クロロフィル量と光合成能力の関係性

工藤凜

要旨

光合成の働きに関与するクロロフィル a、クロロフィル b と光合成能力の関係性に着目し、光が届きにくい水中で生息するオオカナダモについて調べたところ、クロロフィル a：クロロフィル b は 2：1 であることがわかった。また、クロロフィル a の濃度、クロロフィル b の濃度、クロロフィル総量の濃度それぞれで二酸化炭素変化量との比較したところ、クロロフィル b に強い相関が認められた。

これは、クロロフィル b の濃度が光合成能力に関与していることがわかり、植物の生育する環境でクロロフィルの種類や割合それによる光合成の能力の関係性が変化することが示唆された。

キーワード：クロロフィル a、クロロフィル b、光合成

Ⅰ. はじめに

1)研究の背景

植物は主に葉緑体で光合成を行う。光合成とは光エネルギーを利用して、二酸化炭素、水を使用して糖、酸素を生成する反応である。また葉緑体には光を吸収する働きを持つクロロフィル a、クロロフィル b を持つことが知られている。

和田・渡辺・黒田(1967)によってタバコ*(Nicotiana Tabasco)*の葉の光合成能力はクロロフィル量と正の関係があり普通品種 Bright Yellow は光合成能力の増減とクロロフィル量が比例していることが解明された。また、葉の展開が完了する時期に光合成能力が最大となり老化によって低下することが解明された。

原口・清水(1970) によって葉の色が薄いタバコの変異種である Burley21 の品種は普通品種 Bright Yellow よりもクロロフィル 1mg あたりの光合成効率が 2～20 倍高いことが解明された。

これらの研究結果から、葉の色に関係するクロロフィルに着目し、クロロフィル a、クロロフィル b 量と光合成能力との関係性を調べることにした。また、先行研究の研究対象は被子植物であり、環境の違う植物との比較をして実験を行うことにした。

2)研究の目的

クロロフィル量と光合成能力の関係性を調べるためクロロフィル a、クロロフィル b のそれぞれの含有量と単位時間あたりの二酸化炭素量の変化を比較することを目的とした。

さらに、光合成能力のより高い植物の特徴を発見するために先行研究と同じ被子植物ではあるが光が届きにくい水中で生息するオオカナダモ*(Egeria densa)*を実験で使用し、クロロフィル量、またクロロフィル a とクロロフィル b の含有量の差に違いがあるかを目的とした。

3)研究の仮説

光が届きにくい水中で生育するオオカナダモは光合成能力は高いと考えられるため一定のクロロフィル量に対して二酸化炭素吸収量はより高いと考えられる。

また、クロロフィル a はほとんどの光合成生物に存在し、主に光を吸収する働きを主にしているため、クロロフィル量に対する二酸化炭素吸収量は高いと考えられる。

さらに、光合成を効率的に行うために水中の植物はクロロフィル b の割合が多いと考えられる。

II. 手法

1) カラムクロマトグラフィー

1-1)溶液の作成

オオカナダモ 20cm を乳鉢と乳棒を用いてすり潰したものに、アセトン:ヘキサンが 1:4 の溶液を 5ml 加え抽出液を作成した。また、アセトン:ヘキサンが 1:4 の溶液 10ml にワコーゲル C-300 を 3g 加えた溶液を作成した。

1-2)滴定準備

パスツールピペットに下から脱脂綿、アセトン:ヘキサンが 1:4 の溶液 10ml にワコーゲル C-300 を加えた溶液、オオカナダモ抽出液、アセトン:ヘキサンが 1:4 の溶液を順に入れ滴定を行った。

2)二酸化炭素変化量の測定

2-1)二酸化炭素量の測定

1500 ㎤の容器に 200 ㎤の水を入れたものにオオカナダモ 20cm を入れワイヤレス二酸化炭素センサー(株式会社島津理化)で二酸化炭素濃度を測定した。その後、インキュベーターの中で 1 時間豆電球の光に当てて、もう一度二酸化炭素の濃度を測定した(図 1、図 2)。

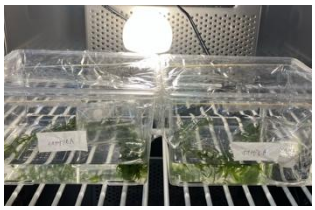


図 1 測定方法 1



図 2 測定方法 2

3)分光光度計を用いた波長測定

3-1)溶液の作成

オオカナダモ 20cm を乳鉢と乳棒を用いてすり潰し、蒸留水 5ml を加えた溶液を作成した。また、蒸留水 200 μl にアセトン 800 μl を加えアセトン 80%の溶液 1ml を作成した。そしてアセトン 80%の溶液に検出する試料 200 μl を加えた溶液を 1ml を作成した。

3-2)遠心分離

すり潰したオオカナダモ 20cm に蒸留水 5ml を加えた溶液を 1ml ずつチューブに加えた。作成したチューブを遠心分離機に入れ 6000 回転/分で 5 分間回転させ葉の色素と繊維を分離させた。

3-3)波長測定準備

石英セルにアセトン 80%の溶液 1ml を入れたものと波長 663.6nm 検出する試料 200 μl にアセトン 80%を 800 μl を入れたものをそれぞれ用意した。波長 663.6 に設定した分光光度計にアセトン 80%の溶液が入った石英セルを入れて値を測定し、リセットした後に検出する試料 200 μl にアセトン 80%を 800 μl を入れた石英セルを分光光度計に入れその値を結果とした。同様にして波長 646.6nm の値の結果も測定した。

3-4)波長結果の計算

$$\text{クロロフィル } a\,(\mu\text{g/ml}) = 12.25 \times A_{663.6} - 2.55 \times A_{646.6}$$
$$\text{クロロフィル } b\,(\mu\text{g/ml}) = 20.31 \times A_{646.6} - 4.91 \times A_{663.6}$$

クロロフィル a とクロロフィル b の濃度を次の式を用いて計算した。

図 1 で求めた結果を C とし、抽出に用いた溶媒の質量 V を 1ml とし、希釈倍数 D を 5 倍とし、抽出に用いた葉の面積 A を 0.6 ㎠✕葉の枚数として

$$\text{最終クロロフィル量}\,(\mu\text{g/cm}^2) = \frac{C \times V_{\text{溶媒}} \times D}{A_{\text{葉}}}$$

以下の計算式(3)を用いて計算をした。

III. 結果

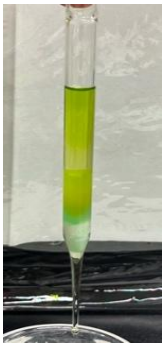


図 3 滴定の様子

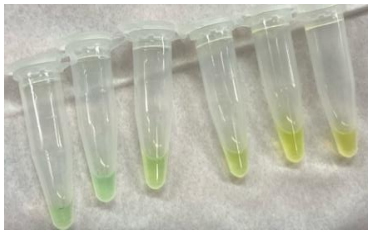


図 4 滴定後の色の違い

実験 1 の結果において、滴定後の色の変化が左から右に行くに従って、色が緑から黄色へと変化していく(図 4)。色の違いからβカロテン、クロロフィル a、クロロフィル b の順に滴定できたことがわかり、オオカナダモにはクロロフィル a、クロロフィル b を含むことがわかった。

表１　測定結果

	クロロフィルa(μg/㎠)	クロロフィルb(μg/㎠)	クロロフィル総量(μg/㎠)	二酸化炭素量(ppm)
1	1.27	0.74	2.01	30
2	1.51	0.93	2.44	14
3	1.12	0.59	1.71	21
4	0.71	1.12	1.83	26
5	0.62	0.41	1.03	156
6	1.73	0.87	2.6	162
7	1.39	0.68	2.07	136
8	2.10	1.81	3.91	44
9	2.08	1.87	3.95	66
10	1.82	1.89	3.71	42
11	1.58	1.63	3.21	90
12	2.28	2.72	4.92	48
13	2.32	2.82	5.14	88
14	1.36	1.57	2.93	100
15	0.95	0.56	1.51	68
16	0.78	0.38	1.16	110
17	0.80	1.16	1.96	48
18	0.61	0.4	1.01	216
19	1.24	0.67	1.91	74

実験 2、実験 3 の測定結果を示した(表 1)

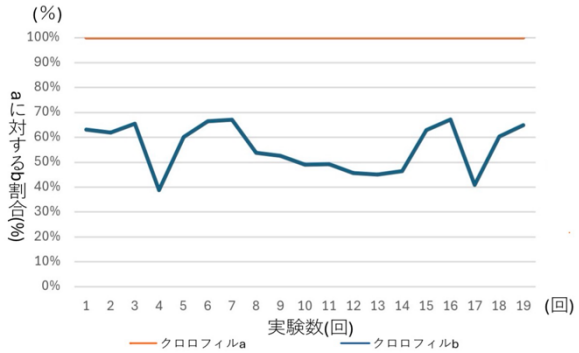


図 5 クロロフィル a に対する b の割合

実験 3 の測定結果の値からクロロフィル a とクロロフィル b の濃度を比較した。クロロフィル a の割合を 1 としてクロロフィル a に対するクロロフィル b の割合を示した(図 5)。値にばらつきはあるが、クロロフィル a：クロロフィル b は約 2：1 であることがわかった。

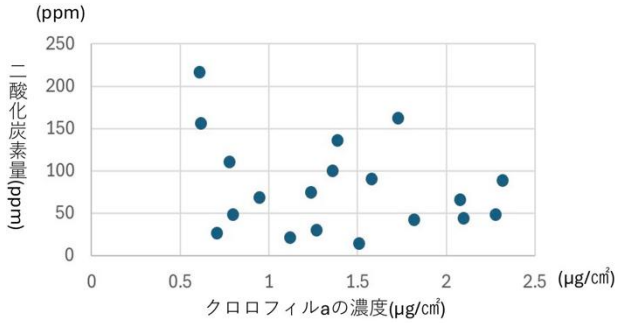


図 6 クロロフィル a の濃度と二酸化炭素量

実験 2、実験 3 の測定結果の値からクロロフィル a の濃度と二酸化炭素量の変化を分布図に示した(図 6)。本実験ではオオカナダモの呼吸による二酸化炭素量の変化量を差し引いていないため二酸化炭素量の変化が少ないことが、より光合成をしていると捉える。散布図から相関係数は-0.432、決定係数は 0.187 であった。

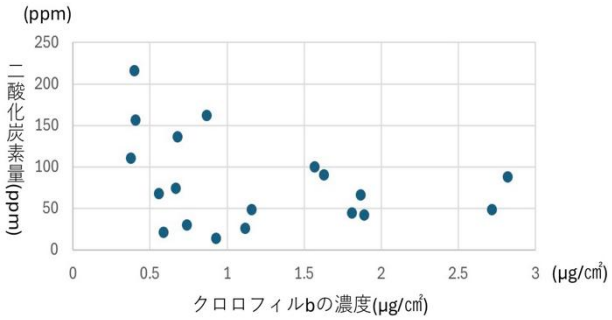


図 7　クロロフィル b の濃度と二酸化炭素量

次に測定結果の値からクロロフィル b の濃度と二酸化炭素量の変化を分布図に示した(図 7)。本実験ではオオカナダモの呼吸による二酸化炭素量の変化量を差し引いていないため二酸化炭素量の変化が少ないことがより、光合成をしていると捉える。散布図から相関係数は-0.782、決定係数は 0.611 であった。

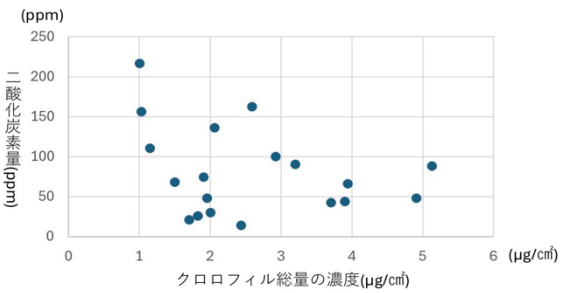


図 8 クロロフィル総量の濃度と二酸化炭素量

また、測定結果の値からクロロフィル総量の濃度と二酸化炭素量の変化を分布図に示した(図 8)。本実験ではオオカナダモの呼吸による二酸化炭素量の変化量を差し引いていないため二酸化炭素量の変化が少ないことがより、光合成をしていると捉える。散布図から相関係数は-0.575、決定係数は 0.311 であった。

IV. 考察

1) 実験 1 について

カラムクロマトグラフィーによってオオカナダモはクロロフィル a、クロロフィル b をもつことがわかったため、クロロフィル a、クロロフィル b と光合成能力の関係性について比較できることがいえた。

2) 実験 3 について

クロロフィル濃度についてそれぞれを比較した結果、ばらつきはあるがクロロフィル a：クロロフィル b は約 2：1 であることがわかった。参考文献ではクロロフィル a：クロロフィル b は 4：1 であることから、光が届きにくい水中で生育するオオカナダモはクロロフィル b の濃度が高いことがわかる。これはクロロフィル a とクロロフィル b の主に吸収する波長が異なっていることが関係しており、水中ではクロロフィル b での吸収が発達していると考えられる。

3)実験 2、実験 3 について

クロロフィル a の濃度と二酸化炭素変化量の関係において、相関係数-0.432 より若干の負の相関があるものの、決定係数が 0.187 より散布図にはばらつきがあり、クロロフィル a と光合成能力には関係があるとはいえなかった。次にクロロフィル b の濃度と二酸化炭素変化量の関係において、相関係数-0.782 よりかなりの負の相関があり、決定係数 0.611 から散布図に強い相関があることがわかり、クロロフィル b と光合成能力にはかなりの相関の関係があった。また、クロロフィル総量と二酸化炭素変化量の関係において、相関係数-0.575 より負の相関はあるが、決定係数 0.311 より散布図にはばらつきがあり、クロロフィル総量の濃度と光合成能力に関係があるといえなかった。

	相関係数	決定係数	相関の性質
クロロフィル a vs 二酸化炭素	-0.4	0.18	弱い負の相関
クロロフィル b vs 二酸化炭素	-0.8	0.61	強い負の相関
クロロフィル総量 vs 二酸化炭素	-0.6	0.33	弱い負の相関
文献データ	+0.8	0.64	強い正の相関

図 9　データの比較

文献データと比較した。本実験ではオオカナダモの呼吸による二酸化炭素量の変化量を差し引いていないため二酸化炭素量の変化が少ないことがより、光合成をしていると捉えるので符号が文献データと異なっている。比較の結果、クロロフィル b と光合成能力の関係性は文献データよりも強い相関がいえるが、クロロフィル総量またはクロロフィル a で比較した場合には文献データよりもとても弱い相関であった。このことから、クロロフィル b の濃度に光合成能力は依存していることがわかり、クロロフィル総量の濃度に関係しているとはいえなかった。ここから、オオカナダモがほぼクロロフィル b の役割が相対的に大きくなっているのではないかと考えた。

V. 結論

本研究より、オオカナダモのクロロフィル a：クロロフィル b は約 2：1 であることが判明した。また、クロロフィル b と光合成能力には強い相関があることが示唆された。

本実験では光が届きにくい水中で生息するオオカナダモに注目してクロロフィル量と光合成能力の関係性を考察したが、植物プランクトンやより深い場所に生息する水中植物にも関係性があるかを評価したいと考えた。また、水中植物にはクロロフィル b の相関が強いと判明したため、比較した文献データも地上植物にもクロロフィル a とクロロフィル b で関係性が違うのかを調べる必要があると考えた。

謝辞

実験に協力して頂いた市川学園生物科の教員の先生方へ感謝いたします。

文　献

和田喜徳・渡辺誠子・黒田昭太郎(1967)：“タバコ葉の生育にともなう光合成能力とクロロフィル量の消長”.植物学雑誌.1967 年 80 巻 945 号 p.123-129

Nobuo Haraguchi・Seki Shimizu (1970)：Photosynthetic Activities in Tabacco Plants, Ⅱ .Relationship between Photosynthetic Activity Chlorophyll Content.shokubutugakuzasshi.Vol.83. No.990.p411-418

R.J. Porra et al (1989)：Biochimica et Biophysica acta, Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics・*Volume 975, Issue 3, August 1989, Pages 384-394*