

ラベンダー葉からのカルス培養 ー褐色変化防止の試みー

福島県立湯本高等学校 理科部

1. 動機及び目的

理科部は、一昨年前よりラベンダーの葉からカルスを誘導する研究を始めた。ラベンダーは比較的身近に入手でき、カルス化までの時間が短く、様々な実験に使えろと考えたからだ。しかし、カルスはすぐに褐色変化し、その後の成長に影響が出てくるのが課題であった。今回は、褐色変化を遅らせるための方法を検討し、実験してみた。

2. 材料と方法

(1) 材料

ラベンダー スーパーセビリアンブルー



写真1 スーパーセビリアンブルー

(2) 培地の調整

①MS培地（継代・カルス誘導）

スクロース3%、2,4-D 1.0×10^{-6} M
カイネチン 1.0×10^{-6} Mを添加し、pHは5.8に調整し、寒天を8%添加した。圧力鍋で120℃で15分間高圧蒸気滅菌し、傾斜培地とし、冷蔵庫に保管した。

②1/2MS培地

MS培地濃度を半分にする。

③MS培地（ルテイン添加）

0.01%ルテインを加える

④MS培地（ルテイン添加）

0.01%ルテインを加える

(3) 植物材料の調整

ラベンダーの茎頂部より10cmを切り取り、洗浄後、70%エタノールで1分間、次亜塩素酸ナトリウム水溶液（有効塩素濃度2%）に30分間漬し、滅菌水で3回すすぎ、材料とした。

(4) 無菌操作

無菌箱内でメスを用いて、先端部のみ、または、長さ5mmを目安に葉を数片に切断し、培地に植え付ける。

(5) 初代培養（カルス誘導）

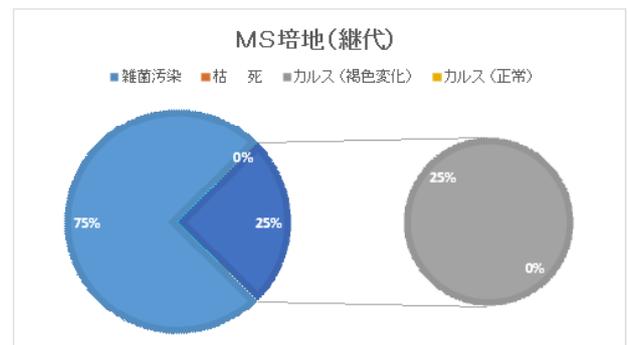
25℃の暗黒条件下で培養し、カルスを得た。

(6) 継代培養

明条件にし、25℃の温室で培養する。

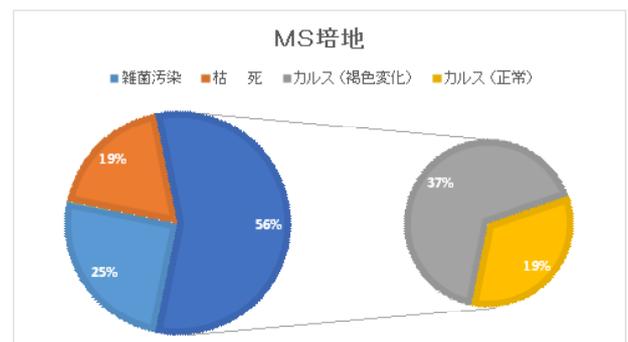
3 結果と考察

(1) カルスの継代培養

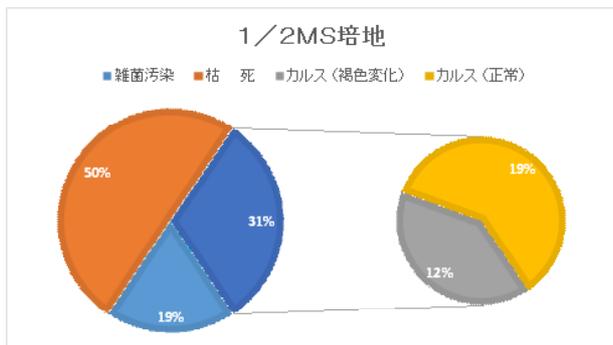


25%は正常に成長したが、全て褐色変化し、その後は枯死してしまつた。褐色変化したカルスは使用できないことが確認された。

(2) MS培地と1/2MS培地

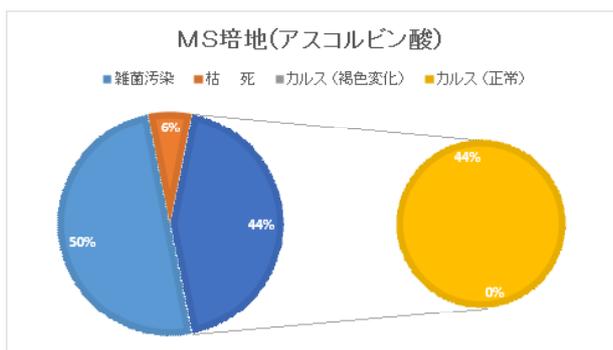
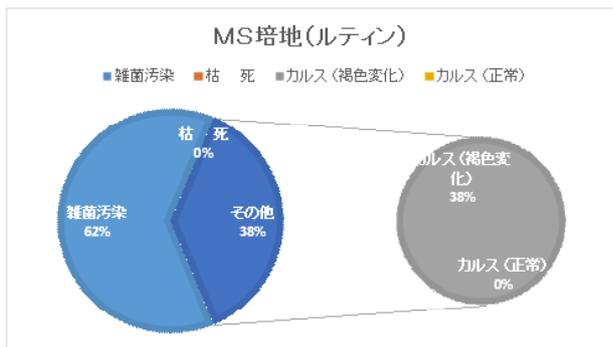


塩濃度を半分にしたMS培地を作成し、置床も切断部分を培地に埋め込むようにして、酸化防止を目指した。



培地に接する面積が少なかったためか、カルス化まで3週間に要した。また、1/2MS培地では枯死率が50%を越えてしまった。どちらもカルスを正常に保てたが、19%にとどまった。

(3) アスコルビン酸とルテインの添加



どちらも雑菌汚染が50%を越えており、ルテインでは得られたカルスは全て、褐色変化してしまった。

しかし、アスコルビン酸では、得られたカルスが全て正常な状態が維持できた。

4週間するとアスコルビン酸もすべて褐色変化してしまった。

以上のことより、アスコルビン酸を添加したMS培地では、2週間から3週間は、カルスが褐色変化することを遅らせることができると考えられる。今回の実験では褐色変化に対応する最も現実的な手段であると思われる。

4. 反省と課題

無菌操作については、まだ慣れていない部員が行ったため、高温のため枯死したり、雑菌汚染が発生したりしており、今後は改善を要すると考えている。また、アスコルビン酸の濃度や液体培養での使用等、今後の課題である。

継代培養がある程度できるようになれば、カルスを用いた有用な成分の研究、さらに、野生種など別のラベンダー種の培養などにも応用していきたいと考えており、引き続き研究していきたい。

5. 参考文献

(1) 植物・微生物バイテク入門

大澤勝次・久保田旺 編著

農山漁村文化協会

(2) 植物バイテクの実際

大澤勝次・久保田旺 編著

農山漁村文化協会

(3) 津呂正人・井上雅好 (1996)

ラベンダー葉由来カルス

における青色色素の生産

(4) 的場陽一郎・谷本 静史 (1997)

ラベンダーの茎葉液体培養

による精油生産

(5) 檜木博昭、本田計一、乾 全良、

渡辺克美、山田康之 (1983)

ラベンダー組織培養における再分化不定芽中の精油成分

(6) 日本植物生理学会 Web ページ

みんなのひろば 植物Q & A

「カルスの脱分化」

「植物カルスの色について

(色の違いと再分化能の関係)」