

## 紅藻ウミゾウメンに内生する藍藻の生理学的研究 I. 光合成色素に与える光の波長の影響

鈴木三喜・正置富太郎

北海道大学水産学部水産植物学講座 (〒041 函館市港町 3 丁目 1-1)

SUZUKI, M. and MASAKI, T. 1985. Physiological investigations of blue-green algae endophytic in the red alga *Nemalion vermiculare* I. Influence of wavelength of light on photosynthetic pigments. Jap. J. Phycol. 33: 239-244.

Absorption spectra of 90% acetone extract (chlorophyll *a* and carotenoids) were basically the same in the host alga *Nemalion vermiculare* SUR. and a mixed culture of two endophytic species of blue-green algae, *Calothrix parasitica* (CHAUV.) THUR. and *Phormidium* sp. The phosphate buffer extract (phycobiliproteins) from the host alga showed remarkable absorption at 460-580 nm, while that from the endophytes had conspicuous absorption at 550-640 nm.

During 14 days' incubation under red, blue or white light, phycobiliprotein content of a mixed culture of endophytes varied from 5.77 to 14.8% of dry weight, 3.26 to 5.69 times as high as chlorophyll *a* content. Content of phycocyanin of the endophytes increased in red light, but decreased in blue light through the culture period. However, the ratio of carotenoids to chlorophyll *a* was low and scarcely varied depending on the wavelength of light used for the culture.

**Key Index Words:** *Calothrix*; *endophytes*; *Nemalion*; *Phormidium*; *phycocyanin*; *phycoerythrin*.

Mitsuyoshi Suzuki and Tomitaro Masaki, Laboratory of Marine Botany, Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Hakodate, 041 Japan.

藻類は光の強さや波長の変化に対して含有する色素の組成を変えて適応する。これは主に光合成機能と関係して生じるものであり、光環境により、クロロフィルやカロチノイドの量が変化したり (JØRGENSEN 1969, WALLEN and GEEN 1971, JEFFREY and VESK 1977, RAMUS *et al.* 1976), フィコビリ蛋白の量比が変ること (HAXO and BLINKS 1950, MYERS and KRATZ 1955, BRODY and EMERSON 1959, JONES and MYERS 1965, MOON and DAWES 1976) が報告されている。しかし、これらは単生の藻類について行なわれたものであり、海藻に内生する藍藻の色素については、JACOB (1961) が緑藻 *Codium bursa* (L.) AGARDH に内生している *Phormidium codicola* VOUG. について報告しているほかは、ROSENBERG and PAERL (1981) が *Codium decortatum* (WOODWARD) HOWE の内生藍藻である *Calothrix* sp. の色素の特徴について僅かにふれているだけである。内生藍藻は宿主による光の吸収があるために、光環境は量

(強さ) だけでなく質的な面 (波長) から制限される。そこで本研究では紅藻ウミゾウメン *Nemalion vermiculare* SUR. とそれに内生する藍藻 *Calothrix parasitica* (CHAUV.) THUR. 及び *Phormidium* sp. の光合成色素の吸収スペクトルを調べるとともに、培養実験により、光の波長が内生藍藻の光合成色素比に与える影響を明らかにした。

### 材料と方法

1981年7月に北海道太平洋岸の南茅部町白尻よりウミゾウメン *Nemalion vermiculare* を採集し、ただちに函館市の北海道大学水産学部の実験室に持ち帰り、含有する色素の抽出を行った。また、ウミゾウメンに内生する藍藻ヒゲモ科の *Calothrix parasitica* と同じくユレモ科の *Phormidium* sp. (Fig. 1) を宿主より分離し、これらからも色素を抽出した。内生藍藻の一部は ESP 培地 (PROVASOLI 1966) に移し、白色螢

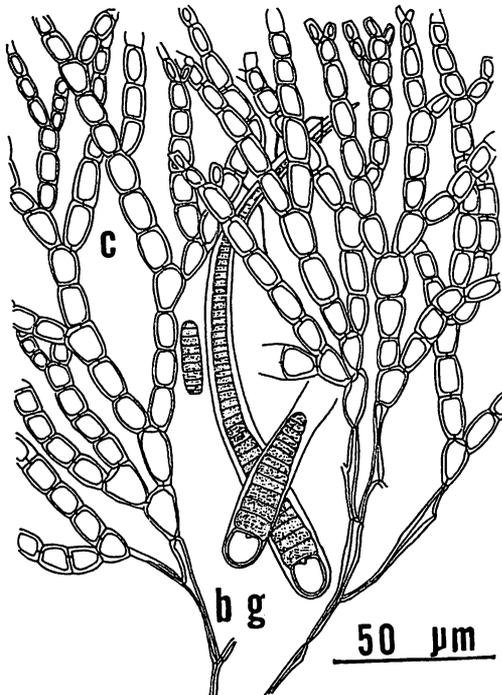


Fig. 1. Cross-section through a mature thallus of *Nematium vermiculare*, showing endophytic blue-green algae which grow in a mucilaginous interspace in the cortical region. c, cortex; bg, blue-green algae.

光灯を用いて1日12時間照明 ( $0.8 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ),  $20^\circ\text{C}$  で2週間予備培養した後,次に示すごとく,光の波長が内生藍藻の色素組成に与える影響を調べる実験に供した。予備培養後の内生藍藻の細胞懸濁液 30 ml を ESP 培地 200 ml の入った 300 ml 容の三角フラスコに加え, Fig. 2 の装置を用いて, 白色光 ( $1.20 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ), 600 nm より長波長の赤色光 ( $1.28 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ), または 500 nm 付近の青色光 ( $1.16 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) のもとで,  $20^\circ\text{C}$ , 1日12時間照明で通気しながら更に2週間培養し, 藻体が含有する色素の量とその吸収スペクトルを測定した。光源には白色蛍光灯を用い, 赤色光は M/500 エオシン水溶液, 青色光は M/1000 ライトグリーン水溶液, 白色光は蒸留水をそれぞれ Fig. 2 のビーカーに入れて, 特定の波長の光を得るためのフィルターとした。これら水溶液の光の透過特性を Fig. 3 に示した。

藻体から色素を抽出するため, 試料を 3.0 ml の pH 6.81 の磷酸緩衝液 (M/15 磷酸二水素ナトリウム溶液 5.0 ml + M/15 磷酸水素ナトリウム溶液 5.0 ml)

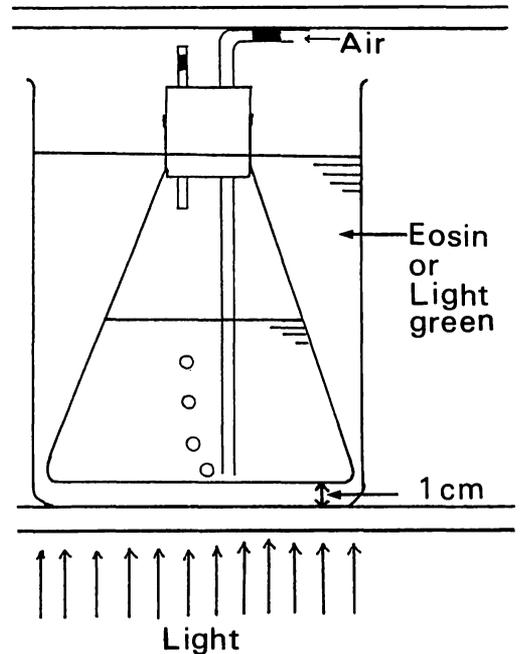


Fig. 2. Diagram of the incubation apparatus used for culturing the blue-green algae under red or blue light.

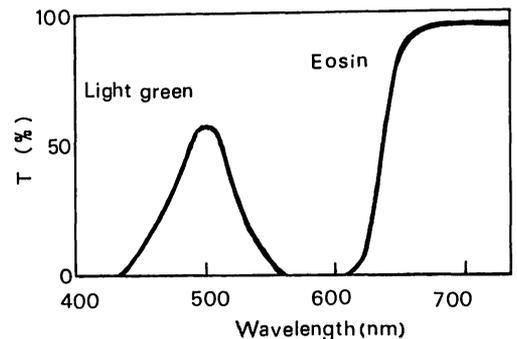


Fig. 3. Transmission spectra of 0.002 M eosin solution and 0.001 M light green solution used in the present study.

中で水で冷やしながらホモゲナイズした後, 超音波発生器で20分間処理した。次に, 冷暗所に一晚放置した後, 10,000 rpm,  $4^\circ\text{C}$  で1時間遠心分離した。磷酸緩衝液による抽出は計2回行い, 得られた抽出液を混合して, その吸収スペクトルを測定した。また, 残渣を90%アセトン中に懸濁させ, 無色になるまで抽出と遠心分離をくりかえし, 抽出液を混合し, その吸収スペクトルを測定した。吸収スペクトルの測定には Hitachi 100-50 形ダブルビーム分光光度計を用いた。クロロフィル a は SCOR-UNESCO (1966), カロチノイドは

PARSONS and STRICKLAND (1963), フィコビルン蛋白は藤田 (1965) の式により含有量を求めた。色素の抽出および測定は、光の影響を排除するために暗所に近い状態で行った。

## 結 果

ウミゾウメンとその内生藍藻の磷酸緩衝液による抽出液 (フィコビルン蛋白) と90%アセトン抽出液 (クロフィルとカロチノイド)の吸収スペクトルを Fig. 4 と Fig. 5 に示した。90%アセトン抽出液の吸収スペクトルはウミゾウメンと内生藍藻との間で著しい相違はなかったが、磷酸緩衝液では異なった吸収スペクトルが見られた。すなわち、ウミゾウメンの磷酸緩衝液の吸収スペクトルは主に460から580 nmの光を吸収し、吸収極大は565 nm付近にあったのに対して、内生藍藻のそれは550から640 nmに顕著な吸収が見ら

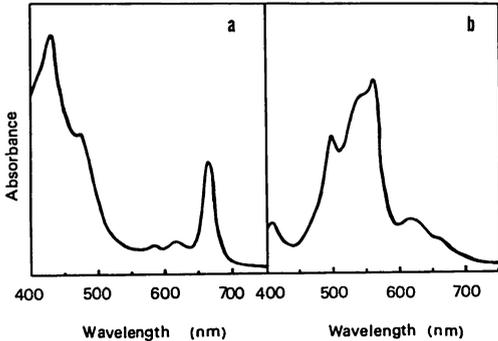


Fig. 4. Absorption spectra of 90% acetone (a) and phosphate buffer (b) extracts from *Nemalion vermiculare* with endophytic blue-green algae.

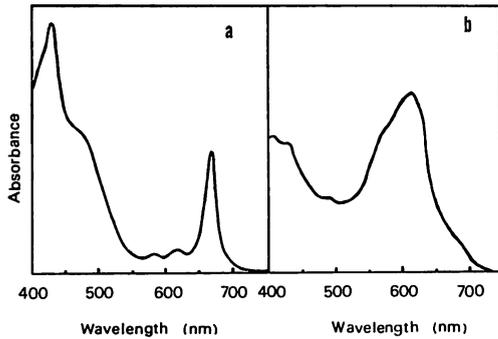


Fig. 5. Absorption spectra of 90% acetone (a) and phosphate buffer (b) extracts from mixed cultures of two endophytic blue-green algae, *Calothrix parasitica* and *Phormidium* sp. immediately after being isolated from the host alga.

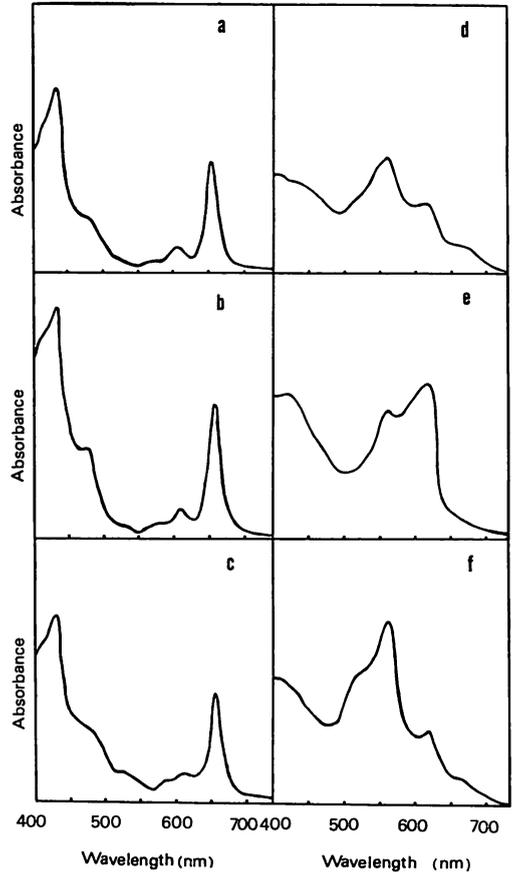


Fig. 6. Absorption spectra of 90% acetone (a-c) and phosphate buffer (d-f) extracts from a mixed cultures of two endophytic blue-green algae, *Calothrix parasitica* and *Phormidium* sp. after being incubated at 20°C with a 12:12h LD cycle for 14 days under white light ( $1.20 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) (a, d), red light ( $1.28 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) (b, e) or blue light ( $1.16 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) (c, f).

れ、吸収極大は620 nm付近にあった。

白色光、青色光または赤色光を用いて2週間培養した内生藍藻の磷酸緩衝液による抽出液と90%アセトン抽出液の吸収スペクトルを Fig. 6 に示した。90%アセトン抽出液の吸収スペクトル (Figs 6a, b, c) ではいずれの光で培養した藻体も著しい違いはなかった。しかし、磷酸緩衝液による抽出液の吸収スペクトルでは若干の相違が見られた。すなわち、青色光で培養した藻体の抽出液では吸収極大が565 nm付近にあったが (Fig. 6f)、赤色光で培養した藻体のそれでは620 nm付近に吸収極大が見られた (Fig. 6e)。また、白色光の下で培養した藻体からの抽出液は青色光で培養

Table 1. Contents ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  d.w.) of chlorophyll *a* (Chl. *a*), total carotenoids (Carot.), phycocyanin (PC) and phycoerythrin (PE) in two endophytic species of blue-green algae, *Calothrix parasitica* and *Phormidium* sp. Cells were grown in mixed cultures under white light (W,  $1.20 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), blue light (B,  $1.16 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) or red light (R,  $1.28 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) for 7 and 14 days at  $20^\circ\text{C}$  with a 12:12 h LD cycle.

Days	Chl. <i>a</i>	Carot.	PC	PE	PC+PE
0	31.5	6.61	69.7	35.9	105.6
(W)	40.0	7.50	86.6	61.4	148.0
7 (B)	15.4	3.02	29.2	28.5	57.7
(R)	31.3	6.31	78.4	46.8	125.2
(W)	25.4	4.38	92.4	52.2	144.6
14 (B)	13.9	2.23	27.7	30.3	58.0
(R)	31.9	5.22	82.4	21.6	104.0

Table 2. The ratios of pigment contents in two endophytic species of blue-green algae, *Calothrix parasitica* and *Phormidium* sp., which were grown in mixed cultures as shown in Table 1.

Days	PC	PE	PC+PE	Carot.	PC
	Chl. <i>a</i>	Chl. <i>a</i>	Chl. <i>a</i>	Chl. <i>a</i>	PE
0	2.21	1.14	3.35	0.21	1.94
(W)	2.17	1.54	3.70	0.19	1.41
7 (B)	1.90	1.85	3.75	0.20	1.02
(R)	2.50	1.50	4.00	0.20	1.68
(W)	3.64	2.06	5.69	0.17	1.77
14 (B)	1.99	2.18	4.17	0.16	0.91
(R)	2.58	0.68	3.26	0.16	3.81

した藻体の場合と似た吸収スペクトルを示した (Fig. 6d)。

白色光, 青色光または赤色光の下で0日間, 7日間および14日間培養した内生藍藻の乾燥重量 1 mg 当りのクロロフィル *a*, カロチノイド, フィコビルン蛋白の各含有量と, クロロフィル *a* 量に対する各色素の比およびフィコシアニンに対するフィコエリスリンの量比を, それぞれ Table 1 と Table 2 に示した。クロロフィル *a* 量は, 乾燥重量の 1.39% から 4.04% を占め, 全培養期間を通して, 赤色光で培養した藻体の方が青色光で培養した藻体よりも含有量は多かった。また, カロチノイド量は培養に用いた光の波長に対してクロロフィル *a* 量と同様な傾向を示したが, 含有量は藻体乾燥重量の 1% 以下で, クロロフィル *a* に対する量比も 0.16 から 0.20 であった。一方, フィコビルン蛋白の含有量は藻体乾燥重量の 5.8% から 14.8% に

達し, クロロフィル *a* 量に対する比は 3.26 から 5.69 の間であった。クロロフィル *a* 量に対するフィコエリスリンの比は, 培養7日目ではそれぞれの光で培養した藻体とも殆んど変わらず 1.50 から 1.85 の間であったが, 培養14日目には赤色光の下で培養した藻体では 0.68 となり, 青色光の下での値 2.18 と比べて著しく低かった。クロロフィル *a* 量に対するフィコシアニンの比は, 全培養期間を通じて赤色光の下で生育した藻体の方が青色光で生育した藻体より高く, 培養7日目では赤色光下で 2.50, 青色光下で 1.90 の値を示し, これらは培養14日目になっても殆んど変わらなかった。また, フィコシアニンに対するフィコエリスリンの量比は, 赤色光下では培養7日目の藻体で 1.68, 培養14日目の藻体で 3.81 を示したが, 青色光下では全般に低く, 1.0 前後であった。

## 考 察

本実験において、ウミゾウメンより磷酸緩衝液で抽出した色素の吸収スペクトルでは、著しい吸収が 460 から 580 nm に見られたが、内生藍藻では 550 から 640 nm に存在した。これはウミゾウメンのフィコビルン蛋白が比較的吸収しない波長域の光を、内生藍藻のフィコビルン蛋白がよく吸収することを示している。

青色光を用いて 2 週間培養した内生藍藻から磷酸緩衝液で抽出した色素の吸収スペクトルでは 565 nm 付近に、また赤色光を用いた場合には 620 nm 付近にそれぞれ吸収極大が見られた。565 nm と 620 nm の吸収極大はそれぞれフィコエリスリンとフィコシアニンの吸収極大と一致し、これら 2 種のフィコビルン蛋白の含有量は培養に用いた光の波長により変化した。藍藻 *Tolythrix tenuis* KÜTZ. では、緑色光はフィコエリスリン合成を促進し、赤色光はフィコシアニン合成を促進するが、クロロフィル *a* やカロチノイドではこのような変化は起らない (FUJITA and HATTORI 1960, 1962)。また藍藻 *Fremyella diplosiphon* (B. et F.) DROUET を白色光下から赤色光下に移すとフィコエリスリン合成が停止し、クロロフィル *a* 量に対するフィコエリスリン含有量は著しく低下した (BENNETT and BOGORAD 1973)。本実験においては、赤色光で培養したウミゾウメンの内生藍藻のフィコシアニン含有量は増加し、フィコシアニンに対するフィコエリスリンの含有量の比は、青色光や白色光の下で培養した藻体に比べて高くなった。一方、青色光の下ではフィコシアニンもフィコエリスリンも含有量が著しく増加することはなかった。フィコビルン蛋白は藍藻類や紅藻類の主要な光エネルギー捕獲色素であり (藤田 1981)、その含有量の変化は内生藍藻の光合成に大きく影響するであろう。緑藻 *Codium bursa* の内生藍藻 *Phormidium codicola* は 550 nm の光の下で最も高い光合成能を示すが、これは含有するフィコビルン蛋白の吸収スペクトルと密接な関係を有していた (JACOB 1961)。今回用いた内生藍藻の一種 *Calothrix parasitica* を赤色光または青色光の下で 2 週間培養した後に、培養に用いた光の下で光合成能を測定すると、青色光で培養した藻体よりも赤色光で培養した藻体の方から高い活性が得られた (鈴木・正置 1982)。これは、上述のフィコビルン蛋白の含有量の変化と密接な関係をもつものと考えられる。また、カロチノイドはフィコビルン蛋白に比べて含有量は少なく、かつ、クロロフィル *a* 量に対する含有量の比も培養に用いた光

の波長によって大きく変動することはなかったことから、内生藍藻の光の質 (波長) に対する適応には、フィコビルン蛋白ほどは貢献していないものと考えられる。

以上により、本実験に用いたウミゾウメンの内生藍藻は、赤色光を効率よく吸収するためにフィコビルン蛋白の含有量を調整する能力を持つものと考えられる。

終りに本研究に対し、御指導と御校閲をいただいた北海道大学水産学部の辻野勇教授に心から感謝の意を表す。

## 引用文献

- BENNETT, A. and BOGORAD, L. 1973. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *J. Cell Biol.* 58: 419-435.
- BRODY, M. and EMERSON, R. 1959. The effect of wavelength and intensity of light on the proportion of pigments in *Porphyridium cruentum*. *Amer. J. Bot.* 46: 433-440.
- 藤田善彦 1965. 生体物質の取扱法. p. 274-303. 田宮博・渡辺篤編 藻類実験法. 南江堂, 東京.
- 藤田善彦 1981. 光合成色素類. p. 40-52. 宮地重遠編 植物生理学 1. 光合成 I. 朝倉書店 東京.
- FUJITA, Y. and HATTORI, A. 1960. Effect of chromatic lights on phycobilin formation in a blue-green alga, *Tolythrix tenuis*. *Plant Cell Physiol.* 1: 293-303.
- FUJITA, Y. and HATTORI, A. 1962. Photochemical interconversion between precursors of phycobilin chromoproteids in *Tolythrix tenuis*. *Plant Cell Physiol.* 3: 209-220.
- HAXO, F. T. and BLINKS, L. R. 1950. Photosynthetic action spectra of marine algae. *J. Gen. Physiol.* 33: 389-422.
- JACOB, F. 1961. Zur Biologie von *Codium bursa* (L.) AGARDH und seiner endophytischen Cyanophyceen. *Arch. Protistenk.* 105: 345-406.
- JEFFREY, S. W. and VESK, M. 1977. Effect of blue-green light on photosynthetic pigments and chloroplast structure in the marine diatom *Stephanopyxis turris*. *J. Phycol.* 13: 271-279.
- JONES, L. W. and MYERS, J. 1965. Pigment variations in *Anacystis nidulans* induced by light of selected wavelengths. *J. Phycol.* 1: 7-14.
- JØRGENSEN, E. G. 1969. The adaptation of plankton algae IV. Light adaptation in different algal species. *Physiol. Plant.* 22: 1307-1315.
- MOON, R. E. and DAWES, C. J. 1976. Pigment changes and photosynthetic rates under selected wavelengths in the growing tips of *Eucheuma isiforme* (C. AGARDH) J. AGARDH

- var *denudatum* CHENEY during vegetative growth. Br. phycol. J. 11: 165-174.
- MYERS, J. and KRATZ, W.A. 1955. Relations between pigment content and photosynthetic characteristics in a blue-green alga. J. Gen. Physiol. 39: 11-22.
- PARSONS, T.R. and STRICKLAND, J.D.H. 1963. Discussion of spectrophotometric determination of marine-plant pigments, with revised equations for ascertaining chlorophylls and carotenoids. J. Mar. Res. 21: 155-163.
- PROVASOLI, L. 1966. Media and prospects for the cultivation of marine algae. (Proc. U.S.-Japan Conf. Hakone, Sept. 1966). Japanese Society of Plant Physiologist. 63-75.
- RAMUS, J., BEALE, S.I. and MAUZERALL, D. 1976. Correlation of changes in pigment content with photosynthetic capacity of seaweeds as a function of water depth. Mar. Biol. 37: 231-238.
- ROSENBERG, G. and PAERL, H.W. 1981. Nitrogen fixation by blue-green algae associated with the siphonous green seaweed *Codium decorticatum*: Effects on ammonium uptake. Mar. Biol. 61: 151-158.
- SCOR-UNESCO, W.G. 1966. Determination of photosynthetic pigments. Unesco Monogr. Oceanogr. Methodol. 1: 9-18.
- 鈴木三喜・正置富太郎 1982. 紅藻 ウミゾウメンに内生する藍藻 2種に及ぼす光の影響。p. 32. 昭和57年度日本水産学会秋季大会講演要旨集。
- WALLEN, D.G. and GEEN, G.H. 1971. Light quality and concentration of proteins, RNA, DNA and photosynthetic pigments in two species of marine plankton algae. Mar. Biol. 10: 44-51.

#### 第12回国際海藻会議 (The XIIth International Seaweed Symposium) 案内

第12回国際海藻会議が明年(61年)7-8月サンパウロ大学にて開催されます。その概要は次の通りです。

会 期: 1986年7月27日~8月1日

会 場: ブラジル国 サンパウロ市 サンパウロ大学

テ ー マ: 変転する世界における海藻利用の新しい発展

講 演 (研究発表): 全体講演, 招待講演 (ミニシンポジウム), 一般講演, 展示講演など。一般講演は応用藻類学に関するもので, 特に (1) 有用藻類の生物学, 分類学, 生理学, 生態学, 遺伝学 (2) 藻類及び藻類成分の化学, 生化学 (3) 商業用藻類とその製品の生産, 利用, 加工などが主な対象分野である。

公式使用語: 英語

講 演 要 旨: 所定の用紙を使って1986年2月28日までに会議事務局へ提出する。

会 議 録 (Proceedings): 発表論文は審査を受けてから掲載。原稿の作り方は 3rd Circular で案内。

参 加 費 (ホテル-会場間の運賃, 開会カクテル, 晩餐会, 会議録の経費を含む):

1986年1月31日まで (参加者) 160 USドル, (同伴者) 10 USドル。

2月1日以後 (参加者) 210 USドル, (同伴者) 10 USドル。

エクスカーション: 会期前後に9つのエクスカーションが企画されている。

締 切 日: 講演要旨提出 1986年2月28日; 参加申込及び送金 1月31日; 参加申込及び送金 (割増料金)

5月1日; ホテル予約 5月1日; 会議録用原稿提出 7月27日。

会議事務局アドレス: Secretariat, XIIth International Seaweed Symposium, Especifica S/C Ltda., Caixa Postal 51.502, 01414 Sao Paulo SP, Brasil.

申込用紙その他の案内をご希望の方は下記にご連絡ください。コピーをお送りします。

108 東京都港区港南 4-5-7 東京水産大学 有賀祐勝