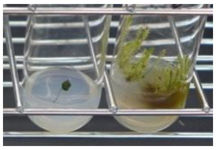
コケの効率的な増殖条件について

大阪府立園芸高等学校　バイオ研究部　3年　高橋美乃



コケは日本庭園や盆栽の他、屋上緑化やインテリアでも注目され、化学的成分の有用性も期待されている。栽培には長期間を必要としている。そこでコケの効率的な大量増殖方法の検討を行った。

研究の仮説・・・生育に必要な栄養条件と光等の環境条件やその他の条件を明らかにし、無菌培養を行う条件を明らかにすることで、効率的な増殖が実現できると考えた。

材料・・・園芸高校校内に自生するコケを使用した。苔類からゼニゴケ、蘚類からスナゴケと思われるコケを採取した。なお、スナゴケを用いた無菌培養実験では、２０１９年11月に発生していた胞子体（胞子嚢）を3か所から採取し使用した。

栄養実験

栄養要求性が低いとされているコケの生育に適している培養液の濃度は、どこにあるのだろうかと考え実験を行った。

方法：蒸留水、ハイポネックス100、1000、10000倍希釈の液体培地をシャーレに20ml入れたものを使用し2種類のコケを4×3cm平方に分けシャーレに入れた。その後12週目まで観察した。

結果：ゼニゴケはハイポネックス10000倍希釈、スナゴケは蒸留水の極めて低い栄養条件で良く育った。

光環境実験

コケの生育に適している光の強さはどの程度なのだろうかと考え実験をおこなった。

方法：培地は蒸留水を20mlシャーレに入れたものを使用し、コケは栄養実験と同じように分け、シャーレに入れた強度の異なる照明下において、12週目まで観察した。

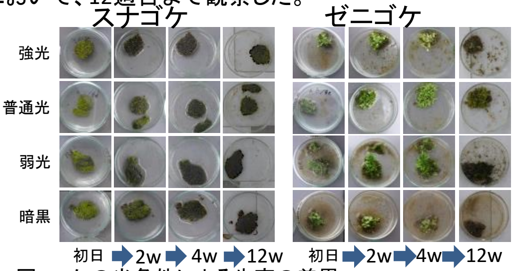


図2.コケの光条件による生育の差異

結果：ゼニゴケでは弱光（間接照明）、スナゴケでは普通光（蛍光灯培養棚）での生育が良かった。

培養基選択実験

栄養・光環境実験では液体培地を入れたシャーレ内でコケ切片は拡大しなかったので培養基を検討した。

方法：スナゴケは、光実験で良く育っていた普通光を使用し、ゼニゴケは、光実験で良く育っていた弱光を使用した。

培養器に、ポリウレタンフォーム、ポリエステル不織布、メラミンフォーム、素焼き陶器片、素寒天培地を用い、6週間培養した。

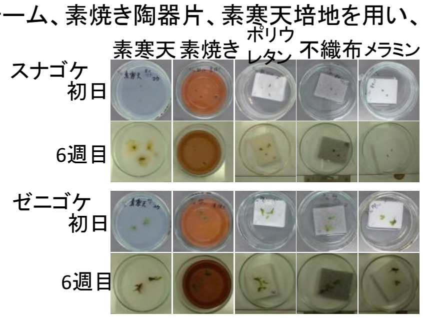
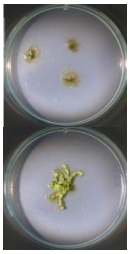


図3. コケの培養器の違いによる活着の様子



素寒天培地での仮根の様子

結果：ゼニゴケのメラミンフォーム以外すべて活着した。培養基に仮根が見やすいのは素寒天培地だった。

殺菌実験

コケを無菌培養に持ち込むため殺菌の強度を明らかにする実験を行った。

方法：スナゴケを使用し、アンチホルミン有効塩素濃度１%に浸漬、脱気し、取り出すまでの時間を、直後、5分、10分、20分、30分、60分、120分に分けて殺菌した。滅菌水ですすいだ後、ハイポネックス培地上に置床し、1週後に観察した。

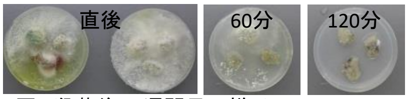


図4.殺菌後、1週間目の様子

結果：アンチホルミンにつけると漂白され、いずれの時間でも脱色され、緑味がなくなった。60分区までは雑菌が発生し、120分区では雑菌が発生しなくなったが、スナゴケが死滅した。

胞子嚢殺菌実験

配偶体が殺菌できなかったが胞子嚢の殺菌なら、中の胞子は死滅しないと考え実験を行った。

方法：校内3箇所（ABC）で採取した成熟度の異なるスナゴケの胞子嚢をアンチホルミンに10分間浸け、素寒天、ハイポネックス標準濃度と10000倍希釈培地に分けて植え付けた。

図5. 供試胞子嚢の状態
Aが最も成熟している。

結果：ABCのいずれの胞子嚢も無菌化できた。成熟の最も進んだAの胞子嚢からコケが発生した。10000倍希釈培地での成長が最も旺盛であった。

図6.Aの胞子嚢を培養し、10000倍希釈培地上で培養6週目に得られた配偶体（右）

配偶体の植物ホルモン実験

植物ホルモンがコケの成長に及ぼす効果を確かめるためにこの実験を行った。

方法：ハイポネックス1000倍希釈の培地に5種類の植物ホルモンを1mg /Lで添加した培地と、無添加の6区分で、胞子嚢から得られたコケの切片を各培地10個ずつ培養した。

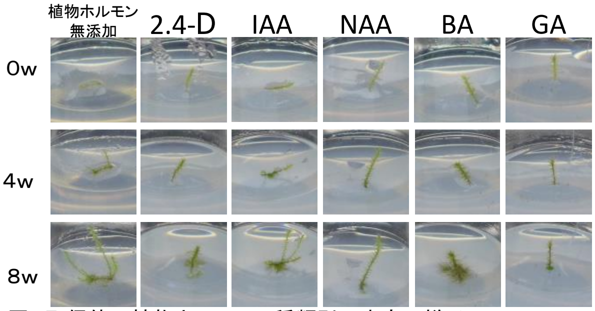


図5.配偶体の植物ホルモンの種類別の生育の様子

結果：植物ホルモン無添加と、植物ホルモン添加の間で生育に差はみられず、原始的なコケに植物ホルモンに対する感受性は認められなかった。

DNA分析によるスナゴケの同定

材料のスナゴケとして扱った蘚類の正確な同定を行う為に、シーケンス分析を行った。

方法：園芸高校が保有する植物用ユニバーサルプライマーのうち、スナゴケDNAのPCR増幅ができたrbcL領域についてダイレクトシーケンス法により399bpの塩基配列を得、日本DNAデータバンクのBLAST検索により、同定を試みた。

結果：配列が、100%一致するアクセッションはなかった。一致率の高いものは、99%一致のヒョウノオゴケとコカヤゴケであった。

まとめ：コケの効率的な増殖の実現のために、無菌培養技術の適用を検討し、過去に報告されているゼニゴケ以外にスナゴケについてその可能性を明らかにすることができた。

参考文献：

浅川義典．1984．苔類の生理活性物質．化学と生物．22:495-502.
小林恭子・勝野武彦・藤崎健一郎．2001．コケシートからの3種のコケの生育と栽培条件．日本緑化工学会誌．27:197-200.　他