%D5%A5%A3%A5%EB%A1%A6%A5%AB%A5%ED%A5%C6%A5%CE%A5%A4%A5%C9%C4%EA%CE%CC%CA%FD%CB%A1%A1%CA2%A1%CB>

分析化学実技シリーズ 機器分析編 【1】 巻

日本分析化学会編・原口紘[き]・石田英之・大谷肇・鈴木孝治・関宏子・渡會仁

編集委員・井村久則・菊池和也・平山直紀・森田耕太郎・渡會仁著 (2011)

出版社：共立出版

令和4年度版 生物 改訂版 文部科学省検定済教科書 本川達雄・谷本英一 編

出版社：啓林館

田中 歩・平島 真澄・田中 亮一 (2004) 『化学と生物』 Vol. 42, No. 2, PP93-98

緑のある暮らしをサポート 植物ノート

<https://shokubutsunote.jp/houseplant/543.html>

LOVEGREEN

<https://lovegreen.net/library/house-plant/p88885/>

植物の育て方図鑑 ヤサシイエンゲイ

http://www.yasashi.info/to_00025g.html

11. 謝辞

これまで熱心に助言して下さった鶴木先生、片山先生、伊賀先生、ジュエルオーキッドの育て方についてのパンフレットを送って下さったタキイ種苗株式会社様、研究に携わって下さった先生方にこの場をお借りしてお礼申し上げます。

12. 図表・画像

植物名	学名	原産	形態	分類
トラデスカンチア 【写真①】	<i>Tradescantia</i>	北アメリカ, 熱帯 アメリカ	多年草	ツユクサ科, ムラサ キツユクサ属 (トラ デスカンチア属)
マコデスペトラ 【写真②】	<i>Macodes petla</i>	東南アジア	常緑性多年草	ラン科のマコデス属
カポック 【写真③】	<i>Schefflera arboricola</i>	台湾, 中国南部	常緑低木～高 木	ウコギ科・フカノキ 属 (シェフレラ属)
セローム 【写真④】	<i>Philodendron selloum</i>	南ブラジル	常緑多年草	サトイモ科フィロデ ンドロン属
アルテシマ 【写真⑤】	<i>Ficus altissima</i>	インド, 東南アジ ア	常緑高木	クワ科フィカス属

【表①】 実験で用いた植物について



【写真①】
トラデスカンチア



【写真②】
マコデスペトラ



【写真③】
カポック



【写真④】
セローム

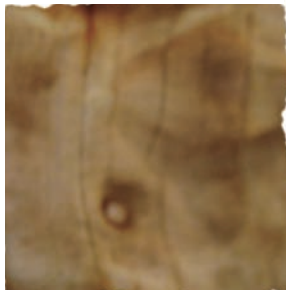


【写真⑤】
アルテシマ

$$\begin{aligned} \text{Chl}_a \text{ (ug/ml)} &= 12.25 \times A663.2 - 2.79 \times A646.8 \\ \text{Chl}_b \text{ (ug/ml)} &= 21.5 \times A646.8 - 5.1 \times A663.2 \\ \text{Car}_{\text{total}} \text{ (ug/ml)} &= (1000 \times A470.0 - 1.82 \times \text{Chl}_a - 85.02 \times \text{Chl}_b) / 198 \end{aligned}$$

【式①】 ウェルバーン (1994) の式

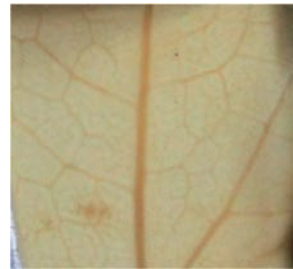
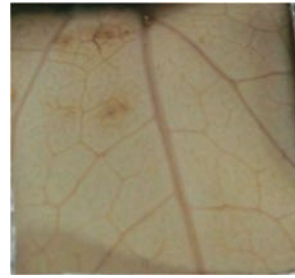
[実験①写真：上段=葉の表面，下段=葉の裏面 全て72時間後の写真]



【写真⑥】
トラデスカンチア



【写真⑦】
マコデスペトラ



【写真⑧】
カポック



【写真⑨】
セローム



【写真⑩】
アルテシマ



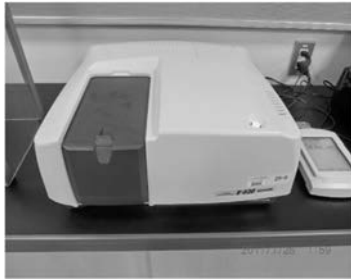
【写真⑪】
操作2後



【写真⑫】
遠心分離機



【写真⑬】
遠心分離後・上澄み液

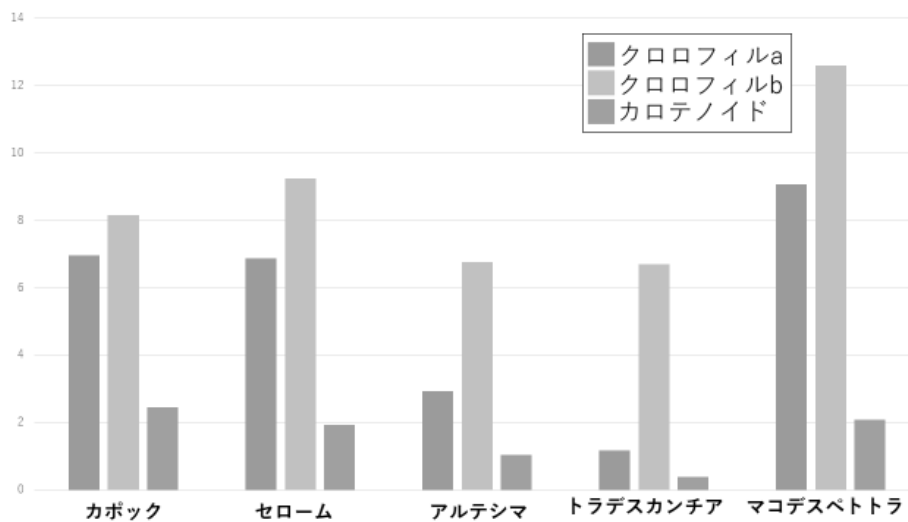


【写真⑭】
分光光度計

クロロフィルa=A クロロフィルb=B カロテノイド=C (小数点第三位を四捨五入)

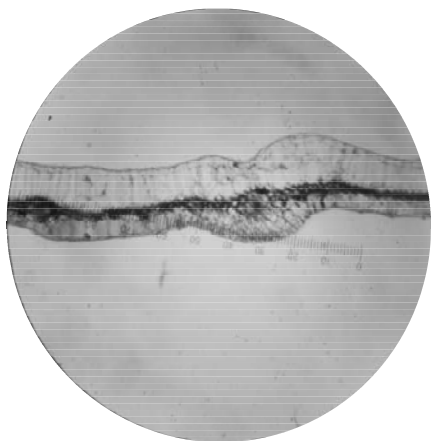
	カボック	アルテシマ	セローム	トラデスカンチア	マコデスペトラ
A(mg/ml)	6.95	2.93	6.86	1.16	9.07
B(mg/ml)	8.15	6.77	9.25	6.69	12.60
C(mg/ml)	2.46	1.04	1.92	0.39	2.09

【表②】 実験②の結果

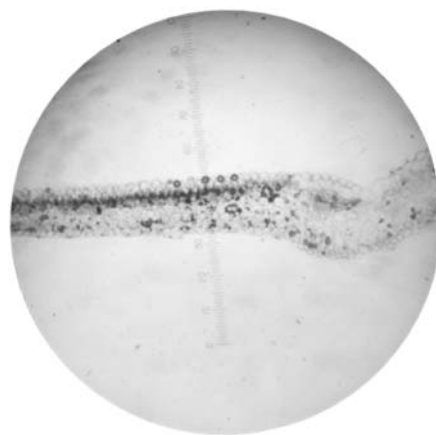


【グラフ①】 クロロフィルa, クロロフィルb, カロテノイドの量 [$\mu\text{g}/\text{ml}$]

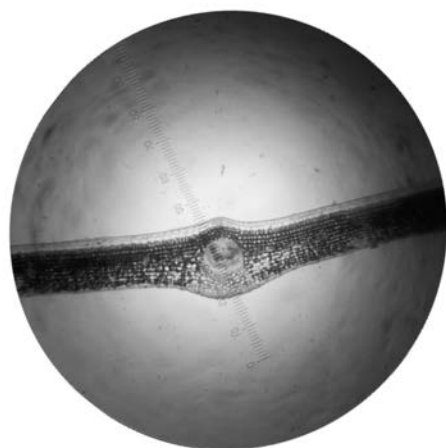
【実験③顕微鏡写真（接眼レンズ15倍・対物レンズ4倍を用いて撮影）】



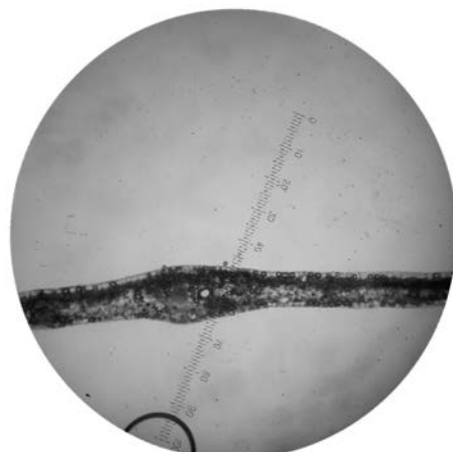
【写真⑮】
トラデスカンチア



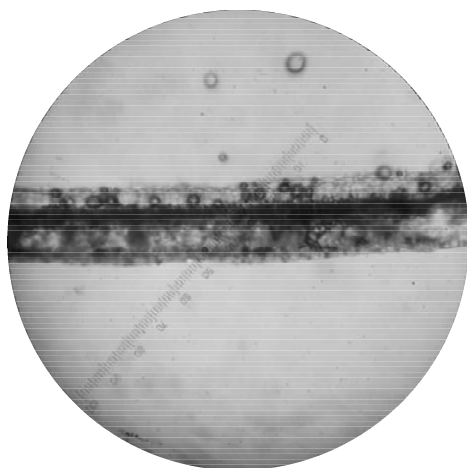
【写真⑯】
マコデスペトラ



【写真⑰】
カポック



【写真⑱】
セローム



【写真⑲】
アルテシマ

植物名	全長 (μm)	上部細胞層 (μm)	色素層 (μm)	下部細胞層 (μm)
トラデスカンチア	500	225	100	175
マコデスペトラ	449	67	135	247
カポック	400	80	300	20
セローム	300	30	255	15
アルテシマ	551	132	392	27

【表③】 実験③の結果

