

赤潮鞭毛藻に関する研究 V

誌名	日本水産學會誌
ISSN	00215392
著者	岩崎, 英雄
巻/号	37巻7号
掲載ページ	p. 606-609
発行年月	1971年7月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



赤潮鞭毛藻に関する研究—V.

Polykrikos schwartzi, BÜTSCHLI について

岩 崎 英 雄

(1971年2月8日受理)

Studies on the Red Tide Dinoflagellates—V.

On *Polykrikos schwartzi*, BÜTSCHLI

Hideo IWASAKI*

Polykrikos schwartzi was obtained in axenic culture by micro-pipette washings. The organism prefers low salinity (Cl 9.0‰), and is sensitive to the pH of the surrounding water. The optimal pH is 8.5. In axenic culture, *P. schwartzi* needs vitamin B₁₂, biotin, and thiamine for growth. The addition of other vitamins does not increase further growth. The pattern of specificity toward B₁₂ analogues is similar to that of *Escherichia coli* 113-3. Nitrate, ammonium, and urea are utilized as nitrogen sources. The highest growth was obtained at the concentration of 0.3 mg/l, of NH₄-N. Inorganic and organic phosphates are available for the organism. *P. schwartzi* can store excess phosphorus provided there are adequate supplies. The decomposed matters or the extracts of animal tissues, yeast, casein increase the growth remarkably. The result shows that the organism is an imperfect autotroph.

本種は、1969年7月、福山市沿岸水域に出現した赤潮海水から分離されたものである。この属は、1916年東京湾で、また同年三重県の上カ所湾でも赤潮を形成している。その他、各地の赤潮でも優占種となることは少ないが、時折、観察されている。

前報¹⁾と同じく、無菌のマイクロピペットによる洗浄を数回繰り返すことによつて、単一種培養を経て、無菌培養が得られたので、実験にはこの無菌株を使用した。実験はすべて無菌培養実験で、培養液は実験の目的に応じ、栄養塩添加海水 (SWEENEY's medium)²⁾、および人工海水 ASP₂NTA 液³⁾ を基本液として使用した。培養条件ならびに実験の方法は前報と同じである。

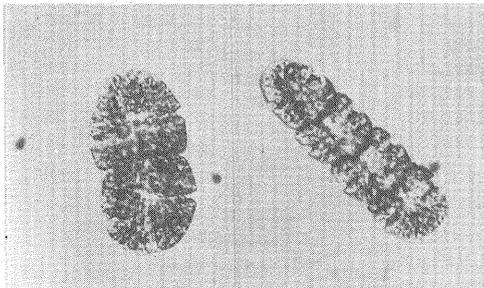


Fig. 1. *Polykrikos schwartzi*, BÜTSCHLI.

実 験 結 果

塩分濃度 海水 (福山市阿伏兎岬で採水) を 70°C に加熱、汙過したものを再蒸溜水で種々の濃度に希釈し、それぞれ 1 l 当り KNO₃ 0.2 g, K₂HPO₄ 35 mg, FeCl₃ 0.97 mg, MnCl₂·4H₂O 75 μg, EDTA 10 mg, vitamin B₁₂ 10 μg, TRIS 0.5 g を添加したものに生物を接種し、各塩分濃

度における増殖量を調べた。この生物は Cl 9.0~11.0‰ 程度の低塩分濃度でよく増殖し、好適塩分濃度 (ここでは最大増殖量の 1/2 の増殖を示す範囲とする) は Cl 7.8~14.0‰ となつている (Fig. 2)。

* 広島大学水畜産学部 (Faculty of Fish. and Anim. Husb., Hiroshima University, Fukuyama, Japan)

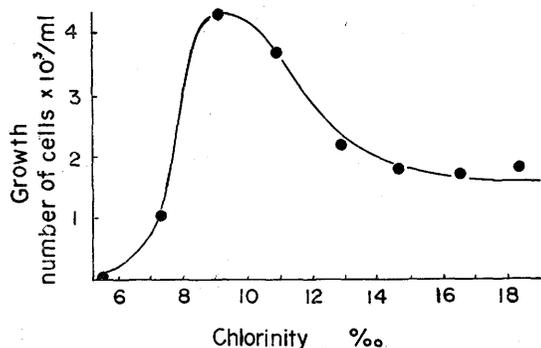


Fig. 2. Growth of *Polykrikos schwartzii* at the various chlorinities.

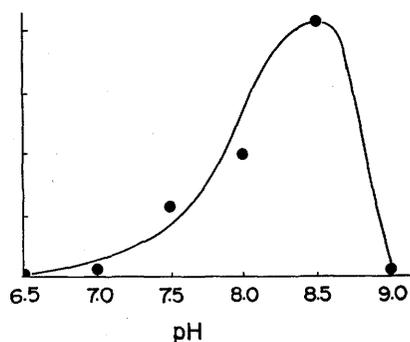


Fig. 3. Effect of pH upon the growth of *Polykrikos schwartzii*.

Table 1. Growth of *Polykrikos schwartzii* with different nitrogen sources. (After 14 days)

Wt./l (as N)	Growth, number of cells/ml		
	NaNO ₃	NH ₄ Cl	Urea
None	300	300	300
30 μg	900	1,080	1,000
100 "	1,150	1,480	1,200
300 "	1,300	2,300	1,160
1 mg	1,300	900	900
3 "	1,260	0	170
10 "	1,240		0
30 "	1,150		
100 "	450		

pH と増殖量 環境水の pH と *Polykrikos schwartzii* の増殖との関係は Fig. 3 に示される。本実験では、ASP₂N₂A 液に thiotone 10 mg/l 添加した培養液を用い、pH は弱 HCl と弱 NaOH 液で調整された。この生物は、海水より僅かに高い pH 8.5 で最もよく増殖し、好適 pH 範囲は 7.9~8.7 となつている。環境水の pH に対しては、今まで調べた種⁴⁻⁶に比べて比較的敏感であり、pH 7.0 および pH 9.0 では、増殖が完全に抑制される。

窒素、磷酸源とその濃度 窒素源としては、NaNO₃、NH₄Cl および尿素が試験された。これらの窒素源はいずれもよく利用されるが、NH₄-N は低濃度で比較的高い増殖を与える。しかし、阻害濃度も低く、NH₄Cl、尿素とも N 3 mg/l の濃度では全然増殖しない。

この種は、無機態の磷酸、およびグリセロ磷酸ナトリウム、アデニル酸、グアニル酸などの有機態の磷酸をとともに利用できる。しかも、かなり高い磷酸貯蔵能力を有しており、2 週間磷酸欠乏状態で培養した細胞でも、1 個体から 8~10 個体に増殖可能である。計算によると、正常な細胞では、外部から磷酸の供給なしに、1 個体から 60~100 個体に増殖できるものと推定できる。

有機物の影響 有機物としては、動物組織の消化分解物(thiotone)、イーストの自己消化物(yeastolate)および抽出物(yeast extract)、カゼイン分解物(HY-case)、各種のプリン、ピリミジン、植物ホルモンなどが試験された。その中で、特に著しい増殖促進効果がみられたものを Table 2 に示す。この結果から明らかかなように、*P. schwartzii* は yeastolate, yeast ext., thiotone, HY-case などが存在すると、7~8 倍量も増殖する。このほかのプリン、ピリミジンなどでも、2~3 倍程度の増殖促進効果が認められている。

ビタミン要求 本実験では、ビタミンを含まない培養液に生物を接種し、2 週間培養して増殖させ、ビタミン欠乏状態にあると考えられる生物を接種材料として使用した。Table 3 から明らかかなように、*P. schwartzii* はビタミン B₁₂ 単独でもある程度増殖するが、ビオチンやチアミンが共存すると、増殖量は 2 倍以上増大する。しかし、各種ビタミンの混合液を添加しても、それ以上増殖しないことから、その他のビタミンは不必要と考えられる。

ビタミン B₁₂ と天然で生成された B₁₂ 類似物に対する *P. schwartzii* の反応は Table 4 に示される。

Table 2. Growth response to organic substances in ASP₂NTA without vitamin mix. S 3 of *Polykrikos schwartzi*. (After 12 days)

Organic substances	Growth, number of cells/ml
None added	180
TC-yeastolate* { 10 mg/l 30 mg/l	3,200 2,300
Yeast ext.* { 3 " 10 "	2,700 1,800
Thiotone** { 10 " 30 "	1,900 2,600
HY-case*** { 10 " 30 "	1,400 1,300
Hypoxanthine 1 "	700
Soil extract 50 ml/l	1,200

* Water soluble portion of autolyzed fresh yeast. Difco Lab.

** Peptic digest of animal tissue. B. B. Lab.

*** Sheffield Chem., U. S. A.

Table 3. Response of *Polykrikos schwartzi* to several vitamins. (After 20 days)

Vitamins	Growth number of cells/ml
None	180
Vitamin B ₁₂ 2 µg/l	1,000
B ₁₂ 2 µg/l + Biotin 1 µg/l	2,200
B ₁₂ 2 µg/l + Thiamine 100 µg/l	4,000
B ₁₂ 2 µg/l + Vit. mix. 8 1 ml/l	3,800

Table 4. Growth response of *Polykrikos schwartzi* to vitamin B₁₂ analogues in the presence of biotin and thiamine. (After 23 days)

B ₁₂ analogues	Growth number of cells/ml
None	870
Cyanocobalamine (=B ₁₂) 0.01 µg/l	2,400
Cyanocobalamine (=B ₁₂) 0.1 "	2,100
Cyanocobalamine (=B ₁₂) 0.2 "	1,600
5-methylbenzimidazole cobalamine 0.2 "	970
Benzimidazole cobalamine 0.2 "	900
Factor A (2-methyladenine) 0.2 "	1,100
Factor B 0.2 "	1,300

この生物のビタミン B₁₂ 要求は極く微量であり、10 mµg/l の濃度でも鋭敏に反応する。次に、自然界で生成される B₁₂ 類似物に対する反応を見ると、ベンズイミダゾールを持つコバラミンではよく増殖するが、アデニンを持つコバラミンでは Factor A だけ、またスクレオチドを持たないコバラミンでは Factor B だけで増殖し、他のコバラミンでは増殖しなかつた。この点 *P. schwartzi* は特異的であるが、B₁₂ 類似物に対する特性は *Escherichia coli* に近いと考えてよいであろう。

考 察

以上の実験結果によると、*P. schwartzi* は低塩分性の生物で、環境水の pH に対しても比較的敏感な種類といえる。微量金属としては、B 1 mg/l, Mn 0.2 mg/l, Fe 50 µg/l, Zn 25 µg/l を必要とすることは明らかであるが、その他については不明である。しかし、微量のキレート金属の添加による増殖促進効果は、海水の種類にもよるが、一般に顕著ではなかつた。この生物の特徴の一つは著しい磷酸貯蔵能力を有することで、海水中の磷酸は大増殖に直接関与しないと考えるてよいようである。*P. schwartzi* の増殖は、動物組織、微生物、カゼインなどの分解物や抽出物などによつて著しく促進される。このことは不完全な独立栄養生物であることを示すとともに、異常大増殖の原因を考える場合、注目すべきことのように思われる。

以上の実験結果から、*P. schwartzi* は水温が 20°C 以上の時期に陸水の大量流入によつて海水の塩分濃度が希釈されるような場合、または、有機物（特に生物分解物や生廃水など）が流入するような場合に大増殖しやすいといえる。有機汚染のひどい海域では、降雨などで塩分濃度が薄まると、異常に大増殖する

公算は極めて高いと考えられる。

終りに、多くのビタミン B₁₂ 類似物の供与を受けた Dr. K. BERNHAUR, また、下水泥から分離された貴重な Factors Z₁, Z₂, Z₃⁷⁾ を利用させて戴いた Dr. H. NEUJAHN に深く感謝する。なお、本研究の一部は文部省科学研究費補助金でなされたことを付記し、あわせて感謝の意を表する。

文 献

- 1) 岩崎英雄・佐々田 憲: 本誌, **35**, 943~947 (1969).
- 2) B. M. SWEENEY: *Amer. J. Bot.*, **41**, 821~824 (1954).
- 3) L. PROVASOLI, J. J. A. McLAUGHLIN, and M. R. DROOP: *Arch. Mikrobiol.*, **25**, 392~428 (1957).
- 4) 岩崎英雄・藤山虎也・山下栄次: 広大水畜産学部紀要, **7**, 259~267 (1968).
- 5) 岩崎英雄: 日本プランクトン学会報, **16**, 132~139 (1969).
- 6) 岩崎英雄・岡田義治・田中俊輔: 同上, **16**, 140~144 (1969).
- 7) H. NEUJAHN: *Acta Chem. Scand.*, **10**, 917 (1956).