
稀少植物ハヤチネウスユキソウの大量増殖に関する研究



実施担当者 岩手県立水沢高等学校
教諭 城守 寛

岩手大学大学院連合農学研究科中退
博士（農学）

研究テーマ リンドウ科植物の大量増殖に関
する研究 光と種子発芽に関する研究など

趣味 写真, テニス

1. はじめに

岩手県早池峰山のみで自生するハヤチネウスユキソウ (*Leontopodium hayachinense* H. Heraet. kitam) は、近年登山者による踏みつけや盗掘により個体数が減少し、絶滅が危惧されている。また環境省レッドリストでは絶滅危惧 I B 類の植物に指定され、岩手県レッドデータブックでも A ランクに指定されている。このことから組織培養を用いた手法により大量増殖について検討した。なお、ハヤチネウスユキソウは入手が困難であるため、近縁であるエーデルワイス (*L. alpinum*) を用いて組織培養を行い、大量増殖についての検討を行った。エーデルワイスでは、小山田 (2004) が成長点からの大量増殖を報告している。また、小山田ら (2011) はハヤチネウスユキソウの成長からの大量増殖を報告している。これらは成長点を取り出して培養を行う方法で、経験が必要で容易に実施するのは困難である。そこで本研究は、より簡便な手法の葉片を用いた大量増殖について検討した。岩手県内では城守 (2001) がリンドウの葉片からの組織培養に取り組んでおり、研究方法はそれに準じて行った。一方、ハヤチネウスユキソウの植物特性については、城守ら (2009) が花粉

の形態観察などを報告しているのみである。今回は種子の発芽特性についても検討を行った。以上のことからハヤチネウスユキソウの絶滅を防ぐための基礎的研究を行うことを目的とした。

2. 方法

(1) 材料

材料は、エーデルワイス (*L. alpinum*) の市販の種子を用いた。種子は、(株) サカタのタネから購入した。

(2) 実験方法

① 実験 1 (発芽率の調査)

エーデルワイスの発芽特性、すなわち光発芽種子か暗発芽種子であるかを調査した。発芽条件は、温度 20°C に設定し、光質条件を明所 (蛍光灯 33.3 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)、暗所および赤色光 (赤色 LED 10 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$) の 3 区を設定し発芽率を調査した。

② 実験 2 (葉片培養)

種子はナイロンメッシュ製の袋に入れ、家庭用洗剤で 1~2 分間を洗浄後、クリーンベンチ内で 70% エタノール (展着剤ツィーン 20 添加) で 1~5 分間殺菌後、滅菌水で 1 回洗浄し、その後 10~50% ピューラックス溶液 (展着剤ツィーン 20 添

加)で30分殺菌後、滅菌水で2回洗浄した。その後 Murashige and Skoog (1962) 処方培地(以下 MS 培地)に播種した。さらに、MS 培地に汚染を抑制する効果のある薬品(PLANT PRESERVATIVE MIXTURE)を添加したものも使用した。無菌播種後は、20°C、16日長条件の人工気象器内で育成した。成長した植物体は MS 培地に継代培養を行い、増殖した。これによって得られた植物体の葉片を約5mm程度に切り取り、4区の培地に移植し、カルスの誘導を行った。なお、培地には表1のとおり植物成長調節物質としてベンジルアデニン(以下 BA)と2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(以下2,4-D)を添加した。

3. 結果と考察

実験1(発芽率の調査) 播種から7日後の発芽率では、赤色光下での発芽率が最も低く、暗所での発芽率が最も高かった(図1)。この結果から、エーデルワイスは光発芽種子ではない可能性が高いと考えられる。

(2)実験2(葉片培養) 種子の殺菌は、表2のとおり殺菌方法を検討した。その結果70%エタノール、50%ピューラックスにコンタミ防止剤を添加した区で汚染が防止できた。この方法で、無菌播種由来の植物体の育成を行った。置床後4週間後のカルス形成率は、図2のとおり1区および2区のカルス形成率が高く、3区および4区ではカルス形成率が低かった。このことから、培地は植物成長調節物質が低濃度のものがカルス誘導には有効であることが示唆された。

4. 反省と課題

発芽率調査では、実験回数が少なかったためデータが不十分な点が多く、正確に数値を得られなかった。葉片培養では、無菌播種の際の汚染が激しく、殺菌方法の確定までに時間がかかってしまった。今後の課題として、発芽率の調査の実験回数を増やし、データがより正確なものとなるようにしたい。また、葉片培養はシュート形成に適し

た培地を検討し、植物体再生を行いたい。

謝辞

本研究を実施するにあたり科学教育振興助成をいただいた公益財団法人中谷医工計測技術振興財団に感謝いたします。また電子顕微鏡観察は、岩手医科大学医学部客員教授小岩浩之博士並びに同学バイオイメージングセンターの協力を得て行いました。

参考文献

- (1)城守寛、菊池修平、柄内勇人、金澤俊成 2009 地域の植物に関する研究 第1報ハヤチネウスユキソウの植物特性 日本理科教育学会第59回全国大会発表論文7;257
- (2)城守寛 2001 リンドウ育種における組織培養と系統解折に関する研究 岩手大学大学院連合農学研究科博士論文
- (3)Murashige T. and Skoog F. 1962 A revised medium for rapid growth and bloassays with tobacco tissue cultures. *Physiolgia Plantarum* 15;473-479
- (4)小山田智彰 2004 エーデルワイスの増殖に関する研究 東北地域環境計画研究会自主研究報告書(7,8,9合併号);1-9.
- (5)小山田智彰, 新井隆介, 鞍懸重和 2011 絶滅危惧植物ハヤチネウスユキソウの組織培養による大量増殖 薬用植物研究 33(1);29-36

表1 植物成長調節物質の組合せ(カルス形成)

	2,4-D($\times 10^{-6}M$)	BA($\times 10^{-6}M$)
1区	4.524	4.439
2区	4.524	8.879
3区	9.048	4.439
4区	9.048	8.879

表 2 殺菌方法の検討結果

殺菌方法	殺菌時間	コンタミ防止剤	汚染
① エタノール+10%ビュラックス溶液	1分+30分	無	○
② エタノール+20%ビュラックス溶液	1分+30分	無	○
③ エタノール+40%ビュラックス溶液	1分+30分	無	○
④ エタノール+50%ビュラックス溶液	3分+30分	無	○
⑤ エタノール+50%ビュラックス溶液	5分+30分	無	○
⑥ エタノール+50%ビュラックス溶液	3分+30分	無	○
+家庭用洗剤	1~2分	無	○
⑦ エタノール+50%ビュラックス溶液	3分+30分	有	×
+家庭用洗剤	1~2分	有	×



図 3 葉片に形成されたカルス（2区）

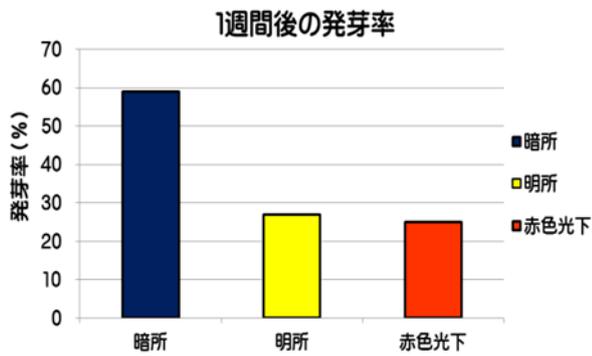


図 1 発芽率調査（播種後 1 週間）

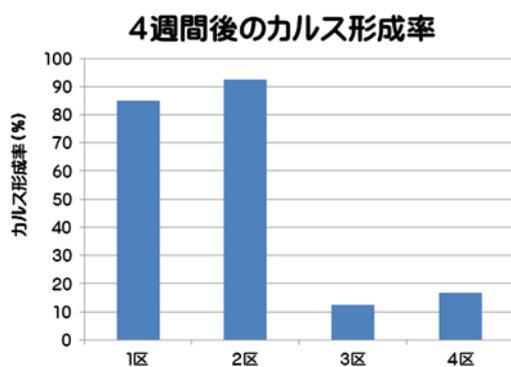


図 2 カルス形成率調査（播種後 4 週間）