アマノリの日周変化に関する生理的研究—II

室内培養下の藻体にみられた生長および 2, 3 の
成分含有量について

大房 剛・荒木 繁・桜井武麿・斎藤宗勝

(1976 年 8 月 10 日受理)

Physiological Studies on Diurnal Biological Rhythms of *Porphyra*—II
The Growth and the Contents of Free and Total Nitrogen and Carbohydrate
in the Thallus Cultured in the LaboratoryTuyosi OOHUSA*, Shigeru ARAKI*, Takemaro SAKURAI*,
and Munekatsu SAITO*

The surface area, the fresh and dry weights, the contents of total free amino acids and total nitrogen, and the total alcohol soluble and insoluble carbohydrates in the thallus of *Porphyra* sp. cultured in an artificial medium were determined during its growth under 12-hour light and dark cycles. The thallus area and dry weight doubled during a 72 hr culture period, and particularly showed greater increases during the light. In contrast to the remarkable decrease of nitrate nitrogen in the medium, the total nitrogen in the thallus increased showing a reverse relationship. The nitrate uptake was much greater in the light than in the dark periods, although the per cent content of total nitrogen on a dry weight basis was almost unchanged during the culture period.

The total alcohol-soluble and insoluble carbohydrates, and the total free amino acids also increased in amount during the light culture and attained their maxima at the end of the light periods but followed by a steep decrease which began immediately after dark. Their minimum contents were found at the end of the dark periods. The possible cause of such rhythmic changes in these compounds were discussed in relation to photosynthesis of the thallus and its cell growth and division.

著者らは前報¹⁾で、12 時間の明暗両期をもつ光周期で育てた *Porphyra* の藻体細胞の大きさ、生理活性、光合成色素量の日周変化について報告した。引き続き、本報では藻体の生長および全窒素量、アルコール可溶性全炭水化物量、全遊離アミノ酸量、アルコール不溶性全炭水化物量などの日周変化を調べた。あわせて、培養液中の栄養塩類のうち、硝酸態窒素濃度の動態も追跡し、藻体中の全窒素量との関連性をも検討したので、その結果について報告する。

実験方法

試料には、前報の方法で培養した藻体を用いた。藻体重量の測定には、まず連続測定用としては、あらかじめ標識しておいた藻体を 6 時間毎に取り出し、1,000 rpm, 1 分間の遠心処理で除水した後、秤量して生重量とした。また同時に、別に採取した藻体について、上と同様の方法で得た生重量と、前報に述べた方法

* 山本海苔研究所 (5-2-12, Oomori-Higashi, Ootaku, Tokyo).

で得た乾燥重量との比率を求めた。この比率と連続測定用藻体の生重量とから換算して乾燥重量の変化をみた。なお、藻体面積は前報の方法にしたがつて測定した。

藻体成分の分析には、6 時間毎に採取した藻体の乾燥試料を用い、まず 80% 熱エタノール抽出によって得られた水溶性分画から、アルコール可溶性全炭水化物量をフェノール硫酸法で、全遊離アミノ酸量を YEMM-COCKING のニンヒドリン法でそれぞれ定量した。ついでエタノール抽出残渣を 3% 硫酸で加水分解し、この分解液中の糖量をフェノール硫酸法で定量し、これをアルコール不溶性全炭水化物量とした。全窒素量はマイクロケルダール法を用い、培養液中の硝酸態窒素の定量は、STRICKLAND and PARSONS の方法²⁾によつた。

結果および考察

実験期間中における藻体面積と乾燥重量の変化を Fig. 1 に示した。面積・乾燥重量ともに 72 時間で約 2 倍になり、両者とも明期に大きな増加を示した。この明期と暗期における増加速度の相違は主として明期における光合成活動に起因するものであろう。この推論は生重量の乾燥重量に対する比率（細胞質の密度の目安として）が、明期に減少し、暗期に増加する傾向を示すことから知られ、明期に栄養塩の吸収や光合成によって細胞構成物の充実が起つていることがわかる。これに対して、暗期には前報で報じたように細胞分裂期以後に細胞が肥大していることを考えあわせると、この時期には新たな物質合成を伴わない単なる水分吸収が主として行われているものと考えられる。

培養液中の硝酸塩濃度の変化をみると実験期間中ではほぼ半減しており、しかも明期に著しく減少し、暗期にはほとんど減少しなかつた (Fig. 2)。一方、乾燥重量当りで得られた藻体中の全窒素含有百分率はほぼ一定を保つた (Fig. 3) が、藻体中の窒素の絶対量の増加は、実験期間中に約 2 倍に増加しており、Fig. 2 に示した硝酸態窒素の減少と逆の傾向がみられた。このことは窒素の吸収と同化が主として明期に活発に行なわれているといえよう。

Fig. 1. Variations in area (A), length (B), dry weight (C) and fresh/dry weight ratio (D) of the thallus of *Porphyra* sp. (No. 51) cultured under LD, 12:12 cycle, for 8 weeks after conchospore seeding. □ light, ■ dark.

Fig. 2. Relationship between nitrate concentration in medium (○) and amount of total nitrogen in the thallus of *Porphyra* sp. (No. 51) (●) cultured under LD, 12:12 cycle, for 8 weeks after conchospore seeding. □ light, ■ dark.

Fig. 3. Diurnal variation of per cent contents of alcohol-insoluble carbohydrates (A), total nitrogen (B), total alcohol-soluble carbohydrates (C) and total free amino acids (D) in the thallus of *Porphyra* sp. (No. 51) cultured under LD, 12:12 cycle, for 8 weeks after conchospore seeding. □ light, ■ dark.

Porphyra では floridean starch の存在が知られている⁹⁾。前記 HASE らは *Chlorella* の多糖類の変動が主として starch によるものと報告しているように、本実験でのアルコール不溶性全炭水化物の変動も floridean starch によるものと思われる。

一方、同調培養を行なった *Euglena gracilis* で COOK¹⁰⁾ は、細胞容積、乾燥重量、全タンパク質、chlorophyll *a*, carotenoids など調べ、それらが明期に増加することを報じ、また、EDMUNDS^{11,12)} は同じ種類で同様の結果を得ている。

これらの結果は、本報で得られた結果や前報の chlorophyll *a*, carotenoids の結果と類似する傾向といえよう。しかし、Cook らが同調培養で得られた結果から、明期中に細胞容積、乾燥重量などがそれぞれ2倍になると言っているのに対して、本報ではそれらの結果とかなり相違している。この相違は前報で報じたように細胞分裂が藻体を構成する全細胞で起っているのではなく、成熟にしたがつて細胞分裂の活発な部位が縁辺部に移行するようになるという事実にもとずくと考えられる。

前報および本報でみられた細胞分裂、生理活性、遊離成分の周期的な変動について次のように考察される。すなわち、暗期で新生された細胞は、明期において活発な光合成活動や栄養塩類の吸収によって、細胞の肥大生長や遊離成分・細胞構成物質などの増加が起るのに対して、暗期では遊離成分の合成が停止し、明期に合成蓄積された成分が新しい細胞形成のために消費されるものと思われる。

このように、*Porphyra* のような多細胞藻類でも、同調培養された *Euglena*, *Chlorella* などで報告されている結果¹³⁾ と類似していることは興味深い。また、著者らの日周変動は光に依存したものと考えられるが、細胞分裂や光合成などで内在的なリズムの存在が報告されており、今後これらの点についても解析をす

MORRIS and AHMED³⁾ は *Chlorella* で硝酸塩の吸収およびその同化が光に依存していることを報告しているのをはじめとして、BEEVERS and HAGEMAN⁴⁾ による総説中には光に関連した同様の結果についての多くの報告がある。したがって、著者らが本実験で得た上述のような窒素の吸収・同化にみられた傾向は、これらの知見に添うものであると考えられる。

アルコール可溶性全炭水化物、全遊離アミノ酸、アルコール不溶性全炭水化物の含有百分率は、Fig. 3 に示すようにいずれも明期開始後に増加をつづけ、明期終了時に最大、以後暗期開始とともにその終了時まで減少しつづけた。著者らが本実験で測定した遊離成分は、いずれも全量で測定したものであり、個々の組成についての定量値はないが、アルコール可溶性全炭水化物は floridoside, isofloridoside⁵⁾、全遊離アミノ酸は alanine, glutamic acid, aspartic acid が主体⁶⁾で、peptide の量は極めて少ないと考えられる。遊離成分についての同様な知見は *Chlorella* の同調培養においても得られている。HASE ら⁷⁾ によれば、*Chlorella* では80% 熱エタノールで抽出される糖の変化の主体は sucrose であり、それが明期に増加すること、また KANAZAWA⁸⁾ は同じ種類で遊離アミノ酸、とくにこの種類に多く含まれる peptide が明期に増加し、暗期に減少することを認めている。

すめていきたい。また、この一連の実験結果から藻体の成分がかなり大きな変動を示すことがわかった。このことは乾海苔などの成分組成から生育環境などを論ずる場合に配慮を要する点であり、今後さらに各成分の個々の組成についても調べていく予定である。

本研究をすすめるにあたり、終始ご指導をいただいた日本大学農獣医学部西沢一俊教授ならびに東北大学農学部須藤俊造教授に深甚なる謝意を表する。

要 約

前報と同様な培養条件下で育てられた藻体の生長および全窒素量、アルコール可溶性全炭水化物量、全遊離アミノ酸量、アルコール不溶性全炭水化物量の日周変化ならびに培養液中の硝酸態窒素濃度の動態を 72 時間にわたり追跡し、以下の結果を得た。

- 1) 藻体の面積と乾燥重量は 72 時間で約 2 倍になり、両者とも明期に大きな増加を示した。
- 2) 生重量の乾燥重量に対する比率は、明期に減少し、暗期に増加する傾向が認められ、暗期後半における水分吸収による細胞の肥大が示唆された。
- 3) 培養液中の硝酸塩濃度の変化は、明期に著しく減少し、暗期にはほとんど減少しなかった。この傾向は藻体中の窒素の絶対量の増加と逆の傾向がみられた。
- 4) アルコール可溶性および不溶性の全炭水化物、全遊離アミノ酸の含有百分率は、いずれも明期中に増加し、明期終了時に最大となり、暗期には減少しつづけた。
- 5) 本報において得られた結果は、同調培養された *Euglena*, *Chlorella* など単細胞藻類で報告されている結果と類似している点が多く、注目された。

文 献

- 1) 大房 剛・荒木 繁・桜井武麿・斎藤宗勝: 本誌, **43**, 245-249 (1977).
- 2) J.D.H. STRICKLAND and T.R. PARSONS: in "Practical Handbook of Seawater Analysis", Bull. 67, 1st ed., Fish. Res. Bd. Canada, Ottawa, 1968, pp. 125-128.
- 3) I. MORRIS and J. AHMED: *Physiol. Plant.*, **22**, 1164-1174 (1968).
- 4) L. BEEVERS and R.H. HAGEMAN: *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **20**, 495-522 (1969).
- 5) J. SU and W.Z. HASSID: *Biochemistry*, **1**, 468-474 (1962).
- 6) H. NODA, Y. HORIGUCHI and S. ARAKI: *This Bull.* **41**, 1299-1303 (1975).
- 7) E. HASE, Y. MORIMURA and H. TAMIYA: *Arch. Biochem. Biophys.*, **69**, 149-165 (1957).
- 8) T. KANAZAWA: *Plant & Cell Physiol.*, **5**, 333-354 (1964).
- 9) E. PERCIVAL and R.H. McDOWELL: in "Chemistry and Enzymology of Marine Algal Polysaccharides", Academic Press, London and New York, 1967, pp. 76.
- 10) J.R. COOK: *Plant & Cell Physiol.*, **2**, 199-201 (1961).
- 11) L.N. EDMUNDS, JR.: *Biol. Bull.*, **121**, 277-289 (1961).
- 12) L.N. EDMUNDS, JR.: *J. Cell. Comp. Physiol.*, **66**, 159-182 (1965).
- 13) H. TAMIYA: *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **17**, 1-26 (1966).