

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

## (公財)河川財団河川基金助成による 第2回実験研修会

大阪府高等学校生物教育研究会  
橋 淳治・三浦靖弘  
寺岡正裕・橋 孝

1

 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。

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

## 藻類の一次生産とその教材化 —AGP（藻類生産潜在力）試験—

橋 淳治(神戸学院大)・三浦靖弘(今宮工科高校)  
寺岡正裕(日教弘大阪)・橋 孝(府中高校)

2

 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。

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

## はじめに

高校生物の生命現象と物質の代謝の単元において同化と異化が扱われている。同化の代表例として、光合成が挙げられ光合成の代謝経路やその発見の歴史、光合成に関する実験などの学習をしている。

高校の光合成（一次生産）の実験に関しては、定性的に行えるものは多いが、定量的に行える物は限られている。

 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。 河川財団助成実験研修会 2025/10/27 3

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

光合成は光エネルギーを用いて、水と二酸化炭素から有機物を合成するものであり、その定量実験の多くは、有機物生産量を求めるのではなく、光合成に必要な二酸化炭素の消費量、あるいは、水素供与体の水から生じた酸素の放出量を量るものである。

本実験研修会では、光合成の様々な実験を紹介すると共に、光合成の本来の意味（一次生産）である有機物生産量を定量する、AGP（Algal Growth Potential：藻類生産潜在力）試験に関する実習を行う。

 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。 河川財団助成実験研修会 2025/10/27 4

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

なお、AGP試験は、安価でかつ簡単に定量化が行える優れた試験であるが、培養を要するため、本研修では、培養操作の実習を中心とし、培養結果については次回の実験研修会で有機物（クロロフィルa）の定量操作を行う。今回は、予め培養を行った別の資料についての観察に留めますことをご了承下さい。

また、AGP試験の教材化についても触れたいと考えております。

 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。 河川財団助成実験研修会 2025/10/27 5

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

## AGP試験

AGP試験は、藻類の生産についての潜在力を最大限に引き出した時の藻類増殖量（乾燥重量mg/L）と定義することができる（国立公害研究所, 1981）。

試験方法の概要は、天然水を滅菌して試水中の生物を死滅させ、そこに特定の藻類（*Selenastrum*のほか*Microcystis*や*Anabaena*, *Scenedesmus*など）を接種する。

 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。 河川財団助成実験研修会 2025/10/27 6

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

20°C～25°Cで1,000～4,000Lux程度の一定の環境下で藻類が定常期に達するまで1～2週間培養し、その増殖量を乾燥重量(mg/L)で表した値である。

- この藻類の最大増殖量を定量することにより、水域の富栄養化の度合いを知ることができます。

 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。 河川財団助成実験研修会 2025/10/27 7

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

## 藻類生産潜在力試験(簡易法)

【藻類種】

- Selenastrum capricornutum* Prints  
緑藻類 (標準種)
- Microcystis aeruginosa* Kutz  
藍藻類 (準標準種)
- Anabaena flos-aquae* De Bresson  
藍藻類 (準標準種)
- Chlorella sp* 緑藻類
- Scenedesmus acuminatus* 緑藻綱

 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。 河川財団助成実験研修会 2025/10/27 8

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

## 前培養

C培地にて標準種(準標準種)を室温にて4000Lux程度で培養し、クロロフィルa現存量として50μg-chl. a/L程度(見た目が青汁ぐら)になるまで培養する。

 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。 河川財団助成実験研修会 2025/10/27 9

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

## 洗浄

AGP試験を行う際、前培養の藻類をそのまま接種すると、培地もAGP試験用の試水に混入する。そのため、前培養した藻類をメスシリンダー等に入れてしばらく静置し、藻類を沈殿させ、上澄みをできるだけ捨てる。そこに、滅菌湖水(滅菌水道水)を入れて攪拌し、その後、静置して上澄みを捨てる。

これで、培地の混入はある程度防ぐことができる。

 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。 河川財団助成実験研修会 2025/10/27 10

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

## 試水の処理

ろ過法、滅菌法、両者の組合せもあるが、簡便な滅菌法で行う。

200mLの三角フラスコ5個を用意し、100mLの試水をそれぞれの三角フラスコにいれ、アルミホイルでふたをして、オートクレーブ(無い場合は、蒸し器)で30分～60分程度、滅菌する。

 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。 河川財団助成実験研修会 2025/10/27 11

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

## 藻類の接種

1000～10000細胞/mL程度の藻類を接種するのが標準であるが、洗浄した藻類(青汁程度の色)であれば、1滴ずつ5個の滅菌試水の入った三角フラスコに入れる。

 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。 河川財団助成実験研修会 2025/10/27 12

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

## 培養

20°C～25°C程度、4000Lux程度にて1～2週間程度培養し、増殖が定常値になったときに培養を終了する。

 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。 河川財団助成実験研修会 2025/10/27 13

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

## 増殖率の測定法

コールターカウンター、検鏡による直接計数、濁度（660-750nmの吸光度）、クロロフィルa濃度を測定する。元々の試水に濁りのある可能性が考えられるので、クロロフィルa濃度を測定するのが簡便で、意味がある。

本研修では、増殖率の測定法として、クロロフィルaの測定を行う。

 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。 河川財団助成実験研修会 2025/10/27 14

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

## クロロフィル定量法

 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。 15

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

## 試薬

① 90%アセトン：  
900mL-アセトン / 1000mL D. W.  
または、N-N-ジメチルホルムアミド

今回は、市販の98%エタノールをそのまま用います。

 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。 河川財団助成実験研修会 2025/10/27 16

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

## 操作

試水0.5L～5Lをワットマン社製グラスファイバーフィルター(GF/F)で吸引濾過し、ろ紙を冷凍保存する（クロロフィルaとして5～10 μg-chl. a/L程度）。

↓

 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。 河川財団助成実験研修会 2025/10/27 17

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

ろ紙を90% N,N-ジメチルホルムアミド（または、アセトンかエタノール）を加えながら乳鉢ですりつぶし、全量を15mL程度にして遠沈管に入れ、上澄み液から濁りがなくなるまで遠心分離する（簡易的に抽出のみで行う方法あり）。

今回は、遠沈管にエタノールを10mL入れ、そこに、ろ紙を直接入れて10分程度放置する。

↓

 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。 河川財団助成実験研修会 2025/10/27 18

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

上澄み液を1~5cm長の分光光度計用のセルに入れ、630nm, 645nm, 663nm, 665nm, 750nmの波長にて吸光度を測定する（クロロフィル測定のため）。

↓

 河川 公益財團法人河川財團による  
基金 河川基金の助成を受けています。 河川財團助成実験研修会 2025/10/27 19

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

さらに、希塩酸を上澄み液5mL当り1滴の割合で加え、665nm, 750nmの波長にて吸光度を測定する（フェオフィチン測定のため）。※今回は、クロロフィルaのみを測定するので、省略します。

↓

 河川 公益財團法人河川財團による  
基金 河川基金の助成を受けています。 河川財團助成実験研修会 2025/10/27 20

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

## 吸光度からのクロロフィル算出

クロロフィルa ( $\mu\text{g/L}$ ) =  $(11.64E_{663} - 2.16E_{645} + 0.10E_{630}) \cdot v \cdot V^{-1} \cdot l^{-1}$   
 クロロフィルb ( $\mu\text{g/L}$ ) =  $(-3.94E_{663} + 20.97E_{645} - 3.66E_{630}) \cdot v \cdot V^{-1} \cdot l^{-1}$   
 クロロフィルc ( $\mu\text{g/L}$ ) =  $(-5.53E_{663} - 14.81E_{645} + 54.22E_{630}) \cdot v \cdot V^{-1} \cdot l^{-1}$   
 以上、 $S_{COR}$  / UNESCO 法  
 クロロフィルa\* ( $\mu\text{g/L}$ ) =  $26.7(E_{663} - E_{665a}) \cdot v \cdot V^{-1} \cdot l^{-1}$   
 フェオフィチンa\* ( $\mu\text{g/L}$ ) =  $26.7(1.7E_{665a} - E_{665}) \cdot v \cdot V^{-1} \cdot l^{-1}$   
 以上、Lorenzen 法  
 Eはその波長での吸光度から750nmの波長での吸光度を差引いたもの。また、 $E_{665a}$ は、希塩酸を加え同様にしたものの。vは上澄み液の体積 (mL)、Vは試水の濾過量 (L)、lは分光光度計のセルの長さ (cm)

 河川 公益財團法人河川財團による  
基金 河川基金の助成を受けています。 河川財團助成実験研修会 2025/10/27 21

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

## クロロフィルaのみ測定

クロロフィルa ( $\mu\text{g/L}$ )  
 $= (11.64E_{663} - 2.16E_{645} + 0.10E_{630}) \cdot v \cdot V^{-1} \cdot l^{-1}$

Eはその波長での吸光度から750nmの波長での吸光度を差引いたもの。  
 vは上澄み液の体積 (mL)、Vは試水の濾過量 (L)、lは分光光度計のセルの長さ (cm)

 河川 公益財團法人河川財團による  
基金 河川基金の助成を受けています。 河川財團助成実験研修会 2025/10/27 22

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

## 文献

$S_{COR}$  / UNESCO (1966): Determination of photosynthetic pigments in sea water.  
 IN, Monographs on oceanographic methodology, UNESCO publications center, New York, 69pp.

Lorenzen, C. J. (1968): Carbon / chlorophyll relationships in an upwelling area. Limnol. Oceanogr., 13, 202-204.

 河川 公益財團法人河川財團による  
基金 河川基金の助成を受けています。 河川財團助成実験研修会 2025/10/27 23

OSAKA BIOLOGY EDUCATION

## 教材化



 河川 公益財團法人河川財團による  
基金 河川基金の助成を受けています。 河川財團助成実験研修会 2025/10/27 24



