

カルスの基本的研究

4年A組 山中祥五
指導教員 矢野幸洋

1. 要約

未分化の状態であるカルスについて、形成方法の確認を行い、カルスの効率の良い形成方法やカルス作成に適した植物の種類を調べた。それらの成果は細胞融合などの研究に応用できる。また、カルスの分化についても研究を行った。

キーワード カルス、形成層、細胞融合

2. 研究背景と目的

今までプロトプラストについて研究してきており、酵素を用いてプロトプラストを作成することができた。プロトプラスト以外のものを用いて細胞融合できないか調べていたところ、未分化の（茎、葉、根などに役割が決まっていない）状態であり、さまざまな組織になる可能性のあるカルスを用いると、より簡単に細胞融合ができるのではないかと考えた。そこで、カルスについて、まずどのような性質があり、どのような役割をするのかを調べることにした。

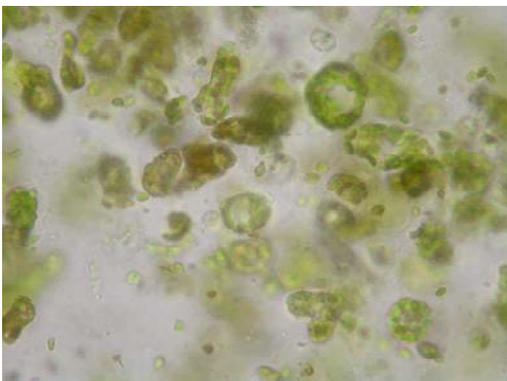


図1 プロトプラスト

カルスを確実に作るのは難しく時間もかかるので、一般的な方法を使い、カルスになるところを観察することで、さらに効率が良いカルスの生成方法を考える。最終的には、それによって作ったカルスを使い、プロトプラストとの細胞融合ができるのか、どのような反応が起こるのかなどを調べる。

4. 研究内容

(1)仮説

- ・組織培養は無菌状態を完璧にすればするほど成功率が上がる。
- ・カルスは形成層が見えやすいニンジンなどを使わないと作りにくい。
- ・カルスは培地の2,4-Dを調節することで分化することができる。

(2)研究方法

実験Ⅰ カルスの作成

器具を乾熱滅菌したものとそのままのものを用い、どちらもオートクレーブで処理した。この方法により乾熱滅菌の有無によるそのカルス形成の差を比べる。

また、材料には一般的にカルスの実験に用いられるニンジンとあまり用いられることの無いサツマイモを使ってカルス形成の差も調べる。

<方法>

- ① 培地はWhiteの培地にハイポネックスを加えたものを使用する。また比較実験のために 2,4-Dが入っていない培地（コントロール）も使う。コントロールを使ったのは、2,4-Dが入っていないとカルスにならないことを確かめるためである。なお、2,4-Dを含む培地にカルスを入れると分化が始まることが知られている。
- ② 材料は、形成層が分かりやすいニンジンと、形成層が分かりにくいサツマイモと使う。どちらも根の部分であるという共通点がある。



図2 ニンジンの形成層を取り出す

- ③ 恒温室に置いておく。



図3 サツマイモの根の一部を取り出す



図4 カルスの形成

<結果>

- ・5月14日 実験開始
- ・5月23日 B3の植物に変化あり。
- ・5月30日
B1, A4の培地にカビらしきものが発生した。またコントロール以外の植物自体にも変化があった。
- ・6月4日
A1, A5, B3 からカルス形成が観察された。それ以外の培地にカビが発生した。

表1 カルスの形成

	コントロール A	A1	A2	A3	A4	A5
植物	ニンジン	ニンジン	ニンジン	ニンジン	サツマイモ	サツマイモ
カルス生成	×	○	×	×	×	○
	コントロール B	B1	B2	B3	B4	
植物	サツマイモ	ニンジン	ニンジン	サツマイモ	サツマイモ	
カルス生成	×	×	×	○	×	

※A はビーカーを乾熱殺菌したもの、B は乾熱殺菌なしのものである。また個体を区別するために番号をつけた。



図5 ニンジンから作ったカルス



図6 サツマイモから作ったカルス

実験Ⅱ 分化の実験

学校に保存してあったカルスを用い、分化の実験をする。

<方法>

① 2.4-Dが入っていない培地にカルスを入れる（分化には2.4-Dは不要といわれている。）

② 恒温室に置いておく

<結果>

2個体を植え替えしたが、2個体とも5日ほどでカビが生えた。

4. 考察

- ・実験Ⅰでは成功率の低いカルスの実験が10個中3個成功して、まずまずの結果だと思われる。
- ・カルスの実験が成功するかどうかはカビが生えるかどうかで決まるので、殺菌を確実にしていない場合は成功しないと考えていたが、意外にも器具を殺菌したとき時と変わらないぐらいの成功率であった。結局、実験が成功するかどうかは実験中の管理が重要だと考えられる。
- ・よく使われるニンジンとの比較実験として使ったサツマイモが、意外にも成功した。ニンジンにかぎらず、いろい

るな植物でカルスを作ることができる
と考えられる。

- ・ニンジンでは形成層が見やすく、その形成層を使って実験をするが、形成層を使うのは盛んに細胞分裂をするからであり、成功率も高くなると思われる。
- ・実験Ⅱでは分化を確認する前にカビがはえてきたため、分化することを確かめられなかった。2個体ではあるが、分化の実験は成功率が低いことに気づいた。

6. 今後の課題

- ・ニンジン以外の植物でカルスを作ることが出来たのはかなり意外な結果だったので、今後は他の植物でもカルスを形成し、それを使えば何かもっと別の実験ができると思われる。例えば、違う種類を使った細胞融合などが考えられる。
- ・カルスはどんな植物からでも作れ、たくさん増やすことができる。そのため、効率の良いカルスの作成方法や分化させ、成長させる方法を発見することは大きな課題なので、まずはカビが生えないようにカルス形成をする方法を考える必要がある。また、根以外の部分からカルスを作成することも目標になる。
- ・一般的にカルスは植物が傷ついたときに傷口を覆うようにできる組織で、さまざまな細胞へと分化ができるという特殊な性質を持っている。そのようなことが細胞壁の無いプロトプラストと細胞融合することで、特別な反応が起こると考えられる。この点についても

今後詳しく調べていきたい。

6. 参考文献

- [1]「生物小事典」、丘英通・岩波洋造監修、三省堂
- [2]「わかりやすいバイオテクノロジー」、三井正洋他、評伝社
- [3]「フォトサイエンス生物図録」、鈴木孝仁監修、数研出版