

速報

組織培養によるゼンマイ苗の増殖*¹佐々木義則*²

佐々木義則：組織培養によるゼンマイ苗の増殖 九州森林研究 59: 228-231, 2006. ゼンマイの胞子を用い、組織培養による苗の増殖を試みた。その結果、培地組成等を検討することにより、胞子の発芽、前葉体の形成及び増殖、胞子体の形成及び増殖がそれぞれ可能となった。胞子体（稚苗）のポット育苗において、用土の選択、施肥等を行うことにより、成長を促進させることができた。いずれの増殖過程においても、株（胞子）の違いによって生育に差異が認められた。得られた培養ポット苗を水田跡地や林内で植栽を行ったところ、いずれも活着や成長が良好であった。これらの結果から、組織培養によるゼンマイ苗の大量増殖及び早期育成の可能性が大きいことが示唆された。

キーワード：ゼンマイ、組織培養、胞子、前葉体、胞子体

I. はじめに

ゼンマイは、ゼンマイ科ゼンマイ属に属する多年生のシダ植物で、栄養価が高いこと及びその風味の良さ等から、日本では古くから「山菜」として珍重されてきた。ゼンマイは全国的に広く分布し、平地から斜面にかけての林地で生育する。外国では朝鮮半島から中国、台湾等まで広く分布している (9, 10)。

ゼンマイは生育地の適応性は広いと考えられるが、食用として採取できる生育適地の範囲は限られている。陽光が適度にあたる半日陰で、湿度が保たれている北側斜面等が適地といわれている (9, 10)。しかしながら、近年は、拡大造林されたスギ等の人工林における除間伐の遅れ、また、木炭利用の減少にともなう広葉樹林の樹冠閉鎖等により、林内照度が不足気味の林分が増えているため、ゼンマイの生育適地は減少しつつある。さらに、山村地域の過疎化や高齢化等が重なり、自生地からの採取が困難になっている。また、減反政策等のため耕作放棄地が増えている。

このような背景のもとで、農林家の複合的経営作目の一つとして「ゼンマイ」が非常に注目され、林地、畑、水田跡地等を利用しての「人工栽培」が開始されるようになってきた。これらの栽培に用いる苗の大部分は、自生地から採取する株に頼っている (4, 9)。しかしながら、自生株を採取する場合、苗数の確保及び苗の掘取り等に多大な労力を要する等の問題点がある。

このようなことから、組織培養によるゼンマイ苗の増殖を試み、得られた培養苗を用いての実証栽培の可能性を検討した。

II. 材料及び方法

1. 胞子の培養

林業試験場（大分県日田市）のスギ林内に自生するゼンマイ株から4月下旬に、株別に実葉を採取して実験に用いた。採取した実葉を中性洗剤で洗浄後、70%エチルアルコール液に1分間浸漬し、滅菌水で水洗後直ちにクリーンベンチ内に入れ風乾を行った。その後、滅菌済の交配袋（19.5×40.0cm）に入れ、株別に胞子を採取した。基本培地にはWPM（ホルモンフリー）を用い、培養期間は4～8週間とした。

2. 前葉体の増殖

株別胞子の培養によって得られた前葉体を用い、分割後に試験管培地に置床を行った。その際、培地組成の影響を調べるため、BAP濃度（0, 0.1, 0.5, 1mg/ℓ）、基本培地（MS, WPM）、糖の種類（グルコース、マルトース、トレハロース、シュークロース、いずれも20g/ℓ）、シュークロース濃度（0, 5, 10, 20g/ℓ、及び10, 20, 40, 80g/ℓ）に関して検討を行った。基本培地にはWPMを用い、BAP濃度別試験を除いてはホルモンフリーとし、培養期間は8～12週間であった。

3. 胞子体の増殖

継代培養によって増殖を行った前葉体を用い、水洗後に分割を行い、水ゴケ（厚さ：約2cm）を詰めた育苗箱（35×46×6cm）に置床した。その際、育苗箱を透明のプラスチック容器（38×57×7cmを2枚重ね）内に入れた区（密閉区）と、育苗箱の水ゴケの表面を透明の塩化ビニールで被覆した区（半密閉区）で、胞子体の形成に及ぼす影響を調べた。また、株別の前葉体からの胞子体形成に関しても検討を行った。

4. 胞子体を用いた育苗

*¹ Sasaki, Y.: In vitro propagation by tissue culture of Zenmai (*Osmunda japonica*)

*² 大分県農林水産研究センター林業試験場 For. Res. Inst., Oita Pref. Agric. For. and Fish. Res. Cent., Hita, Oita, 877-1363.

受精により前葉体から孢子体が形成され、苗高が1cm前後に伸長した後、被覆資材（塩化ビニール）を除去した。苗高が5～10cm伸長した孢子体（稚苗）を5月上旬に人工気象室から取り出した。これらの稚苗を実験室内（常温）で1～2週間の順化を行った後、株分けを行い、黒色ビニールポット（φ8×9cm）に移植し、ガラス室内に入れた。その際、ポット用土（園芸用土：MKK園芸用5号，対照：苗畑土），ポット底部への緩効性肥料（IBS₁：10-10-10，エスコート：10-10-10，対照：無施肥，施肥量：5g/ポット）の影響を調べた。また、ポット育苗において、株別孢子由来の孢子体について成長比較を行った。

5. 培養ポット苗を用いた現地植栽

秋季に、苗高が20cm前後に伸長したポット苗を用い、翌年の3月中旬～下旬に現地植栽を行った。平成13年3月に1,100株（ポット）を水田跡地（玖珠町古後），平成14年3月に800株（ポット）をクスギ林内（玖珠町山浦）で、それぞれ植栽を行った。両試験地について、平成16年6月に調査を実施した。

なお、孢子及び前葉体の培養は、無菌の試験管（φ40×130mm）培地を用い、人工気象室で実施し、明期の16時間は3,000ルクスで25℃，暗期の8時間は暗黒下で20℃とした。孢子体の培養は、有菌条件下で水ゴケを用い、人工気象室（順化室）で実施した。順化室の温度、照度、日長は、前述の人工気象室と同様に設定したが、湿度は70%とした。孢子体の育苗は、自動ミスト装置付きのガラス室内で実施した。

Ⅲ. 結果及び考察

1. 孢子の培養

株別孢子を試験管培地に置床した結果、7～10日後には発芽し、緑色の前葉体が形成された。孢子の発芽及び前葉体の形成は、孢子由来の雑菌で汚染された培地では著しく抑制され、培養が困難であった。雑菌汚染は、全般的には少なかったが、「株」の違いによって差異が認められた。このことから、実葉の殺菌処理においては、エチルアルコールと他の殺菌剤との併用処理等を検討する必要があるものと考えられた。

2. 前葉体の増殖

前葉体増殖における、BAP濃度の影響を調べた結果を図-1に示した。BAP濃度が高くなるに従い、前葉体の増殖が著しく抑制されることが判明した。シュート増殖等の通常の培養においては、BAP等のサイトカイニンの添加が必要とされている（12）が、前葉体増殖では悪影響を及ぼすことが分かった。このことから、前葉体増殖用の培地はホルモンフリーが適するものと考えられた。

株別孢子由来の前葉体を用い、基本培地（WPM，MS）の影響を調べた結果を図-2に示した。全般的にみると、WPMはMSよりも前葉体の増殖を促進することが分かった。基本培地に対する前葉体の増殖反応は株によって差異が認められたが、これは養分要求度等の違いに起因するものと考えられた。

4種類の糖が前葉体増殖に及ぼす影響を調べた結果を図-3に示した。4種類の糖の中ではシュークロースが最も適していることが判明した。

シュークロース濃度が前葉体増殖に及ぼす影響を調べた結果を図-4，図-5に示した。シュークロース濃度が0～20g/ℓの

4区では、高濃度区ほど増殖が促進される傾向が認められた。シュークロース濃度が10～80g/ℓの4区では、10～40g/ℓの範囲では漸増傾向が、一方、80g/ℓ区では抑制される傾向がそれぞれ認められた。これらの結果から、前葉体増殖におけるシュークロース濃度は20～30g/ℓが適するものと考えられた。

3. 孢子体の増殖

前葉体からの孢子体形成において、容器の形状（密閉，半密閉）の影響を検討した結果、密閉区よりも半密閉区で、孢子体の発生が促進される傾向が認められた。塩化ビニール被覆の半密閉区では、ビニールの裏面に結露が常時認められ、これに由来する水分補給が前葉体の配偶子の受精を促進したものと考えられる。株別孢子由来の前葉体からの孢子体形成は、株の違いによって差異が認められた。

4. 孢子体を用いた育苗

ポット用土の違いが孢子体の成長に及ぼす影響を調べた結果を図-6に示した。苗畑土に比べて園芸用土の方が伸長が促進される傾向が認められた。このことから、ポット育苗の際には用土の選択が重要と考えられた。

ポットへの肥料の施用が、孢子体の成長に及ぼす影響を調べた結果を図-7に示した。施肥区は無施肥区に比べて、葉色が濃緑色を呈し、成長が良好になることが判明した。2種類の緩効性肥料の間では、ほとんど差異は認められなかった。これらの結果から、ポット育苗においては、施肥が重要であると考えられた。

株別孢子由来の孢子体のポット育苗における成長を比較した結果を図-8に示した。株の違いによって成長に差異が認められ、このことは株（孢子）の選択による成長制御の可能性が大きいことを示唆しているものと考えられた。

5. 培養ポット苗を用いた現地植栽

植栽後3年を経過した水田跡地、及び2年を経過したクスギ林内における生育状況を写真-1，写真-2に示した。両試験地ともに、植栽後の活着は良好であり、苗高は水田跡地では40～70cm，クスギ林内においては30～50cmに達しており、それぞれ順調な生育を示していることが判明した。これらの結果から、孢子由来の組織培養苗を用いた人工栽培の可能性が大きいことが示唆された。

Ⅳ. おわりに

ゼンマイ苗の増殖の関しては、温室等を利用した有菌条件下での孢子のまきつけによる育苗（6，7），試験管を用いた無菌条件下での茎頂培養（8）及び孢子培養（1，3，5，11）による育苗が研究されている。これらの中で、効率的な育苗法としては、孢子を用いた試験管内増殖が報告されている（1，3，5）。

今回、孢子を用いた一連の培養実験により、ゼンマイ苗の大量増殖が可能であり、得られた培養苗（ポット苗）を用いた実証栽培の可能性が大きいことが示唆された。

ゼンマイは、株によって形質変異（2，6）が認められることから、今後は、収量等が優れた優良株を選抜し、これらをもとにした優良苗の確保が重要であり、さらに、低コストでの早期育苗技術の開発も同時に行う必要があるものと考えられた。

引用文献

- (1) 天野孝之・河合昌孝 (1992) バイオテクノロジーを利用した植物の増殖(ゼンマイ), 奈良県: 36-39.
- (2) 青野茂ほか (1998) 福島県林試研報31: 71-91.
- (3) 古川成治・青野茂 (1999) 福島県林試研報32: 49-60.
- (4) 石沢道雄ほか (1988) 長野県林総研報 4: 61-69.
- (5) 河合昌孝 (1991) 奈良県林試林業資料 6: 30-35.
- (6) 松本則行 (1994) 新潟県林試研報36: 15-39.
- (7) 三河孝一 (1980) 山形県林試研報11: 67-72.

- (8) 三浦直美 (1995) 日林東北支誌47: 169-170.
- (9) 根子昭 (1976) ゼンマイ, 110pp., 農文協, 東京.
- (10) 大分県 (1986) 山菜等栽培技術指針 (ゼンマイ, センリョウ), 48pp., 大分県.
- (11) 宍戸一浩ほか (1995) 福島県林試研報27: 59-73.
- (12) 竹内正幸ほか (1986) 新植物組織培養, 411pp., 朝倉書店, 東京.

(2005年11月14日受付; 2005年12月19日受理)

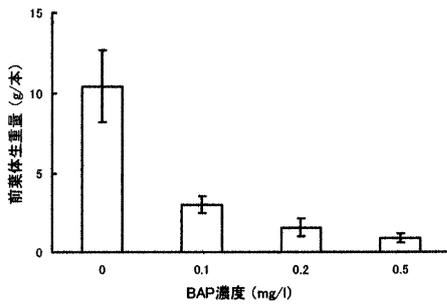


図-1. ゼンマイ前葉体の増殖における植物ホルモン(BAP)の濃度の影響(株 No. 7, WPM 使用)

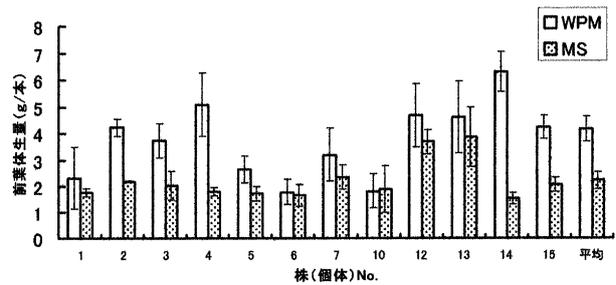


図-2. 株別ゼンマイ前葉体の増殖における基本培地の影響

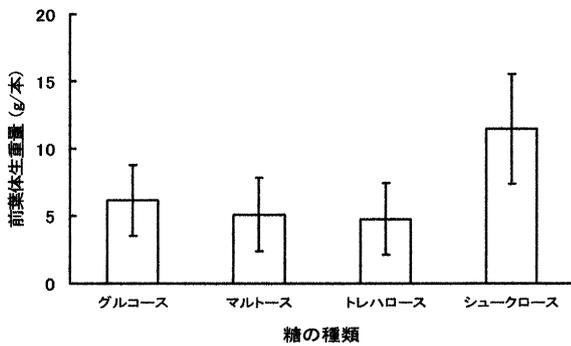


図-3. ゼンマイ前葉体の増殖における糖の種類の影響(株 No. 10, WPM, 糖濃度20g/l)

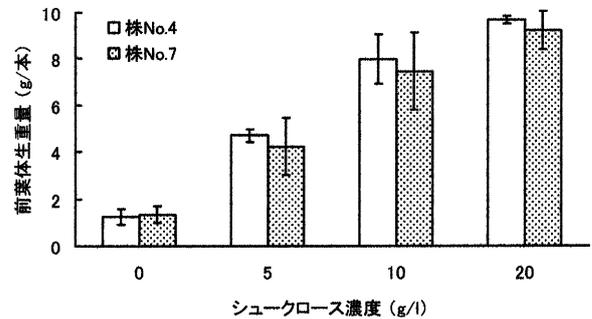


図-4. ゼンマイ前葉体の増殖におけるシュクロース濃度の影響

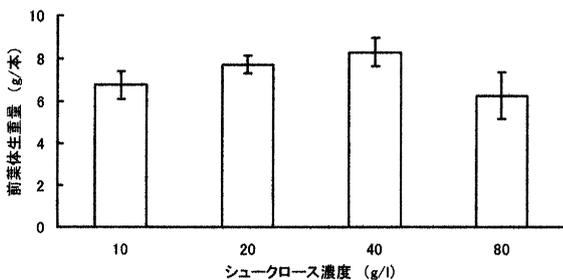


図-5. ゼンマイ前葉体の増殖におけるシュクロース濃度の影響

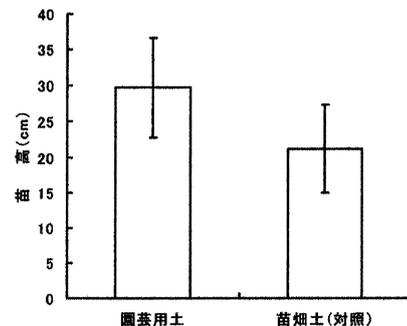


図-6. ゼンマイ胞子体のポット育苗における用土の影響

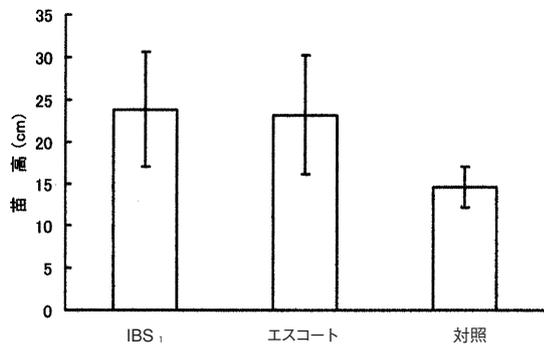


図-7. ゼンマイ胞子体のポット育苗における施肥の影響
(IBS₁区: 5 g/ポット, エスコート区: 5 g/ポット)
(ポット: φ8×9 cmの黒色ビニールポット)

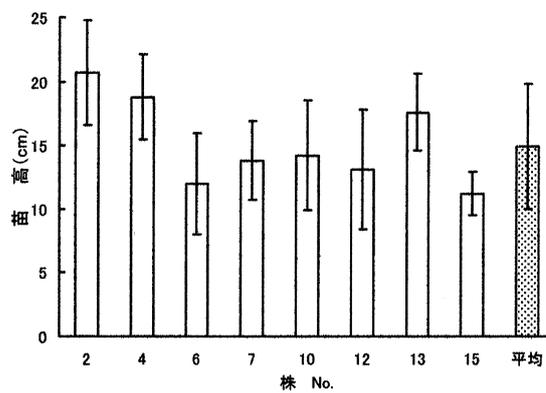


図-8. 株別ゼンマイ胞子体の成長比較



写真-1. ゼンマイ培養苗の実証栽培試験
(水田跡地、植栽: H13年3月、撮影: H16年6月)



写真-2. ゼンマイ培養苗の実証栽培試験
(クヌギ林内、植栽: H14年3月、撮影: H16年6月)