

鳥取県環境学術研究等振興事業費補助金研究（環境部門）実績報告書

研究期間（1年目/3年間）

研究者 又は 研究代表者	氏名	(ふりがな) かみなか ひろのり 上中 弘典
	所属研究機関 部局・職	鳥取大学 農学部生物資源環境学科・准教授 電話番号 0857-31-5378 電子メール kaminaka@muses.tottori-u.ac.jp
研究課題名	ラン科植物の革新的発芽・共生促進技術の確立と絶滅危惧種保全への応用	
研究結果	<p>本研究では、ジベレリン生合成阻害剤によるラン科植物の無菌発芽系による発芽と菌根菌との共生の劇的な促進効果を利用し、鳥取県で自生するラン科の絶滅危惧種の保全と希少価値の高いラン科植物の人工栽培技術を確立するために、以下の3つの研究を行った。</p> <p>1. ジベレリン生合成阻害剤によるラン科植物の発芽・共生促進効果の普遍性の検証については、複数のラン科植物・異なるジベレリンの生合成阻害剤の評価を行い、その効果が複数のラン科植物で検証できた（詳細データ参照）。ジベレリンによるラン科植物の発芽・共生の制御メカニズムの解明については、予定していた生理学的解析を完了した。またトランスクリプトーム解析もほぼ完了し、学術論文として投稿するための追加実験を行った。</p> <p>2. 平成27年10月に鳥取県内の絶滅危惧種の自生地での調査を行い、次年度の自生地での種子の採取とジベレリン生合成阻害剤の散布試験がスムーズにできるよう準備を行った。</p> <p>3. 難発芽性のラン科の絶滅危惧種の人工発芽・栽培系の確立については、難発芽性のラン科植物であるキンランの種子を入手し、ジベレリン生合成阻害剤を用いた人工発芽系の構築を目的とした培養実験を行った。また、次年度種子が採取しやすいよう鉢植えのキンランを入手し、人工交配による種子取得の準備を行った。</p>	
研究成果	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ラン科植物の発芽と共生における市販の農薬を含む複数のジベレリン生合成阻害剤の促進効果について評価を行い、本効果が様々なラン科植物に適用可能であることを明らかにした（詳細データ参照）。本知見を含む得られた成果について学会発表を行うと共に、特許出願を行った（研究実績参照）。</li> <li>・ラン科植物の発芽・共生の制御メカニズムの解明については、予定していた解析をほぼ完了し、得られた成果について学会発表を行った（研究実績参照）。</li> </ul>	
次年度研究計画	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ジベレリン生合成阻害剤によるラン科植物の発芽と共生の促進効果については、適用できる植物種を増やすため、さらに様々なラン科を用いて効果を検証する。また、制御メカニズムに関する基礎知見とともに成果を学術論文として公表する。</li> <li>・来年度春に再度自生地の調査を行い、種子の採取とジベレリン生合成阻害剤の散布実験を行う。また引き続きキンランだけでなくギンランについてもジベレリン生合成阻害剤を用いた人工発芽系の構築を目指した研究を行う。</li> </ul>	
報告責任者	所属・職 氏名	研究・国際協力部研究協力課・課員・朝野弘昭 0857-31-5494 ken-jyosei@adm.tottori-u.ac.jp

- 注1) 表題には、環境部門、地域部門、北東アジア学術交流部門のいずれかを記載すること。  
 2) 「研究期間（ 年目/ 年間）」及び「次年度研究計画」は、環境部門のみ記載すること。  
 3) 研究者の知的財産権などに関する内容等で、非公開としたい部分は、罫線で囲うなど明確にし、その理由を記すこと。  
 4) 研究実績のサマリーを併せて提出すること。

## 研究実績のサマリー

鳥取大学 農学部・生物資源環境学科

准教授・上中 弘典

(出願特許)

- 上中弘典、三浦千裕、山本樹稀、古井佑樹：「ラン科植物の発芽と共生を促進する技術」、特願 2015-196787、国立大学法人鳥取大学、平成 27 年 10 月

(学会発表)

- 山本樹稀、三浦千裕、長田翔太郎、大谷ユリア、谷亀高広、大和政秀、上中弘典：ラン科植物シランの発芽後の初期成長における菌根共生の役割、第 25 回植物微生物研究会、平成 27 年 9 月
- 山本樹稀、古井佑樹、三浦千裕、谷亀高広、大和政秀、上中弘典：ラン科植物シランの菌根共生における植物ホルモンの影響、菌根研究会 2015 年度大会、平成 27 年 10 月
- Chihiro Miura, Tatsuki Yamamoto, Masahide Yamato, Katsushi Yamaguchi, Shotaro Nagata, Yuria Otani, Hisayo Asao, Miwako Matsumoto, Takahiro Yagame, Shuji Shigenobu, Hironori Kaminaka : Involvement of auxin and gibberellic acid in the regulation of mycorrhizal symbiosis in *Bletilla striata* (Orchidaceae)、第 57 回日本植物生理学会年会、平成 28 年 3 月

# ランの発芽には菌類との共生が必須

ランの種子



イネの種子



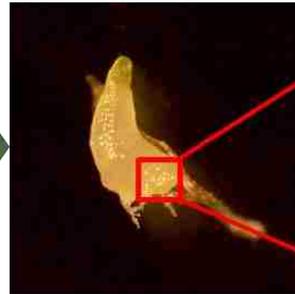
- ほこり種子とよばれる非常に微細な種子
- 発芽の際に菌類と共生し、幼植物体プロトコームとなる
- プロトコームでは皮層細胞にペロトンが形成される

種子

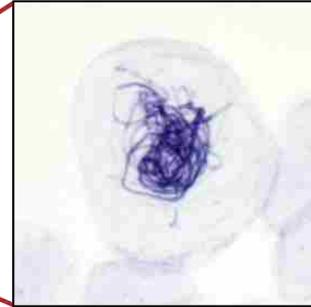


発芽

プロトコーム



共生細胞内のペロトン



コイル状のペロトン

共生菌

ラン科植物の栽培化には、共生菌との共生効率を向上させるか、共生菌非存在下で発芽可能な、これまでにない革新的な技術の確立が必要

# ラン科植物シランの人工発芽系

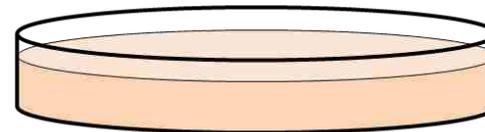
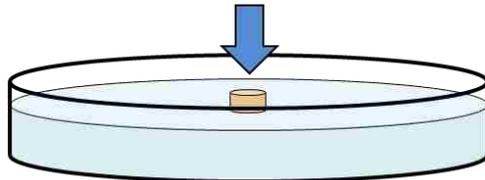
- 供試植物：シラン (*Bletilla striata* cv. 'Murasaki Shikibu')  
    > 野生の地生ランの栽培化品種
- 共生菌：*Tulasnella* sp. HR1-1株  
    > サギソウから単離・シランと共生可能



共生発芽系

無菌発芽系

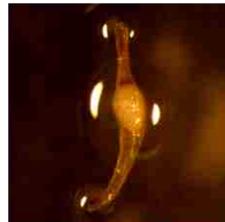
植菌 (*Tulasnella* sp. HR1-1)



オートミール培地

ハイポネックス培地

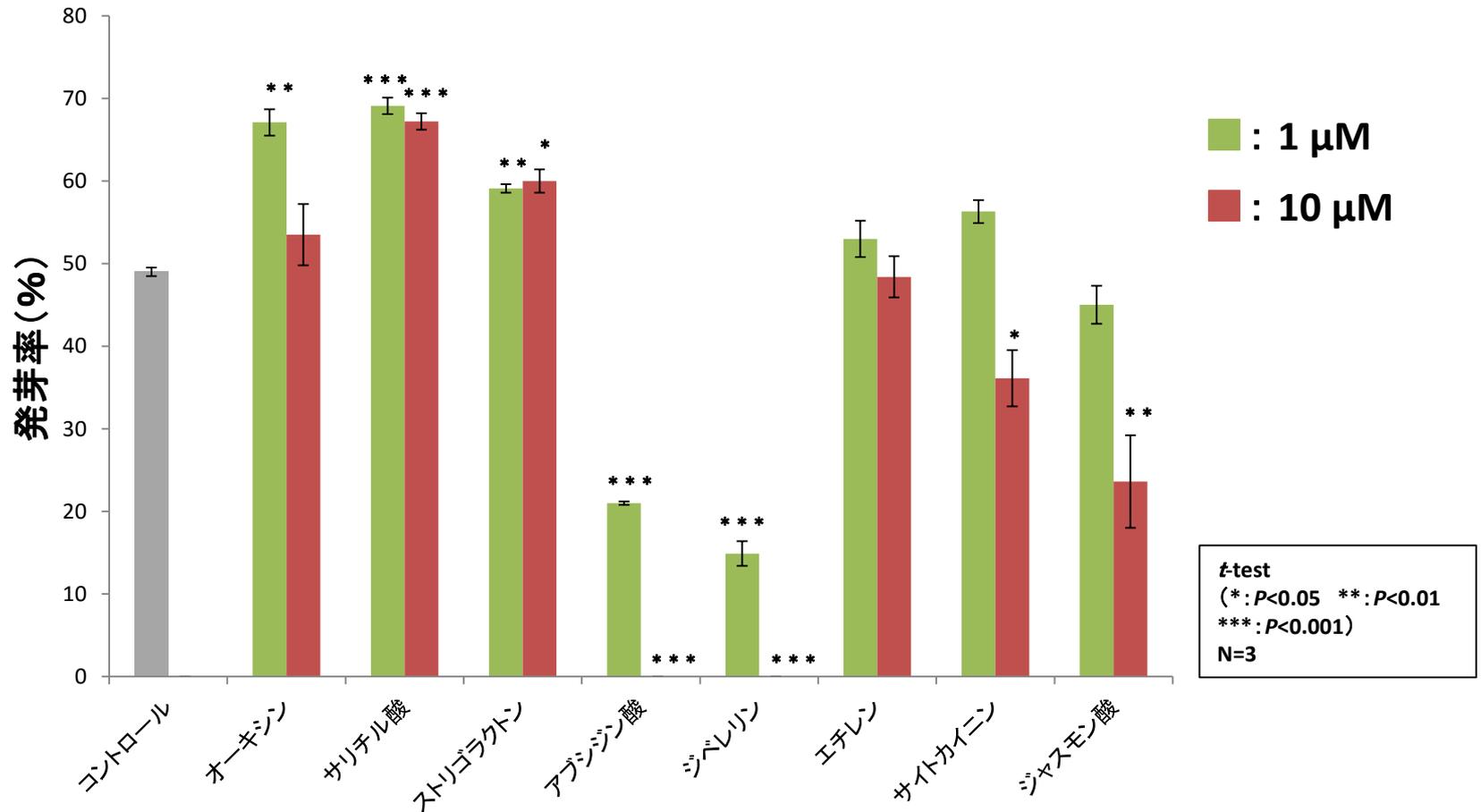
シランを播種



共生菌存在下で発芽

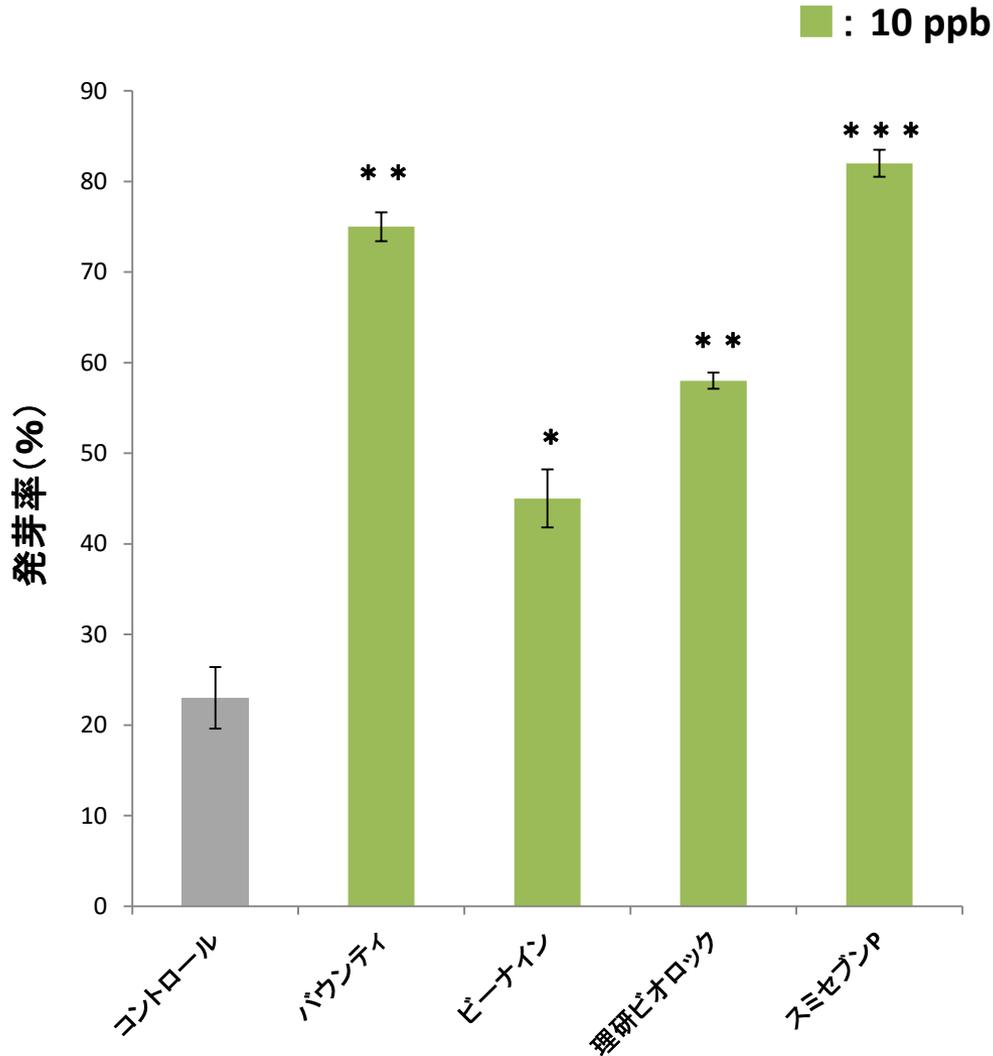
共生菌非存在下で発芽

# 無菌発芽系における植物ホルモン添加の影響



- オーキシシン、サリチル酸、ストリゴラクトンで促進
- アブシジン酸とジベレリンによって抑制

# 無菌発芽系におけるジベレリン阻害剤 添加の影響



・ビーナイン  
(ダミノジド)  
80%  
>伸長抑制剤



・バウンティ  
(パクロボトラゾール)  
21.5%  
>伸長抑制剤



・理研ピオロック  
(プロヘキサジオンカルシウム)  
25%  
>伸長抑制剤



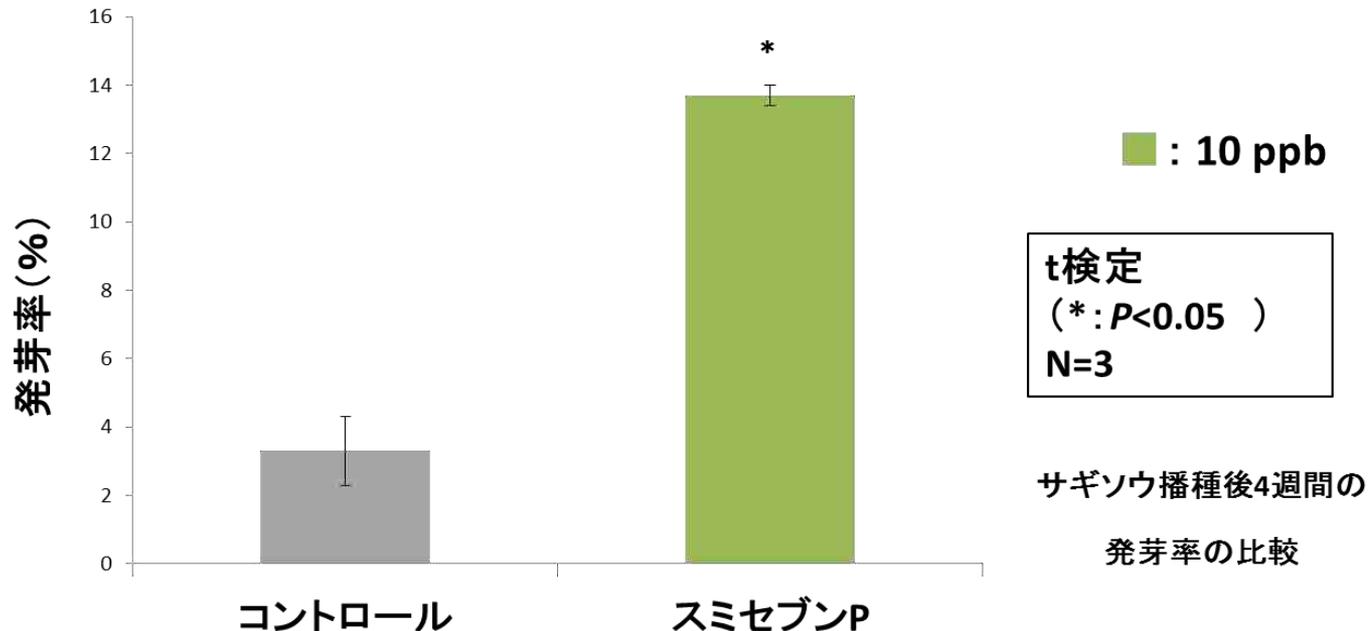
・スミセブンP  
(ウニコナゾールP)  
0.025%  
>矮化剤

t検定  
(\*:  $P < 0.05$  \*\*:  $P < 0.01$   
\*\*\*:  $P < 0.001$ )  
N=3

# ジベレリン阻害剤を有効成分とする農薬の種子発芽への影響

供試植物: サギソウ (*Pecteilis radiata*)

> 野外から採取した野生ラン



シラン以外のラン科植物においても同様に発芽が促進された  
(他にもネジバナ、オオミヤマウズラなど> 次の図)

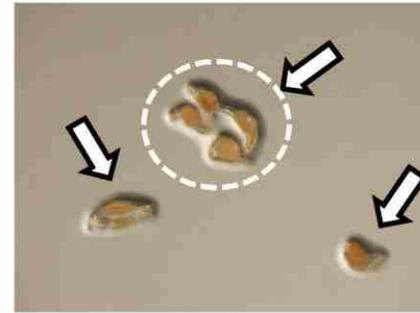
# 希少価値の高いラン科植物への応用

ジベレリン生合成阻害剤を処理した無菌発芽系に播種し、発芽率を測定した

コントロール

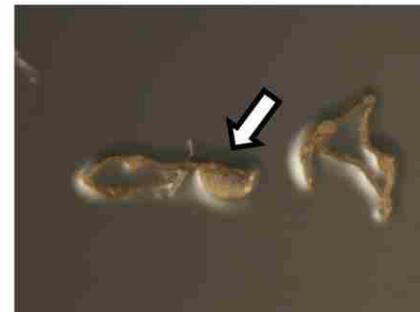
ジベレリン生合成阻害剤  
(0.5 mg/L ウニコナゾール)

ネジバナ



● 胚の膨張

オオミヤマウズラ



● 仮根の形成

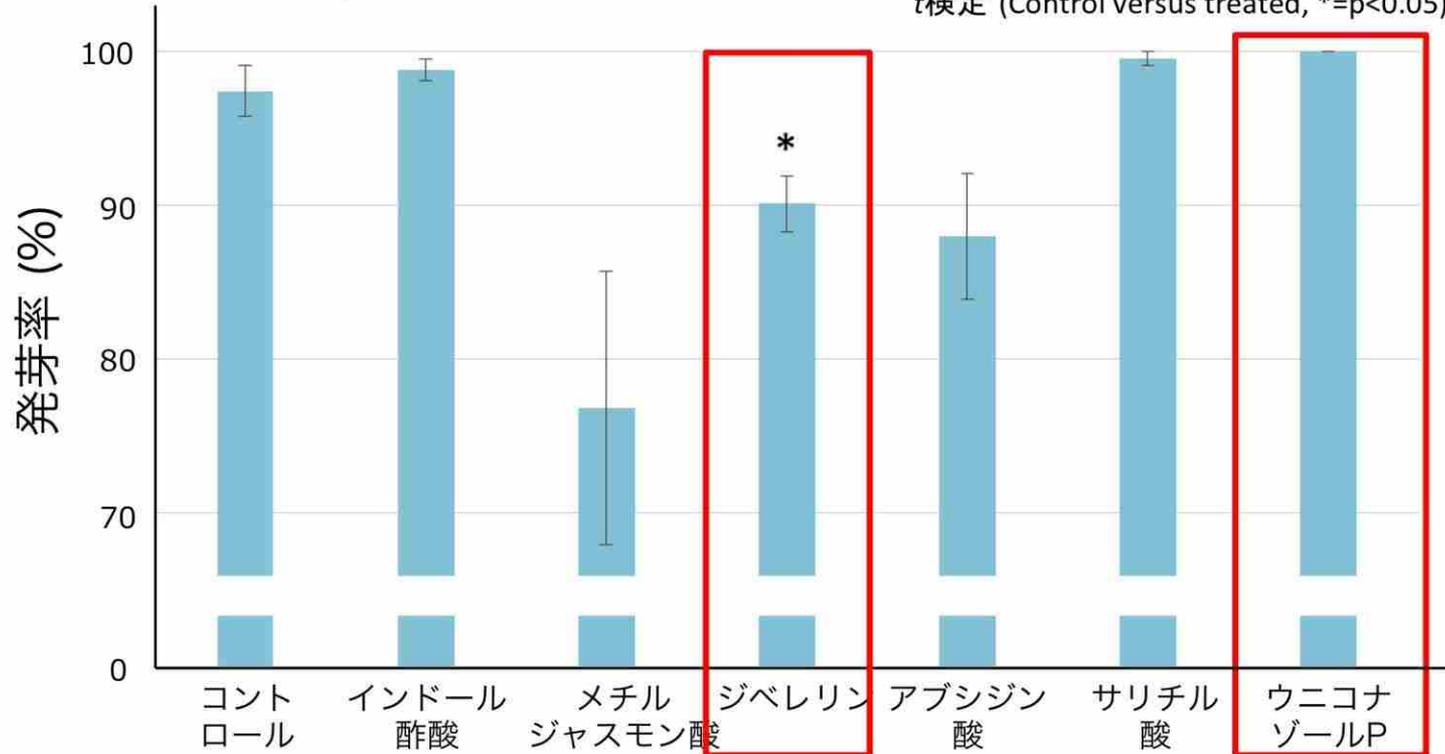
ジベレリン生合成阻害剤による発芽促進効果はラン科植物で広く適応可能であると期待される

# 発芽と共生を促進する剤の探索と影響評価

植物ホルモンを処理した共生発芽系にシランを播種し、発芽率を測定した

植物ホルモン1  $\mu\text{M}$ 処理

エラーバー: 標準誤差,  $n=3$   
t検定 (Control versus treated,  $*=p<0.05$ )

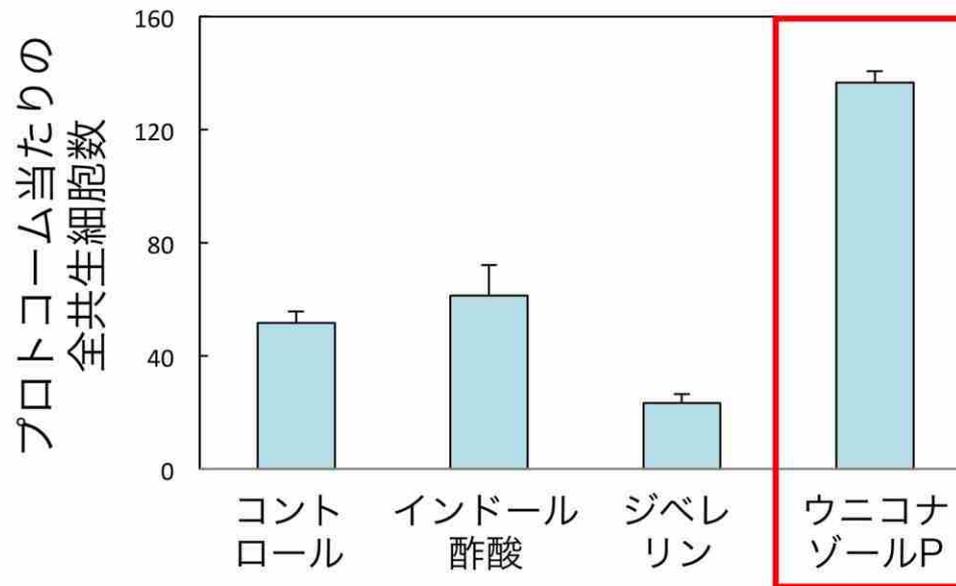


ジベレリン生合成阻害剤 (ウニコナゾールP) を処理することにより発芽を促進する傾向が見られた

# 発芽と共生を促進する剤の探索と影響評価

植物ホルモンを処理した共生発芽系にシランを播種し、共生細胞数を測定した

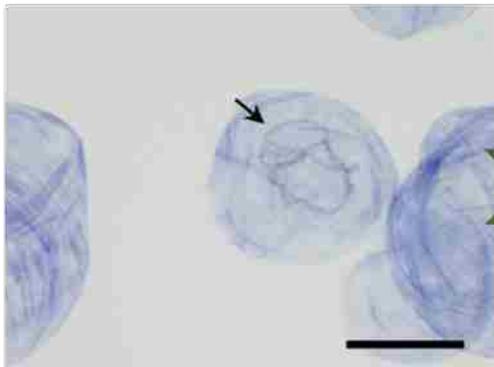
植物ホルモン1  $\mu\text{M}$ 処理



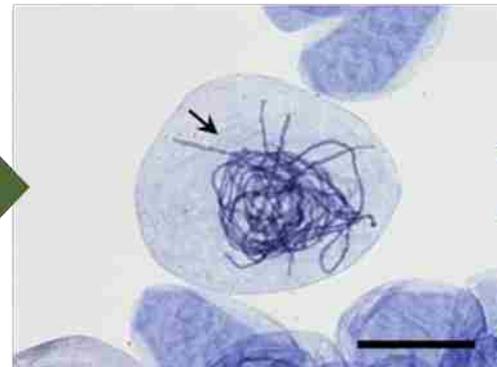
ジベレリン生合成阻害剤 (ウニコナゾールP) を処理することにより共生が促進された

# ラン科植物シランの菌根共生システム

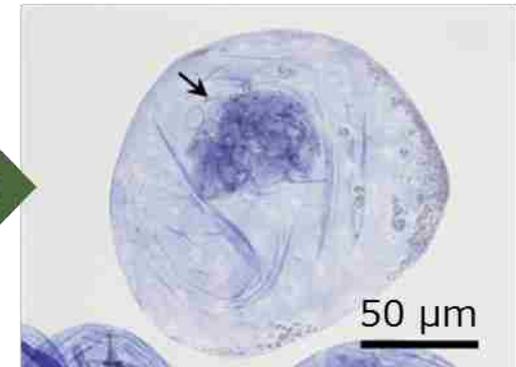
初期：侵入



中期：定着



後期：分解



ジベレリン

オーキシシン

オーキシシン、サリチル酸、ジベレリン阻害剤の処理により  
ラン科植物の発芽・共生が劇的に促進される