

## 鳥取県環境学術研究等振興事業費補助金研究（環境創造部門）実績報告書

## 研究期間（2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・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つの研究を実施した。</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、共生についてもその促進効果を複数のラン科植物・異なるジベレリン生合成阻害剤で検証できた。また、これまでの培地上の条件だけでなく、発芽できない無栄養のろ紙上や土壌中でもその効果の検証を行った。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、トランスクリプトーム解析も合わせて必要なデータが出そろったので、次年度に学術論文として投稿する予定である。</p> <p>2. 平成28年5月に鳥取大学農学部附属の演習林内にあるキンランの自生地を調査を行い、散布試験ができる事を確認した。1.の研究結果も踏まえ、平成28年10月にジベレリン生合成阻害剤を処理した種子の自生地での埋設を行った。</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引き続き行った。</p>	
研究成果	<p>・ジベレリン生合成阻害剤によるラン科植物の発芽の促進効果については、より自然環境の状態に近い、無栄養のろ紙上や土壌中でも調査し、発芽できない条件下でもジベレリン生合成阻害剤処理により発芽できるようになることも明らかにした（詳細データ参照）。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た。得られた成果については国際学会を含む多くの学会で発表を行うと共に、これまで得られた成果の一部については、国際学術雑誌にて発表を行った（研究実績参照）。</p>	
次年度研究計画	<p>・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。</p> <p>・キンランの種子の採取とジベレリン生合成阻害剤の処理実験を自生地にて行う。また引き続きキンランについて人工発芽系の構築を目指した研究を行う。</p>	
報告責任者	所属・職 氏名	研究推進部研究推進課 高田 志保 電話番号 0857-31-5494 電子メール 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・生命環境農学科

准教授・上中 弘典

(発表論文：国際誌、査読有)

- Yamamoto, T., Miura, C., Fuji, M., Nagata, S., Otani, Y., Yagame, T., Yamato, M. and Kaminaka, H. (2017) Quantitative evaluation of protocorm growth and fungal colonization in *Bletilla striata* (Orchidaceae) reveals less-productive symbiosis with a non-native symbiotic fungus. BMC Plant Biol., 17, 50.
- Suetsugu, K., Yamato, M., Miura, C., Yamaguchi, K., Takahashi, K., Ida, Y., Shigenobu, S. and Kaminaka, H. (2017) Comparison of green and albino individuals of the partially mycoheterotrophic orchid *Epipactis helleborine* on molecular identities of mycorrhizal fungi, nutritional modes, and gene expression in mycorrhizal roots. Mol. Ecol., 26, 1652-1669.

(学会発表)

- 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), XVII International Congress of Molecular Plant-Microbe Interactions、平成28年7月
- 古井佑樹、三浦千裕、山本樹稀、山口勝司、谷亀高広、大和政秀、重信秀治、上中弘典：ラン科植物シランの無菌発芽系におけるトランスクリ

プトーム解析と植物ホルモンの影響評価、日本植物学会第 80 回大会、平成 28 年 9 月

- 山本樹稀、三浦千裕、谷亀高広、大和政秀、上中弘典：オーキシンおよびジベレリンはラン科植物シランの菌根共生の制御に関与する、第 26 回植物微生物研究交流会、平成 28 年 9 月
- 三浦千裕、山口勝司、宮原良平、山本樹稀、谷亀高広、今泉（安楽）温子、重信秀治、大和政秀、上中弘典：ラン科植物シランにおける共通共生遺伝子群の解析、第 26 回植物微生物研究交流会、平成 28 年 9 月
- Tatsuki Yamamoto, Chihiro Miura, Takahiro Yagame, Masahide Yamato, Hironori Kaminaka: Involvement of auxin and gibberellic acid in the regulation of mycorrhizal symbiosis in *Bletilla striata* (Orchidaceae)、日韓合同国際シンポジウム (AFELiSA) 2016 年度大会、平成 28 年 10 月
- Yuki Furui, Chihiro Miura, Tatsuki Yamamoto, Katsushi Yamaguchi, Takahiro Yagame, Masahide Yamato, Shuji Shigenobu, Hironori Kaminaka: Transcriptome analysis of asymbiotically germinated *Bletilla striata* (Orchidaceae) and effects of phytohormones on germination、日韓合同国際シンポジウム (AFELiSA) 2016 年度大会、平成 28 年 10 月
- 藤雅子、三浦千裕、込山真太郎、山本樹稀、本城真也、谷亀高広、大和政秀、上中弘典：ラン科植物と *Tulasnella* 属菌間の共生親和性の解析、菌根研究会 2016 年度大会、平成 28 年 11 月
- 山本樹稀、三浦千裕、谷亀高広、大和政秀、上中弘典：オーキシンおよびジベレリンはラン科植物シランの菌根共生の制御に関与する、菌根研

究会 2016 年度大会、平成 28 年 11 月

- 古井佑樹、山本樹稀、三浦千裕、谷亀高広、大和政秀、上中弘典：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、日本農薬学会第 42 回大会、平成 29 年 3 月
- Chihiro Miura, Tatsuki Yamamoto, Katsushi Yamaguchi, Yuri Kanno, Takahiro Yagame, Masahide Yamato, Mitsunori Seo, Shuji Shigenobu, Hironori Kaminaka : Gibberellin-mediated defense responses on the mycorrhizal symbiosis in *Bletilla striata* (Orchidaceae)、第 57 回日本植物生理学会年会、平成 29 年 3 月

# ジベレリン阻害剤

## 生合成阻害剤



スミセブンP  
(住友化学)  
> ウニコナゾール



バウンティ  
(日本農薬)  
> パクロブトラ  
ゾール



理研バイオロック  
(理研グリーン)  
> プロヘキサジ  
オンカルシウム



ビーナイン (ニッ  
ソーグリーン)  
> ダミノジット

# 無栄養条件下における試験（ろ紙）

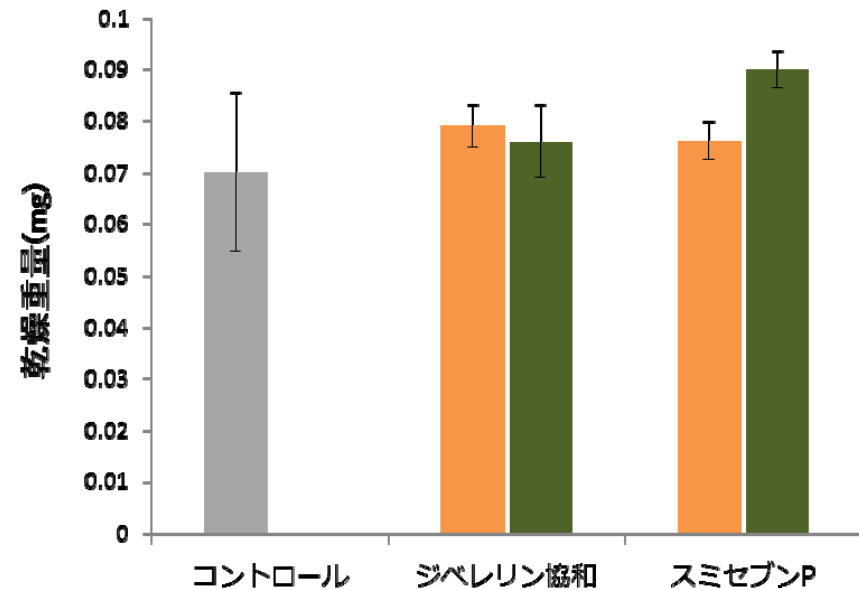
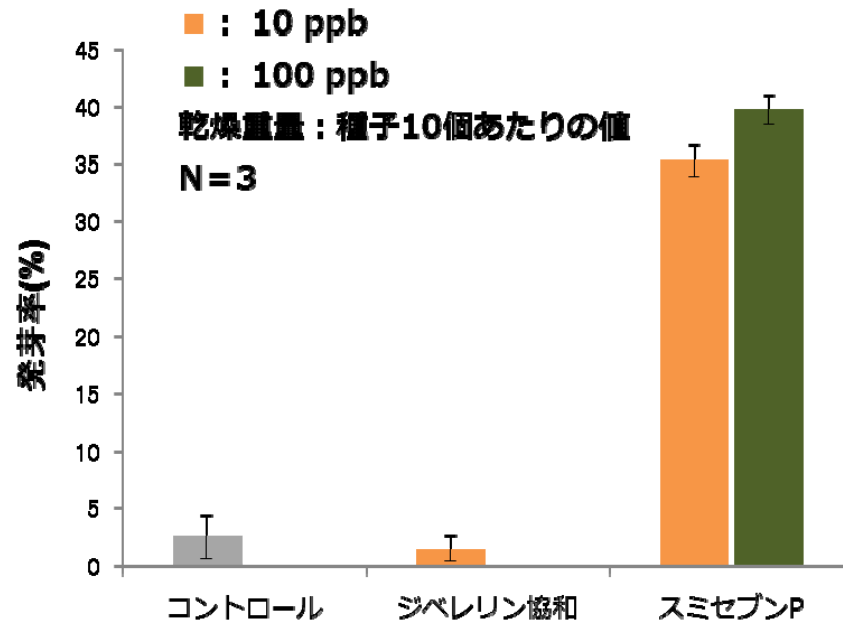
- ・ コントロール (DW : 2 ml)
- ・ ジベレリン協和 (10ppb , 100ppb)
- ・ スミセブンP (10ppb , 100ppb)



無菌播種

3週間培養

発芽率および乾燥重量を測定



無栄養条件下においてもジベレリン生合成阻害剤で発芽が促進された

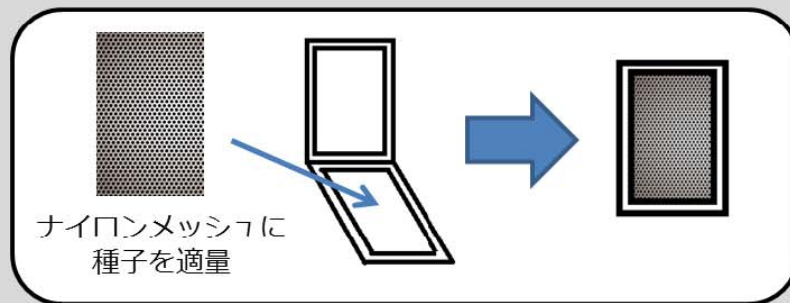
# 土壌を用いた発芽試験

◆ 供試植物：シラン (*Bletilla striata* cv. 'Murasakishikibu')

- 培養土

鹿沼土：桐生砂：赤玉（1：1：1）オートクレーブにより滅菌

- シードパケット作成



6週間培養

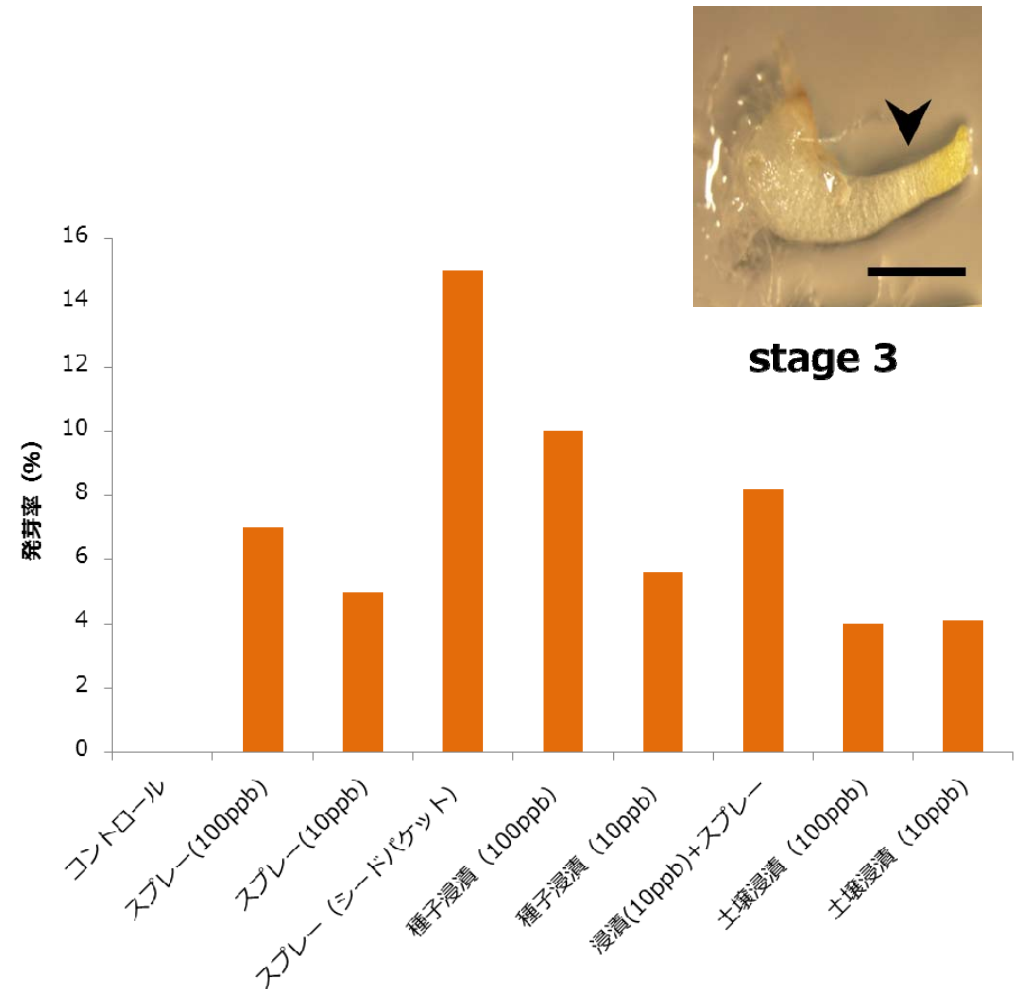
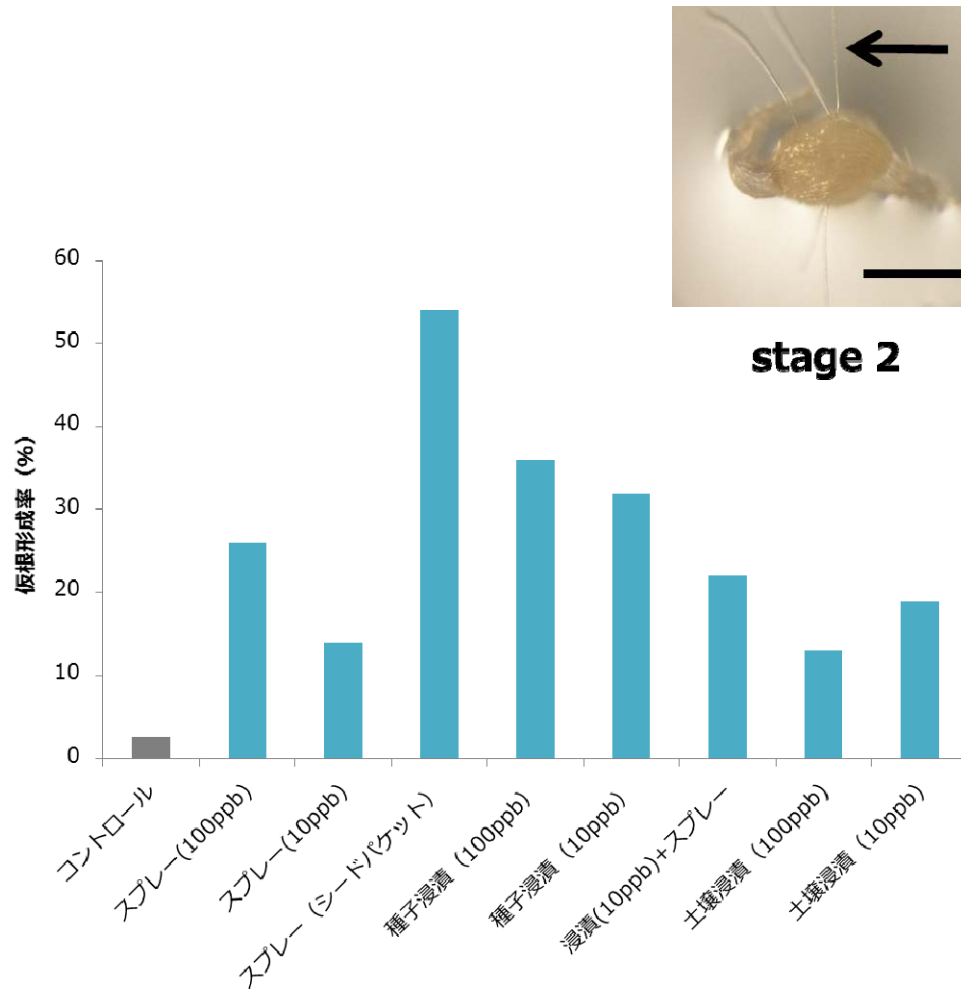
◆ 処理区（種子約100粒を土壌にシードパケットにて埋没）

- スプレー処理（シードパケットor土）
- 土に農薬を混ぜ込む
- 種子を薄めた農薬に一晩浸漬させる

スミセブンP：最終濃度が  
100 ppbと10 ppbになるよう調製



# 無菌状態の土での発芽率



無栄養の土壌においてもジベレリン生合成阻害剤で発芽が促進された