

# 白山別山油坂の頭付近のハクサンチドリの開花結実調査および無菌播種による増殖の試み

大谷基泰・島田多喜子 石川県農業短期大学農業資源研究所  
野上達也 石川県白山自然保護センター

## OBSERVATION OF *ORCHIS ARISTATA*, “HAKUSANCHIDORI” IN BETSUSAN-ABURASAKA ON MT. HAKUSAN AND IN VITRO GERMINATION FOR MICROPROPAGATION

Motoyasu OTANI and Takiko SHIMADA, *Research Institute of Agricultural Resources,  
Ishikawa Agricultural College*  
Tatsuya NOGAMI, *Hakusan Nature Conservation Center, Ishikawa*

### 緒言

ハクサンチドリ (*Orchis aristata* Fischer) は、ラン科ハクサンチドリ属の植物で、本州中部地方以北・北海道、および千島、サハリン、朝鮮、オホーツク沿岸、カムチャッカ、アリューシャン、アラスカの寒帯に分布し、高山帯に生える多年草である(牧野, 1982)。その名前のおと、白山に自生しているが、その個体数は多くない。“白山プロジェクト”(科学技術庁生活地域流動研究「白山山系における高山植物の多様性の解明と遺伝子資源の保全法の確立に関する研究」平成5年～7年)では、ハクサンチドリを含む5種の高山植物を対象として、その多様性と保全法に関する研究を行った。

我々は、ハクサンチドリの個体数がどのように変遷しているのかを調査した。野生植物の個体数の変動を調査する方法として、方形区を設定し、個体追跡を行う方法がある。例えば、白山地域のハクサンコザクラやクロユリの場合、方形区の中の個体を識別し、サイズ等のクラス分けをし、集団の動態を予測している(綿野ほか, 1984)。このような動態予測のための調査には、調査個体数が100個体以上必要であるが、白山地域で自生しているハクサンチドリの個体数は非常に少なく、また、ハクサンコザクラやクロユリと違って、群生している所は殆どないため、同様な調査は行えない。そのようななか、別山油坂の頭付近の尾根道すじ(図1)では数株まとめて生育しているのを見つけることができ、毎年同じ株と思われるものが生育している。“白山プロジェクト”では、ここに気象等の調査機器を収納し

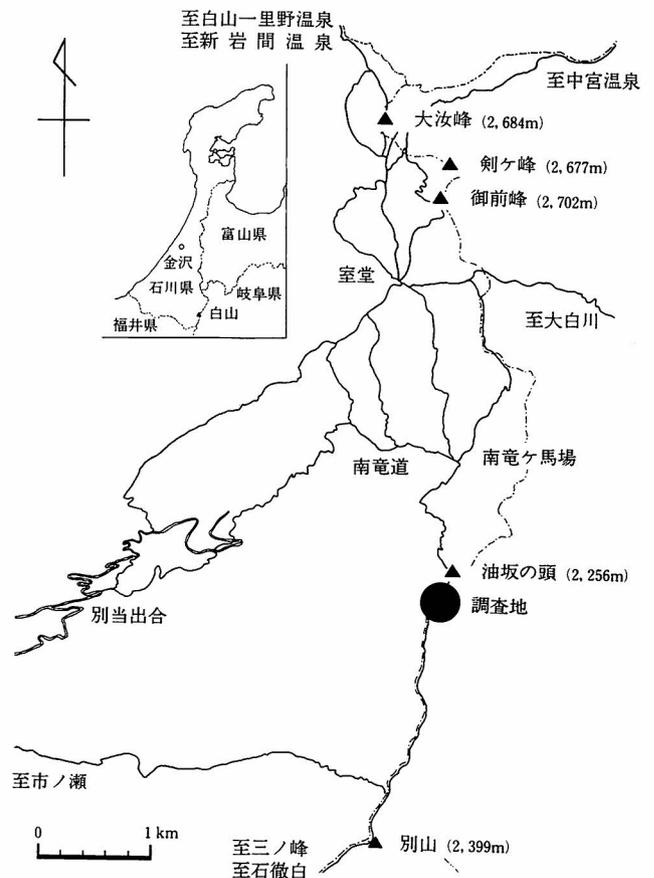


図1 調査地

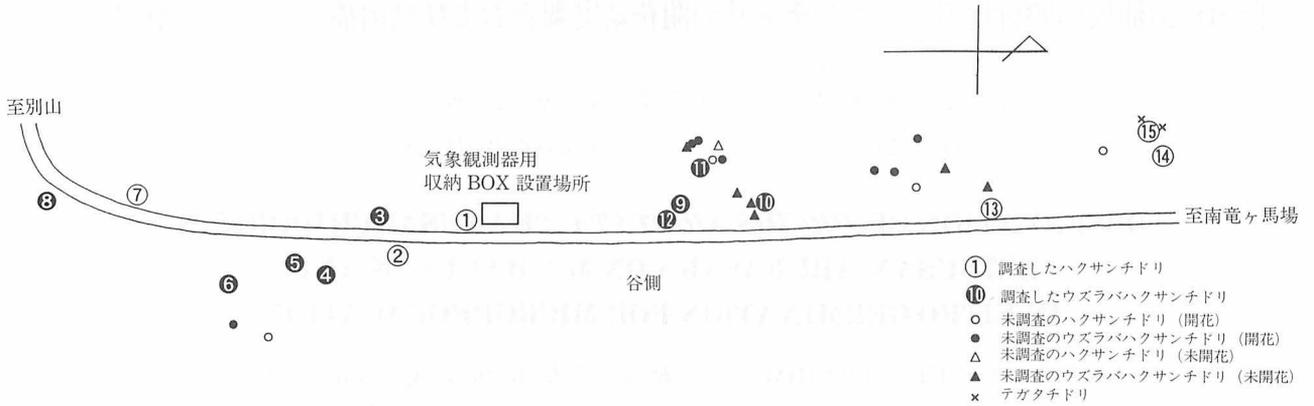


図 2 1999年, 油坂の頭付近におけるハクサンチドリ分布

た調査箱が設置され, 温度などの観測が行われた。その調査箱の南北約20mにわたってハクサンチドリが自生している。そこで, 小規模な調査であるが, それらのハクサンチドリの個体の年次動態を1995年から1999年までの5年間にわたって観察した結果をここで報告する。

また, 我々はハクサンチドリを人為的に増殖する方法を検討した。遺伝的多様性を保持するには, 組織培養によるクローン増殖による方法より, 種子による増殖の方法のほうが有効である。ハクサンチドリはラン科の植物であり, その種子は未熟で自然状態では発芽率は低い。そこで, 養分を含んだ培地上で人工的に発芽させる無菌播種法を検討した。これにより, 試験管内で多くの植物体を増殖することが出来れば, 種の保全に大きな役割を果たすことができる。無菌播種のいくつかの条件について試験した結果について報告する。

### ハクサンチドリの開花・結実状況の調査

#### 1 調査地の概要

南縦走路(石徹白道)の南竜ヶ馬場から別山の間, 油坂の頭近くの登山道沿い(標高2,240m)に, ハクサンチドリが比較的多く自生している(図1, 2, 3)。亜高山帯高茎草原の上部に位置し, ササ自然草原, ハイマツ低木林に接している。登山道に接しているために, 草刈りなどの人為的な影響も多少あると考えられる。土壌は浅く, あまり発達せず, 乾燥気味である。また, 尾根のために風当たりが強く, 雪解けも同標高の他地域より比較的早いと思われる。



図 3 油坂の頭付近における調査の様子

#### 2 調査株

1995年7月上旬に開花していたハクサンチドリ12株, さらに1996年に新たに開花していた株を追加して, 番号をつけた。このうち約半数は葉に紫色の斑点が見られるウズラバハクサンチドリ *O. aristata* f. *punctata* Tatewakiであった。図2に示したように, 調査箱の北側の尾根側では, 数株が緩いグループを形成していたが, 登山道脇の株は比較の間隔をあけて自生しており, 数株がかたまって自生しているということにはなかった。1995年から1999年までの5年間, 7月上中旬にそれぞれの株の開花状況, 葉数と着花数を記録し, 8月下旬に結実数を調査した。1997年は7月下旬に調査したため, すでに開花最盛期を過ぎてしまい, 十分な調査ができなかった。5年間にわたって調査した結果を表1に示す。

No. 1株は, 調査箱の前に自生し, 多くの花を付けている大株である。1997年は, 調査日が遅れたため開花株を見つけることができなかったが, 1999年まで毎年比較的多くの花を咲かせていた。年を追っ

表1 1995年から1999年までの5年間における油坂の頭付近に自生するハクサンチドリの自然結実率

株番号	種類	1995年				1996年				1997年			1998年			1999年		
		葉数	着花数	自然結実数 (%)	人工交配数	葉数	着花数	自然結実数 (%)	人工交配数	葉数	着花数	自然結実数 (%)	葉数	着花数	結実数 (%)	葉数	着花数	結実数 (%)
1	普通種	—	12	5(41.7)	2	4	12	3(25.0)	2	—	—	—	5	8	0(0.0)	5	7	0(0.0)
2	普通種	—	4	0(0.0)	—	4	6	0(0.0)	2	0	—	2	0	—	2	0	—	
3	ウズラバ	—	7	4(57.1)	1	4	7	0(0.0)	—	4	10	3(30.0)	3	6	0(0.0)	4	10	0(0.0)
4	ウズラバ	—	6	0(0.0)	—	3	0	—	—	2	0	—	2	0	—	4	6	0(0.0)
5	ウズラバ	—	4	0(0.0)	—	3	0	—	—	2	0	—	2	0	—	4	9	0(0.0)
6	ウズラバ	—	7	0(0.0)	—	4	0	—	—	2	0	—	2	0	—	4	8	1(12.5)
7	普通種	—	14	7(50.0)	2	4	10	2(20.0)	—	4	6	0(0.0)	4	9	0(0.0)	2	0	—
8	ウズラバ	—	8	2(25.0)	2	3	0	—	—	3	9	1(11.1)	4	1	0(0.0)	4	9	2(22.2)
9	ウズラバ	—	6	2(33.3)	—	—	—	—	—	—	—	—	3	9	2(22.2)	4	8	0(0.0)
10	ウズラバ	—	8	5(62.5)	2	—	—	—	—	—	—	—	3	7	0(0.0)	4	5	0(0.0)
11	ウズラバ	—	8	2(25.0)	—	4	3	1(33.3)	—	—	—	—	—	—	—	3	9	0(0.0)
12	ウズラバ	—	6	3(50.0)	—	—	—	—	—	—	—	—	4	9	0(0.0)	4	8	0(0.0)
13	普通種	—	—	—	—	4	2	—	—	2	0	—	—	—	—	4	4	0(0.0)
14	普通種	—	—	—	—	4	3	0(0.0)	—	2	0	—	—	—	—	4	8	4(50.0)
15	普通種	—	—	—	—	4	4	0(0.0)	—	2	0	—	4	5	0(0.0)	4	9	2(22.2)
総計		90	33(33.3)		47	6(12.8)			25	4(16.0)		54	2(3.7)		100	9(9.0)		

て花の数が少なくなり、結実も少なくなる傾向は見られるが、前年度結実しても次年度は大株に育っており、株の寿命は比較的長いことが分かる。No. 7株も大株であり、No. 1と同じ傾向が見られたが、1999年には小さな株しか発見できなかった。これらの大株の周辺に、小さな株が生育していることはなかった。他の株についても着花数の増減が年毎にちがうが、顕著に個体が消滅しているという傾向は認められなかった。また、普通種の方がやや大株であったが、ウズラバ種と普通種の間で株の生存や結実に関して大きな差異は見られなかった。

No. 9～15は、登山道から尾根側に自生して緩いグループを形成していた。ここでは、毎年、着花していない新しい若い株が比較的多く見られ、また、番号はつけていないが、新たに着花している株も見られた。

全体として、番号をつけた株は5年間で急激に消滅するというのではなく、また、尾根側のグループでは、新しい株の成長もみられることから、今のところ個体数が維持されているようであった。

### 3 開花数と結実率

調査した株の葉数は2から5枚で、葉を3枚以上有している株のみで着花が見られ、3葉以上の株の高さは20cm

～28cmであった。葉の数は植物体の大きさを反映していた。

調査開始年に開花していた株は、その後、見つけれなかった年や、開花株まで成長していなかった年もあったが、全体として60%以上が5年間毎年開花した。なお、1997年は7月末に調査したため開花時期が過ぎており、調査できなかった株が多かった。

1995年と1996年は、一部の花のみ人工受粉したが、以後、人工交配は行わなかった。1995年8月下旬、結実数を調査したところ人工交配も含めた結実

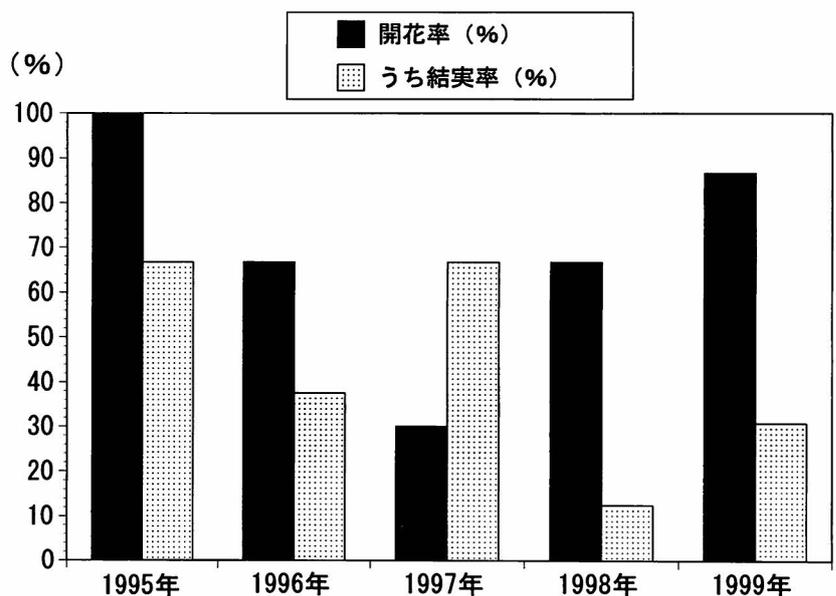


図4 油坂の頭付近に自生するハクサンチドリの1995年から1999年までの5年間の開花率と結実率の推移

率(結実花数/着花数×100)は46.7%であり、人工交配を除いた自然結実率は33.3%であった。自然結実率は、1995年の33.3%を最高にして、その他の年は3.7~16%と低かった。図4に1995年から1999年にかけての調査株における開花した植物体の割合(開花率)と結実率を示す。自然結実率が低下してきている傾向がみられる。

結実率の低下の原因としては、花粉を媒介する昆虫(ポリネーター)の分布や減少が影響を及ぼしていることが考えられる。また、環境条件の変化も考えられる。本調査地以外の自生地のハクサンチドリを調査して比較することは興味深い。

#### 4 テガタチドリとの比較

テガタチドリ(*Gymnadenia conopsea* R.Br.)は、白山地域に比較的多く自生しており、特に南竜道わきには群生している。ハクサンチドリとの比較のため、ハクサンチドリ調査地および南竜道に自生しているテガタチドリの開花と結実状況を調査した。南竜道沿いのテガタチドリについて数株の結実率を調査したところ、1995年では平均83.6%、1998年は平均66.1%であった(図5)。ハクサンチドリの調査地にもテガタチドリが数株花を咲かせていた。その株の平均結実率(結実花数/着花数×100)は、71.8%で、南竜道沿いのものの結実率と大きな違いはなかった。これに対して、ハクサンチドリの結実率は低く、個体数の少なさを反映しているようであった。

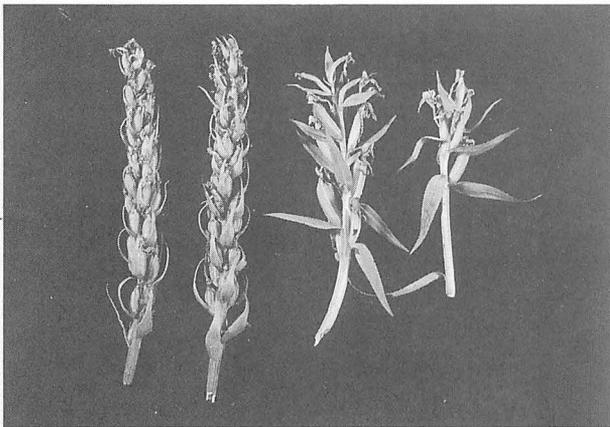


図5 テガタチドリ(左)とハクサンチドリ(右)の結実の様子

#### 5 種子繁殖および栄養繁殖

観察を続けたハクサンチドリは、初年度に開花していた株のみであり、その周辺の株をサイズ別に個体数を記録することは行っていない。そのため、どの程度幼植物が育っているか明確ではない。調査箱の北側のNo. 9~15のグループの周辺では、比較的多くの幼植物が生育しているのを確認できたが、その他の株の周辺では少なかった。ハクサンチドリは塊根をもち、栄養繁殖も行うことが考えられる。アロザイムやDNAの多型を調査することによって明らかになるだろう。

#### 無菌播種による増殖

##### 1 材料および方法

まず、市販のハクサンチドリで無菌播種条件を検討した。北海道産ハクサンチドリを購入し、人工交配して種子を得た。交配後30日目の果実を70%エタノールに30秒間浸漬してから、5%(v/v)濃度の次亜塩素酸ナトリウム(アンチホルミン)に15分間浸して滅菌消毒を行った。その後、滅菌水で果実を十分洗浄してから滅菌した濾紙上に移して、ナイフで果実を切り開いて内部の種子を取り出し、培地上に播種した。

無菌播種用の培地は、市販のハイポネックス微粉(6.5-6-19) 2 gL<sup>-1</sup>、2%蔗糖を含む液体培地(pH 5.9)を50ml容の三角フラスコに20ml入れて用いた。播種後、一部は、20℃、弱光下(1000Lux)で培養し、他は、2℃、暗所で8か月間低温処理した後、20℃、弱光下で培養した。

形成されたプロトコーム(protocorm)は、改変LS培地(1/2濃度の無機塩、2%蔗糖、0.25%gellan gum, pH5.9)に移植し、20℃、16時間蛍光灯照明下で培養した。

次に、調査地の一部の株から果実を採取し、同じ方法で無菌播種した。

##### 2 結果と考察

市販のハクサンチドリの種子を培地上に播種した結果を表2に示す。低温処理を行わないで、20℃で培養したところ、1果実あたり平均3.9個の種子が発芽し、プロトコームを形成した。一方、5℃で低温処理した後、20℃で培養した種子は、1果実あたり81.6個が発芽した。低温処理がハクサンチドリの

表2 ハクサンチドリの種子発芽における低温処理(2℃)の効果

低温処理期間 (日)	果実数	形成プロト コーム数	1果あたりの プロトコーム 形 成 数
0	10	39	3.9
240	8	653	81.6

発芽を促進し、20倍以上の種子を発芽させることが分かった。この実験では低温処理期間は8か月と長かったが、今後、最適低温処理期間の検討が必要である。同様の条件で、調査地のハクサンチドリの無菌播種を行ったところ、同程度の発芽率を示し、低温処理によってプロトコームが得られた。

形成されたプロトコームは、改変LS培地で培養することにより、プロトコームの肥大、プロトコームからの発芽と塊根の形成を経て、塊根からの発芽と発根により幼植物体となった(図6)。プロトコームからの平均発芽率は47.8%であった。

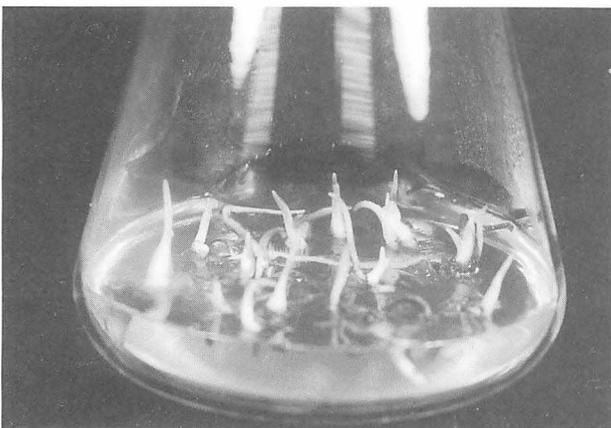


図6 ハクサンチドリのプロトコームからの発芽と発根

Kondo et al.(1997) は、広島大学理学部附属植物遺伝子保管実験施設のガラス室で栽培しているハクサンチドリおよび白山の調査地で採取したハクサンチドリの無菌播種条件について、培地および種子の熟度の影響を試験した。その結果、ハイポネックス培地が最も発芽率が高く、また、受粉後40日に播種するのが最も高い発芽率を示した。我々の実験によってもハイポネックス培地が有効であること、受粉後30-40日の熟度の種子の発芽率が高いことが確認された。近藤らは、光が発芽を阻害する結果を得ているが、我々の実験では弱光下においても良好な発芽率を得ている。発芽に対する光条件をさらに検討する必要がある。

無菌播種によってプロトコーム形成を経て幼植物を得ることが出来るようになった。今後は、さらに効率よく幼植物を形成する条件を確立するとともに、得られたフラスコ内の幼植物の栽培技術を確立しなければならない。

## 今 後

ハクサンチドリの開花率や結実率の年ごとの変動は、その年の気象条件の影響が大きいと考えられる。5年間の調査結果では、ハクサンチドリの個体数の明確な減少傾向はみられなかったが、結実率の低下傾向は見られた。今後も引き続いて、この調査地のハクサンチドリを調査を継続し、10年、20年などどのように変化していくか観察することは非常に意義があると考えられる。また、調査地の番号をつけた株の周辺に生育する、葉数が2枚程度の幼植物体を記録しているが、それらが花をつける株まで成長することができるのか、また、それに要する年数はどのくらいか、調査を続けていきたい。

一方、無菌播種によって、より多くの幼植物体を得る技術及び開花まで植物体を栽培する栽培技術の確立のための研究を今後も続けていかなければならない。

## 文 献

- 綿野泰行・木下栄一郎・清水建美・野村哲朗・米澤勝衛(1994) 各種植物の繁殖特性と集団の動態に関する研究。白山山系における高山植物の多様性の解明と遺伝子資源の保全法の確立に関する研究。57-71。
- 牧野富太郎(1982) 原色牧野植物大図鑑 北隆館 pp.772。
- Kondo,K., C.Tanaka, T.Shimada, M.Otani (1997) Developmental morphology of seeds and micropropagation of *Orchis aristata* Fischer(Orchidaceae)in Axenic Culture. *Annals of the Tsukuba Botanical Garden*, 16, 41-48.