九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

Dendrobiumの組織培養について

竹下，繁
九州大学農学部

伴，千代子

藤枝，國光
九州大学農学部

https://doi.org/10.15017/12624

出版情報：九州大学農学部農場研究資料. 7, pp.88-91, 1984-10. 九州大学農学部附属農場
バージョン：
権利関係：

Dendrobium の組織培養について

竹下　繁，伴　千代子*，藤枝　國光

1　目　　的

Dendrobium specio-kingi は *D. speciosnm* と *D. kingianum* との交雑種である。低温性の気生ランで栽培しやすく，花は可憐で芳香があり，葉も美しく，鉢物として人気上昇中である。通常株分けによって栄養繁殖されるが効率が悪い。より能率のよい繁殖法を確立するために，*in vitro* における実生法と腋芽の茎頂培養法を検討した。

2　実生繁殖

1）実生法について

(1)　材料及び方法　'Baltrose' の裂開前の蒴果を供試した。蒴果は70％エタノールで表皮をふき，次いでアンチホルミン10倍液に15分間浸漬して消毒した。滅菌水でリンスしたのち，果皮をメスで切開し，滅菌水に種子をかき出した。浮遊した種子をガラス棒に付着させ，培地に置床した。

培地は次のように2通り調製した。

	(A)	(B)
Hyponex	3 g/ℓ	3 g/ℓ
pepton	2	2
sucrose	25	35
agar	8	15
pH	5.3	5.0

いずれも試験管に斜面培地に作り，播種後アルミ箔による半密閉区とゴム栓をした完全密閉区を設けた。6月8日に播種し，25℃で8月22日までは暗黒条件に，その後は12時間日長に保った。

(2)　結果及び考察　成熟の進んだ蒴果の種子が，概して発芽がよかった。培地A，B間の優劣は蒴果によって異なり，判然としなかった。成熟の進んだ蒴果の種子であれば，どちらも支障ないものと思われた。ただしゴム栓による密閉区は発芽が極端に悪く，アルミ箔二重キャップがよかった。培養条件については，本試験で設定した25℃で発芽まで暗黒，その後12時間日長で，1月下旬に移植に適した幼苗に育ったので，おおむね適当と判断された。

* 粕屋町仲原285－2

2) 移植培地について

(1) 材料及び方法　前試験のB培地で育った幼苗を供試した。培地はHyponex 3g/ℓ, pepton 2 g/ℓを基本とし，sucrose及びagarの濃度をかえ，第1表のような4区を設けた。培地30mℓを入れた100mℓ容三角フラスコに，2月2日に幼苗を5株ずつ移植し，25℃12時間日長で3月12日まで培養した。

(2) 結果及び考察　3区を除き，移植後40日で管外栽培に耐える苗に育った。第1表のようにsucrose 20g・agar 10g/ℓの第4区が成苗率はやや劣ったが，苗の生長は最もすぐれた。

第1表　移植苗の生育に及ぼす培地*のsucrose，agarの影響

区	sucrose	agar	成苗率	平均苗重
1	35g/ℓ	15g/ℓ	100%	128mg
2	35	10	98	145
3	20	15	92	80
4	20	10	86	235

* 基地培地：Hyponex 3g・pepton 2g/ℓ，pH 5.0

3 茎頂培養

1) 初代培養について

(1) 材料及び方法　'Baltrose'を供試し，葉が展開前の苗条から腋芽を切りとり，消毒後外葉をはずし，葉芽2～3枚残した茎頂部を外植体とした。

試験①　切りとった腋芽の消毒法について，次の三つの方法を比較した。

a．エタノール70%液で1分間潤す

b．アンチホルミン20倍液に15分間浸漬

c．ウイルソン氏液に10分間浸漬

いずれも滅菌水でリンスしたのち，外植体を摘出し，MS－1962培地（NAA 0.1mg・BA 0.5mg・sucrose 20g・agar 10g/ℓ，pH 5.3）に置床，20℃・12時間日長下で培養した。

試験②　腋芽をアンチホルミン10倍液に15分間浸漬し，水洗後摘出した外植体を第2表のような培地に置床し，20℃・12時間日長下で培養した。

(2) 結果及び考察

試験①　70%エタノールで潤した脱脂綿に，切りとった腋芽を1分間包んで消毒したa区は30芽のうち18芽が汚染で枯死，残りも活着せずに終った。またアンチホルミンで消毒したb区は30芽のうち21芽が汚染，7芽が不活着で枯死，2芽のみ活着した。Wilson氏液で消毒したc区は30芽中8芽のみ汚染，12芽が不活着で枯死，10芽が活着し，a，b区よりも明らかに優れた結果を示した。

試験②　第２表に示したように，MS－１９６２のNAA無添加培地で活着がよかった。それでも３０％程度の活着率で好ましい結果ではなかった。この試験はアンチホルミン（有効Cl 10％）10倍液で15分間消毒したのでその効果が強すぎ，外植体の組織をいため，活着率を低くしたように思われる。

第２表　外植体の活着に及ぼす培地組成の影響

基本培地	sucrose	agar	pH	NAA	BA	活着率	置床月日
	g/ℓ	g/ℓ		mg/ℓ	mg/ℓ	%	
RM　1967	20	10	5.3	0	0.1	6	昭57. 6. 10
				4		0	
				8		0	
MS　1962	20	10	5.3	0	0.1	29	昭57. 6. 9
				4		0	
				8		0	
MS　1962	20	8	5.3	0	0.1	30	昭57. 8. 2
				0.5		20	
				1.0		0	
				2.0		0	

以上の結果から，外植体はWilson氏液で消毒し，MS－1962のBA0.1 mg/ℓ，NAA無添加培地に置床するのがよいように思われる。採芽の季節，親植物の養水分管理法なども活着率に微妙に影響しそうであり，更に検討を要する。

2）継代培養について

前試験で活着した培養体は活着後カルスやプロトコームを形成せず，もっぱら不定芽を形成した。そこで継代培養による不定芽増殖の条件並びに小植物体誘導条件を明らかにするために次の試験を行った。

(1)　材料及び方法

前試験の培養体をMS－１９６２にNAA 1mg＋BA 0.5mg/ℓ 添加した培地で２～３カ月おきに継代し，形成された不定芽を供試した。第３表のような培地を供試し，２５℃・１２時間日長下で培養した。

(2)　結果と考察

第３表に示したNAAもBAも含まない４７－１区及び９８－１区では，継代後７０日で管外栽培に耐える素直な小植物体に生長した。ただしHyponex培地の９８－３区は９８－１区に比べると小植物体の生長が劣った。

不定芽の増殖にはNAA 0.5mg＋BA 0.5mg/ℓを含むMS－１９６２培地の６８－２区及び９８－２区がまさった。Hyponex培地の９８－４区は不定芽の生長が劣った。またNAAを含み，BAを含まない４７－

2区は不定芽が矮化し，NAAを含まずBAを含む47−3区及び68−1区は不定芽の形成がやや少ない傾向が認められた。

第3表　継代培養試験の培地

区	基本培地	sucrose	agar	pH	NAA	BA	備　考
47−1	MS−1962	30 g/ℓ	8 g/ℓ	5.5	0 mg/ℓ	0 mg/ℓ	初代：昭57. 8. 2
−2	〃	〃	〃	〃	2	0	継代：昭57. 11. 9
−3	〃	〃	〃	〃	0	0.5	：昭58. 1. 13
−4	〃	〃	〃	〃	2	0.5	
							初代：昭57. 8. 2
68−1	MS−1962	30	10	5.5	0	0.5	継代：昭57. 11. 9
−2	〃	〃	〃	〃	0.5	〃	：昭58. 1. 13
−3	〃	〃	〃	〃	1.0	〃	：昭58. 3. 16
							：昭58. 5. 12
							初代：昭57. 8. 2
98−1	MS−1962	30	10	5.5	0	0	継代：昭57. 11. 9
−2	〃	〃	〃	〃	0.5	0.5	：昭58. 1. 13
−3	Hyponex	〃	〃	〃	0	0	：昭58. 3. 16
−4	〃	〃	〃	〃	0.5	0.5	：昭58. 5. 12
							：昭58. 9. 30

以上の結果から不定芽から小植物体へ誘導するにはホルモン類を含まないMS基本培地でよく，不定芽の増殖にはNAA 0.5mg/ℓ + BA 0.5mg/ℓを添加したMS−1962培地が望ましいように思われる。

3　馴　化

本葉4〜5枚に生長し，素直な根を分化した小植物体は管外に取り出し，寒天を洗い落し，蒸気消毒した水苔で根をくるみ，日蔭にした温室内に保った。約50日は水道水のみで適湿に保ち，その後油粕，骨粉などのおき肥を行い，時折うすいHyponex溶液を散布して肥培した。いずれの時期も80%以上の確率で生育を続けている。