

簡単無菌培養技術の開発

國武明日香・原拓宏・進藤聡汰・寺田夏子・増田絢音・廣田乃愛・塩江真彩・熊橋桃子
兵庫県立龍野高等学校 自然科学部生物班

はじめに

サギソウは、姫路市の市花であり準絶滅危惧種に指定されている。

サギソウの環境教育の教材化にあたり、サギソウの増殖が必要である。ラン科植物の種子は胚乳がなく、種子による繁殖には無菌播種の技術が必要である。そして無菌培養には、クリーンベンチやオートクレーブなどの高価な設備や、耐熱性の培養容器が必要で、設備のない小学校の教育に取り入れることは難しい。

先輩たちは、解決策として「微酸性電解水とチャック付きポリ袋を利用した無菌培養技術」を開発した。その技術を継承し進化させるために、私たちは、微酸性電解水よりも容易に薬局やホームセンターなどで手に入る殺菌剤を使った、無菌培地の製造技術の確立を研究目的とした。

材料と方法

ホームセンターや薬局で容易に入手できる殺菌剤を、容器に培地を分注時に噴霧して、1週間以上実験室で放置して菌・細菌による汚染率を調べ、滅菌効果を確認した。培地はハイポネックス培地を使用し、培養容器はチャック付きミニポリ袋を使用した。

【培地材料】 ハイポネックス培地：水 1L ショ糖 20g ハイポネックス 2g ゲランガム 3g

【各種殺菌剤】 50mL 程度（噴霧使用量）

使用した殺菌剤 微酸性電解水（次亜塩素酸水）・次亜塩素酸カルシウム：商品名ケミクロンG

炭酸水素カリウム：商品名 カリグリーン ・ 5%過酸化水素水（オキシドール）

70%消毒用エタノール（含イソプロパノール）

【手順】

- ① 水にショ糖、ハイポネックス、ゲランガムを入れ、加熱し溶かした。培地の殺菌もかねて一分ほど沸騰させた。過酸化水素水についてはゲル化剤に寒天でも実験した。
- ② チャック付きポリ袋に溶液を袋の4分の1ほど入れた。この際、対照実験として殺菌剤を入れるものと入れないもの（対照）を交互に作った。培地が著しく袋の口付近についた場合は実験から除外し、少量の場合は使用している殺菌剤を噴霧して培地を洗い流した。
- ③ 培地を分注したポリ袋は、吊るしてゲル化させた。吊すことで液面を平面にできる。
- ④ 1週間以上保管し、ゲル化したらカビの有無などを調べ、汚染度を計算した。

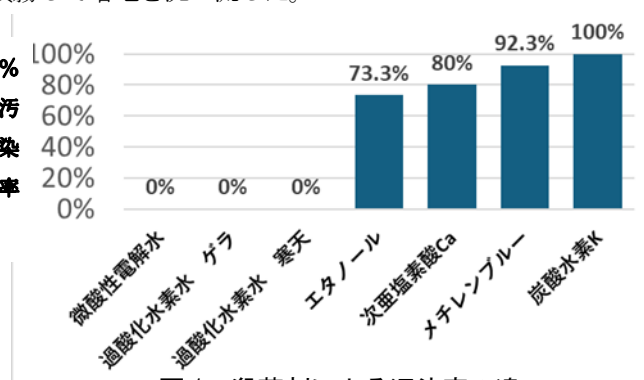


図1 殺菌剤による汚染率の違い

結果

オートクレーブを使用しない無菌培地の製造には微酸性電解水の代替品として、過酸化水素水が有効であることが分かった。

過酸化水素水は、分解すると水と酸素になるので、植物体にも悪影響はないと思われる。今後、無菌は種や組織培養につかい、植物体の成長に悪影響が無いかわかる予定である。