ベンソンの実験

５年Ａ組　行松　和輝
５年Ｃ組　國松　大悟
指導教諭　矢野　幸洋
指導教諭　櫻井　昭

１．要約

ベンソンの実験は、植物は光合成において、一定の期間光を当てさえすれば、そのときに生み出した化学物質を用いて、暗闇においてもその後の反応を続けることが可能であるということを明らかにしている。この実験を新しい手法を用いて追実験し、正確に数値化できないかを調べた。また、その手法には画像解析ソフトを用いて、正確性とともに効率性もあげた。これにより、光合成の条件による効率変化を調べることが容易になる。

キーワード　　ベンソンの実験、画像解析ソフト（imageJ）、数値化、
光合成の第四過程

２．研究の背景と目的

僕たちが研究しているのは大まかにいえば、植物に光合成を暗闇の中でさせようというものだ。この研究は、「ベンソンの実験」と呼ばれる実験の結果により、成功する可能性が保障されている。何故なら、ベンソンの実験とは、光合成の最後の過程は、光なしでもおこなえるということを主張する実験であるからだ。

具体的にベンソンの実験の実験方法を示そう。ベンソンの実験では光合成をするためには、二酸化炭素と光エネルギーと水が必要であり、一つでも欠けると光合成ができなくなることを用いる。

まず、脱気して空気を無くした状態で植物に光を当てる。そして植物に、光合成をせずに光エネルギーだけをためさせ、その光エネルギーによって光合成の次の段階までを行わせる。そこで最後に、この光エネルギーがたまった状態で暗闇に入れて空気を入れ、植物が酸素とデンプンを合成するかを調べる。

この実験では、その結果として、植物はある一定の時間だけ酸素とデンプンの合成が行う、ということを示した。つまり、この実験によって植物は一旦光を浴びた後であれば、光合成の最後の過程を暗闇の中でも行うことが出来るということが実証されている。

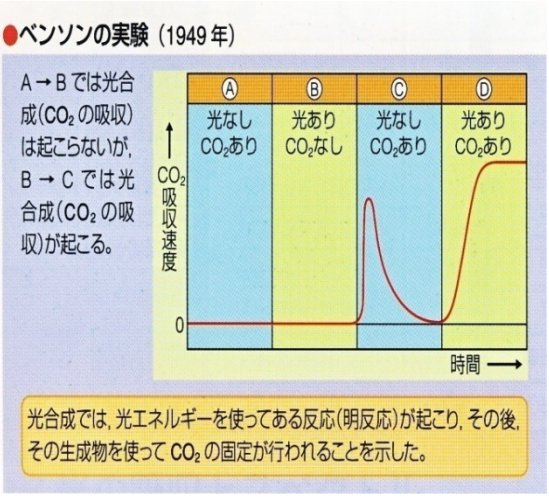

図１　ベンソンの実験

だが、この研究の前提であるその実験方法は何故か教科書などにも詳しく記載されていない。そこで本研究の前提としてこれまでにその追実験を試み、結果の確認には、視覚的に成功した。しかしながら、前回の実験では上手く数値化できなかったため、今回は正確に数値を計測する方法を探った。

３．研究内容

３－１．前回の実験方法

ひとまず、今回の実験方法の比較対象として、前回までの実験方法とその問題点を示す。

まず大まかにだが、前回の実験方法では光合成で消費される二酸化炭素量を、pH 値という指標を用いて測った。結果を以下に示す。

	①	②	③	④	⑤
A	7.1	7.6	7.7	4.0	4.9
B	7.2	8.2	8.2	5.1	5.3
C	7.1	7.8	7.9	4.9	5.1
D	7.1	9.0	6.2	5.2	5.1
E	7.2	9.2	6.5	4.9	5.5
F	7.1	8.9	6.4	4.9	7.1
G	7.2	8.7	6.1	5.3	6.3

①純水の pH 値
②そこに石灰水を入れたものの pH 値
③オオカナダモを入れ、15 分間 2000lux の光に当てたものの pH 値
④その後、二酸化炭素を 24ml 入れたものの pH 値
⑤この試験管を 10 分間暗室に放置した後の pH 値

と定めた。

これでは、最初の①の段階であっても、すでに pH 値が変わっており、正確性が極めて低い。これだけの違いが、同じはずの段階で生じてしまっているので、今調べたい、暗闇で光合成をしているという証拠である④から⑤にかけての変化は、極めて微妙で信憑性に欠ける。

これらはまさに酸素の量をはかろうとして、pH 値という指標を用いたがために起きた失敗である。なぜなら、pH 値を測るためには、各段階で測る前にいちいち計測部を洗浄しなくてはならず、検定もしなくてはならないからである。これでは、正確性が落ちるとともに、実験にかかる時間も長くなってしまう。

これらの実験結果と考察を踏まえて、私たちは光合成によってできるもう一つの物質、デンプンの合成量を測ることにした。そして、その計測には、ゲノム解析に用いられている、色の濃淡を見ることのできる画像解析ソフト（imageJ）を用いた。

面積とまり具合をそれぞれ測定し、面積当たりの光合成量を測定し、写真を各段階で撮ればいいだけにすることにより、精度と効率性をあげ、より正確にそして迅速に実験結果を得ることができるのではないかと考えた。

３－２．実験方法

（１）シロツメクサの葉を一枚ずつ写真で撮り、面積を測定する。
（２）それらのシロツメクサの葉を
①アスピレーターにより真空状態にして光を 30 分当て、その後空気を入れ、暗闇に入れるもの
②アスピレーターにより真空状態にして光を 30 分間当てた後そのまま暗

闇に入れるもの

③何もしないで暗室に 30 分間入れるもの

の３つに分ける。

（３）試験管にエタノールを入れ、そこに先ほどの葉をそれぞれ入れ、30 分間約 70℃で湯煎し、漂白する。

（４）漂白後のシロツメクサをそれぞれヨウ素液で染色し、その後染まり具合を画像解析ソフトでピクセル強度として計測する。

３－３．実験結果

（実験結果の説明）

Number	Area	Average	AVERAGE
1	6988	53.4536	45.17916
2	6267	56.0496	
3	6297	61.9612	
4	6777	21.8656	
5	5714	32.5658	
6	4673	45.6254	33.96892
7	6881	34.4936	
8	7742	31.0062	
9	5643	35.9384	
10	5218	22.781	
11	5971	17.3684	36.43413
12	5914	30.0478	
13	8370	41.783	
14	7112	60.4364	
15	5588	48.6554	
16	5653	20.3138	

1～5 が実験方法で述べた①の状態のシロツメクサの葉

6～10 が実験方法で述べた②の状態のシロツメクサの葉

11～16 が実験結果で述べた③の状態のシロツメクサの葉

ここで、Number が番号、Area が面積、Average がピクセル強度(高ければ高いほど染まり具合が悪いことになる)、AVEREGE が上から順に、①の状態すべての平均、②の状態すべての平均、③の状態すべての平均をそれぞれ指している。

4. 考察

まずは良かった点を述べよう。

実験結果をみる限り、精度が上がったのは一目瞭然だと思う。前回は pH を測定したが、小数点第１位までしか測定することができなかった。それに対し今回は画像解析ソフトを用いることによって面積、そしてピクセル強度までも小数点第３位まで出すことが可能になり、実験誤差が縮小したといえる。そしてもう一つ良かった点は、画像解析ソフトを用いているため、数値化してデータ処理するのも容易になった点である。

しかしながら残念なことに、この実験には、デンプン量を測定したために、ある欠点が生じた。それは、光を当てたのが 30 分、暗闇に入れていた時間が 20 分だけ当てたのでこの実験中に合成されたデンプン量が実験結果として表れていないと思われる。デンプンはたとえ光合成によって合成されたとしても、シロツメクサの葉にしっかりと吸着しないため、エタノールによる脱色のときに、葉緑体の色素と共に消えてしまい、今回の実験のヨウ素液による反応には現れてこないということだ。

このことにより、実験の前に葉に蓄積さ

れていたデンプンだけが染まってしまい、実験中に合成されたデンプンが染まらなかったので、正確なデータが出ない可能性があり、実験が不透明になってしまった。

５．まとめと今後の課題

失敗した要因の一つである、実験の前の段階で固定されているデンプンについては、実験を行う一日前に採取して暗闇に置いておくことで、解決できると思う。

また、葉でのデンプンの合成量を上げるためには、光を当てる時間を長くすることが一番良い方法だが、今回の実験では、水を与えないため、光を長く当てすぎると、シロツメクサがしおれてしまう。

これに関して、生息範囲が水中のオオカナダモで試みてみた。しかし、アスピレーターで真空状態にするとき、水から空気を抜くのにあまりにも時間がかかり効率が悪いことが判明した。効率の良い実験という観点を重視するためには、水分を与えつつ長い時間光をあてる方法を見つけることが必要であると考えている。

最後になるが、僕たちは既になされたベンソンの実験の追実験をする立場であるため、これまでずっと、研究をする前から実験結果を予想しすぎていた感がある。つまり、自分たちの実験結果をベンソンの実験と照らし合わせて判断し、理解しようとしすぎ、本来の実験の結果をしっかりと見ていなかったように思う。そこでこれからは、理論的に分かっていることでも、研究前から思い描く結果にこだわらず、実際の実験結果をしっかりと吟味し、そこから得られる発見を大事にしていこうと思う。

６．謝辞

指導してくださった矢野先生、櫻井先生有り難うございました。

７．参考

図２　脱色後のシロツメクサ

図３　染色後のシロツメクサ