

## 渡辺恒雄\*, 富部克彦\*, 近藤矩朗\*\* \*\*: 緑藻ヒラミルの エチレン生成

Tsuneo WATANABE\*, Katsuhiko TOMIBE\* and Noriaki KONDO\*\* \*\*:   
Indole-3-acetic acid induced ethylene production in *Codium latum*

多くの研究から、植物ホルモンのオーキシン<sup>1)-5)</sup>、ジベレリン<sup>2), 6)-9)</sup>、サイトカイニン<sup>10), 11)</sup>が海藻に含まれていることが明らかにされている。

海藻におけるエチレンの生理的意義は未だ明らかでないが、著者らは、エチレン生成系が海産の緑、褐、紅葉にも存在していることを見出し、すでに発表した<sup>12)</sup>。

今回は、緑藻ヒラミルのエチレン生成に及ぼす、温度、pH の影響について実験した結果、及び紅葉アツバノリから得た高等植物のエチレン生成を阻害する蛋白質<sup>13)</sup>の海藻のエチレン生成に及ぼす影響について検討した結果について報告する。

### 材料と方法

実験に用いた緑藻ヒラミル *Codium latum* SURINGAR の藻体は、伊豆半島、白浜で1975年7月に採集した。採集後直ちに大量の海水で洗い、不純物を除去し、須藤<sup>14)</sup>の人工海水中で、12°C 日長8時間、5000 Lux の条件下で培養した藻体を実験に供した。

エチレン生成に用いたヒラミルは、0.1 mg/ml のクロラムフェニコールを含む加熱滅菌した須藤の人工海水中で12時間、前培養した後、藻体を6×6×2 mm の切片に細断し、培養液を含む、シリコンゴム栓で栓をした20 ml のバイアル中で培養した。

生成したエチレンは、過塩素酸水銀溶液にトラップし、4 M 塩化リチウムで解離させ<sup>15)</sup>、ガスクロマトグラフ (島津 GC-5A) で定量した。

定量実験は、3系列で2回繰り返して行ないその平均値を測定値とした。

### 結果と考察

前培養に使用した海水を、バイアルに入れ 12°C、日長8時間 5000 Lux の条件下で培養し、バクテリア等の影響でエチレンが生成しないことを確認した。

Table 1 は、クロラムフェニコール (0.05 mg/ml) を含む人工海水中にヒラミルの切片 (6×6×2 mm) 10片、20片を浸漬し、0.05 mM のインドール-3-酢酸を加えた場

\* 帝人生物医学研究所, 生化学研究室 (191 東京都日野市旭が丘 4-3-2)

Laboratory of Biochemistry, Teijin Institute for Biomedical Research, Teijin Limited, Hino, Tokyo, 191 Japan.

\*\* 現所属 国立公害研究所 (300 茨城県筑波郡谷田部町館野)

The National Institute for Environmental Studies, Yatabe, Ibaraki-ken, 300 Japn.

Bull. Jap. Soc. Phycol., 24: 111-115, Sept. 1976.

合と加えない場合のエチレン生成を検討した結果である。IAA の添加によってエチレンが誘導される傾向が認められた。培養温度を 12°C, 17°C に設定し検討した結果から

Table 1 Effects of temperature on indole-3-acetic acid induced ethylene evolution in slices of *Codium latum*

	Algal slices (6×6×2mm)	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> produced nl/3 days	
		12°C	17°C
<i>Codium latum</i>			
-IAA	10	0	0
	20	0	0
+IAA (0.05 mM)	10	49.2	22.5
	20	121.0	51.1
<i>Codium latum</i> (95°C, 10 min)			
+IAA (0.05 mM)	10	0	0
	20	0	0

もエチレンの誘導に差が認められ、低温の方がエチレン生成量が多い傾向を呈した。尚藻体を 90°C 10分間熱処理した系ではエチレンの生成は認められなかったことから、検出されたエチレンは生育しているヒラミルが生成したものと推定される。

海藻の生育条件は pH 7.5~9.4 が最適<sup>14)</sup> であり、又 IAA の生理作用発現の至適 pH は中性付近であることから、須藤の人工海水に 0.1 NHCl, 0.1 N NaOH を加え pH 6.0, 6.8, 8.0, 9.5 に調整し、培養温度 12°C の条件下でのヒラミルのエチレン生成に及ぼす pH の影響について検討した (Table 2)。

藻体を 95°C 10分間加熱した系では、エチレンの生成は認められなかった。0.05mM IAA の存在下で、滅菌海水 pH 8.0 の条件下で多量のエチレンが検出され、pH 6.8, pH 6.0 の順にエチレンが定量された。pH 9.5 の条件下では、ヒラミルが生育できなかった為、エチレン量は定量できなかった。海藻のエチレン生成系は pH による影響を受ける可能性があり、自然の生育条件に近い pH で顕著なエチレン生成が起っていることが明らかになった。

IAA を添加しない系でも、12°C, pH 8.0 の条件下で 4 日目にエチレンが検出されたことは、海藻中に存在する IAA に誘導されて、エチレン生成系が誘導されたものと推定される。

Table 3 は紅藻アツパノリ *Sarcodia ceylanica* HARVEY から抽出、精製<sup>13)</sup> した高等植物のエチレン生成を阻害する蛋白質の影響について、検討した結果である。アツパ

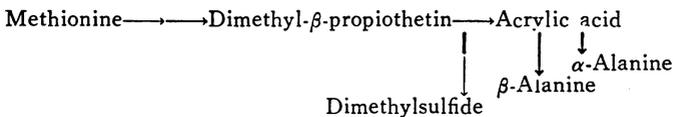
Table 2 Effects of pH on indole-3-acetic acid induced ethylene evolution in algal slices of *Codium latum*

	algal slices (6×6×2 mm)	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> produced nl/4 days at 12°C		
		pH 6.0	pH 6.8	pH 8.0
<i>Codium latum</i>				
-IAA	10	0	0	1
	20	0	0	4
+ IAA (0.05 mM)	10	59.9	446.0	584.2
	20	130.4	1055.3	1721.8
<i>Codium latum</i> (95°C, 10 min)				
+ IAA (0.05 mM)	10	0	0	0
	20	0	0	0

ノリから抽出したエチレン生成阻害蛋白質を 0.05 mg/ml の割合でヒラミルのエチレン生成系に添加してその影響を検討した結果約 70~80% の阻害効果が認められた。

高等植物のエチレン生成と同様に海藻のエチレン生成も、蛋白性阻害物質によって、阻害現象が確認されたことから、海藻のエチレン生成阻害蛋白質は、海藻のエチレン合成経路を解明する有効な手段となり得るものと推察した。

藻緑にアクリル酸、ジメチルサルファイドが広く存在することが報告されており<sup>16)</sup>、アラニン生成系として次の系が提案されている。



著者らは、アクリル酸にデカルボキシゼースを作用させるとエチレンが生成することを、又 Methionine-3-<sup>14</sup>C を薬体にとりこませると <sup>14</sup>C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> が生成することを確認した。

海藻におけるエチレン生成経路として Methionine  $\longrightarrow \longrightarrow$  Acrylic acid  $\longrightarrow$  Ethylene の系の存在が示唆されたので今後検討を重ねて明らかにしていきたい。

高等植物におけるエチレンのホルモン作用として、生長抑制、休眠打破、発芽促進、花芽分化、器官脱離等の生理作用が知られている<sup>15)</sup>が、海藻については不明である。

現在、海藻におけるエチレンの生理作用についても、検討中である。

稿を終えるにあたり御指導を賜った日本大学農獣医学部西澤一俊教授、東京大学理学

Table 3 Effects of Inhibitor I on indol-3-acetic acid induced ethylene evolution in algal slices of *Codium latum*

IAA (0.05 mM)	Algal slices (6×6×2 mm)	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> produced at pH 8.0, 12°C	
		nl/8 hr	nl/4 days
<i>Codium latum</i>			
	10	0	584.2
	20	0	1721.8
+0.05 mg of Inhibitor I/ml from <i>Sarcodia ceylanica</i>			
	10	0	179.5
	20	0	333.8

部藤伊正博士，研究上の便宜をいただいた東京教育大学理学部横浜康継助教授，帝人株式会社取締役野口照久博士，生物医学研究所所長角田哲博士に深謝する。

### Summary

Many reports have shown that ethylene is naturally produced in almost all higher plants. On the other hand, there have yet been no reports on the production of ethylene in marine algae.

We reported that exogenously applied indole-3-acetic acid (IAA) induced ethylene evolution in *C. latum*.

The rate of IAA-induced ethylene evolution in *C. latum* was highest at pH 8.0 among the incubation pH tested of pH 6.0, 6.8, 8.0 and 9.5.

In the concentration of 0.05 mg protein /ml, inhibitor I from red alga, *Sarcodia ceylanica* retarded about 70% of the rate of IAA-induced ethylene evolution in slices of *C. latum*.

The physiological significances of ethylene production in *C. latum* are still obscure, but it was suggested from the above results that there may be ethylene biosynthetic pathway in green algae.

### References

- 1) OVERBEEK, J. V. (1940) Auxin in marine algae. *Plant Physiol*, **15**: 291-299.
- 2) MQWAT, J. A. (1965) A survey of results on the occurrence of auxins and gibberellins in algae. *Botanica Marina*, **8**: 149-155.
- 3) SCHIEWER, V. (1967) Auxinvorkommen und Auxinstoffwechsel bei mehrzel-

- ligen Ostseealgen. I. Zum Vorkommen von Indol-3-essigsäure. *Planta*. **74**: 313-323.
- 4) SCHIEWER, V. (1967) Auxinvorkommen und Auxinstoffwechsel bei mehrzelligen Ostseealgen. II. Zur Entstehung von Indole-3-essigsäure aus Tryptophan, unter Berücksichtigung des Einflusses der marinen Bakterienflora. *ibid.* **75**: 152-165.
- 5) ABE, H., M. UCHIYAMA, R. SAITO and S. MUTO. (1974) Plant growth regulators occurring in marine algae. In *Plant Growth Substances 1973*. Edited by Y. SUMIKI. p. 201-206. Hirokawa Publishing Co. Inc. Tokyo.
- 6) RADLEY, M. (1961) Gibberellin-like substances in plants. *Nature*. **191**: 684-685.
- 7) MOWAT, J. A. (1963) Gibberellin-like substances in algae. *ibid.* **200**: 453-455.
- 8) JENNINGS, R. C. and A. J. MCLOMB. (1967) Gibberellins in the red alga *Hypnea musciformis* (Wulf.) Lamour. *ibid.* **215**: 872-873.
- 9) JENNINGS, R. C. (1968) Gibberellins as endogenous growth regulators in green and brown algae. *Planta*. **80**: 34-42.
- 10) JENNINGS, R. C. (1969) Cytokinins as endogenous growth regulators in the algae *Ecklonia* (Phaeophyta) and *Hypnea* (Rhodophyta). *Aust. J. Biol. Sci.* **22**: 621-627.
- 11) HUSSAIN, A. and A. D. BONEY. (1969) Isolation of kinetin-like substances from *Laminaria digitata* *Nature*. **14**: 17-21.
- 12) WATANABE, T. and N. KONDO. (1976) Ethylene evolution in marine algae and proteinaceous inhibitor of ethylene biosynthesis from red algae. *Plant & Cell Physiol.* (in press).
- 13) WATANABE, T. and N. KONDO. (1975) Isolation of the inhibitor of ethylene biosynthesis in auxin-induced etiolated mungbean hypocotyl sections from red and brown algae. *Bull. Jap. Soc. Phycol.* **23**: 144-149. (Japanese).
- 14) OOHUSA, T. (1971) Cultivation of Asakusa-nori in laboratory. *Biotec.* **2**: 240-243. (Japanese).
- 15) ABELES, F. B. (1973) Ethylene in Plant Biology. Academic Press, New York, N. Y. 10-29.
- 16) KATAYAMA, I. (1964) Biochemical significance of the existence of acrylic acid in algae. *Bull. Jap. Soc. Phycol.* **12**: 14-19. (Japanese).