

カエデのインビトロプラント化に必要な諸条件の解明

大阪府立園芸高等学校バイオサイエンス科

バイオ研究部 2年 金市 健

<序論>カエデ（イロハモミジ）は、日本庭園植栽として利用され、箕面国定公園では観光的な景観を構成する重要な植物資源となっている。バイオ研究部では新たなインビトロプラントの資源としての可能性がカエデにあると考え、無菌培養化の実現に向けて研究を始めた。バイオ研究部の寺田は2019秋に採種したカエデ種子を用い、無菌は種を試み、種子殺菌が困難であることと、種子を低温処理することで発芽促進されることを報告している。

本研究では、寺田が播種し、コンタミ状態で寒天培地上で発芽した実生を再殺菌処理により無菌化を試みるとともに、無菌化に成功した株を用い、培地中の糖条件について検討を行った。また、2020年11月に採種し、再度種子殺菌実験を行った。

<材料>2019年12月2日に採種し、9週間前後低温処理した後、25°C、コンタミ条件で発芽した実生を2月17日の時点で再殺菌実験に使用した。再殺菌実験で無菌化に成功した株を3月31日の時点で培地中の糖濃度検討実験に使用した。2020年12月、環境緑化科が管理するイロハカエデ標本樹から採種し、この種子を種子殺菌実験に使用した。

<方法>

【実験1：発芽実生の殺菌処理】雑菌が発生した寒天培地上で発芽した実生にアルコールスプレー後、1%アンチホルミンで5~30分殺菌した後、滅菌水で濯ぎ、H培地に置床した。その後25°Cで5週間培養した。

【実験2：培地中の糖条件】実験1で得られたカエデの無菌株を草丈により5階級に分け、スクロース濃度0、3、6%濃度のH培地に各階級の株を植え、12週間25°Cで培養した。

【実験3：高濃度アンチホルミンによる種子殺菌】種子を1~5%のアンチホルミンで10~20分間殺菌後、滅菌水ですすぎ、シャーレ内の寒天培地上に置床した。その後、シャーレを5°Cの低温条件に0~9週の間置いた。低温処理の後、25°Cの24時間の蛍光灯照明下で培養を行い、4週間観察を行った。

<結果>

【実験1】発芽実生の殺菌処理の結果を表1に示した。

表1. 有効塩素濃度1%アンチホルミンを用いた発芽実生の殺菌処理

殺菌区分	供試数 (株)	コンタミ (本)	無菌化	
			枯死 (株)	生育 (株)
5分	13	3	6	4
10分	13	5	1	7
20分	13	3	0	10
30分	13	3	5	5

【実験2】培地中のスクロース濃度がカエデの生育に及ぼす影響の結果を図1に示した。

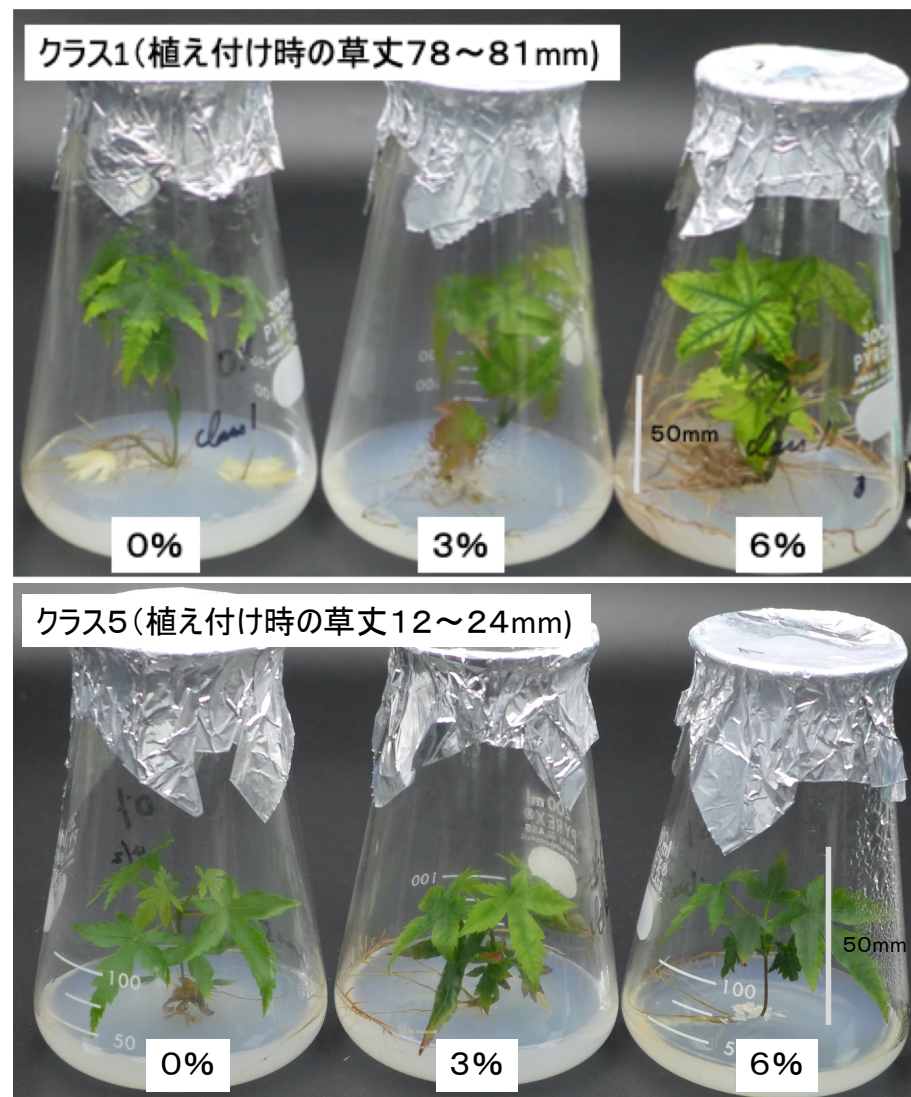


図1. スクロース濃度の異なる培地中でカエデを12週間培養後の様子

【実験3】高濃度アンチホルミンを用いた種子殺菌実験の結果を表2にしめた。

表2. 高濃度アンチホルミン・長時間殺菌によるカエデ種子の殺菌処理

殺菌区分 塩素 (%)	時間 (分)	植付け試験 管数 (本)	コンタミ (本)	無菌化 (株)	
				枯死	生育
1	10	47	47	0	0
2	10	25	25	0	0
2	20	18	17	1	0
5	10	25	23	2	0

<まとめ>

○発芽実生を殺菌処理することでカエデの無菌株をえることができた。

○H培地中の糖濃度による成長速度に差はなかったが、3ヶ月の培養で栄養障害が散見した。

○殺菌強度を上げてても種子殺菌は困難であることが確かめられた。

[参考文献]

寺田亜郁. 2019. モミジ種子の低温処理による発芽促進、BS科バイオ研究部研究レポート