

スサビノリ *Porphyra yezoensis* 葉体によるアンモニア態 および硝酸態窒素の定速度取り込み

山本 民次*

愛知県水産試験場, 愛知県蒲郡市 443

1992年10月30日 受付

要 旨 安定同位体 ^{15}N を用いてスサビノリ葉体によるアンモニア態および硝酸態窒素の取り込み速度の時間的変化を調べた。両態窒素の取り込み速度は時間に依存せず一定で、外洋性の植物プランクトンで知られている「急速取り込み」は見られなかった。比取り込み速度はアンモニア態窒素が $0.0017 \cdot \text{h}^{-1}$ 、硝酸態窒素が $0.0002 \cdot \text{h}^{-1}$ であり、前者が8倍以上速く取り込まれることが示された。従って、ノリ養殖場における施肥には窒素源としてアンモニア態窒素を主体とした肥料が適していると言える。また、長期間にわたって作用し、植物プランクトンによる赤潮を誘発しない施肥の方法が望ましいことが示唆された。

キーワード：アンモニア, 硝酸, スサビノリ, ノリ, 無機窒素

緒 言

安定同位体 ^{15}N を使って植物体内の窒素代謝を明らかにしようとする試みは、陸上植物（イネ、大豆、トウモロコシなど）では1950年代から行われてきている（cf. 渋谷, 1980）。また、海産藻類では1960年代から主に植物プランクトンを対象として研究が進められ、これまで各種ごと、あるいは自然群集全体としての栄養塩摂取様式に関してデータの蓄積がなされてきている（e.g. DUGDALE and GOERING, 1967; EPPLEY and THOMAS, 1969; CARPENTER and GUILLAED, 1971; McCARTHY, 1981; McCARTHY, WYNNE and BERMAN, 1982; GLIBERT, BIGGS and McCARTHY, 1982）。ところが食用上有用なノリなどの大型藻類においては、筆者が知る限りでは、このたぐいの実験は行われていない。このことの原因としては、ノリを好んで食用とする国民が日本、中国、韓国くらいに限られるうえ、大型藻類研究者の近年における減少があげられよう。

ノリ葉体による無機窒素取り込みに関する従来の実験方法は、培養液に添加された無機窒素の減少量を比色法で測定するものであり（岩崎, 1965; 松原ら, 1965）、減少量を有意な差として検出するためには現場海水中ではありえないほど高濃度の窒素を含んだ培養液を用いて実験をしなければならなかった。一方、ここに紹介する安定同位体 ^{15}N を利用して窒素の取り込みを測定する方法は感度が高いため、現場海水中の無機窒素濃度で実験を行うことが容易である。従って、この方法によって得られる結果はノリ漁場における施肥の問題や、他の海産植物との無機窒素をめぐる競合の問題、とくにノリの色落ち時期における植物プランクトンとの競合の問題を論ずるうえで重要な示唆を与えてくれるものである。

材 料 と 方 法

実験には1985年5月に free-living の糸状体をカキ殻にもぐらせ、同年10月まで屋内の水槽で培養管理し、愛知県水産試験場尾張分場地先へ張り出して生長させたスサビノリ *Porphyra yezoensis* を用いた。

1986年2月14日に上記のノリ葉体をノリ網より採取し、 6 mm^{ϕ} （面積 0.28 cm^2 ）のポンチを用いて、葉体

の部位および個体にかかわらずランダムに打ち抜いた。川村 (1985) によれば、同一葉体の異なる部位による生長の違いには有意な差がないといわれている。また、葉体の違いが結果におよぼす影響を小さくするため、後で述べるように3枚の葉片をまとめて一試料として取り扱うことで平均化を行った。

これらの葉片を人工海水 (1ℓ の蒸留水に対して NaCl 31 g, MgSO₄·7H₂O 10 g, NaHCO₃ 0.05 g を溶解したもの; pH 8.0) に24時間浸漬した。これは第1点としてポンチによる切断のショックを軽減するためであり (月館, 1968), 第2点としてはノリ葉体の無機窒素の細胞内持ち分 (cell quota) を小さくするためである。第2点目の意味は、栄養塩類の取り込み速度が細胞内持ち分に依存すると言われているため (DROOP, 1968), 実験に先立ち細胞内持ち分を sterve させた状態に統一させておくためである。

300 ml の栓付き三角フラスコに ¹⁵NH₄Cl 溶液 (上述の人工海水に ¹⁵NH₄Cl を添加して 7.38 μg atN·ℓ⁻¹ としたもの) および K¹⁵NO₃ 溶液 (同様に 7.87 μg atN·ℓ⁻¹) をそれぞれ 200 ml 入れ、これに 6 mm^φ の葉片15枚ずつを入れた。これを約 11°C, 8000 lx で培養し、10, 30, 60, 90および120分後に3枚ずつ取り出して人工海水で十分に洗浄後、60°C で6時間乾燥させた。ただし、0分 (実験開始時) は取り込み“ゼロ”とした。なお、この実験は光合成の日周リズムを考慮して、明期である10時~12時に行った。

乾燥させた葉片を熊沢 (1980) の方法に従って処理し、N-15 アナライザー (日本分光 NIA-1 型) で得られる ²⁸N₂ と ²⁹N₂ ガスの輝線スペクトルにより、ノリ葉体中の ¹⁵N atom% を求めた。ノリ葉体に取り込まれた窒素全量 (¹⁴N+¹⁵N) は

$$n = N (A - a_0) / (a - A)$$

として算出した。ここで、

n : 実験時間中に増加したノリ葉片中の窒素量、

N : 実験開始時のノリ葉片中の窒素量

(ここでは CHN コーダーで得られた平均値, 50.4 mgN·g dry wt⁻¹; 山本, 1986),

a₀ : 自然界の ¹⁵N atom% (= 0.3663),

a : 試水に添加された ¹⁵N の atom% (ここでは99%のものを使用),

A : 実験後のノリ葉片中の ¹⁵N atom%,

である。

結果と考察

ノリ葉片に取り込まれた総窒素量は、アンモニア態および硝酸態双方において、時間とともに直線的に増加した (Fig. 1)。植物プランクトン、特に外洋性のそれはアンモニア態窒素を秒~分単位で急速に取り込む (rapid uptake or surge uptake) ことが知られており、生態学的見地から近年特に問題視されてきた (CONWAY, HARRISON and DAVIS, 1976; McCARTHY and GOLDMAN, 1979; GOLDMAN and GLIBERT, 1982)。外洋表層では植物プランクトンは常に貧栄養 (oligotrophic) な環境にさらされているため、アンモニア態窒素を急速に取り込むという特性は、種がそのような環境で生き残るために獲得した必要不可欠な能力であると考えられる。一方、富栄養 (eutrophic) の内湾域に生息するノリにおいては、溶存態無機窒素を急速に取り込むという特性はないということを Fig. 1 は示している。

同図からアンモニア態窒素、硝酸態窒素とも時間とともに取り込み速度が変化しないとみなして直線に回帰させ、その傾きから比取り込み速度を求めると、前者は 0.0017·h⁻¹、後者は 0.0002·h⁻¹ となり、スサビノリはアンモニア態窒素を硝酸態窒素の8倍以上の速度で取り込むことがうかがえる。従って、例えばノリ葉体の色落ちを緊急に回復させる目的で行う施肥においてはアンモニウム塩を用いるのが良いと言える。武居・宮沢 (1959) はアンモニア態窒素と硝酸態窒素 5 mgN·ℓ⁻¹ ずつ、松原ら (1965) は NH₄Cl 12 mgN·ℓ⁻¹+Na₂NO₃ 13 mgN·ℓ⁻¹、岩崎 (1965) は両態窒素 1 mgN·ℓ⁻¹ ずつの混合培養液中で、いずれもアンモニア態窒素が速く吸収されたことを報告している。アンモニア態窒素が硝酸態窒素に比べて速く取り込まれるという点では今回の実験結果と一致している。しかし、過去に行われたこれらの実験における無機

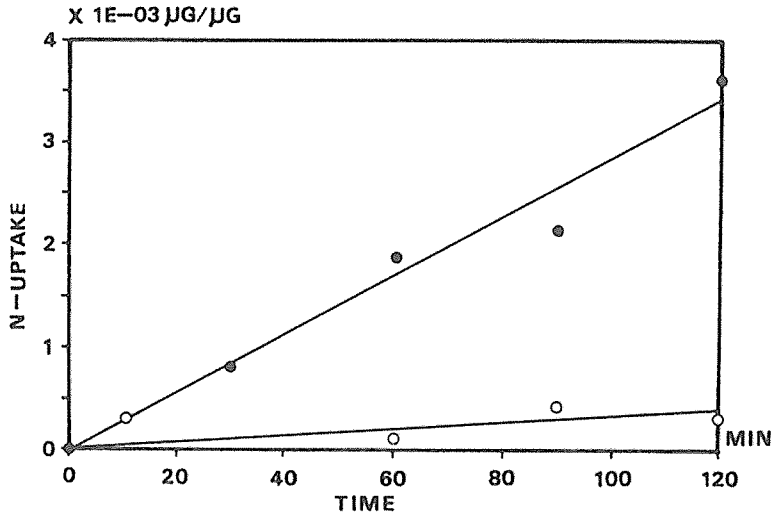


Fig. 1. Time changes in uptake of ammonia-N (●) and nitrate-N (○) by *Porphyra yezoensis* (11°C, 8,000 lx, ammonium-N 7.38 μg at · l⁻¹, nitrate-N 7.87 μg at · l⁻¹). Samples collected at 10 min for ammonia and at 30 min for nitrate could not be analyzed due to breakage of ampules.

窒素濃度は、分析法の感度が低いために現場海水ではありえないほど高く設定されており、取り込みに対して阻害作用が働いている可能性など別の要因も考えられる。従って、これらの結果と今回得られた結果を同じ次元で比較すること自体、無意味なことかもしれない。

ノリの製品としての品質向上のため、過去において水産試験場を中心に施肥試験が行われた。それらの結果からは、施肥によって品質が向上したと判断されたもの(寺島ら, 1966; 三宅・本田, 1967; 三宅ら, 1967), 逆に効果がなかったとされたもの(寺島ら, 1967)の双方があり、今だに明確な結論が得られていないように思われる。ただし、ノリ網を栄養塩類を溶解させた海水に浸漬させて葉体の生長を観察することで効果が判定した場合には、浸漬時間が長いもので効果が現れている(寺島・和田, 1966; 三宅ら, 1967)。このことは無機窒素の取り込み量が時間に依存して増加することを示すものであり、今回の実験結果をプリミティブな方法で違う角度から示したものと見える。今回の実験からも、逆にノリ網の短時間の浸漬ではその効果が期待できないことがわかる。従って、現実的に効果を生むためには、肥料玉や肥料を浸み込ませたロープの使用など長期にわたって作用するものの方が優れているといえよう。一方、現場海水に直接施肥を行うやり方は接触時間を長くとれないうえに肥料が無駄に拡散するので、ノリと植物プランクトンの無機窒素取り込みの特性の違いから (cf. 山本・高尾, 1988), 赤潮を誘発することにもなりかねず、内湾域の現在以上の富栄養化を進行させないためにも避けるべきであろう。

今回の結果は、従来明確な解答の得られなかった適切な肥料の種類や施肥の方法、あるいは他種海産藻類とくに植物プランクトンとの栄養塩をめぐる競合の問題などに対して有益な情報を与えてくれるものである。

謝辞 今回の実験を行うにあたり ¹⁵N の分析において御協力をいただいた東海区水産研究所海洋部の杉浦健三および佐々木克之両氏に深く感謝する。なお、本研究は昭和60年度水産庁指定調査研究総合助成事業「ノリ品質向上のための漁場行使に関する研究」の一部として行われたものである。

引用文献

- CARPENTER, E. J. and GUILLARD, R. R. L., 1971, Intraspecific differences in nitrate half-saturation constants for three species of marine phytoplankton. *Ecology*, 52: 183-185.
- CONWAY, H. L., HARRISON, P. J. and DAVIS, C. O., 1976, Marine diatoms grown in chemostats under silicate or ammonium limitation. II. Transient response of *Skeletonema costatum* to a single addition of the limiting nutrient. *Mar. Biol.*, 35: 187-199.
- DROOP, M. R., 1968, Vitamin B₁₂ and marine ecology. IV. The kinetics of uptake, growth and inhibition in *Monochrysis lutheri*. *J. mar. biol. Ass. U. K.*, 48: 689-733.
- DUGDALE, R. C. and GOERING, J. J., 1967, Uptake of new and regenerated forms of nitrogen in primary productivity. *Limnol. Oceanogr.*, 12: 196-206.
- EPPLEY, R. W. and THOMAS W. H., 1969, Comparison of half-saturation constants for growth and nitrate uptake of marine phytoplankton. *J. Phycol.*, 5: 375-379.
- GLIBERT, P. M., BIGGS, D. C. and McCARTHY, J. J., 1982, Utilization of ammonium and nitrate during austral summer in the Scotia Sea. *Deep-Sea Res.*, 29: 837-850.
- GOLDMAN, J. C. and GLIBERT, P. M., 1982, Comparative rapid ammonium uptake by four species of marine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 27: 814-827.
- 岩崎英雄, 1965, アサクサノリの生理・生態に関する研究. 広大水畜産学部紀要, 6: 133-211.
- 川村嘉広, 1985, 養殖ササビノリ幼葉の部位による成長について. 佐賀有明水試報, 9: 19-22.
- 熊沢喜久雄, 1980, 発光分光分析法による重窒素定量法. 重窒素利用研究法, 三井進午・吉川春寿・中根良平・熊沢喜久雄編, pp. 14-45, 学会出版センター.
- 松原孝之・三井所正英・平野哲美・中尾義房・宮崎征男・中島 浩, 1965, ノリ施肥試験-IV. 佐賀養殖試報, 3: 31-47.
- McCARTHY, J. J., 1981, Uptake of major nutrients by estuarine plants. In "Estuaries and Nutrients" (Neilson, B. J. and Cronin, L. E. eds.) pp. 139-163, The Humana Press.
- McCARTHY, J. J. and GOLDMAN, J. C., 1979, Nitrogenous nutrition of marine phytoplankton in nutrient-depleted waters. *Science*, 203: 670-672.
- McCARTHY, J. J., WYNNE, D. and BERMAN, T., 1982, The uptake of dissolved nitrogenous nutrients by Lake Kinneret (Israel) microplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 27: 673-680.
- 三宅与志雄・本田信夫, 1967, ノリの施肥に関する研究. 岡山水試事報, pp. 215-221.
- 三宅与志雄・本田信夫・星野 暹, 1967, のり肥培管理に関する研究. 木曾三川河口資源調査報告, 3: 23-40.
- 渋谷政夫, 1980, 農業試験研究における ¹⁵N の利用と展望. 重窒素利用研究法, 三井進午・吉川春寿・中根良平・熊沢喜久雄編, pp. 137-140, 学会出版センター.
- 寺島 朴・三宅与志雄・勝谷邦夫・山本喜久蔵, 1966, ノリ沖合養殖試験並びに施肥試験. 岡山水試事報, pp. 270-279.
- 寺島 朴・和田 功, 1966, 施肥時間がアマノリの生長に及ぼす影響について. 岡山水試事報, pp. 268-270.
- 寺島 朴・山本喜久蔵・勝谷邦夫・三宅与志雄・浮田和夫, 1967, ノリのべた流養殖ならびに施肥試験. 岡山水試事報, pp. 222-225.
- 月館潤一, 1986, ¹⁴C 吸収によるアサクサノリの光合成測定法. 東海水研研報, 55: 271-274.
- 山本民次, 1986, ノリ葉体によるアンモニアおよび硝酸の取り込み-反応速度論からのアプローチ (予報). 愛知水試研究業績 C しゅう, 68: 31-37.
- 山本民次・高尾允英, 1988, ササビノリ *Porphyra yezoensis* 葉体のアンモニア態窒素および硝酸態窒素の取り込みに及ぼす温度の影響. 藻類, 36: 37-42.

Constant Uptake of Ammonium-N and Nitrate-N by
Porphyra yezoensis Thalli.

Tamiji YAMAMOTO

Aichi Fisheries Research Institute, Gamagori, Aichi 443, Japan

*Present address: Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 724, Japan*

Time changes in uptake rates of ammonium-N and nitrate-N by *Porphyra yezoensis* thalli were determined using stable isotope ^{15}N . The uptake rates of both nitrogen forms were constant. The "rapid or surge uptake" which is reported for pelagic phytoplankton, was not observed in *P. yezoensis*. Specific uptake rates were $0.0017\cdot\text{h}^{-1}$ for ammonium-N and $0.0002\cdot\text{h}^{-1}$ for nitrate-N, which showed that the former is taken up 8 times faster than the latter. Therefore, it was suggested that ammonium-N is a suitable fertilizer as nitrogen source in the Nori cultural area. The desirable long-term effect of fertilization on *P. yezoensis* is also discussed.

Key Words: ammonia, inorganic nitrogen, laver, nitrate, *Porphyra yezoensis*