



Title	SLPエキス(イカ内臓蛋白粉末より得た抽出液)の添加によるワカメ配偶体の培養 II
Author(s)	藪, 滉; YABU, Hiroshi; 安井, 肇 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 37(1), 1-5
Issue Date	1986-02
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23898
Type	departmental bulletin paper
File Information	37(1)_P1-5.pdf



SLP エキス (イカ内臓蛋白粉末より得た抽出液) の
添加によるワカメ配偶体の培養 II

藪 熙*・安井 肇*・長谷川栄治**

Undaria Gametophytes in Culture with SLP (Squid Liver
Protein Powder) Extract, II

Hiroshi YABU*, Hajime YASUI*
and Eiji HASEGAWA**

Abstract

Continuing with our preceding study, culture experiments to ascertain in greater detail the effect of SLP (Squid Liver Protein) extract on the gametophytes of *Undaria pinnatifida* Suringar were carried out in the following eight solutions:

- No. 1 (Distilled water-100 ml, NaCl-1.8 g, SLP extract-0.01 ml);
- No. 2 (Distilled water-100 ml, NaCl-1.8 g, MgSO₄·7H₂O-0.5 g, SLP extract-0.01 ml);
- No. 3 (Distilled water-100 ml, NaCl-1.8 g, MgSO₄·7H₂O-0.5 g, KCl-0.06 g, SLP extract-0.01 ml);
- No. 4 (Distilled water-100 ml, NaCl-1.8 g, MgSO₄·7H₂O-0.5 g, KCl-0.06 g, CaCl₂·2H₂O-36.8 mg, SLP extract-0.01 ml);
- No. 5 (Distilled water-100 ml, NaCl-1.8 g, MgSO₄·7H₂O-0.5 g, KCl-0.06 g, CaCl₂·2H₂O-36.8 mg, NaNO₃-5 mg, SLP extract-0.01 ml);
- No. 6 (Distilled water-100 ml, NaCl-1.8 g, MgSO₄·7H₂O-0.5 g, KCl-0.06 g, CaCl₂·2H₂O-36.8 mg, NaNO₃-5 mg, K₂HPO₄-0.5 mg, SLP extract-0.01 ml);
- No. 7 (Filtered sea water-100 ml, SLP extract-0.01 ml);
- No. 8 (ASF₂ (NTA) solution)

In solutions Nos. 1-3, the gametophytes were all dead within 3 days. In solutions Nos. 4-6, over 60% of the gametophytes remained alive for 7 days and those surviving gametophytes matured in 30 days. In solutions Nos. 7 and 8, all the gametophytes matured in about 4 weeks and no differences could be detected regarding the growth of gametophytes and the formation of young sporophytes in these two media.

先に藪ら (1984) はワカメの配偶体を SLP エキス (Squid Liver Protein Powder-イカ内臓蛋白粉末の抽出液) が $1/10^3$, $1/10^4$, $1/10^6$ の濃度になるよう添加した濾過海水中で培養したところ, $1/10^4$ の濃度で芽胞体の発生に極めて良い結果が得られたことを報告した。今回は SLP エキスの効果を更に詳しく確かめ, かつ, コンプ科植物の発生と生長に有効で簡便な培養液を試作する目的で, 次の 8 液を用い, 前報に引き続いてワカメ配偶体の培養を行った。

* 北海道大学水産学部水産植物学教室
(Laboratory of Marine Botany, Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

** 日本化学飼料株式会社中央研究所
(Central Research Laboratory, Nippon Chemical Feed company LTD)

材料と方法

材料のワカメは1985年7月20日に木古内町更木にある北海道教育大学付属臨海実験所の前浜で採集した。採集後材料は北大水産学部に持ち帰り、濾過海水を満たしてスライドグラスを敷きつめた大型シャーレに遊走子を放出させた。これらのスライドグラスは5日後に用意した液に移し入れ培養を開始した。培養には径21 cm, 高さ5 cmのシャーレを使用し、室温は13°Cとし、照度は常時5,000 luxに保った。SLPからのエキス調製は籾ら(1984, p. 196, Table 1, B)の方法によった。SLPの含有するビタミン、微量元素、アミノ酸は表1に示した。培養液は10日に1回、その全量を換水した。使用した8液の組成は次の通りである。

- No. 1 (蒸留水-100 ml, NaCl-1.8 g, SLP エキス-0.01 ml);
 No. 2 (蒸留水-100 ml, NaCl-1.8 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ -0.5 g, SLP エキス-0.01 ml);
 No. 3 (蒸留水-100 ml, NaCl-1.8 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ -0.5 g, KCl-0.06 g, SLP エキス-0.01 ml);
 No. 4 (蒸留水-100 ml, NaCl-1.8 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ -0.5 g, KCl-0.06 g, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ -36.8 mg, SLP エキス-0.01 ml);
 No. 5 (蒸留水-100 ml, NaCl-1.8 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ -0.5 g, KCl-0.06 g, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ -36.8 mg, $NaNO_3$ -5 mg, SLP エキス-0.01 ml);
 No. 6 (蒸留水-100 ml, NaCl-1.8 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ -0.5 g, KCl-0.06 g, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ -36.8 mg, $NaNO_3$ -5 mg, K_2HPO_4 -0.5 mg, SLP エキス-0.01 ml);
 No. 7 (濾過海水-100 ml, SLP エキス-0.01 ml);
 No. 8 (=ASP₂(NTA)液: 蒸留水-100 ml, NaCl-1.8 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ -0.5 g, KCl-0.06 g, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ -36.8 mg, $NaNO_3$ -5 mg, K_2HPO_4 -0.5 mg, $Na_2SiO_3 \cdot 9H_2O$ -15 mg, Na_2CO_3 -3 mg, ビタミン B₁₂-0.02 μg, ビタミン混液 S₃*-1 ml, FeCl₃-0.145 mg, PII 金属混液**-3 ml, トリスアミノメタン-0.1 g.)
 * ビタミン混液 S₃ (蒸留水-100 ml, チアミン HCl-5 mg, ニコチン酸-1 mg, パントテン酸カルシウム-1 mg, P-アミノ安息香酸-0.1 mg, ビオチン-10 μg, イノシトール-50 mg, チミン-30 mg, 葉酸-20 μg)
 ** PII 金属混液 (蒸留水-100 ml, Na₂-EDTA-100 mg, FeCl₃-2.9 mg, H₃BO₃-114.5 mg, MnCl₂·4H₂O-14.4 mg, ZnCl₂-1.04 mg, CoCl₂·6H₂O-404 μg)

結 果

培養4日目には使用した8液のうちNo. 1-3液中の配偶体は全て死滅していた。この時、No. 4とNo. 5の2液では約60%の配偶体が、No. 6液では約75%の配偶体が残存していたが、雌性体はその色素体を濃褐色から淡褐色に変じて活力を減退しているように見えた。これらの配偶体はその後生存を続けて細胞数を増し、培養30日目には雌性体、雄性体ともに成熟して雌性体には1-3細胞の幼芽胞体が生じ、培養2ヶ月目には芽胞体の細胞数はNo. 4液では30-40、No. 6液では40-50となった(Figs. 1-4)。

No. 7液では前回(籾ら, 1984)同様、培養4週間目には雌性配偶体は6-8細胞に生長し、全ての雌雄配偶体が成熟した(Fig. 5)。No. 8液ではNo. 7液と同じ結果が得られ、この両液の間には配偶体の生長、幼芽胞体の形成に差異は認められなかった。

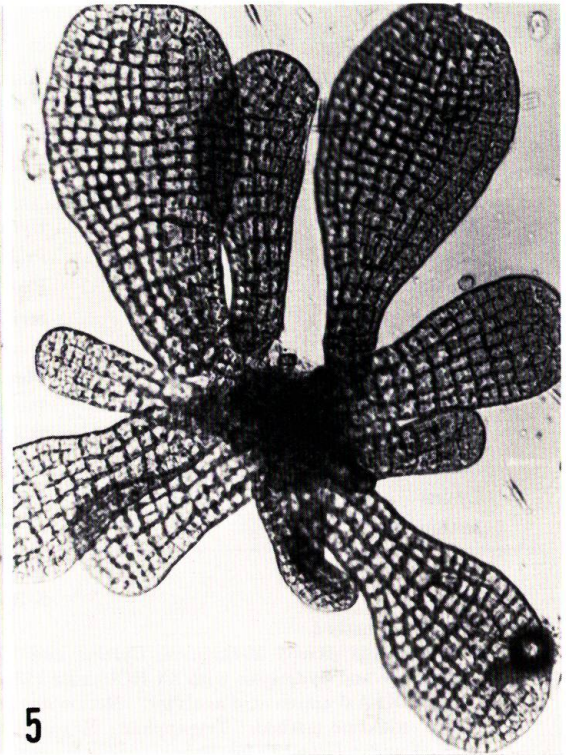
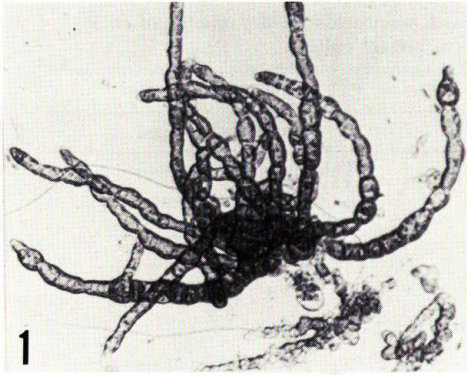
籾ら： SLP エキス添加によるワカメ配偶体の培養 II

Table 1. Components of vitamins, minerals and aminoacids on dry matter of SLP (Squid Liver Protein Powder) used for the present culture.

(1) Vitamins			
Component	Quantity	Analytical method	
B ₁	4.2 (μg/g)	Thiochrome-fluorescence	
B ₂	44.1 (")	Lumiflavin-fluorescence	
B ₆	12.7 (")	Microbio-assay	
B ₁₂	2.50(")	"	
Nicotinic acid	123.8 (")	"	
Pantothenic acid	80.1 (")	"	
Biotin	1595.0 (ng/g)	"	
Choline	7.5 (mg/g)	"	
(2) Minerals			
Component	Quantity	Analytical method	
Ca	0.02(%)	Atomic absorption analysis	
P	0.63(")	Molybdivanadophosphate	
Na	0.94(")	Atomic absorption analysis	
K	1.50(")	"	
Mg	0.30(")	"	
Fe	26.6 (mg%)	"	
Zn	30.3 (")	"	
Cu	26.3 (")	"	
Mn	0.43(")	"	
(3) Amino acids			
Component	Quantity (g/100 g crude protein)	Component	Quantity (g/100 g crude protein)
Alanine	8.90	Hydroxyproline	0.32
Arginine	5.03	Proline	4.09
Aspartic Acid	10.39	Phenylalanine	5.79
Cystine	0.79	Serine	4.73
Glycine	5.94	Taurine	2.46
Glutamic Acid	14.25	Threonine	5.19
Histidine	1.74	Tyrosine	4.35
Isoleucine	6.53	Tryptophan	1.25
Leucine	9.20	Valine	6.00
Lysine	6.18	Ammonia	2.04
Methionine	3.56		
		Total	108.73
		N-Recovery (%)	95.0

Analytical method :

Components except Methionine, Cystine and Tryptophan; After sealed up in a glasstube and hydrolysis with 6N HCl under 110±1°C for 24 hr, measured by Hitachi Model KLA-5 amino acid analyzer. Methionine and Cystine; Measured by performic acid oxidation method. Tryptophan; Measured by hydrolysis with 6N Ba(OH)₂ · 8H₂O under 110±1°C for 20 hr.



考 察

本報告では前回(籾ら, 1984)に得られた結果を勘案し, SLP エキスを $1/10^4$ の濃度になるよう添加した簡単な組成の 7 種の液と ASP₂ (NTA) 液 (Provasoli, 1963), 計 8 液を使用してワカメ配偶体の培養を行った。その結果, SLP エキスのほかに (NaCl), (NaCl, MgSO₄·7H₂O), (NaCl, MgSO₄·7H₂O, KCl) だけを含有する液中の配偶体は培養 4 日目には全て死滅した。しかし, (NaCl, MgSO₄·7H₂O, KCl, CaCl₂·2H₂O), (NaCl, MgSO₄·7H₂O, KCl, CaCl₂·2H₂O, NaNO₃), (NaCl, MgSO₄·7H₂O, KCl, CaCl₂·2H₂O, NaNO₃, K₂HPO₄) を含有する液では 60% 以上の配偶体が残存し, それらは後程成熟して, 雌性体には芽胞体が形成された。また, 濾過海水に SLP エキスを $1/10^4$ になるよう添加した液と, 人工海水として海藻の培養にしばしば使用される ASP₂ (NTA) 液とでは芽胞体の形成に同様の良結果が得られ, 濾過海水に SLP を添加した簡単な液が多数の栄養成分を加えて調製した ASP₂ (NTA) に劣らないことが判明した。

SLP の組成を分析した結果からは表 1 に見られるように, 8 種のビタミン, 9 種の微量元素, 20 種のアミノ酸が検出された。このうち, ビタミン類では, ビタミン B₁₂, ニコチン酸, パントテン酸, ビオチン, 微量元素では, Fe, Na, Mn, Zn, など, ASP₂ (NTA) 液の組成となっているものが存在している。

海藻の培養に用いられる人工海水にはアミノ酸を添加したものが多い(市村, 1979)。SLP エキスが多種類のアミノ酸を含有することもワカメの芽胞体形成に好結果をもたらす要因であると考えられる。海藻の発生には特定の濃度の SLP エキスが特定の種類にだけ有効であるのかどうか今後さらに培養実験を行って確かめる必要がある。

文 献

- 市村輝宜(1979). 培養液の種類と組成. 藻類研究法, 共立出版社, 281-305.
 Provasoli, L. (1963). Growing marine seaweeds. (ed. DeVirville & Feldman), *In Proc. IV Int. Seaweed Symp.*, Pergamon Press. p. 9-17.
 籾 薫・安井 肇・高本幹也(1984). SLP エキス(イカ内臓蛋白粉末より得た抽出液)添加によるワカメ配偶体の培養. 北大水産彙報, **35**, 195-200.

Figs. 1-5. Gametophytes and sporophytes of *Undaria pinnatifida* Suringar. All, $\times 210$.

- 1-2. Gametophytes (Fig. 1) and sporophytes (Fig. 2) in two-month culture with the solution consisting of distilled water-100 ml, NaCl-1.8 g, MgSO₄·7H₂O-0.5 g, KCl-0.06 g, CaCl₂·2H₂O-36.8 mg, and SLP extract-0.01 ml.
 3-4. Gametophytes (Fig. 3) and sporophytes (Fig. 4) in two-month culture with the solution consisting of distilled water-100 ml, NaCl-1.8 g, MgSO₄·7H₂O-0.5 g, KCl-0.06 g, CaCl₂·2H₂O-36.8 mg, NaNO₃-5 mg, K₂HPO₄-0.5 g and SLP extract-0.01 ml.
 5. Sporophytes in two-month culture with the solution consisting of filtered sea water-100 ml and SLP extract-0.01 ml.