

# ロールペーパーとバーミキュライトを培地支持材料に用いた絶滅危惧植物 アツモリソウの苗生産に関する研究

小山田智彰<sup>1,2\*</sup>・平塚 明<sup>2</sup>・鞍懸重和<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 岩手県環境保健研究センター地球科学部 020-0173 岩手県盛岡市飯岡新田

<sup>2</sup> 岩手県立大学総合政策学部 020-0193 岩手県滝沢村滝沢字菓子

## Cultivation of an Endangered Orchid, *Cypripedium macranthos* var. *speciosum* Using a Mixture of Rolled Paper and Vermiculite as Culture Medium Support Materials

Tomoaki Oyamada<sup>1,2\*</sup>, Akira Hiratsuka<sup>2</sup> and Sigeказу Kurakake<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Research Institute for Environmental Sciences and Public Health of Iwate Prefecture, Department of Earth Science, Iiokashinden, Morioka, Iwate 020-0173

<sup>2</sup> Iwate Prefectural University, Graduate School of Policy Studies, Sugo, Takizawa, Iwate 020-0193

### Abstract

We have developed a new growing technique called ‘The Paper Lite cultivation method’ and have now confirmed its efficacy for cultivating *Cypripedium macranthos* var. *speciosum*. We used Paper Lite medium (PL medium), which is made from a mixture of rolled paper and vermiculite and placed an aseptic air ventilation filter on the top of the growth container. We transplanted young cultured plants on to the PL medium. Immediately after transplantation, we cultured the plants in a dark place keeping the temperature at 4°C for 120 days. Then the plants were moved to a bright places keeping the temperature at 20°C. We maintained the plants under these conditions for 150 days, and fed them with a special solution prescribed and patented by T. Oyamada every four weeks. Just prior to their acclimatization and potting, plants produced by our method were compared with others produced by the standard methods. The former surpassed the latter in total weight, height and number of leaves, number of roots, and number and development of dormant buds. A year after being potted and moved outdoors, plants grown by our method continued to surpass those grown conventionally in height and number of leaves. The plants were maintained outdoors in pots for one year. We then transplanted them to wild forests. A year after this transplantation, their survival rate was 84%, and the flowering rate was 5%.

**Key Words** : air ventilation filter, flowering, low temperature treatment, paper lite medium, survival rate

**キーワード** : 開花, Paper Lite 培地, 生存率, 低温処理, 通気フィルター

### 緒 言

ラン科植物アツモリソウの自生地は減少を続け、種は絶滅の危機に瀕している（岩手県生活環境部自然保護課, 2001）。岩手県はアツモリソウの産地として知られ、県内で多くの個体が販売されている。これらは、かつて県内の自生地から採取された個体から株分けによって生産されたものであり、種子から育てられたアツモリソウが流通することは皆無である。そのため、栽培個体の供給が需要に追いつかず、自生個体の盗掘がいまだに続いている。

アツモリソウの保全対策として、盗掘圧を下げるための

人工的増殖が行われている（三吉, 2006）。主な方法は、ラン科植物の苗生産に広く利用されている「無菌播種法（以下、従来法）」である（木村・花岡, 1990; 三吉・三井, 1995; 鈴木ら, 2006; 高橋・筒井, 1992）。従来法は、発芽用培地に種子を播き、発芽後に形成されたプロトコームを生育用培地で継代培養することにより、芽と根を分化した幼植物体を得、さらに継代を繰り返して苗の生育を進める方法である（Miyoshi, 1997; 小山田, 2003）。従来法において光は発芽に阻害的に働くので、継続的な暗黒下、20°C 一定を基本条件に培養する。

この方法により、約 70% の発芽率を得られることが確認されている（城ら, 1996; 三吉, 2006; 小山田・菊池, 2002, 2005）。しかし、発芽後に形成されたプロトコームの器官分化、幼植物体の生育について詳しく調査したところ（小山田ら, 2008）、①プロトコームから器官分化が進まないものが 55% 生じた、②培地内に根が伸長せず、空中に伸長した

2010年5月31日 受付。2010年12月27日 受理。

本研究の一部は、独立行政法人日本学術振興会平成20年科学研究費補助金奨励研究（課題番号：20925015）で行った。

\* Corresponding author. E-mail: tomo-oyamada@pref.iwate.jp

根が褐変し、枯死する個体が31%生じた、③改善策として培養中に低温処理を行った後、20°Cで培養を続けると黄化する個体が57%生じた。つまり、従来法では発芽後の生育に課題が残る。

従来法の改善について木村・栗原(1993)は、無菌発芽したアツモリソウ実生株が1または4°C低温処理によって芽を伸ばし、展葉することを見いだしている。城・秋田(1998)は、アツモリソウ幼苗の鉢上げにおいて、低温処理時にパーミキュライトを保湿材料に用いるのが効果的であり、10°C、4週間の予冷処理は苗質を向上させ、その後の低温処理は4°C、9週以上が適当であると述べている。これらは、従来法で作出された無菌培養苗の低温処理が、出芽と葉の展開に及ぼす影響について確認を行ったものであり、培養幼植物の生育については改善の余地がある。

そこで本研究では、培地に用いる支持材料の種類や、通気フィルターおよび低温処理の有無が、従来法で得たアツモリソウ幼植物体の生育に及ぼす影響について調査した。また、培養時の低温処理期間の違いが、幼植物体の生育に及ぼす影響も調べた。さらに、培養で得られた植物体を順化・鉢上げし、野外試験地での生育状況を評価することで、開発した培養法の実用性を確認した。

### 材料および方法

岩手県岩泉町および岩手県遠野市内で栽培・保存されているアツモリソウ (*Cypripedium macranthos* Sw var. *speciosum* (Rolfe) Koidz.) 個体を材料に用いた。開花後7日目に人工交配を行い、交配60日目にさく果を採取した。直ちにさく果の表面を火炎滅菌し、内部の種子を取り出した。小山田・菊池(2002, 2005)が開発したアツモリソウ属植物用培地(以下、小山田固形培地;第1表)を100 mL充填したメリクロン培養用フラスコ(300 mL, AGC)に種子を無菌播種し、20°Cの暗黒条件(以下、暗所条件)に設定したバイオマルチンキューベータ(LH-30-8CT, NK システム)内で培養した。播種後約60日から発芽が確認され、播種後120日の発芽率は68%であった。発芽後に形成されたプロトコームを新しい小山田固形培地に移し、暗所条件で60日間培養

した後、根と芽(第1葉が未展開、大きき約5 mm)が分化した幼植物体を全ての培養実験に使用した。

### 1. 培地支持材料の違いが幼植物体の出芽率に与える影響(実験1)

幼植物体の培養にとって最適な培地支持材料について検討した。材料としてパーミキュライト(1号, 福島パーミ), パーライト(S, 三井金属鉱業), ロックウール(DM4G, グロダン), ココナッツファイバー(4CF, 大成商事), ミズゴケ(600G, IRIS), スギカワ(粉碎スギ皮, 栗野町森林組合), ロールペーパー(エルヴェール, 王子製紙)を単独で使用した区(以下、単用区)と、それぞれ2種類の支持材料を混合した区(以下、混合区)の計28処理区を設定した。単用区では、支持材料を広口ガラスの培養容器(450 mL, 石塚硝子)に100 mLずつ充填した。なお、ロールペーパーについては純水と容積比1:2で混合し、ミキサーで粉碎したものを充填した。混合区のうち、ロールペーパーを含まない組み合わせでは、各支持材料を容積比1:1で混合したものを単用区と同様の培養容器に充填した。ロールペーパーを含む組み合わせでは、ロールペーパー粉砕物と他の支持材料を容積比1:2の割合で混合した。支持材料を充填した培養容器に、小山田固形培地からスクロース, ポテトキューブ, 活性炭およびゲランガムを除いた小山田液体培地を50 mLずつ添加し、オートクレーブで121°C, 15分間の滅菌処理を行った。幼植物体を1つの培養容器につき5個体ずつ、培地中約1 cmに位置するように移植した。移植後20°C, 16時間日長, 照度3,000 lx(陰陰極蛍光ランプ)(以下、明所条件)で30日間培養し、培地汚染の有無と各幼植物体の培地中からの出芽率を調査した。

### 2. 通気フィルターの使用および低温処理が幼植物体の生存率に与える影響(実験2)

幼植物体培養時における通気フィルターの使用, および低温処理の効果について検討した。実験1と同じ様に、ロールペーパーとパーミキュライトの混合物を支持材料とするPaper Lite培地(PL培地)を培養に使用した。医療マスク(95×170 mm, ニチエイ;細菌遮断率BFE>95%)を加工して作成した通気フィルターを、培養容器の上面に設置し

第1表 小山田固形培地および小山田培養液の組成

小山田固形培地の組成 <sup>z</sup>	添加量	小山田培養液の組成 <sup>y</sup>	添加量
Hyponex (6.5-6.0-19.0)	1 g・L <sup>-1</sup>	塩酸チアミン	5 mg・L <sup>-1</sup>
ペプトン	1 g・L <sup>-1</sup>	ニコチン酸	2.5 mg・L <sup>-1</sup>
スクロース	20 g・L <sup>-1</sup>	塩酸ピリドキシン	5 mg・L <sup>-1</sup>
小山田培養液	1 mL・L <sup>-1</sup>	ミオイノシトール	10 mg・L <sup>-1</sup>
ポテトキューブ <sup>x</sup>	5 mm 角	植物活性剤	0.1 mL・L <sup>-1</sup>
活性炭 <sup>w</sup>	1 g・L <sup>-1</sup>	木酢液	0.1 mL・L <sup>-1</sup>
ゲランガム	3 g・L <sup>-1</sup>	pH	5.8
pH	5.8		

<sup>z</sup>特許第3706085号

<sup>y</sup>特許第3330365号

<sup>x</sup>培養容器に1個加えた後に、オートクレーブで滅菌する

<sup>w</sup>活性炭は発芽培地に用いない

た(通気フィルター使用区). 通気フィルターを使わない場合, 培養容器の上面にアルミホイルを設置した(通気フィルター未使用区). 実験1と同じ方法で, 1つの培養容器に幼植物を5個体ずつ移植し, 明所条件下で培養した. 低温処理を行った区では, 幼植物体を4°C暗所条件に設定した冷蔵庫(CP-1-1, ヤマト科学)内で90日間処理した後, 明所条件下での培養を開始した. この間, 小山田液体培地を4週間ごとに補充した. 培養開始120日目に幼植物体の生存率を調べた. その際, 植物体全身が褐変し, 明らかに将来の生存を見込めない状態を枯死とした.

### 3. 低温処理日数が草丈, 葉数, および越冬芽形成率に与える影響(実験3)

幼植物体にとって適切な低温処理条件について検討した. 実験2の通気フィルターを使用した培養条件下で, 低温処理日数0, 30, 60, 90および120日の試験区を設定し, 幼植物体の低温処理後, 明所条件下での培養30, 60, 90および120日目の草丈と葉数を調査した. 越冬芽形成率については, 低温処理日数0, 30, 60, 90および120日の試験区を設定し, 処理終了後, 明所条件下で培養した. 120日目の各処理区の幼植物体を培養容器から取り出し, 付着したPL培地を完全に洗い流した後, 越冬芽を数えた.

### 4. PL培養法の実用性の評価(実験4)

#### 1) 培養150日後の生育比較

培養が完了した順化・鉢上げ直前の植物体(培養植物体)の生育について, 従来法と, 実験3と同様の方法で低温処理を90日間実施した培養法(PL培養法)を比較し, 実用性を評価した. 従来法では暗黒下で幼植物体を150日間継続培養し, PL培養法では低温処理後に明所条件下で幼植物体を150日間培養した. 従来法とPL培養法で得られた植物体の草丈, 葉数, 生体重, 根数, 最大根長, 越冬芽数および生存率を調査した. なお, 生体重, 根数, 最大根長, 越冬芽数の計測では, 付着した培地を完全に洗い流す際, 培養植物が損傷を受けるため, その後の調査に利用できなくなる. そこで, それらの計測には, 各試験区で平均的な生育を示していると判断した7個体を用いた.

#### 2) 順化・鉢上げ後の生育比較

従来法で作出した培養植物体は, 小山田固形培地が付着していると雑菌が繁殖してしまうため, 水で培地を洗い流し, 完全に除去してから用いた. PL培養法により作出した培養植物体は, 雑菌が繁殖するおそれがないことから, PL培地が付着したままの状態で用いた. 培養植物体の順化・鉢上げは小山田(2003)の方法に沿って, 9月に実施した. 1つの栽培容器につき10個体を標準植栽密度とし, 約1cm深に培養植物体を植えた. ただし, PL培養法の培養植物体は葉が展開していたため, 茎葉部が地上に出るように移植した. 植栽した栽培容器は屋外の棚に設置し, 自然環境下で管理した. 順化・鉢上げは, 野外の最高気温が, 25°C以下の日が連続するようになったのを確認してから実施した. 寒冷しゃを設置して遮光を行ない, 日中の照度が

5,000 lx以下になるよう調節した. 降雪が確認された時点で寒冷しゃを取り外し, 越冬させた. 順化・鉢上げから1年後の翌年9月に出芽個体を確認して, 草丈, 葉数および生存率を調査した.

### 3) 野外試験地への植栽による実用性の評価

培養植物体を野外試験地に移植し, PL培養法の実用性について評価した. 試験地は遠野市の公共施設「遠野ふるさと村」の自然林(10m×30m)内に設定した. 順化・鉢上げによる生育比較に用いた29個体に, PL培養法により培養した71個体を加えた100個体を, 6月に移植した. 栽培管理は行わず自然放置とし, 移植から1年経過した培養植物体の生存率と生育状況を記録した.

## 結 果

### 1. 培地支持材料の違いが幼植物体の出芽に与える影響(実験1)

ココナッツファイバー, ミズゴケおよびスギカワを用いた区ではコンタミネーションが発生したため, 結果から除外した. 培地上に幼植物体の出芽が確認されたのは, パーミキュライトとロールペーパーの単用区と, パーミキュライトとパーライト, パーミキュライトとロールペーパー, パーライトとロールペーパーの混合区であった(第2表). パーミキュライトとロールペーパー混合区で90%の出芽率が得られた.

### 2. 通気フィルターの使用および低温処理が幼植物体の生存率に与える影響(実験2)

通気フィルターを使用しなかった場合, 低温処理なしでの生存率は10%であるのに対し, 低温処理ありの生存率は30%であった(第3表). また, 通気フィルターを使用した場合, 低温処理なしでの生存率は25%であるのに対し, 低温処理ありでの生存率は85%に達した(第3表).

### 3. 低温処理日数が草丈, 葉数, および越冬芽形成率に与える影響(実験3)

草丈について, 低温未処理区では, 明所条件下での培養120日目まで伸長は見られなかった. 一方, 低温処理区では, いずれの低温処理日数でも培養30日目まで急激に伸長し, それ以降はほとんど伸びなかった. 90日間の低温処理を行った場合の草丈は, 平均で58.9cmに達した(第1図A). 葉数については, 低温未処理区での増加が全く見られなかった. 一方, 低温処理30および90日区では, 処理終了時点において増加した. また, いずれの低温処理日数でも培養30日目まで増加が見られたが, それ以降は顕著な増加はなかった. 90日間の低温処理を行った場合の葉数は, 平均で2.3枚に達した(第1図B). 越冬芽形成率は, 低温未処理区は32%であったのに対して, 低温処理区では90日間の処理を行った場合, 92%の越冬芽形成率が示された(第4表). 従来法では培地内に根が伸長せず, 空中に伸長した根が褐変して枯死する個体があったが, PL培地では全ての試験区において空中に伸長する根は見られなかった.

第2表 培地支持材料の違いが幼植物体の出芽率に与える影響

培地支持材料		出芽率 (%) <sup>z</sup>
単用区	パーミキュライト	15
	パーライト	0
	ロックウール	0
	ロールペーパー	50
混合区	パーミキュライトとパーライト	10
	パーミキュライトとロックウール	0
	パーミキュライトとロールペーパー	90
	パーライトとロックウール	0
	パーライトとロールペーパー	40
	ロックウールとロールペーパー	0

<sup>z</sup> n = 20

第3表 通気フィルターの使用および低温処理の有無が幼植物体の生存率に与える影響

通気フィルターの使用	低温処理日数 (日)	生存率 (%) <sup>z</sup>
なし	0	10
	90	30
あり	0	25
	90	85

<sup>z</sup> 通気フィルターなし : n = 10, 通気フィルターあり : n = 20

4. PL 培養法の実用性の評価 (実験 4)

実験 1 ~ 3 の結果から, PL 培地と通気フィルターを使用し, 低温処理を 90 日間実施した後, 明所条件下で培養を行うことで幼植物体の生育を促進できる新しい方法 (「PL 培養法」) を確立した. この PL 培養法を用いた培養植物体の生育と実用性について評価した.

1) 培養 150 日後の生育比較

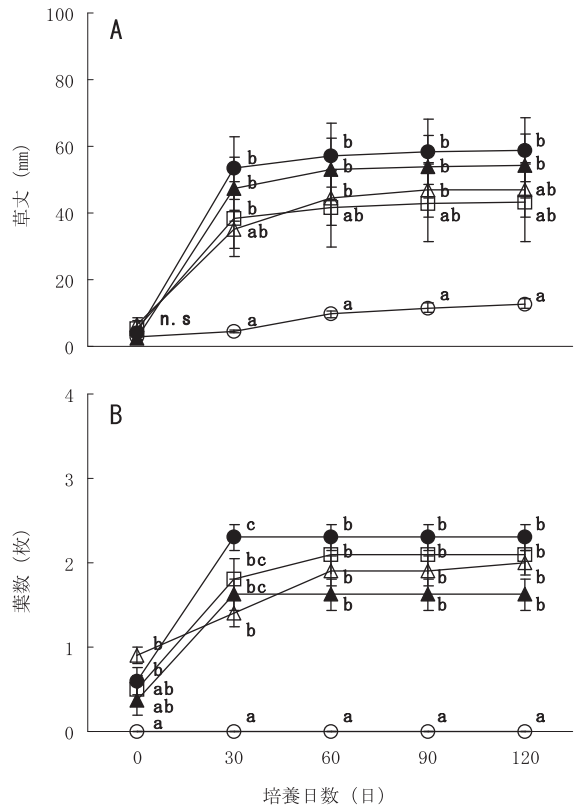
従来法での培養を 150 日間実施した際の生存個体数は 120 であったが, 褐変した個体が 28%, 黄化した個体が 1% 見られたため, これらを除いたものについて草丈および葉数を調査した.

20°C, 明所条件で 150 日経過した順化前幼植物体の草丈, 葉数, 生重量, 根数および越冬芽数については, 従来法より PL 培養法が高い値を示した (第 5 表, 第 2 図). 最大根長および生存率については, 2 つの方法間に有意な差はなかった.

第4表 PL 培養法における低温処理日数と幼植物体の越冬芽形成率との関係

低温処理日数 (日)	越冬芽形成率 (%) <sup>z</sup>
0	32
30	86
60	88
90	92
120	74

<sup>z</sup> n = 50



第1図 PL 培養法における低温処理が幼植物体の草丈 (A) および葉数 (B) に及ぼす影響

○ : 低温未処理, △ : 低温 30 日, □ : 低温 60 日, ● : 低温 90 日, ▲ : 低温 120 日  
 縦線は標準誤差 (低温未処理 : n = 10, 低温 30 日 : n = 10, 低温 60 日 : n = 10, 低温 90 日 : n = 10, 低温 120 日 : n = 8)  
 異なるアルファベット間には, Tukey-Kramer の多重比較により 5% 水準で有意差あり

第5表 培養 150 日後 (順化・鉢上げ実施前) の生育比較

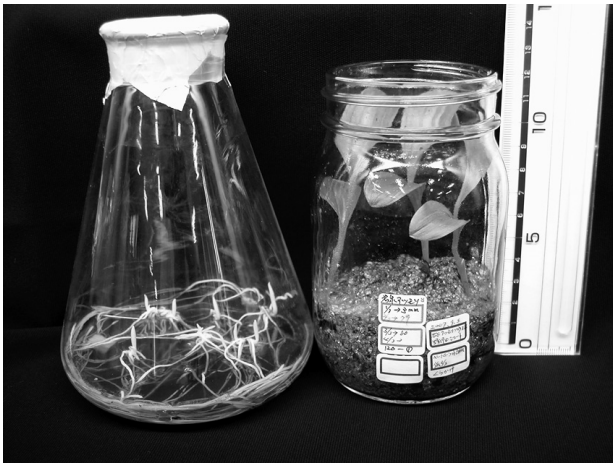
培養法	草丈 (mm)	葉数 (枚)	生体重 (g)	根数 (本)	最大根長 (mm)	越冬芽数 (個)	生存率 (%)
従来法 <sup>z</sup>	9.8 ± 0.5 <sup>y</sup> (70) <sup>x</sup>	0.0 ± 0.0 (70)	0.40 ± 0.06 (7)	5.9 ± 0.4 (7)	158.9 ± 12.0 (7)	0.6 ± 0.3 (7)	68.6 (175)
PL 培養法	58.0 ± 6.3 (20)	2.3 ± 0.1 (20)	1.06 ± 0.11 (7)	16.1 ± 2.3 (7)	121.7 ± 15.8 (7)	2.5 ± 0.4 (7)	80.0 (25)
有意性 <sup>w</sup>	**	**	**	**	n.s.	**	n.s.

<sup>z</sup> 小山田培地を使用

<sup>y</sup> 平均値 ± 標準誤差

<sup>x</sup> 括弧内は供試数を示す

<sup>w</sup> \*\*は 1% 水準で有意差あり, n.s. は有意差なし (草丈, 葉数, 全重量, 根数, 最大根長および越冬芽数はウェルチの t 検定, 生存率はフィッシャーの正確確率検定)



第2図 培養150日後の生育比較  
左：従来法 右：PL培養法

第6表 順化・鉢上げ1年後の生育の比較

培養法	草丈 (mm)	葉数 (枚)	生存率 (%)
従来法 <sup>z</sup>	37.7 ± 2.0 <sup>y</sup> (67) <sup>x</sup>	2.3 ± 0.1 (67)	58.3 (115)
PL 培養法	141.0 ± 9.1 (29)	3.6 ± 0.1 (29)	96.7 (30)
有意性 <sup>w</sup>	**	**	**

<sup>z</sup> 小山田固形培地使用

<sup>y</sup> 平均値 ± 標準誤差

<sup>x</sup> 括弧内は供試数を示す

<sup>w</sup> \*\*は1%水準で有意差あり(草丈、葉数はウェルチのt検定、生存率はフィッシャーの正確確率検定)

## 2) 順化・鉢上げ後の生育比較

順化・鉢上げ後、野外での生育を1年間続けた苗の草丈、葉数、および生存率は、従来法よりPL培養法が高い値を示した(第6表)。

## 3) 野外試験地への植栽による実用性の評価

PL培養法で作出し、順化・鉢上げの翌年に出芽した培養植物体を野外自然林の試験地に移殖し、1年経過後に84%が生存し、5%が開花した。

## 考 察

岩手県において、アツモリソウは野生絶滅の危険性が最も高い植物であり、種の保存対策が急務となっている(前田, 2008)。アツモリソウの増殖については、無菌播種法(従来法)を用いた苗生産が行われているが、この方法では発芽後の生育に問題が生じる。本研究では、幼植物体の生育を促進するため、これまでアツモリソウの培養に用いられていた培地支持材料や低温処理についての研究(城・秋田, 1998; 木村・栗原, 1993)を参考にしながら、新たな培養法の開発を試みた。

はじめに、培地支持材料について検討した。城・秋田(1998)が用いたパーミキュライトを試したが、出芽後から個体が褐変し、黒くなって枯死した。パーライト(元岡ら,

1992)やロックウール(古在, 1998)では出芽が認められず、やはり個体が褐変して枯死した。このように、これらの単用では、植物の生育が阻害されることが示された。コナッツファイバー、ミズゴケおよびスギカワはアツモリソウの栽培用土(三橋・栗林, 1999)に使われているが、本研究では培養直後からコンタミネーションが発生した。野生ランの鉢栽培では、用土にチップ状のダンボールを加える方法がある(小田倉, 2001)。紙を材料にした点を参考に、本研究ではロールペーパーとパーミキュライトの混合物を支持材料(PL培地)に用い、90%の出芽率を得た。保湿効果のあるロールペーパーが培地を保持し、パーミキュライトとの混合が適度な空隙を生んだことが原因であろう。支持材料としてのロールペーパーの効果を確認したのは、本研究が初めてである。従来法では、定期的に新しい培地に移す継代培養の度に培地作成が必要だった。しかし、PL培地では、小山田液体培地を4週間ごとに補充するだけで培養を続けられる。PL培地は寒天やゲランガムなどの固形剤を使用せず、補充培地にも糖が含まれていないことから、培地をつけたままで順化・鉢上げができる。

PL培地を使用した培養の通気に、医療マスクを加工したフィルターを使用したところ、使用しない場合の植物体の生存率は30%であるのに対して、使用した場合は85%であった。この通気フィルターにより、培養容器の口(径60mm)の全てを通気面として使用できたことが原因と推測した。オートクレーブを用いた滅菌処理により、コンタミネーションの発生も見られなかったことから、広範囲での利用が期待される。

本研究で確立したPL培養法は、PL培地と通気フィルターの組み合わせに、低温処理90日とその後の明所条件での培養を加えた。低温処理によりアツモリソウ幼植物体の草丈、葉数の増加が認められ(第1図)、90日間の低温処理によって92%という越冬芽形成率が得られた(第4表)。従来法の改善策として、低温処理の後に培養を続けたが、黄化する個体が発生し、回復せずに枯死したという報告がある(小山田ら, 2008)。しかし、PL培養法では黄化の発生は全く見られなかった。

PL培養法の実用性の評価のために、150日間培養した植物の生育を従来法と比較したところ、草丈、葉数、苗の全重量、根数、越冬芽数において促進が確認された(第5表)。順化・鉢上げから1年を経過した苗の比較では、PL培養法で作出した幼植物体が草丈、葉数および生存率において、従来法を上回った(第6表)。

以上の結果から、PL培養法は実用性の高い培養法であると言える。アツモリソウ自生地での個体調査、自生地所有者や栽培者への聞き取りによると、アツモリソウは葉が4枚になると開花が近い。本研究で開発したPL培養法は、順化・鉢上げの1年後には、葉数が平均3.6枚に達することから(第6表)、開花を実現しやすい状態で野外に移すことができる。これを確認するために、鉢上げから1年を経過

した培養植物 100 個体を準備し、野外自然林の試験地に移植したところ、移植 1 年後に 84% が生存し、5% が開花した。現在は、移植後の生存と生育についての調査を継続中である。

絶滅の危機に瀕しているアツモリソウの保存策の一つとして、人工増殖技術の確立が急がれている。本研究で開発した PL 培養法は植物ホルモンを使用しないため、体細胞変異を生ずる確率は低いと推測される。また、PL 培養は交配後の種子を発芽・成長させる培養であり、作出される苗はクローンではない。従って、遺伝的多様性は保たれていることから、自生地復元においても活用が期待される。

現在までに農林水産省の種苗登録制度において、アツモリソウ属植物を交配親として開発された園芸品種の登録はない。日本人が開発したアツモリソウ交配種のサンダーズリスト（ラン科植物交配種の国際登録リスト、英国王立園芸協会）への登録もわずかである。育種のための交配親の確保、交配によって得られた種子からの苗生産と育苗、登録に必須の品種固定の確認や生育調査用の苗の確保など、育種過程には膨大な量の苗が必要とされる。それに対応できる生産技術が確立されていないことが、園芸品種登録の少なさの原因であろう。PL 培養法は園芸・育種分野においても、苗の安定生産と育種年限の短縮化に効果を発揮し、地域資源としてのアツモリソウの利用を可能とするであろう。

## 摘 要

新しい培養法「Paper Lite 培養法」を開発し、アツモリソウにおける有効性を確認した。ロールペーパーとパーミキュライトを混合した Paper Lite 培地（PL 培地）を用い、培養容器の上部に通気フィルターを設置した。PL 培地に幼植物体を移植した直後から、4°C 暗所条件で 90 日間培養した。その後、20°C 明所条件で 150 日間培養した。この期間中は、4 週ごとに小山田液体培地を補充した。鉢上げ前の幼植物体の生育を従来法（無菌播種法）と比較したところ、草丈、葉数、生重量、根数および越冬芽数は PL 培養法の値が高かった。順化・鉢上げから 1 年を経過した培養植物体の草丈、葉数についても、PL 培養法の値が高かった。PL 培養法で作出した幼植物体を自然林内に移植して 1 年後、84% の苗が生存し、5% が開花した。

**謝 辞** アツモリソウの苗生産と流通の情報は、住田町の「住田町アツモリソウ増殖事業」指導顧問の中澤 敏氏および遠野市よりいただいた。本研究の評価と取りまとめについては、小岩井農牧株式会社環境緑化部・品質保証部の辻 盛生氏および岩手県環境保健研究センターの山内貴義氏よりご助言をいただいた。アツモリソウ属植物の苗生産と育種の情報は、リンネ学会フェローの大槻葉子氏よりいただいた。増殖試験にあたっては、岩手県立大学大学院総合政策研究科の藤原聖史氏、柏台植物研究所所長の森尚文氏より協力をいただいた。培養苗の栽培試験については、盛岡市の三辰園および遠野市の遠野ふるさと村より協

力をいただいた。心より御礼申し上げる。

## 引用文献

- 岩手県生活環境部自然保護課. 2001. いわてレッドデータブック. 613. 岩手.
- 城 真一郎・秋田奈美樹・馬場哲代・筒井 澄. 1996. アツモリソウ (*C. macranthum*) 類の無菌発芽における種子親による発芽率の変動. 園学雑. 65 (別2): 632-633.
- 城 真一郎・秋田奈美樹. 1998. アツモリソウ無菌培養苗の低温処理法に関する検討. 園学雑. 67 (別2): 424.
- 木村康夫・花岡喜重. 1990. アツモリソウの種子発芽について. 園学雑. 59 (別2): 620-621.
- 木村康夫・栗原則夫. 1993. アツモリソウ無菌実生株へのココナツウオーターと低温処理の影響について. 園学雑. 62 (別1): 430-431.
- 古在豊樹. 1998. 無糖培養法の確立とその利点・可能性. p. 90-95. 植物組織培養の新段階. 農文協. 東京.
- 前田 琢. 2008. 岩手県の絶滅危惧種の保護の取り組み. ワイルドライフ・フォーラム. 13: 52-53.
- 三橋俊治・栗林 修. 1999. アツモリソウの各地の栽培. p. 79-88. アツモリソウ. 枳の葉書房. 東京.
- 三吉一光・三井正洋. 1995. 絶滅危惧種・アツモリソウ (*Cypripedium macranthos* Swartz) 完熟種子の発芽促進方法の確立. 園学雑. 64 (別2): 282.
- Miyoshi, K. 1997. Propagation of *Cypripedium* species from seed in vitro for production, breeding and conservation. 筑波実験植物園研報. 16: 61-67.
- 三吉一光. 2006. アツモリソウ属植物の保全および再生のための種子繁殖技術の可能性と問題点. p. 105-114. 小林達明・倉本 宣編著. 生物多様性緑化ハンドブック. 地人書店. 東京.
- 元岡茂治・小西 耕・小西昌子・澤 慶子・佐竹美保・小西国義. 1992. 固体支持材を充填したセル型トレー培地によるミヤコワスレの組織培養. 園学雑. 60(4): 971-979.
- 小田倉正罔. 2001. ダンボールによる実生と栽培. p. 61-67. 東京山草会ラン・ユリ部会編著. ふやして楽しむ野生ラン. 農文協. 東京.
- 小山田智彰. 2003. 地域希少植物（アツモリソウ）の無菌播種. p. 131-135. 大澤勝次・久保田 旺編著. 植物バイオテクの実際. 農文協. 東京.
- 小山田智彰・菊池 純. 2002. アツモリソウ属植物用培養液. 日本国特許庁特許公報. 2002-3330365.
- 小山田智彰・菊池 純. 2005. アツモリソウ属植物用培地. 日本国特許庁特許公報. 2005-3706085.
- 小山田智彰・平塚 明・間山秀信. 2008. アツモリソウの種子発芽による苗の育成に関する研究. 自然環境復元研究. 4: 43-50.
- 鈴木 修・八巻 正・有原丈二. 2006. 無菌播種法. p. 1587. 最新農業技術辞典. 農文協. 東京.
- 高橋 仁・筒井 澄. 1992. アツモリソウ種子の無菌発芽に及ぼす種子熟度・温度・光の影響と発芽の低温要求性. 園学雑. 61 (別2): 460-461.