

サギソウの無菌播種による増殖Ⅲ —順化について—

太 田 和 子

家政学部健康栄養学科

(2014年9月18日受理)

Propagation of *Habenaria radiata* by Non-symbiotic Germination Ⅲ —Acclimation of Non-symbiotic Cultured Plantlets—

Department of Health and Nutrition, Faculty of Home Economics,
Gifu Women's University, 80 Taromaru, Gifu, Japan (〒501-2592)

OTA Kazuko

(Received September 18, 2014)

要 旨

準絶滅危惧種のサギソウ (*Habenaria radiata*) を無菌播種により大量増殖させ、湿地へ植え戻すことを目的に発芽生育後の順化方法を検討した。岐阜市太郎丸産のサギソウの種子を無菌播種に用いた。2003～2005年に無菌播種を行った後発芽成長した無菌株を、2004～2006年に順化実験に用いた。植え付け材料として株と球根の比較を行い、プランターに植え付けた場合と湿地に直接植え付けた場合を比較した。

培養器内で生育した株と形成された球根を直接湿地に植え付けた実験では、株の方が2年目の生存率が非常に高くなった。また、植え付け場所を比較すると、株を湿地に直接植え付けるよりも、プランターで予備栽培して翌年できた球根を植え付けた方がより生存率が高くなることが分かった。さらに、球根が形成されている株を株と球根に切断して両方増殖できるか検討したが、翌年の球根増殖のためには切断するとかえって増殖率が劣ることが分かった。

緒言

これまで報告してきたように^{1)～6)} 本学のシンボルである準絶滅危惧種のサギソウ (*Habenaria radiata*) の群落を大学内湿地に復元させることを目的に1999年より研究をすすめている。

前報⁶⁾では、サギソウを無菌播種により大量増殖させるために、培地のスクロース濃度の検討を行い、スクロースの濃度が8%以上になると生育に悪い影響を与えること、球根の生産はスクロース2%濃度で移植を行った区で最も優れていたことなどが明らかとなった。

本報告では、無菌培養から外の環境へ植え出す順化方法やその後の湿地での生育について報告する。

材料および方法

1. 材料

本学湿地で2002年に採種した岐阜市太郎丸産のサギソウの種子を無菌播種に用いた。これは、かつて本学周辺で自生していたサギソウを地元の趣味家の方が栽培を続けていて、その球根を寄贈いただき、2001年より本学湿地での復元実験に用いている株より採種したものである。

2003～2005年に以下の方法で無菌播種を行ったのち発芽成長した無菌株を順化実験に用いた。培地は、3.5%スクロースを添加したムラシゲ・スクーグ (MS) 寒天培地⁵⁾⁷⁾を用い、植物ホルモンは加えなかった。殺菌及び播種方法は前報⁵⁾と同様に行った。発芽成長した後、同じ培地に移植した。

培養環境は、人工気象器 (NKsystem) を使用し、昼8時間 (2000 lx) 20℃、夜16時間 (暗闇) 20℃で培養した。

2. 実験1

2004年5月7日に、2003年に播種したサギソウを培養器より取り出し、湿地および鉢に植え付けた。培養器内のサギソウ株は、寒天中に球根を形成しており、また芽や根をつけた株の状態のものも見られた (図1)。そこで、培養器から取り出し、水で寒天を洗い流した後、ピンセットを用いて、球根と株を分離した。本学湿地の比較的水位の低い場所を選び、2区に分けて、一方には球根を53個、他方には株を23株植え付けた。また、鉢にもミズゴケを用いて球根と株を植え付けた。



図1 培養容器内の無菌実生

3. 実験2

2005年5月31日に、2004～2005年に播種したサギソウの無菌株38株を湿地に、5月27日、6月1日には66株をプランターに植え付けた。加えて2004年に鉢に植え付けた無菌株から2005年春に採取した球根を、5月24日に湿地に35個、5月10日にプランターに121個植え付けた。

4. 実験3

2006年6月16日には2005年に無菌播種した無菌株のうち球根の付いた株をそのままの状態と球根を分離した球根除去株、除去した球根だけの3区に分け (図2)、30個ずつプランターにミズゴケで植え付け、順化実験を行った。



図2 実験3に用いた材料

結果

1. 実験 1

2003年に無菌播種し、2004年に無菌株または培養器内でできた球根を直接湿地に植え付けたサギソウのその年の生育は不良であった。開花も見られなかった。

冬に地上部が枯死した後そのまま放置し、翌2005年に発芽を観察した結果を表1に示す。

表 1 2004年湿地植付区の翌年の発芽数

植付材料	植付数	発芽数(個)	発芽率(%)
球根	53個	3	5.7
株	23株	40	173.9

前年に培養器内の球根を53個植え付けた区では3個のみ発芽した。一方、無菌株を23株植え付けた区では、40個の発芽が見られ、100%以上の増殖率であった。

草丈と葉数の平均値は球根植え付け区の方が高くなった(表2)。また、球根植え付け区では3株とも開花し、開花株率も株植え付け区より高くなった。

表 2 2004年湿地植付区の翌年の生育結果

植付材料	草丈(cm)	葉数(枚)	着花株率(%)	株当着花数(個)
球根	35.2	6.3	100	4.7
株	20.5	5.2	50	1.9

表 3 2004年湿地植付区の2006年の生育結果

植付材料	発芽数(個)	増殖率(%)	草丈(cm)	葉数(枚)	着花株率(%)	株当着花数(個)
球根	14	467	37.5	4.8	78.6	2.6
株	117	293	39.0	4.9	47.9	2.0

翌年の2006年の調査では、球根植え付け区の発芽数が14個に増加し、4.7倍の増加であった(表3)。株植え付け区でも2.9倍と順調に増加した。草丈、葉数の差は少なくなり、

着花株率と着花株あたりの着花数は球根区で高かった。

2. 実験 2

2004年に鉢で順化した株から収穫した球根を2005年に湿地およびプランターに植え付けたものと、2005年に直接無菌苗を湿地およびプランターに植え付けたものを比較した。

表 4 2005年植付区の当年の生存率

前年度球根区は8月22日～9月12日に、株植付区は10月13日に調査した

	植付場所	植付数	生存数(株)	生存率(%)
前年球根区	プランター	121個	112	92.6
	湿地	35個	30	85.7
株植付区	プランター	66株	59	89.4
	湿地	38株	28	73.7

生存率は、各区で70%以上と高かった(表4)。同じ植え付け地点で比べると、無菌株を直接植えたよりも前年の球根を植え付けた方がやや生存率は高かった。また、同じ植え付け材料を比べるとプランターに植え付けた方が湿地に植え付けるよりも生存率はやや高かった。

草丈はプランターの前年球根区で最も高かった(表5)。また、葉数はプランターの株植え付け区で多かった。前年の球根を植え付けた区では開花株が見られたが、無菌株を植え付けた区では開花は見られなかった。前年球根区の着花株率は、プランターの方が湿地より高かった。

表 5 2005年植付区の当年の生育状況

	植付場所	草丈(cm)	葉数(枚)	着花株率(%)
前年球根区	プランター	11.0	4.5	19.6
	湿地	6.0	3.1	6.7
株植付区	プランター	5.6	8.6	0
	湿地	7.5	6.5	0

湿地の区では冬に地上部が枯死した後そのまま放置し、翌2006年にふたたび調査を行った。湿地の両区とも100%以上に増殖した(表6)。増殖率は前年球根区の方が2倍くらい多かった。草丈はあまり差がみられなかったが、葉数は前年球根区の方が1枚多かった。着花株率、着花株あたりの着花数は、株植え付け区の方がやや高かった。

表6 2005年植付区の2006年の生育状況

植付材料	発芽数 (個)	増殖率 (%)	草丈 (cm)	葉数 (枚)	着花株率 (%)	株当着花数 (個)
前年球根株	70	233	28.7	5.2	24.3	1.6
株	44	116	31.4	4.2	36.4	2.0

3. 実験3

2006年に行った球根がついた株での分離植え付け実験では、球根付株と球根除去株の8月までの生存率はほとんど差がなかった(図3)。一方、球根のみの区では7月には発芽せず、8月にやっと10%のみ発芽した。

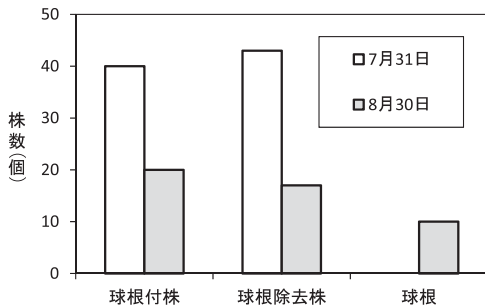


図3 2006年植付区の当年株数

しかし、12月になってからの次年度のための球根形成では差が大きく、球根付株で10個と最も多く、球根のみの区では、まったく球根が形成されなかった(図4)。

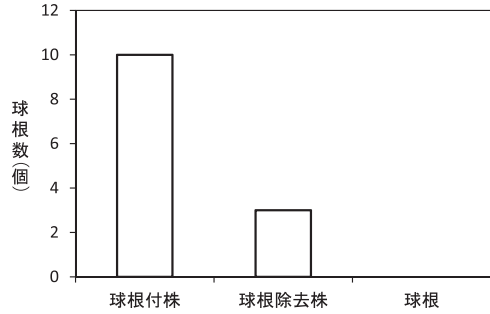


図4 2006年植付区の新球根数

考察

サギソウの無菌播種では、まずプロトコームが形成され、そこから芽と根が生育し、その後、根の先端から球根が形成されることが観察されている⁸⁾。培養期間によっては、葉の部分が枯死して球根が残る場合もある。Yamamoto ら⁹⁾は、球根形成しなかった植物、培養器内球根、球根を低温で貯蔵したものを順化に用い、それぞれから再生植物体を得ている。島田ら¹⁰⁾は幼植物体から形成された球根を順化に用いている。

実験1では、球根と株を湿地に直接植え付けて比較したところ、株の方が2年目の生存率が非常に高くなった(表1)。このことから、容器内の球根よりも株を直接植え付けた方が、増殖には適すると思われる。

さらに、実験2より、株を湿地に直接植え付けるよりも、プランターで予備栽培した方がより生存率が高くなることが分かった(表4)。無菌条件下からいったん栽培条件を管理できるプランターや鉢での栽培によって生存率を高くして、球根を多く得てから、湿地に植え付けた方が増殖のためにはより効率的であると考えられる。

実験3では、球根が形成されている株を株と球根に分けて両方増殖できるか検討したが、翌年の球根増殖のためには切斷するとか

えて増殖率が劣ることが分かった(図4)。

湿地およびプランターに無菌株を植え付けた年には開花が見られず、翌年に開花した(表5, 表6)。島田ら¹⁰⁾は球根を使用し、約10か月で開花させたことを報告している。永吉¹¹⁾は、8月中旬～11月の採種後に無菌播種し、翌年の4月に順化させた個体で生育の早いものは、7～9月に開花したと報告している。本実験では6月に植え付けを行ったので、もう少し早い時期に植え付け、栽培条件を検討すれば、順化した年に開花させることも可能ではないかと考えられる。

また、2004年湿地植え付け区では、球根を植え付けた区の方が株を植え付けた区より開花株率や株あたりの開花数が多かったが、これは、球根区で株数が株区に比べ非常に少なかったため、養分や光の競合が少なく、1本あたりの栄養条件が良かったためではないかと考えられる。

今回順化に用いた株は、生育ステージが様々であったので、今後、それぞれの生育ステージにおいても詳しく検討する必要がある。培養器内の球根にも休眠等の生理的状態の違いがあるとも考えられるので、さらに検討が必要である。

謝辞

サギソウ無菌播種方法の御指導をしてくだいました元作手高校教諭故石川林先生に感謝致します。

本実験の一部を担当された専攻生神崎宏美さん、寺倉奈緒さん、村井(旧姓松下)慶子さん、野田こず恵さん、鳥本聡子さん、武蔵春奈さん、大口晴香さん、金森由起さん、廣田桂子さん、松岡菜津美さんに感謝します。

参考文献

- 1) 太田和子, サギソウ等湿地植物群落の保護・復元に関する研究(Ⅰ) 岐阜女子大学内の湿地におけるサギソウの栽培, 岐阜女子大学紀要, 29, 2000, 161-166
- 2) 太田和子, サギソウ等湿地植物群落の保護・復元に関する研究(Ⅱ) 岐阜女子大学内の湿地の水質調査, 岐阜女子大学紀要, 30, 2001, 121-128
- 3) 太田和子, サギソウ等湿地植物群落の保護・復元に関する研究(Ⅲ) 岐阜女子大学内湿地の植物種調査, 岐阜女子大学紀要, 31, 2002, 63-69
- 4) 太田和子, サギソウ等湿地植物群落の保護・復元に関する研究(Ⅳ) 岐阜女子大学内湿地の土壌分析, 岐阜女子大学紀要, 32, 2003, 125-129
- 5) 太田和子, サギソウの無菌播種による増殖Ⅰ—培地の検討—, 岐阜女子大学紀要, 41, 2012, 11-15
- 6) 太田和子, サギソウの無菌播種による増殖Ⅱ—培地のスクロース濃度の影響—, 岐阜女子大学紀要, 41, 2013, 77-80
- 7) 竹内正幸・中島哲夫・古谷力 編, 植物組織培養の技術, 朝倉書店, 1983, 6-9
- 8) 長島時子, ラン科植物の種子発芽および初期発育の様相に関する研究, 園芸学会雑誌, 63(1), 1994, 139-149
- 9) Yamamoto, T., Y. Saito, C. Yamamoto and N. Kinjo, Reintroduction and restration of population of *Habenaria radiata* in natural habitat by plants propagated by aseptic seedling, Proceedings of APOC 7, Nagoya, 2001, 48-50
- 10) 島田多喜子・大谷基康・河原由佳・土屋照二, サギソウの無菌播種による増殖と培養苗の育成, 園芸学会雑誌第67巻別冊, 2, 1998, 550
- 11) 永吉照人, 無菌培養法によるサギソウ(*Habenaria radiata*)の大量増殖, 園芸学会雑誌第66巻別冊, 1, 1997, 708

