

シロイヌナズナでのクロロフィル形成と環境条件との関係

渡邊 絵梨, 清水 麻里, 小澤あつみ, 永田 典子, 今井 元
日本女子大学理学研究科 数理・物性構造科学専攻

(2013年10月 8 日受理)

要 旨 植物の成長において光合成は必要不可欠なものである。光合成の機能を果たす重要な要素として、クロロフィル色素が存在している。クロロフィル色素は、植物成長中に葉緑体内に形成する。我々は、照射光量・育成日数・温度をパラメータとして育成したシロイヌナズナの子葉の光透過スペクトルを測定し、クロロフィルの光吸収を検討・評価した。その結果、クロロフィルによる光吸収は育成期間の総光量に依存していることが推定された。また、吸収係数と育成中の温度との関係を調べたところ、明確な温度依存性はみられなかった。

キーワード：クロロフィル色素, シロイヌナズナ, 光合成, スペクトル, 吸収係数, 活性化エネルギー

1. はじめに

植物の成長において光合成は必要不可欠なものである。光合成は二酸化炭素ガスが必要であることから、現在の地球温暖化対策として注目されている機能である。この機能を果たす重要な色素が、葉緑体中に存在するクロロフィル色素である。クロロフィル色素は、植物成長とともに葉緑体内に形成される。クロロフィル色素の形成について、現在、環境最適条件を決定するまでに至っていない。これは植物成長環境が、温度・湿度・光量などのさまざまな自然因子と絡んでいるためである。そこで、本研究では、試料を加工しないで用いることのできるスペクトル測定系を構築し、光量・育成日数・温度をパラメータとして育成したシロイヌナズナの子葉の透過スペクトル測定を行い、クロロフィルの光吸収の検討・評価を行った。

2. 試 料

測定に用いた試料はシロイヌナズナである。シロイヌナズナは白色の花を持ち、1世代が約2カ月と短いことから、モデル植物として用いられている。この子葉を、光量・育成日数・温度のパラメータを変化させて育成した。育成中の光量は光量子束密度 (PPF) を用いた。光量子束密度は、単位時間あたり、単位面積あたりの入射する光子の数を表している。単位は $\mu\text{mol/s/m}^2$ である。

光量子束密度の単位はエネルギーの単位に換算すると $1 \mu\text{mol/s/m}^2$ が約 0.2J/s/m^2 に対応する。試料はインキュベータ中で育成した。

図1は実際に育成したシロイヌナズナの電子顕微鏡写真である。いずれも育成日数は6日間、温度は 20°C 、光量はそれぞれ0, 0.2, 2, 100 PPFである。グレーの袋状の部分が葉緑体であり、ひときわ黒い帯状の部分がチラコイド層である。クロロフィル色素はこのチラコイド層の中に存在する色素である。クロロフィル色素はチラコイド層の成長とともに形成すると考えられている。0 PPFではチラコイド層は鮮明ではないが、それ以外では黒い帯状の部分は鮮明となり、チラコイド層が確認された。

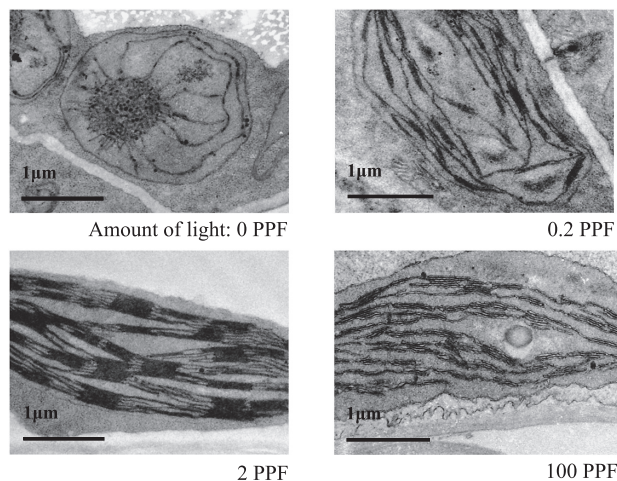


Fig. 1. Electron micrograph of a Chloroplast, Arabidopsis cotyledons, growth period is 6 days.

3. 透過スペクトル測定

3.1 スペクトル測定系

子葉の形成過程で光特性を定量的に捉えるために、透過スペクトル測定を行った。測定系はこれまでに植物花卉の色評価などに使用してきたものである^{1,2)}。スペクトル測定系のブロック図を図2に示す。この測定系には、試料を加工しないで挟み、測定することが出来るというメリットを持つ。光源からの光を2枚の石英ガラスに挟んだ試料に照射させ、試料からの透過光を焦点距離8 cmのレンズで分光器に入射させる。分光器に取り付けた光電子増倍管にて光信号を電気信号に変えてロックインアンプに送る。ロックインアンプではチョッパー信号を参照信号として検出された微小信号をパソコンに送り解析する。光源にはハロゲンランプを用いた。ハロゲンランプは連続スペクトルで発光強度が高く、輝度が強いという特徴を持つ。測定波長域は450～800 nmで可視領域を中心とした。

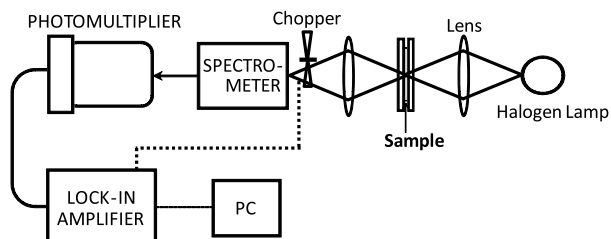


Fig. 2. The block diagram of the spectroscopy system used in the present study.

3.2 透過スペクトル測定結果

図3に透過スペクトル測定の結果を示す。育成日数はそれぞれ6, 10, 12日間、温度20°C、光量50 PPFで育成した子葉の結果である。試料無しでの入射光のスペクトルと試料を透過したスペクトルの比率で示している。こ

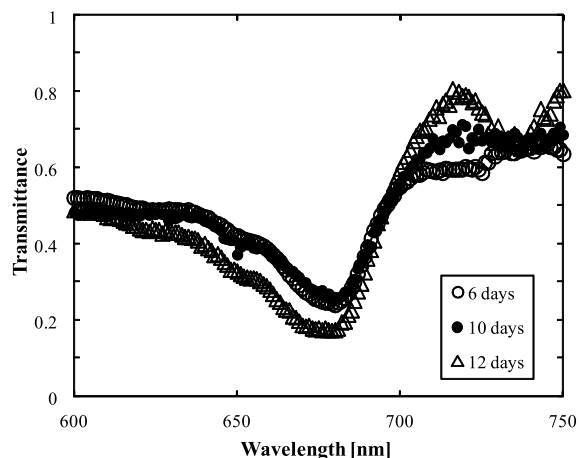


Fig. 3. Transmittance spectrum of Arabidopsis cotyledons, growth times were 6 days (○), 10 days (●), 12 days (△), the photon flux density was 50 PPF.

の結果から、いずれの育成日数の試料でも680 nm付近での透過率の減少が確認された。一般に緑葉はクロロフィルa, bの2種類の色素を持ち、その存在比率はbがaの1/3と報告されている³⁾。また、クロロフィルはa: 680 nm, b: 640 nmに吸収ピーク波長をもつと報告されている^{4,5)}。これより、クロロフィルaが光を吸収し、透過率の減少が起こったと言える。この結果からはクロロフィルbのはっきりとした存在は確認できなかった。

3.3 解析方法

透過スペクトル測定の結果より、クロロフィルaの光吸収の模式図を図4に示す。波長680 nmに注目すると、ここでの I_0 と I がクロロフィルaへの入射前・後であるから減少部分がクロロフィルaの光吸収に対応すると考えられる。

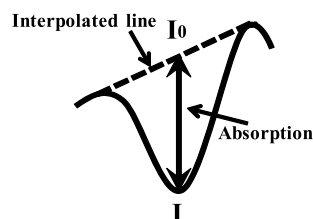


Fig. 4. Schematic diagram of the transmittance spectrum around 680 nm.

これより、(1)式を用いて吸収係数: α を求め、クロロフィル形成と光量・温度・育成日数の関係について検討を行っていく。

$$I = I_0 \exp(-\alpha x) \dots\dots\dots (1)$$

4. 光量依存性

4.1 吸収係数と光量の関係

図4の概念から求めたクロロフィルaにおける吸収係数と光量の関係について図5に示す。育成期間は6日間、温度は20°Cの結果である。これより、低い光量で育成したクロロフィルaの光吸収はわずかだが、光量とともにゆっくりと増加した。これは、子葉の成長とともにクロロフィルaが形成していると考えられる。また、光量5 PPF以上では光吸収は一定となった。点線はシグモイド曲線によるフィッティング曲線である。シグモイド曲線は統計処理にて出現頻度等が正規分布を成す現象を累積頻度でグラフ化した曲線である。これより、測定値がほぼフィッティング曲線上に載ることを確認した。よって、光量が大い試料になるにつれて光吸収は飽和するという結果が得られた。これより、クロロフィルaの形成には閾値が存在し、それを超えると光吸収が一定となると推定した。

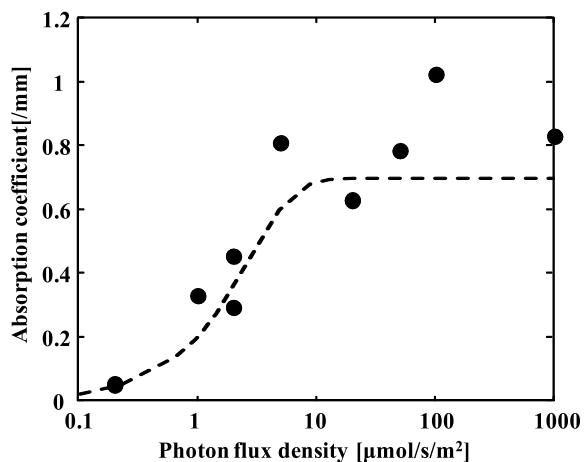


Fig. 5. The dependence of the absorption coefficient on the photon flux density, growth times was 6 days.

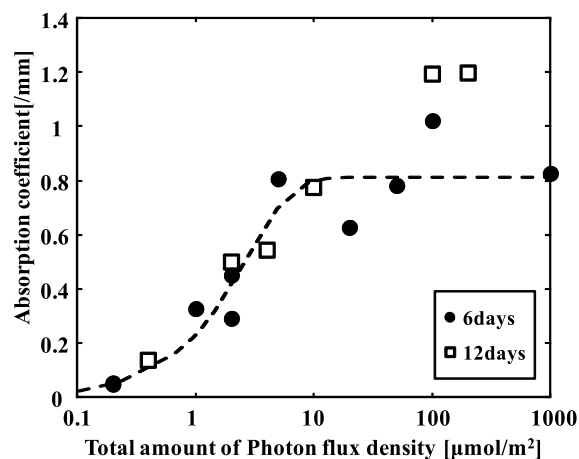


Fig. 6. The absorption coefficient versus the total amount of the photon flux density, growth times were 6 days (●), 12 days (□).

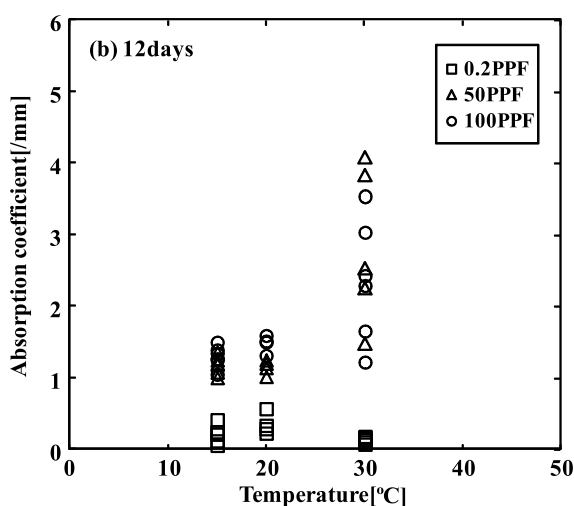
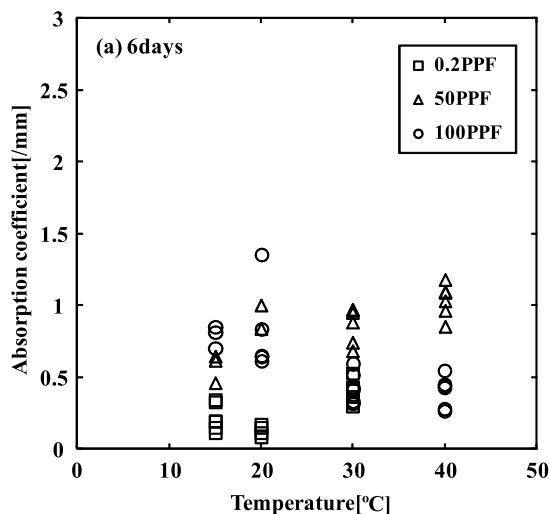


Fig. 8. The dependence of the absorption coefficient on the ambient temperature by changing the photon flux densities : 0.2 PPF (□), 50 PPF (Δ), 100 PPF (○).

4. 2 吸収係数と総光量の関係

吸収係数と総光量の関係について図 6 に示す。点線はシグモイド曲線によるフィッティング曲線である。これより、総光量で考えた場合においても測定値がフィッティング曲線上に載ることを確認した。また、光量を倍にすれば育成日数を 1/2 にすることが出来ると推定した。

5. 温度依存性

5. 1 試料

測定に用いた試料は光量依存性と同一シロイヌナズナの子葉である。図 7 は実際に育成したシロイヌナズナの子葉の写真である。いずれも育成日数 6 日間、光量 100 PPF、温度はそれぞれ 15、20、30、40℃である。

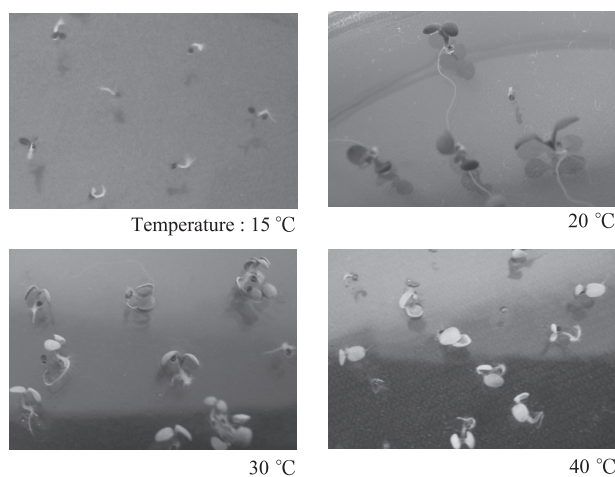


Fig. 7. Photograph of Arabidopsis cotyledons for different growth temperatures. The growth period is 6 days and the amount of light is 100 PPF.

5. 2 吸収係数と温度の関係

図 8 に吸収係数と温度の関係を示す。育成期間は図 8

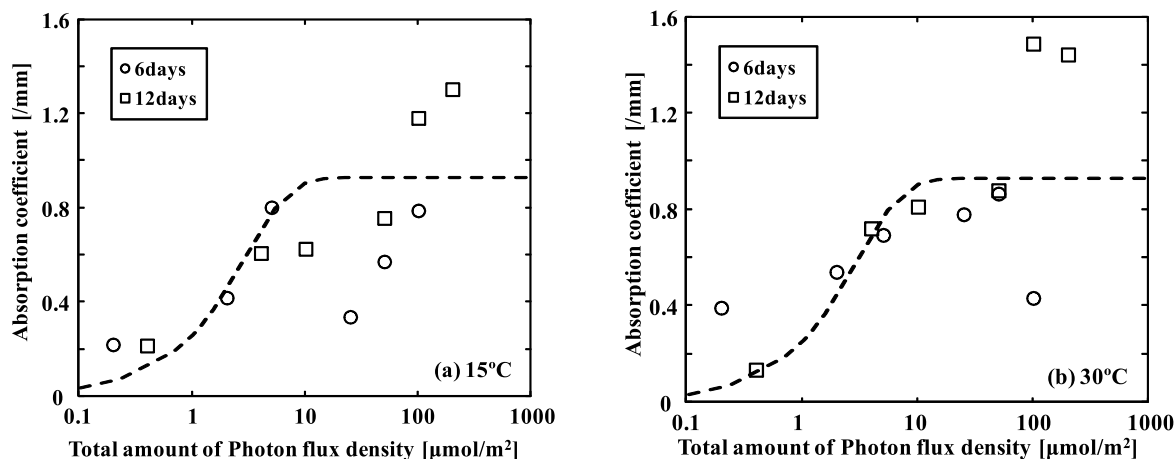


Fig. 9. The dependence of the absorption on the total amount of photon flux density by changing the growth time : 6 days (○), 12 days (□).

(a) 6 日間, 図 8 (b) 12 日間, 光量はそれぞれ 0.2, 50, 100 PPF の結果である。育成期間 : 12 日間, 温度 : 40°C の環境下では, 全ての光量で子葉は育成されなかった。これより, 明確な温度依存性はみられなかった。

5.3 各温度での吸収係数と総光量の関係

図 9 に各温度での吸収係数と総光量の関係を示す。温度は図 9 (a) が 15°C, 図 9 (b) が 30°C, 育成期間はそれぞれ 6, 12 日間の結果である。各温度で, 低い光量で育成したクロロフィル a の光吸収は, 光量とともに増加したが, 光量 5 PPF 以上では光吸収は一定となった。これより, 異なる環境温度でも光量依存性が見られた。

5.4 活性化エネルギー

温度依存性を明確にするため, 活性化エネルギーを用いて検討を行う。透過率が温度変化によって受ける影響を議論するために, (2) 式にアレニウスの法則を示す。

$$y = A \exp\left(-\frac{E_a}{kT}\right) \dots\dots\dots (2)$$

ここで,

y : 透過率

E_a : 活性化エネルギー [eV]

T : 絶対温度 [K]

k : ボルツマン定数 [J/K]

A : 任意定数

各育成条件下で育成した子葉の透過率を用いて, (2)

Table. 1 The activation energy at each growth condition

PPF	0.2PPF	2PPF	5PPF	25PPF	50PPF	100PPF
Growth times						
6 days	-0.11eV	-0.08eV	0.06eV	-0.18eV	-0.14eV	-0.17eV
12 days	0.07eV	-0.05eV	0.21eV	0.14eV	-0.32eV	-0.03eV

式より求めた活性化エネルギーを表 1 に示す。これより, 各育成条件でも大きな活性化エネルギーは得られなかったことから, 温度依存性は小さいと推定した。

6. ま と め

光量・育成日数・温度を変化させて育成したシロイヌナズナの子葉の透過スペクトル測定を行った。全ての条件で育成した子葉において, 680nm 付近での透過率の減少を確認した。これはクロロフィル a の吸収ピーク波長と一致した。

透過スペクトル測定の結果を用いて, クロロフィルの光吸収の光量依存性の検討を行った。これより, 低い光量で育成した場合, クロロフィルの光吸収は光量が増加するとともに増加した。これは, 子葉の成長とともにクロロフィル a が形成したと推定した。また, 光量 5 PPF 以上では吸収係数は一定となった。これより, クロロフィル a の形成には閾値が存在し, それを超えると光吸収が一定となることから形成が止まるのではないかと推定した。吸収係数と総光量の関係を調べたところ, 光量を倍にすれば育成日数を 1/2 にすることが出来ると推定した。

クロロフィルの光吸収の温度依存性の検討を行った。吸収係数と温度の関係を調べ, 明確な温度依存性は見られなかったことを確認した。各温度での吸収係数と光量の関係では光量依存性が見られた。さらに, 活性化エネルギーを用いた温度依存性の検討を行った。これより, 各育成条件でも大きな活性化エネルギーは得られなかったことから, この 15 ~ 30°C の温度範囲での温度依存性は小さいと推定した。

謝 辞

本研究において, 試料提供とともに多大な助言を頂

きました本学 物質・生物機能科学専攻の永田典子准教授、永田研究室の皆様にご心より感謝いたします。

参考文献

- 1) H. Imai, M. Soeda and F. Sekiguchi: Evaluation of scattered-light spectra to apply the estimate of absorption spectra of flowers' petals. *IEICE Electronics Express*, **3**, pp.269-275, (2006).
- 2) 添田麻衣, 小澤あつみ, 関口文彦, 今井 元: 光スペクトル(紫外から可視まで) から見た花卉の特性の検討. 電子情報通信学会論文誌 C, **Vol.J91-C**, No.2, pp.151-157, (2008).
- 3) 本間千晶: 針葉の化学成分. 林産試験場だより, **8**, pp.10-13, (1988).
- 4) K. Inada: Spectral absorption property of pigments in living leaves and its contribution to photosynthesis. *Japan. Jour. Crop. Sci.*, **49** (2), pp.286-294, (1980).
- 5) 高辻正基, 森 康裕: レーザ植物工場の提案. レーザ研究, **Vol.25** (12), pp.832-835, (1997).
- 6) 小澤あつみ, 渡邊絵梨, 永田典子, 今井 元: スペクトル観測によるクロロフィルの成長過程の検討. 電子情報通信学会論文誌 C, **Vol.J95-C**, No.10, pp.228-230, (2012).

The Relationship between Environmental Conditions and Chlorophyll Formation in Arabidopsis

Eri Watanabe, Mari Shimizu, Atsumi Ozawa, Noriko Nagata and Hajime Imai

The Graduate School of Science, Division of Mathematical and
Material Structure Science, Japan Women's University

(Received October 8, 2013)

Abstract: Plants are performing photosynthesis. As an important element to perform photosynthesis, chlorophyll exists. Chlorophyll is formed in the process of growing. To evaluate the formation process of chlorophyll, we have grown Arabidopsis cotyledons with changing the irradiation conditions and measured spectrum. As a result, we found that the formation of chlorophyll is dependent on the light irradiation intensity. In addition, we found the relation between transmittance and light irradiation intensity. And we found that the growth of chlorophyll is dependent on the light irradiation intensity, but we did not observe the clear temperature dependence.

Key words: Chlorophyll, Arabidopsis, photosynthesis, spectrum, Absorption coefficient, Activation energy

