

組織培養について

生物 A1 班：磯村泰幸 木下裕仁 佐藤颯太 澤井真澄

1. はじめに

私たちは、生物の教科書に載っていた、ニンジン为例にとった植物の組織培養について大変興味をもちました。しかし疑問に思うこともいくつかあり、文献などを使って調べるうちに、自分たちの手で実験を行い、それについて、確かめてみようと思えました。

2. 実験目的

- ・私たちの身近にある様々な植物を無菌的に維持・培養し、それぞれのカルスの違いを確かめる。
- ・組織培養の対象とする植物体の摘出する部位を「根端」「塊根」「塊茎」とし、それらによる違いがある、またどのような違いであるかを確かめる。

3. 組織培養について

組織培養とは、既に分化して一定の役割を得た組織、組織片を無菌状態で維持・培養することです。分化している組織が、培養によって、脱分化し未分化な細胞の塊であるカルスになり、それが再分化することです。

この技術は現在、無病の個体（ウイルスフリーな個体）を一度で大量に増殖することができるので、栽培するのが難しい希少な植物の増殖や、新育種素材の作出、人にとって有益な効果をもつ成分を効率よく生産するために用いられています。

4. 実験

(1) 準備物

ニンジン、サツマイモ、ジャガイモ、ダイズ、クジョウネギ、次亜塩素酸ナトリウム水溶液 5%、滅菌水、オーキシシン、サイトカイニン、ナイフ、コルクボーラー、ピンセット、シャーレ、MS 培地、クリーンベンチ、オートクレーブ

(2) 実験方法

組織培養する植物の組織片を次亜塩素酸ナトリウム水溶液 10 分ほど漬けて、断面、表皮を滅菌します。そして、その滅菌した植物体の形成層部位をコルクボーラーで打ち抜き、表面のさらし粉に触れていた部分は除いて、内側を 1~3 mm ほどの大きさにスライスします。このように組織培養する植物体を適当な状態に整えれば、それを MS 培地に移します。管ビンに移す時には、組織片もピンセットもどこにも触れない状態で素早く作業を行います。

す。そして、約25℃に設定されたインキュベーターと呼ばれる恒温機のなかで、培養します。カルス化するときには光が遮断された環境で培養を行いますが、カルスから再分化させるときには、オーキシン、サイトカイニンを追加した培地に移し、それをインキュベーター内にライトを入れてカルスに照射しながら、培養します。ライトの照射時間は12時間ごとに照射、遮断を繰り返しました。



5. 結果と考察

1ヶ月ほど培養すると5mmだったニンジン（ニンジン）の薄片はカルス化し、15mmほどの大きさに膨張しました。ジャガイモは表面が黒変してしまうものが多くみられました。これはジャガイモが貯蔵組織であるゆえにデンプン含有率が比較的高く、思うように形成層部が摘出できず、デンプン質の部分が多くはいつており、そのデンプンが黒変したためだと考えました。サツマイモは今回実験した植物のなかでは最もカルス化しやすく、もとの大きさから4~5倍ほど大きくなりました。またサツマイモは、温暖な地域でよく栽培されているのに対し、ジャガイモは寒冷な地でよく栽培されています。これより、私たちは適温の差で、結果に大きな差が出たのではないかと考えました。

また、ダイズとクジョウネギは出芽した根を2~3mmにしたものをカルスにしようとしたので、断面積が小さく培養前との大きさを比較することが難しく、また変化がないようにみえました。しかし、いくつかでは、クジョウネギ、ダイズともにカルス形成培地の段階で、芽や根が伸び出したものがあらわれました。これらはカルスにならずに根端部から根が、基部に近い方から茎や葉が伸び出しました。これより、クジョウネギとダイズの根の組織は「極性」を失わなかったのではないかと考えました。

6. 参考文献

サツマイモ塊根の組織培養における不定根の発生について大阪府立大学農学部 山口俊彦
http://ci.nii.ac.jp/els/110000978577.pdf?id=ART0001155135&type=pdf&lang=jp&host=ci.nii&order_no=&ppv_type=0&lang_sw=&no=1373950
組織培養系による耐病性ジャガイモ系統の育成；ジャガイモのカルス誘導と植物体再生
http://ci.nii.ac.jp/els/110001726625.pdf?id=ART0001865570&type=pdf&lang=jp&host=ci.nii&order_no=&ppv_type=0&lang_sw=&no=1373950