

Scenedesmus の増殖や定数群体形成に及ぼす ブドウ糖およびイースト抽出物の効果

生物学 菅原 洋子

Effect of Glucose and Yeast Extract for Growth and Coenobium Formation on *Scenedesmus*

Yoko SUGAWARA

要 旨

淡水産緑藻類、*Scenedesmus* の1種を用いて、Bristol 改変培地を基本培地とし、さらに0.1%ブドウ糖添加培地や0.1%イースト抽出物添加培地の中で無菌的に培養を行い、その増殖や定数群体形成に及ぼす影響を調査して、以下の成績を得た。

- (1) この藻類の増殖に対して、培養開始後10日頃まではブドウ糖添加培地が最も促進的にはたつき、次いでイースト抽出物添加培地となり、最も増殖が悪いのは無機培地である Bristol 改変培地であった。しかし、10日頃を過ぎるとブドウ糖添加培地よりもイースト抽出物添加培地の方が促進的な効果を示した。
- (2) これらの種類に特有な定数群体形成にはブドウ糖添加培地が最も効果があり、培養開始後約1週間で総細胞の79.9%、84.0%の個体が群体を形成するようになり、その後殆んどの期間にわたって、80~95%の高率を維持した。他方、イースト抽出物添加培地や Bristol 改変培地の中では、培養の初期は別として、殆んどの期間、定数群体形成個体の割合が50%を超えることはなかった。
- (3) 上記3種の培地のほかに、0.1%果糖添加培地、0.1%ショ糖添加培地、10ppm 合成洗剤添加培地についても調査を試みたが、増殖についても、定数群体形成についても特筆されるような効果は見られなかった。

緒 言

自然環境の汚染と関連して、合成洗剤の人体や生態系に及ぼす影響については、古くから研究が進められており、一定の結論が導き出されて久しい。著者ら¹⁾は緑藻類、*Scenedesmus* の1種の増殖に対する市販の合成洗剤の生態的影響調査を試みた中で、洗剤の濃度によってこの種類に特有の定数群体が生じる割合が変化する傾向があることに注目した。

今回、著者は定数群体形成や形態的変異の形成に関わりが深いと思われるブドウ糖、イースト抽出物とその他の糖類や合成洗剤を供試物質として、この藻類の増殖経過や定数群体形成に与える影響を調査した。

方 法

実験には前報告と同様に緑藻類、*Scenedesmus* の1種を用いた。この藻類をバイオトロン人工気象器（ウチダ製）の中で照度（約4.5 klx）、日照時間（明期：18時間、暗期：6時間）、温度（明期の間：30℃、暗期の間：26℃）に保ちながら一定期間培養を続けた。基本培地として、無機液体培地である Bristol 改変培地²⁾を用いて、100ml三角フラスコの中で無菌的に培養し、これを対照区とした。さらに、供試物質として、ブドウ糖、果糖、ショ糖、イースト抽出物および市販の合成洗剤を用いた。これらの物質の一定量を基本培地に混和し、十分に溶解して、ブドウ糖、果糖、ショ糖、イースト抽出物については濃度0.1%とし、合成洗剤につ

いては濃度 10ppm としたものを培地に用いた。

用意したそれぞれの培地の中に少量の藻類を接種し、各々の培地中における増殖経過を観察した。増殖経過の観察は培養開始の日から始めて、適当な培養日数毎にそれぞれの培地の中から藻類懸濁液 0.5~1ml をピペットで採取して、トーマ血球計算器により 1mm³ 当りの総細胞数を算出することに依った。これと同時に定数群体³⁾ (2、4、8 細胞の群体) とその過渡的群体 (3、5、6、7 細胞の群体) を形成している細胞数をも計数した。さらに、総細胞数 (前述の藻類懸濁液 1mm³ 当りの総細胞数を利用した。) に対する群体形成細胞の割合を 100 分率で求めた。

なお、培養は静置状態で行い、二酸化炭素の通気も行わなかった。

結 果

図 1 には *Scenedesmus* の 1 種を基本培地で培養した対照区 (C₁ と C₂ で示される曲線) と 0.1% ブドウ糖添加培地 (G₁ と G₂ で示される曲線) およびイースト抽出物添加培地 (Y₁ と Y₂ で示される曲線) で培養した場合の増殖経過を示している。図示された様に、対照区の C₁ と C₂ 曲

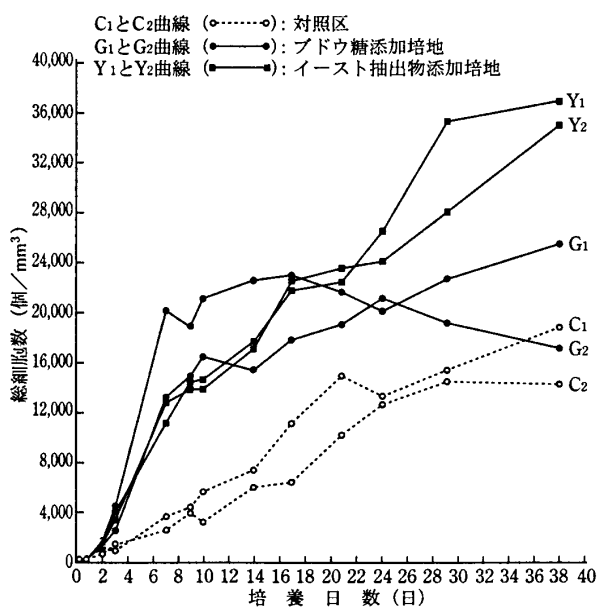


図 1 *Scenedesmus* を種々の培地中で培養した場合の増殖経過

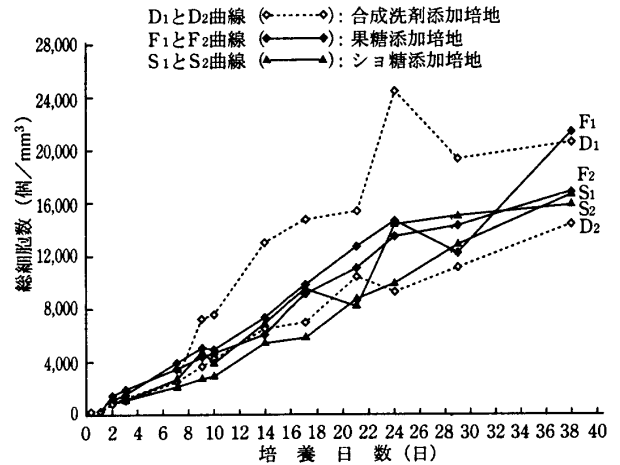


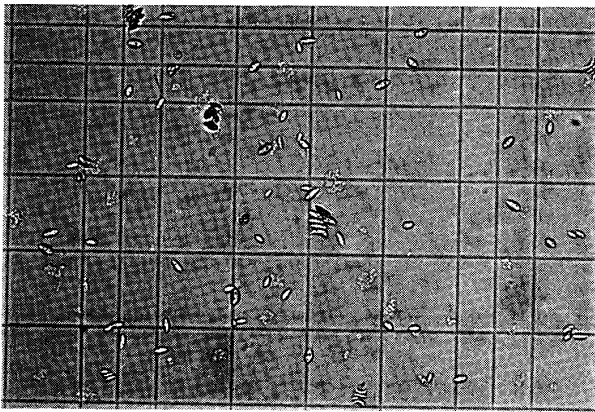
図 2 *Scenedesmus* を種々の培地中で培養した場合の増殖経過

線と比較して G₁ と G₂ 曲線も Y₁ と Y₂ 曲線も急勾配で上昇して行き、殊に G₁ と G₂ 曲線は培養開始から 10 日頃まで、著しい増大を示すが、その後は略定常の状態に落ち着く。他方、Y₁ と Y₂ 曲線の場合は、G₁ と G₂ 曲線よりもわずかに緩やかな勾配で伸びてゆくが、G₁ と G₂ 曲線が安定した 10 日頃を過ぎても初期の増大傾向が続き、実験の最終日に至っても、なおその勢いはあまり衰えていない。図 2 には図 1 と同様にして求めた合成洗剤添加培地 (D₁ と D₂ で示される曲線)、果糖添加培地 (F₁ と F₂ で示される曲線) およびショ糖添加培地 (S₁ と S₂ で示される曲線) の場合の増殖経過を示している。この中で D₁ 曲線が他より突出した傾向があるが、図 1 の C₂ 曲線と対比させると、必ずしも極端な結果とは言い難く、これらの 6 曲線は対照区の場合とあまり大差のない増殖経過を示しているものと思われる。

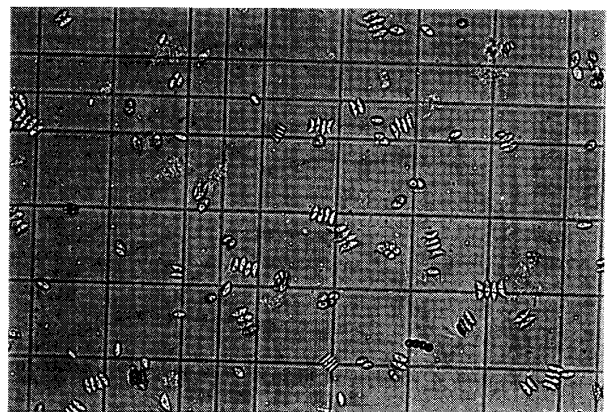
図 3 には培養日数 24 日目における 6 種類の培地の中の藻類の光学顕微鏡像を示している。特にブドウ糖添加培地 (b) において、定数群体を形成している細胞が多いことが注目される。

次に、図 4 には培養日数に対応して、定数群体 (またはその過渡的群体) 形成細胞の割合の変動を図示したものである。図中の C₁ と C₂ で示す対照区の曲線は初期の 68.3%、58.1% という高い値から減少してゆき、17 日目で最小となり、その後再び増加傾向を示している。これに

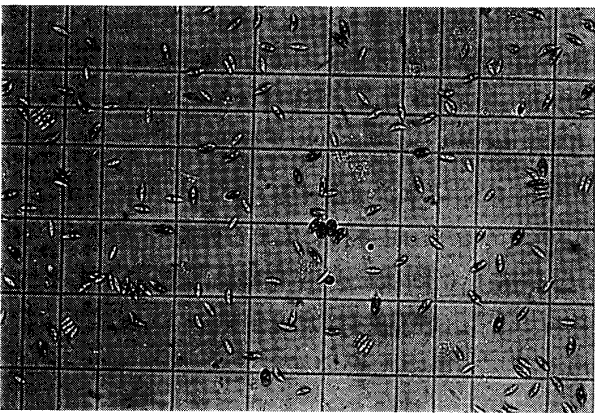
図3 6種類の培地中における *Scenedesmus* の光学顕微鏡像 (培養日数: 24日目)



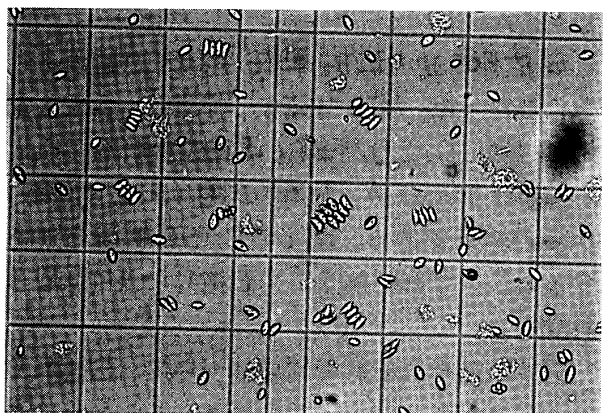
(a) 対 照 区



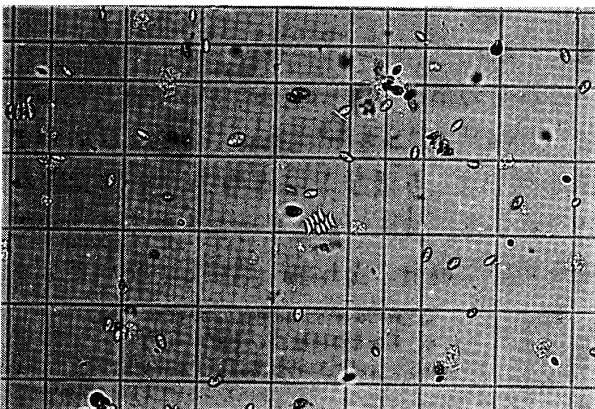
(b) ブドウ糖添加培地



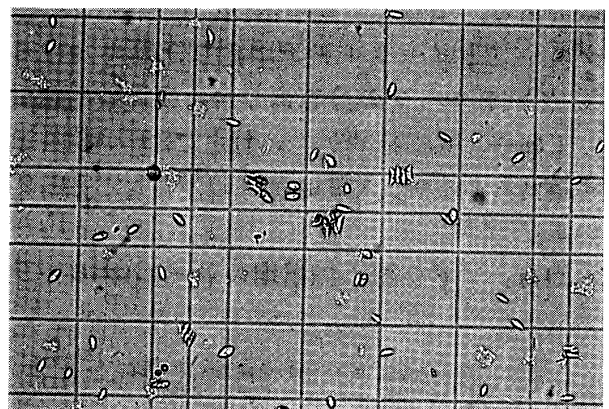
(c) イースト抽出物添加培地



(d) 合成洗剤添加培地



(e) 果糖添加培地



(f) ショ糖添加培地

対して、ブドウ糖添加培地における G_1 と G_2 曲線は培養開始から7日目頃まで急速に増加し、その後は略一定の状態が続く。なお、 G_1 曲線が培養の後期に極端な低下を示した理由については、38日目の検鏡像で培地環境の悪化によると思われる細胞の変形が見られており、このことが原因していると思われる。イースト抽出物添

加培地からの Y_1 と Y_2 曲線では、培養開始後7日目で極端な低下があり、その後17日目頃まで増加して一定の状態に落ち着くが、後期には減少傾向を示した。 G_1 と G_2 曲線に比較して特に注目されることは、 Y_1 と Y_2 曲線の最大値が45.8%、50.4%で、イースト抽出物添加培地中では総細胞数自体はるかに勝っているが、 G_1

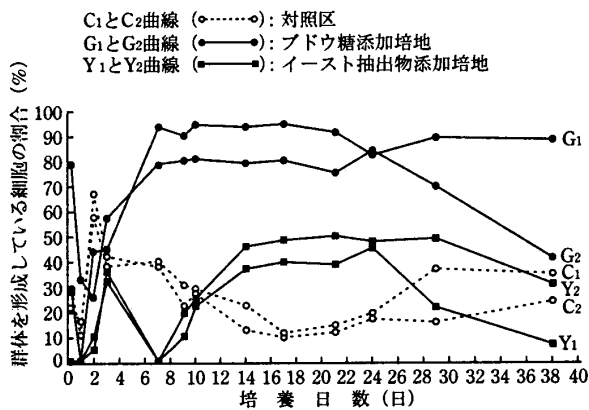


図4 培養期間中における定数群体を形成している細胞の割合の変動

とG₂曲線の最大値84.3%、95.0%を越えることはなかった。図5は図4と同様に、合成洗剤添加培地(D₁とD₂曲線)、果糖添加培地(F₁とF₂曲線)およびシヨ糖添加培地(S₁とS₂曲線)からの結果である。図4のC₁とC₂曲線と対比すると、いずれも極立って特徴的な点は認められない。

図6にはそれぞれの培地について、含まれている総細胞数に対する定数群(またはその過渡的群)形成細胞の割合の分布を図示したものである。この中の基本培地におけるC₁とC₂グループとイースト抽出物添加培地におけるY₁とY₂グループの分布のしかたは比較的類似しており、総細胞数が少ない範囲では高い値を示す場合もあるが、大概是50%以下にとどまっている。

他方、ブドウ糖添加培地のG₁とG₂グループ

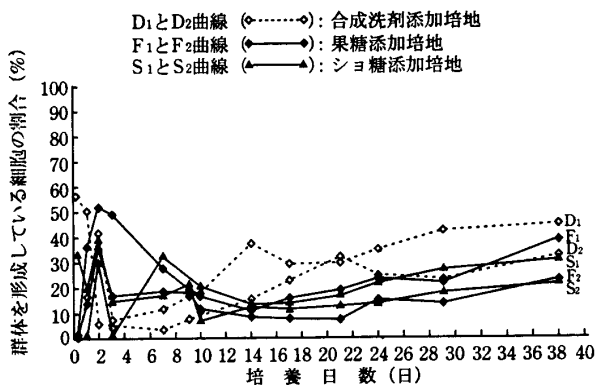


図5 培養期間中における定数群体を形成している細胞の割合の変動

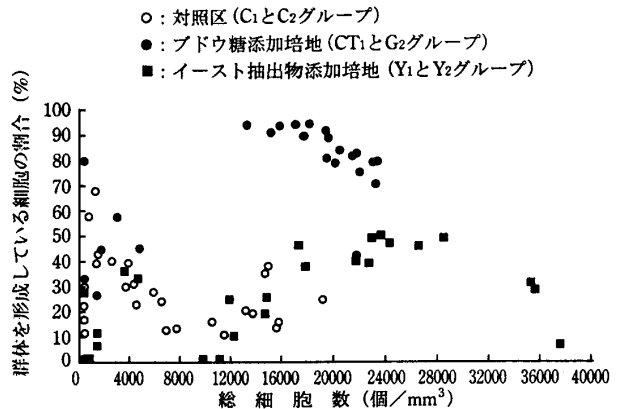


図6 総細胞数に対する定数群体を形成している細胞の割合の分布

は総細胞数が極端に少ない範囲では50%以下の低い値を示す場合もあるが、総細胞数が13,000個/ m^3 を越えると定数群形成細胞の割合が70.8~95.0%と高率のところにかたまて分布するようになり、上述のC₁、C₂グループやY₁、Y₂グループとは大きく異なる様相を呈する。図7には図6と同様に合成洗剤添加培地(D₁とD₂グループ)、果糖添加培地(F₁とF₂グループ)およびシヨ糖添加培地(S₁とS₂グループ)における結果で、図6のC₁とC₂グループと比較して、特に顕著な点は見られない。

考 察

これらの藻類の増殖経過については、Trainor (1964)⁴⁾ が *Scenedesmus obliquus* の固定株を用いて、5種類の培地の中で培養実験を行っている。彼によるとイースト抽出物添加培地を用いた場合に最も良く増殖し、次いでブド

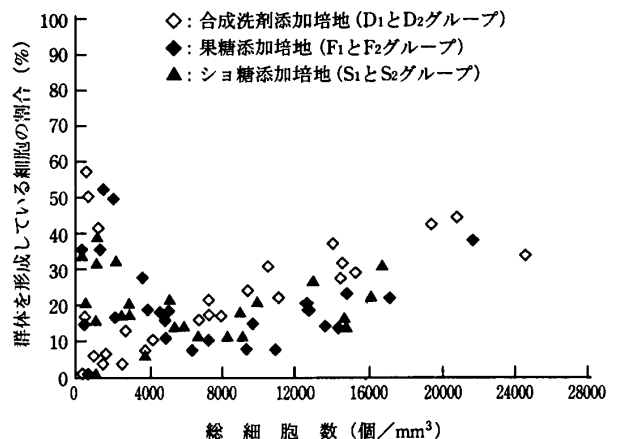


図7 総細胞数に対する定数群体を形成している細胞の割合の分布

ウ糖添加培地となったが、両者の差異はそれほど大きくはなかったと報告している。他方、彼の用いた完全培地や Bristol 培地、土壤抽出液培地中では増殖は弱く、殊に後二者では一段と劣っていたと述べている。この成績は培地の成分の混合比率、添加物質の濃度や実験に用いた藻種の相異等があるにもかかわらず、概観すれば著者と一致した傾向を示している。ブドウ糖やイースト抽出物の添加は確かにこの藻の増殖を促進する。しかし、有機成分でも果糖やショ糖を加えた場合はそのような効果を示さないことが、本実験では観察された。

この藻の増殖、特に総細胞数の増加に対するブドウ糖とイースト抽出物の影響のしかたには時間的な差異があるように思われる。

図1に見られたように、ブドウ糖の添加では、培養開始から10日のうちに大きな効果を示すが、イースト抽出物の添加では長期的、持続的に効果を発揮している。

これら *Scenedesmus* のいくつかの種の変異性については、Trainer (1966)⁹⁾ がいくつかの細胞が鎖状または枝状に連結した *Dactylococcus* 様群体の存在に注目しているが、著者の場合、いずれの培地中でも非常に稀で、注目し得るものではなかった。彼によれば、このような群体は破壊されやすいということであるから、検鏡の際の振盪などの操作により、細胞どうしが分離してしまったのかもしれない。

さらに、これらの種類に定型的に見られる定数群体は、図4や図6に示されているようにブドウ糖添加培地中で最も多く観察されている。ブドウ糖添加培地中では、培養の初期や後期は別として、培養開始後約1週間で総細胞数の79.9%、94.0%の個体が定数群体を形成するようになり、その後は長期間にわたって、80~95%の高率を維持している。これに対して、イースト抽出物添加培地中では、培養開始後1週間目にはこの値の極端な低下が見られ、その後殆どどの期間にわたって、40~50%の範囲にとどまり、それを大きく上まわることはなかった。また、Bristol 改変培地中における結果は培養の初期に68.3%、58.1%とと比較的高率で定

数群体を生じているが、多くの期間にわたり、10~30%の範囲にとどまった。以上述べた如く、ブドウ糖添加培地における結果は Trainer (1964)⁴⁾ とよく一致する。しかし、イースト抽出物添加培地と Bristol 改変培地を用いた場合については彼我の間に相違がある。イースト抽出物添加培地については、採用した濃度の差異に基づくことが想像される。すなわち、著者の場合の0.1%に対して、彼は1.5%を用いている。次に、無機培地については、彼は Bristol 培地そのものを用いているが、著者は改変培地を使用しており、無機成分の混合比率に差異があるためとも考えられる。

すでに繰り返されたように、ブドウ糖添加培地を用いた場合、総細胞数の増加も良好だが、他のいずれの培地と比較しても定数群体の形成が極端に高い。これと対照的にイースト抽出物添加培地による培養では、総細胞数の増加はブドウ糖添加培地の場合をはるかに越えるが、定数群体の形成は低いままにとどまる。ブドウ糖の存在は定数群体の形成に促進的な効果を持つものと推測される。逆にイースト抽出物の場合は総細胞数自体の増加には効果的であるが、定数群体の形成には抑制的な作用があるのかもしれない。Trainer (1964)⁴⁾ の結果を引用すれば、イースト抽出物の濃度が著者の0.1%から彼の1.5%に増加することによって、定数群体を形成している細胞の割合が、40~50%から0~4%に減少している。ブドウ糖やイースト抽出物のような有機成分が、この藻の増殖や定数群体の形成とどのような関わりを持っているのかは、なお精査される必要があるものと思われる。

結 語

Scenedesmus の種類の生活史や生殖あるいは定数群体の形成過程については序々に理解が進んでいると思われるが、細かな点についてはいまだ不明確な部分も残されている。

特に定数群体が形成される過程や、これに関わる諸条件を吟味することは、植物界で単細胞から多細胞へと発展した道すじを理解するための一助となる可能性も秘めているのではないか

と想像する。さらに条件を整理して追究を進め

てゆく必要性を感じる。

引用文献

- 1) 菅原洋子、片倉久美子：合成洗剤が淡水産藻類に及ぼす生態的影響調査の試み、岩手女子看護短期大学紀要(1)、17-22、1963.
- 2) 田宮博、渡辺篤編：藻類実験法、70、南江堂、1956.
- 3) 廣瀬弘幸、山岸高旺編：日本淡水藻図鑑、364-383、内田老鶴圃、1991.
- 4) F. R. Trainer: The Effect of Composition of the Medium on Mophology in Scenedesmus obliquus, Canadian Journal of Botany, 42, 515-518, 1964.
- 5) F. R. Trainer: The Mophology of a Scenedesmus in Pure and contaminated Culture, BULLETIN of the Torrey Botanical Club, 90 (2), 137-138, 1963.
- 6) F. R. Trainer: Scenedesmus Wall Ornamentation 1. Scenedesmus parisiensis Cultures, J. phycol, 2, 85~89, 1966.