

生物多様性の保全のために 微酸性電解水をもちいた無菌培養 オートクレーブ、クリーンベンチを使わないバイオ実験技術の開発

朴木彩乃・梶 遥香・飯塚 翔・足立梨瑛・歌崎 聖
(兵庫県立大学附属高校自然科学部生物班)・田村 統 (同 顧問)

はじめに

野生生物を保護するための条約として、ラムサール条約、ワシントン条約に続いて1992年地球サミットで、生物多様性条約が採択された。条約発効年に日本も締結し1995年に生物多様性国家戦略が制定された。そして兵庫県においても生物多様性ひょうご戦略が2009年に策定された。

生物の多様性の消失は、里山やため池など私たちの身近な自然の中でも急速に進行している。その原因は開発や乱獲、生活様式の変化や管理不足、外来種の影響など多様である。

兵庫県立大学附属高等学校自然科学部では「地域の生物多様性の保全」「絶滅危惧種の繁殖技術の確立」などを研究テーマとして活動している。はじめに取り組んだのは姫路市の市花でもあるサギソウの無菌播種であった。すでに元姫路市立手柄山温室植物園長の上埜武氏や元兵庫県立人と自然の博物館研究員の永吉照人氏がサギソウの無菌播種に取り組んでおり、助言をうけながら実験したところ、播種後2年目には開花させることができた。

しかし、従来の無菌培養技術では農業高校など設備の整った限られた場所でしか実施できない。地域の個体群の保全のためには、もっと簡単に、経費をかけずに小学生でもできる無菌播種技術の開発が必要不可欠と考え、研究に取り組んだ。

方 法

無菌培地の製造

- ① 容器内の滅菌 ペットボトルなどの培養容器内に、培地の半分の量の微酸性電解水を入れて、ふたをしてよく振る。
- ② 培地の調整 通常の二倍の濃度で培地をつくる。
- ③ 培地の分注 培地を培養容器内に分注する。量は、容器内の微酸性電解水と等量にする
ことで、適正な培地濃度となる。
- ④ 培養容器を軽く揺るようにして、培地と微酸性電解水を混ぜて培地を滅菌する。
- ⑤ ふたとペットボトルの口に微酸性電解水を噴霧して滅菌し、ふたをする。

播 種

- ① 銅線で作った播種棒を、微酸性電解水で滅菌する。
- ② 次亜塩素酸ナトリウム1%水溶液で、種子（または果実）を滅菌する。
- ③ 播種棒の輪の部分で種子をすくい取る。
- ④ 培養容器の口に種子を持ってきて、微酸性電解水を噴霧し種子を容器内に散布する。
- ⑤ ふたとペットボトルの口に微酸性電解水を噴霧して滅菌し、ふたをする。

結 果

ハイポネックス培地や、ムラシゲースクーク培地では微酸性電解水による培地の滅菌成功率は95%以上と良好であったが、培地にバナナやリンゴ果汁を添加した場合、微酸性電解水では培地を滅菌することはできなかった。有機物を添加した場合、急速に微酸性電解水が分解され、十分に培地を滅菌できなかったと考えられる。

今後の課題

今後、有機質を添加した培地でも微酸性電解水で滅菌できないか手順などを再検討する。

さらに、多くの絶滅危惧植物の無菌培養を試み、微酸性電解水添加培地の効果を確認する。

種子の滅菌方法について、発芽し始めたときにコンタミがおこることもあり、種子の殺菌方法と発芽の影響について調べる必要がある。

培養中にコンタミするものも少なくない。培養中のコンタミの防止策について検討する必要がある。

移植するときに、コンタミすることが多く、移植方法について微酸性電解水を空气中に噴霧することで無菌空間をつくれぬか実験中である。

現在、「微酸性電解水添加培地」を利用して以下のような郷土の絶滅危惧植物の培養を試みている。【実験中の植物】 サギソウ ミズトンボ コバノトンボソウ セッコク シラン ウチョウラン イシモチソウ ササユリなど

謝 辞

本研究にあたり武田科学振興財団より助成金をいただいた。ここに厚くお礼申し上げる。

サギソウ

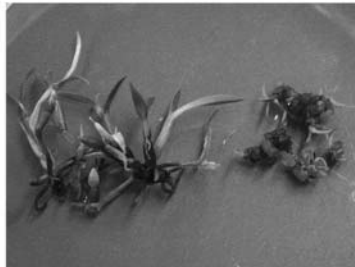
環境省RDB 絶滅危惧Ⅱ類
兵庫県 Bランク



良い種子を得られれば比較的容易に無菌培養可能である。休眠期間に室温で管理した場合、春になっても発芽しない塊茎が存在する。休眠打破するために低温が必要なかもしれない。現在、屋外で管理している培養容器の個体の発芽率を調べる予定である。

セッコク

兵庫県 Bランク

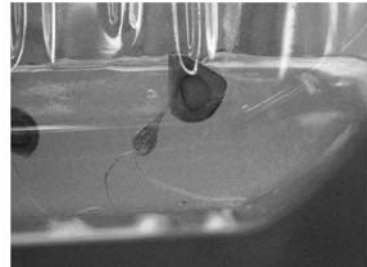


サギソウに比較して種子は小型であるが発芽率は高いようである。MS培地では正常に生育しているが、ハイポネックス培地ではカルス（多芽体？）化することが多い。

セッコクの仲間は薬用植物として利用している国もあり、容易な無菌培養技術が開発できれば、持続可能な生物資源の活用にも貢献できると思われる。

ササユリ

絶滅危惧種としての指定なし



開花まで5年前後必要といわれている。無菌播種により、開花までの時間を短縮できると考えられる。

里山整備により、個体数が増えているように思う地域もあれば、シカの食害のためか開花個体を確認できなくなった地域もある。

種子の発芽に1年近く必要なので、未熟種子を利用する方法を開発する必要がある。