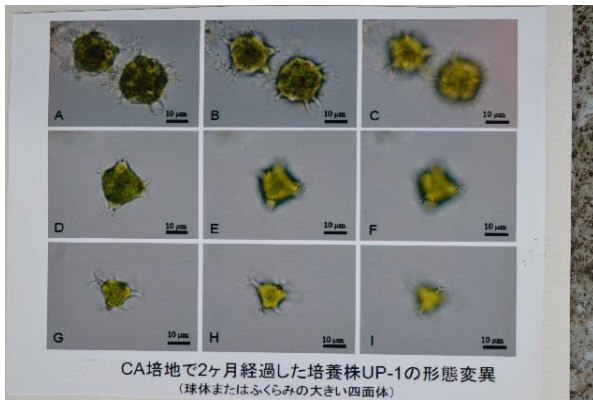

淡水産黄緑藻の*Pseudostaurastrum enorme* (Ralfs) Chodatのクローン培養



実施担当者 島根県立平田高等学校
教諭 須谷 昌之

1 : はじめに

淡水産黄緑藻の*Pseudostaurastrum enorme* (Ralfs) Chodatの培養株を、CA培地を用いて培養を行ったところ、培養の初期では球体であったものが暗所で保存し1年を経過したものでは、正四面体または中央でねじれた正四面体に変化することを島根大学教育学部大谷修司教授が3年前報告した。

そこで、申請者は、培養株を単離し、CA培地で培養したところ、球体、正四面体または中央でねじれた正四面体、平面体のものが現れた。この結果、栄養欠乏が、形態の変化を促進する要因の一つと考え、CA培地から、窒素源など栄養塩を個別に除去し、形態変化を調べることにした。

この実験は、自然科学部の生徒に行わせた。生徒たちは、pHメーターの使い方、キャリブレーション、溶液の混合、pH調節、顕微鏡写真撮影などの基本的実験を体得できる。さらに、ピペット法による藻類の単離、倒立顕微鏡上での実験など、高校と大学のギャップの実験を体得でき、大学での実験を容易にできる体制の一部を習得できる。

2 : 実験条件

培養条件は20℃、光源としては白色蛍光灯を用い、12時間、12時間の明暗周期で、CA培地から、

- ① Ca(NO₃)₂除去
- ② KNO₃除去
- ③ NH₄NO₃除去
- ④ MgSO₄除去
- ⑤ βグリセロリン酸Na除去
- ⑥ Vitamin除去
- ⑦ 微量金属除去
- ⑧ FeEDTA除去
- ⑨ 緩衝剤除去
- ⑩ Ca(NO₃)₂、NO₃、NH₄NO₃の除去
(全窒素除去)



⑪ コントロール

を行い、0.1NのHCl、0.1NのNaOHを使って、pH7.2に調整し、24週間培養し、4週間おきにパスツールピペットを使用して取り出し、生物顕微鏡を用いて20細胞の形態観察、顕微鏡写真撮影を行った。

3：結果

培養開始後は、球に近い形状から正四面体であったが、いずれの栄養欠乏の条件でも20週経過したものでは、球体はなくなり、正四面体またはねじれた四面体を示すものが大部分を占めた。なお、コントロールでは球または正四面体であった。全ての窒素源

除去培地では20週で、MgSO₄除去培地では24週で細胞は死滅した。以上のように*Pseudostaurastrum enorme* のクローン培養株では窒素、リン、マグネシウムなどいずれの欠乏条件でもコントロールに比べ、球体が見られなくなり、正四面体とねじれた四面体が増加する傾向が認められた。

栄養塩類の欠乏では、平面のもの、*Pseudostaurastrum loblatum type*が見られないので、異なる条件が*Pseudostaurastrum loblatum type*に変化させるだろうと考え、非常に暗い条件において観察した。すると、1年で*Pseudostaurastrum loblatum type*に変化することが分かった。

さらに、平面状の*Pseudostaurastrum loblatum type*をCA培地で培養すると、球形、台形、テトラポット状、太い突起のもの、テトラポット状、細い突起のもの、ねじれた四辺形のものが出現した。

各種文献を調べると、球形、台形のは、*Pseudostaurastrum enorme type*であり、テトラポット状、太い突起のものは、*Pseudostaurastrum hastatum type*であり、ねじれた四辺形のは、*Pseudostaurastrum planctonicum type*であり、平面のものは、*Pseudostaurastrum loblatum type*である。

つまりこれらの種は1種類の*Pseudostaurastrum enorme* であり、これが栄養条件などで他の種とされていたものに変形していったと考えることができる。

これらを自然科学部の生徒に準備させた。CA培地から各種の栄養塩類を、1種類ずつ抜いて培地を作らせ、0.1NのHCl、0.1NのNaOHを使って、pH7.2に調整させ、pHメーターを使ってpHを調整させた。これがパズルのようで楽しいが、間違えといけないので真剣になったというのが生徒の感想である。また、4週ごとにパスツールピペットでプランクトンを捕って生物顕微鏡で観察すると、様々な形に変化したものが見られるので、楽しく観察していた。さらに、緊張しながら顕微鏡写真を撮影していた。まとめを行わせると、*Pseudostaurastrum loblatum type*がなかなか出現しないので、生物の変化には時間がかかることを感じたようである。

4：謝辞

実験に対する様々なご指導をいただき、種名の同定を行っていただきました島根大学教育学部大谷修司教授に感謝いたします。

また、このような実験の機会を持てるように、財政援助していただいた、公益財団中谷医工計測技術振興財団に感謝いたします。

5：参考文献

Begrundet von A. Pascher Süßwasserflora von Mitteleuropa

山岸高旺著

淡水藻類

以上