カトレヤの茎頂培養による栄養繁殖法に関する研究 (第1報)

茎頂組織の活着と生育に影響を及ぼす要因について

市橋正一*・加古舜治

(名古屋大学農学部)

Studies on Clonal Propagation of *Cattleya* through Tissue Culture Method

I. Factors Affecting Survival and Growth of Shoot Meristem

of *Cattleya in vitro*

Shyoichi ICHIHASHI and Shunji KAKO

Faculty of Agriculture, University of Nagoya, Chikusa, Nagoya

Summary

The unstability of growth initiation from bud-meristem explants of *Cattleya* alliance *in vitro* is considered to be a great problem to establish a technique of clonal propagation by tissue culture method. So some factors which affect survival or growth of the explant were studied. The meristems were excised from apical or lateral buds of new shoots and cultured on RM-1962 medium under continuous illumination of fluorescent lamps about 2000 lux and 25°C.

1. NAA or 2,4-D is essential for the growth initiation of explants and the optimum concentration is found each at 0.1 ppm.

2. The culture medium of RM-1962 in liquid state is better both for the survival rate and growth amount of explants than that of Knudson C. The organic components of RM-1962 had little effects on the growth and so the mineral part of the medium is supposed to be effective. The effect of addition of coconut milk at 10% to the medium differed among the hybrids used.

3. When the explants were cultured in liquid standing, liquid rotating at 0.86 rpm, liquid shaking at 90 rpm and on agar-solid media, the former two were confirmed to have a good effect for survival and suppression of tissue-browning and the latter two to promote tissue-browning and then to decrease the survival rate of the explants.

4. The explants from apical bud and lateral buds on upper nodes of a shoot tended to be inferior in the survival and growth rate to the explants from middle and lower nodes.

5. The growth response of meristems seemed to differ by each species and hybrid used even if cultured under the same condition.

緒 言

ランの栄養繁殖法のひとつとして組織培養の技術を活用する意義は、(1) 栄養系の増殖率を飛躍的に改善すること、(2) ウイルス・フリー化、などに求められる。また本技術を実用化するに当たっては、これらの意義を具備する技術体系の研究開発が必要である。シンビジュームではいち早く本技術が実用化され、前述の諸意義はその段階で示されてきた。

栄養繁殖の目的で組織培養法を最初にランで適用したのはおそらく Rotor(7) で、彼はファレノプシスの花こうえき芽を培養したが、その結果は思わしくなかつた。その後彼の着想の発展は Morel(3) や Wimber(9) によるシンビジュームの茎頂組織の成功までみられなかつた。Morel はウイルス・フリー化を研究の主目的としたが、Wimber は栄養系の繁殖法の開発を目的とした。Morel(4) はいろいろのランで茎頂培養を試み、カトレヤ類(カトレヤとその類縁属間雑種を含む)はシンビジュームに比べ培養が比較的困難であることを示した。その後

1973 年 1 月 22 日受理

* 現在愛知教育大学教育学部

Scully(8), Reinert & Mohr(6), Lindemann(1) および Lindemann ら(2) がカトレヤ類の茎頂培養について報告している。これらの報告からカトレヤ類の茎頂培養が困難な理由は、(1) 培養組織がかつ変死すること、(2) 個体の増殖率がシンビジウムに比べると低いこと、(3) 培養体の生育が不安定であること、などがあげられよう。茎頂組織の最初の培養で活着をよくするためには液体培地がよく、固体培地では組織のかつ変が起り枯死しやすい(6, 8)。またココナットミルク (CM) の培地への添加効果についての報告は研究者によつて一定せず、Scully(8) と Lindemann(1) は良好な結果を得ているのに対し、Reinert ら(6) はかつ変枯死しやすいとのべている。しかしいずれの報告も培養条件が違うのみならず、結果が記述的で数量的に記載されていないため、比較検討が困難である。

筆者らも 1967 年以来カトレヤ類の茎頂培養による栄養繁殖法について研究を進めてきた。本報ではまず摘出した茎頂組織の活着にどんな条件が必要かを明らかにする目的で、活着に関係すると思われる諸要因のうち、とくにオーキシン、培地組成、培養方法、材料による個体差について実験した結果を報告する。

材料と方法

採芽方法

供試材料はまだ発根がなく、茎が柔らかく、しょう葉も緑色を呈し、真葉が未展開の若い新茎を使用した。材料はバックバルブの基部で切り離し、流水中で汚染部分

を除去した。またしょう葉、真葉などを切除し、頂芽とえき芽を露出した。これを 1% 次亜塩素酸ソーダ液で 15 分ほど振とうしながら殺菌し、滅菌水で洗ったのち生長点部分の摘出を行なつた。とくにえき芽の生長点部分の摘出方法はつぎのように行なつた。まず第 1 図のように芽の背面と茎部の間にカミソリを入れ茎の一部を付けて芽を切り離した。えき芽のしょう葉を除去するためには、あらかじめ芽の背面より生長点の大体の位置を見定め、そして生長点を通る中心線よりやや離れた両側に縦方向にカミソリの刃を入れ、しょう葉を切り、取り除いた。この方法で 2~3 枚程度のしょう葉を除去した。その後生長点部を含むように茎頂組織を切り取つた。得られた切片は滅菌水に 3~4 分浸漬し培地に置床した。切片の大きさは平均 2~3 mg 重とした。

培地と培養条件

予備実験でナドソン C(10)、ハイポネックス、RM-1962(5) の 3 種の培地で比較した結果 RM-1962 がほかよりもすぐれていたのをこれを基本培地(BM)として使用した。培地の pH は 5.0~5.2 に 0.1 N 塩酸とカ性ソーダで調節した。2.2×12 cm の培養管に約 10 ml の培地を分注し、管の口元はアルミはくで密封した。培地の殺菌はオートクレーブで 110°C, 10 分間行なつた。培養は 25°C, ビタルックス (2000 ルックス) 連続照明下で行ない一定期間培養後生存率と生長を測定した。生死の判定は緑色の程度とかつ変の度合から、最低限あざやかな緑色の部分がある培養体を生存個体とした。生長量は新鮮重を測定し、生長指数 [(final weight-initial weight)/initial weight] であらわした。その他の実験方法の詳細については実験結果に記す。

実験結果

1. オーキシンと CM の添加効果

BM に NAA と 2,4-D を単独に 0, 0.01, 0.1, 1.0, 10.0 ppm の各濃度で加えた区と、さらに前記の各区に CM 10% を添加した区を設け、1 か月間の液体静置培養を行ない、生存率を測定した。供試品種には LC. Culminant var. La. Tuilerie を用い、1 区平均 10 芽とし 2 回に分けて実験を行なつた。なお本実験では頂芽も供試した。その結果を第 2 図に示す。

まず NAA や 2,4-D が培地に加えられないと CM の有無に関係なく活着率は低く、10% 程度にとどまつた。一方オーキシン添加区をみると CM 無添加区で活着のもつともよいのは NAA と 2,4-D ともに 0.1 ppm 濃度区で活着率は 50~60% となり、オーキシン無添加の対照区よりも活着率が高められている。また CM 添加区は無添加区よりもさらに活着率を高めることはなかつた。

Fig. 1. A. The vegetative shoot of *Cattleya* after all leaves are removed and the position of shoot apex (A) and lateral buds (L-1~L-4) is indicated. B. Diagram illustrating the method of excision of lateral meristem.

Fig. 2. The effect of NAA, 2,4-D and coconut milk (10%) on survival of the excised meristems of LC. Culminant var. L. T. Curves 1, BM+NAA+CM; 2, BM+2,4-D+CM; 3, BM+NAA; 4, BM+2,4-D.

が、オーキシン高濃度区、すなわち NAA と 2,4-D とともに 1.0 と 10.0 ppm 区で CM が存在すると CM 無添加区よりも活着率をよくする効果がみられた。さらに CM の添加は活着した培養体の発育をよくすることが観察された。しかし 1 か月以上移植しないでそのまま培養を続けるとえ死する個体があらわれ、これはとくに生育の良好な個体に著しいことが観察された。

2. 液体静置、液体振とう、固体培地による培養

(1) 供試品種 LC.Dinah var. AM/RHS について 培地は BM+0.1 ppm NAA と BM+1.0 ppm NAA +10% CM の 2 種を用い、液体静置、液体振とう (90 rpm)、1% 寒天含有の固体培地での培養を行ない、1 か月と 2 か月後の生存率と生長指数を求めた。供試数は一區平均 10 芽とし、頂芽も供試した。

第 1 表をみると、1 か月後の活着率は NAA 0.1 ppm 添加区では液体静置培養で 90% で最も良く、固体、液体振とうの場合はそれよりも低く 50% であった。また NAA (1 ppm)+10% CM の組み合わせでも液体静置で最も活着率が良く 50% であり、固体培地は 40% を示

し、振とう培養では 33% の結果であった。生重量の増加したものの生長指数の平均値は固体培養で最も良く、ついで静置培養、振とう培養の順となった。培地と組織のかつ変の程度は、固体、液体振とうで著しかった。固体培地の場合、組織の周辺にかつ変物質が広がり、かつその部分の培地がかつ変した。組織も切断部からしだいかつ変がおこり、組織の大部分におよんだ。液体振とう培養でも培養液はかつ色に着色し、組織の大部分がかつ変した。この両区では活着したものでも組織の一部が緑色を呈するのみで、ほかの部分はかつ色の状態であり、液体静置培養区にくらべるとかつ変部分の割合が大きい。すなわち液体静置の場合切断部はかつ変するが、そのかつ変は広がることなく切断部のみにとどまり、他の部分は緑色を呈している。2 か月後の活着率は 1 か月後に得られた結果よりもすべての区で低下したが、生長指数は増加した。

(2) 供試品種 LC.Culminant var. La Tuilerie および LC. Momus var. Bryndir について 培地には BM+0.1 ppm NAA を用い、その他の培養条件は、振とう培養を 0.86 rpm の液体回転培養とした以外は (1) と同じである。培養期間は 1 か月とし、活着率は一部でも緑色部分のあるものを含めた場合と、大部分緑色であるものだけの場合の二つの基準で調べた。供試数は合計で Culminant で 18 芽、Momus 33 芽であった。また頂芽は供試しなかった。本実験の結果は第 2 表に示す。

まず Culminant についてみると、どの培養条件でもかつ変死した個体は少なく、固体培地でも活着率は 66% となり、培養体直下の寒天もあまり着色しなかった。また回転培養ではすべての培養体が活着したが、かつ変の著しいものが存在した。静置培養では 75% の活着率であった。

つぎに Momus についてみると培養条件が組織のかつ変に著しく影響を与えた。すなわちどの区でも活着率は 80% 以上であり比較的高い。しかし回転培養ではかつ変が比較的少ないが、固体と液体静置培養ではすべての個体が著しくかつ変した。この場合、培養初期に赤色色

Table 1. Effects of culture conditions on survival and growth of the excised meristem of C.Dinah.

Culture condition	Medium	1 month			2 months		
		Survival rate	Percentage success	Growth index	Survival rate	Percentage success	Growth index
Liquid shaking	BM+NAA(1 ppm)+CM	3/9	33	0.5±0.7	1/9	11	1.4±4.4
	BM+NAA(0.1 ppm)	4/8	50	1.0±1.3	2/8	25	2.4±2.8
Liquid standing	BM+NAA(1 ppm)+CM	5/10	50	1.2±2.2	1/10	10	2.4±2.7
	BM+NAA(0.1 ppm)	9/10	90	2.2±1.4	7/10	70	4.1±2.4
Solid (1% agar)	BM+NAA(1 ppm)+CM	4/10	40	2.5±1.7	1/10	10	1.4±3.0
	BM+NAA(0.1 ppm)	5/10	50	2.1±3.1	3/10	30	3.7±2.8

Table 2. Effects of culture conditions on survival and growth of the excised meristem of LC. Culminant var. L. T. and LC. Momus var. Bryndir.

Culture condition	LC. Culminant var. L. T.			LC. Momus var. Bryndir		
	Survival rate	Percentage success	Growth index	Survival rate	Percentage success	Growth index
Liquid rotating	4/4 (3/4)*	100 (75)*	2.7±1.4	12/13 (9/13)*	92 (70)*	3.1±1.1
Liquid standing	6/8 (6/8)	75 (75)	1.6±1.2	9/11 (0/11)	82 (0)	2.9±1.0
Solid (1% agar)	4/6 (4/6)	66 (66)	1.3±0.3	8/8 (0/8)	100 (0)	2.1±0.6

* Only when the cultured explants were calculated as survived that showed all tissues green except very small part of the tissue in brown color.

素が組織表面の全体に現われ、やがてかつ変していつた。このような赤色色素の形成は Culminant や Dinah ではみられない現象であった。

生長についてみると、両品種ともに回転培養で最も良く、ついで液体静置、固体培地の順となった。

3. バルブの各節位の芽と活着との関係

カトレヤのバルブは平均9節からなるが、下位から1〜3節ぐらいまではえき芽はなく、根が発生する。えき芽は約3〜6節のところで各節に1個ずつ形成される。そして最上位1〜2節に真葉が1枚ずつ存在するが、普通真葉は1枚が多く、2枚性の品種は一部に限られる。また頂芽は花芽に発達する。えき芽は一般に同一バルブ上で大小があり、自然では優勢な1個のえき芽のみが発育しやすい。本実験では各節位の芽を培養したとき、活着率に相違があるかどうかを目的として行なつた。芽は頂芽をAとし、以下上位節のえき芽から下へ向かつてL-1, 2, 3, 4(第1図)としたが、節位によつて存在しないものもある。培地はBM+0.1 ppm NAAとし、培養は液体静置で1か月行なつた。供試品種は LC. Culminant var. La Tuilerie で10バルブ用いた。本実験の結果

は第3図に示す。

活着率は頂芽Aで30%で最も悪く、ついでL-1, 4が約50%を示し、L-2, 3はそれぞれ90, 80%と最も良い。生長量もA, L-1で悪く、L-2が最もよかつた。なお採芽時の芽の大きさはL-2, L-3が最も大きく、しよう葉の枚数も多いが、L-1, 4は小さくしよう葉数も少ない。以上の結果から芽の大きさや各節位の芽により活着率が相違するものと考えられる。

4. 培地の種類 培地の組成によつて活着がどの程度影響されるかを目的として本実験を行なつた。培地の組成としてはつぎの4種を選び比較した。(A) RM-1962, (B), (A)-有機成分, (C), ナドソンC+(A)の有機成分, (D) ナドソンC, 以上4種の培地に0.1 ppm NAAとしよ糖30 g/lを共通して加えた。培養は液体静置とし、1か月間培養した。供試品種は LC. Momus var. Bryndir, C. Fabingiana var. Hibarigaoka, LC. Culminant var. La Tuilerie で供試数はそれぞれ22, 13, 11芽であつた。ただし頂芽は使用しなかつた。

Table 3. Effects of culture media on survival and growth of the excised meristem of LC. Momus var. Bryndir, C. Fabingiana and LC. Culminant var. L. T.

Medium	Meristem	Survival rate	Percentage success	Growth index
A. RM-1962	Momus	5/5	100	1.9
	Fabingiana	3/3	100	2.2
	Culminant	2/2	100	2.1
	(means)	(10/10)	(100)	(2.0±0.5)
B. RM-1962-organics	Momus	4/4	100	1.6
	Fabingiana	3/3	100	4.8
	Culminant	3/3	100	0.2
	(means)	(10/10)	(100)	(2.1±1.5)
C. Knudson C+organics	Momus	5/6	83	1.0
	Fabingiana	3/3	100	1.0
	Culminant	3/3	100	1.1
	(means)	(11/12)	(92)	(1.0±0.3)
D. Knudson C	Momus	4/6	67	0.4
	Fabingiana	4/4	100	0.2
	Culminant	3/3	100	0.3
	(means)	(11/13)	(77)	(0.3±0.2)

Fig. 3. Surviving ability and growth rate of the cultured meristems excised from shoot apex (A) and lateral buds (L-1~L-4). Curves 1; percentage success, curves 2; growth index.

第3表より本実験の結果をみると、活着率はRM-1962をベースとしたA, B培地のほうがナドソンCをベースとしたC, D培地よりもややすぐれている。ナドソンC培地はRM-1962の有機成分の添加により活着率は改善されるが、RM-1962培地では同培地の有機成分の有無に関係なく活着率はよく、すべての個体が活着した。一方生長指数は活着率とほぼ同じ傾向にあるが、処理間差異がより大きく示されている。すなわちナドソンCでは生長量は30%程度で発育が悪いが、同培地にRM-1962の有機成分が添加されると2倍に重量が増し、RM-1962では有機成分の有無に関係なく重量は3倍に達し、きわめて発育がよい。以上の結果から培地の無機成分の組成なり量が活着と、とくに発育に大きく関係しているものと考えられる。またRM-1962培地の有機成分も無機成分の条件が悪いと有効に働きうるように推察される。

さらに個々の品種についてみると、活着率はMomus以外はどの区でも100%であつた。生長指数はナドソンC培地ではどの品種も低かつたが、他の区では品種により異なり、培地成分に対する反応が品種により違うように思われる。

5. 品種による活着の差異

第4表の11品種を供試し、品種により活着率がどの

Table 4. The survival ability of the meristem excised from various species and hybrids of *Cattleya* alliance.

Species	One month*		Two months*	
	Survival rate	Percentage success	Survival rate	Percentage success
<i>Cattleya aurantiaca</i>	3/4	75	0/3	0
<i>Cattleya bowringiana</i>	1/6	17	0/1	0
<i>Cattleya trianae</i>	1/3	33	1/3	33
<i>Laelia flava</i>	2/3	66	0/1**	0
<i>Laelia pumila</i>	3/4	75	2/3	66
<i>Sophranitis grandiflora</i>	0/3	0		
Hybrids				
C. Fabingiana	7/7	100	7/7	100
C. Shirayuki	3/6	50	2/2**	100
BC. Princess Patricia	10/12	83	2/10	20
LC. Momus var. Bryndir	2/5	40	1/2	50
LC. Santa Claus	5/7	70	1/4**	25

* During the first one month the explants were cultured in liquid standing medium (BM+NAA 0.1 ppm) and then next one month cultured on solid medium (BM+NAA 1.0 ppm+1% agar).

** At the termination of experiment the number of explants decreased by contamination of fungi.

ように相違するかを調べた。まず最初の1か月間の培養はBM+0.1 ppm NAAの培地で液体静置とし、つづいてBM+1.0 ppm NAAの固体培地に移植し1か月間培養した。本実験の結果は第4表に示す。

本実験では供試数の少ない品種があり、品種間相互の比較は困難であるが、概して原種の活着率は悪く、交配種でよい傾向がみられる。とくにC. Fabingianaは活着率が1か月後でも2か月後でも100%を示し、どの培養体の組織もかつ変することはなかつた。しかし本品種の片親であるC. bowringianaの活着率はきわめて低かつた。

考 察

カトレヤ類では摘出した茎頂組織の切片の培養がやや困難で、とくに切片の活着が不安定である。本報では切片が培養後に活着し発育を開始するためにどのような条件が必要かを明らかにすることを目的とし、培養組織の活着に関係すると考えられる諸要因について実験を行なつた。このような目的の実験はカトレヤ類の組織培養による栄養繁殖法を確立するためにきわめて大切なことと思われる。

まず培養切片の摘出技術が活着を支配する一つの重要な要因になつていることはLindemann(1)がのべているが、筆者らもその重要性については経験的に認めている。すなわち、えき芽から切片を摘出するとき、手早く行なう必要がある。もし摘出操作に時間をかけると、組織が2~3分のうちにかつ変し始め、活着を著しくそこねることがある。かつ変物質の生成と組織の活着との関係については詳細に実験を行なつた報告はまだないが、培養体は概してかつ変部の拡大とともにえ死に向かう傾向がみられ両者がまったく無関係であるとは見受けられない。したがって摘出時の組織のかつ変を阻止することが必要である。その対策として第一に摘出の操作がしやすい材料を選ぶことが考えられる。その意味で本実験で供試したような発育段階の若い茎は茎部が柔らかく、しよう葉も生きていて雑菌の汚染も少なく、また節間もある程度伸長しているため、えき芽の摘出作業が比較的容易である。第二に摘出操作であるが、すでにのべたように、えき芽の背後から生長点部位を見定め摘出する方法は比較的簡単に素早く切片を摘出でき、生長点部を傷つけることもなく、簡便で適切な方法と考えられる。しかしこの方法は生長点だけの摘出や小さなえき芽を材料としたときには適さない。第三に摘出した切片を水中に浸し水洗する操作であるが、これにより切断面のかつ変を一時的に抑えたり、かつ変物質を洗い流す効果が考えられ、Lindemannも本操作を行なつている。

切片は置床の時点では乳白色であるが、活着すると思われるものは培養1週間ぐらいで緑色となり、また4週間後では培養体全体が肥大し、とくに緑色部の肥大が確認される。一方え死すると思われるものは、培養1週間で半透明なかつ色を呈する場合から、白色のままでとどまるかあるいははじめ緑色を呈していてものちに次第にかつ変が進みやがてえ死していくものまで、品種や個々の切片によりえ死の進み方が異なるようである。

オーキシン類はカトレヤの培養組織の活着や生育に不可欠なものと考えられる（第2図）。オーキシンがないと活着率は低く、CMを添加しても活着はよくならない。NAAと2,4-Dの最適濃度はともに単独で0.1 ppm、CMと共存する場合1.0 ppmであり、いずれもオーキシンの無添加区と比較すると5%レベルで有意差がある。Lindemann (1) は NAA の 3.9×10^{-9} M から 2.56×10^{-4} M の濃度を9段階に分けて比較しているが、最適濃度 5×10^{-7} M を得ている。Scully (8) と Reinert ら (6) は濃度処理実験は行なっていないが、それぞれ1.0 ppm、1.75 ppm の濃度の NAA を使用している。これらの諸報告と本実験結果を比較すると NAA の最適濃度は0.1～1.0 ppm ぐらいと判断される。なお本実験で CM 添加によりオーキシンの最適濃度が CM 無添加より高くなることは、CM 存在下での生長には多量のオーキシンが必要なのか、あるいはオーキシン高濃度の害作用を CM が緩和することによると考えられる。また長期間の液体培養で生長のさかんなものにえ死するものが見られたが、これは培養の初期に見られるかつ変死とは異なつた原因によるものと思われる。すなわち液体静置培養という嫌氣的条件下での培養による異常代謝産物の畜積によるものと思われる。

Lindemann (1) や Reinert ら (6) によると Kinetin はカトレヤ類の培養組織の生育にはあまり大きな効果がなく培養上不可欠な要素とは考えられないとしている。とくに Reinert らは Kinetin の添加が組織のかつ変を促進する結果を得ている。筆者らは茎頂切片の培養におけるサイトカイニンの作用はまだみてないが、活着後の増殖の段階で Kinetin の濃度効果を調べた結果、活着率は生長量、さらに形態的にもとくに目立つた効果はなかつた。NAA と Kinetin の各濃度を組み合わせた場合も同様で、Kinetin の 10 ppm までの濃度では形態的な変化は見られず、むしろカルスの形成されないことがとくに注目された。

カトレヤ類の培養では一般に液体振とう培養が行なわれている。固体培地では培養がうまくいかず、液体振とうでうまくいく理由として Scully (8) はつぎの4点をあ

げている。(1) 極性を抑えることにより生育反応を最大にする、(2) 殺菌、あるいは芽の摘出の際にできる生長阻害物をうすめる、(3) 通気をうながすことにより代謝がさかんになる、(4) 養分の供給を良くする。また Reinert ら (6) は固体培地では培養体はかつ変しやがて死ぬが、回転培養ではかつ変を減少させる一方生育に必要な酸素は十分供給されるとしている。実験2の結果では固体培地と振とう培養で著しいかつ変が起こり、液体静置、回転培養ではかつ変は少なく、活着も良好であつた。Scully, Reinert らは静置培養は行なっていないが、本実験の結果からすれば、かつ変を防止するには液体静置も効果がある。しかしこの方法は長期間の培養あるいは品種によつては適していないようである。回転培養と振とう培養の活着率の差は振とう数の差、0.86と90 rpm によるのではないと思われる。これらの諸結果を考えると、Reinert らのいう「かつ変は減少するが生育に必要な酸素は十分供給される」という条件は1 rpm 程度のおだやかな振とうあるいは回転によつて得られるのではないと思われる。

芽の節位の違いによる活着率あるいは生育の差は存在するように思われる。芽として形態を十分そなえた L-2, 3 の芽（第1図）が活着は良好である。しかし Scully (8) も言及しているように、カトレヤ類の芽は品種、摘出時期により生育反応に違いを示し、切片が置床されてからプロトコーム状球体を形成するまでの日数は同一シュートからとつた芽でもそれぞれによつて異なる。このようにたとえ同一品種であつても個々の芽で反応が異なり、実験結果の解釈を困難にしている。このような個体差の原因は不明であるが、今後活着過程における形態的、生理的現象を解明し活着に必要な要因をさらに深く検討する必要がある。

培地の組成は本実験に関する限り活着率に大きく影響することはなかつた。したがつてカトレヤ類では活着に関してはホルモンや培養条件あるいは品種、芽の位置など培地組成以外の要因のほうがより重要な因子になっているのではないと思われる。しかし活着以後の生育を考えた場合 RM-1962 が良好であり、同培地が現在のところ無難な培地であろう。

1, 2, 4, 5 の結果を比較した場合品種による培養の難易、すなわち品種間差異は存在する。2 の Dinah を用いた結果では CM 添加の効果は認められなかつた。Reinert ら (6) も同様に CM を添加すれば供試個体のすべてが活着せず阻害的に働くという結果を得ている。一方 Scully (8) は CM の添加は有効であるとしている。これは培地組成の違いによると思われる。すなわち彼の

使用した培地には糖とオーキシン以外の有機物質は含まれず、無機成分も比較的簡単で濃度も低い。また筆者らの1の結果ではCMの阻害効果は認められず、生育に好結果を与えるように見られた。これらの相反する結果は品種の違いも関係するように思われる。4の結果より、RM-1962培地の特性が高塩類濃度であると考えれば、MomusとFabingianaは有機成分と塩類濃度がCulminantは塩類濃度よりも有機成分が有効に働く品種のように思われる。実験結果1でCulminantがCM添加でよく生育したのはこのような性質によるのではないかと思われる。また供試した全品種のうちでFabingianaは極めて培養がやさしく、一方Momusは困難な品種であった。

以上の実験結果を総合的に判断すると、RM-1962+0.1 ppm NAAの液体培地で静置あるいはゆるやかな振とう培養を約1か月間行えばほぼ活着する。しかしその後の生育を考えた場合、培養中の死、あるいは極めて生育の遅いことは増殖を目的とする場合致命的な問題点である。したがって今後活着したのちの培養条件について検討する必要がある。

摘 要

カトレヤ類の茎頂培養による繁殖法の確立を目的として、茎頂組織を摘出して置床した場合、活着と生育に関係すると思われる要因の検討を行ない下記の結果を得た。

1. 茎頂組織の活着のためにはオーキシンの添加が不可欠であり、NAAと2,4-Dで最適濃度は0.1 ppmであった。

2. ナドソンC培地とRM-1962培地の比較では後者がすぐれている。オーキシン存在下でナドソンC培地でも活着するが発育が悪い。

3. 糖、オーキシン以外の有機養分は活着には大きな影響を与えないが、生育には概してよい結果をもたらす。しかしココナットミルクは活着に対し品種により多少異なる結果を与えたが顕著な効果はない。

4. 液体培地の静置、振とう(90 rpm)、回転(0.86 rpm)、および固体培地の4培養条件では液体静置、回転培養で活着率が良く、またかつ変もすくない。ほかの2条件では活着率も低く、かつ変も著しいことが確かめら

れた。

5. 同一バルブ上の芽の位置による活着率と生育の違いは存在し、頂芽では活着率は低い、上位から第3、4節位のえき芽ではよく活着する。

6. 活着の難易についての品種間差異が存在した。すなわち有機物質あるいは培養条件に対して品種により反応の違いが見られた。

謝 辞 本実験の遂行にあたり、御指導いただきました本学鳥潟博高教授ならびに同園芸学研究室の皆さんに感謝の意を表する。

引 用 文 献

1. LINDEMANN, E. D. P. 1967. Growth requirements for meristem culture of *Cattleya*. Ph. D. thesis, Rutgers Univ.
2. LINDEMANN, E. G. P., J. E. GUNCKEL, and O. W. DAVIDSON. 1970. Meristem culture of *Cattleya*. Amer. Orchid Soc. Bull. 39: 1002-1004.
3. MOREL, G. M. 1960. Producing virus-free *Cymbidium*. Ibid. 29: 495-497.
4. ———. 1964. Tissue culture: a new means of clonal propagation of orchids. Ibid. 33: 473-478.
5. MURASHIGE, T., and F. SKOOG. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15: 473-479.
6. REINERT, R. A., and H. C. MOHR. 1967. Propagation of *Cattleya* by tissue culture of lateral bud meristem. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 91: 664-671.
7. ROTOR, G. 1949. A method of vegetative propagation of *Phalaenopsis* species and hybrids. Amer. Orchid Soc. Bull. 18: 738-739.
8. SCULLY, R. M. 1967. Aspects of meristem culture in the *Cattleya* alliance. Ibid. 36: 103-108.
9. WIMBER, D. E. 1963. Clonal multiplication of *Cymbidiums* through tissue culture of the shoot meristem. Ibid. 32: 105-107.
10. WITHNER, C. L. 1959. Culture media and nutrient solution. p. 589-599. In: *The Orchids*. C. L. WITHNER, ed. Ronald Press, N. Y.