

インビトロクローバーのよつ葉誘導に挑戦 (第1報)

—無菌播種培地条件の検討—

大阪府立園芸高等学校 バイオサイエンス科 2年 大原日菜子

1. 目的と背景

インビトロクローバーとして容器の中でよつ葉のクローバーを培養することができたら面白く、かつ販売をすることにより自然に触れるきっかけになるのではという思いと、幸運とされているよつ葉のクローバーの発生条件についての興味がわいたため、実験を開始した。

2. 実験計画

- 実験① 培地中の糖濃度による影響
- 実験② 培地中の糖の種類による影響
- 実験③ 培地中の窒素成分濃度およびジベレリンによる影響

3. 材料

ホワイトクローバー種子

4. 実験方法

- 基本培地には $\frac{1}{2}$ MS基本塩類を使用した。
- 【実験①糖濃度による影響】
 - ・ショ糖濃度が0、0.75、1.5、3.0%となるよに培地の調整を行った。pHは5.6~5.8とした。
 - ・70%アルコール、アンチホルミンを用いてホワイトクローバーの種子殺菌を行い、調整した培地に着床した。
- 【実験②培地中の糖の種類による影響】
 - ・培地調整に使用する糖の種類をグルコース、フルクトース、乳糖、でんぷんの4種類に変え、培地の調節を行った。pHは5.6~5.8とした。
 - ・種子着床は実験①と同じ手順で行った。
- 【実験③培地中の窒素成分濃度およびジベレリンによる影響】
 - ・ $\frac{1}{2}$ MS培地1L中に含まれる KH_2PO_4 、 NH_4NO_3 の量を増やし、培地中の窒素成分濃度を操作した。
 - ・ジベレリンを用いた培地調整を行った。
 - ・種子着床は実験①と同じ手順で行った。

5. 実験結果

【実験①糖濃度による影響】

- ・1.5%区は、播種1週後から40%を超えて高い発芽率を示した。
- ・3%区も、40%を超えて高い発芽率を示したものの、発根のみで止まり、これ以上成長しなかったものがいくつかあった。
- ・0%区は、播種3週目で20%、9週目では40%の発芽率を示した。
- ・0.75%区は、2週目、5週目、9週目に1本ずつ発芽してはいるが、全体と比べると少し発芽数が少ない。

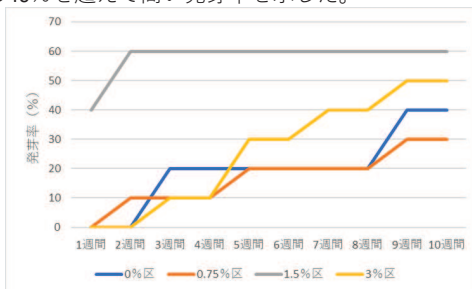


図1. 糖濃度の違いによる発芽率

スクロース濃度 (%)	培養期間		
	13週後	14週後	15週後
0%			
0.75%			
1.5%			
3%			

図2. 糖の濃度の違いによる植物体への影響

【実験②培地中の糖の種類による影響】

- ・フルクトース区は、4週目には50%を超えて高い発芽率を示し、10週目では90%という発芽率を示した。
- ・グルコース区は1週目は少ないものの順調に発芽していき、80%の発芽率を示した。
- ・乳糖、でんぷんともに発芽数が増えることが少なく、発芽率は50%以下を示した。

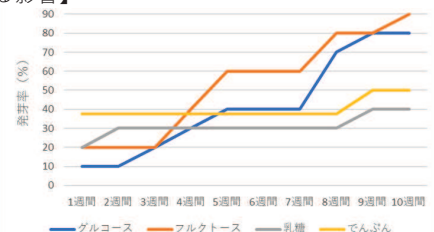


図3. 糖の種類の違いによる発芽率

糖の種類 (%)	培養期間		
	13週後	14週後	15週後
グルコース			
フルクトース			
乳糖			
でんぷん			

図4. 糖の種類の違いによる植物体への影響

【実験③培地中の窒素成分濃度およびジベレリンによる影響】

- ・ジベレリンを添加した培地では、窒素成分の有無によらず実生の伸長は抑制された。
- ・ジベレリンを添加しない培地では、窒素、リン、カリウムの濃度を補強しない培地で安定して発芽した。

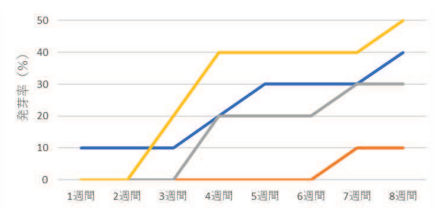


図5. ジベレリン無添加条件下における窒素、リン、カリウム成分が発芽率におよぼす影響

- ・窒素分を補強した培地では、実生の伸長が抑制された。

ジベレリン	培地成分調整	培養期間		
		13週後	14週後	15週後
あり (0.4%)	ノーマル			
	+ NH_4NO_3 (0.747%)			
	+ KH_2PO_4 (0.081%)			
	+ NH_4NO_3 + KH_2PO_4			
なし	ノーマル			
	+ NH_4NO_3 (0.747%)			
	+ KH_2PO_4 (0.081%)			
	+ NH_4NO_3 + KH_2PO_4			

図6. 培地へのジベレリンの添加および窒素、カリウム、リンの強化が発芽実生の成長におよぼす影響

6. 今後の方針

明らかになった無菌播種培地条件で各種の植物ホルモンを添加し、よつ葉誘導の可能性を確かめたい。