

ナゴランの無菌培養に関する研究

稲村 博子*, 斎藤 斉**

Studies on the Aseptic Culture in *Aerides Japonicum*

Hiroko INAMURA and Tadashi SAITOU

I 緒 言

ナゴランはその名が琉球の地名に由来すると言われる暖地産のランであり、本県の隠岐島が北限とされている。ナゴランは樹幹に着生するランで、日本の野生着生ランの中では葉が最も大きく、花卉に淡紫褐斑がわずかに入る白色花で、芳香のある、そそとした趣のあるランである。隠岐島では隠岐フウランの名で隠岐ジャクナゲとともに観光土産として販売されているが、その大半は山採によるものであり、近年では減少が著しく、ナゴランの苗および株の確保が非常に困難な状況になってきている。そこで現地からはナゴランの人工増殖による種子繁殖技術の確立が強く要望されていた。

一般にラン種子は重量0.3~1.4 μ g、長さ0.25~1.2mm、幅0.09~0.27mmと微小で胚と種皮からなり、発芽に必要な貯蔵物質を全く含まないため、発芽しても通常の植物のように生長を続けることができず、人工的に発芽、生育させることは非常に困難であった。

今世紀初期には、プロトコーム中に菌糸が発見され種子発芽と菌類の関係について研究がおこなわれた結果、発芽に必要な貯蔵物質を持たないラン種子は菌類との共生によって、つまり菌糸を栄養源にして発芽、生育するといわれていた。しかし、その後KNUDSON⁷⁾はランの発芽は糖と無機塩があれば菌が存在しなくても行われることを実証し、菌類の存在がランの発芽に不可欠であるとしたそれまでの研究とは異なった新たな方向性を示した。その後多くの研究がおこなわれKNUDSONが開発した無菌培養の処方は広く用いられるようになった。

しかし、培地組成についての理論的研究が少ないこ

と、いまだに無菌培養が困難なランもあり、その究がなされていないこと、またランは属または種によって発芽に際しての栄養的要求が異なる、などの未解の問題が多く残されている。

本試験で取り上げたナゴランについても澤¹⁶⁾の報告があるのみで、培地や培養条件などについての実的な検討は全く行われていない状況であった。

筆者らは1979年から1983年にかけてナゴランの無菌培養技術の確立に関する試験を行ったので、得られた知見を報告する。

本研究にあたり技術のご指導をいただいた香川大教授五井正憲博士、試験の遂行にあたり有益な御指導御援助をいただいた元花き科山田員人科長、試験のりまとめにあたりご指導、ご助言いただいた野菜花科中川善紀科長をはじめ科員各位、また種子等を提していただいた西郷農業改良普及所に対し深く謝意を表する。

II 種子の貯蔵法

種子の貯蔵方法に関する試験はエビネなどごく一で行われているにすぎず、ナゴランについては全く討されていないので以下の試験を行った。

1. 実験材料および方法

供試したナゴランの種子は1980年2月10日に隠岐で採種したもので貯蔵試験は2月14日から開始した貯蔵温度は室温、5 ^\circ C、0 ^\circ C、-18 ^\circ Cとし、さく果裂開して得られた種子を薬包紙に包みシリカゲルをいれたビン中にいれ密封した。室温区についてはシリカゲルをいれない区(室温放置区)も設けた。

種子は貯蔵後130日、221日、311日、382日目に出し、下記の方法によりは種した。

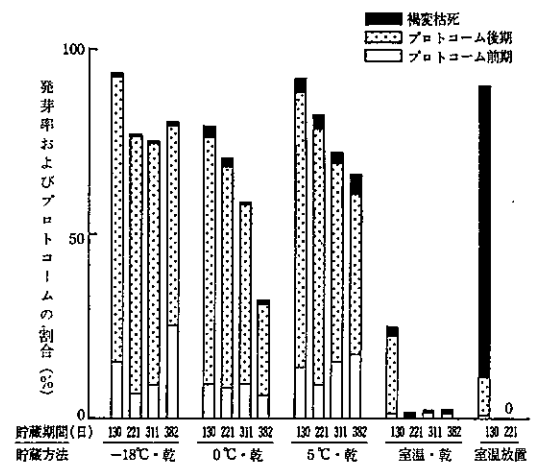
培地はハイポネックス(N6.5、P₂O₅6.0、K₂O 19%) 3%, リンゴ汁100%, しょ糖20%とし、処方後

寒天15gを添加した。pHは加熱溶解前に1規定の水酸化カリウムを用い5前後に調整した。培地の滅菌消毒はオートクレーブにより120 ^\circ Cで20分間行った。種子の消毒は展着剤を加えた過酸化水素3%液に10分間浸漬して行った。培養器は三角フラスコ(200ml)と試験管を、培養器の栓はアルミ箔を用いた。培養は25 ^\circ C \pm 1 ^\circ Cの恒温器を用い、16時間の人工照明(1,500~2,000lx)下で行った。なお以下の実験についても特にことわらないかぎり同様な方法であった。1区につき発芽調査用に5試験管、生育調査用に5フラスコは種した。

は種約1か月後に発芽およびプロトコームの生育状況を実態顕微鏡(\times 20)を用い、1試験管当り3視野について調査した。または種約2か月後に、5フラスコ中平均的な生育がみられる1フラスコについて生育段階別割合を調査した。

2. 結果

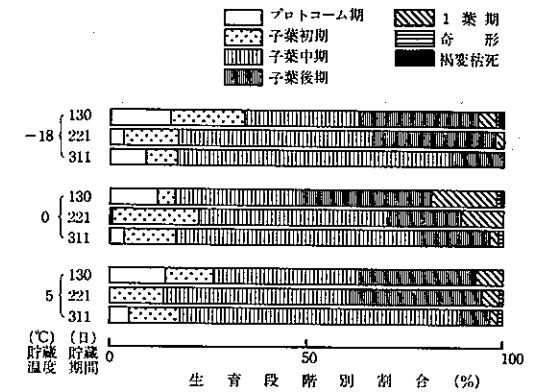
貯蔵方法および貯蔵期間が発芽率とプロトコームの生育割合におよぼす影響については第1図に、同じく



第1図 貯蔵方法および貯蔵期間が発芽とプロトコームの生育割合に及ぼす影響(1980)
注) プロトコーム前期: 仮根が認められないもの
プロトコーム後期: 仮根が認められたもの

第1表 室温貯蔵期間の温度(^\circ C)(1980)

期 間	II/16	III/10	IV/10	V/1	VI/20	VII/10	VIII/21	IX/20
	~II/25	~III/19	~IV/19	~V/10	~VI/29	~VII/19	~VIII/30	~IX/29
最高平均気温	16.1	18.4	18.4	21.5	26.1	27.8	29.7	26.6
最低平均気温	14.1	15.9	16.6	19.1	24.5	26.0	27.8	25.2



第2図 貯蔵温度および期間が生育段階別割合に及ぼす影響(1980)
注) 子葉初期: プロトコームにとっ起が認められたもの
子葉中期: とっ起が扁平になったもの
子葉後期: 子葉が確認されたもの

生育段階別割合におよぼす影響については第2図に示したとおりである。

発芽率は-18 ^\circ C、5 ^\circ Cの130日貯蔵区が最も高く、93.7~92.1%であった。また、発芽率が70%を越えた区は-18 ^\circ Cのすべての貯蔵区、0 ^\circ Cの130日、221日貯蔵区、5 ^\circ Cの130日、221日、311日貯蔵区であった。室温放置区の130日貯蔵区は、発芽率は90.3%と非常に高かったものの、発芽後78.8%は樹葉枯死した。しかし、室温乾燥区の発芽率は130日貯蔵区でも25.0%と低かった。また、室温乾燥区、室温放置区ともに貯蔵期間が221日以上になると発芽率は著しく低下した。室温貯蔵区の気温を第1表に示した。貯蔵開始から5月上旬までは最低気温が20 ^\circ C以下で推移していたが、6月下旬以降は概ね25 ^\circ C以上となり、高温で推移した。

発芽率の高かった-18 ^\circ C、0 ^\circ C、5 ^\circ Cの各区において貯蔵期間とプロトコーム後期割合との関係についてみると、プロトコーム後期の割合は、いずれの区も70%以上と高かったが、貯蔵期間が長くなるにしたがって、わずかに低下する傾向がみられた。

次には種約2か月後の生育段階別割合をみると、1

*野菜花き科 **元花き科長

葉期および子葉後期の割合は、0℃区では130日貯蔵区が最も高く、以下貯蔵期間が長くなるにしたがって低下した。しかし、-18℃、5℃区では130日貯蔵区と221日貯蔵区とでは大差なく311日貯蔵区で低下した。

3. 考察

ランの種は経験的には採種後直ちに行うのが良いと言われているが、実用面では貯蔵の必要性も考えられるので有効な貯蔵法について検討した。

本試験では採りまきした場合のデータが欠けており、貯蔵によって発芽、生育がどのように影響を受けるかは明らかではない。しかし、本試験でも0℃、5℃貯蔵では貯蔵期間が長くなると発芽率が低下していることや、また、長谷川ら³⁾がエビネ種子を用いて貯蔵試験を行った結果、発芽は採りまきした場合に最も高く、貯蔵期間が長くなると低下したと報告していることから、ナゴランについても採りまきした場合の発芽率は130日貯蔵と同程度か、それ以上であったと考えられる。

まず貯蔵温度についてみると、室温区では発芽率の低下が著しく、なかでも夏の高温期を経過した場合にはその傾向は顕著であり、高温貯蔵は発芽率の低下を招くと考えられた。一方、-18℃の冷凍貯蔵では130日の貯蔵でも非常に高い発芽力を有し、382日の貯蔵でも80%と他の貯蔵温度区に比べて極めて高い発芽率を示した。また、0℃と5℃の低温貯蔵ではすべての貯蔵期間において5℃貯蔵区の発芽率が高く、また貯蔵期間が長くなるにしたがって発芽率の低下が認められた。次に、発芽後の生育は0℃貯蔵区では貯蔵期間が短いほど良く、それが長くなると劣った。5℃貯蔵区では貯蔵期間が、130日～221日の間では大差なかったが、311日と長くなると劣った。-18℃貯蔵区でも5℃貯蔵区と同様な傾向を示したが、生育が優れたのは5℃貯蔵区であった。

以上のように発芽率からみると冷凍貯蔵や低温貯蔵によって380日程度の貯蔵は可能であったが、300日以上になると発芽後の生育はいずれの貯蔵法においても劣るので、貯蔵は長くても200日程度が実用的と考えられる。また、貯蔵温度は5℃～-18℃がよいと思われた。

III 種子の熟度と発芽および生育

未熟種子を効果的に利用するために、種子の熟度、つまり受粉後の日数と発芽および生育との関係について検討した。

1. 実験材料および方法

1979年に隠岐島で採取し、当場の無加温ガラス室で栽培していた株を用い、開花始めから2週間～3週間後の1980年7月2日に受粉した。得られたさく果を受粉後36日目～243日目まで6回にわけて採種し、採種した当日または翌日にII試験と同処方の培地上には種子についてはさく果のまま159日間冷凍貯蔵したものを供した。種子の消毒は行わず、さく果をウイソソ液（次亜塩素酸カルシウム10g/140ml滅菌水）に1分間浸漬し、表面殺菌したのから無菌的に種子を取りだした。なお以下の試験ともこの方法で無菌種子を得た。試験は1区10試験管とした。

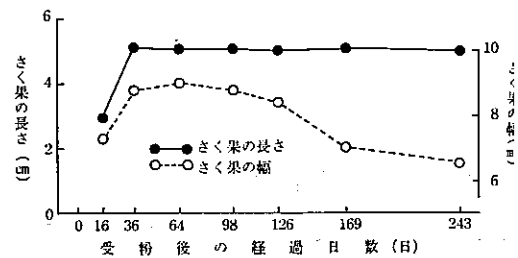
は種約1か月後に1試験管当たり3視野について発芽状況とプロトコームの生育状況を調査をした。また、は種約2か月後に10試験管中、生育が平均的な1試験管について生育段階別割合を調査した。

2. 結果

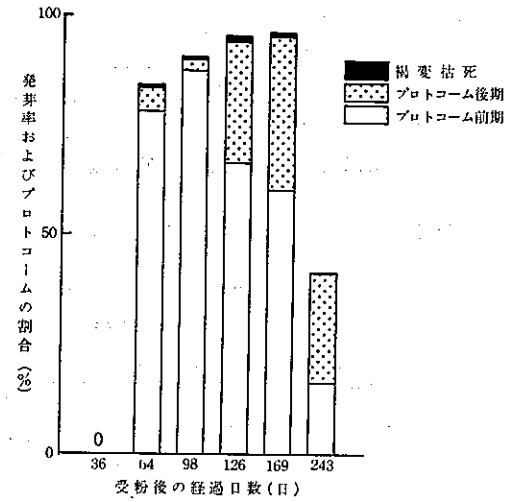
受粉後におけるさく果の生長については第3図に、受粉後の経過日数が発芽率およびプロトコームの割合に及ぼす影響については第4図に、受粉後の経過日数が生育段階別割合に及ぼす影響については第5図に示したとおりである。

受粉後3日目から花卉の黄化がみられ、さく果は受粉後16日目には長さ2.92cm、幅7.3mmまでに生長した。そして受粉後36日目頃までに長さ、幅ともにほぼ最高値に達した。その後さく果の長さは変化しなかったが、さく果の幅は、受粉後126日～169日にかけて急激に減少した。

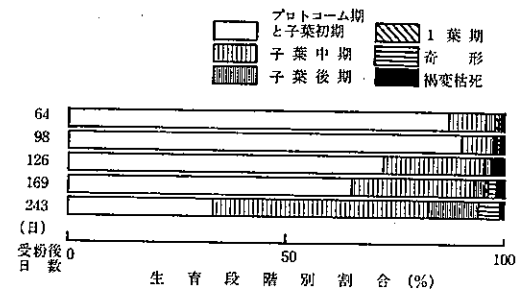
は種約1か月後の発芽は受粉後36日目の種子では全く認められなかったが、受粉後64日目の種子では発芽率が84.6%と急激に高くなった。その後は、受粉後の経過日数が長くなるにつれて発芽率が高くなり、受粉後169日目の種子で96.3%と最高値を示した。しかし



第3図 受粉後におけるさく果の生長(1980)



第4図 受粉後の経過日数が発芽率およびプロトコームの割合に及ぼす影響(1980) ※ は種約1か月後に調査



第5図 受粉後の経過日数が生育段階別割合に及ぼす影響(1980) ※ は種約2か月後に調査

受粉後243日目の種子では発芽率が41.5%と急激に低下した。また、この時期のプロトコームの形成状況を見ると、プロトコーム後期の割合が高かったのは受粉後126日目以降の種子であった。

は種約2か月後に行った生育段階別割合調査では受粉後64日～98日目の種子はプロトコーム期および子葉初期の割合が89.3～90.1%と高く、子葉中期および子葉後期の割合が9.9～10.6%と低かった。しかし、受粉後の経過日数が長くなるにしたがってプロトコーム期および子葉初期の割合が低下し、子葉中期および子葉後期の割合が高くなり、受粉後243日目の種子では60.9%まで高まった。

3. 考察

ランでは一般に、植物体上でさく果が裂開して得られた種子をいわゆる成熟種子と言ひ、裂開前の種子は未熟種子と言われ、区別されている。

ランの繁殖に未熟種子が用いられるのは(1)株の負担を小さくするため、(2)無菌状態の種子を入手するため、(3)発芽困難な種類に未熟種子の培養が有効であることなどの理由による。

このうちナゴランで未熟種子を利用するのは主に(1)(2)の理由による。しかし、未熟種子と言っても受粉後の経過日数が異なれば種子の熟度も異なり発芽率やその後の生育も異なると考えられるので、未熟種子を有効に利用するため、受粉後の経過日数が発芽および生育に及ぼす影響について検討した。

さく果の外見上の生長は受粉後36日目頃にはほぼ終了するが、その頃にはまだ発芽力はなく、発芽力を有するのは受粉後64日目以降の種子であった。さらに高い発芽力を有しプロトコームの生長が早いのは、受粉後126日～169日目の種子であった。なお受粉後243日目の種子については採種後、159日間冷凍貯蔵後には種し、発芽率の低下が見られたが、前述のII試験で380日程度の冷凍貯蔵では著しい発芽率の低下は認められなかった。この発芽率の低下は冷凍貯蔵に起因するものではなく、種子の熟度が関与したものと考えられた。つまり、ナゴラン種子の発芽力は受粉後126日～169日目程度の熟度の種子で高く、その後熟度が高まると未熟種子と言えども低下するものと考えられた。しかし発芽後の生育については熟度の進んだ種子で良好であった。

長島^{10,11,12,13)}は種々のランについて種子形成および種子発芽の試験を行い、胚の肥大は子房、つまりさく果が一定の大きさに達した後10～50日で終了し、ほとんど同時期に胚の発生も完了すること、また発芽率は胚発生完了前後に最も高くなったと報告している。ナゴランで発芽率が最も高くなったのは、さく果が最高値に達した後、約130日目、つまり受粉後169日目の種子であり、長島の報告とは異なったが、発芽率が80%以上になった時期は長島の報告と一致した。また長島^{10,11,12,13)}は種子の熟度が進むと発芽率が低下し、平均発芽日数が長くなるグループと、逆に発芽率は低下するが平均発芽日数が短くなったり、発芽後の生育が良くなるグループに大別しており、ナゴランはこの後者にあたると思われる。成熟種子よりもむしろ未熟種子で高い発芽率を得たとする、鈴木¹⁴⁾(エビネ)、澤ら¹⁵⁾(カンラン)の報告があるが、結果は長島のもの

とはほぼ一致する。

また、さく果の幅が急激に減少した要因としては、受粉後126日目は11月上旬で低温期に入る時期と一致することから、低温による生育休眠期に入るためさく果に水分が補給されず、一方では水分が奪われるため、水分含量が低下したものと考えられる。

これらのことよりナゴランでは受粉後126日～169日目の未熟種子の利用が実用的であると考えられた。

IV 培地に関する試験

1. ハイポネックスの有効性

ランのは種に用いられる培地は、KC培地をはじめ、そのほとんどが種々の無機成分を調査しなければならぬ。しかし、狩野⁵⁾はハイポネックスという市販の肥料を用いることで培地処方簡便化を試み、好結果を得ている。ナゴランにおいてもハイポネックスの使用が可能であれば実用面で利用価値が高いため、この有効性について検討した。

1) 実験材料および方法

培地はハイポネックス3%、しよ糖は10および20%とし、処方後、寒天15gを添加した。対照としてランの種子発芽に良く使われるKC培地を用いた。KC培地の処方第2表に示したとおりである。いずれの培地もリンゴ汁100%を添加した。高圧滅菌後のpHは4.6～4.8であった。

1979年11月18日に1区につき3フラスコは種した。

第2表 KC培地の処方

Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	1.000 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.500 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.250 g
KH ₂ PO ₄	0.250 g
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.025 g
MnSO ₄ · 4H ₂ O	0.0075 g
しよ糖	20.00 g
寒天	15.00 g
蒸留水	1,000ml

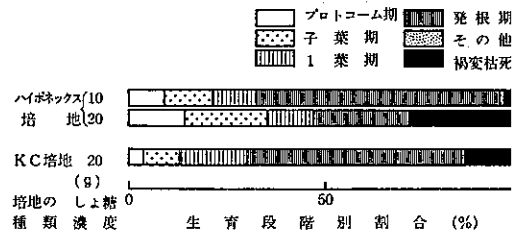
は種約6か月後の翌5月12日に3フラスコ中平均的な生育がみられる1フラスコについて生育段階別割合を調査した。

2) 結果

ハイポネックス培地およびKC培地が生育段階別割

合に及ぼす影響を第6図に示した。

これによれば、生育段階の進んだ発根期の割合はハイポネックス培地のしよ糖10g区で62.0%と最も高く次いでKC培地の54.8%であった。しかし、同じハイポネックス培地でも、しよ糖濃度の高い20g区では変枯死亡率が高くなり、生育に必ずしも適さなかった。またKC培地でも褐変枯死率が比較的高かった。



第6図 ハイポネックス培地およびKC培地が生育段階別割合に及ぼす影響 (1980)

注) プロトコーム期にプロトコーム段階の奇型を含む培地にはいずれもリンゴ汁100mlを添加した。

2. 培地のpHと寒天濃度

無菌培養において培地のpHはイオン吸収に大きな影響するためpHの調整は重要である。そこで培地の]とナゴランの初期生育との関係について検討した。

1) 実験材料および方法

(1) 好適pHおよび寒天濃度の検索

ナゴラン種子は自生地の隠岐島で採種したものを試した。培地はハイポネックス3%、しよ糖20%、ンゴ汁100%を基本とした。pHは加熱溶解前に4.0、5.8、8.0、9.0に調整したが、オートクレーブによる滅菌毒後は、それぞれpH3.9、4.5、5.1、5.7となった。寒天は処方した培地1区に対し10g、15g、37gを加した。試験は1区4フラスコとした。

は種は1980年10月18日に行い、は種約7か月半後翌5月30日に4フラスコ中生育の平均的な1フラスコについて生育段階別割合を調査した。また各区2フラスコから生育良好な20個体を選び生育調査をした。

(2) 培地のpH変化

培地はハイポネックス3%、しよ糖20%、ミカン200%とし、処方後、寒天8gを添加した。

pHは加熱溶解前に5に調整し、その後のpH変化ナゴランをは種した培地と、は種しなかった培地について調査した。1区5フラスコとし1982年3月8日は種し、は種約2か月後の5月10日と、は種約6か

後の9月13日にpHを調査した。

(3) 培地の寒天濃度

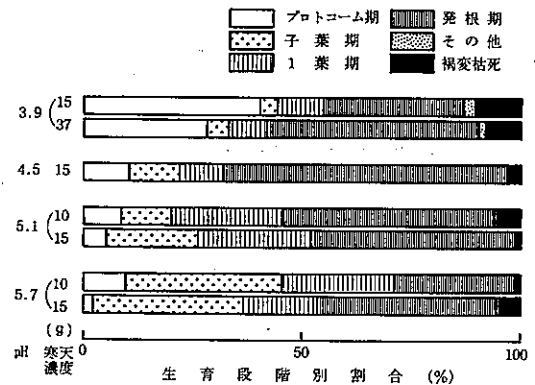
培地は試験(2)と同処方のものを用い、寒天濃度は8gおよび15gの2水準とした。pHは加熱溶解前に5に調整した。1区5フラスコとし、1982年3月8日には種し、は種約6か月後の9月13日に5フラスコ中の2フラスコについて生育段階別割合を調査した。

2) 結果

(1) 好適pHおよび寒天濃度の検索

培地のpHおよび寒天濃度が生育段階別割合に及ぼす影響を第7図に、そのうち生育の良好な20個体について生育調査を行った結果を第3表に示した。

まず、培地のpHと生育段階別割合との関係を見ると、生育段階の進んだ発根期の割合が最も高いのはpH



第7図 培地のpHおよび寒天濃度が生育段階別割合に及ぼす影響 (1980)

注) プロトコーム期中にプロトコーム段階での奇形を含む

第3表 は種培地におけるpHおよび寒天濃度と生育 (1980)

試験区	pH	寒天濃度	葉数	最大葉長	根数	最長根長	生体重
			枚	mm	本	mm	
3.9	37	15	2.8	9.5	2.6	17.7	88
		37	1.7	6.0	1.6	14.6	36
4.5	15	1.1	6.3	1.1	9.0	20	
5.1	15	10	2.2	7.4	2.0	9.7	38
		15	1.5	6.6	1.7	8.4	24
5.7	15	10	1.4	5.6	1.3	7.9	21
		15	1.2	5.2	1.1	6.6	13

(20個体平均)

4.5-寒天濃度15g区の65.7%であり、次いでpH3.9-寒天濃度37g区、pH5.1-寒天濃度10g区の48.3%であった。これに対して、寒天濃度には関係なくpH3.9区では生育初期のプロトコーム期の割合が、pH5.7区では子葉期の割合が高くなった。次に、寒天濃度の影響をみると、pH5.7区、3.9区で大きく、pH5.7では寒天濃度15g区で発根期の割合が高く、10g区ではこれより劣った。pH3.9では寒天濃度37g区で発根期の割合が高くなった。しかし、pH5.1区では寒天濃度による生育段階別割合に大差は見られなかった。なお、寒天濃度の低いpH3.9-寒天濃度15g区では、培地が非常にやわらかいためプロトコーム期などの個体が培地に埋没し、生育が停止しているものも多くみられた。

一方、第3表のように発根期のもので生育が良好な20個体の平均でみると葉数、最大葉長、根数、最長根長、生体重のいずれにおいても優れていたのはpH3.9-寒天濃度15g区であり、葉数、最大葉長、根数、生体重でこれに次ぐものがpH5.1-寒天濃度10g区であった。したがって、寒天濃度はいずれのpHでも低濃度で生育は良好で、特に培地のやわらかかったpH3.9の両区では最長根長が他区に比べ長くなった。

(2) 培地のpH変化

は種の有無と培地のpH変化を第4表に示した。

オートクレーブによる高圧滅菌後のpHは4.9であったが、約2か月後の5月10日にはは種した培地、およびは種しなかった培地のいずれも6.5～6.7と高くなり、さらに4か月後の9月13日には、は種しなかった培地のpH変化は少なかったが、は種培地では4.4に低下した。

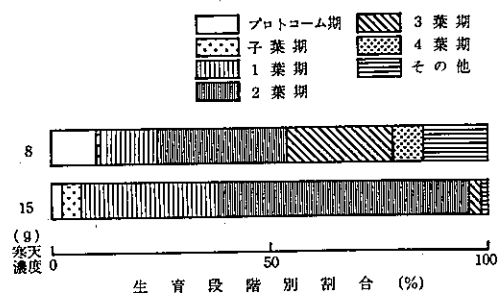
第4表 は種の有無と培地のpH変化(1982)

は種の有無	III/3	V/10	IX/13
は種培地	4.9	6.5	4.4
無は種培地	4.9	6.7	6.6

(3) 培地の寒天濃度

寒天濃度が生育段階別割合に及ぼす影響を第8図に示した。

寒天濃度8g区では生育の進んだ3葉期、4葉期の割合が30.9%と高く、15g区では3葉期の割合は3.4%と低く、1葉期、2葉期の割合が88.9%と高かった。したがって、ナゴランの生育にとって適pH付近であれば、寒天濃度はやや柔らかめの8g程度が良好と思



第8図 寒天濃度が生育段階別割合に及ぼす影響 (1982)

われる。

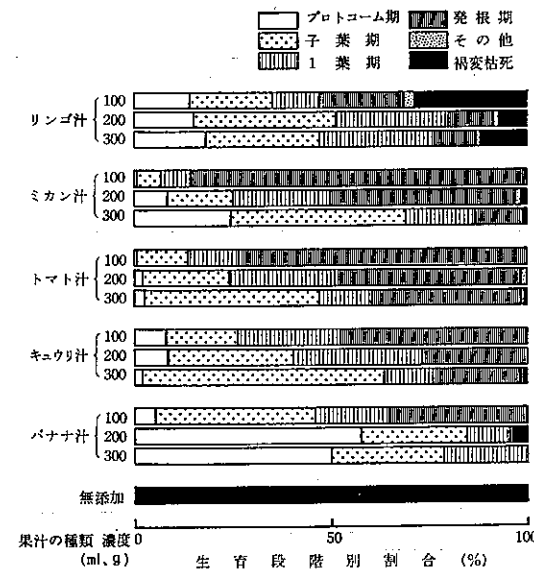
3. 添加果汁の種類と濃度

筆者らが1978年に行った試験で、果汁添加により生育が促進される傾向がみられたので、添加果汁の種類と濃度について検討した。

1) 実験材料および方法

は種培地、移植培地ともハイポネックス3%, しよ糖20%に寒天15gを添加したものを基本としリンゴ、トマト、ミカン、キュウリ、バナナの果汁を100, 200, 300%添加した。バナナを除いた果汁については、果実をすりおろしたり、ミキサーで粉碎したものをガー

ゼでこして使用した。また、バナナについては果汁を得ることが困難であったため、ミキサーで粉碎したも



第9図 は種培地における添加果汁の種類および濃度が生育段階別割合に及ぼす影響 (1980)
注) プロトコーム期にプロトコーム段階の奇形を含む

第5表 果汁の種類、濃度と培地のpHと糖度 (1980)

果汁の種類	濃度	は種培地		移植培地			
		pH		pH		糖度(Brix)	
		I/16	V/12	V/7	XII/1	%	%
リンゴ汁	100	4.6	4.7	4.8	4.6	4.0	3.6
	200	4.7	4.7	4.8	4.7	5.4	4.8
	300	4.7	4.8	4.8	4.8	6.6	6.2
ミカン汁	100	4.8	6.5	5.3	5.1	3.8	3.4
	200	4.8	7.1	5.2	6.2	4.8	4.6
	300	4.8	7.6	5.2	6.5	5.8	5.6
トマト汁	100	4.9	5.2	5.2	4.6	3.2	3.0
	200	4.9	6.3	5.2	5.3	3.8	3.4
	300	4.9	6.4	5.2	5.6	4.2	3.8
キュウリ汁	100	4.9	4.0	5.2	4.5	3.2	2.8
	200	4.9	4.5	5.2	4.9	3.6	3.5
	300	4.8	4.6	5.2	5.1	3.8	4.0
バナナ汁	100	4.7	4.2	-	-	4.8	-
	200	4.6	4.4	-	-	6.8	-
	300	4.6	4.3	-	-	9.6	-

のを100, 200, 300%添加した。対照区としてハイポネックス培地単用区を設けた。高圧滅菌後のpHは4.6~4.9であった。試験は1区3フラスコとし1979年11月18日には種した。

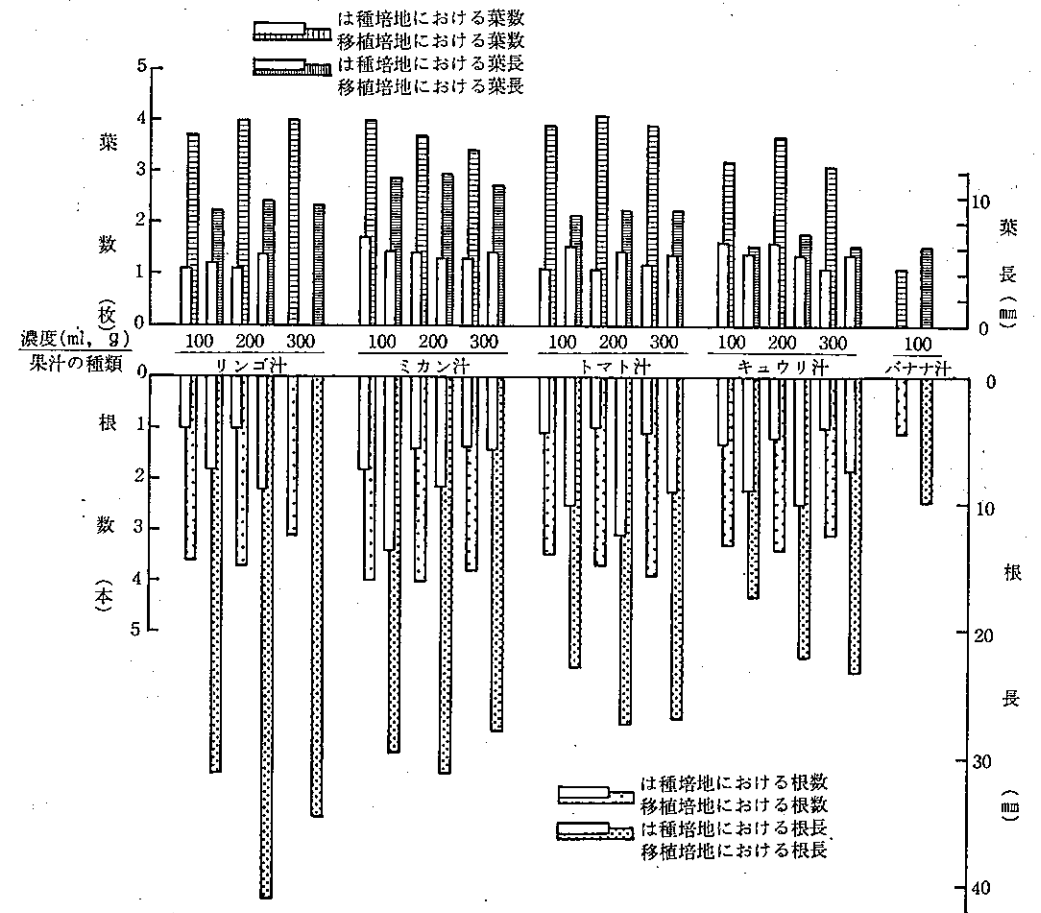
は種約6か月後の翌5月12日に3フラスコ中生育の平均的な1フラスコについて生育段階別割合と生育の調査をし、残りの1フラスコ中の苗を同処方の移植培地3フラスコに移植し、移植約6か月半後の12月1日に生育調査をした。なお培地のpHは、は種および移植時と生育調査時に、糖度(Brix)は、は種および移植培地の処方時に測定した。

2) 結果

は種および移植培地に添加した果汁の種類と濃度が

ナゴランの生育に及ぼす影響を第9, 10図に、また培地のpHおよび糖度を第5表に示した。

これによると、は種培地については果汁無添加のハイポネックス培地単用区では発芽後プロトコーム段階で褐変枯死した。しかし、各種果汁を添加することによって褐変枯死するものが大幅に減じ、いずれも良く生育した。そのうち、生育の進んだ発根期の割合はミカン汁100ml区が85.2%と最も高く、次いで、トマト汁100ml区が73.3%であり、その他の区では、いずれも50%以下であった。また、その際の生育状況をみると、葉数が最も多いのはミカン汁100ml区、キュウリ100, 200ml区であり、最大葉長はいずれの区も大差なかった。根数はミカン汁の各区がわずかに多かった。最長



第10図 は種培地および移植培地における果汁の種類および濃度が生育に及ぼす影響 (1980)

注) は種培地における生育調査 20株平均
移植培地における生育調査 30株平均

根長はミカン汁100ml, トマト汁100, 200ml区で長かった。以上総じて見ると、果汁ではミカン汁, トマト汁が最も良く、次いでキュウリ汁であり、バナナ汁, リンゴ汁はやや劣った。また、同じ果汁のなかでもその添加量によって生育に違いがあり、100ml区が最も良く、次いで200ml区であり、300ml区は劣った。

次に、移植培地に移植して6か月半後の生育をみると、は種培地の場合と若干傾向が異なり、総じてミカン汁, リンゴ汁の生育が良く、次いでトマト汁, キュウリ汁であり、バナナ汁は劣った。しかし、添加する果汁の量については一定の傾向が認められなかった。

なお、添加する果汁の種類や濃度によって培地の糖度や生育後のpHが大きく異なった。糖度は果汁濃度が高いほど高く、また、バナナ汁添加培地で高く、リンゴ汁, ミカン汁がこれに次ぎ、トマト汁, キュウリ汁では低かった。生育後のpHはミカン汁, トマト汁添加のは種培地およびミカン汁添加の移植培地では上昇し、中でも果汁濃度が高い場合にはその傾向が大であった。

4. 培地のしよ糖濃度

前項の果汁の種類と濃度について検討した結果では、果汁濃度が生育におよぼす影響は大であった。その要因としては、(1)果汁中の糖および有効成分の濃度、(2)果汁中の糖としよ糖濃度がプラスされた培地の糖度、(3)しよ糖濃度などが考えられる。このうち影響の大きい要因を明らかにするため、果汁濃度としよ糖濃度を組合せ検討した。

1) 実験材料および方法

(1) リンゴ汁添加培地におけるしよ糖濃度

培地はハイポネックス3%, リンゴ汁100%, しよ糖を0, 10, 20, 40%とし寒天を15g添加した。またリンゴ汁200, 300%区を設け、これらについてはしよ糖20%とした。高圧滅菌後のpHはいずれの区とも4.8であった。1区3フラスコとし1979年11月18日は種した。

は種約6か月後の翌5月12日に3フラスコ中、生育の平均的な1フラスコについて生育段階別割合と生育の調査を行った。5月28日に残りの1フラスコ中の苗を同処方の培地3フラスコに移植し、移植約6か月後の12月1日に生育調査をした。また、培地処方時に糖度(Brix)を測定した。以下、培地のしよ糖濃度に関する試験については同様に糖度を測定した。

(2) ミカン汁添加培地におけるしよ糖濃度 その1

培地はハイポネックス3%, 寒天15gを基本とし、は種培地についてはミカン汁100, 200%の2水準、しよ糖を0, 10, 20, 40%の4水準とし、組合せて8区を設けた。移植培地ではミカン汁200, 300%の2水準、しよ糖10, 20, 40%の3水準とし6区を設けた。なお、は種培地には対照としてリンゴ汁100%, しよ糖10%区を設けた。高圧滅菌後のpHは、は種培地では4.8, 移植培地では5.2~5.9であった。1試験区4フラスコとし、1981年3月2日当場で採種したものを直ちには種した。

は種約5か月後の7月27日には4フラスコ中2フラスコを生育段階別割合の調査用として残し、後の2フラスコについては種培地の試験区のうちミカン汁20%の各しよ糖濃度区のもの、ミカン汁200, 300%の同しよ糖濃度の移植培地に移植した。は種約6か月半後の8月18日に生育段階別割合と生育の調査を行った。移植培地における生育調査は移植約6か月半後の翌2月12日に行った。

(3) ミカン汁添加培地におけるしよ糖濃度 その2

培地はハイポネックス3%, 寒天8gを基本とし、ミカン汁100%区は、しよ糖を20%, ミカン汁200%区にはしよ糖20, 40%の2水準を設けた。高圧滅菌後のpHは4.9であった。1区5フラスコとし、1982年3月8日は種した。種子は1981年10月30日に隠岐島で採種したものを、は種日まで冷凍貯蔵して用いた。

は種約6か月後の9月13日に5フラスコ中生育の平均的な2フラスコについて生育段階別割合と生育の調査を行った。

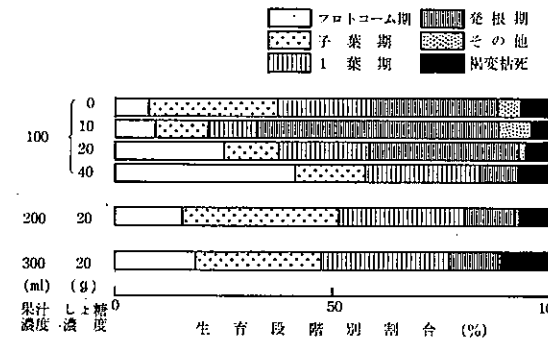
2) 結果

(1) リンゴ汁添加培地におけるしよ糖濃度

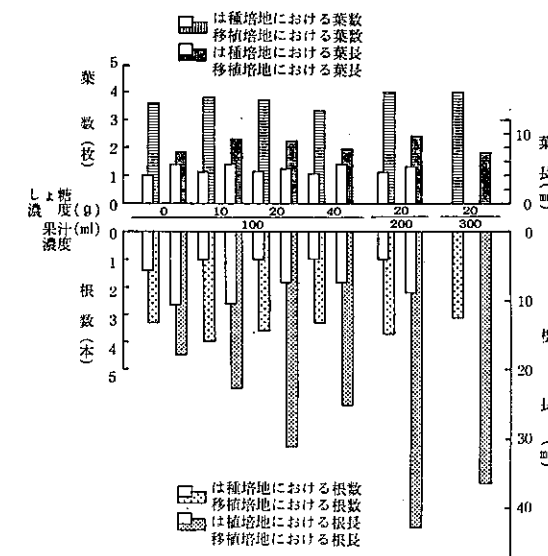
リンゴ汁添加培地における果汁濃度およびしよ糖濃度と生育の関係は第11, 12図に、また果汁濃度およびしよ糖濃度と糖度の関係を第6表に示した。

生育の進んだ発根期の割合はリンゴ汁100ml-しよ糖10g区で55.4%と最も高く、次いでリンゴ汁100ml-しよ糖20, 0g区であった。しかし、リンゴ汁100ml-しよ糖40g区, リンゴ汁200, 300mlの各区はいずれも低かった。

生育調査の結果、地上部の生育はは種培地, 移植地ともに培地による影響は明らかではなかった。地部の生育もは種培地では大差なかったが、移植培地ではリンゴ汁200ml-しよ糖20g区で根長が最も長く



第11図 リンゴ汁添加培地における果汁濃度およびしよ糖濃度が生育段階別割合に及ぼす影響(1980)
注) プロトコーム期にプロトコーム段階の奇形を含む



第12図 リンゴ汁添加培地における果汁濃度およびしよ糖濃度が生育に及ぼす影響(1980)

次いで、リンゴ汁300ml-しよ糖20g, リンゴ汁100ml-しよ糖20g区であった。

次に生育と糖度の関係についてみると、発根期の割合が高かった各区の糖度は比較的低濃度の2.0~4.0%であり、発根期の割合が低かった各区の糖度は5.4~6.6%であった。また根長の長かった各区の糖度は3.6~6.2%であった。

第6表 リンゴ汁添加培地における果汁濃度およびは糖濃度と糖度(1979, 1980)

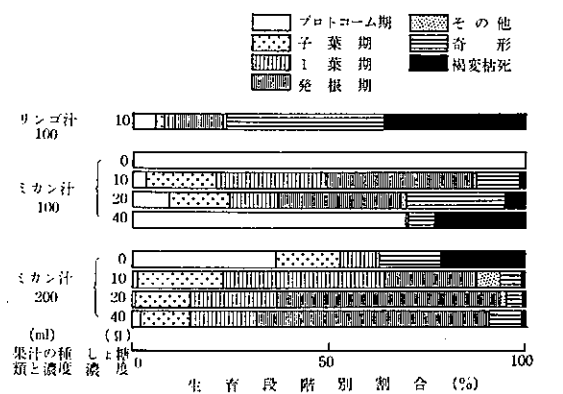
果汁濃度 (ml)	しよ糖濃度 (g)	糖度(Brix)	
		は種培地 (%)	移植培地 (%)
100	0	2.0	1.6
	10	3.0	2.6
	20	4.0	3.6
200	20	5.4	4.8
	300	20	6.6

(2) ミカン汁添加培地におけるしよ糖濃度 その1

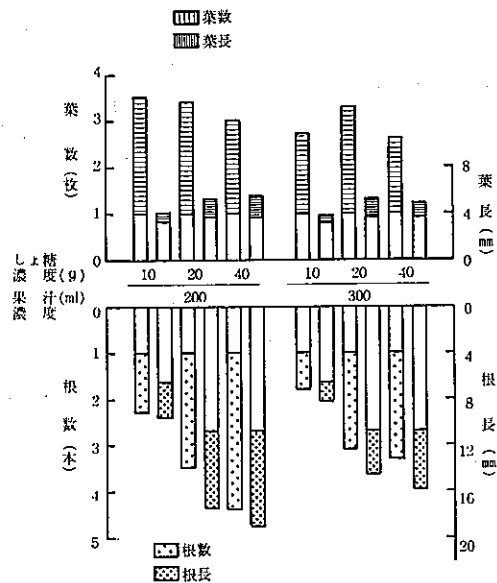
添加果汁について検討した結果、ミカン汁を加えた培地で生育良好であったので、ミカン汁濃度としよ糖濃度がナゴランの生育におよぼす影響について検討するとともに糖度との関係についても検討した。結果を第13, 14図, 第7, 8表に示した。

ミカン汁100mlの各区は同一成分でもフラスコによる生育差が大きかったので、調査は生育の優れた2フラスコについて行った。またミカン汁200mlの各区でも生育にばらつきが見られたが、生育の平均的な2フラスコについて調査した。

発根期の割合はミカン汁200ml-しよ糖20, 40gの各区で高く、プロトコーム期の割合はミカン汁100ml-しよ糖0g区で100%と最も高く、ミカン汁100ml-しよ糖40g, ミカン汁200ml-しよ糖0g区が69.5, 36.5



第13図 ミカン汁添加培地における果汁濃度およびしよ糖濃度が生育段階別割合に及ぼす影響(1981)



第14図 移植培地におけるミカン汁濃度およびしよ糖濃度が生育に及ぼす影響(1981)

第7表 ミカン汁添加のは種培地における果汁の濃度およびしよ糖濃度と糖度(1981)

果汁の種類	果汁濃度 (ml)	しよ糖濃度 (g)	糖度 (Brix) (%)
リンゴ汁	100	10	2.6
		0	1.8
		20	3.5
ミカン汁	100	10	2.6
		20	3.5
		40	5.2
ミカン汁	200	0	2.6
		10	3.6
		20	4.4
		40	6.2

%と高かった。対照としたリンゴ汁100ml-しよ糖10g区では褐変枯死率や奇形率が非常に高く、発根期および1葉期の割合は低かった。は種培地での葉長、根長等の生育はミカン汁100ml-しよ糖20g, ミカン汁200ml-しよ糖20, 40g区で良好であった。移植培地における地上部の生育については培地による影響は明らかではなかったが、地下部の生育はミカン汁200ml-しよ糖40, 20gの各区でやや優れた。は種培地において発

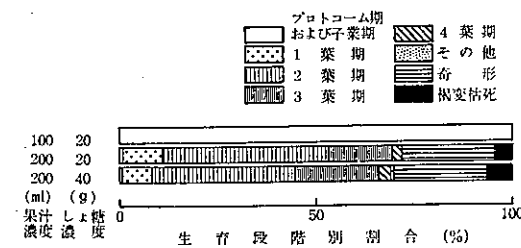
第8表 ミカン汁添加の移植培地における果汁の濃度およびしよ糖濃度と糖度(1981)

果汁濃度 (ml)	しよ糖濃度 (g)	糖度 (Brix) (%)
ml	10	2.8
	20	3.8
	40	5.6
300	10	3.8
	20	4.8
	40	6.8

根期の割合が高く、かつ葉長、根長等の生育も良好であった各区の糖度は4.4~6.2%であり、移植培地において地下部の生育が優れた各区の糖度は3.8~5.6%であった。

(3) ミカン汁添加培地におけるしよ糖濃度 その2

ミカン汁濃度およびしよ糖濃度と生育の関係を第15図、第9表に示した。ミカン汁200ml-しよ糖20, 40gの各区で生育の進んだ4葉, 3葉, 2葉期の割合が高く、ミカン汁100



第15図 ミカン添加培地における果汁濃度およびしよ糖濃度が生育段階別割合に及ぼす影響(1982)

第9表 ミカン汁添加のは種培地における果汁の濃度およびしよ糖濃度と糖度(1982)

果汁濃度 (ml)	しよ糖濃度 (g)	糖度 (Brix) (%)
ml	100	3.0
	200	4.0
	40	6.0

ml-しよ糖20g区では100%がプロトコム期であった。生育の優れた各区の糖度は4.0~6.0%であった。

5. 考察

ランのは種用培地は種々の処方示されているが、ナゴランの適培地の検討は全く行われていない。そこで筆者らは培地についていくつか検討し、上述のような結果を得た。

まずハイポネックス培地およびKC培地の単用培地には種したところ、発芽後多くのプロトコムが褐変枯死し、生育しなかった。そこで、ハイポネックス培地にリンゴ汁、しよ糖を添加して生育をみた結果、ハイポネックス培地のしよ糖10gの生育はKC培地より優れたが、しよ糖20gでは劣った。

狩野⁵⁾はデンドロビウムとカトレアを用いハイポネックスおよびKCの単用培地とリンゴ汁150mlを添加した培地とを比較した結果、単用培地ではハイポネックス培地で生育が優れたが、リンゴ汁を添加した場合にはKC培地で生育がわずかに優れたと報告している。

本試験ではハイポネックス培地のしよ糖濃度を変えることによりKC培地よりも優れた生育が得られた。KC培地ではしよ糖濃度を変えていないため一概にハイポネックス培地で生育が優れるとは言えないが、KC培地の処方ハイポネックス培地のそれと比べて複雑であるため生育差が小さい場合には、培地の処方が簡便であるハイポネックス培地の利用効果は高いと考えられる。

次に培地のpHについてみるとpHを4.0, 5.0, 8.0, 9.0の4段階に調整して、高圧滅菌するとpHは8.0, 9.0と高く調整した区ほど低下が著しく、実際には種した培地のpHは3.9~5.7の範囲であった。

またハイポネックスを基本としている本試験ではpH5に調整した場合、高圧滅菌するとpHはわずかに低下するが、その後2か月目には6.7程度まで上昇し、安定した。または種した培地pHは、は種後2か月目には6.5まで上昇し、その後4.4まで低下した。このことはこれまで培地のpHの変動について報告された^{4,14)}もののうちROSSINI¹⁴⁾の結果とはほぼ一致する。は種後2か月頃までは生長量もわずかであり、培地のpHは、ランの生育による影響をほとんど受けずに上昇するが、その後、生長量の増加に伴いpHが低下したと考えられた。

pHと生育の関係については、生育段階の進んだ発根期の割合はpH4.5で高く、それ以外では低かったことから、ナゴランの適pHは4.5前後であると考えられ

た。

次に寒天濃度についてみると、生育の進んだ個体の割合はpH4.5, pH5.1では寒天濃度が低く、培地の柔らかい区で高く、pH3.9, pH5.7では寒天濃度の高い区で高くなり、一定の傾向は認められなかった。ただ、pH3.9の場合は寒天濃度37gでも培地は柔らかく、15gではゲル状で固まらなかった。このため多くのプロトコムが培地中に沈み正常に生育せず、生育の進んだ個体割合の低下を招いた。

一方、生育良好な個体を選んで生育調整をした結果ではpH3.9-寒天濃度15g区が最も優れ、また、各pH区とも寒天濃度が低く、培地の柔らかい区で生育が優れていた。このことは前述の生育段階別割合の調査と異なるが、一方は全生育個体を調査したものであるし、他方は生育の優れた一部の個体を調査したものであるためと考えられる。

このように寒天培地では、pH, 寒天濃度および培地の固さなどが相互に関連しあうため、生育への影響も複雑と考えられる。これまでの試験でナゴランの生育適pHは4.5前後であったが、適pH付近では寒天濃度は8g程度のやわらかい培地が良さそうである。

VACIN, EF. and WENT, FW. ²⁰⁾は、従来の培地に変わる簡便培地としてトマト汁を用いた培地を発表し、その後天然物を添加する研究が多く行われるようになった^{5,19)}。それらの研究のなかで狩野⁵⁾はデンドロビウムの生育はリンゴ汁を含む培地で良好であったとしている。ナゴランについても筆者らが1978年行った試験ではハイポネックス単用培地に比べ、リンゴ汁を添加した培地で生育が良好であり、果汁添加によって生育が促進されることが明らかとなった。そこで、果汁の種類と濃度について検討した。

発根期の割合はミカン汁100ml区で最も高く、果汁の濃度が高くなるにしたがって低下した。この傾向は果汁の種類にかかわらず認められ、果汁濃度が高いと生育が劣ることが明らかとなった。地上部の生育はミカン汁100ml, キュウリ汁100, 200ml区で、わずかに優れた。これに対し、地下部の生育、特に根長はミカン汁100ml, トマト汁200ml区で長くなった。

移植後の生育については、地上部の生育、特に葉長はミカン汁の各区が、地下部の生育はリンゴ200ml区が優れていた。

これらのことより、は種培地に添加する果汁はミカン汁が良く、濃度が高いと生育が劣るため100ml程度が良いと考えられる。ミカン汁100ml区の生育後のpH

は6.5と高くなり、前述のpH試験の結果とは異なったが、これは果汁の成分によるところが大きいと考えられる。次に移植培地における添加果汁は、は種培地と同様にミカン汁が良く、濃度については、は種培地ほど顕著な差は見られず100ml~300mlの範囲であれば実用的には問題ないと思われる。このように、は種培地と移植培地とで好適条件が異なるのは、ランの生育過程で栄養的要求が変化することや、環境適応能力が増大することなどによるものと考えられる。

次に、果汁濃度およびしよ糖濃度が生育におよぼす影響について述べると、リンゴ汁を添加した培地では、リンゴ汁100ml-しよ糖10g区で生育が最も優れた。しよ糖を加えずリンゴ汁に含まれている糖のみの区および、しよ糖濃度が20、40gと高い区では生育は劣った。このことはナゴランが発芽して十分な生育をするためにはリンゴ汁中の糖類だけでは不十分で、しよ糖添加の必要性が高いことを意味する。しかし、しよ糖濃度が高過ぎても生育は劣り、リンゴ汁100ml添加培地におけるしよ糖濃度は10g程度が適当と思われる。また、しよ糖濃度は同一でも果汁濃度が高く、果汁に含まれる糖類や、有効成分が多量に存在する場合には、培地の糖度は高まり、生育は抑制された。これらのことより、しよ糖や果汁はナゴランの生育に必要ではあるが、いずれも適濃度があり、これより高くなると生育は抑制されると考えられた。

次に果汁の種類について検討した試験で、好結果が得られたミカン汁について果汁濃度としよ糖濃度が生育におよぼす影響について検討した。ミカン汁のみでしよ糖無添加の培地ではプロトコム期の割合が高く生育は劣り、しよ糖濃度を同一にした場合には、果汁濃度が高い培地で生育は良好であった。また、果汁濃度が100mlの場合にはしよ糖濃度10~20g区で、果汁濃度が200mlの場合にはしよ糖濃度20~40g区で生育は良好であった。このようにミカン汁中の糖だけではリンゴ汁の場合と同様に十分な生育をせず、しよ糖添加の有効性がここでも明らかとなった。一方しよ糖濃度を高め糖度を高くしても生育促進には結びつかず、しよ糖とミカン汁の濃度がともに高い場合にだけ生育は促進された。

生育が良好であった培地はリンゴ汁100ml-しよ糖10gおよびミカン汁200ml-しよ糖20、40gで、添加果汁の種類により好適な果汁濃度およびしよ糖濃度は異なった。このことは、添加果汁中の成分や量の相違がしよ糖濃度と関連しあいナゴランの生育に影響をおよ

ぼしたか、あるいは、は種時期が異なるため、栄養要求も異なったものと考えられた。なお、糖度については果汁に含まれる糖と添加されたしよ糖の合計であるため本試験においては重要な意味を持たなかつたと考えられる。

また、果汁の種類について検討した結果としよ糖度について検討した結果では好適条件が異なったり同一処方での培地でも各試験によって結果が一致しなかつたが見られた。

SCHAFFSTEIN¹⁷⁾は成熟種子が古くなり活力を失うつれて天然抽出物からの助けをより必要としたと報している。また狩野⁵⁾もカトレアは採種後の種子の度によって、同一添加物に対しても反応が異なっている。このように種子の熟度や採種後の日数によっても好適条件が異なる場合もあることを考えると、試験で結果の一致しない点は、採種およびは種時期異なっているためとも考えられる。

概しては種時期が早い場合には果汁濃度、しよ糖度は低い方が生育良好であるが、は種時期が遅くなったり、採種後貯蔵期間が長い場合には、果汁濃度、しよ糖濃度ともに高い方が生育は良好であった。移植培地についてはリンゴ汁、ミカン汁ともに果汁200ml、しよ糖20~40gが、地下部の生育が優れ、良いと思われた

V 培養温度と光条件

ナゴランの生育適温を明らかにするとともに、光条件が発芽におよぼす影響について検討した。

1. 実験材料および方法

1) 培養温度と光条件

培地はハイボネックス3%, しよ糖20%, ミカン100%とし、処方後、寒天15gを添加した。培養温は20℃, 25℃, 30℃の3水準とし、光条件は明区と黒区の2水準とした。明区は2,000~3,000 lx, 16時間照明とし、暗黒区はフラスコおよび試験管をは種4週間アルミ箔で覆い光を遮った。

1981年3月2日に発芽調査用として1区7試験管生育段階別割合調査用として1区5フラスコには種た。

は種約1か月後の3月30日に7試験管中5~7本について、1試験管当り3視野、発芽状況を調査し、種約5か月半後の8月18日に5フラスコ中生育が平均的な1フラスコについて生育段階別割合を調査した

2) 暗黒処理期間

培地はハイボネックス3%, しよ糖20%, ミカン汁2

%とし、処方後寒天8gを添加した。暗黒区の長さは、は種後2、4、6、8週間とし、対照として明区を設けた。培養温度は25℃とし、明区および暗黒処理後は16時間照明とした。1982年3月8日に1区につき5フラスコは種した。

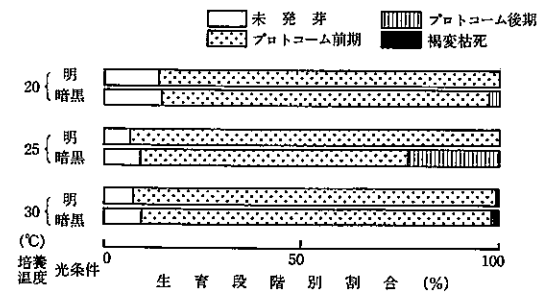
は種約4か月後の7月7日に5フラスコ中3フラスコについて生育段階別割合を調査し、同時に1葉1根期、2葉2根期の個体について、各20~60個体生育調査をした。また、は種後の生育経過を観察した。

2. 結果

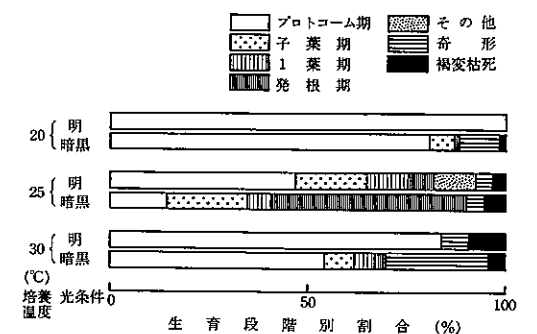
1) 培養温度と光条件

培養温度および光条件が発芽率およびプロトコムの割合に及ぼす影響については第16図、上記条件が生育段階割合に及ぼす影響については第17図に示したとおりである。

これによれば、は種4週間後における発芽率は25℃, 30℃区で90.1~93.1%と高く、20℃区では85.6~86.2%とやや低くなった。また、プロトコム後期の割合をみると25℃暗黒区で22.9%と比較的高かったが、他



第16図 培養温度および光条件が発芽率およびプロトコムの割合に及ぼす影響(1981)



第17図 培養温度および光条件が生育段階別割合に及ぼす影響(1981)

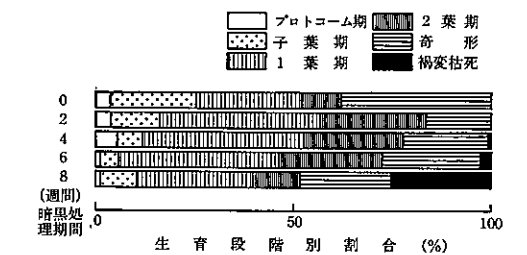
の区では0~2.3%と低かった。また、30℃区ではわずかではあるが褐変枯死も見られた。

次に種約5か月半後の8月18日には発根期の割合が25℃暗黒区で49.5%と最も高く、その他の区では一様に低かった。20、30℃区では明区、暗黒区ともに生育段階初期のプロトコム期の割合が高く、加えて、暗黒区では奇形割合が高かった。以上の結果、ナゴランの生育は培養温度25℃の暗黒条件下で促進されることが明らかになった。

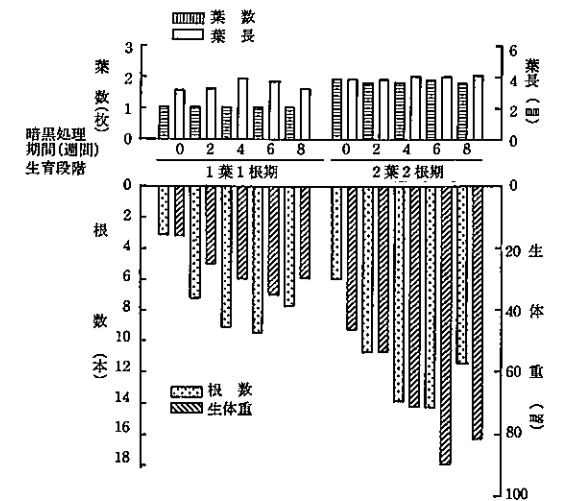
2) 暗黒処理期間

暗黒条件がナゴランの生育を促進することが明らかとなったので、ここでは有効な暗黒期間について検討した。暗黒処理期間が生育段階別割合に及ぼす影響を第18図に、同条件が生育に及ぼす影響を第19図に、また、ナゴランの生育経過を第20図に示した。

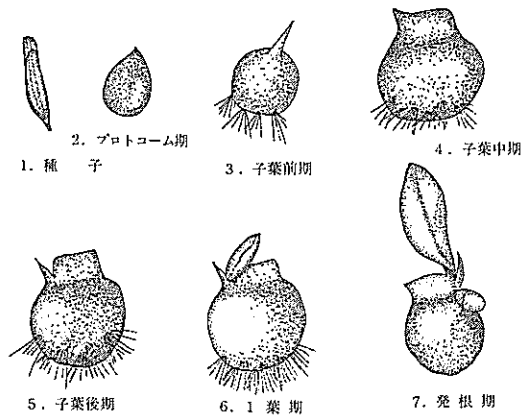
生育の進んだ2葉期および3葉期の割合は暗黒2週間~6週間処理区で68.2~66.8%と高く、暗黒8週間



第18図 暗黒処理期間が生育段階割合に及ぼす影響(1982)



第19図 暗黒処理期間が生育に及ぼす影響(1982)



第20図 ナゴランの生育経過

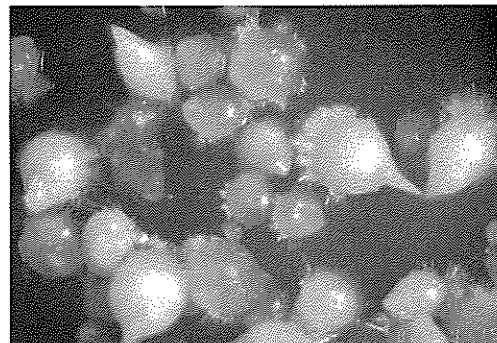
処理区および明区では低かった。また、明区では奇形率が37.5%と高かったのに対し、暗黒条件にすること

によって16.8~24.8%と低下した。しかし一方では、暗黒8週間処理区で褐変枯死率が24.4%と高くなった。

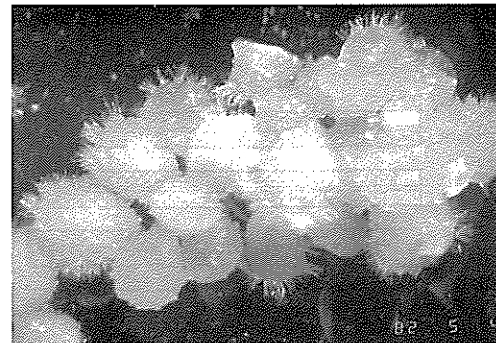
生育段階別割合調査では、1葉期、2葉期いずれの生育段階においても地上部の生育への影響は明らかではなかった。地下部についてはいずれの生育段階においても根長が長いのは、暗黒4週間処理、6週間処理区であり、生体重が重いのは暗黒6週間処理区であった。

次に、ナゴランの生育経過について述べると、明条件下では、は種後2週間目には白色のプロトコームが認められ、は種後4週間目にはプロトコームは緑色を呈し生育の早いものでは仮根の発生も見られた。は種後6週間目には子葉中期まで進み、は種後8週間目には子葉後期に入ったものが4割程度観察された。さらに1葉期の発生は、は種後12週間目頃から、根の発生は、は種後16週間目頃から観察された。

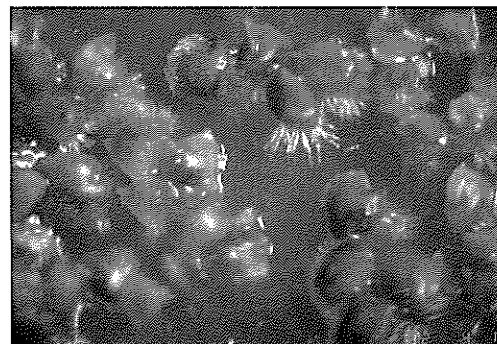
次に、それぞれの暗黒処理を終えた時点で生育を観察した結果を一部、第21図に示した。



暗黒区 (×10)



暗黒区 (×6.6)



明区 (×10) は種6週間後の生育



明区 (×6.6) は種8週間後の生育

第21図 暗黒処理後のプロトコームの状況(1982)

は種後2週間目では明区、暗黒2週間処理区、ともにプロトコームは白色で、区による相違は見られなかった。しかし、暗黒4週間処理を終えた時点では、明区および暗黒2週間処理区のプロトコームが緑色を呈していたのに対し、暗黒4週間処理区のそれは白色であった。暗黒6週間処理区、8週間処理区においても処理終了時にはプロトコームはすべて白色であった。また、暗黒処理が4週間以上になると仮根の発生が多くなること、暗黒処理終了後、2週間程度でプロトコームは緑色になることなどが観察された。

3. 考察

培養温度と光条件について検討した結果では、は種4週間後の発芽率は培養温度が25℃以上であれば、光条件にかかわらず高く、培養温度20℃では低下した。このことは、ナゴラン発芽の好適温度は25~30℃であり、発芽に関するかぎりでは光の影響は小さいと思われる。一方、発芽した個体の生育は培養温度25℃の暗黒処理区で良好であったことから、発芽後の生育適温は25℃であり、暗黒条件によって生育がさらに促進されたものと考えられる。しかし、すべての暗黒処理区で生育が進む傾向が見られる一方、25℃以外の培養温度では奇形率や褐変枯死率が高くなった。このことは、暗黒条件は生育を促進するが、適温条件以外ではマイナスの影響が強まるものと考えられた。この暗黒条件がプロトコームの生育を促進することは萩屋ら²⁾がシュンランを用い、また、三位ら^{8,9)}がニオイエビネを用いて報告している。

次に暗黒処理期間について検討した結果、2週間~6週間処理で生育の進んだ1葉期、2葉期の割合が高くなる一方、処理期間が長くなるにしたがって、奇形率や褐変枯死率が高まることが明らかとなった。暗黒処理によって生育が促進された要因としては、暗黒処理期間中に多くの仮根が発生したことが関係するのではないかと考えられる。明条件下では、は種後4週間でクロロフィルが形成されプロトコームは緑色となり光合成を開始するが、暗黒条件下では、クロロフィルが形成されず、光合成が営まれないため、本来は光合成によって得られる糖を、多くの仮根を発生することによって培地から得ようとしたのではないかと考えられる。しかし、仮根が多く発生したこと、プロトコームの生育が促進されたことの直接的な関係は明らかではなく、仮根が多く発生したことによって、糖類のみでなく窒素等の無機栄養の吸収も多くなり、その結果として、暗黒条件から明条件下に移された後の生育が

旺盛になったのではないかと推測される。

以上のことから、暗黒処理期間が8週間と長い場合には、奇形率や褐変枯死率の増大など、マイナスの影響が強くなるため、有効な暗黒処理期間は、は種後4~6週間と考えられた。

VI 摘要

本県隠岐島の特産であるナゴランの無菌培養を効率的に行うため、種子の貯蔵法、種子の熟度と生育について、培地条件ならびに培養条件について試験を行い以下の結果を得た。

1. 種子を-18℃で冷凍貯蔵すると380日間貯蔵後でも80%の発芽率を得た。しかし、発芽後の生育は貯蔵期間が長くなるにしたがって劣った。発芽、生育ともに良好であったのは5℃130日~221日貯蔵区と-18℃130日~221日貯蔵区、0℃130日貯蔵区であった。
2. ナゴランは受粉後126~169日の未熟種子で高い発芽率が得られたが、発芽後の生育は熟度が進んだ種子で良好であった。
3. ハイポネックス培地はナゴランの無菌培養においても、簡便培地として有効であることが認められた。
4. 培地の適pHは4.5前後であり、本試験に用いた培地では5前後に調整することで得られた。寒天は8g程度のやわらかい培地で生育は良好であった。
5. 培地へのミカン汁添加により生育は促進された。は種培地におけるミカン汁およびしょ糖の好適濃度は、は種時期においても異なり、年内は種の場合は、ミカン汁100%、しょ糖10%が、また3月頃のは種では、ミカン汁200%、しょ糖20~40%で良好であった。移植培地についてはいずれの時期もミカン汁200%、しょ糖20~40%で生育は良好であった。
6. 培養温度は25℃が適温で、は種後4週間~6週間、暗黒条件下で培養すると生育は促進された。

引用文献

- 1) GRIFFITH, E. and LINK, C. B. (1957): 花卉総論より引用。
- 2) 萩屋薫・藤田哲子(1976): シュンランの種子発芽におよぼす光と温度の影響。(鳥嶋博高編: 増補ラン科植物の種子形成と無菌培養) 誠文堂新光社, p.238-244.
- 3) 長谷川院・佐藤真美・五井正憲(1976): エビネの種子発芽に関する基礎的研究. 園学要旨. 昭51秋; 302

- 303.
- 4) 石井実・上本俊平(1937):洋ランの初期生育と培地のpHについて. 園学要旨. 昭48春; 302-303.
- 5) 狩野邦雄(1976):ランの無菌発芽. (鳥潟博高編:増補ラン科植物の種子形成と無菌培養)誠文堂新光社, p: 95-152.
- 6) 狩野邦雄(1980):ランの種子発芽. (竹内正幸・中島哲夫・古谷力編:新植物組織培養) 朝倉書店, p. 190-200.
- 7) KNUDSON, L. (1922):花卉総論より引用.
- 8) 三井正洋・加古舜治(1974):ニオイエビネの種子発芽に関する研究(第1報)は種前水洗処理と光条件の影響. 園学要旨. 昭49秋; 326-327.
- 9) 三井正洋(1979):ニオイエビネの種子発芽に関する研究(第2報)エビネ種子に対する有機溶媒浸漬処理の効果. 園学要旨. 昭54秋; 330-331.
- 10) 長島時子(1982):シラン及びエビネの種子形成ならびに種子発芽について. 園学雑 51:82-93.
- 11) 長島時子(1982):シュンラン及びパフィオペディウム種子形成ならびに種子発芽について. 園学雑 51:94-105.
- 12) 長島時子(1984):キリシマエビネ, ニオイエビネ及びアマエビネの種子形成ならびに種子発芽について. 園学雑 53:176-186.
- 13) 長島時子(1985):キエビネ, カランセ, エルメリ及びトクサランの種子形成ならびに種子発芽について. 園学雑 54:231-241.
- 14) ROSSINI, L. (1975):植物細胞組織培養より引用.
- 15) 澤完・難波道子(1976):カンランの生長点培養, 無菌培養. (鳥潟博高編:増補ラン科植物の種子形成と無菌培養) 誠文堂新光社, p. 296-301.
- 16) 澤完・種田素顕・藤森律子(1976):日本産野生ラン種子発芽に関する研究. 園学要旨. 昭54春; 278-279.
- 17) SCHAFFSTEIN, G. (1938):増補ラン科植物の種子形成と無菌培養より引用.
- 18) 鈴木重俊・阿部定夫(1977):エビネ種子の無菌発芽に関する研究. 園学要旨. 昭52春; 382-383.
- 19) 鳥潟博高・澤完・志佐誠(1965):ラン種子の無菌発芽に関する研究(第1報) *Cymbidium* 種子の発芽および発育について. 園学雑 34:63-71.
- 20) VACIN, EF. and WENT, FW. (1949):花卉総論より引用.

Summary

Seeds of *Aerides japonicum* were aseptically cultured in order to study the effects of (1) storage conditions, (2) seed ripeness, (3) culture media, and (4) culture conditions on germination of seeds and growth of seedling.

1. Seeds germinated at highest rate (80%) when stored at -18°C for 380 days. But long storage was not favorable for the growth of seedling. The seeds well germinated and well grew when stored at 5°C or -18°C for 130 or 221 days and at 0°C for 130 days.
2. Not-well ripened seeds of 126 to 169 days after pollination germinated well. Well-ripened seeds, however, showed good growth.
3. A medium containing Haiponex instead of various inorganic nutrients was suitable for the growth of seedlings and was easy to prepare.
4. Seedlings grew well on the culture medium of at about pH 4.5 and of low agar concentration (ca. 0.8%).
5. The growth of seedlings was promoted by the addition of orange juice into the media. The addition of 100ml/l of orange juice and 10g/l of sucrose gave good growth for seeds sowed before December, and 200ml/l of orange juice and 20-40g/l of sucrose for seeds sowed in March.
6. The seedlings grew well at 25°C . The growth of seedlings was promoted when seeds were cultured in darkness for 4-6 weeks after sowing.