

デンドロビュームの種子発芽培 地における有機物質添加の影響

市橋 正一

Syoichi ICHIHASHI

(技術科教室)

The Effects of Organic Components on the Seeds Germination and Seedlings Growth of *Dendrobium nobile*.

Syoichi ICHIHASHI

(Department of Technology)

SUMMARY

The effects of myo-inositol, glycine, nicotinic acid, pyridoxin·HCl and thiamine·HCl on the growth of *Dendrobium* seeds germination and seedlings growth were investigated. Of all factors tested, nicotinic acid stimulated both seed germination and seedling growth significantly. Thiamine·HCl stimulated seedling growth slightly.

緒 言

ラン科植物は極めて多くの種子を生産するが、自然に発芽して生育する個体は極めて少ない。それは、種子が胚乳を欠き、未分化な胚と一層の種皮からだけなる微少なものであり、単独で発育する能力を持たないためである。したがって、他の植物と同様な播種方法では発芽しない。しかし、親株の根もとに播種する場合には、少数ではあるが発芽し、生育する。このような個体では、根菌との共生が成立しており、自然状態での発芽には共生菌が大きな役割をはたしている。

Knudson⁽⁹⁾はランの種子発芽機構の解明のためラン種子の無菌培養を行い、糖と無機塩類よりなる人工合成培地に播種すれば、根菌との共生がなくとも、多くのラン科植物は発芽することを発見した。このような条件下で、ラン科植物はプロトコームと呼ばれる球体を形成し、そのうち子葉と幼根を分化する。したがって、他の高等植物では母体上で完了する胚発生の現象が、ラン科植物では播種後におきる。

一個の植物が独立栄養的に生育するには、光合成が必要である。多くの植物種子は、母体上で従属栄養的に、子葉と幼根を形成し、播種されればただちに光合成が始められる体

制ができています。しかし、ラン科植物では播種後にこの準備がなされるため、初期生育のためには他から養分が供給される必要がある。自然状態では共生菌の助けにより、また培養条件下では培地中の養分を利用することにより、発芽可能となる。

培地成分としては、各種無機塩類の他にシユークロースなどの炭水化物が必要であり、ラン科植物の種子発芽時の従属栄養性を特徴づけている。多くのラン科植物では、無機塩とショ糖だけが含まれた培地上で正常に発芽生育する。しかし、種によっては正常に生育しないものがあり、さらに他の有機成分の必要性が考えられる。

ニコチン酸（ナイアシン）が各種ラン科植物の種子の初期生育に促進的な効果を持つことは知られている^(1,2,3,4,5,10)。また、狩野はデンドロビュームの種子発芽は、リンゴ汁の添加によって促進されることを明らかにしている。筆者は、ランの種子発芽培地の無機塩組成を、糖と寒天以外の有機物は添加されない条件で検討してきた。しかしデンドロビュームの場合には、他の種に比較して生育が劣り、有機物添加の必要性が考えられた。また、予備的な実験において、MS培地の有機成分が促進的な効果を持つことがわかってきたため、有効成分を明らかにするための実験を行った。 NO

材料と方法

基本培地のイオン組成は、 $\text{NH}_4^+ : \text{K}^+ : \text{Ca}^{++} : \text{Mg}^{++} = 20 : 40 : 30 : 10$, $\text{NO}_3^- : \text{H}_2\text{PO}_4^- : \text{SO}_4^{--} = 70 : 20 : 10$, $\Sigma\text{M}^{n\pm} = 20 \text{ meq/l}$ とし、Fe-EDTA（MS当量）、微量元素（ $1/10$ MS当量）を添加した。有機物は第1表のMS培地成分の5種類を、単独あるいは組み合わせてオートクレーブ前に添加した。pHを5.0～5.2に調整し、ショ糖（20g/ℓ）、寒天（10g/ℓ）を添加溶解後、50 ml 三角フラスコに18 ml づつ培地を分注し、オートクレーブで（110℃、10分）、殺菌を行った。

種子は、愛知教育大学で採種した *Dendrobium nobile* の完熟種子および浅井信之氏より提供を受けたノビル系デンドロビュームの交配種（2種）の完熟種子を用いた。種子の消毒は、50倍オスパン水溶液を1滴添加した100 mlの2%次亜塩素酸水溶液で行った。50 ml 三角フラスコにとった適量の種子の中へ、同液を分注し、よく振とう後消毒液を交換し、この操作を数回くり返した。3分間程度の消毒後種子は、消毒液とともにロートに流し込み、ロ紙上で消毒液を流し去り、さらに滅菌水で数回洗浄した。消毒の完了した種子は、滅菌水にけんたくさせながら、1 ml づつ注射器で培地上に播種した。培養は25℃、700 lux 植物育生用ランプ連続照明下で5カ月間行った。1処理区6本のフラスコのうち、生育のそろった3本のフラスコの実生の生育を測定し結果を求めた。

Table 1. Composition of organic components.

Components	mg/l
myo-inositol	100
Glycine	2.0
Nicotinic acid	0.5
Phridoxine·HCl	0.5
Thiamine·HCl	0.1

結 果

実験 1 有機物添加の影響

Den. noblie の種子発芽と実生の生育に及ぼす有機物質単独添加の影響は第2表のようになった。発芽はニコチン酸の添加によって促進され、その他の有機物添加の効果は認められなかった。枯死したものの割合は、イノシトール、ピリドキシン、グリシン添加で、

Table 2. Effects of organic components on the growth of *Den. noblie* seedlings.

Treatment	Seedling number per flask	Percent of dead seedlings	Percent of seedlings formed body	Number of root per plant	Root weight (mg/plant)	Shoot weight (mg/plant)
BM	72.33	75.85	0.00	0.00	0.00	0.67
+ Glycine	76.33	83.16	0.00	0.00	0.00	0.57
+ Inositol	74.33	90.28	0.00	0.00	0.00	0.22
+ Nicotinic acid	100.67	7.31	4.67	1.13	0.94	16.57
+ Pyridoxine	77.00	94.43	0.00	0.00	0.00	0.39
+ Thiamine	62.67	44.34	0.00	0.50	0.20	7.66
LSD at 5%	15.04	17.60	1.60	0.23	1.00	4.00

Seeds number per flask; 142.5 ± 36.6. Culture periods; 5 months.

Table 3. Effects of organic components on the growth of *Den. noblie* seedlings. (Cultiver A)

Treatment	Seedling number per flask	Percent of dead seedlings	Number of root per plant	Percent of seedlings formed body	Root weight (mg/plant)	Shoot weight (mg/plant)
BM	23.33	18.44	0.16	0.00	0.00	3.38
+ Glycine	26.00	47.93	0.05	3.92	0.00	2.11
+ Inositol	26.67	43.53	0.05	1.85	0.00	1.65
+ Nicotinic acid	206.00	13.28	1.04	0.00	1.55	11.83
+ Pyridoxine·HCl	17.33	60.27	0.00	2.22	0.00	1.21
+ Thiamine·HCl	37.33	48.14	0.04	12.46	0.00	4.52
LSD at 5%	12.24	15.60	0.07	3.20	1.00	2.00
+ Org.	202.67	16.46	0.78	0.50	1.14	11.52
- Glycine	184.33	17.32	0.96	0.16	1.64	11.39
- Inositol	187.00	19.26	0.86	0.17	1.07	12.31
- Nicotinic acid	56.33	44.65	0.01	13.33	0.00	2.95
- Pyridoxine·HCl	196.33	15.29	0.99	0.00	1.56	9.89
- Thiamine	203.00	18.42	0.79	0.16	1.14	12.25
LSD at 5%	14.45	5.10	0.20	2.80	1.00	2.00

Seeds number per flask; 181.3 ± 29.3. Culture periods; 5 months.

添加しない場合よりも多く、チアミン、ニコチン酸添加区では少なくなった。肥大したカルス様球体の形成は、ニコチン酸添加区で認められたが、その他の区では認められなかった。根の発生は、ニコチン酸、チアミン添加区で認められ、その他の場合には認められなかった。茎葉の生育も、ニコチン酸、チアミン添加区で促進されたが、その他の場合には促進的な影響は認められなかった。

品種Aに対する同様な実験の結果は、*Den. nobile* と同様な傾向を示し、ニコチン酸は促進的な影響を与えた。しかし、無添加区での生育が比較的良好となり、チアミンの促進的な効果は認められなかった（第3表）。

第1表に示された有機物のうちどれか1種類だけを削除した場合の生育は、ニコチン酸を削除した場合にだけ実生の生育は有意に阻害され、その他の場合には阻害的な効果は認められなかった（第3表）。

実験2. ニコチン酸、チアミンの組み合わせ添加の影響

品種Aに対するチアミン単独添加の場合、生育促進効果が認められ、根の生育は高濃度ほど、茎葉の生育は10, 0.1, 1 ppm 添加の順に良好となった。ニコチン酸 0.5 ppm との組み合わせ添加の場合も、チアミン添加の効果は認められ、特に根の生育が良好となった。ニコチン酸 5 ppm、および50 ppm の場合チアミン添加は根の生育に促進的であったが、茎葉の生育には効果は認められなかった（第4表、第1図）。

ニコチン酸単独添加の効果は、0.5, 5 ppm の時に促進的で50 ppm では阻害的であった。チアミンとの組み合わせ添加では、ニコチン酸添加の効果は、茎葉の場合には認められなかった（第4表、第1図）。

Table 4. Effects of Nicotinic acid and Thiamin on the growth of *Den. nobile* seedlings. (Cultivar A)

Treatments Nicotinic acid	(ppm) Thiamire	Seedling number per flask	Number of root per plant	Percent of seedlings formed body	Root weight (mg/plant)	Shoot weight (mg/plant)
0	0	41.33	0.66	19.35	0.00	15.11
0	0.1	75.67	0.80	22.22	1.04	30.12
0	1.0	84.33	1.15	15.87	2.42	21.67
0	10.0	52.33	1.39	13.44	3.88	32.24
0.5	0	149.67	1.02	0.98	1.83	19.08
0.5	0.1	126.00	1.40	3.11	5.45	21.08
0.5	1.0	142.67	1.09	15.34	2.71	19.75
0.5	10.0	137.33	1.43	2.37	3.35	18.25
5.0	0	167.33	1.24	1.82	2.34	19.75
5.0	0.1	183.33	1.42	0.87	2.52	15.05
50.0	0	257.67	0.89	0.00	1.74	13.21
50.0	0.1	201.67	1.55	1.02	3.73	12.91
LSD at 5%		48.38	NS	NS	2.00	10.00

Seeds number per flask; 324.7 ± 13.2 Culture periods; 5 months.

デンドロビュームの種子発芽培地における有機物質添加の影響

品種Bに対するチアミンの単独添加は、0.1 ppmの場合に根および茎葉の生育に対して促進的な影響が認められた。ニコチン酸との組み合わせ添加では、ニコチン酸0.5 ppmでチアミン0.1, 1.0 および10 ppm さらにニコチン酸50 ppm, チアミン0.1 ppmの場合に根の、ニコチン酸5 ppm, チアミン0.1 ppmの場合に茎葉の生育が促進された(第5表, 第2図)。

ニコチン酸単独添加の効果は、すべての濃度で促進的な効果が認められた。チアミンとの組み合わせ添加では、チアミン0.1 ppm, ニコチン酸5 ppmの場合の根の生育が劣ったが、その他の場合は、ニコチン酸の添加は根および茎葉の生育に促進的であった(第5表, 第2図)。

Table 5. Effects of Nicotinic acid and Thiamin on the growth of *Den. nobile* seedlings. (Cultivar B)

Treatments Nicotinic acid	(ppm) Thiamine	Seedling number per flask	Percent of dead seedling	Number of root per plant	Percent of seedlings formed body	Root weight (mg/plant)	Shoot weight (mg/plant)
0	0	13.00	82.05	0.54	2.56	1.79	9.49
0	0.1	20.67	73.16	1.18	3.92	4.88	14.53
0	1.0	16.33	72.84	1.04	0.00	2.51	7.57
0	10.0	13.67	70.13	0.76	0.00	1.53	10.27
0.5	0	49.00	24.43	1.81	6.14	7.51	33.98
0.5	0.1	40.33	43.45	1.48	5.12	11.42	29.44
0.5	1.0	47.33	34.81	1.67	2.01	7.72	19.24
0.5	10.0	30.33	32.21	1.95	1.85	10.36	24.93
5.0	0	39.67	49.58	1.16	7.48	5.98	28.49
5.0	0.1	34.00	49.31	0.69	11.19	2.99	39.11
50.0	0	47.33	41.50	1.06	8.83	2.98	34.85
50.0	0.1	41.67	50.06	1.47	5.90	6.11	27.42
LSD at 5%		10.54	19.90	0.20	19.90	5.00	10.00

Seeds number per flask; 103.5 ± 12.4. Culture periods; 5 months.

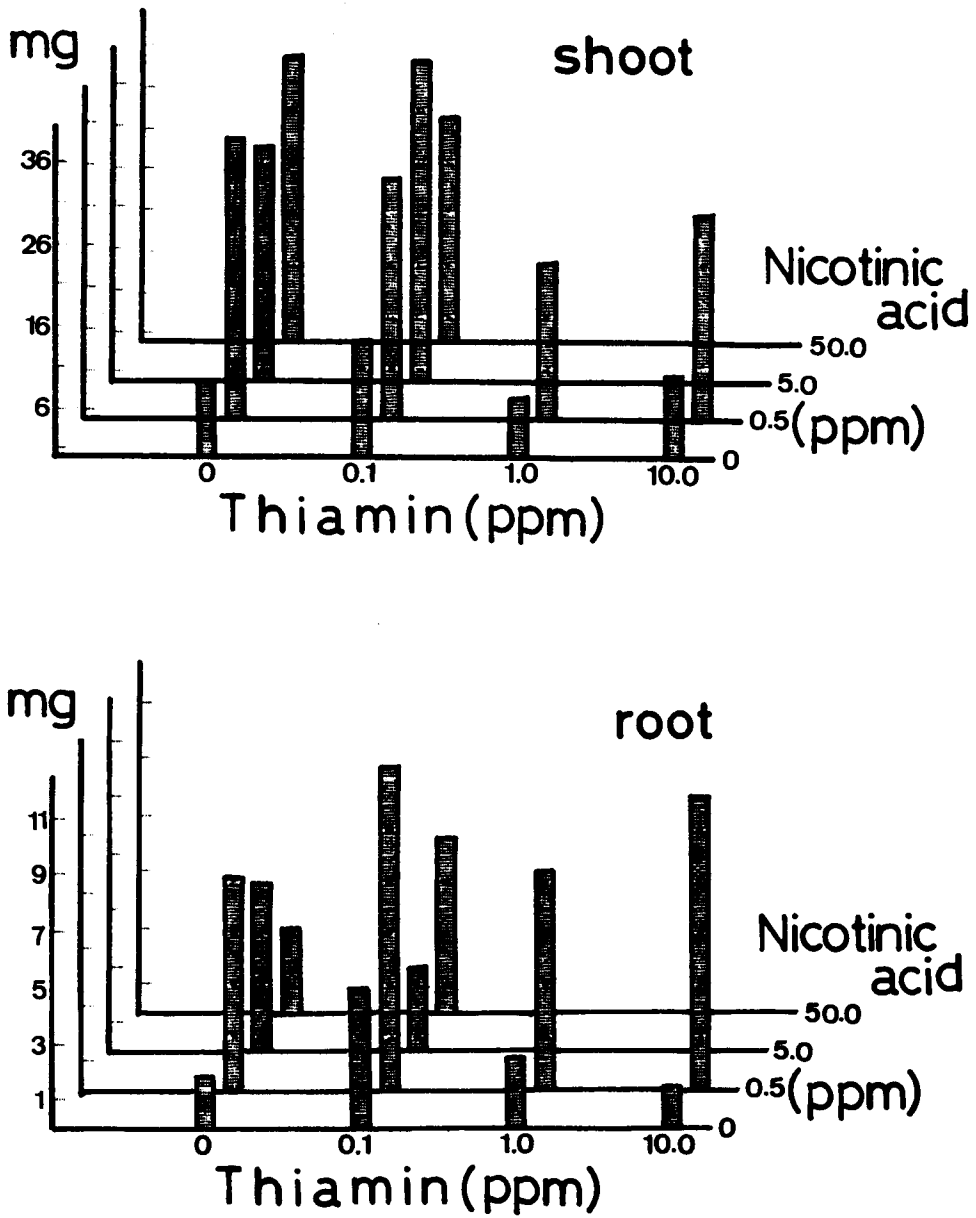


Fig. 2. Effects of Nicotinia acid and Thiamine on the shoot and root grown of *Dendrobium nobile*. (Culeivon B)

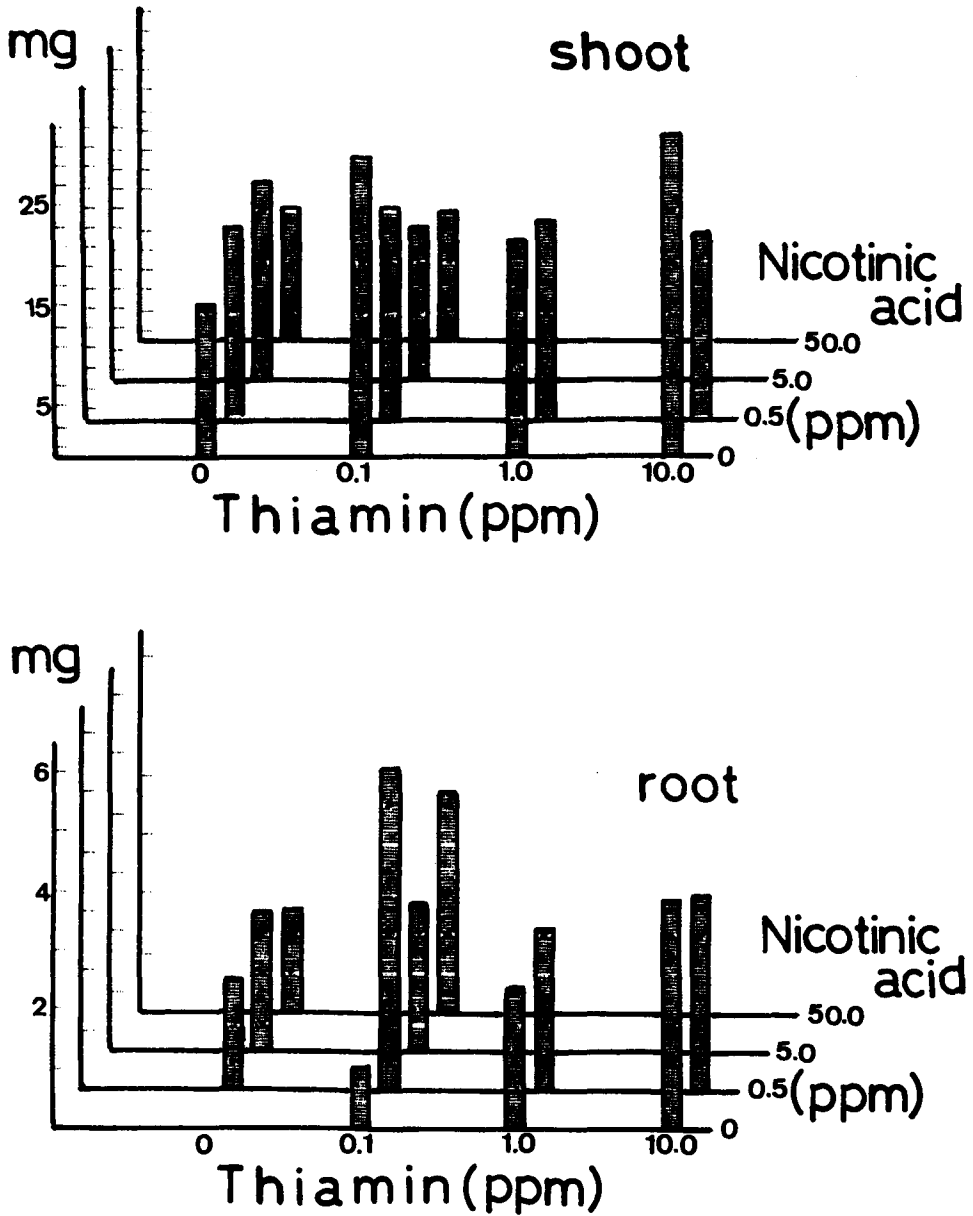


Fig. 1. Effects of Nicotinic acid and Thiamine on the shoot and root grown of *Dendrobium nobile*. (Culeivon A)

考 察

ノビル系デンドロビュームの種子発芽およびその後の生育は、ニコチン酸によって促進され、無添加の場合には充分に行われなかった。このことから、MS培地の有機成分あるいはリンゴ汁中の有効成分のひとつはニコチン酸であると考えられる。ニコチン酸無添加の場合、品種あるいはその他の条件によって異なるが、添加の場合の半数以下の発芽となった。したがって、ニコチン酸合成能力の遺伝的な差、あるいは、種子内貯蔵養分の違いなどによって、発芽率の違いが生ずるものであろう。発芽後の生育も、無添加区では劣り、ニコチン酸合成能力は充分ではないと考えられる。

Arditti はカトレヤの種子発芽時におけるニコチン酸の生理的研究を行い、ニコチン酸はトリプトファンから、分解的に生成されることを明らかにした。また、葉の発達していない若い実生では、トリプトファンが効果を持たないことから、葉にニコチン酸代謝系が存在するのではないかとしている。デンドロビュームの場合も、阿部らの結果によれば、苗令の進んだ苗の場合にはニコチン酸の削除の影響は認められない。したがって、カトレヤと同様な代謝系の存在が考えられる。しかしながら、ニコチン酸無添加でも生育するものもあることから、不純物などとして外部から供給される可能性、あるいは葉以外での生合成系、さらに他の種類の生合成系の存在も考えられる。

ニコチン酸は補酵素 (NAD, NADP) の構成要素として重要な成分ではあるが、その直接的な生育促進の機作について明らかではない。讚井らによれば、ニコチン酸アミドはイネ、キュウリ、レタス、ナスなど数種の作物の苗の生育を促進させ、その機作として、RuDP-カルボキシラーゼ活性を高め、可溶性蛋白質含量の増加と、光合成能を促進せしめ、葉面積の拡大をもたらすこと、および硝酸還元酵素活性の向上による蛋白質合成能の増大をあげている。デンドロビュームの場合にも同様な機作の可能性は考えられるが、そ実態は不明である。

チアミンの場合はニコチン酸ほどではないが生育に促進的な場合が認められ、特に根の生育が促進されるような傾向が認められた。またニコチン酸の場合とは異なり、種子発芽には促進的な効果は認められなかった。これは Mead らの *Orchis* に関する結果と一致した。

摘 要

ノビル系デンドロビュームの種子発芽培地への 0.5～5 ppm のニコチン酸添加は、発芽および実生の初期生育に対して促進的な効果を与えた。

チアミンの添加は、根の生育などに関しては促進的な場合があり、0.1 ppm 程度の添加が望ましいと考えられる。

(昭和58年8月29日受理)

引 用 文 献

1. 阿部真理子, 安藤敏夫, 1982. *Dendrobium* における類縁関係について (第4報) 発芽好適培地の検討と、有機物要求性の存在, 園芸学会春季大会研究発表要旨 292—293.

2. Arditti, J. 1966. The effects of Niacin, Adenin, Ribose and Niacinamide Coenzymes on Germinating Orchid Seeds and Young Seedlings. *Amer. Orchi. Soc. Bull.* 35: 892-898.
3. _____. 1967. Niacin Biosynthesis in Germinating × *Laeliocattleya* Orchid Embryos and Young Seedlings. *Amer. J. Bot.* 54: 291-298.
4. _____ and C.R. Harrison. 1977. Vitamin Requirements and Metabolism in Orchid Biology, Reviews and Perspectives, I. (Ed. by J. Arditti), pp.159-175. Cornell University Press, Ithaca, New York.
5. Bahme, R. 1949. Nicotinic Acid as a Growth Factor for Certain Orchid Embryos. *Science*. 109: 522-523.
6. Cooper, J.L., Hilton, B.L., Arditti, J., and Tarr J.B. 1982. Niacin Biosynthesis in Leaf Discs and Seedlings of *Cattleya skinneri*. *New Phytol.* 91: 621-628.
7. 市橋正一. 1980キバナセッコク, ツルランガンゼキランの種子発芽とその後の生育における培地の無機塩組成の影響. 愛教大研報, 29: 177-190.
8. 狩野邦雄. 1968. ラン種子の無菌発芽. ラン植物の種子形成と無菌培養: 93-1150. 誠文堂新光社.
9. Knudson, L. 1922. Nonsymbiotic Germination of Orchid Seeds. *Bot. Gaz.* 73: 1-25.
10. Mead, J.W. and C. Bulard. 1979. Vitamins and Nitrogen Requirements of *Orchis Laxiflora* LAMK. *New Phytol.* 83: 129-136.
11. 讚井著. 1977, ニコチン酸アミドの植物に対する生育調節作用について. 植物の化学調節12: 59-69.