

## C3,C4植物の炭素,窒素代謝の相互関係に関する研究(2):

誌名	日本草地学会誌
ISSN	04475933
巻/号	324
掲載ページ	p. 328-336
発行年月	1987年1月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> 植物の炭素, 窒素代謝の相互関係に関する研究

### 2. 暖地型草種のホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼおよびリブローズニリン酸カルボキシラーゼ活性に及ぼす葉身 N, P, K 含量の影響

尾形昭逸・河野憲治・石川愛子・藤田耕之輔

#### 要 旨

尾形昭逸・河野憲治・石川愛子・藤田耕之輔 (1987): C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> 植物の炭素・窒素代謝の相互関係に関する研究. 2. 暖地型草種のホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼおよびリブローズニリン酸カルボキシラーゼ活性に及ぼす葉身 N, P, K 含量の影響. 日草誌 32, 328-336.

暖地型草類におけるホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ (PEP case) およびリブローズニリン酸カルボキシラーゼ (RuBP case) 活性と葉身の N, P, K 含量との関連の検討とその解析を目的として, ソルガム (*Sorghum Vulgare*, Sweet Siox IV) とシコクビエ (*Eleusine Coracana*, Yukijirushi) を, 培地 N, P, K 濃度を各々 4 段階に変えて水耕栽培し, 可溶性蛋白質含量, PEP case, RuBP case 活性および N, P, K 含有率などを測定した. なお, 単位葉面積当りの酵素活性 (以下酵素活性) は単位葉面積当りの可溶性蛋白質含量 (以下蛋白質含量) と単位可溶性蛋白質量当りの酵素活性 (以下蛋白質当り活性) の積と考え, 得られた結果について解析した. その結果, (1) 単位葉面積当りの葉身 N 含量の増加に伴って, シコクビエとソルガムの両酵素活性は上昇し, その上昇率は RuBP case で顕著であった. 両酵素とも活性上昇の主な要因は蛋白質含量の増加であり, 蛋白質当りの活性はむしろ低下する傾向を示した. (2) 葉身 P 含量の増加に伴って, 両酵素活性はシコクビエの PEP case では 2.0 mg P/dm<sup>2</sup>, ソルガムとシコクビエの RuBP case では 1.0 mg P/dm<sup>2</sup> までそれぞれ急上昇し, この上昇は主に蛋白質当り活性の上昇に起因した. (3) 葉身 K 含量の増加に伴って, 両酵素活性はシコクビエの PEP case で 11 mg K/dm<sup>2</sup>, ソルガムとシコクビエの RuBP case で 6 mg K/dm<sup>2</sup> まで上昇し, この上昇は主に蛋白質当り活性が上昇したためであった. (4) 両酵素の単位蛋白質当りの活性は, 葉の蛋白質含量が減少すると PEP case では顕著に上昇するのに対し, RuBP case ではわずかに上昇した.

キーワード: ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ, リブローズニリン酸カルボキシラーゼ, 酵素活性, 無機元素.

#### 諸 言

作物の生産性を向上させるには光合成能の改善が必要であるとする立場から, 近年, 光合成能の種間差や光合成能に及ぼす生育環境などの影響について数多くの研究<sup>5)</sup>が進められてきた. 中でも C<sub>3</sub> 植物に比較して C<sub>4</sub> 植物は高い光合成能を有することが見出され, 両者の形態的, 生理学的な差異が明らかにされてきた<sup>2, 13, 15)</sup>. PEP case, RuBP case あるいはピルビン酸リン酸ジキナーゼ活性はこの C<sub>4</sub> 植物の光合成の律速要因の 1 つと考えられている<sup>16)</sup>. 暖地型イネ科草種の多くは C<sub>4</sub> 植物に属することから, これら酵素の活性と植物の栄養状態との関係を明らかにすることは, 暖地型イネ科草種の

光合成能, さらに生産性の向上を図る方策を見出す上で重要と考える.

RuBP case の比活性は一般に C<sub>3</sub> 種よりも C<sub>4</sub> 種で高く, さらに, C<sub>4</sub> 植物でも C<sub>4</sub> 酸脱炭酸経路の違いによって RuBP case の比活性が異なること<sup>14)</sup> とが示されている. さらに, RuBP case 活性は光合成能<sup>10)</sup> や葉中の全 N 含有率と高い正の相関がある<sup>3)</sup> との報告がある. 水稻では N 欠乏下で光合成能と RuBP case 活性が明らかに低下すること<sup>6)</sup> や, 暖地型草種の光合成能は葉身の N 含有率の上昇で, ある含有率までは直線的に上昇し, それ以上で飽和型<sup>18)</sup> を示すことなどが明らかにされた.

PEP case 活性については, C<sub>3</sub> 種よりも C<sub>4</sub> 種で高い<sup>4)</sup> こと, 光によって活性化すること<sup>7)</sup> などが報告されている.

しかしながら、PEP case や RuBP case 活性と葉身の無機成分含有率との関連についての報告は少なく、いまだ不明の点が多い。そこで、暖地型草種の両酵素活性に及ぼす培地 N, P, K 濃度の影響を検討し、両酵素活性と葉身の N, P, K 含有率および可溶性蛋白質含有率との関連の検討とその解析を行った。

## 材料および方法

### 栽培方法

暖地型草種のソルガムとシコクビエを供試草種とした。両草種の苗を 66 l 容の水耕培養液槽に移植し、基本培養液で 10 日間栽培した後、培地 N と K 濃度を 0, 2, 10, 50 ppm, また培地 P 濃度を 0, 0.1, 1, 10 ppm の処理を行った。培養液は処理後 4 日毎に交換し、1 日 2 回、0.5 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> あるいは 0.5 N NaOH を用いて pH=5.2 に調節した。試料は各区とも処理後 8~10 日目に採取し、新鮮重、葉面積、クロロフィル含量、可溶性蛋白質含量、PEP case, RuBP case 活性を測定し、一部は 90°C で 2 時間、70°C で 48 時間熱風乾燥後、粉碎し無機成分分析に供した。

### 分析方法

酵素活性：PEP case 活性は MARUYAMA<sup>12)</sup> らの方法、RuBP case 活性は、LORIMER<sup>9)</sup> らの方法を参考にし、より短時間で測定しようという検討した。その結果、新鮮葉を直ちに 5 mm 以下に細く切り刻み、2 g を大型試験管に採取し、0.5 mM DTT, 0.2 M Tris-塩酸緩衝液、2 mM EDTA-Na, 40 mM アスコルビン酸 Na を含む pH=7.8 の酵素抽出液 20 ml を加え、Polytron-Ultra-Turrax で 4°C 以下で 15 秒間隔で 60 秒間磨砕し、80 μm のナイロンネットでろ過し、10,000 G で 15 分間遠心分離した後、上澄液を粗酵素液とした。この粗酵素液を両酵素活性と可溶性蛋白質の測定に供した。

RuBP case 活性；RuBP case 活性は、全溶液量約 0.5 ml 中に最終濃度で 200 mM Tris-塩酸緩衝液 (pH 7.8), 10 mM · MgCl<sub>2</sub>, 50 mM · NaH<sup>14</sup>C<sub>3</sub>O<sub>3</sub> (0.2 μCi/μmol), 1 mM RuBP を含む反応液中で測定した。反応は RuBP の添加で開始し、2 分間とし、6 N HCl · 200 μl を加えて終了させた。その後 N<sub>2</sub> ガスを導入して未反応の NaH<sup>14</sup>C<sub>3</sub>O<sub>3</sub> を反応液より追出した後、固定した <sup>14</sup>C を液体シンチレーションカウンターにより測定した。

PEP case 活性；PEP case 活性は全溶液量約 0.5 ml 中に最終濃度で、200 mM Tris-塩酸緩衝液 (pH 7.8), 10 mM · MgCl<sub>2</sub>, 50 mM · NaH<sup>14</sup>C<sub>3</sub>O<sub>3</sub> (0.2 μCi/μmol), 4 mM · NaOH, 8 mM · PEP および 32 unit のリンゴ酸脱水素酵素を含む反応液中で測定した。反応

は PEP の添加で開始し、2 分間とし、6 N HCl 200 μl を加えて終了させ、RuBP case 活性の場合と同様の方法で固定 <sup>14</sup>C を測定した。なお、両酵素活性測定の際、粗酵素液の代りに H<sub>2</sub>O を用いて同様の操作を行い、検出された <sup>14</sup>C 量を前述の <sup>14</sup>C 固定量より差引いた。

葉面積、クロロフィルおよび可溶性蛋白質含量：葉面積は林電光の葉面積計により測定し、クロロフィルは 80% アセトン抽出法で定量した。可溶性蛋白質含量は Lowry<sup>9)</sup> らの方法によりウシ血清アルブミンを Standard として用い測定した。

無機成分含有率：N はケルダール法、P は硫酸モリブデン法、K は炎光分析法により定量した。

## 実験結果

### 1. 培地 N 濃度の影響

#### 1) 器官乾物重および葉部の無機成分含有率

器官乾物重は培地 N 濃度の上昇に伴って、ソルガムでは葉、莖、根部ともに顕著に増加し、シコクビエでは葉部で特に増加し、その増加割合はソルガムよりも大きかった (表 1)。また培地 N 濃度の上昇に伴って、葉部の P, K 含有率は両草種ともに大きく変動せず、N 含有率はソルガムでは 1.15 から 3.51 D.M. % に、シコクビエでは 1.44 から 4.32 D.M. % へと顕著に上昇した (表 1)。

#### 2) 葉部の新鮮重、単位葉重当り葉面積、可溶性蛋白質およびクロロフィル含量

葉部の新鮮重は培地 N 濃度の上昇に伴って、両草種とも顕著に増加し、その増加割合はソルガムよりもシコクビエで大きかった。単位葉重当りの葉面積は培地 N 濃度の上昇によって両草種ともわずかに低化した。また、培地 N 濃度の上昇に伴って、可溶性蛋白質含量は両草種とも 10 ppm N 区まで顕著に、10 ppm N から 50 ppm N 区でわずかに上昇し、クロロフィル含量はソルガムでは 2 ppm N 区まで上昇し、2 ppm N 区から 50 ppm N 区で一定となり、シコクビエでは 50 ppm N 区まで顕著に上昇した (表 2)。

#### 3) PEP case および RuBP case 活性

単位葉面積当りの PEP case 活性は、培地 N 濃度の上昇に伴って両草種とも顕著に上昇し、その上昇率はソルガムよりシコクビエで大きかった。一方、単位葉面積当りの RuBP case 活性は、培地 N 濃度の上昇に伴って、両草種とも 30 から約 75 μmol CO<sub>2</sub>/dm<sup>2</sup>/min へと顕著に上昇した (表 3)。

### 2. 培地 P 濃度の影響

#### 1) 器官乾物重と葉部の無機成分含有率

表1 ソルガムとシコクビエの乾物重、葉部の N, P, K 含有率に及ぼす培地 N, P, K 濃度の影響

培地濃度 (ppm)	乾物重 (g/個体)			葉部の無機成分含有率 (% in DM)		
	葉	茎	根	N	P	K
ソルガム N-0	5.7	3.2	6.1	1.15	0.58	2.98
2	7.5	4.6	6.8	1.65	0.47	3.16
10	9.7	5.5	7.3	2.82	0.73	3.67
50	19.5	10.3	12.1	3.51	0.54	3.21
シコクビエ N-0	1.2	0.9	1.3	1.44	0.62	4.26
2	6.9	5.1	7.1	1.42	0.74	4.06
10	7.5	3.8	3.8	2.20	0.70	4.84
50	12.5	4.3	5.3	4.32	0.60	4.32
ソルガム P-0	5.9	3.8	5.7	4.09	0.20	3.10
0.1	4.2	2.4	4.1	4.04	0.23	3.13
1	6.2	3.8	5.3	4.32	0.29	3.44
10	6.1	3.4	3.9	4.49	1.87	3.66
シコクビエ P-0	11.2	6.1	7.1	4.32	0.27	5.44
0.1	16.3	11.3	10.8	4.34	0.29	5.14
1	16.1	9.6	10.3	4.93	0.55	4.86
10	13.5	9.6	6.6	4.76	2.25	5.17
ソルガム K-0	3.2	1.6	2.0	4.27	2.20	0.81
2	3.5	1.8	2.5	5.28	1.75	1.49
10	4.0	2.8	2.5	6.03	1.49	2.72
50	3.1	2.2	2.1	6.06	1.15	3.77
シコクビエ K-0	3.9	2.1	1.9	6.17	1.36	1.29
2	4.1	2.3	1.9	5.74	1.31	2.03
10	4.7	2.5	2.2	5.61	1.33	3.79
50	5.0	3.1	2.6	5.30	1.28	4.81

器官乾物重は培地 P 濃度の上昇に伴って、葉、茎、根ともにソルガムの 0, 0.1 ppm P 区、シコクビエの 0, 10 ppm P 区で低い値を示した以外は両草種とも大きく変動しなかった。また、葉部の無機成分含有率は培地 P 濃度の上昇に伴って、両草種ともに N, K 含有率ではほとんど変動せず、P 含有率では 1 ppm P 区までわずかに上昇し、10 ppm P 区で著しく高い値を示した (表 1)。

## 2) 葉部の新鮮重、単位葉重当り葉面積、可溶性蛋白質およびクロロフィル含量

ソルガムの 0.1 ppm P 区とシコクビエの 0 ppm P 区で葉部の新鮮重が低かった以外は、培地 P 濃度の上昇に伴って、両草種の葉部新鮮重、単位葉重当り葉面積、可溶性蛋白質およびクロロフィル含量には大きな変動が見られなかった (表 2)。

## 3) PEP case および RuBP case 活性

単位葉面積当りの PEP case 活性は、培地 P 濃度の上昇に伴って、両草種とも 1 ppm P 区まで上昇し、その割合はシコクビエで顕著であった。それに対し、単位葉面積当りの RuBP case 活性は、培地 P 濃度の上昇に伴って、ソルガムでは 1 ppm P 区まで、シコクビエ

では 0.1 ppm P 区までわずかに上昇した (表 3)。

## 3. 培地 K 濃度の影響

### 1) 器官乾物重と葉部の無機成分含有率

器官乾物重は培地 K 濃度の上昇に伴って、ソルガムでは 10 ppm K 区まで、シコクビエでは 50 ppm K 区までわずかに増加した。また、培地 K 濃度の上昇に伴って、ソルガムでは葉部の K 含有率は顕著に上昇し、N 含有率はわずかに上昇し、P 含有率はわずかに低下したのに対して、シコクビエでは葉部の K 含有率は顕著に上昇し、N 含有率はわずかに低化し、P 含有率は変動しなかった (表 1)。

### 2) 葉部の新鮮重、単位葉重当り葉面積、可溶性蛋白質およびクロロフィル含量

葉部新鮮重は培地 K 濃度の上昇に伴って、ソルガムでは 10 ppm K 区まで、シコクビエでは 50 ppm K 区まで増加した。また、培地 K 濃度の上昇に伴って、単位葉重当りの葉面積は両草種とも変動せず、可溶性蛋白質含量はソルガムの 0 ppm K 区で低かった以外は大きく変動しなかったのに対して、クロロフィル含量は両草種とも 10 ppm K 区まで増加した (表 2)。

### 3) PEP case および RuBP case 活性

表 2 ソルガムとシコクビエの葉部新鮮重; 葉面積, 可溶性蛋白質, クロロフィル含量に及ぼす培地 N, P, K 濃度の影響

培地N濃度 (ppm)	葉部新鮮重 (g/個体)	葉面積 (cm <sup>2</sup> /gF.W)	可溶性蛋白質		クロロフィル含量 (mg/gF.W)	
			(mg/gF.W)	(mg/dm <sup>2</sup> )		
ソルガム N-0	25.1	57.7	4.2	7.3	0.53	
	2	36.1	55.1	4.5	8.2	1.01
	10	53.5	54.4	8.0	14.7	1.08
	50	116.2	48.7	9.9	20.3	1.26
シコクビエ N-0	11.9	52.2	5.0	9.6	0.70	
	2	51.0	43.4	6.1	14.1	0.74
	10	55.6	44.3	7.5	16.9	1.09
	50	90.6	41.1	8.0	19.5	1.59
ソルガム P-0	42.1	56.5	7.5	13.3	1.09	
	0.1	30.0	55.6	6.4	11.5	1.29
	1	45.9	48.9	7.4	15.1	1.08
	10	45.9	52.9	6.5	12.3	1.58
	シコクビエ P-0	107.7	40.7	10.6	26.0	1.49
シコクビエ P-0	0.1	123.5	39.9	10.5	26.3	1.04
	1	127.8	39.1	10.9	27.9	1.48
	10	121.6	40.3	11.3	28.0	1.29
	シコクビエ K-0	25.0	67.9	10.7	15.8	0.79
ソルガム K-0	2	27.3	63.5	13.1	20.6	1.19
	10	31.2	60.8	11.7	19.2	1.29
	50	24.6	63.3	13.5	21.3	0.98
	シコクビエ K-0	32.7	41.5	12.6	30.4	0.97
シコクビエ K-0	2	33.9	45.2	12.3	27.2	1.19
	10	38.8	39.4	12.0	30.5	1.43
	50	42.4	41.9	12.9	30.8	1.30

単位葉面積当りの PEP case 活性は, 培地 K 濃度の上昇に伴って, ソルガムでは 2 ppm K 区まで, シコクビエでは 10 ppm K 区まで上昇し, この上昇率はシコクビエで顕著であった。

単位葉面積当りの RuBP case 活性は両草種とも 2 ppm K 区まで培地 K 濃度の上昇により上昇した (表 3)。

## 考 察

PEP case および RuBP case 活性は単位葉重当り<sup>1)</sup>, 単位酵素蛋白質量当り<sup>14)</sup>, 単位葉面積当り<sup>3,6)</sup>, さらに単位クロロフィル量当り<sup>10)</sup>とその表示法によって大きく異なる場合があるので, 目的によって活性の表示を選択する必要がある。例えば, N 欠乏下の水稻で明らかに RuBP case 活性が低化すること<sup>9)</sup>を光合成能との関連で表現するためには, RuBP case を単位葉面積当りの活性で示するのが妥当である。

さらに, この活性低化が酵素蛋白質含量の減少あるいは単位酵素蛋白質当り活性の低化のどちらかに起因するかを判断することが重要である。そこで本実験では, 酵素活性を単位葉面積当りで表示し, その内容を単位葉面

積当りの可溶性蛋白質量 (以下蛋白質量) と単位可溶性蛋白質量当りの酵素活性 (以下蛋白質当り活性) とに解析して考察する。

### 1. 両酵素活性と葉の N, P, K 含量との関連

培地の N, P, K 濃度をそれぞれ上昇させると, ソルガムとシコクビエの葉部の当該元素含有率が上昇し, それら以外の無機元素含有率の変動は小さかった (表 1)。従って, 両酵素活性の培地 N, P, K 濃度の上昇に伴う変動は葉身中の各元素含有率によって影響されたと判断できる。そこで, 両酵素活性と葉身の N, P, K 含量の関係を単位葉面積当りの値を用いて検討した。

まず, 葉身 N 含量と両酵素活性との関係についてみると, ソルガムとシコクビエの PEP case および RuBP case 活性は葉身 N 含量の増加に伴って, PEP case 活性ではゆるやかに, RuBP case 活性では顕著に上昇した。さらに, これらの活性が上昇する要因を蛋白質量と蛋白質当りの活性とに解析すると, 両酵素とも主として蛋白質量の著しい増加に起因していた。また, PEP case 活性の上昇がゆるやかであったのは, 葉身 N 含量の増加に伴って蛋白質当りの活性が低化したためであ

表3 ソルガムとシコクビエの PEP-, RuBP カルボキシラーゼ活性に  
及ぼす培地 N, P, K 濃度の影響

培地濃度 (ppm)	カルボキシラーゼ活性					
	PEP	RuBP	PEP	RuBP		
	$\mu\text{mol CO}_2/\text{dm}^2/\text{min}$		$\mu\text{mol CO}_2/\text{mg prot}/\text{min}$			
ソルガム N-	0	106.7	29.9	14.60	4.10	
	2	113.8	39.2	13.90	4.78	
	10	123.5	56.6	8.40	3.85	
	50	138.6	73.0	6.83	3.60	
シコクビエ N-	0	81.5	30.7	8.49	3.20	
	2	106.4	40.4	7.55	2.87	
	10	107.3	59.4	6.35	3.96	
	50	121.8	77.2	6.25	3.96	
ソルガム P-	0	100.4	23.7	7.55	1.78	
	0.1	109.0	38.7	9.48	3.37	
	1	119.8	55.6	7.93	3.68	
	10	100.0	28.2	8.13	2.29	
	0	60.4	55.3	2.32	2.13	
	0.1	105.3	72.7	4.00	2.76	
	1	161.4	72.1	5.78	2.58	
	10	124.6	108.7	4.45	3.88	
	ソルガム K-	0	83.7	21.9	5.30	1.39
		2	91.3	42.7	4.43	2.07
10		94.9	54.3	4.94	2.83	
50		81.4	54.5	3.82	2.56	
0		63.1	52.8	2.08	1.74	
2		109.7	81.4	4.03	2.99	
10		140.4	65.7	4.60	2.15	
50		122.0	62.5	3.96	2.03	

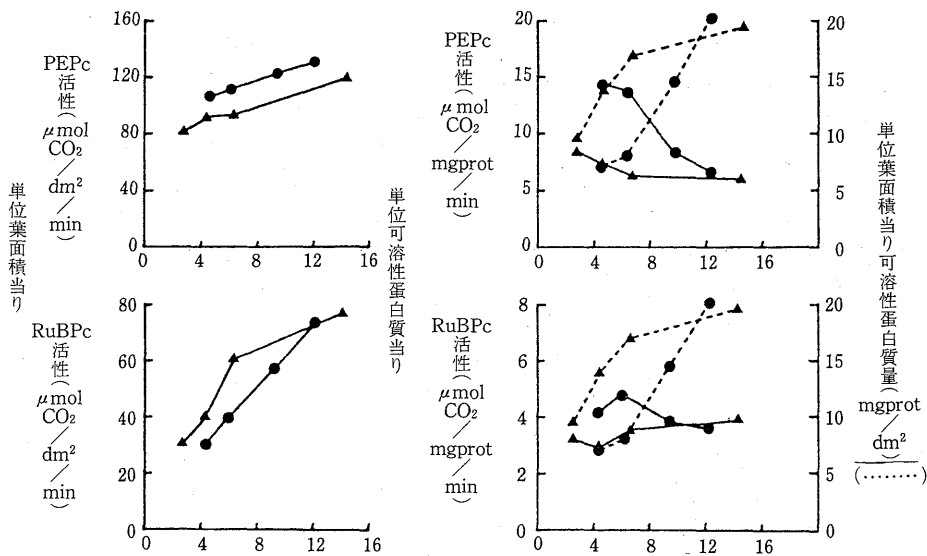


図1. ソルガム (●) とシコクビエ (▲) の PEP Case および RuBP Case 活性と葉身 N 含量との関連

った(図1)。

葉の P 含量との関係についてみると、葉身 P 含量の増加に伴って、ソルガムでは、PEP case 活性はほぼ一定値を示し変わらず、RuBP case 活性は約 1.0 mg P/dm<sup>2</sup> まで急上昇し、それ以上の濃度では減少した。シコクビエでは PEP case は約 2.0 mg P/dm<sup>2</sup>、RuBP case は約 1.0 mg P/dm<sup>2</sup> まで上昇し、それより高い P 含量で PEP case は徐々に減少したのに、RuBP case は徐々に増加した。シコクビエにおける変動の要因は主

として、蛋白質当り活性の上昇に起因しており、蛋白質量の変動は小さかった(図2)。ソルガムの RuBP case 活性は、最大値に達した後、高 P 含量下で再び低化した。この場合もその変化に対応した蛋白質当りの活性の変動がみられた。以上のことから、ソルガムの PEP case 活性を除いては、両酵素とも特に葉身の P 含量が低レベルの比較的狭い範囲で蛋白質当り活性の変動によって、単位葉面積当りの活性が変動すると考えられる。

葉身 K 含量との関係についてみると、RuBP case

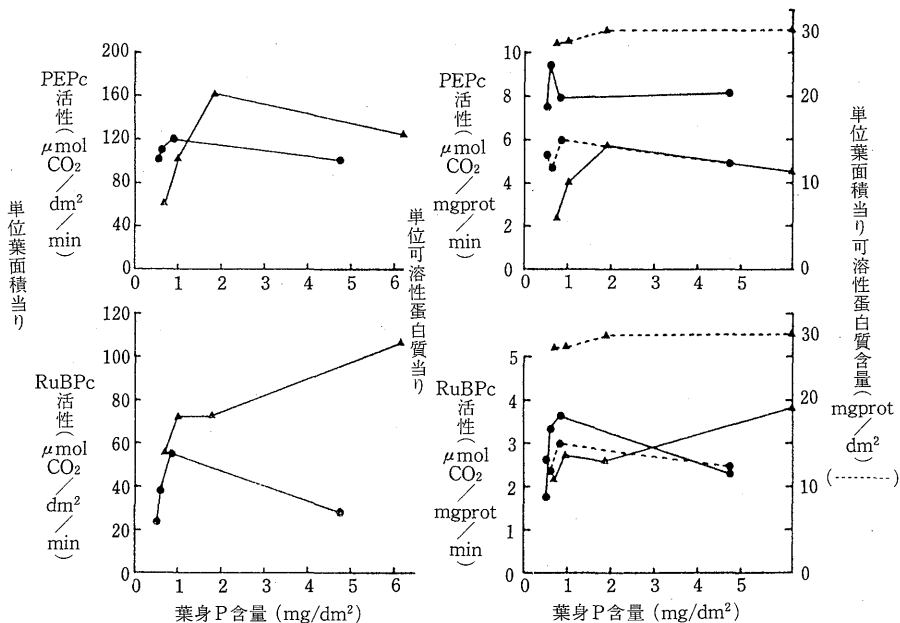


図2. ソルガム(●)とシコクビエ(▲)の PEP Case および RuBP Case 活性と葉身 P 含量との関連

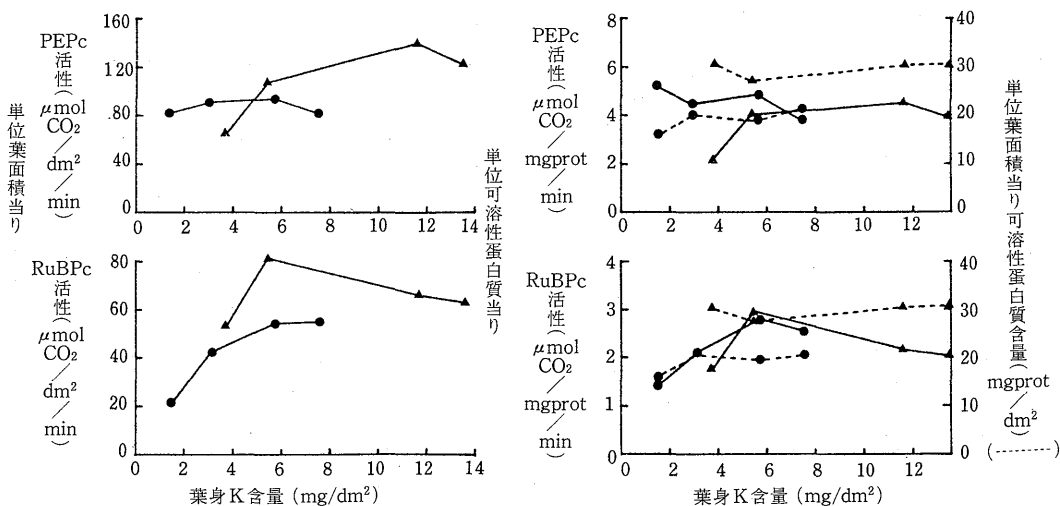


図3. ソルガム(●)とシコクビエ(▲)の PEP Case および RuBP Case 活性と葉身 K 含量との関連

活性は、ソルガム、シコクビエともに、葉身 K 含量の増加に伴って、約  $6 \text{ mg K/dm}^2$  まで比較的ゆるやかに上昇したのに対し、PEP case は、シコクビエでわずかに上昇したが、ソルガムではほとんど変動しなかった(図 3)。この変動要因は、主に蛋白質当り活性の変動に起因した。ただし、ソルガムの  $3 \text{ mg K/dm}^2$  以下と低 K 含量下では蛋白質量の低下もその 1 要因となる可能性がある。このように、K は P に比べて  $6 \text{ mg K/dm}^2$  付近までは葉身 K 含量の増加とともに比較的ゆるやかに酵素活性が上昇する点で異っている。

以上の結果を総合すると、PEP case および RuBP case 活性に及ぼす葉身の N, P, K 含量の影響には、RuBP case に対する P の影響を除いてはソルガム、シコクビエ間で大差ないと判断される。しかしながら、両酵素に与える影響はこれら元素間で異なっている。すなわち、酵素活性は N の場合には含量の変動に伴い広範囲にわたって変動するのに対し、P の場合は低濃度域の極めて狭い含量の範囲内で大きく変動し、また、N は蛋白質量と蛋白質当り活性の両者を通じて酵素活性に影響を与える一方、P, K は主に蛋白質当り活性の変動によって酵素活性に影響を与える。この差は、N が酵素蛋白質の構成元素である点で P, K とは異なることから理解できる。

## 2. 蛋白質量と蛋白質当り酵素活性との関連

蛋白質量と蛋白質当り酵素活性との関係をさらに検討するため、培地 N, P, K 濃度処理の結果を一括して図 4 に示した。蛋白質当りの PEP case 活性は葉の蛋白質量の増加に伴って  $20 \text{ mg/dm}^2$  までは顕著に低下し、

それより高い含量下では一定となるのに対し、蛋白質当りの RuBP case 活性は、ソルガムの低濃度の場合を除けば葉の蛋白質量にかかわらず、変動巾は大きいもののほぼ一定の値を示した。これは単位葉面積当りの酵素活性が RuBP case では蛋白質量に支配される面が強いことを示している。これに対し、PEP case では蛋白質量が減少すると、蛋白質当り活性を高めることによって補償するものと考えられる。イネの全可溶性蛋白質に占める RuBP case 蛋白質量の割合は、葉の老化によって低下するが窒素供給量には影響されないとの報告<sup>13)</sup>や、トウモロコシでは、RuBP case の可溶性蛋白質に占める割合は窒素供給が少ない場合にわずかに上昇することを除けば、窒素供給や温度、光条件にもほとんど影響されないのに対して、PEP case の可溶性蛋白質に占める割合は、適温、強光下で培地窒素の濃度の上昇に伴い顕著に上昇することや、この上昇割合は温度や光条件によって変化すること<sup>17)</sup>が報告されている。従って、可溶性蛋白質当りで表示した RuBP case の傾向は、酵素蛋白質当りの場合とほぼ同様と判断できる。しかし、PEP case において、蛋白質量が減少すると、蛋白質当り活性が上昇する要因が、ソルガムやシコクビエにおいても酵素蛋白質当りの顕著な上昇に起因するの否か、また、その要因の解析については今後の研究課題である。

## 引用文献

- 1) BHASKARAN, S., R.H. SMITH, and J.J. FINER; Ribulose-Bisphosphate Carboxylase Activity in Anther-Derived Plants of *Saintpaulia ionantha* Wendl. *Shag. Plant Physiol*, **73**, 639-642 (1983).
- 2) BROWN, R.H.; A Difference in N Use Efficiency in  $C_3$  and  $C_4$  Plants and Its Implications in Adaptation and Evolution, *Crop. Sci.*, **18**, 93-98 (1978).
- 3) EVANS, J.R. and J.R. SEEMANN; Differences between Wheat Genotypes in Specific Activity of Ribulose-1, 5-Bisphosphate Carboxylase and the Relationship to photosynthesis, *Plant Physiol*, **74**, 759-765 (1984).
- 4) HOLADAY, A.S. and C.C. BLACK; Comparative Characterization of Phosphoenolpyruvate Carboxylase in  $C_3$ ,  $C_4$  and  $C_3-C_4$  Intermediate *Panicum* Species, *Plant Physiol*, **67**, 330-334 (1981).
- 5) 石井龍一, 村田吉男;  $C_3$ ,  $C_4$  植物の光合成, 日作紀, **47**, 165-188 (1978).
- 6) 榎木信幸, 坂齊, 秋田重誠; 水稻の光合成及びカルボキシラーゼ, オキシゲナーゼ活性に及ぼす窒素, リン, カリ欠乏の影響, 日作紀, **48**, 378-384 (1979).
- 7) KARABOURNIOTIS, G., Y. MANETAS. and N.A. GAVALAS; Photoregulation of Phosphoenolpyruvate Carboxylase in *Salsola soda* L. and Other  $C_4$  Plants,

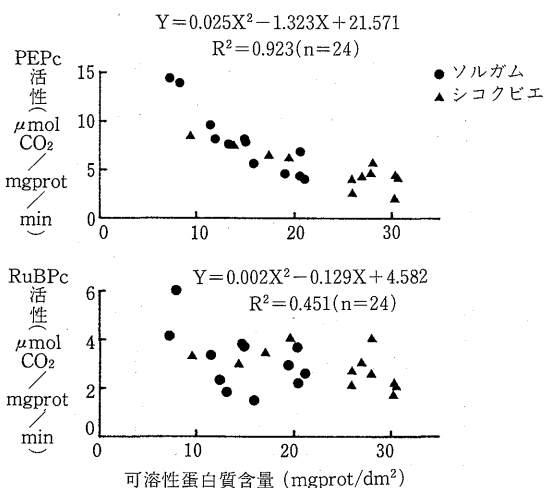


図 4. PEP Case および RuBP Case 活性と可溶性蛋白質含量との関連



- Plant Physiol*, **73**, 735-739 (1983).
- 8) LORIMER, G.H., M.R. BADGER, and T.J. ANDREWS; D-Ribulose-1, 5-Bisphosphate Carboxylase-Oxygenase, *Anal Biochem*, **78**, 66-75 (1977).
  - 9) LOWRY, O.H., N.J. ROSEBROUGH, A.L. FARR and R.J. RANDALL; Protein Measurement with Folin Phenol Reagent, *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275 (1951).
  - 10) MAKINO, A., T. MAE, and OHIRA, K.; Photosynthesis and Ribulose-1, 5-Bisphosphate Carboxylase in Rice Leaves, *Plant Physiol*, **73**, 1002-1007 (1983).
  - 11) MAKINO, A., MAE, T. and OHIRA, K.; Relation between Nitrogen and Ribulose-1, 5-Bisphosphate Carboxylase from Emergence through Senescence. *Plant Cell Physiol*, **24**, 429-437 (1984).
  - 12) MARUYAMA, H., R.L. EASTERDAY., H.C. CANG, and M.D. LANE; The Enzymatic Carboxylation of Phosphoenolpyruvate, *J. Biol. Chem.*, **241**, 2405-2412 (1966).
  - 13) 村田吉男; C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, CAM 植物の分類と生産性. 農業技術, **35**, 1-7, 49-55 (1980).
  - 14) SEEMANN, J.R., M.R. BADGER, and J.A. BERRY; Variations in the Specific Activity of Ribulose-1, 5-Bisphosphate Carboxylase between Specied Utilizing Differing Photosynthetic Pathways, *Plant Physiol*, **74**, 791-794 (1984).
  - 15) 杉山達夫; 総説, 光, 温度と C<sub>4</sub> 光合成酵素, 農化誌, **52**, R 155-R 166 (1978).
  - 16) 杉山達夫; 植物酵素, 蛋白質研究法, 蛋白質, 核酸, 酵素 (別冊), 243-248, 405-409 (1975).
  - 17) SUGIYAMA, T., MIZUNO, M and HAYASHI, M.; Partitioning of Nitrogen among Ribulose-1, 5-bisphosphate Carboxylase/Oxygenase, Phosphoenolpyruvate Carboxylase, and Pyruvate Orthophosphate Dikinase as Related to Biomass Productivity in Maize Seedlings, *Plant Physiol*, **75**, 665-669 (1984).
  - 18) 館野宏司, 飯田克実; 数種の暖地型牧草における個葉光合成と窒素栄養の関係, 日草誌, **24**, 203-209 (1978).
  - 19) VU, C.V., L.H. ALLEN, JR., and G. BOWES; Effects of Light and Elevated Atmospheric CO<sub>2</sub> on the Ribulose-Bisphosphate Carboxylase Activity and Ribulose-Bisphosphate Level of Soybean Leaves; *Plant Physiol*, **73**, 729-734 (1983).

(昭和 61 年 6 月 30 日)

Studies on Interaction between Carbon and Nitrogen  
Metabolism in C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> Plants

2. Effects of N, P, K concentration in leaves of warm-season grasses on ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase and phosphoenolpyruvate carboxylase activities.

Shoitsu OGATA, Kenji KOUNO, Aiko ISHIKAWA and Konosuke FUJITA

Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University, Fukuyama, 720

Summary

Greenhouse experiments were conducted to investigate the relationships between ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase (RuBPCase) and phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPCase) activities per unit leaf area of warm-season grasses and N, P, K contents of leaves.

Sorghum (*Sorghum vulgare* PERS, cv. Sweet Sioux IV) and African millet (*Eleusine coracana*, GAERTN, cv. Snow Brand) were cultivated in cultural solution with 4 levels of N, P, K concentration. RuBPCase and PEPCase activities per unit leaf area and the contents of N, P, K and soluble protein in leaves were measured at selected time after planting. In order to analyze the activity of enzyme per unit leaf area, it was expressed as the product of soluble protein content per unit leaf area and the enzyme activities per unit soluble protein.

1) RuBPCase and PEPCase activities of Sorghum and African millet increased with increasing N contents of leaves. This increase was not due to the increase of enzyme activity per unit soluble protein which was rather decreased with increasing N content, but to the increase of soluble protein per unit leaf area.

2) The activities of these enzyme per unit leaf area increased with increasing P contents of leaves at the range of 0-2.0 mgP/dm<sup>2</sup> in PEPCase of African millet, and at the range of 0-1.0 mgP/dm<sup>2</sup> in RuBPCase of both grasses.

Activities of these enzyme per unit leaf area increased with increasing K contents of leaves at the range of 0-11 mgK/dm<sup>2</sup> in PEPCase of African millet, and at the range of 0-6 mgK/dm<sup>2</sup> in RuBPCase of both grasses. And these increase of activity were mainly due to the increase of activity of enzyme per unit soluble protein. The protein contents per unit leaf area were kept almost stable.

3) Significant negative correlations were found between the activity of enzyme per unit protein and protein contents per unit leaf area.

These results indicate that RuBPCase and PEPCase activities per unit leaf area of Sorghum and African millet are limited by the decrease of soluble protein contents in case of low N contents, and by the decrease of activity per unit soluble protein in both cases of low P (below 2.0 mg/dm<sup>2</sup>) and low K (below 10 mg/dm<sup>2</sup>) contents in leaves.

**Key words :** ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase, phosphoenol-pyruvate carboxylase, enzyme activity, mineral nutrients.