紅藻ス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

植木 知佳,^{1a*} 村上 明男,² 加藤 敏朗,³ 嵯峨 直恆,¹ 本村 泰三⁴

(2009年9月8日受付, 2010年2月3日受理)

¹北海道大学大学院水産科学研究院,

²神戸大学自然科学系先端融合研究環・内海域環境教育研究センター,

³新日本製鐵株式会社先端技術研究所,

⁴北海道大学北方生物圏フィールド科学センター室蘭臨海実験所

Effects of nutrient deprivation on photosynthetic pigments and ultrastructure of
chloroplasts in *Porphyra yezoensis*

CHIKA UEKI,^{1a*} AKIO MURAKAMI,² TOSHIAKI KATOH,³
NAOTSUNE SAGA¹ AND TAIZO MOTOMURA⁴

¹Faculty of Fisheries Sciences, Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido 041-8611, ²Research Center for Inland Seas, Kobe University, Awaji, Hyogo 656-2401, ³Advanced Technology Research Laboratories, Nippon Steel Corporation, Futtsu, Chiba 293-8511, ⁴Muroran Marine Station, Field Science for Northern Biosphere, Hokkaido University, Muroran, Hokkaido 051-0003, Japan

To understand the “chlorosis” in the thalli of *Porphyra yezoensis*, we examined the reduction of photosynthetic pigments and the changes in ultrastructures of cells and organelles. In two-week culture in the media without N, P or Fe, all thalli gradually discolored. Photosynthetic pigments (chlorophyll *a*, phycoerythrin and phycocyanin) extensively reduced, though the degree and the pattern of the reduction varied according to deprived nutrients. While the chloroplasts shrank due to the nutrient deprivation, the vacuoles swelled and the starch grains accumulated in cytoplasm.

キーワード：色落ち, クロロフィル *a*, スサビノリ, 生体吸収スペクトル, フィコエリスリン, フィコシアニン, フィコビリソーム, 葉緑体

緒 言

近年, ノリ養殖の現場となる日本の沿岸域の水質環境は, 大きく変化している。特に, 陸水の流入や降雨による栄養塩濃度の変化や海水温の上昇は, ノリ養殖に様々な影響を与えている。¹⁾ 国内のノリ養殖では紅藻スサビノリ *Porphyra yezoensis* Ueda が汎用されている。ノリ養殖海域での珪藻赤潮の大発生は海水中の栄養塩の急激な低下をもたらし, スサビノリ藻体の退色, いわゆるノリの「色落ち」を引き起こす。²⁻⁹⁾ ノリ養殖の現場海域

に臨む全国各地の水産試験場等では, 海水温, 栄養塩濃度, 珪藻赤潮 (*Chaetoceros* や *Eucampia*) の発生状況などの継時観測に基づいた赤潮発生の予測を行い, 色落ち被害の軽減に取り組んでいる。⁶⁻⁹⁾ これまでの研究から, スサビノリの色落ちは, 海水に溶存している窒素やリンなどの主要栄養素の不足が要因であることが明らかにされている。^{1,4,9,10)} しかし, 瀬戸内海と東京湾では律速となる栄養塩の種類が異なるなど, 色落ちの動態や発生機構も単純ではないと思われる。^{1,4,5,9-12)} さらに, 色落ちしたスサビノリの金属分析から, 鉄などの微量栄養

* Tel : 81-439-80-2111. Fax : 81-439-80-2740. Email : ueki.chika@nsc.co.jp

^a 現所属：新日本製鐵株式会社先端技術研究所 (Advanced Technology Research Laboratories, Nippon Steel Corporation, Futtsu 293-8511, Chiba, Japan)

素(微量金属)が減少していることも明らかにされ, 色落ちとの因果関係が議論されている。^{13,14)} 鉄は, 藻類の光合成系や呼吸系の構成成分であるとともに, 藻類の生長や代謝調節においても不可欠な栄養素である。¹⁵⁻²¹⁾

スサビノリをはじめとした紅藻は, 陸上植物や他の藻類と同様に酸素発生を伴う光合成を営んでいる。紅藻は, 光合成色素として, すべての光合成生物が共通に持つクロロフィル *a* やカロテノイドのほかに, フィコビルリン(フィコエリスリン, フィコシアニン, アロフィコシアニンの3種)を持つ。フィコビルリンは, 色素ビルリンが共有結合した水溶性色素タンパク質で, 細胞内では巨大な分子会合体であるフィコビルソームを形成し, チラコイド膜上に規則的に配置されている。²²⁾ 紅藻と同様のフィコビルリンを持つラン藻(シアノバクテリア)の培養実験から, 細胞全タンパク質の40%を占めるフィコビルリンは栄養飢餓時に窒素の供給源になることが示唆されており,^{23,24)} スサビノリ藻体の色落ち時にも同様の生理応答が起こることが想定される。また, スサビノリの色落ち時には, 細胞に1個ずつ含まれる葉緑体が顕著に縮小し, 一方で液胞が増大することが報告されている。²⁵⁻²⁸⁾ このように栄養欠乏時には光合成器官である葉緑体に大きな影響が生じていることは明らかである。色落ち時の光合成系への影響については, 有質による光合成色素の定量的な解析が既に報告されている。^{27,28)}

本研究では, ノリの色落ちの実態を解明することを目指し, 栄養欠乏下での培養によって色落ちさせたスサビノリ藻体を用いて, 光合成色素と葉緑体の微細構造への影響を定量的に解析した。藻体の吸収スペクトル解析には, 光学顕微鏡観察と分光測定が同時に行える顕微分光システムを採用した。また, 葉緑体をはじめとする細胞内のオルガネラの構造変化は透過型電子顕微鏡で観察した。窒素, リン, 鉄の各栄養素を欠乏させた培地で14日間培養した藻体について比較検討した結果を報告する。

試料および方法

培養株 本研究には北海道室蘭市チャラツナイ浜(42°19'N, 140°59'E)で2008年2月に採集したスサビノリ *Porphyra yezoensis* 配偶体を用いた。成熟藻体の縁辺部の一部を滅菌海水入りのシャーレに入れ, 14°Cの培養庫内で単胞子を放出させた。単胞子をパスツールピペットで単離し, PES(Provasoli's enriched seawater)培地²⁹⁾入り試験管(10 mL)に移し, 14°C, 長日条件(14 L : 10 D), 光量20~30 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で静地培養を行った。単胞子の発芽体はPES培地入り平底フラスコ(300 mL)に移し, 7日間の通気培養(培養条件は静地培養と同様)後に葉長約1 cmの藻体を選別し, 栄養欠乏実験に用いた。全ての栄養欠乏実験は, 2008年2月から継代培養した同一株で実施した。

栄養欠乏実験 前培養した葉長約1 cmの藻体5枚ずつを300 mLの培地を入れた平底フラスコに移し, 14日間の通気培養を行った。栄養欠乏実験に用いた培地は, 合成培地 ASP₁₂-NTA(人工海水),³⁰⁾ PES培地(栄養塩添加海水), PES原液から窒素源であるNaNO₃を除いたもの(N-free PES), リン源であるグリセロリン酸ナトリウムを除いたもの(P-free PES), 鉄源を除いたもの(Fe-free PES)および栄養塩を添加していない天然ろ過滅菌海水(SW)の6通りである。

栄養欠乏実験に伴う藻体の生長と色調の変化は, 培養開始時(0日目)と終了時(14日目)にデジタルカメラ(オリンパス社製, E-520)で記録した。細胞の透過像および葉緑体のクロロフィル自家蛍光像は落射型蛍光顕微鏡(オリンパス社製, BX50-FLA, UV励起, 波長330~380 nm)で観察した。顕微鏡写真はデジタルCCDカメラ(カールツァイス社製, アキシオカムHRc)で撮影し, アキシオヴィジョン4.5(カールツァイス社製)を用いて画像データとした。

光合成色素の組成や含量の変化を測定するため, マルチチャンネルフォトダイオードアレイ検出器(浜松フォトニクス社製, PMA-11)を光ファイバーで顕微鏡(オリンパス社製, BX-11)に連結させた顕微分光装置を用い, 生体吸収スペクトルを測定した。吸収スペクトルは, 藻体を2枚重ねにして測定し, 20回の測定の加算平均値として示した。

透過型電子顕微鏡(日本電子社製, JEM-1011)による細胞微細構造の観察では, Ueki *et al.*^{31,32)}の方法をもとに急速凍結置換法で処理した試料を用いた。電子顕微鏡写真を用い, フィコビルソームのサイズ(幅と高さ)と分布密度(チラコイド膜長当たりの数)は, 各藻体5細胞以上(n)について計10箇所以上を計測した。得られた測定値の有意差はt検定で確認した($p > 0.01$, $n = 6 \sim 11$)。

結 果

栄養欠乏時の藻体の変化 スサビノリ藻体の14日間の培養期間における藻体全体と細胞(栄養細胞)の変化をFig. 1に示した。有性生殖細胞の形成により藻体の一部が崩れることが多かったため, 藻体の生長を正確に比較することは困難であった。しかし, 各栄養素(窒素, リン, 鉄)を欠乏させた培地も含め全ての培地条件で, 藻体は約1.5~2倍(葉長)に生長したことが確認された。藻体の色調の変化(色落ち)については, 5回の栄養欠乏実験において高い再現性が得られた(Fig. 1)。

栄養欠乏実験のコントロール培地として用いたASP₁₂-NTAとPESでは, 藻体の色調は培養期間を通してほとんど変化せず, 野外で生育している自然藻体同様に濃い赤茶色を維持した(Fig. 1A-1, 2, B-1, 2)。ま

Fig. 1 Effect of nutrient deficiency on the growth of thalli and chloroplasts of *Porphyra yezoensis*. Gametophytic thalli (0 day; A, B, C, D, E, F-1, 14 days; A, B, C, D, E, F-2). Light microscopic images (DIC; A, B, C, D, E, F-3, 5), chloroplast autofluorescence images (A, B, C, D, E, F-4), and sections of each thallus (A, B, C, D, E, F-5). A: PES, B: ASP₁₂-NTA, C: SW, D: N-free PES, E: P-free PES, F: Fe-free PES.

た、葉緑体は個々の栄養細胞の中央から細胞全体に広がるように発達した様子が、顕微鏡の明視野像（表面および縦断面）とクロロフィルの自家蛍光像から示された（Fig. 1A-3-5, B-3-5）。

栄養成分を添加していない SW（天然ろ過滅菌海水）で培養した藻体は、本実験の中で最も顕著な退色（色落

ち）を示し、緑色を帯びた薄茶色を呈した（Fig. 1C-1, 2）。明視野像およびクロロフィル自家蛍光像からは、葉緑体の縮小と液胞の増大が観察された（Fig. 1C-3-5）。PES から窒素源のみを除いた N-free PES では、SW の場合と同様の退色（薄茶色）（Fig. 1D）と葉緑体の縮小が観察された（Fig. 1D-3-5）。一方、リン源を除いた P

Fig. 2 Absorption spectra of the 14-days cultured thalli of *Porphyra yezoensis* in the nutrient deficient media (A: PES, B: ASP_{12} -NTA, C: SW, D: N-free PES, E: P-free PES, F: Fe-free PES).

Fig. 3 Changes of the absorption spectra of thalli cultured in nutrient deficient media (A: SW, B: N-free PES, C: P-free PES, D: Fe-free PES).

-free PES 培地の藻体は、コントロール培地の藻体と類似した淡い赤茶色を呈したが、葉緑体は縮小した (Fig. 1E)。また、鉄源を除いた Fe-free PES では、コントロールと比較して鮮やかな赤色に変化したものの、葉緑体の縮小はわずかであった (Fig. 1F)。本実験では、窒素、リン、鉄を除いた各培地において、葉緑体の色調の

変化とサイズの縮小および液胞の膨潤が共通の細胞応答として確認された。このほかにも、程度の差はあるものの、細胞間隙の拡大が共通して観察された。その一方、細胞のサイズや形態には、いずれの培地条件でも有意な変化は認められなかった (Fig. 1C-F)。

光合成色素の変化 次に、栄養欠乏時にスバビノリ藻

Fig. 4 Ultrastructural images of *Porphyra yezoensis* cultured in PES (A, B), N-free PES (C, G–I), P-free PES (D, E), and Fe-free PES (F). A: Vegetative cell in PES thallus, which has one chloroplast containing pyrenoid (Py), nucleus (N) with nucleolus (Nu), and mitochondria (M). B, C, E, F: High magnification of the thylakoids, on which phycobilisomes (arrows) are arranged. D: Deep invagination of the plasma membrane is characteristic in P-free PES thalli. Mitochondria (M) and Golgi bodies (G) do not change in the nutritional experiments. G: Chloroplast in N-free PES thalli is frequently observed with the irregular fusion of the thylakoids (arrows). Many floridean starch grains (S) are filled in the cytoplasm. H: Nucleus in N-free PES cell has a small nucleolus. I: High magnification of the arrow region in (H) shows the restricted interspace of the thylakoids.

体で起こる色調の変化を光合成色素の組成と含量の変化として定量的に示すため、藻体組織の可視光域 (400～750 nm) の生体吸収スペクトルを顕微分光装置で測定した。各培地で 14 日間培養した藻体 (Fig. 1) の生体吸収スペクトルを Fig. 2 に示した。各吸収スペクトルの 4 つの吸収極大波長は、それぞれクロロフィル *a* (679 nm), フィコシアニン (620 nm), フィコエリスリン (494, 566 nm) 由来の吸収帯を示す (Fig. 2A)。また、吸収極大波長での吸光度値 (A_{566} , A_{620} , A_{679}) は、各光合成色素の含量を反映している。

退色が顕著であった SW および N-free PES の藻体をコントロール培地 (PES, ASP₁₂-NTA) の藻体と比較すると、14 日後にはスペクトル全体にわたり吸光度の著しい低下が見られ、SW では約 90%, N-free PES では約 80% の色素が消失した (Fig. 2A, B vs C, D)。また、P-free PES および Fe-free PES では、クロロフィ

ル *a* (679 nm) の約 70% が消失した。一方、フィコシアニン (620 nm) とフィコエリスリン (566 nm) の消失は、P-free PES (約 80%) と Fe-free PES (約 75%) で若干の差異が認められた (Fig. 2E, F)。

次に、培養前期と後期で退色の程度を調べたところ、SW, N-free PES, Fe-free PES の培地条件では、培養期間の前期 (0～7 日) に顕著な退色が見られた (7 日目で 50% 以上の減少)。これに対して、P-free PES では培養前期の退色の程度は小さく、培養後期 (8～14 日) になって急激な退色が生じた。培養前期と後期の吸収スペクトルを比較すると、各栄養素の欠乏により光合成色素の分解に与える影響が異なることが示唆された (Fig. 3)。

また、Fig. 2 で示した結果をもとに、フィコエリスリン (A_{566}) とクロロフィル *a* (A_{679}) の吸光度比、すなわち相対含量 (A_{566}/A_{679}) を比較したところ、P-free

PES ではコントロール培地と変わらなかった ($A_{566}/A_{679} \approx 1.0$)。一方, N-free PES では, $A_{566}/A_{679} \approx 0.75$, そして Fe-free PES では, $A_{566}/A_{679} \approx 1.3$ と顕著な差が見られた。これは, 栄養欠乏時におけるフィコビリリンとクロロフィル *a* の分解制御などの生理応答が異なることを示している。

葉緑体等の細胞微細構造の変化 スサビノリ細胞の微細構造を透過型電子顕微鏡で観察したところ, 栄養欠乏は葉緑体の縮小だけにとどまらず, 葉緑体内部の微細構造にも様々な影響を与えていることが確認された (Fig. 4A-C, E-I)。コントロール培地 (PES) で培養した藻体では, 何重ものチラコイド膜が葉緑体中央のピレノイドを取り囲むように発達している様子が観察された (Fig. 5A)。フィコビリソームは半球ドーム状 (高さ約 30 nm, 幅約 23 nm) の均一な形状を示し, チラコイド膜上で規則的 (約 20 nm 間隔) に配列する様子が観察された。隣接するチラコイド膜上で対峙するフィコビリソームはかみ合うように配置されていた (Fig. 4B)。

N-free PES では, フィコビリソームの形が不鮮明な像になり, チラコイド膜上での配列も不規則になった (Fig. 4C)。一方, P-free PES および Fe-free PES におけるフィコビリソームは明瞭な像として観察されたが, 配列は不規則になり, コントロール培地のように対峙するチラコイド膜で交互にかみ合うように配置する様子は観察されなかった (Fig. 4E, F)。

このほかの葉緑体の変化として, 栄養欠乏藻体ではチラコイド膜が不規則に融合する像が観察され, さらに, チラコイド膜間隔の狭隘化やチラコイド膜のピレノイド内への陥入などの変異も見られた (Fig. 4A, G)。特に, N-free PES の藻体においてチラコイド膜間の狭隘化が顕著であった (Fig. 4H, I)。また, Fe-free PES ではチラコイド膜自体が不鮮明な像として観察された (Fig. 4D, F)。

葉緑体以外の細胞内小器官への栄養欠乏の影響として, N-free PES の細胞における核小体の縮小 (Fig. 4H), P-free PES での細胞膜の細胞質側への深い陥入が頻繁に観察された (Fig. 4D)。窒素, リン, 鉄の 3 種の栄養欠乏に共通した影響として, 液胞の膨潤と細胞質内でのデンプン粒の増加が見られた (Fig. 4G)。一方, ゴルジ体やミトコンドリアなどでは, 栄養欠乏の影響は全く観察されなかった (Fig. 4D)。

電子顕微鏡像をもとにフィコビリソームのサイズと分布を定量的に比較した。フィコビリソームの幅(最大値)は, コントロール培地の細胞 (30.47 ± 2.08 nm) と比べて, N-free PES (22.52 ± 3.44 nm), P-free PES (25.39 ± 2.97 nm), Fe-free PES (25.19 ± 1.96 nm) で, 共に有意に縮小していた (Fig. 5A, $p > 0.01$)。また, フィコビリソームの高さ (チラコイド膜からの高さ) は,

Fig. 5 Size (A) and density (B) of phycobilisomes of the thalli cultured in the nutrient deficient media. Asterisks show significant differences compared with PES. Vertical bars indicate standard deviation ($n=6-11$).

コントロール培地 (23.26 ± 2.35 nm), N-free PES (19.90 ± 3.24 nm) 間では有意差は得られなかったが, コントロール培地と P-free PES (19.38 ± 1.46 nm), コントロール培地と Fe-free PES (18.00 ± 2.47 nm) では, それぞれコントロール培地よりも有意に縮小することが示された (Fig. 5A, $p > 0.01$)。フィコビリソームの分布密度 (チラコイド膜の長さ当たりの粒子数) に関しては, N-free PES (10.31 ± 1.57 particles/μm) でコントロール培地 (14.15 ± 1.31 particles/μm) よりも有意に低下したが, P-free PES (13.31 ± 0.91 particles/μm), Fe-free PES (13.70 ± 1.20 particles/μm) ではコントロール培地と比較して有意差は得られなかった (Fig. 5B, $p > 0.01$)。

考 察

本研究で使用したスサビノリの培養液は, 人工合成培地である ASP₁₂-NTA 以外は, 天然海水をろ過滅菌して各原液を添加している。したがって, 添加した栄養成分から窒素, リン, 鉄を除去した場合でも, もともと海水中に含まれる濃度の栄養成分は保持されている。しかし, 栄養欠乏実験では, 光合成色素の量や葉緑体の微細構造において, 色落ちに特徴的な変化が再現性良く観察された。

今回, 実験室内で得られた色落ち藻体 (N-free PES,

P-free PES, Fe-free PES) において、葉緑体の縮小、液胞の膨潤、細胞間隙の拡大、そしてデンプン粒の増加が共通の現象として観察された。これらの特徴は、有質による養殖ノリでの観察結果を裏付けている。^{27,28)} 同様の变化は、単細胞紅藻の *Porphyridium purpureum*³³⁾ やクリプト藻 *Cryptomonas maculata*³⁴⁾ などにおいても報告されている。デンプン粒の蓄積は、栄養欠乏応答での共通の現象であると考えられる。

栄養欠乏が及ぼすフィコビリソームの構造への影響については、*P. purpureum*³³⁾ および *Chondrus crispus*³⁵⁾ において窒素欠乏についてのみ報告されている。本研究では N-free PES, P-free PES, Fe-free PES の 3 種の培地で比較を行い、いずれの場合もフィコビリソームの縮小を観察することができた。N-free PES では、フィコビリソームの分布密度も大幅に減少した。窒素欠乏下でフィコビリ色素が急速に減少することはラン藻ならびにいくつかの紅藻において報告されており、^{23,24,33,36)} フィコビリタンパク質が栄養飢餓時における窒素源のプールとして機能すると考えられている。スサビノリの生体吸収スペクトルの解析結果から、フィコビリソーム構造体の周辺部を構成するフィコエリスリンが優先的に減少することが示唆され、ラン藻の栄養欠乏実験での結果と同様であった。²³⁾ しかし、窒素飢餓時にフィコビリソームの分解に関わるラン藻の遺伝子 (*nblA*) と相同であると推定されたスサビノリのホモログ遺伝子 (*ycf18*) は、異なる生理機能を持つことが示唆されており、³⁷⁾ 今後、解析を進める必要がある。

栄養欠乏藻体の電子顕微鏡観察から、葉緑体の構造変化は、各欠乏栄養素に特異的に起こるものではなく、光合成色素の減少に伴って起こる共通的な現象と考えられる。栄養欠乏時のスサビノリ葉緑体の縮小は、フィコビリソームの縮小/分解、チラコイド膜のピレノイド内部への陥入、チラコイド膜の不規則な融合などの多岐にわたるプロセスが複雑に関与することが示唆された。また、栄養飢餓による光合成活性の低下は様々な紅藻で明らかにされており、^{33,38,39)} スサビノリにおいても葉緑体の縮小に伴って光合成活性が低下すると考えられる。

紅藻 *C. crispus* では、リン欠乏下であっても光合成活性や光合成色素量はほとんど変化しないが、細胞壁成分(カラゲナン)や貯蔵物質(デンプン粒)などの糖関連の代謝系が抑制されることから、細胞の炭素代謝フラックスがリンによって影響を受けると考えられる。^{33,40)} スサビノリにおいて、リン欠乏による色落ちが、窒素や鉄の欠乏の場合とは異なる様相を示したことからも、糖代謝なども色落ちに関与するものと思われる。

鉄は光合成生物において重要な機能を有しているが、Fe-free PES でのスサビノリ藻体の色落ちでは、クロロフィル *a* およびフィコビリ色素の合成抑制にも関与す

ると考えられる。^{41,42)} また、PES と同量の窒素源を含む Fe-free PES では、フィコビリソームの窒素源としての分解・再利用は不要なため、結果的にクロロフィル *a* が優先的に減少したと考えられる。

本報告では、栄養欠乏ストレスに対するスサビノリ藻体の生理応答の一端を紹介した。各栄養素の欠乏が光合成色素や葉緑体構造に及ぼす影響が異なることを明らかにした。色落ち機構の全貌を解明するためには、まだ解決すべきことが多く残されている。最近、植物細胞の栄養飢餓応答で注目されているオートファジー⁴³⁾ は、ノリの色落ちにも深く関与している可能性が高いと考えられる。今後も様々な手法を駆使して、水産学や沿岸環境の問題となっているノリの色落ちの実態を明らかにしていく必要がある。

謝 辞

神戸大学自然科学系先端融合研究環・内海域環境教育研究センター内田博子氏には、スサビノリ藻体の顕微分光測定に当たりご協力いただいた。本研究の一部は、文部科学省の 21 世紀 COE プロジェクト(海洋生命統御による食糧生産の革新)および科学研究費補助金(学術創成研究:地球環境を支える光合成酵素発生源の解明—反応機構、獲得、継承)からの助成によるものであり、ここに記して御礼申し上げる。

文 献

- 1) 藤原建紀, 渡邊康憲, 樽谷賢治編. 海の貧栄養化とノリ養殖. 海洋と生物 2009; **181**: 111-172.
- 2) 永田誠一, 名角辰郎, 中谷明泰, 鷲尾圭司, 眞鍋武彦. 近年の播磨灘主要ノリ漁場の環境調査結果. 兵庫水試研報 2001; **36**: 59-73.
- 3) 渡辺康憲, 川村嘉広, 半田亮司. ノリ養殖と栄養塩ダイナミクス. 沿岸海洋研究 2004; **42**: 47-54.
- 4) 松岡 聡, 吉松定昭, 小野 哲, 一見和彦, 藤原宗弘, 本田恵二, 多田邦尚. 備讃瀬戸東部(香川県沿岸)におけるノリ色落ちと水質環境. 沿岸海洋研究 2005; **43**: 77-84.
- 5) 大山憲一, 吉松定昭, 本田恵二, 安部亨利, 藤沢節茂. 2005 年 2 月に播磨灘から備讃瀬戸に至る香川県沿岸域で発生した大型珪藻 *Chaetoceros densus* のブルーム: 発生期の環境特性とノリ養殖への影響. 日水誌 2008; **74**: 660-670.
- 6) Hodgkiss IJ, Ho KC. Are changes in N : P ratios in coastal waters the key to increased red tide blooms? *Hydrobiologia* 1997; **352**: 141-147.
- 7) 西川哲也. ノリの色落ち原因藻 *Eucampia zodiacus* の増殖に及ぼす水温, 塩分および光強度の影響. 日水誌 2002; **68**: 356-361.
- 8) 西川哲也, 堀 豊. ノリの色落ち原因藻 *Eucampia zodiacus* の増殖に及ぼす窒素, リンおよび珪素の影響. 日水誌 2004; **70**: 31-38.
- 9) 西川哲也, 堀 豊. ノリの色落ち原因藻 *Coscinodiscus wailesii* の増殖に及ぼす窒素, リンおよび珪素の影響. 日水誌 2004; **70**: 872-878.
- 10) 石井光廣, 長谷川健一, 松山幸彦. 東京湾のノリ生産に

- 影響を及ぼす環境要因：栄養塩の長期変動および最近の珪藻赤潮発生. 水産海洋研究 2008; **72**: 22–29.
- 11) 川口 修, 山本民次, 松田 治. 有明海熊本沿岸におけるノリ不作年度の水質環境の特徴. 海の研究 2002; **11**: 543–548.
 - 12) 中嶋雅孝, 横山佳裕, 内田唯史, 中野拓治, 中西 弘. 有明海における冬季のノリ及び赤潮プランクトンの増殖特性. 水環境学会誌 2005; **28**: 339–345.
 - 13) 飯森啓生, 磯部敏幸. 有明海における海苔の色落ち現象と海水中金属元素の影響. 分析化学 2006; **55**: 999–1002.
 - 14) Zhang J, Nagahama T, Ohwaki H, Ishibashi Y, Fujita Y, Yamazaki S. Analytical approach to the discoloration of edible laver “*nori*” in the Ariake Sea. *Anal. Sci.* 2004; **20**: 37–43.
 - 15) McLachlan J. Effects of nutrients on growth and development of embryos of *Fucus edentatus* Pyl. (Phaeophyceae, Fucales). *Phycologia* 1977; **16**: 329–338.
 - 16) Motomura T, Sakai Y. Effect of chelated iron in culture media on oogenesis in *Laminaria angustata*. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 1981; **47**: 1535–1540.
 - 17) Motomura T, Sakai Y. Regulation gametogenesis of *Laminaria* and *Desmarestia* (Phaeophyta) by iron and boron. *Jpn. J. Phycol.* 1984; **32**: 209–215.
 - 18) Doucette GJ, Harrison PJ. Aspects of iron and nitrogen nutrition in the red tide dinoflagellate *Gymnodinium sanguineum*. I. Effects of iron depletion and nitrogen source on biochemical composition. *Mar. Biol.* 1991; **110**: 165–173.
 - 19) Suzuki Y, Kuma K, Kudo I, Matsunaga K. Iron requirement of the brown algae *Laminaria japonica*, *Undaria pinnatifida* (Phaeophyta) and the crustose coralline alga *Lithophyllum yessoense* (Rhodophyta), and their competition in the northern Japan Sea. *Phycologia* 1995; **34**: 201–205.
 - 20) Naito K, Matsui M, Imai I. Ability of marine eukaryotic red tide microalgae to utilize insoluble iron. *Harmful Algae* 2005; **4**: 1021–1032.
 - 21) Geider RJ, Roche JL, Greene RM, Olaizola M. Response of the photosynthetic apparatus of *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae) to nitrate, phosphate, or iron starvation. *J. Phycol.* 1993; **29**: 755–766.
 - 22) 三室 守, 村上明男, 菊池浩人. シアノバクテリアの集光性超分子会合体, フィコビリソーム. 蛋白質 核酸 酵素 1997; **42**: 2613–2625.
 - 23) Allen MM, Hutchison F. Nitrogen limitation and recovery in the cyanobacterium *Aphanocapsa* 6308. *Arch. Microbiol.* 1980; **128**: 1–7.
 - 24) Grossman AR, Schaefer MR, Chiang GG, Collier JL. Environmental effects on the light-harvesting complex of cyanobacteria. *J. Bacteriol.* 1993; **175**: 575–582.
 - 25) Amano H, Noda H. Effect of nitrogenous fertilizers on the recovery of discoloured fronds of *Porphyra yezoensis*. *Bot. Mar.* 1987; **30**: 467–473.
 - 26) 坂口研一, 落合 昇, Park CS, 柿沼 誠, 天野秀臣. 色落ちノリの色調評価と硫酸アンモニウム添加海水への浸漬による色調回復. 日水誌 2003; **69**: 399–400.
 - 27) 有賀祐勝. 養殖海苔の色調. 私達の海苔研究 1974; **23**: 1–14.
 - 28) 有賀祐勝. スサビノリの色調と色素. 遺伝 1980; **34**: 8–13.
 - 29) Provasoli L. Media and prospects for the cultivation of marine algae. In: Watanabe A, Hattori A (eds). *Culture and Collection of Algae. Proc. U. S.-Japan Conf., Hakone, Sept. 1966*, Jpn. Soc. Plant Physiol., Kyoto. 1968; 63–75.
 - 30) Provasoli L. Growing marine seaweeds. In: DeVerville AD, Feldmann J (eds). *Proc. IVth Internat. Seaweed Symp. 1961*, Pergamon Press, Oxford. 1963; 9–17.
 - 31) Ueki C, Nagasato C, Motomura T, Saga N. Reexamination of the pit plugs and the characteristic membranous structures in *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta). *Phycologia* 2008; **47**: 1–5.
 - 32) Ueki C, Nagasato C, Motomura T, Saga N. Ultrastructure of mitosis and cytokinesis during spermatogenesis in *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta). *Bot. Mar.* 2009; **52**: 129–139.
 - 33) Levy I, Gantt E. Development of photosynthetic activity in *Porphyridium purpureum* (Rhodophyta) following nitrogen starvation. *J. Phycol.* 1990; **26**: 62–68.
 - 34) Rhiel E, Morschel E, Wehrmeyer W. Correlation of pigment deprivation and ultrastructural organization of thylakoid membranes in *Cryptomonas maculata* following nutrient deficiency. *Protoplasma* 1985; **129**: 62–73.
 - 35) Chopin T, Gallant T, Davison I. Phosphorus and nitrogen nutrition in *Chondrus crispus* (Rhodophyta): Effects on total phosphorus and nitrogen content, carrageenan production, and photosynthetic pigments and metabolism. *J. Phycol.* 1995; **31**: 283–293.
 - 36) Dupre C, Guary J-C, Grizeau D. Effects of photon fluence rate, nitrogen limitation and nitrogen recovery on the level of phycoerythrin in the unicellular alga, *Rhodospirillum rubrum* (Rhodophyceae). *Physiol. Plant.* 1994; **92**: 521–527.
 - 37) Kawakami T, Sakaguchi K, Takechi K, Takano H, Takio S. Ammonium induced expression of the red algal chloroplast gene *Ycf18*, a putative homolog of the cyanobacterial *Nb1A* gene involved in nitrogen deficiency-induced phycobilisome degradation. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2009; **73**: 740–743.
 - 38) Lapointe BE, Duke CS. Biochemical strategies for growth of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyta) in relation to light intensity and nitrogen availability. *J. Phycol.* 1984; **20**: 488–495.
 - 39) Vergara JJ, Niell FX. Effects of nitrate availability and irradiance on internal nitrogen constituents in *Corallina elongata* (Rhodophyta). *J. Phycol.* 1993; **29**: 285–293.
 - 40) Chopin T, Hanisak MD, Koehn FE. Effects of seawater phosphorus concentration on floridean starch content in *Agardhiella subulata* (C. Agardh) Kraft et Wynne (Rhodophyceae). *Bot. Mar.* 1991; **34**: 369–373.
 - 41) Spiller SC, Castelfrance AM, Castelfranco PA. Effects of iron and oxygen on chlorophyll biosynthesis. *Plant Physiol.* 1982; **69**: 107–111.
 - 42) Lobban CS, Harrison PJ. *Seaweed Ecology and Physiology*. Cambridge University Press, New York. 1994.
 - 43) Wada S, Ishida H, Izumi M, Yoshimoto K, Ohsumi Y, Mae T, Makino A. Autophagy plays a role in chloroplast degradation during senescence in individually darkened leaves. *Plant Physiol.* 2009; **149**: 885–893.