

植物生理分野の生徒実習

発芽種子のグルコース濃度とアブシシン酸のはたらき

教材化の経過報告

1. 教材化の目的

高校生物では、浸透圧、細胞分裂、組織、光合成色素、さらにはプロトプラストなど、身近な植物を材料として用いる実験実習も多く、本校でも積極的に取り組んでいます。しかし、現行課程「生物Ⅰ」の「植物の反応と調節」、来年度から実施される新課程「生物」の「植物の環境応答」の単元で取り扱う「植物ホルモン」のはたらきについては、植物生理を理解する上で重要な内容であり、教科書などにもオーキシシンやジベレリン、エチレンの作用を中心にいくつかの実験プランが紹介されているものの、実験に手間や時間（日数）のかかるものもあり、授業時間数の切迫する中、生徒実習として実施できていないのが現状でした。

そのような中で、今回、[上越教育大学の小林辰至教授、光永伸一郎教授による「尿糖検査用試験紙を用いたソバ発芽種子におけるグルコース濃度の簡易判定 ― 生化学的手法を用いた濃度測定との比較・検討を通して―」（※1）](#)という論文に注目しました。

この報告をもとにして、植物ホルモンの作用を確かめる内容を盛り込めば、種まきの手間を除いて1回の授業時間 50 分で完結でき、種子の発芽における生化学的な変化と植物ホルモンの作用についての理解を深めることができると考え、高等学校の生物の授業で取り組める生徒実習のプランとして教材化することにしました。

(※1) 生物教育 第45巻第3号 2006 http://www.juen.ac.jp/scien/kobayashi_base/nyouto_shiken.pdf

2. 教材化の工夫

教材化と実践にあたっては以下のことに留意しました。

- ① 実験は種まきを除いて1回の授業 50 分間で完結できる内容にすること。
- ② 種子の発芽と休眠に関わる植物ホルモン「ジベレリン」「アブシシン酸」のはたらきの理解につながる内容にすること。
- ③ 準備を含めて、できるだけ簡易に行えるようにすること。
- ④ ソバの代替となる材料の探索とソバアレルギーの生徒への配慮を行うこと。

実験材料としては、小林辰至教授の助言でソバ種子が最良であるとのことで、実際に予備実験を行った結果もソバでは大変明瞭でしたが、もしソバ種子を材料として用いることにすると、学校現場ではどうしても「ソバアレルギー」の生徒への配慮が必要になってきます。そのため、④については実施にあたっての生徒に対する説明も含めて、どのようにしていくか検討を行いました。



ソバの種子

3. 予備実験と検討結果

平成 24 年 4 月と、授業実践直前の 5 月末に予備実験を行い、生徒実験の内容を検討しました。

- ① ソバ種子での予備実験の結果から、生徒実験は播種後 1 日目と 2 日目について、ABA(-)・ABA(+)の 4 区分で行うことにした。
- ② 尿糖検査用試験紙は「新ウリエースGa」(テルモ)を用いる。ボトルに比色表がついているため、各班にボトルが行き渡る数を用意する。
- ③ 種子は 35mm のデッシュにろ紙を敷き、水 2mL を入れて、5 粒播く。
- ④ 種子をすりつぶすときには pH4.5 のリン酸緩衝液は使わず、水で行う。
- ⑤ 乳鉢に加える種子の数、水の量、すりつぶし時間、すりつぶし開始から試験紙を浸すまでの時間を指定し、浸してから正確に 30 秒後に試験紙の色の判定を行うようにする。
- ⑥ ソバのデンプン粒の顕微鏡観察を行い、種子の吸水とデンプンの糖への分解が進むにつれてデンプン粒が膨潤しているようすを確認させる。

また、ソバアレルギーへの対応については以下のようにしました。

- ① ソバの代替となる材料の探索では、イネ、オクラ、アスパラガスなど 10 種類の種子を試し、比較的よい結果が得られたアサガオ(種皮の茶色いもの)を用いることにした。アサガオの種子は胚乳を持つイネやソバとは異なり、子葉に養分を貯蔵する無胚乳種子である。教科書では種子の発芽の調節について有胚乳種子を例に説明してあるため、そのまま当てはめることはできない部分もあるが、尿糖試験紙でソバと似た結果が得られたため、用いることにした。
- ② 事前にソバアレルギーの有無を確認し、該当の生徒がどのクラスも同じ実験台・実験器具を使うように設定することにした。その実験台を使う班は、アレルギーの生徒がメンバーに含まれているかどうかにかかわらず、材料としてアサガオを使うこと(アサガオ班)とし、乳鉢などの器具にもソバの成分が付着しないようにする。
- ③ 実験手順の中でソバアレルギーに対応した部分について該当生徒だけでなく、実験するすべての生徒に事前に説明する。また、該当生徒については安心して実験に取り組めるように個別にも説明することにした。

今回の教材化と実践にあたっては、上越教育大学 小林辰至 教授 に助言をいただきました。ありがとうございました。

実習の方法

準備：

アブシシン酸水溶液を作る。

アブシシン酸は水に溶けにくく、正確な濃度の溶液を作ることはできていない。10mg 程度(少ないため正確には量れていない)に水 5mL を加え、溶け残りが出ている状態で各班用のマイクローチューブに分注した。種子を浸すデッシュには水 2mL を入れて A B A 溶液 100 μ L を加えるため、最終的には 10^{-5} mol/L 程度の濃度になっていたと思われる。

生徒実習：

1. 播種：実験日の前々日・前日の昼休み

① 35mm デッシュに合わせてろ紙を丸く切る。

フィルムケースのフタをあてがって一回り大きく切ると4枚一度に素早くでき、よい具合であった（右写真）。

② デッシュ2枚にろ紙を敷いてそれぞれ蒸留水2mLを入れ、一方にはマイクロピペットを用いてアブシシン酸水溶液100 μ Lを加える。種子は5粒ずつ播く。

ソバはそのまま播き、アサガオはひとつずつカッターナイフで種皮にキズをつけて（芽かき）播く。デッシュのフタに実験区分をペンで書き、25℃のインキュベーターに入れておく。



2. 実験

① 種子の発芽状態を確認する（簡単なスケッチ、写真撮影）。

② 種子3粒に水1mL加えて乳鉢で30秒間すりつぶす。すりつぶし開始から1分後に尿糖検査用試験紙を乳鉢の中の懸濁液に1秒間浸し、軽くぬぐって台紙の上に置く。正確に30秒後に試験紙の色を確認する（写真撮影）。乳鉢を変えて、4区分について順次行う。

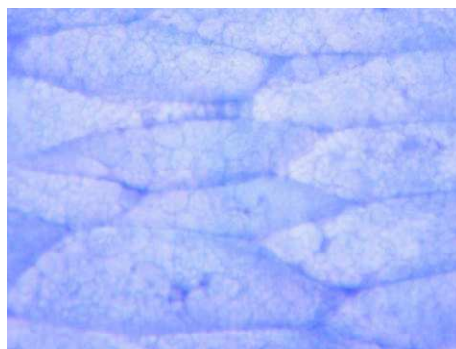
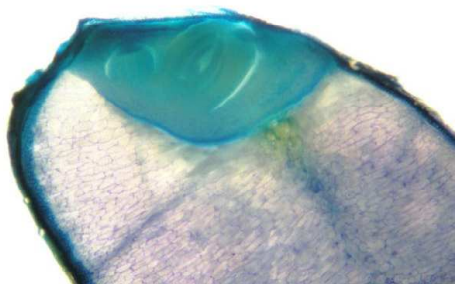
③ ABA(-)のソバについて懸濁液を1滴取ってプレパラートを作り、播種後1日目と2日目のデンプン粒を顕微鏡で観察し、比較する（スケッチ）。

授業実践報告

6月6日（水）	3時間目	3年理系（3-8）	14名
	5時間目	3年理系（3-1）	14名
	6時間目	3年理系（3-4）	14名

いずれのクラスもこの実験に先立って「[玄米薄片の作製と種子のつくりの観察](#)」（※2）を生徒実習として行っています。そのときに、発芽の際に起こるジベレリンによるアミラーゼ合成の誘導、貯蔵デンプンの分解という生化学的な変化を担う、胚・胚乳と貯蔵デンプン・糊粉層などの種子の各構造について、イネの種子で観察しています（写真は生徒作製標本の例）。

イネ種子
胚を含む
部分



イネ種子
胚乳の細胞とデ
ンプン粒

（※2）米粒プレパラートで細胞を見る（加藤俊一） 生物の科学 遺伝 別冊 No10 1998

1. 前々日・前日 昼休み 種まき

A B A溶液をディッシュに入れる際にインスパイア事業で導入したマイクロピペットを使用しました。教師も説明しましたが、昨年のS P P講座で練習した生徒が説明し、初めての生徒が試してみる姿が印象的でした。アサガオ班の芽かき作業も要領が分かれば手分けしてできていました。



2. 実験当日

時間を計って正確に手順よく操作を進めることを要求しました。班員がよく協力してテキパキと進めることができていました。さすが、実験回数を重ねてきている3年生です。ひとつ目のサンプルを処理すると、要領も分かって、あとはスムーズでした。どの班も時間内にデンプン粒の観察まで終えて、記録もきちんと取れました。

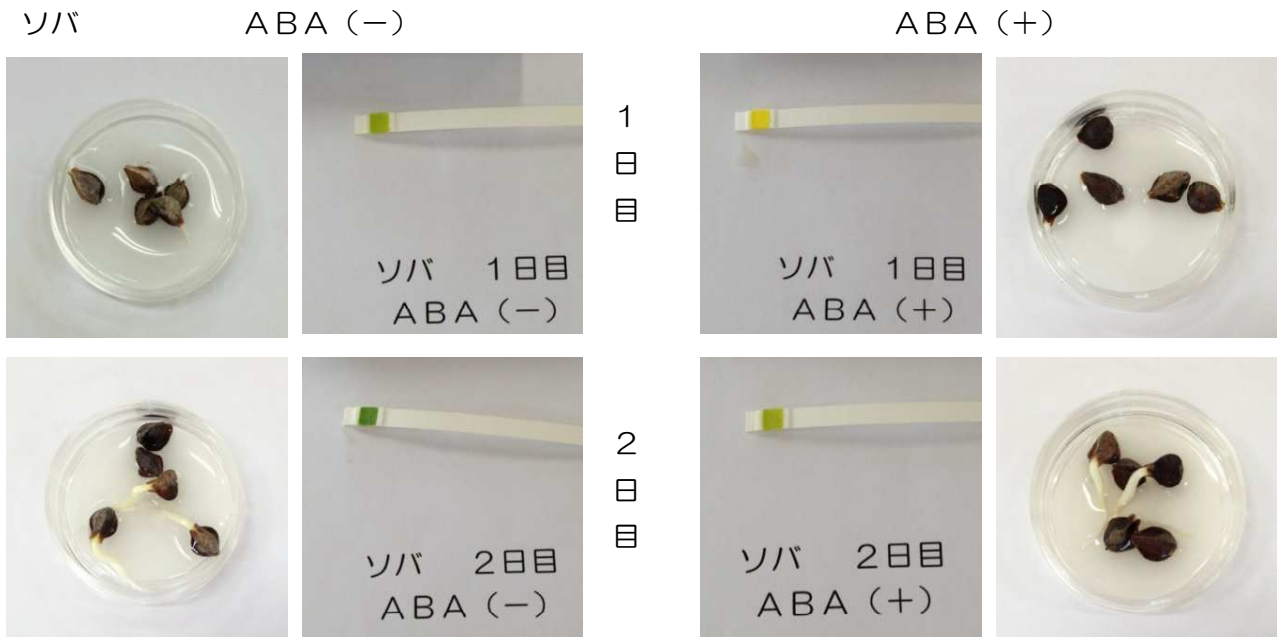


【実験結果の例】

尿糖検査用試験紙は緑色が濃いほどグルコース濃度が高いことを示しています。

ソバでは1日目より2日目の方が発芽（根）が進み、グルコース濃度が上がっていることが分かります。

また、アブシシン酸を加えたものは、グルコース濃度が上がらず、発芽も遅れています。

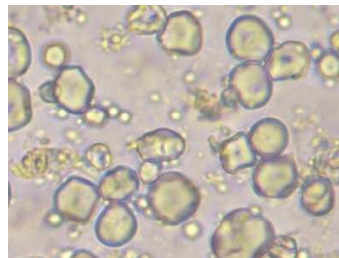


ソバのデンプン粒

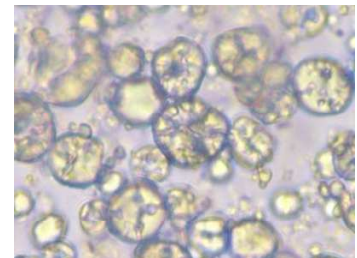
アブシシン酸を加えていないソバの種子をすりつぶした懸濁液を取り、デンプン粒を顕微鏡で観察したもの。

2日目にはデンプン粒が膨潤していることがわかります。

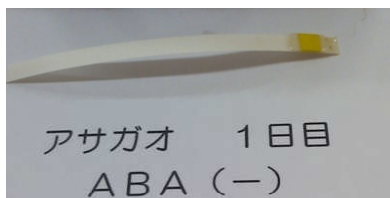
ABA (-) 1日目



2日目

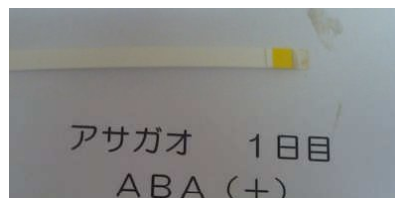


アサガオ ABA (-)

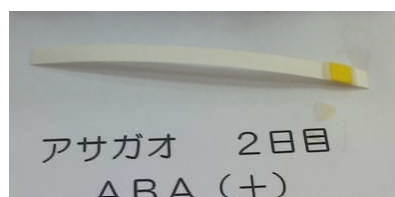
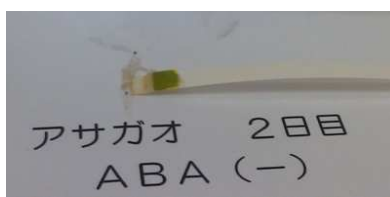


1
日
目

ABA (+)



2
日
目



アサガオは、「芽かき」が不十分で吸水が進んでいない種子が多く出た班もあり、予備実験のときと比べて、不満の残る結果となりました。ソバの代替とするなら、今後さらに、方法や品種の選び方を工夫していくことが必要と考えています。

【生徒の考察例】

- ◇ 試験紙の色を比べると、1日目よりも2日目の方が濃い緑色をしている。播種後時間が経つにつれてグルコース濃度が高くなった。
- ◇ 2日目の種子は1日目のおよそ40倍もの糖が検出され、グルコース濃度は高くなった。
- ◇ アブシシン酸があると、種子に発芽する様子がなく、グルコース濃度も低いままであった。アブシシン酸はデンプンをグルコースに分解することを抑制し、発芽の抑制をしていることが考えられる。(アサガオ班)
- ◇ 少し芽の出たアブシシン酸を与えていない種子と比べて、アブシシン酸を与えた1日目の種子は芽も出ておらず、グルコース濃度も低い。2日目の種子も同様に、アブシシン酸を与えていない種子が1日目よりも大きく成長していて芽の長さも長くなっているのに対して、与えた種子は芽も出ず、グルコース濃度も低いままであった。アブシシン酸はジベレリンによって引き起こされるデンプンを糖に分解するというはたらきを阻害したと考えられる。
- ◇ アブシシン酸を与えなかった種子の方が根が長く伸びていた。グルコース濃度は1日目はあまり差は見られなかったが、2日目はアブシシン酸を与えていない方が少し高かった。グルコースはアミラーゼによってデンプンが分解されることによって生成される。だから、アブシシン酸はアミラーゼの合成を抑制するはたらきがあると考えられる。
- ◇ デンプン粒のデンプンがグルコースに分解され、デンプンは水に溶けにくいグルコースは水に溶けやすいため、グルコースになった部分が水に溶け、デンプン粒内に水がり込んだりして、ひび割れや膨らんだように見えたのだと思われる。
- ◇ 2日目の種子は1日目と比べて播種後時間が経っているので、その分、貯蔵デンプンが1日目より多くグルコースに分解されている。種子の水分にグルコースが溶け、また、グルコースは呼吸基質として利用されていくので、デンプン粒の形が変わった。

【生徒の感想】

- ◇ あらかじめ準備しておいたソバの種子は1日目はちょっとだけど2日目の方はすごく成長して根がすごく長くて班のみんなと興奮してました。今回の実験は時間をきちんと計らないといけない実験だったけど、班のみんなと協力できたのでスムーズに進みました。
- ◇ 1日目の方はABA(+)も(-)も見たい目の変化はあまりなかったけど、尿糖検査用試験紙の変化は全然違って、(-)の方は種子の中ではデンプンの分解がたくさんおこっているんだなあとと思うと、なんだか感動でした。
- ◇ ソバをまいてせっかく育てたのに、すりつぶしてしまったので、なんとなく悲しくなった。アブシシン酸ありとなしとでこんなにも結果が違うのかとびっくりした。
- ◇ 尿糖検査用試験紙は色の変化していく様子がすごい分かりやすく、短い時間で色が変わっていたので、正確に時間を計って実験することはとても大事だと思いました。
- ◇ 種子を水に入れてただけなのに、デンプンを分解したり、グルコースを使って呼吸していると思うと、本当にすごいと思いました。
- ◇ 1日目と2日目のデンプン粒の見たい目の違いにびっくりした。1日目の方がコロコロしていたかわいかったです。グルコースが多いためか、2日目の種子の方がすりつぶしたときにドロドロしていました。
- ◇ デンプン粒を見てはじめは違いが分からなかったが、言われてみると確かに違ったので、自分でそういう違いに気づけるようになりたい。

(担当：薄井 芳奈)