

國學院大學學術情報リポジトリ

植物プランクトンの簡易培養液

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2023-02-06 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 加藤, 季夫 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.57529/00001245

植物プランクトンの簡易培養液

加藤 季夫

A simple medium for phytoplankton

Kato Sueo

キーワード：培養液、ボルボックス、クンショウモ、ミドリムシ、プランクトン

I. はじめに

平成23年度から実施された学習指導要領に基づき、小学校5年理科の「動物の誕生」の単元において新たに「水中の小さな生物」を扱うこととなった。理科の学習効果を高める上で実験・観察は極めて重要で、「水中の小さな生物」に出てくるボルボックスやクンショウモ、ミドリムシなどのプランクトンを自分の目で見ることは児童が自然への興味をより高め、その後の学習を積極的に取り組むきっかけにもなると考えられる。しかしながら、ボルボックスやクンショウモ、ミドリムシなどは出現場所、出現時期などもそれぞれ異なっており、教員が学校の周辺の池や沼、水田などでそれらを採集して、観察材料として同時に揃えることはかなり困難といえる。そのため、神奈川県立総合教育センター¹⁾など、各都道府県の総合教育センターではこれらのプランクトンを継代培養し、要望に応じて学校に提供する事業を行っているところもある。

ボルボックスやクンショウモは淡水産植物プランクトン用合成培地のVT培地^{2) 3)}、ミドリムシは同じく合成培地のAF-6培地⁴⁾で比較的容易に培養できるが、これらの培地は主要塩類だけでなく微量元素やビタミン類を含み、培地の処方には数多くの試薬を必要とするため、小学校等の教育現場で使用することは難しいといえる。また、ボルボックスの培養で用いられてきた二相培地⁵⁾は、用いる赤玉土の産地によってミドリムシなどを培養できないことも多い。そこで、市販の液体肥料を改変することでボルボックスやクンショウモ、さらにミドリムシ等の培養が可能かどうか検討した。

II. 材料と方法

実験には野外からの採集物を顕微鏡下で毛細ガラス管を用いて単離し、AF-6培地で温度20℃、照度4000lux、明暗周期12時間明期-12時間暗期で継代培養してあるボルボックス (*Volvox* sp., 2009年5月、横浜市青葉区寺家の水田から採集)、クンショウモ (*Pediastrum* sp., 2011年6月、長野県大町市大町の水田から採集) およびミドリムシ (*Euglena deses*, 2010年3月、埼玉県久喜市新井の側溝から採集) のクローン培養株を用いた (図1~3)。

植物プランクトンの簡易培養液

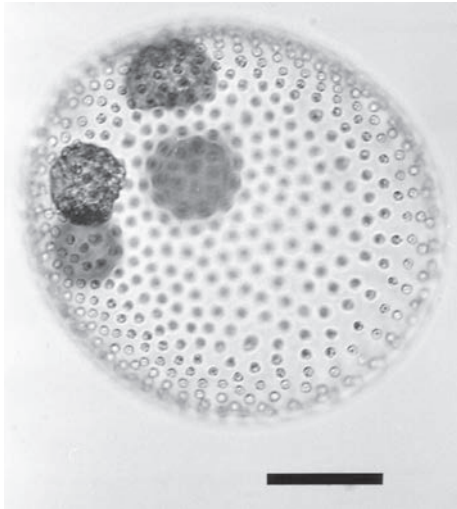


図1 ボルボックス
スケール=100 μ m

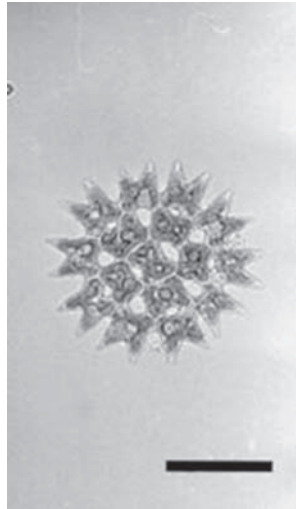


図2 クンショウモ
スケール=25 μ m



図3 ミドリムシ
スケール=25 μ m

培養液は①0.05%ハイポネックス水溶液（ハイポネックス・ジャパン）、②0.05%ハイポネックス水溶液+赤玉土、③0.05%ハイポニカ水溶液（協和、図4）+ビタミンB群混合液、④AF-6培地の4種類を用いた。赤玉土は0.05%ハイポネックス水溶液10mlあたり1粒（約0.4g）、ビタミンB群混合液はアサヒフードアンドヘルスケア社製のディアナチュラ・ビタミンB群1錠（図5）を乳鉢ですりつぶし、100mlの蒸留水に溶かしたもので、0.05%ハイポニカ水溶液1000mlあたり1mlを加えた。①～④の培養液を試験管あたり10ml入れ、家庭用蒸し器を用いて30分間、蒸気滅菌を行った。また、培養液のpHは1%水酸化ナトリウム水溶液を使って調節し、アースチェック液（住友化学園芸、図6）で判定した。



図4 ハイポニカ



図5 ビタミンB群



図6 アースチェック液

ボルボックス、クンショウモ、ミドリムシが①～④の培養液で増殖するかどうかを調べるため、継代培養していた藻体を毛細ガラス管を用いて①～④のそれぞれの培養液で3回洗浄し、①～④の培地を各ホールに1ml入れたヌンク社製のマルチウェルプレートにボルボックスおよびクンショウモでは3個の群体、ミドリムシでは3個の細胞を接種し、継代培養と同じ条件で培養、10日後に群体数または細胞数を調べた（図7）。

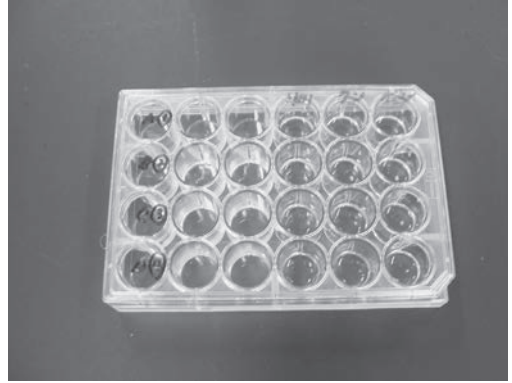


図7 マルチウェルプレート

Ⅲ. 結果と考察

実験に用いた3種類のプランクトンの①～④の培養液での10日後の群体数または細胞数（培養液1mlあたり）は図8のようであった。

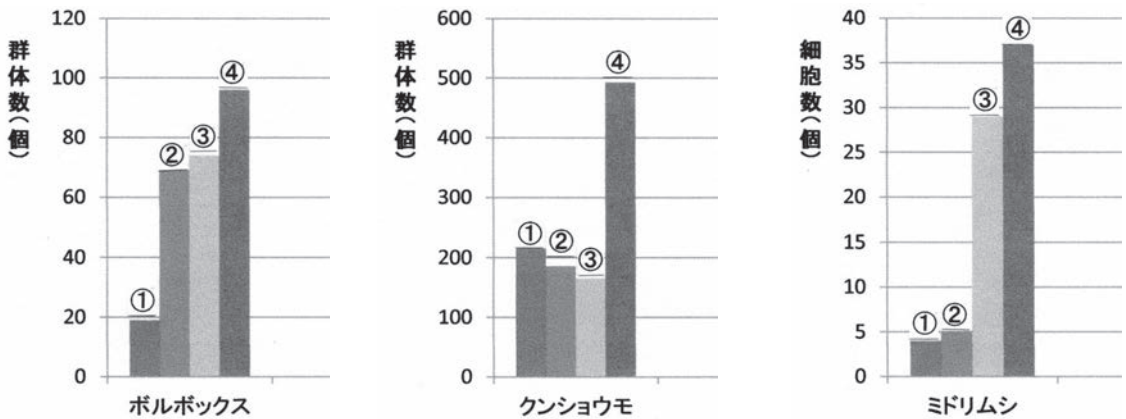


図8 ボルボックス、クンショウモ、ミドリムシの培養10日後の群体数または細胞数（①～④は実験で用いた培養液を示している）

ボルボックスは①のハイポネックス水溶液での増殖は10倍以下で、②～④の培地と比べてあまり良いとは言えない。一方、②のハイポネックス水溶液+赤玉土および③のハイポニカ水溶液+ビタミンB群混合液では20倍以上増殖し、④のAF-6培地では30倍以上増殖した。クンショウモは①～③の培養液で50倍以上、④のAF-6培地では160倍以上増殖し、培養しやすいプランクトンといえる。ミドリムシは①のハイポネックス水溶液と②のハイポネックス水溶液+赤玉土での増殖は2倍以下で、ほとんど増殖しなかったのに対し、③のハイポニカ水溶液+ビタミンB群混合液では10倍弱、④のAF-6培地では12倍強増殖した。このことから、ボルボックスやクンショウモだけでなくミドリムシを培養するにはAF-6培地以外にハイポニカ水溶液+ビタミンB群混合

液の培養液が使用できることが判明した。

淡水産植物プランクトンの培養には様々な培養液が考案されているが、近年用いられるようになってきたのがAF-6培地である。この培地は淡水産のミドリムシ類の培養のために考案されたものであるが、他の植物プランクトンの培養にも有効であることが判明し、ミドリムシだけでなくボルボックスやクンショウなどもよく増殖する培養液である。しかしながら、この培養液の作成にはボルボックス用に考案されたVT培地と同様、鉄や亜鉛、ホウ素などの微量元素やビタミンB₁、B₁₂などのビタミン類などが多く必要となり、小学校等の教育現場で用いることは難しいといえる。

神奈川県立総合教育センターでは教材としてボルボックスやクンショウモさらにはミドリムシを配布しており、継代培養のためにハイポネックス水溶液に赤玉土を加える二相培地を使用している。この二相培地がプランクトンの培養に有効である理由は、加えた土から鉄や亜鉛、ホウ素などの微量元素と土壤バクテリアが作ったビタミンB₁₂が供給されることにあると考えられている。二相培地はプランクトンの培養の大家であるPringsheimが考案した培養液⁶⁾で、様々なプランクトンの培養に有効であることが知られているが、最大の欠点是用いる土壤の質により結果が大きく異なり、実験の再現性も異なることにある⁷⁾。今回の実験においても、園芸店から購入した赤玉土を使用した二相培地ではほとんどミドリムシは増殖しなかった。また、土壤を用いた二相培地ではプレパラートに土壤由来の懸濁物が含まれ、顕微鏡で観察する際に試料が見にくいこともある。これらのことから、赤玉土を使わずに普通に手に入れることができる材料・薬品で多くの種類のプランクトンの培養が可能な培養液ができるかどうかを試みたところ、各種微量元素を含む水耕栽培用のハイポニカとビタミンB₁₂を含むビタミンB群混合液を用いることによりボルボックスやクンショウモだけでなくミドリムシも培養できることが判明した。この培養液を導入することで、小学校等においてもプランクトン観察が容易になると思われる。

なお、この培養液の詳しい処方等は次のア)～オ)の通りである。

- ア) 蒸留水（イオン交換水）1000mlにハイポニカA液、B液をそれぞれ0.5ml加える。
- イ) ビタミンB群混合液をア)に1ml加える。
- ウ) 1%の水酸化ナトリウム液をア)とイ)の混合液に0.3～0.4ml加え、pHを7.0～7.5の中性～弱アルカリ性にする。
- エ) 調合した培養液を試験管に10ml分注し、家庭用蒸し器で約30分間、蒸気滅菌する。滅菌はオートクレーブで約5分間、120℃、2気圧で行ってもよい。
- オ) 培養液は滅菌後、1日以上置いてから使用する。

最後に、培養液の処方について貴重な助言を下された日本大学生物資源学部の大島海一博士に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 1) 神奈川県立総合教育センター 顕微鏡観察用微小生物提供事業
<http://www.edu-ctr.pref.kanagawa.jp/kyouka/seibutu/bishoseibututeikyoku/>
- 2) 岩崎英雄・市村輝宣 (1979)「培養液の種類と組成」、西沢一俊・千原光雄 (編)『藻類研究法』281-305頁、共立出版、東京。
- 3) Watanabe, M. M., Kawachi, M., Hiroki, M. and Kasai, F. (2000) NIES-Collection. List of Strains Sixth Edition Microalgae and Protozoa. National Institute for Environmental Studies, Tokyo, Japan.
- 4) Anderson, R. A., Berges, J. A., Harrison, P. J. and Watanabe, M. M. (2005) Recipes for Freshwater and Seawater Media. In Anderson, R. A. [ed.], Algal Culturing Techniques. 429-532. Elsevier Academic Press, Burlington, USA.
- 5) 見上一幸・阿部倫子 (1992) 生命科学教育教材としての「水田の微小生物」(II). 宮城教育大学理科教育研究施設年報 28 卷、15-23頁。
- 6) Pringsheim, E. G. (1946) The biphasic or soil-water culture method for growing algae and flagellates. J. Ecol. 33 : 193-204.
- 7) 市村輝宣 (1973) 微細藻類の培養に関するあれこれ (3) 遺伝 27卷、73-77頁。

(かとう すえお・國學院大學人間開発学部初等教育学科教授)