

総 説

海産緑藻における緑色光吸収色素, その生態的意義と系統的意義*

横 浜 康 継

筑波大学下田臨海実験センター (415 静岡県下田市 5-10-1)

YOKOHAMA, Y. 1981. Green light-absorbing pigments in marine green algae, their ecological and systematic significance. Jap. J. Phycol. 29: 209-222.

In this paper are summarized the results obtained by the present author and his co-workers about the function of siphonaxanthin and its ester siphonein in marine benthic green algae, and the pigment contents of about 50 species of green algae collected from different sites are also reported. The discussion deals with the ecological and systematic significance of the distribution of lutein, loroxanthin, siphonaxanthin and siphonein.

Siphonaxanthin and its ester siphonein were regarded as photosynthetic pigments absorbing green light prevailing in coastal deep waters. The distribution of siphonaxanthin seems to be ecologically significant in the case of the Ulvales, the Cladophorales and the Siphonocladales since it was detected only in the algae collected from deep waters or shaded sites. The distribution of siphonaxanthin and siphonein seems, however, to be systematically significant in the case of the Siphonalean orders, the Codiales, the Derbesiales, the Caulerpales and the Dichotomosiphonales, since those pigments can be found in almost all the members of those orders. This fact seems to imply that not only the deep-water members but also the shallow-water members of the Siphonales originated in deep waters.

There are some deep-water species in the Cladophorales and the Siphonocladales which lacked siphonaxanthin, regardless of our expectation that they would have siphonaxanthin as a photosynthetic pigment essential for them to grow in deep waters or shaded-sites. Recently we found that those species contained loroxanthin, which is the precursor of siphonaxanthin, but did not absorb green light *in vivo*.

Lutein, the precursor of loroxanthin and siphonaxanthin, seems essential to shallow-water green algae since it is abundant in the thalli of all of them while hardly detected in the thalli of deep-water species having siphonaxanthin or loroxanthin. Deep-water species having loroxanthin might have derived from those having siphonaxanthin by failing to oxidise loroxanthin into siphonaxanthin. In the same fashion shallow-water species having abundant lutein might have derived from deep-water ones having loroxanthin.

Yasutsugu Yokohama, Shimoda Marine Research Center, The University of Tsukuba, Shimoda, Shizuoka-ken, 415 Japan.

緑藻の藻体にも緑色光を特異的に吸収する光合成色素が含まれている。そんな話は初耳だという読者も多いであろう。深所産の緑藻が緑色光を特異的に吸収する色素をかなり多量に含有していること、しかもそれが効率のよい光合成補助色素として機能していることなどを示す証拠が得られたのはごく最近のことなのである。

緑藻や高等植物にとって緑色光は利用しにくい光とされている。高等植物の葉やアオサなどの緑藻の藻体が緑色に見えるのは、それらに当たった可視光のうちの緑色光以外の部分がほとんど吸収されるからで、それゆえそのような緑色の葉や藻体にとって、緑色光は最も吸収しにくい光であるということになる。海中の光は深さと共に質的にも変わり、沿岸部では深くなるほど緑色光の占める割合は増すという(JERLOV 1968)。それゆえ沿岸の深所では、緑色の植物は効率のよい光合成を行なうことができないはずである。それにひき

* 下田臨海実験センター業績 No. 382.
文部省科学研究費補助金 No. 534027 および No. 534028 による

かえ、褐藻や紅藻の場合、緑色光を吸収する光合成補助色素として、前者はフコキサンチンを、後者はフィコエリスリンをそれぞれ含むため、沿岸深所の光も効率よく吸収して光合成に利用することができるものと考えられている。

ENGELMANN (1883, 1884) は、種々の色彩の藻類を用いて、それらが自身の体色と補色の関係にある色の光を最もよく光合成に利用するという事を見出し、赤色の藻は深所での生育に適し、逆に緑色の藻は十分な赤色光の到達する浅所での生育に適していると唱えた。補色適応説と呼ばれるこの考えに従うと、緑藻をすべて緑色の藻と解釈した場合、それらは沿岸の深所に生育するのが苦手な仲間であるということになる。しかし実際には深所にも多くの緑藻の生育がみられる。たとえば、殖田・岡田 (1938) によれば、100 m をこす深所からもヤブレグサやフジノハツタをはじめ多くの緑藻が採集されるという。

このような深所にも緑藻が生育している事実に対して、LEVRING (1967, 1969) は沖合の清澄な海域では

深所海中光が青色になることとクロロフィルが青色部にも吸収帯を有することから、緑藻も沖合の深所ならそこに到達する光の大部分を占める青色光を効率よく吸収して光合成を行なうことができると解釈している。しかし沿岸部の海底にも多くの緑藻が分布しているという事実は、多くの人の知るところである。伊豆の下田湾口附近の水深 10 m から 20 m ぐらいの海底にもヤブレグサやタマミルが豊富に生育しているが、Fig. 1はこの地点の海底に到達する光の大部分が緑色光であることを示している。すなわち LEVRING の解釈は深所産緑藻のすべてにあてはまるとは限らないということになる。一方 STEEMANN NIELSEN (1975) は深所に分布する *Chaetomorpha melagonium* の藻体が黒色に見えるほどにクロロフィルを高濃度に含有することを指摘し、緑色光をあまり吸収できないクロロフィルも、高濃度で存在すれば緑色光を十分光合成に利用できると説明している。また RAMUS *et al.* (1976a, 1976b) はアオサやミルを用いた実験で、深所の光環境がクロロフィル濃度を増加させるという結果を得たと報告している。

深所産の緑藻が緑色光を特異的に吸収する光合成色素を含有するなどということは、従来予想もされなかったようである。本稿では緑藻藻体内の緑色光吸収色素の存在がどのようにして証明されたのか、またその色素の緑藻内における分布やその生態的および系統的意義について述べてみたいと思う。

深所性緑藻ヤブレグサ藻体の色

深所産緑藻ヤブレグサと同属の浅所種アナアオサとの間の体色の比較が研究の端緒となった。深所産であるためにヤブレグサは打揚げ採集で手に入ることが多い。浜に打揚げられたこの海藻は生気のない色に見えるが、打揚げられて鮮度が低下した為と考えてしまう。しかし、深度 10 m ほどの海底に潜って新鮮なヤブレグサの藻体を採集してみると、その体色が打揚げ品よりはるかに濃くはあるが、やはりアナアオサのような鮮緑色ではなくにごった暗緑色であることに気づく。クロロフィル濃度もヤブレグサの方でかなり高いことも事実であるが、ヤブレグサの色がアナアオサの色を濃くしただけのものでないことが、実際に藻体の色を比較すれば分かり、ヤブレグサの色とアナアオサの色とは濃さばかりでなく質的にも異っていると言えるのである。

このような両種の藻体の体色の相違を両者の生育深

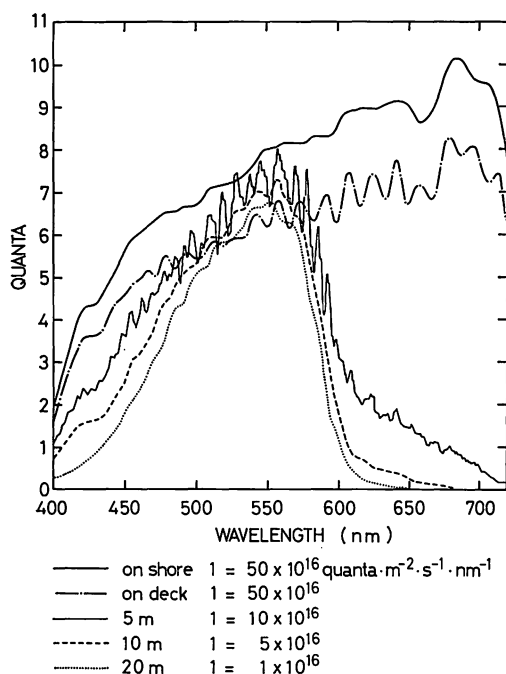


Fig. 1. Spectral distributions of light quanta on deck and underwater at Shimoda Bay, August 20, 1976 and on shore near Shimoda Marine Research Center, August 21, 1976, determined with a Techtum Quanta Spectrometer QSM-2500 devised by HALLDAL and HALLDAL (1973) (KAGEYAMA and YOKOHAMA 1977).

度の相違と関連づけて調べてみることは大変魅力的なことに思えたが、筆者の所属する臨海実験所の設備では、はじめ手も足も出ない状況であった。そしてヤブレグサ藻体の吸収スペクトルの測定が実現したのは、1971年になってからのことであった。ちょうど前年に日立と島津から相次いで廉価なダブルビーム自記分光光度計が発売されたため、それまでは全くの高根の花であった自記分光光度計が、教官定員3名の臨海実験所の総力を結集すればなんとか手の届きそうなところへ来たのである。そして当時の所長の英断によってその購入が実現したのであるが、今日では学生実習にも日常的に使われるようなこの装置が、臨海実験所と呼ばれる施設に設置されたことは、当時としては全国的な意味でも画期的なことであったのである。

Fig. 2はヤブレグサとアナアオサの生藻体の吸収スペクトルである。双方の曲線の極大値が重なるようにして表わしてあるが、両者が緑色部で著しく離れていることが分かるであろう。すなわちアナアオサは緑色部に深い谷を持った曲線を示しているのに対して、ヤブレグサの方はその部分にかなり顕著なふくらみを持っている。その附近における両者の差をとってみると、ちょうど緑色部の中央にあたる535 nmを極大とする曲線が得られる。このことは、ヤブレグサの藻体の方には緑色光を吸収する色素がかなり多量に含まれていることを示しているのである。その極大は下田湾口の深所の海中光 (Fig. 1) の極大とほぼ一致するので、この緑色光吸収色素が光合成色素であるとするれば、ヤブレグサがそのような深所の海中光の下で生育できる理由がより合理的に説明できることになる。

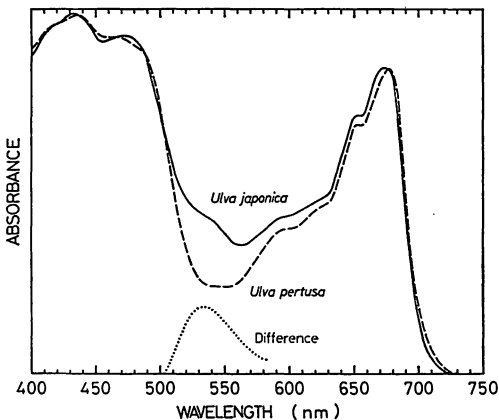


Fig. 2. *In vivo* absorption spectra of *Ulva japonica* and *U. pertusa* (KAGEYAMA and YOKOHAMA 1977).

緑色光吸収色素の正体

この色素がどんな物質であるか、また本当に光合成色素であるかという疑問に対して解答が得られるまでにはなお数年を要した。その間に自記分光光度計に次いで光のエネルギーを測定できる装置が購入されたため、色光線を用いた光合成測定を実施し、ヤブレグサが緑色光を白色光とほとんど同じ効率で吸収利用できることを示す結果が得られている (横浜 1973)。このことによって、ヤブレグサの藻体に含まれている緑色光吸収色素が光合成色素である可能性が暗示されたわけで、この色素の正体を明らかにしようという情熱も一段とかきたてられることになった。

しかしこの色素の正体を明らかにする作業は、その入口でつまづいてしまった。生物体に含まれる物質を同定しようとする場合、まずその抽出を行なうわけであるが、メタノールやアセトンを用いた抽出液の吸収スペクトルには、生藻体にみられた緑色部のふくらみが見当たらないのである (Fig. 3)。問題の色素が残渣の方に残ったわけではないということは、残渣が完全に無色になっていることから判断できる。それゆえその色素は抽出の段階で分解してしまったということになる。

ところがヤブレグサのくすんだ暗緑色の藻体をメタノールやアセトンに浸すと一瞬にして鮮やかな緑色に変るが、この様子は褐藻の藻体をメタノールなどに浸した時とよく似ている。また生きた褐色のワカメを味噌汁の具として熱湯に投じた場合などにも、藻体が一瞬にして緑変するが、このことは海岸近くならどこの家庭の主婦でも知っていることである。このような現象

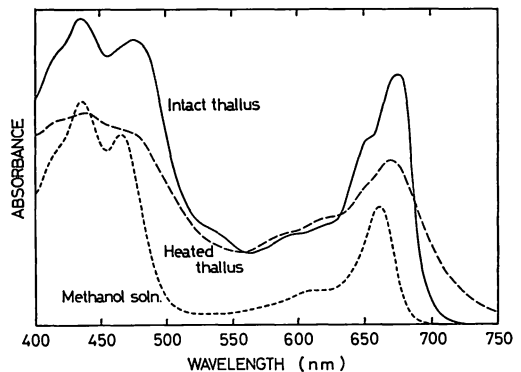


Fig. 3. Absorption spectra of the living thallus and the heated one of *Ulva japonica* and of the total pigment extracted from the living thallus in methanol.

は、褐藻に多量に含まれる光合成補助色素フコキサンチンの存在状態が、生藻体における場合とメタノールや熱で処理された藻体と異なるためと説明されている。すなわちフコキサンチンは遊離の状態たとえば有機溶媒に溶けた状態などでは吸収極大が450 nm附近にあるが、生きたクロロプラスト内ではそれが550 nm附近に移動した状態で存在しているというのである (GOEDHEER 1970)。それはクロロプラストのタンパクと結合した状態と考えられているのであるが、このような色素がタンパクと結合してその吸収波長域を変えるという現象としては、黄色のレチナールと無色のオプシンというタンパクが結合して赤色のロドプシンが形成されるというようなきわめて身近な例もある。またエビヤカニの類の甲らの中にはアスタキサンチンとタンパクの結合体が多量に存在しており、エビヤカニを熱した時に赤変するのは、熱によってアスタキサンチンが遊離するからであるという。すなわち熱した時にワカメが緑変するのとエビヤカニが赤変するのは同じ型の現象であると言えるのである。

以上のように種々の色素がタンパクと結合して吸収波長域を変える場合、その変化が長波長すなわち赤色部側へ向かって起るのであるが、このような現象は赤方偏移 (red shift) と呼ばれている。暗緑色のヤブレグサ藻体は熱湯に浸すと一瞬にして鮮やかな緑色に変わった。Fig. 3 中に描かれている吸収スペクトルは90°Cで5秒間処理した藻体について得られたもので、青色部と赤色部にみられるクロフィルの吸収極大も低くなっているが、緑色部のふくらみすなわち緑色光吸収色素の吸収帯が消えてしまっていることが分かるであろう。

ヤブレグサの緑色光吸収色素が何らかの色素とタンパクとの結合体いわゆる色素タンパク複合体として存在しているなら、その色素すなわち発色団とタンパクとの結合を切らないように注意して色素タンパク複合体としてとり出した後に、その複合体から発色団をはずして同定するという手法をとらなければならない。このような作業はきわめて煩雑であるというのが今日の常識で、褐藻からフコキサンチンを多量に含むオレンジ色の色素タンパク複合体すなわちフコキサンチン-クロロフィル a/クロロフィル c-タンパクが単離されたのもごく最近のことなのである (ANDERSON and BARRETT 1979)。しかしクロロプラストから色素タンパク複合体が簡単に抽出できる例外的なケースが渦鞭毛藻の仲間について知られている。PRÉZELIN and HAXO (1976) は *Glenodinium* と *Gonyaulax* から

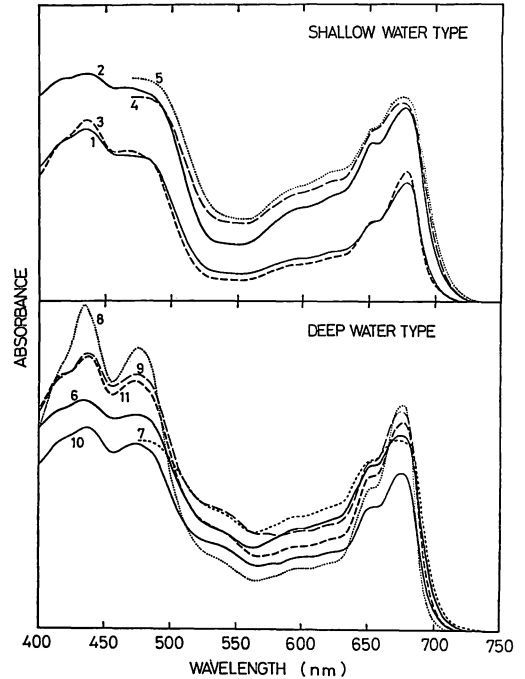


Fig. 4. *In vivo* absorption spectra of various green algae. Samples were collected at Shimoda (KAGEYAMA and YOKOHAMA 1977).

Tris buffer によって赤色の色素タンパクを抽出した後、Sephadex カラムクロマトグラフィーによって単離して、それがペリジニンとクロロフィル a を 4:1 の分子比で含む分子量35,000ほどの色素タンパク複合体であり、緑色光をかなり吸収する性質を持っていることをつきとめている。これによって遊離の状態では主に青色光を吸収するペリジニンが生きたクロロプラスト内ではタンパクと結合して赤方偏移し、主に緑色光を吸収する働きをしていることが明瞭に示されたわけである。遊離のペリジニンは黄色のカロチノイドであるが、緑色光を吸収する状態にある時は赤色を呈しているはずである。カキ養殖上問題となっている赤変ガキは、渦鞭毛藻の多量な摂食によって生ずると考えられ、事実赤変ガキから黄色のペリジニンが多量に抽出されるようである。カキの体内でもペリジニンはタンパクと結合した状態で存在し、赤色を呈しているとみなすことができる。

ヤブレグサの緑色光吸収色素は、残念ながら渦鞭毛藻の場合のようにタンパク複合体のまま簡単に抽出できるものではないことが、何回かの試みで分った。そこで赤方偏移した状態の色素タンパク複合体の抽出はひとまずあきらめて、その発色団を捕えてみることに

した。それはメタノールやアセトンの抽出液中に溶けているはずであるが、その吸収極大は青色部でクロロフィルやカロチノイドのそれとほとんど重っているものと予想され、カロチノイドの1種であろうと考えられた。そこでアナアオサには含まれずにヤブレグサの方にだけ含まれるカロチノイドが見つければ、それがヤブレグサの緑色光吸収色素の発色団である可能性がある。しかしヤブレグサとアナアオサの2種間で比較しただけでは説得力に欠ける。ここまで考えてから、ヤブレグサ以外でも深所産の緑藻なら緑色光吸収色素を含有しているのではないかとおそまきながら筆者等は気づいた。

深所型緑藻と浅所型緑藻

ヤブレグサと同様に吸収スペクトルの緑色部にふくらみを持ったものが何種類か見つかった。Fig. 4 中にはヤブレグサとアナアオサを併せて11種の緑藻の藻体の吸収スペクトルが描かれているが、そのうち6種 (No. 6~11) が緑色部にふくらみを持ち、他の5種 (No. 1~5) はそれを持たないことが分かる。すなわち緑藻藻体の吸収スペクトルがはっきりと2型に分かれたのであるが、緑色部にふくらみを持つ6種のうちNo. 11のミル以外の5種は深所または陰地から得られた種であって深所性緑藻とみなされ、一方そのようなふくらみを持たない5種はすべて浅所の陽地から得られたものであるため、前者の型を深所型 (deep-water type)、後者の型を浅所型 (shallow-water type) と呼ぶことにした。調べた深所性緑藻がすべて深所型の吸収スペクトルを示しているということは、それらの深所性緑藻すべてに緑色光吸収色素が含まれていることを意味しているのであり、緑色光吸収色素が深所での生活上重要な役割を演じていることを示唆していると言える。

これらの11種の緑藻の色素組成を調べてみて、深所型の種の藻体にだけ存在する色素が1種類だけ見つければ、それを緑色光吸収色素の発色団とみなすことができるのである。Fig. 5はそれら11種の緑藻から抽出した色素のセルロース薄層クロマトグラムである。左側の5種が浅所型、右側の6種が深所型であるが、深所型種のすべてに浅所型種にみられない色素 (Fig. I) のみられることが分かるであろう。他にこのような分布を示す色素は見当たらないため、Fig. Iを緑色光吸収色素の発色団とみなすことができる。また最右端から3番目まで (No. 9~11) はミル属の種のものであるが、これらだけに別の色素 (Fig. II) がみられる。

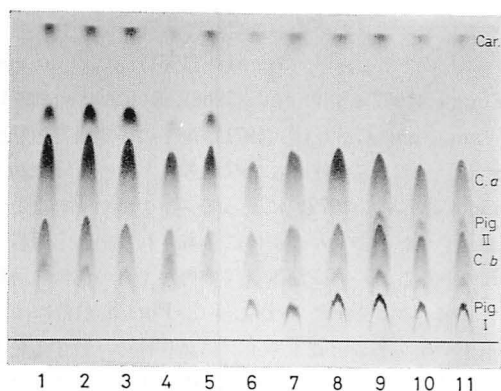


Fig. 5. Cellulose thin-layer chromatograms of pigments from various green algae. Samples are the same as those in Fig. 4. The developing solvent: n-hexane, diethyl ether and n-propanol (50: 50: 0.5, v/v/v). Car.=carotenes; C. a=chlorophyll a; C. b=chlorophyll b (YOKOHAMA *et al.*, 1977).

緑色光吸収色素の発色団

Fig. I と Fig. II は共に フコキサンチンに似たオレンジ色の色素であった。両者が共に藻体内にかなりの濃度で含有されていることはクロマトグラム上の濃さからも分かる。それゆえ両者共一部の緑藻にその存在の知られているカロチノイドであることはまちがいないと思われた。1つはシホナキサンチンではないかという示唆を千原と猪川から得たが、この示唆は筆者等に大いに労力を省かせてくれた。ミルから得たFig. I と Fig. II の吸収スペクトル (Fig. 6) はそれぞれシ

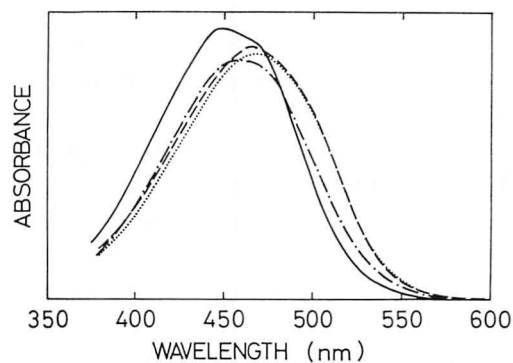


Fig. I in ethanol — in chloroform ---
Fig. II in ethanol -·- in chloroform ·····

Fig. 6. Absorption spectra of Fig. I and Fig. II in ethanol and chloroform (YOKOHAMA, *et al.*, 1977).

ホナキサンチンとそのエステルであるシホネインのものに一致することが、STRAIN (1951), KLEINIG and EGGER (1967), JEFFREY (1968), RICKETTS (1971), WEBER and CZYGAN (1971) などによる報告と照合することによって分かったのである。さらに WEBER and CZYGAN (1972) によってシホナキサンチンとシホネインが共にミルの藻体に含有されていると報告されていること、および筆者等の得たミルの色素の薄層クロマトグラム上には Fig. I と Fig. II の他にはシホナキサンチンとシホネインに諸特性の一致する色素が見出されなかったことから、Fig. I をシホナキサンチン、Fig. II をシホネインと同定したのである。

Fig. 6 からシホナキサンチンが青色部の450nm 附近に吸収極大を有することが分かるが、このカロチノイドが生きた深所型緑藻のクロロプラスト内では540nm 附近の緑色光を吸収していると考えられるのである。

用いた11種の緑藻に限ればシホナキサンチンの分布が明らかに深所あるいは陰所に生育する種に偏っている。シホナキサンチンを発色団とする緑色光吸収色素が深所性緑藻に偏って分布しているという事実は、このカロチノイドが、沿岸深所の緑色光下に生育するそれらの緑藻にとって重要な光合成色素であるということ、すでに示唆していると言えよう。

シホナキサンチンの機能

深所性の緑藻に偏在する緑色光吸収色素の発色団がシホナキサンチンと同定されたことから、従来クダモ類 (Siphonales) を特徴づける特殊なカロチノイドとみなされていただけのこのカロチノイドにとって“我こそは深所性緑藻にとって深所での生活に欠くことのできない重要な光合成色素なり”と名乗る機会が訪れたと言えよう。

管状緑藻50種についてカロチノイド組成を調べた KLEINIG (1969) は、いわゆるクダモ類のミル目・ツユノイト目・イワヅタ目のすべての種にシホナキサンチンとシホネインの双方が、またクダモより下等とされる管状藻のシオグサ目とミドリゲ目一部の種にシホナキサンチンの方だけがみられ、さらにクダモ中最も高等とされるチョウチンミドロにはシホネインの方だけがみられるということを知り、これら2種のカロチノイドの分布が管状緑藻の分類上の手がかりとなると考えている。たとえばシオグサ目やミドリゲ目中にあってシホナキサンチンを含有する種は、シホナキサンチンとそのエステルのシホネインを含有するクダモ

類への移行型であるとみなしている。すなわち管状緑藻では高等になるにつれてシホナキサンチンが出現し、次いでそれが部分的にエステル化し、さらに最も高等なチョウチンミドロではシホナキサンチンのすべてがエステル化してしまっていると解釈するのである。

これに対して筆者等は、シホナキサンチンの機能に注目し、このカロチノイドの分布を生態的な面から眺めようとしているわけである。下田産の11種の緑藻を調べた限りでは、シオグサ目やミドリゲ目に属しながらシホナキサンチンを含有している種は深所種 (チャシオグサ・タマゴバロニア) である。非管状藻であるヤブレグサがシホナキサンチンを含有し、しかもこの種が非管状緑藻中では貴重な深所種であるという事実は大きな意味を持っている。

これらの事実はシホナキサンチンが深所海中光の主成分である緑色光を吸収する光合成色素であることをすでに示唆しているのであるが、更に直接的な証拠が得られないものだろうか。そのためには HAXO and BLINKS (1950) がアオサの一種などの藻体について行なった吸収スペクトルと光合成作用スペクトルとの比較を、ヤブレグサなどの深所型緑藻の藻体について行なってみればよいのである。ところがこれは、彼等の得た結果の1例 (Fig. 7) を眺めただけでも容易な作業でないことが分かる。今日では吸収スペクトルは自記分光光度計によって数分間で得られるが、作用スペクトルは種々の波長ごとのエネルギーと酸素発生との関係を表す直線の勾配をグラフにプロットして得られるのであるから、気の遠くなるような作業である。

しかし筆者等の目的はシホナキサンチンが光合成色素であること、すなわちシホナキサンチンの吸収した光エネルギーの少くとも一部がクロロフィル *a* に伝達

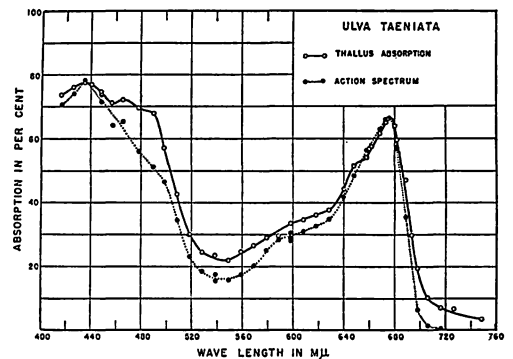


Fig. 7. Spectra of thallus absorption and photosynthetic action in a green alga *Ulva taeniata* (HAXO and BLINKS 1950).

されることを知ることなのである。補助色素から光合成活性中心クロロフィル *a* に励起エネルギーが伝達された場合、その一部がクロロフィル *a* から赤色の蛍光となって発生することが今日では分かっている。そして電子伝達系の阻害剤である DCMU を加えて蛍光発生が増大するようにした植物体やクロプラストに、エネルギーを一定にした種々の波長の光を当てて、蛍光発生量を測定し、いわゆる蛍光励起スペクトルを得るという手法が開発されている。そのために必要な自記蛍光分光光度計はとてども臨海実験所の予算で手がとどくような代物ではなかったが、幸い東大海洋研究所に設置されたばかりの装置を使わせてもらうことになり、ヤブレグサやアナオサを海水と共に入れたクーラーボックスを下田から東京まで担いで行き、測定が実現したのである。

Fig. 8 は蛍光励起スペクトルの測定に先立って得られたヤブレグサとアナオサの藻体からの蛍光のスペクトルである。それぞれの藻体に青色光を当てたのであるが、685 nm に極大を持つ光すなわち赤色光が藻体から放射されることが分かる。この実験は室温で行なったが、ここで得られた蛍光スペクトルは他の植物について報告されている室温における生体内クロロフィル *a* の蛍光スペクトル (DUYSSENS 1952, GOEDHEER 1964, MURATA *et al.* 1966a, 1966b) とよく一致し

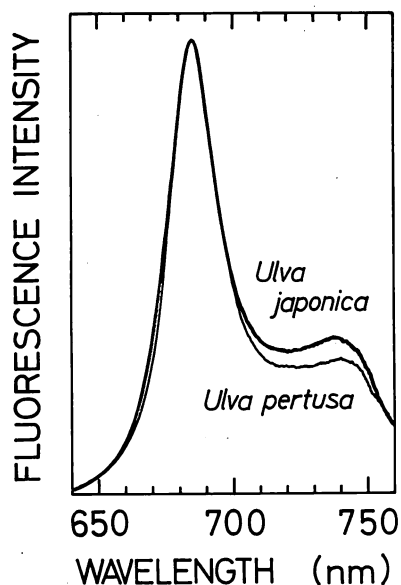


Fig. 8. Fluorescence spectra at room temperature (23°C) of thalli of *Ulva japonica* and *U. pertusa*. Excitation light, 480 nm (KAGEYAMA *et al.*, 1977).

ている。それらは 685 nm 附近に吸収極大を持ち、720~740 nm に広い肩を持つと形容されている (村田 1968)。

クロロフィル *a* から放射される 685 nm 附近の蛍光の発生に対する各波長の光の効果を表わすいわゆる蛍光励起スペクトルが、ヤブレグサとアナオサについて得られた (Fig. 9)。これらの曲線は、蛍光分光光度計の試料室に藻体をセットした後、励起光の走査を開始すれば数分間で描かれる。記録計の奥から送り出されて来る記録紙の上に、短波長測から曲線を描き始めるペンの動きによって、光合成色素であるか否かが決まるといふ、シホナキサンチンにとって一世一代のドラマが海洋研究所の一室で展開されたのである。それはほんの数分間のドラマなのでクライマックスはアッという間にやって来る。試料室内のヤブレグサ藻体に当たる励起光が緑色部にさしかかる 500 nm あたりで、下降しつつあったペンが、ほとんどそのままの勾配で下降して行ってしまえば、シホナキサンチンが光合成色素である望みはなくなってしまうが、徐々に勾配を緩めて、540 nm 附近を中心とするふくらみを描けばこの色素が光合成色素であることが証明されたことになるのである。

期待通りの結果が得られたことが Fig. 9 から分かるであろう。すなわち吸収スペクトルの場合と同様にアナオサのスペクトルが深い谷を形成している緑色

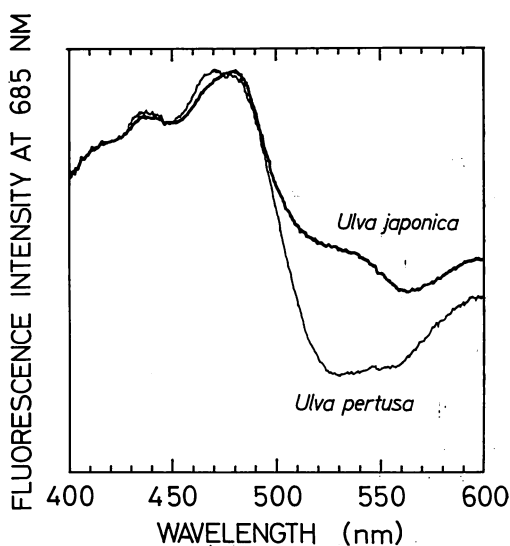


Fig. 9. Excitation spectra of 685 nm fluorescence of the thalli of *Ulva japonica* and *U. pertusa* measured at room temperature (KAGEYAMA *et al.*, 1977).

部で、ヤブレグサのスペクトルは顕著なふくらみを形成している。このようにヤブレグサの蛍光励起スペクトルの緑色部に、吸収スペクトルのそれに酷似したふくらみがみられるということは、ヤブレグサ藻体内の緑色光吸収色素の吸収した光のエネルギーが確かにクロロフィル *a* へ伝達されていることを示しているのである。それゆえ緑色光吸収色素の発色団とされるシホナキサンチンは褐藻などのフコキサンチンと同様に光合成色素とみなせるのである。すなわち深所産の緑藻は緑色光を主に捕獲する光合成色素であるシホナキサンチンを含有することによって、沿岸深所の緑色の海中光の下でも生育できると解釈できるのである。

シホネインの機能

深所型緑藻の中のミルの仲間の藻体にシホナキサンチンと共存して、そのエステルであるシホネインが含まれていることを知ったが、この色素は知られるかぎりでは *Caulerpa filiformis* を唯一の例外として (STRAIN 1965), ミル目・ツユノイト目・イワツタ目のすべての種の藻体内にシホナキサンチンと共存して含まれている (KLEINIG 1969)。*Caulerpa prolifera* から得られたシホネインはラウリン酸によってエステル化されたものであることが KLEINIG and EGGER (1967) によって報告されている。

シホナキサンチンが緑色光を吸収する光合成色素として機能しているのなら、そのエステルは何をしているのだろうか。シホナキサンチンを含むがシホネインは含まないヤブレグサと、双方を含むミルについて吸収スペクトルを比較してみても、目立った相違がみられないことから、シホネインの生藻体内における吸収極大はシホナキサンチンのそれとほとんど重なってしまっているか、青色部で他のカロチノイドやクロロフィルの吸収極大と重なり合っているかのどちらかであるといえる。それゆえシホネインがシホナキサンチンと共存しているミルのような藻体を用いたのでは、シホネインの生体内における吸収帯の位置を知ることさえ不可能である。しかしヤブレグサなどの場合とは逆にシホネインを含むがシホナキサンチンは含まないような藻体が手に入りさえすれば、その吸収スペクトルと蛍光励起スペクトルを調べるだけで、シホネインの機能が明らかになるかもしれない。

そんな緑藻はどこの海にも生育が知られていないのであるが、意外にも陸水にたった1種(あるいは1属)だけ生育しているという。それはチョウチンミドロと

いうクダモの1種であるが、KLEINIG (1969) によって、シホネインを含むがシホナキサンチンは含まないと報告されていることはすでに述べた。これは世界中でもごく限られた湖などでその生育が知られているだけであるが、幸いにして我が国の沖縄にも生育しているという。その現場は海岸近くのサトイモのような作物を栽培している田んぼであった。水がごく浅くはられた田の土壌の表面に、それは黒っぽいマットを形成していた。

Fig. 10 はシホナキサンチンもシホネインも含まないヒトエグサ、シホナキサンチンを含むがシホネインは含まないウシュクアオサ、シホナキサンチンとシホネインの双方を含むヒラミルと、シホネインを含むがシホナキサンチンは含まないというチョウチンミドロの各藻体から得られた色素の薄層クロマトグラムであるが、チョウチンミドロがヒラミルと同様にシホネインを含み、ヒラミルとウシュクアオサに含まれているシホナキサンチンは含まないということを明瞭に示している。

Fig. 11 はチョウチンミドロ・ウシュクアオサおよびヒトエグサの藻体の吸収スペクトルである。チョウチンミドロのスペクトルがウシュクアオサのスペクトル

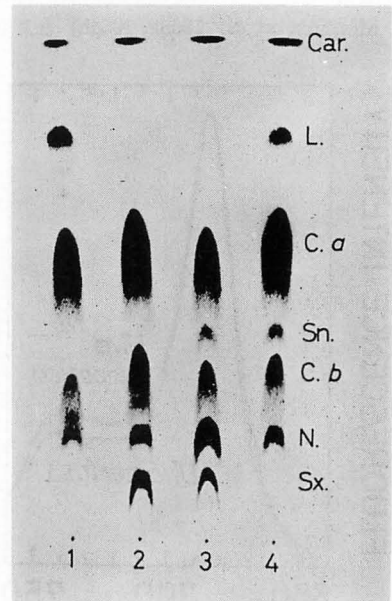


Fig. 10. Cellulose thin-layer chromatograms of pigments from *Monostroma nitidum* (1), *Ulva amamiensis* (2), *Codium latum* (3) and *Dichotomisiphon tuberosus* (4). The developing solvent was the same as that in Fig. 5 (KAGEYAMA and YOKOHAMA 1978).

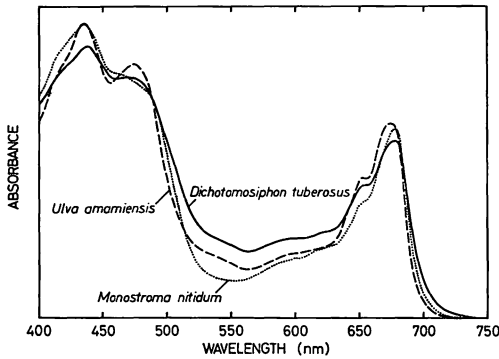


Fig. 11. *In vivo* absorption spectra of *Monostroma nitidum* lacking siphonaxanthin and siphonoin, *Ulva amamiensis* containing siphonaxanthin without containing siphonoin and *Dichotomosiphon tuberosus* containing siphonoin without containing siphonaxanthin (KAGEYAMA and YOKOHAMA 1978).

ルと同様に540 nm 附近の緑色部で顕著なふくらみを形成していることが分かるが、このことから、シホネインがチョウチンミドロの藻体内で緑色光を吸収する状態にあると言える。チョウチンミドロからは他のカロチノイドとしてカロチン・ルテイン・ヒオラキサンチン・ネオキササンチンが検出されたが、それらはすべて緑色部にふくらみのない吸収スペクトルを示すヒトエグサの藻体にも多量に含まれているので、チョウチンミドロの藻体内に多量に存在する緑色光吸収色素の発色団としてはシホネイン以外のものは考えられないのである。

上記3種の緑藻の藻体について得られた蛍光励起スペクトルが Fig. 12 である。チョウチンミドロのスペクトルが緑色部で明らかにふくらんでいることから、

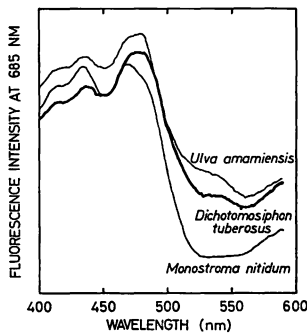


Fig. 12. Excitation spectra of 685 nm fluorescence of the thalli of *Monostroma nitidum*, *Ulva amamiensis* and *Dichotomosiphon tuberosus* (KAGEYAMA and YOKAHAMA 1978).

シホネインも緑色光を捕獲する光合成色素であると判断することができる。

シホネインが光合成色素であることを証明してくれたチョウチンミドロは、数奇な経歴の持主らしい。現在この種類は陸水にしか見出されないが、新崎(1953)によれば太古には海産であった可能性があるという。この藻の現在の分布はきわめて不連続なのであるが、現産地が古生代初期の海岸線または浅海底と推定されるところに乗るといふ。すなわち5億年ほど昔には海産であったものが、その後の地殻変動によって陸封されたと考えられることのできるものである。沖縄では田んぼの日当りのよい場所に生えているこの藻が、沿岸の深所での生活を有利にする緑色光吸収色素を含むということも、この藻が海中で生活していたことを暗示しているのではないだろうか。いずれにしてもシホネインの機能を明かにしてくれる資格を具えた唯一の生物であるチョウチンミドロは、激しい地殻変動の洗礼を受けながらも、絶滅せずに5億年ほどの間“異郷”で細々と生きながらえたのである。

緑藻における緑色光吸収色素の分布

チョウチンミドロを採集するために訪れた沖縄で、ついでに暖海産の緑藻を多数採集したが、それらの緑藻の色素の分析結果は、筆者等を当惑させた。沖縄の浅所陽地から採集された緑藻の多くがシホナキササンチンとシホネインを含有していたのであり、そしてそれゆえ当然のことながらそれらは深所型の吸収スペクトルを示した。それらはすべてクダモ類に属する種であったが、KLEINIG (1969) は用いたクダモがすべてシホナキササンチンやシホネインを含有していたという事実を報告しているのである。色素組成を分類的に眺めようとした KLEINIG は、用いた材料の生育環境については何も記していないが、彼の分析したクダモの中に浅所陽地産のものに含まれている可能性を筆者等は初め意識しなかった。シホナキササンチンとシホネインを深所での効率よい光捕獲に必要な光合成色素であるとする考えからすれば、それらのカロチノイドが浅所陽地産の多くの緑藻から検出されたということは具合の悪いことに思えた。

とにかく筆者等の分析結果を眺めてみよう。Fig. 13は海産緑藻50種近くについて、採集地点の環境、クロフィル *b*・シホナキササンチンおよびシホネインのクロフィル *a* に対する分子比、シホネインとシホナキササンチンの分子比などを表わしている。分類群とし

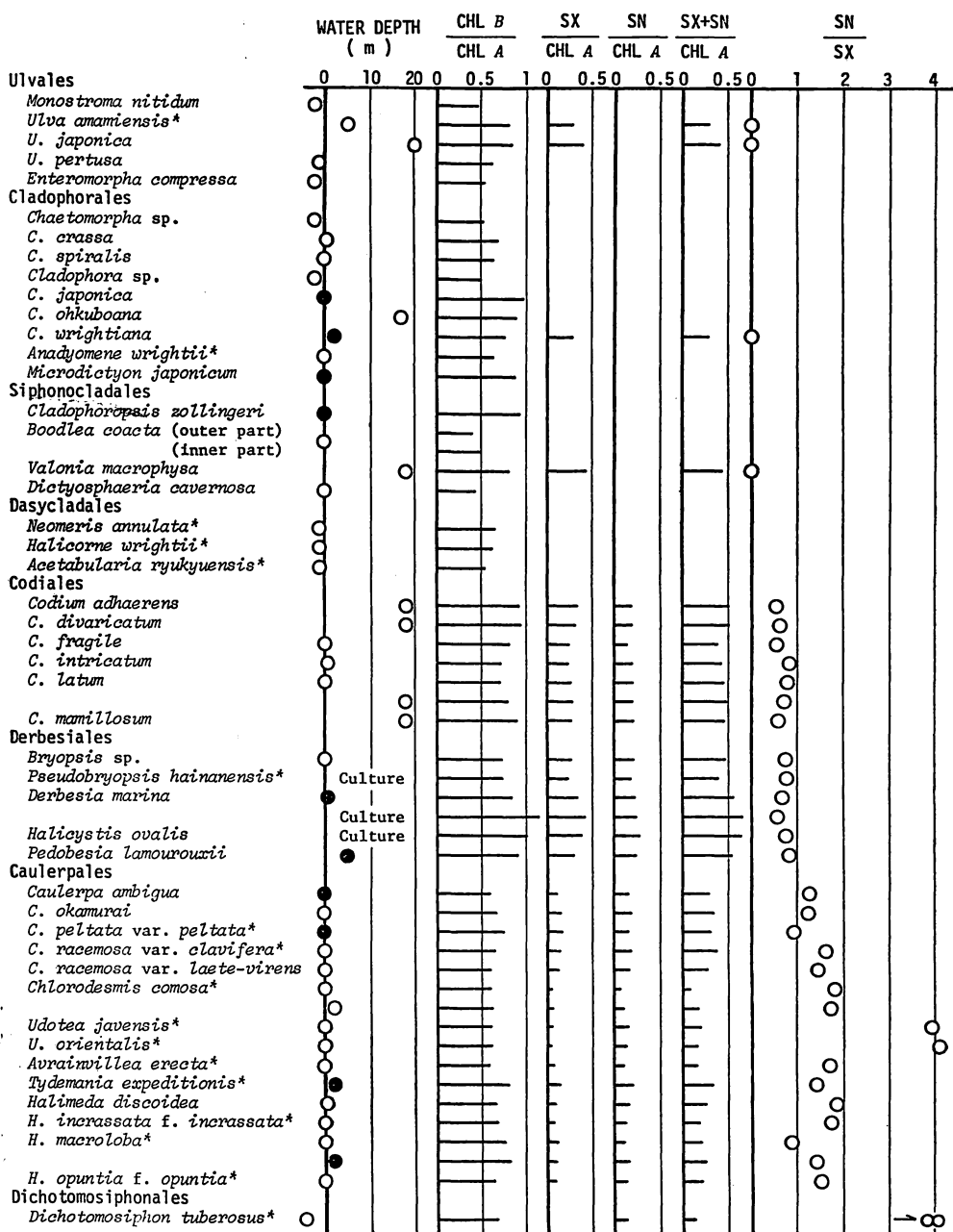


Fig. 13. Relative pigment composition of benthic green algae in different habitats. *Collected at Okinawa or Amami, and others at Shimoda. **Cultured for more than one month under 2 Klux of fluorescent light with the day length of 14hr at 20°C. Open circle denotes sunny site, while closed one shaded site. Chl. a=chlorophyll a; Chl. b=chlorophyll b; Sx=siphonaxanthin; Sn=siphonoin (YOKOHAMA, unpublished)

ては8目に亘っているが、アオサ目(Ulvales)は単核細胞組織性、シオグサ目(Cladophorales)とミドリゲ目(Siphonocladales)は多核細胞有隔管状、カサノリ目(Dasycladales)は単核管状、ミル目(Codiales)・ツヌノイト目(Derbesiales)・イワツタ目(Caulerpales)およびチョウチンミドロ目(Dichotomosiphonales)は多核細胞無隔管状という特徴をそれぞれ持っていて、下段の群ほど高等とされている。クダモ類とは多核細胞無隔管状の緑藻のことであり、最後の4目がこれに該当するのである。

この図を詳細に眺めると、シホナキサンチンの分布の意義が、カサノリ目を境にして、その上方と下方とで異なるように見える。すなわち上方の3目ではシホナキサンチンは深所か陰所から得られたものにしか含有されていないのに対して、下方の4目中チョウチンミドロを除く3目では、シホナキサンチンとシホネインが生育環境に関係なくすべての種に存在し、最下段のチョウチンミドロは陸水の陽地から得られたにもかかわらずシホネインを含有している。

上方の3目ではシホナキサンチンの分布に明らかに生態的意義が認められるのになぜ下方の4目では生育環境にかかわりなくすべての種にシホナキサンチンなどが含有されているのだろうか。この事実から、クダモ類がもともと深所性の群であり、浅所の陽地に生育しているクダモにとっては、シホナキサンチンやシホネインは、過去に必要とした痕跡器官の存在と考えることができるのではないだろうか。事実現在知られている深所産緑藻のほとんどはクダモなのである。

Fig. 13中で最下段の最も高等な位置を占めているチョウチンミドロが実は海産ではないのであるが、地殻変動によって陸封されたとも考えられると新崎によって指摘されたことはすでに述べた。クダモ類が深所から浅所へ分布域を広げつつある群であるとするれば、海からとび出してクダモ類の中では最も高い位置に生育するようになったチョウチンミドロが最も高等な種であるということは、単なる偶然ではないように思える。このように考えると、チョウチンミドロでシホナキサンチンがすべてエステル化してシホネインになってしまっていることも、生態的に意味があるように思えてくる。

KLEINIGが管状緑藻では高等になるに従ってシホナキサンチンのエステル化が進行すると考えていることはすでに述べたが、シホネイン対シホナキサンチンの比をとってみるとミル目とツヌノイト目では1より小、イワツタ目では1より大、チョウチンミドロ目では

無限大となって、KLEINIGの指摘したエステル化の傾向が一層明瞭になる。しかしこれは単に分類的に意味があるだけでなく、クダモ類の浅所化と並行しているように見える。各群内の種間で比較しても、両者は相関しているように見える。各色素のクロロフィルaに対する比は、深所や陰所から得られたものほど大きくなるという傾向に気づくが、シホナキサンチンのエステル化の度合はそれらとは負の相関関係にあって、浅所産のものほど大きいように見える。シホナキサンチンのエステル化が浅所化と相関しているとするなら、シホナキサンチンとシホネインの間には機能上の何らかの相違が存在するはずであるが、今のところ不明である。

深所性の浅所型緑藻

Fig. 13の上方の3目をもう一度よく眺めてみよう。それらではシホナキサンチンが深所か陰所から得られたものにしか含まれていないことはすでに述べたとおりであるが、逆に深所や陰所に生育するものが必ずしもすべてシホナキサンチンを含んでいるわけではないことに気づくであろう。オオシオグサ・カタシオグサ・アミモヨウ・ミドリゲの4種がそれに該当するが、これらの藻体の吸収スペクトルは浅所型であった。このような緑藻の存在は、シホナキサンチンを深所の生活に必要な光合成色素であるとみなしている筆者等を再び当惑させることとなった。

しかしこれらの緑藻ではクロロフィルb対クロロフィルaの比がきわめて大きい。この比は深所や陰所のものほど大きいのであるが、クロロフィルbの吸収特性からも、このクロロフィルを多く含むことが深所での光利用上有利なことと考えられるのである(YOKOHAMA and MISONOU 1980)。深所や陰所に生育しているカタシオグサやミドリゲなどが、クロロフィルb/a比という点では明らかに深所や陰所の光環境に適応しているのに、そのような環境での光利用の効率化にはクロロフィルbよりはるかに有効であるシホナキサンチンを欠いているのは奇異なことに思える。

ところがそれらのうちアミモヨウを除く3種で特殊な色素が検出されたのである。それはルテインに似た吸収曲線を示すが、クロマトグラム上のRfから極性のさらに大きなキサントフィルであることが分かる。それらの緑藻に含まれていそうなキサントフィルで、吸収特性がこの色素と一致するキサントフィルとして、ロロキサントフィルが候補に挙がった。ロロキサントフィルは

ごく限られた緑藻から検出されているだけであるが、海産のシオグサの数種には多量に含有されているという (AITZETMÜLLER *et al.* 1969)。それゆえこの色素がカタシオグサなどに含有されていてもおかしくない。また何よりも魅力的なことは、このキサントフィルがシホナキサントチンの直接の前駆物質であることである。すなわちシホナキサントチンはルテインを経て生成されるのであるが、ルテインが酸化するとまずロロキサントチンとなり、これがさらに酸化してシホナキサントチンが生ずるのである (Fig. 14)。

AITZETMÜLLER *et al.* によってロロキサントチンを含有することが報告されているシオグサ属の種は手に入らなかったが、淡水産の単細胞緑藻 *Scenedesmus obliquus* もこのキサントフィルを含むことが確認されているので、この藻を東大応用微生物研究所から分けてもらって培養し、謎の色素とロロキサントチンとの同一性を検定することにした。Fig. 15 は謎のキサントフィルを多量に含むミドリゲ (*Cldophoropsis zol-*

lingerii) のキサントフィル分画と対照のためのヒラアオノリ・タマゴバロニア・セネデスマスのキサントフィル分画のセルロース薄層クロマトグラムである。セネデスマスは4種のキサントフィルを含有していることが分かるが、そのうちの3種はルテイン・ビオラキサントチンおよびネオキサントチンと同定されるので、残る1種すなわち図中の×の位置の色素がロロキサントチンに該当する。それゆえこれに一致しているミドリゲの謎の色素はロロキサントチンと同定されるのである。まアオサ目・シオグサ目・ミドリゲ目においてロロキサントチンの分布を調べたところ、この色素がジュズモ属の3種やヒトエグサなど浅所の陽地に産するものにもわずかながら含有されていることが分かったが、やはり深所や陰所から得られる上記の3種には多量に含まれ、クロロフィル *a* に対するこの色素の分子比がチャシオグサなどにおけるシホナキサントチンのそれに匹敵するほどであることが分かったのである (Fig. 16)。

緑藻の故郷

深所や陰所に生育しているカタシオグサやミドリゲが、シホナキサントチンを含有している方が有利と思われるのにそれを含有せず、その直接の前駆物質で緑色光を捕獲する機能のないロロキサントチンを多量に含有しているということは、それらの緑藻の祖先がシホナキサントチンを含有していたこと、そしてロロキサントチンをシホナキサントチンへ酸化する機能を失ったことなどを想像させる。もしそうであるならそれらはなぜシホナキサントチンを失った後も深所や浅所にどどまっていたのだろうか。それらの生殖細胞が浅所陽地に達しても、そこで生育できない事情があるにちがいない。初め深所種はシホナキサントチンを含有するものばかりと考えたが、ロロキサントチンを多量に含有するものも深所種の仲間入りをしたのである。そして色素組成上におけるそれらの共通点は、シホナキサントチンとロロキサントチンの前駆物質であるルテインをほとんどあるいは全く含んでいないことである。では逆にシホナキサントチンもロロキサントチンも含んでいない浅所種はルテインを多量に含有しているのだろうか。今のところ肯定的な結果が得られつつあり、さらに深所型であるクダモでも、そのうちの浅所種はルテインをかなり含有しているという結果も得られている。それゆえ浅所陽地で生活する緑藻はルテインを多量に含有している必要があるのではないかと思われるのである。

Fig. 15 は型の異なる緑藻のキサントフィル組成を

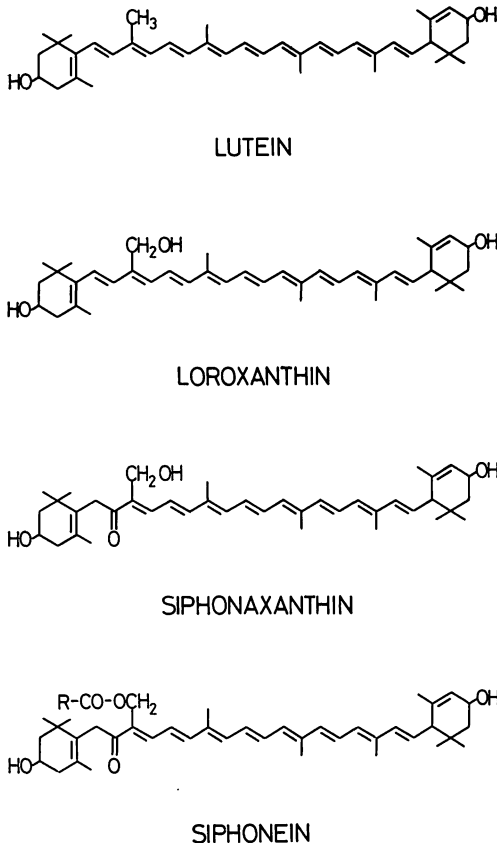


Fig. 14. The structure of lutein, loroxanthin, siphonaxanthin and siphonein.

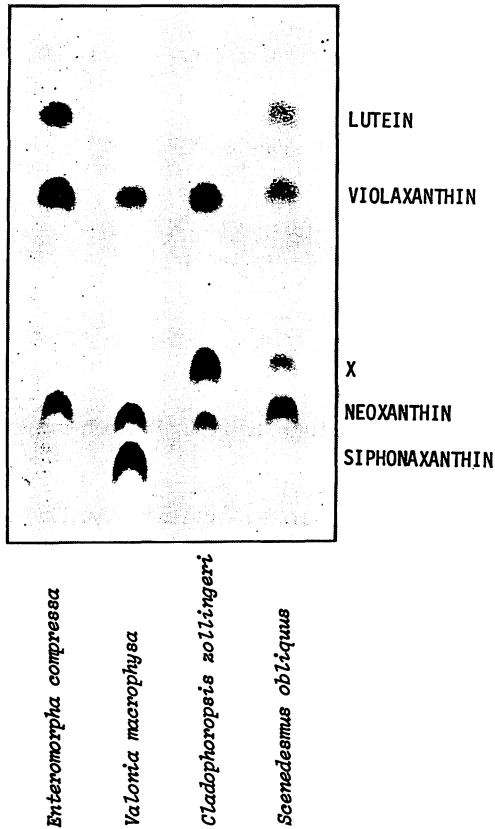


Fig. 15. Cellulose thin-layer chromatograms of xanthophylls from *Enteromorpha compressa*, *Valonia macrophysa*, *Cladophoropsis zollingeri* and *Scenedesmus obliquus*. The developing solvent: n-hexane and methyl ethyl ketone (4: 1, v/v) (YOKOHAMA, unpublished).

示したものとも言える。いずれの型にもピオラキサントニンとネオキサントニンは存在するが、ルテイン・ロロキサントニンおよびシホナキサントニンは相補的で、とくに左側の3型ではそれらのキサントフィルのうちのどれか1種類しかみられないことが分かる。ルテインのみられる左端(ヒラアノリ)が典型的な浅所性の浅所型、その隣(タマゴバロニア)が深所性の深所型、さらにその隣(ミドリゲ)が深所性だが藻体吸収スペクトルからは浅所型と判断されてしまう型と言える。右端のセネデスムスのようにルテインとロロキサントニンが共にみられる中間型は、海産緑藻の中にも該当するものがある。前記のヒトエグサやジュズモがこれに当たるのである。

ロロキサントニンを多量に含有する型は、シホナキサントニンを多量に含有する型から、ロロキサントニンをシ

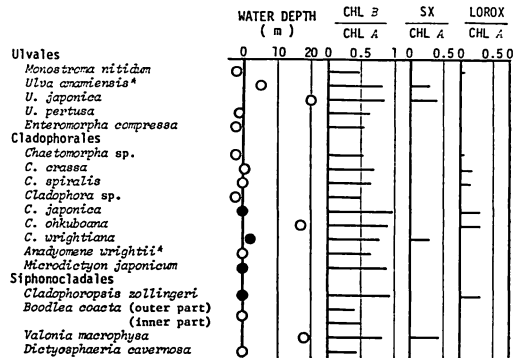


Fig. 16. Relative pigment composition of various algae of the Ulvales, the Cladophorales and the Siphonocladales. The value of loroxanthin was calculated using the molar absorption coefficient for pyrenoxanthin proposed by YAMAMOTO *et al.* (1969) because that for loroxanthin has not been proposed and the similarity between both the pigments was pointed out by GOODWIN in 1976 (YOKOHAMA, unpublished).

ホナキサントニンに酸化する機能を失うことによって生じたものと考えられる。そうするとシホナキサントニンもロロキサントニンも持たず、その代わりにルテインを多量に含有する浅所型の緑藻は、ミドリゲのようにロロキサントニンを多量に含有する型から、ルテインをロロキサントニンへ酸化する機能を失うことによって生じたものと考えたくなる。ジュズモやヒトエグサはそのような過程の中間段階にある種と考えることもできよう。

ルテインが浅所での生活に密接にかかわっていることは確かであると思われるが、浅所性の緑藻が上記のようにして生まれたのであるとすれば、それらは深所での生活に必要なシホナキサントニンの生成機能を失った結果、その前駆物質として蓄積したルテインの機能によって、浅所陽地での生活が可能になったというように解釈することができる。ロロキサントニンを多量に含有するミドリゲのような緑藻は、そのような過程で生まれた中間型を未だに保持している残存種みたいなものなのではないだろうか。

クダモ類が深所から浅所へ生活圏を広げつつある仲間とみなせるということはすでに述べた。ところがクダモ以外の緑藻の祖先も、シホナキサントニンを多量に含有した深所型だったのではないかと考えられるのである。このような見方をすると、少なくとも海産緑藻の起源はすべて深所に求められることになるが、緑藻が出現したとされる頃の地球の環境からも、その方が妥

当であるように思える。すなわち緑藻の出現した年代は少くとも10億年前までさかのぼるといえるが、その頃は太陽の紫外線を遮るオゾン層が未発達であったため、生物は海中の深所か陰所でなければ生きてゆけなかったらしいのである。

現在浅所陽地に生育している緑藻には、浅所性のクダモのようにシホナキサンチンとルテインとを共存させているものと、クダモ類以外の浅所種のようにシホナキサンチンを全く含有せずにルテインを含有しているものがある。前者は後者よりかなり遅れて浅所化したのであろうという見方も成り立つ。後者が岩盤を占めているのに対して、前者が主に暖海の礁湖の砂地などという、他の類の海藻の定着できない場所に進出しているということも、前者の浅所への出足の遅さを物語っているように思えるのである。

深所産のヤブレグサの色に対する興味から始めた仕事が意外な方へ発展してしまった。その中味は勝手な空想のような部分の方が多いように思えるが、空想もたまには事実となることもあろうかとも思う。ヤブレグサが緑色光を吸収する光合成色素を本当に持っていることが分かったことなど、その数少ない実例の1つと言えよう。あまり空想ばかりがふくらんでしまってはと、この辺で反省し筆をおくことにする。

引用文献

- AITZETMÜLLER, K., STRAIN, H. H., SVEC, W. A., GRANDOLFO, M. and KATZ, J. J. 1969. *Phytochemistry* 8: 1761-1770.
- ANDERSON, J. M. and BARRETT, J. 1979. *Chiba Foundation Symp.* 61. P. 81-104.
- 新崎盛敏 1953. *科学* 23: 530-531.
- DUYSSENS, L. N. M. 1952. *Transfer of excitation energy in photosynthesis*. Thesis, Utrecht.
- ENGELMANN, TH. W. 1883. *Bot. Zeitg.* 41: 1-32.
- ENGELMANN, TH. W. 1884. *Bot. Zeitg.* 42: 81-112.
- GOEDHEER, J. C. 1964. *Biochim. Biophys. Acta* 88: 304-317.
- GOODWIN, T. W. 1976. *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*. Academic Press, London.
- HALLDAL, P. and HALLDAL, K. 1973. *Norw. J. Bot.* 20: 99-108.
- HAGER, A. and STRANSKY, H. 1970. *Arch. Mikrobiol.* 72: 68-83.
- HAXO, F. T. and BLINKS, L. R. 1950. *J. Gen. Physiol.* 33: 389-422.
- JEFFREY, S. W. 1965. *Biol. Bull.* 135: 141-148.
- JEFFREY, S. W. 1968. *Biochim. Biophys. Acta* 162: 271-285.
- JERLOV, N. G. 1968. *Optical Oceanography*. Elsevier Publishing Co. Amsterdam-Oxford-New York.
- 影山明美・横浜康継 1977. *藻類* 25: 168-175.
- KAGEYAMA, A. and YOKOHAMA, Y. 1978. *Jap. J. Phycol.* 26: 151-155.
- KAGEYAMA, A., YOKOHAMA, Y., SHIMURA, S. and IKAWA, T. 1977. *Plant & Cell Physiol.* 477-480.
- KLEINIG, H. 1969. *J. Phycol.* 5: 281-284.
- KLEINIG, H. and EGGER, K. 1967. *Phytochemistry* 6: 1681-1686.
- KLEINIG, H., NITSCHKE, H. and EGGER, K. 1969. *Tetrahedron Lett.* No. 59: 5139-5142.
- LEVRING, T. 1967. *Bot. Mar.* 11: 72-80.
- LEVRING, T. 1969. *Proc. 6th Int. Seaweed symp.* p. 235-244.
- MURATA, N., NISHIMURA, M. and TAKAMIYA, A. 1966. *Biochim. Biophys. Acta* 112: 213-222.
- MURATA, N., NISHIMURA, M. and TAKAMIYA, A. 1966. *Biochim. Biophys. Acta* 126: 234-243.
- 村田紀夫 1968. *生化学* 40: 875-889.
- PRÉZELIN, B. B. and HAXO, F. T. 1976. *Planta (Berl.)* 128: 133-141.
- RAMUS, J., BEALE, S. I., MAUZERALL, D. and HOWARD, K. L. 1976a. *Mar. Biol.* 37: 223-229.
- RAMUS, J., BEALE, S. I. and MAUZERALL, D. 1976b. *Mar. Biol.* 37: 231-238.
- RICKETTS, T. R. 1971. *Phytochemistry* 10: 155-160.
- STEEMANN NIELSEN, E. 1975. *Marine Photosynthesis with Special Emphasis on the Ecological Aspects*. Elsevier Publishing Co. Amsterdam-Oxford-New York.
- STRAIN, H. H. 1951. *Manual of Phycology* (G. M. SMITH [ed.]) p. 243-262.
- STRAIN, H. H. 1965. *Bil. Bull.* 129: 366-370.
- 殖田三郎・岡田喜一 1938. *日本水産学会誌* 7: 229-236.
- WEBER, A. and CZYGAN, F.-C. 1972. *Arch. Mikrobiol.* 84: 243-253.
- YAMAMOTO, Y., YOKOYAMA, H. and BOETTGER, H. 1969. *J. Org. Chem.* 34: 4207-4208.
- 横浜康継 1973. *藻類* 21: 70-75.
- YOKOHAMA, Y., KAGEYAMA, A., IKAWA, T. and SHIMURA, S. 1977. *Bot. Mar.* 20: 433-436.
- YOKOHAMA, Y. and MISONOU, T. 1980. *Jap. J. Phycol.* 28: 219-223.