



長崎県立諫早高等学校

土橋 葵, 江口ひらり, 大槻早紀, 尾崎結生 (顧問: 土橋敬一)

組織培養—絶滅危惧種ヒゴタイを救え

本研究は、日本農芸化学会2011年度(平成23年度)大会(開催地 京都)での「ジュニア農芸化学会」において発表予定であったが、残念ながら東日本大震災によって大会が中止となった。日本農芸化学会和文誌編集委員会によって本研究を優れたものと選定し、掲載することとなった。絶滅危惧種のヒゴタイの組織培養に取り組み、葉・茎・根からクローンをつくる方法を確立したものである。



本研究の背景、調査方法および結果と考察

【背景】 絶滅危惧種に指定されているキク科の植物ヒゴタイ(図1)は、日本が大陸と陸続きだった頃の残存植物で、病気に弱い、開花結実に2年かかる、根が深く移植が困難であることなどから、現在は長崎と西日本の数個所にしか残っていない。平成12年のヒゴタイ自生地発見以来の先輩たちの研究を引き継ぎ、ヒゴタイの組織培養によるクローン作製を試みた。

【方法】

実験1: タンポポの組織培養 まず、無菌操作などの組織培養の基礎技術の習得と植物ホルモンの作用の確認のために、ヒゴタイと同じキク科植物であり、花茎が1年中手に入るタンポポの組織培養を行なった。この際、高価な実験器具を用いずに組織培養ができるように、無菌箱の自作、家庭用蒸し器による蒸気滅菌、市販植物用栄養液(ハイポネクス)添加寒天培地による培養などを工夫した。タンポポ組織を70%エタノールおよび1%次亜塩素酸ナトリウムによって殺菌した後、種々の濃度の植物ホルモン(サイトカイニン類: カイネチン(KIN), ベンジルアデニン(BA); オーキシン類: インドール酢酸(IAA), 2,4-D)を含む培地に植え付けた。

実験2: キクの花弁培養 ヒゴタイの葉からの組織培養



図1 ■ 自生地で咲くヒゴタイ

時に殺菌が完全に行なえなかったことから、殺菌が容易であると思われる花弁からの組織培養の可能性を調べるために、キク花弁を用いた組織培養を行なった。

実験3: ヒゴタイの組織培養 ヒゴタイの葉茎を完全に殺菌するために、洗剤で洗浄した区、毛を刺した区、殺菌時間を延長した区、超音波洗浄機中でエタノール殺菌した区を用意し、組織培養を行なった。

ヒゴタイの組織培養によって得られたカルスについて、2種類および3種類の植物ホルモンの組み合わせを用いて分化誘導させた。

ヒゴタイ根の切片を植え付け、根からのクローン作製を試みた。

【結果と考察】

実験1 種々の濃度のサイトカイニン類KINとオーキシン類IAAを用いてタンポポの組織培養を行なったところ、図2に示すようにいくつかの組み合わせで器官形成

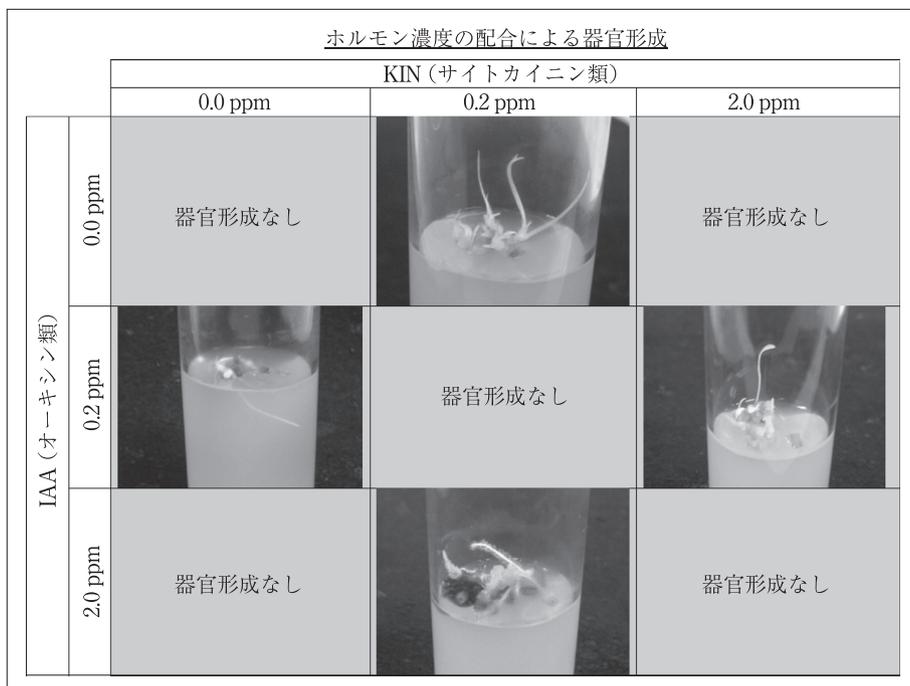


図2 ■ 植物ホルモンが器官形成に及ぼす影響

が認められた。この結果から、オーキシシン類>サイトカイニン類の条件下では根が形成され、オーキシシン類<サイトカイニン類の条件下では芽・葉への分化が進行することを確認できた。

実験2 殺菌が容易であると思われる花卉からの組織培養の可能性を確かめるために、キク花卉を用いて組織培養を行なったところ、カルスの形成に成功した。一方、ヒゴタイの花弁を用いた場合にはカルス形成に至らなかった。また、ヒゴタイの花は1年に1度しか咲かず、また開花期間も短いことから、組織培養の材料としては不向きであると考えられた。

実験3 葉茎の毛が空気を蓄えるため、その部分が殺菌不良となることが、ヒゴタイの組織培養を妨げていると考えられたため、洗剤で洗浄した区、毛を剃った区、殺菌時間を延長した区について検討したが、いずれも殺菌不良あるいは組織壊死のため、組織の培養には至らなかった。そこで、葉茎を超音波洗浄機中でエタノール殺菌したところ、殺菌処理の成功率が95%に達し、毛のある組織でも組織培養が可能となった。

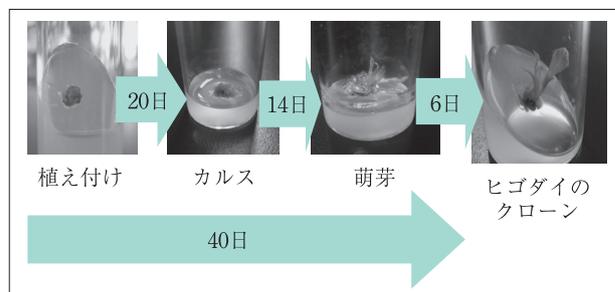


図3 ■ ヒゴタイのクローン作出スキーム

次いで、タンポポ組織の培養時に得られた2種の植物ホルモンの組み合わせでヒゴタイのカルスの分化を試みたが、まったく誘導されなかった。そこで、ホルモンの濃度や組み合わせを変更して検討したところ、KIN、IAAおよびBAの3種のホルモンを加えることでカルス形成および萌芽が観察され、クローンの作製に成功した(図3)。

さらに、ヒゴタイの根を切片として植え付けることで、40%程度の確率で根からクローンを作製できること



図4 ■ 根からのヒゴタイ苗の増殖

も明らかとなった(図4)。親株で元は根であった側の反対側から萌芽しており、根からの萌芽には極性が認められた。本法は組織培養に比べて容易にクローンを作成できる点で優れているが、親株の根を傷つけることから、親株の保護という観点からは葉茎から組織培養でクローンを得るほうが優れているものと考えられた。

将来、この研究成果が西日本に数箇所しか残存していないヒゴタイの保護・増殖に役立つことが期待される。

減危惧種であるヒゴタイの組織培養による増殖技術を確立したもので、大きく評価できる。紙面スペースの都合上、割愛せざるを得なかったが、植物ホルモンの濃度や組み合わせの検討など、膨大な実験と考察がなされており、地道な努力の積み重ねが研究・開発に重要であることを示している。研究成果がヒゴタイの保護に役立つものと大きく期待される。

(文責「化学と生物」編集委員)



本研究の意義と展望

高校の実験室レベルで実施可能な低コストの器具で絶

複製される方へ：本会は下記協会に複製に関する権利委託をしていますので、本誌に掲載された著作物を複製したい方は、同協会より許諾を受けて複製して下さい。ただし、(社)日本複製権センター(同協会より権利を再委託)と包括複製許諾契約を締結されている企業の社員による社内利用目的の複製はその必要はありません。(社外頒布用の複製は許諾が必要です。)

権利委託先：(中法) 学術著作権協会 〒107-0052 東京都港区赤坂9-6-41 乃木坂ビル (Tel: 03-3475-5618, Fax: 03-3475-5619, E-mail: info@jaacc.jp) なお、著作物の転載・翻訳のような、複製以外の許諾は、学術著作権協会では扱っていませんので、直接発行団体へご連絡ください。また、アメリカ合衆国において本書を複製したい場合は、次の団体に連絡して下さい。Copyright Clearance Center, Inc./222 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923 USA (Tel: 1-978-750-8400, Fax: 1-978-646-8600)

化学と生物 KAGAKU TO SEIBUTSU

Vol. 50, No. 3 (580号)

2012年3月1日発行(月刊)

定価1,260円(本体1,200円)

編集・発行 ●社団法人 日本農芸化学会

113-0032 東京都文京区弥生2-4-16
学会センタービル内
<http://www.nougei.jp/>

刊行 ●株式会社 学会出版センター

印刷 ●株式会社 国際文献印刷社

装幀 ●石原雅彦

■和文誌編集委員会

委員長

加藤 茂明 (東京大学分子細胞生物学研究所)

委員

朝倉 富子 (東京大学大学院農学生命科学研究科)

麻生 陽一 (九州大学大学院農学研究院)

阿部 敬悦 (東北大学大学院農学研究科)

上口(田中)美弥子 (名古屋大学生物機能開発利用研究センター)

潮 秀 樹 (東京大学大学院農学生命科学研究科)

梅 山 隆 (国立感染症研究所)

奥村 克純 (三重大学大学院生物資源学研究所)

賀来 華江 (明治大学農学部)

片岡 道彦 (大阪府立大学大学院生命環境科学研究科)

木村 淳夫 (北海道大学大学院農学研究院)

腰岡 政二 (日本大学生物資源科学部)

後藤 奈美 (独立行政法人酒類総合研究所)

米 谷 俊 (江崎グリコ株式会社)

斎木 祐子 (農林水産省農林水産技術会議事務局)

関 泰一郎 (日本大学生物資源科学部)

高橋 公咲 (北海道大学大学院農学研究院)

高谷 直樹 (筑波大学大学院生命環境科学研究科)

高山 誠司 (奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科)

竹中 麻子 (明治大学農学部)

田中 福代 (独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構)

千葉 一裕 (東京農工大学大学院連合農学研究科)

東原 和成 (東京大学大学院農学生命科学研究科)

中嶋 正敏 (東京大学大学院農学生命科学研究科)

仲宗根 薫 (近畿大学工学部)

永田 裕二 (東北大学大学院生命科学研究所)

西山 千春 (順天堂大学大学院医学研究科)

久田 豊 (田辺三菱製薬株式会社研究本部)

平 竹 潤 (京都大学化学研究所)

松田(古園)さおり (独立行政法人理化学研究所基幹研究所)

矢島 宏昭 (キリンホールディングス株式会社)

山口庄太郎 (天野エンザイム株式会社)

理事

喜多 恵子 (京都大学大学院農学研究科)

有 岡 学 (東京大学大学院農学生命科学研究科)