

黄化子葉の光応答について

兵庫県立加古川東高等学校自然科学部生物班

keyword

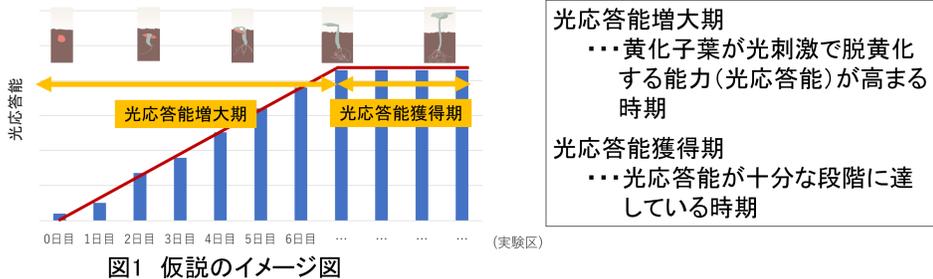
- 黄化子葉…暗所で生育した植物体の子葉。クロロフィルが生成されず、子葉が黄色を呈する。
- 脱黄化…黄化子葉が光刺激を受け、クロロフィルを生成し、緑色を呈すること。
- 光応答能…ここでは、黄化子葉が光刺激で脱黄化する能力をいう。

目的

地中で発芽し地上に出たばかりの芽生えは、光が当たることで子葉を展開するとともに、脱黄色して速やかに光合成を開始する。このような、「光応答能」の獲得は、いつ進行するのか。クロロフィル合成量の変化から調べることにした。

仮説

芽生えの「光応答能」は地中で成長する間に増大し、地上に出る時点ですでに十分な段階に達している(図1)。



実験1 (2020年9月14日～9月22日)

方法

- ① キュウリ (*Cucumis sativus*) の種子を、濡らしたキムワイプを敷いたシャーレに播き、暗所下に置いた。
- ② ①の種子または所定の日数(図2)経過した芽生えに、白色光(約1300lx)を24時間照射した(光源には、太陽光に近いスペクトル分布とされる楸スドーのオセアニアンホワイトを使用)。
- ③ ②の処理を施した種子または芽生えを、暗所下に置いた。
- ④ ②の実験区の対照実験として、暗所区と明所区を設けた(図2)。ただし実験1はすべて室温下で行った。
- ⑤ 播種後8日目に、各実験区から3個体を無作為にサンプリングした。
- ⑥ DMF抽出法でクロロフィルを抽出し、663.8nmと646.8nmで吸光度を測定した。以下の計算式を用いて、クロロフィル量を算出した。

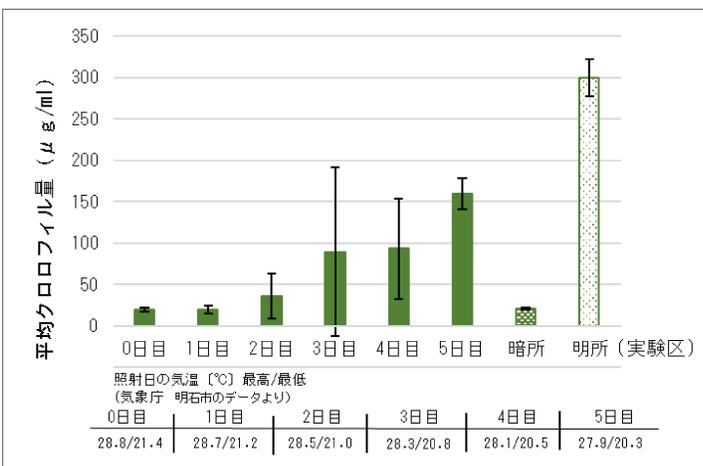
実験区	時間経過						
0日目	明所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	S
1日目	明所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	S
2日目	明所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	S
3日目	明所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	S
4日目	明所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	S
5日目	明所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	S
暗所区	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	S
明所区	明所下	明所下	明所下	明所下	明所下	明所下	S

図2 実験1の実験区

$$\text{Chl } a (\mu\text{gChl/ml}) = 12.00 \times A_{663.8} - 3.11 \times A_{646.8}$$

$$\text{Chl } b (\mu\text{gChl/ml}) = 20.78 \times A_{646.8} - 4.88 \times A_{663.8}$$

結果と考察



- 光刺激を受けた黄化子葉が合成するようになったクロロフィルの量は、芽生えの成長とともに増加した。
- ➔ 播種後0～5日目に暗所下に置かれた黄化子葉は、仮説で述べた「光応答能増大期」(図1)にあったと推論される。
- 播種後3日目、4日目のクロロフィル量は、ばらつきが大きかった。
- ➔ 実験2では、サンプル数を3から5に増やすこととした。

※ エチオプラストと葉緑体に可逆性があると指摘を受け、光刺激からクロロフィル抽出を行うまでの期間を2日間に固定して実験2を行った。

まとめ

実験1と実験2で温度条件に差があったため、連続性のあるデータは得られなかった。しかし、温度差を考慮してデータを総合すると、「芽生えが地中で成長する間に「光応答能」が高まり、地上に出て光を受けたときに速やかな脱黄化を可能にしている」との仮説と矛盾しないことがわかった。

実験2 (2020年12月9日～12月27日、2021年1月3日～1月17日)

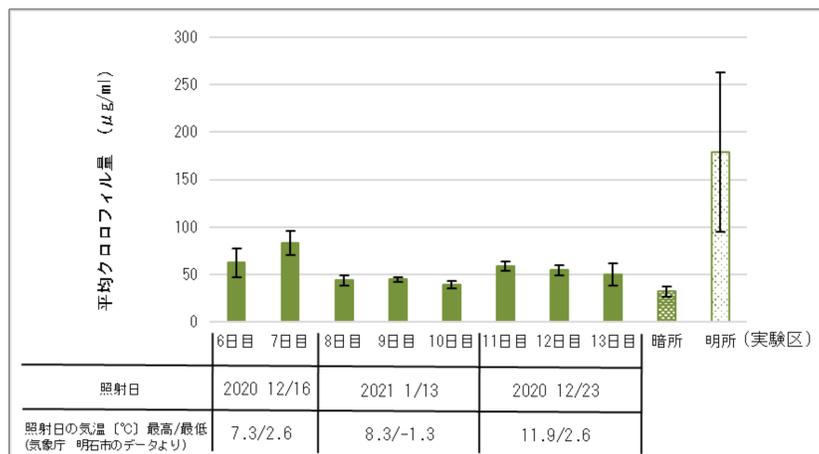
方法

- ① キュウリの種子を実験1の①と同様に播種して暗所・25°Cの条件下に置き、②と同様に光照射処理を施した(ただし、光照射のタイミングは図4の通り)。光照射時の温度は室温とした。
- ② 光照射後2日間、暗所・25°Cに置いた後、各実験区から無作為に5個体ずつ※ サンプリングし、実験1の⑥と同様にクロロフィル量を算出した。(※ 11日目実験区は、枯死した芽生えがあったため、3個体のみでデータをとった)

実験期間	実験区	時間経過					
2020.12/9	6日目	明所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	S
	7日目	明所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	S
2021.1/3	8日目	明所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	S
	9日目	明所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	S
2020.12/10	10日目	明所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	S
	11日目	明所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	S
	12日目	明所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	S
	13日目	明所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	S
暗所区	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	暗所下	S
明所区	明所下	明所下	明所下	明所下	明所下	明所下	S

図4 実験2の実験区

結果と考察



- 抽出されたクロロフィル量は、実験1の5日目と比べ著しく小さかった。
- ➔ 室温で行った光照射の温度が、実験1(9月)と実験2(12月～1月)で、大きく違っていたためと考えられる。
- 光照射日が同じデータどうしで比較すると、播種後6日～7日目ではクロロフィル量が増加しており、一方8日～10日目と11日～13日目ではクロロフィル量の変化がほとんどなかった。
- ➔ 播種後7日目までは仮説(図1)で述べた「光応答能増大期」に、8日目以降は「光応答能獲得期」にあったと推定される。

考察

実験1(9月)と実験2(12月～1月)で気温差があったため、連続性のあるデータ(クロロフィル量)が得られなかった。しかし、気温差を考慮して、すべてのデータを連続的に総合したとすれば、播種後7日目頃までの芽生えでは、黄化子葉の「光応答能」が次第に増大していき、それ以降になると「光応答能」が一定となると推定できる。

私たちは、この「光応答能増大期」の日数は、発芽したキュウリの芽生えが地上に出るまでの日数と近いのではないかと考えている。

今後の展望

- 暗所下と明所下の温度を一致させ、実験1と実験2の実験区を合わせた上で再実験を行い、仮説の検証を行う。
- 土に播種したキュウリの芽生えが地上に出るまでの日数を調べる。
(2月24日現在 検証中)
- 黄化子葉の光応答能が最大となるときに、葉の先端・基部を遮光し、光応答能がより強い箇所があるか検証実験を行う。

参考文献

- according to R. J. Porra et al. (1989) Biochimica et Biophysica Acta 975: 384-394
- Brian R. Maricle. 2010. Changes in chlorophyll content and antioxidant capacity during dark to light transitions in etiolated seedlings: Comparisons of species and units of enzyme activity. TRANSACTIONS OF THE KANSAS ACADEMY OF SCIENCE