

オオカナダモによる光合成でのデンプン検出実験の改善

渡邊りな^{1)*} 山下修一²⁾

¹⁾千葉大学・教育学部・小学校課程学生 ²⁾千葉大学・教育学部

Improvement for Chloroplast Starch Observation in Egeria Leaf Cells

WATANABE Rina^{1)*} YAMASHITA Shuichi²⁾

¹⁾Faculty of Education, Chiba University, undergraduate Student

²⁾Faculty of Education, Chiba University

オオカナダモを用いて葉緑体でのヨウ素デンプン反応を観察しても、教科書の写真のように青紫色に呈色する反応が見られないことが多いことから、本研究ではデンプン検出実験の改善を試みた。その結果、以下の手順で実験を実施することにより、天候に左右されずにヨウ素デンプン反応が見られるようになった。

- (1) 約1%の炭酸水素ナトリウム水溶液をつくり、ペットボトル内に水溶液とオオカナダモを入れ、蓋をしてクリヤー電球から5cmの距離にペットボトルを置き、光に5時間当てる。
- (2) ペットボトル内からオオカナダモを取り出し、先端の葉を丁寧に切り取り、5分間熱湯(98℃)につける。
- (3) 湯煎で温めたエタノールに(2)の葉を5分間つけて脱色をする。
- (4) (3)で脱色を行った葉を水で軽くすすぎ、薄めたヨウ素液に15分程つけておく。
- (5) (4)の葉でプレパラートを作成し、顕微鏡で観察をする。

キーワード：オオカナダモ (Egeria) 光合成 (Photosynthesis) デンプン検出 (Chloroplast Starch Observation)

I. 問題と目的

2008年改訂の中学校学習指導要領では、第2分野の(1)植物の生活と種類で、「光合成における葉緑体の働きにも触れること」となっており、平成23年検定済の代表的な中学校理科の5社の教科書には、オオカナダモを用いた実験が取り上げられている。

しかし、オオカナダモを用いて葉緑体でのヨウ素デンプン反応を観察しても、教科書の写真のように青紫色に呈色する反応が見られないことが多い。筆者も教育実習に行った際に、この実験を予備実験と授業で数回行ったが、ほとんど成功しなかった。

堅田ら(2004)は、エタノールによる脱色操作を行うことで、ヨウ素反応による呈色が見やすくなったが、何度か天候条件を変えて実験を行ったところ、天候がいいから実験がうまくいくとは限らず、ヨウ素反応が全く現れない時もあり、さらに実験方法の改良が必要であると指摘している。正元ら(2015)は、準備するオオカナダモの処理条件や実験操作の詳細が記載されていないため、葉緑体デンプン観察がうまくいかない例が多いこと、オオカナダモの光合成特性について、二酸化炭素が光合成の炭素源であることは示唆されるが、明らかにされていないことを指摘している。また、光合成による葉緑体のデンプン蓄積を見る場合に、葉の中肋部の葉緑体を観察するのは不適切であると示唆している。

教師用指導書の留意点などには、中肋部はよく観察できる部分として示してあるが、中肋部の葉緑体はそれまでの光合成で生成され蓄積されて貯蔵されたデンプンで

ある可能性があり、光照射前後でのヨウ素液での染色の変化を観察させる必要があるとしている。改善策としては、熱帯魚店等で売っている水草用の二酸化炭素供給グッズを使用し、二酸化炭素を水に十分含ませ、半日程度光に当てて十分に光合成をさせること、オオカナダモを茎頂5～10cmごと80℃前後のお湯にて2～3分熱処理をした後、エタノールにて脱色すること、ヨウ素液に数分間つけ、反応のいい葉を選び観察することがあげられている。事前準備に関しては、エアレーションをして適度な光強度のもとに置くことが、最も簡単な方法であるとしている。

新井(2014)は、オオカナダモを用いた実験の改善点として、「葉を日光に十分に当てる」「先端部分の元気な若い葉を用いる」「ヨウ素反応を十分に行わせる」の3点をあげている。また、正元ら(2015)は、実験の再現性を高めるためには、オオカナダモが光合成を最も盛んに行う条件(光の強度、水温、二酸化炭素濃度)を見出すことであるとしている。

そこで本研究では、オオカナダモが光合成を最も盛んに行う条件を見出すために、学校図書、教育出版、啓林館、大日本図書、東京書籍の5社の現行および過去の教科書、教師用指導書を参考にしながら、様々な条件下で実験を試み、オオカナダモを用いた光合成の実験の改善点を検討した。

II. 方法

実験条件を二酸化炭素濃度、光の種類と照射時間、ヨウ素液での染色方法、葉の部位の4点に絞り、3種類の実験を検討した。ただし、二酸化炭素濃度については、

*連絡先著者：渡邊りな syama@faculty.chiba-u.jp

濃度を測定するのではなく、炭酸水素ナトリウム（重曹）の添加による水中内での二酸化炭素の増加の有無で比較した。

〈実験1〉

二酸化炭素濃度、光の種類、照射時間を変化させて実験を行った。

(1) 水の入ったビーカーと約1%炭酸水素ナトリウム水溶液の入ったペットボトルに入れたオオカナダモを、電球との距離を約5cmに保って、1時間、3時間、5時間と時間を変えて電球の光に当てた。

(2) 光に当てていたオオカナダモの先端から3cm以内の葉をとり、水温を確認し、熱湯（約98℃）に5分ほどつけた。

(3) 熱湯につけたオオカナダモの葉を湯煎で温めたエタノール（約50～60℃）に5分ほどつけて、葉を脱色した。

(4) 脱色した葉を水ですすぎ、スライドガラスにのせて、ヨウ素液を1、2滴たらし、5分ほど放置し、その後カバーガラスをかけて観察した。

〈実験2〉

実験1(4)の操作にビーカーに入れたヨウ素液に葉を5分、10分浸す方法を追加して比較した。

〈実験3〉

使用する葉を、先端の葉、先端から1.5センチの葉、3cmの葉の3種類の部位で比較した（図1）。

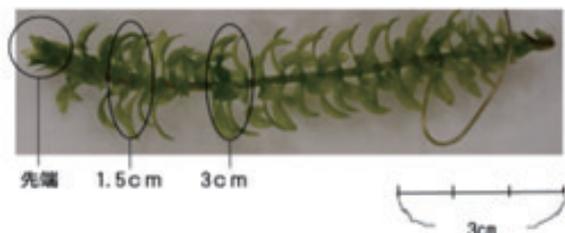


図1 オオカナダモの葉

〈実験器具〉

- ・電球 2種
(ASAHI LAMPクリヤー電球 40W)
(LIXILピバ LED電球 昼光色 40W形)
- ・スライドガラス・カバーガラス
- ・双眼顕微鏡 (NIKON製)
- ・スティック温度計 (TANITA製)
- ・エタノール
- ・炭酸水素ナトリウム (重曹)
- ・水20mlに対しうがい薬 (福地製薬株式会社コデトンうがい薬 (ポピドンヨード70mg) (有効ヨウ素7mg含有) / 1ml) 使用)を0.4ml (約10滴) 入れて薄めたヨウ素液

Ⅲ. 結果と考察

1. 実験1について

実験では、葉のいずれかに染色されたデンプン粒がはっきりと確認できた時を成功としたが、デンプン粒は基部、または葉の中肋部であることがほとんどであった。実験の結果を重曹添加の有無、電球別、照射時間ごとにまとめると、表1のようになった。

表1 各条件での成功率 (試行回数各8回)

	LED電球	
	水	重曹添加
1時間	37.5%	62.5%
3時間	62.5%	37.5%
5時間	75.0% (※)	50.0%
全平均	55.0%	50.0%
	52.3%	

	クリヤー電球	
	水	重曹添加
1時間	62.5%	75.0%
3時間	75.0%	62.5%
5時間	100.0% (※)	100.0%
全平均	75.0%	79.2%
	77.3%	

※実験室使用の都合上試行回数は4回となった

表1より、水での実験と重曹添加での実験との成功率を比較すると、水を使用した実験回数全40回に対して成功率は65.0%、重曹添加時の実験回数全48回に対して成功率は64.6%で、ほとんど違いが見られなかった。この結果から、重曹の使用の有無は、実験の成功率にほぼ影響しないと言えよう。

光の照射時間に着目すると、LED電球使用時は、水で実験を行った照射時間5時間の結果が75%と比較的高い数値が出ているが、それ以外では大きな違いは見られない。一方のクリヤー電球では、照射時間が1時間と3時間とでは大差がないものの、5時間では成功率が100%となった。さらに、電球別に結果を比較すると、LED電球よりもクリヤー電球を使用したほうが、成功率が高いことがわかる。これは、LED電球を使用すると水温の上昇が抑えられ、ビーカーないしペットボトル内の水温は最高でも27℃程度にしかならなかったが、クリヤー電球では、水温は最高で39℃程に達したことによると考えられる。そこで、電球と照射時間、そして水温に焦点を当てて考えてみる。各電球の照射時間ごと、実験成功時と失敗時のそれぞれの水温平均値を表2に示す。

植物の光合成速度は、一般に水温が約30℃を超えると遅くなるとされている。クリヤー電球を1時間のみ照射した場合の成功時と失敗時の平均水温に1.5℃以上の差があるものの、ほかの項目では実験成功時と失敗時を比べても、大きな差は見られず、3時間以上クリヤー電球

表2 水温の平均値

	LED電球	
	成功時	失敗時
1時間	21.6℃	22.2℃
3時間	24.6℃	24.7℃
5時間	26.6℃	25.6℃

	クリヤー電球	
	成功時	失敗時
1時間	27.6℃	29.2℃
3時間	35.1℃	35.7℃
5時間	37.8℃	

に照射した際には成功時、失敗時ともに水温は30℃を大きく上回っている。このことから、オオカナダモは、高水温下でも光合成を行っており、失敗の原因が水温に関係しているとは言い難いことがわかる。

2. 実験2について

実験2では、実験1の結果を踏まえた上で、デンプン粒がよりはっきりと確認できるように、ヨウ素液での染色方法を変えてみた。

表3 染色方法ごとの成功率（試行回数各36回）

ヨウ素液1滴	5分つける	10分つける
33.3%	55.6%	77.8%

表3からは、ヨウ素液の中に長時間浸した方が、成功率が高くなっていることがわかる。同じ葉を使用して、ヨウ素液から出し、プレパラートを作り写真撮影をして、すぐにヨウ素液の中に戻し、更に浸していくという方法でヨウ素液に浸す時間を5分、10分、15分とし、時間ごとの変化を調べたところ、以下の図2のようになった。



図2 葉の染める時間ごとの変化（左から5分、10分、15分）

染色時間が長くなるほど、ヨウ素液による呈色が濃く、そして染色範囲が多少広がっていることがわかる。このことから、教科書や指導書等には「ヨウ素液によって葉が染まるまでには時間がかかり、3～5分つけておくとよい」という記述はあるが、実際には15分ほどヨウ素液の中につけておいた方が呈色はよくなると言えよう。

3. 実験3について

実験1・2の結果を受けて、電球はクリヤー電球を使用し、ヨウ素液での染色方法は10分間つけるものと15分間つけるものの2通りで比較した。

実験3では全ての部位で成功したが、使用した葉の部位ごとの染色部の結果をまとめると以下の表4のようになった。

表4 葉の部位ごとの染色部の関係

	基部	中助部	中間部
先端の葉	100%	100%	100%
先端から1.5cm	75%	75%	50%
先端から3cm	100%	65%	40%

表4から、葉の中間部を染めるには先端の葉を使用するのが望ましいだろう。使用する葉による呈色の違いを写真で確認すると、図3のようになる。

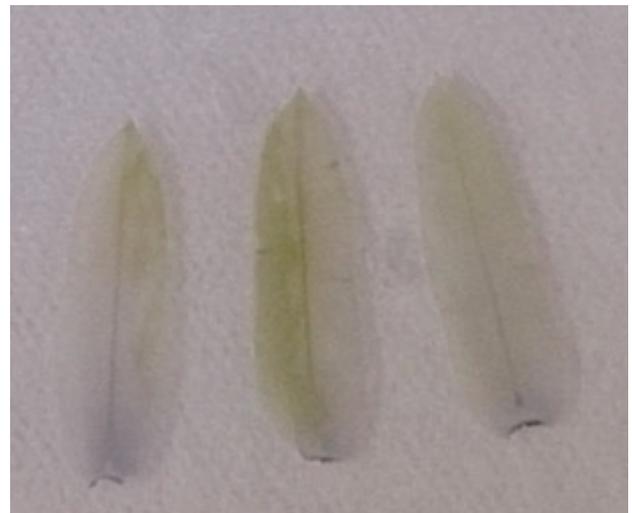


図3 染色時間が15分のオオカナダモの葉（左から、先端の葉、先端から1.5cm、先端から3cm）

図3からわかるように、先端の葉の染色範囲が他の2つの葉の染色範囲と比べて広く、中間部まで染まっているのがわかる。正元ら（2015）が、中肋細胞の葉緑体を観察するのは不適切であると示唆していることを踏まえると、使用する葉の部位は、中間部にまでと広範囲に染まりやすい先端の葉を使用したほうがよいと言えよう。中肋部のみが染まっている葉が見られたが、中肋部のみが染まっている葉26枚のうち、基部が残っていないものが19枚であった。広範囲で呈色が確認できるようにするためにも、基部を残すように丁寧に切ることが必要であ

ると示唆できる。

4. 実験結果のまとめ

実験結果についてまとめると、表5のようになる。

表5 実験結果のまとめ

光について	<ul style="list-style-type: none"> ・LED電球よりも、クリヤー電球を使用したほうが、成功率が高くなる。 ・光には5時間当てることで、十分な結果が得られる。
水温について	<ul style="list-style-type: none"> ・オオカナダモは比較的高水温下でも光合成を活発に行うようである。 ・高水温は実験失敗の原因とは言えない。
濃度について	<ul style="list-style-type: none"> ・重曹を使用して二酸化炭素濃度を上げることは、成功率には影響しない。
その他	<ul style="list-style-type: none"> ・ヨウ素液には15分ほど浸しておいた方が、成功率が高くなる。 ・葉は先端の葉を使用したほうが、成功率は高く、広範囲に染まりやすい。 ・葉は丁寧に切り取った方が染色範囲が広がりやすい。

ここで、炭酸水素ナトリウムの使用は実験の成功率に左右されないとしたが、実験を行っている炭酸水素ナトリウムを使用した方が脱色がされやすかった。脱色がきちんとなされていた方がヨウ素液での呈色が明瞭であるため、結果の確認を容易にするという観点からは、炭酸水素ナトリウムは使用した方がよいだろう。

IV. 結論と今後の課題

1. 本研究の結論

本研究を行った結果、従来のオオカナダモのデンプン検出実験の方法の改善点がいくつか見つかった。本研究で改善した手順は以下の通りである。

- (1) 約1%の炭酸水素ナトリウム水溶液をつくり、ペットボトル内に水溶液とオオカナダモを入れ、蓋をしてクリヤー電球から5cmの距離にペットボトルを置き、光に5時間当てる。
- (2) ペットボトル内からオオカナダモを取り出し、先端の葉を丁寧に切り取り、5分間熱湯(98℃)につける。
- (3) 湯煎で温めたエタノールに(2)の葉を5分間つけて脱色をする。
- (4) (3)で脱色を行った葉を水で軽くすすぎ、薄めたヨウ素液に15分程つけておく。
- (5) (4)の葉でプレパラートを作成し、顕微鏡で観察をする。

この実験手順と従来の手順とで異なる点としては、

- ・水温上昇を気にしない点

- ・炭酸水素ナトリウムを使用する点
- ・先端付近ではなく、先端の葉を使用する点
- ・葉を切り取る際には基部細胞をきれいに含むように切り取る点
- ・ヨウ素液には15分つける点

の5点が挙げられる。

この手順で行った実験は試行回数が60回と少ないが、成功率は100%である。この手順で使用する道具はどれも容易に手に入るうえ、時間もそう多くはかからない。また、堅田ら(2004)は本実験について、天候がいいから実験がうまくいくとは限らない、井口ら(2009)も天候の影響を受けやすいとしているが、改善した実験方法は天候に左右されないため有効であると言えよう。

2. 今後の課題

本実験は、自然光ではなく電球を使用して実験を行った。天候に左右されずに実験ができる点では有効だが、今後は学校現場で行われている日光を用いた実験についても改善を試みたい。

また、本実験ではヨウ素液の濃さを一定にして実験を行ったが、呈色は青紫色とは言い難く、黒っぽいものが多かった。ヨウ素液の濃さを変化させ、それによる呈色の違いを確認し、青紫色により近い色に染めるためにはどれほどの濃さで実験を行うべきかについても検討したい。

文 献

- 正元和盛ら(2015)「葉緑体デンプン観察のためのオオカナダモ葉・ヒヤ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, 32, pp.39-49.
- 新井直志(2014)「オオカナダモを使った観察や実験 その1」, 理科の教育, 742, pp.344-345.
- 新井直志(2014)「オオカナダモを使った観察や実験 その2」, 理科の教育, 743, pp.418-419.
- 堅田勇人ら(2004)「葉の中のデンプンを調べるための材料・方法の検討」, 日本理科教育学会全国大会要項, 55, p.349.
- 井口智文ら(2009)「葉を用いたデンプン検出実験の改良」, 宇都宮大学教育学部紀要, 59, pp.33-40.
- 岡村定矩ら(2011)『中学校科学 1』『中学校科学1 教師用指導書』, 学校図書.
- 細谷治夫ら(2011)『自然の探究 中学校理科1』『自然の探究 中学校理科1 教師用指導書 学習指導編』, 教育出版.
- 塚田捷ら(2011)『未来へひろがるサイエンス1』『未来へひろがるサイエンス1 指導書 第2部 詳説』, 啓林館.
- 有馬朗人ら(2011)『理科の世界 1年』『理科の世界 1年 教師用指導書』, 大日本図書.
- 霜田光一ら(2011)『新しい科学 1年』『新しい科学 1 教師用指導書』, 東京書籍.