

10 葉の色素の違いⅡ

1 動機

私達は植物の葉の色の違いが、光合成色素のどのような違いによるのかに興味を持ち、昨年はペーパークロマトグラフィーを利用した葉の色素の違いについて研究した。昨年の研究ではそれぞれの色素量が違うために、ペーパークロマトグラフィーでは検出できない場合があり、色素の量を測定する必要性を感じた。本年は静岡理工科大学の分光光度計を利用させてもらい、クロロフィルa・bに注目して「クロロフィルa・bの濃度(ppm)」を計測した。A<色の濃淡の成分分析>、濃い色の葉と薄い色の葉はクロロフィルa, bのどのような違いによって生じるのか。および、B<紅葉による色素変化>、紅葉によってクロロフィルa, bはどのような割合で減少していくのかの2点について研究を行った。

2 仮説

薄い色の葉は黄緑に近い。クロロフィルaは青緑、bは黄緑の色素である。色の薄い葉はクロロフィルbが多いと仮説を立てた。

3 材料

(1) 植物

校内の植物を採取して、色素の分析を行った。今回調べた植物は以下である。特に校内に生えている落葉樹を中心に調べ、比較として、常緑樹のキンモクセイを調査した。

裸子植物	落葉樹	イチョウ
被子植物	常緑樹	キンモクセイ
	落葉樹	イロハカエデ、サクラ

(2) 色素抽出液 90%アセトン

アセトン 0.5ml を加えて葉の色素を抽出した。

(3) 器具

分光光度計 分光光度計用3mlセル ピペッター
海砂 乳鉢 ろ紙 ろうと ろう

4 方法A<色の濃淡の成分分析>

- (1) 葉の色による色素の違いを調べるために、色を見分ける必要があった。美術で使う色見本を使ったところ、自然の葉は薄い順に「deep yellow green」「strong yellowish green」「dark yellowish green」の3色のみに分けられることがわかった。私たちは色の薄い順に、deep<strong<darkと呼ぶことにした。どの種の葉もそれぞれ3種の色に分けられた。
- (2) 3色に色分けした葉1枚ずつを刻み、それぞれ0.5gずつ測り取る。アセトンを入れて海砂ですり潰し、色素を抽出する。それぞれの抽出液をろ過して、スクリーン管に入れる。

- (3) スクリュー管に入れた色素から 0.2ml を取り出し、アセトン 1.8ml を加えて分光光度計のセルの中で混ぜ合わせる。
- (4) アセトンだけのセルを用意して、分光光度計のゼロ調節をした後、色素とアセトンが入ったセルを分光光度計にセットする。
- (5) 分光光度計を使って透過した波長 (クロロフィル a,b) の定量、スペクトル測定、ピーク検出を行う。
- (6) 波長の透過量から、計算式によりクロロフィル a と b を算出する。

<計算式> アセトンによるクロロフィル定量の計算式

$$\text{クロロフィル a} = 11,93 \times (\text{664 の波長の値}) - 1,93 \times (\text{647 の波長の値})$$

$$\text{クロロフィル b} = 20,36 \times (\text{645 の波長の値}) - 5,50 \times (\text{664 の波長の値})$$

(静岡理工科大学物質生命科学科 山庄治志郎教授 より)

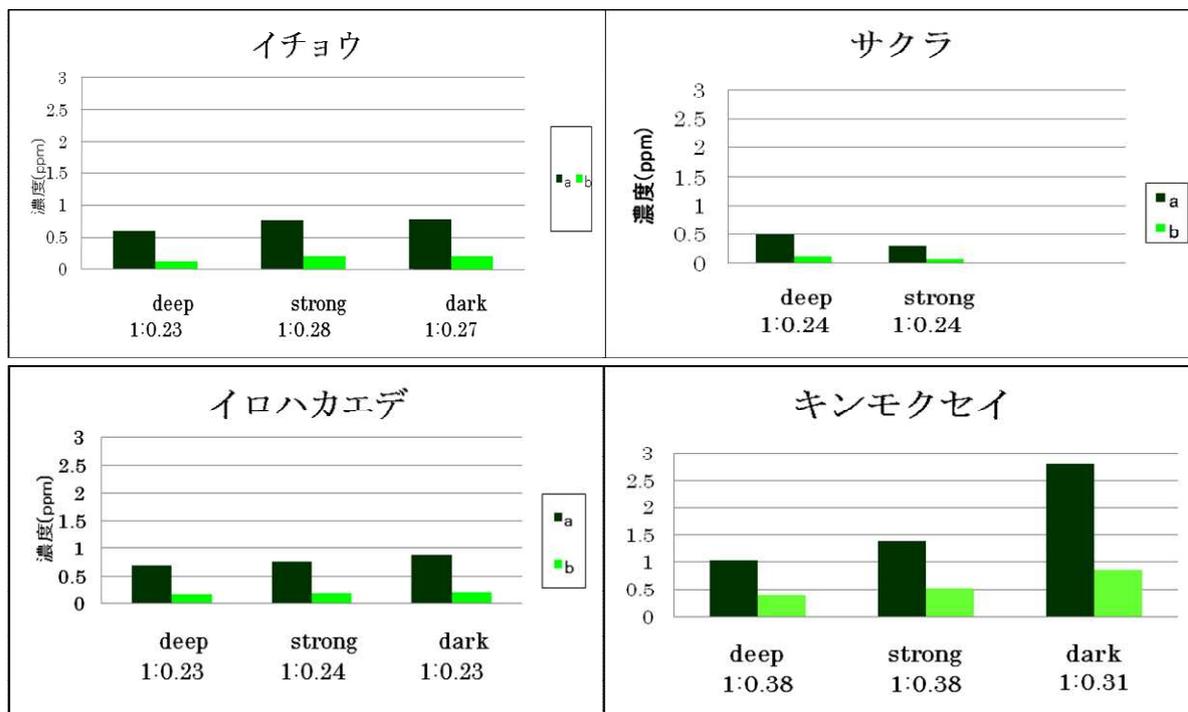
5 方法B<紅葉による色素変化>

紅葉している葉 (イチヨウ、イロハカエデ) を、紅葉の進んだ段階 25%、50%、75% で分類した。以降の方法は方法Aの (2) (3) (4) (5) (6) と同じ方法を使用した。

6 結果A<色の濃淡の成分分析>

A-1 クロロフィル濃度 (ppm) の測定

分光光度計で、各種の植物の各色のクロロフィル a、b 濃度 (ppm) を測定した。その結果を次のグラフに示す (資料 1)。各グラフの緑色がクロロフィル a、黄緑がクロロフィル b を示す。また、左から薄い順 (deep < strong < dark) に並んでいる。それぞれの下の数字は、クロロフィル a : b の比を表している。



資料 1

葉の色が濃くなるにつれてクロロフィル a も b も増加するが、その際、「落葉樹」において イロハカエデ・サクラ・イチヨウすべてのクロロフィル a : b の比がほぼ同じ 1 : 0.23 のまま増加していく。違う種類の葉にも関わらずクロロフィル a : b の比がほとんど変わらない。この比は研究準備のために大量の同種の葉で測定した時のクロロフィル a : b 比ともほぼ同じである。

サクラは比率は同じであるが、濃い色のときの濃度が減少してしまった。今後確認する。

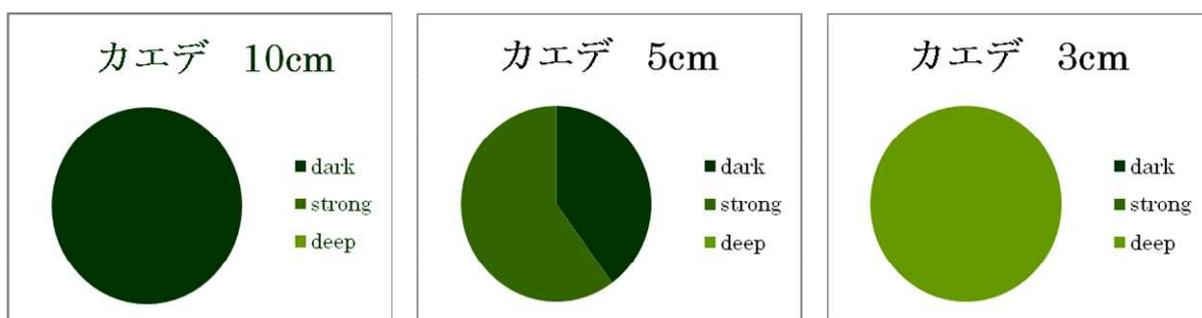
「常緑樹」のキンモクセイは色素の濃度が落葉樹の3倍近くもある。a : bの比が1 : 0.38程度と、「落葉樹」とは異なるが、色が濃くなる時に同じ比率で増加していくことに関しては同じであった。ただし、常緑樹はキンモクセイしか調査していないので、この1 : 0.38の比が他の常緑樹に当てはまるのかは分かっていない。

また、スペクトル測定とピーク検出を同時に行い、同じ色と視覚で判断する有効性を確認した。同じ色と視覚で判断した場合、本当に葉の色が同じであることをスペクトル測定とそのピーク検出で確認した。その結果、葉のスペクトルもピークも、ほぼ同じ値を示すことがわかった。これらから、視覚で色わけする有効性が確認できた。

一方、この調査を行うにあたって、色の薄い葉は小さいものが多く、色の濃い葉は大きいものが多い傾向があることに気づいた。

7 結果A-2 葉の大きさと葉の色の濃さとの関係

色の薄い葉は小さいものが多く、色の濃い葉は大きいものが多いことを確認するために、10cm、5cm、3cmの大きさの葉を5~10枚ずつ採取し、deep<strong<darkの3種類の色に選別して、その枚数を調査した(資料2)。

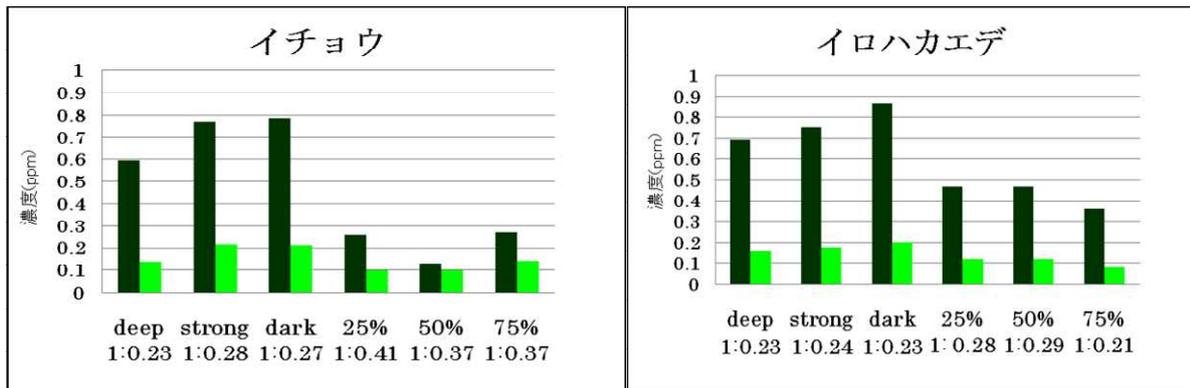


資料2

これらの結果、10cm大きい葉には、濃い dark の葉の比率が高く、葉が10cm→5cm→3cm と小さくなるごとに、色も dark>strong>deep と薄くなることが分かった。

8 結果B<紅葉による色素変化>

紅葉することにより、クロロフィル a、b の濃度がどのように変化するかを確かめるために、葉の紅葉が25%、50%、75%と進むごとに葉を10枚ずつ採取し、クロロフィル a、b 濃度の分析を行った。色の濃淡の変化のグラフに加えて、紅葉の進むごとのクロロフィル濃度を示したのが、資料3のグラフである。下の数字はクロロフィル a : b の比を示している。



資料 3

以上の結果より、以下のことがわかった。

【イチョウ】

葉が緑の状態と紅葉している状態のものを比較すると、紅葉している方の葉の色素が、約3分の1に減少することがわかった。また、クロロフィル a : b の比を見ると b の値が増えている。これはクロロフィル a の方が早く分解することを示している。

50%の値が少ないが、実験上のミスかも知れない。今後確認していく。

【イロハカエデ】

葉が緑の状態と紅葉している状態のものを比較すると、紅葉している方の葉の色素が、約2分の1になっていることが分かった。クロロフィル a : b の値の比は緑の状態の時とほとんど同じであり、a、b どちらも同じ割合で減少することが分かる。

9 考察 A-1 クロロフィル a : b の比

薄い葉から濃い葉になるにつれて a、b 両方の色素が増えていく。濃い常緑樹のキンモクセイは落葉樹の3倍のクロロフィルを持っていた。一方同じ種類では、薄い葉も濃い葉も、クロロフィル a : b の比は同じである。仮説と異なり、色の濃淡はクロロフィルの比とは関係がなく、濃淡はクロロフィルの量にのみ左右される。葉が濃くなってもクロロフィル a : b の比がほとんど同じであることは驚きである。

落葉樹のクロロフィル a : b = 1 : 0.23 ということは、クロロフィル a : b の比が約 **4 : 1** ということである。また、常緑樹のクロロフィル a : b = 1 : 0.38 は約 **3 : 1**。生物図解によると、種子植物のクロロフィルは 3 : 1 とある。常緑樹はその値と違わないが、今回調査した落葉樹はクロロフィル a の比が高いことになる。クロロフィル a は青緑色、クロロフィル b は黄緑色である。色が黄緑に近い葉を持つ落葉樹が、青緑色のクロロフィル a の濃度が高めであることは意外であった。他のカロテノイド色素の影響があるのかもしれない。これが他の落葉樹に当てはまるのかを今後調査する必要がある。

また、裸子植物のイチョウと、被子植物のサクラ・イロハカエデのクロロフィル a : b の比が同じである。それはクロロフィル a、b という色素が、これらの種が分かれる前に共通して持っていた色素である可能性を示していないだろうか。被子植物と裸子植物の分かれた年代は中生代ジュラ紀である。その前にすでにクロロフィル a、b は、陸上植物の色素として安定していた可能性があるのは大変興味深い。イチョウ以外の裸子植物は針葉樹が多く、色の見分け方が難しいが、この問題をクリアして、裸子植物のクロロフィル a、b の比を是非調べてみたい。

考察 A-2 葉の大きさと成長

小さい＝薄い葉は「若く」、大きい＝濃い葉は「古い」というのが一番予想しやすい。そうだとすれば、葉は成長に伴い、色素量を増やしていくということが分かる。しかし、葉はいつまで細胞分裂しているのか、大きくなった葉は色に変化しないのか、などの疑問が残る。

考察 B

紅葉の開始と同時に、色素は大きく減少する。イチヨウはクロロフィル a の方が減少率が大きい。イロハカエデは、クロロフィル a : b の比があまり変わらない。この違いがイチヨウが黄色く変化(黄葉)し、イロハカエデが紅く変化する(紅葉)ことと関係するのだろうか。それとも裸子植物と被子植物の違いだろうか。新しい疑問を解決するために、今後の研究が重要になった。

10 今後の課題

- (1) イチヨウ以外の裸子植物及び、なるべく多くの被子植物落葉樹の色素分析をし、緑色の時のクロロフィル a : b 比が同じであることを調査する。
- (2) 落葉樹の葉の色の薄さの原因を探るために、カロテノイドの濃度算出の方法を探す。
- (3) 葉の成長と色の変化の関係を調べるために、樹木上の 3cm、5cm、10cm の葉に、識別プレートをつけ、2 週間ごとに大きさと色の変化を記録する。
- (4) 落葉樹の調査種を増やし、黄葉と紅葉のクロロフィル減少の比率を分析する。

11 参考文献

野外活動ハンドブック校庭の樹木 岩瀬徹・川名興著 全国農村教育協会
兵庫県立大学環境人間学部オンライン教科書ホームページ
(<http://www.shse.u-hyogo.ac.jp/kumagai/>)
生物図解 秀文堂
筑波大学 生物学類 BotanyWEB
(<http://www.biol.tsukuba.ac.jp/~algae/BotanyWEB/top.html>)