

コケの無菌培養による大量増殖の可能性

大阪府立園芸高等学校 バイオ研究部

2年 安原花耶

1 研究の背景と経緯

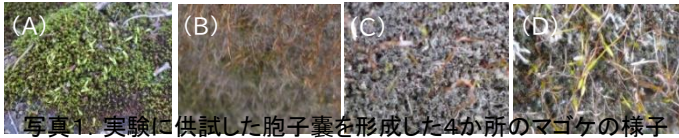
コケ植物は地衣類の植物で、日本には約2500種があるとされている¹⁾。コケは園芸材料でも注目され、他の植物にはない化学的成分の有用性も期待されている²⁾³⁾。

バイオ研究部では、2019年4月からコケの無菌培養技術による大量増殖技術を開発するための研究を開始した。2020年、最大の課題であった無菌化について孢子嚢を殺菌することで無菌のマゴケの作出に成功した⁷⁾。そこで私は、孢子嚢の状態と殺菌後の発芽率との関係と発芽後のコケの成長におよぼす植物ホルモンの影響について実験をおこなった。

2 材料

1) 孢子嚢発芽実験: 2021年5月、園芸高校内のA~Dの4箇所から色や大きさの異なるマゴケの孢子嚢を採種し供試した(写真1)。

2) 植物ホルモンの影響: 2019年11月におこなった孢子嚢殺菌の予備実験で得られたコケを2020年6月まで培養し、得られた無菌状態のコケを使用した。



3 方法

1) 孢子嚢発芽実験:

① 採集した孢子嚢を70%アルコールにつけた後、塩素濃度1%アンチホルミンに10分間浸け、滅菌水ですすいだ。

② 孢子嚢を粉体ハイポネックス0.6%, スクロース3%のH培地を1000倍希釈し、寒天固化した培地(「1000倍希釈H培地」)置床した。

③ 植付後8週目に観察を行なった。

2) 植物ホルモンの影響

① 1000倍希釈H培地に2, 4-D, IAA, NAA, BA, GAの植物ホルモンをそれぞれ0.1mg/L添加したものと無添加の培地を準備した。

② 孢子嚢から得たコケを分割し各ホルモンをいれた培地に置床した。

③ 25°C, 24時間蛍光灯照明下で40週培養した。

④ 同じ条件の培地に継代後8週間、培養した。

4 結果

1) 孢子嚢発芽実験: 表1に結果を示した。孢子嚢の成熟度が進むにつれて発芽数が増加した。植え付け後8週目の様子を写真2に示した。

表1. マゴケ孢子嚢の成熟度と殺菌後の発芽数

成熟度 (採集地)	孢子嚢の 状態	植付数	発芽数
I (A)	濃い緑	21	1
II (D)	茶と緑	12	1
III (B)	茶色	20	2
IV (C)	薄茶色	17	10

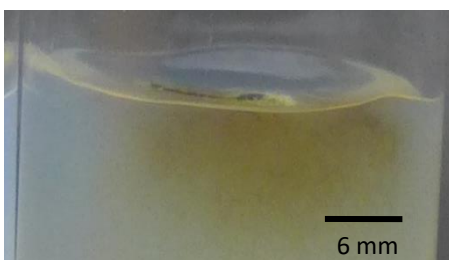


写真2. Cから採集した孢子嚢の培養8週目の様子

2) 植物ホルモンの影響: 培養8週目までの観察では、その差異は認められなかった。培養40週目のコケの草丈、株下の直径、茎数の比較を図1に示した。培養40週目においてIAA, BAは、ホルモンフリー区に対して特に明らかな違いはなかった。一方、2, 4-Dは株元の直径を大きくし、NAAは茎の数が減少し、いずれも草丈は小さくなった。また、GAは草丈が大きくなった(図1)。培養48週目の写真を写真3に示した。

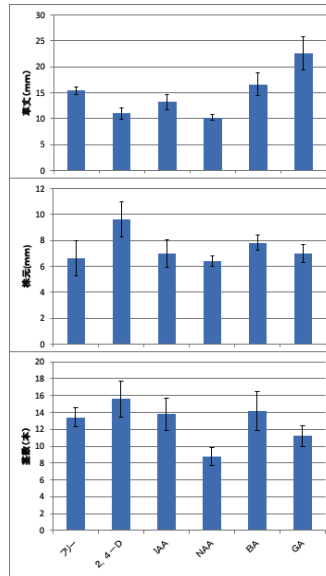


図1. 無菌培養下40週目のマゴケの形態におよぼす植物ホルモンの影響

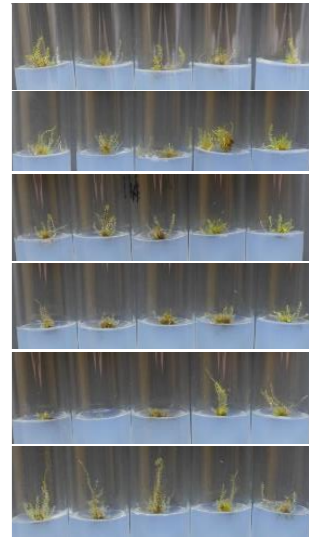


写真3. 植物ホルモンの影響実験48週目の様子

5 考察

成熟度が進んだ孢子嚢を用いることによって効率的に無菌状態のマゴケを入手することができることが明らかになった。また、維管束を持たない原始的な植物であるコケも長期間の培養で外生の生理活性物質の影響を受けることが明らかとなった。

今後、養分濃度が低い環境を要求するマゴケの成長を促進させる生理活性物質の探究をすすめていきたい。特に本来共生している微生物由来の物質がコケの成長を促進する可能性について検討したい。

6 まとめ

無菌コケの効率的な作出法を明らかにできた。また、長期間にわたる無菌培養で植物ホルモンの添加がマゴケの形態形成に影響を与える現象を確かめることができた。

7 参考文献

- 1) 服部新佐監修. 1994. 原色 日本蘚苔類図鑑保育社 pp405.
- 2) 山田薫. 1990. コケに含まれる生物活性成分. 東北大学学位論文. 938号
- 3) 浅川義典. 1984. 苔類の生理活性物質. 化学と生物. 22: 49-502.
- 4) 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: 1.
- 5) 大和勝幸ら. 2009. ゼニゴケの培養法. 低温科学. 67: 23-29.
- 6) 柏谷博之. 1998. 植物と相利共生する微生物—1地衣類—菌と藻の共生体. 化学と生物36: 597-602.
- 7) 高橋美乃. 2020年度 大阪府立園芸高等学校バイオサイエンス科卒業論文