

藻類の培養と教材化

— 高校の生物でしばしば名前が出てくる淡水産藻類の簡単な培養と保存 —

橘 淳治 (神戸学院大学) ・ 三浦靖弘 (今宮工科高校) ・ 加藤励 (泉陽高校) ・ 寺岡正裕 (大阪教公) ・ 中村哲也 (大阪国際高校) ・ 柴原信彦 (新高小学校) ・ 小瀧允 (大冠高校) ・ 西元里美 (桜塚高校定時制) ・ 川崎智郎 (夕陽丘高校) ・ 岡本元達 (大教大附属高校池田校舎) ・ 橘 孝 (大阪市建設局西部方面管理事務所)

摘要

高校の生物の授業教材として藻類の利用範囲は広い。生物基礎の最初の顕微鏡の使い方の単元では、検鏡用試料としてボルボックスやミドリムシ (*Euglena*) が用いられたりする。また、光合成の単元ではカルビンが光合成の研究に用いた生物としてクロレラが取り上げられるほか、光合成色素の抽出などに関しても陸上植物の葉のほか微細藻類からクロロフィル色素を抽出する実験を行ったりする。人間生活と生態系の単元では、河川湖沼の富栄養化と藻類増殖の関係等についても取り上げられる。生物においては、生理学的な実験をはじめ生態や進化の教材としてもしばしば取り上げられる。

このように教材生物として活用される藻類の生理生態と、学校での培養についての研究と研修を行ったので報告する。

キーワード：藻類, 培養, 合成培地, 簡易培地

1. はじめに

高校の生物において藻類は実験・観察の教材としてしばしば用いられる。

ここでは、藻類の生理生態を知った上で、培養と教材化について考えたい。

藻類とは、岩波生物学辞典によると、広義には水中に生育し同化色素をもち独立栄養生活をすする植物の総称。海草も含み、系統的に単一でなく便宜的にまとめられた群。厳密には、光合成の過程において O_2 を放出する生物から有胚植物を除いたもの。藍藻類・原核緑藻類・紅藻類・灰色藻類・クリプト藻類・渦鞭毛藻類・黄金色藻類・珪藻類・褐藻類・黄緑藻類・ハプト藻類・ラフィド藻類 (緑色鞭藻類)・クロララクニオン藻類・ミドリムシ藻類・プラシノ藻類・緑藻類・車軸藻類などがあり、藍藻類 (藍色植物) と原核緑藻類は原核生物に、他の藻類は原生生物に分類されることがあるとされている。また、「藻類」という呼称は光合成を行うという共通点を持つだけの多様な分類群の総称であり、それ以上の意味を持たないとされている。

また、高校の生物で扱われる藻類のとしては、カルビン・ベンソン回路の発見に繋がった生物としての緑藻類のクロレラや、顕微鏡観察の試料のほか、進化の教材としてボルボックスも有名である。また、生物基礎の原核生物の例としてはシアノバクテリア (ラン藻類) のイシクラゲやアオコ (*Microcystis*) もよく知られている。

その他、ケイ酸質の殻をもつケイ藻類のほか、原生生物に属するミドリムシ (*Euglena*) も教材生物として有名である。

これら藻類の入手、培養、教材化について述べてみたい。

2. 藻類の入手

(1) 野外からの採取

藻類の採取には採水法 (湖沼水から直接水中に存在している藻類を採取する方法) と、プランクトンネット法 (湖沼にプランクトンネットを投げ入れて採取する方法) があるほか、河川等の付着藻類では剥離法 (河床の岩や石に付着して

いる藻類を剥がしとって採取する方法) などがある。

①採水法

バンドーン採水器やバケツにより湖沼や河川から直接水を採取する方法である。

採水自体は簡単であるが、採水地点の選定に注意する必要がある。

河川や湖沼の代表地点の採水とは、河川では、河川断面の単位面積について最も流量が大きい部分(最も水深があり一番流れの速い部分)「流心部」で、また、湖沼では湖沼の中で最も深い地点である湖心部で行うのが原則である(図1, 図2)。

試水はポリエチレンビン等に入れ、直射日光が当たらないように遮光をし、速やかに実験室に持ち帰り、実験観察を行ったり、或いは培養する。



図1 河川での採水地点

(国土交通省四国整備局 採水・採泥マニュアルより)

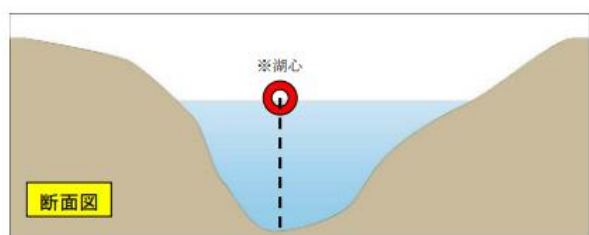


図2 湖沼での採水地点

(国土交通省四国整備局 採水・採泥マニュアルより)

②プランクトンネット法

プランクトンネットを用いて、湖沼水を濾過して藻類を採取する方法である。

プランクトンネットには、開口部の大きさ(口径)や目合いについてあらゆるものがあるが、藻

類(植物プランクトンなど)はサイズが数マイクロメートル程度の小さなものが多数存在するため、小さな藻類を採取することは出来ないので注意が必要である(図3)。

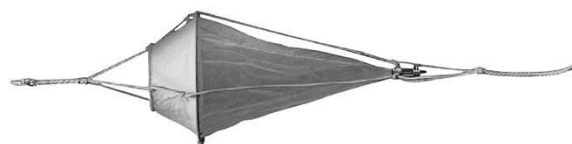


図3 プランクトンネット

(株式会社三商 総合カタログ 2024 より)

湖沼中の藻類(湖沼のような静水中においては、藻類は浮遊して生活することが多いため、植物プランクトンと呼ばれる)はサイズ毎に呼称がつけられている。

直径 $2\mu\text{m}$ 以下のものを picoplankton (ピコプランクトン), 直径 $2\sim 20\mu\text{m}$ のものを nanoplankton (ナノプランクトン), $20\sim 200\mu\text{m}$ のものを microplankton (マイクロプランクトン), $200\mu\text{m}$ 以上のものを mesoplankton (メソプランクトン) と称し、区分される。

学校の実験観察でしばしば用いられるボルボックスなどはメソプランクトン、クロレラなどはピコプランクトンに属する。

③剥離法

主に河床の付着藻類の採取に使われる方法で、河床の岩や河川堤防などに付着して生息する藻類を剥がし取る方法である。

具体的には、藻類の付着した岩などに $5\text{cm}\times 5\text{cm}$ 程度の正方形の穴を空けたゴムシートを当てて、その穴の部分に歯ブラシなどで水をかけながらこすって剥がし落として、採取する(図4)。

採取した藻類はポリエチレン便などに入れて速やかに持ち帰るが、剥がし取った付着藻類の密度はかなり高いので、水で希釈して持ち帰る必要がある。

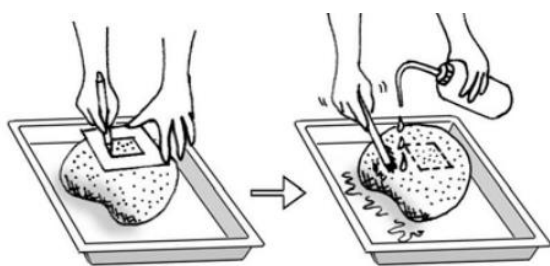


図4 付着藻類の剥離法

(河川水辺の国勢調査マニュアル-参考資料-より)

(2) 研究機関、業者等からの入手

① 研究機関等からの入手

大学や研究所によって無償、有償による藻類の配布を行っているところもあるので、それを利用する方法がある。

例えば、国立環境研究所の微生物系統保存施設では、研究・教育目的での使用に関しては無償で提供も行っている。

微生物保存施設の URL は次のとおりである。

<https://mcc.nies.go.jp/index.html>

その他、都道府県の教育センター等でも入手可能な場合があるので、問合せをしてみるとよい。

② 業者からの購入

理化学業者（例えば株式会社ケニスなど）も、教材目的に販売している。理化学カタログや学校出入りの業者に問い合わせるとよい。

その他、店頭あるいはネットの熱帯魚ショップにおいても飼料用として比較的安価で販売しているが、単一種ではなく目的外の藻類もコンタミネーションしているので注意が必要である。

2. 藻類の固定と保存および観察

(1) 検鏡用の固定と保存

藻類試料の固定にはルゴール液を用いるのがよい。ルゴール液を固定に用いると藻類細胞内にヨウ素が取り込まれて沈殿しやすくなるため、検鏡用に濃縮するには都合がよい。また、着色して検鏡しにくい場合は、3%チオ硫酸ナトリウム（ハイポ）を少量加えることによりヨウ素の色が抜けて透明になるので、藻類細胞の細部の観察にも都合がよい。

暗所若しくは冷蔵庫で保管することにより数

年間の保存が可能である。

ホルムアルデヒド水溶液（ホルマリン）での固定は、室温で長期間の保存が可能のため古くから用いられてきた。

藻類種や試料の量によって異なるが、ホルムアルデヒドの濃度が0.4~5%程度になるように固定する。

ここで注意しなければならないのは、市販のホルムアルデヒド溶液は37~40%であるので、希釈の際の濃度計算には注意する必要がある。

教員向けの実験書などを見ていると、市販のホルムアルデヒド溶液を100%と勘違いして、濃度計算をして“50%ホルマリン”などと、ありえない濃度の記載があるので注意が必要である。

また、ホルムアルデヒドは発癌性が疑われる物質であるので、学校においては使用すべきで無い。

アルコール保存は、市販の99%エタノールで藻類の水を置換するものである。検鏡用というよりか近年簡単に行えるようになった遺伝子解析や環境DNA用の試料の固定に用いられている。

欠点としては、エタノールは藻類のクロロフィル色素を脱色してしまうため、検鏡用の固定にはあまり適さないが、学校教育の場においては児童・生徒ならびに教員の安全確保の観点から、ホルムアルデヒド固定に代わるものとして使うことが増えている。

(2) 藻類試料の濃縮方法

天然水から藻類を採水法により採取する場合は、きれいな水（貧栄養の水）の場合は、藻類濃度が低いので、検鏡のほか生化学・生理学的な実験等には使うのが難しい。そこで、藻類試料の濃縮が必要となる。

一般的には重力沈殿による濃縮方法が用いられる。これには、静置沈殿法という、藻類をメスシリンダーなどに入れて、しばらく放置し、上澄みをサイホンやメスピペットで吸引して捨てることにより、底部に濃縮したものを貯めて利用する方法がある。

また、重力沈殿では沈殿時間がかかるため、遠心分離器により沈殿させる遠心沈殿法もしばしば使われる。

これ以外に、プランクトンネットを用いて、濾

過を行い、プランクトンネット上に残った藻類試料を利用する方法もある。

この場合、プランクトンネットの目のサイズ（メッシュサイズ）を変えることにより、大きさにより藻類を分離濃縮することもできる。

(3) 藻類細胞の観察と定量

緑藻類などは小型の藻類が多く、検鏡による種の同定は難しい。しかしながら高校の生物実験においては、検鏡用の試料としては同定を目的とするのでは無く、予め種の分かっている藻類の形態を観察することや藻類の量や活性の違いによる生理・生態に関する実験を目的とする場合が主である。

① 計数板の利用

藻類量を測定する簡単な方法として計数板を使う方法がある。

計数板には色々な種類があるが、研究用のものは比較的高価で学校の実験観察には向かない。

そこで、安価なプラスチック製計数板を利用するのが実際的である。

検鏡用スライドガラスのメーカーから、プランクトン計数板が販売されているので、これを利用すると安価であり、検鏡も容易である。

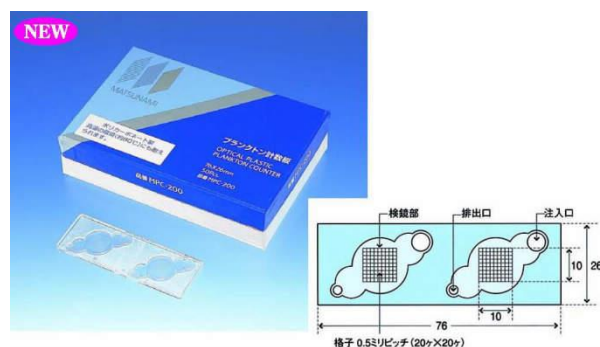


図5 プランクトン計数板（松浪ガラス社）
（株式会社三商 総合カタログ 2024 より）

② コロニー（群体）の計数

緑藻類のボルボックスの仲間は高校の生物実験において、進化とも関連して検鏡用の試料としてよく使われている。

ボルボックスのほかイカダモや、シアノバクテリアのミクロキスティスもコロニーを作って生活をしている。これらの藻類については、細胞

数の計数ではなく、コロニー数の計数を行うことが一般的である。どうしても細胞数が必要なときは、コロニーあたりの細胞数を文献等で調べて、それに、実際に観察したコロニー数をかけて細胞数を算出するとよい。

③ 生物量

藻類の生物量を重量、炭素量、窒素量、リン量で表すことがある。

その際、藻類の形状を近似的に球、回転楕円体、円筒、円錐として、藻類の細胞数と種類による平均的な大きさ（長径）から体積を算出し、その体積に藻類の密度（通常は水とほぼ同じ $1\text{g}/\text{cm}^3$ ）をかけて、重量と算出することが行われている。

さらに、藻類の炭素、窒素、リンの平均的な組成割合などを重量にかけて算出することも行われているが、この方法は仮定が多く、正確な値とは言えない。教育目的で使用する場合は、その誤差を含めた値であることを承知した上で使う必要がある。

通常は、藻類の光合成色素をアセトン（安全性のためにエタノールを使うことが多い）で抽出し、その抽出液中に含まれるクロロフィル色素を定量し、その値で比較検討したり、また、クロロフィル量と炭素量との量的関係から藻類の炭素量を算出したりする。

また、藻類をろ紙上に集めて高温で燃焼させてガス化を行いCHN元素分析計（CHNコーダー）で定量したり、また、酸化剤を用いて科学的に酸化分解し、比色定量で求める方法もある。

3. 藻類の単離と保存のための培養

(1) 藻類の単離

天然水から採取した藻類は、多種多様な藻類のほか細菌類、動物プランクトンなどいろいろな生物が混在している。

単に、水中の藻類の観察であれば、天然水を採取し、それを沈澱法や濾過法によって濃縮して検鏡すればよいが、水中の藻類を含む微生物群集の代謝速度は非常に速いため、数日で遷移したり、場合によっては死滅したりする。

そこで、目的の藻類のみを単離・培養し、保存することにより、いつでも藻類を利用することが可能となる。

①ピペット洗浄法

天然水中から採取した微生物群集を顕微鏡下で観察し、目的の藻類をキャピラリー（パスツールピペット）で吸い取る方法である。

通常の駒込めピペットでは、ピペット先端が大きすぎるのでパスツールピペットを自作するか購入するかして利用する。

少し値段が高くなるが、10～50 μL 程度のマクロピペットを利用する方法もある（図 6）。



図 6 ギルソンピペッタン
（㈱アズワン研究用総合カタログ 2023 より）

原理は簡単であるが、顕微鏡下の繊細な作業であるため、実際にこの方法で単離をするにはかなりの熟練を要する。

②寒天プレート法

栄養塩を含む 1.5% 程度の寒天培地に天然水を直接まいて培養し、寒天プレート上で増殖してきた藻類を白金耳や柄付き針で単離する。

ただし、寒天上で増殖が可能な種類は限られるため、この方法が使えない藻類もある。

場合によっては、目的とする藻類種に合わせて栄養塩の組成や濃度を変えたり、また、抗生物質を加えたりして、目的外の微生物の増殖を抑えることもある。

寒天プレートは藻類の分離に用いるほか、単離した藻類の保存に用いることが多い。

この応用として、試験管と寒天培地を用いた傾斜寒天培地による、藻類の保存がある（図 7）。



図 7 傾斜寒天培地の作製

試験管を用いることにより、場所を取らず多くの藻類の保存が可能となる。

寒天培地上では、液体培地と異なり寒天培地表面でしか藻類は増殖できないので、保存したい藻類を寒天培地で培養すると、ある程度増殖した時点で増殖が停止し、その後は成長がほぼ停止する（図 8）。



図 8 傾斜寒天培地上の *Chlorella*

この状態で、低温下の弱光の下に置くと長期間の保存が可能となる。増殖させたいときは、寒天表面上の藻類を白金耳や柄付き針で採取し、それを液体合成培地に植えついで、十分な光と適切な温度の下で培養し、さらに、大量に増やしたい時には、培養容器に実験用の二酸化炭素ボンベから CO_2 ガスを吹き込むとよい。

③希釈培養法

単離したい藻類のサイズが小さくてピペット法で吸い取るのが難しい場合や、藻類の密度が低い場合は、天然水に栄養塩を加えて培養しながら単離する方法である。これは、希釈培養法や粗培養法と呼ばれる。

希釈培養法では、10 倍、100 倍、1000 倍段階的に希釈し、これを複数用意して確率論的な培養を行って単離する（図 9）。

試験管を用いて希釈培養を行ってもよいが、膨大な量の試験管が必要となるため、24 穴の培養プレートを用いると場所を取らずに作業ができるので便利である。

このあたりの操作は、バイオ関係のプラスチック容器を含む製品に利用できるものが多いので、製品カタログなどを探すと便利なものが見つかる。

希釈培養法も、手間のかかる方法で失敗する場合が多い。熟練を要する方法である。

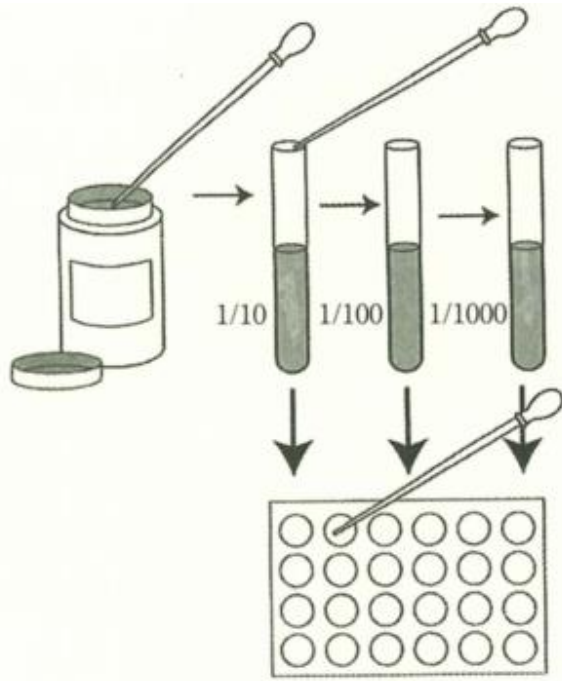


図9 希釈培養法

(鏡味麻衣子：植物プランクトン研究法より)

(2) 継代培養

単離した藻類は遷移を起こさないため、新しい培地で培養を続けることにより長期間維持することが出来、これを継代培養という。

継代培養は、培養を続けることにより培地中の栄養塩類が枯渇するほか、藻類の代謝産物により藻類の増殖が停止したり、藻類が死滅したりするため、藻類種や培養濃度によっても異なるが、通常は1週間から1ヶ月に1回程度の割合で植え継ぎを行う。

長期間の維持には、温度や光を一定にするほかコンタミネーションに注意しなければならない。

理想的には、光源を内蔵したインキュベーター(定温培養装置)内で培養するが、学校においては直射日光の当たらない窓際に置いても構わない。ただし、藻類は高温には弱いので、閉めきった実験室に置く場合は、夏季休業中などは実験室内の高温対策をする必要がある。

コンタミネーションは一度起こしてしまうと、再び単離するのは難しい。

コンタミネーションを防ぐには器具類の滅菌

が重要であるが、コンタミネーションを避ける方法としては、可能な限り器具を使わずに植え継ぎを行うことである。

(3) 無菌操作

藻類の継代培養を行う際や保存株を管理する上で無菌操作(或いはこれに類する操作)は必要である。

純粋な藻類(バクテリアフリーの藻類)の場合は、細菌類の混入を避けるためにクリーンベンチ内での操作が必須である。

しかしながら、通常の実験・観察に用いる藻類は単一株ではあるが細菌類は混入している(プランクトンピュアーの藻類である)ため、クリーンベンチが無くても、藻類のコンタミネーションに気をつければ大丈夫である。

また、藻類の多くは光独立栄養(光合成が可能)であるため、無機塩類や微量元素、ビタミンなどから成る有機物を含まない合成培地で培養することにより、従属栄養の原生動物や動物プランクトンのコンタミネーションによる増殖を回避することができる。

4. 藻類の培養

藻類の生理的な実験を行う場合には、単一種の藻類を事前に培養する必要がある。また、学校等において、検鏡観察する場合も生徒の人数分の藻類試料を準備しなければならず、単離や購入等で入手した藻類を増やす必要がある。

そのため、一定温度、光条件を整えて栄養塩と二酸化炭素を与えて増やす、培養が必須となる。

(1) バッチ培養

バッチ培養は、藻類培養の基本である。合成培地に藻類を接種してさせるものであり、増殖した藻類がフラスコ等の底面に沈んでしまうことがあるため、定期的に振とうや通気をすることがある。

バッチ培養は、培地を追加しないために、藻類の増殖に伴い、栄養塩類が枯渇して最終的に死滅するほか、藻類密度の増加に伴う被陰効果で光透過率が低下したり、排出物の蓄積による藻類の増殖の抑制がはたらく。

藻類の時間的な増殖は、遅滞期(lag phase)、指数増殖期(exponential phase)、定常期(stationary phase)、減衰期(decline phase)の4つに分けられるので、効率よく大量培養するには、定常期に入ると直ぐに大きな容器に植え継ぎを行うとよい(図10, 図11)。



図10 *Chlorella*のバッチ培養



図11 *Chlorella*の大量培養

(2) セミバッチ培養

培養の途中で、一定量の培地を入れ替える方法をセミバッチ培養(semi batch culture)という。通常は数日おきの頻度で培地の半分程度を入れ替える。

生理的に良い状態での藻類の保存・培養ができるが、メンテナンスが面倒という欠点がある。

(3) ケモスタット

ケモスタット(chemostat)とは連続培養ことで、定量ポンプやタイマーを用いて新しい培地を培養容器に定期的を送り込み、それと同量の

培地を捨てるものである。

培地の供給と放出をうまく調整すると、培養容器内の藻類細胞密度は一定になり、良い状態で連続的に培養することができるが、装置の購入や製作に時間や金銭がかかるのが欠点である。

5. 藻類の培地

藻類培地は、合成培地と強化培地に大きく分けられる。

多くの淡水産藻類や海産藻類は合成培地で培養できるが、一部の藻類は強化培地でないと培養できないものもある。培地成分の問題のほか、細菌類との共生関係が無いと生育できない藻類もあると考えられている。

(1) 強化培地

藻類を採取した水域の水を採水し、その試水をワットマン社のGF/Cグラスファイバーフィルターでろ過して懸濁物を取り除く。

このろ液に、合成培地で紹介する窒素、リンなどの栄養塩類、微量元素、ビタミンなどを加えてオートクレーブ滅菌、または0.2 μm程度の孔径のニトロセルロースメンブレンフィルターで濾過滅菌して用いる。

(2) 合成培地

藻類の生育に必要な栄養分を、蒸留水に人工的に添加し、滅菌したものである。

藻類種により必要な栄養分は異なるために、藻類に応じた合成培地が多数考案されているので、培養したい藻類用の合成培地を使用するのが望ましいが、試薬の調整が面倒である。

藻類の培養には、窒素とリンが必須であるが、ケイ藻類では殻を作る必要からケイ酸塩を培地に添加する必要がある。

また、ユーグレナのような光合成を行う原生生物の場合は、光を与えて無機培地で培養することもできるし、また、ペプトンやイーストエクストラクトなどの有機物を与えて従属栄養的に培養することも可能である。

海産の藻類(大型の海藻も含む)の場合は、蒸留水の代わりに濾過した海水や人工海水を用いたり、また、塩化ナトリウムなどの塩を加えて培地を作製する場合もある。

利用範囲が広く、教育・研究分野で広く用いられている緑藻類用のC培地の作成方法について、説明を行う。

C培地は表1、表2の栄養塩、ビタミン、金属、緩衝液からなる緑藻類用の完全培地である。

表1 C培地

Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	15 mg
KNO ₃	10 mg
β-Na ₂ glycerophosphate · 5H ₂ O	5 mg
MgSO ₄ · 7H ₂ O	4 mg
Vitamin B ₁₂	0.01 µg
Biotin	0.01 µg
Thiamine HCl	1 µg
PIV metals 1	0.3 mL
Tris (hydroxymethyl) aminomethane	50 mg
Distilled water	99.7 mL

表2 C培地に入れる PIVmetals

Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	100 mg
FeCl ₃ · 6H ₂ O	19.6 mg
MnCl ₂ · 4H ₂ O	3.6 mg
ZnCl ₂ ¹⁾	1.04 mg
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.4 mg
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.25 mg
Distilled water	100 mL

(MICROBIAL CULTURE COLLECTION National Institute for Environmental Studies より)

このC培地(培養液)を毎回調整するのは、試薬の秤量が大変なので、通常はストック用の溶液を作製し、使用時にはそれを希釈して用いる。

多栄養素(硝酸カルシウム、硝酸カリウム、グリセロリン酸ナトリウム、硫酸マグネシウム)については、1000倍量の溶液を作製してストック溶液とする。培地作成時にストック液を1,000倍希釈(便宜的に蒸留水1Lに対してストック溶液をそれぞれ1mLずつ入れて希釈)して用いる。

ビタミン類(シアノコバラミン、ビオチン、サイアミン)については、微量であるため1,000倍程度の溶液であっても希薄溶液であり、不安定で分解する可能性があるため、100万倍程度の溶液を作製してストックとする。培地調整時に、ストック溶液を1,000倍に希釈したものをプレス

ストック液とし、これをさらに1,000倍に希釈して用いる。2段階希釈する。

表2のPIV金属溶液の金属類(塩化第2鉄、塩化マンガン、塩化亜鉛、塩化コバルト、モリブデン酸ナトリウム)に関しては、それぞれを秤量し、さらにEDTAを100mLの蒸留水に加えてキレート剤(錯体)としてストック溶液を作製する。培地作成時にはPIV金属溶液を、培地1Lに対して3mL添加する。

また、pH緩衝剤としてトリスヒドロキシルアミノメタンの1,000倍量溶液を作製しておき、培地作成時に1,000倍に希釈(便宜的に蒸留水1Lに対してストック溶液をそれぞれ1mLずつ入れて希釈)して用いる。



図12 ストック溶液

培地作成後にpHメーターで合成培地のpHを測定し、0.1Nの塩酸溶液でpHを7.5に調整する。

作製した培地には雑菌や空気中の落下細菌、藻類の休眠胞子などが入り込んでいる可能性があるため、オートクレーブを用いて高圧蒸気滅菌を行ってから使用する。

ただし、オートクレーブ滅菌を行うとビタミン類の多くは分解する可能性があるため、メンブレンフィルターで濾過滅菌したプレストックビタミン溶液をオートクレーブ滅菌の後に加える方が望ましい。

ユーグレナなどの原生生物の場合は、暗所で有機物を添加した培地で培養する方法もある(表3)。

この場合、暗所で培養するため、緑藻類などのコンタミがあってもユーグレナ以外の藻類は増殖できないが、滅菌が不十分であったり、入手したユーグレナに細菌類が混入していると、培地が腐敗して培養が失敗する可能性もある。

表3 PYG 培地 (原生動物用 Euglena 用)

Proteose Peptone	0.15 g
Yeast extract	0.1 g
Glucose	0.5 g
Distilled water	100 mL

(MICROBIAL CULTURE COLLECTION National Institute for Environmental Studies より)

また、ケイ藻類を培養する場合はケイ藻用の培地もあるが、C培地にケイ酸ナトリウム (5g/1,000mL) のストック溶液を作製し、これを培地 1L に対して 1mL 入れるとよい。

(3) 簡易培地

合成培地の作製が困難である場合や面倒な場合は、簡易培地で培養することも可能である。

藻類の生理生態と合成培地の組成が分かれば、簡易培地の作製は簡単である。

藻類の培養には窒素、リンなどの栄養塩類、金属、ビタミンが必要である。

そこで、栄養塩類については市販の植物栽培用の複合肥料を利用するとよい。また、微量金属については、培地に用いる水を蒸留水ではなく、市販のミネラルウォーターを用いると滅菌もされており適度な微量金属も溶け込んでいる。

ビタミンについては、市販の栄養ドリンクは多様なビタミン類が含まれているので、これを利用するとよい。

我々が学生実習用に利用している簡易培地は次のとおりである。

C培地の多栄養素のみを使用し、微量金属を入れる代わりに、市販の国産ミネラルウォーター (軟水) を蒸留水の代わりに用いる。ビタミン類の代わりに、市販の栄養ドリンクを 0.1mL 添加する。

pHを安定化させるための緩衝液の代わりに、よく焼いたチョークの破片入れる。

完全合成培地と同様とまでは行かないが、か

なりの培養はうまく行っている。

これをさらに簡単にしたものとして、市販の国産ミネラルウォーター (軟水) の 2L ペットボトルに、ハイポネクス溶液 2mL を入れ、そこに、市販の栄養ドリンクを 0.1mL 添加する。最後に沸騰石を少量加える。

検鏡用に培養するだけであれば、これで十分に培養ができる。

6. まとめ

藻類は植物の栽培と同じ考えで、十分な栄養と光、適切な温度で培養すると簡単に増やすことができる。また、忘れてはならないのが、藻類の増殖にとって必要な炭素源である。大気中の二酸化炭素濃度は人間活動によって 400ppm まで増加したと言われるが、藻類の大量培養時には不足する。大量培養するには二酸化炭素の供給が必要なため、実験用の二酸化炭素ガスボンベなども用意するよい。

また、コンタミネーションの問題回避策としては滅菌が重要であるが、学校においては滅菌やクリーンベンチの使用が難しい場合がある。

その場合は、可能な限り、培養時には器具を使わないことで回避できることが多い。

藻類の教材化についても、植物の栽培と同じ考え方や、微細で水中に大量に存在するという特徴を活かすと、化学実験のように、均一条件下での実験も可能であるので、多種多様な教材化ができる。

7. 謝辞

藻類の教材化に関する研究と研修は、2022 年度河川基金助成 (助成番号 2022-6111-007) 研究題目「5,000 人の児童・生徒による大阪の河川環境調査とその評価」、並びに、2023 年度河川基金助成 (助成番号 2023-6111-006) 研究題目「淀川・大和川を見る・観る・診るプロジェクト」の支援を受けて実施いたしました。

公益財団法人河川財団様のご支援に心から感謝いたします。

8. 引用・参考文献

- ・国立環境研究所微生物系統保存施設 HP (2023) : 培地リスト, https://mcc.nies.go.jp/medium/ja/media_web_j.html 2023. 10. 26
- ・巖佐庸ほか(2013) : 岩波生物学辞典第 5 版, 岩波書店.
- ・国土交通省四国整備局河川部河川管理課 (2015) : 採水・採泥マニュアル(案)
- ・株式会社三商(2024) : 総合カタログ 2024.
- ・河川水辺の国勢調査マニュアル検討会(2006) : 河川水辺の国勢調査マニュアル-参考資料-
- ・アズワン株式会社(2023) : ASONE 研究用総合カタログ 2023.
- ・鏡味麻衣子(2021) : 植物プランクトン研究法, 共立出版.
- ・西條八束, 三田村緒佐武(2016) : 新編 湖沼調査法 第 2 版, 講談社サイエンティフィック.
- ・橋 淳治(2004) : 「水質評価指標および閉鎖系水域の水質浄化を主題とした環境教育プログラムの開発」, 平成 15~16 年度日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究 (C) (2) 課題番号 15500606, 報告書.
- ・橋 淳治(2005) : 「教育センター及び高校・大学・NPO 連携による環境安全に配慮した実験法の開発と研修」, 平成 16~17 年度文部科学省科学研究費補助金特定領域研究 (2) 課題番号 16034203, 報告書.
- ・橋 淳治(2007) : 「学校の環境教育における定量化実験法の開発と現職教員への研修」, 平成 18~19 年度日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究 (C) 課題番号 18500695, 報告書.
- ・橋 淳治(2011) : 「廃棄物原点処理に基づく系統的水環境学習の実験教材開発と教員研修」, 平成 21~23 年度日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究 (C) 課題番号 21500893, 中間報告書.
- ・橋 淳治(2021) : 「廃棄物原点処理による大学初年次化学系水環境基礎実験プログラムの構築と教材開発」, 令和 2 年度~令和 4 年度日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究 (C) 課題番号 20K03285, 報告書.
- ・橋 淳治, 小山久子, 三浦靖弘, 寺岡正裕(2014) : 地域教材としての河川を題材とした環境教育プログラムの実践, 河川基金助成報告書 26-4111-003, 公益財団法人河川財団.
- ・橋 淳治, 小山久子, 三浦靖弘, 寺岡正裕(2015) : 都市型ダムにおける水質浄化機構とその環境・防災教育プログラムの策定, 河川基金助成報告書 27-4231-010, 公益財団法人河川財団.
- ・橋 淳治, 小山久子, 三浦靖弘, 寺岡正裕(2016) : 我が町の里池「狭山池ダム」を科学するー児童一人ひとりがもつ環境のものさしー, 河川基金助成報告書 28-7221-001, 公益財団法人河川財団.
- ・橋 淳治, 加藤武志, 三浦靖弘, 寺岡正裕(2018) : 狭山池ダムを核とした学校と地域との絆プロジェクト, 河川基金助成報告書 2017-7221-001, 公益財団法人河川財団.
- ・橋 淳治, 加藤武志, 三浦靖弘, 寺岡正裕(2019) : 大阪の河川でつながる小・中・高等学校の絆プロジェクト, 河川基金助成報告書 2018-7221-001, 公益財団法人河川財団.
- ・橋 淳治, 加藤武志, 三浦靖弘, 寺岡正裕(2020) : 小中高大の接続教育を意図した大阪の河川・水環境プログラムの作成, 河川基金助成報告書 2019-7221-002, 公益財団法人河川財団.
- ・橋 淳治, 寺岡正裕, 三浦靖弘(2019) : 小・中・高等学校の縦の連携による大阪府内の河川水環境調査事業, 河川基金助成報告書 2018-6111-017, 公益財団法人河川財団.
- ・橋 淳治, 寺岡正裕, 三浦靖弘(2020) : 小中高大の連携による大阪府内の河川水質環境調査マップ作成事業, 河川基金助成報告書 2019-6111-022, 公益財団法人河川財団.
- ・橋 淳治, 柴原信彦, 寺岡正裕, 三浦靖弘(2021) : 高大接続および地域連携による河川水質環境マップ作成と学校間ネットワークの構築事業, 河川基金助成報告書 2020-6111-015, 公益財団法人河川財団.
- ・橋 淳治, 柴原信彦, 寺岡正裕, 三浦靖弘(2022) : 河川環境保全とアメニティー・防災教育に関する学校間ネットワーク構築事業, 河川基金助成報告書 2021-6111-010, 公益財団法人河川財団.



河川 公益財団法人河川財団による
基金 河川基金の助成を受けています。

9. 研修報告

「藻類の培養と教材化」についての研修は2023年12月15日（金）の15時～17時に、泉陽高校生物実験室にて開催いたしました。

開催に先立ち、副会長 中村哲也 研修会の挨拶、続いて、会長 柴原信彦 より生研大阪の活動、日生教大阪大会のお礼、研究会への参加について挨拶に続きお話がありました。



中村哲也 副会長の開催挨拶



柴原信彦 会長による挨拶と研究会へのお誘い

研修については、今宮工科高校の三浦靖弘氏より、藻類の具体的な入手方法、自校での生徒による藻類培養、単離、教材化の紹介がありました。

入手については、天然水中の藻類からの単離のほか、公的機関、業者からの入手について詳しい説明がありました。特に、国立研究開発法人国立環境研究所微生物系統保存施設（NIES コレクション）では、学校教育法に挙げられている学校

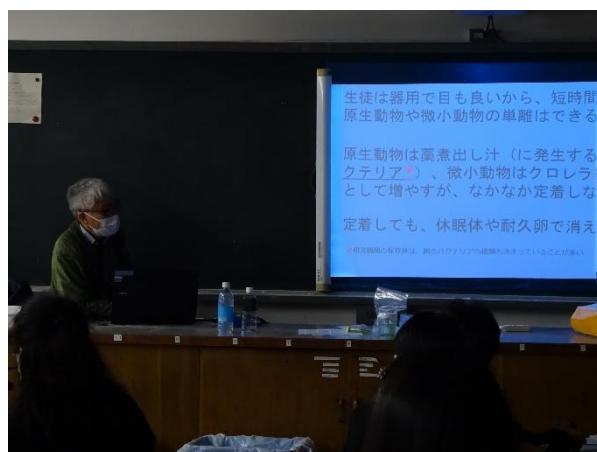
教育法の第一条（幼稚園、小学校、中学校、義務教育学校、高等学校、中等教育学校、特別支援学校、大学及び高等専門学校）においては、教育目的では、無償で系統のはっきりした藻類をはじめとする生物の入手ができるという、貴重な情報を頂きました。



三浦靖弘氏による藻類の入手についての講義

また、藻類の単離は専門書等では難しいと書かれているが、研究施設においても実務は実験助手（Technician）が行っており、手先の器用な生徒に2～3時間練習をさせると、“簡単に”単離ができるとの話でした。

是非、研修に参加頂いた方には、難しくらずに挑戦してくださいとのことでした。



三浦靖弘氏による藻類の単離についての講義

研修の後半は、神戸学院大の橘 淳治が、藻類培養全般についての話と演示実験を行いました。

研修の詳細は、この報告の前半に詳しく記載しているのので、そちらをご覧くださいければ有難いです。

藻類の培養に関しても、高校の生物で扱うことのある“クロレラ (*Chlorella*)”やミドリムシ (*Euglena*) は、陸上植物で言えば雑草のような、生活力旺盛な生物なので、ヒトの成長と同じく栄養を充分にとれば簡単に培養できると話しました。

藻類の増殖は、栄養「窒素、リン、炭素、(ケイ素)、ミネラル、ビタミンおよび微量元素)を与え、適度の温度と光さえあれば、簡単に起こります。

この考えで、研究機関で用いられている完全合成培地を簡略化させた培地を用いて、取りあえずは学校で藻類の培養に挑戦されたら、年度始めの顕微鏡観察実験等で、生徒に教材生物を見せるのに役立つと考えます。

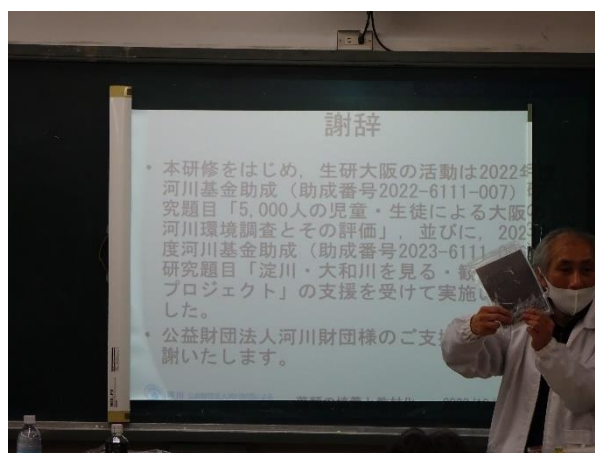


橘 淳治による藻類培養の演示

また、一般の学校における実験・観察の推奨については、整備された実験室、高価な機器類、十分な消耗品費が無くても、理化学品の代用となる民生品の利用のほか、原理が分かっておればちょっとしたアイデアで研究的なことができること、外部資金の調達についても話を致しました。

生研大阪の実験研修ほか、河川教育や大阪府内の河川調査についても公益財団法人河川財団の支援を受けているように、“学校の教員しか申請出来ない”公的資金の確保も一つの方法であ

ることも情報としてお伝えしました。



橘 淳治による学校の実験に関する情報提供

<研修参加者からの質疑応答について>

Q. 藻類保存用の傾斜寒天培地の寒天濃度についてと保存期間は？

A. 寒天濃度は 0.5%程度と言われているが、植え継ぎ作業を考えるともう少し濃度を上げて硬くする方がいいが、あまり気にしなくても良い。

Q. ボルボックスも寒天培地で培養できるのか？

A. 可能であるが、藻類は寒天表面からしか栄養分の補給ができないので、非常に小さな群体にしかない。

Q. ミドリムシは寒天培地で保存できるのか？

A. 通常の保存は有機物を含んだ寒天培地で行っている。合成培地でも光を当てることによりクロレラと同じくできる。

Q. 鹿沼土や畑の土などで培養しているが、うまく行くときとうまく行かないときがある。

A. 土壌に含まれている栄養塩類の量と質のほか、金属をキレート化する腐植質の量なども、使う土壌により差が大きいので、安定化しない。うまく行った土を保存して、その土で毎回培地を作るか、土壌で作った培地に合成培地を添加して強化培地にするとうまく行くと思う。

今回は、新しい先生方が多く参加されました。これを機会に、生研大阪に入って頂き、一緒に教材開発ができればと、係一同が思っております。皆様の参加をお待ちしております。