

原 著

褐藻アカモクの初期生長に対する海水 pH 低下の影響

深美 拓也^{*1} 佐藤 麟太郎^{*1} 奥村 真子^{*2} 長谷川 浩^{*2} 三木 理^{*2}

^{*1} 金沢大学自然科学研究科, 〒920-1192 石川県金沢市角間町

^{*2} 金沢大学理工研究域, 〒920-1192 石川県金沢市角間町

2020 年 11 月 13 日受付, 2021 年 3 月 26 日採録

Abstract

The brown macroalga, *Sargassum horneri*, is now attracting attention not only as a food source but also with regard to coast environmental preservation, coastal ecosystems, CO₂ fixation, and as a marine indicator for environmental impact assessment. The present study was conducted to identify the effects of decreased seawater pH on *S. horneri* growth at three early developmental stages: embryo, germling, and young plant. After being exposed to acidic seawater of pH 6.0–7.5 for approximately 1–5 days, *S. horneri* embryos could germinate and grow when cultured in seawater with pH 8.0. At the germling stage, *S. horneri* growth was significantly inhibited when cultured in seawater with pH 6.0–6.6 compared to its growth in seawater with pH 8.0 (control). Moreover, at the young plant stage, *S. horneri* growth was significantly inhibited when cultured in seawater with pH 7.0 compared to when cultured in seawater with pH 7.5–8.0. These results demonstrate that the effects of decreased pH differ depending on the early growth stage of *S. horneri*, and as the growth of *S. horneri* progresses, the adverse effects of low pH increase. The results of this study can be used as preliminary data to promote *S. horneri* aquaculture in coastal areas and to assess the environmental impacts on its growth.

Keywords: *Sargassum horneri*, decreased pH, embryo, germling, young plant

1. はじめに

アカモク *Sargassum horneri* (Turner) C. Agardh は、褐藻綱ヒバマタ目ホンダワラ科に属する 1 年生の海藻であり、北海道東部を除く日本全土から朝鮮半島、中国沿岸の漸深帯に分布する (寺脇, 1993; 吉田, 2004; Choi *et al.*, 2008). アカモクは非常に生産性が高く、例えば石川県では数か月で全長が 10m 近くに達する (池森, 2012). 通常、秋から冬にかけて急速に生長し、成体は春に成熟して幼胚を散布し、その後付着器ごと海域に流出する。一般に海中で見られるアカモク成体は雌雄異株であり、成熟期には各々の株に生殖器床が生ずる。雌生株の生殖器床上で受精した受精卵は卵割を開始し、幼胚となり、ある程度発達すると落下し、海底の基質に付着する。その後、発芽体、幼体を経て成体となり、群生して大きく生長することで海の森といわれる藻場を形成する。さらに流出し流れ藻として移動するアカモク成体は、漂着した海域で幼胚を散布し、藻場を拡大させる (寺脇, 1993; 吉田, 2004; 京都府立海洋センター, 2005; 京都府立海洋センター, 2009; 京都府農林水産技術センター海洋センター, 2016; NHK ミクロワールド 2020). アカモクの利用については主として北部日本海沿岸の限定された地域でのみ伝統的に食されてきた。例えば、石川県の能登半島において、アカモクは外浦から内浦にかけての岩礁域の波打ち際から水深 10m に広く着生しているが、特に波当たりの弱い内湾のやや深い水深に着生した柔らかで新鮮なものが食用に広く用いられている (池森, 2012). 近年、アカモクは、抗ガン作用や抗肥満作用の観点から注目されているフコキサンチンなどの抗酸化物質の含有量が他の海藻と比

較して高いことが知見され (宮下, 2010; 宮下ら, 2012; 金沢, 2012; 食品分析開発センター, 2013), 自然食・健康食ブームによって需要が高まり、これまで食用とされなかった地域においても広く加工販売されている (秋本ら, 2010; 伊藤, 2012; 京都府農林水産技術センター海洋センター, 2016). このようにアカモクは、従来の伝統的な地域の食材としてばかりでなく、機能性食材としての新たな活用に加え、沿岸域の環境保全・生態系維持、CO₂ 固定など、広範囲な視点から重要な海藻であることが再認識され、日本を含めた東アジア各地で実海域における人工的な栽培技術に関する研究・開発が広く実施されるようになった。しかし、アカモクを含めたホンダワラ科の海藻の増養殖技術は、ノリやワカメなどの増養殖技術と比較するとまだ歴史が浅く、安定した商業生産に向けた開発段階と考えられる (Pang *et al.*, 2009; Xie *et al.*, 2009; 伊藤, 2012; 谷口ら, 2012; 秋本ら, 2010; 京都府農林水産技術センター海洋センター, 2016).

一方、アカモクの発芽体や幼体の生長に対する環境条件 (塩分、水温、光量、栄養塩濃度など) の影響についての基礎研究や現地調査は比較的古くから実施されている。例えば、アカモクの幼胚～幼体段階では水温が 10–20°C の条件において、適塩分域は、22.7–42.1‰ (実験値) であり、15‰以下の塩分はアカモク幼体に生長阻害を及ぼす。また、好適な水温については産地によりややばらつきが見られるが、15–23°C (山口県産), 15–20°C (宮城県産) 付近である (小河, 1986; 日本水産資源保護協会, 1992; 下茂ら, 2004; 谷口ら 2012). アカモクの発芽体の生長に適した水温と光量の最も好適な複合条件は 25°C, 100 μmol/m²/s である (馬場, 2007). ア

カモク藻場が存在する海域の栄養塩濃度は、DIN（溶存態無機窒素）濃度で4.2–110 $\mu\text{g/L}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度で0.62–28.5 $\mu\text{g/L}$ 程度であり、10 mg/L の $\text{NH}_4\text{-N}$ は幼胚の発芽に影響を与える（日本水産資源保護協会，1992）。大型褐藻類で生長が飽和する栄養塩濃度は種によって相違が認められるものの、DIN 濃度が4–15 $\mu\text{mol/L}$ (56–210 $\mu\text{g/L}$)、DIP 濃度が0.25–0.75 $\mu\text{mol/L}$ (7.75–23.25 $\mu\text{g/L}$) 程度である（吉田ら，2011）。これらの環境条件に関する基礎的知見はアカモク増養殖時の参考となる。

著者らもアカモクの生長や成分に対する培養海域の水質による影響について多方面から検討を実施してきた。例えば、アカモクやワカメの生長や光合成色素含量の低下には主要な栄養塩である窒素、リンの欠乏だけでなく微量元素の一つである鉄欠乏が影響し、キレート鉄（Fe-EDTA）やスラグ系施肥材溶出液に含まれる溶存鉄が初期生長や光合成色素含量の増加に効果があることを報告した（植木ら，2010, 2011; Nagai *et al.*, 2014; Miki *et al.*, 2016a; 奥村ら，2018）。加えて、アカモクの幼胚や発芽体を用いて排水等の環境影響評価手法を提案し、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、フェノールなど排水中に含まれる種々の化学物質によるアカモクの初期生長への阻害影響について報告している（Miki *et al.*, 2016b; Okumura *et al.*, 2018）。

本研究では、アカモクの初期生長に対する環境要因として海水の pH 低下に着目した。例えば、大量の河川水、地下水、排水（処理水）が閉鎖性の沿岸域に流入し、地形、水温、密度等の影響によって海水との混合が不十分な河口域では、塩分、栄養塩濃度、水温ばかりでなく、海水の pH が7.0–8.0 程度に低下し（辻ら，2005; 山本，2008），pH 低下による影響の可能性も考えられるが不明な点が多い。また、閉鎖性海域に発生する貧酸素水塊の pH は、 CO_2 の集積によって7.4 程度まで低下している報告事例（藤井ら，2010）もあることから、夏場に低 pH の貧酸素水塊が発生、湧昇する内湾沿岸においては低 pH 海水の一時的暴露による影響も想定される。さらに、日本沿岸域において、外洋と同様に海洋酸性化の傾向があることも近年報告されており（Isizu *et al.*, 2019），将来的には沿岸域においても海水 pH 低下による影響が生ずる可能性もある。一方で、 CO_2 が海底から噴出するイタリアの海域では、アカモクではないものの、同じホンダワラ属の *Sargassum vulgare* は pH が6.6 程度の低 pH 海域でも適応して生息しているとの報告もある（Kumar *et al.*, 2018）。加えて、アカモク幼胚や発芽体を用いて排水などによる沿岸環境影響評価を行う際には、化学物質の影響と分離して、排水（海域への pH 排水基準：5.0–9.0）による海水の pH 低下の影響を事前に把握しておく必要がある。

しかし、アカモクの初期生長に対する海水 pH 低下による影響についての基礎的検討事例は、他の環境要因と比較して極めて少なく、アカモクの増養殖やアカモクを用いた環境影響評価のための基礎的データが不足している。そこで、著者らは海水の pH 低下によるアカモクの初期生長への影響に関する基礎的な検討を開始している

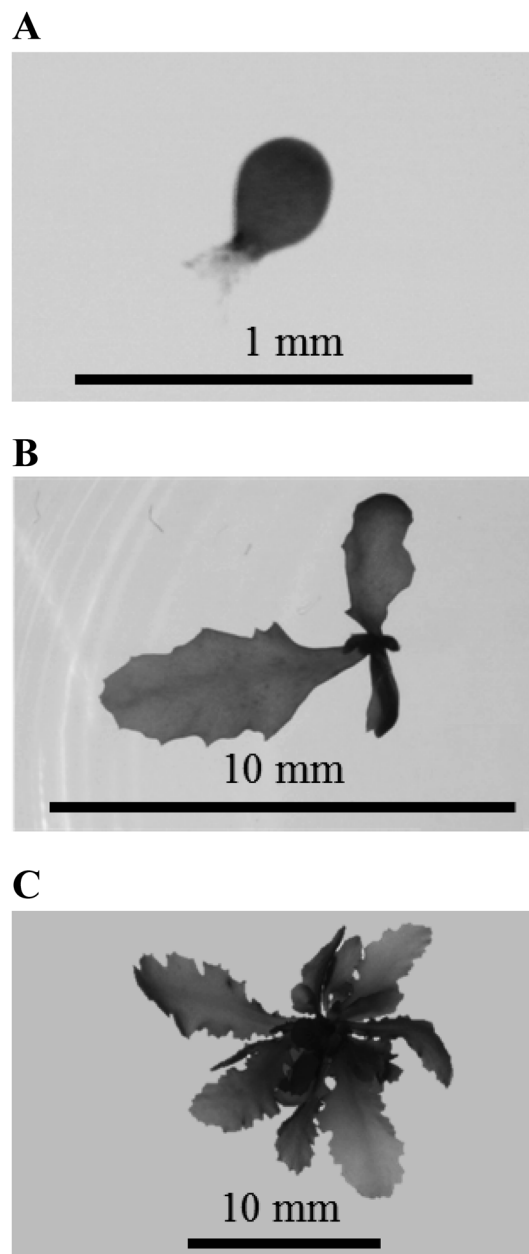


Fig. 1 Examples of *Sargassum horneri* at early development stages. (A: embryo, B: germling, and C: young plant)

（深美ら，2017, 2018）。ここでは、Fig. 1 に示すようにアカモクの初期生長を3段階（幼胚段階（embryo）；発芽体段階（germling, 全長10mm程度）；幼体段階（young plant, 全長数cm程度））に分け、海水 pH 低下による各段階での影響を検討し、知見を得たので報告する。

2. 実験方法

2.1 アカモク幼胚

本研究に用いたアカモク幼胚は、サカイオーベックス社を通じて福井県坂井市三国町で4月末から5月初旬に採取したアカモク母藻から得た。Fig. 1A に採取した幼胚を示す。幼胚は、滅菌海水とともに500 mL の PP 製遮光ボトルに入れ、4°C の冷蔵庫内で1年程度保存した。アカモク幼胚は長期保管後の発芽率が高く、また、発芽

体の生長にも影響が少ないことが報告されており（吉田ら, 2000; Miki *et al.*, 2016b; 瀬戸ら, 2018), 1 年ごとに新規採取分と交換して実験に使用した。

2.2 培地

石川県の能登海洋深層水施設から入手した海洋深層水を孔径 $0.45\mu\text{m}$ のメンブレンフィルターで濾過した後、オートクレーブ (SN200, ヤマト科学) を用い 121°C で 20 分間加圧滅菌した。この濾過・滅菌海水（以下、海水）に PES 培地 (Provasoli, 1968) を 2 v/v% 添加して栄養塩濃度を強化した海水を基準培地（以下、培地）としてアカモク幼胚、発芽体の培養に用いた。培地の pH および栄養塩濃度を Table 1 に示す。pH は HCl を用いて 8.0 に調整した。なお、水槽を用いたアカモク幼体の浮遊培養実験では、微細藻類の発生や汚濁防止の観点から PES 培地の添加率を 0.1 v/v% に削減した培地で培養した。

2.3 アカモク幼胚への低 pH 海水の暴露の影響 (RUN1)

2.3.1 低 pH 海水への幼胚の暴露方法

RUN1-1 では、海水の pH を HCl を用いて 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 8.0 (対照群) の 6 ケースに調整した。6 本の 100mL PP 製ボトルにアカモク幼胚 50 個体と各 pH の海水を満杯になるまで投入、密閉した。各ボトルをアルミホイルで遮光して、Fig. 2 ①に示すように人工気象器内で 1 日間静置し、低 pH 海水にアカモク幼胚を暴露した。RUN1-2, RUN1-3 では設定 pH を 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 (対照群) の 5 ケースに調整し暴露期間を 1 日間と 5 日間の 2 ケースとした。1 度/1 日、各ボトルの海水の pH を測定し、pH に変動の無いことを確認した。pH の測定には pH メータ (HM-30R, 東亜 DKK) を用いた。

2.3.2 低 pH 海水暴露後の幼胚の培養方法

低 pH 海水に暴露したアカモク幼胚を pH=8.0 の培地に戻して培養し、低 pH 海水暴露による生長への影響を評価した。実験装置を Fig. 2 ②に示す。

6 ウェルプレートの各ウェルに、pH=8.0 の培地 10.2mL とアカモク幼胚 1 個体を添加した。暴露 pH 条件に対して 2 台の 6 ウェルプレートを使用し、計 12 個体の幼胚を用いて評価した ($n=12$ 個体/pH)。 20°C に制御した人工気象器 (LTI-1200, 東京理化器械) 内に 6 ウェルプレートを設置し 21 日間静置培養した。培地は 7 日ごとに交換した。人工気象器の光源として白色 LED (SLED-F30D, 日本グローバル照明) を用い、光周期 (明期 12 時間, 暗期 12 時間), 光量子密度 ($100\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) に光照射条件を設定した。

2.4 アカモク発芽体に対する海水 pH 低下の影響 (RUN2)

発芽体段階の培養実験でも Fig. 2 ②に示す実験装置を用いた。

RUN2-1 では、海水の pH を HCl を用いて 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 (対照群) の 5 ケースに調整した。6 ウェルプレ

ートの各ウェルに培地 15.3mL とアカモク幼胚 1 個体を添加した。各 pH に対して 2 個の 6 ウェルプレートを使用し、計 12 個体の幼胚を用いて評価した ($n=12$ 個体/pH)。各ウェル内の海水の pH 変動を抑制するため、6 ウェルプレートを PET 樹脂製のプレートシールで密閉し 2.3.2 項で前述した方法で 21 日間静置培養した。培地の pH 変動の影響を抑制するため、培地を 3 日ごとに交換した。培地交換時に 6 ウェルプレートの各ウェルの培地を回収し pH を測定した。

さらに RUN2-2 では、海水の pH を HCl ではなく CO_2 ガスを用いて 7.0, 7.5, 8.0 (対照群) の 3 ケースに調整し評価した ($n=12$ 個体/pH)。培養方法は RUN2-1 と同様であるが、 CO_2 ガスの損失による pH 変動が大きかったため、培地は 2 日ごとに交換した。培地交換時に 6 ウェルプレートの各ウェルの培地を回収し pH を測定した。

2.5 アカモク幼体に対する海水 pH 低下の影響 (RUN3)

2.5.1 幼体の事前培養

8 個の 6 ウェルプレートを用い計 48 個体の発芽体を 2.3.2 項で述べた方法によって 21 日間培養し、藻長が 1cm 程度の幼体を得た。培養終了後、全ての幼体の藻体面積の平均値を算出し、その平均値に近い個体から順に 36 個体を選び、本培養に用いる幼体とした。

2.5.2 幼体の培養方法

幼体段階の培養実験に用いた実験装置を Fig. 3 に示す。

培養には 3 台の容量 5L のガラス製水槽を用い、各水

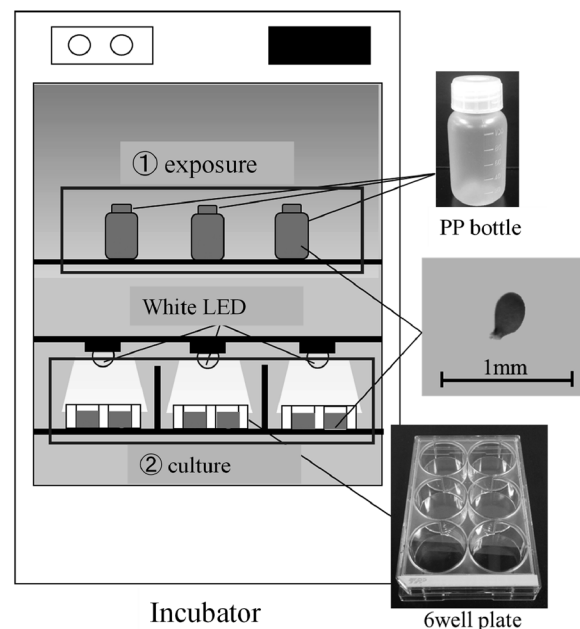


Fig. 2 Experimental apparatus for culturing *Sargassum horneri* at embryo and germling stages

Table 1 pH and nutrient quality of culture medium using enriched seawater under 2 v/v% PES addition

pH (—)	$\text{NH}_4\text{-N}$ (mg/L)	$\text{NO}_2\text{-N}$ (mg/L)	$\text{NO}_3\text{-N}$ (mg/L)	D-P (mg/L)	D-Fe ($\mu\text{g/L}$)
8.0	0.25	<0.01	11.8	1.06	550

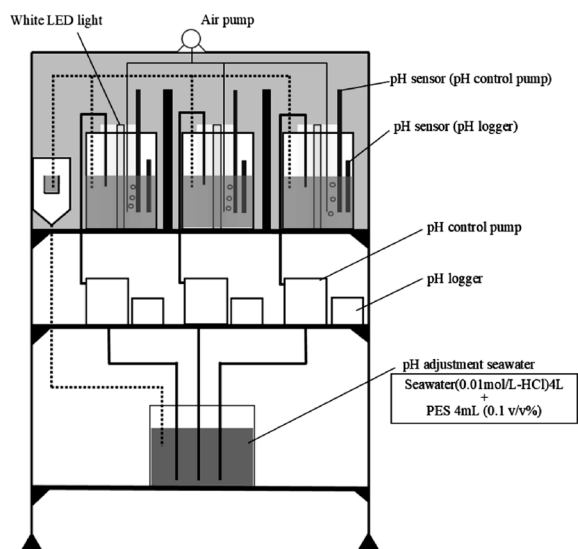


Fig. 3 Experimental apparatus for culturing *Sargassum horneri* at young plant stage

槽に pH を 7.0, 7.5, 8.0 (対照群) の 3 ケースに調整した培地を 3L 投入した。各水槽の pH を pH センサー (IS8-SFP-P, イワキ) によって連続測定するとともに, pH コントローラー付電磁定量ポンプ (EWN-B11VC1JWPO, イワキ) を用いて 0.01 mol/L の塩酸を加えた酸性培地を投入することで各水槽の培地の pH を調整した。さらにサイフォンの原理を応用し, pH 調整用の酸性培地が各水槽内に流入しても水位が一定に保たれる構造とした。培養中はエアポンプを用いて水槽内に常に空気を供給し, 幼体を浮遊攪拌した。吸気は水槽への異物混入を防止するため, メンブレンフィルター (50JP020AN, ADVANTEC) を通して行った。光源として白色 LED (SLED-F30D, 日本グローバル照明) を用い, 水槽の側面から照射し, 光周期を明期 12 時間, 暗期 12 時間, 光量子密度を $75\text{--}100\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ に設定した。前培養で得た 36 個体のアカモク幼体を藻体面積の平均値がほぼ一致するように 3 群に分け, それぞれ 12 個体ずつ pH 7.0, 7.5, 8.0 の各水槽に投入し, 21 日間浮遊培養した ($n=12$ 個体/pH)。水槽の培地は 7 日ごとに全て交換した。本培養は室温を 20°C に設定した室内で実施し, 各水槽の培養水温は 22°C に維持されていた。

2.6 評価方法

2.6.1 生長

アカモクの発芽体段階では, 藻体の投影面積を指標として生長を評価した。培養期間中, カメラユニット (DSL3, ニコン) 付の実体顕微鏡 (SMZ745T, ニコン) を用いて, 藻体を毎日撮影し, 得られた画像から藻体の投影面積を画像解析ソフト (ImageJ, National Institutes of Health) で測定した。藻体の投影面積から作成した生長曲線から対数生長期を決定し, 対数生長期における比生長速度 μ (/day) を (1) 式から算出した (Nagai *et al.*, 2014; Miki *et al.*, 2016a; Miki *et al.*, 2016b; Miki, 2017; 奥村ら, 2018; Okumura *et al.*, 2018)。

$$\mu = \frac{\ln A_2 - \ln A_1}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

ここで, t_1 は対数生長期開始日, t_2 は対数生長期終了日, A_1 , A_2 は培養日数 t_1 , t_2 時の藻体の投影面積である。比生長速度 μ に加えて, 亜慢性的な影響指標として培養最終日の藻体の投影面積を指標として生長への影響を評価した。

アカモクの幼体段階では, 藻体面積の測定が困難となるため, 幼体の湿重量を指標として生長を評価した (Miki *et al.*, 2017)。湿重量基準の生長曲線から対数期を確認し, 対数期における湿重量基準の比生長速度 μ (/day) を (1) 式に準じて算出した。比生長速度 μ に加えて, 亜慢性的な影響指標として培養最終日の幼体の湿重量を指標として生長への影響を評価した。

2.6.2 純光合成速度, 呼吸速度

RUN3 のアカモクの幼体段階では, 土屋らの手法を参考にして酸素電極法によって低 pH による純光合成速度 (NPR: Net photosynthetic rate) と呼吸速度 (DRR: Dark respiratory rate) への影響を検討した。BOD 測定用 DO メーター (B-100BTi, 飯島電子工業) を用い, 海水中の酸素濃度の変化を計測することで純光合成速度と呼吸速度を算出した (土屋ら, 2012; 飯島電子, 2020)。

アカモク幼体は, 測定前に葉状体を仮根から切断して, 各 pH の培地で各葉状体を 1 日事前培養した。アカモク幼体の葉状体 1 個体及び培養に用いた各 pH の培地 100 mL をフラン瓶に入れた。フラン瓶に DO センサーを設定して外部と遮断し, その後酸素濃度を安定させるためにセンサーに付随している攪拌子で培地を攪拌しつつ酸素濃度を計測した。室温を 20°C に設定した暗室内で行った。各 pH の培地条件で 3 回繰り返し実施した。

呼吸速度は暗条件で 10 秒おきに酸素濃度の記録を行い, 10 分間での酸素濃度の変動のグラフを作成した。作成したグラフから最小二乗法を用いて線形近似を行い, その傾きを酸素濃度の変化速度とし, 以下の式 (2) から呼吸速度を算出した。純光合成速度は, 暗室内で白色 LED をフラン瓶に対して下部から照射し 10 分間の酸素濃度の変動を記録し, 同様の手順で酸素濃度の変化速度を算出し, 式 (3) を用いて光合成速度を算出した。光量は $200\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ とした。

$$\begin{aligned} \text{DRR (mgO}_2/\text{g}_{\text{ww}}/\text{min)} &= A(\text{mg/L/min}) \\ &\times \frac{x(\text{mL})}{1000} \times \frac{1}{m(\text{g}_{\text{ww}})} \end{aligned} \quad (2)$$

$$\begin{aligned} \text{NPR (mg/L/min)} &= \text{DRR (mgO}_2/\text{g}_{\text{ww}}/\text{min}) \\ &+ B(\text{mg/L/min}) \times \frac{x(\text{mL})}{1000} \times \frac{1}{m(\text{g}_{\text{ww}})} \end{aligned} \quad (3)$$

ここで A 及び B は暗条件下または明条件下での酸素濃度の変化速度, x (mL) はフラン瓶容量, m (g_{ww}) は藻体湿重量である。

2.6.3 光合成色素量

RUN3 のアカモクの幼体段階では以下の手法によって

光合成色素量を測定した。アカモクの葉状体のみをデザインカッターで切り出し、ペーパータオルで表面の水分を拭き取った後、分析天秤 (CPA224S, Sartorius) を用いて湿重量を計測した。幼体を 90 v/v% アセトン (和光純薬工業) に浸し、超音波洗浄機 (USK-3R, AS ONE) に 20 min かけた後、一晩冷蔵庫で放置した。翌日、冷蔵庫から取り出し、超音波洗浄機に 10 min かけ、分光光度計 (U2910, HITACHI) を用いて抽出液の吸収スペクトルを計測した。セルは光路長 1 cm の石英セルを用いた。アセトン抽出液は波長 335 nm 以下で吸収域があることから、吸光度測定範囲は 340–800 nm とした。褐藻の 90% アセトン抽出物中のクロロフィル *a*, *c* 量は抽出物の吸光度から、以下の式 (4), (5) により換算できることが報告されている (Jeffrey *et al.*, 1975)。本研究においてもクロロフィル量の算出式として当式を用いた。各 pH の培地条件あたり 3 個体を用いて測定し、比較した ($n=3/\text{pH}$ 条件)。

$$\text{Chl } a (\mu\text{g/mL}) = 11.47 A_{664} - 0.40 A_{630} \quad (4)$$

$$\text{Chl } c_1 + c_2 (\mu\text{g/mL}) = 24.36 A_{630} - 3.73 A_{664} \quad (5)$$

また藻体乾燥重量当たりの光合成色素含有量で評価するため、これらの式によって得られた値を以下の式 (6) を用いて変換した。各 pH 条件の個体を凍結乾燥させ、乾燥前と乾燥後の重量から各 pH 条件の藻体の含水率を算出し、3 個体の平均値をアカモクの含水率として、抽出前の藻体の乾燥重量を求めた。

$$\begin{aligned} \text{Pigment} (\mu\text{g/g}_{\text{dw}}) &= \text{Pigment} (\mu\text{g/mL}) \\ &\times \frac{x(\text{mL})/c_{\text{solvent}} (-)}{m(\text{g}_{\text{dw}})} \end{aligned} \quad (6)$$

ここで $x(\text{mL})$ は抽出溶媒量、 $c_{\text{solvent}} (-)$ は抽出溶媒中の有機溶媒の濃度、 $m(\text{g}_{\text{dw}})$ は藻体乾燥重量である。

2.6.4 統計解析

各生長段階における海水 pH 低下による影響について、各群と対照群 ($\text{pH}=8$) の平均値の有意差を検討した。幼胚～発芽体段階の実験ではダネット (Dunnett) の方法に従い多重比較検定を行った。幼体段階では、実験開始時の 3 群の幼体面積の分散と平均値がほぼ均一であることをバートレット検定 (Bartlett test) と一元配置分散分析 (one-way ANOVA) によって確認した後、培養実験を実施し、ダネットの方法に従い多重比較検定を行った (有意水準 $p=0.05$ および 0.01)。統計計算にはエクセル統計 (BellCurve) を使用した。

3. 結果

3.1 アカモク幼胚への低 pH 海水の暴露の影響 (RUN1)

3.1.1 発芽

RUN1-1–RUN1-3 における各幼胚の発芽結果を Table 2 に示す。なお、幼胚を暴露した低 pH 海水の pH 値は、暴露期間中はほぼ一定であった。

pH が 1.0–3.0 の低 pH の海水に 1 日暴露した 12 個体の幼胚は、 $\text{pH}=8.0$ の海水の条件に戻して培養しても 12 個体全てが発芽せず死滅していた (発芽率: 0%)。pH が 4.0 の低 pH 海水に 1 日暴露した幼胚は 8 個体が死滅していたが、4 個体が発芽した (発芽率: 33%)。一方、pH が 5.0–7.5 の低 pH 海水に 1 日暴露した幼胚は、12 個体全てが発芽した (発芽率: 100%)。pH が 6.0–7.5 の低 pH 海水の場合、5 日間暴露しても 12 個体全てが発芽した (発芽率: 100%)。

これらの結果から、以下のことが明らかになった。アカモク幼胚は pH が 1.0–3.0 の低 pH 海水に 1 日暴露されると致命的な影響を受け、 $\text{pH}=8.0$ の海水に戻しても発芽が不可能となる。一方、アカモク幼胚は pH が 6.0–7.5 程度の低 pH 海水であれば、5 日程度一時的に暴露されたとしても、通常の $\text{pH}=8.0$ の海水に戻すと発芽に障害は生じない。pH=4.0 程度が発芽への悪影響の分岐点となる。

3.1.2 生長

低 pH の海水に暴露後、生存したアカモク幼胚を $\text{pH}=8.0$ の培地に戻して 21 日間培養し、その生長曲線から低 pH 海水への暴露による生長への影響を評価した。RUN1-1–RUN1-3 における各幼胚の生長曲線を Fig. 4 に示す。

RUN1-1 において、 $\text{pH}=4.0$ の海水に暴露後死滅しなかった 4 個体は、Fig. 4A に示すように対数生長の開始時期の遅延がやや認められたが、途中で死滅することなく生長した。pH が 5.0 の海水に暴露後の 12 個体も、全て死滅することなく生長した。比生長速度 μ を暴露時の $\text{pH}=4.0$, $\text{pH}=5.0$ と $\text{pH}=8.0$ (対照群) で比較すると、各々、 0.34 ± 0.05 , 0.37 ± 0.02 , $0.36 \pm 0.03/\text{day}$ であり有意差は確認されなかった ($p>0.05$)。一方、21 日後の培養最終日の藻体面積は、 $\text{pH}=4.0$, $\text{pH}=5.0$, $\text{pH}=8.0$ (対照群) の順に 14 ± 4.4 , 21 ± 4.0 , $20 \pm 4.1 \text{ mm}^2$ となり、 $\text{pH}=8.0$ (対照群) と $\text{pH}=4.0$ の間での有意差が生じた ($p<0.05$)。これらの結果から、アカモク幼胚は pH が 4.0 程度の海水への一時的な暴露でも死滅することなく発芽・生長できるものもあるが、その後の生長に対して慢性的な影響が残る可能性が示唆された。pH が 5.0 程度の海水への 1 日程度の暴露では、幼胚への発芽ばかりでなく生長への阻

Table 2 Germination number of 12 embryos exposed to various low pH seawaters

pH (–)	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0
RUN1-1	0/12	0/12	0/12	4/12	12/12	—	—	—	—	12/12
RUN1-2	—	—	—	—	—	12/12	12/12	12/12	12/12	12/12
RUN1-3	—	—	—	—	—	12/12	12/12	12/12	12/12	12/12

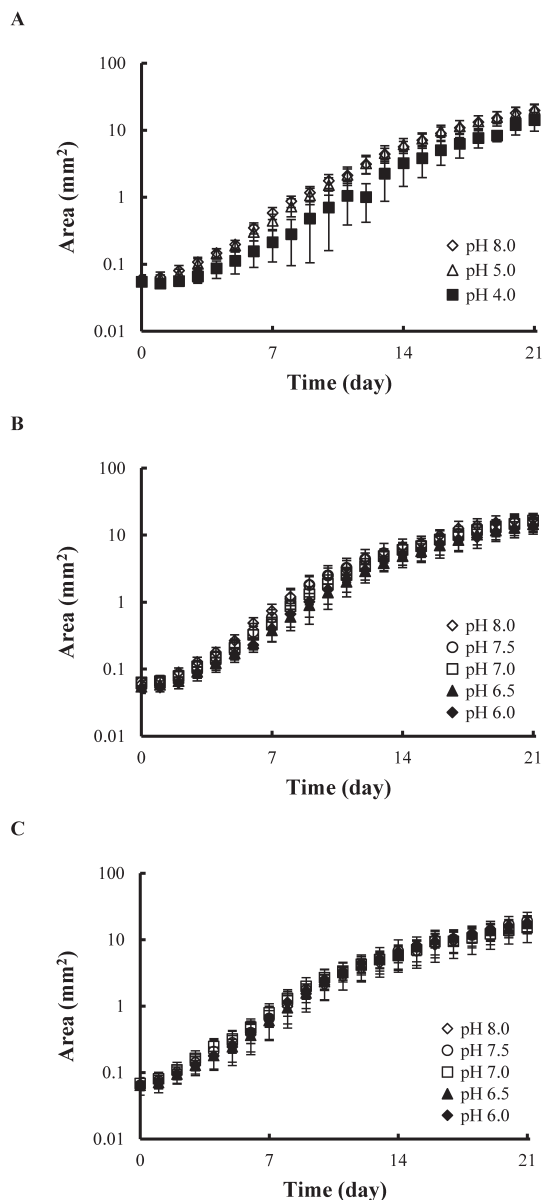


Fig. 4 Growth curves of *Sargassum horneri* using embryos exposed to various low pH seawaters (A: RUN1-1, B: RUN1-2 and C: RUN1-3). Values are presented as mean \pm SD. There were 12 replicates for each pH seawater, except for pH=4.0 (four replicates) in RUN1-1

害も認められなかった。

さらに、RUN1-2, 1-3において pH=6.0–7.5 の海水に1–5日程度暴露した12個体の幼胚の場合、Fig. 4B, Fig. 4Cに示すように12個体全てが死滅することなく生長した。アカモク幼胚は、pHが6.0–7.5程度の低pH海水であれば、5日間程度暴露されたとしても、生長曲線の差異が極めて小さく、低pH海水に暴露された幼胚とpH=8.0（対照群）の幼胚の間で比生長速度、培養最終日の藻体面積ともに有意差は認められなかった ($p>0.05$)。

このようにアカモク幼胚は、pHが6.0–7.5程度の低pH海水に5日間程度暴露されたとしても、その後の発芽や生長に対する阻害がほとんど残存しないことが確認された。

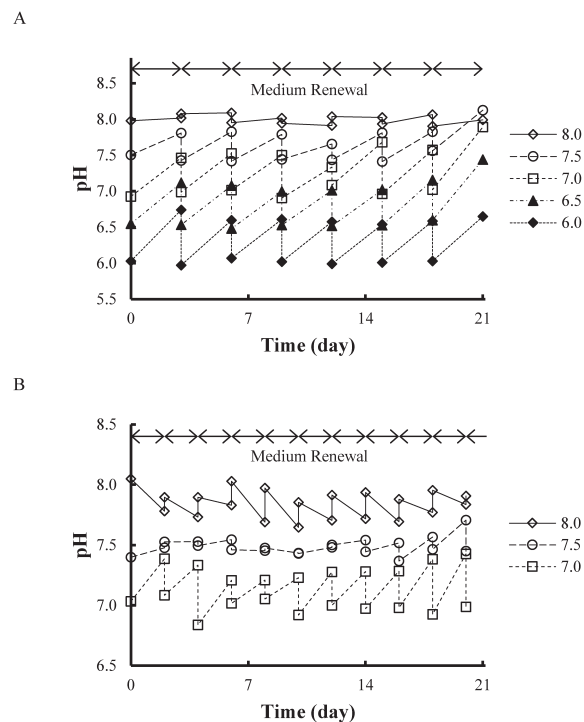


Fig. 5 Time courses changes of pH values in various pH cultures (A: RUN2-1, and B: RUN2-2)

3.2 アカモク発芽体に対する海水 pH 低下の影響 (RUN2)

3.2.1 培地の pH 変動

RUN2-1, RUN2-2における各培地のpH変動をFig. 5に示す。本実験では培地のpHを制御目標値に維持することが難しく、3日 (RUN2-1) または2日 (RUN2-2) ごとに培地を交換することによって設定目標のpHに再調整した。RUN2-1では設定pHが6.0, 6.5, 7.0, 7.5の場合、実測pHは6.0–6.6, 6.5–7.4, 7.0–7.9, 7.5–8.0で推移した。また、RUN2-2では設定pHが7.0, 7.5の場合、実測pHは6.8–7.4, 7.4–7.7で推移した。

3.2.2 生長 (RUN2-1)

Fig. 6Aに各設定pHでの発芽体の生長曲線、Fig. 6Bに21日後の培養最終日の発芽体を示す。設定pHが6.5, 7.0の条件においては12個体、設定pHが6.0, 7.5, 8.0（対照群）の条件においては11個体が生長した。また、発芽体は設定pHが6.0の培養を除いてほぼ同様の生長曲線を示した。設定pHが6.0の培養では、培養開始6日目以降になると他の設定pH条件よりも生長速度が低下した。Fig. 7に各設定pHでの比生長速度および最終到達面積を示す。比生長速度 μ は、設定pH=6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0（対照群）で各々 0.28 ± 0.05 , 0.32 ± 0.05 , 0.34 ± 0.04 , 0.34 ± 0.03 , 0.35 ± 0.02 /dayであり、設定pH=6.0のみ、対照群との間に有意差が確認された ($p<0.01$)。また、最終到達面積は、pH=6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0（対照群）で各々 5.2 ± 1.8 , 11 ± 5.7 , 13 ± 4.3 , 13 ± 3.0 , 11 ± 2.1 mm² となり設定pH=6.0のみ対照群との間に有意差が確認された ($p<0.01$)。

以上のように、アカモク発芽体は培養海水の設定pH

が6.0 (実測 pH: 6.0–6.6) まで低下すると死滅には至らないものの、比生長速度、最終到達面積がともに有意に低下し、各々の指標に対する生長阻害率は、20%、53% 程度であった。アカモク発芽体は培養時の海水の設定 pH が6.5 (実測 pH: 6.5–7.4) から7.5 (実測 pH: 7.5–8.0) の低 pH 条件下で生長阻害は生じなかった。

3.2.3 生長 (RUN2-2)

Fig. 8 に CO₂ を用いて低 pH を調整した場合の発芽体の生長曲線を示す。設定 pH が7.0, 7.5 においては12 個体、設定 pH が8.0 (対照群) においては10 個体が生長し、いずれの条件でもほぼ同様の生長曲線を示した。Fig. 9 に各設定 pH での比生長速度および最終到達

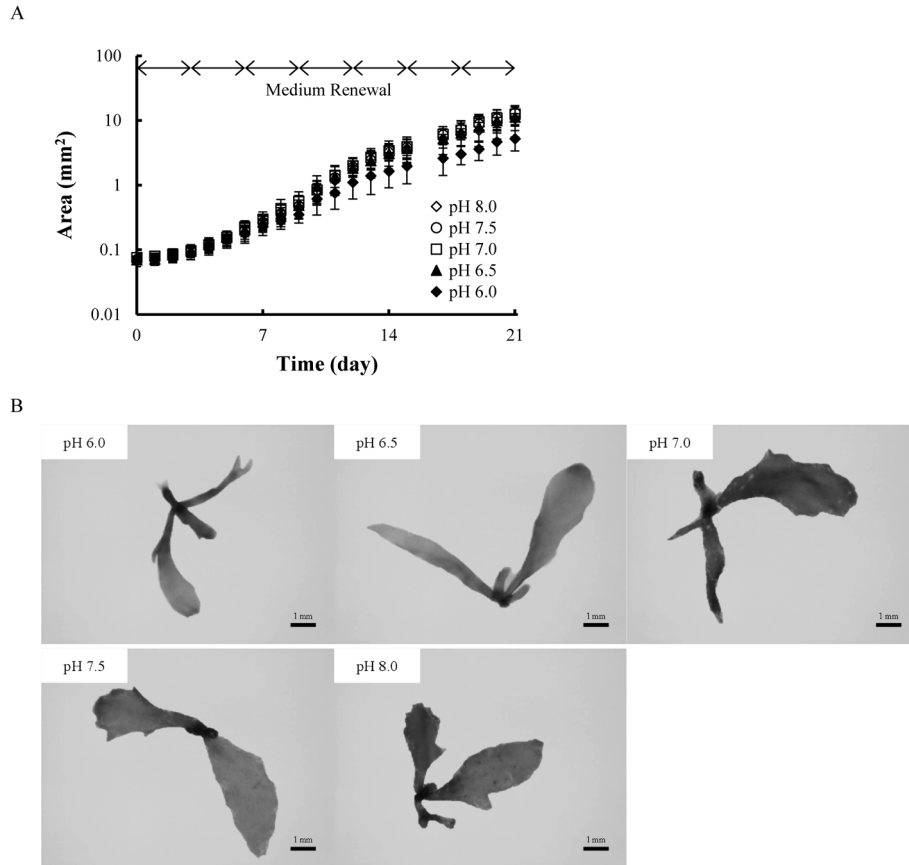


Fig. 6 Growth curves of *Sargassum horneri* cultured for 21 days in various pH cultures (A). Values are presented as mean \pm SD. There were 11 replicates for pH=6.0, 7.5 and 8.0 culture. There were 12 replicates for pH=6.5, 7.0 culture. Contrast of the final thalli of *Sargassum horneri* cultured for 21 days in various pH cultures (B). Scale bar=1 mm

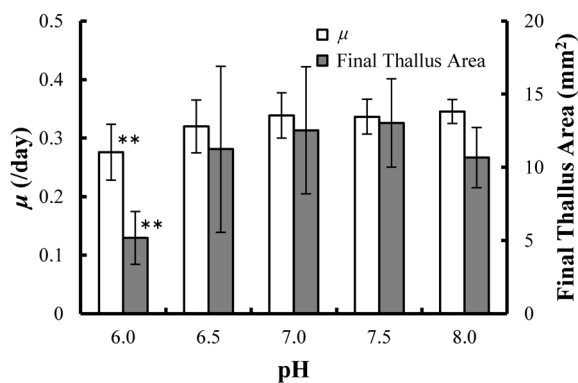


Fig. 7 Contrast of specific growth rate (white bar) and final thallus area (gray bar) of *Sargassum horneri* cultured for 21 days in various pH cultures. Values are presented as mean \pm SD. Double asterisk (**) denotes significant difference from control ($p < 0.01$). There were 11 replicates for pH=6.0, 7.5 and 8.0 culture. There were 12 replicates for pH=6.5, 7.0 culture

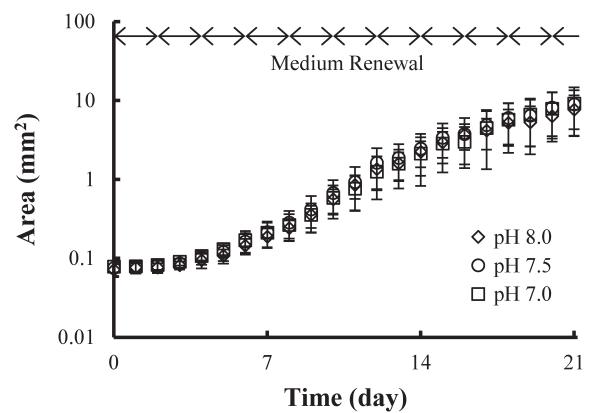


Fig. 8 Growth curves of *Sargassum horneri* cultured for 21 days in various pH cultures. Values are presented as mean \pm SD. There were 12, 12, and 10 replicates respectively for pH=7.0, 7.5 and 8.0 culture in RUN2-2

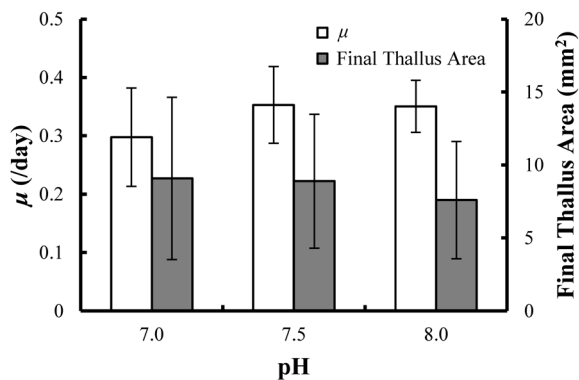


Fig. 9 Contrast of specific growth rate (white bar) and final thallus area (gray bar) of *Sargassum horneri* cultured in various pH cultures. Values are presented as mean ± SD. There were 12 replicates for pH=7.0 and 7.5 culture. There were 10 replicates for pH=8.0 culture

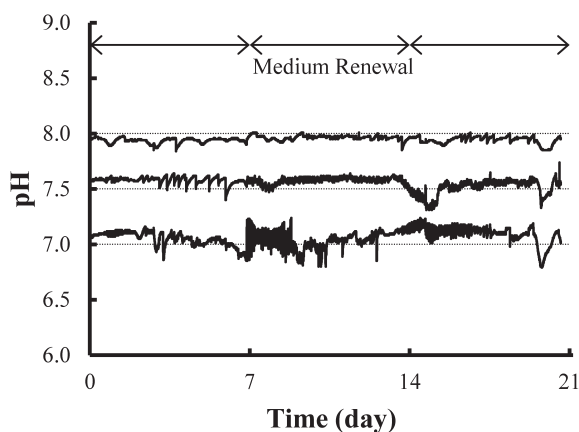


Fig. 10 Time courses changes of pH values in three pH cultures for RUN3

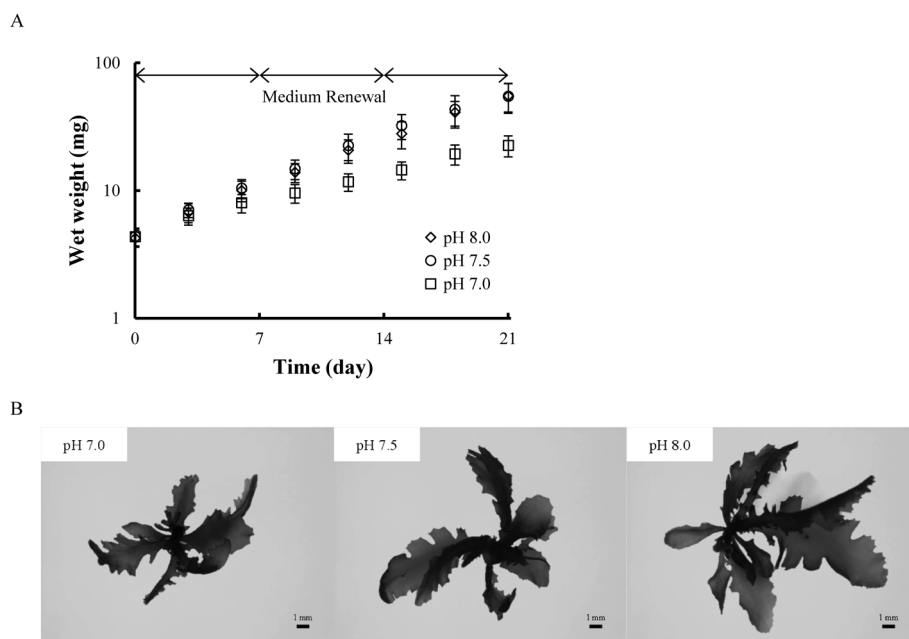


Fig. 11 Growth curves of *Sargassum horneri* cultured for 21 days in three pH cultures (A). Values are presented as mean ± SD. There were 12 replicates for pH=7.0, 7.5 and 8.0 culture in RUN3. Contrast of the final thalli of *Sargassum horneri* cultured for 21 days in various pH cultures (B). Scale bar=1 mm

面積を示す。比生長速度 μ は、設定 pH=7.0, 7.5, 8.0 (対照群) で各々 0.30 ± 0.08 , 0.35 ± 0.07 , $0.35 \pm 0.04/\text{day}$ であり、低 pH 群と対照群の間に有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。また、最終到達面積は、設定 pH=7.0, 7.5, 8.0 (対照群) で各々 9.1 ± 5.6 , 8.9 ± 4.6 , $7.6 \pm 4.0 \text{ mm}^2$ であり低 pH 群と対照群の間に有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。

以上のように、アカモク発芽体は、海水に CO_2 を溶解させ培養海水の設定 pH を 7.0 まで低下させても、HCl を用いて pH を調整した場合と同様に、海水 pH 低下による生長阻害は生じなかった。また、培養海水への CO_2 溶解によるアカモク発芽体の生長促進は確認されなかった。

3.3 アカモク幼体に対する海水 pH 低下の影響 (RUN3)

3.3.1 培地の pH 変動

RUN3 における培地の pH の経時変化を Fig. 10 に示す。設定 pH が 7.0, 7.5, 8.0 に対して、実測 pH は各々 6.8–7.2, 7.3–7.7, 7.8–8.0 に維持されており大幅な変動も見られなかった。また、培地は 7 日ごとに全量交換したため、培養期間中に培地の汚濁は観察されなかった。

3.3.2 生長

Fig. 11A に各設定 pH でのアカモク幼体の生長曲線、Fig. 11B に 21 日後の培養最終日の幼体を示す。設定 pH が 7.0, 7.5, 8.0 (対照群) において、藻体の死滅は見られず、12 個体すべてが生長した。しかし、生長曲線は設定 pH が 7.0 の条件と設定 pH が 7.5, 8.0 の条件間で明確な差異が生じた。また設定 pH 7.0 の低 pH 条件と設定 pH が 7.5, 8.0 の条件間では、湿重量ばかりでなく葉数の低下も生じた。

Fig. 12 に各設定 pH での比生長速度および最終到達

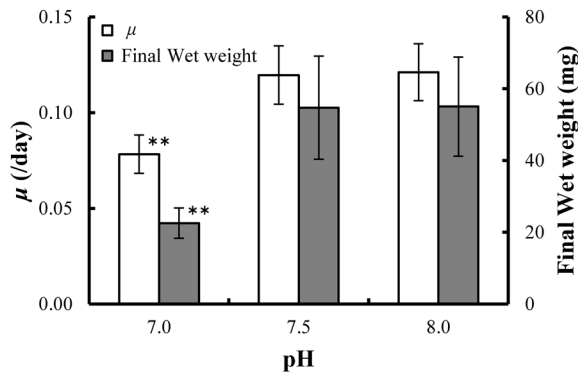


Fig. 12 Contrast of specific growth rate (white bar) and final wet weight (gray bar) of *Sargassum horneri* cultured for 21 days in three pH cultures. Values are presented as mean \pm SD. Double asterisk (**) denotes significant difference from control ($p < 0.01$). There were 12 replicates for each treatment

湿重量を示す。比生長速度 μ は、pH=7.0, 7.5, 8.0 (対照群)で各々 0.08 ± 0.01 , 0.12 ± 0.02 , $0.12 \pm 0.01/\text{day}$ であり、pH=7.0の低 pH 系のみ対照群との間に有意差が確認された ($p < 0.01$)。また、最終到達重量は、pH=7.0, 7.5, 8.0 (対照群)で各々 23 ± 4.2 , 55 ± 14 , $55 \pm 14 \text{ mg}$ となり pH=7.0の低 pH 系のみ対照群との間に有意差が確認された ($p < 0.01$)。各指標に対する生長阻害率は各々 33%, 58% となった。

以上のように、アカモク幼体は、培養海水の設定 pH を 7.0 に低下させると生長阻害が明確に観察され、比生長速度、最終到達重量ともに低下した。幼胚や発芽体と比較し、幼体では低 pH 海水に対する耐性が低下したことから、アカモクの生長に伴って低 pH 耐性が変化することが推定される。

3.3.3 純光合成速度と呼吸速度

湿重量基準の純光合成速度と呼吸速度を Fig. 13A に示す。湿重量基準の純光合成速度は、設定 pH が 7.0, 7.5, 8.0 (対照群)で各々 0.0046 ± 0.005 , 0.0042 ± 0.008 , $0.0044 \pm 0.011 \text{ mg-O}_2/\text{min/g}_{\text{ww}}$ であり、低 pH 群と対照群との間に有意差は確認されなかった ($p > 0.05$)。また、湿重量基準の呼吸速度も、設定 pH が 7.0, 7.5, 8.0 (対照群)で各々 0.006 ± 0.003 , 0.007 ± 0.002 , $0.014 \pm 0.007 \text{ mg-O}_2/\text{min/g}_{\text{ww}}$ となり、低 pH 群と対照群との間に有意差が確認されなかった ($p > 0.05$)。

さらに、クロロフィル *a* 量あたりの純光合成速度と呼吸速度を Fig. 13B に示す。クロロフィル *a* 量あたりの純光合成速度は、設定 pH が 7.0, 7.5, 8.0 (対照群)で各々 56 ± 9.6 , 67 ± 11 , $59 \pm 13 \text{ mg-O}_2/\text{min/g-chl. } a$ であり、低 pH 群と対照群との間に有意差は確認されなかった ($p > 0.05$)。また、クロロフィル *a* 量あたりの呼吸速度も、設定 pH が 7.0, 7.5, 8.0 (対照群)で各々 7.5 ± 3.9 , 11 ± 3.8 , $19 \pm 8.1 \text{ mg-O}_2/\text{min/g-chl. } a$ となり低 pH 群と対照群との間に有意差は確認されなかった ($p > 0.05$)。

本実験におけるアカモクの光合成速度の値は実海域でのアカモクの文献値と同程度であったが (Mikami *et*

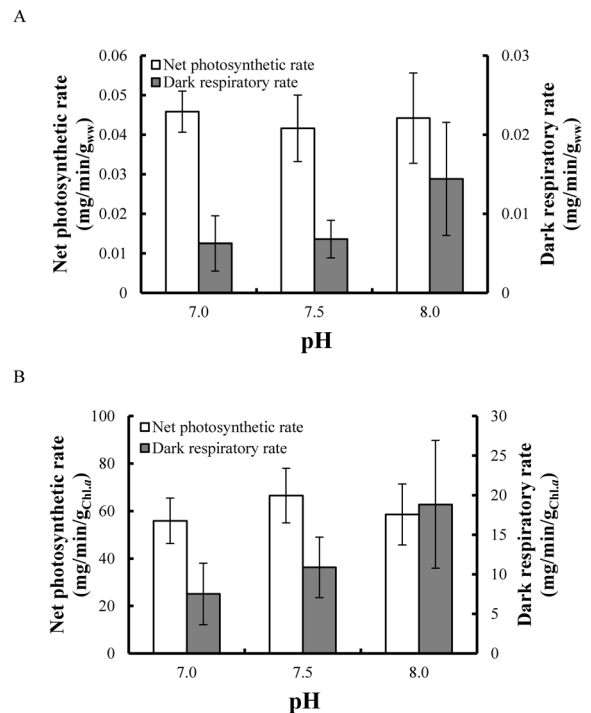


Fig. 13 Contrast of net photosynthetic rate (white bar) and dark respiratory rate (gray bar) of *Sargassum horneri* cultured for 21 days in three pH cultures (A: values based on wet weight of thalli; B: values based on chl. *a*). Values are presented as mean \pm SD. There were three replicates for each pH

al., 2006)、海水 pH 低下による光合成速度及び呼吸速度への影響は有意差が認められず、生長速度低下の要因としての確認はできなかった。

4. 考察

大型海藻の複数の初期生長段階を対象として海水 pH 低下の影響を詳細に検討した事例はこれまでにほとんど見られない。本研究では褐藻アカモクを対象として、幼胚、幼胚からの発芽段階、幼体段階の3段階に分けて海水の pH 低下による影響を評価した。

アカモク幼胚は、pH が 5.0–7.5 程度の低 pH 海水に 1 日暴露しても、発芽に対する阻害は生じなかった。アカモク冷蔵幼胚の発芽率に及ぼす低 pH の影響に関する先行報告事例では、アカモク幼胚の発芽能は pH が 7 程度までは維持されるものの pH が 6 以下では失われるとされている (西垣ら, 2016)。この研究事例と今回の実験とは結果がやや異なっている。これは先行研究では培養液に多くの幼胚を用い、培養液の腐敗に伴う pH 低下による発芽への影響が評価されており、pH 低下に加えて腐敗による影響が複合的に生じていることが推察される。今回の研究は、滅菌済みの低 pH 海水を用いるとともに実験に使用した培養液あたりの幼胚数も少なかったため、腐敗が生じず、このような差異が生じたと思われる。また、今回の実験結果から、アカモク幼胚を低 pH の滅菌海水を用いて冷蔵保存すると、腐敗の進行を抑制でき、従来よりも長期の保管ができる可能性も考えられる。

幼胚から発芽段階のアカモクは、海水の pH が 6.0–6.6 程度まで低下すると死滅こそなかったものの有意に生長が低下した。さらに、幼体段階のアカモクでは、海水の pH が 7.5 では生長阻害は見られなかったものの、pH が 7.0 に低下すると有意に生長が低下した。このように今回の研究において、アカモクの初期生長段階によって海水の pH 低下の影響が異なり、生長が進むにつれて pH 低下の影響を強く受けやすくなるということが示された。さらに、海水の pH が 7.5 程度の低下であればアカモクの初期生長の各段階において生長阻害がほとんど生じないことも明らかになった。しかし、今回の研究では海水の pH 低下による各生長段階での影響や影響度が異なる機構については確認できなかった。一つの要因として pH 低下によって海水中の無機炭素の形態割合が生長に影響している可能性が推定される。海水に溶解している無機炭素の形態は、pH、塩分の影響により大きく変動するが、pH が 8.0、塩分が 35‰ の通常の海水では約 90% が HCO_3^- の形態であり、このため多くの海藻は HCO_3^- を無機炭素源として活用できるとされている (Hurd *et al.*, 2014)。一方、pH が低下すると HCO_3^- の割合も低下し、pH が 6.0 まで低下すると塩分が 35‰ の海水で HCO_3^- の割合は 50% 程度まで低下する。幼胚から藻体が小さい発芽段階のアカモクでは、無機炭素源としての HCO_3^- の必要量が小さいため、生長への影響も小さいが、藻体が大型化するにつれ海水中の HCO_3^- 濃度による影響が強くなり生じはじめ、この結果、アカモクは生長が進むにつれて pH 低下の影響を強く受けたことなどが推定される。

一方で、今回の実験では、海水 pH 低下による幼体段階のアカモクの純光合成速度、呼吸速度の低下を明確に確認できなかった。この要因としては、測定回数が 3 と少なくバラつきが大きかった点やアカモクの純光合成速度、呼吸速度を各海水の pH を 7.0, 7.5, 8.0 に調整した後、無曝気で繰り返し実施・測定したため、実験中に海水中の無機炭素量に変動していた可能性も考えられる。低 pH 環境で長期培養した藻体の純光合成速度、呼吸速度を評価する場合には、海水の pH を 8.0 とし無機炭素量も確認、統一して評価すべきであったかもしれない。今後、pH 低下によるアカモクの各生長段階での影響の機構については、評価試験方法も含めて更なる検討を行う予定である。

また、これまでに CO_2 濃度の増加に伴う海洋酸性化による海藻への影響に関するさまざまな研究事例が報告されている。例えば、同じ褐藻であるジャイアントケルプ (*Macrocystis pyrifera*) 成体の葉状体は、高 CO_2 、pH が 7.59 の環境下で酸性化の影響を受けないことが報告されており (Fernández *et al.*, 2015)、今回のアカモク発芽体でも類似の結果が得られた。一方で、紅藻の *Porphyra yezoensis* は海水中の CO_2 濃度の増加により生長が促進されるのに対し (Gao *et al.*, 1991)、緑藻の *Gracilaria tenuistipitata* では生長速度を低下させることなども報告されている (García-Sánchez *et al.*, 1994)。 CO_2 濃度の増加に伴う海洋酸性化による海藻への影響につい

ては種類によってかなり差異がありアカモクについても不明な点が多く残されている。今回の研究ではアカモクに対する CO_2 を含めた海水 pH 低下の影響の検討は発芽体を対象とした範囲にとどまっており、 CO_2 を含めた海水 pH 低下によるアカモクに対する影響に関して結論づけることは難しい。 CO_2 を含めた影響については、アカモク発芽体のみならず幼体や成体に対してより詳細な検討が必要と思われる。

さらに、環境影響評価の指標海産生物としてアカモクの幼胚や発芽体を用いて排水などによる沿岸環境影響評価を行う際には、化学物質の影響と分離して海水 pH や塩分による影響を事前に把握しておく必要がある。例えば、アンモニアや硫化水素は、海水の pH 上昇によって毒性の強い非イオン態の割合が増加しその毒性が強まることは広く知られている (水産用水基準, 2005; 西村, 2005)。したがって、アカモクのような海産生物を用いて排水中の化学物質による影響を評価する際には、pH 変動による海産生物への影響を他の環境要因と分離して事前に基礎データを収集しておく必要がある。今回の研究において、アカモク発芽体を用いた環境影響評価であれば、排水の pH が 7–8 程度である場合には、低 pH による初期生長への影響はほぼ無視できることが明らかになった。今回の実験で得られたこのようなデータはアカモク発芽体を用いたバイオアッセイ時の重要な知見として活用できると考えられる。今後、引き続き、pH と塩分の複合影響などについて検討を継続する予定である。

5. まとめ

褐藻アカモクは、食材としての活用ばかりでなく、沿岸域の環境保全・生態系維持、 CO_2 固定、環境影響評価の指標海産生物としての利用など、多くの視点から近年注目されている。本研究では、アカモク幼胚を対象とし、複数の初期生長段階を対象として海水 pH 低下の影響を検討し、以下の知見を得た。

- 1) アカモク幼胚を低 pH 海水 (設定 pH: 1.0–7.5) に 1–5 日間暴露し pH 耐性を評価した。アカモク幼胚は pH が 1.0–3.0 の低 pH 海水に 1 日暴露されると致命的な阻害を受け、pH=8.0 の海水に戻しても発芽が不可能であった。pH=4.0 の低 pH 海水では発芽率の低下や生長に対する慢性的な影響が確認された。一方、pH が 6.0–7.5 の低 pH 海水であれば、5 日間程度暴露されたとしても、発芽ばかりでなく生長に対する阻害も生じなかった。
- 2) アカモク発芽体を低 pH 海水 (設定 pH: 6.0–7.5) の条件で 21 日間培養し生長への影響を評価した。発芽段階のアカモクは死滅のような致命的な影響を受けなかったが、海水の pH が 6.0–6.6 まで低下すると有意に生長が低下した。
- 3) アカモク幼体を低 pH 海水 (設定 pH: 7.0, 7.5) の条件で 21 日間培養し生長への影響を評価した。幼体段階のアカモクでは、海水の pH が 7.5 では生長阻

害は見られなかったが、pH が7.0 の場合有意に生長が低下した。

今回の実験結果から、アカモクは各初期生長段階において、海水の pH 低下に対してかなりの耐性があること、また、アカモクは生長段階によって海水の pH 低下による影響が異なり、生長が進むにつれて海水の pH 低下による阻害を受けやすくなることが明らかになった。今回得られたアカモクの初期生長に対する海水の pH 低下による影響に関する知見は沿岸域でのアカモクの増養殖促進やアカモクを用いた環境影響評価の基礎的データとして活用できると考えられる。アカモクの各生長段階における低 pH 海水の影響の機構説明や CO₂ を含めた低 pH 海水の影響評価が今後の主要な課題である。

謝 辞

本研究の一部は住友財団環境研究助成および JSPS 科研費 (JP18K04406) の助成を得て実施したものである。深く感謝申し上げます。

参考文献

秋本恒基, 松井繁明, 中本崇, 濱田弘之, 2010. アカモク *Sargassum horneri* の生長試験. 福岡水海技セ研報, 20, 67-72.

馬場将輔, 2007. ホンダワラ類 8 種の初期成長に及ぼす温度と光量の影響. 海生研報, 10, 9-20.

Choi, H. G., Lee, K. H., Yoo, H. L., Kang, P. J., Kim, Y. S. & K. W. Nam, 2008. Physiological differences in the growth of *Sargassum horneri* between the germling and adult stages. J. Appl. Phycol., 20(5), 729-735.

Fernández, P. A., Roleda, M. Y. & C. L. Hurd, 2015. Effects of ocean acidification on the photosynthetic performance, carbonic anhydrase activity and growth of the giant kelp *Macrocystis pyrifera*. Photosynth. Res., 124(3), 293-304.

藤井智康, 駒井幸雄, 藤原建紀, 横井貴範, 2010. 港湾等の強閉鎖性海域の貧酸素水塊の発生機構と動態. 土木学会論文集 B2 (海岸工学), 66, 1046-1050.

深美拓也, 三木理, 奥村真子, 2017. アカモクの生長に対する海水 pH の影響評価. 第 51 回日本水環境学会年會要旨集.

深美拓也, 三木理, 奥村真子, 2018. 褐藻アカモクの初期生長に対する海水 pH の影響. 第 52 回日本水環境学会年會要旨集.

Gao, K., Aruga, Y., Asada, K., Ishihara, T., Akano, T. & M. Kiyohara, 1991. Enhanced growth of the red alga *Porphyra yezoensis* Ueda in high CO₂ concentrations. J. Appl. Phycol., 3(4), 355-362.

García-Sánchez, M. J., Fernández, J. A. & X. Niell, 1994. Effect of inorganic carbon supply on the photosynthetic physiology of *Gracilaria tenuistipitata*. Planta, 194, 55-61.

Hurd, C. L., Harrison, P. J., Bischof, K. & C. S. Lobban, 2014. Seaweed Ecology and Physiology, 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 202-205.

飯島電子工業株式会社, ポーラロ式酸素センサー, 測定原理, (参照 2020-7-31) https://www.ijima-e.co.jp/knowledge/measurement_principle_2.html.

池森貴彦, 2012. 能登の美味しい海藻. 珠洲, 珠洲商工会議

所, 11 pp.

Ishizu, M., Miyazawa, Y., Tsunoda, T. & T. Ono, 2019. Long-term trends in pH in Japanese coastal waters. Biogeosciences, 16(24), 4747-4763.

伊藤龍星, 2012. アカモク, 渡邊信編, 藻類ハンドブック. 東京, エヌ・ティー・エス, pp. 605-607.

Jeffrey, S. W. & G. F. Humphry, 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. Biochem. Physiol. Pflanz., 167(2), 191-194.

金沢和樹, 2012. 生体内で有効な機能を発揮する褐藻カロテノイドのフコキサンチン. 日本食品科学光学会誌, 59, 49-55.

Kumar, A., Abdelgawad, H., Castellano, I., Selim, S., Beemster, G. T. S., Asard, H., Buia, M. C. & A. Palumbo, 2018. Effects of ocean acidification on the levels of primary and secondary metabolites in the brown macroalga *Sargassum vulgare* at different time scales. Sci. Total Environ., 643, 946-956.

京都府立海洋センター, 2005. 季報第 83 号ホンダワラの種苗生産と海面養殖 (参照 2020-06-12) <http://www.pref.kyoto.jp/kaiyo2/kiho83-top.html>

京都府立海洋センター, 2009. 季報第 96 号ホンダワラ類の増殖, (参照 2020-06-12) <https://www.pref.kyoto.jp/kaiyo/documents/1240388436424.pdf>.

京都府農林水産技術センター海洋センター, 2016. 季報第 109 号 海藻アカモクの養殖技術, (参照 2020-06-15) <https://www.pref.kyoto.jp/kaiyo/documents/kiho109-3.pdf>.

Mikami, A., Komatsu, T., Aoki, M. & Y. Yokohara, 2006. Seasonal changes in growth and photosynthesis-light curves of *Sargassum horneri* (Fuciales, Phaeophyta) in Oura Bay on the Pacific coast of central Honshu, Japan. Mer (Paris), 44, 109-118.

Miki, O., Nagai, T., Marzuki, M., Okumura, C., Kosugi, C. & T. Kato, 2016a. Effects of Fe fertilizer eluate on the growth of *Sargassum horneri* at the germling and immature stages. J. Appl. Phycol., 28(3), 1775-1782.

Miki, O., Okumura, C., Tuji, K. & M. Takami, 2016b. Effects of preservation period of fertilized eggs and high concentrations of nitrogen in nutrient sources on germling growth of *Sargassum horneri*. J. Appl. Phycol., 28(5), 2883-2890.

Miki, O., Okumura, C., Marzuki, M., Tujimura, Y., Fujii, T., Kosugi, C. & T. Kato, 2017. Contrasting effects of blue and red LED irradiances on the growth of *Sargassum horneri* during the germling and immature stages. J. Appl. Phycol., 29(3), 1461-1469.

宮下和夫, 細川雅史, 2010. これからの脂質栄養と機能性食品の開発—海藻の恵みとその利用—, J. Lipid Nutr., 19, 39-45.

宮下和夫, 2012. 海藻の生理活性カロテノイド, 渡邊信編, 藻類ハンドブック, 東京, エヌ・ティー・エス, pp. 699-708.

Nagai, T., Miki, O. & C. Okumura, 2014. Effects of chelated iron on the growth of Sargassaceae species at the germling and immature stages. J. Water Environ. Technol., 12(3), 285-294.

NHK ミクロワールド, 2020. 海中に森をつくるアカモク, (参照 2020-06-20) https://www.nhk.or.jp/rika/micro/?das_id=D0005100102_00000.

西垣友和, 道家章生, 2016. アカモク冷蔵幼胚の発芽率に及ぼす保存密度および保存後の温度馴到の影響 (短報).

- 京都府農林水産技術センター海洋センター研究報告, 38, 19-20.
- 日本水産資源保護協会, 1992. 6. ホンダワラ類. 環境が海藻類に及ぼす影響を判断するための「判断基準」と事例, pp. 48-86.
- 西村修, 2005. アンモニアの毒性. 大垣眞一郎監修, 河川と栄養塩類 管理に向けての提言. 東京, 技報堂出版, pp. 8.
- 小河久朗, 1985. 海藻の初期発生におよぼす温度と塩分濃度の影響 II. アカモクの仮根形成. 藻類, 34, 137-141.
- Okumura, C., Miki, O., Sakamoto, Y. & T. Fukami, 2018. Toxicological study for phenol using germling growth of the brown macroalga, *Sargassum horneri*. J. Appl. Phycol., 23(3), 2083-2090.
- 奥村真子, 三木理, 上野聡浩, 小杉知佳, 吉村航, 加藤敏朗, 2018. ワカメ胞子体の色落ち現象に対する鉄欠乏の影響. 海洋理工学会誌, 24, 25-33.
- Pang, S. J., Liu, F., Shan, T. F., Gao, S. Q. & Z. H. Zhang, 2009. Cultivation of the brown alga *Sargassum horneri*: sexual reproduction and seedling production in tank culture under reduced solar irradiance in ambient temperature. J. Appl. Phycol., 21(4), 413-422.
- Provasoli, L., 1968. Media and prospects for the cultivation of marine algae. In: Watanabe A, Hattori A (eds) Cultures and collections of algae. Proc. U.S.-Japan Conf. Hakone, Japan, September 1966. Publ. by Japanese Society of Plant Physiology, Tokyo, 63-75.
- 瀬田智文, 2018. 発生段階別に冷蔵保存したアカモク幼胚の発芽率. 京都府農林水産技術センター海洋センター報告, 40, 1-4.
- 下茂繁, 秋本泰, 高浜洋, 2004. 海産生物の水質環境耐性について: 総説. 海生研報, 6, 144-146.
- 食品分析開発センター, 2013. 褐藻中のフコキサンチン含量, (2020-06-05) http://www.mac.or.jp/mail/131101/01_04.shtml
- 水産用水基準, 2005. 東京, 日本水産資源保護協会, pp. 3-16, pp. 62-66.
- 谷口千恵, 森田晃央, 久門道彦, 道家章生, 2012. 褐藻アカモク幼体の生長におよぼす塩分濃度の影響 (短報). 京都府立農林水産技術センター海洋センター研究報告, 34, 9-11.
- 寺脇利信, 1993. *Sargassum horneri* (Turner) C. Agardh (アカモク), 堀輝三編, 藻類の生活史集成 第2巻 褐藻・紅藻類, 東京, 内田老鶴圃, pp. 160-161.
- 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, コブロモク, キレバモクの光合成・温度特性. 日本水産学会誌, 78, 189-1197.
- 辻律人, 藤巻宏和, 世良耕一郎, ニッ川章二, 2005. 七北田川河口域の堆積物に関する環境化学的研究. NMCC 共同利用研究成果報文集13, 143-168.
- 植木知佳, 村上明男, 加藤敏朗, 嵯峨直恆, 本田泰三, 2010. 紅藻ササビノリの光合成色素と葉緑体微細構造における栄養欠乏応答. 日本水産学会誌, 73, 375-382.
- 植木知佳, 加藤敏朗, 三木理, 2011. ノリの生育に対するスラグ系施肥材の効果実証実験. 海洋理工学会誌, 17, 49-55.
- Xie, E. Y., Liu, D. C., Jia, C., Chen, X. L. & B. Yang, 2013. Artificial seed production and cultivation of the edible brown alga *Sargassum naozhouense* Tseng et Lu. J. Appl. Phycol., 25(2), 513-522.
- 山本民次, 2008. 川が海の水質と生態系に与える影響, 宇野木早苗, 山本民次, 清野聡子編, 川と海 流域圏の科学, 東京, 築地書館, pp. 60-63.
- 吉田吾郎, 吉川浩二, 寺脇利信, 2000. 低温保存したアカモク幼胚の発芽率と成長, 日水誌, 66, 739-740.
- 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.
- 吉田忠生, 2004. アカモク *Sargassum horneri* (Turner) C. Agardh, 大野正夫編著, 有用海藻誌. 東京, 内田老鶴圃, pp. 125-127.

* * * * *

Effects of Decreased pH of Seawater on the Growth of *Sargassum horneri* at Early Developmental Stages

Takuya Fukami^{*1}, Rintaro Sato^{*1}, Chikako Okumura^{*2}, Hiroshi Hasegawa^{*2}, Osamu Miki^{*2}

^{*1} Graduate School of Natural Science and Technology, Kanazawa University, Kakuma-machi, Kanazawa, Ishikawa 920-1192, Japan

^{*2} Institute of Science and Engineering, Kanazawa University, Kakuma-machi, Kanazawa, Ishikawa 920-1192, Japan

Received: November, 13. 2020, Accepted: March, 26. 2021