

イカ発光細菌の生育条件（培地 pH）を調べる

大阪府立園芸高等学校バイオサイエンス科

微生物部 1年 坂原一夏 北村夢風 喜納明日華

はじめに

微生物部では3年前に卒業生がスルメイカに付着していた発光細菌を分離した。先行研究の内容は、主として生育に最適な条件の検討で、培地中の食塩濃度の適正化（3~4%最適）や電解質イオンの関連性（NaCl、Na₂SO₄良好）、グリセリン濃度適正化（0.3%）、細菌の細胞像（走査電子顕微鏡）取得（単桿菌、0.8 μm）などについて調べられた。発光細菌の最適培養条件項目として、培地 pH を追加して実験を行い、発光細菌の生育に与える影響について調べたので結果を報告する。尚、イカ発光細菌は研究室の継代時期の異なる保存株を使用した。



実験の目的：イカ発光細菌の生育にとって培地 pH はどのように影響するのかをしらべたい。元々海水で生息しているので海水の pH が最適と思われる。文献から、海水は弱アルカリ性なので 8.0 に近いと思われる。検証実験を行う。

海水は弱アルカリ性で、海面の近くの pH は 8.2 前後だが CO₂ 吸収量の増加で、これまでに海洋の表層水の pH は産業革命以前と比べて約 0.1 低下している。pH が 0.1 下がると、酸性度は 30% 強くなる。今のペースで CO₂ の排出が続けば、2100 年には表層水の pH は 7.8 まで下がり、1800 年と比べて 150% も酸性度が強まる。
（東邦大学 理学部 生命環境科学科 大越 健嗣 教授）

（感想）海洋の酸性化はサンゴの消滅、魚類餌消失、生態系の破壊をもたらす地球の危機が訪れる・・・と将来を憂う。

実験の手順：

発光細菌培養培地の作成

試験区：pH 6.5 7.0 7.5 8.0 8.5 9.0

1. 三角フラスコ基本培地を 300ml 作成
2. ビーカー 6 個に 50ml 分注
3. 培地の pH 測定する (HCl、NaOH 水溶液を使用して 目的の pH を調整)
4. 各 pH 液（ビーカー）に寒天を 1g (2%) 入れ湯煎して寒天を溶解。
5. 試験管に分注後オートクレーブ滅菌 (121℃、15 分)

発光細菌基本培地	
人工海水	3.6%
ペプトン	0.25%
酵母エキス	0.05%
グリセリン	0.3%
MgSO ₄	0.02%

イカ発光細菌の培養

pH 区分培地を湯煎溶解した後、ミニシャーレに入れ固化。

イカ発光細菌(X、Y、Z 保存株)培養液をペビー綿棒につけ塗抹 20℃で 3 日間培養した。

結果：培養後（1 日、2 日、3 日）に観察（デジタルカメラプレミアムおまかせオート設定で撮影）した(図 1~6)。

pH 6.5 7.0 7.5 8.0 8.5 9.0

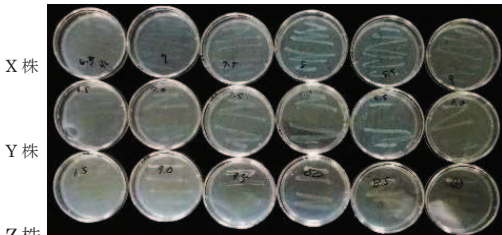


図 1 培地 pH によるイカ発光細菌の生育（培養 1 日）

pH 6.5 7.0 7.5 8.0 8.5 9.0

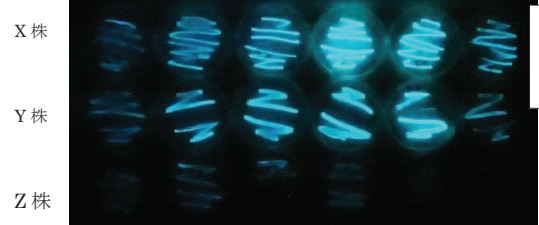


図 2 培地 pH によるイカ発光細菌の生育（培養 1 日）

pH 6.5 7.0 7.5 8.0 8.5 9.0

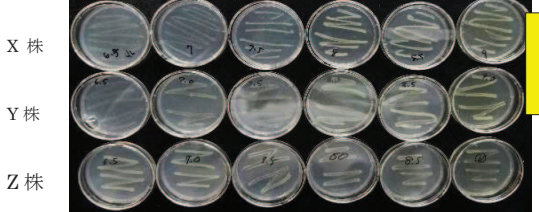


図 3 培地 pH によるイカ発光細菌の生育（培養 2 日）

pH 6.5 7.0 7.5 8.0 8.5 9.0

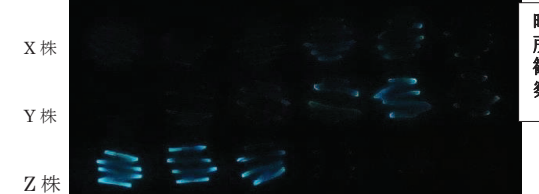


図 4 培地 pH によるイカ発光細菌の生育（培養 2 日）

pH 6.5 7.0 7.5 8.0 8.5 9.0

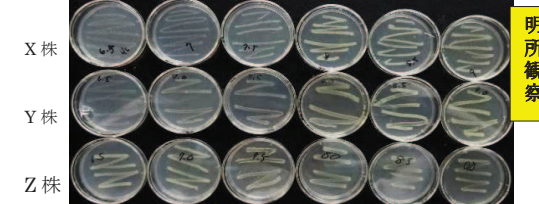


図 5 培地 pH によるイカ発光細菌の生育（培養 3 日）

pH 6.5 7.0 7.5 8.0 8.5 9.0



図 6 培地 pH によるイカ発光細菌の生育（培養 3 日）

考察：培地 pH の影響は X、Y 株は pH 8.0 から 8.5 に発光のピークがあり、Z 株は pH 7 が最適と思われる。生育速度においてはコロニー量から判断すると X、Y 株は 1 日経過後、Z 株は 2 日後がピークに達していた。明らかに Z 株は X、Y 株とは株質が異なっていた。分離したイカ発光細菌は単一の種類と思ったが、何らかの原因で変異したと思われるがその説明は今後の課題とした。