The Crop Science Society of Japan

北陸作物学会報（The Hokuriku Crop Science）49：65～68（2014）

モウセンゴケ属植物数種の葉切片からの再分化

岡﨑健一[1)]・神戸敏成[2)]・大谷基泰[*1)]
([*1)] 石川県立大学，野々市市，〒921-8836，[2)] 富山県中央植物園)

Plant Regeneration from Leaf Explants of *Drosera* Species

Kenichi OKAZAKI[1)], Toshinari GODO[2)] and Motoyasu OTANI[*1)]
([*1)] Ishikawa Prefectural University, Nonoichi, 921-8836, Japan, [2)] Botanic Garden of Toyama)

組織培養を用いたモウセンゴケ属植物の試験管内増殖を最終的な目標としてモウセンゴケ属植物4種の葉片からの再分化条件を検討した．3種類のサイトカイニン(6-benzyladenine (BA), thidiazuron (TDZ), zeatin,）と1種類のオーキシン1-naphtaleneacetic acid (NAA) を組み合わせて添加した培地に供試植物の葉片を植え付けて培養した．供試した4種全てにおいて葉片から不定芽が再分化した．ZeatinとBAはTDZに比べて明らかに葉片からの不定芽の再分化に効果的であった．アフリカナガバモウセンゴケでは70%，イトバモウセンゴケでは80%，トウカイコモウセンゴケでは100%そしてモウセンゴケでは83.9%の葉片から不定芽が再分化した．再分化した不定芽を植物成長調節物質を添加していない培地に移植することによって容易に発根を促すことができた．発根した再分化植物体は鉢上げ後の馴化も容易であった．

Adventitious shoots were regenerated from leaf explants of 4 species of genus *Drosera* on media supplemented with various cytokinins (thidiazuron (TDZ), zeatin and 6-benzyladenine (BA)) combined with 1-naphtaleneacetic acid (NAA). Zeatin and BA in the medium were effective for adventitious shoot regeneration from leaf explants in *Drosera* species. The highest frequency of adventitious shoot regeneration was 100% for *D. tokaiensis* on the medium without any plant growth regulators or containing 0.2 mg/l BA and 0.2 mg/l NAA, 83.9% for *D. rotundiforia* on the medium containing 0.2 mg/l zeatin and 2 mg/l NAA or 2 mg/l BA and 0.2 mg/l NAA, 80% for *D. filiformis* on the medium containing 2 mg/l zeatin and 0.2 mg/l NAA, 70% for *D. capensis* on the medium containing 0.2 mg/l zeatin and 0.2 mg/l NAA. Regenerated shoot could be easily rooted on plant growth regulator-free 1/2 LS medium containing half strength LS mineral salts and full strength of organic constituents.

キーワード：ゼアチン，チジアズロン，不定芽，ベンジルアデニン，モウセンゴケ属植物
Key words：Adventitious shoot, BA, *Drosera*, Thidiazuron, Zeatin

モウセンゴケ属植物は，世界で約140種存在し，そのうち日本には6種（最近の資料では7種）が自生している（小宮1995）．食虫植物であるモウセンゴケ属植物の形態は変化に富んでいるために園芸的な価値が高い．しかし，モウセンゴケ属植物の多くは湿地に自生しているために環境の変化によって容易に絶滅しかねない状況にある．実際，日本に自生するモウセンゴケ属植物の多くが絶滅危惧植物に指定されている．モウセンゴケ（*Drosera rotundifolia* L.）は日本全土に広く分布しているが近年の開発などで生育地に当たる湿地が減少してその数が少なくなってきており，多くの都府県で絶滅危惧Ⅰ類～準絶滅危惧種に指定されている（日本のレッドデータ検索システム）．また，トウカイコモウセンゴケ（*D. tokaiensis* (Komiya et C.Shibata) T.Nakam. et K.Ueda）も元々の数が少ない上に生育地の減少により激減していて石川県や富山県などでは絶滅危惧Ⅰ類に指定されている（石川県絶滅危惧植物調査会2010，富山県生活環境文化部自然保護課 2012）．このような問題は日本だけのものでは

NII-Electronic Library Service

The Crop Science Society of Japan

なく世界的にみても同様の傾向がある．一方で，モウセンゴケ属植物は有用な薬用成分ナフトキノン(naphthoquinone) を生合成しているために，薬用植物としての利用価値もあると考えられる(Šamaj *et al*. 1999)．そのため，モウセンゴケ属植物の試験管内保存や増殖はモウセンゴケ属植物を保護することや，植物バイオテクノロジーを応用して薬用植物としての利用価値を高めることに重要な役割を果たすと考えられる．モウセンゴケ属植物の組織培養についてはこれまでに幾つかの種において葉片からの植物体再分化に成功しており(Anthony 1992, Bobák *et al*. 1995, Kawiak *et al*. 2003)，本論文で供試したアフリカナガバモウセンゴケとモウセンゴケについても既に植物体再分化が報告されている．しかし，Anthony (1992) と Bobák *et al*.(1995) は NAA と BA を用いてそれぞれアフリカナガバモウセンゴケとモウセンゴケの葉片からの植物体の再分化に成功したが，植物体を再分化した葉片の割合についての具体的なデータが記述されなかったことやその他の種類のサイトカイニンの効果については試験していなかったことから培養条件については改良の余地があると考えられる．そこで，本論文では組織培養を用いたモウセンゴケ属植物の試験管内増殖を目標としてモウセンゴケ属植物数種の葉片から再分化条件の検討をおこなった．

材料および方法

植物材料

富山県内で採取したトウカイコモウセンゴケとモウセンゴケおよび富山県中央植物園温室内で栽培維持している北米原産のイトバモウセンゴケ (*D. filiformis* Raf.) と南アフリカ原産のアフリカナガバモウセンゴケ (*D. capensis* L.) の計 4 種を供試した．モウセンゴケ属植物 4 種から種子を採種し，無菌播種をおこなって各植物種の無菌植物体を得た．無菌播種は，まず種子を有効塩素濃度 3% (v/v) の次亜塩素酸ナトリウム溶液に 15 分間浸漬した後，滅菌水によって十分に洗い流してから播種培地に種子を植え付けておこなった．アフリカナガバモウセンゴケについてはそのまま 26℃で培養をおこなったが，イトバモウセンゴケ，トウカイコモウセンゴケおよびモウセンゴケについては播種培地に植え付け後すぐに冷蔵庫に入れて，4℃で 60 日間の低温処理をした後で 26℃の培養を開始した．播種培地は LS 基本培地 (Linsmaier and Skoog 1965，但し，無機塩を 1/2 濃度に変更) に 2% (w/v) ショ糖と 0.25% (w/v) ゲランガム (三栄源エフエフアイ) を添加したものを用いた．培養は 26℃，14 時間蛍光灯照明下でおこなった．無菌植物体は新鮮な播種培地に移植することによって維持増殖した．

葉片培養

無菌植物体の展開葉をナイフによって切り取って再分化培地に植え付けた．再分化培地は LS 基本培地 (3% (w/v) ショ糖と 0.25% (w/v) ゲランガム) に植物成長調節物質として 0.02 ～ 2mg/l のサイトカイニン (6-benzyladenine (BA)，thidiazuron (TDZ)，zeatin) と 1-naphtaleneacetic acid (NAA) を組み合わせて添加したものを用いた．植物生長調節物質をいくつかの組み合わせで培地に添加してそれぞれの試験区とし，pH 値を 5.9 に調整してからオートクレーブ処理をした．培地は 18 × 105 mm の試験管に分注して斜面培地とした．各試験区に 17 ～ 35 個の葉片を植え付けた．培養は 26℃，14 時間蛍光灯照明下でおこない，培養開始約 60 日後に不定芽の再分化について調査をおこなった．

結果および考察

培養開始 60 日後には培地に添加する植物生長調節物質の種

第 1 表　モウセンゴケ属植物 4 種の葉片からの不定芽再分化に及ぼす植物成長調節物質の効果.

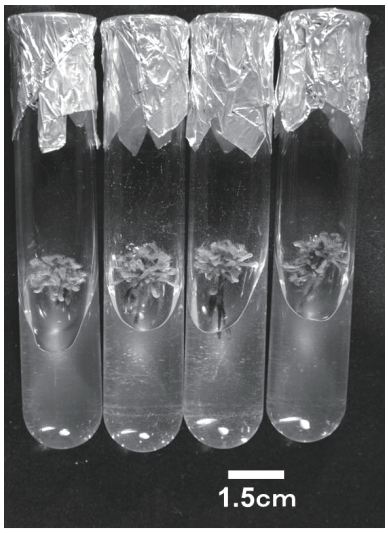
植物成長調節物質 (mg/l)				アフリカナガバモウセンゴケ		イトバモウセンゴケ		トウカイコモウセンゴケ		モウセンゴケ	
BA	TDZ	Zeatin	NAA	置床葉片数	不定芽形成葉片数 (%)	置床葉片数	不定芽形成葉片数 (%)	置床葉片数	不定芽形成葉片数 (%)	置床葉片数	不定芽形成葉片数 (%)
0	0	0	0	35	5 (14.3)	18	11 (61.1)	30	30 (100)	30	18 (60.0)
0.2			0.2	34	10 (29.4)	20	11 (55.0)	32	32 (100)	32	11 (34.4)
0.2			2	33	1 (3.0)	20	7 (35.0)	31	13 (41.9)	30	3 (10.0)
2			0.2	34	0	17	1 (5.8)	32	0	31	26 (83.9)
2			2	33	0	20	5 (25.0)	32	0	31	15 (48.4)
	0.02		0.2	20	9 (45.0)	21	10 (47.6)	30	6 (20.0)	33	7 (21.2)
	0.02		2	19	0	22	2 (9.1)	30	9 (30.0)	33	0
	0.2		0.2	20	0	19	0	30	0	33	0
	0.2		2	20	0	23	0	30	2 (6.7)	33	0
		0.2	0.2	20	14 (70.0)	20	10 (50.0)	31	27 (87.1)	31	15 (48.4)
		0.2	2	20	0	18	0	32	28 (87.5)	31	26 (83.9)
		2	0.2	20	4 (20.0)	20	16 (80.0)	32	31 (96.9)	31	2 (6.5)
		2	2	20	0	20	3 (15.0)	31	9 (29.0)	31	0

NII-Electronic Library Service

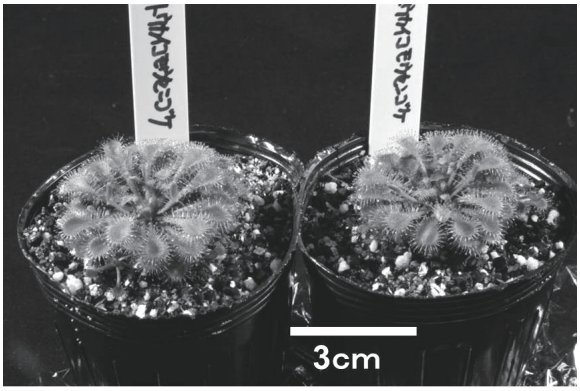
The Crop Science Society of Japan

類と濃度の違いによって，植え付けた葉片は様々な反応を示した．不定芽の再分化は供試したモウセンゴケ属植物4種全てにおいて認められた（第1表）．ZeatinとBAがTDZに比べて明らかに葉片からの不定芽の再分化に効果的であった．しかしながら，最も再分化効率の良い培地条件は植物種によって異なっていた．

アフリカナガバモウセンゴケでは，zeatinが効果的であり，最も高い不定芽再分化率を示した培地は0.2 mg/l zeatinと0.2 mg/l NAAを含んだもので70%の葉片から不定芽が再分化した．一葉片当たりの再分化不定芽数（総再分化不定芽数／培養葉片数）は1.7個であった．同様にイトバモウセンゴケにおいてもzeatinが有効であり，最も高い不定芽再分化率を示した培地は2 mg/l zeatinと0.2 mg/l NAAを含んだもので80%の葉片から不定芽が再分化し，一葉片当たりの再分化不定芽数は4.0個であった．一方，トウカイコモウセンゴケでは前述した2種と同様にzeatinも有効ではあったが，BAが最も有効であり最も高い不定芽再分化率を示したのは0.2 mg/l BAと0.2 mg/l NAAを含んだ培地と植物成長調節物質を含まない培地で全ての葉片から不定芽が再分化し，一葉片当たりの再分化不定芽数（総再分化不定芽数／培養葉片数）はそれぞれ8.0個であった．モウセンゴケはトウカイコモウセンゴケと同様にBAとzeatinが有効であり，最も高い不定芽再分化率を示したのは0.2 mg/l zeatinと2 mg/l NAAを含んだ培地および2 mg/l BAと0.2 mg/l NAAを含んだ培地で両培地共に83.9%の葉片から不定芽が再分化した．興味深いことに，トウカイコモウセンゴケとモウセンゴケでは植物成長調節物質を含まない培地においても高い頻度で葉片から不定芽が再分化した（第1図）．前述したようにこれら2種のモウセンゴケは各種の再分化培地に対して似たような反応を示しているが，これはトウカイコモウセンゴケが片親をモウセンゴケとする雑種起源の植物であり遺伝的にかなり近い関係にあること（吉田ら 1996）が理由の一つであると考えられた．また，モウセンゴケの再分化条件については同様の結果がBobák *et al*.（1995）によっても得られているが，zeatinが有効であることを示したのは本論文が初めてである．また，本研究において供試した4種のモウセンゴケ属植物における一葉片当たりの再分化不定芽数（総再分化不定芽数／培養葉片数）はもっとも条件の良いものであっても1.7個から8.0個であった．これらの培養条件を利用する場合，再分化植物体を大量に獲得するためには大量に葉片を培養しなければいけなくなる．今後は一葉片当たりの再分化不定芽数を向上させる培養条件の検討も必要になると考えられる．



第1図　トウカイコモウセンゴケの葉片からの植物体再分化．
培地は植物成長調節物質を含まないLS培地（0.25%　ゲランガムを含む）．



第2図　ポットで生育するトウカイコモウセンゴケの葉片からの再分化植物体．

供試した4種のモウセンゴケ属植物全てにおいて再分化した不定芽を植物成長調節物質を含まない培地に移植して同様の条件下で培養を続けることによって容易に発根し完全な幼植物体にさせることができた．その後，再分化植物体をバーミキュライトとパーライトを3:1の割合で混合した培養土が入ったビニールポットに移植して，人工気象室内で26℃，14時間照明下で栽培を続けることによって活着させることができた（第2図）．

以上のように，本論文では4種のモウセンゴケ属植物において葉片からの植物体再分化条件を明らかにすることができた．今後はここで明らかにされた再分化条件を利用して試験管内保存や大量増殖，遺伝子組換えによる有用代謝物質の効率的な生産といったモウセンゴケ属植物における植物バイオテクノロジー研究が進むことが期待できると考えている．

引用文献

Anthony, J. L. 1992. HortSci. 27: 850.

Bobák, M. *et al*. 1995. Plant Cell Tissue Org. Cult. 43: 43-49.

石川県絶滅危惧植物調査会　2010.　改訂・石川県の絶滅のおそれのある野生生物（いしかわレッドデータブック〈植物編〉

NII-Electronic Library Service

The Crop Science Society of Japan

2010）．　石川県環境部自然保護課発行
Kawiak, A. *et al*. 2003. Plant Cell Tissue Org. Cult. 75: 175-178.
小宮定志　1997.“植物の世界　第7巻”　朝日新聞社編，　東京，42－47.
Linsmaier, E. M. and Skoog, F. 1965. Physiol. Plant 18: 100-127.
日本のレッドデータ検索システム　http://www.jpnrdb.com/
（2013年10月31日）
富山県生活環境文化部自然保護課　2012. 富山県の絶滅のおそれのある野生生物−レッドデータブックとやま2012 −. 富山県生活環境文化部自然保護課発行.
Šamaj, J. *et al*. 1999. *In* "Biotechnology in Agriculture and Forestry Vol.43 Medicinal and Aromatic Plants XI" (ed. by Bajaj, Y. P. S.), Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, 105-135.
吉田ら 1996. 富山県中央植物園研究報告 1:　53－56.
（2013年11月30日受付，2014年2月13日受理）

NII-Electronic Library Service