

## 研究ノート

イトヒメハギ(*Polygala tenuifolia*)の多芽体誘導による大量増殖

尾崎 誠\*・岡本誉充\*・奈女良昭\*・神田博史\*

藤野廣春\*\*・鈴木正一\*\*・吉崎正雄\*\*・佐竹元吉\*\*\*

イトヒメハギ(*Polygala tenuifolia* Willd.)は、中国東北部、華北東部地帯に自生するヒメハギ科の多年生草本で、その根は生薬「遠志」として利用されている。薬効としては、去痰、強壯作用が認められている他、神農本草経上品には、「智慧を益し、耳目を聡明にし、物を忘れず、志を強くし、力を倍す」と記されており、最近、その成分に関する研究が盛んに行われている。組織培養に関しては、同類生薬である「セネガ」(ヒロハセネガ)で下胚軸由来カルスからの個体再生が報告<sup>1)</sup>されているが、イトヒメハギでは今までのところ、栽培研究<sup>2)</sup>は行われているものの、培養についての報告はなされていない。そこで今回、イトヒメハギの大量増殖を可能とする栄養繁殖法の確立を目的として、実生の葉切片由来カルスの組織培養系を検討し、個体再生に適した培養条件が明らかとなったので、以下にそれらの結果を報告する。

## [材料および方法]

富山医科薬科大学薬学部付属薬用植物園にて保存している株より前年採種した種子を、5°C、2ヵ月間暗所で低温処理した後、70%エチルアルコールで1分間、ついで有効塩素5%の次亜塩素酸ナトリウムで10分間、さらに70%エチルアルコールで1分間浸漬して滅菌し

た。この種子を滅菌水で3回すすいだ後、植物ホルモン無添加のMurashige and Skoog培地<sup>3)</sup>(pH 5.7, gerlite 0.2%, 以下MS培地)に置床し、25°C、2500 lux(16 h light per day)下で実生を育成した。置床4~5日目ごろに発芽が見られた。置床約1ヵ月後、2~3 cmに伸長した実生の葉を採取し、メスで5 mm平方に切断して葉切片を作成した。

不定芽の形成: 葉切片の培養は、0, 0.02, 0.10, 0.20 および0.50 mg/lのNAA( $\alpha$ -naphthaleneacetic acid)と0, 0.02, 0.20, 0.50 および0.75 mg/lのBA(6-benzylaminopurine)とを組み合わせ添加したMS培地を用い、温度25°Cの暗黒下で行った。また合わせて、sucrose濃度を1%としたMS改変培地についても、同様の検討をすすめた。

多芽体の形成: 葉切片由来カルスより誘導された不定芽を、多芽体の形成を目的として、MS培地の塩濃度の1, 1/2倍と、sucrose濃度の1, 1/2, 1/3倍とを組み合わせたMS修正培地それぞれに対し、BA, GA<sub>3</sub>(gibberellin A3)を、それぞれ0.02, 0.20, 2.0 mg/l添加した培地に移植した。

不定芽からの根の形成: 形成された不定芽は、MS培地の塩濃度の1, 1/2倍と、sucrose濃度の1, 1/2, 1/3倍とを組み合わせたMS修正培地それぞれに対し、植物ホルモンを無添加とした培地、あるいはNAA, IAA( $\beta$ -indoleacetic acid), IBA( $\beta$ -indolebutyric acid), GA<sub>3</sub>を、それぞれ0.02, 0.20, 2.0 mg/l添加した培地に移植して、根の形成についての検討を行った。

なお、多芽体および根の形成についての検討は、25°C、2500 lux(16 h light per day)下で行い、5週間おきに同一組成の培地に継代することにした。

## [結果および考察]

不定芽の形成: いずれの実験区でも葉切片置床10~15日後にカルスが誘導され、その成長は1.5~2倍/5週間と、差はあまり見られなかった。さらに約1ヵ月後には、NAA 0.20 および0.50 mg/lと、BA 0.20, 0.50

Makoto OZAKI\*, Takamitsu OKAMOTO\*, Akira NAMERA\*, Hiroshi KOHDA\*, Hiroharu FUJINO\*\*, Shoichi SUZUKI\*\*, Masao YOSHIZAKI\*\* and Motoyoshi SATAKE\*\*\*  
Adventitious Shoot Induction and Plant Regeneration in *Polygala tenuifolia*

\* 広島大学医学部付属薬用植物園  
(〒734 広島市南区霞1-2-3)

\*\* 富山医科薬科大学薬学部付属薬用植物園  
(〒930-01 富山市杉谷2630)

\*\*\* 国立衛生試験所  
(〒158 東京都世田谷区上用賀1-18-1)

\* Institute of Pharmaceutical Sciences, Hiroshima University, School of Medicine, 1-2-3, Kasumi, Minami-ku, Hiroshima 734, Japan

\*\* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Toyama Medical and Pharmaceutical University, 2630 Sugitani, Toyama 930-01, Japan

\*\*\* National Institute of Hygienic Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158, Japan

および 0.75 mg/l を組み合わせて添加した実験区で、カルス組織より不定芽が形成された。これらの実験区では不定芽の形成に際して、sucrose 1% 添加区で 5~7 cm の伸長が見られたのに対して、3% 添加区ではその伸長が不十分 (~0.5 cm) であった。また、0.50 mg/l の NAA と 0.75 mg/l の BA を添加した MS 改変培地 (sucrose 1%) では、単一のカルス塊 (直径 2~2.5 cm) から 2~4 本と、最も多く不定芽が得られた (Fig. 1)。今回、下胚軸についても同様の検討を行ったが、カルスの誘導が見られるのみで、不定芽の形成は認められなかった。

多芽体の形成：移植後 5 週間目には、GA<sub>3</sub> 0.02, 0.20 mg/l 添加 MS 修正培地 (塩濃度 1, 1/2, sucrose 1%) において、多芽体の形成が認められた (Fig. 2)。これらの実験区では、いずれにおいても不定芽の形成数は、一本の不定芽から 15 本/5 週間でほぼ同数であったが、塩濃度が 1/2 の場合、塩濃度が 1 の場合に比べて不定芽の伸長は抑えられた。その他の実験区では、BA 0.02 mg/l 添加区で、不定芽の伸長が認められた以外は枯死した。

不定芽からの根の形成：発根検討培地に移植後 4 週間

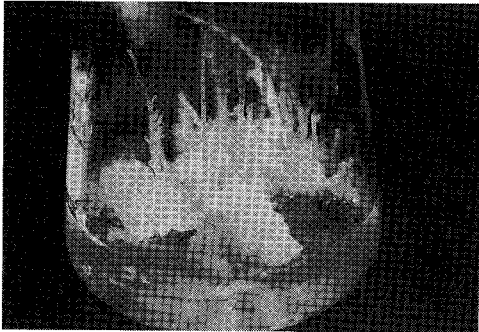


Fig. 1 Shoot regeneration from the callus of *Polygala tenuifolia* cultured on MS solid medium (sucrose 1%) supplemented with 0.50 mg/l NAA and 0.75 mg/l BA.

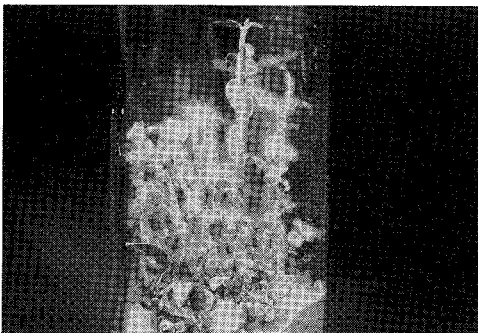


Fig. 2 Multiple shoots formation from the regenerated shoot cultured on MS solid medium (sucrose 1%) supplemented with 0.02 mg/l GA<sub>3</sub>.

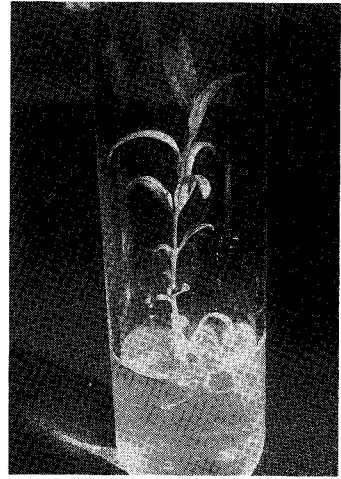


Fig. 3 Root formation from the regenerated shoot cultured on 1/2 MS solid medium (sucrose 1%) supplemented with 0.20 mg/l IAA.

目に、0.02, 0.20, 2.0 mg/l の NAA, IAA を添加した MS 修正培地 (塩濃度 1/2, sucrose 1%) において、不定根の形成が認められた。しかし、このうち NAA 0.02, 0.20, 2.0 mg/l および IAA 2.0 mg/l 添加区では、根の形成とともに不定芽は枯死した。根形成率は、IAA 0.02 mg/l 添加区で 40.0%, 0.20 mg/l 添加区で 60.6% であり、このうち IAA 0.20 mg/l 添加区では、1 本の不定芽あたりの発根数 (6~7 本)、茎葉の成長とも最も良好であった (Fig. 3)。なお他の実験区では、いずれにおいても不定根の形成は認められなかった。

以上の結果、イトヒメハギの個体再生系として、葉を植えつけ切片とし、0.50 mg/l の NAA と 0.75 mg/l の BA を添加した MS 改変培地 (sucrose 1%) で不定芽を再分化させ、ついで GA<sub>3</sub> 0.02, 0.20 mg/l 添加 MS 修正培地 (塩濃度 1, sucrose 1%) で不定芽を増殖して、IAA 0.20 mg/l を添加した MS 修正培地 (塩濃度 1/2, sucrose 1%) で根を形成させる方法が有効であることが明らかとなった。この方法により、短期間に効率良く多数の再生個体を得ることが可能となった。なお、復原植物の順化後の生育は良好である。(1994 年 8 月 29 日受理)

## 文 献

- 1) 久保義博, 村上守一, 寺西雅弘, 吉田幸雄, 1991. 第 35 回日本生薬学会要旨集, p. 1.
- 2) 藤野廣春, 鈴木正一, 吉崎正雄, 神田博史, 佐竹元吉, 1993. 第 40 回日本生薬学会要旨集, p. 104.
- 3) Murashige, T., F. Skoog, 1962. *Physiol. Plant.*, **15**: 473-497.