

発表番号 35

海苔の微量元素取り込み機構の解明と色落ち防止法の開発

助成研究者： 山崎 素直 (長崎大学環境科学部)

共同研究者： 藤田 雄二 (長崎大学環境科学部)

高尾 雄二 (長崎大学環境科学部)

張 経華 (同外国人客員研究員)

本研究では、有明海で2001年に次ぎ2003年にも大発生した海苔の色落ち現象の直接原因を探索し、色落ちの回復のための要因を明らかにし、さらに色落ち問題を解決するための具体的方策を提言することを目的とした。まず、正常海苔と色落ち海苔の光合成色素および構成元素組成を分析したところ、色落ち海苔では、クロロフィル、カロチノイドおよび色素タンパク質フィコビルン(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複合体)のいずれもが正常海苔の半分以下に減少しており、かつ必須微量元素Fe, Mn, Zn, Cuおよび主要元素Pが顕著に減少していた。さらにクロロフィルと微量元素量、およびフィコビルンと微量元素量の間には高い相関があり、この結果、海苔の色落ちは将に全栄養素的な栄養失調症であり、アルカリ土壌に生育する陸上植物によく見られる鉄欠乏による「クロロシス」(葉緑素欠乏による白化現象)と同じ現象であると考えられた。これまで言われてきた窒素とリンの欠乏以外に微量元素欠乏、特に鉄欠乏が重要な要素であることが示された。窒素とリンは海苔の栄養生長に不可欠であり、その欠乏は生育量(バイオマス)の減少となるが、色落ちという色素欠乏は色素の生合成の異常を示しており、色素合成に不可欠な微量元素Fe, Mn, Zn, Cuの欠乏によることが明らかになった。さらに色落ちと微量元素の関係は培養実験で確認された。すなわち有明海で発生した色落ち海苔をFe欠乏培地で培養すると顕著な色素の減少を示し、これにFeを添加すると色落ちが回復し、かつFe含量も増加した。

海苔の生育に必要な栄養元素の由来を調べるため、有明海の底質および浮泥を分析した。その結果、底質や浮泥にはC, N, P, Fe, Zn, Cu, Mnが含まれていることが明らかになった。それにもかかわらず色落ちが発生する原因は何か、が指摘され、①海苔自身の栄養元素吸収力の低下、②海水中の元素の溶存形態の変化、③栄養元素の供給量低下、④他生物とのfood web上での栄養元素の奪い合い、⑤プランクトンによる活性酸素の影響など、が考えられた。海水中の遊離のFeイオンは極めて少ないことから浮泥中のFeの吸収の可能性が考えられた。そこで遊離のFeイオンのほかに各種のFe錯体(EDTA, クエン酸, 腐植酸, 浮泥そのもの)について人工海水中で添加実験を行い、海苔に吸収可能なFeの化学形態を調査中である。栄養元素の供給量の低下、さらに海洋食物連鎖系において珪藻の大繁殖と海苔の色落ちの関係について考察し、生物間における栄養元素の争奪戦が関係していることを示唆した。

現在海苔の色落ち防止策として、窒素肥料投与が行われているが、多量の肥料が必要なこと、また効果的な施肥が海水中ではなかなか難しいことがあげられる。微量元素の効果的利用法を開発することによってより効率的な色落ち防止策を構築することを考えている。

27

助成番号 0427

海苔の微量元素取り込み機構の解明と色落ち防止法の開発

助成研究者：山崎 素直（長崎大学環境科学部）

共同研究者：藤田 雄二（長崎大学環境科学部）

高尾 雄二（長崎大学環境科学部）

張 経華（同外国人客員研究員）

はじめに

現在，日本の海苔の生産量は年間約100億枚，そのうち約4割が有明海で生産されている。2000年暮に続いて2003年暮にも有明海で大発生した海苔の色落ちは生産に大打撃を与えた¹⁻⁶⁾。海苔の色落ちは，富栄養化に伴う赤潮プランクトンの大量発生による窒素やリンなどの栄養塩欠乏，諫早湾干拓事業に象徴される埋め立てや干拓の影響，農薬汚染，病原菌，異常気象など様々な外的要因が複雑に絡み合っており決定的な因果関係は明らかではなく，漁民たちは日々の不安の中で海苔栽培を行っているのが現状である。色落ちはバイオマス（生育量）の減少のみならず文字通り“色落ち”という海苔本来の構成成分の欠落による必須な機能が低下あるいは劣化したことを示している。そこで本研究では，色落ちの直接原因を探索し，色落ちの回復のための要因を明らかにすること，さらに有明海の海水中の栄養元素や微量元素の存在状態を解析することによって色落ち防止のための具体策を提言することを目的とした。ここではこれまでの研究も含めて現在までの結果をまとめることとする。

1. 海苔色落ちの原因探索

海苔の黒色は光合成色素であるクロロフィル，カロチノイドおよび色素タンパク質フィコピリンが可視光を吸収するために黒く見える。色落ち海苔では薄茶色に退色する。本実験では正常海苔と色落ち海苔におけるこれら色素成分を定量し，さらに構成元素の違いを解析した。

(材料と方法)

海苔試料：2001年11月から2004年3月にかけて有明海で採取された生海苔7種類および乾燥海苔70種類を分析試料とした。生海苔は分析するまで冷凍保存し，乾燥海苔は乾燥剤を入れた密閉容器に入れ冷蔵保存した。

試料の前処理と色素分析：試料を液体窒素および乳鉢を用いて粉碎し，クロロフィルおよびカロチノイドについては90%アセトンで2回抽出し，遠心上清の吸光度を下記の式によ

り求めた⁷⁾。乾燥海苔については上記以外に SPAD502 葉緑素計 (ミノルタ製) によってクロロフィル含量を測定した。

色素タンパク質フィコビルリン (フィコエリスリン PE, フィコシアニン PC, アロフィコシアニン APC の複合体) はリン酸緩衝液で抽出し, それぞれ下記の式により分光光度計で定量した^{8,9)}。色素タンパク質の粗抽出液および硫酸沈殿の分画液について SDS-PAGE により色素タンパク質の挙動を調査した。

$$\text{Chlorophyll } a \text{ (}\mu\text{g/ml)} = 11.6A_{665} - 1.31A_{645} - 0.14 A_{630}$$

$$\text{Carotenoid (}\mu\text{g/ml)} = 4.0A_{480}$$

$$\text{Phycocerythrin (}\mu\text{g/ml)} = 119.4A_{565} - 53.6A_{615}$$

$$\text{Phycocyanin (}\mu\text{g/ml)} = 164.5A_{615} - 0.14A_{565}$$

$$\text{Allophycocyanin (}\mu\text{g/ml)} = 204.0A_{650} - 51.9A_{620} - 1.52A_{565}$$

ここで A は吸光度, 下付き数字は波長 nm を示す。

元素分析: 生海苔 0.5 g または乾燥海苔 0.1 g にそれぞれ $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ を加え, マイクロウェーブで湿式灰化し, 希硝酸で定容後, ICP 発光分析 (堀場製作所製 ULTIMA2 および島津製作所製 ICPS7000) により 9 元素 (Fe, Zn, Cu, Mn, Ni, Cd, Ca, Mg, P) について定量分析を行った。

(結果と考察)

Table 1 に生海苔と乾燥海苔中の色素含量を示す。色落ち海苔 (生海苔の F5 と F6, 乾燥海苔の D5 ~ D12) ではクロロフィル, カロチノイド, フィコエリスリン PE およびフィコシアニン PC およびアロフィコシアニン APC の含有量は正常海苔に比べていずれも約半分に減少していた。乾燥海苔についても同様であった。Fig. 1a にクロロフィルとカロチノイド, Fig. 1b に色素タンパク質フィコビルリンの吸収スペクトルを示す。生海苔 F1 と F5 および乾燥海苔 D1 と D11 はそれぞれ同量から抽出した結果を示す。海苔が黒く光沢を持っているのは, これら色素が殆どすべての波長領域の可視光を吸収するためであり, 色落ちした海苔ほど薄茶色に退色する。このことから色落ちはすべての色素の生合成が抑制された結果であることが示された。また, これらの色素が光合成色素であることから, 色素欠乏は光合成能の低下, すなわち生育量の減少に繋がっていることが明らかになった。

Table 2 に海苔中の微量元素 Fe, Mn, Zn, Cu および主要元素 P, Mg, Ca 含量を ICP 発光分析法で求めた結果を示す。色落ち海苔では Mg, Ca 含量には変化がなかったが, Fe, Mn, Zn, Cu, P に顕著な減少が見られた。これらの元素が光合成色素とどのような関係にあるのかを知るために両者の相関を求めた。元素含有量とクロロフィル量 (Fig. 2) および色素タンパク量 (Fig. 3) の関係を示す。興味深いことに微量元素 Fe, Mn, Zn, Cu と主要元素 P はそれぞれクロロフィル量および色素タンパク質量との間には明瞭な正の相関があることが分かった。これらの元素は細胞内の葉緑体やミトコンドリアなど細胞内の小器官にあって, それぞれ光合成や呼吸における反応を円滑に促進するための必須因子であることから,

これらの元素の欠乏は色素および色素タンパク質の生合成抑制，その結果として光合成機能の低下を物語っている。

海苔は紅藻類に属する高等植物である。植物の最大の特徴は光合成にある。光エネルギーは葉緑体中の色素タンパク質キャッチされ，クロロフィル，カロチノイドを経て光反応中心に伝えられ二酸化炭素の固定を行う。固定された炭素は葉面から吸収された窒素やリンとともに有機物が合成される。したがって色素や色素タンパク質量の低下は取りも直さず光合成能の低下を意味し，有機物合成が低下し，したがって生物体そのものの生長が抑制されることを示す。

今回の分析結果は，光合成能の低下を招いた原因が，窒素，リンの欠乏とともに微量元素の欠乏であることを示した。微量元素のうち，Fe, Zn, Mn, Cu はいずれもクロロフィルや色素タンパク質中のフィコビル色素の生合成にとって必須の元素である。通常これらの微量元素は反応触媒である酵素に取り込まれ，酸化還元，転移，加水分解，重合，異性化反応など多くの生体反応を司る酵素の活性中心金属として機能している。これら元素の濃度は ppm レベルときわめて微量であるが生体反応を円滑に進行するためには不可欠の元素である。これまでの研究で窒素，リンの欠乏が色落ちの原因とされてきたが，窒素やリンからはバイオマス（生育量）の減少を説明することができるが，色落ちという機能不全を説明できない。微量元素欠乏は色素合成能低下を示す直接的原因と筆者は考えている。

海苔の色落ち現象は，陸上植物における“鉄欠乏クロロシス”として広く知られている現象と同義であると考えられた。すなわち土壌 pH が 8～10 にも達する石灰質アルカリ土壌では各種の微量元素 - 特に鉄(III)イオン - は水酸化物となって不溶化し植物が利用不可能となって鉄欠乏が起こり，クロロフィル合成が抑制されて葉が黄色くなる，いわゆる“白化”現象が起こる。世界に広がるアルカリ土壌は地球陸地面積の 20% 以上にも及び，ここでの鉄欠乏クロロシスが作物生産の上で大問題になっている。クロロシスでは十分な窒素があっても鉄欠乏によって白化が起こる。一方，海水は pH 8 のアルカリ性であるため，海水中の溶存鉄イオンは極めて少ない。ここでも鉄欠乏が引き起こされる危険性はきわめて大きく，そのうえ海苔が海水中のどのような鉄の化学種を吸収しているのか，その取り込み機構も含めて現在何も分っていないのが現状である。

2. 微量元素添加による色落ちの回復実験

前章で窒素，リンに加えて微量元素の欠乏が色落ちの原因であることが分った。本章では，実験室レベルで培養により色落ちを発現させること，および発現した色落ち海苔に微量元素を添加し，色落ちの回復を調べることを目的とした。

(材料と方法)

海苔試料：有明海で発生した色落ち海苔（スサビノリのグリーン種），およびこれとは別に研究室で孢子から発芽させ生育させた海苔を用いた。

培養系：ろ過海水に窒素，リンを加えた ESP1 培養液に微量元素溶液 MP1 液を加えたものを用いた。このうち微量元素溶液から Fe を除いたものを Fe 欠乏培地とした。

培養：植物培養トロン内で，20°C，5,000 ルックス，明期 12 時間・暗期 12 時間周期で通気培養した。培地は3日ごとに交換した。上記培養液中で保存系状体をかき殻に撒き，殻胞子を生成させ，これをクレモナに付着させ，以後培地を交換しながら約1ヶ月培養すると藻体（配偶体）となる。2-3ヶ月で成熟体を得た。

腐植鉄の調製：泥炭を pH 5-6 で水浸漬して腐植物質を溶出させた。この抽出液に硫酸第一鉄を加え静置し，過剰のコンプレックスを沈殿せしめ，ろ過して上清を得た。上清中の Fe 含量を ICP で求めた。

色素および元素分析：培養した藻体を前章の方法で分析した。

(結果と考察)

(1) 色落ち海苔の Fe 添加による色落ち回復実験

Table 3 に有明海で採取した色落ち海苔を Fe 添加培地(Fe+)と Fe 欠乏培地 (Fe-) 中で培養した結果を示す。Fe は FeCl₃ として加えた。対照の分析値は採取時の値を示す。Fe 欠乏培地では培養7日後でどの色素も顕著な減少を示し，Fe 含量も減少した。これに対し Fe 添加培地では色素の回復と Fe 含量の増加が観測された。このことから Fe イオンが色落ち回復に効果があることが示された。

(2) 色落ち海苔の作成

孢子から培養した藻体はろ過海水中で順調な生育を示した。この藻体を Fe 欠乏培地に移すと色落ちを発現したが，上記の結果ほど明瞭な結果は得られなかった。これは用いたろ過海水がガラスウールによるろ過であるため，おそらく微小粒子に吸着した Fe イオンが混入してくるためであろうと考えられた。現在 Fe イオンを完全にコントロールすべく人工海水を用いた培養系を作成中である。

3. 有明海底質および浮泥の元素分析

海水中の溶存 Fe イオン濃度は約 10⁻⁹M 程度と極めて低いことが報告されている。海苔の中の Fe 含量はおおよそ 10⁻³M 程度であり，相当な濃縮が行われなければならない。海苔は葉面から養分を吸収するが，恐らく可溶性の Fe ばかりでなく粒子状の物質に吸着した Fe も有効に吸収している可能性がある。そこで Fe の供給源を探るために有明海の底質および浮泥の分析を行った。

(材料と方法)

試料の採取：2004年11月，有明海湾奥部(福岡，佐賀，長崎県)の河口および海岸14ヶ所で底質を採取した。また，鹿島沖および上記のうち3ヶ所で海水を採取した。

試料処理：底質はドラフト内で風乾し，粉碎後フルイ(0.5 mm メッシュ)を通したものを試料とした。海水は No.5C ろ紙でろ過し，ろ紙上の沈殿物(浮泥)を風乾し試料とした。

分析: 炭素と窒素は vario EL 全自動元素分析装置(Elementar 社)を用いた。無機元素は ICP 発光分析装置 (島津製作所製 ICPS-7000) , 水銀は Hg/MA-2000 水銀分析システム (日本インスツルメンツ社製) を用いた。

(結果と考察)

分析結果を Table 4 に示す。この結果から底質と浮泥はよく似た元素組成をしていることから、浮泥は潮汐により底質の軽い部分が浮遊したものと考えてよいと思われる。底質も浮泥もともに C, N, P, および Fe をはじめとする微量元素を少なからず含んでいることが分った。海水中の浮泥の量はおおよそ 0.27 g/L 海水であり、したがって海水中の浮泥由来の Fe 含量は 9.7 mgFe/L 海水となり、培養に用いている培地の Fe 含量 0.08 mgFe/L 海水よりはるかに高い値である。また、浮泥中の窒素を換算すると 0.81 mgN/L 海水、リンは 0.06 mgP/L 海水となり、培養に用いている培地のそれぞれの含量、16.5 mgN/L、2.6 mgP/L に比べるとかなり低い、海中には浮泥や底質だけではなく可溶性の窒素 (NO₃-N, NH₄-N) もあること、および海水は開放系で絶えず供給されていることを考えると海苔の栽培にとっては欠乏とまでは行かないまでも窒素が供給されていると考えられる。

浮泥中に含まれる元素を海苔が利用可能とすると、何故海苔に元素欠乏が生じ色落ちが起こるのか? 元素の吸収に関するさらに大きな問題があるように思われる。

4. まとめと今後の課題

前章で底質や浮泥中に十分量の Fe をはじめとする元素の存在が確認されたことを述べた。では何故海苔は色落ちするのか? 考えられる要因を如何に列挙する。

海苔自身の栄養元素の吸収力が低下した (阻害された) 。

海水中の微量元素の溶存形態が変化した。

栄養元素の供給量の低下

他生物との food web 上での栄養元素の奪い合いに敗れた。

プランクトンによる活性酸素の放出

いずれの要因も今後精査していかねばならない問題点である。色落ちは窒素肥料を施肥することで回復することが栽培現場では行われている。このことは色落ちは栄養障害であり障害と回復は可逆的である。このことから の可能性は考えにくい。 に関しては、特に海苔の栄養元素 - 特に Fe や微量元素の吸収機構を知ることが重要と考え、現在海苔が吸収可能な Fe の化学形態は何かを調査中である。培養実験では通常培地に EDTA が加えてあり、微量元素は EDTA キレートとして吸収される。実際の海中では、Fe³⁺ は不溶化すると考えられるので、Fe を可溶化するキレーターとして浮泥に含まれる炭素の由来を検討している。腐植物質の可能性も考えている。 については、多くの漁民の証言に「昔の有明海はきれいに濁っていたが、近年はむしろ汚く澄んでいる」との言葉があり、このことは埋め立てや干拓によって潮汐が小さくなり、したがって浮泥の舞い上がりが少なくなっ

たことを指しているのととることができる。浮泥が栄養元素の供給源であるならばこの可能性も考えうる。最後に について、海洋における元素をめぐる食物連鎖系から考えると Fig. 4 のような仮説が考えられる。

色落ちに先立って2000年末には珪藻が大発生した。この年は例外的に温暖で雨が多く、珪藻の生育に必須な珪素 Si が大量に流れこんだこと、水温が上昇したことにより Si の溶解度が高まったことなどにより珪藻の生育に適した環境がもたらされたことが大発生の原因と考えられている。珪藻の大発生が海苔の色落ちを誘起したのであれば、珪藻が海洋中の窒素やリンを優先的に摂取したためということになる。珪藻は単細胞の光合成をする植物プランクトンであり、栄養分摂取の仕組みや速度が高等植物の海苔のそれに比べ勝っていれば海洋食物連鎖系の勝者になるはずである。今回の筆者の分析結果は、窒素やリンに加えて微量必須元素の Fe, Zn, Mn, Cu も珪藻に奪われたためではないか、それによって海苔の色素合成能が低下し、色落ちという機能不全に陥ったのではないかと考えている。今後特に Si の動態も含め海水中の Fe, Zn, Mn, Cu などの微量元素の存在量、化学形態の解明、ならびに海苔の養分吸収機構の解明が必要となるであろう。

現在海苔の色落ち防止策として、窒素肥料投与が行われているが、多量の肥料が必要なこと、また効果的な施肥が海水中ではなかなか難しいことがあげられる。微量元素の効果的利用法を開発することによってより効率的な色落ち防止策を構築することを考えている。

文 献

1. Y. Fujita, *Nippon Suisan Gakk.*, **2002**, 68, 102.
2. H. Amano, *Kagaku-to-Seibutsu*, **2001**, 39, 784.
3. H. Amano and H. Noda, *Bot. Mar.*, **1987**, 30, 467.
4. T. Ishimaru, K. Ishikawa, S. Kiyono, and A. Hino, *Nippon Suisan Gakk.*, **2002**, 68, 102.
5. T. Takita, in a Report of the 5th International Conference on the Environmental Management of Enclosed Coastal Seas (EMECS 2001), **2002**, Kobe, Japan, 107-111.
<http://www.emecs.or.jp/emecs2001/report/011120/011120hokoku.htm>
6. M. Tabata, *Bunseki*, **2002**, 4, 200.
7. H. Amano and H. Noda, *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **1978**, 44, 911.
8. 藤田善彦：“藻類の生態”，秋山優（編）p.23 (1986)，内田老鶴園社
9. 池内昌彦：“植物生理工学”，宮地重遠・大森正之（編）p.7 (1998) 丸善

Table 1 Content of pigments in *nori* collected in Ariake Sea (mg g⁻¹)

No.	Sampling site	Date	Chlorophyll <i>a</i>	Carotenoids	PE	PC	APC
<i>Fresh nori</i> (fresh weight)							
F1	Kumamoto	Jan. 2003	0.505±0.033	0.085±0.033	2.60±0.27	2.16±0.23	0.349±0.040
F2	Kumamoto	Jan. 2003	0.489±0.020	0.069±0.033	3.66±0.72	2.50±0.84	0.547±0.100
F3	Kumamoto	Jan. 2003	0.462±0.116	0.081±0.033	2.60±0.27	2.47±0.30	0.353±0.026
F4	Kumamoto	Jan. 2003	0.419±0.090	0.116±0.033	2.82±0.62	2.60±0.45	0.363±0.059
F5	Saga	Jan. 2003	0.298±0.033	0.067±0.033	1.19±0.13	1.10±0.04	0.188±0.039
F6	Saga	Jan. 2003	0.240±0.049	0.055±0.033	1.43±0.22	1.10±0.11	0.171±0.027
<i>Dried nori</i> (dry weight)							
D1	Saga	Nov. 2001	4.56±0.46	1.060±0.107	29.0±4.3	16.6±2.	3.64±0.34
D2	Saga	Dec. 2001	2.83±0.26	0.697±0.064	30.2±1.5	14.8±1.8	3.44±0.31
D3	Saga	Jan. 2002	2.61±0.34	0.741±0.092	30.6±0.6	19.2±0.3	4.76±0.21
D4	Fukuoka	Dec. 2001	3.63±0.41	0.984±0.104	27.8±0.9	17.1±0.6	4.45±0.08
D5	Saga	Jan. 2002	1.58±0.20	0.526±0.065	13.1±0.1	7.8±0.2	1.70±0.06
D6	Saga	Feb. 2002	2.29±0.33	0.781±0.115	19.2±0.4	16.2±0.3	2.99±0.06
D7	Kumamoto	Mar. 2002	0.46±0.11	0.039±0.010	9.6±0.2	6.7±0.2	0.98±0.06
D8	Fukuoka	Feb. 2002	1.40±0.11	0.496±0.035	10.0±0.3	8.2±0.2	1.58±0.09
D9	Fukuoka	Apr. 2001	0.67±0.04	0.218±0.005	5.9±0.2	3.8±0.2	1.36±0.11
D10	Kumamoto	Mar. 2001	0.36±0.07	0.030±0.006	4.2±0.5	4.1±0.5	1.08±0.61
D11	Fukuoka	Nov. 2001	1.28±0.05	0.510±0.027	5.9±0.4	3.7±0.3	1.00±0.10
D12	Fukuoka	Feb. 2002	0.78±0.03	0.311±0.013	4.5±0.1	3.4±0.1	0.96±0.03

Discolored samples: F5, F6 (fresh nori) and D5 ~ D12 (dried nori). Values, triplicate± error, PE:phycoerythrin; PC:phycocyanin; APC:allophycocyanin

Table 2 Elemental composition of *nori* collected in Ariake Sea

No.	Fe	Zn	Mn	Cu	P	Mg	Ca	SPAD
	(μg g ⁻¹ dry weight)							
<i>Fresh nori</i>								
F1	510	100	130	38.1	20.1	22.0	6.25	
F2	550	160	130	19.4	21.4	21.8	6.70	
F3	440	81	90	29.9	17.4	21.3	6.94	
F4	350	81	100	28.6	20.9	23.9	7.06	
F5	260	64	54	11.9	14.0	22.0	6.82	
F6	250	61	55	9.2	13.2	20.5	6.64	
<i>Dried nori</i>								
D1	144	73.9	42.1	19.4	8.56	3.46	1.60	89.1±4.6
D2	157	73.1	34.6	26.1	7.63	3.42	2.32	85.5±5.6
D3	121	40.3	26.7	8.6	9.60	4.76	1.89	74.4±6.1
D4	102	39.8	58.9	6.0	4.84	3.06	3.44	67.5±4.5
D5	56.7	24.0	15.2	7.6	5.04	4.03	3.06	37.2±5.5
D6	59.4	25.2	21.3	8.1	4.98	4.66	3.92	34.8±5.4
D7	80.2	36.6	21.7	7.3	4.38	4.68	3.28	34.7±3.7
D8	58.3	19.9	25.6	4.0	2.10	3.65	2.37	31.3±4.3
D9	60.2	30.9	16.2	7.5	1.59	3.71	2.12	25.8±2.0
D10	66.2	28.0	15.1	10.6	1.82	2.38	2.12	24.5±3.1
D11	68.5	28.0	29.0	6.6	2.06	3.18	2.76	23.5±4.1
D12	56.5	15.8	21.7	5.2	1.65	3.14	2.28	21.5±7.9

Discolored samples: F5, F6 and D5 ~ D12. SPAD: chlorophyll content measured by Chlorophyll meter.

Table 3 Effect of Fe added to discolored nori (mg/g fw)

	Chl a	Carotenoid	PE	PC	APC	Fe 含量 (mg/g dw)
Control	0.492	0.119	2.47	2.02	0.61	86
Fe-	0.410	0.533	0.36	0.14	0.08	59
Fe+	0.532	0.088	1.24	0.71	0.38	137

Table 4 Elemental composition of sediments and detritus in Ariake Sea

	C	N	P	Fe	Mn	Zn	Cu	Mo	Co	B	Cd	Pb	Hg
	mg/g d.w.					mg/g d.w.							
Sediment													
1	9.57	0.92	0.321	19.2	0.41	33.2	4.60	17.6	6.2	n.d.	3.9	12.0	0.025
2	19.6	2.83	0.143	31.2	1.60	100	20.7	75.1	10.4	76.9	5.4	37.3	0.190
3	26.7	2.94	0.647	36.4	1.47	101	17.2	58.0	9.5	n.d.	6.3	33.2	0.195
4	22.3	2.64	0.672	39.5	1.72	103	17.5	63.4	10.6	5.9	5.8	35.9	0.206
5	20.7	2.38	0.590	37.2	1.33	98.2	16.8	63.3	9.9	4.5	5.8	36.5	0.201
6	20.2	2.64	0.540	32.6	1.34	86.5	13.3	52.0	8.5	n.d.	5.4	30.2	0.192
7	6.06	0.87	0.503	119.8	1.06	140	7.20	10.5	22.7	157	16.3	23.1	0.063
8	21.0	2.30	0.521	29.6	1.03	108	23.4	41.7	9.9	12.0	5.3	30.4	0.191
9	31.3	3.38	0.057	35.6	0.30	193	24.9	16.7	5.0	35.1	4.3	31.7	0.424
10	28.1	2.84	0.178	32.5	0.69	198	46.1	56.7	9.8	77.3	6.6	43.4	0.247
11	12.4	1.45	0.133	31.4	0.66	78.7	23.4	37.3	10.4	77.5	5.7	25.3	0.116
12	24.6	3.21	0.166	32.3	1.81	94.9	34.8	61.7	10.1	78.8	6.0	35.2	0.203
13	18.0	2.12	0.138	31.4	1.01	71.1	34.1	44.8	10.7	73.8	5.5	26.4	0.176
14	22.7	2.62	0.102	41.8	1.14	62.0	21.3	31.0	9.1	61.3	3.9	25.1	0.237
Av.	20.2	2.37	0.336	39.3	1.11	99.6	22.0	45.0	10.2	61.0	6.2	30.4	0.190
Detritus													
a	24.3	3.35	0.701	31.4	1.45	106	31.7	56.5	9.9	61.0	4.8	36.1	0.110
b	21.1	3.04	0.049	38.4	1.56	49.0	8.10	15.4	4.7	27.9	3.5	18.4	0.166
c	23.2	3.44	0.089	39.1	1.58	85.6	18.2	46.9	7.4	54.4	4.7	29.4	0.168
d	17.2	2.55	0.067	36.7	1.66	75.1	11.5	34.6	6.0	40.9	3.8	24.9	0.178
Av.	21.4	3.09	0.226	36.4	1.56	79.0	17.4	38.3	7.0	46.1	4.2	27.2	0.160

底質試料：1 西郷川河口 (長崎) 2 肥前浜海岸 (佐賀) 3 住之江海岸 (佐賀) 4 本庄江海岸 (佐賀)
 5 東与賀海岸 (佐賀) 6 東与賀海岸 (佐賀) 7 筑後川河口 (福岡) 8 矢部川河口 (福岡) 9 大牟田川河口 (福岡)
 10 諏訪川下流 (福岡) 11 菊池川下流 (熊本) 12 唐人川河口 13 熊本新港 (熊本) 14 緑川河口 (熊本)
 浮泥： a 西郷川河口 b 住之江海岸 c 東与賀海岸 d 鹿島沖

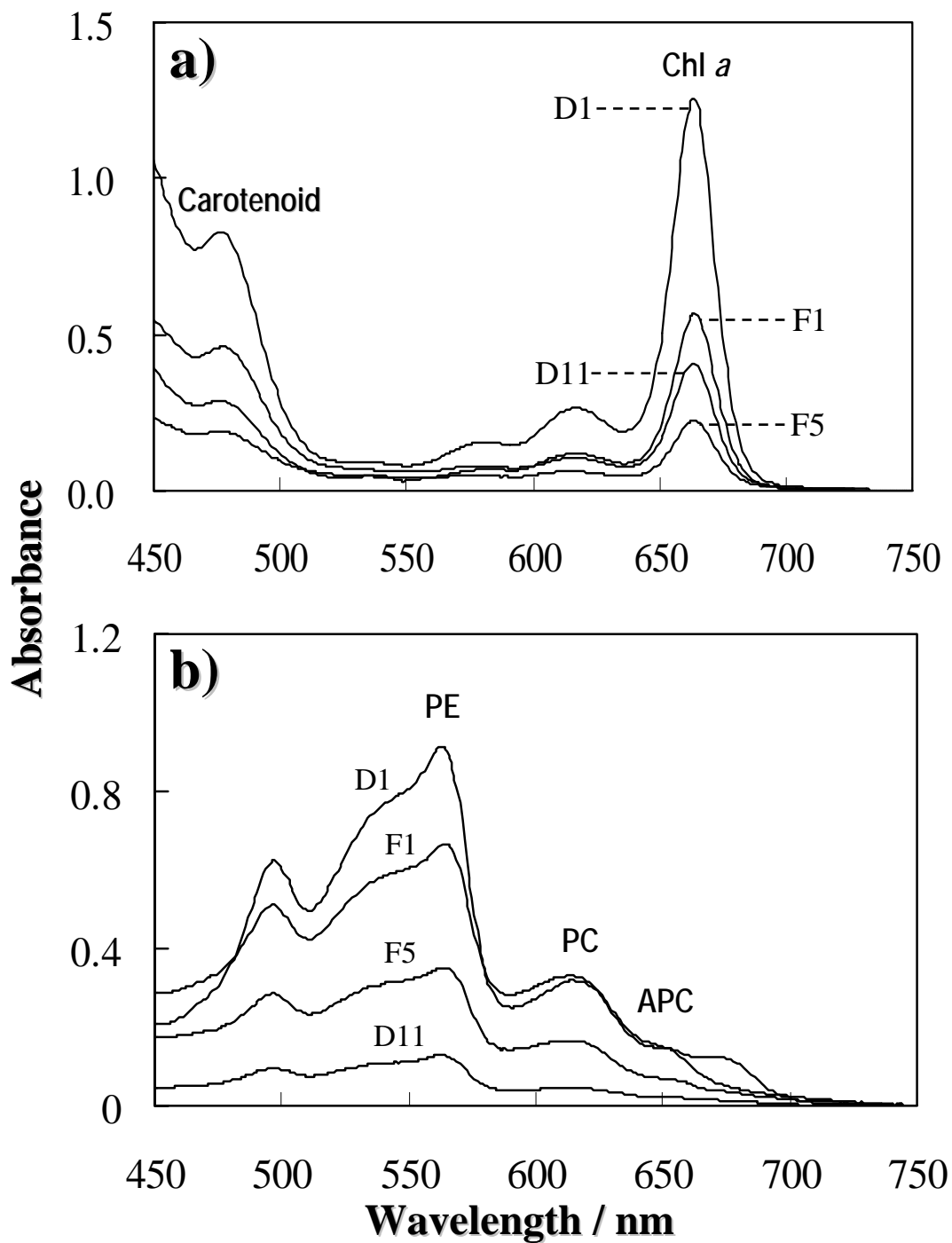


Fig.1. Absorption spectra of (a) chlorophyll a and carotenoids and (b) phycobiliproteins in normal and discolored samples. F, fresh; D, dried nori. F1 and D1, normal; F5 and D11, discolored samples. The pigments were extracted from the same weight of a set of samples: 0.3 g fresh weight for F1 and F5 and 0.1 g dry weight for D1 and D11. PE, phycoerythrin; PC, phycocyanin; APC, allophycocyanin.

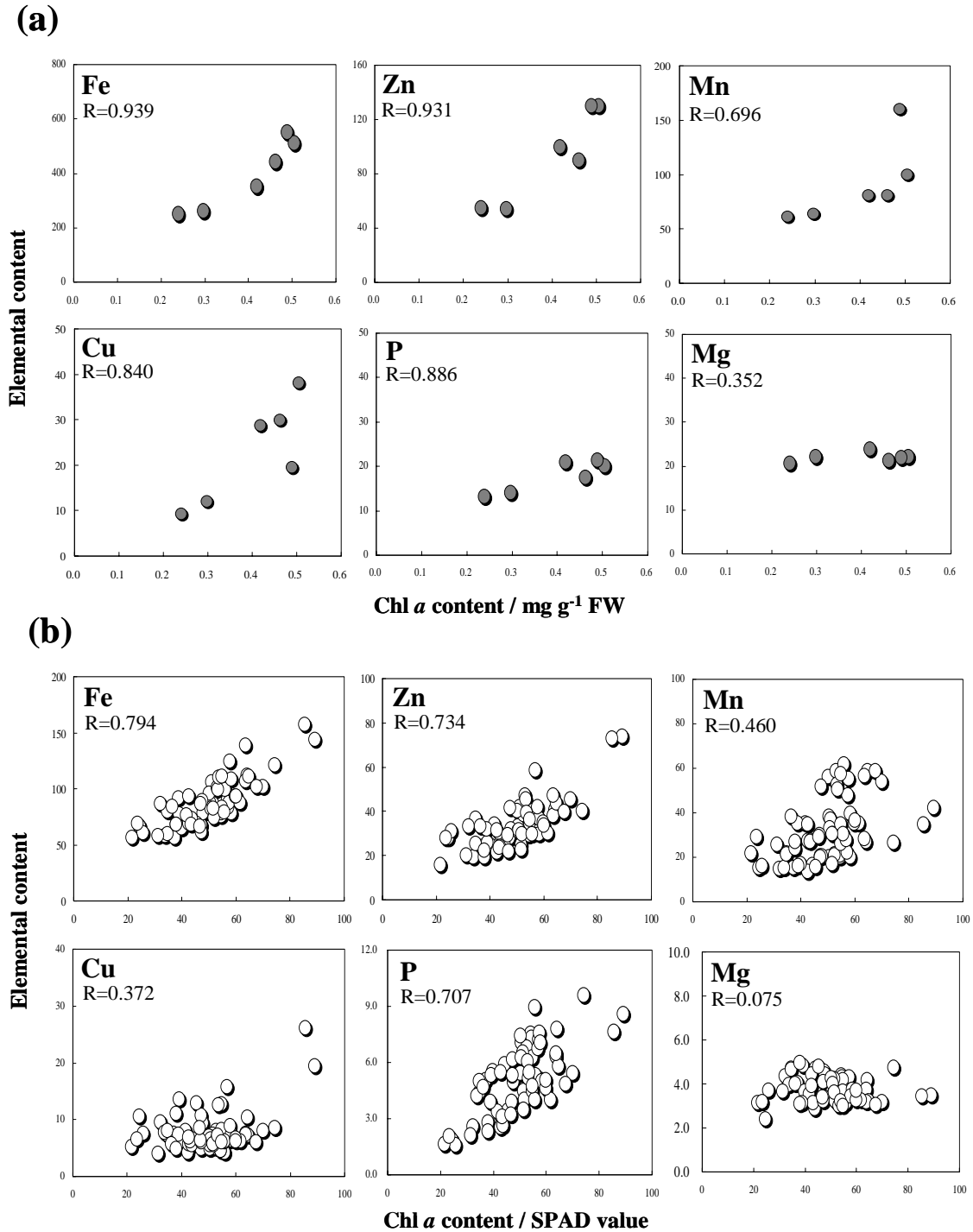


Fig.2. Correlation between the contents of elements and chlorophyll a in the fresh *nori* (a) and in the dried *nori* (b).
 Content of elements: $\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight for Fe, Zn, Mn, Cu; mg g^{-1} dry weight for Mg and P. R: correlation coefficient

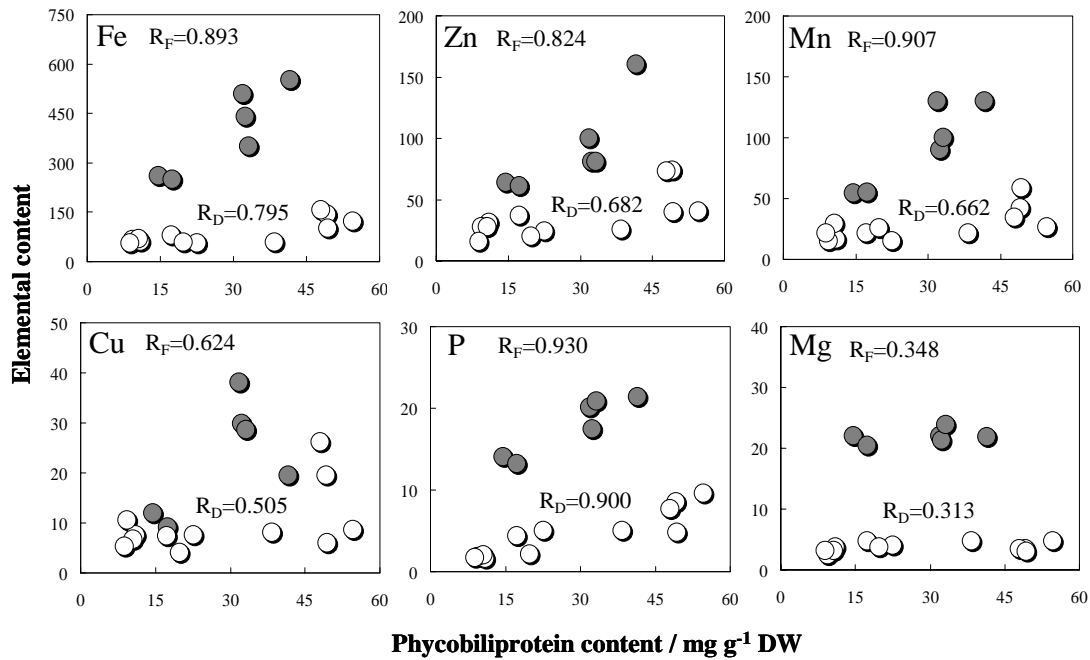


Fig. 3. Correlation between the contents of the elements and phycobiliprotein in the fresh (●) and dried (○) nori samples.
 Contents of elements: μg g⁻¹ dry weight for Fe, Zn, Mn, Cu; mg g⁻¹ dry weight for Mg and P

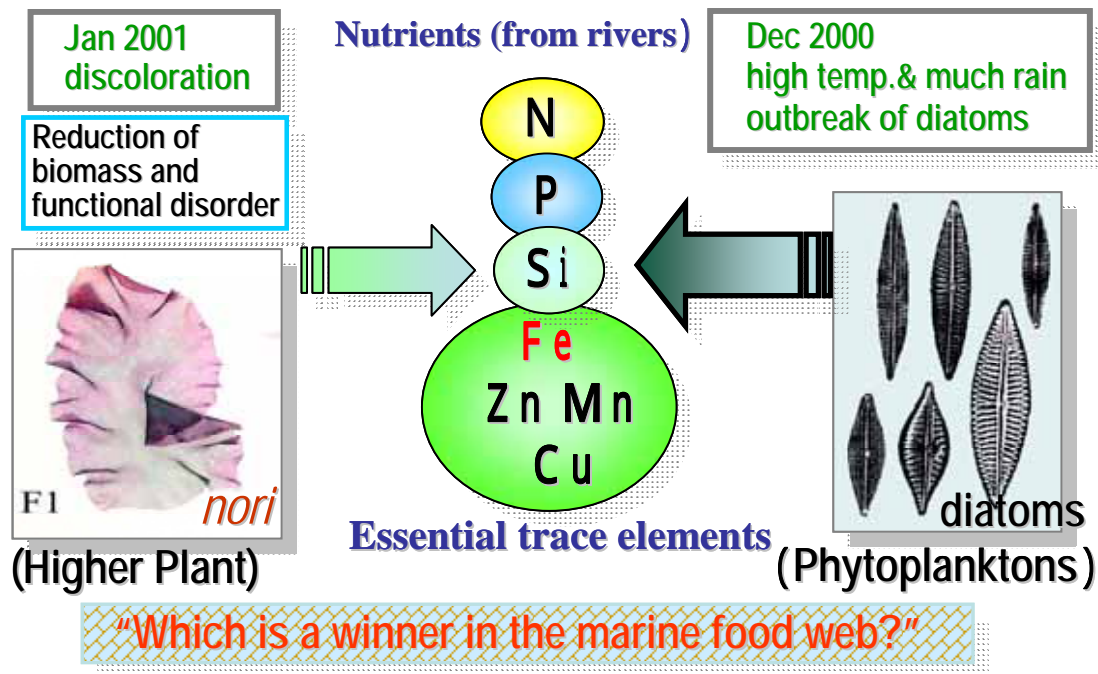


Fig. 4. Proposed Cause of the Discoloration of *Nori* in the Marine Food Web in Relation to Fe Deficiency

Study on the trace element nutrition and its protective effect
on the discoloration of sea laver “nori”

Sunao Yamazaki, Yuji Fujita*, Yuji Takao and Jinghua Zhang

*Faculty of Environmental Studies, Nagasaki University, 1-14 Bunkyo-machi, Nagasaki
852-8521, Japan*

** Department of Fishery, Nagasaki University, 1-14 Bunkyo-machi, Nagasaki 852-8521, Japan*

Summary

To understand the cause of discoloration of the sea laver ‘*nori*,’ which was occurred severely in the Ariake Sea in 2001 and 2003, the concentrations of pigments and elements in the normal and discolored laver samples were determined. In the discolored samples, a decrease in all of the pigments, chlorophyll *a* and carotenoids, and proteinous pigments, phycobiliproteins (complex of phycoerythrin, phycocyanin and allophycocyanin), was clearly observed. In addition, it was accompanied by a decrease in the content of trace elements, Fe, Zn, Mn, Cu, and a major element P. Good correlations between these elements and chlorophyll *a*, as well as between these elements and phycobiliproteins, were confirmed, indicating that, in addition to the deficiency of nitrogen and phosphorus, the deficiency of trace elements, Fe, Zn, Mn, and Cu, which are specifically required for biosynthesis of photosynthetic pigments, could be a reason for the discoloration of *nori*. This phenomenon could be the same as “lime-induced chlorosis” of terrestrial plants in calcareous soil where the soil water is heavily alkaline and therefore Fe³⁺ ions turn to insoluble precipitates.

To confirm the relation between the loss of the elements and the discoloration, discolored *nori* obtained at Ariake Sea was cultured in the laboratory under the Fe-deficient and Fe-supplemented conditions. Discoloration was clearly observed in the Fe-deficient condition, in one hand, and an increase in the contents of pigments and Fe was in the Fe-supplemented conditions, on the other.

To look for the source of trace and nutrient elements, the sediments and detritus (floating floc composed of silty clay) were collected from 14 places in Ariake Sea. Both gave the similar elemental composition and contained appreciable amount of C, N, Fe, Zn, Cu, Mn. Since free Fe ion is negligible in sea water, Fe in the detritus could be thought as a good candidate to serve Fe to *nori*, even though it is not yet known how *nori* absorbs trace and nutrient elements from the surface of leaf.

An effective way to supply the deficient micronutrients, especially Fe, is in progress to protect the discoloration of *nori*.