ノリ葉体の生長に及ぼすアミノ酸等の効果—I.

アミノ酸のとりこみと生長促進効果*

今田 克・斎藤 祐一

(1971 年 7 月 5 日受理)

Effect of Amino Acids on the Growth of Laver—I.

Amino Acids Uptake and their Growth Promotive Effect on Laver

Osamu IMADA and Yuichi SAITO**

1. Various kinds of amino acids were added to the culture medium and its effect on the growth of red alga, *Porphyra*, were examined. From the results obtained the amino acids have been grouped as follows.

1) Highly promotive; L-arginine, DL-tryptophane, L-tyrosine, L-leucine.

2) Somewhat promotive; L-cystine, L-aspartate, L-threonine, L-phenylalanine, L-ornithine, L-lysine.

3) No effect; L-glutamate, L-alanine, L-isoleucine, glycine, β -alanine.

2. The uptake of L-tyrosine, L-lysine, L-glutamate, urea or glucose by fronds was measured using ^{14}C labeled compounds. Urea and the amino acids were incorporated into the fronds during day light period and there appeared a close interaction of uptake and photosynthesis. However glucose was only incorporated during the dark period.

ノリ葉体の生長に対して各種の栄養物を施用し、その生長を助け、促進する試みはいくつも試みられ、それぞれの効果を上げている。例えば窒素を主成分とした肥料の海面散布はかなり大規模に国家の実験研究として行なわれている¹⁾。一方アミノ酸類の施用実験は、金沢 (昭和 33 年) のアミの酸混液²⁾、寺本 (昭和 36 年) のグリシン等を施用する特許³⁾、熊本県ノリ研究所の昭和 37~39 年にわたる実験^{4,5)}、大分県水試高田分場の昭和 38~39 年の追試⁶⁾などが上げられ、数種のアミノ酸がノリの生長、特に幼芽期の生長促進に関係のあることが認められている。

アミノ酸の中の特定のものが高等植物の生理に関与していることは例えば発芽機序に対するチロシン、チロシナーゼの関係⁷⁾や、トリプトファンと IAA の関係などで示される通りであり、藻類に関しても、*Chlorella* を用いていくつかの報告があるが⁸⁾、紅藻類のノリに対してこの検討を成された報告はない。

紅藻類は光合成機序も緑色植物と異なり、特に光合成系 II を構成する色素がフィコビリンで、これに共軛してチトクローム系酵素群が存在するといわれるが⁹⁾、これらとアミノ酸類の関連は興味ある問題である。また藻類の従属栄養的培養は *Chlorella*, *Scenedesmus* などで試みられているが、ノリの如き原始紅藻類においてはその可否はまだ定かでない。有機栄養源のとりこみがノリ葉体において可能なのか、またそれらは独特の生理作用を有するか等の問題も併わせ考えると興味深い問題である。本報告はアミノ酸を中心として糖、尿素などのとりこみと、施用効果の有無などを ^{14}C を有する化合物を用いて検討したものである。

* 本報告は昭和 42 年 4 月および 45 年 4 月日本水産学会年会で講演したものである。

** 協和醸酵工業 (株) 東京研究所 (Kyowa Hakko Kogyo Co. Ltd Tokyo Research Laboratory, Machida, Tokyo, Japan.)

Fig. 1. Structure of culture vessel.

Fig. 2. Structure of Photometer (water proof and detector for all round direction's light).

実験方法

1. 施用培養実験 アミノ酸の各種のものの施用効果を判定するため、培養液にこれを添加しさらには一定時間浸漬する方法を採った。以下に詳細を示す。

試料 供試ノリ単胞子は当研究所内で培養成熟させたアサクサノリ *Porphyra tenera* 糸状体を用い低温短日処理後5~7日目に放出したものを使用し、1槽(容量2l)当り 10^5 個程度とした。放出胞子の着生担体は珪藻土、PVA 繊維末等の粉体を用いた。

装置 使用せる槽の構造は Fig. 1 に示す通りで、これに通気 1 l/min を底部のエアストーンを介して明期には 0.05% の CO_2 ガスを混じて供給した。槽内の液流動は鉄板腐蝕減量法¹⁰⁾によると 20~25 cm/sec. ガス供給速度はポーラログラフ式溶存酸素メーター (Beckman 社 Model 777 型 Au-AgCl 電極) により 1.25 ml/atm min であった。

照明 光源は白色蛍光灯を用い照度

Fig. 3. Photometer's properties about light direction.

Table 1. Composition of artificial sea water.

Reagent	Composition (g/l Resin water)
NaCl	24.00
MgSO ₄ ·7H ₂ O	8.00
KCl	0.75
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.40
NaHCO ₃	0.20
H ₃ BO ₃	0.01
C·T·M soln.*	2.5 ml
NP soln.**	5.0 ml
Total	1 litter

* Composition of C·T·M soln.

Reagent	Composition (g/l Resin water)
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	3.040
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.800
MnSO ₄ ·nH ₂ O	0.320
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.160
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.080
CoSO ₄ ·7H ₂ O	0.032
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.008

** Composition of NP soln.

Reagent	Composition (g/l Resin water)
NaNO ₃	67
NaHPO ₄ 12H ₂ O	16

は常に 5 Klux あるいは 9 Klux を採用し、明期を AM 9~PM 5 の 8 時間とした。照度はノリ葉体の存在する水中で実測したが、使用照度計は水中平均照度計とも称するもので、概略を Fig. 2 に示す。本計器はあらゆる方向からの光に対しほぼ均一な受光特性を有し (Fig. 3) かつ水中で使用可能なので、葉体の培養濃度、水面器壁による反射、散乱による誤差を除外しうる。

温度 一般にノリの生長が徐冷温度勾配下にもつとも順調とされているので、日令 0~15 日 16°~18°C, 日令 16~25 日 14°~19°C, 日令 26~40 日 11°~13°C の如く計画した。

培養液 使用海水はプロバゾリーの処方による ASP-6 を一部改変した組成で、Table 1 にその内容を示す。調製用試薬は市販試薬特級を用い、対象としたアミノ酸は 21 種で主として L 型を選んだ。

培養期間 単孢子より発芽せるノリ葉体は 25 日で充分肉眼で識別できる寸法に達し、25 日以降

Fig. 4. Daily growth rate of frond (*Porphyra tenera*).**Table 2.** Scheme of nutrient incorporation test used ¹⁴C labeled compounds.

Test No	Age of test frounds (days)	Tested reagent properties				Tested concentration is sea water			
		Reagent name	Mole weight (ratio)*	Specific radioactivity		¹⁴ C-comp. (mg/l)	¹² C-comp. (mg/l)	total* (mg/l) (ratio)	[f ₂] total/ ¹⁴ C
				(mc/m Mol)	[f ₁] (μg/c.p.m.)				
I	25	L-Tyrosine	181.19 (1.00)	297	6 × 10 ⁻⁷	7.6	5.0	12.6 (1.00)	1.66
II	25	L-Glutamic acid	147.13 (0.81)	165	9.92 × 10 ⁻⁷	11.2	4.3	15.5 (1.23)	1.38
III	30	L-Lysine	146.19 (0.81)	214	6.84 × 10 ⁻⁷	4.3	8.0	12.3 (0.98)	2.86
IV	30	D-Glucose	180.16 (1.00)	6.3	2.86 × 10 ⁻⁷	178.7	10.0	188.7 (15.0)	1.06
V	25	Ures	60.06 (0.33)	20	3 × 10 ⁻⁶	37.5	5.0	42.5 (2.27)	1.13

* Ratio is based on L-Tyrosine.

[f₁] [f₂] calculation factor.

は重量測定も可能なので、沱紙にはさんで脱水せる葉体重を湿重量として 25 日より 40 日までの重量増加を次式に入れて日生長率を算出し、Fig. 4 の標準日生長率を得た。

$$S = A(1+r)^{n-1}$$

S : n 日目の葉体重量, A : 着生日の葉体重量, r : 日生長率, n : 日数

アミノ酸の添加培養では着生日より全期間（日令 40 日）を通じて添加し 1 週間毎に換水して補給した。添加量は 10 ppm を標準とした。また、アミノ酸液への浸漬培養では特定日令のノリ葉体を数時間浸漬し再び通常培養に戻す手法を採った。

これらの培養葉体を対照区培養葉体と比較する場合にその両者の日生長率の比をとって、対象区を 1.00 とした時の値として表示した。

Day							test period (hr)			
light	dark						A		B	
Time		0	10	20	12	12	Light	Dark	Light	Dark
I-	L-Tyrosine	(1)	△				2	0	0	0
		(2)	△				2	0	30	64
		(3)	△				3	0	0	0
		(4)	△				6	0	0	0
		(5)	△				0	4	0	0
		(6)	△				0	14	0	0
II-	L-Glutamic acid	(1)	△				2	0	0	0
		(2)	△				2	0	30	64
		(3)	△				3	0	0	0
		(4)	△				6	0	0	0
		(5)	△				0	4	0	0
		(6)	△				0	14	0	0
III-	L-Lysine	(1)	△				6	0	0	0
		(2)	△				6	0	24	64
		(3)	△				3	0	0	0
		(4)	△				6	0	0	0
		(5)	△				0	4	0	0
		(6)	△				0	14	0	0
IV-	L-Glucose	(1)	△				6	0	0	0
		(2)	△				6	0	24	64
		(3)	△				3	0	0	0
		(4)	△				6	0	0	0
		(5)	△				0	4	0	0
		(6)	△				0	14	0	0
V-	Urea	(1)	△				2	0	0	0
		(2)	△				4	0	0	0
		(3)	△				8	0	0	0
		(4)	△				8	2	0	0
		(5)	△				8	16	0	0
		(6)	△				8	0	24	64
		(7)	△				6	0	0	0
		(8)	△				0	4	0	0
		(9)	△				0	14	0	0

A. ——— incorporation test culture

B. - - - - - normal culture after incorporation test

△ measurement point of radio activity

Fig. 5. Time Course of nutrients incorporation test.

2. とりこみ確認実験 施用培養実験の結果を確認する目的で放射性同位元素 ^{14}C によつて Uniform にラベルされた尿素、チロシン、グルコース、リジン、グルタミン酸を用いてノリ葉体へのとりこみを放射線量の軌跡によつて追跡した。以下に詳細を示す。

試 薬 放射性化合物の使用量、放射能などの詳細は Table 2 に表示した。

試 料 試料葉体は施用実験と同じ単孢子より得たもので、日令 20 前後のものを主として用い一区最低 20 枚とした。この場合予備実験で傷害部の存在が異常に高いとりこみを示すことが認められたので、以後の実験では障害の無視できる健全な試料に極力限つた。

とりこみ実験 とりこみには直径 15 mm のメタクリル樹脂製のビーカーを使用し、これに放射性化合物を溶存せる海水約 1 ml を入れ試料葉体約 20 枚を浮遊し往復振盪機にビーカーごと搭載して実験中常時振盪した。振盪機は CO_2 0.05% を含む温度 $15^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 照度 7 klux の恒温空気槽内に収容し、とりこみ時間は Fig. 5 のごとく組合わせた。

とりこみ培養後の葉体の処理 ^{14}C 化合物のとりこみを終えた葉体はグラスフィルター上で人工海水 3 l 前後を用いて附着残存する ^{14}C 化合物が完全に除去できるまで洗滌し、とりこみ培養後さらに正常培養を行なう区においては上記の洗滌操作を行なつた後、葉体を L 型試験管 (20 ml) に移し正常培養を継続し、10 日後再び洗滌処理を行なつた。

培養密度、日生長率 葉体の培養密度はほぼ均一な受光が得られかつ添加栄養物の効果が判定できる濃度とし 200 mg wet wt./l を選んだ。日生長率は試験開始時の湿重量と終了時の湿重量より前式にて求めた。この際平行して同種のサンプルの乾重量と湿重量の関係を求めて補正した。

放射能の測定 放射能強度の測定装置としては、 2π ガスフローカウンタ (ALOKA TDC-303 型) を用い、培養終了試料を水洗後、1 枚ずつプランシェットに入れ風乾 (110°C 5 時間) し、これを計数した。本装置での β 線の計数効率 50% である。また葉体の各部位に対するとりこみを調べる目的でラジオオートグラムを作成した。

結 果

葉体に対する各種アミノ酸の施用効果は 1 の施用培養実験にて添加培養した結果、Table 3 に示すごとくであつた。すなわち L-アルギニン塩酸塩、DL-トリプトファン、L-チロシン、L-ロイシン等の肥効が明瞭でさらに L-シスチン、L-アスパラギン酸ナトリウム塩、L-スレオニン、L-フェニルアラニン、L-オルニチン塩酸塩、L-リジン塩酸塩等が生長促進効果を有し、その他のアミノ酸すなわち、L-アラニン、グリシン、

Table 3. Growth effect of Amino acids and their related compounds.

Reagent	Concentration*	Growth rate**	Reagent	Concentration*	Growth rate**
L-Ala	10	0.90	L-Sir	5	1.17
L-Asp·Na	10	1.34	L-Tyr	10	1.42
L-Agr·HCl	10	1.62	DL-Try	10	1.45
L-Ileu	10	1.02	L-Thr	10	1.33
L-Orn·HCl	10	1.23	L-Val	10	1.27
Gly	10	0.99	L-His	10	1.22
β -Ala	10	1.02	L-Phe	10	1.25
L-Glu·NH ₂	10	1.26	L-Met	10	0.89
L-Glu·Na	10	0.88	L-Lys·HCl	10	1.20
L-Cys	5	1.39	L-Leu	10	1.42
L-Cyst	10	1.24			

* ppm.

** %/day.

Table 4. Results of dipping test field and flask culture.

			Flask culture		Field culture		
			test	control	test (I)	test (II)	control
Composition of test solution	KNO ₃	ppm	400	400	0	400	0
	Na ₂ HPO ₄	"	100	100	0	100	0
	L-Tyr.	"	50	0	50	50	0
	L-Orn.	"	3	0	3	3	0
	Guanine		0.2	0	0.2	0.2	0
	C. T. M soln		add	add	add	add	add
Dipping Time (hr.)			16	16	16	16	16
Ratio of specific growth rate			1.45	1.00	—	—	—
Harbest weight after 1 month (gr)			—		336	446	287

Fig. 6. Time course of incorporation test used ¹⁴C Urea.

β -アラニン, L-グルタミン, L-グルタミン酸ナトリウム塩, L-システイン, L-セリン, L-バリン, L-ヒスチジン, L-メチオニン等は比較的效果が少ないかもしくは無効であることがわかった。また浸漬実験でもほぼ同様の傾向が認められその結果を Table 4 に示す。

またとりこみ実験においては各種アミノ酸および尿素, グルコースの葉体へのとりこみが認められ, 詳細は Table 5 に示すとおりである。なお葉体の面積と乾重量との関係は大略 $10 \text{ cm}^2 \approx 2 \text{ mg}$ である

ので, 換算にはこの数字を用いた。とりこみの経時変化は尿素の例について Fig. 6 のごとくになった。以上の各 Table および Figs. を通して, とりこみ実験の結果をまとめると次のことがいえる。

1) とりこみは明期と暗期で明らかに量を異にし, また明期の中でもその前半と後半では吸収量に大きな差異が認められ, L-チロシン, L-グルタミン酸, L-リジン, 尿素では明期前半に比し後半は $1/4 \sim 1/8$ の吸収量に過ぎず, さらに暗期は明期に対して減少する。暗期の前半はそれでもなお明期後半に比してさほど大きな差がないが後半 12 時間は前半の $1/7 \sim 1/8$ にまで低下し, この傾向は L-チロシン, L-グルタミン酸, 尿素に顕著で, L-リジンでは比較的少ない。なおとりこみ速度の最高は L-チロシンの明期前半の値, $0.54 \text{ mg/g dry weight fronds/hr}$ であった。

2) これに対して糖 (グルコース) の場合は明暗によるとりこみの差が明瞭でなく, 暗期でもなお明期の約を残存していた。

3) とりこまれたアミノ酸類, および糖はその後 4 日間の培養をつづけても葉体から溶出あるいは放出されること少なく, 残存率は, L-チロシン, L-グルタミン酸, D-グルコースでは 90% を超えている。これに対して尿素の場合は 50% しか残存せず, 代謝のパターンが異なることを示唆している。

4) 尿素に関してはさらに明期から暗期に転ずると, 放射能カウントは減少し, 一旦とりこまれたもののがかなり簡単に逸出している傾向がうかがえる。これは 3) 項と類似しているが, 単に尿素分子として動きやすいのか, あるいは, 炭素原子のみの移動逸出なのかは不明である。

考 察

ある種のアミノ酸がノリ葉体の生育, 生長に対して施用効果のあることは既往の報告群において示される

Table 5. Results of amino acid incorporation test for *Porphyra* used ^{14}C labeled compounds.

Test	Substrate	Area of fronds (mm/fronds)	Total incorporated radio activity [R] (c.p.m./fronds)	Specific incorporation rate [Q] mg/g (dry frond)/hr	Remarks
I-(1)	L-Tyrosine	2.69	4.921	0.456	1.79 % 1)
(2)		2.56 (4.51)*	4.767	0.460 (0.251)	
(3)		6.35	20.663	0.540	
(4)		6.22	25.253	0.340	
(5)		6.44	4.656	0.090	
(6)		6.58	6.656	0.030	
II-(1)	L-Glutamate	2.68	4.282	0.401	3.69 % 1)
(2)		2.45 (4.88)	3.770	0.385 (0.198)	
(3)		7.21	3.647	0.520	
(4)		6.46	3.814	0.300	
(5)		6.67	602	0.070	
(6)		6.64	771	0.030	
III-(1)	L-Lysine	4.71	2.582	0.080	20.1 % 1)
(2)		4.55 (14.19)	1.995	0.072 (0.040)	
(3)		6.74	3.836	0.190	
(4)		6.63	4.049	0.020	
(5)		6.05	2.331	0.060	
(6)		7.44	4.992	0.500	
IV-(1)	D-Glucose	5.39	466	0.218	4.7 % 1)
(2)		5.41 (15.59)	446	0.218 (0.076)	
(3)		8.64	706	0.410	
(4)		7.07	1.252	0.450	
(5)		6.21	276	0.190	
(6)		6.83	1.364	0.240	
V-(1)	Urea	1.83	2.496	1.31	1.101 %
(2)		2.21	5.548	1.20	
(3)		2.29	8.442	0.88	
(4)		2.12	7.195	0.645	
(5)		2.58	6.808	0.209	
(6)		2.50 (5.84)	4.942	0.47 (0.26)	
(7)		6.08	2.229	0.14	
(8)		6.97	109	0.01	
(9)		7.10	274	0.01	

Calculation formula $[Q] = f_1 \times f_2 \times [R] \times \frac{1}{\text{frond's weight}} \times \frac{1}{\text{hr}}$

* () after 4 days normal culture.

Remarks 1) loosed [R] after 4 days culture (%), 2) net incorporation rate at last 3 hrs in light period 3) net incorporation rate at last 10 hrs in dark period, 4) net incorporation rate at last 4 hrs in light period.

通りであるが、アミノ酸の種類による効果の相違や、多数の各種アミノ酸の効果の比較検討は未だ成されていなかった。本報告では各種アミノ酸の単独施用に関してその効果をまとめると共に、その効果が単に培養液の物理的、化学的性状を調整する機能ではなく、ノリ葉体に明らかにとりこまれていることをアイソトープ実験によつて示し得た。しかしながら二、三の疑問点がこれらの結果になお附随している。その第一はノリ葉体の培養が無菌的条件下で行なわれたものでなく、従つて共存微生物による影響が無視しうる程度か否かということである。B. R. BERLAND¹¹⁾ らは海藻類の培養液中に一般的に見出される 25 種のバクテリアを選んで種の有機物についてその資化能を検べたが、この中で 21 種類のアミノ酸についてバクテリアの資化能はアミノ酸の種類によつて相異し、トリプトファン、シスチン、メチオニン、ノルロイシン、リジン、シスチン、チロシン等が比較的資化されにくく、逆にグルタミン酸、アスパラギン酸等が資化されやすいことを示した。したがつて共存微生物による影響は前 7 種のアミノ酸については比較的少ないと考えられる。

しかるにバクテリアによつて資化されにくいこれらのアミノ酸がいわゆる施用効果が顕著であり、このことはこれらアミノ酸が直接ノリ葉体の生育促進にあずかっていると考えるべきで施用剤としての有利な条件を具備しているといえよう。

一方、それぞれの単一アミノ酸が、ノリの生理に対し独特の活性を有することが当然考えられる。例えばとりこみ実験において、アミノ酸類は D-グルコースと異なつて明・暗期に対する対応が認められ、この点で単なる貯蔵物質として考えるのではなく、光合成に関連した生合成反応に与つていと推測されている。N. OGASAWARA ら¹²⁾はクロレラを用いて強光下、弱光下の光合成産物の相違を検討し、弱光下ではアミノ酸（アスパラギン酸）の生成が顕著であり逆に強光下では多糖類の蓄積が認められるとしている。YAW-HUEI LIN ら¹³⁾の *Porphyr*a を用いた実験も同一の傾向を示しており、多糖類は貯蔵物質として一方、アミノ酸は蛋白質等の体構成成分の前駆体として生理的意義を有するものであつて、ノリ養殖における弱光の生理的役割が窒素化合物のとりこみと相俟つて、かかるところに存在すると考えられる。例えば漁場における遮光幕の利用や、海面よりやや深く張網する技法などもこのような光合成に関連した生合成を調節する手段の一つと考えられよう。さらに興味深いことは光合成によつて作られるアミノ酸と施用効果の大きいアミノ酸との関連についてである。W. STEPKA ら¹⁴⁾は光合成によつて生成するアミノ酸はアラニン、アスパラギン酸、セリン、グリシン、グルタミン酸等であるとし、J. A. BASSHAM ら¹⁵⁾はこれを追試してグルタミン酸が、もつとも基本になつていゝとしたが、これらを概観するとチロシン、トリプトファン、アルギニン、ロイシン等の施用効果の大きいアミノ酸は含まれない。このことはこれらのアミノ酸が比較的ノリ葉体の光合成系からは作られにくく、したがつてこのようなアミノ酸を培地中に添加し蛋白合成に必要なアミノ酸を補つて蛋白合成を促進することにより葉体の生長、生育を高めることの可能性を暗示している。確かに T. A. HARE ら¹⁶⁾はクロレラにおける光合成とそれによつて生ずるペプチドの形状を調べ分子量の小さいペプチドに結合しているアミノ酸の変動が光周性と関連していることを指摘しており、この際のアミノ酸の種類が限定されていると述べているが、これらの事実も上述の關係に密接につながつていゝといえよう。

以上のことから共存微生物によつて代謝されにくく、かつ光合成によつて容易に生成することの出来ないアミノ酸が施用効果の点でもつとも顕著であるという結論が得られた。事実野外試験の結果は明らかにこの間の効果を示していると思われる。しかしながらノリ葉体にとり込まれたアミノ酸が葉体内の蛋白質合成にいかに関与しているかの追跡や、ノリ葉体のどの部位が特にアミノ酸のとりこみに関して活発であるかなどの検討は未完であつて、次報に委ねたい。

要 約

1. ノリ葉体の培養において各種アミノ酸がノリの生育、生長に及ぼす影響を確かめ、L-アルギニン、D-L-トリプトファン、L-チロシン、L-ロイシン等が明瞭な肥効を有し、L-シスチン、L-アスパラギン酸、L-スレオニン、L-フェニルアラニン、L-オルニチン、L-リジン等が生長促進効果を有し、さらにその他のアミノ酸、L-アラニン、グリシン、 β -アラニン、L-グルタミン酸、L-シスチン、L-セリン、L-バリン、L-ヒスチジン、L-メチオニン等は比較的效果が少ないか無効であることがわかつた。
2. 1に示した効果は培養液への添加のみでなく比較的短時間の供与でも認められた。
3. アミノ酸の中、L-チロシン、L-リジン、L-グルタミン酸を代表とし、尿素、グルコースを対照として葉体へのとりこみを C^{14} でラベルした化合物を用いて追跡し、アミノ酸のとりこみは光合成活性と平行的關係にありかつとりこまれた以後の葉体外への放出はごく僅かであることを認めた。これらの事実はグルコースのとりこみが明暗の変化に対してにぶく、尿素が一旦とりこまれた後に再び放出される割合が高いのと明らかに異なる。

文 献

- 1) 千葉県内湾水試：藻類の施肥に関する研究協議会資料 (1966).
- 2) 金沢昭夫・柏田研一：鹿兒島大学水産学部紀要 7, 別冊 187 (1959).

- 3) 寺本賢一郎・木下祝郎：日本特許公告，昭 36～24025.
- 4) 熊本県のり研究所：適地適種浅海増殖技術研究 のり研資料—10, 39 (1964).
- 5) 熊本県のり研究所：適地適種浅海増殖技術研究 のり研資料—16, 39 (1964).
- 6) 大分県水試高田分場：適地適種浅海増殖 技術研究 5 (1964).
- 7) 芦田譲治・江上不二夫・吉川秀男編：生命現象の化学 朝倉書房，東京 (1955).
- 8) 長谷栄二：クロレラ増殖の化学 生命現象の化学Ⅱ（芦田・江上・吉川編）朝倉書房 451 (1961).
- 9) A. TAKAMIYA *et al*: *Biochem, et biophy, acta.* **120** (1), 45～ (1966).
- 10) 松平近義・浜田篤信：日仏海洋学会誌 **4** (1), 8～ (1966).
- 11) B. R. BERLAND, D. J. BONIN, and S. Y. MAESTRINI: *Mar. Biol* **5** (1), 68～76 (1970).
- 12) N. OGASAWARA and S. MIYACHI: *Plant and Cell Physiol*, **11**, 1～14 (1970).
- 13) YAW-HUEI LIN and JONG-CHING SU: *Botanical Bulletin of Academia Sinica* **8** (1), 102～110 (1967).
- 14) W. STEPKA, A. A. BENSON and M. CALVIN: *Science* **108** 304 (1948).
- 15) J. A. BASSHAM and R. G. JENSEN: *Harvesting the Sun*, Academic Press. 79～110 (1967).
- 16) T. A. HARE and R. R. SCHMIDT: *J. of Cellular Physiol* **75** (1), 73～82 (1970).