

学 位 論 文 題 名

褐藻マコンブ (*Laminaria japonica* Areschoug) 胞子体に
おける窒素利用機構に関する生態学的研究

学位論文内容の要旨

マコンブ (*Laminaria japonica* Areschoug) は、食用、工業及び医薬原料あるいは飼肥料として利用され、産業的に重要な海藻種である。また、沿岸域の生物生産を支える重要な役割を担っている。1970年以降、養殖技術や促成技術の向上と共に養殖マコンブの生産が飛躍的に伸びた。しかしその一方で、天然マコンブの生産は年変動が大きくかつ減少傾向の兆しがある（徳田ら, 1989）。マコンブの生産や品質は、その生育する水質環境によって大きく影響される。特に、窒素が夏期におけるコンブ科藻類の生長を制限する事は、多くの研究者によって指摘されている（Chapman and Craigie, 1977 ; German et al., 1987）。しかし、この生長制限因子である窒素は、藻体内においてタンパク質や核酸等の構成成分として重要であるにもかかわらず、海藻の窒素代謝に関する生理学及び生態学的研究は極めて乏しい。特に、海水中から取り込まれた窒素の藻体内での変化及び移動については、ほとんど調べられていないため不明な点が多い。藻体内における窒素の挙動は、自然環境における藻体の生理状態の把握や生態学的窒素獲得機構を解明する上で重要であると共に、人為的生産及び品質管理の上からも必要不可欠な知見と成り得る。栄養塩制限に起因するコンブ科藻類の生産あるいは品質の低下に対し、その対応策の1つとして窒素を主成分とする肥料の施肥が実施されている（近江, 1960 ; Tseng et al., 1955）。その一方で、山田（1966）が報告している海中施肥に関する対象生物の基礎的な生理機構や数多くの技術的問題点等は解明されないまま残されている。

そこで本研究では、室内実験においてマコンブ胞子体の窒素利用特性及び窒素獲得機構を把握し、経時的に変化する自然環境下での栄養状態の把握とそれに伴う窒素獲得戦略を解明する事を目的とした。さらに基礎的な栄養生理及び生態の把握を行った上で、人為的な生産及び品質管理の方法の1つとして施肥の有効性についても検討した。

その結果、自然環境下におけるマコンブ胞子体の生育環境は、一年を通じて高窒素環境期及び低窒素環境期に区分され、高窒素環境期から低窒素環境期への移行は、植物プランクトンの春季

ブルーミングによって生じる事が分かった。この春季ブルーミングは同時に、主要窒素成分を、高窒素環境期における NO_3^- から低窒素環境期における NH_4^+ へと変化させていた。 NH_4^+ を単一窒素源として胞子体を培養した場合、高い吸収速度を持つ反面、その同化速度は極めて低く、 NH_4^+ の蓄積をもたらす傾向が認められた。一方、 NO_3^- を窒素源とした場合は、藻体内に取り込まれた後速やかに同化された。この事から自然環境における窒素源の変化は、マコンブ胞子体の窒素代謝を大きく変化させる要因の1つであると考えられた。また、 NO_3^- の付加は、 NH_4^+ 取り込み及びその同化を促進し、窒素獲得に有利な NH_4^+ 及び NO_3^- の同時的な取り込み機構を導く事が示唆された。この様な NO_3^- の窒素同化に及ぼす効果と合わせて、藻体内において細胞内硝化能力の可能性が示唆され、 NO_3^- が窒素源としてだけでなく藻体内での種々の代謝に重要な役割を果たしている事が推察された。

マコンブ胞子体の基部及び先端部位において、その窒素代謝に関わる機能的相違が認められた。胞子体基部付近の組織は、分裂組織の場所であると同時に無機窒素の取り込み場所としての役割が優先していた。また先端部付近の成熟組織は、無機窒素のアミノ酸への同化及び NO_3^- やアミノ酸の貯蔵の場としての機能が卓越していた。さらに、胞子体先端部付近の組織は高い異化（分解）代謝能力を持つ事が分かった。同時に、その異化産物である NH_4^+ が、グルタミン・シンセターゼ（GS）によって再同化される事から、異化と再同化の連続的な代謝を行う能力を持っている事が明らかになった。この異化・再利用能力は窒素貯蔵と共に、低窒素環境期における主要窒素獲得機構としての役割を担っている事が示唆された。

マコンブ胞子体は、組織間の機能的役割分担に基づき藻体基部及び先端部両方向へ無機窒素及びアミノ酸の窒素輸送能力を持つ事が分かった。この輸送機構は、2組のソース・シンク関係に基づく窒素輸送と定義された。つまり藻体基部への輸送は、生長あるいは個体維持に関わる窒素要求のための輸送であり、可溶性有機窒素（主にアミノ酸）の輸送で特徴付けられた。一方、藻体先端部への輸送は主に無機窒素の輸送が認められたことから、無機窒素同化のための輸送であると考察された。この体内窒素輸送機構は、自然環境下においても活発に働いている事が現場における組織切断実験により証明され、高窒素環境期においては、藻体基部及び先端部両方向への窒素輸送が活発に行われていた。また、藻体先端部組織の切断除去が基部組織における C/N 比の減少を招く事から、この時期先端部成熟部位は基部方向への炭素同化産物の供給源として窒素に比べ相対的に重要である事が分かった。また低窒素環境期においては、藻体基部への貯蔵窒素及び炭素の基部方向への輸送が藻体の生長維持及び生残に大きく寄与している事が明らかになった。

自然環境下におけるマコンブ胞子体の窒素代謝は、上述した窒素環境の変化に対応して、その卓越する代謝から以下の様に区分された。高窒素環境期においては NO_3^- 吸収・貯蓄期に対応し、低窒素環境期に入ると貯蔵 NO_3^- 及びアミノ酸利用期へ変化する。この時期までは胞子体の高い生長が認められる。さらに低窒素環境が続いてくると胞子体内の窒素代謝は、先端部の異化代謝に特徴づけられる異化（分解）・再利用期に移り、顕著な末枯れ現象が認められてくる。この様な窒素代謝の変化を把握する際に、最大生長に関わる臨界窒素含量(critical N content)及び生存に関わる最低窒素含量(subsistant N content)は有用であり、マコンブ胞子体については、乾重量ベースで各々2.4%、1.3%であった。この2つの窒素含有量は、人為的生産及び品質管理の上からも良い指標であると考察された。つまり、マコンブ胞子体において1.3%から2.4%の窒素含有量を保つ様な人為的管理が望まれる。この知見に基づき、貯蔵 NO_3^- 及びアミノ酸利用期及び異化（分解）・再利用期に行った栄養塩の施肥実験は、末枯れの抑制及びマコンブの品質向上をもたらす事が分かった。また、施肥の窒素成分として上述した NO_3^- の重要性から、 NH_4^+ 及び NO_3^- の同時供給が効果的である事が示唆された。

以上のように、マコンブ胞子体の生長過程及び生理状態は窒素環境と密接に対応している事が分かった。またこの際、胞子体の組織間で異なった無機窒素の取り込み、同化及び異化活性と各々の窒素代謝を結び付ける体内窒素輸送が相互に関係し合い、窒素環境の変化に適応していることが明らかになった。

学位論文審査の要旨

主 査	教 授	米 田	義 昭
副 査	教 授	藪	瀬
副 査	助教授	築 田	満

申請者は、室内実験においてマコンブ胞子体の窒素利用特性及び機構を把握し、経時的に変化する自然環境下での栄養状態の把握やそれに伴う窒素獲得戦略を解明することを目的とし、さらに得られた知見を基に、人為的な生産及び品質管理の方法の1つとして施肥の有効性についても検討した。

自然環境下におけるマコンブ胞子体の生育環境は、高窒素環境期及び低窒素環境期に区分され、

高窒素環境期から低窒素環境期への移行が、植物プランクトンの春季ブルーミングによって生じ、同時に主要窒素成分が高窒素環境期における NO_3^- から低窒素環境期における NH_4^+ へと変化する事を把握した。 NH_4^+ を単一窒素源として胞子体を培養した場合、高い吸収速度を持つ反面、その同化速度は極めて低く、 NH_4^+ の蓄積をもたらす傾向があり、一方 NO_3^- を窒素源とした場合は、藻体内に取り込まれた後速やかに同化される事が分かった。この事から自然環境における窒素源の変化は、マコンブ胞子体の窒素代謝を大きく変化させる要因の1つであると結論した。また、 NO_3^- の付加は NH_4^+ 取り込み及びその同化を促進し、窒素獲得に有利な NH_4^+ 及び NO_3^- の同時的な取り込み機構を導き、さらに藻体内において細胞内硝化能力の可能性が示され、 NO_3^- が窒素源としてだけでなく藻体内での種々の代謝に重要な役割を果たしていると推察した。

マコンブ胞子体先端部及び基部の組織間において、上述した窒素代謝活性は大きく異なり、組織間に機能的役割分担が存在している事を明らかにした。つまり基部付近の組織は、分裂組織の場所であると同時に無機窒素の取り込み場所としての役割が優先し、先端部付近の成熟組織は、無機窒素のアミノ酸への同化、 NO_3^- やアミノ酸の貯蔵の場及び異化代謝が卓越していた。同時に、その異化産物である NH_4^+ が、グルタミン・シンセターゼによって再同化される事から、異化と再同化の連続的な代謝を行う能力を持っている事を確かめ、低窒素環境期における主要な窒素獲得機構としての役割を担っている事を示唆した。この様な組織間の機能的役割分担に基づく藻体基部及び先端部両方向への窒素輸送能力を持つ事から、2組のソース・シンク関係に基づく窒素輸送と定義した。つまり藻体基部への輸送は、生長あるいは個体維持に関わる窒素要求のための輸送であり、アミノ酸の輸送で特徴付けられた。一方、藻体先端部への輸送は無機窒素の輸送で特徴付けられる窒素同化のための輸送である。この体内窒素輸送機構は、自然環境下においても活発に働いている事が現場における組織切断実験により証明され、高窒素環境期においては、藻体基部及び先端部両方向への窒素輸送が活発に行われており、特に藻体先端部組織の切断除去が基部組織におけるC/N比の減少を招く事から、この時期先端部成熟部位は基部方向への炭素同化産物の供給源として窒素に比べ相対的に重要である事が分かった。また低窒素環境期においては、貯蔵窒素及び炭素の藻体基部方向への輸送が活発である事を明らかにした。

自然環境下におけるマコンブ胞子体の窒素代謝は、上述した窒素環境の変化に対応して、その卓越する代謝から以下の様に区分した。高窒素環境期においては NO_3^- 吸収・蓄積期に対応し、低窒素環境期に入ると貯蔵 NO_3^- 及びアミノ酸利用期へ変化する。この時期までは胞子体の高い生長が認められる。さらに低窒素環境が続いてくると胞子体内の窒素代謝は、先端部の異化代

謝に特徴づけられる異化（分解）・再利用期に移り，顕著な末枯れ現象が認められてくる。このような窒素代謝の変化を把握する際に，最大生長に関わる臨界窒素含量及び生存に関わる最低窒素含量は有用であり，マコンブ胞子体においては，乾重量ベースで各々2.4%，1.3%である事を示した。この2つの窒素含有量は，人為的生産及び品質管理の上からも良い指標であり，1.3%から2.4%の窒素含有量を保つ様な人為的管理が望まれる。この知見に基づき，低窒素環境期に行った栄養塩の施肥実験は，末枯れの抑制及び品質向上をもたらすことが分かった。

審査委員は，胞子体の組織間には異なった無機窒素の取り込み，同化及び異化活性と体内窒素輸送機構が相互に関係し合い，窒素環境の変化に適応し，生長あるいは個体維持をしている事を解明した点，及びマコンブ養殖の管理と品質向上に資するものである点を評価し，申請者が博士（水産学）の学位を受ける資格ありと判定した。