

海産珪藻 *Biddulphia aurita* (LYNGB.)

## BREB. の栄養要求

内田卓志\*

TAKUJI UCHIDA: Nutrition of a marine diatom,  
*Biddulphia aurita* (LYNGB.) BREB.

*Biddulphia aurita* は冷水域の珪藻として知られており<sup>1)</sup>, 室蘭チャラツナイ浜においては冬期出現し, 3-4月に大増殖し, 5月になると急速に衰退する。この期間, 本海域の水温は, 2-3月に約2-3°Cで, その後徐々に上昇し, 5月初旬には約5°Cになる<sup>2)</sup>。本種は培養実験で14°Cの条件においてもかなりの生長を示したことから(内田, 未発表), 水温の上昇が本種の消長にそれ程著しい変化を与えているとは考えられない。

本報では, 本種のチャラツナイ浜における消長を水質との関係から考察するため, その一環として本種の栄養要求について研究したのでその結果を報告する。

## 材料と方法

本実験に用いた材料は, 1973年4月, 室蘭チャラツナイ浜で採取した海水より単離し, 滅菌海水によるマイクロピペット洗浄法で無菌培養を得た。基本培養液としてBSW 2およびBSW 2Aを用いた(Table 1)。培養は特に指定しない限り, 10 mlの培養液を入れた

Table 1. Composition of culture media

|                                      | BSW 2A          | BSW 2 |   | BSW 2A          | BSW 2  |
|--------------------------------------|-----------------|-------|---|-----------------|--------|
|                                      | (Amount/100 ml) |       |   | (Amount/100 ml) |        |
| NaCl                                 | 2.4 g           | —     | K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>                     | 0.5 mg          | 0.5 mg |
| KCl                                  | 60 mg           | —     | Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> ·9H <sub>2</sub> O | 15 mg           | 15 mg  |
| Ca as Cl                             | 30 mg           | —     | P II metals <sup>8)</sup>                           | 1 ml            | 1 ml   |
| MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O | 0.6 g           | —     | S II metals <sup>8)</sup>                           | 1 ml            | 1 ml   |
| MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O | 0.3 g           | —     | Vitamin mix 8A <sup>8)</sup>                        | 0.1 ml          | 0.1 ml |
| NaHCO <sub>3</sub>                   | 10 mg           | —     | Tris  | 0.1 g           | 0.1 g  |
| Sea water                            | —               | 80 ml | NTA   | 10 mg           | 10 mg  |
| NaNO <sub>3</sub>                    | 5 mg            | 5 mg  | pH  | 7.8-8.0         |        |

\* 北海道大学理学部附属海藻研究施設(室蘭市母恋南町1-13)

The Bulletin of Japanese Society of Phycology, Vol. XXII, No. 2, 41-46, June 1974.

ねじ蓋付試験管 (18×130 mm) で行い、培養条件は室温 10°C、照度 2,000 lux (1日14時間照明) に設定した。光源として白色蛍光灯を用いた。生長量は植付けてから6日後、細胞数測定により求めた。

## 結 果

**塩分濃度:** 自然海水を 70-80°C の恒温器中で濃縮し、これを再蒸留水で適宜稀釈して目的の塩分濃度に調製した。

塩分濃度 22-27% の範囲で良好な増殖が得られ、至適塩分濃度は 27% であった。27% 以上になると濃度の上昇とともに増殖が悪くなり 34% では 27% の濃度における生長量の 1/2 に落ちた。

**pH:** 植付時の pH 7.2-8.8 の間の各 pH 値について本株の生長に対する影響を調べた。その結果最適 pH の範囲は 8.0-8.8 で至適 pH は 8.0 であった。それ以下では pH の下降とともに生長は悪くなっていったが pH 7.2 においてもなお至適増殖量の 1/2 程度の増殖量が得られた。

**窒素源:** 無機窒素源として、硝酸ナトリウム、亜硝酸ナトリウム、塩化アンモニウムの3種類を検討した。その結果、硝酸ナトリウムが N 2-60 mg/ℓ の濃度で本株の生育に最も好適であった。塩化アンモニウムも有効であったが N 40 mg/ℓ 以上の濃度では本株は全く生育しなかった。亜硝酸ナトリウムは窒素源としてそれ程有効ではなく、また N 2 mg/ℓ の濃度で本株は死滅した。しかし、いずれの場合も窒素源を加えない対照培地においてもかなりの増殖が得られたため、これを上記3種類の窒素化合物について、海洋観測指針の方法<sup>3)</sup>により分析したところ、約 0.7-1.2 μg atS/ℓ 程度の窒素が混入していた。有機窒素源については、尿素、シトルリン、オルニチン、アルギニン、グルタミン酸、アスパラギンについて検討したが、これらの化合物はいずれも窒素源として有効ではなかった。

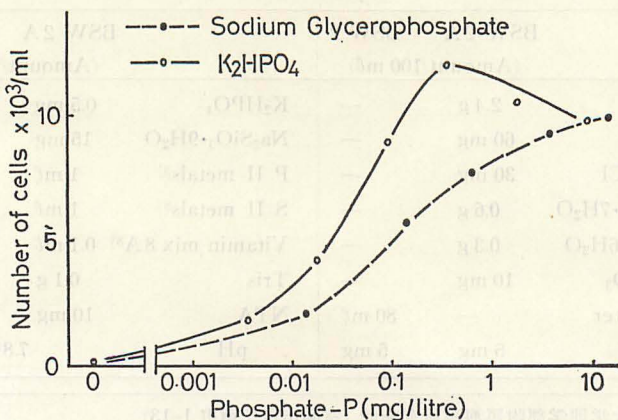


Fig. 1. Effects of two different phosphorus compounds on the growth of *Bidulphia aurita*.

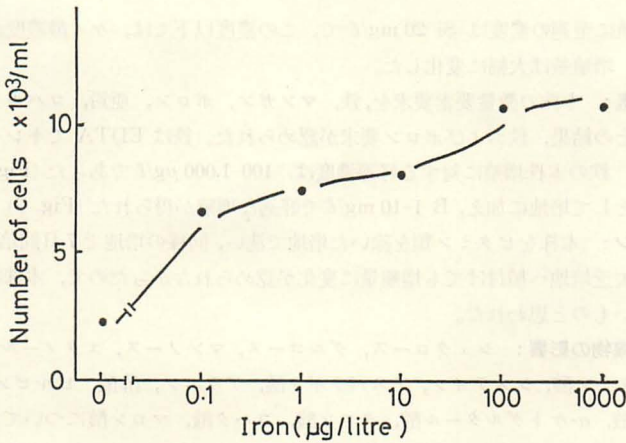


Fig. 2. Effect of iron on the growth of *Biddulphia aurita*.

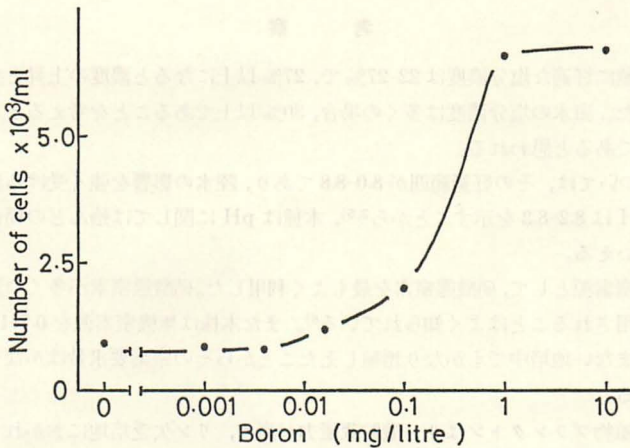


Fig. 3. Effect of boron on the growth of *Biddulphia aurita*.

リン酸：無機リン酸として第2リン酸カリウム，有機リン酸としてグリセロリン酸ナトリウムを検討した (Fig. 1)。両者ともリン源として有効であったが，第2リン酸カリウムの方が比較的良好な増殖をもたらし，至適濃度も低かった。また，本株をリン欠乏状態にするのに，リン酸を抜いた培地で予備培養する必要はなく，リン欠乏培地で洗浄するだけで十分な効果があった。

ケイ酸：ガラス製培養器では培地中にケイ酸が溶出するので，培養器として，ポリ炭酸エステル製のフラスコ<sup>4)</sup>を用いた。培地中のケイ酸濃度は海洋観測指針の方法<sup>3)</sup>で分析

した。

本株増殖に至適の濃度は Si 20 mg/l で、この濃度以下では、ケイ酸濃度がわずかに相違しても、増殖量は大幅に変化した。

**微量要素：**本株の微量要素要求を、鉄、マンガン、ボロン、亜鉛、コバルトについて検討した。その結果、鉄およびボロン要求が認められた。鉄は EDTA でキレートして培地に加えた。鉄の本株増殖に対する好適濃度は、100-1,000  $\mu\text{g/l}$  であった (Fig. 2)。ボロンはホウ酸として培地に加え、B 1-10 mg/l で好適な増殖が得られた (Fig. 3)。

**ビタミン：**本株をビタミン類を除いた培地で洗い、同様の培地で7日間培養し、さらにビタミン欠乏培地に植付けても増殖量に変化が認められなかったため、本株はビタミンを要求しないものと思われた。

**各種有機物の影響：**シュクロース、グルコース、マンノース、エタノール、グリセロール、グルタミン酸、システイン、アスパラギン酸、アラニン、酢酸、ピルビン酸、乳酸、グリコール酸、 $\alpha$ -ケトグルタル酸、クエン酸、コハク酸、マロン酸について本株増殖に対する効果を 10 mg/l、および 100 mg/l の濃度で調べた。しかしグリコール酸が 100 mg/l の濃度で無添加のものに比べ約 1.5 倍増殖を促進したのみであった。

## 考 察

本株増殖に好適な塩分濃度は 22-27% で、27% 以上になると濃度の上昇と共に増殖は落ちていった。海水の塩分濃度は多くの場合、30% 以上であることを考えると本種はかなり低塩分性であると思われる。

pH については、その好適範囲が 8.0-8.8 であり、陸水の影響を強く受ける海域を除いて海水の pH は 8.2-8.3 を示すことから<sup>3,5)</sup>、本種は pH に関しては殆んどの場合好適な条件にあるといえる。

本株は窒素源として、硝酸態窒素を最もよく利用した。硝酸態窒素が多くの藻類に窒素源として利用されることはよく知られている<sup>6)</sup>。また本株は無機窒素源を 0.7-1.2  $\mu\text{g at/l}$  程度しか含まない地培中でもかなり増殖しえたことからその窒素要求量はかなり低いものと考えられる。

一般に植物プランクトンはリン酸貯蔵能力が高く、リン欠乏培地におかれてもかなりの期間増殖し続けることが知られている<sup>6)</sup>。しかし本株は比較的容易にリン欠乏状態になることが示され、そのリン貯蔵能力はかなり低いものと推察される。

本株のケイ酸要求についてはその要求量のかなり高いことが認められた。

微量要素要求としては、ボロンおよび鉄の要求が認められた。ボロンについては多くの珪藻類でその要求性が認められている<sup>4)</sup>。しかし海水中のボロン含有量はかなり多量に、一定して存在することが知られており<sup>3,5)</sup>、植物プランクトン消長の制限因子となることは殆んどありえないものと考えられる。これに反して鉄は海水のように pH の高い水溶液には溶解し難く、植物プランクトン消長の制限因子となり易いことが知られている<sup>7)</sup>。

本株はその増殖にビタミンその他の有機物を必要としなかった。また本株の増殖を促

進した有機物としてグリコール酸があげられるが100mg/ℓの高濃度で対照に比べ約1.5倍増殖を促進したに過ぎず、自然界において本種の増殖にそれ程影響を与えているとは考えられない。

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲を賜った北海道大学理学部中村義輝教授に深謝する。また有益な御助言を頂いた阪井与志雄教授に感謝する。

本研究の一部は文部省科学研究費でなされたことを附記する。

### Summary

Nutrient requirements of *Biddulphia aurita* collected from Charatsunai, Muroran were investigated in axenic culture to clarify the relationship of the seasonality of this species to the nutrients of seawater at the area.

This species preferred low salinity between 22 and 27 per thousand. The optimal pH zone was between 8.0 and 8.8. The pH of seawater is generally between 8.2 and 8.3, therefore, pH is not considered to be an important factor affecting the seasonality of this species.

Nitrate was the best nitrogen source. Considerable growth occurred even on the medium containing 0.7-1.2  $\mu\text{g}$  at $\ell$  of inorganic nitrogen. As phosphorus sources both  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  and sodium glycerophosphate were utilized well for the growth, and the former was more effective than the latter. When this species was inoculated to the phosphorus free medium its growth was inhibited immediately, accordingly, it was considered to have poor capacity to store phosphorus. Silicate was required at high concentrations.

Among trace elements boron and iron requirement was detected. It is known that sea water constantly contains boron rather at high concentration. Therefore, boron is not considered to limit the seasonality of this species. However, iron often become limiting factor to the seasonality of phytoplanktons and it may affect the seasonality of this species.

### 引用文献

- 1) 中央気象台海洋課 (1955) 昭和29年本州東方海域海洋報告. 中央気象台海洋報告, 4: 1-24.
- 2) 小藤英登 (1950) 噴火湾近海海洋観測報告. 噴火湾近海海洋調査報告, 室蘭市役所, 3-62.
- 3) 気象庁 (1970) 海水の化学分析. 海洋観測指針, 日本海洋学会, 東京, 145-209.
- 4) LEWIN, J. (1966) Boron as a growth requirement for diatoms. J. Phycol. 2: 160-162.
- 5) SVERDRUP, H. U., M. W. JOHNSON, and R. H. FLEMING. (1961) Chemistry of sea water. In *The Oceans*. (H. G. SVERDRUP, M. W. JOHNSON and R. H. FLEMING ed.). Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, N. J. Press. 165-227.

- 
- 6) IWASAKI, H. (1967) Nutrition of Algae. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fisher.* **33**: 1072-1083.
  - 7) PROVASOLI, L. 白石景秀訳 (1964) 海水の生産力の研究. 日本水産資源保護協会, 東京: 1-32.
  - 8) ———, J.J. A. McLAUGHLIN and M. R. DROOP. (1957) The development of artificial media for marine algae. *Arch. Mikrobiol.* **25**: 392-428.