

褐藻カジメ科配偶体の
低光量下における温度特性

平成 30 年度

三重大学大学院生物資源学研究科
博士前期課程 生物圏生命科学専攻
海洋生物科学講座

森井 孝一

目次

序論	1
材料と方法	5
結果	10
考察	18
要約	23
謝辞	24
参考文献	25

序論

一般的に水温は大型藻類の水平分布に影響を及ぼす重要な要因であると考えられており (Lüning and Dieck 1989, 横浜 1986), 生育と成熟の限界温度や最適温度が種の水平分布を決定するとされている (Lüning and Neushul 1978, Lüning 1980, 1984, 1990, Hoek 1984, Bolton and Levitt 1985, Yarish et al. 1986, Breeman 1988, Dieck 1993, Morita et al. 2003a, b)。近年問題となっている地球温暖化もまた大型藻類やその群落の水平分布に影響を与えると考えられる。実際に近年の水温変動に伴い、海藻群落の分布変化が報告されている (Serisawa et al. 2004, Lima et al. 2007)。

カジメ科褐藻は北海道と沖縄を除く日本沿岸に広く分布する代表的な暖海性コンブ目藻類であり、沿岸岩礁域に海中林と呼ばれる密な群落を形成する。海中林は沿岸生態系において主要な一次生産者として、窒素・リンを固定し、水質浄化作用を示す。また、魚介類の産卵場や生育場、植食動物の摂餌の場として沿岸生態系の基盤となる働きをしている。本邦産のカジメ科褐藻のうち、アラメ、カジメ、サガラメ、クロメ、ツルアラメは多年生である。Fig. 1 に代表的な多年生カジメ科褐藻の孢子体の写

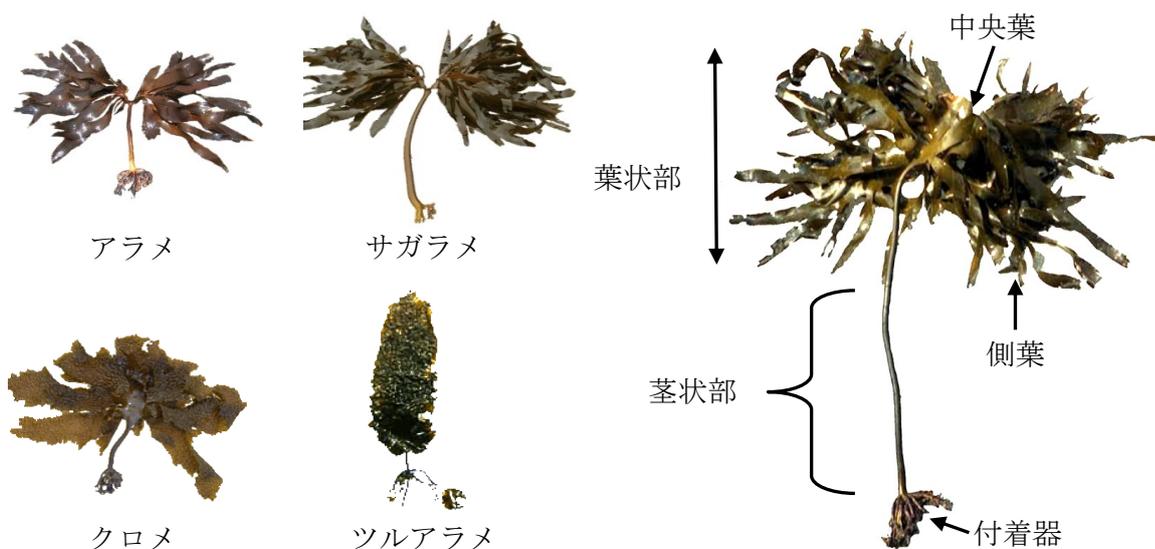


Fig. 1 代表的なカジメ科孢子

Fig.2 カジメ孢子体の体の構造

真を示した。カジメ科褐藻の孢子体に共通した構造として葉状部，茎状部，付着器がある (Fig. 2)。さらに葉状部は中央葉と側葉に分けられる。付着器で海中の岩礁に付着し生育する。カジメ科褐藻は Fig. 3 に示したようにコンブ目藻類一般にみられる異形世代交代を行い，大型の孢子体世代と，微小の配偶体世代をもつ。我々が普段海で目にする姿は孢子体であり，夏から秋にかけて成熟し，葉状部に遊走子嚢の集まりである子嚢斑を形成する。遊走子嚢から放出された遊走子は基質に付着し雌雄の配偶体になる。雌性配偶体が卵を，雄性配偶体が精子を形成し，受精した卵は発芽し芽胞体となり，遊走子放出から約半年で幼孢子体を経て成体になる。成体は多年生であれば数年の寿命を持つ。ツルアラメはこれに加えて例外的に，匍匐枝を付着器から延ばして新たな孢子体を形成する栄養生殖を行うことができる。

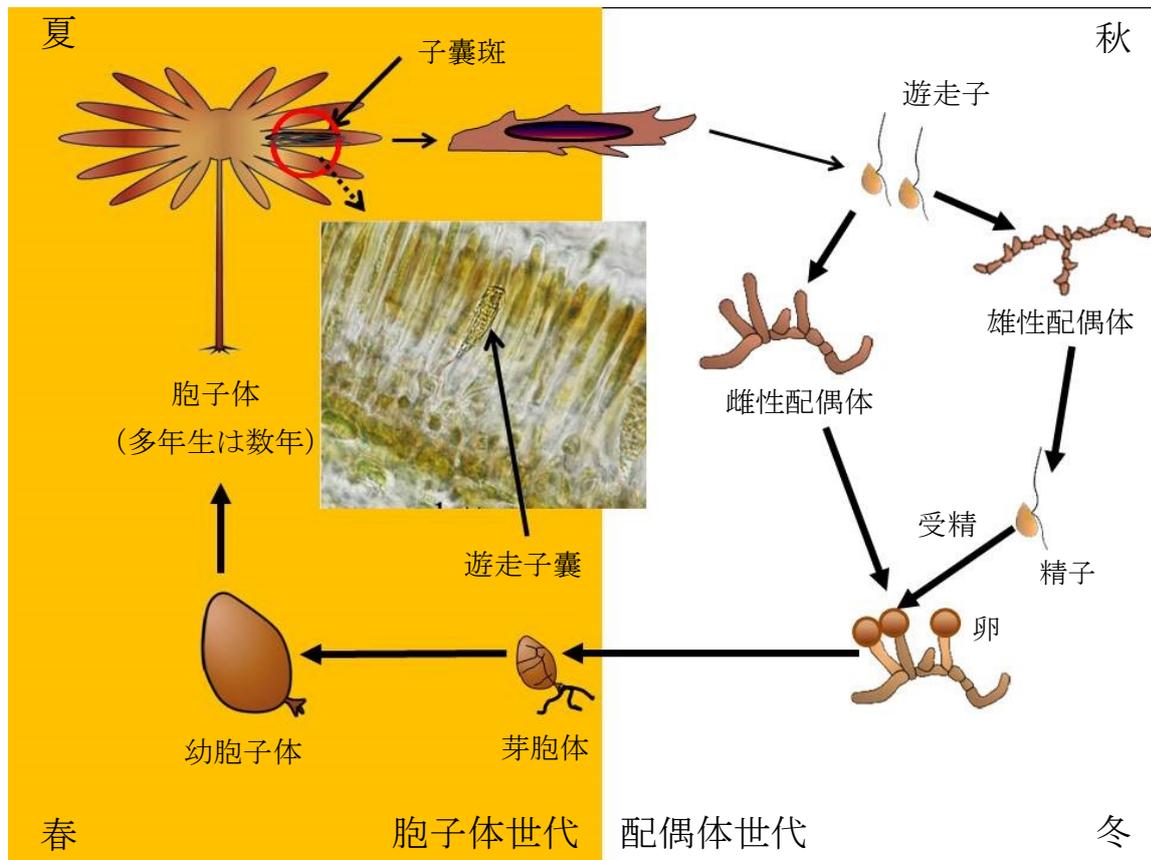


Fig. 3 代表的なコンブ目の生活史

カジメ科藻類の温度特性についてはこれまでも多くの研究が行われている（谷口・秋山 1982, 林田ら 1999, 林田 2002, 田中ら 2008, 馬場 2009, 駒澤・坂西 2009, Komazawa et al. 2015）。しかし、コンブ目藻類の生活史の各世代の温度特性を調べた研究例は少なかった。そこで、三重大学藻類学研究室では、地球温暖化対策を行う上での詳細な基礎的知見の蓄積を目的として、海中林を形成する大型の暖海性コンブ目藻類について、生活史全体の生長や成熟に関する詳細な温度特性を研究してきた。これまで Morita et al. (2003a, b), 森田 (2004), 山口 (2005), 森 (2007), 栗原 (2009), 下條 (2011), 鈴木 (2014), 戸瀬 (2015) によって多年生のアラメ *Eisenia bicyclis*, サガラメ *Eisenia arborea*, カジメ *Ecklonia cava*, クロメ *Ecklonia kurome*, ツルアラメ *Ecklonia stolonifera*, 一年生のアントクメ *Eckloniopsis radicata*, ワカメ *Undaria pinnatifida*, ヒロメ *Undaria undarioides*, アオワカメ *Undaria peterseniana* の生活史全体についてその温度特性がほぼ解明されてきた。これらの温度特性の研究では温度以外の条件が律速とならないように、光量や栄養塩などは至適条件あるいは飽和条件で培養が行われてきた。

しかし、カジメ、アラメ海中林では密に生育する孢子体の葉状部 (Fig. 2) に日光が遮られるために、幼体や配偶体が生育している林床部では群落直上の海水面の約 0.6~2.2%程度の光量となることが報告されている (Maegawa et al. 1987, 1988) (Fig.

4)。海水面の平均最大光量を $1400 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ とすると、これは $8\sim 30 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 程度の光量に相当する。一方、上で述べた研究では $50\sim 100 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ の光量で温度特性が調べられてきた。したがってカジメなどの海中林構成種の幼体、配偶体が実際に受ける光量は、これまで温度特性



Fig. 4 カジメ海中林林床部の写真

を解明する際に用いられてきた光量より低いと考えられる。

アラメやカジメの幼胞子体は光量が低い海中林の林床部では出現せず、林冠部が脱落したときに強い光がさしこむことで出現することが知られている (Maegawa et al. 1987, 1988)。このことから、光量は配偶体の生長や成熟に大きな影響を及ぼすと考えられる。倉島ら (1996) はアラメ・カジメの配偶体の光合成特性から、これらの配偶体の温度耐性は光量に依存して変化すると推測している。光量を変えてカジメ科藻類配偶体を培養した研究は成原 (1987)、松井ら (1992)、馬場 (2009, 2010) 等があるが、松井ら (1992) の研究は光量の影響のみを調べたものであり、低光量下での温度特性を見るものではない。また、馬場 (2009, 2010)、成原 (1987) の研究は、クロメやアラメなど単一種について光量を変えて温度特性を調べたものであり、複数種を同一条件で比較した研究は無い。そこで本研究では、日本産の多年生カジメ科全種、すなわちアラメ、カジメ、サガラメ、クロメ、ツルアラメの配偶体を用い、自然環境に近い低光量下での温度特性の解明を試みた。そのために培養実験と光合成測定を行い、培養による生長速度の測定では面積測定、成熟率の測定は卵を形成した個体数で評価し、飽和光量下での温度特性と比較した。さらに光合成速度の測定では、アラメ、サガラメ、カジメの配偶体を用い、種間の1日の光合成速度から生育可能な温度と光量を推定した。

材料と方法

1) 配偶体の生長速度の測定

実験材料には、各地で採集したカジメ科褐藻の孢子体から遊走子を放出させて培養し、三重大学藻類学研究室で 20°C, 12L:12D, 10 $\mu\text{mol photons /m}^2/\text{s}$ の条件下で保存培養されている配偶体株を用いた。孢子体は、アラメは静岡県伊豆半島下田、カジメは三重県志摩半島麦崎、サガラメは愛知県知多半島内海、クロメは山口県熊毛郡平生、ツルアラメは山口県下関市でそれぞれ採取した。保存していた雌雄配偶体を剃刀で細断し、20%PESI 培地に入れ懸濁液とした。配偶体懸濁液を 20mL の 20%PESI 培養液を注いだ 50mL 容のメッシュ付プラスチック製培養容器に入れた。培養容器への付着を促すために 20°C, 12L:12D, 100 $\mu\text{mol photons /m}^2/\text{s}$ の条件下で 4 日間の予備培養を行った。換水を行った後、温度を 15, 20, 25°C の 3 段階、光量 10 $\mu\text{mol photons /m}^2/\text{s}$, 光周期 12L:12D で培養を行った。光量を 10 $\mu\text{mol photons /m}^2/\text{s}$ としたのは、アラメやカジメ海中林群落直上の海水面に対する林床部の相対光強度は 0.6~2.2% であり、海水面における平均的な最大光強度が 1440 $\mu\text{mol photons /m}^2/\text{s}$ であったため、およそ日中の平均値に近い値であると考えられるからである (Maegawa et al. 1988)。光量は、水中用球形光量子センサー (LI-193SA, LI-COR) を取り付けた光量子計 (LI-250A, LI-COR) で測定した。培養は 8 日間行い、培養液の換水は測定中行わなかった。

培養容器底部に付着している配偶体の中から雄、雌それぞれ 15 個体ずつ選び着生場所や形態により個体識別を行い、1 日おき (0, 2, 4, 6, 8 日目) に生長を測定した。測定方法は Morita et al. (2003a) の方法に従った。個体識別した配偶体を倒立顕微鏡 (CK2, OLYMPUS) に取り付けたデジタルカメラ (WRAYCAM G500, WRAYMER

MICROSCOPE) で撮影した。次に、画像データをパソコンに取り込み、Fig. 5 に示したように配偶体部分を画像処理ソフト (Photoshop CS5, Adobe) を用いて黒く塗りつぶした。その後、面積測定ソフト (LIA for Win329) を用いて、黒く塗りつぶした部分の面積を求め、配偶体の

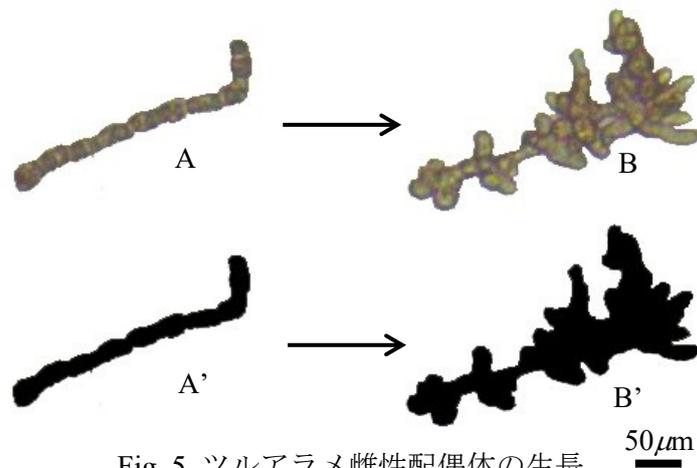


Fig. 5 ツルアラメ雌性配偶体の生長
 A : 0 日目の配偶体, B : 8 日目の配偶体
 A' : 黒く塗りつぶした 0 日目の配偶体
 B' : 黒く塗りつぶした 8 日目の配偶体
 (A' と B' の面積を測定・評価)

投影面積とした。雌性配偶体は成熟して卵を形成するが、配偶体上に形成される卵は次世代であると考え、雌性配偶体の面積は卵を除いた部分とした (Fig. 6 参照)。配偶体の生長は相対生長速度 (Relative growth rate per a day) で表し、以下の計算式によって求めた。

$$\text{Relative growth rate (/day)} = \log_e (\text{final area} / \text{initial area}) / T \quad T : \text{培養日数}$$

2) 雌性配偶体の成熟率の測定

実験材料としては、生長速度で用いたものと同じ保存培養されている配偶体株を用いた。保存培養していた雌雄配偶体を剃刀で細断し配偶体懸濁液を作成した。生長速度の測定実験と同じ条件で予備培養および本培養を行った。換水を行った後、配偶体を 14 日間培養した。培養液の換水は 7 日おきに行った。成熟率の測定は、4 日目から 1 日おきに行った。Fig. 6 で示した

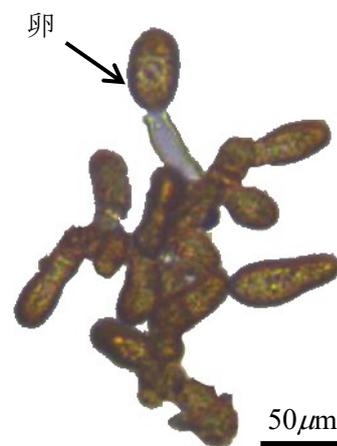


Fig. 6 卵を形成した雌性配偶体

ように、雌性配偶体に卵が形成された時点で成熟したとみなした。成熟率は、雌性配偶体 200 個体のうち卵を形成した個体数から求めた。

3) 光合成および呼吸速度の測定

実験材料として生長成熟実験と同じ保存培養されている配偶体株のうち、アラメ、カジメ、サガラメの配偶体を用いた。ミキサーを用いて配偶体を細断し、 20°C 、 $100\ \mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{s}$ 、12L:12D の条件で 1 日以上置いた。光合成速度あるいは呼吸速度の測定には改良型プロダクトメーター（差働式検容計）、(Yokohama & Ichimura 1969, 横浜・前川 1988) を用いた (Fig. 5)。プロダクトメーター

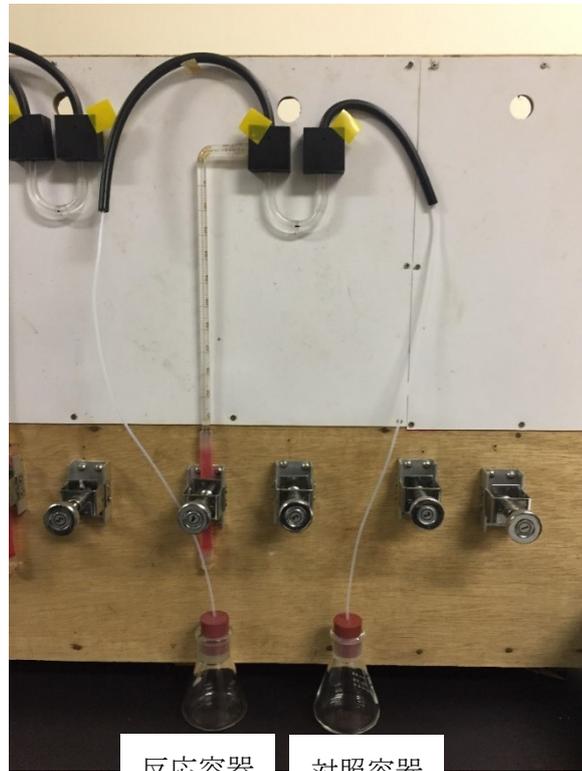


Fig. 7 プロダクトメーター本体

は、呼吸や光合成に伴う酸素量の変化を測定する装置である。測定に際しては配偶体と培養液を 1000rpm で 5 分間遠心分離にかけ、上澄み液を捨て、残った配偶体に 20%PESI 培養を入れて 10ml の懸濁液とした。反応容器に懸濁液 10ml を入れ、対照容器に 20%PESI 培養液 10ml を入れた。反応容器と対象容器を共にウォーターバス内の振とう機にセットし、測定を行った。実験は生長、成熟実験と同じ水温で行った。光量は 200, 100, 50, 25, 12.5, 0 $\mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{s}$ の 6 段階とし、この順に変化させて測定した。光源には LED 電球 (LDA15D-G, HITACHI) を使い、光量はガラスフィルター (NDF, Toshiba) により調整した。光量は、水中用平面光量子センサー (LI-192SA, Li-COR) を取り付けた光量子計 (LI-250A, LI-COR) で測定した。

各温度毎に光量が最も強い 200 $\mu\text{mol photons /m}^2/\text{s}$ から順により低い光量へ変えて実験を行った。水温はクールユニット (CL-150R, TAITEC) により 15, 20, 25°C に保った。

プロダクトメーターを用いた計測により得られた純光合成速度の実測値は、以下の hyperbolic tangent による光合成-光曲線の式を用い、統計計算ソフト R (ver.3.1.2) を用いて、最小自乗法により近似させて P_{max} , I_k , R を求め、光合成-光曲線を作成した。

$$\text{光合成速度} = P_{\text{max}} \cdot \text{Tanh}(I/I_k) - R$$

ここで、 P_{max} は最大純光合成速度、 I は光量子密度、 I_k は光飽和点、 R は呼吸速度である。

次に、以下の海水面における一日の光量の変化のサインカーブによる近似式から (Maegawa et al, 1988), 1 日の光量の変化を求めた。

$$\text{ある時刻 (t) の海水面における光量} = I_{\text{max}}(\sin(\pi \cdot t/D))^{1.4}$$

$$\text{ある水深の光量} = (\text{海水面における光量}) \cdot \exp\{(\text{海水の吸光度数}) \cdot (\text{水深})\}$$

ここで、 I_{max} は南中時の日光の光量であり、 D は 1 日の日長、 t は日の出からの時間である。今回は飽和光量条件としてアラメ、カジメ両種が生育している水深である 4m、海水の吸光度数を 0.3 とし、日本中部における日照の年間平均として、 $I_{\text{max}}=1400\mu\text{mol /m}^2/\text{s}$, $D=12$ 時間を代入した。弱光下条件は、アラメやカジメ海中林群落直上の海水面に対する林床部の相対光強度が 0.6%以上である (Maegawa et al. 1988) ことから、0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6%とした。それぞれの条件における 1 日の光量の変化を光合成-光曲線の式に代入して、1 日の O_2 発生速度の変化を求め 1 日の積算光合成量を算出した。

4) 光合成色素分析

光合成量測定を終えた配偶体をろ過し、ろ過紙ごとアルミホイルで包んで 20°C で冷凍保存した。保存した試料をろ過紙から取り、90%アセトンで色素を抽出した。遠心分離

機で抽出液を 1000rpm で 5 分間遠心分離した。上澄み液を分光光度計 (UVmini-1240, 島津製作所) にかけて、吸光度スペクトラムを測定した。90%アセトン抽出液 1.0ml あたりのクロロフィル a の量は以下の式 (SCOR-UNESCO 1996) を用いて計算した。

$$\text{クロロフィル a } (\mu\text{g/ml}) = 11.64E_{663} - 2.16E_{645} + 0.10E_{630}$$

得られた数値からクロロフィル a 当たりの光合成量を求めた。

5) 統計処理

データは Statcel4 を用いて一元配置の分散分析により検定を行い、有意差が認められた場合、Tukey-Kramer の多重比較検定で、各温度間の平均値の有意差 ($P < 0.05$) を判定した。

結果

1) 配偶体の温度特性

アラメ、カジメ、サガラメ、クロメ、ツルアラメ配偶体の光強度 $10\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ における 0~8 日目の生長速度を温度別に測定した結果を Fig. 8 に示した。

アラメは雌雄配偶体ともに 20°C で生長速度が高く、 25°C で低かった。雄は 20°C で $0.057/\text{day}$ 、 25°C で 0.029 であり、雌は 20°C で $0.044/\text{day}$ 、 25°C で 0.026 であった。雄性配偶体は温度間に生長速度の有意差が無かったが、雌性配偶体は温度間に生長速度の有意差があった ($P<0.05$)。

サガラメは雌雄配偶体ともに 25°C で生長速度が高く、 15°C で低かった。雄は 25°C で 0.062 、 15°C で 0.036 であり、雌は 25°C で 0.052 、 15°C で 0.030 であった。雌雄配偶体ともに高温になるほど生長速度が高くなる傾向がみられた。雌雄配偶体ともに温度間に生長速度の有意差は無かった。

カジメは雄性配偶体が 25°C で生長速度が高く、 15°C で低かった。雌性配偶体は温度間の生長速度の差がほとんどなかった。雄性配偶体は 25°C で 0.047 、 15°C で 0.029 であり、雌性配偶体は 15 、 20 、 25°C でそれぞれ 0.033 、 0.034 、 0.033 であった。雌雄配偶体ともに温度間に生長速度の有意差は無かった。

クロメは雄性配偶体は 20°C で生長速度が高く、 15°C と 25°C で低かった。雌性配偶体は 15°C と 20°C で生長速度に差がほとんどなく、 25°C で低かった。雄性配偶体は 15 、 20 、 25°C でそれぞれ 0.038 、 0.059 、 0.037 であり、雌性配偶体は 15 、 20 、 25°C でそれぞれ 0.038 、 0.059 、 0.037 であった。雌性配偶体は温度間に生長速度の有意差が無かったが、雄性配偶体は 15°C と 20°C 、 20°C と 25°C で生長速度の有意差があった ($P<0.05$)。

ツルアラメは雄性配偶体が 15 、 25°C で生長速度に差がほとんど無く、 20°C で最も低かった。雌性配偶体は 15°C で最も生長速度が高く、 25°C で最も生長速度が低かった。雄性配偶体は 15 、 20 、 25°C でそれぞれ 0.062 、 0.048 、 0.068 であり、雌性配偶体は 15 、

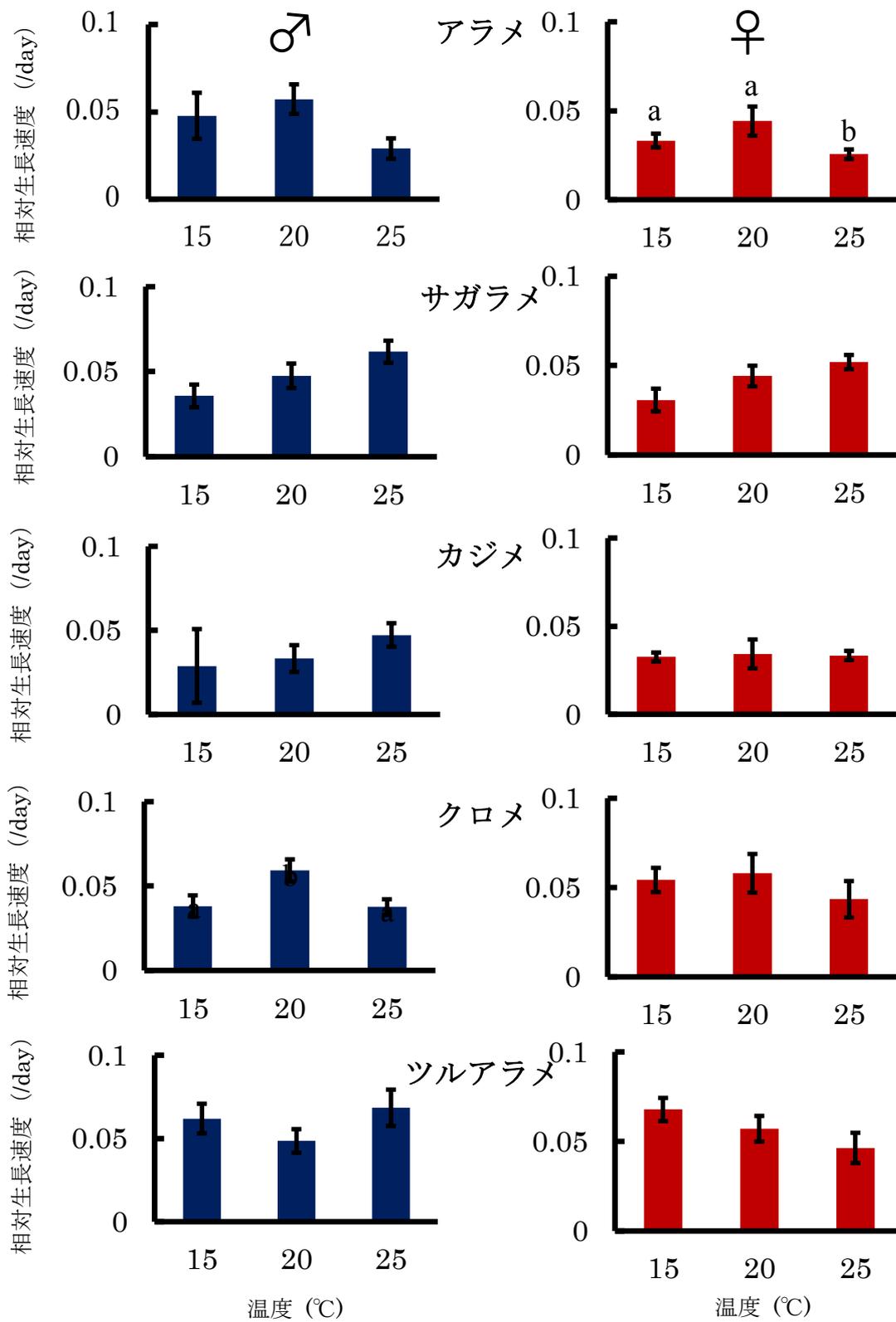


Fig. 8 配偶体の温度別相対生長速度

アラメ♀とクロメ♂において異なるアルファベットは有意差がみられたことを示す
たて棒はSE (n=15)

20, 25°Cでそれぞれ 0.068, 0.057, 0.046 であった。雌性配偶体は高温になるほど生長速度が遅くなる傾向が見られた。雌雄配偶体ともに温度間に生長速度の有意差は無かった。いずれの種も最大生長速度は 0.03~0.07/day であった。

2) 雌性配偶体の成熟率

アラメ, サガラメ, カジメ, クロメ, ツルアラメ雌性配偶体の光量 $10\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ における 14 日目の成熟率を水温 15, 20, 25°C で測定した結果を温度別に Fig. 9 に示した。アラメ, サガラメ, クロメについてはいずれの種も成熟率は 0% であった。カジメは 15, 20°C では成熟した個体が見られたが, 25°C では成熟した個体が全く見られなかった。カジメの成熟率は 15°C で 29.5%, 20°C で 39.0% だった。ツルアラメは 15, 20°C では成熟した個体が見られたが, 25°C では成熟した個体が全く見られなかった。ツルアラメの成熟率は 15°C で 5.0%, 20°C で 15.0% だった。

3) 光合成速度および呼吸速度

アラメ, サガラメ, カジメ配偶体を光合成-光曲線で Fig. 10 に示した。アラメ配偶体の 15, 20, 25°C における最大光合成速度はそれぞれ 0.57, 0.97, $1.07\mu\text{l O}_2/\mu\text{g chl. a/hr}$, 光補償点は 9.1, 7.1, $9.2\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, 呼吸速度は 0.15, 0.22, $0.21\mu\text{l O}_2/\mu\text{g chl. a/hr}$, 初期勾配は 0.015, 0.029, $0.021(\mu\text{l O}_2/\mu\text{g chl. a/hr})/(\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s})$ であった。サガラメ配偶体の 15, 20, 25°C における最大光合成速度はそれぞれ 0.48, 1.22, $1.34\mu\text{l O}_2/\mu\text{g chl. a/hr}$, 光補償点は 3.0, 13.1, $9.9\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, 呼吸速度は 0.08, 0.38, $0.16\mu\text{l O}_2/\mu\text{g chl. a/hr}$, 初期勾配は 0.031, 0.022, $0.018(\mu\text{l O}_2/\mu\text{g chl. a/hr})/(\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s})$ であった。カジメ配偶体の 15, 20, 25°C における最大光合成速度はそれぞれ 0.49, 0.73, $0.58\mu\text{l O}_2/\mu\text{g chl. a/hr}$, 光補償点は 6.7, 5.9, $9.4\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, 呼吸速度は 0.09, 0.17, $0.11\mu\text{l O}_2/\mu\text{g chl. a/hr}$, 初期勾配は 0.012, 0.030, $0.011(\mu\text{l O}_2/\mu\text{g chl. a/hr})/(\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s})$ であった。

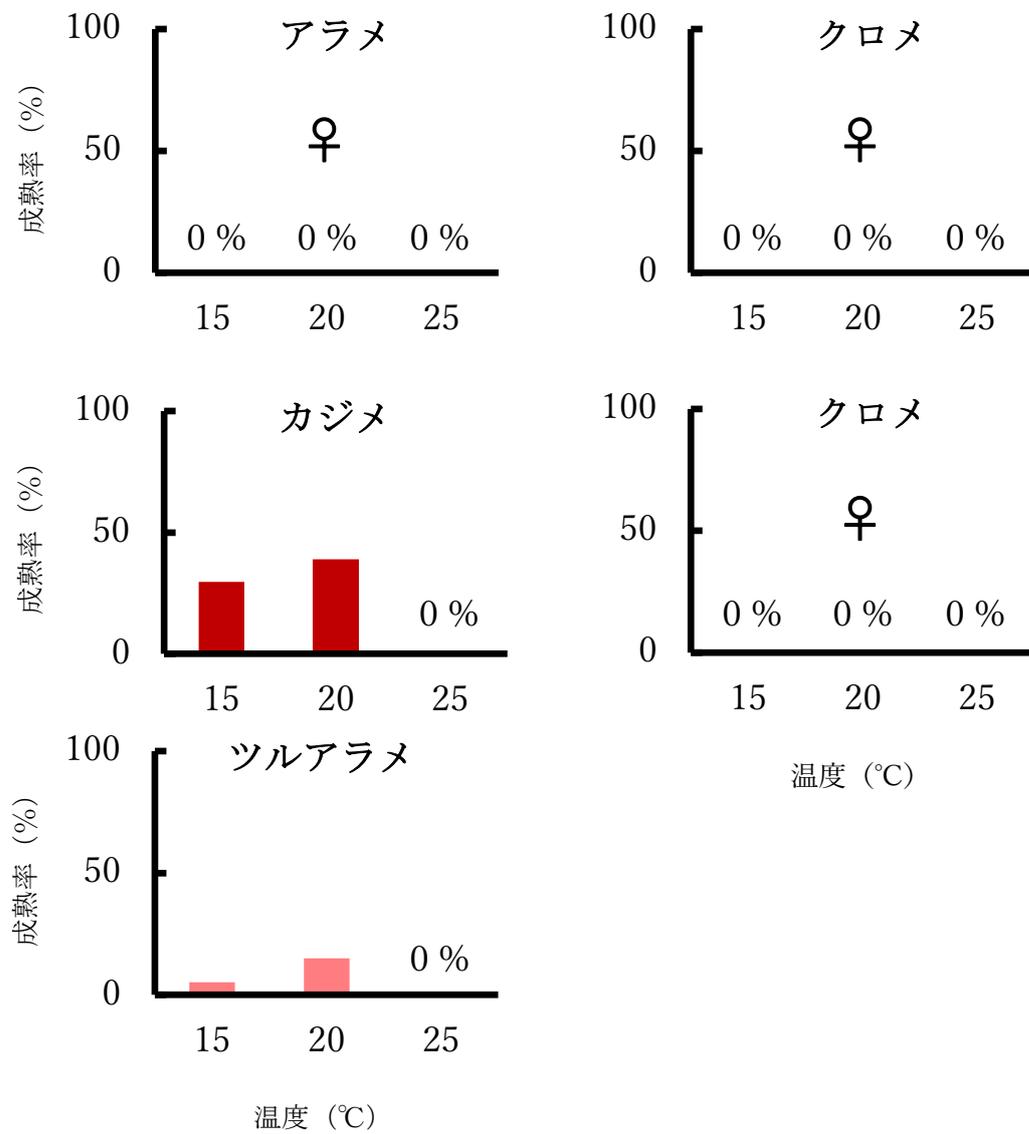


Fig. 9 雌性配偶体の温度別成熟率
(n=200)

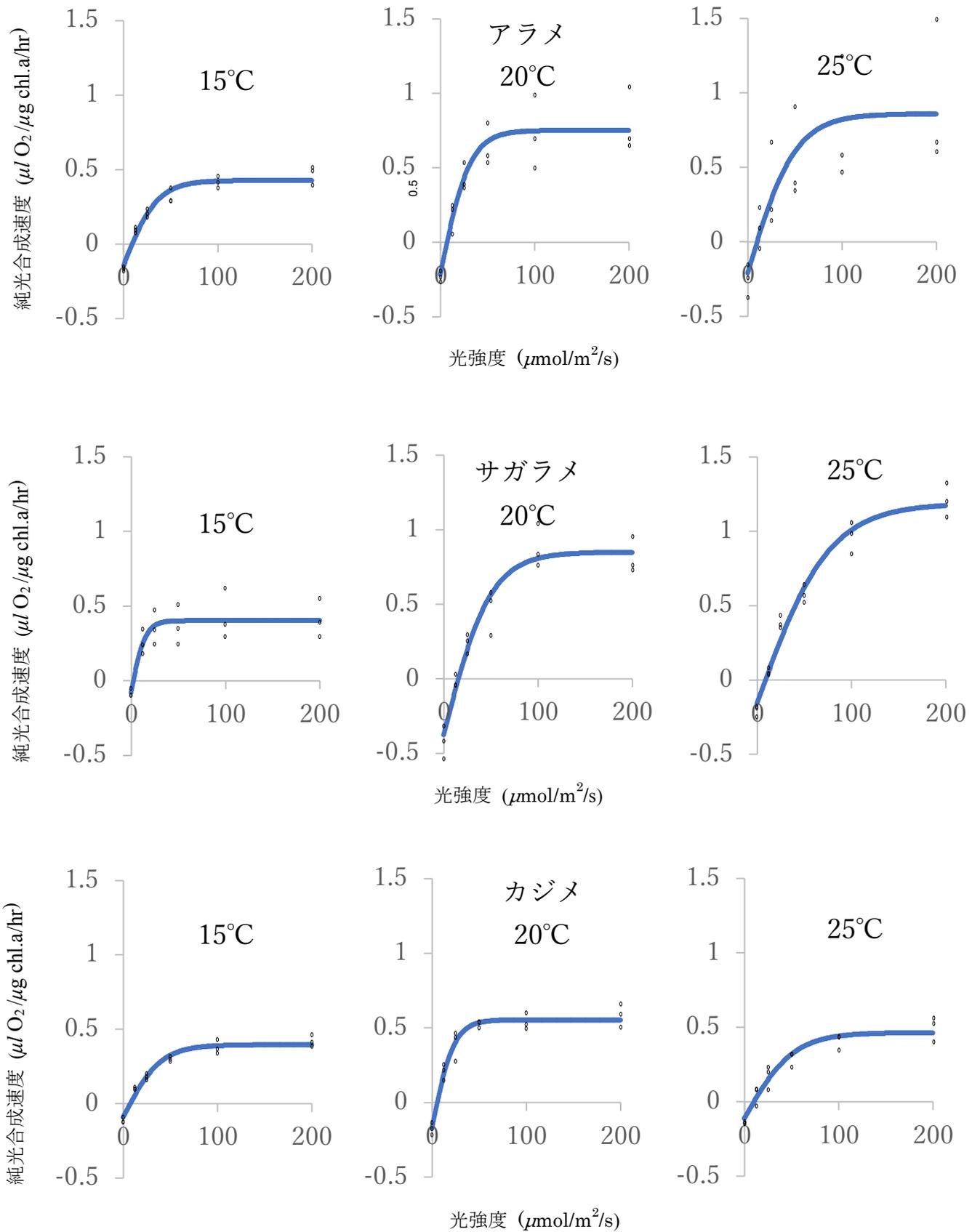


Fig. 10 アラメ, サガラメ, カジメ配偶体の光合成-光曲線 (n=3)

4) 1日の積算純光合成速度

$I_{\max}=1400 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, $D=12$ 時間での1日の光強度の変化を算出した図を Fig.11 に示す。また、1日の純光合成速度の変化の例として、光条件を水深 4m の樹冠部としたときと、光条件を海水面における光強度の 0.5%としたときの 20°Cにおけるサガラメの純光合成速度の日変化を Fig.12, 13 に示す。また、光合成-光曲線から1日の積算純光合成速度を算出した結果を Table1 に示す。弱光条件を海水面における光強度の 6%としたとき、いずれの種も全ての温度で積算純光合成量が正となり、生育可能であった。弱光条件を海水面における光強度の 3~5%としたとき、1日の積算純光合成速度の合計が負となったのは 20°Cにおけるサガラメ配偶体のみであった。また、弱光条件を海水面における光強度の 2%としたとき、1日の積算純光合成速度が正となったのはサガラメの 15°Cとカジメの 15, 20°Cのみであった。また、弱光条件を海水面における光強度の 1%としたとき、1日の積算純光合成速度が正となったのはサガラメの 15°Cのみであった。また、弱光条件を海水面における光強度の 0.5%としたとき、いずれの種も全ての温度で積算純光合成量が負となり、生育不能であった。

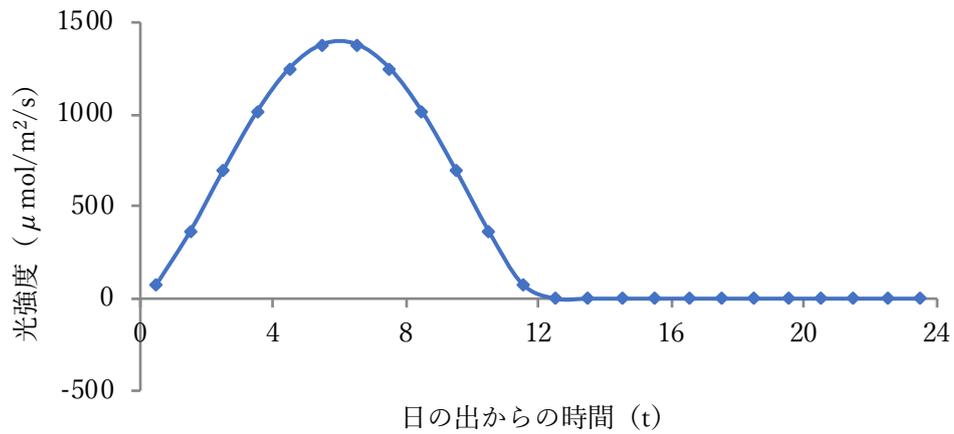


Fig. 11 日中の海表面での光強度の変化

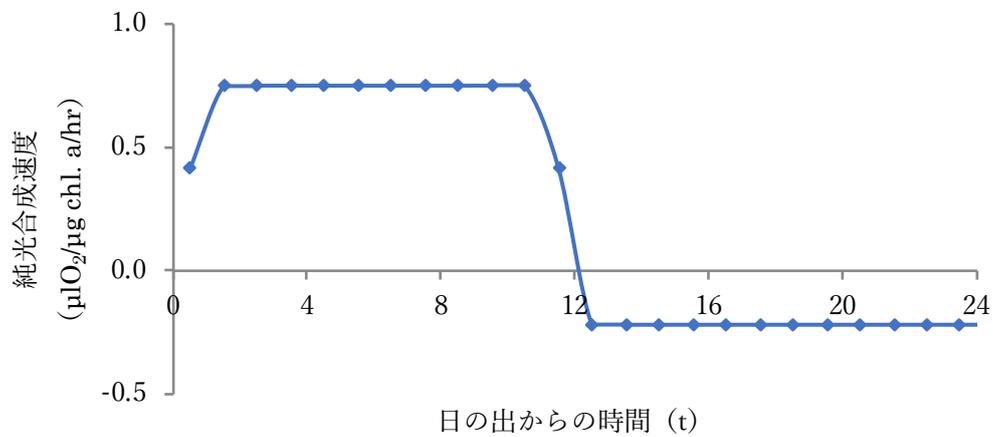


Fig. 12 1日の純光合成速度の変化の例
(樹冠部 (水深 4m) のアラメ 20°C)

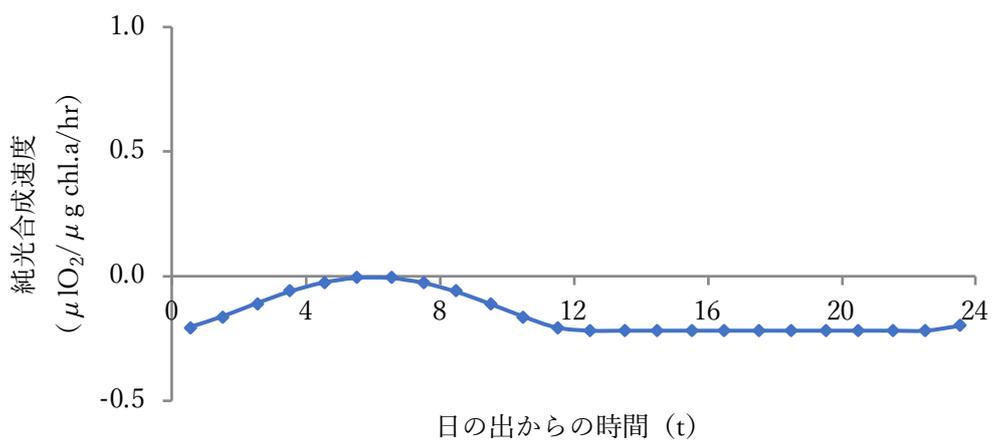


Fig. 13 1日の純光合成速度の変化の例
(林床部 (海表面の 0.5%) のアラメ 20°C)

Table1 1日の積算光合成速度の算出結果

光環境	アラメ			サガラメ			カジメ		
	15	20	25	15	20	25	15	20	25 (°C)
樹冠部 (水深4m)	2.9	5.7	6.5	3.8	4.3	10.2	3.2	4.2	3.5
林床部 (海面の6%)	1.5	3.6	3.2	3.1	0.5	4.5	1.9	2.9	1.6
林床部 (海面の5%)	1.2	3.1	2.5	3.0	-1.3	3.5	1.7	2.7	1.2
林床部 (海面の4%)	0.8	2.5	1.5	2.8	-1.4	2.3	1.3	2.3	0.7
林床部 (海面の3%)	0.2	1.5	0.3	2.6	-2.8	1.0	0.7	1.7	0.1
林床部 (海面の2%)	-0.8	-0.1	-1.2	2.0	-4.6	-0.5	0.0	0.6	-0.7
林床部 (海面の1%)	-2.0	-2.4	-3.1	0.7	-6.7	-2.1	-1.0	-1.4	-1.7
林床部 (海面の0.5%)	-2.7	-3.8	-4.1	-0.4	-7.9	-2.9	-1.6	-2.7	-2.2
									($\mu\text{O}_2/\text{chl.a}/\text{day}$)

考察

三重大大学藻類学研究室では、海中林を構成する主要なコンブ目藻類の詳細な温度特性を解明するための研究が行われてきた (Morita et al. 2003a, b, 森田 2004, 森 2007, 山口 2005, 栗原 2009, 下條 2011, 鈴木 2014, 戸瀬 2015)。これらの藻類の温度の生長, 成熟に関する研究は, 温度以外の条件が律速とならないように, 光量や栄養塩などは至適条件あるいは飽和条件で行っており, 光量は $50\sim 100\text{ mol/m}^2/\text{s}$ で実験を行っていた。しかし, 海中林構成種の配偶体, 幼体が生育する群落床部は, 成体に光が遮られるために光量が低くなっており, $5\sim 20\text{ mol/m}^2/\text{s}$ 程度とされている (Maegawa et al. 1988)。これまでこのような弱光環境における温度特性のデータはこれまで少なかった (松井ら 1992, 馬場 2009)。しかし, 群落床部に生育する配偶体の温度特性を解明するには, 実際に光量が十分でない条件での温度特性を明らかにする必要がある。このような観点から, 本研究では群落床部の光量に近いと考えられる $10\text{ }\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ におけるコンブ目カジメ科のアラメ, サガラメ, カジメ, クロメ, ツルアラメ配偶体の生長, 成熟に対する温度特性を明らかにした。また, アラメ, サガラメ, カジメについては各光強度における光合成量を測定した。

これまでの, コンブ目藻類の配偶体の生長実験では, 遊走子から発芽した配偶体の長さ (Bolton and Anderson 1987), 細胞数 (松井ら 1992, 馬場 2009), 第一細胞の直径 (Lüning and Neushul 1978, Izquierdo et al. 2002) などによって生長を評価しているため, 実験に長い期間を要していた。また, 配偶体は一次的に長くなるだけでなく, 二次元的に細胞自体を大きくするため, 上に述べたような方法では正確な生長を測定できない場合がある。そこで本研究では Morita et al. (2003a) と同様の方法を用いて, 顕微鏡下で配偶体の個体識別を行い, 投影面積を測定することで正確な生長を測定することができ, 実験期間を短縮することができた。

アラメにおいては $100\text{ }\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ の生長速度は, 雌雄配偶体ともに 25°C で最高で約

0.3 /day であり、15-25°Cにおいては最低でも 0.1 /day 以上と報告されている（森 2004）。しかし、本研究では $10\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ でのアラメの生長速度は雌雄配偶体ともに最高でも 0.07 /day 以下であった。

サガラメにおいては $100\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ の生長速度は雌雄配偶体ともに 25°C で最高であり、雄が 0.07 /day、雌が 0.08 /day であることが報告されている（森 2007）。本研究ではサガラメにおいては $10\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ の生長速度は雌雄配偶体ともに 25°C で最高であり、雄性配偶体は 0.06/day、雌性配偶体は 0.052 /day であった。

カジメにおいては $100\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ の生長速度は、雄性配偶体は 20°C で最高であり約 0.25 /day、雌性配偶体は 22.5°C で最高であり約 0.3 /day であることが報告されている（下條 2011）。本研究ではカジメの $10\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ における生長速度は雄性配偶体は 25°C で最高であり 0.047/day、雌性配偶体は 20°C で最高であり 0.034 /day であった。 $100\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ におけるカジメの雌性配偶体の生長速度は温度間の差が少なく、15、20、25°C の中では 20°C が最も生長速度が高かった。このことは本研究の $10\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ におけるカジメの生長速度においても共通している。

クロメにおいては $100\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ の生長速度は雌雄配偶体ともに 20°C で最高であり、雌性配偶体 0.15 /day、雄性配偶体 0.17 /day の生長速度であることが報告されている（鈴木 2014）。本研究ではクロメにおける $10\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ の生長速度が雌雄配偶体ともに 20°C で最も高く、雄性配偶体は 0.059/day、雌性配偶体は 0.058/day であった。

ツルアラメにおいては生長速度が雌性配偶体では 20°C で最も低く、雌性配偶体は高温になるほど生長速度が低くなる傾向がみられた。ツルアラメの $100\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ においては雄性配偶体は 20°C が最も生長速度が高く、雌性配偶体は高温になるほど生長速度が高くなった。

以上のようにいずれの種も $10\mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{s}$ においては最も高い生長速度でも 0.3~0.7/day であったが、 $100\mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{s}$ では最も低い生長速度でも 0.07 /day 以

上であった。本培養で対象としたカジメ科藻類の配偶体は、全ての温度で $100\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ より $10\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ における生長速度が下回ることがわかった。

アラメ、サガラメ、カジメの雌性配偶体は $100/\text{m}^2/\text{s}$ においては $15\text{-}25^\circ\text{C}$ で成熟することが知られている（森 2007, 下條 2011）。また、クロメは $17.5\text{-}25^\circ\text{C}$ （鈴木 2014, 成原 1987）、ツルアラメは $20\text{-}25^\circ\text{C}$ （戸瀬 2015）で雌性配偶体が成熟することが知られている。いずれの種も 20°C では 80% 以上の成熟率を示した（森 2007, 下條 2011, 鈴木 2014, 成原 1987, 戸瀬 2015）。本研究では $10\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ においては成熟がみられたのは $15, 20^\circ\text{C}$ のカジメとツルアラメのみで、カジメ科藻類の中で比較的深所に生育しているカジメとツルアラメに成熟がみられることが明らかとなった。この結果は深所のより暗い環境に適応している種の特徴が現れたものと考えられる。いずれの種も $10\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ においては 25°C で成熟しなかった。また、松井ら（1992）はアラメ、カジメ、クロメの遊走子について $14\sim 16^\circ\text{C}$ において $30\sim 50\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ が成熟が見られる下限であると報告している。これらの結果は、林床部のように低光量の環境ではカジメ科褐藻の配偶体は 1 年を通じて生長、成熟が抑制されることを示している。

本研究では光合成-光曲線では光強度は $200, 100, 50, 25, 12.5, 0\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ の 6 段階とした。光量をこのように設定したのは、アラメやクロメでは $50\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 以上で生長速度が飽和することが知られており（馬場 2009, 2010）、より低光量下側での光合成速度を見るためである。アラメ、サガラメ、ツルアラメのいずれの種も最大純光合成速度と呼吸速度がともに最も低いのは 15°C であった。アラメは 25°C で最も最大純光合成速度が高く、サガラメとカジメは 20°C で最も最大純光合成速度が高くなった。1 日の積算純光合成量を考えると、飽和光量下では $15\sim 25^\circ\text{C}$ のいずれの温度でも 1 日の純光合成量が正であったことから、配偶体は生育可能だと判断した。海水面に対する林床部の相対光量を 3% としたときはサガラメの 20°C 以外は生育可能であったが、 2% としたときはサガラメの 15°C 、カジメの 20°C のみが生育可能であり、 1% としたとき

はサガラメの 15°Cのみが生育可能であった。また、0.5%としたときはいずれの種も全ての温度で積算純光合成量が負となり、生育不能であった。よって低光量下では生育可能な水温が制限されると考えられる。相対光量が3~5%でサガラメの20°Cのみが生育不能となっていた。20°Cでのみ活性が高くなるなら生長速度と呼吸速度がともに高くなるが、20°Cのサガラメ配偶体の生長速度は高くなく (Fig. 8), 呼吸速度は高い (Fig.10)。これは、20°Cで配偶体株の長期保存培養を行っていたことが呼吸速度に何らかの影響を与えていることが考えられる。また、相対光量の2%とした際に低温側が生育可能になった理由としては、低温下ほど呼吸速度が低いためと考えられる。低光量下においては日中の光合成速度が低いため、夜間の呼吸量が少ない低温条件の方が1日の積算純光合成量が正になりやすく、生き残りやすいと考えられる (Table1)。

幼体や配偶体が生育している林床部では群落直上の海水面の約0.6~2.2%程度の光量となり、幼体や配偶体が生育可能な下限は0.5%であると報告されている (Maegawa et al. 1988)。しかし、本研究においてアラメ、サガラメ、カジメ配偶体1日の積算純光合成速度の計算結果では、群落直上の海水面の1%の光量で生育不能であるという結果が出ている。これは、実際の海中林の林床部における光量が一定でないことが原因として考えられる。海中林の林冠部では密に生育している胞子体の葉状部が林床部への光を遮っているが、海流に動葉状部が動かされて林床部へ強い光が届くといった揺らぎがある。こうした不安定ながらも林床部へ差し込む強い光によって、実際には自然下で生育する配偶体は1日の積算産光合成速度の計算結果で推定されているより多い光量を受けていることが考えられる。

本研究における低光量下での配偶体の温度特性実験の結果、低光量下では飽和光量下に比べて生長速度が低く、成熟可能な温度範囲が限定されることが分かった。また、同じ温度でも光量が低下すると生育不能になることが分かった。これは、同じ温度でも光量が十分ならば生長速度が高く、成熟がしやすくなると言い換えることがで

きる。

カジメ科藻類が沿岸部に形成する海中林においては、葉状部の現存量は季節によって変化し、夏季において最大となることが知られており（吉田 1970, Yokohama et al. 1987, 蒲原ら 2009, 西垣・道家 2015), したがって林床部の光量は下記に最も低く、冬は高くなると考えられる。林床部の低光量下で生育する配偶体が安定して十分な光を得るときは限られている。カジメやアラメの海中林ではギャップ更新により群落を更新することが知られている（前川 1990）。台風等の強い攪乱による流失によって胞子体が無くなると、海中林の林冠部に周りの胞子体が生長しても埋まらない隙間（ギャップ）ができる。すると、その隙間から林床部に安定して十分な光が届くようになる。本研究の結果から、林床部で生長、成熟が抑制されていた配偶体がギャップ形成で十分な光量を得ると、適切な水温であれば急速に生長、成熟し、幼体として隙間に加入していくと考えられる。自然下のカジメ科藻類の海中林群落において、カジメ科藻類の配偶体が生存しているかどうかの測定は困難であり、実測はされていない。しかし、特定地域のカジメ海中林群落を長期間観測した結果から、林床部では配偶体が生育しているものと考えられる（前川 1990）。また、サガラメの海中林群落については、完全に群落が消失した翌年に消失以前のサガラメ由来の新たな胞子体が加入したことが加藤（2018）で報告されている。これらの研究結果は、低光量下においてはカジメ科藻類の配偶体の生長、成熟が制限しているため成熟せずに生存しており、樹冠が消失して十分光量が得られると成熟し胞子体を形成することを示している。本研究の結果はこれらの研究を支持するものである。

今後、カジメ科藻類の海中林に対する地球温暖化の影響や、群落更新の動態を評価にするためには、林床部で生育するカジメ科藻類の低光量下での配偶体の温度特性を明らかにすることが必要である。さらに様々な光量以外の栄養塩濃度等も生育環境に近い条件として詳細な温度特性について調べる必要があると考えられる。

要約

暖海性コンブ目であるカジメ科藻類の配偶体の温度特性については多くの知見があるが、温度以外の条件が律速とならないように、光量や栄養塩などは至適条件あるいは飽和条件で行っており、光量については $50\sim 100\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ で実験を行ってきた。しかし、海中林構成種の配偶体、幼体が生育する群落床部は、成体に光が遮られるために光量が低くなっており、 $8\sim 30\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 程度と考えられる。これまでこのような配偶体が生育する海中林下部の弱光環境における温度特性の知見は少ない。本研究は、配偶体の生育環境に近いと考えられる $10\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ におけるコンブ目カジメ科のアラメ、サガラメ、カジメ、クロメ、ツルアラメ配偶体の生長、成熟に対する温度特性を明らかにした。また、アラメ、サガラメ、カジメについては各光強度における光合成量を測定した。

いずれの種も全ての温度で低光量下での生長速度は飽和光量下の生長速度を下回っていた。飽和光量下ではいずれの種も全ての温度で成熟がみられた。低光量下ではカジメとツルアラメのみが 15 、 20°C で成熟がみられ、いずれの種も 25°C では成熟がみられなかった。いずれの種も 15°C で最大純光合成速度と呼吸量が最も低かった。1日の積算純光合成速度を考えると、弱光下では日中の光合成速度が制限されるため、夜間の呼吸量が少ない低温が生存に有利であると考えられる。カジメ科藻類配偶体は低光量下では生育可能な温度の範囲が狭くなると考えられる。

これまでのコンブ目褐藻配偶体の温度特性に関する研究では飽和光量下での実験が主であり、低光量下でのデータはほとんど無かった。しかし、自然下では海中林群落下部の光条件が群落直上の約 $0.6\sim 2.2\%$ 程度の低光量下で、幼体や配偶体が生育している。今回の研究では実際の環境に近い低光量下での実験を行い、低光量下では飽和光量下に比べて生育可能な温度範囲が狭いことが分かった。今後の研究では実際の生育環境での条件に近い培養条件での知見が求められると考えられる。

謝辞

本論文の御校閲と審査をしていただいた石川輝教授と木村妙子教授に深く感謝いたします。本研究を行うにあたり、ご指導とご助言をしていただき、論文の執筆に関しても熱心に指導をしてくださった倉島彰准教授に深く感謝いたします。また、本研究の培養を行うにあたり、多大な協力をしていただいた三重大学藻類学研究室の皆様に深く感謝いたします。

参考文献

- Bolton, J. J. and Anderson, R. J. 1987. Temperature tolerances of two southern African *Ecklonia* species (Alariaceae: Laminariales) and of hybrids between them. *Mar. Biol.* 96: 293-297.
- Bolton, J. J. and Levitt, G. J. 1985. Light and temperature requirements for growth and reproduction in gametophytes of *Ecklonia maxima* (Alariaceae: Laminariales). *Mar. Biol.* 87: 131-135.
- Breeman, A. M. 1988. Relative importance of temperature and other factors in determining geographic boundaries of seaweeds: Experimental and phenological evidence. *Helgol. Meeresunters* 42: 199-241.
- Dieck, I. tom 1993. Temperature tolerance and survival in darkness of kelp gametophytes (Laminariales, Phaeophyta): ecological and biogeographical implications. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 100: 253-264.
- 馬場将輔 2009. クロメ配偶体と幼胞子体の生育に及ぼす温度, 光量, 塩分の影響. *Algal Resources* 2: 11-19.
- 馬場将輔 2010. 室内培養によるアラメ配偶体と幼胞子体の生育に及ぼす温度と光量の影響. *海生研研報*, 第 13 号, 75-82.
- 林田文郎 2002. 海中林構成種サガラメの配偶体と芽胞体の生長に及ぼす光量の影響. *東海大学紀要海洋学部* 53: 125-134.
- 林田文郎・平光一洋・村上宗孝 1999. 海中林構成種サガラメの配偶体と芽胞体の成長に及ぼす水温の影響. *東海大学紀要海洋学部* 47: 125-132.
- Hoek, C. van den 1984. World-wide latitudinal and longitudinal seaweed distribution patterns and their possible causes, as illustrated by the distribution of Rhodophytan genera. *Helgol. Meeresunters* 38: 227-257.
- Izquierdo, J. L., Prez-Ruzafa, I. M. and Gallard, T. 2002. Effect of temperature and

photon fluence rate on gametophytes and young sporophytes of *Laminaria ochroleuca* Pylae. Helgol. Mar. Res. 55: 285-292.

加藤葉 2018. 尾鷲湾における磯焼けからの藻場再生過程. 三重大学生物資源学部 平成 29 年度修士論文.

蒲原聡・服部克也・口石元伸一・口原田靖子・山本有司・芝 修一・倉島 彰 2009. 伊勢湾 東部沿岸におけるサガラメの成熟と加入時期. 愛知水試研報, 159-12 (9).

駒澤一朗・坂西芳彦 2009. 暖海性コンブ目アントクメ配偶体の生長と成熟におよぼす 温度の影響. 藻類 57: 129-133.

Komazawa, I., Sakanishi, Y., Tanaka, J. 2015. Temperature requirements for growth and maturation of the warm temperate kelp *Eckloniopsis radicata* (Laminariales, Phaeophyta). Phycol. Res. 63: 64-71.

倉島彰・横浜康継・有賀祐勝 1996. 褐藻アラメ・カジメの生理特性. 藻類 44: 87-94

栗原正樹 2009. 褐藻アントクメの温度特性. 三重大学生物資源学部 平成 20 年度卒業 論文.

Lima, F. P., Ribeiro, P. A., Queiroz, N., Hawkins, J. H. and Santos, A. M. (2007). Do distributional shifts of northern and southern species of algae match the warming pattern. Glob. Change Biol. 13: 2592-2604.

Lüning, K. 1980. Critical levels of light and temperature regulating the gametogenesis of three *Laminaria* species (Phaeophyceae). J. Phycol. 16: 1-15.

Lüning, K. 1984. Temperature tolerance and biogeography of seaweeds: The marine algal flora of Helgoland (North Sea) as an example. Helgol. Meeresunters 38: 305-317.

Lüning, K. 1990. Seaweeds. John Wiley & Sons, Inc. NEW YORK.

Lüning, K. and Dieck, I. tom 1989. Environmental triggers in algal seasonality. Bot. Mar. 32: 389-397.

- Lüning, K. and Neushul, M. 1978. Light and temperature demands for growth and reproduction of *Laminarian* gametophytes in Southern and Central California. *Mar. Biol.* 45: 297-309.
- Maegawa, M., Yokohama, Y. and Aruga, Y. 1987. Critical light conditions for young *Ecklonia cava* and *Eisenia bicyclis* with reference to photosynthesis. *Hydrobiologia* 151/152: 447-45.
- Maegawa, M., Kida, W. and Yokohama, Y. 1988. Comparative studies on critical light condition for young *Eisenia bicyclis* and *Ecklonia cava* Kjellman. *Jpn. J. Phycol.* 36: 321-327.
- 前川行幸. カジメ海中林の構造と更新過程. 沿岸海洋研究ノート 第27巻第2号 別刷, 1990年2月.
- 松井敏夫・大貝政治・大島芳明・古原和明 1992. コンブ目植物数種の成長・成熟および胞子体（幼葉）の成長に及ぼす光質・光量の影響. 日本水産学会誌 58(7), 1257-1265(1992).
- 森勇樹 2007. 褐藻アラメ・サガラメの温度特性と水平分布. 三重大学院生物資源学研究科 平成18年度修士論文.
- 森田晃央 2004. 日本産ワカメ属3種の温度および光特性. 三重大学院生物資源学研究科 平成15年度博士論文.
- Morita, T., Kurashima, A. and Maegawa, M. 2003a. Temperature requirements for the growth and maturation of the gametophytes *Undaria pinnatifida* and *U. undarioides* (Laminariales, Phaeophyceae). *Phycol. Res.* 51: 154-160.
- Morita, T., Kurashima, A. and Maegawa, M. 2003b. Temperature requirements for the growth of young sporophytes of *Undaria pinnatifida* and *U. undarioides* (Laminariales, Phaeophyceae). *Phycol. Res.* 51: 266-270.
- 成原淳一 1987. クロメ配偶体の生長・成熟に及ぼす温度ならびに照度の影響. 水産増

殖, 35 卷 1 号 1-6.

西垣友和・道家章生 2015. 若狭湾西部海域における褐藻クロメの分布特性および季節的消長. 京都府磯林水産技術センター海洋センター研究報告第 37 号

Serisawa, Y., Imoto, Z., Ishikawa, T. and Ohno, M. 2004. Decline of the *Ecklonia cava* population associated with increased seawater temperatures in Tosa Bay, southern Japan. Fish. Sci. 70: 189-191.

下條由香里 2011. 褐藻カジメ配偶体の温度特性. 三重大学生物資源学部 平成 22 年度卒業論文.

鈴木裕也 2014. 褐藻カジメ属 2 種カジメ, クロメの高温耐性. 三重大学院生物資源学研究科 平成 25 年度修士論文.

戸瀬太貴 2015. 褐藻ツルアラメの生長と成熟におよぼす水温の影響. 三重大学院生物資源学研究科 平成 27 年度修士論文.

田中俊充・四ツ倉典滋・木村創・能登谷正浩 2008. 和歌山県沿岸に生育するカジメ・クロメ配偶体の生長と成熟および孢子体の初期生長に及ぼす水温の影響. 水産増殖 56: 343-349.

谷口和也・秋山和夫 1982. アラメ配偶体の生長及び成熟に対する水温と光条件. 東北水研 研究報告 45: 55-59.

山口喬 2005. カジメの成熟に光・温度条件が及ぼす影響. 三重大学院生物資源学研究科 平成 16 年度修士論文.

Yarish, C., Breeman, A. M. and Hoek, C. van den 1986. Survival strategies and temperature responses of seaweeds belonging to different biogeographic distribution groups. Bot. Mar. 26: 215-230.

吉田忠生 1970. アラメの物質生産に関する 2・3 の知見. 東北区水産研究所 研究報告 第 30 号 別刷

横浜康継 1986. 8. 海藻の分布と環境要因. 秋山優・有賀祐勝・坂本充・横浜康継 (編)
藻類の生態. pp. 251-308. 内田老鶴圃. 東京.

Yokohama, Y. and Ichimura S. 1969. A new device of differential gas-volumeter for ecological
studies on small aquatic organisms. Jour. Oceanogr. Soc. Japan Vol.25 No.2:75-80.

横浜康継・前川行幸 1988. プロダクトメーター (差働式検容計) による大型試料の光
合成および呼吸測定. 藻類, 36, 29-36.

Yokohama, Y., Tanaka, J. and Chihara, M. 1987. Productivity of the *Ecklonia cava* Community
in a Bay of Izu Peninsula on the Pacific Coast of Japan, Bot. Mag. Tokyo 100: 129-141.