

新しい海藻培養液 SWM-Ⅲ について

尾 形 英 二*

海藻類の培養液については、PROVASOLI *et al*¹⁾の人工海水に関する研究発表以来、わが国でも多くの研究工夫がなされてきた。筆者は、カナダにおいて1年間表記 SWM-Ⅲと名づけられた培養液を用い、*porphyra* 類の数種の培養を行ない生活史を研究したが、この培養液が海藻類の生長・成熟などに有効であることを感じ、また他の数種海藻の培養に用いて、その有効性を再認識したので、ここにその組成および調製法などについて御紹介する。

SWM-Ⅲは、もともと McLACHLAN²⁾が発表した SWM-Ⅰを CHEN *et al*³⁾、CHEN *et al*⁴⁾が改良したもので、第1表に組成を記す。McLACHLAN²⁾の原著では、Tris のかわりに glycylglycine を使っているが、これは Tris が淡水藻の生育に害作用をおよぼす (McLACHLAN⁵⁾) からであって、対象が海藻の場合には Tris で差支えない。

微量金属類 (PI-metal) およびビタミン混液 (S-3 Vitamins) の組成は、McLachlan²⁾の論文中に記載されているものと同じで、第2表および第3表にその組成をかかげた。ただ原著では 2ml 中の組成になっているが、2l 中の組成としてあらわした。

SWM-Ⅲ調製にあたって、2, 3の注意が必要である。最初に、上記の組成表に従って SWM-Ⅲを調製すると、Tris が加えられているため培養液の pH はかなり高くなる。それで pH を 7.5 あるいは少し低いところに濃塩酸を滴下して pH を調整しなければならない。次に滅菌のためオートクレーブする。非常に高栄養分なので、そのままでは雑菌・雑海藻類が繁殖する。しかし、オートクレーブすると、SWM-Ⅲの pH は高くなり、pH 8~8.2 に上昇して微量の白沈を生じることがある。この白沈を避けるために工夫した結果、濃塩酸で一時 pH 7 程度に下げ、つぎに NaOH 溶液 (濃度は適当) で再び pH を上昇させて、pH 7.5 に調整した後オートクレーブすると白沈を避ける事が出来る。出来上がった SWM-Ⅲは、レバーエキストラクトと土壌抽出液のため微黄色の透明な溶液である。

別の注意として、上記 S-3 Vitamins 混液は、調製後小試験管に 5~10ml 分注して、フリーザー中に凍結保存しなければならない。

SWM-Ⅲの調製に当り、ストックソリューションを作っておき、調製のたびに一定量づつ海水に加えてゆくのであるが、これらストックソリューションは褐色ビン中冷暗所に保存する必要がある。

* 水産大学校 (下関市)

第1表 SWM-Ⅲの処方

薬品名	原液濃度	混合量	最終濃度
NaNO ₃	(1.0M)	2ml	2.0mM
Na ₂ HPO ₄	(50mM)	2ml	0.1mM
Na ₂ EDTA	(15mM)	2ml	30μM
FeCl ₃	(1.0mM)	2ml	2.0μM
PI-metal		2ml	
S-3 Vitamins		2ml	
Soil extract		50ml	
Tris		500mg	
Liver extract		10mg	
Sea water		Up to 1 liter	pH=7.5

第2表 PI-metal の処方

H ₃ BO ₃	12.368g	} 再蒸溜水で2lにとかず
MnCl ₂	1.385g	
ZnCl ₂	0.109g	
CoCl ₂ ·6H ₂ O	4.759mg	
CuCl ₂ ·2H ₂ O	0.034mg	

第3表 S-3 Vitamins の処方

Thiamine HCL (B ₁)	0.5g	} 再蒸溜水で2lにとかず
Ca pantothenate	0.1g	
Nicotinic acid	0.1g	
p-aminobenzoic acid	10mg	
Biotin	1mg	
Inositol	5g	
Folic acid	2mg	
Thymine	3mg	
B ₁₂	1mg	

CHEN *et al*⁴⁾が用いたストックソリューションの濃度と、それからとりだす量については第1表に示す。

土壌抽出液の作製とその必要性であるが、土壌抽出液の作製は畑地などの土壌を倍量ぐらいの水で何度も煮沸し、ミリポアフィルターで濾過をくりかえし、透明になったところでオートクレープして滅菌保存する。土壌抽出液の有効性についてはすでに多くの論文があるが、これをSWM-Ⅲ中で使用すると往々にしてバクテリア類の猛繁殖を促がし困るこ

とがある。よほど精密な無菌操作を行なわない限り、土壌抽出液の加わったSWM-Ⅲ液中ではバクテリアを避けることがむつかしい。著者は土壌抽出液を加えないSWM-Ⅲを用いているが、一般海藻の場合には充分であると考えている。

引用文献

- 1) PROVASOLI, L. MCLAUGHLIN, J. J. A., and DROOP, M. R. (1957) The development of artificial media for marine algae. Arch. Mikrobiol. **25** : 392-428.
- 2) MCLACHLAN, J. (1964) Some considerations of the growth of marine algae in artificial media. Can. J. Microbiol. **10** : 769-782.
- 3) CHEN, L.C.-M., T. EDELSTEIN, and J. MCLACHLAN. (1969) *Bonnemaisonia hamifera* in nature and in culture. J. Phycol. **5** : 211-220.
- 4) CHEN, L.C.-M., T. EDELSTEIN, E. OGATA, and J. MCLACHLAN. (1970.) The life history of *Porphyra miniata*. Can. J. Bot. **48** : 385-389.
- 5) MCLACHLAN, J. (1963) Some effects of tris (hydroxymethyl)-aminomethane on the growth of *Haematococcus pluvialis* Flotow. Can. J. Bot., **41** : 35-40.