

【論文】

## モズク胞子体(成体)の生長および光合成に及ぼす LED光照射の影響

山岸 大<sup>1\*</sup>

モズクの養殖生産に向けた発光ダイオード(LED)光源の利用法について検討するため,青色,緑色,赤色LEDおよび白色蛍光灯の照射がモズクの生長,成熟および光合成に与える影響を調査した.モズクの重量増加率と光合成速度は青色LED照射下で高く,赤色LED照射下で低かった.また,単子嚢の形成は赤色LED照射下ではほとんど確認されなかった.一方,カロテノイドの含有量は青色光の照射によって増加した.以上の結果から,青色LED光源はモズクの培養および機能性成分の含有量増加に利用できる可能性が示された.

褐藻の一種であるモズク *Nemacystus decipiens* は石川県能登地域を代表する食用海藻の一種であり,古くより地域の重要な漁業資源に位置付けられている.モズクの藻体は細い糸状で柔らかいため,波浪により流出しやすい.しかし,能登半島東岸に位置する七尾北湾では,冬季の季節風の影響を受けにくく,冬場でも比較的穏やかなことから,1月からモズク漁が始まり4~5月に盛期を迎える.このうち,早春に漁獲されるものは藻体が細く,舌触りが滑らかなことから,地元では「絹もずく」や「寒もずく」と呼ばれ,特産品として珍重されている.また,モズクには機能性成分であるフコイダンやフコキサンチンが含まれているため,高機能性食材や健康補助食品としても注目されており<sup>1,2)</sup>,今後,需要の拡大が期待される.しかし,能登地域におけるモズクの漁獲量は近年減少傾向にあり,年による豊凶の差が大きく不安定である.また,収穫したモズクには細かな雑海藻などが多く付着しているため,出荷前の選別作業に多大な手間と時間を要している.このため,これらの課題解決の手段として,モズク養殖技術の開発が望まれている.もずく養殖は沖縄県で盛んに行われているが,そのほとんどは別種のオキナワモズク *Cladosiphon okamuranus* である.モズクに関しては沖縄県内の一部の地域で養殖されているものの,本州に

おいては養殖網等の基質に着生させるのが難しいこと,着生後も生長に伴い基質から脱落・流出してしまうことから安定的に養殖する技術は未だ確立されていない.モズクは主にヤツマタモク *Sargassum patens* に選択的に着生することが知られているが<sup>3)</sup>,能登半島沿岸に夏季に生育するモズクは様々な海藻に絡まって生育するといった特徴を有している<sup>4)</sup>.この特徴を利用し,陸上において藻体を基質に付着させずに培養することができれば,流出の恐れがなく,不純物も混入しにくい生産性の高いモズク養殖につながる.

陸上で培養するためには光源の確保が必要不可欠であり,光のスペクトル(光質)は植物の生育に関わる重要な要素の一つである.近年,発光波長幅が狭く,波長が異なる発光ダイオード(以下,LED)が数多く開発されるようになり,光質が植物の生長や機能性向上に及ぼす影響が検討されている.農業分野では,青色や赤色のLED照射下で,ニチニチソウ<sup>5)</sup>やレッドリーフ<sup>6)</sup>の生長や機能性成分の生産が促進されることが報告されており,植物工場の光源としてLEDが利用されている<sup>7)</sup>.水産分野では,LED照射下における海藻の生長に関して,アラメ *Eisenia bicyclis*<sup>8)</sup>,アカモク *Sargassum horneri*<sup>9)</sup>,スジアオノリ *Ulva prolifera*<sup>10)</sup>などで,青色光による生長

2018年5月21日受付

キーワード: モズク, 胞子体, 生長, 光合成, LED

<sup>1</sup> 石川県水産総合センター (〒927-0435 石川県鳳珠郡能登町字宇出津新港3-7)

\* Tel: 0768-62-1324, Fax: 0768-62-4324, Email: d-yamagi@pref.ishikawa.lg.jp

促進などの結果が報告されている。これらのことから、品質の高い作物を効率よく生産するための光源として、今後LEDの利用・普及が進むことが考えられる。本研究では、夏季に生育する大型の胞子体世代(成体)のモズクの生長、成熟および光合成活性に及ぼす光質の影響を調べて、LEDを利用したモズク養殖の可能性について検討した。

### 材料および方法

**材料** 2016年8月10日に石川県能登町越坂地先の水深約0.5~1.0 mに生育していたモズクを採取した。採取した藻体はすぐに実験室に持ち帰り、着生基質から分離した後、濾過海水で複数回洗浄して実験に使用した。光源には砲弾型の青色LED(AQ-L05030BC, audio-Q製)、緑色LED(AQ-L0530GC, audio-Q製)、赤色LED(OSR7CA5111A, OptoSupply製)、並びに白色蛍光灯(FL20SSEX-D/18-HG, NECライティング製)を用いた。カタログ記載の発光ピーク波長は青色LEDで470 nm、緑色LEDで525 nm、赤色LEDで660 nmであった。白色蛍光灯の第1ピーク波長は540 nm付近、第2ピーク波長は620 nm付近、第3ピーク波長は440 nm付近であった。

**培養実験** 容量300 mlの三角フラスコの中に濾過海水(1 μmカートリッジフィルター2本で濾過)と藻体約1.5 gを入れ、各光源を使用し、光量子束密度100 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>、明期12時間・暗期12時間、温度20°Cの条件下で12日間通気培養した。光源毎に5個のフラスコを用いてモズクを培養し、2,3日毎に藻体の湿重量を測定するとともに、生殖細胞である単子嚢を光学顕微鏡下で観察し、単子嚢を形成している同化糸の割合を求めた。湿重量測定および単子嚢観察の際には培養海水の全量を交換した。各試験区のフラスコ外面における光量子束密度を電圧ロガー(LR5041, 日置電機製)に接続した球面光量子計(ML-020P, 英弘精機製)を用いて測定し、所定の光量子密度になるよう各フラスコを配置した。

**光合成および呼吸速度の測定** 滅菌海水を満たした反応容器(容量約250 ml)に藻体約1 gと攪拌子を入れた。そこに蛍光式酸素電極(LDO101, HACH製)を挿入し、DOメーター(HQ40d, HACH製)にて溶存酸素の変化を測定した。測定時には反応容器を密閉状態にし、マグネチックスターラーで海水を攪拌した。各光源を用いて、光量子束密度100 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>、温度20°Cのもと、反応開始時と終了時に溶存酸素量を測定し、1時間あたりの酸素増加量を純光合成速度とした。光合成速度の測定

後、反応容器をアルミ箔で覆い、暗黒下で単位時間・単位湿重量あたりの酸素減少量を測定し、これを呼吸速度とした。光源毎に藻体をかえて光合成速度と呼吸速度を4回測定した。

**光合成色素の抽出と定量** 培養実験が終了した藻体の表面の水分をキムタオルで除去し、約300 mgを乳鉢に入れ、石英砂100 mg、炭酸マグネシウム30 mgおよび90%アセトンを加えて磨砕した後、遠心分離機(CF-9RX, 日立工機製)で3,000 rpm、20分間遠心分離し、その上澄みを採取した。遠心残渣に対しても同様の操作を数回繰り返した。得られた上澄みを合わせて20 mlに定容した後、吸収スペクトルを分光光度計(UV-2600, 島津製作所製)で測定した。波長480 nm, 630 nm, 664 nmの各吸光度(E)から750 nmの吸光度を差し引いた後、クロロフィルa(Chl.a)とクロロフィルc(Chl.c)についてはJeffrey and Humphrey<sup>11)</sup>、カロテノイド(Caro)については斎藤・大房<sup>12)</sup>に従い、以下の計算式から含有量を求めた。

$$\text{Chl.a} = 11.47 E_{664} - 0.40 E_{630} \quad (\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1})$$

$$\text{Chl.c1+c2} = 24.36 E_{630} - 3.73 E_{664} \quad (\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1})$$

$$\text{Caro} = 4.0 E_{480} \quad (\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1})$$

**統計処理** 各データは一元配置分散分析を行った後、Tukey-Kramerの方法により多重比較検定した。

### 結果

**培養実験** 青色LED照射下では培養開始から7日目まで、蛍光灯および緑色LED照射下では9日目まで藻体重量の増加が確認され、青色LEDでは最大21.67±3.48%増加した。一方、赤色LED照射下では培養日数の経過とともに藻体重量が減少し、7日目には15.9±3.41%減少した(図1)。光源間で最も差が大きくなった7日目の湿重量の変化率を比較した結果、緑色LEDと蛍光灯の間を除く全ての光源間で有意差(P < 0.05, n = 5)が認められた。藻体を顕微鏡下で観察したところ、蛍光灯、青色および緑色LED照射下では、単子嚢の形成割合が増加し、その程度は青色LEDで最も顕著であった。一方、赤色LED照射下では、培養日数が経過しても単子嚢はほとんど確認されなかった(表1)。

**光合成速度と呼吸速度の測定** 各光源下におけるモズクの純光合成速度を図2に、呼吸速度を図3に示す。純光合成速度は青色LED照射下で1.24±0.08 mgO<sub>2</sub>·g<sup>-1</sup>·

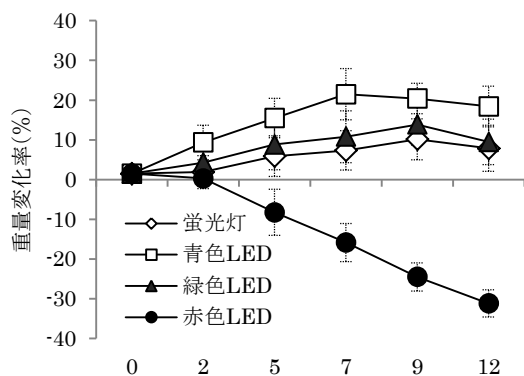


図1. 各光源下で培養したモズクの湿重量の変化率 (平均値±標準偏差)

表1 単子嚢を形成した同化糸の割合の推移

光源	2日目	5日目	7日目	9日目	12日目
蛍光灯	+	+	++	+	+
青色LED	+	++	+++	++	+
緑色LED	+	++	++	++	+
赤色LED	-	-	-	+	-

-, 形成無し; +, 5%未満; ++, 5-10%; +++, 10%超過

$h^{-1}$ と最も高く、次いで蛍光灯、緑色LED照射下で高かったが、その差は小さかった。一方、赤色LED照射下では純光合成速度は $0.16 \pm 0.02 \text{ mgO}_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ と他に比べて極端に低い値を示した。純光合成速度を多重比較検定した結果、緑色LEDと蛍光灯の間を除く全ての光源間に有意差 ( $P < 0.05$ ,  $n = 4$ ) が認められた。呼吸速度は蛍光灯、青色、緑色および赤色LED照射下でそれぞれ $0.20 \text{ mgO}_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ 前後の値を示した。呼吸速度を分散分析した結果、光源間に有意差は認められなかった。

**吸収スペクトルの測定** 培養実験後の藻体から抽出した光合成色素の吸収スペクトルの平均値を図4に示す。スペクトルはChl.aの長波長側の吸収ピークである波長664 nmの吸光度の値を1とする相対吸光度で示した。いずれの相対吸光度も波長350~500 nmおよび650~680 nmの範囲で高く、吸収極大は波長434 nmと664 nmに認められた。短波長側の吸収ピークである波長434 nmにおける相対吸光度を多重比較検定したところ、緑色LEDと蛍光灯の間を除く全ての光源間で有意差 ( $P < 0.05$ ,  $n = 5$ ) が認められた(図5)。

**光合成色素の定量** 各光源下で培養した藻体のChl.a, Chl.cおよびCaroの含有量を表2に示す。Chl.aとChl.cの含有量は光源による差が小さく、光源間に有意差は認められなかったが、Caro含有量については、青色LEDと赤色LEDの間に有意差 ( $P < 0.05$ ,  $n = 5$ ) が認められた。

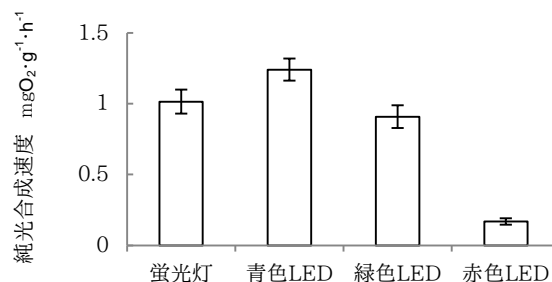


図2. 各光源下におけるモズクの純光合成速度 (平均値±標準偏差)

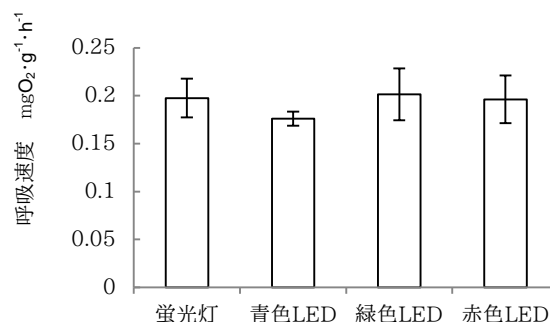


図3. 各光源下におけるモズクの呼吸速度 (平均値±標準偏差)

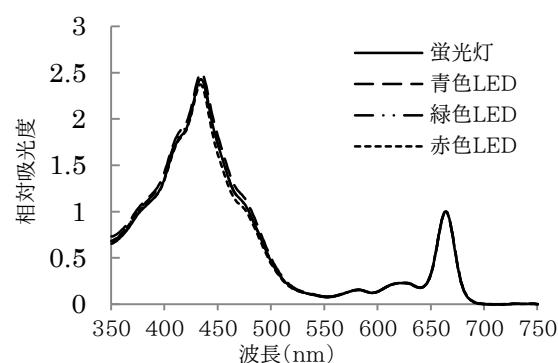


図4. 培養実験後のモズクから抽出した光合成色素の吸収スペクトル

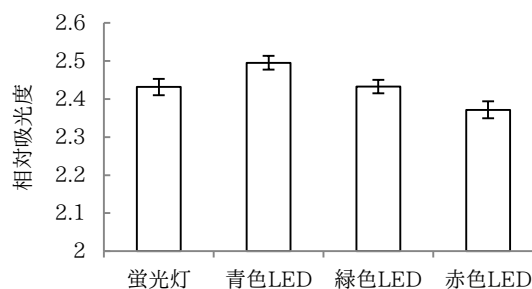


図5. 光合成色素の波長434 nmにおける相対吸光度 (平均値±標準偏差)

表2 モズクの光合成色素含有量 (平均値±標準偏差)

光源	Chl.a	Chl.c	Caro
蛍光灯	0.252±0.015	0.035±0.002	0.086±0.004
青色LED	0.253±0.018	0.038±0.003	0.092±0.006
緑色LED	0.252±0.015	0.036±0.003	0.086±0.005
赤色LED	0.252±0.016	0.033±0.003	0.082±0.007

## 考 察

異なる光源下での培養実験の結果、モズクの生長は青色LEDで最も優れ、緑色LEDと蛍光灯がこれに次ぎ、赤色LEDで最も劣る結果となった。純光合成速度も青色LEDで最も高く、緑色LEDと蛍光灯が次いで高く、赤色LEDで最も低かった。このように、モズクの生長と光合成は青色光照射下で促進されることが明らかとなった。また、モズクの光合成色素の吸収スペクトルをみると、青色LEDの発光波長付近の吸光度は緑色LEDや赤色LEDの発光波長付近の吸光度と比べて高い値を示した。このことから、モズクの光合成色素は青色光を効率良く吸収するため、青色光照射下では光合成速度が高まり、生長も良好となったと考えられる。

培養実験後の藻体のCaro含有量を比較したところ、青色LED照射下と赤色LED照射下の間に有意差が認められた。褐藻に含まれるCaroの主成分であるフコキサンチンの吸収スペクトルは抽出溶媒により多少異なるものの、波長400~500 nmの範囲において高い値を示し、青色LEDの発光ピーク波長(470 nm)に近い473 nm, 446 nm, 425 nm付近に吸収極大を持つ<sup>13)</sup>。海藻は光質により光合成色素の含有量や含有比を変化させることが報告されている<sup>9,10)</sup>。本研究においても、青色光照射下のモズクは効率的に光を吸収できるようCaro含有量を増加させた可能性が考えられる。

一方、緑色LEDの発光ピーク波長(525 nm)付近における光合成色素の吸光度は、赤色LEDの発光ピーク波長(660 nm)付近における吸光度より低いにもかかわらず、緑色LED照射下における光合成速度および生長は赤色LED照射下よりも高かった。緑色光は青色光や赤色光に比べて葉緑体に吸収され難いが、吸収後は高効率で光合成に利用される<sup>14)</sup>。また、緑色光は葉緑体に吸収されにくい分、葉の内部や裏側まで入射・拡散して葉緑体との遭遇機会が増すため、結果的に吸収率は高くなるとされている<sup>15)</sup>。さらに、褐藻のアカモク、ヤツマタモクにおいても、低光量の緑色光では幼胚の生長は低調だが、光量が増すにつれて青色光とほぼ等しい生長を示すことが確認されている<sup>16)</sup>。今回の実験で、光合成色素の吸光

度が低い緑色光照射下でもモズクの生長が良好であった要因として、藻体の内部まで緑色光が入射・拡散した結果、光が効率良く光合成に利用されたことが推察される。赤色LED照射下では、モズクの光合成速度が低く、生長も劣っていた。アラメ<sup>8)</sup>、アカモク<sup>9)</sup>、ワカメ *Undaria pinnatifida*<sup>17)</sup>の配偶体や幼体でも同様の報告があり、赤色光が光合成に利用されにくい要因が褐藻に存在するのかもしれない。さらに、赤色LED照射下では、単子嚢がほとんど確認されなかった。赤色蛍光灯や赤色LED照射による褐藻の成熟抑制については、アラメ<sup>8)</sup>やワカメ<sup>17)</sup>、クロメ *Ecklonia kurome*、カヅメ *Ecklonia cava*<sup>18)</sup>の配偶体にも報告がある。本研究で用いたモズクは配偶体ではなく大型の胞子体(成体)であるが、胞子体の成熟に対しても赤色光が抑制的に作用する可能性が示唆された。

本研究の結果、青色LEDはモズク胞子体の培養に活用できる可能性が示された。さらに、Caroの主成分であるフコキサンチンには抗肥満作用や抗糖尿病作用があることが報告されていることから<sup>2,19)</sup>、青色LEDを用いたモズク培養では、機能性成分の含有量の増加も期待できる。

## 文 献

- 1) 三好雅之, 阿部直, 笠木健, 平松喜美子, 池田匡: モズク由来高分子フコイダンの腸蠕動に及ぼす影響. 米子医誌, 2013, **64**, p.69-77.
- 2) 細川雅史: フコキサンチンの抗肥満作用とその分子機構. 日水誌, 2012, **78**, p.1007.
- 3) 四井敏雄: モズクの生活環と増殖に関する研究. 長崎県水産試験場論文集, 1980, **7**, p.1-48.
- 4) 池森貴彦: 磯の観察路で見つかった藻につくイシモズク. のと海洋ふれあいセンターだより, 2009, **31**, p.7.
- 5) 福山太郎, 大橋(兼子)敬子, 大野英一, 渡邊博之: LEDを用いた赤色光と青色光照射下で栽培されたニチニチソウの成長とアルカロイド収量. 植物環境工学, 2013, **25**(4), p.175-182.
- 6) 庄子和博, 後藤英司, 橋田慎之介, 後藤文之, 吉原利一: 赤色光と青色光がレッドリーフレタスのアントシアニン蓄積と生合成遺伝子の発現委及ぼす影響. 植物環境工学, 2010, **22**(2), p.107-113.
- 7) 後藤英司: 完全人工光型植物工場の現状と新技術開発の動向. 農業機械学会誌, 2011, **73**(2), p.87-91.

- 8) 村瀬 昇, 阿部真比古, 野田幹雄, 須田有輔: 光質が異なるLED照射下でのアラメの配偶体の生長と成熟. 水大校研報, 2014, **62**, p.147-152.
- 9) Miki O, Okumura C, Marzuki M, Tujimura Y, Fujii T, Kosugi C, Kato T: Contrasting effects of blue and red LED irradiations on the growth of *Sargassum horneri* during the germling and immature stages. *Journal of Applied Phycology*, 2016, p.1461-1469.
- 10) 高田順司, 村瀬 昇, 阿部真比古, 野田幹雄, 須田有輔: 光質が異なるLED照射下での緑藻スジアオノリの生長と光合成. 水産増殖, 2011, **59**, p.101-107.
- 11) Jeffrey S.W. and Humphrey G. F. : New spectrophotometric equations for determining chlorophylls *a*, *b*,  $c_1$  and  $c_2$  in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflanzen*, 1975, **167**, p.191-194.
- 12) 斎藤宗勝, 大房 剛: 乾海苔に含まれる光合成色素の簡易定量法. 藻類, 1974, **22**, p.130-133.
- 13) 藤田善彦: 光合成色素の定性と定量法, 「藻類研究法」(西澤一俊, 千原光雄編), 共立出版, 1979, p.474-507.
- 14) Terashima I, Fujita T, Inoue T, Chow W.S., Oguchi R: Green light driver leaf photosynthesis more efficiently than red light in strong white light: Revisiting the enigmatic question of why leaves are green. *Plant Cell Physiology*, 2009, **50**, p.684-697.
- 15) 寺島一郎: 葉が緑色なのは緑色光を効率よく利用するためである. 光合成研究, 2010, **20**, p.15-20.
- 16) 松井敏夫, 大貝政治, 村瀬 昇: 褐藻類アカモク・ヤツマタモクの幼胚および葉状部の成長に及ぼす光質・光量の影響. 日水誌, 1994, **60**, p.727-733.
- 17) 團 昭紀: 発光ダイオードを使った藻類の培養. 平成15年度徳島県立農林水産総合研究センター水産研究所事業報告書, 2005, p.77-78.
- 18) 松井敏夫, 大貝政治, 大島芳明, 古原和明: コンブ目植物数種の配偶体の成長・成熟および孢子体(幼葉)の成長に及ぼす光質・光量の影響. 日水誌, 1992, **58**, p.1257-1265.
- 19) 宮下和夫, 細川雅史: 海藻中に含まれる多機能性カロテノイド: フコキサンチン. 日水誌, 2008, **74**, p.261-262.