

桜の花を咲かさばや

生物班

[キーワード] 茎頂培養、組織培養

1. 目的

一昨年先輩方が茎頂培養によって入善乙女キクザクラを増やそうとしているのを見て、興味がわいた。先輩方は茎頂からカルスを形成したが、シュートの形成には至らなかった。そこで、その実験を引き継ぎ、世界に一本しかないサクラを増やし、守りたいと思いこの実験を行った。

実験 I サクラの茎頂培養

[1] 培地の作成

培養の際、培地には植物に適した濃度の植物ホルモンを入れる必要がある。培地には WPM 培地を使用し、佐藤(1997)を参考に、植物ホルモンの濃度を変え 3 種類の培地を作成した。[表 1]

表 1 初期培地 ホルモン濃度

	佐藤	入善 A	入善 B
BA (mg/l)	4	1	4
IBA (mg/l)	0.1	0.1	0.1
GA (mg/l)	—	4	4

作成した培地は完全に固まっていないもの、液状のままのものなどがあったが、そのまま使用することにした。

[2] 3月上旬 茎頂摘出・培養

枝の採取の際、摘出しやすいようになるべく大きい花芽のものを選んだ。枝を入念に殺菌し、メスやピンセットを使って茎頂の摘出を行った。培地に地床



図 1 地床後の様子

した後は 25℃、3000lx で 1 か月以上培養し、経過観察を行った。[図 1]

[3] 培養結果

経過観察をし、結果は表 2 のようになった。

表 2 成長した本数

佐藤	入善 A	入善 B
2/4 本	3/7 本	2/4 本

成長したものは、半透明や薄い赤色の葉のようなものが形成されたもの[図 2]や、何の形成も見られず細胞の塊になったもの[図 3]の 2 種類に大きく分けられた。



図 2 形成された葉



図 3 細胞の塊

成長しなかったものの中には、カビが混入し、繁殖してしまったものもあった。(図 4)

[4] まとめ

カビの混入や成長しなかったものの原因として、茎頂をうまく摘出できていなかったと考えられた。また初期培地が固まっていないなど、培地が適正に作られていなかったことに大きな要因がある。



図 4 カビの繁殖した培地

実験Ⅱ 発根・植え替え

今回の実験では、茎頂採取の時期や培地作成の際の不備が多く、芳しい結果は望めなかった。しかしカルス化したものと小さく葉が形成されたものができた。カルス化したものは発根させるための発根培地に、葉が形成されたものはシュート形成のためにそのまま継代培地に移すことにした。

[1] 発根作業

発根させるために培地として、WPM培地に植物ホルモンを入れずにホルモンフリー(HF)培地を作り、サクラの茎頂からできたカルス[図5]を植え替えた。



図5 カルス化した茎頂

[2] 継代

葉が形成されたものは、植物ホルモンを入れた培地に移し替えた。継代培地の植物ホルモン濃度は1種類だけ作り、濃度は表3のとおりである。



図6 葉に分化した茎頂

表3 継代培地 ホルモン濃度

BA	1 mg/l
GA	5 mg/l
MS培地V	5ml

現在、経過観察中である。

Ⅲ. 6月茎頂の摘出

すでに分化し成長しなかったものに関して、桜の茎頂培養には本来12月～2月が適していると言われている。しかし、夏には花芽が形成されている。茎頂の摘出に適した時期の検討を図るために、6月の茎頂の摘出を行った。

[1] 茎頂の摘出

6月のサクラは葉が茂っており、茎頂を見極めるのが難しかった。また、今春に成長したと思われる枝も見られたため、去年の枝と今年度の枝を短く切って培地に挿し、先端の芽の部分も同様に

培地に挿すように接地した。

芽については、洗うことができず次亜塩素酸ナトリウムと70%エタノールをくぐらせて殺菌とした。

[2] 結果

芽については全てカビが生育してしまい、殺菌が十分ではなかった。

昨年度の枝では一部カルス化したものがあり、今後は培地を換えて分化を促したい。

[3] まとめ

6月の茎頂はうまく摘出することができなかった。しかし、挿し木の要領で実施は可能そうである。殺菌方法の検討を行い、3月まで続けて毎月茎頂の培養を行ってみたい。

2. 参考文献

・佐藤孝夫, 1997, 組織培養によるサクラ類の大量増殖

・実教出版 植物バイオテクノロジー

・入善高校 24年度課題研究

<http://nns.capture.jp/wp-content/uploads/scienc effftp/h24kadaiken/h24bio01sakura-p.pdf>