

クロマツ葉緑体の酸素発生能とその季節的変動

九州大学農学部 奥 達 雄
毛 井 知 子
富 田 義 一

1. はじめに

⁽¹⁾ 前報で報告したように、われわれは、クロマツ葉緑体を活性を持ったまま単離することに成功したので、葉緑体レベルにおける光合成機能に関する情報を得ることが可能になった。本報では、光合成能のメジャーとしての酸素発生能を中心として、葉緑体の酸素発生能、葉緑体の老化、および光合成電子伝達系を阻害する3-(3,4-di-chlorophenyl)-1,1 dimethylurea(DCMU)によるHill活性阻害の季節的変化、さらにpolyethylene glycol-400 O (PEG)による葉緑体の老化の保護作用につき得られた結果を報告する。

光合成機能の発揮される最も基本的な場である葉緑体レベルでの情報は他のレベルでの情報と相俟って物質生産の機構面にも有力な知見となるものと思われる。

2. 実験方法

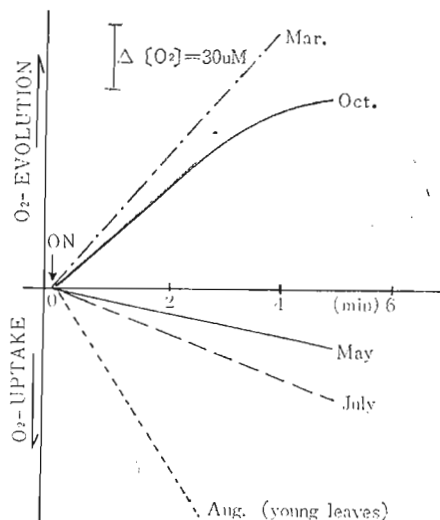
クロマツの当年葉の8月、10月および翌年3月、5月、7月に採取した各10gを用い、⁽¹⁾前報の方法によって、PEG存在下で葉緑体を単離した。反応液3.0ml (potassium chloride, 60 μ moles; potassium ferricyanide, 3 μ moles; magnesium chloride, 10 μ moles; tris-HCl, 100 μ moles; pH 7.8; chloroplast equivalent to chlorophyll 100 μ g)を用い、19°Cで、Clark-typeの酸素電極で発生酸素量の測定を行なった。反応容器面における光強度は8 $\times 10^4$ luxであった。

葉緑体の老化は葉緑体の懸濁液を0°Cの暗所に種類の時間放置することにより行なった。

3. 結果と考察

図1には葉緑体のHill活性の季節的変動が示されている。当年葉の8月および翌年5月、7月に採取した葉緑体では、光照射時間と共にO₂吸収が直線的に増加し、10月および翌年3月採取した葉緑体では、O₂

図1 Seasonal Changes in O₂-Evolution & O₂-Uptake in Isolated Pine Chloroplasts



発生が光照射時間と共に直線的に増加する。ただし、10月採取した葉緑体では光照射時間が3分を越すと光不活性化が起り、O₂発生速度は減少し、遂には0となる。この光不活性化反応はlipid様物質が葉緑素の光増感反応によって酸化されるためのO₂消費によるものと考えられる。⁽²⁾

葉における樹脂量は秋に最も多く、春に最も少い。このことは、3月に採取した葉緑体のO₂発生能が10月に採取した葉緑体のそれよりも大であるという実験結果を説明する。また、8月、3月、7月採取した葉緑体ではいずれも光照射によってO₂吸収を示すのはPEG存在下での葉緑体の調製にも拘らず、なお樹脂類が残存し、これらが葉緑素の光増減反応によって酸化されるため、O₂吸収がHill反応に打勝つためと解される。葉緑体の単離過程におけるPEGの働きは、

(1) 前報にも示したように、遊離の樹脂類の PEG ミセルへの吸着除去にある。PEG 濃度は 10 月採取の葉緑体に対し最も効果の高い 25% を使用しているの、in vivo の葉緑体では、樹脂の存在状態、葉緑体との coupling の状態が季節によって異なるため葉緑体の単離過程における PEG の効果が季節によって相違し、図 1 に見られる Hill 活性の季節的変動が生ずるものと考えられる。

図 2 CHLOROPHYLL, 0.129mg/3ml
CHLOROPHYLL, 0.123mg/3ml

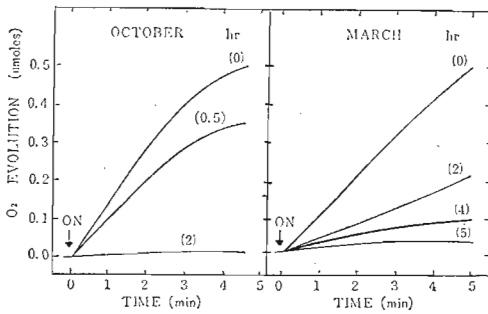
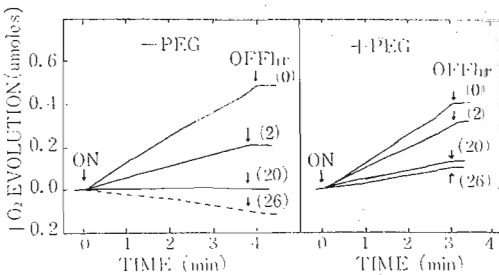


図 2 は 10 月、3 月採取の葉緑体の老化と O₂ 発生能との関係を示すもので、10 月の葉緑体は 3 月のものに較べて老化の速度が大であるという特徴を有する。この老化の速度は PEG 存在下で老化処理を行ったか PEG 不存在下で老化処理を行ったかによって、大きく異なり、後者では老化の速度は前者に較べて遙かに大であり、26 時間の老化処理では O₂ 吸収が起る。これらは図 3 に示されている。葉緑体は 3 月に採取した葉から

図 3

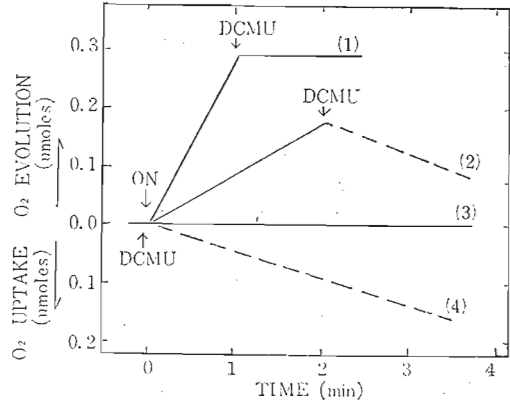


調製されたものである。老化によって葉緑体に存在する lipid 様物質が遊離し、葉緑素の光増感反応によって酸化されるため O₂ 吸収が生起し、この反応が Hill 反応と compete するため O₂ 発生が減少する。PEG が存在すると遊離の lipid 様物質が PEG のミセルに吸着して除去されるので、Hill 活性の低下が起らな

い。すなわち、PEG の存在は老化を保護する。

DCMU は光合成系 II と I の間の電子移動を阻害する試薬として知られている。3 月と 10 月の葉緑体の O₂ 発生に対する DCMU の効果を図 4 に示す。光照射によって O₂ 発生が起るが、DCMU を加えると 3 月の葉緑体では O₂ 発生は停止するが (曲線 1)、10 月

図 4



の葉緑体では O₂ 吸収が起る (曲線 2)。DCMU を予め入れて光照射を行うと、夫々 (3)、(4) の曲線が得られこれらは曲線 (1)、(2) に夫々平行である。DCMU の添加により、光合成系 II と I との間 (厳密には光合成系 II と Hill oxidant との間) の電子移動が block され、Hill 活性すなわち O₂ 発生が阻害される。10 月の葉緑体では前述のように樹脂類の存在が多いため、これが葉緑素の光増感反応によって酸化されるため O₂ 吸収の惹起を見るのである。

4. ま と め

- 1) 単離葉緑体は葉緑体の採取時期すなわち季節によって光照射で O₂ 発生あるいは O₂ 吸収を示す。
- 2) 10 月と 3 月の葉緑体では老化に対する抵抗性が異なる。また前者では O₂ 発生に対する光不活性化反応が見られる。
- 3) PEG の役割は葉緑体の単離過程に遊離し Hill 活性を阻害する樹脂類の除去および老化に対する保護作用である。
- 4) DCMU の添加によっても、3 月と 10 月の葉緑体の相違が見られる。

文 献

- 1) 奥, 毛井, 富田, 日本林学会九州支部研究論文集第 24 号 (1970) 138 頁

2) Heath, R. L. and L. Packer, Arch. Biochem. Biophys., 125, 189, (1968).
 3) P. Goran, P., Acta (Acad) Abo., Math. Phys., 29, 4 (1969).

4) Oku, T. and G. Tomita, J. Fac. Agri., Kyushu Univ., 4, 473 (1968).
 5) Constantopoulos, G. and C. N. Kenyon, Plant Physiol., 43, 531 (1968).

クロマツ芽生えの光合成色素の分析

九州大学農学部 奥 達 雄
 毛 井 知 子
 富 田 義 一

1. はじめに

造林木の幼苗期における生長過程を、代謝生理の面から詳細に研究すること、得られた情報から造林木の特性、および生長予測が可能かどうかを検討するために予備的な実験として暗所で発芽、生育したクロマツ芽生えの光合成色素の分析を行なった。1963年 Sudyna (ソ連) は種々の林木の芽生えの色素分析を行ない、色素の種類と含有量の差異を報告している。彼女のデータによれば葉緑素の生合成経路は他の緑色植物のそれと大差ないようである。しかし、このような研究はきわめて少なく、なお多くの詳細な実験を必要とする。さらに暗所でも葉緑素を生成することのできるマツ等の特性を、色素分析の結果から知ることは単に林木の生長過程のみならず植物の葉緑素の生合成の解明にも寄与するところが多い。

2. 材料と実験方法

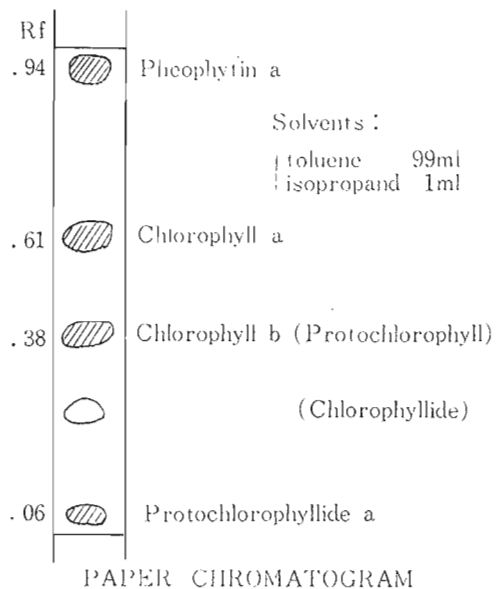
暗所、約 27°C で発芽、生育させたクロマツ芽生えの緑色部を集め、水洗後冷す。芽生え (0.9g) に冷緩衝液 (0.5 M sucrose, 0.01 M NaCl, 0.01 M ascorbate 0.05 M tris, pH 7.8, 10ml) を入れて乳鉢ですりつぶす。冷アセトン (-18°C, 40ml) を入れて色素を抽出する。20分後、色素をエーテルに移し、エバポレーターでエーテルを除去して乾燥し、少量のクロロフィルムに溶解する。色素の分離はペーパークロマトグラフィ法によった。展開溶媒として toluene-isopropanol, (99:1v/v) 混液を用いた。分離した色素 (図1) をエーテルで抽出し、吸収スペクトル、蛍光スペクトル、Rf 値より色素の同定を行なった。定量は Comer &

Zcheile の方法 (ε は表1に記入) によった。

3. 結果と考察

暗所で生育したクロマツ芽生えは濃い緑色を呈することから、多量の葉緑素を含有していることがわかる。抽出した緑色色素のペーパークロマトグラム上の分布を 図1 に示している。溶媒としては toluene-isopropanol で十分であった。Rf 値 0.94 の pheophytin a は抽出中に chlorophylla から生じたものである。

図 1



この chlorophylla の分解を防ぐために種々の工夫を試みたがうまくいかなかった。chlorophylla の分解