

バイオ生徒実験の手法の確立



兵庫県立龍野高等学校 自然科学部生物班

壺阪廉太郎 川島笙寛 顧問 田村統

研究動機

安価で簡単にできるバイオ実験の方法を開発したい



図1)オートクレーブ

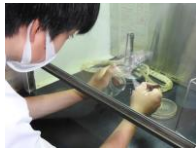


図2)クリーンベンチ

昨年までの成果

従来

滅菌方法 加熱, 次亜塩素酸ナトリウム液
培養容器 ガラス製のビン

昨年

滅菌方法 微酸性電解水(次亜塩素酸水)
培養容器 ペットボトル

安価で簡単な実験を開発



図3)ペットボトルでの培養

本年度の研究

培養容器として、チャック付きポリ袋を使用



図4)サギソウ



図5)スプレーギク



図6)チャック付きポリ袋

実験方法

■ 無菌培地の製造

- ① 培養容器となるポリ袋内に微酸水を噴霧し滅菌した。
- ② ビーカーにショ糖, MS培地, ゲランガムを量り、混ぜた。
- ③ 鍋に微酸水1000mLと②の培地をいれて加熱して溶かした。
- ④ ポリ袋に15mLずつ分注した。
- ⑤ 培地を固まるまで静置した。

*組織培養培地の場合は③の時点で、植物ホルモンを添加する。



図7)微酸水でポリ袋を滅菌

■ サギソウの無菌播種

- ① 微酸水とサギソウ種子を小瓶に入れて5~10分程度良く振って種子を滅菌した。
- ② 銅線の播種棒でサギソウ種子をすくいとり、袋内に播いた。
- ③ 種子の落下とコンタミの防止のため微酸水を袋内に噴霧した。



図8)銅線の播種棒で播種



図9)ポリ袋培地の様子

■ キク花卉の組織培養

- ① ピンセットで花卉を取り出した。
- ② あらかじめ、小瓶に微酸水と花卉を10枚程度入れて激しく3分以上振り滅菌した。
- ③ 微酸水で滅菌したピンセットを使用して、ポリ袋に花卉を2枚ずつ入れ、微酸水を噴霧し袋を閉じた。



図9)キク花卉の組織培養

結果

表1 チャック付きポリ袋を使用した無菌培地の製造

製造日	確認日	汚染数	滅菌率(%)	培地
1.20	3.21	0	100	MS培地
3.31	4.14	0	100	MS培地 植木
6.28	7.12	0	100	MS培地 植木
7.15	7.26	1	98.5	MS培地 植木

表2 サギソウの無菌播種 2023年1月実施

播種日	確認日	播種数	汚染数	発芽率(%)	培地
1.20	3.2	13	0	100	MS培地

表3 サギソウの無菌播種 2023年1月・7月実施

置床日	確認日	置床数	汚染数	汚染率(%)	形成率(%)	培地
1.20	4.14	20	0	0	45	MS培地 植木
7.15	8.2	23	2	8.6	100	MS培地 植木
7.16	8.2	9	0	0	100	MS培地 植木

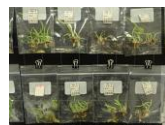


図10)サギソウの様子



図11)キク花卉のカルス



図12)ポリ袋培地の様子

考察

100%の成功率を求めないのであれば、クリーンベンチオートクレーブがなくても、微酸性電解水の使用により、サギソウの無菌播種やキク花卉の組織培養は可能である。

<校外での実験>

実験は経験のある生徒が行っているため、技術に依存する可能性があるが、校外での実験においても成功率は85%と良好な結果だった。

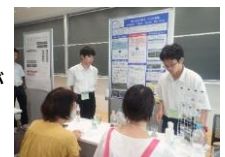


図4)日本生物教育学会で実習

参考文献

- 1) 市橋万貴子・藤野守弘 (1976) : キク小花培養の利用法, 兵庫県農業総合センター研究報告第5号 : 1-6
- 2) 土橋敬一 (2019) : 簡単にできる組織培養 ~授業実験でできるキクの花卉培養~, 啓林館生物授業実践記録 <https://www.shinko-keirin.co.jp/keirinkan/kou/science/seibutsu-jissen.html>
- 3) 田村統ほか (2010) : 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, 共生のひろば 5号, 53-54