

簡易組織培養法を開発し絶滅危惧種ナガサキギボウシを救え

長崎県立長崎南高等学校 土橋バイオグループ 八幡紗矢

1. 要旨

簡易組織培養法を開発しキク花卉を用いた組織培養でクローン苗の作成に成功した。この方法をもとに絶滅危惧種ナガサキギボウシの組織培養に挑戦し、クローン再生個体の作成することができた。ナガサキギボウシを緊急避難的に保護し、絶滅から救う方法として我々の開発した方法は有効ではないかと考える。



図1 ナガサキギボウシ

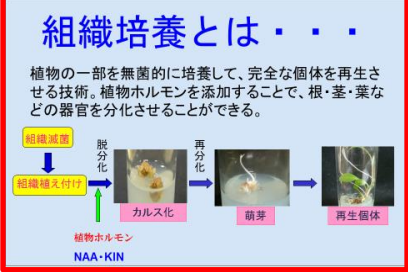


図2 組織培養の概要



図3 キクの花卉培養

2. 基礎研究「高校実験室でもできる簡易組織培養法の開発」

(1) 準備

ダンボールの無菌箱、100円ショップの除菌スプレー、ピンセット、カミソリ、100円ショップ除菌溶液を入れる50ml ビーカー、除菌スプレー溶液入りフタ付きガラス瓶、キクの花弁、MS培地、植物ホルモン(オーキシン類がNAA、サイトカイニン類がKIN)

(2) 方法

- ①ガスコンロで湯煎をし、2種類のホルモンを含有した培地を作る。その後試験管に分注して滅菌を40分行う。滅菌は蒸し器で行う。
- ②無菌箱に器具、キクの花弁、培地を入れ、除菌スプレーで箱内を除菌する。
- ③除菌したカミソリでキクの内側の花弁を切り取り、除菌剤入りフタ付きガラス瓶に入れて3分間殺菌する。
- ④除菌した花弁を箱内で培地に植えつける。
- ⑤植えた培地を27℃の暗所で静置する。3年間で20回1800本の培養実験を行った。



図4 工夫した点



図5 培地作成

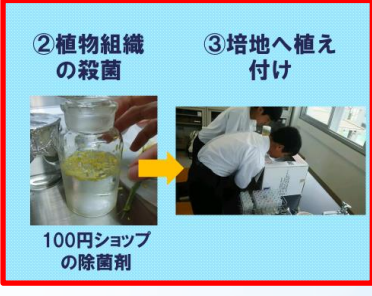


図6 実験の様子

(3) 結果

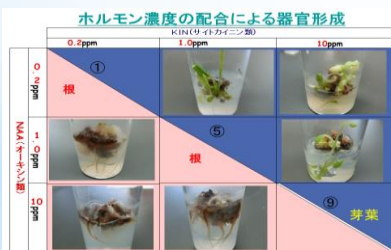


図7 器官形成結果

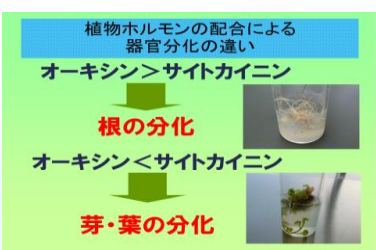


図8 ホルモンの特性



図9 簡易法の検証と普及

図7からホルモンの量が、NAA(オーキシン類) ≤ KIN(サイトカイニン類)の時は、芽や葉ができ、NAA ≥ KINの時に根ができることがわかった。萌芽と発根させるホルモンの濃度が特定できた。この方法を日本植物生理学会で発表し最優秀と認められた。また授業実験や長崎県教員研修で検証し、90%以上の成功をおさめた(図9)。ベトナムの高校生にも技術を伝授し、南高とベトナム高校生で合同研究を計画している。

(4) 考察

キククローン苗作成のスキームを作り上げた。高校実験室でも、大学や研究レベルで行われる組織培養は自作のダンボール無菌箱と除菌スプレーを使うことで研究可能であることを確認できた。これで絶滅危惧種ナガサキギボウシの組織培養実験に挑戦することができるようになった。

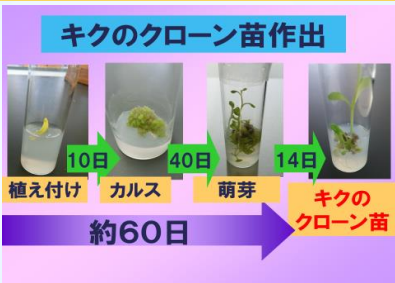


図10 クローン苗作出



図11 除菌剤と無菌箱

3 応用研究～絶滅危惧種ナガサキギボウシの組織培養～

1 概要

ナガサキギボウシは、ユリ科の植物で長崎の名前が入っているとおり長崎で発見された。近年イノシシや鹿の食害と自生地が開発されるなどで数が減少し、あと200個体程度しか長崎市内には残っていない絶滅危惧種である。今年3月末閉園した長崎県亜熱帯植物園からナガサキギボウシの保存の為、研究用に譲渡を受け、組織培養による増殖の研究に成功した。



図12 ギボウシの譲渡



図13 閉園の記事

2 (1) 準備と方法

「キクの花弁培養」と同じように行った。ナガサキギボウシの花茎・花弁・葉柄から組織培養を試みた。



図14 使用した部位

花茎・花弁・葉柄それぞれ下表①～⑨の組合せを2年間12回1080本培養実験を行った。

培養に用いた各ホルモン濃度			
NAA(ナファチン酸)	KIN(ゼアトカニン酸)		
	0.2ppm	1.0ppm	10ppm
	①	②	③
	④	⑤	⑥
1.0ppm	⑦	⑧	⑨

図15 ホルモン濃度の組合せ

(2) 結果

- ①花茎からの組織培養・・・カルス化もせず。
- ②花びらからの組織培養・・・カルス化もせず。
- ③葉柄からの組織培養・・・カルス化した。ナガサキギボウシはホルモン濃度がKINが1.0ppm, NNAが1.0ppmのときカルスから萌芽することを発見した。

各ホルモン濃度による葉柄の培養結果			
NAA(ナファチン酸)	KIN(ゼアトカニン酸)		
	0.2ppm	1.0ppm	10ppm
	①変化なし	②変化なし	③変化なし
	④変化なし	⑤変化なし	⑥変化なし
1.0ppm	⑦変化なし	⑧変化なし	⑨変化なし

図16 器官形成結果



図17 再生個体作成

考察 ナガサキギボウシの花や花茎は一時期しか手に入らない

葉柄はいつでも手に入る

ナガサキギボウシの葉柄は組織培養で増殖させるときに都合がいい！！

図18 考察

(3) 考察

今回の研究でナガサキギボウシの葉柄からクローン苗を作成することに成功した。一年のうちで一時期しか手に入れることができない花弁や花茎よりも春夏秋と手に入る葉柄のほうが培養するのに好都合と考える。クローンを作り出せる部位とホルモン濃度を特定したことは今研究によりナガサキギボウシが生育する環境が整うまで、この方法で保護・増殖させていくことが可能になったと考える。なぜ葉柄なのかは今後の課題となった。



図19 ナガサキギボウシの保護と増殖のスキーム

4. 研究のまとめ（結論）

今回手軽に実験室にあるものでキクの花弁からクローン苗を作り出す方法を開発した。その方法を用いてナガサキギボウシの再生個体を作り出すことにも成功した。ベトナムの高校生にも実験してもらったり、学会で評価されたことは、開発した方法は低コスト・短時間でいつでもどこでも誰でもできる方法と考える。ナガサキギボウシを緊急避難的に保護し、絶滅から救う方法としてこの開発した方法は有効ではないかと考える。