

光によるオオカナダモの光阻害

学校法人静岡理工科大学静岡北高等学校
科学部 オオカナダモ班 2年 村上 尊 他 1名

1. 【はじめに】

平成 28 年度、立命館高等学校の国際共同プロジェクトに参加し、静岡北高等学校と台湾の高雄女子高級中学校の 2 校で、オオカナダモの光合成による気体の排出量とデンプンの蓄積量を比較する共同研究を行なった。研究は、台湾と日本の照度の差により、気体排出量とデンプン蓄積量が地域によってどのように変化するのか、光合成の地域差を調べることを目的として行なった。その結果、照度、水温、気体排出量は台湾の方が多かったが、デンプン蓄積量は日本の方が多かったことが分かった。台湾では強光に長時間曝されていた一方、日本においては高い照度の時間があまりないことから、強光を受けた台湾のオオカナダモでは光阻害が起き、光合成が阻害された可能性がある結論づけていた。私達は光を必要とする光合成で起こる光阻害という現象に興味を持ち、光阻害が起こる条件を明らかにしたいと考え、本研究では、照度、デンプン量、気体排出量の関係を調べた。これは、先行研究で行なっていた実験のうち、問題点と考えられたオオカナダモの成長量に関するデータを補うことも目的とした。また、デンプン蓄積量を数値化していなかったため、“imageJ”を使って数値化を行なった。

(1) 光阻害とは

光による光合成機能低下の総称で光阻害は葉緑体でのエネルギー消費を上回る過剰の光エネルギーが供給されたときに生じる。光阻害には 3 つのパターンがある。

パターン 1. 光過剰により光化学系 II が壊され、発生した活性酸素種により光化学系 I が使用出来る二酸化炭素に制限がかかり阻害が発生するパターン。

パターン 2. 光過剰により光化学系 I, II がともに壊され、発生した活性酸素種が光化学系 II の修復を妨げるため阻害が発生するパターン。

パターン 3. 乾燥や高塩分土壌などの周りの環境異常により光化学系 I の使用できる二酸化炭素に制限がかかり阻害が発生するパターン。

(2) 研究の主な目的

光阻害が起きる条件を明らかにし、植物の生産性を向上させる技術に貢献すること。

2. 【目的】

目的 I、II：照度とデンプン蓄積量、照度と気体排出量の関係を明らかにする。

目的 III：長期間の観測で強光がオオカナダモに与える影響を明らかにする。

オオカナダモの成長に一番適している照度は何 lx か明らかにする。

オオカナダモに光阻害が起きていた場合その時の照度を明らかにする。

目的 IV：水道水に含まれる塩素がオオカナダモに与える影響を調べる。

3. 【実験】

台湾のオオカナダモは気体排出量が多いがデンプン量が少ないため私達は前述したパターン 1 が起きていると考えた。しかし、光阻害が起きていることを直接的に明らかにするためには高度な実験設備が必要である。そのため、私達は照度と気体排出量、デンプン蓄積量を調べることで光阻

害が起きていることを調べることができるのではないかと考え、実験を行なった。

(1) 使用した器具

オオカナダモ 「ジャンボエンチョー」で購入(ベトナム産) 3束
試験管(直径15mm) 6本 メスシリンダー10mm 1本 段ボール 2箱 ラック 2つ
水槽(210mm×360mm×220mm) 1槽 照度計(LX-1108) pH計(HANNA Checker)
シャーレ(直径100mm) 1個 顕微鏡(UCHIDA AA-100LED) デジタルカメラ(ソニー α6000)
電球型蛍光灯(オーム電機 EFD25ED/18-SP) 8個 コンセントタイマー 2個
電球型蛍光灯(オーム電機 EFR25ED/22) 2個 70%濃度エタノール
ヨウ素ヨウ化カリウム溶液 顕微鏡(UCHIDA AA-100LED)

(2) 実験Ⅰ. 照度と気体排出量、デンプン蓄積量に関する実験

照度とデンプン蓄積量、気体排出量の関係を明らかにするため、オオカナダモを使用し、太陽光の下で気体排出量とデンプン蓄積量を測定した。

・方法Ⅰ

- ア. オオカナダモを6個体用意し、それぞれを先端から10cmに切った。
- イ. 試験管を6本用意し、3本にはオオカナダモをそれぞれ1本ずつ入れ、3本は光を遮断するためにアルミニウムを巻き、オオカナダモをそれぞれ1本ずつ入れた。
- ウ. 6本の試験管を水槽に入れ、水で満たし太陽光のあたる窓辺に置いた。
6時間(8:30~14:30)オオカナダモを太陽光にあてた。その際、1時間おきに水槽内の水のpH、水温と照度を計った。
- エ. 6時間後、試験管の中に溜まった気体の体積を測定し気体排出量を測った。
光合成させたオオカナダモの根本、中間、先端から葉を2枚ずつ切り取り、70%エタノールで脱色し、葉にヨウ素を垂らして染色した。
- オ. 葉のプレパラートをつくり、顕微鏡で葉を観察・撮影し、画像解析ソフトの“imageJ”を使いデンプン蓄積量を測定した。

(3) 実験Ⅱ. 一定照度下での気体排出量、デンプン蓄積量に関する実験

実験Ⅰより照度を一定にすることが重要であると考え、蛍光灯を使って一定の光をあて、照度を一定にし、気体排出量とデンプン蓄積量を調べた。

・方法Ⅱ

- ア. 方法Ⅰと同様に切ったオオカナダモを3個体用意した。
- イ. 5,000 lxの照明に当たる状態と、暗室内で光を与えない状態の2つの条件下で、それぞれ3個体ずつ実験を行った。
- ウ. 4時間後、試験管の中にたまった気体の体積を測定し気体排出量を測った。
- エ. 光合成させたオオカナダモの根本、中間、先端から葉を2枚ずつ切り取り、70%エタノールで脱色し、葉にヨウ素液を垂らしてデンプンを染色した。
- オ. 葉のプレパラートをつくり、顕微鏡で葉を観察・撮影し、画像解析ソフトの“imageJ”を使いデンプン蓄積量を測定した。
- カ. ウ~オまでの行程を3日間行った。

(4) 実験Ⅲ. 40,000 lxと7,000 lxでの気体排出量とデンプン蓄積量を比較する実験

実験Ⅱより、光阻害を確かめるためには、デンプン蓄積量だけではなく成長量を図る必要があるため、実験Ⅲでは個体の成長した量を計測した。また、水温は25℃で一定にした。

・方法Ⅲ

ア. 方法Ⅰと同様に切ったオオカナダモを3個体用意し、17 cmの定規に括り付けた。

イ. 水で満たした試験管に定規ごと入れた。

ウ. オオカナダモをセットした試験管を設置した。

エ. コンセントタイマーを使い、暗期と明期を12時間ごとに切り替えるようにし、オオカナダモに光をあてた。

オ. 2日ごとにオオカナダモの中間部分の葉をとり、取った葉をアルコールで脱色させヨウ素液で染色し、顕微鏡で観察後、“imageJ”でデンプン量を計測した。また、室温、水温、pH、オオカナダモの全長を計った。

カ. 使ったオオカナダモは最初の状態に戻し、実験を継続した。

キ. オ～カの工程を7,000 lxと40,000 lxで行い比較した。

ク. 2日、または3日ごとに約一か月間計測を行なった。

(5) 実験Ⅳ. 塩素がオオカナダモに与える影響を比較する実験

実験Ⅲより、塩素過剰症が考えられた、そのため塩素がオオカナダモに与えた影響を調べるため塩素を飛ばした汲み置きの水を使用して実験Ⅲの過程を繰り返した。

(6) imageJでの操作

写真ではデンプンの量を明確に数値化出来ないため、画像解析ソフト(imageJ)を用いてデンプンの面積と葉の面積を測り、デンプンの面積から葉の面積を割ることにより葉に対するデンプンの面積の割合をデンプン蓄積量とした。

またこれらの操作を自動化し、正しく解析されているかも確認した。

ア. 画像を白黒にして、画像の粗さを消す。

イ. 一定以上の濃さの黒の面積を計測する。

ウ. 計測後、手動で葉の面積を計測する。

エ. デンプン蓄積量を葉の面積の値で割る。

4. 【結果】

(1) 結果Ⅰ

光を受けた個体では、各実験日の気体排出量を見ると2日目の気体排出量は約1.5 mlで最も大きかった。遮光した個体も2日目が最も気体排出量が多かったが、気体の排出量はすべての日であまり差はなかった。ヨウ素液染色された葉の様子を見ると、アルミホイルをまいて遮光したサンプルでデンプン蓄積量が多くなっていた。実験を通して水温はほぼ一定であった。

(2) 結果Ⅱ

光を当てていた個体の方が、気体排出量が多かった。しかし、光を当てていない個体の方がデンプン蓄積量は多くなっていた。また、光を当てていた個体の葉の先端が白くなり、その白くなった部分にのみデンプンが多く見られた。

(3) 結果Ⅲ

40,000 lxの実験では葉の先端が白くなる個体が多かった。一個体で枝分かれした数は最大4箇所であった。3週間の実験で平均4.7 cm成長した。7,000 lxの実験では40,000 lxの時よりもデンプン蓄積量が多かった。一個体で枝分かれした数は最大2箇所であった。3週間の実験で平均6.7 cm成長した。(Fig. 1)

(4) 結果Ⅳ

40,000 lxの実験では頂芽の部分の葉の先端が白くなった。3週間の実験で平均4.5 cm成長した。7,000 lxの実験では40,000 lxの時よりもデンプン蓄積量が少なかった。3週間の実験で平均2 cm成長した。(Fig. 2)

5. 【考察】

(1) 考察 I

気体排出量は、1日目に30,000 lx以上の光が3時間続いたにもかかわらずあまり多くなっていないこと、2日目だけ30,000 lx以上の光が4時間以上続き気体排出量が多くなっていったことから、気体排出量は30,000 lx以上の光が少なくとも4時間以上当たっているときに大きくなるのではないかと考えた。3日目と4日目は30,000 lx以上の光にさらされた時間に差があったにもかかわらず、気体排出量に差がなかった。また、太陽光で実験を行うと光量と照射時間を一定に出来ないこと、そして照度をコントロールできないため気体排出量と照度の関係を明らかに出来ないと考えた。このことから光障害が生じているかを確認する実験は、室内に置いて照度、光を与える時間をコントロールすることが必要であると考えた。

(2) 考察 II

光を照射した葉の先端が白化していた。これは、塩素の過剰症により葉の先端が白くなることから、水道水に含まれる塩素が原因である可能性があったが、暗室の葉には白化は見られなかったため塩素が原因ではないと考えた(住友化学園芸 塩素の過剰)。また、光を照射している個体にのみ白化が起こっていることから、光の照射が原因である可能性が高いと考えた。白化の起こった葉の先端部分にデンプン蓄積量が多い原因は、光合成の後、細胞が死んでしまい、デンプンを分解しなくなったためと考えた。また、遮光したオオカナダモで見られたデンプンはあらかじめ合成されていた貯蔵デンプンではないかと考えた。葉の中央部では光に曝したが染色されなかったことから、オオカナダモは光合成によって得たグルコースをそのまま成長部へ輸送している、若しくは光障害が起きていると考えた。

(3) 考察 III

40,000 lxの光を当てた結果、気体排出量は低光時より増加したがデンプン蓄積量と成長量は少なかったことから、オオカナダモは40,000 lxで光障害が起きると考えた。光過剰のダメージが一番受けやすいのは光化学系IIであるが、40,000 lxの実験ではデンプン蓄積量は少なく気体排出量が多いという結果が得られた。これは、光合成ではなく呼吸量が多くなったため排出された二酸化炭素が増加したからであると考えた。気体排出量は7,000 lxのときはあまり差がなかったが、40,000 lxでは、日がたつにつれて増加した。これは、計測2日目よりも計測7日目のほうが成長して細胞数が増えたので二酸化炭素がより多く発生し、また白化が起きているため、何らかの原因によって葉緑体がなくなったためにカルビン・ベンソン回路がうまく機能しなかった可能性があると考えた。今回の実験では、弱光の方が頂芽の成長量が大きかった。これはRodriguesらによる先行研究結果と一致する(Rodrigues & Thomaz, 2010)。40,000 lxでは強光ストレスが強く頂芽を伸ばすことができなくなり側芽を伸ばしたと考えた。

(4) 考察 IV

汲み置きした水で実験した結果、デンプン蓄積量は、7,000 lxのほうが多かったが、成長量は40,000 lxのほうが多かった。これは、水道水を使った実験とは違う結果になったので、塩素の影響があったと考えられる。また今回の実験では、40,000 lxの光にあてたとき頂芽にのみ白化した箇所が見られた。前回の実験は頂芽だけでなく全体的に白化していたので、白化の原因は塩素の可能性が高い。

6. 【まとめ】

この研究を始めた時は阻害パターン1のみを問題と見ていた。しかし実験IVで葉の白化が少なくなっていたことから実験II、IIIでは阻害パターン3が起きている可能性があると考えた。また実験IVの40,000 lxの頂芽の葉が白化していた事から阻害パターン3と共に阻害パターン1が起きている可能性が考えられる。

7. 【展望】

- ・水中の二酸化炭素濃度を一定にしたらどのような差が生まれるかを探す。
- ・実験II、IIIより光化学系IIの方がダメージを受けやすいにもかかわらず気体排出量が多かったため光合成と気体排出量の関係が直接的に明らかに出来なかったため今後の実験では排出された気体が何であるのかを明らかにする。
- ・今回の実験より、実験的に光阻害を確認するためにはデンブン蓄積量と個体成長量の二か所に着目することが重要であることが分かったが、デンブンの蓄積量と光合成が直接の相関関係にない可能性がある。しかし、デンブン消費量を調べる仕方がまだ分かっていないので、今後の実験でもデンブン蓄積量と成長量を継続的に調べると同時に他に関連しそうな条件がないかを探索したい。

8. 【参考文献】

- ・光阻害 - 光辞典 ・住友化学園芸 葉の緑が白くなり枯れる 塩素の過剰(2010)
- ・Rodrigues & Thomaz (2010). Photosynthetic and growth responses of *Egeria densa* to photosynthetic active radiation. *Aquatic Botany*, 92(4), 281-284. ・光合成の光阻害と緩和メカニズムに関する研究

9. 【謝辞】

本研究に際して、様々なご指導を頂きました鳥取大学博士課程の塚越亮允さんに深謝いたします。

