

群落光合成モデルを利用した
異なる硝酸態窒素濃度での
アオサ属藻類の生産力推定

令和二年度

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
海洋生物学講座

阪口 公彬

目次

緒言.....	1
第 I 章. 群落光合成モデルの作成.....	5
1. 序論.....	5
2. 材料と方法.....	6
(1) 材料.....	6
(2) 培地濃度の調整.....	6
(3) 培養方法.....	8
(4) 光合成速度と呼吸速度.....	9
(5) 生長の測定.....	10
(a) 不稔性アオサ.....	10
(b) スジアオノリ.....	10
(6) 光合成-光曲線の作成.....	10
(a) 散乱光と直射光の光量の補正.....	10
(b) 光合成-光曲線の近似式.....	12
(7) 生長の実測値と推定値の比較.....	12
(8) 藻体の光の透過率と光合成色素分析.....	13
(9) 統計処理.....	14
3. 結果.....	15
(1) 栄養塩濃度と生長.....	15
(2) 光合成-光曲線.....	16
(3) 生長量の実測値と推定値の比較.....	17
(4) 不稔性アオサの光の透過率と光合成色素含量.....	19
4. 考察.....	21

第Ⅱ章. 環境調査.....	22
1. 序論.....	22
2. 調査地点と方法.....	23
3. 結果.....	25
(1) 水温.....	25
(2) 栄養塩濃度.....	25
(3) 光量と吸光係数.....	25
(4) グリーンタイドの発生とアオサの生育状況.....	27
4. 考察.....	28
第Ⅲ章. 群落光合成モデルによる生産力推定.....	29
1. 序論.....	29
2. 材料と方法.....	30
(1) 材料と培養条件.....	30
(2) 光合成速度および呼吸速度の測定と含水率の測定方法.....	30
(3) 光合成-光曲線の作成.....	31
(4) 各天候の日射量の測定.....	31
(5) アオサ属藻類群落内の光環境と群落の吸光係数.....	32
(6) アオサ属藻類群落内の任意深度における光量.....	34
(7) 群落光合成モデルによる生産力推定の条件.....	36
(8) 単位面積当たりにおける不稔性アオサの生産力推定.....	36
(9) 統計処理.....	36
3. 結果.....	37
(1) 光合成-光曲線.....	37
(2) 含水率.....	39

(3) 乾燥重量.....	40
(4) 各天候時の光量.....	40
(5) 群落光合成モデルによる生産力推定.....	41
(6) 各季節の生産力.....	41
(7) 異なる栄養塩条件における生産力の日変化の推定.....	45
4. 考察.....	46
総合考察.....	48
要約.....	51
謝辞.....	52
引用文献.....	53

緒言

アオサ属 (*Ulva*) は管状や膜状の小型海藻であり (吉田 1998) (図 1), 外海に面した波の静かな岩礁域や内湾, 河口域の岩, 小石に着生する (小田 2012)。図 2 にアナアオサ (*Ulva pertusa*) の生活史を示す。雌雄配偶体と孢子体は同型であり, 体長は通常 20–30 cm である。両世代とも潮間帯において通年観察されるが, 一般的に春に最も藻体が大きくなり, 冬は小さい。成熟は月に 2 回大潮の前に起こり, 年間を通して雌雄の配偶体から配偶子が放出される。雌雄の配偶子が接合して接合子となり, 基物に着生する。接合子は 2–3 日後に発芽し, 2–3 か月で成体の孢子体となる (館脇 1994)。

アナアオサやスジアオノリ (*Ulva prolifera*) などのアオサ属藻類は食品として利用されている。三重県で養殖が盛んなヒトエグサ (*Monostroma nitidum*) は「あおさ」「あおさのり」などと呼ばれているが, ヒトエグサ属に属しており, アオサ属とは系統的に異なる。

1970 年代からの沿岸域の慢性的な富栄

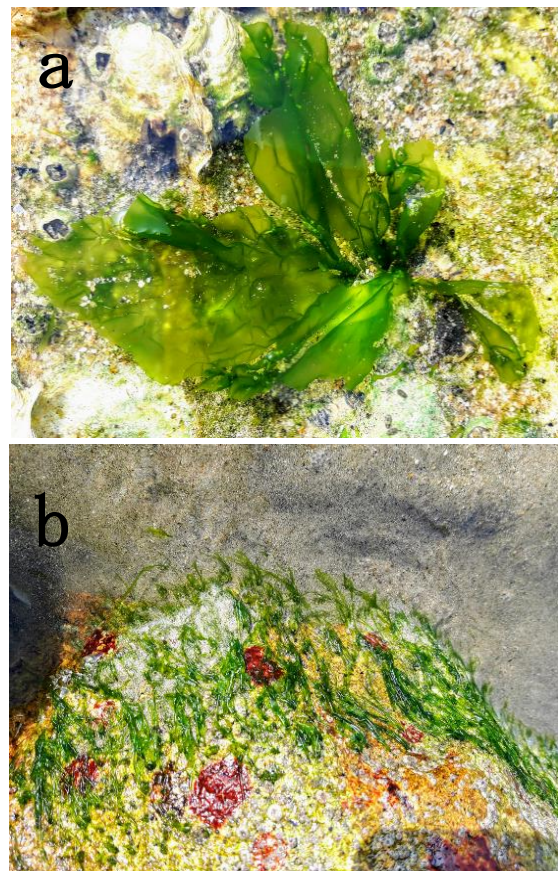


図 1. アナアオサ (*Ulva pertusa*) (a), スジアオノリ (*Ulva prolifera*) (b)

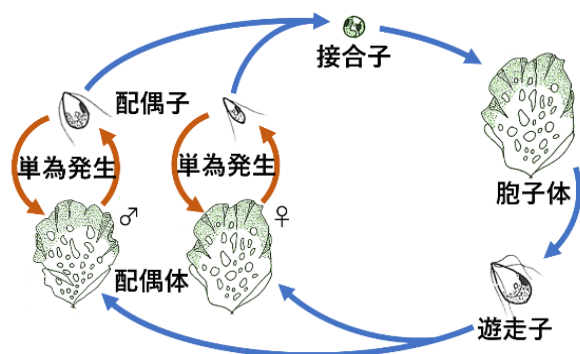


図 2. アナアオサの生活史 (館脇 1994 を一部改変)

養化や近年の地球温暖化に伴い、アオサ属藻類が浅瀬の沿岸域で異常に繁殖するグリーンタイドとよばれる現象が発生している（藤原・矢内 2017）。グリーンタイドは付着器を失ったアオサ属藻類が浮遊しながら増殖して引き起こされる現象と定義されている（山岸・垣本 2011）。日本では特に九州、



図 3. アオサ属藻類の堆積風景（松阪港）

四国沿岸，瀬戸内海，三河湾，東京湾などで発生している（大野 1999）。2008 年 6 月に開催された北京オリンピックのセーリング会場である青島の沿岸域ではグリーンタイドが 60 km²に拡がり，1 万人以上で 100 万トン回収したと報告されている（嶋田 2012）。

グリーンタイドによって大量発生し，堆積したアオサ属藻類が底質を膜状に覆うと嫌気化を進行させ，底生生物の減少や水質浄化機能の低下による水質悪化，悪臭の発生を引き起こす（藤原・矢内 2017）（図 3）。また，堆積したアオサ属藻類は景観悪化につながり，観光被害も発生している（大野 1999）。大量に発生した年間数千トン規模のアオサ属藻類を回収している地域では，その処理方法も課題となっており，福岡県福岡市では，アオサ属藻類の除去と埋め立処分に年間約 3000 万円の費用が投じられている（大塚 2006，内田ら 2012）。このような作業は基本的に人力による除去以外の方法がないため（西川ら 2009），グリーンタイド発生の抑制に繋がる対策を講じる必要がある。そのためには，アオサ属藻類の生産力と環境条件との関係を解明することが重要である。

グリーンタイドの構成種はアナアオサやオオバアオサ，これらの不稔性変異株，スジアオノリなどがある。長崎県大村湾で発生したグリーンタイドにおいて採集された不稔性アオサは，成熟することなく，10 年以上も栄養繁殖を続けると報告されており，生長が速く，富栄養化した水域で大量に繁茂する（岸田・馬場 2003，岡本 1997，女川 1998）。また，グリーンタイドが発生した記録がある中国の黄河海域やフランスの Thau lagoon

では、夏季の栄養塩濃度が高い時期にグリーンタイドが発生したことが報告されている (Casabianca and Hugo 1998, Liu et al. 2013)。そのため、グリーンタイドの発生を予測するためには、特に富栄養や高水温などの環境下でのアオサ属藻類の生産力を解明する必要がある。

海藻の生産力の推定法には直接法と間接法がある。直接法は海藻の生長量や現存量の時間的変化から生産力を測定する方法であり、間接法は水中の光環境や海藻の光合成速度からモデルを作成し、生産力を推定する方法である。直接法を用いた例として、Yokohama et al. (1987) の、カジメの個体を標識して、継続的に同一個体の生長量を実測して生産力を求めた研究や、谷口・山田 (1978) や村瀬 (2001) のヤツマタモクやノコギリモクの生産力を、同じ群落の一定の範囲内で刈り取った藻体の現存量の変化から推定した研究がある。しかし、グリーンタイドを形成するアオサ属藻類は藻体が浮遊しながら移動しているため、これらの研究のように同一個体の生長量の継続的な測定や同一地点での採集を行うことは困難である。このように現場での現存量や生長量の測定が極めて困難な場合は間接法が有効である。

陸上植物では、群落光合成理論により群落全体の生産力を求めるモデルの研究が古くから行われてきた (門司・佐伯 1982)。これは、陸上植物の群落構造と群落内の光環境との関係から光合成による物質生産量を算出するものである。群落構造とは植物群落の階層 (高さ)、葉の量・傾き・配列などを表す。群落内の光環境は群落構造によって変化する。陸上植物では、光量の多い群落上部は光合成が盛んに行われるため、生産力が高いのに対し、群落下部では光の減衰とともに生産力は負となる。結果として、群落下部の葉は枯死し、消失する。そのため、群落全体の生産力を明らかにするには、群落内の光量と群落構造を解明し、群落のそれぞれの葉の受光量を推定する必要がある。Monsi and Saeki (1953) は、それぞれの葉の受光量と葉の量や位置、傾きを考慮することで群落光合成理論による数学モデルを作成し、群落全体の生産力を推定した。

一方、海藻の場合、葉状部は常に浮遊しながら動いているため、位置が固定されておらず受光量は均一と考えることができる。したがって、海藻では、葉状部の位置や傾きと無関係に、群落全体が吸収する光量と群落の葉の量のみで葉状部の受光量を推定することができる。この考えを基に、松村(1997)は、不稔性アオサの光合成速度を測定し、光合成-光曲線から作成したモデルを用いて、生産力の推定を試みた。

このようなモデルによりアオサ属藻類の生産力を様々な環境条件で推定可能になれば、グリーンタイドの発生予測や抑制に貢献できると考えられる。さらに、そのモデルを応用すれば、アオノリなどの養殖対象種の生育に最適な条件の探索も可能となる。

そこで本研究の第1章では、アオサ属藻類の一種である不稔性アオサとスジアオノリの光合成速度を測定し、生産力を推定する群落光合成モデルを作成した。第2章では、グリーンタイドが確認された日本三景の一つである京都府宮津湾にて調査を行い、グリーンタイドの発生と環境条件との関係を確認しようと試みた。第3章では、作成した群落光合成モデルを用いて、不稔性アオサとスジアオノリの生産力を推定した。さらに、グリーンタイドを引き起こす生産力と環境の関係の解明を行った。

第I章. 群落光合成モデルの作成

1. 序論

富栄養によってグリーンタイドが発生した海域の栄養塩濃度は、鹿児島県出水干潟地先では、平均 DIN 濃度が約 11–36 $\mu\text{mol/L}$ 、DIP 濃度が 0.8–1.4 $\mu\text{mol/L}$ 、フランスの Thau lagoon では DIN 濃度は年間 10.5–247.9 $\mu\text{mol/L}$ の範囲と報告されている (Casabianca and Hugo 1998, 吉田ら 2011)。また、有明海の福岡県側における湾口部では、DIN が 1973–1978 年の平均で 1–10 $\mu\text{mol/L}$ 、DIP が 1972–1978 年の平均で 0.2–0.4 $\mu\text{mol/L}$ と報告されている (岡部・福井 1981)。これらのことから、高い DIN 濃度は、グリーンタイドが発生する要因のひとつと考えられる。そこで、第I章では DIN 濃度に着目し、異なる硝酸態窒素 ($\text{NO}_3\text{-N}$) 濃度で培養したアオサ属の光合成速度から、群落光合成モデルを作成することを目的とした。そのため、グリーンタイドを構成する不稔性アオサとスジアオノリを用いて、光合成速度から硝酸態窒素濃度と生長量の関係を推定した。

2. 材料と方法

(1) 材料

材料は 1993 年 3 月に下関水産大学校水産植物研究室より譲り受けた不稔性アオサを用いた。本種は、実際にグリーンタイド発生時に採取されたものである。また、スジアオノリは 2019 年 5 月 8 日に三重県南伊勢町五ヶ所川で採取した。両種ともに三重大学藻類学研究室で水温 20°C, 光強度約 80 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$, 光周期 12 時間暗期 12 時間暗期の条件で、20%濃度の PES 培地で通気しながら培養しているものを使用した。

(2) 培地濃度の調整

実験には研究室に汲み置きしておいた三重県浜島沖の海水を用いた。汲み置きしてある浜島沖の海水中の栄養塩を分析するためにシリンジ (SS-50ESZ, TERUMO) とろ紙 (GF/C, Whatman) を用いてろ過した。ろ紙はプラスチックホルダー (PP-

表 1. 浜島沖の海水の栄養塩濃度

栄養塩	濃度 ($\mu\text{mol/L}$)
アンモニア態窒素	1.4–1.6
亜硝酸態窒素	0.1–0.2
硝酸態窒素	4.3–14.5
リン酸態リン	0.2–0.4

表 2. 改変 PES 原液

(通常の PES 培地から窒素源である硝酸ナトリウムとリン源であるグリセロリン酸ナトリウムを除いたもの) ※海水 100 ml に対して 4 ml 添加

試薬類	内容量
蒸留水	100ml
Fe-EDTA	2.5 mg
PII金属混液	25 ml
ビタミン B ₁₂	10 μg
チアミン	0.5 mg
ビオチン	5 μg
TRIS	500 mg

(pH 7.8–8.0)

表 3. 各培地中の硝酸ナトリウムとグリセロン酸ナトリウムの添加濃度

培地	硝酸ナトリウム (NaNO_3) ($\mu\text{mol/L}$)	グリセロリン酸 ナトリウム ($\text{C}_3\text{H}_7\text{Na}_2\text{O}_6\text{P}$) ($\mu\text{mol/L}$)
1	0	0
2	30	1
3	200	1

25, ADVANTEC) に挟み, シリンジに取り付けた。ろ過海水 100 ml を 150 ml のプラスチック容器 2 個に移し, -20°C で冷凍保存した。栄養塩濃度の分析は三重県鈴鹿水産研究室に依頼した。使用した海水中のアンモニア態窒素 ($\text{NH}_4\text{-N}$), 亜硝酸態窒素 ($\text{NO}_2\text{-N}$), 硝酸態窒素 ($\text{NO}_3\text{-N}$), リン酸態リン ($\text{PO}_4\text{-P}$) の濃度を表 1 に示した。この海水の栄養塩濃度は採水時期によって異なり, 硝酸態窒素が約 $4.3\text{--}14.5\ \mu\text{mol/L}$, リン酸態リンが約 $0.2\text{--}0.4\ \mu\text{mol/L}$ の範囲であった。

栄養塩濃度の影響を調べるために, 汲み置き海水より栄養塩濃度が低い海水を用いた。そのため, 不稔性アオサを用いて栄養塩濃度の調整を行った。藻類は DIN と DIP を吸収するため, 海藻を用いて海水中の DIN と DIP 除去することができる (丸山 1999)。そこで, オートクレーブ (LSX-500, TOMY) で滅菌した浜島沖の海水

1L 中に約 $3\ \text{cm}^2$ にくり抜いた不稔性アオサを 1 枚入れ, 6 日間の通気培養をした。培養後, オートクレーブで滅菌した海水中の硝酸態窒素は平均 $0.7\ \mu\text{mol/L}$, リン酸態リンの濃度は平均 $0.1\ \mu\text{mol/L}$ となった。実験には, 改変 PES 原液をこの栄養塩吸収海水 1L あたり 4 ml 添加した改変 20 %PES 培地 (表 2) を用いた。また, 珪藻の増殖抑制のために二酸化ゲルマニウム $1\ \text{ml/L}$ を添加した。培地中の硝酸態窒素とリン酸態リン濃度は, 改変 20 %PES 培地に硝酸ナトリウム (NaNO_3) (ナカライテスク株式会社) とグリセリン酸ナトリウム ($\text{C}_3\text{H}_7\text{Na}_2\text{O}_6\text{P}$) (ナカライテスク株式会社) を添加することで調整し

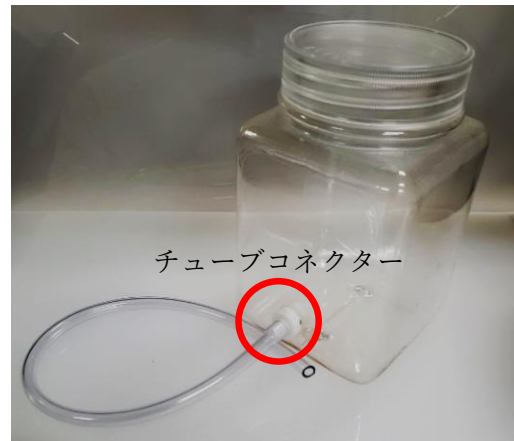


図 4. 培養容器 (プランタン)

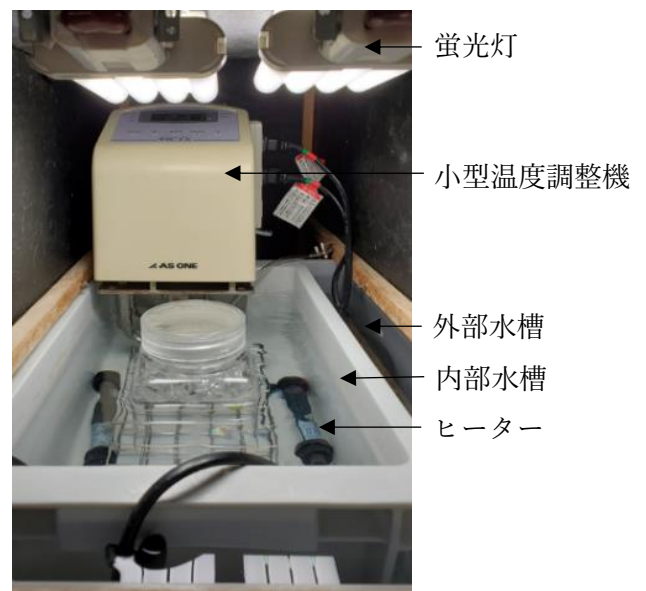


図 5. 水冷式培養庫

た(表3)。培地の硝酸態窒素とリン酸態リン濃度は鹿児島県出水干潟地先(吉田ら 2011)とフランスの Thau lagoon (Casabianca and Hugo 1998) を参考にし、3種類を調整した(表3)。培地1(硝酸ナトリウム: $0 \mu\text{mol/L}$, グリセロリン酸ナトリウム: $0 \mu\text{mol/L}$ 以下, N0-P0)は無添加, 培地2(硝酸ナトリウム: $30 \mu\text{mol/L}$, グリセロリン酸ナトリウム: $1 \mu\text{mol/L}$ 以下, N30-P1)は鹿児島県出水干潟地先, 培地3(硝酸ナトリウム: $200 \mu\text{mol/L}$, グリセロリン酸ナトリウム: $1 \mu\text{mol/L}$ 以下, N200-P1)はフランスの Thau lagoon に近い栄養塩濃度に調整した。

(3) 培養方法

培養容器には 500 ml の透明のポリカーボネート容器(プランタン, 柴田化学)(図4)を用いた。この容器にエアレーション用の穴をあけ, テフロン製のチューブコネクターを取り付けた。培地1-3を 500 ml ずつ入れた培養容器に, コルクボーラーでくり抜いた不稔性アオサ (1.1 cm^2) 2枚, スジアオノリは約 0.1 g を入れて培養した。1回の実験で, 培養容器は各培地につき2つ用いた。生長および光合成測定と光合成色素分析用の藻体は別々に用意した。培養条件は水温 20°C , 光強度 $100 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$, 光周期 12 時間明期 12 時間暗期とした。培地交換と面積測定用の写真撮影は毎日定刻に行った。

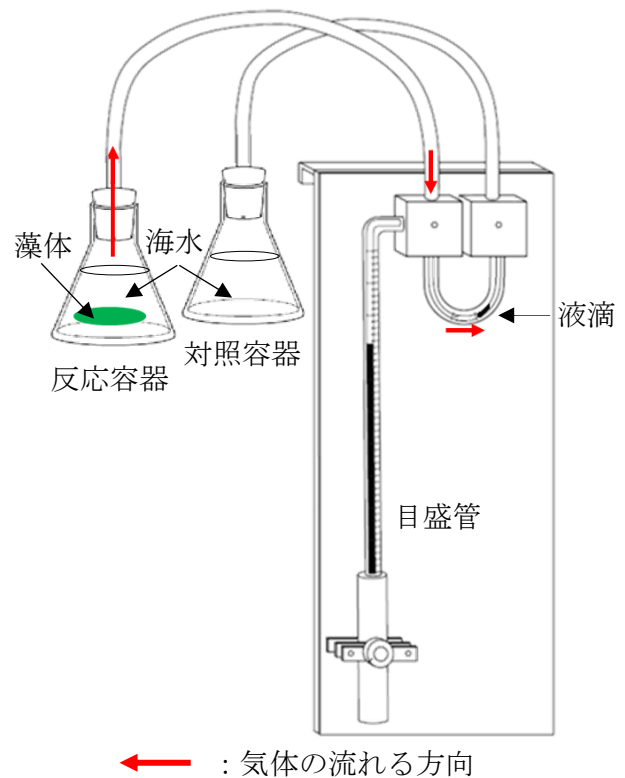


図6. 差働式検容計(プロダクトメーター)の外観図

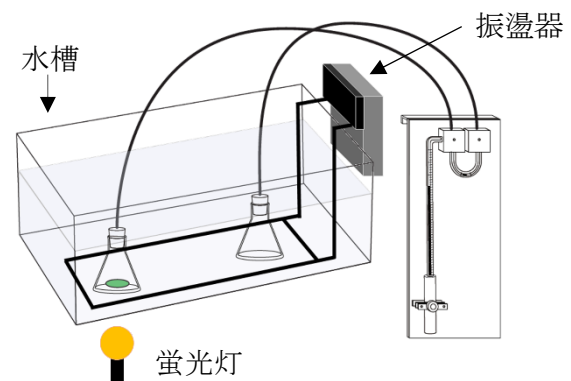


図7. 光合成速度測定時の模式図

培養は水冷式培養庫（図 5）を用い、水温調整のために外部の水槽に水冷式温度調節機（CL-150R, TAITEC）を取り付けた。さらに、内部の水槽に小型温度調節機（TR-1A, ASONE）とヒーター（マイクロパワーヒーターブラック 110W, 寿工芸）を取り付け、20°Cに保ち、培養容器を内部水槽に入れた。

(4) 光合成速度と呼吸速度

光合成速度および呼吸速度の測定には差働式検容計（改良型プロダクトメーター，図 6）（横浜・前川 1988）を使用した。差働式検容計は，容器内で発生した気体量を測定することができるガス検容計の一種で，気圧を一定に保つことで，気体の増減量を測定する装置である。測定の際には，海藻と海水を入れた反応容器，海水のみを入れた対照容器を恒温水槽内に入れて温度を一定に保った（図 7）。反応容器内の海藻が光合成を行うと，海水中の無機炭素を吸収する。一方で，光合成によって放出された酸素のほとんどが空気中へと遊離する。そのため，容器内の気体の増加量を酸素放出量とみなすことができる。酸素発生量は，目印の液滴の移動量を，目盛管を操作して読み取ることによって測定する。この酸素放出量を一定間隔で測定することで光合成速度を求めた。測定時は反応容器を振盪器に取り付けて振盪し，容器内で藻体を自由に浮遊，回転させることで藻体に当たる光量を均一にした。

培養 9 日目に不稔性アオサはコルクボーラーでくり抜いた藻体（1.1 cm²）3枚を，スジアオノリは約 0.1 g を 50 ml の反応容器に入れ，各培地を 10 ml 入れて光合成測定および呼吸速度の測定

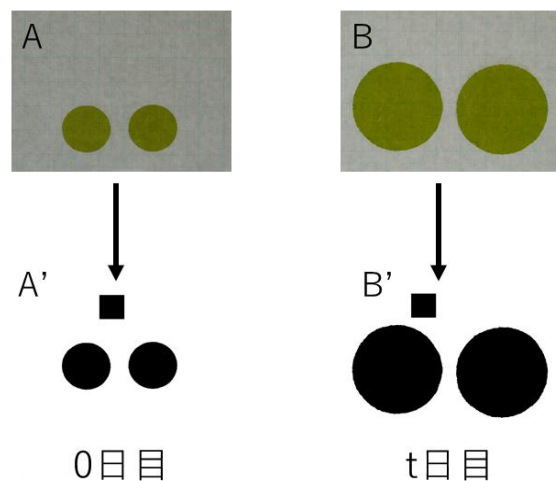


図 8. 生長測定の概略図

A : 0 日目の藻体面積，B : t 日目の藻体面積

A' : 黒く塗りつぶした 0 日目の藻体面積

B' : 黒く塗りつぶした t 日目の藻体面積

■ : 1cm²スケール

を行った。光源は蛍光灯を用いて、光強度が強い方から約 400, 200, 100, 50, 25, 0 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$ の順に変化させて測定を行った。光強度は寒冷紗を用いて調整した。水温は水冷式の温度調節器 (CL-150R, TAITEC) を用いて 20°C一定に保った。測定は午前 9 時に開始し、各測定前に 10 分間、測定時の光強度に馴致させた。測定した酸素量は、測定時の室温により標準状態 (0°C, 1 気圧) の酸素容積に補正した。測定終了後にサンプルを蒸留水ですすぎ、湿重量を測定した。その後、60°Cに保った乾燥棚で 72 時間乾燥させ、乾燥重量を計測した。

(5) 生長の測定

(a) 不稔性アオサ

生長面積を測定するために、培養開始時と毎日定刻の換水の際にデジタルカメラ (LUMIX G2, PANASONIC) を用いて、50 mm×50 mm の方眼紙の上に広げた藻体を撮影した。撮影した藻体は面積測定を行うために画像処理ソフト (Photoshop CS4, Adobe) で黒く加工した (図 8)。藻体と一緒に撮影した方眼紙の 1 cm^2 をスケールとして、画像解析ソフト Image J (Abramoff et al. 2004) を用いて面積を求めた。

(b) スジアオノリ

生長量を測定するために、培養開始時と毎日の定刻換水時に湿重量を測定した。湿重量はキムタオルを用いて水分を取り除き、電子天秤 (ATX224, SHIMADZU) で計測を行った。そして、湿重量と乾燥重量の関係から各日の乾燥重量を求めた。

(6) 光合成-光曲線の作成

単位面積当たりの光合成速度および呼吸速度と光量の関係から、光合成-光曲線を作成した。

(a) 散乱光と直射光の光量の補正

陸上の晴天時は直射光成分が多いのに対し、曇天や水中では懸濁物によって光が散乱するため散乱光成分が多くなり、様々な角度から光が入射する。陸上植物では、散乱光

下と直射光下では葉群が受ける光量が異なることが知られている（川嶋 1969，黒岩 1968）。本研究では，培養は散乱光，光合成測定は直射光で行った。そのため，散乱光の受光量と直射光の受光量を比較して補正を行った。

藻体が角度 α のときの散乱光下と直射光下での藻体の受光量は，以下の式によって求めた（倉島・前川 1999）（図 9）。

$$\text{散乱光下の受光量} = \int_{\alpha}^{\pi} \sin\theta \cdot \sin(\theta - \alpha) d\theta + \int_0^{\alpha} \sin\theta \cdot \sin(\alpha - \theta) d\theta \quad \dots\dots (1.1)$$

$$\text{直射光下の受光量} = \sin\left(\frac{\pi}{2} - \alpha\right) \quad \dots\dots (1.2)$$

θ : 光の角度

α : 藻体の角度

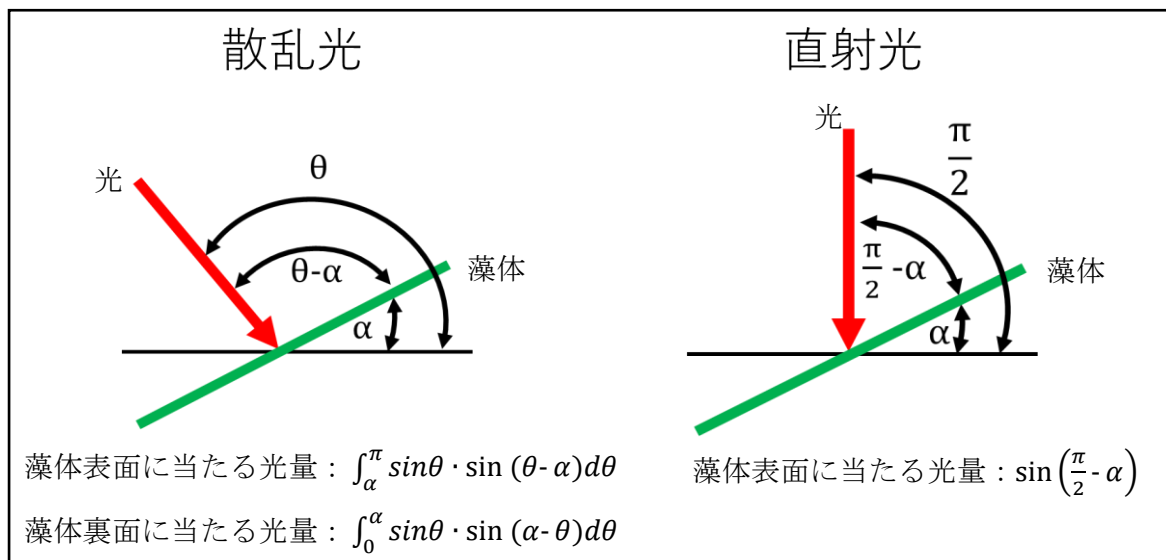


図 9. 散乱光下（左）と直射光下（右）における浮遊藻体の受光量の計算法の検討図

さらに，藻体は浮遊し，角度が常に変化するため，藻体の角度（ α ）を $0-\pi$ まで変化させて受光量を合計した。

この式では，散乱光下での藻体の受光量は，直射光下の約 1.3 倍となる。そのため，散乱光下での受光量を求めるために，培養時の受光量は光合成測定時の 1.3 倍として補正した。

(b) 光合成-光曲線の近似式

単位面積当たりの純光合成速度を下記のhyperbolic tanjent による光合成-光曲線の近似式より求めた。統計解析ソフトR (ver. 4.0) の非線形最小二乗法を用いて、各光強度と単位面積および重量当たりの純光合成速度、呼吸速度の関係から光合成-光曲線を近似し、最大光合成量 (P_{max}) と光飽和点 (I_k), 呼吸速度 (R) を求めた。

$$P_n = P_{max} \cdot \tanh(1.3 \cdot I/I_k) - R \quad \dots\dots\dots(1.3)$$

P_n : 純生産量 ($\mu\text{L O}_2/\text{cm}^2/\text{hour}$)

P_{max} : 最大光合成量 ($\mu\text{L O}_2/\text{cm}^2/\text{hour}$)

I : 培養条件の光強度 ($\mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{sec}$)

I_k : 光飽和点 ($\mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{sec}$)

R : 呼吸速度 ($\mu\text{L O}_2/\text{cm}^2/\text{hour}$)

(7) 生長の実測値と推定値の比較

光合成-光曲線を用いて生長量の推定を行った。生長量は、不稔性アオサは面積とし、面積測定が困難な糸状のスジアオノリは乾燥重量とした。

プロダクトメーターで発生した気体の増加量は、光合成によって吸収された二酸化炭素量に等しいと考えることができる。本研究では、光合成によって吸収された二酸化炭素中の炭素はすべて炭水化物に転換されると仮定し、気体である二酸化炭素中の炭素から生産された炭水化物への変換値は、モル計算より 1.34 に相当するものとした。さらに、生産された炭水化物 ($(\text{CH}_2\text{O})_n$) はすべて生長に利用されるものとした。生産された炭水化物量を算出するために、培養条件の日長と光強度を下記の計算式に代入した。

$$C_d = C_{d-1} + 1.34(P_n \cdot L_t - R \cdot D_t) \quad \dots\dots\dots(1.4)$$

C_d : d 日目に生産された炭水化物量 (g)

P_n : 純生産量 ($\mu\text{L O}_2/\text{cm}^2/\text{hour}$)

L_t : 明期の時間 (hour)

D_t : 暗期の時間 (hour)

R : 呼吸速度 ($\mu\text{L O}_2/\text{cm}^2/\text{hour}$)

予備実験より、培養 5 日目以降に生長が安定したことが確認された。そのため、培養 5 日目の乾燥重量 (g) を初期重量とし、上述の計算式から推定された炭水化物量 (C_d) を乾燥重量に足していくことで、3 日間の生長を推定した。そして、各日の不稔性アオサとスジアオノリの生長量の実測値と推定値の比較を行った。不稔性アオサでは生長量を面積として測定したため、単位面積当たりの乾燥重量を求め、生産された炭水化物の重量を面積に換算した。

$$A_c = C/D_w \quad \dots\dots\dots (1.5)$$

A_c : 推定された面積 (cm^2)

C : 生産された炭水化物量 (mg)

D_w : 単位面積当たりの乾燥重量 (mg/cm^2)

(8) 光合成色素分析と藻体の光の透過率

栄養塩濃度の違いによる藻体の色素変化を調べるために、光合成色素分析と藻体の光の透過率の測定を行った。

光合成色素分析には 5 日間の培養を終えた藻体を使用した。培養後、蒸留水で洗浄した 4 サンプルをキムタオルで包み、アルミホイルで覆ったものを -20°C の冷凍庫 (MDF-136, SANYO) で保存した。保存した藻体は 90% アセトンで色素を抽出した。遠心分離機で抽出液を 20°C , 2000 rpm で 10 分間遠心分離した。分光光度計 (UVmini-1240, 島津製作所) を用いて上澄み液の吸光スペクトルを測定し、以下の式 (藤田 1979) からクロロフィル a, クロロフィル b, 全クロロフィル量を求めた。さらに、クロロフィル a/b 比を算出した。不稔性アオサは単位面積, 単位重量, スジアオノリは単位重量当たりのクロロフィル量として計算した。

$$\text{クロロフィル a 量 } (\mu\text{g}/\text{ml}) = 12.7A_{663} - 2.69A_{645} \quad \dots\dots\dots (1.6)$$

$$\text{クロロフィル b 量 } (\mu\text{g/ml}) = 22.9A_{645} - 4.68A_{663} \quad \dots\dots\dots (1.7)$$

$$\text{全クロロフィル量 } (\mu\text{g/ml}) = 20.2A_{645} + 8.02A_{663} \quad \dots\dots\dots (1.8)$$

A_x : 波長 x における吸光度

不稔性アオサの藻体の光の透過率を以下のように求めた。まず、蛍光灯の下に光量子センサー (UWQ5153, LI-COR) を固定し、蛍光灯の光量を測定した。次に、培養 9 日目の藻体を光量子センサーの上に乗せて光量を測定し、両光量の比から藻体の透過率を求めた。スジアオノリは糸状であるため透過率を求めることができなかった。

(9) 統計処理

一元配置分散分析により有意差を検定した後、Bonferroni test で多重比較検定を行った。計算には、Excel 2016 (Microsoft) を用いた。

3. 結果

(1) 栄養塩濃度と生長

培地ごとの不稔性アオサの面積の推移を図 10 に示す。培養 8 日目の不稔性アオサの面積は、培地 1 (N0-P0) が $6.6 \text{ cm}^2 \pm 0.5$ 、培地 2 (N30-P1) が $9.0 \text{ cm}^2 \pm 0.3$ 、培地 3 (N200-P1) が $10.3 \text{ cm}^2 \pm 0.7$ であった。培養 5 日目から生長が安定した。培養開始から 8 日目の不稔性アオサの面積は培地によって異なっていた ($P < 0.001$) (表 4)。培地 1 と培地 2 ($P < 0.01$)、培地 1 と培地 3 ($P < 0.01$)、培地 2 と 3 ($P < 0.05$) に有意な差が認められた。

培地ごとのスジアオノリの乾燥重量の推移を図 10 に示す。培養開始か

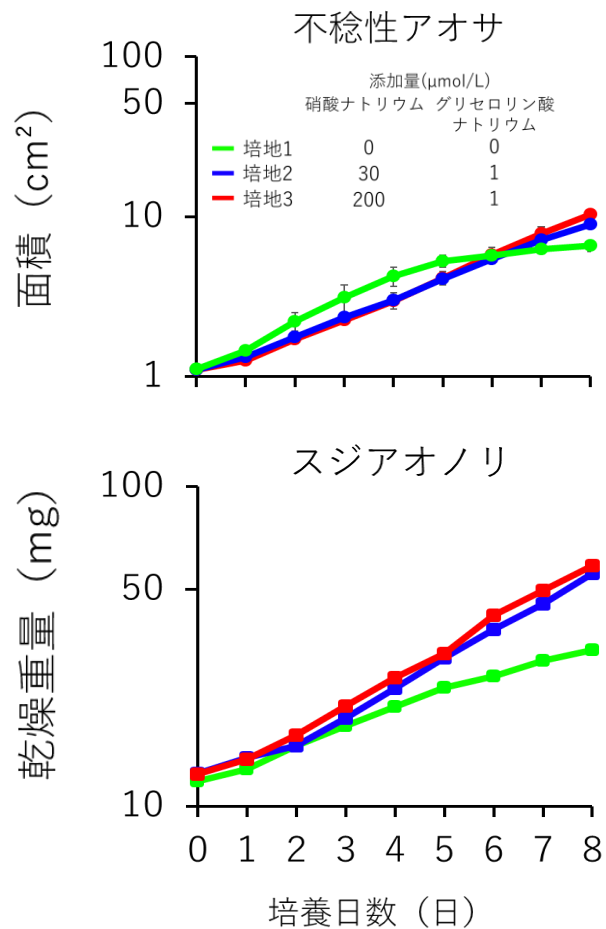


図 10. 各培地における面積および乾燥重量の経時変化。縦軸は対数表示。縦線は標準偏差 (SD)。

表 4. 培地による 8 日目の不稔性アオサの面積およびスジアオノリの乾燥重量の分散分析表

					*** $P < 0.001$	** $P < 0.01$
		SS	df	MS	F	P
不稔性アオサ	培地間	28.2	2	14.1	47.3	1.7×10^{-5} ***
	培地内	2.7	9	0.30		
	合計	30.8	11			
スジアオノリ	培地間	790.4	2	395.2	35.1	8.3×10^{-3} **
	培地内	33.8	3	11.3		
	合計	824.2	5			

ら 8 日目のスジアオノリの乾燥重量は、培地 1 が 30.8 mg, 培地 2 が 53.6 mg, 培地 3 が 56.5 mg であった。本培養 3 日目のスジアオノリの乾燥重量 ($P<0.01$) に有意差が認められ (表 4), 培地 1 が最も低くかった。

(2) 光合成-光曲線

光合成速度の実測値と、近似式より求めた異なる培地における不稔性アオサとスジアオノリの光合成-光曲線を図 11 に示す。

培養条件と同じ水温 20°C, 光強度 100 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$ における不稔性アオサの光合成速度は、培地 1 が 2.9 $\mu\text{L O}_2/\text{cm}^2/\text{hour}$, 培地 2 が 17.7 $\mu\text{L O}_2/\text{cm}^2/\text{hour}$, 培地 3 が 18.2 $\mu\text{L O}_2/\text{cm}^2/\text{hour}$ であった。近似式から求めた 20°C における不稔性アオサの光合成-光曲線のパラメーターを表 5 に示す。初期勾配 (α) は、培地 1 が 0.061, 培地 2 が 0.20, 培地 3 が 0.25 であった。

呼吸速度 (R) は、培地 1 が 0.9 $\mu\text{L O}_2/\text{cm}^2/\text{hour}$, 培地 2 が 1.3 $\mu\text{L O}_2/\text{cm}^2/\text{hour}$, 培地 3 が 1.7 $\mu\text{L O}_2/\text{cm}^2/\text{hour}$ であった。光補償点 (I_c) は、培地 1 が 14.7 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$, 培地 2 が 6.4 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$, 培地 3 が 6.9 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$ であった。光飽和点 (I_k) は、培地 1 が 65.1 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$, 培地 2 が 129.8 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$

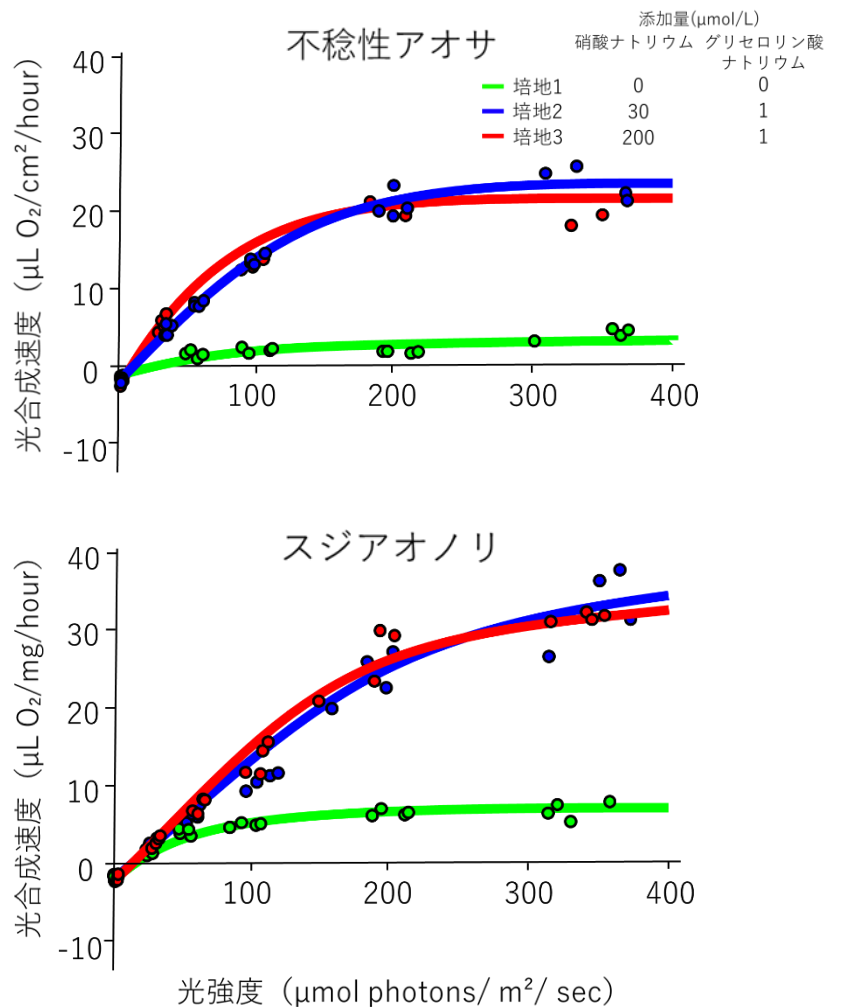


図 11. 近似式により作成した不稔性アオサとスジアオノリの光合成-光曲線。実線は近似式により推定した光合成-光曲線。色点は実測値。

表 5. 近似式から求めた 20°Cにおける不稔性アオサとスジアオノリの
光合成-光曲線のパラメーター

	培地	初期勾配 (α)	呼吸速度 (R) ($\mu\text{L}/\text{cm}^2/\text{hour}$)	光補償点 (I_c) ($\mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{sec}$)	光飽和点 (I_k)
不稔性アオサ	1	0.061	0.9	14.7	65.1
	2	0.20	1.3	6.4	129.8
	3	0.25	1.7	6.9	89.1
スジアオノリ	1	0.063	0.5	7.9	133
	2	0.16	1.7	10.8	290.3
	3	0.18	2.1	11.6	208.8

photons/m²/sec, 培地 3 が 89.1 $\mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{sec}$ であった。

近似式より求めた, 異なる培地におけるスジアオノリの光合成-光曲線を図 11 に示す。培養条件と同じ水温 20°C, 光強度 100 $\mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{sec}$ におけるスジアオノリの光合成速度は, 培地 1 が 5.7 $\mu\text{L O}_2/\text{mg}/\text{hour}$, 培地 2 が 22.7 $\mu\text{L O}_2/\text{mg}/\text{hour}$, 培地 3 が 18.7 $\mu\text{L O}_2/\text{mg}/\text{hour}$ であった。初期勾配 (α) は, 培地 1 が 0.063, 培地 2 が 0.16, 培地 3 が 0.18 であった。呼吸速度 (R) は, 培地 1 が 0.5 $\mu\text{L O}_2/\text{mg}/\text{hour}$, 培地 2 が 1.7 $\mu\text{L O}_2/\text{mg}/\text{hour}$, 培地 3 が 2.1 $\mu\text{L O}_2/\text{mg}/\text{hour}$ であった (表 5)。光補償点 (I_c) は, 培地 1 が 7.9 $\mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{sec}$, 培地 2 が 10.8 $\mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{sec}$, 培地 3 が 11.6 $\mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{sec}$ であった。光飽和点 (I_k) は, 培地 1 が 133 $\mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{sec}$, 培地 290.3 $\mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{sec}$, 培地 3 が 208.8 $\mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{sec}$ であった。

(3) 生長量の実測値と推定値の比較

モデルにより推定した不稔性アオサとスジアオノリの生長曲線と, 培養により実測した生長量の推移を図 12 に示す。8 日目における不稔性アオサの藻体面積は, 培地 1 の推定値が 5.9 cm², 実測値が平均 6.6±0.5 cm²であった。培地 2 の推定値が 9.0 cm², 実測値が平均 9.0±0.3 cm²であった。培地 3 の推定値が 10.4 cm², 実測値が平均 10.3±0.7 cm²

であった。8日目におけるスジアオノリの藻体重量は、培地1の推定値は0.030g、実測値は平均0.031g、培地2の推定値は0.057g、実測値は平均0.054g、培地3の推定値は0.061g、実測値は平均0.056gであった。

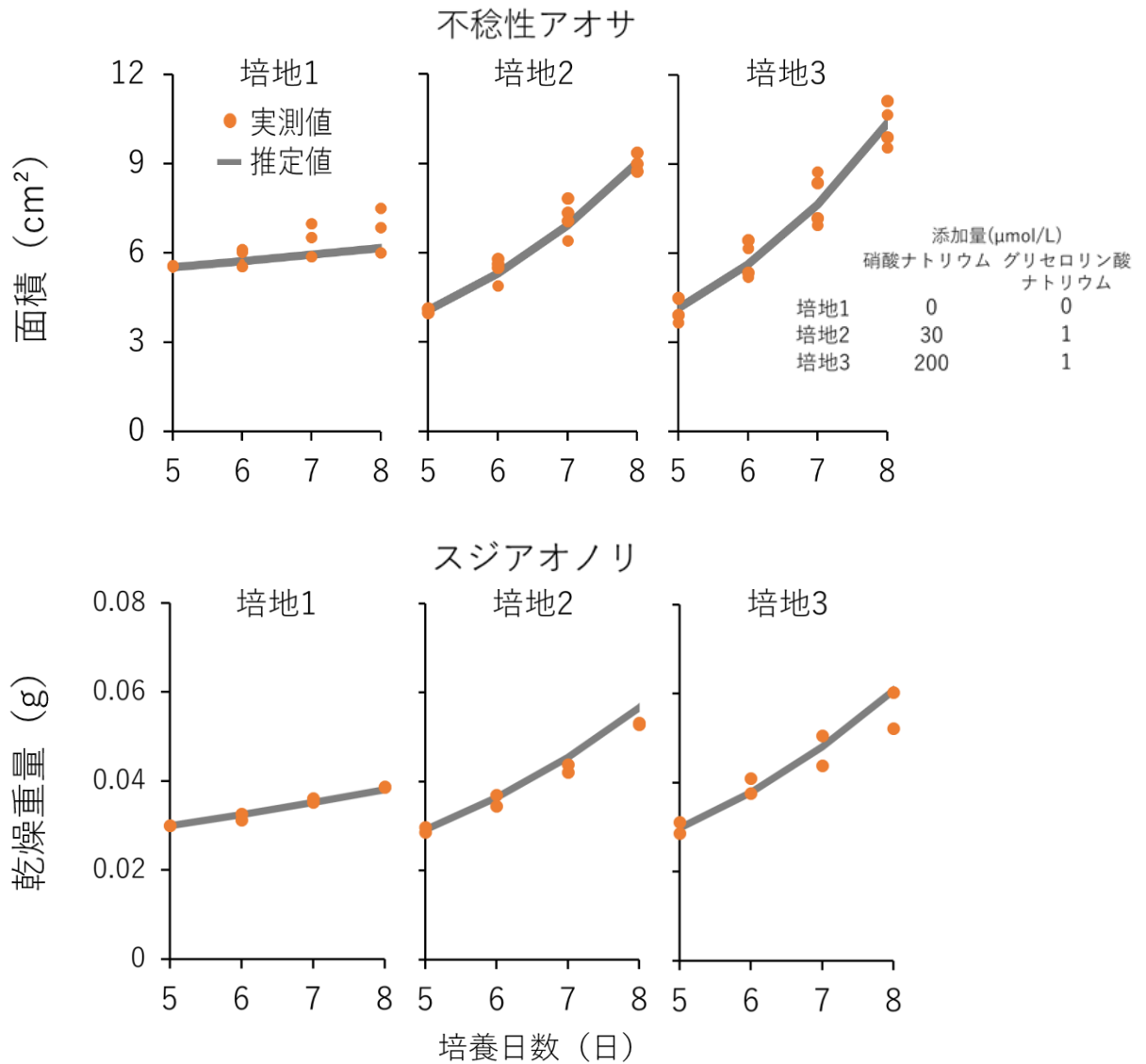


図 12. 栄養塩濃度の異なる培地での不稔性アオサとスジアオノリの実測値と推定値の比較

(4) 不稔性アオサの光の透過率と光合成色素含量

不稔性アオサの光の透過率と不稔性アオサとスジアオノリの色素含量を図 13 に示す。

不稔性アオサの光の透過率は栄養塩濃度によって異なり, 培地1では透過率が約 62.9%, 培地2 が約 36.4 %, 培地 3 が約 36.6 %であった。

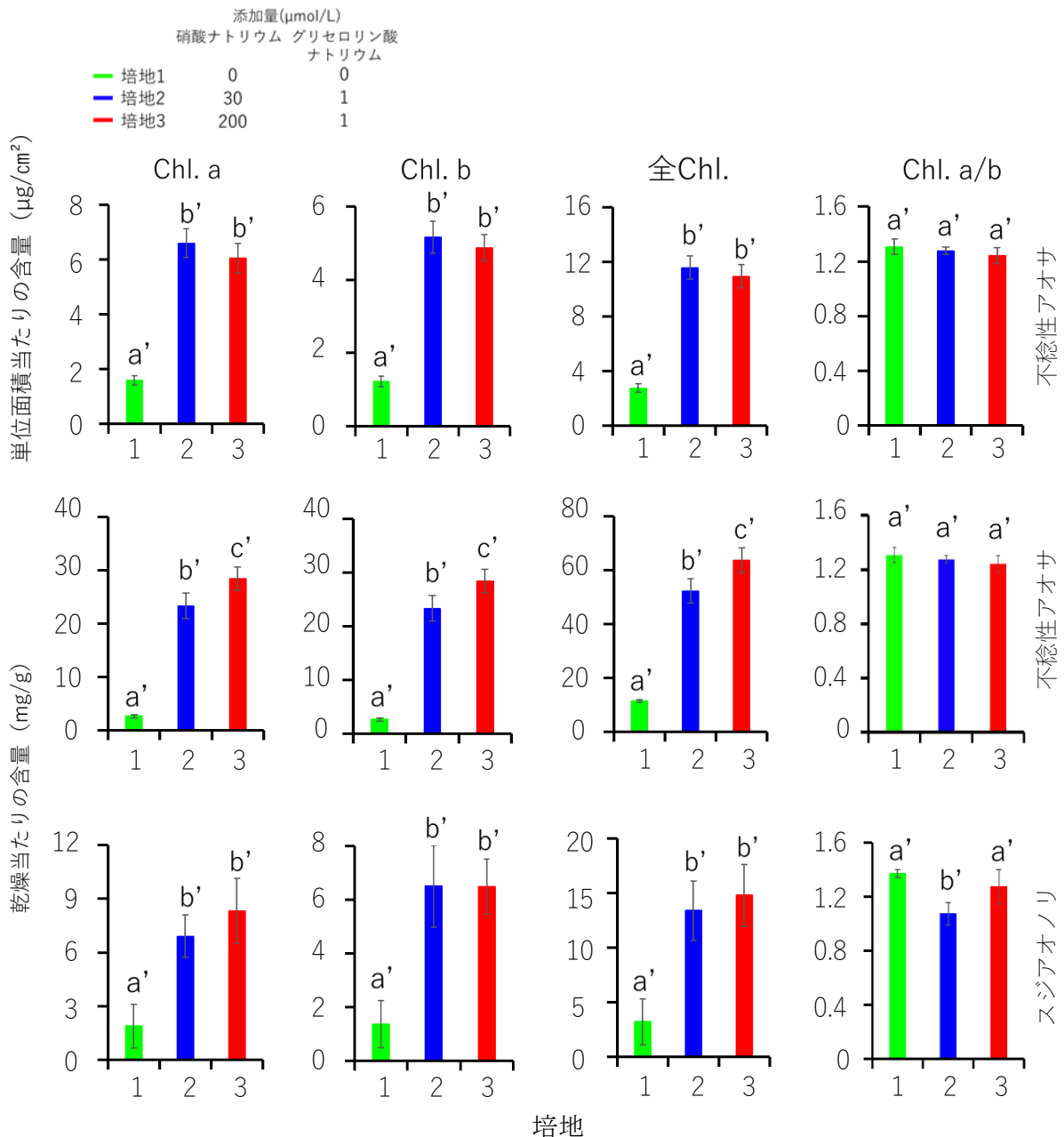


図 13. 単位面積, 重量当たりのクロロフィル量およびクロロフィル a/b 比。異なるアルファベットは有意差があることを示す (n=4)。縦線は標準偏差 (SD)。

栄養塩濃度の異なる培地間の不稔性アオサの単位面積当たりの光合成色素含量に有意差が見られた ($P<0.001$) (図 13)。不稔性アオサの単位面積当たりの光合成色素含量は培地 1 が最も少なく、クロロフィル a 含量が $1.6\pm 0.18 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、クロロフィル b 含量が $1.2\pm 0.14 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、全クロロフィル含量が $2.8\pm 0.32 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。クロロフィル a/b 比は 1.3 ± 0.056 であり、培地間に有意な差は見られなかった。

栄養塩濃度の異なる培地間の不稔性アオサの乾燥重量当たりの光合成色素量に有意差が見られた ($P<0.001$) (図 13)。不稔性アオサの乾燥重量当たりの光合成色素量は培地 1 が最も少なく、クロロフィル a が $6.6\pm 0.25 \text{ mg}/\text{g}$ 、クロロフィル b が $2.7\pm 0.34 \text{ mg}/\text{g}$ 、全クロロフィルが $11.5\pm 0.44 \text{ mg}/\text{g}$ であった。栄養塩濃度の異なる培地とクロロフィル a/b 比に有意な差は見られなかった。

栄養塩濃度の異なる培地間のスジアオノリの乾燥重量当たりの光合成色素量 ($P<0.001$) に有意差が見られた (図 13)。スジアオノリの乾燥重量当たりの光合成色素量は培地 1 が最も少なく、クロロフィル a が $1.9\pm 1.2 \text{ mg}/\text{g}$ 、クロロフィル b が $1.4\pm 0.9 \text{ mg}/\text{g}$ 、全クロロフィルが $3.2\pm 2.1 \text{ mg}/\text{g}$ であった。栄養塩濃度の異なる培地とクロロフィル a/b 比 ($P<0.01$) に有意な差が見られ、培地 2 が最も低かった。

4. 考察

本研究で作成したモデルによって不稔性アオサとスジアオノリの光合成速度から推定された生長量の推定値は、実測値と概ね一致していた。従って、本モデルによって両種の生長量を推定することが可能と考えられた。

不稔性アオサの光強度 $200 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$ における光合成活性は、硝酸態窒素やリン酸態リンの濃度が増加するにつれて、高くなることが知られている（岡本 1997, 小野 1996）。また、2004年にタイの Patong beach で発生したグリーンタイドの構成種であるアミアオサ (*Ulva reticulata*) は、窒素源を添加することで細胞内におけるクロロフィル量が増加し、バイオマスも増加することが明らかとなっている（Pimchanok et al. 2008）。本研究においても、栄養塩濃度が高いほどクロロフィル量は増加傾向にあった。このことから、高い栄養塩濃度下でのクロロフィル量の増加が、生長量と光合成速度が高くなる要因のひとつと考えられた。

培養した栄養塩濃度によって不稔性アオサの光の透過率は異なり、栄養塩濃度が低い海水では 62.9%であった。グリーンタイドが発生するような富栄養海域で生育する藻体の透過率は 37%程度であった。そのため、グリーンタイドにおけるアオサ属藻類群落内の光量は、通常の栄養塩濃度の海域に生育するアオサ属藻類群落より大きく低下すると考えられた。

本モデルを用いることで、アオサ属藻類の生長量を推定することが可能となった。また、長期培養しなくても、光合成測定のみで短期間のうちに生長量の推定が可能となる。本モデルに、季節ごとの光周期や天候別の光条件をパラメーターとして組み込むことで、生産力の推定ができると考えられる。そこで次章以降では、アオサの生育環境を調査し、その結果を基にグリーンタイド発生時の環境条件下で生育するアオサ属藻類の生産力を推定、評価していく。

第II章. 環境調査

1. 序論

第I章で作成した群落光合成モデルによって、培養条件下でのアオサ属藻類の生長量の推定が可能と考えられた。本モデルは、光合成-光曲線から生長量を推定することが可能である。従って、グリーンタイド発生時の環境条件に合わせた条件下で光合成の測定を行うことで、アオサ属藻類の増加速度や発生量が推定できると考えられる。そのためには、グリーンタイドが発生する海域での栄養塩や水温、光量などの環境を知る必要がある。

グリーンタイドの発生予測に関する先行研究には、水温や栄養塩等の環境データから、面積を推定するものや群落の現存量の推移を予測するものが知られている（児玉・相場 2017, 藤原・矢内 2017）。これらの研究で、アオサの大量発生は DIN, スジアオノリは DIN, 塩分, 光に影響されるとしている。

京都府の阿蘇海では、過去にグリーンタイドが発生している（京都府 2007）。阿蘇海は、日本三景のひとつである天橋立によって隔てられている閉鎖性の強い内湾で、河川の流入によって富栄養化が進行しており、有機底泥と貧酸素水塊の発生が水質悪化の原因となっている（四藏 2018, 西垣ら 2010）。そこで、本章では日本有数の観光地である阿蘇海に面した宮津湾で環境調査を行い、栄養塩や水温、光量の測定を行った。

2. 調査地点と方法

環境調査は京都府宮津湾で行った(図 14)。調査地点は阿蘇海の海水が宮津湾に流れ込む水路とした(図 15)。

調査期間は 2019 年 6 月から 2020 年 4 月とし、栄養塩濃度、水温、海水中と陸上の光量を計 9 回測定した。また、調査地点周辺で浮遊しているアオサ属藻類の有無を目視で観察した。調査は 12 時から 13 時までの 1 時間以内で行った。ただし、初回の 2019 年 6 月 13 日は、調査場所の選定に時間を要したため、15 時に測定した。温度計 (ES-71, HORIBA)、平面センサ (UWQ5153, LICOR) を用いて水温および陸上と水深 0、0.5、1 m の光量 (LI-250, メイワフォーシス株式会社) をそれぞれ 10 回ずつ測定した。吸光係数は Lambert-Beer の法則を用い、以下の式により求めた。また、吸光係数は水深 0-1 m 間の光量から求めた。

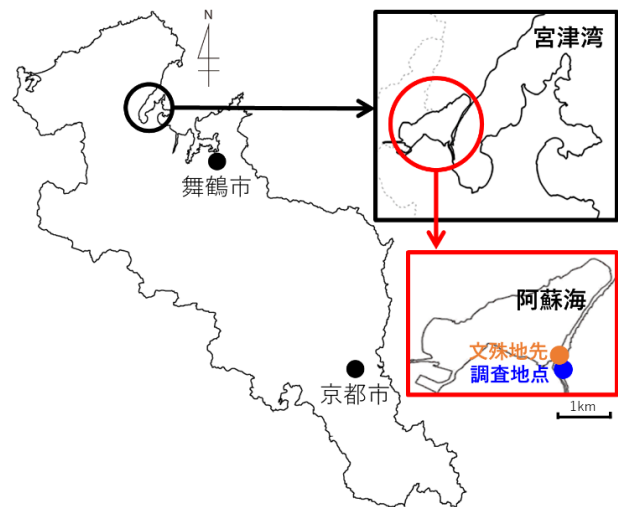


図 14. 調査地点 (京都府宮津湾)



図 15. 調査地点の環境。緑色部分は海底に付着しているアオサ属藻類。

$$I_d = I_0 e^{-K_w d} \quad \dots\dots\dots (2.1)$$

K_w : 水の吸光係数

I_d : ある水深の光量 ($\mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{sec}$)

I_0 : 水面の光量 ($\mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{sec}$)

d : 水深 (m)

栄養塩濃度を測定するため、水深 0 m の表層海水をバケツで採水した。採水した海水は直ちにシリンジ (SS-50ESZ, TERUMO) とろ紙 (GF/C, Whatman) を用いてろ過した。ろ紙はプラスチックホルダー (PP-25, ADVANTEC) に挟み、シリンジに取り付けた。ろ過海水 100 ml を 150 ml のプラスチック容器に移し、サンプル 2 個を保冷バックに入れて研究室へ持ち帰った。三重大学藻類学研究室に到着後、すぐに-20°Cで冷凍保存した。後日、三重県鈴鹿水産研究室にアンモニア態窒素 (NH₄-N)、硝酸態窒素 (NH₃-N)、亜硝酸態窒素 (NH₂-N)、リン酸態リン (PO₄-P) の分析を依頼し、2 サンプルの平均値をそれぞれ求めた。水温は、実測値と調査地点に近い文殊地先 (図 15) の 2013–2017 年の水温記録 (京都府 2013, 2014, 2015, 2016, 2017) の平均値を比較した。

3. 結果

(1) 水温

調査期間における水温の測定値は、2020年2月を除き、2013–2017年の平均水温と同程度であった（図16）。調査期間中の最高水温は2019年8月の27.2°Cであった。また、2020年2月の測定値は12.9°Cであり、2013–2018年の平均水温より6.9°C高かった。

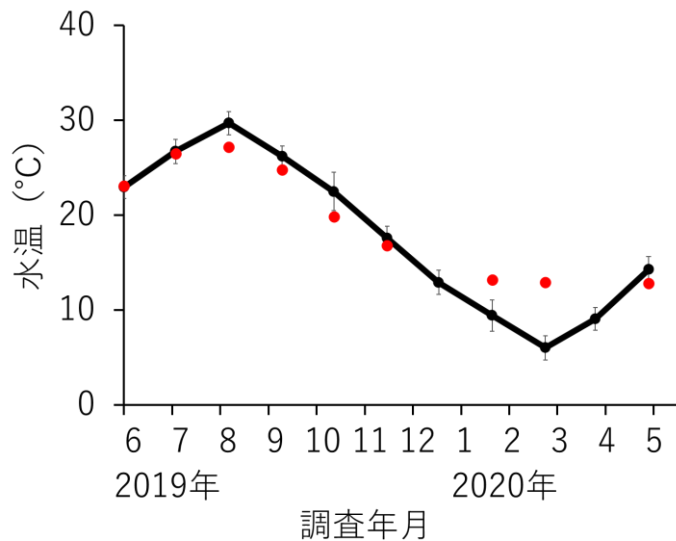


図16. 調査地点における各月の水温。赤点は調査地点の実測値。黒線文殊地先の2013-2018年の平均水温。縦線は標準偏差（SD）。

(2) 栄養塩濃度

調査地点の栄養塩濃度を図16に示す。アンモニア態窒素の最低値は2019年10月の平均0.67 μmol/L，最高値は2020年2月の平均4.1 μmol/Lであった。硝酸態窒素の最低値は2019年9月の平均0.42 μmol/L，最高値は2020年11月の平均16.7 μmol/Lであった。亜硝酸態窒素の最低値は2019年6月の平均0.035 μmol/L，最高値は2020年1月の平均0.46 μmol/Lであった。リン酸態リンの最低値は2020年4月の平均0.08 μmol/L，最高値は2019年11月の平均0.29 μmol/Lであり，調査期間中は約0.1–0.2 μmol/Lの範囲で変動していた。

(3) 光量と吸光係数

各調査月の天候と水深ごとの光量および吸光係数を表6に示す。2019年7月10日は波が高かったため，水深0mの光量を測定することができなかった。そのため，水深0.5と1mの光量から吸光係数を求めた。2019年6月13日，8月29日における水深1mの光量は，流速が速かったため測定できなかった。吸光係数は，測定日によって大きく異なっていた。1月10日は水深0m，0.5mより，1mの方が光量が高くなった。

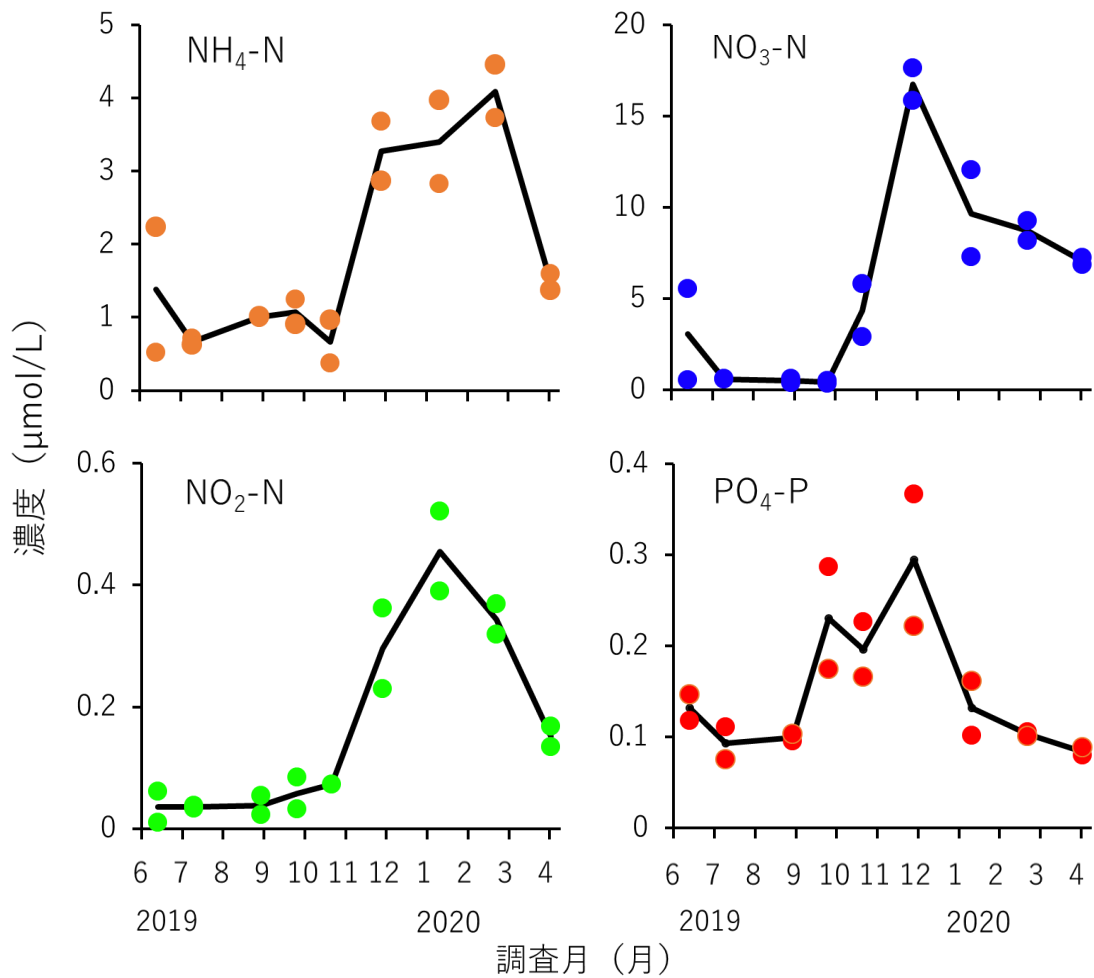


図 17. 調査地点における各月の栄養塩濃度。丸は実測値。実線は平均値。

表 6. 調査日の天候と光量および吸光係数

水深 (m)	天候と光量 ($\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$)								
	2019 6/13	2019 7/10	2019 8/29	2019 9/25	2019 10/21	2019 11/28	2020 1/10	2020 2/21	2020 4/2
陸上	994.3 ± 7.6	1450.0 ± 19.0	399.6 ± 19.2	1743.5 ± 118.3	336.0 ± 6.6	262.5 ± 9.6	518.2 ± 4.5	1474.7 ± 47.8	1590.5 ± 226.3
0	696.5 ± 18.6	ND	503.6 ± 60.9	1544.0 ± 117.7	331.4 ± 5.3	167.2 ± 14.6	197.2 ± 15.0	1181.1 ± 20.8	1466.1 ± 232.9
0.5	631.8 ± 34.5	833.7 ± 118.4	379.9 ± 18.9	1105.4 ± 81.6	223.9 ± 3.9	163.4 ± 3.0	190.2 ± 8.0	850.1 ± 90.0	840.1 ± 106.2
1	ND	734 ± 37.6	ND	733.4 ± 24.8	122.0 ± 18.4	141.4 ± 9.7	213.7 ± 7.2	754.3 ± 61.6	537 ± 114.8
吸光係数	0.2	0.3	0.6	0.7	1.0	0.2	-	0.4	1.0

(4) グリーンタイトの発生とアオサの生育状況

調査期間中に浮遊するアオサ属藻類は見られず、グリーンタイトは発生しなかった。調査地点のアオサ属藻類は底質の石に着生しており、年間を通して生育が確認された(図 15)。

4. 考察

グリーンタイド発生時の DIN 濃度は、鹿児島県出水干潟地先が約 11–36 $\mu\text{mol/L}$ (吉田ら 2011), フランスの Thau lagoon が 10.5–247.9 $\mu\text{mol/L}$ 前後 (Casabianca and Hugo 1998) と報告されている。また、中国黄河の沿岸域では 2009 年 7 月 15 日に発生し、12.2–80.1 $\mu\text{mol/L}$ とされている (Liu et al. 2013)。児玉・相場 (2017) もアオサ属藻類の現存量変化は DIN や水温の影響が大きいとしている。また、第1章の結果からも、栄養塩濃度が高いほど、生長量や光合成速度が高いことが明らかとなった。高知県浦ノ内では、1981 年の 8–10 月頃までグリーンタイドを形成したことが報告されている (大野 1999, 前川 1999)。これらのことから、グリーンタイドは夏季の高水温や富栄養が発生要因と考えられる。しかし、本調査において、2019 年 6–9 月の高水温時期のアンモニア態窒素、亜硝酸態窒素、硝酸態窒素濃度は、これまでの報告よりも低かった。そのため、本研究の調査期間の栄養塩濃度はグリーンタイドが発生しない濃度であると考えられた。しかし、過去には宮津湾でグリーンタイドが発生したとされていることから、グリーンタイド発生時には調査地点の栄養塩濃度が高かった可能性がある。

本環境調査地点の吸光係数は 0.2–1.0 の範囲であった。このうち、1 月 10 日は曇天で、雲が流れていたため、測定時間によって日射量が大きく変化し、0 m よりも 1 m の方が光量が高くなったため、吸光係数は算出できなかった。海水の吸光係数は懸濁物質が少ない外洋域では 0.1, 沿岸域では 0.2, 濁りの見られる湾奥の吸光係数は 0.3 (有賀 1973) とされている。本調査地点は 9 回の調査のうち、6 回が吸光係数 0.3 以上であることから、本調査地点は吸光係数が高く、濁った海域と考えられる。

次章では、調査地点の宮津湾とフランスの Thau lagoon, 鹿児島県出水干潟地先の栄養塩濃度と吸光係数をパラメーターとして、アオサ属藻類の生産力推定を試みる。

第III章. 群落光合成モデルによる生産力推定

1. 序論

第I章で作成したモデルにより、光合成速度からアオサ属藻類の生長量を推定することが可能となった。また、生長量は栄養塩濃度に依存することが分かった。第2章では、調査地点である京都府宮津湾の栄養塩や吸光係数を測定した。調査期間中にグリーンタイドが発生しなかった理由として、栄養塩濃度が低かったためと考えられた。第III章では、グリーンタイドが発生しなかった京都府宮津湾（培地1, N0-P0）、これまでにグリーンタイドの発生が知られている鹿児島県出水干潟地先（培地2, N30-P1）（吉田ら 2011）とフランスの Thau lagoon（培地3, N200-P1）（Casabianca and Hugo 1998）の栄養塩条件および水温、光量をパラメーターとし、第I章で作成したモデルを用いて、それぞれの環境条件での不稔性アオサとスジアオノリの1日の生産力を推定することを目的とした。

アオサ属藻類群落の生産力モデルを作成するためには群落内の藻体が受ける光量を知ることが極めて重要である。そのためには、光合成-光曲線のほかに、1日の日射量変化やアオサ属藻類群落が吸収する光量の見積もりが必要となる。そこで、本章では30Lの水槽内で不稔性アオサを培養し、アオサ属藻類群落内の光量を測定した。また、栄養塩濃度に加えて、春季と夏季における1日の日射量や水温をモデルに組み込むことで、各季節の生産力を推定することを試みた。

2. 材料と方法

(1) 材料と培養条件

材料は、第I章と同様三重大学藻類学研究室において水温 20°C、光強度約 80 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$ (蛍光灯)、光周期 12 時間明期 12 時間暗期の条件で、通気しながら培養している不稔性アオサとスジアオノリを用いた。海水も、第I章と同様の方法で、研究室に汲み置きした海水中の栄養塩濃度を調整した。培養容器には 500 ml の透明のポリカーボネート容器 (プランタン, 柴田科学) を用いた。実験には、改変 PES 原液を海水 1L あたり 4ml 添加した改変 20%PES 培地 (第I章 表 2) を基本に、栄養塩濃度の異なる 3 種の培地を調整した。培地には、グリーンタイドが発生しなかった京都府宮津湾の栄養塩濃度に近い培地 1 (N0-P0)、これまでにグリーンタイドの発生が知られている鹿児島県出水干潟地先に近い培地 2 (N30-P1) (吉田ら 2011)、フランスの Thau lagoon に近い培地 3 (N200-P1) (Casabianca and Hugo 1998) を用いた。また、珪藻の増殖抑制のために二酸化ゲルマニウム 1 ml/L を添加した。光合成速度および呼吸速度の測定には、不稔性アオサはコルクボーラーでくり抜いた藻体 (1.1 cm^2) 2 枚、スジアオノリは湿重量約 0.1g の藻体を用いた。培養水温は 20°C と 25°C とした。光強度は約 100 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$ とし、光周期 12 時間明期 12 時間暗期に設定した水冷式の培養庫で培養を行い、5 日間の培養を行った後に藻体の光合成速度の測定を行った。

(2) 光合成速度および呼吸速度の測定と含水率の測定方法

光合成速度および呼吸速度の測定には差働式検容計 (改良型プロダクトメーター) (Yokohama and Ichimura 1969, 横浜 1988) を使用した。50 ml の反応容器に海藻試料および培養時と同じ培地を 10 ml 入れて測定した。光源には蛍光灯を使用し、温度調節機 (CL-150R, TAITEC) を用いて水温を一定に保った。光合成速度測定は午前 9 時に開始した。光強度が強い方から約 400, 200, 100, 50, 25, 0 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$ の順に変化させて測定を行った。光強度は寒冷紗を用いて調整した。測定前に 10 分間、測定時の

光強度に馴致させた。測定終了後に藻体を蒸留水ですすぎ、湿重量を測定した。その後、60°Cに保った乾燥棚で72時間乾燥させ、乾燥重量を計測した。

湿重量と乾燥重量から、次式により含水率を求めた。

$$W_r = \left(1 - \frac{D_w}{W_w}\right) \cdot 100 \quad \dots\dots\dots (3.1)$$

W_r : 含水率 (%)

D_w : 乾燥重量 (g)

W_w : 湿重量 (g)

(3) 光合成-光曲線の作成

0°C, 1気圧の状態における各光強度と単位面積および重量当たりの純光合成速度および呼吸速度 ($\mu\text{L O}_2/\text{cm}^2/\text{hour}$) の関係を統計解析ソフト R (ver. 4.0.0) を用いて非線形最小二乗法により近似し、第I章と同様の方法で光合成-光曲線を作成した。

$$P_n = P_{\max} \cdot \tanh(1.3 \cdot I/I_k) - R \quad \dots\dots\dots (1.3)$$

P_n : 純生産量 ($\mu\text{L O}_2/\text{cm}^2/\text{hour}$)

P_{\max} : 最大光合成量 ($\mu\text{L}/\text{cm}^2/\text{hour}$)

I : 培養条件の光強度 ($\mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{sec}$)

I_k : 光飽和点 ($\mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{sec}$)

R : 呼吸速度 ($\mu\text{L O}_2/\text{cm}^2/\text{hour}$)

(4) 各天候の日射量の測定

晴天, 曇天, 雨天時の日射量を測定するために, 光量子ロガー (DEFI2-L, JFE) を使用した (図 18)。ロガーは三重大学生物資源学部の屋上に設置し, 2020年7月21日から8月20日までの間, 1分間隔で光量を記録した。天候は, 気象庁ホームページの三重県津市の気象データを基に (気象庁



図 18. 屋上での日射量測定の様子

2021b), 1日の最大光量となった時間の天候から晴天, 曇天, 雨天に分け, 天候別に平均日最大光量を計算した。春季と夏季の光周期はそれぞれ 12 時間明期 12 時間暗期, 14 時間明期 10 時間暗期とした。日射量の日変化は次の式で近似した (Maegawa et al. 1988)。

$$I_L = I_{\max} \cdot \sin^{1.4}(\pi t/D) \quad \dots\dots\dots (3.2)$$

I_L : 日の出から t 時間後の陸上光量 ($\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$)

I_{\max} : 1 日の最大光量 ($\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$)

t : 日の出からの時間 (hour)

D : 日長 (hour)

(5) アオサ属藻類群落内の光環境と群落の吸光係数

アオサ属藻類群落が吸収する光量を測定するために, 大型水槽内でアオサ属藻類を循環させることで群落を再現した。材料は, 三重大学藻類学研究室で水温 20°C, 光強度約 80 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$, 光周期 12 時間明期 12 時間暗期の条件で通気しながら培養している不稔性アオサ, またはスジアオノリを用いた。実験には 30 L のパンライト水槽 (直径 38 cm²×高さ 32 cm) を使用した。研究室に汲み置きしておいた三重県浜島沖の海水 25 L に, 不稔性アオサの場合はコルクボーラーで約 3.0 cm²にくり抜いた 300 枚, スジアオノリの場合は約 5 cm²に細断した湿重量 14.1 g の藻体を入れ, 光強度約 130 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$, 光

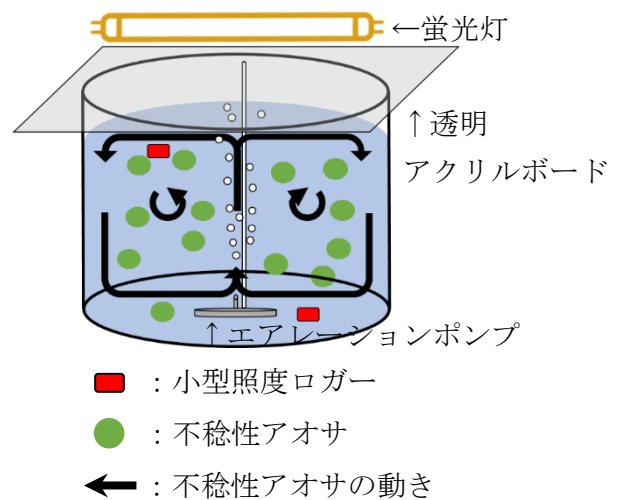


図 19. 培養の模式図

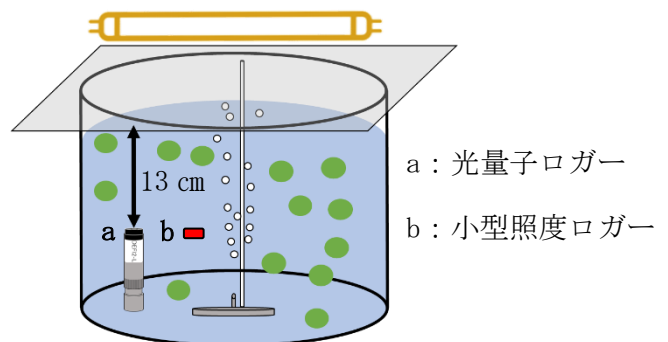


図 20. 光量子と照度の変換式を作成する際の光量子ロガーと小型照度ロガーの配置図

周期 12 時間明期 12 時間暗期の条件で通気培養を行った (図 19)。水温は 20–25°C の範囲であった。この実験群落の吸光係数を求めるために、水槽底部と水深 1 cm の光量を測定した。光量子ロガーは高さがあるため、水槽底部の光量を測定することは困難であった。そこで、まず光量子ロガーと小型照度ロガーとの実測値の関係を示し、照度を光量子に変換することとした。水深約 13 cm の位置に光量子ロガー (DEFI2-L, JFE) と照度ロガーを同時に設置し (図 20)、照度 (Lux) と光量子束密度 ($\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$) を測定し、下記の一次式 ($r=0.4$) を得た。その後、水温・照度ロガー (MX2202, ONEST) を配置し、照度を記録した。この式を用いて照度を光量子束密度へ変換し、水槽底部の光量を求めた。

$$y=0.0068x+71.927 \quad \dots\dots\dots (3.3)$$

y : 光量子束密度 ($\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$)

x : 照度 (Lux)

糸状のスジアオノリは生長すると塊状になり、大量の藻体を一度に面積を測定することが困難であった。そこで、以下のようにスジアオノリの乾燥重量と面積の関係を求め、乾燥重量から面積を換算した。ランダムに取り出した 10 個のスジアオノリを方眼紙の上に並べて撮影した。その後、湿重量と乾燥重量の関係を求めた。画像解析ソフト Image J (Abramoff et al. 2008) を用いて、画像解析ソフトで黒く加工した画像の面積を測定し、面積と乾燥重量 (g) の関係を一次式で表し、乾燥重量を面積に変換した。

LAI (Leaf Area Index : 葉面積指数) とは、ある土地面積にある葉の総面積 (m^2/m^2) で、植物群落の葉の量を表す。LAI の増加に伴って、群落内の光量は低下するため、藻体の受光量を求めるためには LAI と光量の関係を知る必要がある。群落内で浮遊する藻体は波によって常に上下左右に動くため、アオサ属藻類の群落は均一な層状と考えられる。そこで、Lambert–Beer の法則を用いることで、群落の吸光係数を次式より求めることができる。

$$I_d = I_0 e^{-(K_f h + K_f F_d)} \quad \dots\dots\dots (3.4)$$

I_d : ある水深の光量 ($\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$)

I_0 : 実験群落の水深 0m の光量 ($\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$)

K_f : アオサ属藻類群落の吸光係数

F_d : 実験群落内のある水深より上に存在する LAI

h : アオサ属藻類群落の深さ (m)

水槽内の実験群落は水深が浅く、水による光の吸収量が極めて少ないため、 $K_w h$ は無視しうるとした (<1%)。そこで、実験群落で測定された LAI と実験群落上部および底部の光の吸収率の関係から、アオサ属藻類群落の吸光係数を次式より求めた。

$$I_d = I_0 e^{-(K_f F_d)} \quad \dots\dots\dots (3.5)$$

(6) アオサ属藻類群落内の任意深度における光量

海中のある水深の光量は、Lambert-Beer の法則を用いて求めることができる。海面に入射した太陽光の反射率は太陽高度に依存するが、人工衛星を用いた光量の推定では緯度に関係なく 7% とされている (桑原ら 1998)。そこで、海表面における光の反射率を 7% とし、沿岸域のアオサ属藻類群落上部の水深を 0 m とし、群落上部の光量を以下の式で計算した。

$$I_{\text{top}} = (1 - 0.07) \cdot I_L \quad \dots\dots\dots (3.6)$$

I_{top} : アオサ属藻類群落上部の光量 ($\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$)

式 3.5 より求めた実験群落の吸光係数を次式に代入し、アオサ属藻類群落底部の光量を求めた。

$$I_{\text{bottom}} = I_{\text{top}} e^{-(K_w h + K_f F)} \quad \dots\dots\dots (3.7)$$

I_{bottom} : アオサ属藻類群落底部の光量 ($\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$)

K_w : 海水の吸光係数

F : アオサ属藻類群落の LAI

アオサ属藻類群落内の光吸収は、群落自身と水によって起こる。群落内での水の光吸収量 (I_w) は次式で求められる。

$$I_w = I_{top} (1 - e^{-K_w \cdot h}) \quad \dots\dots\dots (3.8)$$

I_w : アオサ属藻類群落内での水の光吸収量

本研究では、全ての藻体が自由に浮遊し、藻体に光が均一であると考えた。そして、藻体の受光量

(I_a) はアオサ属藻類群落上部と下部の光量の差分から水による吸収量を引き、LAI で割ったものとした (図 21)。また、スジアオノリは糸状であり、藻体の光の透過率を測定できなかった。そのため、不稔性アオサの藻体の光の透過を用いて計算した。

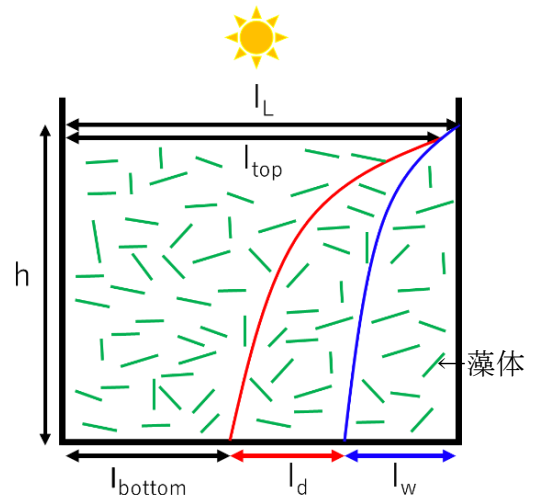


図 21. 藻体の受光量の模式図

$$I_a = \frac{I_{top} - I_{bottom} - I_w}{F} \left(\frac{1}{1 - m} \right) \quad \dots\dots\dots (3.9)$$

I_a : 藻体の受光量 ($\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$)

m : 藻体の光の透過率

I_a を下記の光合成-光曲線の近似式 (式 1.3) に代入して、アオサ藻体の純生産量 (P_n) を求めた。

$$P_n = P_{max} \cdot \tanh(1.3 \cdot I_a / I_k) - R \quad \dots\dots\dots (1.3)$$

気体である二酸化炭素中の炭素から生産された炭水化物への変換値は 1.34 に相当すとし、1 日の生産量を求めた。

$$P = 1.34 \int_0^{24} \int_0^F (P_n) dF \cdot dt \quad \dots\dots\dots (3.10)$$

P : 生産量 ($\mu\text{g/m}^2/\text{day}$)

(7) 群落光合成モデルによる生産力推定の条件

春条件 (20°C, 12 時間暗期 12 時間暗期) と夏条件 (25°C, 14 時間暗期 10 時間暗期) における, 異なる栄養塩条件でのアオサ属藻類の生産力と LAI の関係を推定した。栄養塩濃度は第I章表 3 を参考にし, グリーントイドが発生しなかった京都府宮津湾 (培地 1, N0-P0), これまでにグリーントイドの発生が知られている鹿児島県出水干潟地先 (培地 2, N30-P1) とフランスの Thau lagoon (培地 3, N200-P1) の栄養塩濃度とした。海水の吸光係数は, 海面に波がなかった 2019 年 8 月と 9 月の平均値から 0.6 とした。

(8) 単位面積当たりにおける不稔性アオサの生産力推定

本群落光合成モデルを利用し, 現場海域における不稔性アオサの生産力を推定した。藻体の初期面積を 1 cm²とし, 生産力推定のパラメーターは, 夏条件 (25°C, 14 時間暗期 10 時間暗期) とした。天候は, 「(4) 各天候の日射量の測定」と同様の方法で設定し, 気象庁ホームページ (気象庁 2021a) から京都府宮津市における 2019 年 6 月 1 日-8 月 31 日 (計 92 日) までの天候を用いた。栄養塩濃度は, グリーントイドが発生しなかった京都府宮津湾 (培地 1), これまでにグリーントイドの発生が知られている鹿児島県出水干潟地先 (培地 2) とし, 異なる栄養塩濃度下での生産力の日変化を比較した。

(9) 統計処理

二元配置分散分析により有意差を検定した後, Bonferroni test で多重比較検定を行った。計算には, Excel 2016 (Microsoft) を用いた。

3. 結果

(1) 光合成-光曲線

近似式より作成した不稔性アオサとスジアオノリの各培地における 20°Cと 25°Cの光合成-光曲線を図 22, 近似式から求めた光合成-光曲線のパラメーターを表 7 に示した。なお, 20°Cにおける光合成-光曲線とそのパラメーターは第I章図 11, 表 5 と同一である。

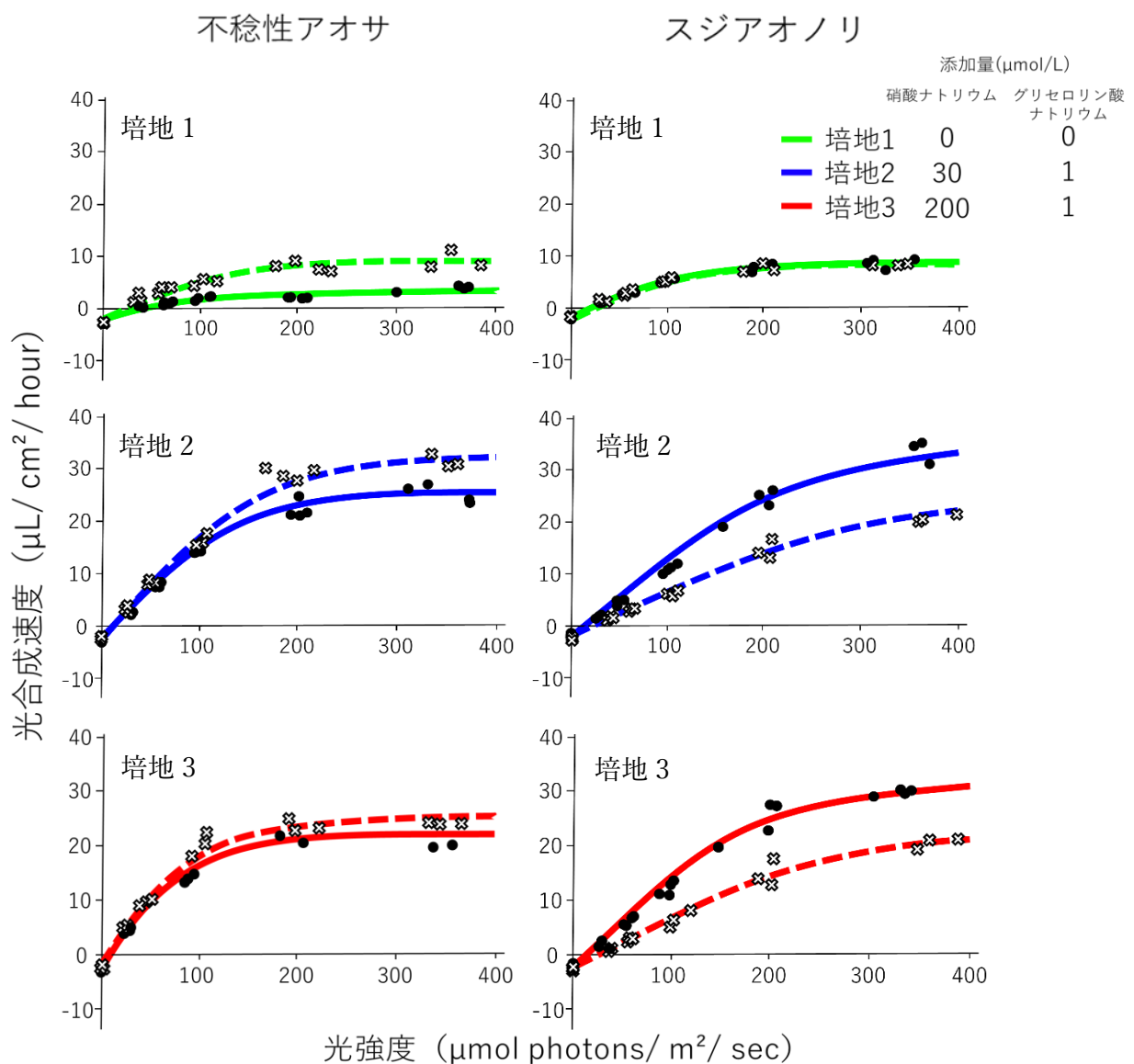


図 22. 近似式より作成した各培地の水温別光合成-光曲線。実線は 20°C, 破線は 25°C, \otimes は 20°C, \bullet は 25°Cにおける実測値

表 7. 近似式から求めた 20°Cと 25°Cにおける不稔性アオサとスジアオノリの
光合成-光曲線のパラメーター (20°Cのパラメーターは第 1 章表 5 と同じ)

種	水温 (°C)	培地	初期勾配 (α)	呼吸速度 (R) ($\mu\text{L}/\text{cm}^2/\text{hour}$)	光補償点 (I_c) ($\mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{sec}$)	光飽和点 (I_k)
不稔性アオサ	20°C	1	0.061	0.9	14.7	65.1
		2	0.20	1.3	6.4	129.8
		3	0.25	1.7	6.9	89.1
不稔性アオサ	25°C	1	0.075	1.0	13.4	144.7
		2	0.21	2.4	11.7	179.0
		3	0.23	3.0	12.8	116.6
スジアオノリ	20°C	1	0.06	0.5	7.9	133
		2	0.16	1.7	10.8	290.3
		3	0.18	2.1	11.6	208.8
スジアオノリ	25°C	1	0.066	0.9	13.7	146.5
		2	0.097	1.9	19.5	290.2
		3	0.10	2.1	20.5	248.3

表 8. 乾燥重量および含水率の分散分析表

				*** $P < 0.001$	** $P < 0.01$	* $P < 0.05$
		SS	df	MS	F	P
含水率 (不稔性アオサ)	水温	37.2	1	37.2	48.7	$1.5 \times 10^{-5***}$
	培地	1.3	2	0.64	0.84	0.45
	水温×培地	2.0	2	0.99	1.3	0.31
含水率 (スジアオノリ)	水温	1.7	1	1.7	2.63	0.13
	培地	14.4	2	7.2	11.4	$1.7 \times 10^{-3**}$
	水温×培地	1.3	2	0.63	1.0	0.4
乾燥重量 (不稔性アオサ)	水温	0.043	1	0.043	17.8	$1.2 \times 10^{-3**}$
	培地	0.083	2	0.042	17.2	$3.0 \times 10^{-4***}$
	水温×培地	0.047	2	0.023	9.7	$3.1 \times 10^{-3**}$

不稔性アオサの初期勾配 (α) は、培地 1 と培地 2 では 25°Cの方が高く、培地 3 では 20°Cの方が高い傾向にあった(図 22, 表 7)。呼吸速度 (R) と光飽和点 (I_k) は、すべての培地で 25°Cの方が高い傾向にあった。光補償点 (I_c) は、培地 1 では 20°Cの方が高く、培地 2 と培地 3 では 25°Cの方が高い傾向にあった。

スジアオノリの初期勾配 (α) は、培地 1 では 25°Cの方が高く、培地 2 と培地 3 では 20°Cの方が高い傾向にあった(図 22, 表 7)。呼吸速度 (R) は、培地 1 と培地 2 では 25°Cの方が高い傾向にあった。光補償点 (I_c) は、すべての培地で 25°Cの方が高い傾向にあった。光飽和点 (I_k) は、培地 1 と培地 3 では 25°Cの方が高い傾向にあり、培地 2 では 20°Cの方が高い傾向にあった。

(2) 含水率

栄養塩濃度の異なる培地で培養した不稔性アオサの含水率は、20°Cより 25°Cが低かった ($P<0.001$) (図 23, 表 8)。スジアオノリの含水率は、栄養塩濃度の異なる培地間に有意差がみられ ($P<0.01$)、培地 2 で最も高くなった。

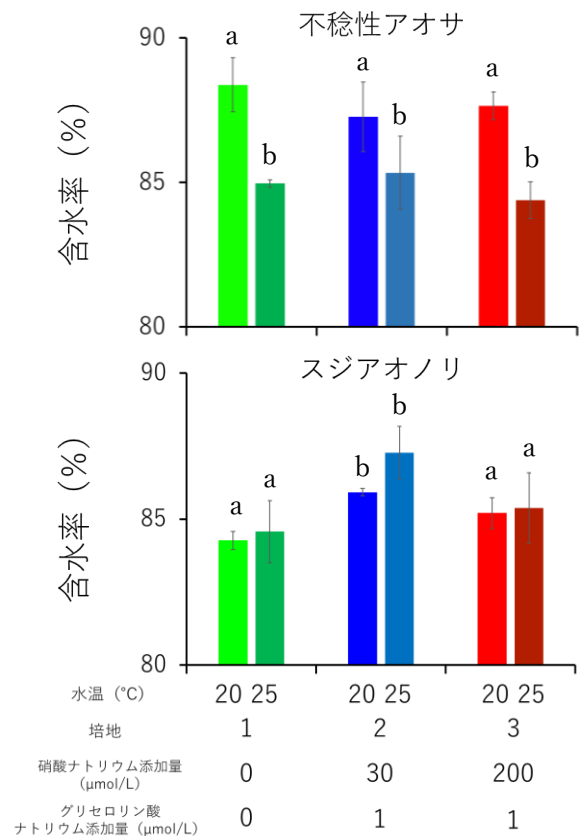


図 23. 培地および水温別乾燥重量。縦線は標準偏差 (SD)。異なるアルファベットは有意差があることを示す。

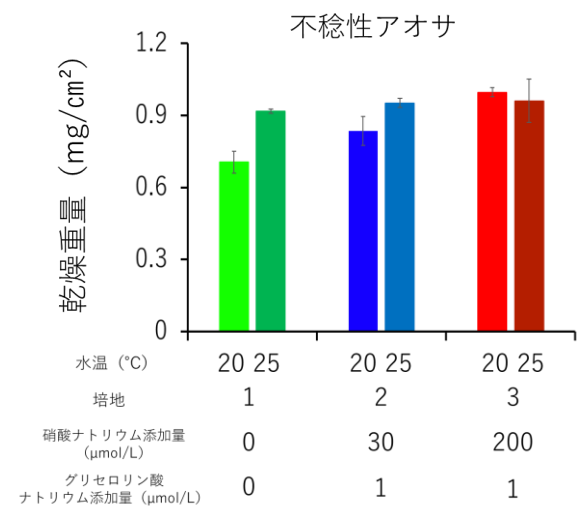


図 24. 不稔性アオサの培地および水温別の含水率。縦線は標準偏差 (SD)。

(3) 乾燥重量

不稔性アオサの単位面積当たりの乾燥重量は、20°Cの培地1が平均0.7 g/cm²、培地2が平均0.84 g/cm²、培地3が平均1.0 g/cm²であった（図24）。25°Cにおける培地1の乾燥重量が平均0.92 g/cm²、培地2が0.95 g/cm²、培地3が0.96 g/cm²であった。培地によって水温の影響が異なっていた（表8）。

(4) 各天候時の光量

2020年7月21日-8月20日において、晴天は2020年7月21, 22, 27, 28, 31日, 8月1-20日であった（図25）。曇天は2020年7月23, 24, 29日であった。また、測定期間中において、終日雨天となる日が無かった。そのため、2020年7月25, 26, 30日の実際に雨が降った12時時点の実測値を雨天の光量とした。天候別の平均日最大光量は、晴天 2165.2 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$ 、曇天 1369.9 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$ 、雨天 277.4 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$ であった（図26）。

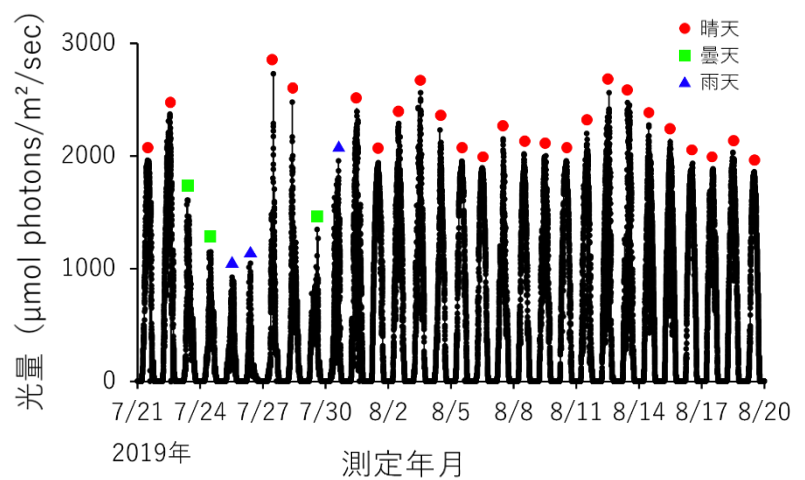


図25. 2020年7月21日-8月20日の日射量の推移

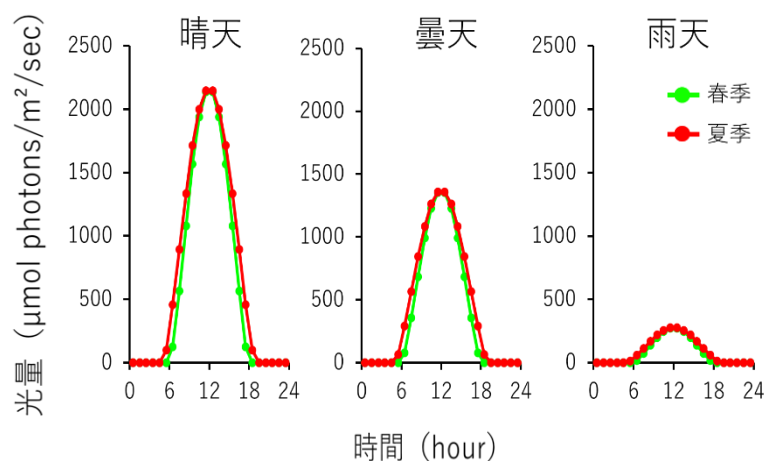


図26. 近似式(3.2)から求めた各季節の天候ごとの1日の光量の変化

(5) 群落光合成モデルによる生産力推定

作成した群落光合成モデルのパラメーター（表 9）を用いて、各 LAI における不稔性アオサとスジアオノリの生産力を推定した。

表 9. 生産力推定のためのパラメーター

パラメーター	入力した項目
水温 (°C)	20, 25
光周期 (明期 : 暗期)	12 : 12, 14 : 10
光量 ($\mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$)	2165.2 (晴天), 1369.9 (曇天), 277.4 (雨天)
水深 (m)	0
群落の高さ (m)	0.5
群落の吸光係数	0.4 (不稔性アオサ, スジアオノリ)
LAI	0-50

(6) 各季節の生産力

本研究のモデルで推定した、不稔性アオサとスジアオノリの LAI と生産力の関係を図 27 に示す。また、最も高い生産力（以下、最大生産力）とそのときの LAI（以下、最適 LAI）を表 10 と 11 に示す。

最大生産力と最適 LAI は、季節、天候、培地によって異なっていた。不稔性アオサの春条件における最大生産力と最適 LAI は、晴天の培地 1 が $5.7 \text{ g/m}^2/\text{day}$ と 37, 培地 2 がそれぞれ $35.6 \text{ g/m}^2/\text{day}$ と 28, 培地 3 が $39.2 \text{ g/m}^2/\text{day}$ と 23 となった。曇天の培地 1 が最大生産力 $3.6 \text{ g/m}^2/\text{day}$ で、最適 LAI は 24, 培地 2 がそれぞれ $22.5 \text{ g/m}^2/\text{day}$ と 18, 培地 3 が $24.7 \text{ g/m}^2/\text{day}$ と 21 となった。雨天の培地 1 が最大生産力 $0.61 \text{ g/m}^2/\text{day}$ で、最適 LAI は 5.0, 培地 2 がそれぞれ $3.6 \text{ g/m}^2/\text{day}$ と 5, 培地 3 が $4.1 \text{ g/m}^2/\text{day}$ と 5 となった。

夏条件では、晴天の培地 1 が最大生産力 $22.0 \text{ g/m}^2/\text{day}$ で、最適 LAI は 34, 培地 2 がそれぞれ $41.9 \text{ g/m}^2/\text{day}$ と 19, 培地 3 が $39.2 \text{ g/m}^2/\text{day}$ と 23 となった。曇天の培地 1 が最大生産力 $13.9 \text{ g/m}^2/\text{day}$ で、最適 LAI は 21, 培地 2 がそれぞれ $26.3 \text{ g/m}^2/\text{day}$ と 12, 培地

3 が 24.7 g/m²/day と 15 となった。雨天の培地 1 が最大生産力 2.3 g/m²/day で、最適 LAI は 5.0、培地 2 がそれぞれ 3.4 g/m²/day と 4.0、培地 3 が 3.3 g/m²/day と 4.0 となった。

スジアオノリの春条件における最大生産力と最適 LAI は、晴天の培地 1 が 42.5 g/m²/day と最適 LAI42、培地 2 がそれぞれ 72.6 g/m²/day と 14、培地 3 が 76.2 g/m²/day と 17 となった。曇天の培地 1 が最大生産力 26.9 g/m²/day で、最適 LAI は 27、培地 2

表 10. 各季節の天候および栄養塩濃度における不稔性アオサの最大生産力と最適 LAI

不稔性アオサ		培地 1		培地 2		培地 3	
		最大生産力 (g/m ² /day)	最適 LAI	最大生産力 (g/m ² /day)	最適 LAI	最大生産力 (g/m ² /day)	最適 LAI
春季	晴天	5.7	37	35.6	28	39.2	33
	曇天	3.6	24	22.5	18	24.8	21
	雨天	0.61	5	3.6	5	4.1	5
夏季	晴天	22.0	34	41.9	19	39.2	23
	曇天	13.9	21	26.3	12	24.7	15
	雨天	2.3	5	3.4	4	3.3	4

表 11. 各季節の天候および栄養塩濃度におけるスジアオノリの最大生産力と最適 LAI

スジアオノリ		培地 1		培地 2		培地 3	
		最大生産力 (g/m ² /day)	最適 LAI	最大生産力 (g/m ² /day)	最適 LAI	最大生産力 (g/m ² /day)	最適 LAI
春季	晴天	42.5	42	72.6	14	76.2	17
	曇天	26.9	27	46.0	9	48.2	11
	雨天	5.4	5	9.2	2	9.6	2
夏季	晴天	43.6	33	45.4	12	44.8	12
	曇天	27.6	21	28.7	7	28.4	8
	雨天	5.6	4	5.5	2	5.5	2

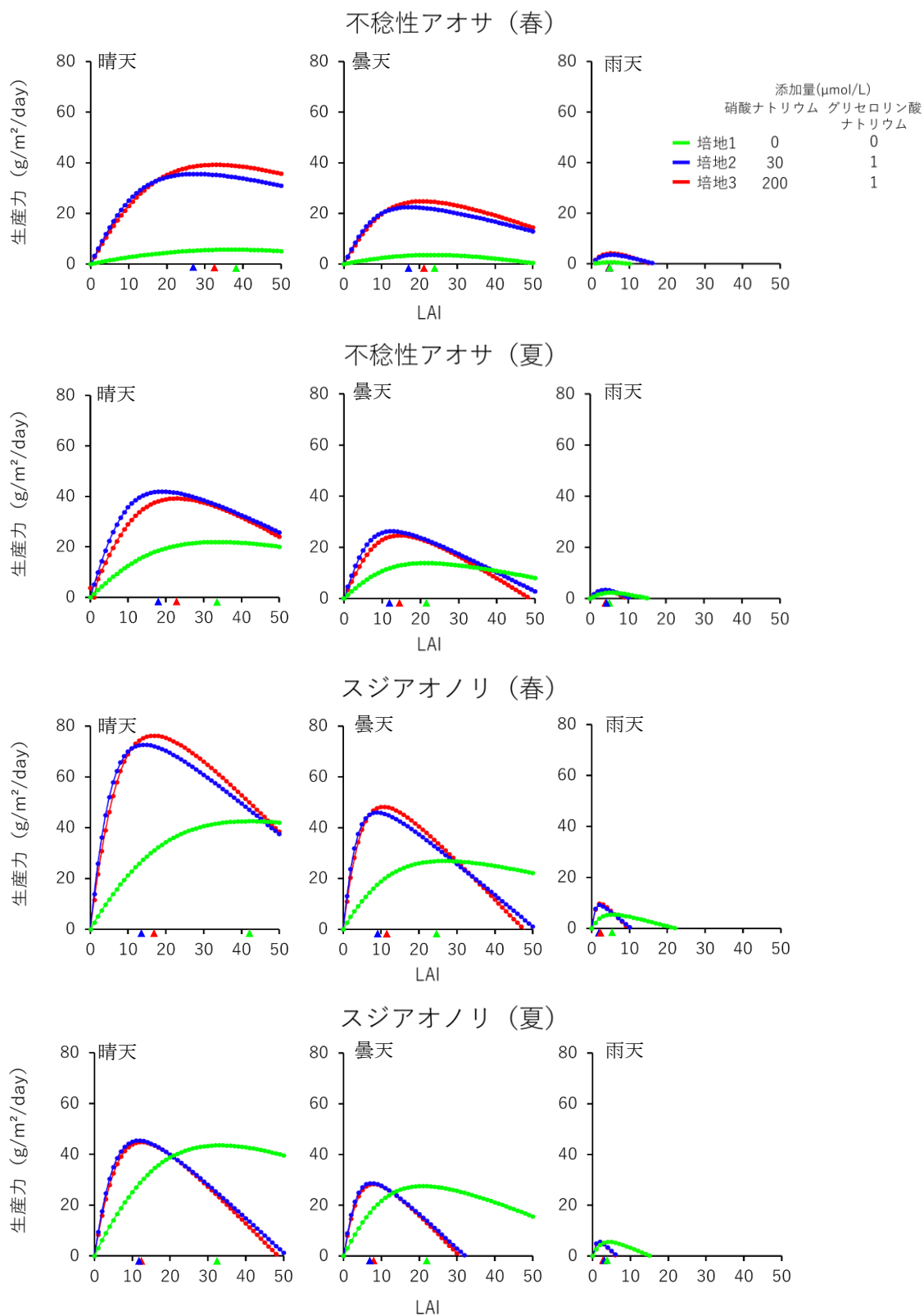


図 27. 異なる栄養塩濃度, 天候条件下での春季と夏季の生産力と LAI の関係。三角はそれぞれの培地における最適 LAI の位置。

がそれぞれ 16 g/m²/day と 9.0, 培地 3 が 48.2 g/m²/day と 11 となった。雨天の培地 1 が最大生産力 5.4 g/m²/day で最適 LAI は 5.0, 培地 2 がそれぞれ 9.2 g/m²/day と 2.0, 培地 3 が 9.6 g/m²/day と 2.0 となった。

夏条件では, 晴天の培地 1 が最大生産力 43.6 g/m²/day で, 最適 LAI は 33, 培地 2 がそれぞれ 45.4 g/m²/day と 12, 培地 3 が 44.8 g/m²/day と 12 となった。曇天の培地 1 が最大生産力 27.6 g/m²/day で, 最適 LAI は 21, 培地 2 がそれぞれ 28.7 g/m²/day と 7.0, 培地 3 が 28.4 g/m²/day と 8 となった。雨天の培地 1 が最大生産力 5.6 g/m²/day で, 最適 LAI 4.0, 培地 2 がそれぞれ 5.5 g/m²/day と 2.0, 培地 3 が 5.5 g/m²/day と 2.0 となった。

春季に対する夏季の最大生産力の比は, 不稔性アオサでは, 晴天条件で培地 1 が 3.9 倍, 培地 2 が 1.2, 培地 3 が 1.0 倍となった。曇天条件で培地 1 が 3.7 倍, 培地 2 が 1.2 倍, 培地 3 が 1.0 倍となった。雨天条件で培地 1 が 3.8 倍, 培地 2 が 0.94 倍, 培地 3 が 0.8 倍となった。スジアオノリでは, 晴天条件で培地 1 が 1.0 倍, 培地 2 が 0.63, 培地 3 が 0.59 倍となった。曇天条件で培地 1 が 0.59 倍, 培地 2 が 0.62 倍, 培地 3 が 0.59 倍となった。雨天条件で培地 1 が 1.0 倍, 培地 2 が 0.60 倍, 培地 3 が 0.57 倍となった。

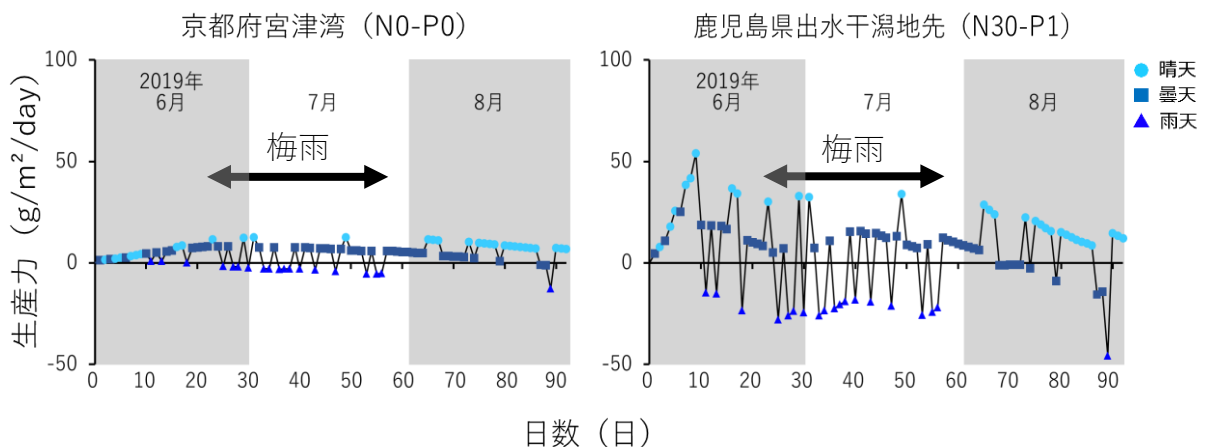


図 28. 京都府宮津湾および鹿児島県出水干潟地先の栄養塩条件, および 2019 年の天候下における不稔性アオサの生産力の推移の推定値

(7) 異なる栄養塩条件における生産力の日変化の推定

栄養塩濃度は京都府宮津湾を N0-P0 (培地 1), 鹿児島県出水干潟地先を N30-P1 (培地 2) とし, 不稔性アオサの生産力の推移の推定値を図 28 に示す。不稔性アオサの生産力は, 高い窒素濃度条件の培地 2 で高くなった。雨天の日数は 6 月が 7 日, 7 月が 11 日, 8 月が 1 日であった。晴天時に高く, 雨天時は負の値を示すことが多かった。また, 最大生産力は京都府宮津湾の条件が $12.6 \text{ g/m}^2/\text{day}$, 鹿児島県出水干潟地先の条件が $54.0 \text{ g/m}^2/\text{day}$ となった。

4. 考察

本研究では、栄養塩濃度や日射時間、水温をパラメーターとして、各季節の環境下におけるアオサ属藻類の生産力を推定した。Maegawa (1990) によると、1986年4-7月における三重県の晴天の光量は $2066\text{--}2217 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$ であり、本研究による7-8月の平均日最大光量と概ね一致した。そのため、実測した7-8月の光量を春季、夏季の日長として用いることで各季節における生産力の推定が可能と考えた。

本モデルにより、不稔性アオサとスジアオノリの生産力は、雨天時は群落内の光量が低下し、藻体の受光量が低下するため、晴天や曇天時とくらべて低くなると推定された。工藤 (1999) は、1996年3月から1998年までの間のアオサ属藻類の平均現存量の変化は、4月と8月に最大値を示し、6-7月は一時的な低下が見られたとしている。本研究により、梅雨は雨天が多く、光量が低いとアオサ属藻類の生長速度が低下し、現存量が低下することが分かった。また、京都府宮津湾の天候から推定した生産力も、当初は急激に高くなるが、LAIが高くなった後、梅雨時である6-7月に負の値を示すことが多くなった。褐藻コンブ目のアントクメ群落においても、7月には梅雨の影響により、群落の日純生産量が低くなるとされている(駒澤ら 2013)。これらのことから、梅雨時の天候は、日本の沿岸域の海藻の生産力に大きな影響を及ぼすと考えられる。

グリーンタイドが発生しなかった京都府宮津湾の栄養塩条件(培地1, N0-P0)における不稔性アオサとスジアオノリの最適LAIは、鹿児島県出水干潟地先(培地2, N30-P1)(吉田ら 2011)とフランスのThau lagoon(培地3, N200-P1)(Casabianca and Hugo 1998)と比べて高かった。この理由として、栄養塩濃度が高いほど呼吸速度が高く、1日の消費が増えるためと考えられた。逆に、栄養塩濃度が低い条件では呼吸速度が低いため、LAIが高くなっても消費が少ない。そのため、光量が低くても、生産力は低くなるが、生育は可能と考えられた。さらに、不稔性アオサの場合、藻体の光の透過率は栄養塩濃度が低いほど高いため、同じLAIであれば群落内の光量は栄養塩濃度の高い鹿

児島県出水干潟地先（培地 2）やフランスの Thau lagoon（培地 3）と比べて高くなる。そのため、栄養塩濃度が常に一定に維持されていれば、低栄養塩条件でもアオサ属藻類の現存量は大きくなる可能性がある。

一般に陸上植物では、群落密度が高くなり、LAI が増えると群落下部の光量は低下する。最適 LAI を超えると、群落下部の葉の受光量は低下し、呼吸による消費が光合成による物質生産を上回るため、葉は枯死する。したがって、陸上植物では最適 LAI を大きく超えた LAI を持つことができない。しかし、海藻は波や海流によって藻体が不規則に動揺するため、最適 LAI を超えた LAI を持つことができる。松村（1997）は、最適 LAI の推定値が 6.3 となる条件でアオサを培養し、LAI の実測値が 12.1 に達することを報告している。また、大山（1998）は、褐藻カジメ群落では、最適 LAI の推定値が 4.2 の海域で、LAI の実測値が 5.3-6.2 に達していたことを報告している。本研究のグリーンタイドを構成するアオサ属藻類は常に浮遊しながら移動すると仮定したため、藻体の受光量は均一となる。そのような仮定の下では、グリーンタイドにおいても最適 LAI を超えて生育することが可能となり、陸上植物と比べて高い LAI を維持することができると考えられる。

総合考察

海藻群落の生産力を推定する手法として、光合成速度から生産力を推定するシミュレーションモデルは有効な手法である。群落光合成モデルでは、光合成を測定する条件を変更することで、短期間で様々な環境条件での生産力を推定することが可能となる。しかし、これまでに、光合成速度からアオサ属藻類の生産力を推定する研究は少なかった (e.g. 児玉・相場 2017, 松村 1997)。そこで本研究では、異なる栄養塩濃度で生育する不稔性アオサとスジアオノリの光合成活性から群落光合成モデルの開発を試みた。

松村 (1997) は、不稔性アオサを大型水槽で培養した際の実測生産力を光合成速度から作成した生産力モデルによって推定した。大山 (1998) はカジメ群落の生産力を推定する手法として、群落内の光を考慮した光合成による生産力モデルを作成した。本モデルでは、これらの研究を基に、アオサ属藻類の生産力を推定するモデルを作成した。本モデルにより推定されたアオサ属藻類の生長量は実測値とほぼ同等の値を示し、モデルの有用性を示すことができた。このモデルでは、各環境において数日間の培養した後に光合成測定から生産力を推定することが可能であり、短期間のうちに生産力を推定することが可能である。さらに、栄養塩濃度や水温、光量、日長などの複合要因をパラメータとすることで、様々な環境下での生産力を推定することが可能となる。

グリーンタイドは、様々な環境要因が複合して発生する。児玉・相場 (2017) によれば、アオサ属藻類の現存量は DIN, 光, 塩分, 水温に影響を受けて変化するとされている。本研究においても窒素濃度や水温によって生産力が変化することが明らかとなった。さらに、雨天の光量は、晴天や曇天と比べて少ないため、不稔性アオサとスジアオノリの生産力の推定値は低くなった。実際に、7月の雨天の総日数は6月、8月と比べて多く、梅雨の影響によって、アオサ属藻類群落内の光量は低下すると考えられる。このことから、グリーンタイドは、天候によっても発生時期や発生量が変化すると考えられた。

アオサ属藻類は潮流によって流入・流出を繰り返し (矢内ら 2006), 愛知県三河湾で

は 100 g/m^2 (Matsukawa and Umebayashi 1988), 福岡県和白干潟では 440 g/m^2 (工藤ら 2003) ものアオサ属藻類が沿岸域に堆積したことが分かっている。本研究による推定では, 京都府宮津湾が富栄養化した際に, 2019年6月1日に発生した 1 cm^2 の不稔性アオサが 100 g/m^2 堆積するのは, 2019年6月1日から3日後であった。また, 440 g/m^2 堆積するのは73日後であった。そのため, 夏季に富栄養環境でアオサ属藻類が増殖を始めた場合, 約2か月でグリーントイドが形成されると予測された。しかし, 潮汐や風, 波の影響によってアオサ属藻類が沿岸域に流されることで, グリーントイドの形成は予測された日数よりも早くなることが考えられる。

グリーントイドのアオサ属藻類の枯死は, LAIが高くなり, 生産力が負になると生じると考えられる。しかし, 生産力が負の値を示す前に藻体を除去することで, 藻体の腐敗に伴う悪臭・観光被害の低減やグリーントイド発生時に沿岸部で堆積したアオサ属藻類の処理費用を減らすことにもつながる。

本モデルは, アオサ属藻類が常に浮遊し続け, アオサ属藻類群落内の光が均一に保たれていると仮定したものである。しかし, 自然環境中に発生するグリーントイドは, 現存量が大きくなったり, 干潮時には層状に堆積することが多い。そのため, 藻体同士が重なり合うことで堆積層ごとの光量が異なると考えられる。さらに, 表層では干出による乾燥や高水温の影響を受けるため, 生産力は本モデルと異なった値をとると考えられる。従って, 本モデルから推定された生産力が負になる LAI を示す前に枯死する可能性がある。そのため, 今後は堆積した状態でのアオサ属藻類群落の生産力を推定することが重要である。そのためには, 堆積層ごとに光量や栄養塩, ガス交換等の環境調査を行うことが必要である。また, 本研究では, 常に栄養濃度が一定に保たれているとして生産力を推定しているが, 富栄養化海域であっても, アオサ属藻類のバイオマスの増加に伴って栄養塩濃度は減少すると考えられる。中村 (2019) によれば, アナアオサの栄養塩吸収速度は栄養塩濃度に依存して変化するとされている。そのため, 長期間にわたり

グリーンタイドを形成している海域の生産力を推定するためには、栄養塩濃度の変化を詳しく調べる必要がある。

スジアオノリはグリーンタイドの構成種として問題になる一方で、食用となる有用海藻である。近年、スジアオノリの水揚げ量は減少しているため、陸上養殖の重要性が高くなり、三重県や高知県ではスジアオノリの陸上養殖が行われている。スジアオノリ 1kgあたりの最高落札金額は、2018年の三重県において3万5800円（毎日新聞 2021）、2019年の徳島県が6万円（東海テクノ 2020）であった。陸上養殖されている藻体は浮遊しながら水槽内を循環しているため、本モデルを適用しやすい条件にある。本モデルによって養殖環境下の最適な生育条件を導き出すことができれば、水産増殖分野においても有用となる。

本研究では、群落光合成理論を基礎として、不稔性アオサとスジアオノリの光合成速度から生産力を推定するモデルを作成した。このモデルにより、光合成速度の測定から生産力を推定することが可能となった。また、栄養塩や水温、天候により、グリーンタイドが発生しやすい条件を予測することが可能である。本研究は、グリーンタイドの発生育予測や抑制などの環境保全、水産増養殖分野に有効な知見となるものである。

要約

地球温暖化による高水温や富栄養化等の影響により、アオサ属 (*Ulva*) 藻類が大量に繁茂する現象であるグリーンタイドの発生が問題となっている。グリーンタイドの構成種にはアナアオサやスジアオノリ、不稔性のアオサ属藻類 (以下、不稔性アオサ) などがある。これらの藻類が増殖し、沿岸域に堆積すると景観悪化や悪臭、酸素不足による底生生物の大量斃死を引き起こす。アオサ属藻類の生産力を様々な環境条件で推定することができれば、グリーンタイドの発生予測やその抑制に貢献することが可能となる。そこで、本研究では不稔性アオサとスジアオノリの光合成速度からの生産力を推定する群落光合成モデルを作成することを目的とした。また、このモデルを用いてアオサ属藻類が増殖する条件を明らかにしようと試みた。

不稔性アオサとスジアオノリの光合成-光曲線を基に、硝酸態窒素 ($\text{NO}_3\text{-N}$)、水温、日長をパラメーターとしたモデルを作成し、推定した生長量を培養藻体の生長量と比較した。また、過去にグリーンタイドが発生した京都府宮津湾において 2019 年 6 月-2020 年 4 月に環境調査を行い、栄養塩、水温、光量およびグリーンタイドの発生の有無を調査した。宮津湾および他のグリーンタイド発生海域の環境条件をモデルに当てはめることで、グリーンタイドが発生する条件を推定した。

不稔性アオサとスジアオノリは、高濃度の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度で培養すると、光合成速度が高くなり、生長量が増加した。作成したモデルによる生長量の推定値が、培養藻体の生長量の実測値とほぼ一致したことから、モデルの有用性を確認できた。宮津湾では、グリーンタイドは発生しなかった。このモデルに宮津湾や他の海域の条件を当てはめた結果、不稔性アオサは夏季、スジアオノリは春季の水温・日長条件で $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度が高いと、生産力が高くなることが分かった。宮津湾でグリーンタイドが発生しなかった理由は、調査期間中の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度が低かったためと考えられた。

謝辞

本論文を審査して頂きました三重大学大学院生物資源学研究科 生物海洋学教育研究分野の石川輝教授，海洋生態学教育研究分野の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，手厚いご指導とご教授を賜った三重大学大学院生物資源学研究科藻類学教育研究分野の倉島彰准教授に心から御礼申し上げます。大学院進学にあたり，多くのご支援をいただいた九州大学科学技術イノベーション政策教育研究センターの鈴木千賀助教に感謝いたします。

野外調査を行うにあたり，多大なご協力とご助言をいただいた京都府農林水産技術センター海洋センター・三重大学大学院生物資源学研究科の瀬田智文氏に御礼申し上げます。

栄養塩分析の依頼を快く承諾して頂いた三重県水産研究所 鈴鹿水産研究室の岩出将英研究員に深く感謝いたします。

調査・実験を行うに当たって協力と助言をいただいた三重大学生物資源学部 研究員の姜萬求博士をはじめ，卒業生の藤原寛斗氏，三重大学生物資源学部 藻類学研究室の学生諸氏に感謝いたします。

引用文献

- Abramoff, M. D., Magelhaes, P. J., Ram, S. J. 2004. Image Processing with ImageJ. *Bio. Int.* 11: 36-42.
- 有賀祐勝 1973. 水界植物群落の物質生産II 植物プランクトン. 共立出版. 東京.
- Casabianca, M. L., Hugo, F. P. 1998. Effect of environmental parameters on the growth of *Ulva rigida* (Thau lagoon, France). *Bot. Mar.* 41: 157-165.
- 藤田善彦 1979. 藻類の生化学的研究法. 西澤一俊・千原光雄(編) 藻類研究法. pp.473-700. 共立出版. 東京.
- 藤原誠司・矢内栄二 2017. 東京湾奥部の潟湖干潟におけるグリーンタイド環境. 土木学会海岸工学 73: 1291-1296.
- 川嶋良一 1969. 大豆の葉の調位運動に関する研究: 第1報 調位運動と葉面受光. 日本作物 38: 718-729.
- 岸田智穂・馬場将輔 2003. 不稔性アオサの成長と成熟に及ぼす温度, 塩分, 光強度の複合影響. 海生研研報 5: 21-26.
- 気象庁 2021b. 過去の気象データ 京都府宮津市. (2021年1月12日閲覧)
http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php?prec_no=61&block_no=0589&year=2020&month=09&day=01&view=p1
- 気象庁 2021a. 過去の気象データ 三重県津市. (2021年1月12日閲覧)
http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php?prec_no=53&block_no=47651&year=2020&month=09&day=01&view=p1
- 児玉貴正・相場明郎 2017. グリーンタイド発生要因の推定と大型藻類生態モデルの開発. 土木学会海岸工学 73: 1321-1326.
- 駒澤一郎・安藤和人・滝尾健二・川辺勝俊・坂西芳彦 2013. 水中の光環境の季節変動が褐藻アントクメの純生産量に与える影響. 藻類 61: 81-86.

- 工藤考浩 1999. 静穏な海域で栄養繁殖する種. 能登谷正浩 (編) アオサの利用と環境修復. pp. 48-70. 成山堂. 東京.
- 工藤教勇・児玉真史・徳永貴久・松永信博 2003. 干潟におけるアオサの消長が生物生息環境に及ぼす影響. 土木学会海岸工学 50: 1081-1085.
- 倉島彰・前川行幸 1999. 散乱光・直射光下における藻類の受光・光合成特性. 藻類 47: 96.
- 黒岩澄雄 1968. 植物群落における光要因と光合成の理論的解析(3) 散光下光合成と比較しての, 平行光線下葉群光合成. 農業気象 24:75-90.
- 桑原伸司・佐々木秀郎・北原繁志・松山恵二・清野克徳・谷野賢二 1998. 藻場生産力予測シミュレーションモデルの開発. 土木学会海岸工学 45: 1101-1105.
- 京都府 2007. 阿蘇海環境づくり協働会議. (2021年1月12日閲覧)
<http://www.pref.kyoto.jp/tango/ki-kikaku/documents/1227164319811.pdf>
- 京都府 2013. 平成25年度公共用水域および地下水の水質測定結果. 京都府企画環境部環境管理課. 京都.
- 京都府 2014. 平成26年度公共用水域および地下水の水質測定結果. 京都府企画環境部環境管理課. 京都.
- 京都府 2015. 平成27年度公共用水域および地下水の水質測定結果. 京都府企画環境部環境管理課. 京都.
- 京都府 2016. 平成28年度公共用水域および地下水の水質測定結果. 京都府企画環境部環境管理課. 京都.
- 京都府 2017. 平成29年度公共用水域および地下水の水質測定結果. 京都府企画環境部環境管理課. 京都.
- Liu, D., Keesing, J. K., He, P., Wang, Z., Shi, Y., Wang, Y. 2013. The world's largest macroalgal bloom in the Yellow Sea, China: Formation and implications. Estuar. Coast. Shelf Sci. 129:

2-10.

Maegawa, M. 1990. Ecological studies of *Eisenia bicyclis* (Kjellman) Setchell and *Ecklonia cava* Kjellman. The Bulletin of the Faculty of Bioresources, Mie University 4: 73-145.

Maegawa, M., Kida, W., Yokohama, Y., Aruga, Y. 1988. Comparative studies on critical light conditions for young *Eisenia bicyclis* and *Ecklonia cava*. Jpn. J. Phycol. 36: 166-174.

前川行幸 1999. 光合成と生産力. 能登谷浩 (編) アオサの利用と環境修復. pp. 16-47. 成山堂. 東京.

毎日新聞 2019. 水産業. (2021年1月12日閲覧)

<https://mainichi.jp/articles/20191212/ddl/k24/020/120000c>

Matsukawa, Y., Umebayashi, O. 1988. *Ulva pertusa* biomass, growth rate and its limiting factors in an intertidal flat, Bull. Tokai Reg Fish. 126: 25-34.

丸山俊朗 1999. 養殖場の水質浄化. 能登谷浩 (編) アオサの利用と環境修復. pp. 71-100. 成山堂. 東京.

松村知明 1997. 不稔性アオサの大量培養と生産力に関する基礎研究. 平成8年度修士論文. 三重大学生物資源学研究科.

Monsi, M., Saeki, T. 1977. Über den Lichtfaktor in den Pflanzengesellschaften und seine Bedeutung für die Stoffproduktion. Jap. J. Bot. 14: 22-52.

門司正三・佐伯敏郎 1982. 植物群落内における光要因とその物質生産に対する意義について. 門司正三・野本宣夫 (訳) 植物の物質生産. pp. 185-223.

村瀬昇 2001. 褐藻ノコギリモク *Sargassum macrocarpum* C. Agardh の生態学的研究. 水産大学校研究報告 49: 131-212.

中村方哉 2019. グリーンタイドを構成するアオサ2種の生理生態学的特性と生存戦略に関する研究. 筑波大学大学院博士論文.

西垣友和・山本圭吾・遠藤光・竹野功璽 2010. 阿蘇海で養殖されたホンダワラ科褐藻

- アカモクの生長と生残. 京都府農林水産技術センター海洋センター研究報告 32: 23-27.
- 西川智貴・武田尚大・矢持進 2009. 人工干潟や塩性湿地で大発生するグリーンタイトの抑制に関する検討. 土木学会海岸工学 65: 1221-1225.
- 小田達也 2012. 赤潮プランクトンの毒性因子に関する生理学および生化学的研究. 日水誌 78: 368-371.
- 岡部史郎・福井深 1981. 日本沿岸水域における栄養塩分布の現状. 日本海水 35: 196-210.
- 岡本敦哉 1997. 不稔性アオサの窒素・リン高濃度体制. 平成 8 年度卒業論文. 三重大学生物資源学部.
- 女川久美子 1998. 不稔性アオサの細胞分裂周期. 平成 9 年度卒業論文. 三重大学生物資源学部.
- 小野晃生 1996. 不稔性アオサのリン酸態リン, 硝酸態窒素, アンモニア態窒素の吸収能力. 平成 7 年度修士論文. 三重大学生物資源学研究科.
- 大野正夫 1999. アオサと大繁茂. 能登谷正浩(編) アオサの利用と環境修復. pp.1-15. 成山堂. 東京.
- 大塚耕司 2006. アオサの大量発生と対策の現状. 日本船舶海洋工学: 95-98.
- 大山温美 1998. 三重県錦湾におけるカジメ群落の構造と生産力. 平成 9 年度修士論文. 三重大学生物資源学研究科.
- Pimchanok, B., Rattana, H., Raymond, J. R., Anchana, P. 2008. Effect of nutrient inputs on growth, chlorophyll and tissue nutrient concentration of *Ulva reticulata* from a tropical habitat. Sci. Asia 34: 245-252.
- 四藏茂雄 2018. 阿蘇海の水質特性. 舞鶴工業高等専門学校紀要 53: 23-31.
- 畠田智 2012. 第 3 節 環境問題と藻類. 渡邊信(監) 藻類ハンドブック. pp. 405-454.

エヌ・ティー・エス, 東京.

谷口和也・山田悦正 1978. 能登飯田湾の漸深帯における褐藻ヤツマタモクとノコギリモクの生態. 東北区水産研究所研究報告 29: 239-253.

館脇正和 1994. アオサ (*Ulva pertusa*). 堀輝三 (編) 藻類の生活史集成 第1巻 緑色藻類. pp. 195. 内田老鶴圃. 東京.

東海テクノ 2020. かわせみ通信 5月号. (2021年1月12日閲覧)

<https://www.tokai-techno.co.jp/information/kawasemi/kawasemi-backnumber/>

内田祐貴・岩下圭之・工藤勝輝 2012. 時系列マルチスペクトルリモートセンシングデータによる米国チェサピーク湾の水質評価. 日本大学生産工学部 学術講演会公演概要 2: 405-408.

矢内栄二・早見友基・井元辰哉・五明美智男 2006. 谷津干潟におけるアオサの流動特性. 土木学会海岸工学海洋開発 22: 601-606.

山岸幸正・垣本健吾 2011. 因島におけるグリーンタイドの構成種と季節変化. 福山大学生命工学部研究年報 10: 41-45.

Yokohama, Y., Ichimura, S. 1969. A new device of differential gas-volumeter for ecological studies on small aquatic organisms. *Oceanogr.* 25: 75-80.

Yokohama, Y., Tanaka, J., Chihara, M. 1987. Productivity of the *Ecklonia cava* community in a bay of Izu Peninsula on the Pacific coast of Japan. *Bot. Mag.* 100: 129-141.

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.

吉田忠生 1998. 緑藻綱 アオサ目. 新日本海藻誌. pp. 23-43. 内田老鶴圃. 東京.

吉田吾郎・新村陽子・樽谷賢治・浜口昌巳 2011. 海藻類の一次生産と栄養塩の関係に関する研究レビューおよび瀬戸内海藻場の栄養塩環境の相対評価. 水研センター研報 34: 1-31.