

シアノバクテリアの可能性 ～食用化・肥料化を目指して～

和歌山県立海南高等学校 阪下沙羅 新家ゆいか 山本莉乃

背景	目的	仮説
生物の授業でシアノバクテリアの一種であるイシクラゲを先生が食べたことがあると聞き、食用化に興味をもった。地域的に嗜好されている場所もあるが、校内のイシクラゲはとても汚く、食べたいと思えなかった。そこで、食べたいと思えるような安全な食用化を目指すことにした。 また、イシクラゲの窒素固定能力に着目し、化学肥料に替わる肥料としても使えるのではないかと考え、調べてみることにした。	●イシクラゲを実験室内で培養することで、安全な食用化を目指し、みんなで食べてみる ●イシクラゲを肥料として用いた際の作物の成長促進効果を検討する	●校庭で普通に生息しているの生物なので、栄養のある培地で培養すれば増殖させられる ●先行研究で用いられた培地組成のうち、学校にあるもののみで培地を作って行う培養では増殖させられない ●イシクラゲには窒素固定能があり、田の稲刈り後にレンゲソウを播く「緑肥」の例でもレンゲソウに共生した根粒菌の窒素固定能を利用していることから、イシクラゲと栽培する作物と一緒にしておくことで肥料効果を発揮する

シアノバクテリア、イシクラゲについて	本校校庭のイシクラゲ
シアノバクテリア（ <i>Cyanobacteria</i> ）は地球上で初めて酸素発生型の光合成を行った原核生物である。現存の緑色植物と同じく光化学系Ⅰおよび光化学系Ⅱをもち、水を電子供与体として光合成を行うため、光合成研究の材料としても有用である。	本校でも校舎とグラウンドの境目あたりに広くイシクラゲが生息している。草や砂と寒天質が複雑に絡まり、不純物を取り除くにはかなりの労力がかかる。
イシクラゲ（ <i>Nostoc commune</i> ）陸生シアノバクテリアの一種であり、数珠状につながった細胞群が寒天質の中に埋め込まれ、肉眼でも観察可能な状態で存在している。採取も容易で、原核細胞の観察などによく用いられる。	  

実験Ⅰ イシクラゲの培養

イシクラゲの培養を目指して、複数の培地を検討した。
なお、各培地はオートクレーブ滅菌し、23℃のインキュベーターで、蛍光灯を照射した状態で培養した。いずれもイシクラゲの採取地は本校校舎内である。
●失敗した実験たち
培地に入れるイシクラゲは、処理Aおよび処理Bのどちらかの処理をしたものを利用した。

処理A ・採取したイシクラゲを、流水ですすぎ、草や砂を落とす ・目視により、さらに草や砂を落とし、なるべく綺麗な状態にする ・すり鉢で破砕し、寒天質を破壊してペースト状にする ・茶こしで濾しだし、さらになめらかなペースト状にする	処理B ・採取したイシクラゲを、流水ですすぎ、草や砂を落とす ・目視により、さらに草や砂を落とし、なるべく綺麗な状態にする ・すりつぶしは行わない
--	--

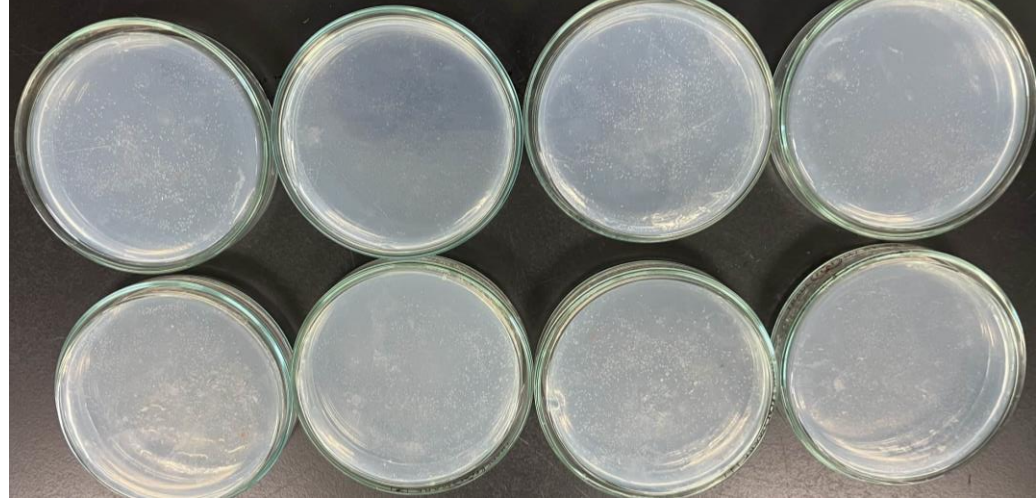
①2%標準寒天培地（処理A）
培養開始翌日には、イシクラゲではない細菌のコロニーが大量に増殖した。カビ類も見られた。

②米のとぎ汁とバナナの絞り汁で作った2%寒天培地（処理A）
夏休み中の実験で確認が遅くなったが、約3週間後、多量のカビが見られた。

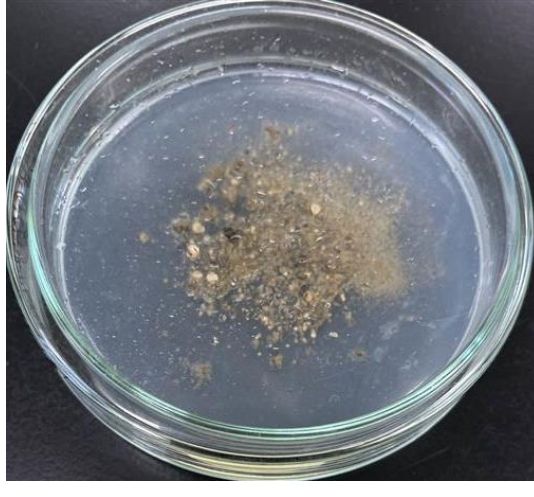
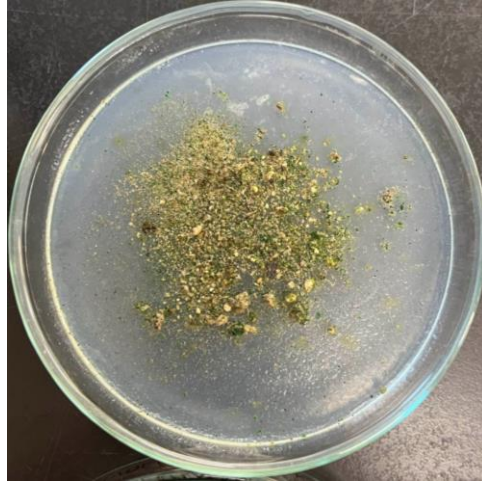
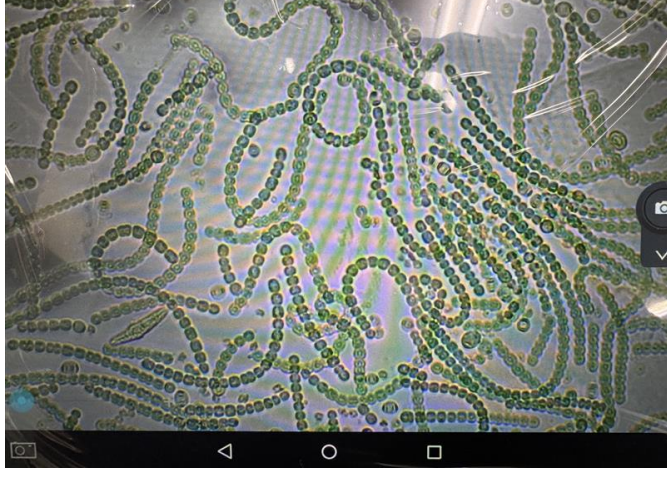
③エビオス錠を溶かした液体培地（処理Aと処理B）
3つのビーカーに900mLの蒸留水とエビオス錠をそれぞれ1, 2, 3粒入れたものを2セット用意し、1週間培養した
→ 培養後目立った変化はなかった

●成功したと思われる実験
上記の実験では成果が得られなかったため、先行研究で用いられたBG11₀₀培地の組成を参考に、学校にある薬品のみを用いて培地を作製、培養を試みた。

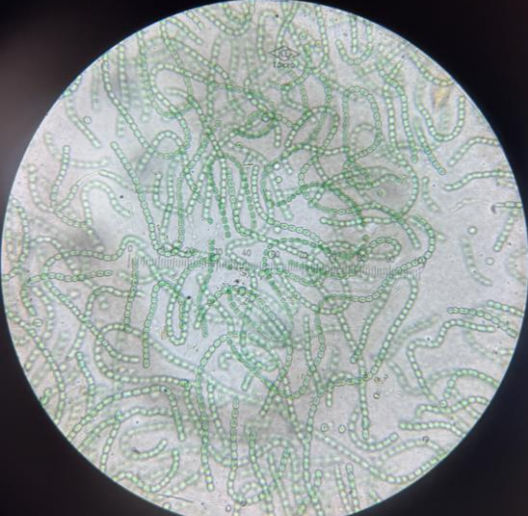
④先行研究に倣った2%寒天培地その1（処理A）
処理Aを施したペーストに蒸留水を加え希釈し、顕微鏡で短い数珠状の群体を確認したのち、シャーレに200μL添加した。→1週間後変化見られず

	
↑短い数珠状の群体	↑1週間後の培地

⑤先行研究に倣った2%寒天培地その2（処理C）
外部指導者のアドバイスを受け、新たに処理Cを考案し、④と同様の培地で培養を行った。3週間経過後目立った変化はなかったが、年末年始でさらに培養期間が延び、約5週間後、緑の部分が広がり、イシクラゲと思われる数珠状の細胞群が観察された。

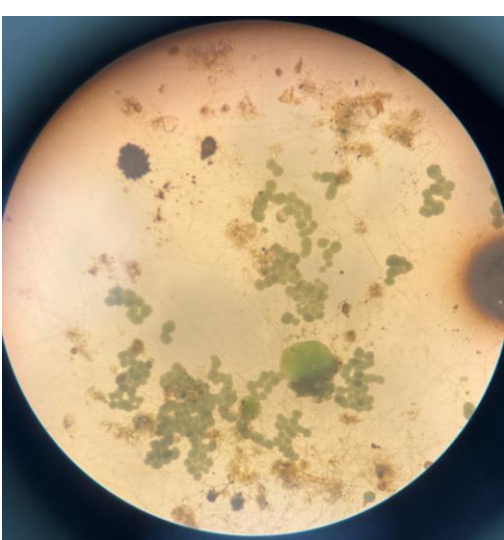
	約5週間後		顕微鏡観察	
---	-------	---	-------	---

⑥-1 先行研究に倣った2%寒天培地その3（処理C）
⑤の結果の再現性を確認するため、再度同様の実験を行った。ただし、その際FeCl₃・6H₂Oの添加を忘れて進めてしまった。しかし、4週間後シャーレ内に、イシクラゲに特徴的な外殻を有する球状のコロニーを確認することができた。

発見！		顕微鏡観察	
-----	---	-------	---

⑥-2 その3の継代培養 2%寒天培地と液体培地
上記の実験でコロニーが複数確認できたが、寒天培地が乾燥してひび割れが生じてきていたことから、継代培養することにした。球状コロニーが立体的であることから、寒天培地だけでなく液体培地も作製し、コロニー全体に栄養が行きわたることを期待した。約2週間経過時点の結果であるが、現在も培養が続いている。

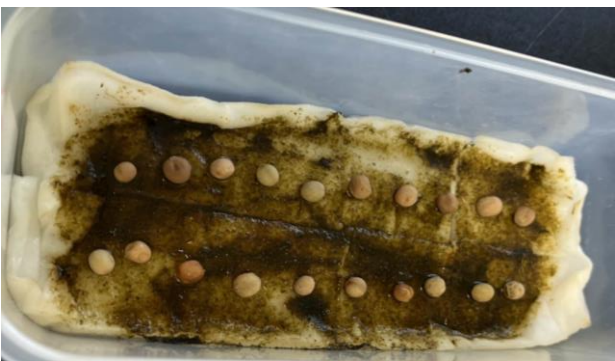
	加えたコロニー数	成長を続けた数	特徴
寒天培地2枚	各2つ	各1つ	色が濃い
液体培地1本	4つ	2つ	色が薄い

	←成長途中と思われるイシクラゲコロニー		←双眼実態顕微鏡で観察したコロニー（左：寒天培地 右：液体培地）サイズはどちらも2mmほど
---	---------------------	---	---

実験Ⅱ イシクラゲの肥料効果検討

イシクラゲの肥料効果を、イシクラゲの有無を分けた豆苗の栽培で検証した。
豆苗の種子を容器に20粒、脱脂綿の上に置き栽培した。

①イシクラゲなしおよび、処理A、処理Bのイシクラゲを脱脂綿上に敷き、発芽・成長の様子を観察した。 → 処理Aでは発芽もしなかった。

	
---	---

②イシクラゲの有無による発芽率の違い → イシクラゲがない方が発芽率が高い

	無①	無②	無③	無④	処理A	処理B
発芽率(%)	100	95	100	90	50	55

まとめ

- 独創的な方法（処理C）により、イシクラゲの有殻コロニーの培養に成功した！
- 成長速度が著しく遅く、食用化できるほど大きくはならなかった。液体培地より寒天培地の方が質の高いコロニーが形成された。
- 継代培養を繰り返すことでイシクラゲコロニーの単離ができ、安全な食用化につながる事が期待できる。
- 試薬それぞれの役割を理解することで最小限の培地組成が分かれば、高校レベルでのイシクラゲ培養のハードルを下がり、多くの高校生にイシクラゲの培養に取り組んでもらえる。
- 成長促進効果の検証については、実験の設計を工夫する必要がある。

参考文献・謝辞

伊原正喜「中山間地域での食用イシクラゲ栽培」 東洋食品研究所 研究報告書, 2022
尾張智美「イシクラゲー藻類の多様性と可能性ー」 生物材料インデックス, 2019

本研究では、和歌山県立自然博物館 学芸員 平嶋 健太郎先生にご助言をいただきました。
この場を借りて感謝申し上げます。