

## 生徒研究発表

## 水中微生物の簡易培養法に関する研究 —湖沼より採取したクロレラの単離と培養—

大阪府立〇〇高校生物 3年 浪速花子, 2年 大阪二郎, 2年 東京三郎  
1年 京都春子, 1年 奈良秋子, 1年 兵庫冬子

### 1. はじめに

我々大阪府立〇〇高等学校生物部では 10 年前より水中微生物の培養に取り組んでおり、現在においては 20 種類以上のソウ類を中心とした微生物の継代培養に成功している。

今回は、琵琶湖および大阪近郊の溜池に生息する緑藻類のクロレラの単離と培養を行ったので報告する。

### 2. 方法

#### (1) 藻類の採取と単離方法

湖沼水を滅菌処理したポリカーボネートビンに採取し、氷で冷蔵しながら学校に持帰り希釈法<sup>1)</sup>とピペット吸引法<sup>2)</sup>で単離した。

- また、 .....  
.....処理した。
- (2) 藻類培養法
- i) 単離したクロレラを硝酸カルシウムとリン酸ナトリウムを主成分とする 1L の OSAKA の培地<sup>3)</sup>に 1mL 入れ、25,000Lux の照度下で 240 時間培養した。
  - ii) 継代培養のため .....  
.....する。
  - iii) .....  
.....を行った。

### 3. 結果

1 年生の部員グループにおいて、クロレラの単離と培養に成功し、1mL 当たり  $1.5 \times 10^6$  cells のクロレラ .....  
.....の継代培養が 6 ヶ月間維持できた。

さらに、2 年生と 3 年生の部員グループは過去の培地を改良し、1mL 当たり  $5.0 \times 10^6$  cells のクロレラの継代培養に成功し、現時点に置いても維持している。

成功した 12 サンプルについて、クロレラを無菌的に寒天培地で培養しコロニーを形成させて、それをカウントした結果を表-1 に示した。

表 1 生物部によるクロレラの培養コロニー数

検体番号	コロニー数
Sample 1	4
Sample 2	13
Sample 3	43
Sample 4	34
Sample 5	8
Sample 6	18
Sample 7	53
Sample 8	38
Sample 9	0
Sample 10	19
Sample 11	0
Sample 12	25

### 4. 考察

試行錯誤の結果、先輩から伝えられてきた培養のノウハウに、我々はソウ類を寒天培地で培養する方法を組み合わせて、バクテリアフリーのクロレラの継代培養に成功した。これを無菌的に継代培養することは非常に困難であり、抗生物質の添加や紫外線照射などの方法も取り入れて行く必要がある。また、 .....  
.....  
.....を考へている。

### 5. 参考文献

- 1) 関西太郎(2009) : ソウ類の保存, 大阪生物社.
- 2) 山田佳奈(2010) : ピペット吸引法によるソウ類の単離と実用化, 大阪ソウ類雑誌, 24:1012-1024.
- 3) OSAKA, John(2013) : Culture Of Freshwater Algae, Osaka Plankton, 34:201-234.
- 4) 〇〇高校生物部会誌(2009) : 学校内ビオトープ池に出現する植物プランクトン, 〇〇高校生物部.
- 5) 東京五郎(2013) : 藻類培養の実用化, 東京生物社.