

再生期におけるナガコンブの無機態窒素吸収と生長について

誌名	水産庁北海道区水産研究所研究報告
ISSN	05132541
著者	町口, 裕二 三本菅, 善昭 岡田, 行親
巻/号	50号
掲載ページ	p. 45-61
発行年月	1985年11月

再生期におけるナガコンブの無機態窒素吸収と生長について*

町口 裕二・三本菅 善昭・岡田 行親**

Nitrogen Uptake and Growth of *Laminaria angustata* var. *longissima*
in the Blade-renewal Stage*

Yuji MACHIGUCHI, Yoshiaki SANBONSUGA and Yukichica OKADA**

Abstract : *Laminaria angustata* var. *longissima* was capable of taking up ammonium, nitrate and nitrite. The maximum uptake rates (V_{max}) was greatest for NH_4^+ , and lowest for NO_2^- . Temperature did not affect the half-saturation constant (Ks) for NH_4^+ uptake, but the Ks for NO_3^- uptake was greater at 15°C than at 5°C. The uptake rate of NH_4^+ was greater than that of NO_3^- especially at higher temperature. *Laminaria angustata* var. *longissima* could take up different forms of inorganic nitrogen simultaneously. The uptake rate of NO_3^- and NO_2^- was reduced in the presence of NH_4^+ (as low as 1 μ M), the converse was not evident. The old blade tissue of *Laminaria angustata* var. *longissima* was capable of taking up all three forms of inorganic N as newly formed blade segment.

Effects of amputation of the old blade segment on the growth of the renewal blade were examined. Growth of the new blade segment without the old blade was significantly reduced. From these results, it is concluded that portion of inorganic N taken up by the old blade tissue is available for growth of the renewal blade in *Laminaria angustata* var. *longissima*.

諸 言

海藻類の生長には、栄養塩が光や温度とともに重要である^{1,2)}。現在まで、生長促進や品質向上を目的として、コンブをはじめとする有用海藻類について、多くの肥培管理に関する研究がなされている³⁻⁸⁾。また、無機態窒素の蓄積も調査され、コンブ葉体内には多量の硝酸態窒素が蓄積し、季節的に大きく変動していることが明らかとなっている⁹⁻¹²⁾。しかし、コンブ類の主要な栄養源である無機態窒素の吸収速度および選択吸収等についての知見は少ない。

肥培管理を効果的に行うためには、栄養吸収に関する基礎的な知見の蓄積が重要である。今回、ナガコンブ *Laminaria angustata* var. *longissima* MIYABE について、再生期の新葉部および旧葉部における無機三態窒素の吸収速度を調査するとともに、それらにおよぼす温度の影響ならびに無機態窒素の選択吸収についての実験を行なった。また、再生期における新葉部生長と旧葉部残存量との関係についても実験を行なったので、結果を併せて報告する。

材料および方法

1984年12月、釧路市桂恋地先の水深約1mから、いわゆる“突き出し”状態を示した再生期のナガコ

* 北海道区水産研究所業績番号A.352 (昭和60年7月18日受理)
BCP-85-II-3-2

** 現東海区水産研究所陸水部

ンブ (*Laminaria angustata* var. *longissima*) を十数本採取し材料とした。これらのうち、新葉部の再生が特に明瞭な2個体を単独添加時の無機態窒素吸収実験および無機三態窒素の選択吸収実験に、その他を再生長実験に用いた。なお、本実験はすべて北海道区水産研究所で行った。

無機態窒素吸収実験：コンブ葉体を旧葉部と新葉部とに切断し、旧葉部はさらに新葉部との境界から35cm以上先端を除去した葉片、新葉部は全葉片を実験に供した。実験開始時の各葉片の面積および生重量を Table 1 に示す。なお、旧葉部には2個体とも子嚢斑がみられたが、胞子の放出は既にほとんど完了していた。アンモニア態窒素、硝酸態窒素または亜硝酸態窒素が単独で添加された海水1.5リットルがマグネットポンプで循環する透明なアクリル製実験水槽 (Fig. 1) にコンブ葉片 (Table 1) を収容し、

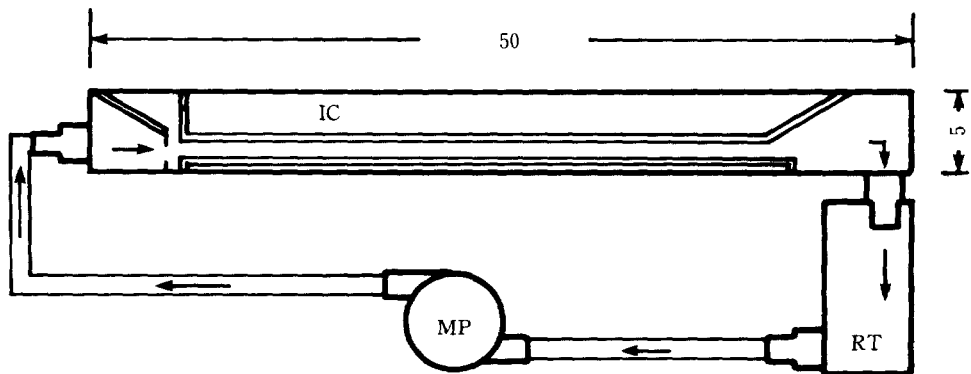


Fig. 1. Diagram showing side view of apparatus used for measurement of uptake inorganic nitrogen. Arrows indicate direction of flow during recirculation. Measurement in cm. IC : Incubation chamber, RT : Reservoir tank, MP : Magnetic pump.

Table 1. Fresh weight and blade area of *Laminaria angustata* var. *longissima* used for the inorganic nitrogen absorption experiment.

Plant No.	Tissue	Fresh weight (g)	Blade area (cm ²)
P-1	New blade	21.0	100.0
	Old blade	45.7	203.0
P-2	New blade	15.0	78.0
	Old blade	39.4	222.0

各無機態窒素濃度の経時変化を調査した。なお、各実験開始時にろ過滅菌海水に、塩化アンモニウム、硝酸ナトリウムまたは亜硝酸カリウムを添加し、アンモニア態窒素濃度および硝酸態窒素濃度は50 μ M、20 μ M および10 μ M、亜硝酸態窒素濃度は20 μ M および10 μ Mにそれぞれ調整した。アンモニア態窒素および硝酸態窒素の吸収実験は、ナガコンブ再生期の天然海水温にほぼ等しい5 \pm 1 $^{\circ}$ Cおよびそれより10 $^{\circ}$ C高い15 \pm 1 $^{\circ}$ Cに設定した恒温室で、循環海水の温度を測定しながら実施したが、亜硝酸態窒素の吸収は5 \pm 1 $^{\circ}$ Cのみで実験した。なお、アクリル実験水槽表面での照度は10,000Luxであり、水槽内の循環海水の流速は約20cm/secであった。海水が循環する実験水槽にコンブ葉片を収容し、安定させるため約1時間放置した後、採水を開始した。採水量は10mlで、実験温度は5 $^{\circ}$ Cでは30分間隔で5回、

15°Cでは15分間隔で7～8回採水した。採取した海水を、常法により洗浄されたガラスフィルター（東洋GC-90）でろ過した後、アンモニア態窒素、硝酸態窒素および亜硝酸態窒素の濃度をテクニコン社オートアナライザー2型により定量した。これらのデータをもとに、各無機態窒素濃度の経時変化を図示するとともに各無機態窒素の吸収率（ $\mu\text{gN}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ）を求め、Wilkinsonの方法¹³⁾によりMichaelis-Menten式のKs値（ミハエリス定数）および V_{max} 値（最大吸収率）を推定し、無機三態窒素の吸収率の差異および新葉部と旧葉部との差異、ならびにそれらへ及ぼす温度の影響などを検討した。

なお、吸収率は1時間当りコンブ乾重1g当りの減少 $\mu\text{g}\cdot\text{N}$ で表示したが、実験に用いた葉片の乾物歩留りは約10%であるため、各実験毎に生重量を測定しそれに0.1を乗じて乾重量とした。

無機態窒素の選択吸収：無機三態窒素を同時に添加し、それらの選択吸収を比較検討した。なお、実験に用いたコンブは上記実験と同一であり、実験装置も前述と同様であったが、実験温度は $5\pm 1^\circ\text{C}$ のみで実施した。なお、この実験を開始したときのアンモニア態窒素、硝酸態窒素および亜硝酸態窒素の濃度は、それぞれ $35\mu\text{M}$ 、 $35\mu\text{M}$ 、 $2\mu\text{M}$ であり、採水は30分間隔で12回行った。

再生長実験：再生期における新葉部の生長に及ぼす旧葉部の影響を調べるため、旧葉部を完全に除去した葉片、旧葉部を50cm残した葉片および旧葉部を100cm残した葉片を育成し、生長の比較を行った。これら葉片をグリーンハウス内に設置した水槽（ $1.8\times 0.4\times 0.3\text{m}$ ）に収容し、海水を掛流して育成し、新葉部の生長を調査した。新葉部の生長は、コンブ葉片の基部から5cmのところにコルクローラーで直径5mmの穴をあけ、おおよそ10日（9～10）間隔で測定した。また、測定時毎に基部から5cmのところに穴をあけなおして生長量を調査し、下記により生長率をもとめた¹⁴⁾。なお、新葉部生長実験期間中の海水の温度は $0\sim 2^\circ\text{C}$ であり、無機三態窒素濃度は、硝酸態窒素が $10\sim 15\mu\text{M}$ であったが、アンモニア態窒素および亜硝酸態窒素はともに検出されなかった。

$$\text{生長率 (\%)} = \left\{ \left(\frac{l_1}{l_0} \right)^{1/t} - 1 \right\} \times 100$$

t : 測定間隔 (日) l_1 : はじめの長さ (5 cm) l_0 : t 日後の長さ

結 果

1. 再生期におけるナガコンブの無機態窒素吸収

1) 新葉部における無機態窒素吸収

釧路沿岸のナガコンブ再生期の12月における天然海水温とほぼ等しい 5°C に実験海水の温度を設定し、各無機態窒素を単独で添加し実験したときの濃度変化を調べ、その一例をFig. 2に示した。無機態窒素のなかでは、アンモニア態窒素濃度の変化が最も大きく、次いで硝酸態窒素濃度が大きく変化し、両者は速やかに減少したが、亜硝酸態窒素濃度は極めて少量しか減少しなかった。

各無機態窒素の減少量から求めた、無機態窒素吸収率（ $\mu\text{gN}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ）と無機態窒素濃度との関係をFig. 3に示した。各無機態窒素の吸収率と濃度との関係は、吸収率が飽和点を持つMichaelis-Mentenの式に良く適合したので、Fig. 3にはMichaelis-Mentenの式から得られた吸収曲線をあわせて示した。ナガコンブ葉体におけるアンモニア態窒素、硝酸態窒素および亜硝酸態窒素の吸収率の間には、Fig. 3にみられるように明らかな差異があり、アンモニア態窒素は、高濃度から低濃度までの広い範囲で、硝酸態窒素および亜硝酸態窒素に比べ高い吸収率を示し、硝酸態窒素も比較的良く吸収された。一方、亜硝酸態窒素の吸収率は極めて低く、アンモニア態窒素および硝酸態窒素の吸収とは大きく異なった。

以上の結果を、濃度と吸収率の関係を示すパラメーターであるミハエリス定数Ksと最大吸収率 V_{max} とを求めて整理しTable 2に示した。新葉部における各無機態窒素吸収のKsの値は、硝酸態窒素が最も高く、次いでアンモニア態窒素、亜硝酸態窒素の順であった。 V_{max} の値はアンモニア態窒素が最も高く、次いで硝酸態窒素であり、亜硝酸態窒素がもっとも低く、亜硝酸態窒素吸収の V_{max} は、アンモニア態窒素の $1/7$ 、硝酸態窒素の $1/6$ の値にすぎなかった。

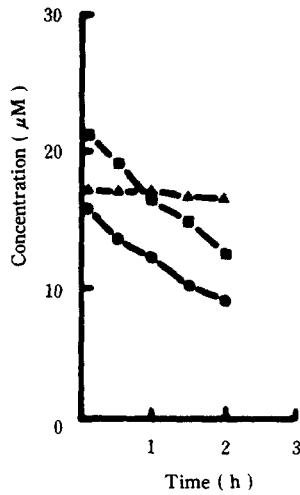


Fig. 2 Decrease in NH_4^+ , NO_3^- and NO_2^- with time due to uptake by the new blade segment of *Laminaria angustata* var. *longissima* at 5°C . Only one form of nitrogen was added to medium in each uptake experiment. Symbols indicate points for which each nitrogen measured. Flow rate $20\text{cm} / \text{sec}$. \blacksquare : NH_4^+ \bullet : NO_3^- \blacktriangle : NO_2^-

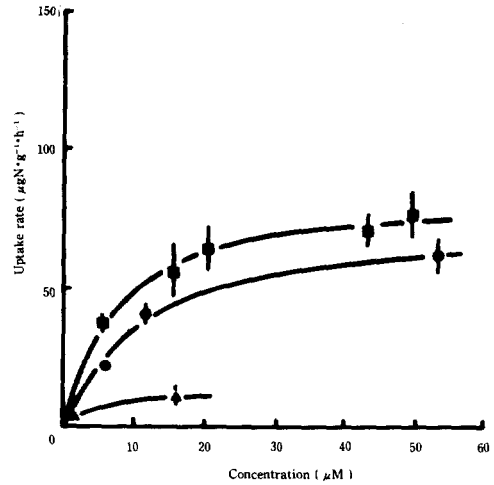


Fig. 3. Inorganic N uptake rate as function of the concentration for the new blade segment of *Laminaria angustata* var. *longissima* at 5°C . Only one form of nitrogen was added to medium in each uptake experiment. Symbols indicate points for which each nitrogen measured. Flow rate $20\text{cm} / \text{sec}$. \blacksquare : NH_4^+ , \bullet : NO_3^- , \blacktriangle : NO_2^- (Range bars indicate S. E. of mean).

Table 2. Kinetic parameters for the uptake NH_4^+ , NO_3^- , and NO_2^- by new and old blade segment of *Laminaria angustata* var. *longissima* at 5°C .

Tissue	Nitrogen Source	$K_s \pm \text{S. E.} (\mu\text{M})$	$V_{\max} \pm \text{S. E.} (\mu\text{gN} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1})$
New blade	NH_4^+	7.38 ± 0.72	85.34 ± 2.15
	NO_3^-	11.69 ± 2.67	76.26 ± 6.46
	NO_2^-	4.42 ± 3.76	12.35 ± 3.18
Old blade	NH_4^+	20.34 ± 1.89	115.57 ± 5.76
	NO_3^-	13.87 ± 2.31	63.87 ± 3.83
	NO_2^-	3.63	8.87

K_s : Half-saturation constant. V_{\max} : Maximum uptake rate.

2) 旧葉部における無機三態窒素吸収

新葉部と同一条件で、旧葉部について実験したときの各無機態窒素濃度変化を調べ、その一例を Fig. 4 に示した。各無機態窒素濃度の変化は、新葉部の場合と同様で、アンモニア態窒素が最大で、次いで硝酸態窒素が大きく、亜硝酸態窒素濃度の変化は極めて少なかった。

各無機態窒素の減少量から、旧葉部における無機態窒素の吸収率 ($\mu\text{gN}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) と濃度との関係を求め Fig. 5 に示した。Fig. 5 には、Michaelis-Menten の式にあてはめて得られた吸収曲線をあわせて示した。アンモニア態窒素は、高濃度から低濃度までの広い範囲で、他の無機態窒素より高い吸収率であり、また硝酸態窒素の吸収率も高く、特に $5\mu\text{M}$ 以下の低濃度ではアンモニア態窒素と大差がなかった。亜硝酸態窒素の吸収率は新葉部で実験した時と同様に極めて低い値であった。

旧葉部における無機態窒素吸収の K_s と V_{\max} を新葉部と同様に整理し Table 2 に示した。Table 2 に

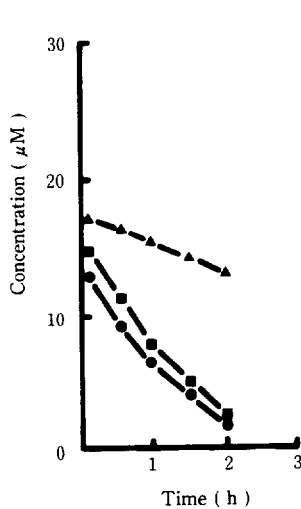


Fig. 4. Decrease in NH_4^+ , NO_3^- and NO_2^- with time due to uptake by the old blade segment of *Laminaria angustata* var. *longissima* at 5°C . Only one form of nitrogen was added to medium in each uptake experiment. Symbols indicate points for which each nitrogen measured. Flow rate 20cm/sec. ■ : NH_4^+ ● : NO_3^- ▲ : NO_2^-

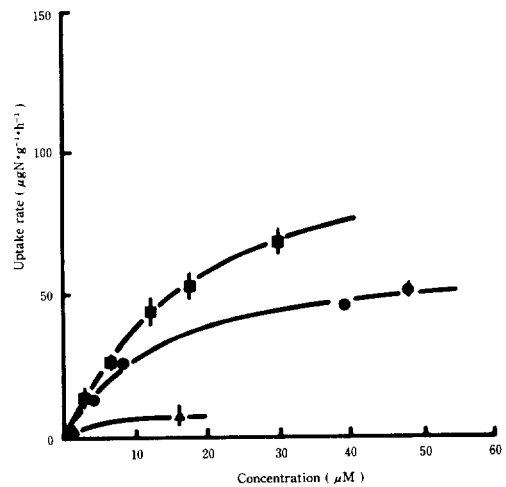


Fig. 5. Inorganic N uptake rate as function of the concentration for the old blade segment of *Laminaria angustata* var. *longissima* at 5°C . Only one form of nitrogen was added to medium in each uptake experiment. Symbols indicate points for which each nitrogen measured. Flow rate 20cm/sec. ■ : NH_4^+ , ● : NO_3^- , ▲ : NO_2^- (Range bars indicate S. E. of mean).

示したように、旧葉部における無機態窒素吸収の K_s と V_{\max} は、いずれもアンモニア態窒素が最も高く、次いで硝酸態窒素、亜硝酸態窒素の順であった。旧葉部と新葉部とにおける無機態窒素吸収の K_s の比較では、アンモニア態窒素および硝酸態窒素は旧葉部が高い値を示した。同様に旧葉部と新葉部における無機態窒素吸収の V_{\max} の比較では、アンモニア態窒素は旧葉部が高い値を、硝酸態窒素および亜硝酸態窒素は新葉部が高い値を示した。旧葉部における亜硝酸態窒素の V_{\max} はアンモニア態窒素の $1/13$ 、硝酸態窒素の $1/7$ であり、亜硝酸態窒素の吸収率の低さは、新葉部と同様に V_{\max} の低さに現れた。

3) 新葉部の無機態窒素吸収におよぼす温度の影響

水温15°Cにおいて、前述の5°Cで用いたと同一の新葉部葉片を使用し、アンモニア態窒素および硝酸態窒素を単独で添加したときの各無機態窒素濃度の変化を調査した結果を Fig. 6 に示した。15°Cでのアンモニア態窒素および硝酸態窒素の濃度変化は、5°Cに比べ大きく、特に前者は急速に減少した。

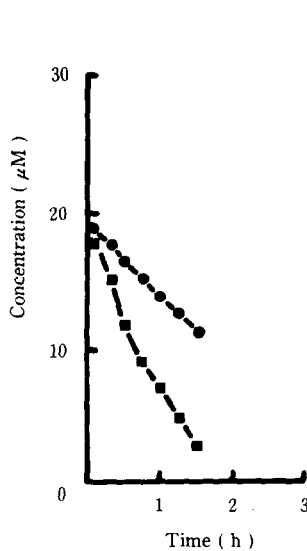


Fig. 6. Decrease in NH_4^+ and NO_3^- with time due to uptake by the new blade segment of *Laminaria angustata* var. *longissima* at 15°C. Only one form of nitrogen was added to medium in each uptake experiment. Symbols indicate points for which each nitrogen measured. Flow rate 20cm/sec. ■ : NH_4^+ ● : NO_3^-

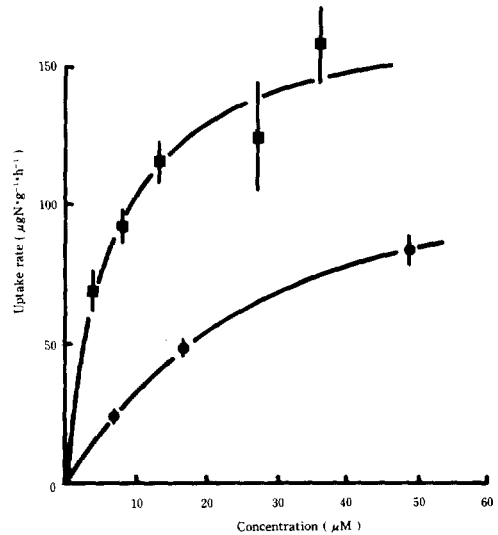


Fig. 7. Inorganic N uptake rate as function of the concentration for the new blade segment of *Laminaria angustata* var. *longissima* at 15°C. Only one form of nitrogen was added to medium in each uptake experiment. Symbols indicate points for which each nitrogen measured. Flow rate 20cm/sec. ■ : NH_4^+ ● : NO_3^- (Range bars indicate S. E. of mean).

無機態窒素吸収率 ($\mu\text{gN}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) と無機態窒素濃度との関係を、各無機態窒素の減少量から求め Fig. 7 に示した。Fig. 7 には、5°Cと同様に Michaelis-Menten の式にあてはめて得られた15°Cにおける各無機態窒素の吸収曲線をあわせて示した。5°Cと同様に15°Cでも、アンモニア態窒素が硝酸態窒素より高い吸収率を示した。なお、アンモニア態窒素の吸収率は、実験した濃度範囲では、15°Cが常に5°Cより高い吸収率を示した。また、15°Cでのアンモニア態窒素の吸収曲線は低い濃度から急激に立ち上がり、低濃度における吸収率は濃度の増加にともない大きく上昇することを示した。一方、硝酸態窒素の吸収率は約15 μM 以上の濃度で15°Cが5°Cより高く、それ以下の濃度では逆に15°Cが5°Cより低い値となることを示した。

Table 3. Kinetic parameters for the uptake NH_4^+ , NO_3^- , and NO_2^- by new and old blade segment of *Laminaria angustata* var. *longissima* at 15°C.

Tissue	Nitrogen Source	Ks \pm S. E. (μM)	$V_{\max} \pm$ S. E. ($\mu\text{gN} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)
New blade	NH_4^+	6.22 \pm 2.03	168.75 \pm 16.16
	NO_3^-	29.62 \pm 1.43	135.76 \pm 3.22
Old blade	NH_4^+	13.95 \pm 5.86	153.95 \pm 32.18
	NO_3^-	33.51 \pm 11.29	96.09 \pm 17.75

Ks : Half-saturation constant. V_{\max} : Maximum uptake rate.

アンモニア態窒素および硝酸態窒素吸収の Ks と V_{\max} を Table 3 に示した。Table 3 に示すように、アンモニア態窒素吸収の Ks は、15°C が 5°C に比べ低く、硝酸態窒素吸収の Ks は 5°C が 15°C より低い値を示した。一方、アンモニア態窒素および硝酸態窒素の V_{\max} は、いずれも 15°C が 5°C より高い値を示した。なお、15°C における硝酸態窒素とアンモニア態窒素は、Ks は前者が、 V_{\max} は後者が高い値を示した。

4) 旧葉部の無機態窒素吸収におよぼす温度の影響

水温 15°C において前述の 5°C で用いたと同一の旧葉部葉片を使用し、アンモニア態窒素および硝酸態窒素を単独で添加したときの各無機態窒素の濃度変化を Fig. 8 に示した。アンモニア態窒素および硝酸態窒素の濃度は、新葉部と同じく、15°C が 5°C に比べ大きく変化した。特に 15°C でのアンモニア態窒素濃度の変化は、新葉部と同様に著しく、急速に減少した。各無機態窒素の減少量から、旧葉部における無機態窒素吸収率 ($\mu\text{gN} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) と無機態窒素濃度との関係を求め Fig. 9 に示した。Fig. 9 には、5°C と同様に Michaelis-Menten の式にあてはめて得られた吸収曲線をあわせて示した。5°C の場合と同様に 15°C でも、アンモニア態窒素の吸収率が硝酸態窒素の吸収率より高い値を示した。アンモニア態窒素の吸収率は、実験した濃度範囲では常に 15°C が 5°C より高い値を示した。なお、15°C で実験した濃度範囲では、アンモニア態窒素の吸収率は濃度の増加に比例して上昇する傾向がみられた。一方、旧葉部の硝酸態窒素の吸収率は約 25 μM 以上の濃度で 15°C が高く、それ以下の濃度では 5°C が高い値を示し、新葉部より 10 μM 高い約 25 μM で温度による吸収率の逆転がみられた。なお、15°C でのアンモニア態窒素および硝酸態窒素の吸収率は、いずれも旧葉部が新葉部より低い値であった。

Table 3 に示すように、アンモニア態窒素吸収の Ks は 15°C が 5°C より低い値であったが、硝酸態窒素吸収の Ks は 15°C が 5°C に比べ高い値を示した。一方、 V_{\max} はアンモニア態窒素および硝酸態窒素のいずれも、15°C が 5°C より高い値であった。なお、15°C では新葉部と同様に旧葉部でも、Ks は硝酸態窒素がアンモニア態窒素に比べ高く、 V_{\max} はアンモニア態窒素が硝酸態窒素に比べ高い値を示した。

2. 無機三態窒素の選択吸収

1) 新葉部における無機態窒素の選択吸収

アンモニア態窒素、硝酸態窒素および亜硝酸態窒素を同時に添加し、前述の無機態窒素吸収に使用した新葉部葉片を用いて実験したときの各無機態窒素濃度の変化を Fig. 10 に示した。無機三態窒素は同時に吸収されたが、減少傾向は無機態窒素の間に差異がみられた。アンモニア態窒素は、他の無機態窒

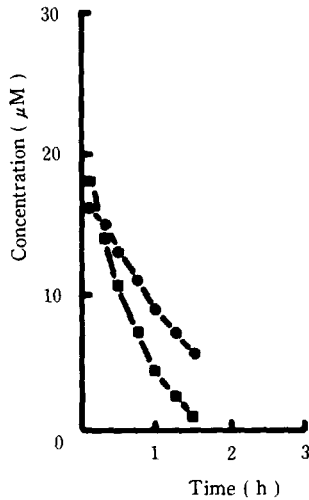


Fig. 8. Decrease in NH_4^+ and NO_3^- with time due to uptake by the old blade segment of *Laminaria angustata* var. *longissima* at 15°C . Only one form of nitrogen was added to medium in each uptake experiment. Symbols indicate points for which each nitrogen measured. Flow rate 20cm / sec. \blacksquare : NH_4^+ \bullet : NO_3^-

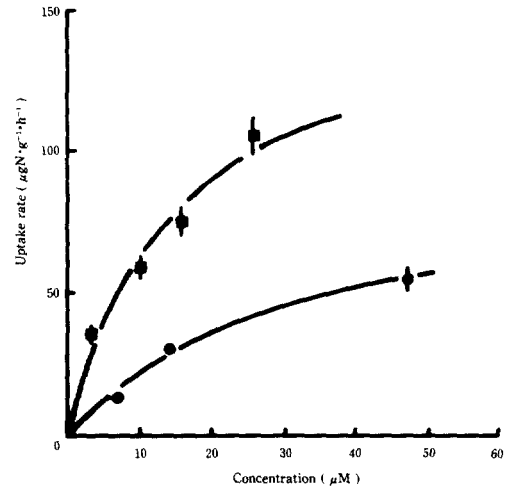


Fig. 9. Inorganic N uptake rate as function of the concentration for the old blade segment of *Laminaria angustata* var. *longissima* at 15°C . Only one form of nitrogen was added to medium in each uptake experiment. Symbols indicate points for which each nitrogen measured. Flow rate 20cm / sec. \blacksquare : NH_4^+ \bullet : NO_3^- (Range bars indicate S. E. of mean).

素が共存したときも減少傾向はほとんど変らなかったが、硝酸態窒素および亜硝酸態窒素はアンモニア態窒素が高濃度で存在するときの濃度の減少速度は、単独で添加のときに比べ低下した。

Fig. 10 から、各無機態窒素それぞれの 1 時間毎の平均濃度と吸収率を求め、前述の無機態窒素吸収で得られた、各無機態窒素吸収の K_s と V_{max} から計算した吸収率と比較したものを Table 4 に示した。Table 4 に示したように、無機態窒素の同時添加実験開始から 1 時間まで（平均アンモニア態窒素濃度 $22.1\mu\text{M}$ ）の新葉部における硝酸態窒素および亜硝酸態窒素の吸収率は、前者は単独添加時の 66%、後者では単独添加時の 32% の値を示した。なお、硝酸態窒素の吸収率は、無機態窒素の同時添加実験開始から 5 時間後までは単独添加時の 65%~76% であったが、実験開始 6 時間後（平均アンモニア態窒素濃度 $1.2\mu\text{M}$ ）には 89% まで回復した。また、無機態窒素の同時添加実験での亜硝酸態窒素の吸収率は、多少増減はあるものの時間が経過するとともに増加し、実験開始 6 時間後（平均アンモニア態窒素濃度 $1.2\mu\text{M}$ ）には単独添加時の 63% まで回復した。一方、無機態窒素の同時添加時のアンモニア態窒素の吸収率は単独添加時と大差がなかった。

Table 4. Effects of the presence of NH_4^+ , NO_3^- and NO_2^- on the uptake of inorganic nitrogen by the new blade segment of *Laminaria angustata* var. *longissima* at 5°C.

Concentration (μM)			Uptake rate ($\mu\text{gN}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)		
NH_4	NO_3	NO_2	NH_4	NO_3	NO_2
22.1	—	—	(a)	66.2	—
22.1	29.0	2.0	(b)	76.3	—
			(b/a%)	115.2	—
15.7	—	—	(a)	60.1	—
15.7	26.3	1.9	(b)	67.6	—
			(b/a%)	112.4	—
10.6	—	—	(a)	52.0	—
10.6	24.4	1.8	(b)	59.6	—
			(b/a%)	114.5	—
6.0	—	—	(a)	39.8	—
6.0	22.8	1.6	(b)	49.9	—
			(b/a%)	125.3	—
2.2	—	—	(a)	20.2	—
2.2	21.8	1.5	(b)	27.9	—
			(b/a%)	138.3	—
1.2	—	—	(a)	12.6	—
1.2	18.2	1.4	(b)	16.0	—
			(b/a%)	126.2	—
—	29.0	—	(a)	—	57.4
22.1	29.0	2.0	(b)	—	38.0
			(b/a%)	—	66.1
—	26.3	—	(a)	—	55.9
15.7	26.3	1.9	(b)	—	36.6
			(b/a%)	—	65.6
—	24.4	—	(a)	—	54.6
10.6	24.4	1.8	(b)	—	41.3
			(b/a%)	—	75.5
—	22.8	—	(a)	—	53.5
6.0	22.8	1.6	(b)	—	41.7
			(b/a%)	—	76.8
—	21.8	—	(a)	—	52.8
2.2	21.8	1.5	(b)	—	35.9
			(b/a%)	—	68.0
—	18.2	—	(a)	—	49.6
1.2	18.2	1.4	(b)	—	44.6
			(b/a%)	—	89.9
—	—	2.0	(a)	—	4.0
22.1	29.0	2.0	(b)	—	1.3
			(b/a%)	—	32.7
—	—	1.9	(a)	—	3.9
15.7	26.3	1.9	(b)	—	1.1
			(b/a%)	—	28.7
—	—	1.8	(a)	—	3.7
10.6	24.4	1.8	(b)	—	1.7
			(b/a%)	—	45.8
—	—	1.6	(a)	—	3.5
6.0	22.8	1.6	(b)	—	1.9
			(b/a%)	—	54.3
—	—	1.5	(a)	—	3.3
2.2	21.8	1.5	(b)	—	2.2
			(b/a%)	—	67.4
—	—	1.4	(a)	—	3.1
1.2	18.2	1.4	(b)	—	2.1
			(b/a%)	—	63.0

(a) : one form of nitrogen added to medium.

(b) : three forms of nitrogen simultaneously added to medium.

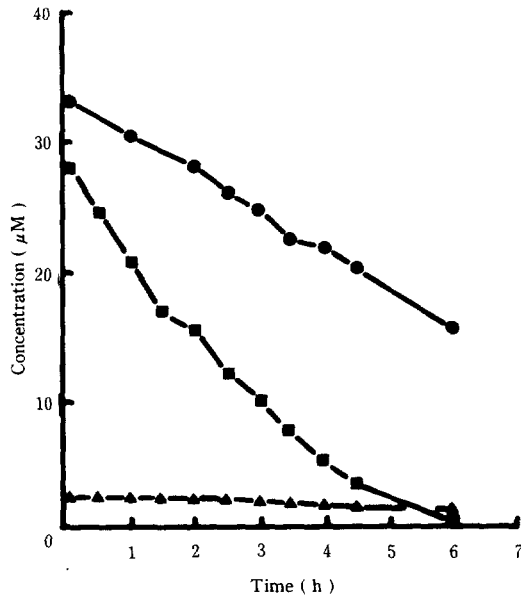


Fig. 10. Simultaneous uptake of NH_4^+ , NO_3^- and NO_2^- by the new blade segment of *Laminaria angustata* var. *longissima* at 5°C. Flow rate 20cm / sec. ■ : NH_4^+ , ● : NO_3^- , ▲ : NO_2^-

2) 旧葉部における無機態窒素の選択吸収

アンモニア態窒素、硝酸態窒素および亜硝酸態窒素を同時に添加し、前述の無機態窒素吸収に使用した旧葉部葉片を用いて実験したときの各無機態窒素濃度の変化を Fig. 11 に示した。無機三態窒素は同時に吸収されたが、新葉部と同様減少傾向には無機態窒素の間に差異がみられた。なお、その差異は新葉部に比べて大きかった。無機態窒素の同時添加時のアンモニア態窒素の減少傾向は、アンモニア態窒素を単独で添加したときと比べ、ほとんど差異はなかった。しかし、無機態窒素同時添加時の硝酸態窒素の減少傾向は、単独で添加したときと比べ大きな差異がみられ、硝酸態窒素濃度の減少速度は、アンモニア態窒素が高い濃度で共存するときは低く、アンモニア態窒素濃度が低くなると急速に増大した。同様の傾向が亜硝酸態窒素でもみられ、アンモニア態窒素が存在しているときには亜硝酸態窒素濃度はほとんど減少しなかったが、アンモニア態窒素濃度が極めて低い濃度になると亜硝酸態窒素の濃度は減少した。

旧葉部についても新葉部と同様に Fig. 11 から、無機態窒素の同時添加時における各無機態窒素それぞれの1時間毎の平均濃度と吸収率を求め、単独添加実験で得られた各無機態窒素吸収の K_s 値と V_{max} 値から計算した吸収率と比較したものを Table 5 に示した。Table 5 に示したように、旧葉部における無機態窒素の同時添加時の硝酸態窒素および亜硝酸態窒素の吸収率は、実験開始1時間まで(平均アンモニア態窒素濃度 $16.1\mu\text{M}$) は前者は単独添加した場合の同濃度の吸収率の36%、後者は同じく8.5%と著しく低い値を示した。しかし、その後時間が経過(平均アンモニア態窒素濃度が減少)するとともに吸収率は増加し、無機態窒素の同時添加時の硝酸態窒素は、実験開始4時間後には硝酸態窒素を単独添加した場合の108%まで回復した。また、亜硝酸態窒素の吸収率も同様に、実験開始から5時間後に亜硝酸態窒素を単独添加した場合の138%に上昇した。一方、アンモニア態窒素の吸収率は単独添加時と大差なかった。

Table 5. Effects of the presence of NH_4^+ , NO_3^- , and NO_2^- on the uptake of inorganic nitrogen by the old blade segment of *Laminaria angustata* var. *longissima* at 5°C.

Concentration (μM)				Uptake rate ($\mu\text{gN}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)		
NH_4^+	NO_3^-	NO_2^-		NH_4^+	NO_3^-	NO_2^-
16.1	—	—	(a)	51.4	—	—
16.1	29.7	2.1	(b)	43.7	—	—
			(b/a%)	84.9	—	—
8.2	—	—	(a)	34.0	—	—
8.2	26.3	2.1	(b)	33.5	—	—
			(b/a%)	98.5	—	—
2.9	—	—	(a)	15.2	—	—
2.9	21.9	1.9	(b)	18.0	—	—
			(b/a%)	118.4	—	—
—	29.7	—	(a)	—	43.9	—
16.1	29.7	2.1	(b)	—	15.9	—
			(b/a%)	—	36.4	—
—	26.3	—	(a)	—	42.1	—
8.2	26.3	2.0	(b)	—	17.5	—
			(b/a%)	—	41.5	—
—	21.9	—	(a)	—	39.4	—
2.9	21.9	1.9	(b)	—	25.4	—
			(b/a%)	—	64.4	—
—	15.6	—	(a)	—	34.0	—
—	15.6	1.6	(b)	—	37.0	—
			(b/a%)	—	108.6	—
—	10.9	1.0	(a)	—	28.4	—
—	10.9	1.0	(b)	—	30.5	—
			(b/a%)	—	107.4	—
—	6.2	—	(a)	—	19.9	—
—	6.2	—	(b)	—	25.1	—
			(b/a%)	—	125.6	—
—	—	2.1	(a)	—	—	3.3
16.1	29.7	2.1	(b)	—	—	0.2
			(b/a%)	—	—	8.5
—	—	2.0	(a)	—	—	3.2
8.2	26.3	2.0	(b)	—	—	0.4
			(b/a%)	—	—	14.4
—	—	1.9	(a)	—	—	3.1
2.9	21.9	1.9	(b)	—	—	0.5
			(b/a%)	—	—	18.0
—	—	1.6	(a)	—	—	2.8
—	15.6	1.6	(b)	—	—	1.7
			(b/a%)	—	—	60.6
—	—	1.0	(a)	—	—	2.0
—	10.9	1.0	(b)	—	—	2.8
			(b/a%)	—	—	138.6

(a) : one form of nitrogen added to medium.

(b) : three forms of nitrogen simultaneously added to medium.

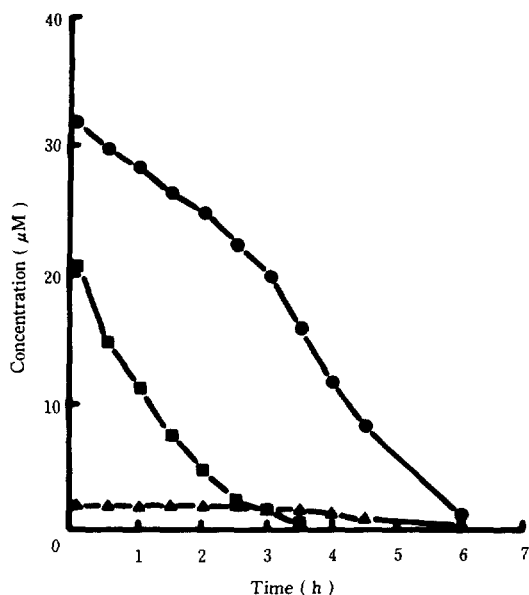


Fig. 11. Simultaneous uptake of NH_4^+ , NO_3^- and NO_2^- by the old blade segment of *Laminaria angustata* var. *longissima* at 5°C. Flow rate 20cm / sec. ■ : NH_4^+ , ● : NO_3^- , ▲ : NO_2^-

3. 生長実験

再生期におけるナガコンブ葉体を新葉部のみ、新葉部と旧葉部50cm、および新葉部と旧葉部100cmに切断したときの、各新葉部の葉長の変化を Fig. 12 に示した。Fig. 12 に示したように、実験開始時に新

Table 6. Effects of amputation of the old blade segment on growth of the renewal blade in *Laminaria angustata* var. *longissima*.

Length of remained old blade segment	Growth rate (%/day) of new blade segment (mean ± S. E.)
0cm (N = 12)	4.2 ± 0.5
50cm (N = 12)	5.8 ± 0.6
100cm (N = 12)	6.6 ± 0.4

Table 7. Results of statistical comparison of the mean values of growth rates of the renewal blade of *Laminaria angustata* var. *longissima*. Data in Table 6 were analysed by t-test.

Length of remaining old blade	0 cm	50 cm
50 cm	$P < 0.01$ ($t = 3.73$)	—
100 cm	$P < 0.01$ ($t = 7.01$)	N. S. ($t = 2.03$)

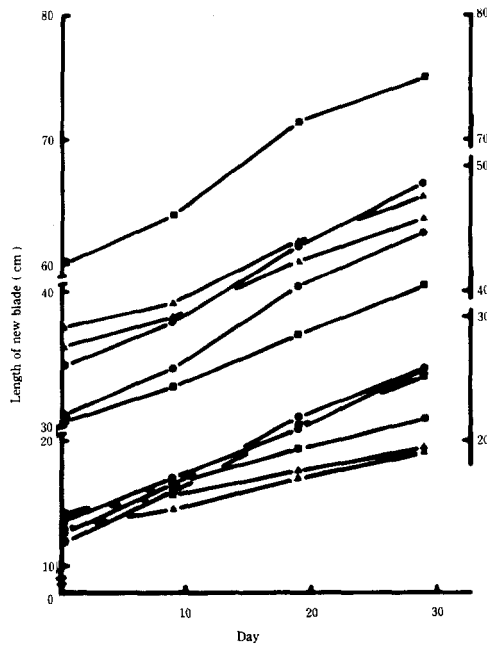


Fig. 12. Growth in length of the new blade segment of *Laminaria angustata* var. *longissima* with amputated old blade segment of different lengths, under greenhouse surgetank condition. Cultivated at 0–2°C. ● : plants with old blade amputated 100cm from point of blade-renewal. ■ : plants with old blade amputated 50cm from point of blade-renewal. ▲ : plants without old blade.

葉部が小さい葉体では、旧葉部の長く残っているものほどよく新葉部が伸長した。しかし、新葉部が大きい葉体では、実験開始時の大きさがそろっていなかったため旧葉部の残存量の効果は必ずしも明らかではなかったが、旧葉部を100cm残したもののみは、旧葉部をすべて除去したものおよび新葉部と旧葉部50cmに比べ新葉部がよく伸長する傾向がみられた。

旧葉部の残存量別に新葉部の平均日間伸長率を測定した結果と旧葉部の残存量間の伸長率の差異をt検定した結果を、Table 6 および Table 7 に示した。新葉部の平均日間伸長率は、新葉部のみのものが4.2%、新葉部と旧葉部残存量50cmのものが5.8%、そして新葉部と旧葉部残存量が100cmのものが6.6%であった。Table 7 に示したように、異なる旧葉部残存量間の新葉部の伸長は、新葉部のみと旧葉部残存量50cmのものとの間、および新葉部と旧葉部残存量100cmのものとの間に有意差 ($P < 0.01$) が認められた。しかし、旧葉部残存量が50cmと100cmのものとの間には有意差は認められなかった。

考 察

海藻や植物プランクトンは、海水中のアンモニア態窒素、硝酸態窒素および亜硝酸態窒素を窒素源として摂取して生育する¹⁵⁻¹⁷⁾。これら無機態窒素のなかでは、一般にアンモニア態窒素が最もよく吸収される¹⁵⁻¹⁷⁾。なお、海藻および植物プランクトンにおける無機態窒素濃度と吸収率との関係は、Michaelis-Menten のモデルに従うことが知られている^{16,17)}。

本実験の結果、再生期のナガコンブの新葉部および旧葉部は、アンモニア態窒素、硝酸態窒素および

亜硝酸態窒素のいずれをも吸収した。しかしこれら、各無機態窒素の吸収には大きな差異がみられ、アンモニア態窒素が低濃度から高濃度まで最も速く吸収され、硝酸態窒素の吸収も速やかであったが、亜硝酸態窒素の吸収は極めて緩慢であった。そこで、Michaelis-Mentenの式にあてはめて最大吸収率 (V_{max}) とミハエリス定数 (K_s) とを求めて解析した結果、アンモニア態窒素が無機態窒素の中では最も低い K_s と最も高い V_{max} を示し、高濃度から低濃度まで最も効率的に吸収されていることを示した。一方、亜硝酸態窒素は K_s が三者のなかでは最も低い値であったが、 V_{max} の値が極めて低く、高濃度においても極めて少量しか吸収されないことを示した。硝酸態窒素の V_{max} はアンモニア態窒素に比べやや低い程度の値であったが、 K_s は三者のなかでは最大であった。このことは硝酸態窒素は低濃度での吸収は多少劣るが、高濃度ではアンモニア態窒素と同様によく吸収されることを示している。なお、旧葉部における無機三態窒素吸収の K_s は、いずれも新葉部に比べて大きく、旧葉部の栄養吸収能力の低下を示した。

ナガコンブ新葉部について得られたアンモニア態窒素および硝酸態窒素吸収の K_s ($NH_4=7.4\mu M$, $NO_3=11.7\mu M$) は、*Fucus spiralis* ($NH_4=6.4\mu M$, $NO_3=5.6\mu M$)¹⁸⁾, *Laminaria longicruris* ($NO_3=5.9\mu M$, $10^\circ C$)¹⁹⁾, *Macrocystis pyrifera* ($NH_4=5.3\mu M$, $NO_3=8.7-13.1\mu M$, $16^\circ C$)²⁰⁾ など外国産褐藻類で得られている値と大差なかったが、緑藻の *Codium fragile* ($NH_4=1.5\mu M$, $NO_3=1.9\mu M$, $6^\circ C$)²¹⁾, 紅藻の *Gracilaria foliifera* ($NH_4=1.6\mu M$, $NO_3=2.5\mu M$, $20^\circ C$)²²⁾ および *Neogardhiella baillyi* ($NH_4=2.3-4.9\mu M$, $NO_3=2.4\mu M$, $20^\circ C$)²²⁾ で得られている値よりかなり高い値を示した。また、 V_{max} は海藻類によって得られている値が乾重当り、面積当りなど単位が異なっているため単純に比較しにくい。ナガコンブ新葉部における硝酸態窒素吸収の V_{max} ($76.3\mu gN \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$) は、他海藻と大差なく、特にカナダ東岸のコンブ *Laminaria longicruris* で報告されている値 ($98\mu gN \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$)¹⁹⁾ に近かった。このように、 K_s および V_{max} の比較から、ナガコンブ新葉部のアンモニア態窒素および硝酸態窒素の吸収能力は、他海藻特に褐藻類と大きな違いがないものと考えられる。しかし、ナガコンブ新葉部における亜硝酸態窒素吸収の K_s ($4.4\mu M$) は、*Codium fragile* ($3.0\mu M$)²¹⁾ との差は大きくなかったが、*Fucus spiralis* ($27.5\mu M$)¹⁸⁾ の約 1/6 であり大きく異なった。なお、亜硝酸態窒素は、*Codium fragile* では硝酸態窒素と大差なく吸収されるが²¹⁾, *Fucus spiralis* では K_s が大きく、低濃度での吸収効率が悪いことが報告されており¹⁸⁾, 種による差異が大きい。ナガコンブでは、亜硝酸態窒素吸収の K_s が小さく、低濃度での吸収効率がよいと考えられたが、 V_{max} ($12.3\mu gN \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$) が他海藻に比べ著しく低い。結果的に *Fucus spiralis* と同様、低濃度においても他の無機態窒素に比べ吸収率は極めて低くなっている。

無機態窒素吸収に及ぼす温度の影響を検討した結果、アンモニア態窒素で特に影響が顕著であり、 $5^\circ C$ に比べ $15^\circ C$ が著しく高い吸収率を示した。なお、アンモニア態窒素吸収の K_s は温度にあまり大きく影響されないことが *Fucus spiralis*¹⁸⁾, *Codium fragile*²¹⁾ において報告されている。本実験でも、ナガコンブの K_s は、 $5^\circ C$ および $15^\circ C$ で、それぞれ $7.4\mu M$, $6.2\mu M$ とあまり変わらず、 V_{max} のみが $85.3\mu gN \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ から $168.7\mu gN \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ への増加した。このことは、アンモニア態窒素は高温下においても、低濃度から高濃度までより効率的に吸収されることを示唆している。また、 $15^\circ C$ でのアンモニア態窒素の吸収は、 $5^\circ C$ とは異なり実験した濃度範囲内 ($0 \sim 50\mu M$) では、飽和に達しなかった。なお、*Gracilaria foliifera* ではアンモニア態窒素の吸収は Michaelis-Menten のモデルに従わないこと²²⁾, *Macrocystis pyrifera*²⁰⁾ や *Fucus distichus*²³⁾ ではアンモニア態窒素が高濃度になると吸収率と濃度の関係は Michaelis-Menten のモデルに従わなくなることなどが報告されており、ナガコンブでも温度が高い場合のアンモニア態窒素吸収率は、濃度の増加に比例して上昇し、Michaelis-Menten の式に従わなくなると思われた。

硝酸態窒素吸収の K_s は温度の上昇とともに増加することが *Codium fragile*²¹⁾ および *Fucus spiralis*¹⁸⁾ で報告されている。同様に、ナガコンブでも硝酸態窒素吸収の K_s は新葉部および旧葉部ともに $15^\circ C$ が $5^\circ C$ を大きく上回った。また、ナガコンブの新葉部および旧葉部の硝酸態窒素吸収の V_{max} も

15°Cが5°Cより高い値を示した。このため、15°Cでの硝酸態窒素の吸収率は、高濃度では5°Cにくらべ高まったが、 K_s が5°Cの約2.5倍と大きく増加したため、低濃度の吸収率は5°Cより低下した。このことは、硝酸態窒素の吸収はアンモニア態窒素とは逆に低温時に効率的であることを示すとともに、天然海水中の硝酸態窒素は低温期に豊富である²⁴⁾という、季節的な変化によく適応していることを示唆している。

無機態窒素の選択吸収実験の結果、無機三態窒素は同時に吸収された。しかし、アンモニア態窒素は硝酸または亜硝酸態窒素の共存に影響されることはほとんどなかったが、硝酸態窒素および亜硝酸態窒素の吸収率は、アンモニア態窒素が共存するときには、単独で添加した時にくらべ低い値となり、特に亜硝酸態窒素は吸収率が著しく低下した。アンモニア態窒素による硝酸態窒素および亜硝酸態窒素の吸収の阻害は、アンモニア態窒素濃度が約1 μM でも認められ、特に旧葉部において顕著であった。このような無機態窒素の選択吸収、あるいはアンモニア態窒素による硝酸態窒素および亜硝酸態窒素の吸収阻害は、植物プランクトン¹⁵⁻¹⁷⁾において顕著であり紅藻²²⁾や緑藻²¹⁾でも知られ、褐藻でも *Fucus distichus* の芽芽体で報告されているが²³⁾、他の大型褐藻では明らかではない。ナガコンブにおけるこのような現象が、再生期のみなのか、生長および身入りの時期でも起るのかは興味深いことであり、今後検討する必要がある。なお、*Laminaria longicruris*¹⁹⁾および *Codium fragile*²¹⁾で硝酸態窒素による亜硝酸態窒素吸収の阻害が報告されているが、ナガコンブでは明らかではなかった。無機態窒素の単独吸収実験および選択吸収実験から、ナガコンブはアンモニア態窒素あるいは硝酸態窒素を主要な窒素源としており、亜硝酸態窒素は殆ど利用されないことが示唆された。なお、アンモニア態窒素は海水中には恒常的に存在せず、おもに動物の排せつ物、あるいは生活排水などから供給される。また、体内にアンモニア態窒素が蓄積すると害作用がある可能性もあり²⁵⁾、恒常的な窒素源とは考えにくい。ナガコンブ葉体を示すアンモニア態窒素に対する高い吸収率や選択吸収は、短期的、あるいは突発的に出現したアンモニア態窒素を効率的に吸収するための適応ではなからうか。一方、硝酸態窒素は季節的な変動が大きく、降温期にその濃度が増すことが知られている²⁴⁾。また、コンブ葉体に蓄積される無機態窒素は殆ど硝酸態窒素であり、高濃度に蓄積できることが報告されている⁹⁻¹²⁾。本実験において、硝酸態窒素の吸収効率は低温時に特によいことを明らかにした。ナガコンブの再生期は低温期であり、海水中の硝酸態窒素濃度が他の無機態窒素に比べ高いことなどから、ナガコンブは再生長に必要な無機態窒素源として主に硝酸態窒素を利用していると推察した。

コンブが再生する時期の海水中には硝酸態窒素が豊富に含まれていることから、この時期に天然礁に生育するナガコンブの新葉部の生長増大を目的として、硝酸態窒素を施肥しても効果はほとんど期待できないと思われる。しかし、養殖場のように高密度でコンブを生産している場所、特に海水中の栄養塩が少ない高水温期におけるアンモニア態窒素および硝酸態窒素の施肥は有効な可能性が高い。この場合、低濃度から高濃度まで良く吸収され、特に高温時に吸収が速く、しかも選択的に吸収されるアンモニア態窒素が、肥料種としては最も有効と考えられる。ただし、無機態窒素の種類によって吸収されてからの代謝が異なるといわれており²⁵⁾、無機態窒素のいずれが最も有効かは、長期間施肥したとき害作用、生長、身入りへの影響などで詳細に検討して決定する必要がある。さらに、海水中の肥料の移動、拡散などを考慮した効果的な施肥方法の開発も重要であり、今後これらを研究する必要がある。

再生期のナガコンブは、旧葉部において新葉部には劣るものの盛んに無機態窒素を吸収することを明らかにした。再生期のナガコンブでは旧葉部は殆ど生長しないことが報告されており²⁶⁾、今回の無機態窒素吸収実験においても旧葉部は全く生長していない。また、新葉部の生長への旧葉部切断の影響を調査するため実施した実験において、旧葉部を残した新葉部の生長率は、旧葉部を総て除去し新葉部のみとした葉体の生長率に比べ有意に高い値を示し、旧葉部が新葉部の生長に寄与していることを明らかにした。なお、Lüningは²⁷⁾、*Laminaria hyperborea* の新葉部の生長は、旧葉部をすべて除いた場合、生長が大きく低下することを報告しており、旧葉部に貯えられた炭水化物が新葉部の再生長に利用されてい

ると考察した。また、Lüningは²⁹⁾, *Laminaria hyperborea* および *Laminaria saccharina* の旧葉部で同化された¹⁴Cの新葉部への移動、Davisonは²⁹⁾, *Laminaria digitata* の成熟した部分が吸収した¹⁵Nの分裂組織への移動をそれぞれ報告している。これらの報告と同様に、ナガコンブにおいても、新葉部へ再生長のために物質が輸送されていると考えられる。本実験では全く生長しない旧葉部がかなり高い無機態窒素の吸収能力を有していることが明らかであり、新葉部の再生長のために旧葉部から送られる物質の中には、旧葉部で新たに吸収された無機態窒素も含まれていると推察した。

旧葉部の残存量を変えて実験した結果、旧葉部残存量が50cmと100cmとでは生長率に有意差が認められなかった。このことは、新葉部の生長のために旧葉部から受け取る物質の量には一定の限界があることを示している。なお、生長率と無機態窒素濃度との関係は、吸収率の場合と同様 Michaelis-Menten のモデルに従うことが知られており^{30,31)}, 生長率に飽和点が認められている。このことは、旧葉部の残存量がある一定量以上では旧葉部の残存量を増加しても新葉部の生長は比例して増加しないことを示している。本実験では、少なくとも旧葉部の残存量50cmまでは残存量の大きさが新葉部の生長に影響を与えることが明らかになった。

本研究により、ナガコンブはアンモニア態窒素および硝酸態窒素をよく吸収し、特に水温が高い場合にはアンモニア態窒素の吸収が著しく促進されることが明らかになった。また、新葉部の生長に、旧葉部が何らかの影響を与えていることを明らかにした。これらの知見は、コンブ類の天然漁場および養殖場における肥培管理を行う上で重要な知見である。

なお、今回は再生期のナガコンブ葉体の栄養吸収について検討したが、無機態窒素吸収の季節およびコンブの生長段階による変化、ならびに吸収された無機態窒素のコンブ体内での変化および移動がどのようであるかといった問題が残っており、今後さらに研究が必要である。

引用文献

- 1) 殖田 三郎・岩本 康三・三浦 昭雄 (1963): 水産植物学, 水産学全集, 10, 恒星社厚生閣
- 2) 田村 正 (1969): 浅海増殖場の環境 I, 水産増殖叢書, 15-1, 日本水産資源保護協会
- 3) 長谷川由雄・駒木 成・柴田 勝兄・本間 馨 (1960): コンブの生長におよぼす尿素の影響について 第1報 初期発生および幼体におよぼす影響, 北水試月報, 17(2), 11-24.
- 4) 長谷川由雄・駒木 成・柴田 勝兄・本間 馨 (1960): コンブの生長におよぼす尿素の影響について 第2報 葉体の生長におよぼす影響, 北水試月報, 17(2), 25-32.
- 5) 中津 俊行・阪井与志雄 (1967): 稚内市におけるコンブの施肥試験, 北水試月報, 24(3), 46-55.
- 6) 船野 隆・福原 英司・佐藤 芳和・駒木 成 (1966): 岩内島野沿岸のコンブ施肥試験, 北水試月報, 23(3), 19-31.
- 7) 山田 信夫 (1967): 寒天原藻テングサ類の施肥に関する研究, 静岡県水産試験場伊豆分場研究報告, 32.
- 8) 新原 義昭・金子 孝・田沢 伸雄 (1972): 施肥によるコンブ葉体の全窒素量の変化について, 北水試月報, 28(2), 10-26.
- 9) Black, W. A. P., and Dewar E. T. (1949): Correlation of the physical and chemical properties of the sea with the chemical constitution of algae. J. Mar. Bio. Ass. U. K., 28, 673-699.
- 10) Larsen, B., and Jensen, A. (1957): The determination of nitrate and nitrite in algal material, and seasonal variation in the nitrate content of some Norwegian seaweeds. Norwegian Institute of Seaweed Research, 15.
- 11) Chapman, A. R. O., and Craige, J. S. (1977): Seasonal growth in *Laminaria longicruris*: Relation with dissolve inorganic nutrients and internal reserves of nitrogen. Marine Biology, 40, 197-205.
- 12) 横山 雅仁・三本菅善昭 (1979): 促成コンブ葉体内における硝酸態窒素の時期的変化, 北水研報告, 44, 67-72.
- 13) Wilkinson, G. N. (1961): Statistical estimation in enzym kinetics. Biochem. J., 80, 324-332.
- 14) Sundén, O. (1964): The ecology of *Laminaria digitata* in Norway view of transplant experiments. Nytt. Mag. Bot., 11, 83-107.
- 15) 岩下 光男 他編 (1975): 海洋プランクトン, 海洋科学基礎講座 6, 東海大学出版会.

- 16) Platt, T. [ed.] (1981) : Physiological Bases of Phytoplankton Ecology. Can. Bul. Fish. Aquat. Sci. 210.
- 17) Darley, M. M. (1982) : *Algal Biology : a physiological approach*. BASIC MICROBIOLOGY 9, Blackwell Scientific Publications.
- 18) Topinka, J. A. (1978) : Nitrogen uptake by *Fucus spiralis* (Phaeophyceae). J. Phycol., 14, 241-247.
- 19) Harlin, M. M., and Craigie, J. S. (1978) : Nitrate uptake by *Laminaria longicurvis* (Phaeophyceae). J. Phycol., 14, 464-467.
- 20) Haines, K. C., and Wheeler, P. A. (1978) : Ammonium and nitrate uptake by marine macrophytes *Hypnea musciformis* (Rhodophyta) and *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyta). J. Phycol., 14, 319-324.
- 21) Hanisak, M. D., and Harlin, M. M. (1978) : Uptake of nitrogen by *Codium fragili* subsp. *tomentosoides* (Chlorophyta). J. Phycol., 14, 450-454.
- 22) D'Elia, C. F., and DeBoer, J. A. (1978) : Nutritional studies of two red algae. II. Kinetics of ammonium and nitrate uptake. J. Phycol., 14, 266-272.
- 23) Thomas, T. E., Harrison, P. J., and Taylor E. B. (1985) : Nitrogen uptake and growth of the germlings and mature thalli of *Fucus distichus*. Marine Biology, 84, 267-274.
- 24) 駒木 成 (1975) : 浅海漁場開発と外海条件. 水工学シリーズ, 75-B-5, 1-20.
- 25) 伊藤 啓二・佐藤 孜郎・佐藤 美和・松本 文夫 (1960) : アサクサノリの生化学的研究-II. 諸種窒素源の利用機構について. 日水誌, 26(9), 938-943.
- 26) 佐々木 成 編 (1973) : ナガコンブ *Laminaria angustata* var. *longissima* (M) MIYABE の生活様式に関する研究. 北海道立釧路水産試験場
- 27) Lüning, K. (1969) : Growth of amputated dark-exposed individuals of the brown alga *Laminaria hyperborea*. Marine Biology, 2, 218-223.
- 28) Lüning, K., Schmitz, K., and Willenbrink, J. (1972) : Translocation of ¹⁴C-labeled assimilates in two *Laminaria* species. Proc. int. Seaweed symp. 7 (Sapporo), 420-425, University of Tokyo Press.
- 29) Davison, I. R., and Stewart, W. D. P. (1983) : Occurrence and significance of nitrogen transport in the brown alga *Laminaria digitata*. Marine Biology, 77, 107-112.
- 30) Chapman, A. R. O., Markhm, J. W. and Lüning, K (1978) : Effect of nitrate concentration on the growth and physiology of *Laminaria saccharina* (Phaeophyta) in culture. J. Phycol., 14, 195-198.
- 31) 三本菅善昭・岡田 行親 (1982) : 寒海系大型海藻の生理生態解明. 生物資源の効率的利用技術の開発に関する総合研究. 56年度研究報告, 77-78, 農林水産技術会議事務局.