

藻類の培養とクロロフィルの光照射による変化について

生物資源科学部 生物生産科学科

2年 土屋 沙樹

2年 佐藤 佑南

2年 菊池 優亜

指導教員

教授 鈴木 英治

1. 目的

本実験にあたって、微細藻類の培養はどのように行うのかを学び、実際に行った。また液体培養を行って得られた藻類からクロロフィルを抽出し、様々な種類の光を当てた場合どのような変化が起こるのか、色の変化を起こすことができるのか実験してみることにした。

2. 方法

試料・試薬 生物材料：*Synechococcus elongatus* PCC 7942(単細胞性シアノバクテリア)

Microcoleus sp. PCC 7113(糸状性シアノバクテリア)

Oscillatoria sp.(糸状性シアノバクテリア)

Porphyridium purpureum (単細胞性紅藻)

試薬：メタノール

操作手順

実験 1

寒天培地と液体培地を作製した。寒天培地では、①*Microcoleus* sp. PCC 7113 と②*Oscillatoria* sp.、③*Porphyridium purpureum* を培養した。液体培地では、*Synechococcus elongatus* PCC 7942 と *Porphyridium purpureum* を培養した。2週間培養し、それぞれの色を確認した(図 1)。

液体培養したシアノバクテリアと紅藻を遠心チューブに移し、遠心後上清を捨て、残った沈殿にメタノールを加え、クロロフィル a を抽出し、吸光度を測定した。



図 1 寒天培養の様子(左から①、②、③)

実験 2

メタノール抽出したクロロフィル溶液を利用し、次の実験を行った。クロロフィル溶液を7つの試験管(原液(-30℃保存)・照射なし(室温暗所静置)・赤色光・青色光・黄色光・緑色光・白色光)に分けた。5つの試験管にLEDを照射した。1週間光を照射した後に、溶液の吸収スペクトルを測定し、グラフ化した。実験の様子を図2に示した。



図2 実験操作の流れ

結果

実験1 遠心後の溶液の吸収スペクトルの結果を示した。

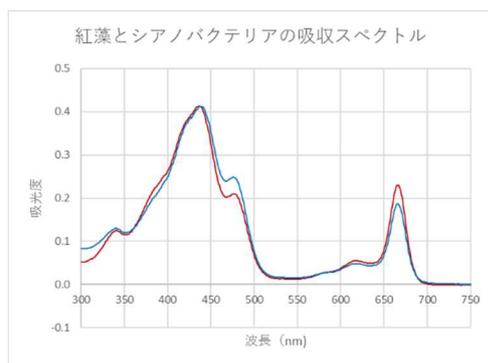


図3 紅藻とシアノバクテリア抽出物比較

グラフの赤が紅藻、青がシアノバクテリアを示している。比較するとどちらもかなり近い形のグラフを描いていた。

このことから、これら紅藻とシアノバクテリアから同じ物質が抽出されたことがわかった。

実験2 LED照射を行ったものについて、それぞれ吸光度を測定し比較した。

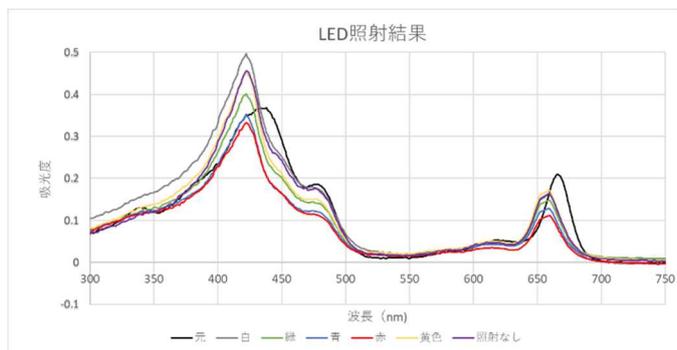


図4 LED照射結果

グラフを見るとピークは二か所あるのが確認できる。以後照射前のピークと比較した。

右側の小さい方のピークをQy帯という。Qy帯を見るとピークの位置がもとのものよりどれも左にシフトしていることがわかった。さらにどれも縦軸で見るとピーク値が小さく

なっていて値の大きいものから黄色、白、照射なし、緑、青、赤の順になっていた。白と照射なしのグラフがほぼ同じ形になっていることが分かった。

左側のピークをソーレー帯という。ソーレー帯はピーク値の大きいものから白、黄色、照射なし、緑、青、赤の順になっていた。また横軸でみるとどれも短波長側にずれていたが、縦軸では大きくなっているのが白、黄色、照射なし、緑、小さくなっているのが青、赤で小さくなるだけではなく大きくなるものもあることが結果として明らかになった。また、黄色と照射なしがほぼ同じようなグラフを描くことが分かった。

考察

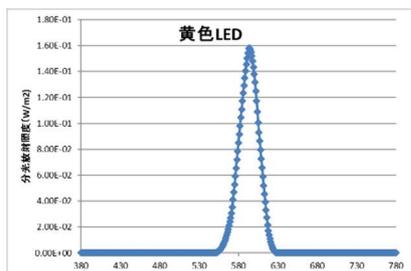


図 5 黄色 LED

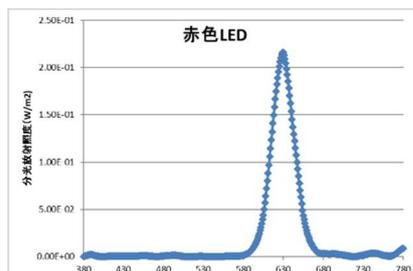


図 6 赤色 LED

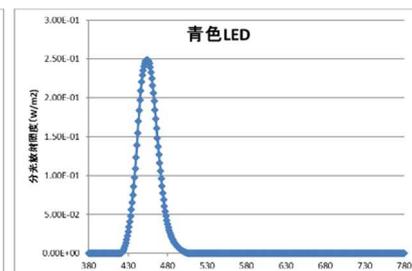


図 7 青色 LED

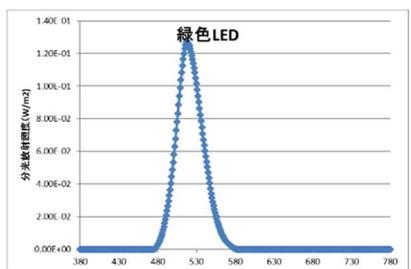


図 8 緑色 LED

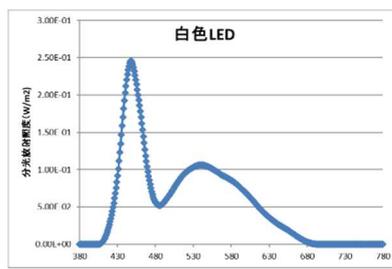


図 9 白色 LED

図 5～9 が各 LED の分光放射照度(W/m^2)である。

結果から 665 nm の Qy 帯では縦軸では上から黄色、白、緑、青、赤になった。照射した光の波長を見ると赤は 630 nm にピークがあり Qy 帯に近かった。それが特に顕著であるが、ソーレー帯についてピーク同士が一致していなくても値が小さくなっており、光の種類による結果の比較は難しく、相関はないものと考えられる。

表 1 各 LED の PPFD の値と相対値

		白	緑	青	赤	黄色	照射なし
PPFD ($\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)		92.6	22.6	29.9	40.5	23.7	0
相対値	Qy帯	0.787	0.710	0.613	0.535	0.820	0.780
	ソーレー帯	1.352	1.090	0.957	0.903	1.239	1.238

図 4 から、それぞれのピークについて照射前のピークを 1 として相対値を求め PPF との関連性を散布図に示した。(表 1、図 10・11)

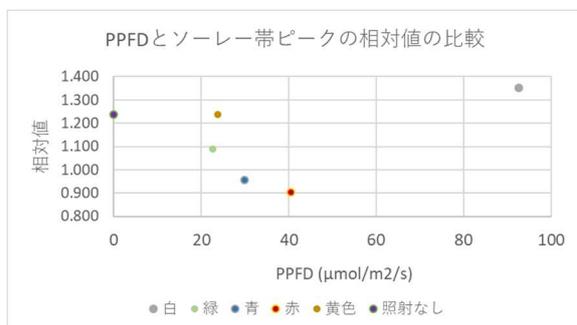


図 10 PPF とソーレー帯ピークの相対値の比較



図 11 PPF と Qy 帯ピークの相対値の比較

グラフの位置としては二つとも近い形になったが、PPFD が高い数値を示すからと言って、相対値もまた同じようになるわけでもないことが言える。例えば、白 LED を照射したからと言って照射前のピークより数値上高い値が出るとは言えない。

以上光の波長や強さとクロロフィルの変化についての相関は得られなかったが、グラフでみるとピークに変化自体はあったためクロロフィル a の構造に何らかの変化があったことは考えられる。しかし何が起こったのかは今回の実験では明らかにすることはできなかった。

今後の課題

今回の実験ではクロロフィル a の構造に変化がおこったことは分かったが、何が起こったのかを明らかにすることはできなかったため、これを明らかにすることが今後の課題である。また、実験についても抽出したクロロフィルの得られた量、またその純度についても明らかにし構造の変化について求める手がかりとすること、また光照射の条件、例えばより近くで光があたるような装置の組み方、放置する場所の条件、室温や湿度についても一定に設定し、光でどのように変化するか求めるための設定を精密にすることを課題とし、次の研究に生かしていきたいと思う。

参考

日本分光会 測定法シリーズ 3 蛍光測定 生物学への応用 著者 木下一彦・御橋廣眞
植物の体の中では何が起きているのか 動かない植物が生きていくための方法
著者 嶋田幸久 萱原正嗣
光バイオインダストリー—光応用による生物反応の制御— 社団法人 照明学会 編
光と生命の事典 日本光生物協会 光と生命の事典編集委員会 編集
<http://photosyn.jp/pwiki/index.php?クロロフィルの吸収スペクトル>