

# 組織培養によるムロウテンナンショウ *Arisaema yamatense* Nakai(サトイモ科)の増殖

永吉 照人<sup>1)</sup>\*・小野 一<sup>2)</sup>・鈴木 武<sup>1)</sup>\*・畠中 知子<sup>1)</sup>\*

<sup>1)</sup>兵庫県立人と自然の博物館 生物資源研究部

<sup>2)</sup>神戸大学名誉教授

## Propagation of *Arisaema yamatense* Nakai(Araceae) by Tissue Culture

Teruto NAGAYOSHI<sup>1)</sup>, Hajime ONO<sup>2)</sup>, Takeshi SUZUKI<sup>1)</sup> and Tomoko HATANAKA<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Division of Biological Resources, Museum of Nature and Human Activities, Hyogo, Yayoigaoka 6, Sanda, 669-13 Japan

<sup>2)</sup> Professor Emeritus of Kobe University, Matugaoka Jyutaku 13-204, Matugaoka 1-4, Akashi, 673 Japan

### Abstract

Corm meristematic tissue of *Arisaema yamatense* Nakai was cultured on Murashige & Skoog media (Murashige and Skoog, 1962) supplemented with 3% sucrose and growth regulators (NAA, Kinetin, 2,4-D, and BA) in several combinations. Developed corm-like tissues were subcultured. These corm-like tissues differentiated to primordial stems and roots and they grew to stems and roots. This redifferentiation ability has been maintained for two years.

**Key words:** *Arisaema yamatense* Nakai, Araceae, tissue culture

### はじめに

現在、わが国に自生する維管束植物はおよそ5300種であり、そのうち約1800種は日本列島に固有の種と言われている。ところが、近年大規模な自然破壊や汚染、採取等のために、その17%にあたる895種が絶滅の危機に曝されている(わが国における保護上重要な植物種及び植物群落の研究委員会植物種分科会, 1989)。野生植物は、それ自身が地史的変遷を経て進化した結果を示す歴史的産物であり、学術的研究の対象としてばかりでなく、教育や健全な情操の発達には欠くことのできない文化的遺産である。したがって、絶滅の危機にある種を保存・増殖させることは我々の義務であると考えられる。

絶滅の危機にある植物の増殖には、種子による有性的な繁殖法と挿し木や取り木、組織培養等による栄養繁殖法がある。遺伝的多様性を維持するには種子による繁殖法が有利であるが、種子が得

にくい種や発芽率が低い種、あるいは種子の長期保存が難しい種の場合、組織培養法等の栄養繁殖法が有効である。

兵庫県は北は日本海に面し、南は瀬戸内海に浮かぶ淡路島を擁し、地理的・気候的に変化に富み、豊富な植物相に恵まれている(紅谷, 1971)。しかし人口増に伴うニュータウンの建設やゴルフ場の建設などの開発事業により絶滅に瀕している植物も少なくない。

サトイモ科テンナンショウ属(*Arisaema*)は地方的変異が大きく、狭い地域に限定された分布を持つ種を多く含む(Ohashi and Murata, 1980)。したがって、自生地が改変、破壊されることにより、種の存続が難しくなる種が多いと考えられる。兵庫県下に分布するテンナンショウ属のうち、ユキモチソウ(*A. sikokianum* Franch. et Sav.)は危急種(わが国における保護上重要な植物および植物群落の研究委員会植物種分科会, 1989)に、セツピコテンナンショウ(*A. seppikoense* Kitam.)は兵

庫県希産植物種(藤本・斉藤, 1973)としてあげられており, 早急な保護が必要である。特にセツピコテンナンショウは, 兵庫県雪彦山と笠形山で生育しているのが観察された報告があるのみで(紅谷, 1971; 矢野, 1973; 藤本・斉藤, 1973), 非常に稀な種である。そこで今回は, テンナンショウ属植物の栄養繁殖法による保存・増殖の可能性を検討するために, セツピコテンナンショウに比較的近縁と考えられるムロウテンナンショウ(*A. yamatense* Nakai)を用い, 組織培養による継代維持と再分化による幼植物体の育成, 馴化についての実験を行った。

### 材料および方法

ムロウテンナンショウは兵庫県多紀郡篠山町で採取した。地下茎は偏球形を示し, その上部および地下茎と偽茎の間から多くの根が出ている。また発根部には副芽が認められ, 発根部を含む地下茎の上部は分裂組織を形成しているものと考えられる。そこで地下茎上部を切り取り, 培養に用いる外植体(explant)とした。

まず地下茎を水洗した後, 根を切り落とし, 70%アルコールを含ませた脱脂綿でよくふいて予備滅菌し, 発根部を含むように輪切りにした。次に10%クロールカルキ液に浸し, 減圧下で10-15分間滅菌した。滅菌した蒸留水で3回洗った後, 組織を5mm角の大きさに細分して培地に植え付けた。

初代培養には Murashige and Skoog の基本培地(MS培地)(Murashige and Skoog, 1962)を用い, カルス誘導のための培地には, 生長物質として $10\mu\text{M}$   $\alpha$ -naphthaleneacetic acid (NAA) +  $1\mu\text{M}$  Kinetin (K) を添加した培地と  $10\mu\text{M}$  2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) +  $7\mu\text{M}$  6-benzylaminopurine (BA) を添加した培地の2種類の培地を用いた。ショ糖濃度は3%とし, 固化には0.2%のゲルライトを用いた。培地のpHを5.8に調整した後50ml容の培養ビンに10mlづつ分注して120°Cで20分間滅菌した。

地下茎切片を置床した培養瓶は25°C連続照明(約 $30\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ )の培養室に置き, 約4週間ごとに新しい培地に継代した。数回培養を繰り返した後, 培養物の一部は移植の際上記の2つの培地を交換

して培養し, 前培養条件の影響を調べた。また継代培養の際, 生長ホルモンを添加しないMS培地(HF)にも移植をおこない, その再分化に対する影響も調べた。培養中に茎葉及び根を持った小植物体が得られたが, これらは川砂:赤玉土を1:1の割合に混合した培用土に移植し, 25°Cに調節したガラス室に置いて自然光下で管理した。

### 結果および考察

組織培養に供されたことのない植物を培養する場合, 通常はまず脱分化の最適条件を求めることから始めるのが常法であるが, 今回は野外で採集した一つの球茎から実験を始めたため, 分量の外植体は得られなかった。そこで, 植物組織からカルスを誘導するとき最も普通に用いられる培地2種類を用いて, まずカルスの誘導を試みた。しかし, 両培地ともにカルス形成は十分に行われず, むしろ球茎組織が肥大成長して再び球茎様の組織塊を形成した。最初の数カ月間は1カ月毎に, 生長した組織塊を2つないし3つに細分して同一組成の新鮮培地に継代培養した。その間に, 固い球茎様組織の表面から不定根の発生するもの, 表面の一部に黄色のカルスが形成されるものが観察されたが, 組織全体がカルスに覆われるものはなかった。この結果は継代時に他方の培地に移植しても同様であった。このことはムロウテンナンショウの球茎分裂組織は今回用いた2種類の培地条件下ではカルス化は難しいが, 球茎様組織あるいは器官として継代培養できることを示している。すなわち, 組織を脱分化させた後再分化させて小植物体を得ることを培養の目的とするならば今回得られた結果はかえって好都合といえることができる。なぜなら, 継代培養できる器官はカルスにくらべて再分化が容易かつ再分化能が衰えにくいという傾向が知られているからである。

継代培養を数回繰り返した後, 得られた球茎様組織から根および茎葉の再分化を促し, 小植物体形成をめざして, これまで用いた2種類の培地の他に, ホルモンを除外した培地(HF),  $1\mu\text{M}$  NAA +  $2\mu\text{M}$  BA,  $10\mu\text{M}$  Indol-3-acetic acid (IAA) +  $2\mu\text{M}$  K の組合せで生長ホルモンを加えた培地を新たに作り, これらに移植して培養

**Table 1.** Corm meristematic tissue culture of *Arisaema yamatense* and its redifferentiation to root and stem.

Constituent of growth regulars		No.corm- like tissues	No.redifferentiation	
subcultures	redifferentiation		stem	root
10 $\mu$ M NAA + 1 $\mu$ M K $\rightarrow$	10 $\mu$ M NAA + 1 $\mu$ M K	17	1	8
	10 $\mu$ M 2, 4-D + 7 $\mu$ M BA	13	1	0
	1 $\mu$ M NAA + 2 $\mu$ M BA	5	0	0
	HF	3	0	3
10 $\mu$ M 2, 4-D + 7 $\mu$ M BA $\rightarrow$	10 $\mu$ M 2, 4-D + 7 $\mu$ M BA	18	1	1
	10 $\mu$ M NAA + 1 $\mu$ M K	8	0	0
	1 $\mu$ M NAA + 2 $\mu$ M BA	4	0	0
	10 $\mu$ M IAA + 2 $\mu$ M K	5	0	0

Media based on that of Murashige and Skoog (1962) supplemented with 3% sucrose and solidified with 0.2% gelrite.

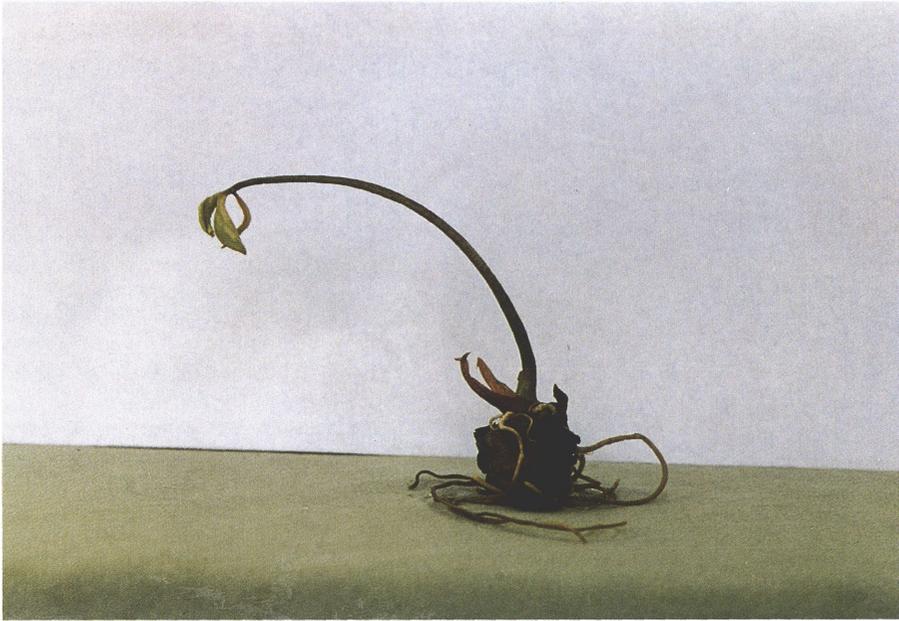
Meristematic tissue was grown using the same hormone combinations for subcultures.

NAA:  $\alpha$ -naphthylacetic acid, K: Kinetin, BA: 6-benzylaminopurine,

2,4-D: 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, HF: hormone free.



**Fig. 1.** Corm-like tissues of *Arisaema yamatense* developed on MS media supplemented with 10  $\mu$ M NAA and 1  $\mu$ M Kinetin (upper) and with 10  $\mu$ M 2,4-D and 7  $\mu$ M BA (lower). Many corm-like tissues and a few roots (upper) and some yellow calluses (lower) were found.



**Fig. 2.** A plantlet of *A. yamatense* differentiated from corm-like tissue. They have retained their redifferentiation abilities for two years.

を続けた。Table 1 は再分化培地に移植したときまでの培養条件とそれに対する培養組織の反応についてまとめたものである。供試材料が十分でなく、均質な組織塊を扱うことが難しいので、ここに得られた結果から直ちにどの培地が培養組織の再分化に最適であるとは決定し兼ねるが、少なくとも本実験結果からムロウテンナンショウの球茎分裂組織の培養によって茎葉と根の再分化が可能であることを示すことができた。

Fig.1 の上および下は、それぞれ  $10\mu\text{M}$  N A A +  $1\mu\text{M}$  K、及び  $10\mu\text{M}$  2,4-D +  $7\mu\text{M}$  B A を含む培地に6カ月間継代した球茎組織を示したものである。いずれの図にも新しい芽の始原体と思われる小突起が現れているのを見ることができる。芽と同時に根を再分化するのは難しいのか芽の始原体を有する組織の中で根が認められるものは少なかった。

Fig.2 は球茎様組織から再分化した幼植物で、根、鱗片葉、通常葉を備えているのがわかる。この様な幼植物体は川砂：赤玉土 = 1 : 1 の割合に混合した培養土に移植して培養を続けたが、ほとんどは枯死した。越年して翌春再び芽を出したものはまだ1例に過ぎない。現在、球茎様組織はMS培地に  $10\mu\text{M}$  N A A +  $1\mu\text{M}$  K および  $10\mu\text{M}$  2,4-D +  $7\mu\text{M}$  B A を加えた2つの培地に継代してすでに2年を経過したが、Fig.2 下に示すように、多数の芽の始原体を持つ組織が今も増殖している。それらの中には、図にみられるような

若い茎葉を持つものも多数得られており再分化能はいまだ衰えていないことがわかる。今後は実験植物の種数を増やすと共に幼植物の馴化法を確立し、セツピコテンナンショウを始めとする、絶滅の危機にあるテンナンショウ属植物が入手出来たときに、その増殖に貢献出来る体勢を整えたいと考えている。

## 文 献

- 紅谷進二(1971) 兵庫県植物目録, 1-8 & 48. 六月社書房, 大阪, 173p.
- 藤本義昭・齊藤 勝(1973) 兵庫県希産植物目録, 甲南出版社, 神戸, 176p.
- Murashige, T. and Skoog, F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, **15**, 473-497.
- Ohashi, H. and Murata, J. (1980) Taxonomy of Japanese *Arisaema* (Araceae). *J. Fac. Sci. Univ. Tokyo Sect. III*, **12**, 281-336.
- 矢野悟道(1973) 兵庫県飾磨郡夢前町・宍粟郡安富町植物目録. 兵庫県生活部・自然課, 19p.
- 我が国における保護上重要な植物種および植物群落の研究委員会植物種分科会(編)(1989) 我が国における保護上重要な植物種の現状. (財)日本自然保護協会・(財)世界自然保護基金日本委員会, 320p.

(1993年3月4日受理)