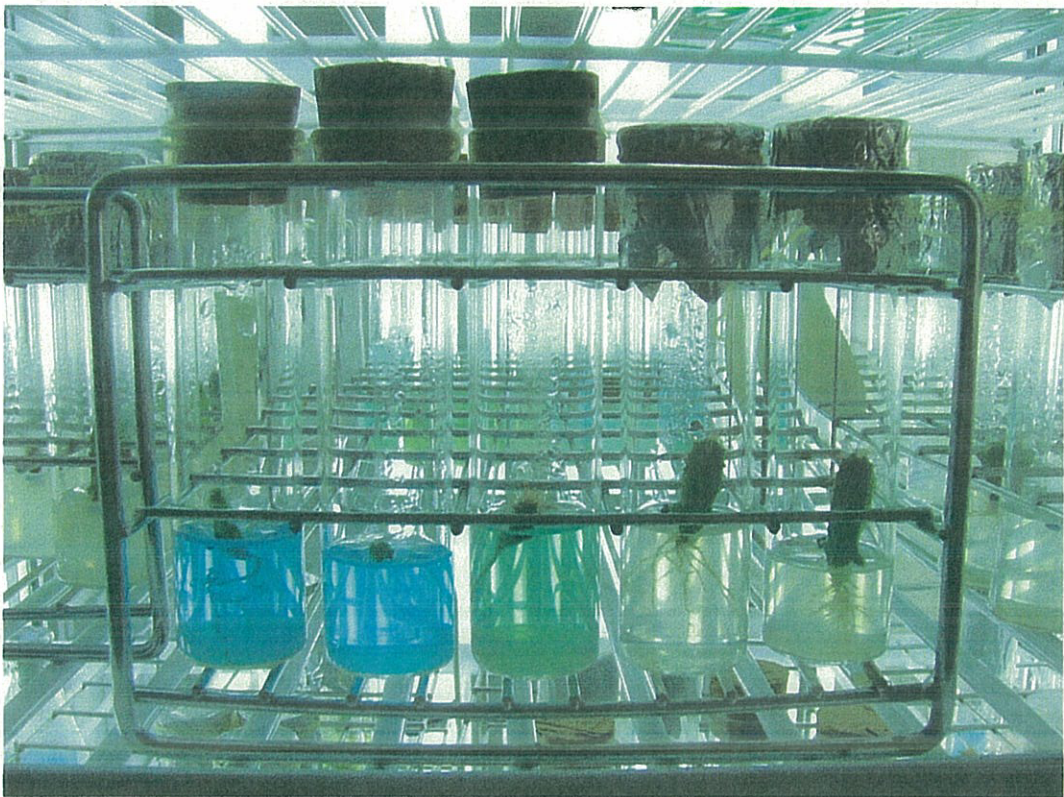


植物の特性を活かした 観賞用インビトロ・プランツの開発



青森県立三本木農業高等学校

生物工学研究室

(代表：植物科学科2年 三津谷慎治)

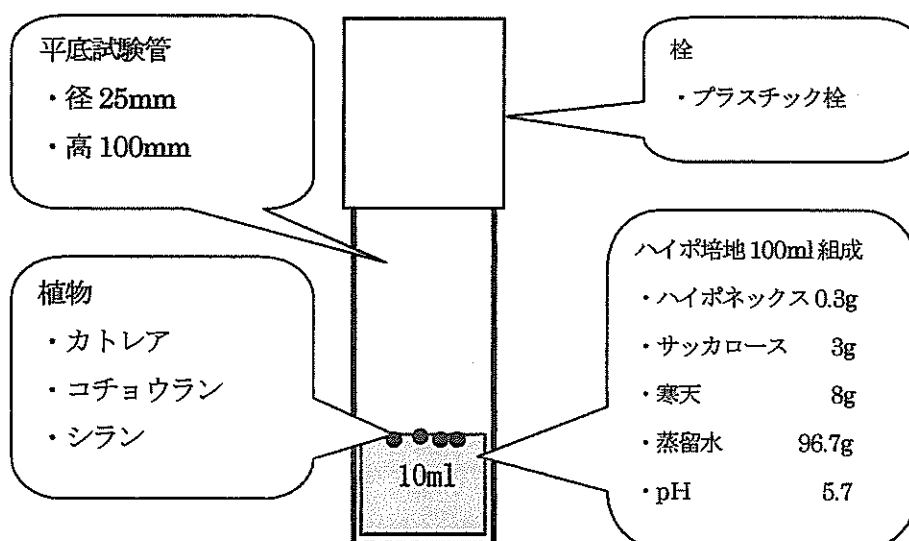
1 研究の動機

(1) インビトロ・プランツとは

現代社会では、だれでも少なからずストレスを感じており、その癒しのために植物を栽培する人が多い。しかしコンピュータワークをするオフィスでは、スペース不足や土・水分の問題から机の上に鉢花を置くことが難しい。そこで最近、透明なガラス容器内で育てるインビトロ・プランツが商品化され注目されつつある。

「インビトロ」とは「ガラス管（試験管）内で」という意味のバイオテクノロジー用語である。インビトロ・プランツとは、バイオテクノロジーの技術を応用して無菌状態のガラス管の中で育てる植物で、ガラス管内の培地（土代わり）に植物の生長に必要な栄養素が全て入っているため、水やりや手入れの必要がない。

私たち生物工学研究室では日頃、カトレアやコチョウランの培養をしているので、その無菌操作技術を応用して数年前から文化祭でインビトロの洋ランを販売している。容器は観賞用のため、小型の平底試験管を使っている。仕様は次のとおり。



※培地に種子を無菌播種したり、幼苗を無菌的に植えつけて販売する。

(2) 寄せられた苦情

私たちが自信を持って市民にお分けしたインビトロ・プランツについて、追跡調査をした。すると次のような苦情がたくさん寄せられ、ショックだった。

【おもな苦情】 12 件

- ①最初は葉がきれいな緑だったが、しだいに白く透き通るように変色してきた (10%)
- ②半年以上たつと葉が茶色に枯れてきた (21%)
- ③試験管の中に葉や根が繁茂してきれいじゃない (41%)
- ④手間いらずだが思ったより鑑賞できる期間が短い (23%)

※しかし、洋ランの培養をしている私たちにとって、白色・透明、褐色に変色する現象は珍しいことではなかった。どちらも培養している途中で時々起こる現象だからである。

(3) 苦情の原因

①白色・透明化→原因は容器内の多湿

水侵化とか膨潤化ともいう。培養器内の植物組織中の細胞間隙（細胞と細胞の隙間の空間）に液体が満たされて組織が透明化する現象で、容器内の多湿（容器内湿度は約100%）が原因である。教科書ではビトリフィケーションと記載されている。これについての有効な防止策を農業生物資源研究所に質問してみた。

→農業生物資源研究所の回答

培養容器の通気をよくするといくらか防ぐことができる。ビトリフィケーションとは液体を急速冷却したときに起こる無定形に固化する物理現象のことを指す場合が多いため、混乱をさけるために使わないほうがよいでしょう。現在は Hyperhydricity（ハイパーハイドリシティ）と呼んでいます。…教科書が間違っていた！

②茶色・褐色化→原因は二酸化炭素濃度の低下

培養容器は雑菌の混入を防ぐために、口を栓で密閉しているため容器内は外気から遮断され通気性はない。そのために容器内は二酸化炭素濃度が外気の30%以下と極端に少なく、植物が光合成するには極めて厳しい条件にある。したがって光合成量が低下し長期間置くと褐色に変色し枯死していく。一般の培養ではその前に次の容器に移植するのでこのような現象は起こりにくい。（大気中のCO₂濃度350ppm、容器内のCO₂濃度100ppm以下）



【白色・透明化】



【褐色枯死】

③短い鑑賞期間→生長の早さが問題

半年もすると容器内に葉や根が繁茂して、鑑賞に値しなくなるという苦情を確かめるために、実際に長期培養してみた。その結果、次のような結果となった。

植物名	無菌播種から繁茂するまでの月数
カトレア	約10ヶ月
コショウラン	約10ヶ月
エキザカム	約3ヶ月
ユリ	約6ヶ月
イチゴ	約3ヶ月
シラカバ	約10ヶ月



容器は高さ100mm、径25mmの平底試験管とし目視で判断した。結果として、一般の植物

で小型培養器内では3～6ヶ月、生長が遅い洋ラン類でも10ヶ月で繁茂することがわかった。鑑賞を考えるとさらに期間は1ヶ月以上短くなる。

2 研究の目的

- (1) 観賞用インビトロ・プランツの開発
- (2) 健全に長期観賞を可能とする技術の開発

3 改善策

■培養器の換気実験

(1) 実験の目的

培養技術の中には、容器に換気用穴を開ける方法がある。その際、穴には空気を通すが雑菌は通さない「メンブランフィルター」をとりつける。そこで培養器のプラスチックキャップに穴を開けてメンブランフィルターを貼り付けて変色を防ぐことにした。

- 【実験方法】**
- ①植 物：カトレア
 - ②培 養 器：高さ100mm・径25mmの平底試験管（リムなし）
 - ③キャップ：プラスチックキャップの上部に約5mmの穴
比較するためのコントロール区のキャップは無穴
 - ④換気方法：メンブランフィルター
 - ⑤測定方法：ア 1ヶ月たった容器の重量変化を測定（植付けなし）
イ 200日たった植物重量変化の測定

【実験結果】

①培地重量の変化

試験区	培養器重量	30日後重量	培地重量の減少
コントロール	34.8g	34.6g	0.5%
換気容器区	34.4g	30.7g	10.7%

→メンブランフィルターを通して培地の水分が蒸発し、1ヶ月という短期間で培地重量が減少した。

②200日後のカトレア増加重量比較

比較区	増加重量	増加率(コントロール比)
コントロール	0.057g	-
換気容器区	0.178g	305%増

※換気容器区は、二酸化炭素など外気の供給により従来の区より約3倍も植物重量が増加することがわかった。また問題だった変色も見られなかった。

(2) 実験の考察

ランの生長が健全に促進されたのは良いが、200日も経過すると培地が乾燥のために減少している。さらに過乾燥で寒天培地が割れ始めているものも多く見つかった。したがって換気によって長期間培養することはできなかった。改善策は失敗だった。



【培地の減少（右：換気区 左：コントロール）】



【200 日後のひび割れた培地】

4 新インビトロ・プランツの開発方向性…ポイントは植物のカ

インビトロ・プランツは苗生産のための技術であり、密閉された培養器の中で長期間育てることは前提にない。いくら調べても①多湿②低二酸化炭素濃度という過酷な環境に耐え、なおかつ健全にゆっくりと生長させる技術は見当たらなかった。そこで私たちの培養技術では限界と判断し、植物が最初から持っている能力によってこの問題を解決できないか発想の転換をしてみた。そこで光合成について調査してみた。

（1）植物と光合成の種類【埼玉大学細胞生化学研究室ホームページより】

■C3植物

光合成の初期産物として、炭素数3の化合物を生成するのでC3植物という。C3植物では、カルビンベンソン回路に大気中から直接炭酸を取り入れて光合成を行う。したがって光をいくら強くしても、二酸化炭素濃度は一定なので光合成速度は上がらない。C3植物の光合成能力は、CO₂濃度が少なくなると低下する特徴がある。イネ、麦類、ダイズなど多くの植物がC3植物である。

■C4植物

C4植物では炭酸を取り込んだ後、炭素数4の化合物にしてからカルビンベンソン回路に送り光合成を行う。そのためカルビンベンソン回路に導入する二酸化炭素濃度をあげることが出来、C3植物よりも、効率的に炭酸を利用できる。つまりC4植物の方が一般にC3植物よりも光合成能力が高いといえる。代表はサトウキビやトウモロコシである。

■CAM植物

砂漠などの多肉植物や、同様に水分ストレスの大きな環境に生息する着生植物に多く見られる。C4植物がCO₂の濃縮、還元を葉肉細胞と維管束鞘細胞と場所を分けて行っているのに対し、CAM植物は夜と昼で時間的に分けて行う。そのため、C4植物は通常のC3植物と比べて1日当たりの光合成速度が速く、生長速度も速い。しかしCAM植物は日中に二酸化炭素の取り込みを行わないので、1日当たりの光合成速度が大きく制約され、生長も遅くなるが夜CO₂をリンゴ酸の形で濃縮できるので、低二酸化炭素環境や高温でも生育ができる。CAMとはベンケイソウ型有機酸合成のことで Crassulacean Acid Metabolism の略である。サボテン、アロエ、パイナップル、ランではカトレア、コチョウラン、デンドロビウムが入る。オンシジウム、シンビジウムはC3植物である。

■ 検討の結果…サボテンに決定

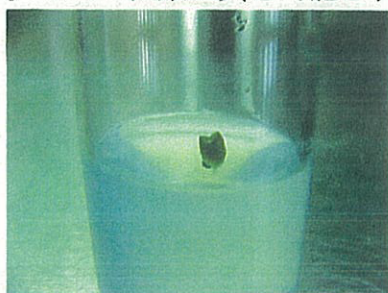
C3植物では過酷な環境に耐えられない。C4植物では二酸化炭素濃縮機能があり耐えられそうだがトウモロコシやサトウキビなど植物体が大きいうえ生長が早いので、適さない。CAM植物には二酸化炭素濃縮機能がある。しかし同種のランでは繁茂と変色がおきている。そこで①葉が厚く過酷な環境に耐えられそう②生長が遅く形もユニーク③サボテン園の聞き取り調査の3点から植物をサボテンに変更することにした。

■ 夜越山サボテン園での聞き取り調査

サボテンは生長が遅い多肉植物で乾燥地に多く見られる。「サボテンは水がいらぬ」は誤解で「サボテンは水が少なくても生きられる植物」である。自生地は乾季と雨季がある地帯で水を好む植物である。ただ多湿はさけるべきである。

5 サボテンのインビトロ化

サボテンの種子を購入して、直接平底試験管に無菌播種してインビトロ化することにした。培地はランの場合と同じハイポネックス培地である。(1頁参照) サボテンは播種後約1週間で発芽(双葉展開)、2週間過ぎると最初のトゲが出てきた。あまりのかわいらしさに驚いた。そこで長期鑑賞を可能とするためにさまざまな実験を並行して行った。



【サボテンの発芽】



【サボテンのトゲ】

■ 施肥量と生育の関係試験

(1) 実験の目的

長期鑑賞を実現するため、肥料分であるハイポネックスを減らし生育を遅らせる。

【実験方法】 ①ハイポネックス 0.3g 区 (標準) ※培地 100ml 当たり
 ②ハイポネックス 0.15g 区 (1/2) その他の成分は1頁参照
 ③ハイポネックス 0.07g 区 (1/4)

【実験結果】 (植え付け4月2日 → 調査日6月8日)

試験区	標準	1/2	1/4
サボテン重量	0.11g	0.09	0.08
標準との比較	—	-19%	-27%

※データはサボテンを容器から取り出し電子天秤で測定した平均値

(2) 実験の考察

この結果、ハイポネックスが減るとサボテン重量も減ることがわかった。しかし予想したより大きな変化はなかった。理由として植物は葉から水分が蒸散することで根から養水

分を吸収する仕組みだが、インビトロは多湿のため蒸散が少ない。そのため培地から栄養を吸収するスピードも極めてゆっくりであることが考えられる。結論として①予想以上に生長が遅いこと②いくら長期鑑賞のためでも施肥量を減らすことはサボテンにとって、不健全であることの2点から施肥で生育を遅らす方法は断念することにした。逆に長期間健全に育てるために、培地量を従来の一瓶 10ml ではなく 15ml に増やすことにした。

■明暗期と生育の関係試験

(1) 実験の目的

今までサボテンは24時間照明のついた人工気象器で培養していたが、CAM植物は夜、二酸化炭素を吸収・濃縮するという特殊機能がある。この機能によって低二酸化炭素環境でも生育ができるのであれば、培養中に夜と昼を設定する必要があるのではないかと考えた。

【実験方法】 ①慣行区：温度25.5℃ 照明：24時間照明（常に明期）
 ②改善区：温度25.5℃ 明期・・・6～18時
 暗期・・・18～6時 ※タイマー管理

【実験結果】 (植え付け4月2日 → 調査日5月29日)

試験区	サボテン重量	基準との比較	植物体の色
慣行(明期)	0.05 g	—	薄茶色
改善(明暗期)	0.14 g	+280%	緑色



【慣行 改善】



【人工気象器】

(2) 実験の考察

仮説どおり、夜を設けると生育が良かった。二酸化炭素を吸収・濃縮することができたからだと考えられる。また植物体もきれいな緑で、健全に育っていることがわかった。しかし明期だけの慣行区は、CAM植物の特性を発揮できなく生育が悪かった。また常に光を受けたためにやや日焼け現象を起こしている。顕微鏡で表皮を観察したところ、表皮が赤茶色にただれていた。砂漠の暑いところで育つので日照は多いほうが良いと思ったサボテンだったが、意外にも長期にわたる日照は障害を与えることがわかった。人工気象器で24時間照明という特殊環境で培養してきたが、かえって昼夜のある机上の方がサボテンの生育をサポートできることが分かった。2年たった現在でも生育している。

■照度と光量子量の実験

(1) 実験の目的

サボテンは長期の強光で日焼けすることがわかった。そこでどの程度の明るさがあれば良いのか、また光の色（波長の違い）によっても変化があるのか実験した。実験にあたって、小型で簡単に一定の明るさが確保できる発光ダイオード（以後LED）で実験用照明を自作した。測定は照度計を使用した。

【実験方法】 平底試験管に無菌播種したものから、平均的な大きさのものを選び、次の色のLEDを容器から4cm離れたところから照射した。

①赤LED 照度 2000 Lux

②青LED 2000 Lux

③白LED 2000 Lux

④緑LED 2000 Lux 照明：12時間照明（明暗期）

【実験結果】 2ヶ月後にサボテンを容器から取り出し、変化を観察した。ただし重量は最初に測定していないので目確認だけとした。結果は次の写真の通り。



【緑 白 青 赤】



【自作LED実験装置】

(2) 実験の考察

①赤LED

サボテンは、日焼け現象をおこし黒褐色に変化した。またトゲより下の部分が短く硬くがっちりしている。しかし根は短くあまり発達していない。草丈が一番低い。

②青LED

緑の次に草丈が高い。一般的な濃い緑色の表皮である。根も長く健全に生育しているのがわかる。

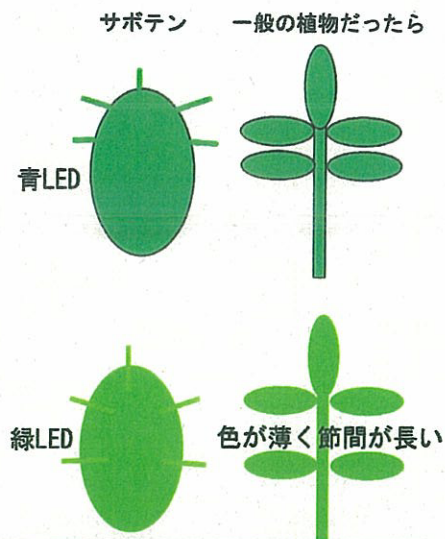
③白LED

草丈、表皮の色は青と赤の間。やや褐色だが、草丈はほぼ青と同じぐらい。白色LEDには赤の波長が少し含まれているので、やや日焼けを起こしていると考えられる。

④緑LED

草丈が一番大きかった。また表皮はきれいな薄黄緑色である。またトゲから下の部分

が長い。同程度の草丈（約2cm）の青と比較すると、トゲとトゲの間の距離が長いのがわかった。その間隔は青で1mm程度、緑3mmもある。一見、健全な生育をしているように思えたが、私たちは徒長していると判断した。（右図参照）なぜならトゲは一般の植物の葉に当たる部分である。葉と葉の間（節間）が長いのは日照不足による徒長と同じ現象である。また色が黄緑色というのも日照不足による徒長の現象である。この仮説を確かめるために健全だった青LEDと緑LEDの光量子量を測定してみた。



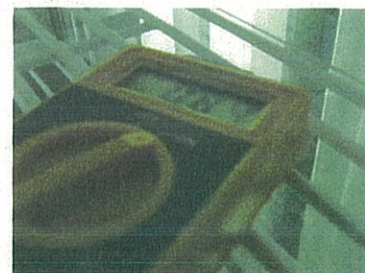
【光合成有効光量子束密度(光量子量)とは】

植物が光合成に使う波長は400nm～700nmである。明るく見えても光量子量が足りないと植物は生育できない。そこで光量子計を使って光合成に必要な光量子量を測定した。単位はp pF。植物の生長に必要な光量子量と各場所の光量子量は次のとおり。

- ・葉菜類(レタス他) 約 200～400 p pF
- ・トマト、果樹類 約 400～1000 p pF
- ・夏の晴天下 約 2000 p pF
- ・ビニールハウス内 約 40～700 p pF

【測定結果】

- ・青LED 89 p pF
- ・緑LED 27 p pF



【光量子計】

測定結果から判断しても、緑LEDの光量子量は少なくサボテンは徒長したと考えられる。理由として、植物が光合成するために必要な波長の多くは青と赤であり、緑はほとんどが使われず反射されてしまうからである。よって緑だけの光では日照不足になった。

この実験をまとめてみると、同じ照度のLEDでも①赤は日焼け障害を与える②緑はサボテンに徒長を起こすことがわかった。最適な波長は青または白の光であった。また人工気象器を使った白色光の照度実験の結果、光量子量が100 p pF付近で日焼け現象が起きることがわかった。実験の結果、インビトロのサボテンに適する光量子量は50～60 p pFであった。この光量子量は明るい室内と同じであることから、インビトロのサボテンは十分、オフィスの机上でも補助光なしでも生長できることがわかった。

■変色培地の実用化試験

(1) 実験の目的

サボテンはそのユニークな形状から花が咲かなくても目で十分楽しめる。(従来の洋ランであっても容器内では咲かず、美しい緑を鑑賞するものである。)しかし、せっかくのインテリアなので色が次第に変化していく楽しい培地を作ってみることにした。

【実験方法】

pH指示薬を混ぜた培地を作る。指示薬にはいろいろなものがある。

薬品名 : PB (フェノールブルー)	pH測定有効範囲 : 3.2~5.6
PP (フェノールパープル)	3.4~6.4
BCG (ブロムクレゾールグリーン)	4.0~5.6

インビトロ・サボテンの培地pHが5.7であることから、BCGを使うことにした。ブロムクレゾールグリーンは少量のアルコールに0.1gを溶解し、100mlにメスアップする。これを培地に混ぜきれいな青色にする。培地を固めるには寒天ではなく透明度の高いジェランガムを使用するとよりきれいに見える。

【実験結果】

無菌播種してから約3ヶ月を過ぎた頃から、培地の色が青から青緑に変化してきた。BCGはアルカリ性だと青、酸性になれば黄色になる指示薬である。畑の土壌が作物の生長に従って酸性に傾いていくのと同じ現象が培地の中で起きていることを実感できた。単に目で楽しむだけでなく、利用者が学習できるインテリアになると感じた。変化は次の写真のとおり。



【播種直後 (青) 2ヶ月後 (青緑)】



【BCG 左から pH6→5.5→5→4.5→4】

6 研究のまとめ

- (1) CAM植物のサボテンを用いると長期鑑賞が可能なインビロプランツができる。播種2年後の今でも容器内で健全に生長している。
- (2) サボテンは昼夜あった方が健全に育つ。机上に置くだけでよい。
- (3) 培地は20~50%増しにして長期培養にそなえると良い
- (4) 培地はジェランガムを使うと透明度があがりきれいに見える。
- (5) サボテンに適する光の波長は青または白なので、机上で特別な光を与える必要はなく自然光で十分生育可能である。
- (6) まったく管理がいらすスペースもとらない。さらにひっくり返しても水分がこぼれないので目標であったコンピュータワークをするオフィスを癒すことができた。

■サボテンが多湿環境に強かった理由を最後に考えてみた。

①培養植物をサボテンに決めた際、多湿に弱いので無理だといわれた。しかし、調べてみると根腐れが起こるからというのが理由であり、多湿に弱いというのは土壤水分のことだと考えた。培地は水分70%台といわれるが液体ではなかったのが良かった。



②では、なぜサボテンは空中湿度が高くても、白く水浸状に変色しなかったのか？



③サボテンは葉をトゲに進化させた。そして水分を太くて丸い幹に蓄えるようになった。



理由①…サボテンは、カトレアなどと違い多肉質である。さらに植物体は蠟物質で覆われている。このことが細胞の間に水分が染み込み、変色するのを防いでいるのかもしれない。蠟で覆われているのは、高温の日中でも体内の水分が逃げていかないようにするためだとか、表皮についた露（水分）をワックスで粒にさせ、根元に落とすためだとかいわれている。（くわしくは未解明）

理由②…もともとサボテンは幹に大量な水分を蓄えている。約90%とも言われている大量な水分を普段から蓄えていることで、空中が多湿でもあまり変化が起きないのかもしれない。

理由③…サボテンは砂漠で自生しているものが多い。砂漠は一見水分がないように見えるが、地域によっては昼夜の温度差が大きく、霧が発生する夜は低温多湿のところも多い。サボテンが霧などの水分を利用していることから考えると、容器内の高い空中湿度に耐えられるのは、ある時期の自生地と同じ環境であり、当然適応する能力を備えているはずである。

7 今後の課題（たかがサボテン、されどサボテン）

サボテンは乾燥にも強く、多湿でも強いすぐれた水分管理能力があると感じた。今は地味で生態など詳しく解明されていないサボテンだが、この能力は将来の地球温暖化に伴う異常気象に耐えられる作物を開発するのに役立つ可能性がある。今後はインビトロ・サボテンを多くの方に楽しんでもらうとともに、その不思議のメカニズムも探してみたい。

8 参考文献等

参考文献：植物組織培養の新段階（農文協：古在豊樹著）
埼玉大学細胞生化学研究室ホームページ
相談協力：独立行政法人 農業生物資源研究所
鳥取大学乾燥地研究センター
青森県平内町営「夜越山サボテン園」



【播種20ヶ月後の様子】