

| | |
|--------------|--|
| 氏 名 | 水 島 智 史 |
| 学位 (専攻分野の名称) | 博 士 (農学) |
| 学位記番号 | 乙 第 929 号 |
| 学位授与の日付 | 平成 30 年 1 月 20 日 |
| 学位論文題目 | ウワバミソウの繁殖方法に関する研究 |
| 論文審査委員 | 主査 教 授・博士 (農学) 峯 洋 子 教 授・博士 (農学) 雨 木 若 慶 教 授・博士 (農学) 小 池 安 比 古 農 学 博 士 杉 山 信 男* |

論文内容の要旨

ウワバミソウ (*Elatostema involucreatum* Franch. & Sav.) は、イラクサ科ウワバミソウ属の宿根草であり、春～秋にかけて収穫される茎葉、秋に葉腋に形成される珠芽および根茎を食用とする山菜である。本種は、これまで自生地で採取されていたが、近年では栽培化が徐々に進められている。栽培にあたっては苗の供給量が限られており、自生している植物体から茎葉や珠芽を取って苗を育成するのが一般的である。したがって、野生植物の乱獲などを防ぐためにも、安定的かつ効率的な繁殖・育苗法の確立が必要である。しかしながら、ウワバミソウの生態的特性については不明な点が多く、また種子繁殖および栄養繁殖についての先行研究例が少なく、安定性、効率性を考慮した繁殖方法は十分に検討されていない。そこで本研究では、ウワバミソウの採取や生産に関する問題点を明らかにした後に、安定的に苗を供給するための繁殖技術の確立を図った。

第 1 章 我が国におけるウワバミソウの生産状況

ウワバミソウの採取や生産に関する問題点を明らかにし、栽培がどの程度行われているのか明らかにするために、林野庁が調査した特用林産基礎資料を基にして 2010～2015 年のウワバミソウの生産状況を調べた。全国生産量は、155～212 t の範囲であった。2010～2015 年で生産実績があるのは 15 県、そのうち 6 県では栽培による生産 (人工もの) 実績があった。生産量のほとんどは自生植物を採取したもの (天然もの) であるが、2013 年では青森県で人工ものが大幅に増加した結果、全国での生産量の約 17%を人工ものが占めた。青森県で人工ものの生産量が大幅に増加した要因を県の担当者に問い合わせたが、明確な回答は得られなかった。

人工ものの生産が行われていたものの、苗の供給方法や繁殖方法を含め、生産の実態は不明である。そこで、採取や栽培をめぐる現状を調査することを目的に、生産あるいは研究実

*元東京農業大学教授

績のある県にアンケート調査を行い 16 県から回答を得た。苗の繁殖は、珠芽の利用、挿し芽および株分けで行われており、種子繁殖は行われていなかった。繁殖に用いる個体は、県内の自生個体が多いが、1 県では県外からの導入も行っていた。県外の系統を導入した理由を問い合わせたところ、県内自生地がごく一部に限られており、さらに自生株が小型であることから県外から導入したと回答があった。栽培地があるのは 4 県と少数であった。その理由としては栽培技術が確立していないことを挙げた県が多かった。収量や栄養面で優れた系統があれば導入してみたいと回答した県は 6 県あった。直売所では珠芽の人気が高いことから、大型の珠芽を収穫できる系統や 7~8 月に珠芽を収穫できる系統の確立を望む意見も寄せられた。県外から導入した系統や、多収性や機能成分に特徴をもつ系統が確立された時に栽培を広げるためには、苗の育成が必要となることから繁殖技術の整備は重要であると考えられた。

第 2 章 ウワバミソウの生態的特性

前章において、栄養繁殖に用いる茎葉や珠芽は通常、自生地から採取することが明らかになったが、効率的に茎葉や珠芽を採取するためには自生地におけるウワバミソウの生活史を明らかにしておくことが有効と思われる。しかしながら、繁殖の際に必要な情報である主茎長、側枝長、珠芽の形成個数、種子形成量など不明な点が多い。そこで、ウワバミソウの生活史を明らかにするために、福井県大飯郡おおい町名田庄地区にある標高約 300 m の自生地の株を 5~11 月にかけて調査した。主茎長、主茎の節数、側枝数および総側枝長は、5~10 月にかけて増大する傾向であったが、11 月には珠芽の脱落により減少した。5~8 月の主茎節数は約 12~14 節であったことから、2 節で切断した場合 1 本の主茎から最大 7 本の挿し穂を採取することができると計算されるが、実際には下位節では節間長が長いことにより挿し穂が長くなりすぎ、茎頂付近では節間が詰まっていて挿し穂が短くなりすぎるため、主茎を用いた実際の挿し穂の採取本数は 7 本よりも少なくなると考えられる。10 月から 11 月にかけての節の減少要因をすべて珠芽の脱落によると仮定すると、主茎 1 本当たりの珠芽の形成数は主茎で 9 個、側枝で 9 個の合計 18 個程度であると推測される。したがって、自生地株が少ない場合や特定の系統を増殖させたい場合には、効率的に栄養繁殖させるための方法が必要である。また、6 月には主茎 1 本当たり約 278 粒の瘦果（以下、種子と呼ぶ）を採取可能であると考えられるが、種子繁殖による栽培の可能性については不明である。

第 3 章 種子の発芽に及ぼす発芽促進処理の効果

現在、ウワバミソウの苗はすべて栄養繁殖で育成され、種子繁殖は行われていないが、種子繁殖が可能であれば、増殖率は栄養繁殖に比べ 10 倍以上に高まることが前章で明らかになった。しかし、野生植物の種子は休眠するものが多いので、ウワバミソウの種子にも休眠

があり、発芽が斉一に行われない可能性が高い。そこで、種子に対するジベレリン (GA) および低温処理による発芽促進の効果について調査した。GA 0ppm 区と GA100 ppm 区の播種 28 日後の発芽率は、それぞれ 12 および 7%であった。温度 (常温と冷蔵) と湿度 (湿潤と乾燥) を組み合わせて 46 日間貯蔵したところ、常温・湿潤および冷蔵・湿潤区の発芽率は、それぞれ 3 および 5%であった。一方、常温・乾燥および冷蔵・乾燥区では、発芽しなかった。したがって、本実験での条件におけるウワバミソウ種子に対する発芽促進処理の効果は認められなかった。ウワバミソウ栽培で種子繁殖が行われない理由の一つとして、発芽率を高める方法が不明であることが考えられた。

第 4 章 挿し芽繁殖における増殖効率向上のための処理

第 1 節 挿し芽時の条件が発根とその後の生育に及ぼす影響

挿し穂の活着に及ぼす挿し穂採取部位、挿し芽用土の種類、オーキシシン処理、雌雄性的影響について検討した。天挿しおよび管挿しでの発根率は、それぞれ 93 および 100%であったことから、どちらの方法でも苗の育成が可能であると考えられた。鹿沼土、バーミキュライト、バーミキュライト・ピートモス混合用土およびバーミキュライト・パーライト混合用土の 4 種類の用土に挿し芽したところ、根の生育の観点から挿し芽用土としては鹿沼土あるいはバーミキュライト単用が望ましいと考えられた。粒径の異なる鹿沼土およびバーミキュライトに挿し芽したところ、発根率は鹿沼土の粒径 14 mm を除いて 80%以上と高かったが、鹿沼土では粒径が大きくなると、またバーミキュライトでは粒径が小さくなると発根数が減少する傾向が見られた。挿し芽用土として適した粒径は、鹿沼土では 2 mm、バーミキュライトでは 5 mm 程度と考えられた。インドール酪酸溶液を処理した挿し穂の発根数は、対照区と比較して有意に増加した。雌花序だけを着生している主茎 (雌シュート) および雄花序だけを着生している主茎 (雄シュート) を挿し芽したところ、鉢上げ時および鉢上げ 75 日後の生育は、両シュートの間に差は認められなかったことから、挿し穂の採取にあたって雌雄性を考慮する必要はないと考えられた。

第 2 節 挿し穂採取本数の増加方法

(1) 主茎の切除が側枝と根茎の発達に及ぼす影響

主茎を切除して頂芽優勢を打破し、側枝の発達を促進させることにより、挿し穂採取本数を増加させる可能性がある。一方、主茎の切除による同化器官の損失は、根茎の発達を抑制させ、自生地における群落維持に影響する可能性がある。そこで、主茎頂部の切除と側枝および根茎発達の関係を調査した。8 月 24 日に主茎の頂部を長さ 5 cm で切除したところ、切除有り区の切除 42 日後の主茎長および側枝数は、切除無し区と比べて抑制された。切除 172 日後において、切除有り区の根茎新鮮重および着生芽数は、切除無し区に比べて抑制された。したがって、自生地における挿し穂の採取は、自生地株の根茎発達を抑制し、群落維持に影響

響を及ぼす可能性が示唆され、自生地保全の観点からも挿し穂採取用母株を育成する必要があると考えられた。

(2) 水耕による母株の育成

土耕に比べて生育が優れる養液栽培によって育成した母株からは、多数の挿し穂を採取できると考えられるが、ウワバミソウの養液栽培方法は明らかにされていない。そこで、母株育成の観点からウワバミソウの水耕について検討した。

挿し芽苗の生育に適した培養液濃度を明らかにするために、鹿沼土に挿し芽して発根した挿し芽苗を閉鎖型環境において濃度が0.25, 0.5および1単位の園試処方培養液で水耕した。その結果、生育は0.25単位で優れたことから、発根した挿し芽苗を水耕する場合の好適培養液濃度は、園試処方の0.25単位程度であると考えられた。

次に、発根後の培地除去作業を省くため、また根部の傷みを軽減するため、0, 0.1および0.25単位の培養液に水挿しし、水挿し28日後に0.25単位培養液に定植した。その結果、育苗中および定植後の生育は、0単位と比べて0.1単位の培養液において育苗中だけでなく、定植後も優れた。しかし、0.1単位の相対成長率と純同化率は、0単位のそれと比較して育苗中は高かったが、定植後には差がなかった。これらから、培養液濃度を0.1単位として水挿しし、28日後に0.25単位で水耕することによって育苗労力が軽減できることが明らかとなった。

さらに、挿し穂採取本数の点で、慣行のガラス室での土耕によって育成した母株と比較して、閉鎖型培養室で水耕によって育成した母株の方が優れているか確かめたところ、挿し芽後12週から18週までの1株当たりの累積挿し穂採取数は、水耕区では8.1本となり、慣行区の1.5本の5.4倍であった。

閉鎖型環境で育成した母株から挿し穂を採取し、苗を育成する場合、閉鎖型環境から外部環境に移すことになる。そこで、閉鎖型培養室での水耕（水耕区）とガラス室での土耕（慣行区）で育成した母株から採取した挿し穂を用いて、挿し穂が環境の変化に順応できるかを検討した。挿し芽時の茎葉新鮮重は、水耕区と慣行区の間には有意な差は認められなかった。挿し芽42日後の水耕区の茎葉および根新鮮重は、慣行区と比較して有意に重かった。したがって、閉鎖型環境で水耕した母株から採取した挿し穂は、外部環境に順応できること、また慣行区よりも生育が優れることが明らかになった。

(3) 母株に対するベンジルアミノプリンおよびジベレリン散布の効果

植物成長調節物質であるベンジルアミノプリン（BAP）やジベレリン（GA）を利用することで腋芽数を増やし、また茎の伸長を促すことにより側枝数を増やすことができるかを確かめるために、25および100 ppmのBAPおよびGA溶液を母株に2回散布した。その結果、BAP処理により側枝数は対照区と比較して3~4倍に増加した。GA処理では側枝の伸長を促進したが、側枝数には影響を及ぼさなかった。

BAP および GA の混用効果を明らかにするため、BAP と GA の単用区と混用区を設け、母株に対するそれらの 1 回処理が側枝形成数に及ぼす影響を調査した。BAP 処理した場合、挿し穂として利用可能な 5 cm 以上の側枝数は、3.3 本/株であり、対照区の 0.3 本/株と比較して有意に増加した。GA 処理では主茎や側枝の伸長が認められたが、挿し穂として利用できる側枝数は BAP 処理ほど増加しなかった。さらに、BAP と GA を混用処理しても BAP 単用処理と比較して有意な差は認められなかった。

次に、母株に対する BAP および GA 処理が挿し穂の発根に及ぼす影響を明らかにするため、BAP および GA を処理した母株から挿し穂を採取し、水挿しによって挿し芽後の発根および生育を調査した。BAP 処理した母株から採取した挿し穂の挿し芽後の生育は、対照区と同等であったことから、BAP 処理した母株から挿し穂を採取しても挿し芽の生育には影響を及ぼさないと考えられた。これに対して、GA を単独処理した母株から採取した挿し穂は、対照区と比較して有意に小さく、挿し芽後の生育も抑制されたことから、GA 処理は望ましくないと考えられた。

(4) 節培養を利用したインビトロシュートの大量増殖

挿し穂や珠芽による増殖では、希少系統の個体の増殖や大量増殖に対する要求を必ずしも満たすことはできないと考えられたので、節培養により組織培養したシュートを挿し穂として利用した挿し芽繁殖について検討した。培養中の 1/2MS 区の主茎長および節数は、MS 区と比較して有意に優れた。節培養により得たシュートを用いて挿し芽をしたところ、MS 区と 1/2MS 区の挿し穂の発根率は、それぞれ 83 および 100 %であった。挿し芽 56 日後の生育は両区の間で有意な差は認められなかった。置床 42 日後の 1/2MS 区の節数は 6.3 節であることから、1 節ずつ分割して継代培養する場合、6 個程度の節切片に分割可能と考えられる。したがって、節培養により組織培養したシュートを利用した挿し芽繁殖が可能であることが明らかとなり、1 回当たり 6 個に分割して 1 年間に 8 回の培養を繰り返したと仮定すると、1 年間に約 168 万個の節切片を確保できると試算された。

第 3 節 挿し芽苗の生育に及ぼす窒素施肥量の影響

ポット育苗後、鉢上げした苗の生育、特に収穫対象となる茎葉部の生育に及ぼす窒素施肥量の影響を明らかにするため、バーミキュライトを用いて 1 L 当たりの窒素施肥量を 0, 200, 400 および 800 mg とした培養土で、挿し芽苗を栽培した。その結果、鉢上げ 42 日後の生育は、窒素施肥量を 400 mg・L⁻¹ とした培養土で優れたことから、鉢上げ用土の窒素施肥量は 400 mg・L⁻¹ が適すると考えられた。

第 5 章 珠芽による繁殖

(1) 珠芽の水耕による挿し穂採取用母株の育成

栽培の開始には挿し芽からだけではなく、珠芽から始めることも可能なので、ウロバミン

ウの珠芽を用いた水耕時の生育と培養液濃度の関係を検討した。珠芽を 0.13 および 0.25 単位の培養液で水耕したところ、定植後の生育は、両濃度の間で有意な差は認められなかった。また、0.25 および 0.5 単位の培養液で水耕したところ、地上部および根の生育は、0.25 単位で優れた。定植 64 日後において、0.25 単位で水耕した株を挿し穂採取用母株とすると、主茎 1 本当たり側枝から 6.8 本と主茎の 1 本、合計 7.8 本の挿し穂を採取できると考えられた。したがって、珠芽を用いて水耕する場合の好適培養液濃度は、0.13～0.25 単位と考えられた。

(2) 珠芽のもつ自発休眠の打破

ウワバミソウの珠芽の休眠打破に必要な低温処理期間を明らかにするため、9 月、10 月および 11 月に採取した珠芽を用いて、2℃で 0～80 日間の低温処理を行ったところ、9 月採取および 10 月採取の珠芽の最終発芽率は、80 日処理で 90%以上であった。一方、11 月採取の最終発芽率は、60 日処理で 100%であったが、11 月には珠芽は既に地表に落下していた。したがって、珠芽による繁殖に当たっては、9 月および 10 月に採取した珠芽では 80 日間の低温処理によって休眠打破すれば良いことが明らかとなった。

低温処理よりも簡易かつ短期間で休眠を打破し、採取直後の珠芽を速やかに出芽させることを目的に、珠芽に対して GA を 0、100 および 500 ppm で処理したところ、最終出芽率はそれぞれ 0、84 および 34%であった。さらに、珠芽に対して GA の 0、10、50 および 100 ppm と BAP の 0、1 および 10 ppm を組み合わせ処理した結果、出芽は、GA を 100 ppm で処理した場合に最も優れた。一方、BAP 単独処理では出芽促進効果は認められなかった。無処理では珠芽は一切出芽しなかったが、珠芽を GA 溶液に 24 時間浸漬処理することで出芽した。したがって、秋季に採取した珠芽を直ちに GA 処理して水耕することにより、速やかに苗生産に入ることが可能であると考えられた。

以上のことから、種子繁殖が困難なウワバミソウを栄養繁殖により増殖させるためには、母株を水耕で育成し多量の挿し穂を確保すること、母株に BAP を散布して側枝の発生を促すこと、節培養によって直接挿し穂を育成することなどが有効であり、これらの方法から得られた挿し穂をバーミキュライト、または鹿沼土に天挿しおよび管挿しすることによって多量の苗を効率よく生産できることが明らかになった。さらに、珠芽を齊一に出芽させるためには、2℃で 80 日間の低温処理および GA 溶液（100 ppm）への浸漬処理が有効であることも明らかになった。本研究で得られた成果は、今後、ウワバミソウの経済栽培の普及上、大きく寄与するものと考えられる。

審査報告概要

本研究は、東北を中心に人気の高いイラクサ科の山菜であるウワバミソウの効率的繁殖方法について検討したものである。生産県への調査の結果、現在は自生地からの採取が主であるが優良系統の栽培も望まれていること、また自生地での調査の結果、種子は多数形成されるものの種子繁殖の効率は極めて低いことが明らかとなった。そこで栄養繁殖である挿し芽繁殖の増殖効率向上の検討を行い、水耕での母株育成や BAP の散布処理によって、慣行より多くの挿し穂を採取できることを明らかにし、さらに節培養によりインビトロシュートを大量増殖し、それを挿し穂として直接挿し芽を行うことで飛躍的に増殖効率を高めることに成功した。これらの方法から得られた挿し穂をバーミキュライトまたは鹿沼土に天挿しおよび管挿しすることで、多量の苗を安定して生産できる技術となることが示された。珠芽による繁殖についても、2℃・80 日間の低温処理および GA 溶液への浸漬処理が珠芽の斉一な出芽に有効であることを明らかにした。本研究で得られた成果は、ウワバミソウの経済栽培の普及に寄与するだけでなく、自生群落の維持に活用することも期待できる技術であると考えられる。よって、審査委員一同は博士（農学）の学位を授与する価値があると判断した。