熊本県産天然アサクサノリ配偶体の光合成に対する光と温度の影響

渡邉裕基¹·Gregory N. Nishihara²·寺田竜太^{1*}

1 鹿児島大学水産学部 (〒890-0056 鹿児島県鹿児島市下荒田4丁目 50-20)

²長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科附属環東シナ海環境資源研究センター(〒 851-2213 長崎県長崎市多以良町 1551-7)

Yuki Watanabe¹, Gregory N. Nishihara² and Ryuta Terada^{1*}: The effect of irradiance and temperature on the photosynthesis of a red alga, *Pyropia tenera* (=*Porphyra tenera*), from a natural community in Kumamoto, Japan. Jpn. J. Phycol. (Sôrui) 61: 141–148, November 10, 2013

The effect of irradiance and temperature on the photosynthesis of a red alga, *Pyropia tenera*, was determined for the natural gametophytes collected from Yatsushiro Bay, Kyushu, Japan. Photosynthesis was measured using both pulse-amplitude modulated fluorometry (PAM) and dissolved oxygen sensors. A model of the net photosynthesis-irradiance (*P-E*) relationship at 12 °C revealed that the net photosynthetic rate quickly increased at irradiances below the estimated saturation irradiance of 71.9 μ mol photon m⁻² s⁻¹, and the compensation irradiance was 36.3 μ mol photons m² s⁻¹. Gross photosynthesis and dark respiration were also determined over a range of temperatures (6–34 °C), revealing that the gross photosynthetic rate was highest (61.7 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹ °C⁻¹ at 6 °C to -25.2 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹ °C⁻¹ at 6 °C to -25.2 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹ at 34 °C. The highest value of the maximum quantum yield (Fv/Fm) occurred at 14.8 °C. Seawater temperature near the study site in Yatsushiro Bay during November 2010 through May 2011 ranged from 11.7 °C on January 31 to 23.0 °C on November 1.

Key Index Words: Algae, Photosynthesis, Pulse amplitude modulated (PAM)-chlorophyll fluorometry, Pyropia tenera, Temperature

¹Faculty of Fisheries, Kagoshima University, Shimoarata 4-50-20, Kagoshima, Kagoshima Prefecture 890-0056, Japan

² Institute for East China Sea Research, Graduate School of Fisheries Science and Environmental Studies, Nagasaki University, Taira-machi 1551-

7, Nagasaki, Nagasaki Prefecture 851-2213, Japan

* Author for correspondence: terada@fish.kagoshima-u.ac.jp

緒言

アサクサノリ Pyropia tenera (Kjellman) Kikuchi et al. (= Porphyra tenera Kjellman) はウシケノリ科アマノリ属の一種 で(Iwasaki 1961, 黒木 1961, Sutherland et al. 2011), 北海 道から九州にかけての沿岸と朝鮮半島に分布する東アジア固 有種である(吉田 1993)。本種の和名でもある「浅草海苔」 は海苔の代名詞としても用いられており,以前は主要な養 殖対象種として栽培・摘採されていた(菊地 2012)。しか し,選抜育種されたナラワスサビノリ Pyropia yezoensis f. narawaensis Miura やオオバアサクサノリ Pyropia tenera var. tamatsuensis Miura の方が大型になることや,製品時に 黒色の艶を持つこと,波浪等に強いことから,アサクサノリ は一部の養殖場を除いて用いられなくなった(Miura 1988, 菊地 2012)。

本種は内湾や河口の潮間帯において、ヨシ Phragmites australis (Cav.) Trin. ex Steud. や牡蠣殻, 杭などに生育する (吉田 1998, 能登谷 2004, Niwa et al. 2005)。しかし, 生 育地が沿岸域の埋め立てや河口の改変などで減少し, 現在で は環境省が定めるレッドリストで絶滅危惧 I 類 (CR+EN) に記載されている(第4版, 環境省 2012)。確認されている 生育地は国内で 40ヵ所未満と報告されており(菊地・二羽 2006, 菊地ら 2012, 大西ら 2013), 沿岸環境の変化や改変 による生育地のさらなる減少も危惧される。

本種の分布南限は九州南部であり、当地域では熊本県南部

や鹿児島県本土に生育地が数カ所確認されている(寺田 2011, 菊地ら 2012)。また,鹿児島県出水市福ノ江には本種(野口だね) を養殖する海苔養殖場があり,当地は日本最南端の海苔養殖と しても知られている(新村 2000,新村・田中 2008)。

アサクサノリの生活史や生理生態に関する知見の多くは 1950年代から1960年代に報告されているが、これらの材料は関東や東北地方の個体群であり、養殖や利用を目的とした研究であった(Iwasaki 1961, Iwasaki & Matsudaira 1956, Kurogi & Hirano 1956, 齋藤 1956, 竹内ら 1956, Dring 1967,下茂・中谷 1969)。一方,九州南部に生育す るアサクサノリの生理生態に関する知見はほとんどない。特に、アマノリ類の光合成活性に対する光や温度の影響に関す る知見は、生育地の保全や温暖化等の影響を考える場合に重 要だが、光合成に関する知見の多くもナラワスサビノリ等の 養殖品種に限られている(e.g. Satomi *et al.* 1968, Tajiri & Aruga 1984)。九州南部のアサクサノリ個体群の保全や養殖 に適した水温・光環境の知見を蓄積するためにも、本種の生 理生態、特に生長や光合成に対する水温や光の影響を把握す ることが求められている。

大型藻類や海産顕花植物の光合成活性の測定は、プロダク トメーターや酸素電極などが広く用いられているが、近年で はパルス変調クロロフィル蛍光法も用いられるようになって きた (Ralph & Burchett. 1995, Ralph *et al.* 1998, Ralph & Gademann 2005, 土屋ら 2012, Lideman *et al.* 2013)。 本方法の原理は、光化学系IIに光エネルギーを与えた際に、 光化学反応に利用されないエネルギーが熱ならびに蛍光エネ ルギーとして放出されることを利用したものである。具体的 には、葉に光を照射する前後の蛍光強度の比から、光化学系 IIにおける化学反応のエネルギー消費量を求め、光合成速度 を推定する(佐藤ら 2002, 園池 2009)。

アマノリ類に対するパルス変調クロロフィル蛍光法に関す る報告は乾燥ストレスに対する応答等の報告があるが (Lin et al. 2009, Wang et al. 2011),日本産種に関する報告はな く,九州南部の個体群については酸素発生速度による光合成 速度や呼吸に関する知見も欠けている。本研究では,八代海 に生育するアサクサノリ天然個体群の配偶体の光合成特性に 及ぼす水温と光の影響を酸素電極法とパルス変調クロロフィ ル蛍光測定法を用いて明らかにし,生育地の冬季水温環境と 併せて考察することを目的とした。

材料および方法

採集地と材料

材料には、2013年3月12日に熊本県葦北郡芦北町田浦



Fig. 1. Map showing the collection site of *Pyropia tenera* (closed circle), Kyushu Island, Japan. The open square indicates the location of the Kagoshima University Marine Station.

(32°21'16" N, 130°30'22" E, Fig. 1) で採取されたアサ クサノリの配偶体約 30 個体を用いた。なお,この採取地は 菊地ら (2012) が報告した熊本県芦北町田浦のアサクサノ リ生育地と同一の場所である。採集後,材料を海水に浸した 状態でクーラーボックスに保存し,採集時の水温 (約 14°C) を概ね維持しながら,直ちに鹿児島大学水産学部に持ち帰っ た。研究室では,滅菌濾過海水(塩分 33 psu)を満たした 1,000 mLのビーカーに配偶体を数個体ごと入れ,インキュ ベーター (MTI-201,東京理化器械)内で水温 12°C,光量 90 μ mol photons m⁻² s⁻¹,明暗周期 12L:12D で 12 時間以上 予備培養を行った。

光合成の測定に際しては、縁辺や基部、老成部分以外の葉 状部から無作為に組織片を複数切り出し、ひとつの反応容器 内の材料が湿重量で約 260 mg になるように調整した。また、 切断による光合成活性や呼吸への影響を避けるため、組織 片を切り出した後に 12 時間以上馴致した(Muraoka *et al.* 1998, Serisawa *et al.* 2001)。

酸素電極法を用いた光合成活性

光合成測定は、土屋ら(2012)、河野ら(2012)、Terada et al. (2013)の実験方法に準じて以下の方法とした。実験 には酸素電極とDOメーター(BOD 5905、Model 58 と 5100、YSI)を用い、単位時間当たりの酸素発生量および呼 吸消費量を求めた。反応容器には滅菌濾過海水を満たした約 100 mL の BOD ボトルを用い、葉の組織片を入れて密閉し、 実験を行った。また、測定時には、酸素電極に付属のスター ラーで反応容器内の海水が一定速度で攪拌されるようにし た。反応容器は恒温水循環装置(Coolnit CL-600R、Taitec) を取り付けたウオーターバス(ガラス水槽)内に設置し、水 温を調節しながら実験を行った。光源にはメタルハライドラ ンプ(ML-70、Rei-Sea, Nishihara et al. 2004)を装填し た照明装置(LUC-150、Rei-Sea)を使用した。

異なる水温条件下における光合成活性の測定では、光合成・ 光曲線(*P-E* Curve,下記実験)の飽和光量(E_k)よりも強 い光量(200 μ mol photons m⁻² s⁻¹)で行い、水温を6,10, 14,18,22,26,30,34°Cの6条件で測定した。実験に 際しては各水温条件で30分以上試料を馴致させ、光合成速 度をそれぞれ5個の反応容器で同時に測定した。また呼吸速 度では、暗条件で30分以上馴致させた後、純光合成速度と 同じ水温条件と測定時間、反応容器数で測定した。

光合成・光曲線を得るための実験では,水温を12°C,光量 を0,30,60,100,150,200,250,500 μmol photon m⁻² s⁻¹ の条件で,異なる水温条件下における光合成活性の測定と同じ測定時間,反応容器数,方法で行った。

クロロフィルaの定量

クロロフィル a (chl-a) の定量では,酸素電極を用いた実験で使用した組織片を実験後に直ちに遮光して冷凍し,測定まで保管した。抽出に際しては,各反応容器の組織片をそれ

ぞれ N, N-dimethylformamide (DMF) 10 mL に 浸 漬 し, 冷暗所に 24 時間静置した。24 時間後,紫外可視光分光光度 計 (DR 5000, HACH) を用いて 663.8,646.8,700 nm の波長で DMF の吸光度を測定し,以下 (Eq. 1)の計算式 (Porra *et al.* 1989)から算出した。

chl-a (
$$\mu$$
g mL⁻¹) = 12.00 (Abs_{663.8} - Abs₇₀₀)
- 3.11 (Abs_{646.8} - Abs₇₀₀) (Eq. 1)

A_{663.8}, A_{646.8}, A₇₀₀: それぞれ 663.8 nm, 646.8 nm, 700 nm における吸光度

なお,本研究での光合成速度は葉片面積や湿重量あたりと せず,クロロフィル a 量あたりの値で考察した。

パルス変調クロロフィル蛍光測定法

パルス変調クロロフィル蛍光測定には Imaging-PAM (Heinz Waltz GmbH)を用い,光化学系IIの最大量子収率 (Fv/Fm)を測定した。実験は温度条件8~36°Cの15条 件(2°C間隔)とし,藻体をそのまま馴致して用いた。藻 体は滅菌濾過海水を満たしたアルミ製のプレート(12×10 ×3 cm)に静置し,ブロックインキュベーター(BI-535A, Astec)に設置した。なおアルミ製のプレート内とブロック インキュベーターの温度差を避けるためにプレート内の水温 をデジタル水温計(testo925,0628 0026, testo AG)で常時 測定した。実験に際しては各水温条件で30分以上試料を遮 光した上で馴致させ,それぞれの水温条件で10ヵ所のデー タを同時に得た。

光合成・光曲線への近似

光量を変化させて測定した純光合成速度の実測値は、以下(Eq. 2)の指数方程式を用いて曲線に近似させた(Jassby & Platt 1976, Platt *et al.* 1980, Henley 1993)。光合成活性のパラメーターの標記と定義はCosgrove & Borowitzka (2011)に準じた。

$$P_{net} = P_{max} \left(1 - \exp\left(-\frac{\alpha}{P_{max}}E\right) \right) - R_d$$
 (Eq. 2)

 P_{net} :純酸素発生速度; P_{max} :最大酸素発生速度; α :光合成・ 光曲線の初期勾配;E:入射光量; R_d :呼吸速度

なお、このモデルからは、飽和光量(E_k)は P_{max}/α より 求められ、補償点(E_c)は $P_{max} \log \left(\frac{P_{max}}{(R_a - P_{max})} \right) / \alpha$ より求められた。

光合成速度と Fv/Fm が水温に対してどのように応答す るかを把握するためには、得られたデータを Eq. 3a で示さ れる peaked-Arrhenius モデル (Alexandrov & Yamagata 2007) にフィットさせた。

$$G_A = \frac{G_A^{peak} \eta f_A}{(\eta - 1) + f_A^{\eta}}$$
(Eq. 3a)

 G_A^{peak} : 任意の温度 T_0 における関数の最大値(総光合成速度 や量子収率の最大値); η : T_0 以上または以下での活性化エ ネルギー (activation energy)の割合(η に単位はなし)

なお, 関数 f_A は Eq. 3b の式で求められた。

$$f_A = \exp\left(\frac{E_a(T - T_0)}{RTT_0}\right)$$
(Eq. 3b)

 E_{a} : kJ mol⁻¹ で示される活性化エネルギーの値;*T*:絶対温度 (Kelvin scale) での温度;*R*:気体定数 (universal gas constant: 8.314 J K⁻¹ mol⁻¹)

なお,水温に対する呼吸の応答については,正規分布および identity 連結関数を仮定した一般化線形モデル (GLM)を用いた。

統計解析

すべてのモデルの統計解析はR version 3.0.1 (R Development Core Team 2013)を用い,モデルへのフィッ トはrstan version 1.30 (Stan Development Team 2013)を 用いた。パラメーターは、ベイズ推定を用いて各モデル(Eq. 2やEq. 3)をフィットさせた。rstanではパラメーターの事 後分布を構築するハミルトン・モンテカルロ法(Hamiltonian Monte Carlo sampler)を改変した方法を用い、生成された 500,000以上のサンプルを基にデータの収束を評価した。

低情報事前分布 (weakly informative priors) はモデルの 全てのパラメーターに配置され、半コーシー事前分布 (halfcauchy prior) はモデルのスケールパラメーターに配置され た (Gelman 2004, 2006)。

なお,正規分布を仮定する呼吸と水温の関係を解析するた めには一般化線形モデルを用いた。

繁茂期とその前後の水温

鹿児島大学水産学部附属海洋資源環境教育研究センター東 町ステーション(32°13'23"N,130°10'33"E;採集地か ら西南西 34 km; Fig. 1)で連続計測している水温データの うち,アサクサノリ配偶体の繁茂期を含む2010年11月1 日から2011年5月31日の水温データを解析した。水温は, ステーションの沖合50mにある生け簀の水深3mに設置し ているデーターロガー(HOBO, Onset Computer)が4時 間ごとに自動的に測定し,データを回収後に1日あたりの平 均水温を算出した。

結果

純光合成に及ぼす光の影響

純光合成速度はPAR が 0 μ mol photons m⁻²s⁻¹ で -26.5 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹ (95% 信頼区間 (CI): -38.0 ~ -15.0 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹) であったが、光量の増加と共に上昇 し、PAR が 500 μ mol photons m⁻²s⁻¹ で 66.0 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹ (95% CI: 32.7 ~ 99.3 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹) に達し た (Fig. 2A)。

上述の(Eq. 2) 式で得られたモデル曲線より,最大光合成 速度(P_{max}) は 86.1 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹ (95% ベイズ信 用区間 Bayesian credible interval (BCI): 79.6 ~ 92.7 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹), 呼吸速度(R_d) は 25.8 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹ (95% BCI: 23.0 ~ 28.4 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹), 初期 勾配(α) は 0.84 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹ (PAR μ mol photons m⁻² s⁻¹)⁻¹ (95% BCI: 0.75 ~ 0.95 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹ (PAR μ mol photons m⁻² s⁻¹)⁻¹) であった。

また、補償光量 (E_c) は 36.3 μ mol photons m⁻² s⁻¹ (95% BCI: 33.3 ~ 39.4 μ mol photons m⁻² s⁻¹), 飽和光量 (E_k) は 71.9 μ mol photons m⁻² s⁻¹ (95% BCI: 57.9 ~ 87.9 μ mol photons m⁻² s⁻¹) と見積もられた。

総光合成速度と呼吸に対する水温の影響

配偶体の総光合成速度は 18°C で最も高い 62.2 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹ (95% CI: 37.9 ~ 86.5 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹) となり, それ以上または以下の水温で低い値を示した (Fig. 2B)。なお, 最低値は 34°C で 27.2 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹ (95% CI: 10.5 ~ 43.8 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹) であった。 モデル式 (Eq. 3) から得られた総光合成速度最高値の最適 水温 (T_{opt}^{GP}) は $GP_{max} = 61.7 \ \mu$ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹ (95% BCI: 34.7 ~ 80.0 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹) で 19.6 °C (95% BCI: 17.0 ~ 21.7 °C) であった。活性化エネルギーは 46.6 kJ mol⁻¹ (95% BCI: 24.5 ~ 75.9 kJ mol⁻¹) と求められ, 非活性化エネルギー (deactivation energy : $H_d^c = \eta \times H_a^c$) は 135.9 kJ mol⁻¹ (95% BCI: 71.6 ~ 188.7 kJ mol⁻¹) であった。

Fig. 2. The response of the oxygenic photosynthesis and dark respiration of *Pyropia tenera* gametophytes to temperature and irradiance. A. At 12 °C, the net photosynthetic rates increase with increasing irradiance. B. At 200 μ mol photons m² s⁻¹, the gross photosynthetic rates are higher at low water temperatures and decline as temperatures increase. C. Dark respiration rates are temperature dependent, with respiration rates increasing linearly with temperature. The dots and vertical lines indicate the mean and 95% confidence interval of the data (n=5) and the model lines indicate the 95% Bayesian credible interval of the model, and for C, the shaded region indicates the 95% confidence interval of the model.





Fig 3. The temperature response of the maximum quantum yield (Fv/Fm) in *Pyropia tenera* gametophytes. The dots indicate the mean value of the data (n=10). The vertical bars indicate the 95% confidence interval of the mean and the model lines indicate the expected value of the model. The shaded regions indicate the 95% Bayesian confidence interval of the model.

暗呼吸速度は 6°C で 0.06 ± 3.3 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹ °C⁻¹ (mean ± SD) であったが,高水温ほど消費速度が高くなり, 34°C で最大値 25.2 ± 6.8 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹ °C⁻¹ に達した (Fig. 2C)。暗呼吸速度の一般線形化モデルでは,水温は呼吸 速度の有意な説明変数となり ($F_{I,39}$ = 172; P < 0.0001),暗呼 吸速度は 0.93 ± 0.071 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹ °C⁻¹ (± SE, P < 0.0001) で有意に増加した。

最大量子収率(Fv/Fm)に対する水温の影響

水温 8°C から 36°C の間の 15 条件で測定した配偶体の Fv/Fm は,低温で高く高温で低くなる傾向を示し,実測値の 最高は 10°C の 0.57 (95% CI:0.55 ~ 0.59),最低は 36°C の 0.11 (95% CI:0.07 ~ 0.0.16)であった (Fig. 3)。

モデル式から得られた Fv/Fm 最大値 (0.53, 95%BCI:0.51 ~ 0.54) における至適水温 (T_{opt}^{F}) は 14.8 °C (95% BCI: 13.6 ~ 16.0 °C) であった。また、活性化エネルギーは 31.9 kJ mol⁻¹ (95% BCI: 13.6 ~ 52.7 kJ mol⁻¹) と求められ、非活性化エネルギーは 113.0 kJ mol⁻¹ (95% BCI: 103.2 ~ 126.4 kJ mol⁻¹) であった。

配偶体繁茂期とその前後の水温

2010年11月1日から2011年5月31日までの水温デー タを解析した結果,各月の平均水温は11月で21.0°C,12



Fig. 4. Seasonal changes of seawater temperature between November 2010 through May 2011 at a depth of 3 m off the Kagoshima University Marine Station at Nagashima Island, Kagoshima Prefecture, Japan. Temperature was recorded at every 4 hours and calculated the average daily temperature.

月で17.6°C, 1月で13.3°C, 2月で12.4°C, 3月で13.4°C, 4月で15.4°C, 5月で18.1°Cであった(Fig. 4)。また,期間中の最高水温は11月1日の23.0°C,最低は1月31日の11.7°Cであった。

考察

モデルで得られたアサクサノリ配偶体の総光合成速度は 19.6°C でピークに達するドーム状の曲線にフィットされ, 10°C から 26°C にかけて 50 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹ 以上の 高い値を示した。この結果は Yokohama (1972, 1973) が 報告したマルバアマノリの光合成光曲線のピークとよく似た 傾向を示しており,配偶体の光合成活性は冬季の繁茂期の水 温のみならず, 20°C から 26°C にかけても十分に高い活性 を示す可能性があると推察された。

しかし、呼吸速度は低温から高温にかけて直線的に増加 しており、10°Cの上昇で呼吸速度が約9 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹ 増加すると見積もられた。総光合成速度の活性自体は 19.6°C で最も高かったが、10°C と 20°C の総光合成速度の 差は約 10 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹ であることから、呼吸によ る消費分を差し引くと、より低水温の方が適応していると推 察された。

一方,モデルで得られた最大量子収率(Fv/Fm)は14.8℃ をピークとするドーム状の曲線となり,22℃を超える高水 温では著しく低下した。また,Fv/Fmのピークは1月や3 月頃の水温に相当し,繁茂期水温と概ね一致していた。

Fv/Fm は光化学系 II の電荷分離に依存するパラメーター であり、光阻害や様々なストレスに対する光化学系 II の機能 低下の指標として、様々な光合成生物で報告されている(園 池 2009)。一般に、高等植物では最適な条件下で 0.80 から 0.83 の値を示すことが知られており(Björkman & Demmig 1987)、光阻害などが生じるようなストレス環境下では低下 する。

海産植物ではウミヒルモ Halophila ovalis (R.Br.) Hook. f. などが0.66 から0.70 の値を示すと報告されているが (Ralph & Burchett 1995),本研究のモデルで得られたアサ クサノリの Fv/Fm の最大値は0.53 と低い傾向を示した。こ の要因については不明だが,電子伝達系における酸化還元状 態は,高等植物と藻類・シアノバクテリアでは光合成系に対 する呼吸系の影響が異なると指摘されている(園池 2009)。

Fv/Fm は,暗処理条件下で光化学系Ⅱのプラストキノン の Q_A が酸化された状態で測定されるが,原核生物であるシ アノバクテリアは呼吸系と光合成系が膜によって隔てられて いないことから,光合成と呼吸系がプラストキノンプールか らシトクロム b/f 複合体,シトクロム c までを共有している ため,光合成系の電子伝達鎖の酸化還元状態は呼吸系の影響 を直接受ける。真核藻類では,光合成系が葉緑体に存在し, ミトコンドリアの呼吸系とは隔てられているが,葉緑体呼吸 によって暗処理下でもプラストキノンプールが還元状態に保 たれている可能性も示唆されている(園池 2009)。

Fv/Fmの値は22℃以上の高水温で著しく低下した。一般 に、高温のストレスはタンパク質の変性や複合体の解離など による機能喪失によることが多く知られており、Fv/Fmは 光化学系IIの機能低下の指標として陸上植物や海草などで 幅広く用いられている(Campbell *et al.* 2006, Massa *et al.* 2009)。本研究では、高水温による光化学系IIの活性低下の メカニズム解明を目的としていないことから、アサクサノリ 配偶体のFv/Fmの変化が水温の変化によるものであると結 論できないが、Fv/Fmの活性から得られた水温曲線は酸素発 生速度による光合成・水温曲線とよく似ており、呼吸による 消費を考慮に入れた場合はほぼ同じ傾向にあると思われた。

Fv/Fmの測定は迅速でかつ容易であり,水中で非破壊的 に測定することも可能である。さらに,酸素発生速度を測定 する方法(プロダクトメーターや酸素電極法)と併せて用い た場合,酸素発生速度の低下に伴ったストレス応答を把握で きる可能性がある。この手法を用いることで,水温等のスト レスがアマノリのFv/Fmの変化に与えるメカニズムを解明 すると共に,様々な水温や光,ストレス環境下での光合成活 性をいち早く把握する方法として,養殖アマノリの診断等で 応用されることが期待される。

純光合成速度による光合成・光曲線では、補償光量(E_c) が 36.3 μ mol photons m⁻² s⁻¹, 飽和光量(E_k) が 71.9 μ mol photons m⁻² s⁻¹ と見積もられ、最大光合成速度(P_{max}) が

86.1 μ mol O₂ mg_{chl-a}⁻¹ min⁻¹ となる光合成・光曲線にフィットされた。

測定した光量の範囲が 500 μ mol photons m² s⁻¹ までだっ たことから明瞭な強光阻害は見られなかったが、潮間帯の中・ 上部の生育環境では、日中の晴天時に干出した場合は光量が 2,000 μ mol photons m² s⁻¹ 前後に達していると考えられる (河野ら 2012)。今後は 500 μ mol photons m⁻² s⁻¹ 以上の条 件でも測定を行い、強光阻害の有無と程度を明らかにする必 要があると考えられた。また、低温や高温時の温度ストレス は、光のストレスと重なった場合により顕著に見られること が陸上植物や造礁サンゴなどの様々な生物で報告されている (Fitt *et al.* 2001)。この場合、単独の温度ストレスとしては 致命的でないような温度でも、弱い光が同時に当たっている と、顕著な生育阻害が引き起こされる場合がある。今回得ら れた光合成・光曲線の結果を参考に、飽和光量未満と以上の 光条件に暴露した中で高水温(や低水温)処理を行い、Fv/ Fm の変化を測定することも求められる。

Fv/Fm や実効量子収率(ΦII)による高温耐性に関する報 告は海草でいくつか報告されているが,高水温条件下での馴 致は数時間から数日間設定されている場合が多い(Campbell et al. 2006, Massa et al. 2009)。これは干潮に伴う干出時 間の再現や高水温条件下でのFv/Fmの経時変化を明らかに するためだが,本研究では 30 分程度の馴致でも水温による 変化が観察された。今後は,より長時間の馴致を行った場合 のアサクサノリ配偶体のFv/Fmの変化や,繁茂期における 実際の生育環境でのFv/Fmの変化を明らかにし,水温変化 による活性変化の知見を充実させていく必要があると考え る。

本研究では天然に生育する配偶体のみを用いたが, アマ ノリ属藻類は巨視的な配偶体と微小な胞子体が世代交代す る異型世代交代型の生活史を有する(Drew 1949, 1954, Iwasaki 1961, 黒木 1961)。配偶体は一般に冬季に見られ, 胞子体は夏季にカキ殻等に穿孔して生育することから, 配偶 体と胞子体での Fv/Fm の水温応答の特性を比較すれば, 異 なる生育水温に見られる世代間の至適水温の相違が光合成活 性の点でも明らかになる可能性が期待される。また, カキ殻 に穿孔させて室内培養する種苗生産中の状況を Fv/Fm を用 いて迅速に把握することが可能になれば, Fv/Fm の定期的 な測定が種苗を安定生産する上で新たな指標となりうること も期待される。

謝辞

材料の同定に関してご助言をいただきました千葉県立 中央博物館分館海の博物館の菊地則雄博士に深く感謝申 し上げる。本研究は科学研究費補助金(寺田:基盤(C) 22510033)で遂行されたことを付記し,研究にご協力いた だいた鹿児島大学水産学部と長崎大学大学院水産・環境科学 総合研究科附属環東シナ海環境資源研究センターの関係各位 に謝意を表する。

引用文献

- Alexandrov, G. A. & Yamagata, Y. 2007. A peaked function for modeling temperature dependence of plant productivity. Ecol. Model. 200: 189-192.
- Björkman, O. & Demmig, B. 1987. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. Planta 170: 489-504.
- Campbell, S. J., McKenzie, L. J. & Kerville, S. P. 2006. Photosynthetic responses of seven tropical seagrasses to elevated seawater temperature. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 330: 455-468.
- Cosgrove J. & Borowitzka M. A. 2011. Chlorophyll fluorescence terminology: An introduction. In: Suggett D. J., Prášil O., Borowitzka M. A. (eds) Chlorophyll a fluorescence in aquatic sciences, methods and developments. pp. 1-17. Developments in Applied Phycology 4, Springer, Dordrecht.
- Drew, K. M. 1949. Conchocelis-phase in the life-history of *Porphyra umbilicalis* (L.) Kütz. Nature 166: 748-749.
- Drew, K. M. 1954. Life-history of Porphyra. Nature 173: 1243.
- Dring, M. J. 1967. Effects of daylength on growth and reproduction of the Conchocelis-phase of *Porphyra tenera*. J. Mar. Biol. Ass. U. K. 47: 501-510.
- Fitt, W. K., Brown, B. E., Warner, M. E. & Dumme, R. P. 2001. Coral bleaching: interpretation of thermal tolerance limits and thermal thresholds in tropical corals. Coral Reefs 20: 51-65.
- Gelman, A. 2004. Parameterization and Bayesian Modeling. J. Amer. Stat. Ass. 99: 537-545.
- Gelman, A. 2006. Prior distributions for variance parameters in hierarchical models. Bayesian Analysis 1: 515-533.
- Henley, W. J. 1993. Measurement and interpretation of photosynthetic lightresponse curves in algae in the context of photo inhibition and diel changes. J. Phycol. 29: 729-739.
- Iwasaki, H. 1961. The life-cycle of *Porphyra tenera in vitro*. Biol. Bull. 121: 173-187.
- Iwasaki, H. & Matsudaira, C. 1956. Studies on the physiology of a laver, *Porphyra tenera* Kjellm. Tohoku J. Agri. Res. 7: 65-83.
- 環境省2012. 環境省第4次レッドリスト(植物II) URL: http://www. biodic.go.jp/rdb/rdb_f.html
- Jassby, A. D. & Platt, T. 1976. Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. Limnol. Oceanogr. 21: 540-547.
- 河野敬史・Gregory N. Nishihara・寺田竜太 2012. 日本産アマモ Zostera marina の分布南限群落における季節的消長と光合成特性. 日水誌 78: 692-704.
- 菊地則雄 2012. アマノリ. 渡邉信(編・監修)藻類ハンドブック. pp. 611-616,株式会社エヌ・ティー・エス,東京.
- 菊地則雄・藤吉栄次・玉城泉也・二羽恭介・小林正裕・寺田竜太・吉田忠 生 2012, 絶滅危惧紅藻アサクサノリの生育地, 藻類 60:105.
- 菊地則雄・二羽恭介 2006.東京湾多摩川河口干潟における絶滅危惧種ア サクサノリ(紅藻)の生育状況とその形態.藻類 54:149-156.
- 黒木宗尚 1961. 養殖アマノリの種類とその生活史. 東北水研研究報告 18: 1-115.
- Kurogi, M. & Hirano, K. 1956. Influences of water temperature on the growth, formation of monosporangia and monospore-liberation in the Conchocelis-phase of *Porphyra tenera*. Bull. Tohoku Regional Fish. Res. Lab. 8: 45-61.
- Lideman, Nishihara, G. N., Noro, T. & Terada, R. 2013. Effect of temperature and light on the photosynthesis as measured by chlorophyll fluorescence of cultured *Eucheuma denticulatum* and *Kappaphycus* sp. (Sumba strain) from Indonesia. J. Appl. Phycol. 25: 399-406.
- Lin, A. P., Wang, G. C., Yang, F. & Pan, G. H. 2009. Photosynthetic parameters of sexually different parts of *Porphyra katadai* var. *hemiphylla* (Bangiales, Rhodophyta) during dehydration and re-hydration. Planta 229: 803-810.

- Massa, S. I., Arnaud-Haond, S., Pearson, G. A. & Serrão, E. A. 2009. Temperature tolerance and survival of intertidal populations of the seagrass *Zostera noltii* (Hornemann) in Southern Europe (Ria Formosa, Portugal). Hydrobiologia 619: 195-201.
- Miura, A. 1988. Taxonomic studies of *Porphyra* species cultivated in Japan, referring to their transition to the cultivated variety. J. Tokyo Univ. Fish. 75: 311–325.
- Muraoka, D., Yamamoto, H., Yasui, H. & Terada, R. 1998. Formation of wound tissue of *Gracilaria chorda* Holmes (Gracilariaceae) in culture. Bull. Fac. of Fish., Hokkaido Univ. 49: 31-39.
- Nishihara, G. N., Terada, R. & Noro, T. 2004. Photosynthesis and growth rates of *Laurencia brongniartii* J. Agardh (Rhodophyta, Ceramiales) in preparation for cultivation. J. Appl. Phycol. 16: 303-308.
- Niwa, K., Kikuchi, N. & Aruga, Y. 2005. Morphological and molecular analysis of the endangered species *Porphyra tenera* (Bangiales, Rhodophyta). J. Phycol. 41: 294–304.
- 能登谷正浩 2004. アマノリ類. 大野正夫(編)有用海藻誌. pp. 160-200, 内田老鶴圃,東京.
- 大西 舞・菊地則雄・岩崎貴也・河口莉子・嶌田 智 2013. 絶滅危惧 I 類 に指定されている紅藻アサクサノリの集団遺伝構造. 藻類 61:84-97.
- Platt, T., Gallegos, C. L. & Harrison, W. G. 1980. Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton. J. Mar. Res. 38: 687-701.
- Porra, R. J., Thompson, W. A. & Kriedemann, P. E. 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. Biochim Biophys Acta Bioenerg, 975: 384-394.
- R Development Core Team 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL http://www.R-project.org
- 佐藤達雄・吉田 誠・大矢武志 2002. パルス振幅変調 (PAM) クロロフィ ル蛍光測定法による野菜の高温ストレス耐性の検定. 園芸学雑誌 71: 101-106.
- Ralph, P. J. & Burchett, M. D. 1995. Photosynthetic responses of the seagrass Halophila ovalis (R. Br.) Hook. f. to high irradiance stress, using chlorophyll a fluorescence. Aquat. Bot. 51: 55-66.
- Ralph, P. J. & Gademann, R. 2005. Rapid light curves: A powerful tool to assess photosynthetic activity. Aquat. Bot. 82: 222-237.
- Ralph, P. J, Gademann, R. & Dennison, W. C. 1998. *In situ* seagrass photosynthesis measured using a submersible, pulse-amplitude modulated fluorometer. Mar. Biol. 132: 367-373.
- 齋藤雄之助 1956. アサクサノリ糸状体の生長成熟に及ぼす二, 三の要因の 影響について. 日水誌 22:21-29.
- Satomi, M, Aruga, Y. & Iwamoto, K. 1968. Effect of aging on the seasonal change in photosynthetic activity of *Porphyra yezoensis* grown in the culture ground. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 34: 17-22.
- Serisawa, Y., Yokohama, Y., Aruga, Y. & Tanaka, J. 2001. Photosynthesis and respiration in bladelet of *Ecklonia cava* Kjellman (Laminariales, Phaeophyta) in two localities with different temperature conditions. Phycol. Res. 49: 1-11.
- 下茂 繁・中谷 茂 1969. アサクサノリの大量培養に関する研究-I.ア サクサノリ葉体の生長速度に及ぼす光,培養密度の影響について.日 水誌 35:524-532.
- 新村 巌 2000. あまのり養殖. 鹿児島県 (編) 鹿児島県水産技術のあゆみ. pp. 587-600, 鹿児島.
- 新村 巌・田中敏博 2008. 鹿児島県の有用藻類 III. 紅藻綱. 藻類 56: 123-128.
- 園池公毅 2009. クロロフィル蛍光と吸収による光合成測定. 低温科学 67: 507-524.
- Stan Development Team 2013. Stan: A C++ Library for Probability and Sampling, Version 1.3. URL: http://mc-stan.org

- Sutherland, J. E., Lindstrom, S. C., Nelson, W. A., Brodie, J., Lynch, M. D. J., Hwang, M. S., Choi, H. G., Miyata, M., Kikuchi, N, Oliveira, M. C., Farr, T., Neefus, C., Mols-Mortensen, A., Milstein, D. & Müller, K. M. 2011. A new look at an ancient order: generic revision of the Bangiales (Rhodophyta). J. Phycol. 47: 1131-1151.
- Tajiri, S & Aruga, Y. 1984. Effect of emersion on the growth and photosynthesis of the *Porphyra yezoensis* thallus. Jpn. J. Phycol. 32: 134– 146.
- 竹内卓三・下中元信・福原昭典・山崎 浩 1956. アサクサノリ Porphyra tenera KJELLM. 糸状体の生態- III. 糸状体の致死条件について. 日水 誌 22:16-20.
- 寺田竜太 2011. 藻場の長期モニタリング,背景と課題. 海洋と生物 33: 291-297.
- Terada, R., Inoue, S. & Nishihara, G. N. 2013. The effect of light and temperature on the growth and photosynthesis of *Gracilariopsis chorda* (Gracilariales, Rhodophtya) from geographically separated locations of Japan. J. Appl. Phycol. Published online: Apr 2013; DOI: 10.1007/s10811-013-0030-7
- 土屋勇太郎・Gregory N. Nishihara・寺田竜太 2012. 酸素電極法とパルス 変調クロロフィル蛍光法を用いた鹿児島産ホンダワラ属(ヒバマタ目) 藻類5種,マメタワラ,ヤツマタモク,ヒジキ,コブクロモク,キレ

バモクの光合成・温度特性. 日水誌 78:189-197.

- Wang, W. J., Wang, F. J., Zhu, J. Y., Sun, X. T. Yao, C. Y. & Xu P. 2011. Freezing tolerance of *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta) gametophyte assessed by chlorophyll fluorescence. J. Appl. Phycol. 23: 1017-1022.
- Yokohama, Y. 1972. Photosynthesis-temeprature relationships in several benthic marine algae. In: Nishizawa, K., Arasaki, S., Chihara, M., Hirose, H., Nakamura, Y. & Tsuchiya, Y. (eds) Proceeding of the Seventh International Seaweed Symposium. pp. 286-291, University of Tokyo Press, Tokyo.
- Yokohama, Y. 1973. A Comparative study on photosynthesis temperature relationships and their seasonal changes in marine benthic algae. Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie 58: 463-472.
- 吉田忠生 1993. Porphyra tenera Kjellman (アサクサノリ). 堀輝三(編) 藻類の生活史集成第2巻, 褐藻・紅藻類. pp. 212-213, 内田老鶴圃, 東京.
- 吉田忠生 1998. 新日本海藻誌. 内田老鶴圃, 東京, 1222 p.

(Received Oct. 6, 2013; Accepted Oct. 20, 2013)