

組織培養を利用した希少自生植物の種苗生産技術

第1報 エヒメアヤメ (*Iris rossii* Baker)

古谷 博

キーワード：希少自生植物，エヒメアヤメ，休眠打破，組織培養，種苗生産

エヒメアヤメは別名タレユエソウとも呼ばれ，その自生地は広島県のほか岡山，山口，福岡，佐賀，大分，宮崎および愛媛8県の山地に局部的に分布していて，その多くが国の天然記念物に指定されている¹⁴⁾。広島県内では，内陸部を中心に低山地やアカマツ林などに自生地が点在していたが，現在は，地域開発や植物生態系の変化等により自生株はほとんど姿を消してきている。

エヒメアヤメは根が深いため，株分け繁殖や移植が難しい。広島県甲奴郡上下町の下田一郎は，昭和49年に実生繁殖に成功している²⁾。その後，昭和51年に上下町はエヒメアヤメを町花に選定し，本種の保護のため実生繁殖による増殖をすすめてきた^{2,14)}。

一方，エヒメアヤメの組織培養に関する研究は，著者ら¹⁾と渡辺ら¹⁸⁾の地下茎腋芽の茎頂培養による大量増殖についての報告があるにすぎない。今後，希少自生植物エヒメアヤメの園芸化を図るためには，自生株を保護しながら種苗の安定供給が必要である。そこで，自生株の種子から組織培養技術を利用し，簡易な方法で増殖可能な種苗生産体系の確立に取り組んできた。

本報では，エヒメアヤメ種子の低温処理による休眠打破と発芽促進，および種子からの組織培養による増殖法等について検討した結果について報告する。

材料および方法

供試したエヒメアヤメの種子は，1993年～1995年のそれぞれ6月下旬に広島県甲奴郡上下町の自生株で自然交雑により結実した径7～8mmのさく果を採取し，風乾して得た種子を用いた。

種子は，有効塩素濃度0.5%の次亜塩素酸ナトリウム溶液で15分間滅菌した後，0.8%寒天加用蒸留水培地（以下素寒天培地）を分注した径25×高さ100mm試験管

を用い，培地量10mlに5粒ずつ無菌播種して各試験に供試した。また，低温処理後の各試験の移植培地は径20×高さ90mm試験管を用い，培地量5mlに1粒ずつ移植して試験した。試験の構成を表1に示した。

1. 種子の休眠打破

低温処理とジベレリン（GA）処理を組合わせた種子の休眠打破の検討は，処理温度2℃，処理期間を0，30，90日とし，GA処理濃度を0，100，1,000ppmおよび処理期間を1，2，4日として組合わせた15試験区を設け，1区10粒の種子を供試して反復なしで行なった。

休眠打破に有効な低温処理の最適温度と処理期間の検討は，低温処理温度を0，4℃および処理期間を0，30，60，90日として組合わせた8試験区を設け，1区20粒の種子を供試して4反復で行なった。

さらに，低温処理時の種子の乾湿による発芽状況の検討には，採取後，室温で風乾した種子（乾燥区）と素寒天培地に無菌播種した種子（湿潤区）を，4℃の恒温室内に搬入し，それぞれに低温処理期間0，30，60，90日の4試験区を設け，1区25粒の種子を供試して3反復で行なった。

なお，低温処理後は，25℃，3,000lx，16時間照明の恒温室に移して1か月後に発芽数を調査した。

2. 種子の発芽促進

培養温度，光条件，播種培地の種類が低温処理種子の発芽促進に及ぼす影響について検討した。供試した低温処理種子は，素寒天培地に無菌播種した種子を4℃の恒温室内で90日間低温処理したものである。

種子の発芽に及ぼす培養温度の検討は，15，20，25，30℃の4試験区に設定した温度勾配恒温器内に低温処理種子を搬入し，1区20粒を供試して3,000lx，16時間照明で1か月培養後に発芽率を調査した。

本報告の一部は，1993年の園芸学会中四国支部会において発表した。

平成11年2月15日受理

表1 試験の構成

試 験 の 構 成	試 験 項 目	試 験 区
1. 種子の休眠打破		
低温処理とGA処理	2℃処理期間	0, 30, 90日
	GA濃度：期間	0, 100, 1,000ppm：1, 2, 4日
低温処理温度と処理期間	処理温度：期間	0, 4℃：0, 30, 60, 90日
低温処理時の種子の状態	種子の状態	湿潤, 乾燥
2. 種子の発芽促進		
温度条件	培養温度	15, 20, 25, 30℃
光条件（光発芽性）	光の有無	照明区, 暗黒区
播種培地の無機塩類濃度	培地の種類	素寒天, HP, 1/2MS, MS
3. 種子からの増殖		
多芽体誘導培地	植物ホルモンの種類と添加濃度	BA：0, 0.2, 2.0, 5.0mg/l NAA：0, 0.2mg/l
多芽体誘導培地への移植時期	低温処理後（25℃培養開始から移植までの日数）	0, 7, 14, 21, 28日
4. 種苗生産体系と園芸化		
培養苗の順化・養成	育苗用土	用土の種類
培養苗の実用化	生育開花調査	公園への栽植, 鉢植え栽培

種子の光発芽性の検討は、25℃の恒温室内に照明区（3,000lx, 16時間照明）と無照明区（暗黒区）を設け、1区15粒の低温処理種子を供試して2反復で行い1か月後に発芽率を調査した。

播種培地の塩類濃度が種子の発芽に及ぼす影響の検討は、供試培地として Murashige and Skoog(1962)⁹⁾培地（以下MS）、MSの培地組成成分を半量に減らした1/2MS培地およびハイポネックス（6.5-6.0-19：2g/l）培地を用い、低温処理種子を素寒天培地から1区20粒を移植して3反復で行なった。なお、対照区には低温処理時と同一の素寒天培地を用いた。

移植後は、25℃, 3,000lx, 16時間照明下で管理して1か月後に発芽率を調査した。

3. 種子からの多芽体誘導による増殖

低温処理種子からの多芽体誘導培地の検討は、供試培地としてショ糖3%と寒天0.8%を添加した Nitsch and Nitsch(1967)¹³⁾培地（以下NN）を基本培地とし、植物ホルモンを加えて調整した。植物ホルモンはサイトカイニンのベンジルアデニン（BA）とオーキシンの1-ナフタレン酢酸（NAA）を使用し、BAを0, 0.2, 2.0, 5.0mg/lとNAAを0, 0.2mg/lを組合わせて添加した6区と対照として植物ホルモン無添加区の計7区を設けた。

低温処理種子を無菌的に上記培地を分注した試験管に1粒ずつ移植し、1区20粒を供試した。移植後は、25℃, 3,000lx, 16時間照明で2か月間培養した後、発芽率お

よび多芽体形成率を調査した。

低温処理種子の多芽体誘導培地への移植時期を明らかにするため、前培養として試験管ごと25℃, 3,000lx, 16時間照明の人工気象器内に移動した。

多芽体誘導培地にはBA2.0+NAA0.2mg/l添加NN培地を供試し、低温処理0, 7, 14, 21, 28日後にそれぞれ発芽率の調査と移植を行なった。移植は試験管に1粒ずつ無菌的に行い、上記培養条件で2か月間培養を継続して発芽率および多芽体形成率を調査した。1区20粒（1粒／1試験管）を供試し、1994年は2反復、1995年は4反復で行なった。

4. 種苗生産体系と園芸化

エヒメアヤメの種子から育成した培養苗の順化・養成を行い、園芸化の実用性を検討した。

1) 培養苗の順化・養成

培養苗の順化は、根部の寒天を水道水で洗い流した後パーミキュライトを培地とした透明イチゴパックに仮り植えし、当センターのガラス室内の寒冷紗被覆下（遮光率約30%）で2週間行なった。順化苗は、花崗岩未風化土壌（マサ土）と市販の園芸用土（赤玉土）に、それぞれ腐葉土またはピートモスを等量混合した用土を用い、6cmポリポットに植え付けてガラス室内で管理した。

試験は、1995年5月15日、6月6日、7月6日に順化した苗をそれぞれ1区22本を供試した。1か月後に活着率を調査し、1年間養成後の1996年5月下旬に生育調査を行なった。

2) 培養苗の実用化

当センター内の露場で1～2年間12cmポリポットで養成した培養苗を、1995年5月下旬に甲奴郡上下町の「四季の里公園」内に栽植し、生育開花状況を観察して実用性を検討した。また、鉢花としての園芸化を検討するため、15cm鉢に鉢上げして引き続き当センター内の戸外で開花株になるまで1～2か年栽培した。その間、灌水は適宜行い、肥料は生育に伴い油粕を少量施用した。なお、冬期は鉢の周囲を稲藁で囲い鉢土の凍結を防いだ。

結 果

1. 種子の休眠打破

低温処理とGA処理を組合わせた種子の休眠打破について検討した結果を表2に示した。

30日間低温処理した種子の発芽率は、GA処理の濃度と期間に関係なく全て50～60%で、GA無処理区の20%

表2 エヒメアヤメ種子の発芽に及ぼすGA処理の影響(1993)

GA 処 理		低温処理期間 (日)		
濃度 (ppm)	期間 (日)	0	30	90
0	—	0	20	80
100	1	0	50	60
100	2	0	50	60
100	4	0	60	70
1,000	1	30	60	70

(注) 数字は発芽率 (%)

低温処理温度：2℃、低温処理後の培養温度：25℃

表3 エヒメアヤメ種子の発芽に及ぼす低温処理温度と処理期間の影響 (1994)

処理期間 (日)	低温処理温度 (℃)	
	0	4
0	0	0
30	33	91
60	69	94
90	84	91

(注) 数字は発芽率

表4 エヒメアヤメ種子の低温処理の有無とその後の培養温度が発芽に及ぼす影響 (1994)

培養温度 (℃)	低温処理	
	有 (4℃90日)	無処理*
15	90	10
20	95	5
25	90	5
30	10	5

(注) 無処理区は6月24日採種直後
数字は発芽率 (%)

より高かった。また、90日間低温処理した種子のGA処理区の発芽率は60～70%と、GA無処理区の80%よりやや劣った。低温処理を行わない種子は、GA1,000ppm処理区で30%発芽したにすぎず、100ppm処理区では全く発芽しなかった。

休眠打破に有効な低温処理の最適温度と処理期間について検討した結果を表3に示した。

低温処理した種子は、何れも発芽し、0℃処理区の発芽率は33～84%と4℃処理区より低くかったが、処理期間が長いほど発芽率は高かった。これに対して4℃処理種子では30～90日処理区間に差は無く、いずれも91～94%と発芽率が高く処理期間の間には差がなかった。なお、低温処理を行わない種子は、全く発芽が認められなかった。

素寒天培地に無菌播種した湿潤種子と、風乾して保存していた乾燥種子を、4℃で所定期間低温処理した後の発芽率を図1に示した。

湿潤種子の発芽率は、低温処理30日区で81%、60～90日区で95%と高かった。これに対し、乾燥種子ではほとんど発芽個体が見られず、湿潤状態で低温処理を行わないと休眠打破効果は得られなかった。

2. 種子の発芽促進

低温処理種子の発芽に及ぼす培養温度の影響を検討し

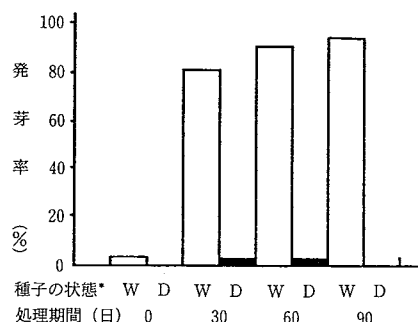


図1 エヒメアヤメ種子の低温処理時の乾湿が発芽に及ぼす影響(1994)

(注) *: W 湿潤, D 乾燥
処理温度: 4℃

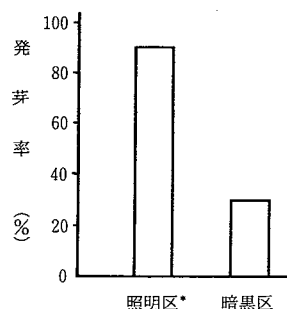


図2 エヒメアヤメ低温処理種子の発芽に及ぼす光の影響(1994)

(注) *: 3,000lx, 16時間照明

た結果を表4に示した。

培養温度が15～25℃の範囲内では、発芽率は90～95%と高かったが、30℃では10%と低かった。低温処理を行わず採取後直ちに供試した種子の発芽率は、培養温度にかかわらずいずれも5～10%と非常に低かった。

低温処理種子の光発芽性を培養温度25℃で検討した結果を図2に示した。

照明区では86.7%の発芽率であったが、暗黒区は33.3%と低く、両区に大差が見られたことからエヒメアヤメの種子発芽には光が効果的であった。

播種培地の塩類濃度が低温処理種子の発芽に及ぼす影響を検討した結果を図3に示した。

素寒天培地に移植した対照区の発芽率は85%，およびハイポネックス区では83%と高かったが、無機塩類濃度の高い1/2MS区およびMS区は55～60%と低かった。

3. 種子からの多芽体誘導による増殖

低温処理種子の多芽体誘導に及ぼす植物ホルモンの影響を検討した結果を図4に示した。

植物ホルモン無添加区の発芽率は80%であったが、多芽体は認められなかった。これに対し、BA、NAA添

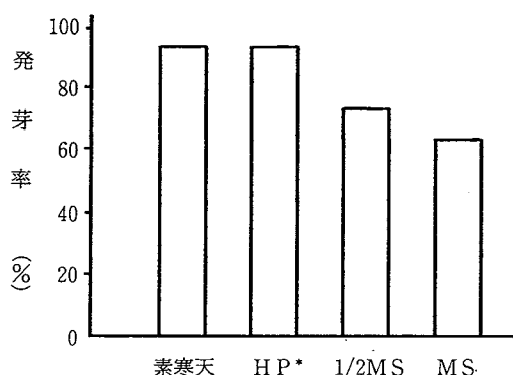


図3 エヒメアヤメ低温処理種子の発芽及ばす播種培地の影響 (1995)

(注) *: ハイポネックス 2g/l

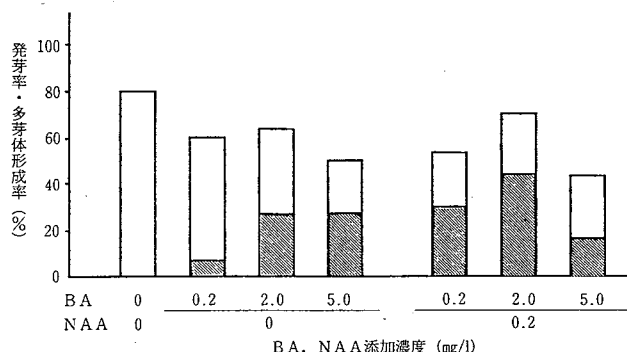


図4 エヒメアヤメ低温処理種子の発芽および多芽体形成に及ぼすBA、NAAの影響 (1993)

(注) □ 発芽率, ▨ 多芽体形成率

加区では発芽率が45～65%と無添加区より低かったが、発芽個体の中に多芽体を形成した個体が見られた(写真E)。供試種子数に対する多芽体形成率は、BA 2.0+NAA 0.2mg/l区で45%と一番高く、次いで、BA 0.2+NAA 0.2mg/l区の30%、BA 2.0～5.0+NAA 0mg/l区の25%であった。

次に、素寒天培地で低温処理後、25℃培養を開始して7日毎に多芽体誘導培地へ移植した時の低温処理種子の発芽率の推移を図5に示した。その後、1か月間培養後の発芽率および多芽体形成率を表5に示した。

多芽体誘導培地へ移植時の発芽率は、試験した2年間ともほぼ同様の傾向にあり(図5)、7日目までは発芽個体は見られなかったが、14日後には43%、21日後には74%、28日後には97.5%の発芽率であった。移植後2か月間培養後の発芽率は1994、1995年の2か年平均では低温処理直後の0日区79.0%から28日区99.5%と、移植時期が遅くなる程発芽率は徐々に高くなった(表5)。

供試数に対する多芽体形成率は、7日区が31.3%と一番高く、次いで14日区28.8%、0日区18.1%、21日区12.3%、28日区5.0%の順となり、BA+NAA添加培地へ移植する時期が7～14日で高く、移植時期が

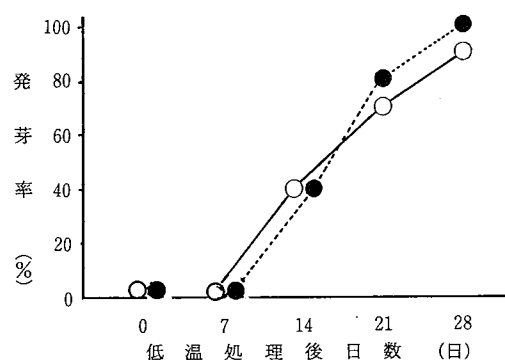


図5 エヒメアヤメ種子の低温処理後、25℃培養開始後の発芽率の推移 (1994, 1995)

(注) ○1994年, ●1995年

表5 エヒメアヤメ低温処理種子のBA、NAA添加培地への移植時期が発芽および多芽体形成に及ぼす影響 (1994, 1995)

移植時期 ¹⁾ (日)	移植時発芽率 (%)	BA, NAA 添加培地で培養後 ²⁾ 発芽率 (%)	多芽体形成率 (%)
0	0	79.0	18.1
7	0	81.5	31.3
14	43.2	88.1	28.8
21	74.1	90.6	12.3
28	97.5	99.5	5.0

(注) 数字は1994年と1995年の平均

¹⁾ BA 2.0+NAA 0.2mg/l NN培地への移植時期

²⁾ BA 2.0+NAA 0.2mg/l NN培地へ移植2か月後の調査

表6 育苗用土の違いが培養苗の順化後の生育に及ぼす影響 (1995~1996)

試験区 ¹⁾ 育苗用土の種類	用土の化学性 ²⁾		順化後の活着率 ³⁾ (%)	生育調査 ⁴⁾	
	pH	EC (μs/cm)		草丈 (cm)	葉数 (枚)
マサ土+腐葉土	6.6	193	82	16.3	2.7
マサ土+ピートモス	5.0	13	97	19.3	2.7
赤玉土+腐葉土	6.5	430	91	24.9	3.1
赤玉土+ピートモス	5.2	47	90	15.7	2.6
マサ土+赤玉土+腐葉土	6.6	304	85	20.6	3.0

(注) 順化時期：1995年5月15日，6月6日，7月6日

¹⁾ 混合割合：2：1（但し，マサ土+赤玉土+腐葉土区は1：1：1），²⁾ 植え付け前調査

³⁾ 順化2週間後に各試験区用土のポリポットに植え付け，1か月間養成後調査

⁴⁾ 1年間栽培後の1996年5月29日

遅くなると形成率は低下する傾向にあった。

4. 種苗生産の体系化と園芸化

1) 培養苗の順化・養成

育苗用土の違いが培養苗の順化後の生育に及ぼす影響について検討した結果を表6に示した。

供試した育苗用土のpH，ECは，マサ土，赤玉土とも腐葉土混合区の方がピートモス混合区より高かった。ポリポットで1か月間養成後の培養苗の活着率は，マサ土+ピートモス区，赤玉土+腐葉土区，赤玉土+ピートモス区は90%以上であったが，マサ土+腐葉土区，マサ土+赤玉土+腐葉土区は82~85%と少し低かった。

1年後の生育は，赤玉土+腐葉土区が一番良く，次いでマサ土+赤玉土+腐葉土区であった。

2) 培養苗の実用化

順化後，1.5~2年間ポリポットで養成した培養苗（写真G）を，甲奴郡上下町の「四季の里公園」内に栽植した結果，植え付け後の長雨による植え痛みや土壌侵食による欠株が一部見られたが，ほとんどの個体が植え付け翌年の春に開花した（写真H）。また，当センター内の露場で鉢植えて管理した培養苗も生育開花することが認められた（写真I）。

考 察

著者ら¹⁾は，先にエヒメアヤメの地下茎腋芽の茎頂から多芽体を誘導し，増殖多芽体から再生植物を得る培養系を確立し，大量増殖が可能になったことを報告した。その後，渡辺ら¹⁸⁾も同様の手法で自生株からの増殖が可能であることを報告している。しかし，エヒメアヤメは日本植物分類学会編著¹²⁾および広島県編³⁾のレッドデータブックに記載がある危急種であり，自生株を培養材料として利用することが困難な状態にある。その上，自生株の地下部組織を用いる前記培養方法は，雑菌による

汚染の危険性を伴い，園芸化を目的とした種苗生産法としては好ましくない。

そこで，本試験では培養材料として入手が容易で，しかも自生株を保護しながら種苗の増殖が可能な自生株の種子を利用した組織培養法について検討した。

種子の休眠打破と発芽

エヒメアヤメは広島県内では4月下旬から5月始めに咲き，結実率は低い6~7月にさく果ができ，1果中から10~20個の種子が得られる（写真B）。原田²⁾の実生繁殖の方法によると，この種子を6月下旬から7月初旬に採種し，パーミキュライトを用土にして採種と同時に播くと1か月ぐらいで発芽を始め年内に10~15%，翌年の3~5月に50~60%が発芽する。一方，本試験では低温処理を行わない種子の発芽率は非常に低かった。このことから，エヒメアヤメの種子発芽には冬の低温経過が必要であることがわかる。

種子の発芽を抑制する内的条件には種皮に含まれる発芽抑制物質や胚による休眠がある。野生植物の約80%の種類は，胚の未熟による休眠性を持ち，その内35%の種類は低温で発芽が促進される¹⁰⁾。一般に，種子を湿潤状態で低温貯蔵する層積法（湿潤低温処理）を行えば胚の後熟が進み発芽促進効果が得られるという。この湿潤低温処理の有効温度は1~10°Cの間にあり，エヒメアヤメと同属の *Iris versicolor* の適温は5°Cで必要期間は75日とされている⁷⁾。

本試験では種子を素寒天培地に無菌播種し，湿潤状態で低温処理を行なった。その結果，4°Cでは30日間処理で高い発芽率が得られたが，0，2°Cでは4°Cより発芽率が劣り，休眠打破には90日と長い処理期間が必要であった。従って，エヒメアヤメの低温処理温度は *Iris versicolor* と同様に4~5°Cが最も有効であり，採種後直ちに低温処理を行なうと30日で休眠打破効果が得られることが明らかとなった。また，低温処理による休眠打破

効果は乾燥状態の種子では全く認められなかった(図1)ことから、種子の吸水により胚が活動できる状態でなければ発芽抑制物質の消失あるいは胚の後熟は起らないことが明らかとなった。

なお、1993年(表2)と1994年(図1)の30日処理区の発芽率が、20~80%と大差が見られた原因として、低温処理温度(2, 4℃)の違い以外に採種から低温処理開始までの貯蔵方法と期間に差があり、その間の種子の乾燥の程度が影響していることも考えられる。しかし、本試験では種子中の水分含量の測定は行っていないので詳細についてはわからない。

野生植物の種子は、光が発芽を促進する例が多い¹⁶⁾。本試験では、低温処理種子の発芽に及ぼす光条件について検討した結果、3,000lxの照明下では87%の発芽率であったが、暗黒下では33%と低く、エヒメアヤメの種子は光発芽性を有することが確認できた。

種子からの多芽体誘導による増殖

エヒメアヤメの実生繁殖は可能である²⁾が、本試験では、1粒の種子から複数の個体を育成する方法について検討した。その結果、BA2.0+NA A0.2mg/l添加NN培地での多芽体誘導率が高く(図4)、25℃培養開始2~4週間後に上記培地へ移植すると多芽体形成と共に、旺盛な分けつが認められた(写真E)。また、図5に示すように低温処理により休眠打破したエヒメアヤメの種子の発芽は25℃培養開始後7日までは認められず7日以降である。従って、低温処理後7~14日の間に上記培地に移植すれば、植物ホルモンの作用により発芽初期の芽の伸長を抑制して細胞分裂が促進され、多芽体形成率が高くなるものと考えられる。

エヒメアヤメの種子は、無機塩類を全く含まない素寒天培地では良く発芽するが、無機塩類濃度の高いMS培地では発芽率が低下した(図3)。Jehanら⁵⁾は、*Iris pallida*において、MS培地で誘導したembrogenic callusからの植物体再生にはKnudson(1946)培地を用いて好成績を得ている。Knudson培地⁶⁾の窒素成分は180.5mg/lと、MS培地の839.7mg/lに比較すると非常に低く、ハイポネックス培地の130mg/lとほぼ同等である。本試験の種子培養に用いたNN培地の窒素成分は76.8mg/lと低く、低温処理直後に植物ホルモン無添加のNN培地に置床した種子の発芽率は80%(図4)で無機塩類を含まない素寒天培地と同様に高かった。このことから、エヒメアヤメの多芽体誘導培地としては、無機塩類はあまり必要とせず、無機塩類の少ないNN培地が適当であると思われる。

一方、清水ら¹⁵⁾は*Iris virginica*の発芽中の種子から胚を摘出し、Kinetin1.0+2, 4-D1.0mg/l添加培地でembryogenic callusを、BA1.0+NA A1.0mg/l添加培地で多芽体を誘導し、継代培養により増殖した後、再生植物に育成している。本試験では、エヒメアヤメの種子を低温処理して休眠打破後、発芽時にBA2.0+NA A0.2mg/l添加培地に移植すると多芽体が誘導できた。この結果は、外植体と植物ホルモンの添加濃度はそれぞれ異なるが、両方とも胚および生長点の発育段階での植物ホルモンの働き、特に、サイトカイニンの生理作用(オーキシンとの共存でカルスなどの植物組織の細胞分裂を促進)によるものと考えられる。

種苗生産体系と園芸化

近年、組織培養技術の発達により、色々な植物で大量増殖技術の開発が行なわれ、地域農業振興へ役立てる方策が考えられ、トウテイラン、イワギリサウ等観賞価値の高い山野植物⁴⁾は中山間地域の活性化対策として取り組まれている。希少自生植物では、絶滅の危機にあるレブンアツモリソウ⁸⁾は植物の保護の立場から無菌培養による増殖、また、遺伝的変異の多いミスミソウ¹⁷⁾は園芸化の目的で葉片培養による大量増殖に成功している。しかし、希少自生植物の園芸化を図るには自生株の保護と保存が必要であり、組織培養技術を利用して生産現場で実際に培養苗の生産を行なう場合には、培養技術の簡易化、安定化と共に育苗の低コスト化が重要な課題となる。

本試験で確立したエヒメアヤメの増殖法は、自生株に結実した種子からの培養苗生産が可能となり、その種苗生産体系は、図6に示すように主としてピンセットを用いた種子の培地間の移植である。従って、無菌作業を習得し簡易な施設があれば、誰にでも出来る簡単な手法である。また、培養苗の順化後の活着率は高く、市販の園芸用土(赤玉土、腐葉土)を用いてポリポットに植え付け、鉢土を乾かさないうに灌水に注意して生育に応じ、施肥と鉢替えを行なえば戸外での栽培が可能である(写真G)。

内藤ら¹¹⁾はエヒメアヤメの培養苗による自生地の創出を図るため、ポットで養成した株をアカマツ、ヒノキなどが優占する森林に栽植して開花結実を認め、自然条件下での繁殖の可能性が示されたと報告している。本試験でも、上記方法で育苗した培養苗を新しく造成された公園内に植栽した結果、翌春には開花が認められた(写真H)。また、鉢植え栽培した培養苗も当センターの露場で自動灌水装置を設置して栽培管理すると、順化翌々年には開花した(写真I)。

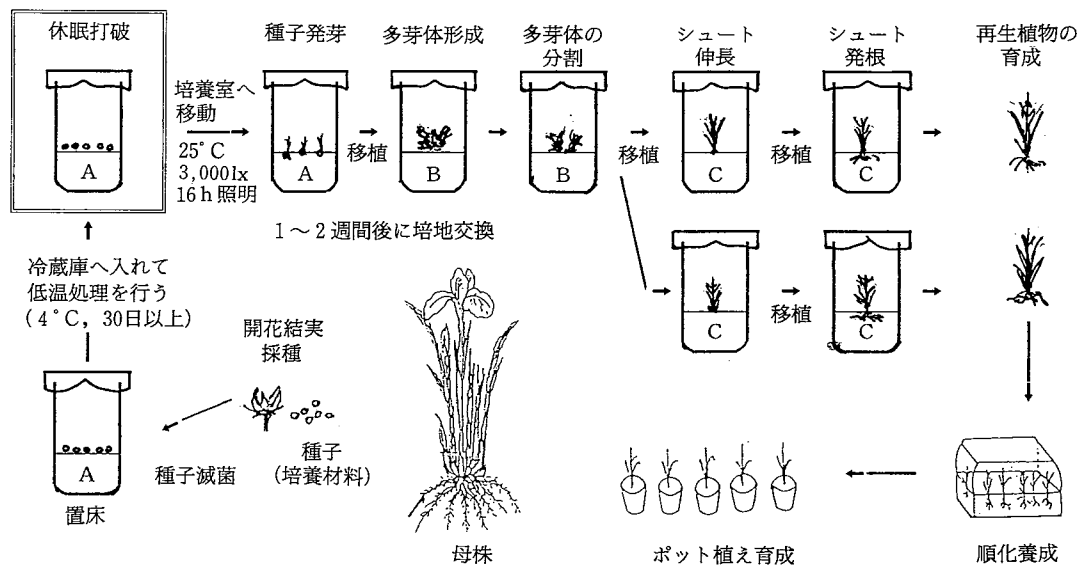


図6 エヒメアヤメの種子培養による種苗生産体系

(注) 使用培地

A: 素寒天培地

B: BA2.0+NA A0.2mg/l 添加NN培地

C: ホルモンフリーMS培地

以上の結果、希少自生植物エヒメアヤメの自生株に結実した種子からの種苗生産体系を確立し、培養苗の実用性が確認できた。従って、公園等の景観形成植物や鉢花生産を目的とした種苗の安定供給が可能であることから今後はエヒメアヤメの園芸化が期待できる。

摘 要

広島県内に自生する希少植物、エヒメアヤメの組織培養による種苗生産体系を確立するため、種子の休眠打破と発芽促進および種子からの多芽体誘導による増殖法について検討した。

1. エヒメアヤメ種子の休眠打破は、4°Cでは30日間で効果が認められたが、0~2°Cでは90日間必要であった。また、低温処理時の種子は湿潤状態で発芽率が高かった。
2. 低温処理種子は、温度15~25°Cの間で発芽するが、光のある方が発芽率が高かった。また、発芽速度には大きな個体差が見られ、低温処理後7~14日目から少しずつ発芽するが30日経って発芽する個体も認められた。
3. 低温処理種子からの多芽体誘導は、低温処理後2~3週間してBA2.0+NA A0.2mg/l 添加NN培地に移植すると誘導率が高まった。
4. 誘導した多芽体は、分割して同一培地で継代培養す

ると分けつ数が増加した。伸長したシュートをホルモンフリーのMS培地に移植して培養すると、発根した培養苗が得られた。

5. 順化した培養苗はポットで養成した後、公園内に植栽すると順調に生育し翌年には開花が認められた。また、培養苗を鉢植えて栽培管理すると戸外での鉢花生産が可能であった。
6. この方法は、自生株に結実した種子を培養材料として用いるため、種の保護に役立つと共に種苗の安定供給も可能となり、園芸的利用を目的とした種苗生産手段として有効である。

謝 辞

本研究を実施するにあたり、上下町づくり公社田中智文氏には試験材料の提供を頂いた。ここに記し、厚くお礼申し上げる。

引用文献

- 1) 古谷 博・池田好伸：1993. 組織培養によるエヒメアヤメの大量増殖. 近畿中国農研. 86: 49-53.
- 2) 原田一郎：1985. 誰故草の復活. 中国新聞社. p29-31. 広島.
- 3) 広島県：1995. 広島県の絶滅のおそれのある野生生

- 物ーレッドデータブックひろしまー. p270. 広島県環境保健協会. 広島.
- 4) 稲村博子：1998. 離島・過疎地における地域の活性化と自生植物の利用, 平成10年度農林水産業近畿中国地域研究成果発表会「自生植物資源の有効利用による地域の活性化」要旨：8-18. 中国農試.
 - 5) Jehan, H., D. Courtois, C. Ehret, K. Lerch, and V. Petiard. : 1994. Plant regeneration of *Iris pallida* Lam. and *Iris germanica* L. via somatic embryogenesis from leaves, apices and young flowers. Plant Cell Reports. 13 : 671-675.
 - 6) Knudson, L. : 1946. A new nutrient solution for germination of orchid seed. Amer. Orchid Soc. Bull. 15 : 214.
 - 7) 小西国義：1982. 植物の生長と発育. p69-76. 賢賢堂. 東京.
 - 8) 松田史大：1998. レブンアツモリソウの増殖と今後の課題. 園芸学会平成10年度秋季大会シンポジウム講演要旨. 6-7.
 - 9) Murashige, T. and F. Skoog : 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15 : 437-497.
 - 10) 中山 包：1973. 発芽生理学. p196-202. 内田老鶴園新社. 東京.
 - 11) 内藤和明・中越信和・古谷 博：1994. クローン苗を用いたエヒメアヤメ自生地創出. 日本植物学会研究発表記録. 58 : 295.
 - 12) 日本植物分類学会編著：1993. レッドデータブック 日本絶滅危惧植物. p65, 114. 農村文化社. 東京.
 - 13) Nitsch, C. and Nitsch, J. P. : 1967. The induction of flowering *in vitro* in stem segments of *Plumbago indica* L. 1. The production of vegetative buds. Planta. 72 : 355-370.
 - 14) 大滝末男：1989. 日本産アヤメ科植物. p48-62. ニュー・サイエンス社. 東京.
 - 15) 清水圭一・薮谷 勤・足立泰二：1992. *Iris virginica* L. における効率的な試験管内植物体再生法. 育種. 42(別2) : 24-25.
 - 16) 滝本 敦：1973. ひかりと植物. p52-53. 大日本図書. 東京.
 - 17) 露木美英・清水慈史・中島哲夫：1989. ミスミソウの葉片培養による不定胚形成と増殖. 玉川大農学研報 29 : 111-123.
 - 18) 渡辺 久・松本英紀・今井健三：1995. 天然記念物「エヒメアヤメ」の大量増殖技術. 愛媛農試研報. 33 : 62-63.

Method of the Seeding Production of Rare Native Plants with *in Vitro* Culture

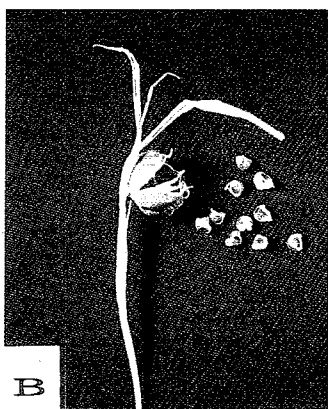
1. *Iris rossii* Baker

Hiroshi FURUYA

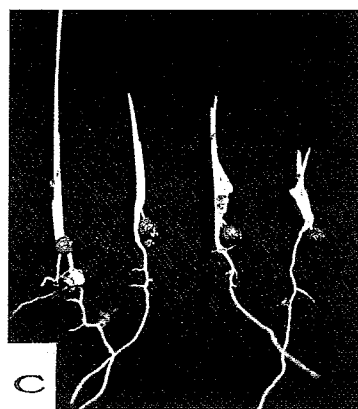
Key Ward : rare native plants, *Iris rossii* Baker, breaking of dormancy, *in vitro* culture, seeding production



A



B



C



D



E



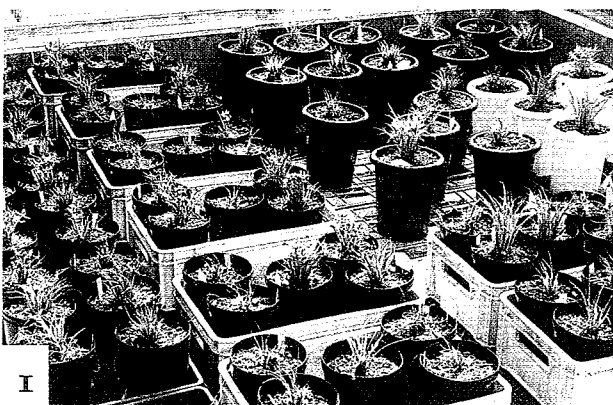
F



G



H



I

A：自生地の開花株，B：さく果と種子，C：慣行法による実生，D：無菌播種した種子の発芽，E：種子から誘導した多芽体，F：順化時の培養苗（種子培養6か月後），G：培養苗のポット育苗，H：培養苗の「四季の里公園」への植栽，I：培養苗の鉢栽培での開花

写真：エヒメアヤメ