

# ハマヒルガオ *Calystegia soldanella* の

## 強光に対する適応戦略

2年3組 山本 美桜    2年4組 石丸 愛美  
2年4組 二宮 もも    2年4組 濱瀬 みづき  
指導者 北原 美沙紀

### 1 課題設定の理由

百合田ら（2017）は、強光・高温・乾燥という植物にとってストレス状況下にある砂浜で生息する植物に注目し、海浜植物の強光に対する適応戦略を研究した。その結果、ハマヒルガオ *Calystegia soldanella*（**図1**）は他の海浜植物に比べて生体含水率が高く、また葉の表裏に気孔を有しており、構造的戦略により強光に適応している可能性が示唆された。



図1 ハマヒルガオ

本研究では、ハマヒルガオの強光応答と光合成色素分析の実験を行い、光合成の機能的側面から強光に対する適応戦略に迫りたいと考え、研究を始めた。

### 2 仮説

ハマヒルガオは砂浜でも陣地を広げていることから、強光下でも光合成機能に対する障害を受けにくいのではないかと考えた。また、光合成機能の障害を防ぐために、植物体に含まれる補助色素が関与しているのではないかと考えた。

### 3 調査地と実験の方法

愛媛県宇和島市石応の堂崎海岸（緯度 33°12'50", 経度 132°30'57"）を調査地とした（**図2**）。

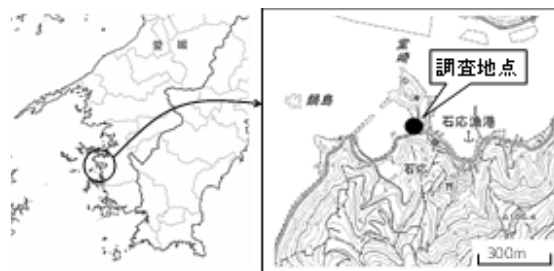


図2 調査地

（地理院地図「電子国土 Web」より引用）

#### (1) 試料への強光照射による酸素発生速度の測定

光合成は、二酸化炭素と水を材料とし、光エネルギーを用いて炭水化物を作り、酸素と水を放出する。今回の研究では、強光による光合成機能の低下の有無を調べるため、

光合成反応で最初に起こる光化学系に着目した。光化学系Ⅱに光エネルギーが集まると、水が分解されて酸素と電子、水素イオンが発生する（**図3**）。この発生する酸素の量を調べることで、光合成機能について検討することにした。対照実験として、ハマヒルガオと同じヒルガオ科であるアサガオを用いた。この実験で用いたクラーク型酸素電極（ハンザテック製）は本校にはないため、愛媛大学理学部研究室で実験を行わせていただいた。

液体窒素で脱水したハマヒルガオとアサガオの葉をすりつぶし、2500 g で 10 分間遠心した上澄みを葉緑体画分とする。強光照射前後の酸素発生活性を調べた。なお、このときの強光は、真夏の直射日光 ( $20,000\mu\text{mol 光子 } \text{s}^{-1}\text{m}^{-2}$ ) とした。また、酸素発生活性が減ると、強光の影響で光合成機能が低下したということが分かる。

(2) 試料への超強光照射による一重項酸素発生速度の測定

ここでは、超強光（真夏の直射日光×2.5）を、(1)で用いた葉緑体画分と同様の試料に照射し一重項酸素発生量を調べた。一重項酸素とは強光条件下での光合成反応の過程で生成される活性酸素で、光合成機能を阻害する。つまり、一重項酸素発生量が多いほど光合成が阻害される。

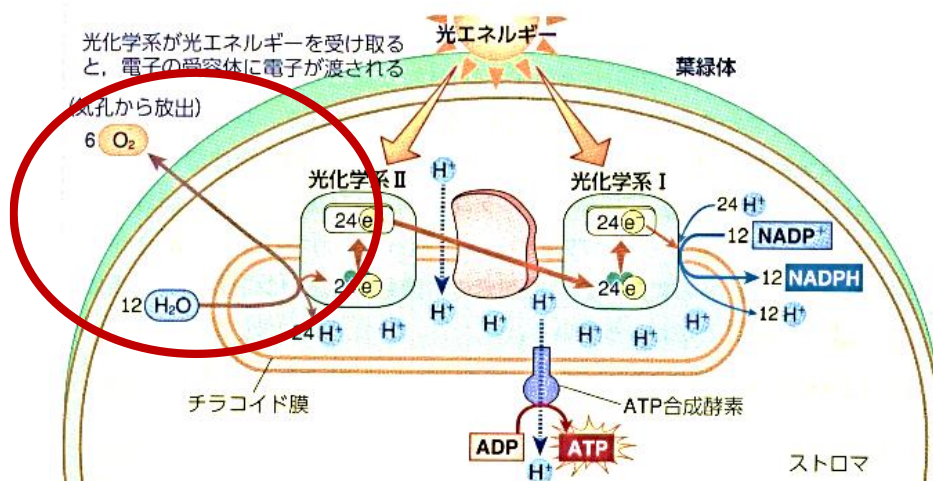


図3 チラコイドでの光合成反応  
(「改訂版生物」／数研出版より引用)

(3) ペーパークロマトグラフィーによる色素分離・色素同定

葉に水分が多く含まれていると色素抽出がうまくできないので、ハマヒルガオとアサガオの葉を液体窒素で脱水する。それをすりつぶし、抽出液（石油エーテル：メタノール＝1：3）を入れ、色素を抽出し、ろ過する。ろ液をろ紙の原点に数回つけて乾燥させた後、展開液（ヘキサン：アセトン＝15：1）に浸して展開する（図4）。その後、ろ紙からそれぞれの色素を含む部分を切り出し、メタノール、アセトン、n-ヘキサンの極性の異なる三つの溶媒で色素を再抽出し吸収スペクトルを測定する。

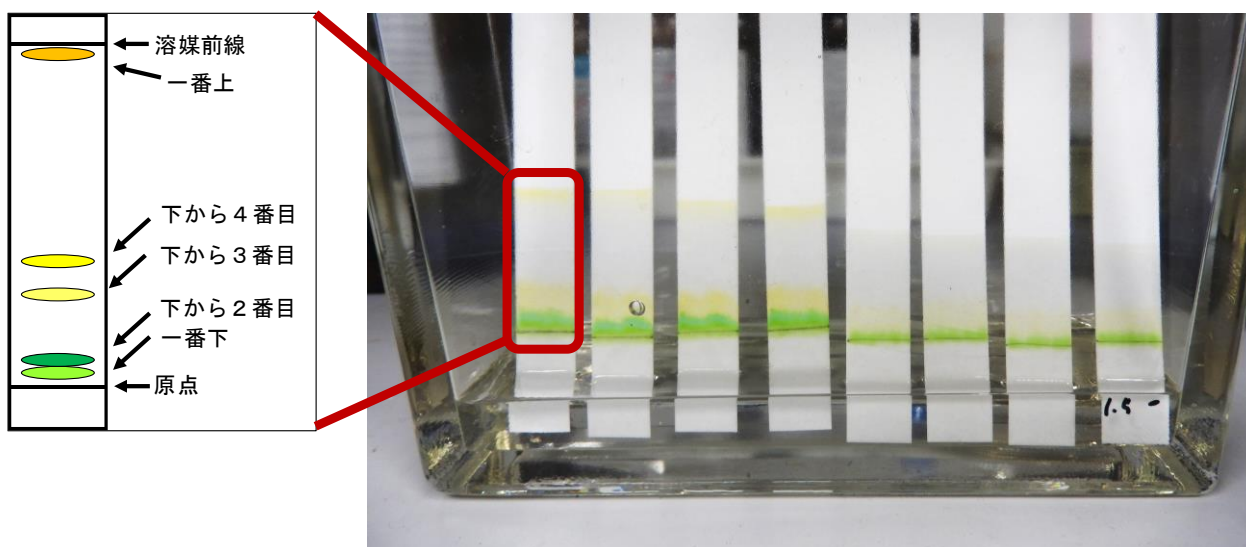


図4 ペーパークロマトグラフィーによる色素分離の様子

#### 4 結果と考察

##### (1) 試料への強光照射による酸素発生速度の測定

表 1 より、アサガオでは 15 分間の強光照射により活性が 60%に低下したが、ハマヒルガオでは 94%の活性を保持しており、ハマヒルガオは強光に対して光合成機能の耐性が強いことが分かった。

表 1 強光照射前後の酸素発生活性

	強光照射前	強光照射後
	酸素発生活性 $\mu\text{mol O}_2(\text{mg Chl})^{-1}\text{h}^{-1}$	酸素発生活性 $\mu\text{mol O}_2(\text{mg Chl})^{-1}\text{h}^{-1}$
アサガオ	182 (100%)	109 (60%)
ハマヒルガオ	280 (100%)	264 (94%)

##### (2) 試料への超強光照射による一重項酸素発生速度の測定

一重項酸素発生量の実験から、ハマヒルガオはアサガオの約半分程度の活性酸素しか発生しなかった(表 2)。また、図 5 から、ハマヒルガオは超強光照射直後に一重項酸素 ( $^1\text{O}_2$ ) が発生しておらず、むしろマイナスの値を示していることから、強い活性酸素除去システムを持つと考えられる。

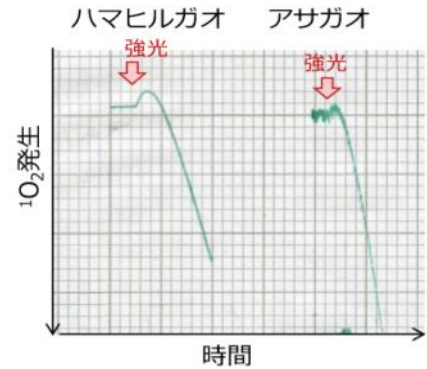


表 2 超強光照射における一重項酸素発生活性

	一重項酸素発生活性	アサガオの発生量との比較
アサガオ	1910 $\mu\text{mol O}_2(\text{mg Chl})^{-1}\text{h}^{-1}$	100%
ハマヒルガオ	1030 $\mu\text{mol O}_2(\text{mg Chl})^{-1}\text{h}^{-1}$	54%

図 5 一重項酸素発生量の比較

##### (3) ペーパークロマトグラフィーによる色素分離・色素同定

n-ヘキサンは極性が低く色素の再抽出ができなかったため、アセトンとメタノールの結果を用いている。下から 4 番目の色素がアサガオではカロテン、ハマヒルガオではリコペンもしくはルテインであり、2つで異なっていた。また、ハマヒルガオはアサガオと比べるとカロテノイド類を多く含むことが分かった(図 6, 表 3)。このことから、キサントフィルサイクルというシステムを持っていると考えられる。キサントフィルサイクルとは、葉緑体のチラコイドの光化学系 II の周りにある補助色素であるカロテノイド類に余剰な光エネルギーを渡し、熱として放出することで光合成機能を守るという仕組みである。

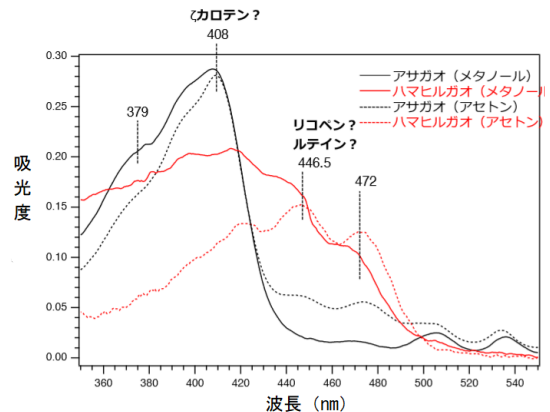


図 6 吸収スペクトルの比較

表 3 色素分離と色素同定

クロマトの位置	アサガオの色素	ハマヒルガオの色素
一番下	クロロフィルa	クロロフィルa
下から 2 番目	クロロフィルb	クロロフィルb
下から 3 番目	ビオラキサンチン? カロテン	ビオラキサンチン?
下から 4 番目	リコペン、もしくはルテインを少量含む?	ルテイン? リコペン?
一番上	$\beta$ カロテン	$\beta$ カロテン

## 5 まとめと今後の課題

ハマヒルガオは活性酸素除去システムを持ち、強光から光合成機能を保持している。またその機能には補助色素が関与していると考えた。色素同定ができていないところがあるため今後も実験を行い、データをとる必要がある。一重項酸素発生量の実験を、短時間で結果を得るために自然界では存在しないほどの光の強さで行ったが、「存在する光の強さで行う実験でないと、現実的な結果ではない」とご指摘をいただき、それについても検討しながら実験を進めたい。また、先行研究でハマヒルガオの含水率が高かったことから、浸透圧にも着目し実験を行った。しかし、うまくいかなかったため装置を改良して再度実験を行い、乾燥を防ぐしくみについても調べたいと思う。

## 謝辞

今回の研究を行うにあたり、愛媛植物研究会の橋越清一氏、愛媛大学プロテオサイエンスセンターの杉浦美羽氏、愛媛大学院生の中村誠氏、高智五輝氏には研究協力・指導助言をしていただきました。この場を借りてお礼申し上げます。

## 参考文献

・百合田彩加・河野瑞紀・高橋恵美彩（2017）『平成 29 年度 SSH 生徒課題研究論文集』