

温帯性サンゴの光合成—温度特性とその測定法

中村恵理子

東京水産大学 (108-8477 東京都港区港南 4-5-7)

Eriko Nakamura: Photosynthetic responses to temperature in a temperate coral with symbiotic algae and its measurement method. Jpn. J. Phycol. (Sôru) 51: 1-5, Mar. 10, 2003.

The original measurement method for photosynthetic responses to temperature changes in a temperate coral is described. Net photosynthesis rates were measured at the combination of different temperatures (12 to 30°C at 2°C intervals) and different light intensities (0, 25, 50, 100, 200 and 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), and net and gross photosynthesis-temperature relationships were determined with a differential gas-volumeter (Productmeter). Stable and reliable data were obtained with this method, thus this can be one of the standard methods to elucidate the physiological specificity of corals with symbiotic algae.

Key Index Words : *measurement method, photosynthesis, temperate coral, temperature*

Tokyo University of Fisheries, Konan 4-5-7, Minatoku, Tokyo, 108-8477 Japan

刺胞動物のイシサンゴ類は、体内に褐虫藻と呼ばれる渦鞭毛藻類の一種 *Symbiodinium microadriaticum* を共生させており、その光合成は、サンゴの生育やサンゴ礁形成に大きく貢献している。なぜなら、栄養源として生成した有機物をサンゴに供給するだけでなく、石灰化による骨格形成の促進に働くからである。サンゴの生理学的な研究は、これまで熱帯・亜熱帯域を中心に行われ、熱帯域のサンゴの光合成速度は温度上昇に伴い直線的に増加する傾向があることが明らかになっている (Coles & Jokiel 1977, Muthiga & Szmant 1987, 梶原ら 1995)。一方、分布北限の温帯域に生息するサンゴに関しては、その生理学的な知見は重要であるにもかかわらず、研究例は少ない。Jacques *et al.* (1983) や Schiller (1993) は、温帯域のサンゴの光合成速度も温度上昇に伴い直線的に増加するとし、Howe & Marshall (2001) は、高温側では増加がみられなくなるとした。しかし、これらの研究では、温度条件の設定数が少ないために、真の傾向を読みとるには不十分な点があった。そこで、著者は温帯性サンゴの光合成および呼吸速度と温度との関係をより詳細に調べることを目的に測定法の検討も試みながら研究を行った。

本研究では、光合成測定に差動式検容計の一種であるプロダクトメーター (Yokohama & Ichimura 1969, 横浜ら 1986) を用いた。この装置は主として大型藻類の光合成測定に多用されている (Yokohama 1973, Maegawa *et al.* 1988, Sakanishi *et al.* 1988, 倉島ら 1996, 芹沢ら 2001)。サンゴではシタザラクサビライシ、アザミサンゴ、チヂミコモンサンゴの3種に用いられている (Yokohama *et al.* 1989)。ただし、これら3種は骨格が平板状であるのに対し、本測定で用いたサンゴは細い樹枝状である。このため、試料の準備についても工夫を行っ

た。

材料と方法

サンゴ試料の準備および光合成-温度特性の測定法の手順を Fig. 1 にまとめた。

1. サンゴ試料の準備

1) 生息地と種名

実験には、静岡県南伊豆町中木地先の水深約3-4mの岩礁域に生息するミドリイシ科ミドリイシ属のヒメエダミドリイシ *Acropora pruinosa* Brook を用いた。

2) 採集と移送

サンゴは、樹枝状骨格の先端部を含めて長さ10cm程度に万能バサミで折り採る。クーラーバッグに海水を入れ、携帯用ポンプで曝気した中にサンゴを入れて移送する。このとき、サンゴの軟体部が傷つかないように、目の細かいネット袋 (家庭用三角コーナーの水切り袋など) で包む。

3) サンゴ試料の固定

移送後、ただちにサンゴの樹枝状骨格の先端約3cm部分を万能バサミで切断し試料とする。ナイロンテグス10号で作成した直径3cmの透明な輪に、試料を釣り糸で結びつけて固定する。これは、光合成測定の振とう時に転がらないようにして、試料の一定面へ光を照射させるためである。透明な輪の真ん中には、サンゴを結びつけるための釣り糸が十字形に張ってある。

4) サンゴ試料の前処理

測定開始までの2日間、サンゴ試料は濾過海水中で曝気しながら飼育する。この間に、切断によるサンゴの傷口を回復させる。試料の入った容積1Lの飼育用水槽を恒温槽に入れて

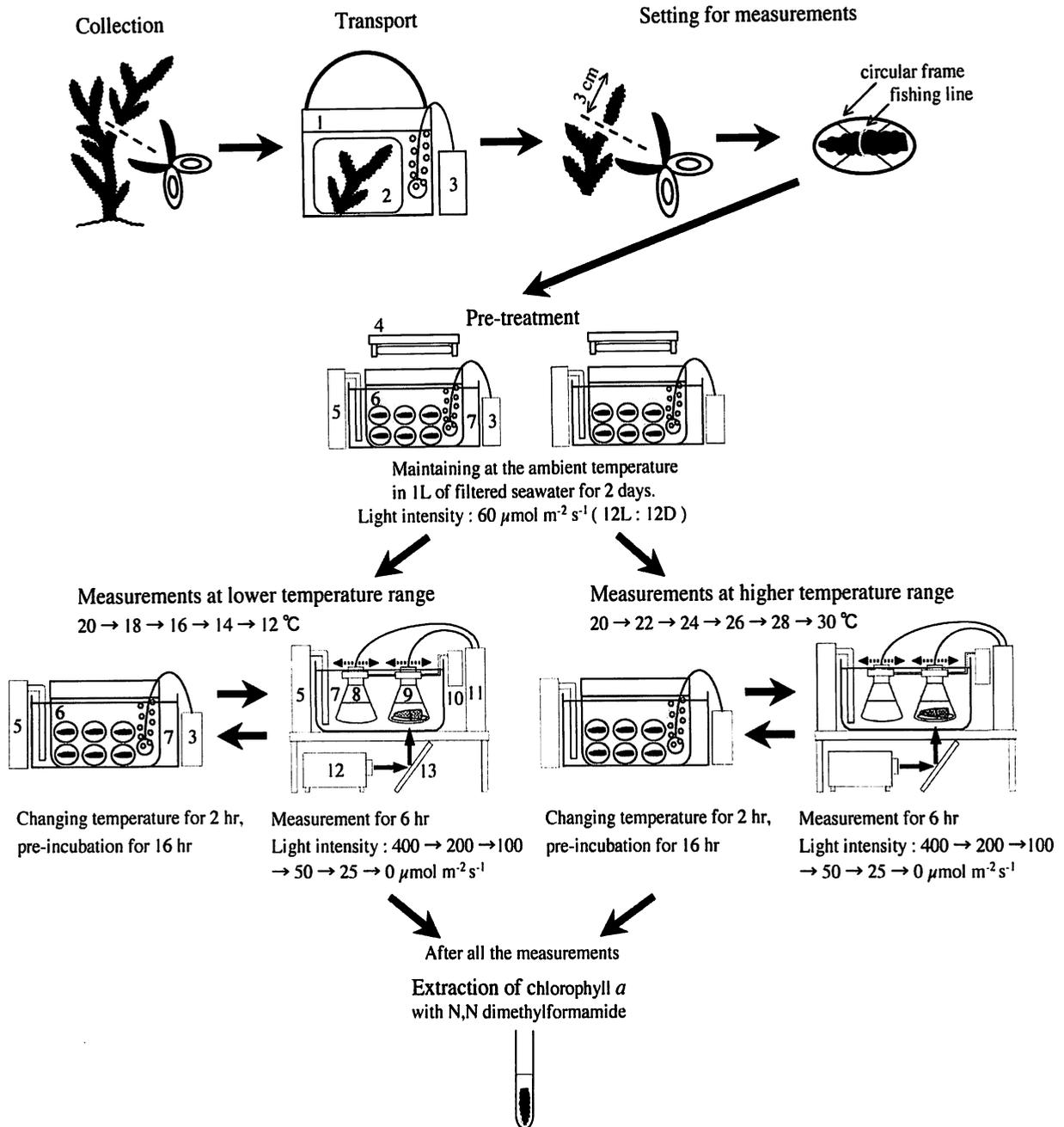


Fig. 1 Measurement methods for photosynthesis responses to temperature in a temperate coral *Acropora pruinosa*.

1. cooler box, 2. mesh bag, 3. air pump, 4. fluorescent light, 5. thermostat, 6. water tank for pre-treatment and pre-incubation, 7. water bath, 8. compensation vessel containing filtered seawater, 9. reaction vessel containing a coral fixed on a circular frame and filtered seawater, 10. motor drive for shaking the vessels, 11. Productmeter, 12. light source with an incandescent lamp, 13. mirror. Small arrows of solid line from light source to reaction vessel show the direction of irradiation to a coral sample. Small arrows of broken line show the shaking direction of vessels.

水温を温度調節機（タイテック COOLNIT CL-150F）で調節する。最初は、採集時の現場水温と同温に設定し、測定開始の16時間前までに1時間に1℃の割合で温度を変化させて、最終的に20℃に設定する。光条件は12L：12Dで、明期の光強度を $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ とする。これは、試料としたサンゴの生息水深における夏季の平均的な光量である。光源には、15w

蛍光灯1本を用いる。

2. 光合成 - 温度特性の測定法

本研究では同一のサンゴ群体片について12-30℃の範囲の10段階の温度で各光強度下での純光合成速度を求めることにしたが、試料としたヒメエダミドリイシの生息地における水

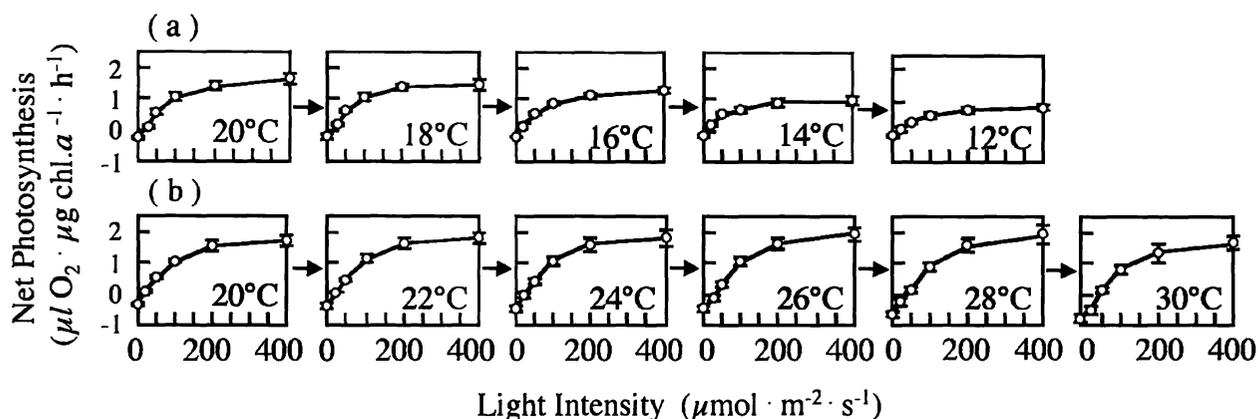


Fig. 2 Photosynthesis-light curves at 12-20°C (a) and 20-30°C (b) of a temperate coral *Acropora pruinosa* determined from August 21 to 26, 1996. Each different sample was used at the lower range of temperature (12-20°C) and the higher range of temperature (20-30°C). Vertical bars indicate means +SD (n=6).

温の年間変動範囲は14-26°Cであるため、測定を12°Cと30°Cのどちらから開始しても群体片がストレスを受ける可能性がある。実際に、予備実験によって、水温が14°Cに低下した場合と28°Cに上昇した場合に共生する褐虫藻がごくわずかに放出されることが判明した。そこで、群体片を2グループに分け、共に20°Cから測定を開始し、一方は低温側へ向け、他方は高温側へ向けて、それぞれ2°C刻みに温度を変えながら、順次各温度での測定を以下のような手順で行うことにした。

1) 第一グループの低温域での測定

20, 18, 16, 14, 12°Cの順で24時間ごとに温度を下げて光強度400, 200, 100, 50, 25および0 μmol m⁻² s⁻¹での純光合成速度の測定を行う。

2) 第二グループの高温域での測定

20, 22, 24, 26, 28, 30°Cの順で24時間ごとに温度を上げて光強度400, 200, 100, 50, 25および0 μmol m⁻² s⁻¹での純光合成速度の測定を行う。

3) 測定温度への移行

20°Cでの測定の終了後、試料は飼育用水槽に移し、曝気しながら水温を次の測定温度(2°C低いあるいは高い)へ約2時間かけて変え、そのまま暗黒下で16時間の前培養を行う。以下各温度での測定終了後も同様に処理する。

4) 測定手順

純光合成速度の測定はまず400 μmol m⁻² s⁻¹で行い、順次200, 100, 50, 25, 0 μmol m⁻² s⁻¹と光強度を下げて行くが、すべてを終了するまでに約6時間をかける。それに水温移行のための2時間と前培養の16時間を合わせると24時間になる。そのため低温側の12°Cの測定終了までには5日間、高温側の30°Cの測定終了までには6日間をそれぞれ必要とする。

5) プロダクトメーターによる光合成測定

サンゴ試料は、容積約30mLの三角フラスコ型の反応容器に濾過海水10mLと共に入れ、また、対照容器には濾過海水10mLを入れて恒温水槽に浸して、プロダクトメーター本体

と接続する。測定前には、温度平衡および光馴化のために約15分間予備振とうを行う。ただし、光強度400 μmol m⁻² s⁻¹の測定時には、光馴化に1時間近くを要するため、400 μmol m⁻² s⁻¹の光を照射しながら1時間振とうして、反応容器内の海水を更新した後、約15分間の予備振とうを行う。測定では、測定容器を振幅3cm周期、毎分約140回で左右に振とうしながら、20-30分間に発生する酸素の累積量を3分刻みで測定し、光合成速度を求める。光源は、測定容器の下方から照射する。この測定を各温度につき、6段階の光強度について、400, 200, 100, 50, 25, 0 μmol m⁻² s⁻¹の順で行う。なお、呼吸速度は、0 μmol m⁻² s⁻¹における酸素発生速度の絶対値として得られる。光源には、スライドプロジェクター(Elmo S-300)を用い、ニュートラルフィルター(Toshiba TND-50, -25, -13)で光強度を調節した。

6) サンゴのクロロフィル抽出

全測定終了後、一試料につき10mLのN,Nジメチルホルムアミドに浸し、-20°Cの暗所に24時間静置してクロロフィルを抽出し、Porra *et al.* (1989)に従って測定した上清の吸光度からクロロフィルa含量を算出して、光合成速度の生物量単位に用いる。

結果

Fig. 2は1996年8月に得られたヒメダミドリイシの温度ごとの純光合成-光曲線だが、同図中の値を用い、温度を横軸にして再構成すると光強度ごとの純光合成-温度曲線(Fig. 3 a)が得られる。さらに縦軸を純光合成速度に呼吸速度を加えた総光合成速度として表すと、光強度ごとの総光合成-温度曲線(Fig. 3 b)が得られる。

Fig. 2から、実験したどの温度においても、光合成速度は100 μmol m⁻² s⁻¹あたりまで直線的に増加し200 μmol m⁻² s⁻¹でほぼ飽和に達すると判断される。Fig. 3 aは0 μmol m⁻² s⁻¹つまり暗黒を除く各光強度下において、純光合成速度が温度の

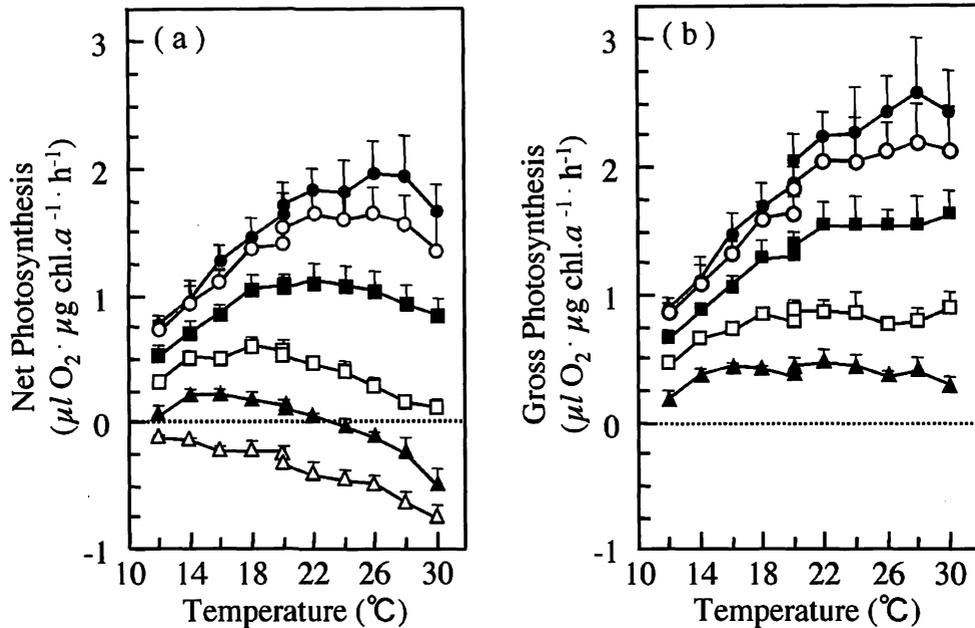


Fig. 3 Net photosynthesis-temperature and dark respiration-temperature relationships (a) and gross photosynthesis-temperature relationships (b) of a temperate coral *Acropora pruinosa* under different light intensities determined from August 21 to 26, 1996.

Light intensity: $\Delta = 0$ (dark); $\blacktriangle = 25$; $\square = 50$; $\blacksquare = 100$; $\circ = 200$; $\bullet = 400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectively. Each different sample was used at lower range of temperature (12-20°C) and higher range of temperature (20-30°C). Vertical bars indicate means +SD (n=6).

上昇につれて増加し、それぞれある温度で極大に達した後に減少するが、その増加から減少に転ずる温度すなわち至適温度は強光下ほど高くなるという傾向を示している。また同図中の $0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ における曲線は、呼吸速度が温度の上昇につれて一方的に増加することを示しているが、26°Cから増加率の増大する傾向がみられる。Fig. 3 bは、総光合成速度が光強度ごとの至適温度を超えるとほぼ一定になるが、200および $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ では28°Cで極大となり30°Cでやや低い値になるという傾向を示している。

考察

熱帯性サンゴについては、測定した範囲内 (31°Cまで) において、総光合成速度は温度上昇につれて直線的に増加すると報告されている (Coles & Jokiel 1977, Muthiga & Szmant 1987, 梶原ら 1995)。本研究では、Fig. 3 bに示されているように、光強度によって異なるそれぞれの温度を超えると総光合成速度は増加しなくなるか、減少し始めるという結果が得られたが、これは Howe & Marshall (2001) によって温帯性種コマルキクメイシについて得られた結果と類似しており、温帯性サンゴの特性を示すものと考えられる。

本研究において、 0 (暗黒) - $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ までの6段階の光強度下で実験を行ったのは、その結果とヒメエダミドリイシの生育現場の光および温度条件とから群落の生産量を推定することを考慮したためである。夏季の日中には群落に達する光の強度は光合成を飽和させる値に達することもある

が、水平面に対してさまざまな角度の方向へ成長するヒメエダミドリイシの樹枝状群体の表面にあたる光の強さは、群落に達する光よりかなり弱く、光合成-光曲線の直線部分に相当する範囲内にあるとみなせる。そのため Fig. 2の各曲線の初期勾配から求まる光強度に対する総光合成速度の一次式は、群落がある1日に受ける光量および水温と群落構造が明らかになれば、群落のその日の一次生産量の算定に有効な数値を与えることになる (中村 2003)。

Fig. 3 b中の光強度ごとの総光合成-温度曲線は共生する褐虫藻の光合成-温度特性を表しているといえる。光合成速度は温度の上昇につれて増加し、弱光下ほど低温で飽和するという、光合成植物に共通の傾向がみられるが、 $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以下では30°Cまで一定値が保たれる一方、200および $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ では28°Cから30°Cへかけて値が減少するという傾向がみられる。Iglesias-Prieto et al. (1992) により、熱帯性サンゴから単離された褐虫藻の光合成活性は30°C以上で低下すると報告されていることから、温帯性のヒメエダミドリイシに共生する褐虫藻は熱帯性サンゴに共生する褐虫藻より低温域に適した生理特性を有している可能性も示唆される。

本研究における強光下での高温部での総光合成速度の減少は褐虫藻の放出の結果である可能性もある。予備実験から、ヒメエダミドリイシの群体片に含まれるクロロフィルaの量が28°Cで約0.5%、30°Cで約1%減少することが判明した。熱帯性サンゴの場合、32°C以上で褐虫藻の放出のみられることが Hoegh-Guldberg & Smith (1989) によって報告されているた

め、ヒメエダミドリイシの水温上昇による褐虫藻の放出も熱帯性サンゴに比べてやや低い温度で生ずるといえる。また Coles & Jokiel (1977) によって、熱帯性サンゴでは水温低下による褐虫藻の放出が21℃で生ずると報告されているが、ヒメエダミドリイシでは水温を14℃以下に下げた時わずかに褐虫藻の放出がみられるだけである。温帯性のヒメエダミドリイシは熱帯性サンゴに比べ、褐虫藻の放出が生ずる温度に関しても低温域に適した性質を有しているといえる。

本研究によって温帯性のヒメエダミドリイシは、共生する褐虫藻の光合成特性においても、白化と呼ばれる褐虫藻放出が生ずる温度に関しても、低温域に適しているということが明らかとなったが、温帯性サンゴと熱帯性サンゴの生理特性上の相違を一層明確化するには、双方のサンゴについて同一条件下で実験を行う必要がある。

謝辞

本測定法開発のために多くのご助力をいただき、また潜水作業にも終始協力していただいた筑波大学下田臨海実験センター技官の植田一二三氏、土屋泰孝氏、佐藤壽彦氏、品川秀夫氏に心より感謝申し上げます。また、研究のための環境や設備を提供していただいた下田臨海実験センター職員の方々、ならびに原稿の準備にあたりご助言をいただいた下田臨海実験センターの青木優和講師に厚く御礼申し上げます。なお、本研究は下田臨海実験センター業績 683 号である。

参考文献

- Coles, S. L. and Jokiel, P. L. 1977. Effects of temperature on photosynthesis and respiration in hermatypic corals. *Mar. Biol.* 43: 209-216.
- Hoegh-Guldberg, O. and Smith, G. J. 1989. The effect of sudden changes in temperature, light and salinity on the population density and export of zooxanthellae from the reef corals *Stylophora pistillata* Esper and *Seriatopora hystrix* Dana. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 129: 279-303.
- Howe, S. A. and Marshall, A. T. 2001. Thermal compensation of metabolism in the temperate coral, *Plesiastrea versipora* (Lamarck, 1816). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 259: 231-248.
- Iglesias-Prieto, R., Matta, J. L., Robins, W. A. and Trench, R. K. 1992. Photosynthetic response to elevated temperature in the symbiotic dinoflagellate *Symbiodinium microadriaticum* in culture. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 10302-10305.
- Jacques, T. G., Marshall, N. and Pilson, M. E. Q. 1983. Experimental ecology of the temperate scleractinian coral *Astrangia danae*. II. Effect of

- temperature, light intensity and symbiosis with zooxanthellae on metabolic rate and calcification. *Mar. Biol.* 76: 135-148.
- 梶原健次・永井彰・上野信平・横地洋之 1995. イシサンゴ、オトメミドリイシ *Acropora pulchra* の光合成と石灰化に及ぼす水温と光量ならびに褐虫藻密度の影響. 東海大学紀要海洋学部 40: 95-103.
- 倉島彰・横浜康継・有賀祐勝 1996. 褐藻アラメ・カジメの生理特性. 藻類 44: 87-94.
- Maegawa, M., Kida, W., Yokohama, Y. and Aruga, Y. 1988. Comparative studies on critical light conditions for young *Eisenia bicyclis* and *Ecklonia cava*. *Jpn. J. Phycol.* 36: 166-174.
- Muthiga, N. A. and Szmant, A. M. 1987. The effects of salinity stress on the rates of aerobic respiration and photosynthesis in the hermatypic coral *Siderastrea siderea*. *Biol. Bull.* 173: 539-551.
- 中村恵理子 2003. 温帯性及び亜熱帯性サンゴの生理学的特性に関する研究. 東京水産大学博士学位論文.
- Porra, R. J., Thompson, W. A. and Kriedemann, P. E. 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls *a* and *b* extracted with four different solvents: Verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochem. Biophys. Acta.* 975: 384-394.
- Sakanishi, Y., Yokohama, Y. and Aruga, Y. 1988. Photosynthesis measurement of blade segments of brown algae *Ecklonia cava* Kjellman and *Eisenia bicyclis* Setchell. *Jpn. J. Phycol.* 36: 24-28.
- Schiller, C. 1993. Ecology of the symbiotic coral *Cladocera caespitosa* (L.) (Faviidae, Scleractinia) in the Bay of Piran (Adriatic Sea): II. Energy budget. *Mar. Ecol.* 14: 221-238.
- 芹澤如比古・高木裕行・倉島彰・横浜康継 2001. 伊豆半島南部、下田市鍋田湾における海水の硝酸態窒素濃度と褐藻カジメの光合成活性の季節変化. 日本水産学会誌 67: 1065-1071.
- Yokohama, Y. 1973. A comparative study on photosynthesis-temperature relationships and their seasonal changes in marine benthic algae. *Int. Revue ges. Hydrobiol.* 58: 463-472.
- Yokohama, Y. and Ichimura, S. 1969. A new device of differential gas-volumeter for ecological studies on small aquatic organisms. *J. Oceanogr. Soc. Japan* 25: 75-80.
- Yokohama, Y., Inoue, I., Kamura, S., Misonou, T., Naqasima, M. R. and Kusen, J. D. 1989. Photosynthesis-light relationships in three species of corals, *Fungia fungites*, *Galaxea fascicularis* and *Montipora aequituberculata*, determined with a differential gas-volumeter ('Productmeter'). *Galaxea* 8: 109-119.
- 横浜康継・片山舒康・古谷庫造 1986. 改良型プロダクトメーター(差働式検容計) とその海藻の光合成測定への応用. 藻類 34: 37-42.

(Received 30 Nov. 2002; Accepted 15 Jan. 2003)

