

## テトラセルミス(プラシノ藻類)の光合成炭酸固定について<sup>1)</sup>

布施洋美\*. 猪川倫好\*\*

\* 千葉大学医学部生化学第一教室 (280 千葉市亥鼻 1 丁目 8-1)

\*\* 筑波大学生物科学系 (305 茨城県新治郡桜村天王台 1 丁目 1-1)

ASHINO-FUSE, H. and IKAWA, T. 1981. Photosynthesis and carbon metabolism in *Tetraselmis* sp. (Prasinophyceae). Jap. J. Phycol. 29: 189-196.

Photosynthetic assimilation of  $^{14}\text{CO}_2$  by free-living *Tetraselmis* sp., a brackish-water green flagellate belonging to the Prasinophyceae was investigated. After 1 minute of photosynthetic  $^{14}\text{CO}_2$  fixation, 65% of the total radioactivity was incorporated into phosphorylated compounds such as 3-phosphoglycerate and some sugar phosphates. The percentage distribution of radioactivity incorporated in these initial products rapidly decreased during the rest of the light period. Concurrent with the decrease in the initial  $^{14}\text{CO}_2$  fixation products, mannitol, oligosaccharide and glutamic acid were heavily labeled with  $^{14}\text{C}$ . When the algal cells were preilluminated in the absence of  $\text{CO}_2$ , dark  $^{14}\text{CO}_2$  fixation was enhanced, and about 70% of the total radioactivity was incorporated into 3-phosphoglycerate after 30 second dark  $^{14}\text{CO}_2$  fixation. The percentage distribution of radioactivity in 3-phosphoglycerate rapidly decreased during the rest of the dark period. Concurrent with the decrease in 3-phosphoglycerate, citric acid was heavily labeled with  $^{14}\text{C}$ . Parallel measurements of two carboxylating enzymes showed that ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase was significantly greater than phosphoenolpyruvate carboxylase activity. In addition to these enzymes, the activities of ribulose-5-phosphate kinase, fructose-1, 6-bisphosphate aldolase, fructose-1, 6-bisphosphatase, mannitol-1-phosphatase, phosphorylase and amylase were detected in crude extracts from this alga. These results indicate that the pathway of photosynthetic  $\text{CO}_2$  fixation in this alga is the reductive pentose phosphate cycle, or Calvin cycle.

*Key Index Words*; Carbon dioxide fixation; photosynthesis; photosynthetic carbon assimilation; Prasinophyceae; Tetraselmis.

Hiromi Ashino-Fuse, Department of Biochemistry, School of Medicine, Chiba University, Inohana, Chiba, 280 Japan; Tomoyoshi Ikawa, Institute of Biological Sciences, The University of Tsukuba, Sakura-mura, Ibaraki, 305 Japan.

テトラセルミス (*Tetraselmis* = *Platymonas*) (NORRIS *et al.* 1980) は、クロロフィル *a* および *b* をもち、細胞はセルロースからなる細胞壁はなく外皮鞘でつままれ、鱗片でおおわれた 4 本の鞭毛をもつ単細胞の藻類で、CHRISTENSEN (1962) により緑藻綱 (Chlorophyceae) から独立してプラシノ藻綱 (Prasinophyceae) として設けられた分類群 1 属であり、系統的に極めて興味のある一群といわれる (千原・堀 1970, 堀・千原 1970)。

1) 本研究は文部省科学研究費補助金および日本学術振興会による日米科学協力研究補助金 (課題番号 5R052) の一部を使用した。

テトラセルミスの光合成産物については、CRAIGIE ら (1966) が 2 時間の光合成  $^{14}\text{CO}_2$  固定産物の解析を行い、マンニットとデンプン様物質が主要産物であることを報告している。SUZUKI (1974) は *Tetraselmis* sp. (= *Platymonas* sp.) からデンプン様物質を単離・分析し、アミロースおよびアミロペクチンからなる緑藻や高等植物と同様のデンプンであることを明らかにした。また、KIRST (1975) や HELLEBUST (1976) は、それぞれ別種のテトラセルミスを用いて、マンニットが浸透圧調節物質となっていることを報告している。

さらに、KREMER (1975) は動物に共生する *Platy-*

*monas convolutae* と非共生の2種のテトラセルミスの光合成  $^{14}\text{CO}_2$  固定について比較検討しているが、炭酸固定の機作については詳細には明らかにしていない。

本研究では、テトラセルミスの1種を用い、光合成  $^{14}\text{CO}_2$  固定および前照射後の暗  $^{14}\text{CO}_2$  固定産物の解析ならびにこれらの炭素代謝に関与する酵素の検出を行い、テトラセルミスの1種における光合成炭素代謝経路について考察を行った。

## 材料と方法

### I. 実験材料

実験に用いたテトラセルミスの1種は千原光雄博士が1970年1月に静岡県下田市の鍋田湾において採集、保存培養されたものを用いた。培養は、人工海水ジャマリンU (ジャマリンラボラトリー製) を塩素濃度11%としたもの1lにつき、 $\text{NaNO}_3$  0.2g および  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0.04g を含む溶液4ml と PES 培地 (McLACHLAN 1973) 20ml を加えたものを培地として用い、18°C、4000 lux の照射下で16時間明期—8時間暗期で空気を通気し、無菌条件下で行った。

### II. 実験方法

#### 1. 溶存酸素の測定

光合成により発生する酸素量はクラーク型酸素電極 (YSI 社製 4004 型) を用いて測定した。光源はスライドプロジェクター (650 w ハロゲンランプ) を用い、1% 硫酸銅溶液を含む厚さ 5 cm のフィルターを通して照射した。

#### 2. $^{14}\text{CO}_2$ 固定実験

(1) 光合成  $^{14}\text{CO}_2$  固定実験: 培養藻体を  $1000 \times g$  10分間遠心分離して集め、0.1% NaCl を含む 2 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.0) に懸垂し、この一定量を枝付試験管 (1.3×15 cm) に入れ、18°C の恒温槽中で、 $\text{CO}_2$  を除いた空気を細管を通して通気しながら、30000 lux の白色光で10分間前照射した。続いて藻体懸垂液 1 ml につき  $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$  溶液 (59.1 mCi / mM) 25  $\mu\text{Ci}$  分を加え、前照射と同様の条件下で光合成を行わせた。一定時間光合成を行わせた後、速かに藻体懸垂液をワットマン GF/A 濾紙を敷いたガラス濾過器に移し、前記と同様の光を照射しながら吸引濾過し、濾紙上の藻体を濾紙と共に80%熱エタノール中に投入して  $^{14}\text{CO}_2$  固定反応を停止させた。これを沸騰水浴中で10分間加熱した後ミリポアフィルター HA を敷いたガラス濾過器で吸引濾過し、少量の80%エタノールを用いて濾過残渣を洗った。このようにして得た

濾液を集め、80%エタノール可溶画分とし、濾過残渣を不溶画分とした。

なお、光合成の時間は、 $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$  を加えてから熱エタノールで固定するまでに要した時間として表わした。

(2) 前照射後の暗  $^{14}\text{CO}_2$  固定実験: (1) と同様の方法で10分間前照射を行い、消光直後に藻体懸垂液 1 ml につき 50  $\mu\text{Ci}$  の  $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$  溶液を加え暗  $^{14}\text{CO}_2$  固定反応を開始させた。一定時間経過後、熱エタノールを終濃度が80%となるように加え、 $^{14}\text{CO}_2$  固定反応を停止させた。これを沸騰水浴中で10分間加熱し抽出を行った後、酢酸溶液を加えて酸性とし、空気を通気して未反応の  $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$  を除去し、さらに (1) と同様の操作により濾過して80%エタノール可溶画分と不溶画分を得た。

#### 3. $^{14}\text{C}$ -固定産物の分離と定量

アルコール可溶画分を 30°C 以下で減圧乾固し、80%エタノールで溶出した試料をワットマン 3 MM 濾紙にスポットした後、二次元展開を行った。展開溶媒はフェノール—酢酸—0.2 MEDTA—水 (369.5: 5.0: 50.0: 80.7 v/v) を一次元目に用い、n-ブタノール—水 (249: 16 v/v) とプロピオン酸—水 (207: 263) とを等量混合したもの (BENSON *et al.*, 1950) を二次元目の展開に用いた。濾紙を乾燥した後 X 線フィルム (富士工業用, N 型) を用いラジオオートグラフィーを行い、 $^{14}\text{C}$ -固定物質を検出した。 $^{14}\text{C}$ -固定量の測定は、ペーパークロマトグラムの  $^{14}\text{C}$ -固定物質のスポットを切り取り、液体シンチレーションカウンタを用い測定した。

#### 4. 酵素の抽出

培養藻体を  $1000 \times g$  10分間遠心分離して集め、1% NaCl 溶液に懸垂、遠心を2回くり返して洗った後藻体と等容量の、10 mM ジチオスレイトール (DTT) を含む 0.5 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.5) を加え、0°C において 10 kc で3分間超音波処理して細胞を破碎した。これを 2°C、17000  $\times g$  で30分間遠心分離し、上清を酵素液として用いた。

#### 5. 酵素活性の測定

(1) リブローズ-5-リン酸 (Ru5P) キナーゼ: 反応は 0.1 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.3) 0.4 ml, 0.5 M Ru5P 0.2 ml, 0.1 M ATP 0.1 ml, 0.1 M  $\text{MgCl}_2$  0.1 ml, 0.1 M システイン 0.05 ml および酵素液 0.15 ml を加え総量を 1.0 ml とし、38°C で行い (HURWITZ 1962)、遊離する無機リン酸を ALLEN 法 (ALLEN 1940) を用いて測定した。

(2) リブローズ-1,5-二リン酸 (RuBP) カルボキシルラーゼ: 1 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.3) 0.1 ml, 0.05 M MgCl<sub>2</sub> 0.1 ml, 0.1 M 還元型 グルタチオン 0.05 ml, 0.1 mM NaH<sup>14</sup>CO<sub>3</sub> 0.1 ml (2 μCi) および酵素液 0.1 ml を加えて 30°C で10分間ブレインキューベートした後, 0.05 M RuBP 0.05 ml を加え反応を開始した (SUGIYAMA *et al.*, 1969)。一定時間反応した後酢酸 0.1 ml を加えて反応を停止させ, <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> を完全に除いた後反応液 0.2 ml を濾紙に吸着させ, 乾燥した後液体シンチレーションカウンタで放射能を測定した。

(3) ホスホエノールピルビン酸 (PEP) カルボキシルラーゼ: 反応は 1 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.3) 0.1 ml, 0.2 M DTT 0.025 ml, 0.05 M グルタミン酸ナトリウム 0.025 ml, 0.05 M PEP 0.05 ml, 酵素液 0.1 ml および 0.1 mM NaH<sup>14</sup>CO<sub>3</sub> 0.1 ml (2 μCi) を加えて総量を 0.5 ml とし, 30°C で行った (SLACK and HATCH 1967)。反応の停止および <sup>14</sup>C-固定量は (2) と同様の方法で行った。

(4) フルクトース-1, 6-二リン酸 (FBP) アルドラーゼ: 0.05 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.5) 1.0 ml, 0.05 M FBP 0.25 ml, 0.28 M 硫酸ヒドラジン溶液 (pH 7.0) 0.25 ml, 0.004 M FeSO<sub>4</sub> 0.25 ml, 酵素液 0.25 ml および水を加えて総量 2.5 ml とし 38°C で反応した後, SIBLEY and LEHNINGEN (1949) の方法に従って比色定量した。

(5) FBP ホスファターゼ: 反応は 0.5 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.7) 0.4 ml, 0.1 M MgCl<sub>2</sub> 0.1 ml, 0.4 mM EDTA 0.1 ml, 0.05 M FBP 0.2 ml, 酵素液 0.2 ml および水を加えて全量を 2.0 ml とし, 30°C で反応を行い, 遊離する無機リン酸を ALLEN 法で測定した。

(6) マンニトール-1-リン酸 (M1P) 脱水素酵素: M1P 脱水素酵素活性は, フルクトース-6-リン酸の還元および M1P の酸化の両反応について IKAWA *et al.*, (1972) の方法により測定した。

(7) M1P ホスファターゼ: 反応は 0.1 M Tris-酢酸緩衝液 (pH 7.0) 0.5 ml, 0.01 M MgCl<sub>2</sub> 0.1 ml, 0.1 M M1P 0.1 ml, 酵素液 0.1 ml および水を加えて総量を 1.0 ml とし, 30°C で反応を行い, 遊離する無機リン酸を Allen 法で測定した (IKAWA *et al.*, 1972)。

(8) アミラーゼ: 0.25 M クエン酸緩衝液 (pH 6.0) 0.5 ml, 0.2% アミロース 0.25 ml, 0.6% NaCl 0.1 ml および酵素液 0.15 ml を加え 30°C で反応を行

い, Blue value 法 (WANKA *et al.*, 1970) により比色定量した。

(9) ホスホリラーゼ: 反応は 0.25 M クエン酸緩衝液 (pH 6.0) 0.5 ml, 0.5 M グルコース-1-リン酸 0.1 ml, 5% 可溶性デンプン 0.2 ml, 酵素液 および水を加えて総量を 1.0 ml とし, 30°C で行い, 遊離する無機リン酸を ALLEN 法により比色定量した。

## 6. その他の定量法

クロロフィルの定量は IWAMURA *et al.*, (1970) の方法により, また, タンパク質の定量は LOWRY *et al.*, (1951) の方法により求めた。

## 結 果

### 1. 光合成に及ぼす光強度の影響

テトラセルミスの1種の光合成酸素発生に及ぼす光強度の影響について調べた結果, Fig. 1 に示すように約 30000 lux で飽和に達した。図には示していないが酸素発生速度は 100000 lux までほとんど変わらず, 強光による障害はみられなかった。

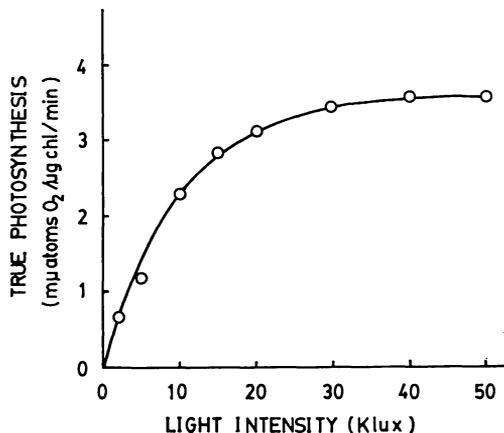


Fig. 1. Effect of light intensity on the rate of photosynthetic oxygen evolution of *Tetraselmis* sp. at 21% oxygen. Temperature was 18°C.

### 2. 光合成 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> 固定について

光合成による <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> 固定速度を 80% エタノール可溶画分と不溶画分について調べた。その結果 Fig. 2 に示すように, アルコール可溶画分への <sup>14</sup>C のとり込み速度は10分までほぼ直線的に増加したが, それ以後は次第に低下した。一方, アルコール不溶画分への <sup>14</sup>C のとり込み速度は30分まで直線的に増加し, それ以後は次第に低下する傾向を示したが, この画分への

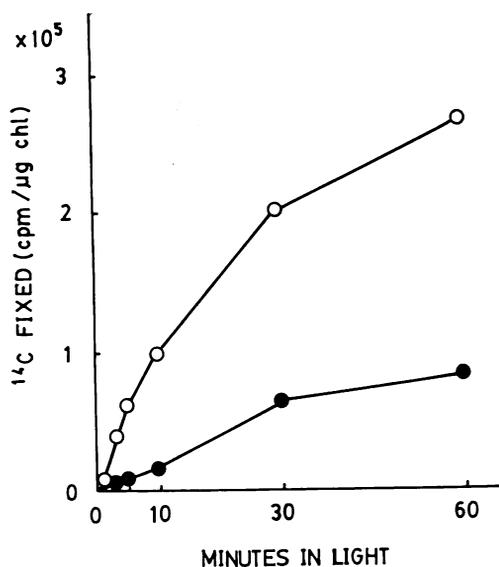


Fig. 2. Time courses of  $^{14}\text{C}$  incorporation into ethanol soluble and insoluble fractions under photosynthetic conditions. —○—, ethanol soluble fraction; —●—, ethanol insoluble fraction.

$^{14}\text{C}$  のとり込み量は30分以後では全  $^{14}\text{C}$  固定量の約30%に達した。この画分の成分については詳細に検討しなかったが、大部分の  $^{14}\text{C}$  は酸加水分解により容易に可溶化されグルコースが検出されることから、そのほ

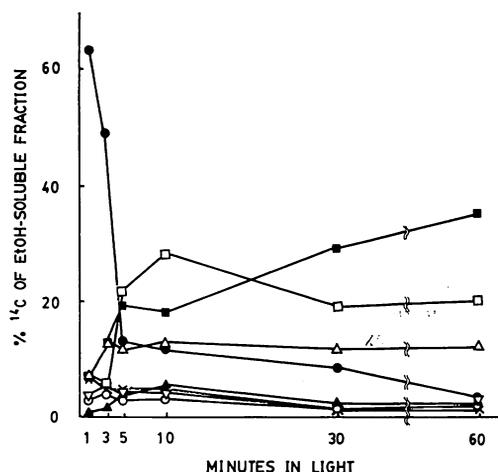


Fig. 3. Distribution of  $^{14}\text{C}$  compounds in the ethanol soluble fraction during photosynthesis in *Tetraselmis* sp. —●—, phosphate esters; —■—, mannitol; —□—, oligosaccharide; —○—, aspartic acid; —×—, alanine; —▽—, citric acid; —▲—, glycine and serine; —△—, glutamic acid.

とんどはデンプンからなるものと推定した。

アルコール可溶画分中の  $^{14}\text{C}$ -固定産物の分布を調べるため二次元ペーパークロマトグラフィーを行い、 $^{14}\text{C}$  固定産物の時間的変動を調べた。その結果, Fig. 3 に示すように, 3分までの比較的短時間の光合成では, 3-ホスホグリセリン酸 (PGA) や糖リン酸化合物を含むリン酸化合物に50%以上の  $^{14}\text{C}$  がとり込まれ, 時間と共にその割合は急激に減少した。この傾向とは対照的に, マンニットとオリゴ糖への  $^{14}\text{C}$  のとり込みは時間と共に急激に増加し, 60分後ではマンニットへの  $^{14}\text{C}$  のとり込み量はアルコール可溶画分中の約35%にまで達した。一方, アミノ酸ではアスパラギン酸やセリン, グリシンへのとり込みは少なく, グルタミン酸へのとり込みが顕著であった。グルタミン酸へのとり込みは3分間の光合成で12%に達し, この割合はその後も変わらず60分まで継続した。また, 有機酸では, クエン酸へのとり込みがみられたが, リンゴ酸へのとり込みはほとんどみられなかった。

### 3. 前照射後の暗 $^{14}\text{CO}_2$ 固定について

緑色植物では,  $\text{CO}_2$  を含まない気相中で光照射し, 照射停止直後に  $^{14}\text{CO}_2$  を与えると暗所での  $\text{CO}_2$  固定能が著しく促進されることが報告されている (MIYACHI 1979)。テトラセルミスにおいても Fig. 4 に示すよう

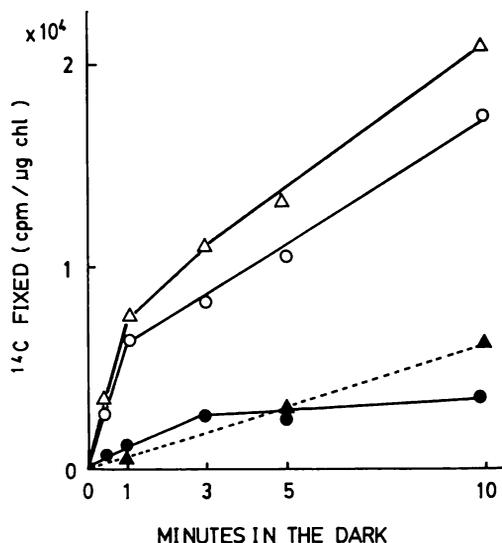


Fig. 4. Time courses of dark  $^{14}\text{CO}_2$  fixation. Solid lines, enhanced dark  $^{14}\text{CO}_2$  fixation after preillumination; dotted line, dark  $^{14}\text{CO}_2$  fixation without preillumination. —△—, —▲—, total radioactivity; —○—, ethanol soluble fraction; —●—, ethanol insoluble fraction.

に、10分間の前照射後の暗<sup>14</sup>C固定速度は、前照射なしの完全な暗<sup>14</sup>C固定速度に比べて著しく促進された。この促進効果は1分以内の短時間に限られ、それ以後は完全な暗固定の速度とほぼ等しくなった。このうち、アルコール可溶画分へのとり込み量は、藻体の全<sup>14</sup>Cとり込み量とほぼ同様の傾向を示したが、アルコール不溶画分への<sup>14</sup>Cのとり込みは3分以後はほとんど増加しなかった。

アルコール可溶画分中の<sup>14</sup>C固定産物の分布を調べてみると、Fig. 5に示すように、前照射後の暗固定30秒では全体の<sup>14</sup>Cの65%がPGAにとり込まれ、時間と共に急激に減少した。これと対照的にクエン酸へのとり込みの割合が顕著に増加し、3分以後はほぼ一定となった。このほかアスパラギン酸やグルタミン酸へのとり込みもクエン酸の増加に遅れて15%前後のとり込みがみられた。

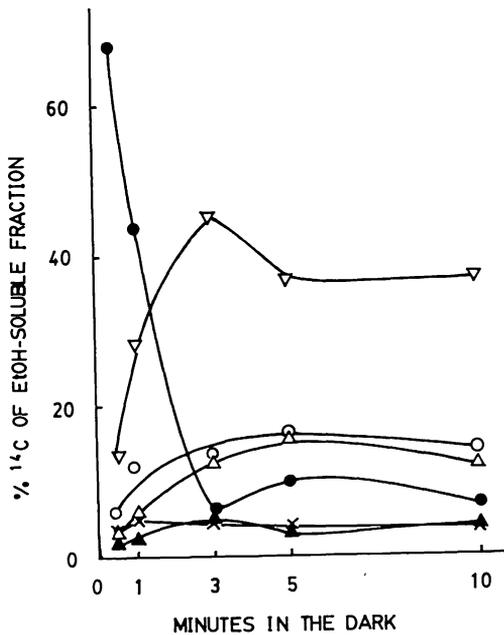


Fig. 5. Distribution of <sup>14</sup>C compounds in the ethanol soluble fraction during light enhanced dark <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> fixation. —●—, 3-phosphoglyceric acid; —○—, aspartic acid; —×—, alanine; —△—, glutamic acid; —▽—, citric acid; —▲—, unidentified compound.

#### 4. 炭素代謝に関与する酵素について:

CO<sub>2</sub>固定に関与する酵素として RuBP カルボキシルラーゼと PEP カルボキシルラーゼの検出を試みた。その結果 RuBP カルボキシルラーゼ活性は、PEP カルボ

Table 1. Activities of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase and phosphoenolpyruvate carboxylase in *Tetraselmis* sp.

Enzymes	Enzyme activity ( <sup>14</sup> CO <sub>2</sub> fixed, cpm/min/mg protein)
RuBP Carboxylase	3733
PEP Carboxylase	839

Table 2. Detection of enzymes seeming to participate in the metabolic pathway of mannitol and starch in *Tetraselmis* sp.

Enzymes	Activity
Ribulose-5-phosphate kinase <sup>1</sup>	18.2
Fructose-1,6-bisphosphate aldolase <sup>2</sup>	0.17
Fructose-1,6-bisphosphatase <sup>1</sup>	28.0
Mannitol-1-phosphate dehydrogenase <sup>3</sup>	0
Mannitol-1-phosphatase <sup>1</sup>	18.4
Phosphorylase <sup>1</sup>	12.3
Amylase <sup>4</sup>	2.3

1 ΔO. D. at 530 nm/min/mg protein

2 ΔO. D. at 340 nm/min/mg protein

3 units/min/mg protein

4 Inorganic phosphate liberated μg/min/mg protein

キシルラーゼ活性に比べて約 4.4 倍高い値が検出された (Table 1)。このほか炭素還元回路に関与する酵素として、FBP アルドラーゼ、FBP ホスファターゼおよび Ru5P キナーゼについて調べた結果いずれの酵素活性も検出された (Table 2)。

また、マンニット合成に関与する酵素として M1P 脱水素酵素と M1P ホスファターゼについて調べた (Table 2)。M1P 脱水素酵素活性はフルクトース-6-リン酸の還元反応および M1P の酸化反応の両反応について検討したが、いずれの場合にも活性を検出することはできなかった。また、フルクトースおよびマンニットの酸化還元酵素についても検討したがいずれも検出できなかった。しかし、M1P ホスファターゼ活性は高い活性が検出された (Table 2)。この酵素活性の最適 pH は 7 にあり (Fig. 6)、この pH において基質特異性を調べてみると、粗酵素の段階でも M1P に対し極めて特異性が高いことが示された (Table 3)。

このほかデンプンの分解反応に関与する酵素としてホスホリラーゼとアミラーゼについて調べた結果、両酵素とも存在することが明らかになった (Table 2)。

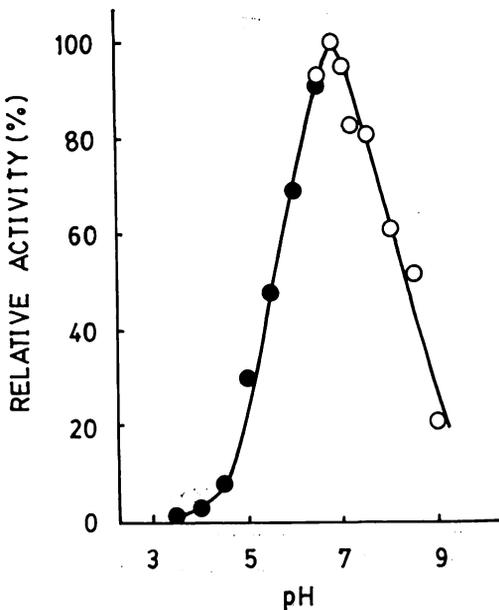


Fig. 6. Effect of pH on the mannitol-1-phosphatase activity of *Tetraselmis* sp. Assay conditions are as described in the text, except for variation in the buffer used. —●—, acetate buffer; —○—, Tris-acetate buffer.

Table 3. Substrate specificity of the mannitol-1-phosphatase of *Tetraselmis* sp.

Substrate	Inorganic phosphate liberated ( $\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg}$ protein)
Mannitol-1-phosphate	6.0
Glucose-1-phosphate	0
Glucose-6-phosphate	0
Fructose-6-phosphate	0.5
Fructose-1,6-bisphosphate	1.1
Glycerate-3-phosphate	0
<i>p</i> -Nitrophenylphosphate	0

Reaction mixtures were incubated for 5 min under standard conditions as described in the text, except that mannitol-1-phosphate at a concentration of  $10 \mu\text{moles}$  in  $1 \text{ ml}$  of the reaction mixture was replaced by equimolar amounts of the other phosphates indicated.

## 考 察

テトラセルミスの1種 (*Tetraselmis* sp.) における光合成  $^{14}\text{C}$  固定産物の時間的な変動を調べた結果、光合成1分間でアルコール可溶画分中に固定された

$^{14}\text{C}$  の65%がPGAや糖リン酸化合物を含むリン酸化合物として検出され、時間と共にその割合は急激に減少し、アスパラギン酸やリンゴ酸など  $\text{C}_4$  ジカルボン酸へのとり込みは非常に僅かであった (Fig. 3)。この結果は、炭素還元回路により  $\text{CO}_2$  固定を行う  $\text{C}_3$  植物にみられる結果とよく類似している。

一方、*Chlorella* や *Anacystis* などの藻類やホウレンソウなどの  $\text{C}_3$  植物では、 $\text{CO}_2$  を含まない条件下で前照射を行い、消光直後に  $^{14}\text{CO}_2$  を与えると暗  $^{14}\text{CO}_2$  固定能の著しい促進があり、初期  $^{14}\text{C}$  固定産物としてPGAが検出され、一方  $\text{C}_4$  ジカルボン酸回路をもつ  $\text{C}_4$  植物では、この効果によりアスパラギン酸やリンゴ酸が初期  $^{14}\text{C}$  固定産物として検出されることが報告されている (HOGETSU and MIYACHI 1970, MIYACHI 1979)。テトラセルミスでは、前照射後の暗  $^{14}\text{CO}_2$  固定30秒で全  $^{14}\text{C}$  固定量の70%がPGAにとり込まれた (Fig. 5)。これらの結果から、テトラセルミスは炭素還元回路による  $\text{C}_3$  植物型の  $\text{CO}_2$  固定を行っているものと推定される。さらにこのことは、RuBPカルボキシラーゼ活性がPEPカルボキシラーゼ活性に比べてはるかに高く、炭素還元回路に関与するFBPアルドラーゼ、FBPホスファターゼ、Ru5Pキナーゼなども十分高い活性が検出されたこと (Table 2, 3) などからも裏付けられる。

光合成貯蔵性産物については、光合成の時間と共にマンニットやアルコール不溶画分への  $^{14}\text{C}$  のとり込みが顕著に増加すること (Figs. 2, 3) から、マンニットやデンプンが貯蔵性物質となっているものと思われる。このことはCRAIGIE (1966) やKREMER (1975) らの結果とも一致している。テトラセルミスにおける多量のマンニットの蓄積は、KIRST (1975) やHELLEBÜST (1976) らの報告にあるように浸透圧の調節に関与しているほか、呼吸基質や多糖合成への一時的貯蔵物質となっているものと考えられる。マンニットの生合成経路については、今回M1P脱水素酵素活性の検出には成功しなかったが、M1Pホスファターゼの高い活性が認められたことから、褐藻 (YAMAGUCHI *et al.* 1969, IKAWA *et al.* 1972) と同じくフルクトース-6-リン酸→M1P→マンニットの経路で行われているものと考えられるが、詳細については今後さらに検討が必要である。このほかテトラセルミスではオリゴ糖への  $^{14}\text{C}$  のとり込みもマンニットについて多く、光合成30分以後では約20%で一定の割合になっている。このオリゴ糖についてはまだ詳しく検討していないが、比較的早い時間に一定値に達することからデン

ブシ合成の中間体となっている可能性も考えられる。また、デンプン代謝についても十分検討していないが、ホスホリラーゼやアミラーゼが存在することから、高等植物と同様これらの酵素によって分解利用されているものと考えられる。

一般に高等植物や *Chlorella* などの緑藻および海藻 (KAREKAR and JOSHI 1973), らん藻 *Anacystis* (MIYACHI and OKABE 1976) などにおいては、光合成により生成されるアミノ酸はセリン, グリシン, アスパラギン酸, アラニンなどが多く, グルタミン酸の生成はあまりみられない。テトラセルミスの1種では光合成によるグルタミン酸への<sup>14</sup>Cのとり込みが特徴的であった (Fig. 3)。これは CRAIGIE *et al.* (1966) による *Tetraselmis* sp. の2時間の光合成の結果とよく似ている。テトラセルミスの1種ではグルタミン酸のほかクエン酸への<sup>14</sup>Cのとり込みもみられ (Fig. 3), とくに前照射後の暗 CO<sub>2</sub> 固定では顕著であった (Fig. 5)。この前照射後の暗 CO<sub>2</sub> 固定の結果は *Chlorella* などの結果 (MIYACHI 1979) とは大きく異なるものであり, テトラセルミスには *Chlorella* とは異なった炭素代謝の制御機構が存在するものと考えられる。

本研究に用いた藻株のご分譲をいただき, 終始有益なご助言を賜った筑波大学生物科学系千原光雄教授に深く感謝の意を表する。

## 引用文献

- ALLEN, R. J. L. 1940. The estimation of phosphorous. *Biochem. J.* 34: 858-865.
- BENSON, A. A., BASSHAM, J. A., CALVIN, M., GOODALE, T. C., HAAS, V. A. and STEPKA, W. 1950. The path of carbon in photosynthesis. V. Paper chromatography and radioautography of the products. *J. Am. Chem. Soc.* 72: 1710-1718.
- 千原光雄・堀 輝三 1970. 最近のブラシノ藻綱の研究 (I). *藻類* 18: 33-42.
- CHRISTENSEN, T. 1962. Alger. In T. W. BÖCHER, M. LANGE and T. SØRENSEN (ed.) *Systematisk Botanik*. Vol. 2, No. 2. Munksgaard, Copenhagen: 178.
- CRAIGIE, J. S., McLACHLAN, J., MAJAK, W., ACKMAN, R. G. and TOCHER, C. S. 1966. Photosynthesis in algae II. Green algae with special reference to *Dunaliella* spp. and *Tetraselmis* spp. *Can. J. Bot.* 44: 1247-1254.
- HELLEBUST, J. A. 1976. Effect of salinity on photosynthesis and mannitol synthesis in the green flagellae *Platymonas suecica*. *Can. J. Bot.* 54: 1735-1741.
- HOGETSU, D. and MIYACHI, S. 1970. Effect of oxygen on the light-enhanced dark carbon dioxide fixation in *Chlorella* cells. *Plant Physiol.* 45: 178-182.
- 堀 輝三・千原光雄 1970. 最近のブラシノ藻綱の研究 (II). *藻類* 18: 88-95.
- HURWITZ, J. 1962. Phosphoribulokinase. p. 258-261. In S. P. COLOWICK and N. O. KAPLAN (ed.) *Methods in Enzymology*. Vol. 5. Academic Press, New York.
- IKAWA, T., WATANABE, T. and NISIZAWA, K. 1972. Enzymes involved in the last steps of the biosynthesis of mannitol in brown algae. *Plant & Cell Physiol.* 13: 1017-1029.
- IWAMURA, T., NAGAI, H. and ICHIMURA, S. 1970. Improved methods for determining contents of chlorophyll, protein, ribonucleic acid and deoxyribonucleic acid. *Int. Revue ges. Hydrobiol.* 55: 131-147.
- KAREKAR, M. D. and JOSHI, G. V. 1973. Photosynthetic carbon metabolism in marine algae. *Bot. Mar.* 16: 216-220.
- KIRST, G. O. 1975. Beziehungen zwischen Mannitkonzentration und osmotischer Belastung bei der Brackwasserlage *Platymonas subcordiformis* HAZEN. *Z. Pflanzenphysiol.* 76: 316-325.
- KREMER, B. P. 1975. <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>-Fixation by the endosymbiotic alga *Platymonas convolutae* within the Turbellarian *Convoluta roscoffensis*. *Mar. Biol.* 31: 219-226.
- LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L. and RANDALL, R. J. 1951. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- McLACHLAN, J. 1973. Growth media—marine. In J. R. STEIN (ed.) *Handbook of Phycological Methods*. Cambridge University Press, Cambridge: 25-52.
- MIYACHI, S. and OKABE, K. 1976. Oxygen enhancement of photosynthesis in *Anacystis nidulans* cells. *Plant & Cell Physiol.* 17: 973-986.
- MIYACHI, S. 1979. Light-enhanced dark CO<sub>2</sub> fixation. p. 68-76. In M. GIBBS and E. LATZKO (ed.) *Encyclopedia of Plant Physiology* New series Vol. 6. Photosynthesis II. Photosynthetic carbon metabolism and related processes. Springer-Verlag Berlin.
- NORRIS, E. R., HORI, T. and CHIHARA, M. 1980. Revision of the genus *Tetraselmis* (Class Prasinophyceae). *Bot. Mag. Tokyo* 93: 317-339.

- SIBLEY, J. A. and LEHNINGER, A. L. 1949. Determination of aldolase in animal tissues. *J. Biol. Chem.* 177: 859-872.
- SLACK, C. R. and HATCH, M. D. 1967. Comparative studies on the activity of carboxylase and other enzymes in relation to the new pathways of photosynthetic carbon dioxide fixation in tropical grasses. *Biochem. J.* 103: 660-665.
- SUGIYAMA, T., MATSUMOTO, C., AKAZAWA, T. and MIYACHI, S. 1969. Structure and function of chloroplast proteins VII. Ribulose-1, 5-diphosphate carboxylase of *Chlorella ellipsoidea*. *Arch. Biochem. Biophys.* 129: 597-602.
- SUZUKI, H. 1974. Starch-type polysaccharide and mannitol in *Platymonas*. *Phytochemistry* 13: 1159-1160.
- WANKA, F., JOPPEN, M. J. and KUYPER, CH. M. A. 1970. Starch-degrading enzymes in synchronous cultures of *Chlorella*. *Z. Pflanzenphysiol.* 62: 146-157.
- YAMAGUCHI, T., IKAWA, T. and NISIZAWA, K. 1969. Pathway of mannitol formation during photosynthesis in brown algae. *Plant & Cell Physiol.* 10: 425-440.

---

### 新刊紹介

---

ペレストenko, L. P. 1980. ビヨトル大帝湾の海藻 (Перестенко, Л. П. Водоросли залива Петра Великого <Наука> Ленинград, 1980), 232 頁, 404 図, (日本での購入価格は約 4,500 円)

本誌 27(2): 104, 28(1): 28 でも紹介したようにソ連科学アカデミー・コマロフ植物研究所 (レニングラード) の海藻学研究室では最近極東地方の海藻の分類に力を注いでおり, ビノグラドーフ博士による緑藻の著書に続き, 今回, ペレストenko 博士によるビヨトル大帝湾の海藻と題する著書が刊行された。

ビヨトル大帝湾はウラジオストックを中心にいくつかの湾を含む広い海域で, その地理的位置からみて, ソ連邦日本海沿岸の海藻を知る上で重要な地域であり, また海洋生物の研究所を設けられていることなどから従来よりよく調査されてきた沿岸でもある。また, 同時に, 舟橋 (1966, 本誌 14: 127-145) によって述べられたように日本の海藻フロラとの共通性も大きいことなどから, 本書は我々にとっても重要な資料となる。

この仕事は主として1965年著者自身の調査採集, 1965, 1966年に動物研究所が行ったウラジオストック南方のポシエタ湾での調査で持帰った標本, E. S. Zinova 等による1920~30年代の採集品などによって行われている。

内容は分類と日本海沿岸の植生概要の項に分れているが力点は分類におかれている。まず, 分類の項では紅藻, 褐藻, 緑藻の順で計65科, 161属, 225種について記載し巻末に図を与えている。この中で次の8新種, 1新品種が記載された。紅藻5種 (*Porphyra inaequicrassa*, *Hollenbergia asiatica*, *Tokidaea hirta*, *Rhodomela munita*, *Laurencia saitoi*), 褐藻2種 (*Climacosorus pacificus*, *Ralfsia longicellularis*), 緑藻1品種 (*Enteromorpha clathrata* subsp. *asiatica* f. *leptoclada*)。沿岸植生の項は日本海沿岸の潮間帯, 亜潮間帯の主要な帯状分布を中心に次の6細目に分けて述べている。1. 潮間帯の帯状分布, 2. ビヨトル大帝湾潮間帯の海藻群落と分布, 3. ポシエタ湾潮間帯の海藻群落, 4. 亜潮間帯の帯状分布, 5. ビヨトル大帝湾の亜潮間帯海藻群落と分布, 6. ポシエタ湾の亜潮間帯海藻群落。これら亜潮間帯海藻群落ではアマモ, スガモなどの海産植物の群落についても詳述されている。ソ連の研究報告には地図が入っていないものが多いが, 本書もその例に洩れず一葉の地図も入っていない。我々外国人にとってはこの点が著しく不便である。

(小樽商大 山田家正)