

藻類の栄養代謝に関する研究—I

アサクサノリの生育に対するアミノ酸
及びビタミン類の効果

金沢 昭夫・柏田 研一

Studies on the Metabolism of Algae—I

—The Effects of Amino Acids and Vitamins on
the Growth of *Porphyra tenera*—

Akio KANAZAWA and Ken'ichi KASHIWADA

Effectiveness of amino acids and vitamins on the growth of seaweed was examined through the culture of *Porphyra tenera*, with the following results.

1. The growth of *Porphyra* in the artificial seawater was ascertained to be inferior to that fostered in natural seawater. (Table 2)
2. In the case the media were supplemented by vitamins, amino acids or by pyloric coeca extract, the growth of *Porphyra* was promoted markedly. (Table 3)
3. Although the inhibition of the algae growth was incurred by vitamin B₁ and B₂, a distinct growth of *Porphyra* was ascertained to be brought about by nicotinic acid, pantothenic acid, folic acid, biotin and vitamin B₁₂; a slight one being open to the function of vitamin B₆. (Table 5)

緒 言

海藻類は施肥を行なわなくてもよく旺盛な生育を遂げるので、施肥によつて増産を図るということは一般には行なわれていないが、海藻の栄養要求に関する基礎的研究も比較的少ない。ただアサクサノリは商品の価値が高く、専ら養殖によつて生産されている關係上、集約的の生産を図る目的で施肥問題が考えられており、これに関する培養試験も屢々行なわれて来た。一方アサクサノリは蛋白質に富むばかりでなく、種々の遊離アミノ酸やビタミン類が豊富に含有され、嗜好的価値に於ても又栄養的価値の点からも甚だ勝れた食品であることが立証されているが、アサクサノリのみならず一般に海藻類が如何なる栄養要求をして、これが自体の構成に如何に利用され、或は体内に蓄積されるかについては殆んど知られていない。依つて筆者らは海藻類の生長と養分との關係につき、これまであまり研究されていないアミノ酸類やビタミン類など含窒素有機化合物の海藻の生育に及ぼす効果を試験し、一方これによつて海藻類の施肥についても一資料を得ることを期待して本研究を始めた。供試海藻としてはアサクサノリを用いた。なおこの種の試験では前記含窒素有機化合物、特にビタミン類に於ては極めて微量でその効果の現われることも予想されるが、海水中にこれらの物質が存在するか否かはビタミン B₁₂ 以外は明らかでなく、又定量も今の処 B₁₂ 以外は方法が確立されておらず、更に海水中には海藻の生育に影響を及ぼすべき未詳の成分が存在することも考えられ、そのため目的とする試験物質に対する効果が隠蔽攪乱される恐れがあるので、天然状態とはやや条件は異なるが海水に近い組成をもつた培養液を調製使用した。これにアミノ酸類、ビタミン類或はカツオ幽門垂エキスなどを添加

し、アサクサノリの培養試験を行なった結果、これら有機物がアサクサノリに対し顕著な生長促進効果を示すことを認めた。

実 験 の 部

1. 培養液

海藻類の人工培養にはこれまでは屢々海水を用い、例えば施肥試験の場合にはこれに試験すべき肥料分を加えてその効果を見る方法が行なわれていたが、前記の理由から著者らは LYMAN, FLEMING, WATTENBERG の海水分析値を参考とし、更に一、二の点を考慮して Table 1 に示したような組成をもつた培養液を調製した。(以下これを人工海水と呼ぶ。)

Table 1. Artificial seawater. (Media for *Porphyra tenera*)

Solution A :		Solution C :	
H ₂ O	700 ml	H ₂ O	100 ml
NaCl	23.447 g	KH ₂ PO ₄	0.010 g
MgCl ₂ ·6H ₂ O	10.643	NH ₄ NO ₃	0.010
Na ₂ SO ₄ ·10H ₂ O	8.881	Na ₂ SiO ₃	0.010
KCl	0.664		
NaHCO ₃	0.192	Solution D :	
KBr	0.096	H ₂ O	100 ml
H ₃ BO ₃	0.026	KI	0.30 mg
Sr(NO ₃) ₂	0.024	FeCl ₃ ·6H ₂ O	0.10
NaF	0.003	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.10
		MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.10
Solution B :		CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.10
H ₂ O	100 ml	ZnCl ₂	0.10
CaCl ₂ ·2H ₂ O	1.459 g	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.10

Solution A, B, C and D must be mixed 1-2 days before they are used.

これを調製するには予め A, B, C, D, 4種の溶液を調製しおき、使用時に混合して1~2日放置後使用した。この組成中にはノリの栄養代謝に不必要のものもあると思われるが、その点については敢て詮索しなかつた。なおこの溶液は比重 1.025, PH 8.4 で両者共天然海水のそれに近いものであつた。

2. 供試ノリ

ノリを着生せるヒビを約 10 cm に切りとり、ほぼ等大(約 3 cm) で色沢その他外観上健全と認められるもの 5 葉を残して他は切除したものを供試ノリとして用いた。

3. 培養方法

前記人工海水 5 l を直径 25 cm 深さ 15 cm のガラス鉢に入れて南面した窓側に並べ、供試ノリは水面下約 3 cm の所につるし、5%の CO₂ を含んだ空気を毎分 200~300 ml の割で通じつつ培養した。なお細菌類の繁殖を抑えるため人工海水にはオーレオマイシン 1 ppm を添加し、1週間の培養期間中1日おきに換水した。試験は12月下旬から1月にかけて行なつたがこの期間中水温は 7~11°C であり、人工照明は行なわなかつた。

4. 生長率の表示

試験の始めと終りにノリ葉体の面積を測定し、それを夫々 A, B cm² とした場合、生長率 S を次の如く算出した。

$$S = \frac{B - A}{A} \times 100$$

試験結果並びに考察

まず筆者らの調製した人工海水がノリ培養試験用として適当であるか否かを知るため、これを用いてノリを培養した場合と、天然海水を用いて培養した場合における生長率を比較試験した。海水は本学部前の海から満潮時に近い頃波み取り東洋濾紙 No. 2 で濾過して用いた。その結果は Table 2 に示した通りで、人工海水中におけるノリの生育は天然海水の場合に劣った。そこでこれに NH_4NO_3 , KH_2PO_4 , 尿素(何れも 10 mg/l) を添加して見たが、やはり天然海水には及ばなかつた。

Table 2. Growth of *Porphyra tenera* in various media.

Media	Growth rate**
Natural seawater	35%
Artificial seawater*	21
Natural seawater (50%)	
Artificial seawater (50%)	24
Artificial seawater + NH_4NO_3 (10 mg/l)	
+ KH_2PO_4 (")	22
Artificial seawater + Urea (")	27

* cf Table 1.

$$** \text{Growth rate} = \frac{B-A}{A} \times 100.$$

A, Area of *Porphyra* before the culture.B, Area of *Porphyra* after 7 days of culture.

即ち前記の人工海水はノリの培養液としては天然海水に劣るが、ノリの生育を許さぬ組成のものでないことは明らかである。なおこの実験のみでは天然海水に劣る原因は判らない。

次にこの人工海水にアミノ酸類及びビタミン類、カツオ幽門垂エキスなどを添加し、それらの物質がノリの生育に及ぼす効果を試験した。

これら各物質の添加量が適当であつたか否かについては更に検討を要する所であるが、最初は単に効果の有無を知ることがを目的としたので一応表示の濃度とし、添加量については別に実験することとした。試験の結果は Table 3 に示した通りである。

Table 3. Effects of amino acids, vitamins and pyloric coeca extract on the growth of *Porphyra tenera*.

Media	Growth rate
Natural seawater	32%
Artificial seawater	22
Artificial seawater + Vitamin mix*, 1ml/l	55
Artificial seawater + Amino acid mix,**1ml/l	60
Artificial seawater + Vitamin mix, 1ml/l and Amino acid mix, 1ml/l	70
Artificial seawater + Pyloric coeca ex.***, 1g	100

* One ml. of vitamin mix contains: thiamine, 10 γ ; nicotinic acid, 10 γ ; Ca-pantothenate, 10 γ ; choline, 10 γ ; riboflavin, 10 γ ; pyridoxine, 10 γ ; PABA, 10 γ ; inositol, 10 γ ; folic acid, 0.2 γ ; biotin, 0.02 γ ; B_{12} , 0.02 γ .

** One ml. of amino acid mix contains: casein hydrolysate (treated with activated charcoal), at pH 3.5 10mg casein equivalent; DL-alanine, 0.4mg., L-cystine, 0.4mg., DL-tryptophan, 0.4mg.

*** One g. of pyloric coeca extract contains 10mg of crude protein.

即ちそれのみでは培養液として天然海水に劣る人工海水でもこれにアミノ酸混合物、ビタミン混合物、カツオ幽門垂エキスなどを添加すると、ノリの生育は天然海水中における場合よりも明らかに良好となることが判つた。前記の添加物及び添加量ではカツオ幽門垂エキスが特に有効で、次でアミノ酸混合物、ビタミン混合物の順であるが、後二者の効果にはあまり大きな開きはない。カツオ幽門垂エキスの成分はさきに著者等や柿本¹⁾⁻⁷⁾が報告したように諸種のビタミン、アミノ酸の外有機塩基類も検出されており、更に未知物質の存在もほぼ確認されているので、如何なる物質がノリの生育を促進したかは不明であり、又前記アミノ酸混合物、ビタミン混合物に於ても何れが有効であつたかは判らない。このようにアミノ酸類、ビタミン類及びカツオ幽門垂エキスは何れもノリの生長を促進したが、それらの示した生長促進効果がどのような機構又は作用によるものであるかも明らかでなく、又海水にビタミン B₁₂ の存在することは既知の事実であるが、人工海水が天然海水に較べノリの培地として劣る原因が B₁₂、その他ビタミン類かそれともアミノ酸の如きものの欠如にあるか否かも亦不明である。このように本実験の結果だけからでも色々不明の事項が生まれて来て、今後吟味されなければならない幾多の問題が残されてはいるが、何れにしても比較的複雑な有機物、殊にビタミン類がノリのような多細胞の Autotrophic と思われる植物の生育に対し効果を示すことは生理学上から興味深い事項である。

次に前記アミノ酸混合物、ビタミン混合物、カツオ幽門垂エキスの添加量を変えた場合、ノリの生育に及ぼす効果を試験した結果は Table 4 の如くで、前記アミノ酸混合物では

Table 4. Effect of vitamin, amino acid and pyloric coeca extract at various concentrations on the growth of *Porphyra tenera*.

Substances added, per litre of medium		Growth rate
Vitamin mix*	0.2 ml	50%
"	1.0	58
"	5.0	58
"	25.0	41
Amino acid mix**	0.04 ml	50
"	0.2	67
"	1.0	72
"	5.0	61
Pyloric coeca ex.***	0.04 g	29
"	0.2	50
"	1.0	86
"	5.0	44
Control		27

*, **, ***.....cf Table 3.

1 ml/l, 幽門垂エキスは粗蛋白として 10 mg/l, ビタミン混合物では 1 ml/l の濃度の場合生育が最も旺盛で、それ以上の濃度になると寧ろ害作用が現われ、その阻害程度は幽門垂エキスが最も著しかつた。

前記の如く人工海水にビタミン混液を添加してノリを培養するとその生育が促進されたが、どのビタミンが有効であつたかを知るため、各個別に前記の方法によつて夫々のビタミンの効果を試験した。各ビタミンの添加量及び試験の結果は Table 5 の如くであつた。

この試験によるとニコチン酸、パントテン酸、葉酸、ビオチン、B₁₂は何れもノリの生育を促進し、中でも B₁₂ の効果が最も顕著であつた。併し B₆ はあまり有効でなく、B₁ と

Table 5. Effect of vitamin on the growth of *Porphyra tenera*.

Vitamin added, per litre of medium	Growth rate
Thiamine, 10 γ	17%
Riboflavin, 10 γ	28
Nicotinic acid, 10 γ	53
B ₆ , 10 γ	39
Pantothenic acid, 10 γ	47
Folic acid, 0.2 γ	53
Biotin, 0.02 γ	50
B ₁₂ , 0.02 γ	83
Control (Artificial seawater)	34

B₂は寧ろ阻害的作用を示した。なお上記ビタミン類に対しては更に各個別に最有効濃度を試験する必要がある、それが明らかにされた上でないと各ビタミン相互の比較はできないが、本試験で B₁₂が勝れた生長促進効果を示したことは、ノリに B₁₂が豊富に含有されていることと思ひ併せ極めて興味深い現象である。

摘 要

海藻類の栄養要求に関する研究として、アサクサノリの施肥については既に古くから試験されているが、これまでの研究は多くは無機物質を対象としてその効果を試験したものであつた。筆者らはアミノ酸、ビタミン類がアサクサノリの生育に及ぼす影響を知るため、これらの物質を添加した人工海水中で培養試験を行なつたところ、次の結果が得られた。

1) Table 1 に示した組成の人工海水を調製したが、これはアサクサノリの培養液としては天然海水に劣つた。よつてこれに NH₄NO₃, KH₂PO₄, 尿素を追加して見たが効果がなかつた。

2) 併しこの人工海水にアミノ酸類、ビタミン類、カツオ幽門垂エキスを添加試験したところ、ノリの生育は著しく促進され、天然海水中のものを遙かに凌いだ。

3) 上記の添加物がノリの生育を促進するには夫々適当な濃度があり、アミノ酸混合物とカツオ幽門垂エキスは粗蛋白として 10mg/l, ビタミン混合物は 10 γ /l の濃度の場合最高の生長率を示した。

4) Table 5 に示した添加量の場合、ニコチン酸、パントテン酸、葉酸、ビオチン、B₁₂は何れもノリの生育を促進したが、B₆はあまり有効でなく、B₁とB₂は阻害作用を示した。

本試験に要した経費の一部は昭和33年度農林漁業試験研究費補助金より支弁した。附記して感謝の意を表する。

文 献

- 1) 柏田研一・柿本大壹・山崎利盛：日水誌 19, 15~18 (1953)
- 2) 柿本大壹・金沢昭夫・柏田研一：同 上 19, 729~732 (1953)
- 3) 柿本大壹：同 上 20, 713~716 (1954)
- 4) 柿本大壹・金沢昭夫：同 上 22, 574~576 (1957)
- 5) 柿本大壹：同 上 22, 577~582 (1957)
- 6) 柿本大壹・金沢昭夫・柏田研一：同 上 22, 631~633 (1957)
- 7) 柿本大壹：同 上 22, 634~636 (1957)