

令和 5 年 5 月 17 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06187

研究課題名(和文)大型褐藻の光防御機構に対する光・温度順化の影響

研究課題名(英文)Light and thermal acclimation on photoprotective responses in several brown macroalgae

研究代表者

遠藤 光(Hikaru, Endo)

鹿児島大学・農水産獣医学域水産学系・助教

研究者番号：00523630

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：陸上植物では、低温あるいは高温かつ強光で順化すると、光阻害が発生して成長が抑制されるのに対して、光阻害を抑制する抗酸化物質の生産や熱放散が増加することが知られている。一方、本研究においてヒバマタ目ホンダワラ科褐藻2種を低温あるいは高温かつ強光で順化した結果、光阻害が発生し、抗酸化物質や熱放散が増加したものの、成長が抑制されず、むしろ促進される場合が多いことが分かった。また、コンブ目褐藻ワカメを高温・強光で順化した結果、抗酸化物質の生産はあまり変化せず、熱放散を駆動するキサントフィルサイクル色素は増加するが、同色素の脱エポキシ化が抑制され、熱放散自体は減少することが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物では、キサントフィルサイクル色素の脱エポキシ化による熱放散の特性を制御することによって生産量が増加することが報告されているため、このような植物特性の制御は温暖化の中での食糧生産を保障する技術として期待されているが、本研究は、同色素の脱エポキシ化および熱放散が高温によって抑制される場合があることを示した。このため、植物でも同様の現象が認められる場合、食糧生産を保障するためには熱放散の制御に関わる更なる研究が必要である。このように、本研究成果は将来の食糧生産の保障に関わる新規知見を含む点で学術的にも社会的にも意義がある内容である。

研究成果の概要(英文)：High light acclimation under low or high temperatures is known to cause photoinhibition, decline in growth rate, and photoprotective responses, such as increases in antioxidant production and heat dissipation, in terrestrial plants. In the present study, such acclimation also resulted in the photoinhibition and photoprotective responses but did not always decrease the growth rate in two brown algal species, probably because the photoprotection worked successfully. The present study also showed that high temperature acclimation combined with strong light increased xanthophyll cycle pigments but decreased xanthophyll cycle-mediated heat dissipation of a brown alga via inhibition of de-epoxidation of the pigments.

研究分野：海藻の生理生態学

キーワード：海藻 温暖化 光阻害 抗酸化物質 非光化学的消光 光順化 栄養塩濃度

1. 研究開始当初の背景

【海藻・大型褐藻の重要性】海藻(褐藻、紅藻、緑藻)は、沿岸生態系における主要な一次生産者であり、特にコンブ目(ワカメ、マコンブなど)・ヒバマタ目(ヒジキ、ヤツマタモクなど)に属する大型褐藻は、養殖対象種(ワカメ、ヒジキなど)を多く含み、さらに、沿岸域に藻場を形成して多様な魚介類に棲み場や産卵場を提供するため、水産学的に重要である。

【高温・強光の影響】近年、海洋温暖化によって世界の藻場は局所的に縮小している。藻場が局所的に縮小している原因としては、温暖化の影響が局所的な環境条件(光量や栄養塩濃度)によって強くなったり弱くなったりするためと推定されている(Cote et al. 2016)。一方、陸上植物では高温(あるいは低温)と強光が重なることによって光阻害(光合成活性の低下)が発生し、成長率が低下することがあるが(高橋 2013)、海藻ではこのような複合作用を科学的に検証した例は少ない。

【低温・強光の影響】また、海洋温暖化によって養殖開始直後の秋にワカメが枯死するなどの問題が起きているため(Gao et al. 2013a) その対策の一つとして、高温耐性の高い南日本産のワカメを主要生産地である北日本で養殖する方法が提案されているが(Gao et al. 2013b) 北日本の冬の低水温はワカメの成長に悪影響を与えることも予想されている(Endo et al. 2017a)。一方、陸上植物では低温(あるいは高温)や強光で順化すると光阻害を抑制する光防御機構が発現することが知られているため(高橋 2013) これが低水温耐性に関連している可能性がある。しかし、海藻の光防御機構が低温・強光順化によって発現するのか否かについてはほとんど調べられていない。

【光阻害とその指標】光阻害は、過剰な光エネルギーにより葉緑体内で活性酸素種が生成されることによって発生し、光化学系 II の最大量子収率 F_v/F_m と呼ばれる光合成パラメーターを測定することによって定量することができる(高橋 2013)。

【光防御 1 : 抗酸化物質】一方、光阻害を抑制する光防御機構の一つとしては、活性酸素種を消去する抗酸化物質の生産があり、この抗酸化物質には、フコキサンチン(F_x)などのキサントフィルと β -カロテン(β -Car)などのカロテンが含まれる(高橋 2013)。

【光防御 2 : 熱放散】また、もう一つの光防御機構としては、過剰な光エネルギーを熱として放散する熱放散がある。熱放散は、非光化学的消光(NPQ=Non-photochemical quenching)と呼ばれる光合成パラメーターを測定することによって定量することができる。また、熱放散は、陸上植物と褐藻では、キサントフィルサイクル色素(XCP=Xanthophyll cycle pigment)であるヴィオラキサンチン(V_x)が強光によってアンテラキサンチン(A_x)を介してゼアキサンチン(Z_x)へと脱エポキシ化することによって起こるため、NPQ と XCP には相関が認められることが多い(Goss and Lepetit 2015)。

【光防御の発現条件】陸上植物では強光条件あるいは低温や高温で順化することにより、光阻害が発生して F_v/F_m が低下する一方、光防御機構が発現してキサントフィルやカロテン、XCP、NPQ が増加することが知られているが、褐藻では検証例が少ない(Goss and Lepetit 2015)。

2. 研究の目的

本研究では、大型褐藻の相対成長率、光合成パラメーター(F_v/F_m 、NPQ)、光合成色素(F_x 、 β -Car、XCP)に対する光・温度順化の複合作用を評価し、以下の仮説を検討した。

【仮説】低温あるいは高温で強光に長期間晒されると、適温や弱光条件よりも顕著に、光阻害が発生して F_v/F_m が低下し、成長率が低下するが、光防御機構が発現して F_x 、 β -Car、XCP、NPQ が増加する。

3. 研究の方法

実験 1. 低温・強光の複合作用

実験 1 では、低温・強光の複合作用を評価するために、短期間の低温・強光条件で光阻害が発生したことが報告されているヤツマタモクを対象とした(Terada et al. 2018)。ヤツマタモクは鹿児島県沿岸で採集し、成長点がある主枝の先端を切断し、培養環境に馴致させるため予備培養を 1 日間行った。その後、水温 2 段階(適温 20°C、低温 8°C)と光量 2 段階(弱光 30 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、強光 180 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)を組み合わせた 4 条件で 2 週間培養し、培養前後の湿重量から相対成長率

を求めた。また、パルス変調クロロフィル蛍光測定器 (PAM) を用いて F_v/F_m と NPQ を測定した。さらに、培養した成長点をジメチルホルムアミドに浸漬して光合成色素を抽出し、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いてクロロフィル a (Chl a) の含有量、補助色素であるクロロフィル c (Chl c)、抗酸化物質である Fx と β -Car、熱放散に用いられる XCP を測定し、各色素のクロロフィル a 比 (Chl c/Chl a、Fx/Chl a、 β -Car/Chl a、XCP/Chl a) を求めた。XCP については V_x から A_x を通して Z_x に脱エポキシ化した割合 $DPS = (0.5A_x + Z_x)/XCP$ を求めた。そして、それらの測定項目に対する水温・光量の複合作用を二元配置分散分析で解析した。

実験 2. 高温・強光・栄養塩濃度の複合作用

海藻の成長に対する高温の影響は栄養塩濃度によって変化する可能性があるため (Endo et al. 2017b) 実験 2 では、高温・強光に栄養塩濃度を加えた 3 要因の複合作用を検討した。また、鹿児島県産ヒジキは、高水温・貧栄養な夏を付着器 (植物の根に相当、ヒジキの場合単独で成長可) で過ぎて秋に主枝を発芽し、冬~春に主枝 (植物の枝葉に相当) が成長するという季節的消長を示すため (Endo et al. 2021) ここでは鹿児島県産ヒジキの主枝と付着器における反応の相違も検討した。それらの部位を培養環境に馴致させた後、水温 2 段階 (適温 20、夏の高温 30)、光量 2 段階 (弱光 30 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、強光 130 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)、栄養塩濃度 2 段階 (溶存無機態窒素 DIN が約 0~5 μM の海水、DIN が約 40 μM 以上の栄養強化培地) を組み合わせた 8 条件で、主枝は 2 週間、付着器は 4 週間 (成長が遅いため) 培養した。そして、相対成長率と光合成パラメーターを測定し、それらに対する水温、光量、栄養塩濃度の複合作用を三元配置分散分析で解析した。

実験 3. 光量と栄養塩濃度の複合作用

実験 2 の結果、ヒジキ主枝・付着器の NPQ に対する光量の影響は栄養塩濃度によって変化したため、実験 3 では、ヒジキ付着器に対して、より幅広い光量と栄養塩濃度の複合作用を検討した。鹿児島県産ヒジキ付着器を培養環境に馴致させた後、光量 3 段階 (30, 130, 300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) と栄養塩濃度 3 段階 (溶存無機態窒素濃度約 0, 40, 200 μM) を組み合わせた 9 条件で 4 週間培養し、相対成長率、光合成パラメーター、光合成色素を測定して二元配置分散分析で解析した。

実験 4. 高温・強光の複合作用

ここまではヒバマタ目ホンダワラ科褐藻のヤツマタモクとヒジキを対象にしてきたが、実験 4 ではホンダワラ科褐藻よりも高温や強光に敏感なコンブ目褐藻のワカメ (胞子体) を対象として、高温・強光の複合作用を検討した。ワカメは分布南限の鹿児島県沿岸で採集し、成長点から葉片をくり抜き、予備培養を 1 日間行った後、水温 3 段階 (20, 23, 26)、光量 2 段階 (弱光 50 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、強光 230 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) を組み合わせた 6 条件で 10 日間培養した (26 で葉片の半分が枯死した時点で培養を終了)。そして、相対成長率、光合成パラメーター、光合成色素、加えて抗酸化作用 DPPH を測定し、二元配置分散分析で解析した。

4. 研究成果

実験 1. 低温・強光の複合作用

低温・強光の複合作用は、ヤツマタモクの F_v/F_m を低下させ、Fx/Chl a、 β -Car/Chl a、XCP/Chl a、DPS、NPQ を上昇させた。この結果は仮説通りであり、低温で強光に長時間晒されると光阻害が発生 (F_v/F_m が低下) するが、抗酸化物質と熱放散が増加する等の光防御機構が発現することを示している。

一方、仮説に反して、 F_v/F_m の低下が大きかった低温・強光条件では、 F_v/F_m の低下が小さかった低温・弱光条件よりも相対成長率が高くなった。このように、低温・強光条件では光阻害が多少発生しても成長が抑制されるとは限らず、むしろ低温でも強光によって成長が促進されることが分かった。また、このように低温・強光でも成長が促進されたのは光防御機構が働いたためと推察された。

実験 2. 高温・強光・栄養塩濃度の複合作用

ヒジキの F_v/F_m は、水温や栄養塩濃度に関わらず、主枝では強光条件でも高く維持されたが、付着器では弱光条件よりも強光条件で低くなったため、ヒジキの場合、強光条件による光阻害は、高温や栄養塩濃度の変化によって促進されず、主枝よりも付着器で発生しやすいと考えられた。

相対成長率は、 F_v/F_m が低下しなかった主枝だけでなく、 F_v/F_m がやや低下した付着器でも、弱光条件より強光条件で高くなったため、実験 1 と同様に、光阻害が多少発生しても成長が抑制されるとは限らず、むしろ強光によって成長が促進されることが分かった。

NPQ は、強光条件で F_v/F_m が低下した付着器だけでなく、 F_v/F_m が低下しなかった主枝でも、貧栄養条件では弱光よりも強光で高くなったが、富栄養条件では光量の影響を受けなかった。このため、強光条件では光阻害が発生していなくても熱放散が増加すると考えられる。また、熱放散に対する強光の影響は貧栄養化によって強められる可能性が示唆された。

実験 3. 光量と栄養塩濃度の複合作用

実験 2 よりも幅広い光量と栄養塩濃度の複合作用を検討した結果、実験 2 の結果とは異なり、

ヒジキ付着器の NPQ に対する強光の影響が貧栄養化によって強められる現象は確認されなかったため、このような現象が検出されるか否かは、光量と栄養塩濃度の度合いによって変化するといえる。

強光順化は、Fv/Fm と Chl a を低下させ、相対成長率、NPQ、Fx/Chl a、XCP/Chl a を上昇させたため、実験 1 や 2 の結果と同様に、強光条件で光阻害が多少発生しても成長は促進され、これには光防御機構の発現が関連していると推察された。

また、栄養塩濃度の上昇は、XCP/Chl a や DPS を含む多くの測定項目に影響を与えなかったが、NPQ を低下させたため、これまでに他の光合成生物で報告されてきた栄養塩濃度上昇による NPQ の低下には、キサントフィルサイクル色素以外の変化が関連していると考えられた (Endo et al. 2023)。

実験 4 . 高温・強光の複合作用

ワカメの相対成長率は、光量に関わらず高温では低下して負の値になった。これは高温 26 では葉片の大部分が枯死したことを意味する。一方、Fv/Fm は強光条件では低下したが、高温でも高く維持していた。残存している葉片では光阻害が発生していなかったものと推察された。Chl a は高温・強光の影響を受けなかったが、Chl c/Chl a はそれらの要因によって低下した。同様の結果は著者の研究グループによるヒジキの実験でも得られているため (Charan et al. 2022) Chl c/Chl a は Chl a よりも敏感なストレスマーカーになる可能性がある。

Fx/Chl a は高温によって低下したが、 β -Car/Chl a と DPPH は水温の影響を受けなかった。また、XCP/Chl a は高温・強光ほど増加したが、弱光における DPS と NPQ は水温によって変化しないものの、強光における DPS と NPQ は高温ほど低下した。このように、鹿児島県産ワカメは 26 の高温条件でも抗酸化作用を維持することができ、キサントフィルサイクル色素を増加させることができるが、高温条件では同色素の脱エポキシ化が抑制される結果、熱放散が機能不全に陥ることが明らかになった。光防御機構のうち、高温に脆弱な機構を特定した点は新規の知見である。なお、高温で脱エポキシ化が抑制された理由としては、脱エポキシ化酵素が高温に弱い可能性があるが、これの検証は今後の課題である。

< 引用文献 >

- Charan, H., Inomata, E., Endo, H., Sato, Y., Okumura, Y., & Aoki, M. N. (2022). Decreased irradiance and nutrient enrichment mitigate the negative effect of ocean warming on growth and biochemical compositions of a canopy-forming marine macroalga. *Journal of Marine Science and Engineering*, 10(4), 479.
- Côté, I. M., Darling, E. S., & Brown, C. J. (2016). Interactions among ecosystem stressors and their importance in conservation. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(1824), 20152592.
- Endo, H., Okumura, Y., Sato, Y., & Agatsuma, Y. (2017a). Interactive effects of nutrient availability, temperature, and irradiance on photosynthetic pigments and color of the brown alga *Undaria pinnatifida*. *Journal of Applied Phycology*, 29, 1683-1693.
- Endo, H., Suehiro, K., Gao, X., & Agatsuma, Y. (2017b). Interactive effects of elevated summer temperature, nutrient availability, and irradiance on growth and chemical compositions of juvenile kelp, *Eisenia bicyclis*. *Phycological Research*, 65(2), 118-126.
- Endo, H., Sugie, T., Yonemori, Y., Nishikido, Y., Moriyama, H., Ito, R., & Okunishi, S. (2021). Vegetative reproduction is more advantageous than sexual reproduction in a canopy-forming clonal macroalga under ocean warming accompanied by oligotrophication and intensive herbivory. *Plants*, 10(8), 1522.
- Endo, H., Moriyama, H., & Okumura, Y. (2023). Photoinhibition and photoprotective responses of a brown marine macroalga acclimated to different light and nutrient regimes. *Antioxidants*, 12(2), 357.
- Gao, X., Endo, H., Taniguchi, K., & Agatsuma, Y. (2013a). Genetic differentiation of high-temperature tolerance in the kelp *Undaria pinnatifida* sporophytes from geographically separated populations along the Pacific coast of Japan. *Journal of Applied Phycology*, 25, 567-574.
- Gao, X., Endo, H., Taniguchi, K., & Agatsuma, Y. (2013b). Combined effects of seawater temperature and nutrient condition on growth and survival of juvenile sporophytes of the kelp *Undaria pinnatifida* (Laminariales; Phaeophyta) cultivated in northern Honshu, Japan. *Journal of applied phycology*, 25, 269-275.
- Goss, R., & Lepetit, B. (2015). Biodiversity of NPQ. *Journal of plant physiology*, 172, 13-32.
- 高橋俊一. (2013). 過剰な光エネルギーで起こる光阻害とその防御について. *光合成研究*, 23, 57-63.
- Terada, R., Matsumoto, K., Borlongan, I. A., Watanabe, Y., Nishihara, G. N., Endo, H., & Shimada, S. (2018). The combined effects of PAR and temperature including the chilling-light stress on the photosynthesis of a temperate brown alga, *Sargassum patens* (Fuciales), based on field and laboratory measurements. *Journal of Applied Phycology*, 30, 1893-1904.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Endo Hikaru, Sugie Toru, Yonemori Yukiko, Nishikido Yuki, Moriyama Hikari, Ito Ryusei, Okunishi Suguru	4. 巻 10
2. 論文標題 Vegetative Reproduction Is More Advantageous Than Sexual Reproduction in a Canopy-Forming Clonal Macroalga under Ocean Warming Accompanied by Oligotrophication and Intensive Herbivory	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plants	6. 最初と最後の頁 1522 ~ 1522
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/plants10081522	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Charan Harshna, Inomata Eri, Endo Hikaru, Sato Yoichi, Okumura Yutaka, Aoki Masakazu N.	4. 巻 10
2. 論文標題 Decreased Irradiance and Nutrient Enrichment Mitigate the Negative Effect of Ocean Warming on Growth and Biochemical Compositions of a Canopy-Forming Marine Macroalga	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Marine Science and Engineering	6. 最初と最後の頁 479 ~ 479
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jmse10040479	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Endo Hikaru, Inomata Eri, Gao Xu, Kinoshita Junji, Sato Yoichi, Agatsuma Yukio	4. 巻 7
2. 論文標題 Heat Stress Promotes Nitrogen Accumulation in Meristems via Apical Blade Erosion in a Brown Macroalga With Intercalary Growth	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Marine Science	6. 最初と最後の頁 575721
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmars.2020.575721	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 森山光, 錦戸裕来, 遠藤光
2. 発表標題 褐藻ヒジキの成長と熱放散に対する高温・貧栄養・強光の影響
3. 学会等名 令和2年度日本水産学会九州支部大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	奥村 裕 (Okumura Yutaka) (80371805)	国立研究開発法人水産研究・教育機構・水産資源研究所(塩釜)・主任研究員 (82708)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------