

ギフチョウの食草カンアオイに関する研究 (V) —ヒメカンアオイ無菌株の順化について—

太田和子

家政学部健康栄養学科

(2010年9月24日受理)

Studies on some *Heterotropa* in the diet of *Luehdorfia japonica*(V) —Acclimation of Stocks of *Heterotropa takaoui* from Non-Symbiotic Culture—

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

OTA Kazuko

(Received September 24, 2010)

緒言

前報¹⁾では、ギフチョウの保護を目的に、組織培養を用いてヒメカンアオイを大量に増殖する方法について報告した。茎頂または種子を用いて無菌培養に移し、成長したシュートを成長調節物質のBA(ベンジルアデニン)を0~100 μ MとNAA(ナフチル酢酸)を0~100 μ M含むMS(ムラシゲ・スクーグ)の培地で増殖率を検討したところ、BA100 μ M+NAA 10 μ Mの培地でシュート増加率が2カ月で5倍となり、組織培養により大量増殖が可能なことを報告した。

今回は、ヒメカンアオイの培養株を培養器から出して外の環境に順化させる方法について検討した。

順化過程では、植物は培地からの糖の供給による従属栄養状態から、自ら光合成を行う独立栄養状態に変化していく。そこで、順化前に糖を与えない培地で、独立栄養に馴らしていくことが順化率を高めるのではないかと考え、前培養での糖の有無を検討した。

また、オナガカンアオイの培養株の順化に

おいて、パーミキュライト、ピートモス、砂、赤土、腐葉土について検討したところパーミキュライトが最も優れていた²⁾。そこで、今回はパーミキュライトを含め、他にカンアオイの園芸栽培でよく用いられる培養土を用いて、順化について検討を行った。

材料および方法

1. 材料

材料として岐阜県各務原市に自生のものおよび本学飼育室内で鉢栽培しているヒメカンアオイ(*Heterotropa takaoui* F. Maekawa)を用いた。

1992年~1996年に茎頂培養または無菌播種して、無菌培養を行い、その後増殖実験で増殖させたシュートを1998年に順化実験に用いた。

2. 前培養における糖の有無による影響についての実験

順化前の培養苗をホルモンフリーのMS培地に2%サッカロースを加えた培地と加えな

かった培地で、40日間培養後、6月1日より順化実験を行った。培養条件は、温度20℃または25℃で、昼16時間(2000ルクス)、夜8時間(暗黒)に設定した。

培養株は培養器より取り出し、根を流水でよく洗った後に蒸留水で洗った。葉数、生重、根長を測定した。

4号の駄温鉢にパーミキュライトを入れて、培養株を4株ずつ植え付けた。外気に馴れるまで、鉢をビニール袋で覆い、室内のガラスケースで生育させた。数日後より、ビニール袋の上部を少しずつ切り取り、穴を開けて外気を徐々に取り入れていった。培養土が乾いてきたら、霧吹きで灌水を行った。1~2週後にビニール袋を取り去った。

1カ月後に株を堀上げ、葉数、生重、根長を測定した。

3. 培養土の影響についての実験

2%サッカロースを含むMSホルモンフリー培地で生育させた培養株を用いた。

順化の方法は2.の実験と同様に行った。培養土として、パーミキュライト、赤玉土、鹿沼土、ミズゴケ、山野草の土(榊花ごころ)を用いた。1回目は、葉数5枚程度の苗を7月10日に移植し、8月11日に観察を行った。2回目は、葉数10枚程度の苗を12月14日に移植し、翌年1月11日に観察を行った。

結果および考察

1. 前培養における糖の有無による影響についての実験

糖の入っていない培地で前培養した株の枯死率は85%と非常に高かった(表1)。一方、2%サッカロース培地で前培養した株は枯死率が5%と少なく、両区に大きな差が見られた。

生存株の葉数は両区とも減少が見られ、糖あり区の方が平均減少数は多かった(表1)。一方、最大根長は糖あり区で増加し、糖なし区では減少していた。全体の生重は、糖なし区でやや増加、糖あり区では、わずかながら減少が見られた。

表1 順化におよぼす前培養培地の糖の有無の影響

処理区	糖なし	糖あり
枯死率(%)	85.0	5.0
生重の増加(g)	0.3±0.2	-0.01±0.02
葉数の増加(枚)	-2.0±0.6	-5.8±0.4
最大根長の増加(cm)	-10.6±13.7	19.8±4.3

数値は平均値±標準誤差で示す

従属栄養から独立栄養に切り替えるためには、培養中の光環境やガス環境も深く関係している。今回の前培養条件では、光合成を行うには光強度が不足し、ガス環境もほぼ閉鎖系でありガス交換量も少なかったため、独立栄養状態には移行できず、糖がないことで培養株が生育不良になり、活着率が低下したのではないかと考えられる。

順化株の活着率を考えると、ヒメカンアオイにおいては、前培養では通常の糖を加えた培地で培養した方が順化に良い結果が得られると考えられる。

2. 培養土の影響についての実験

1回目、2回目ともにミズゴケでの枯死率が最も高かった(図1)。他の培養土に関しては、1回目と2回目の枯死率の結果は異なった。1回目の順化実験では、赤玉土で枯死が見られず、2回目の順化実験では、パーミキュライト、鹿沼土、山野草の土で枯死が見られなかった。

図2に1回目の実験における各培養土での生育の様子を示す。1回目の実験ではそれほ

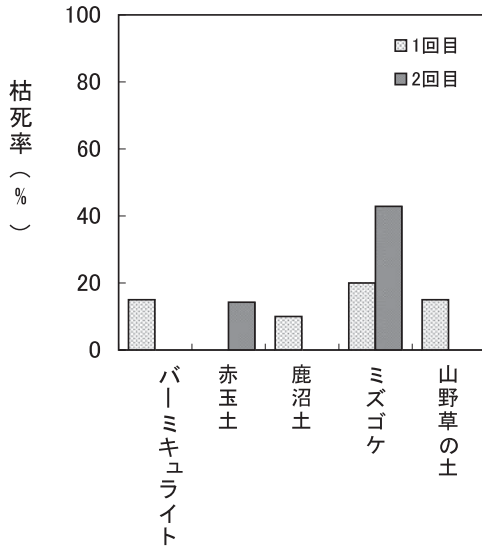


図1 枯死率におよぼす培養土の影響

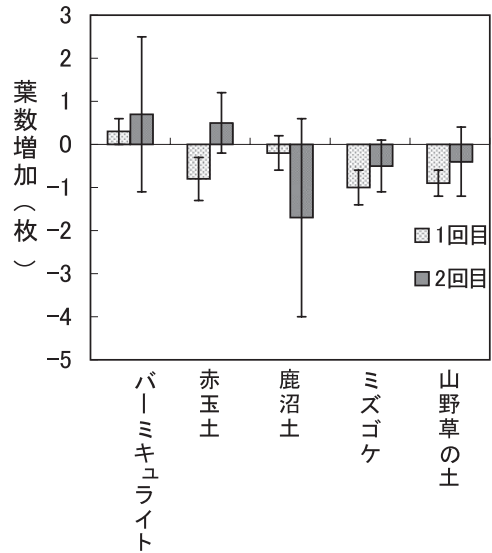


図3 葉数増加におよぼす培養土の影響
 縦棒は標準誤差を示す

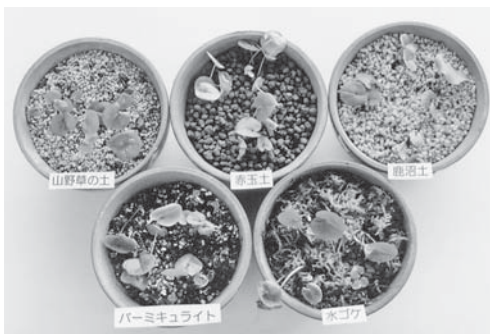


図2 各培養土での生育の様子

ど大きな生育差は見られなかった。

葉数はバーミキュライトで1回目, 2回目ともに増加が見られた(図3)。赤玉土では, 1回目は葉数の減少が見られたが, 2回目では増加した。鹿沼土, ミズゴケ, 山野草の土では, 両方の実験で葉数は減少した。

最大根長は, 2回目のミズゴケを除いては, 増加が見られた(図4)。両実験とも鹿沼土での増加が最も大きかった。

全体の生重は, 1回目の実験では, 各培養土で減少した(図5)。2回目の実験では, バーミキュライトと鹿沼土で生重の増加が見られ, 鹿沼土で増加が大きかった。また, ミズ

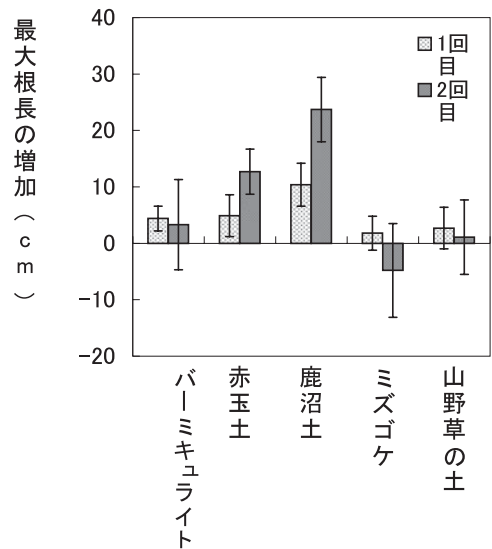


図4 最大根長の増加におよぼす培養土の影響
 縦棒は標準誤差を示す

ゴケで最も減少した。

以上より, バーミキュライトと鹿沼土での生育が他培養土に比べてやや良く, 一方, ミズゴケでは, 枯死率が大きく, 生育も劣った。

今回使用した培養土は, どれも通気性が良

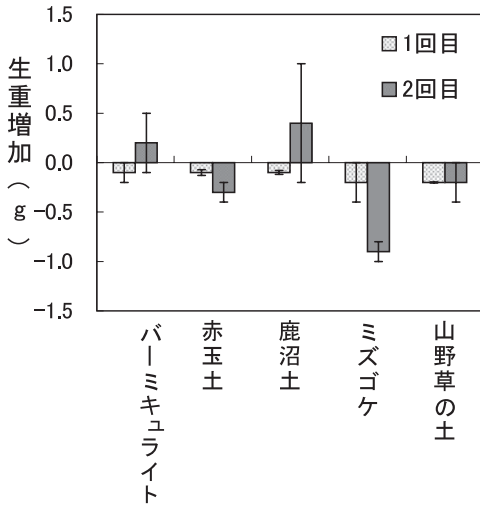


図5 生重増加におよぼす培養土の影響
縦棒は標準誤差を示す

く、保水力もあった。ミズゴケは水を含むとやや排水性が悪くなり、また、乾燥させすぎると水を吸収しなくなる性質があるので、順化に適さなかったのではないかと考えられる。

また、1回目の実験は夏期に小さめの株を使用したのに対して2回目の実験は冬期に大きめの株を使用したので、各実験の違いに順化時期や株の大小が関係する可能性もある。特にミズゴケを使用した場合、冬期の順化においては、枯死率が40%以上と高く、最大根長の減少も見られ、生重の減少量も大きかった。冬期はミズゴケが乾燥するまでに時間がかかるので、過湿が根の生育に影響を与えた可能性も考えられる。また、最大根長の増加は冬に鹿沼土と赤玉土で多かった。生重は、冬のバーミキュライトと鹿沼土のみで増加が見られた。このように、培養土の違いによる順化への影響は冬の実験において顕著に見られ、夏の実験ではその差は小さかった。

要約

ギフチョウの食草であるヒメカンアオイを組織培養によって大量増殖する方法の一環として、無菌培養器から取り出し外の環境に順化させるための方法について検討した。

1. 前培養における糖の有無について比較した結果、糖を含む培地で前培養した方が枯死率は低くなり、順化に適することが分かった。

2. 順化に用いた培養土の中では、ミズゴケでの枯死率が高く、培養土に適さないと考えられる。葉数の増加はバーミキュライトで優れていて、根長の増加は鹿沼土で良かった。また、生重の増加もバーミキュライトと鹿沼土で良かった。このことから、順化の培養土としてバーミキュライトと鹿沼土が適していることが分かった。

謝辞

本実験の御指導をしてくださった故 香川彰 本学名誉教授に感謝致します。

本実験の一部を担当された専攻生野々村(旧姓 清水)和歌子さん、森口幸子さんに感謝します。

文献

- 1) 太田和子, ギフチョウの食草カンアオイに関する研究(Ⅳ)組織培養によるヒメカンアオイの増殖について, 岐阜女子大学紀要, 38, 2009, 21-26
- 2) 太田和子・香川彰, ギフチョウの食草カンアオイに関する研究(Ⅱ)組織培養によるオナガカンアオイの増殖, 岐阜女子大学紀要, 26, 1997, 65-69