

# スサビノリの鉄獲得機構

## ～鉄欠乏条件によるスサビノリの色落ちについて～

研究代表者 東京大学大学院農学生命科学研究科 教授 吉村悦郎

### 緒言

地球温暖化防止の観点から様々な試みがなされている。なかでも排出量の多い二酸化炭素削減の一つとして、植物・藻類を利用した光合成による二酸化炭素固定が挙げられる。国土の狭い日本において、沿岸域は非常に広い面積を占め、そこでの藻場造成による二酸化炭素固定も、その一つの選択肢である。

一方、食用として大きな産業を形成している、紅藻類に属するスサビノリの養殖では、しばしば“色落ち”という現象により、大きな経済的な被害が発生している。これは、色素含量の低下によってノリが商品価値を失うことを指すが、生体内で起きている現象としては、光合成色素量の低下、つまりは光合成量の低下を意味している。したがって、スサビノリを使って色落ち現象の詳細を調べ、その防止法を見いだすことは、藻類の二酸化炭素固定の増強につながる有用な知見が得られると同時に、安定した食料供給にも寄与することができると考えられる。

有明海で発生したノリの色落ちの調査報告によれば、色落ちはノリの生育に不可欠な栄養元素である窒素 (N) とリン (P) の欠乏であるとされ<sup>1)</sup>、窒素施肥による色落ち防止策がとられてきた。一方、光合成色素であるクロロフィル、カロテノイド、フィコビリリンなどの色素含量の低下は、主要元素 N, P の欠乏だけでなく、光合成色素合成に不可欠な Fe, Zn, Mn, Cu の微量元素欠乏による栄養障害でも生じ、特に鉄 (Fe) 欠乏が顕著であることも報告されている<sup>2)</sup>。海水は pH 8 とアルカリ性であるため、Fe をはじめとする微量元素の溶解度はきわめて低く、溶存態 Fe はナノモル (nM) レベルと言われている<sup>3)</sup>。このような環境で、海洋藻類がどのように鉄を獲得しているのか、鉄欠乏条件下でどのような変化が起きているのか、スサビノリをモデル植物として、その詳細を調べることを着想した。

### 方法

#### 使用したノリの品種

色素の経時変化を測定する培養実験には、水産総合研究センター山下倫明室長より供与された網ノリの状態のスサビノリ (*Porphyra yezoensis* U-51 株) を使用した。また、栄養条件とノリの色調変化を比較する実験に用いた養殖ノリと乾ノリは、香川県水産試験場の藤原宗弘主任研究員より供与された試料を使用した。

## 培養条件

ノリの葉状体の培養は、人工気象器を用いて、水温 15 度、日照 10/14 時間(明/暗)、照度 3000 lux で行った。経時変化を測定する培養実験では、2 L 容のビニール製の培養バッグ中に、2 cm 程度に切った網ノリを入れ、エアレーションしながら培養を行った。培養液は、天然海水に IMK 培地を加えたもので 22 日間培養した後、IMK 添加人工海水(ダイゴ IMK-SP 培地, 日本製薬)で 5 日間前培養し、その後、鉄を除いた IMK-SP 培地で培養した。3 日ごとに色素量を計測しながら 18 日間培養し、鉄を含んだ培地で培養した葉状体と比較した。栄養条件によるノリの色調変化を調べる実験では、7-8 cm の養殖ノリを 6 日間 IMK-SP 培地で培養後、IMK-SP 培地から鉄あるいは窒素を除いた培地を用いて 9 日間培養を行ったものを分析に供した。

## 色素測定

含有色素としてクロロフィル a (Chl a)、フィコエリスリン(PE)、フィコシアニン、アロフィコシアニンを測定したが、フィコシアニン、アロフィコシアニンは PE と同じ挙動を示したため、PE の値のみを評価に用いた。Chla, PE の測定は以下の手順で行った。

ノリ葉状体表面の水分を十分拭き取った後、ノリ葉状体約 0.1 g(fresh weight)を海砂と共に 1 ml のリン酸緩衝液(50 mM, pH 6.5)中で破碎し、4°C、2 時間静置した。その後、遠心し上清画分をフィコエリスリン(PE)分析に用いた。一方、クロロフィル a (Chl a)は、先の沈殿画分を 90%アセトンで 50°C、5 分で抽出したものを同様に遠心し、その上清画分を分析した。

乾ノリサンプルの場合、乳鉢上で 0.1 ml のリン酸緩衝液でしめらせた後、液体窒素で凍結・粉碎した。粉碎粉末にリン酸緩衝液を加え、上記と同様の操作で Chla, PE を分析した。

色素含量は既報の方法<sup>2)</sup>で計算し、湿重当たりの Chla および PE 含量を二次元プロットすることにより、ノリの状態、特に“色落ち”ノリを評価した。

## 金属分析

ノリ葉状体の鉄含量は ICP-AES を用いて分析した。ノリ葉状体は乾燥し、乾燥重量を測定後、テフロン容器中で、硝酸分解したものを定容し、濃度を分析した。

## 結果

図 1 に、鉄有および鉄欠乏区のノリ葉状体の写真を示した。ストレス付加後 15 日目のサンプルであるが、鉄欠乏条件では葉状体が赤みを帯びている様子が確認された。



a)+Fe



b)-Fe

図1 鉄の有無とノリ葉状体

27日間の培養後、15日間鉄有り(a)、鉄無(b)で培養したノリ葉状体の写真

また、図2には、7-8 cmまで生長した養殖用のノリに、9日間の鉄欠乏あるいは窒素欠乏のストレスを与えたものを示した。この場合でも、鉄欠乏では葉状体が赤みを帯びた色落ち状態になった。また、窒素欠乏にした場合は緑味を帯びた色落ち状態となることを確認した。



図2 鉄欠乏および窒素欠乏のノリ葉状体

左から a)窒素欠乏 b)鉄欠乏 c)コントロール区

### ノリの色素分析結果

ノリ湿重量当たりのChlaおよびPE含量の二次元プロットを図3aに示す。3日毎にサンプリングして色素含量の経時変化を調べた。数字はストレス負荷後の培養日数を鉄有、鉄無それぞれについて示している。その結果、いずれのサンプルもChla/PEがほぼ一定で緩やかな減少傾向を示し、鉄欠乏条件(▲点線)では鉄含有条件(●実線)よりも色素の減少速度が速く、Chla含量が0.5(mg/g f.w.)を下回ると、目視では赤色を帯びた色落ちと認識される状態になることが分かった。図1bに示した葉状体の写真は15日目のプロットに対応する。

次に、養殖用のノリに窒素欠乏のストレスを負荷したサンプル(図2a)の色素含量

を図 3-b にプロットした。(図 3-b は、図 3-a の一部分を示し、色落ちを起こしている試料のプロットを枠で囲っている。) 窒素欠乏状態の色落ち試料 (◆) は、Chl a/PE 比が高く (図 3-b)、緑がかった色落ちになった (図 2-a)。このように、窒素欠乏による色落ちと鉄欠乏による色落ちとは色素の変動に差があることから、色落ちの原因を判定する基準の一つになると考えられる。

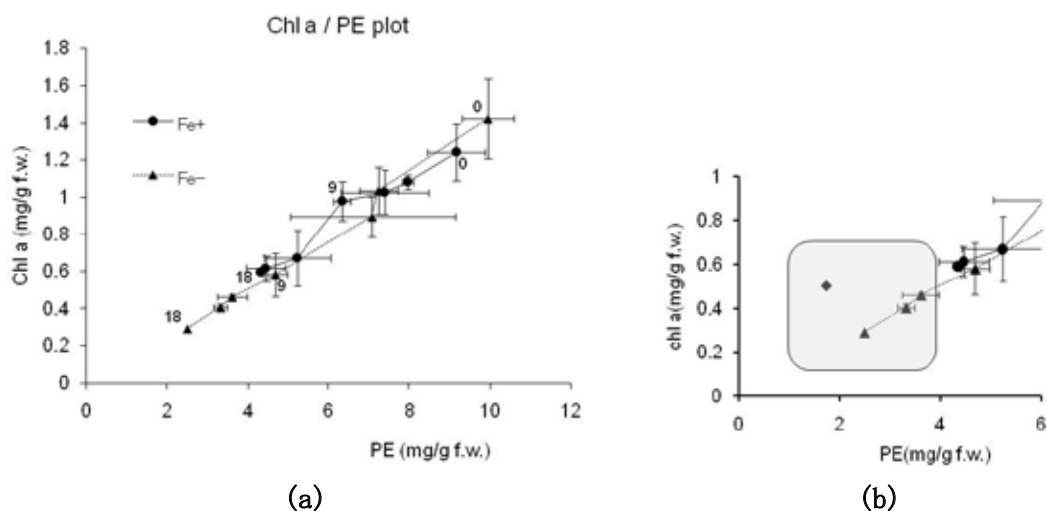


図 3 ノリ葉状体の色素含量二次元プロット

経時変化の実験結果と同様に、鉄欠乏条件では Chl a/PE 比は一定なものの、色素量自体が参照区と比べて低い状態になっていた。それに対し、窒素欠乏条件では、色素量が少ないと同時にその比が高く変化していた。これは、窒素欠乏によりフィコビルン類が分解された可能性が考えられる。

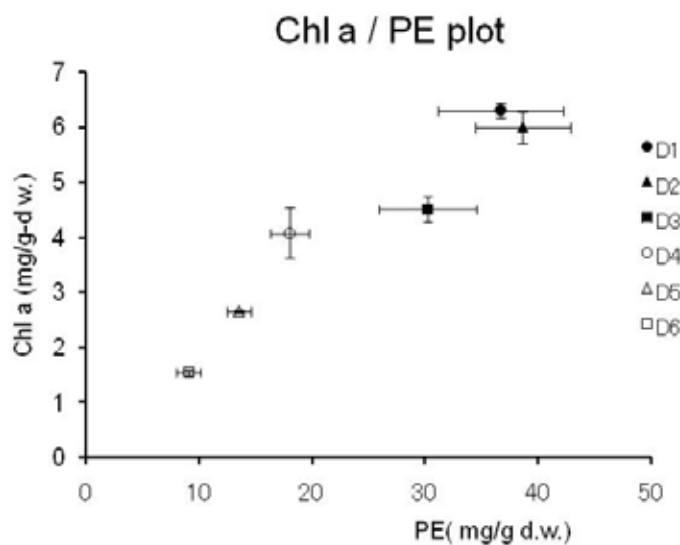


図 4 乾ノリの色素含量二次元プロット

表1 乾燥ノリの鉄含量(乾重当たり)

sample		等級	Fe ( $\mu\text{g/g}$ )
D1	香西A	2	200
D2	直島東21	2	183
D3	直島西6	2	111
D4	引田4	4	119
D5	引田6	6	78
D6		6以下	120

最後に、乾ノリの色素分析結果を図4に示す。使用した乾ノリの種類、等級、鉄含有量を表1にまとめた。乾ノリの等級は、値が小さい程、品質の良いノリを示し、今回用いた試料では、試料番号D1~3は等級が高く、D4~6は等級が低いことを示す。その結果、等級の高いノリでは、Ch1a含量と鉄含量に正の相関が見られた。一方、等級の低いノリの場合Ch1a/PE比は高くなり(図4)、等級の高いノリに比べて窒素が欠乏している可能性が示唆された。また、この場合は鉄含量とCh1a含量間には相関が見られなかった。

## 考察

一般に言われている“色落ち”の指す葉状体がどのような状態になっているかを判別するため、ノリ葉状体の色素含量を測定した。また、スサビノリは栄養条件だけでなく、水温、水流などの物理的ストレスによって結果的に色素含量が低下した状態に至ることもある。そのため、本研究ではそれらの条件が一定の下で実験を行い、鉄欠乏によるノリ葉状体の色素組成の変化を経時的に調べ、鉄を要因とする色落ちの現象を捉えることを試みた。その結果、標準条件(コントロール区)、鉄欠乏条件の葉状体の色素組成は、いずれもCh1a/PE比が一定で推移し、鉄欠乏条件でより早く色落ちと認識される状態まで色素含量が低下した点である。今回の実験から、Ch1a量に合わせてPE量も変動することがわかった。また、二次元プロットにおいて、一定のCh1a/PE比の直線上に多くのプロットが載っているが、その直線の傾きより低い部分にプロットが現れなかったことから、Ch1a量がPEの最大量を規定している可能性が示唆された。一方、窒素欠乏条件ではフィコビルンが窒素源のプールとして働いていると考えられており<sup>4)</sup>、今回の実験結果でも窒素欠乏時には一定のCh1a/PE比よりも高い傾きの部分にプロットが現れ、Ch1a量に比べてPE量が相対的に少なくなる傾向が示された。植木ら<sup>4)</sup>によると、栄養欠乏応答、特に窒素、リン、鉄の欠乏によりノリが色落ちし、葉緑体の縮小、フィコビリソームの縮小により鉄欠乏で赤みがかかった葉状体、窒素欠乏で緑を帯びた葉状体がとれると報告しており、今回の実験結果とよく一致した。

色落ちノリではCh1aおよびPEをはじめすべての色素量が減少する。しかも色落ちの程度は軽度から重度までさまざまである。特定の色素だけが減少するのであれば、何

らかの代謝系路上の欠損によるといえるが、色落ちではすべての色素が減ることから元素欠乏による栄養失調症と考えられる。

以上のように、鉄欠乏時には色素含量が Chla/PE 比を変えずに変化することから、鉄が光合成色素全体に影響を与えていることが示唆される。

## 結論

スサビノリは、栄養的な要因、環境的な要因など、様々な要因により色落ち現象を起こすが、その栄養的な原因を調べた結果、窒素欠乏および鉄欠乏により光合成色素の合成が抑制され色落ちした。本研究では、葉体中の Chla と PE 含量の変化を二次元プロットすることにより、色落ちを色素量の変化として表現し、葉状体の状態をより詳細に区別することが可能となった。従来、目視による色調判別で色落ちを判定していたが、色素量の二次元プロットで客観的に評価できるようになり、窒素欠乏の色落ちに加え鉄欠乏の色落ちも、栄養状態の違う葉状体として区別することが可能となった。

もともとノリの生長における窒素要求量は鉄の要求量に比べ桁違いに大きく、鉄は微量で生体内反応の触媒として機能している。海水中の鉄濃度は ppb レベルと超微量であり、ノリはこれを取り込み、濃縮して光合成をはじめとする生体内諸反応に活用している。窒素が十分あって生長が始まり、そこで鉄などの微量元素が同調することによって初めて円滑な生長が保証されるのであるが、窒素欠乏条件では恐らく鉄の機能が発揮されないか、発揮されても分析的に判別できるほどの差を示さない可能性が考えられた。

## 謝辞

本研究は JFE21 世紀財団 2009 年度「地球環境・地球温暖化防止」分野の研究助成により行われました。ここに記し謝意を表します。また、網ノリおよび乾燥ノリはそれぞれ水産総合研究センター山下倫明室長、香川県水産試験場、藤原宗弘主任研究員から供与頂きました。ここに感謝申し上げる次第です。

## 参考文献

- 1) H. Amano, *Kagaku-to-seibutsu*, **39**, pp784-785 (2001).
- 2) J. Zhang, T. Nagahama, H. Ohwaki, Y. Ishibashi, Y. Fujita and S. Yamazaki, Analytical approach to the discoloration of edible laver “nori” in the Ariake Sea, *Anal. Sci.*, **20**, pp37-41 (2004).
- 3) J. Zhang, T. Sato, R. Maruyama, Y. Takao, T. Azenaka, Y. Fujita and S. Yamazaki, *Bull. Soc. Sea Water Sci. Jpn.*, **63**, pp158-166 (2009).
- 4) C. Ueki, A. Murakami, T. Katoh, N. Saga and T. Motomura, Effects of nutrient deprivation on photosynthetic pigments and ultrastructure of chloroplasts in *Porphyra yezoensis*, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **76**, pp375-382 (2010).