琉球大学学術リポジトリ

Dendrobium nobile 幼苗の生育に及ぼす培地における窒素形態の影響(農学科)

メタデータ	言語: Japanese
	出版者: 琉球大学農学部
	公開日: 2008-02-14
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 上里, 健次, Uesato, Kenji
	メールアドレス:
	所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/4364

Dendrobium nobile 幼苗の生育に及ぼす培地における窒素形態の影響

上　里　健　次*

Kenji UESATO : Effects of different forms of nitrogen sources in the culture media on the growth of Dendrobium nobile seedling

I　緒　　言

ラン科植物の初期生育に見られる特殊性の一つは，はっきりしたprotocormの過程が存在していることである。Protocormは厳密には，種子発芽後に形成される未分化の球状の組織をさすのであるが，実際には緑色を帯びる頃からすでに方向性は明確になっているものである。Protocormは幼芽，幼根の発生を経て完全な幼苗になるが，それまでにはかなりの期間が必要であり，養分吸収についても根の有無と関連して，発根の前後では大きく異なるのではないかと思われる。これらに関しての報告は著者の知る限りでは極めて少ない。前報につづいて，ここではDendrobium nobileの幼苗を材料にして，窒素養分の形態と濃度の影響について調査した結果をとりまとめた。

II　実験材料および方法

供試材料はDendrobium nobile（king george × TO－12）の種子をあらかじめKnudson Cの培地には種し，発芽させて使用した。幼苗は生育の程度によって2段階に分け，便宜的に未発根のものを苗令I，すでに発根しているものを苗令IIとして取り扱った。苗令Iの材料は，は種後10週間を経過したものの中から，また苗令IIの材料については，は種後25週を経たものの中から根が出ていて，しかも発育のほぼ同程度のものをそれぞれ選び出して使用した。

実験1および2の窒素養分の形態と濃度の影響の試験区については，$NH_4 + NO_3$区，NH_4区，NO_3区，および尿素形態区のそれぞれ50，100，200，300，400，㎎区を設定した。また実験3のNH_4とNO_3の割合の影響については，比率をNO_3の10から0までの10段階に分けて培地を作成した。

培地作成に当っては，窒素成分を除いたKnudson C液にNitschの微量要素液1㎖／lを加えたものを基本培地として準備し，それぞれ窒素成分の所定量を加えて試験区とした。なお，基本培地中の$Ca(NO_3)_2$のCaについては$CaCl_2$で代用したが，高濃度のNO_3区についてはことさら補正はしなかった。培地のPHは5.2，寒天の濃度は12㌘／lとし，オートクレーブでの滅菌は1.05㎏／㎠（120℃）の20分間とした。培養は25℃恒温室で植物育成用ランプの約1200 lux下で行ない，24時間の連続照明とした。培養期間は20週とし，各区とも100㎖三角フラスコに12～15本ずつ置床したものの2連について調査した。

* 琉球大学農学部農学科
琉球大学農学部学術報告　21：73～81（1974）

Ⅲ　実　験　結　果

実験1　発根前の幼苗の生育に及ぼす窒素の形態と濃度の影響

は種後10週を経て幼芽がprotocormからわずかに出た程度の幼苗を材料にして，それぞれの実験区の培地に置床し，20週間生育させて調査した結果は第1図，および第1表のとおりである。なお実験開始時における供試材料と同程度の苗の生体重は，5本当りで1.9±0.3㎎であった。第1図は平均生体重について，また第1表は同材料についてそれぞれ草丈，葉数，分枝数，根数，根長の平均値をまとめたものである。なお分枝数については，ここでは葉が完全に展開しているものを対象にした。Dendrobium nobileは複茎性のランであるために，初期幼苗の場合でも，一度pseudobulbが肥大すると上への伸長は停止し，側芽が動き出して次のバルブを形成するというように横に伸びていくものである。従って，分枝数が多いということはそれだけ生長のサイクルが進んだということを意味し，特に開花まで長期間を必要とするラン科植物にとっては，生長をチエックする指標として適当なものと思われる。

結果についてそれぞれ比較すると，まずNH_4区については，第1図および第1表に示されているように生育は全般に不良であった。50㎎区でかろうじて生育しているという程度で，それ以上の濃度になると大部分枯死してしまい，従って単独の窒素源としてNH_4を利用することは不可である。それにひきかえ，NO_3区は50㎎区を除く他の濃度区で比較的順調な生育状態を示した。生体重や葉数，根数あるいは葉色の点などから，十分でないまでも単独の窒素源としての利用は，苗令Ⅰの苗ではさしつかえないのではないかと判断された。

NH_4とNO_3を同量ずつ含んだ区では総じて生育は最も良好であった。普通の培地の2倍の濃度である400㎎区でも，枯死株や枯死葉が多くなるなどの濃度障害は見られず，生体重についてはむしろ400㎎区で最大の値が得られた。50㎎区で根の発生が多く，特に根がとびぬけて長かったということと併せて注目すべきことといえよう。

尿素区については，200㎎区以下ではNO_3を含む区とほぼ同様の生育を示したが，高濃度区になると幼苗は十分に生育せず，400㎎区では80％以上の枯死率を示した。

以上のまとめとして，Dendrobium nobileのまだ根の出ていない苗に対しては，窒素源としてNH_4態窒素を利用することは不適であり，尿素の高濃度もまた同様であることがわかった。しかし，NH_4とNO_3が同時に培地に存在すれば，広い範囲の濃度にわたって十分に生育することができるということもわかった。またNO_3も単独の窒素源としての利用は可能であり，尿素についても低濃度ならば利用できるということも示された。

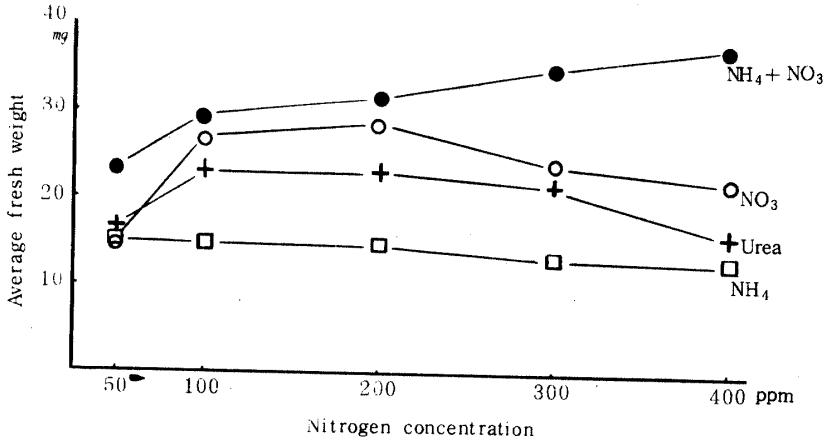

Fig. 1 Effects of various forms and concentrations of nitrogenous nutrients upon the growth responses of Dendrobium nobile seedlings (not yet rooted)

Table 1 Effects of various forms and comcentrations of nitrogenous nutrients upon the growth responses of Dendrobium nobile seedlings (not yet rooted)

Growth period ; From Apr. 9 through Aug. 20, 1969

Nitrogen source	Nitrogen conc. ppm	Plant height mm	Number of leaves	Number of shoots	Number of roots	Total length of roots mm	Death rate %
$NH_4 + NO_3$	50	12.5±1.6	2.9±0.7	1.3±0.4	2.9±0.7	38.8	6.1
	100	13.1±1.4	4.7±0.5	1.6±0.4	2.5±0.5	21.2	2.6
	200	14.3±1.7	5.4±0.8	1.7±0.4	2.6±0.5	12.9	2.2
	300	16.8±3.1	6.1±1.0	1.8±0.3	2.8±0.6	13.5	9.7
	400	17.3±2.7	6.2±0.7	2.0±0.7	2.3±0.7	7.6	7.9
NH_4	50	10.8±1.1	3.8±0.7	1.3±0.4	2.7±0.8	13.9	6.3
	100	9.9±1.5	3.2±0.3	1.0±0	1.6±0.7	3.1	54.8
	200	9.4	3.5	1.3	0	0	86.7
	300	8.1	2.5	1.0	0	0	88.9
	400	8.0	2.3	1.0	0	0	89.7
NO_3	50	9.9±1.3	4.3±0.4	1.4±0.5	2.4±0.4	16.4	3.3
	100	13.3±1.7	5.1±0.7	1.7±0.4	2.5±0.8	22.5	4.0
	200	14.6±1.7	5.6±0.8	1.8±0.3	2.4±0.7	14.8	3.3
	300	16.7±2.5	6.4±0.9	2.0±0.3	1.8±1.1	6.8	8.3
	400	14.9±1.5	5.4±0.7	2.0±0.3	1.7±0.7	6.2	3.2
Urea	50	13.0±2.9	4.9±0.4	1.5±0.4	1.9±0.5	14.5	4.4
	100	17.9±2.4	6.1±0.9	1.9±0.2	1.7±0.5	12.1	2.2
	200	16.6±2.8	6.6±0.9	2.1±0.2	1.9±1.1	7.3	13.4
	300	14.0±1.9	5.1±0.8	1.7±0.4	1.7±0.7	6.9	18.8
	400	10.8	4.3	1.3	0.5	1.9	83.3

N. B. ±values represent the confidence limit of the mean value at 95% level.

実験2　発根後の幼苗の生育に及ぼす窒素の形態と濃度の影響

試験管の中で25週間生育させた苗の中から根が1～2本（約5㎜長）出て，しかも生育程度の同じような苗（5本当り生体重10.4±3.5㎎）を選び出し，それぞれの実験区に置床して培養した結果は第2図および第2表に示したとおりである。

第2図および第2表から実験結果を比較検討すると，NH_4のみの窒素源区では，発根前の苗令Ⅰの場合と同じくここでも生育は極めて不良であった。枯死率では前者よりいくらか緩和されているものの，やはりNH_4のみを窒素源として用いるのは，発根後の苗においても極めて不良であるということが確かめられた。NO_3単独区については，比較的良好に生育しているものの葉色がやゝ淡く，この傾向は特に低濃度区において強かった。またこの窒素形態では根の発生が多く，根長の著しい増加が目立った。

NH_4とNO_3が同時に培地に存在すれば，幼苗の生育は極めて良好であるという結果は，この発根後の苗においても見られた。しかしその中で50㏙の低濃度区では窒素養分の絶対量が不足しているために，分枝数が少なく生体重も著しく劣っていた。

尿素区については，発根前の幼苗に対しては生育を阻害して窒素源としては不適であったのに対して，発根後の苗を対象としたここでの実験では，NH_4＋NO_3培地区と同じく50㏙区を除くすべての区で生育は良好であった。特に分枝数が多く，また分枝のしかたが通常の，旧バルブの肥大後に新芽の発生，伸長が見られるというケースと異なって，同時に萌芽している点が目立っていた。このような分枝数増加の影響が第2図における尿素区の平均生体重の値が大きい結果にあらわれている。いずれにしても発根の前後で全く逆の結果が得られたことは興味ある現象であると思われる。

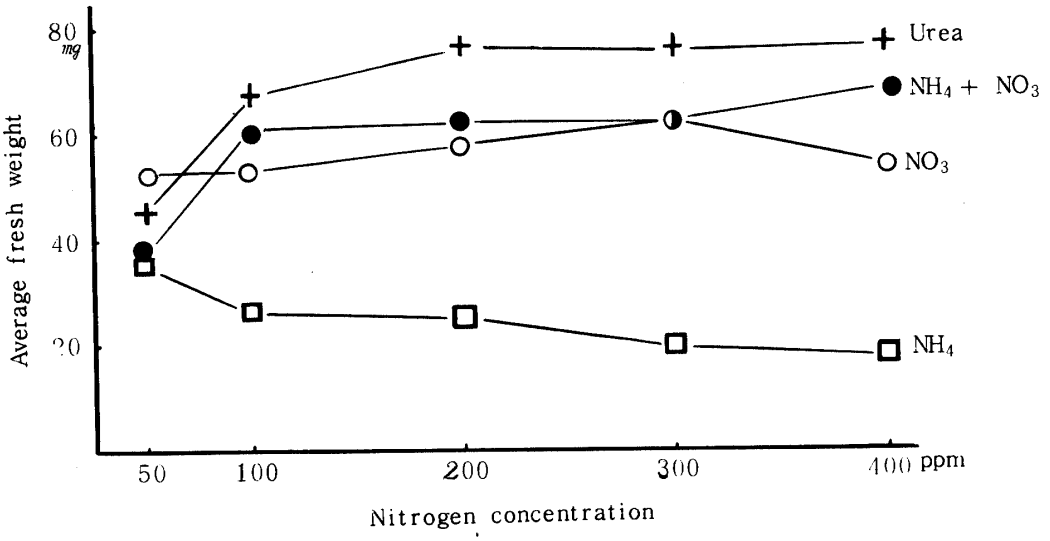

Fig. 2　Growth responses of Dendrobium nobile post-rooting seedlings grown under various nitrogen compounds of different concentrations

Table 2 Growth responses of Dendrobium nobile seedlings (post-rooting) grown under various nitrogen compounds of different concentrations.

Growth period; From June 5 through Nov. 23, 1969

Nitrogen source	Nitrogen conc. ppm	Plant height mm	Number of leaves	Number of shoots	Number of roots	Total length of roots mm	Death rate %
NH_4+NO_3	50	18.6±5.2	11.6±4.4	2.4±0.7	4.8±2.7	36.3	13.6
	100	26.0±3.6	12.0±1.0	2.5±0.5	4.9±1.9	69.0	0
	200	30.9±4.6	12.4±2.8	3.0±0.8	5.6±1.5	67.1	0
	300	27.9±3.1	15.7±2.7	3.6±0.6	5.0±1.8	47.4	0
	400	26.8±4.9	15.2±3.1	3.7±1.0	5.6±2.5	40.8	0
NH_4	50	16.0±3.0	11.2±1.8	3.2±0.7	3.4±1.0	23.9	26.1
	100	12.3±1.9	8.1±1.5	2.8±0.6	3.0±1.1	20.0	45.6
	200	11.7±1.8	6.9±1.9	2.6±1.0	1.7±0.7	15.1	65.0
	300	10.3±1.0	6.5±1.1	2.5±0.7	2.0±0.7	12.4	73.9
	400	10.0	6.5±	2.3	1.5	9.1	81.0
NO_3	50	19.9±3.0	12.7±2.7	3.2±0.7	6.3±1.7	121.0	0
	100	21.4±4.4	13.3±2.8	3.2±0.6	5.0±3.0	53.9	0
	200	26.7±2.6	13.7±1.7	3.0±0.5	4.3±1.2	34.3	0
	300	31.8±8.2	15.7±2.6	3.5±0.7	4.2±1.1	29.7	0
	400	27.0±4.2	15.9±4.4	3.3±1.1	3.9±1.3	24.8	0
Urea	50	25.6±3.7	13.0±4.4	3.2±2.2	4.0±2.6	32.3	0
	100	27.4±4.5	15.8±5.5	3.6±2.9	4.6±2.1	32.0	0
	200	30.2±6.3	15.4±2.5	3.7±0.8	5.6±3.0	36.9	0
	300	27.6±4.5	14.0±2.9	3.6±1.0	4.4±0.5	25.6	0
	400	26.6±3.3	20.2±4.4	4.9±1.1	4.7±1.7	26.7	4.2

N.B. ± values represent the confidence limit of the mean value at 95% level.

実験 3 幼苗の生育に及ぼすNH_4とNO_3の割合の影響

実験1および2で，窒素源をNH_4に限ると幼苗の生育は極めて悪いが，NO_3も同時に培地に存在すれば逆に好ましくなるということが見られたので，ここではこの両者の窒素形態の割合の及ぼす影響について調査した。なお窒素の濃度については両者をあわせて200ppmとした。その他の成分および培地の作成については実験1と同様である。

まず苗令1の材料についての結果を見ると第3図および第3表に示されているように，生体重についてはNO_3とNH_4の比が4：6の区で急に落込み，これよりNO_3の割合が少なくなると，生育の回復は見られなくなった。また枯死率はNO_3の割合が60%より少なくなると急に増大し，NH_4のみの区では88%であった。一般に生体重や草丈，茎葉と根とのバランス，葉色の点なども含めて比較すると，Dendrobium nobile の発根前の幼苗に対しては，NO_3とNH_4の比の8：2の組合わせが最適であった。

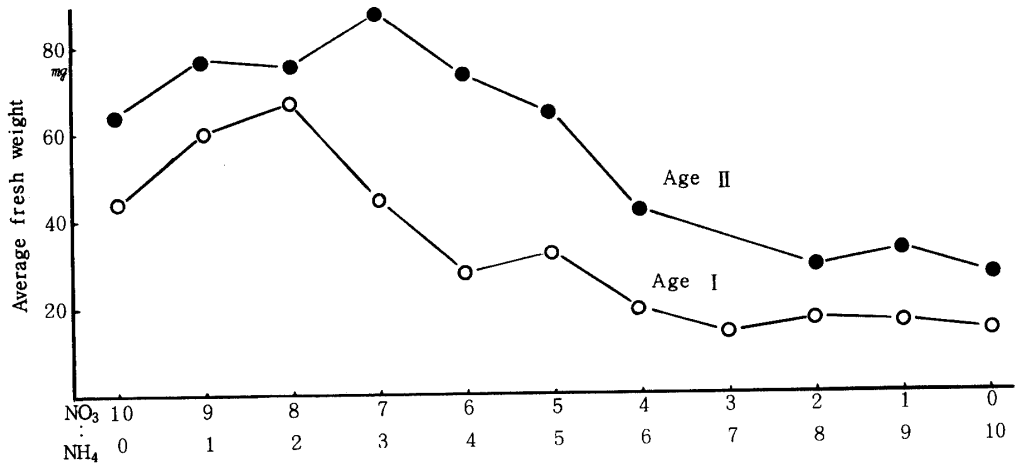

Fig. 3 Effects of different ratios of NH_4 : NO_3 upon the growth of Dendrobium nobile seedlings at two stages

Table 3 Effects of different ratios of NH_4 : NO_3 upon growth characteristics of Dendrobium nobile seedling at two stages.

Growth period ; From Dec. 11, 1969 through May 2, 1970

Growing stage of seedling	Ratio of NH_4 : NO_3	Plant height mm	Number of leaves	Number of shoots	Number of roots	Total length of roots mm	Death rate %
Age I	0 : 10	9.3	6.7	2.0	3.0	9.0	88.0
	1 : 9	8.0±3.1	4.8±1.8	1.6±0.3	2.0±0.5	4.8	69.2
	2 : 8	8.3±3.0	4.9±1.3	1.7±0.5	2.0±0.8	8.9	70.8
	3 : 7	7.9±3.5	5.6±2.0	2.0±0.4	2.3±1.1	9.3	72.0
	4 : 6	8.6±3.3	5.9±2.2	2.1±0.4	1.9±0.9	8.8	48.2
	5 : 5	10.1±2.6	7.0±2.7	2.7±0.5	2.3±0.9	8.6	23.5
	6 : 4	11.5±2.4	6.8±2.4	2.3±0.6	1.9±1.0	8.7	27.6
	7 : 3	18.1±3.6	10.3±5.5	2.3±0.5	3.3±0.7	17.0	8.3
	8 : 2	24.1±7.3	11.8±3.4	2.8±0.6	3.9±1.7	45.1	6.5
	9 : 1	19.8±6.4	12.0±3.0	3.6±1.2	4.2±1.4	35.8	3.5
	10 : 0	12.5±2.0	8.5±1.0	2.5±0.6	3.4±0.6	11.6	7.1
Age II	0 : 10	12.0	5.5	1.6	1.3	8.5	87.5
	1 : 9	16.4±8.3	6.4±2.3	1.2±0.8	1.7±0.9	10.8	66.7
	2 : 8	14.3±5.6	5.2±1.5	1.3±0.6	1.5±1.0	10.5	78.3
	3 : 7	*					
	4 : 6	17.5±3.7	6.4±1.3	2.0±0.5	2.3±0.5	17.3	34.8
	5 : 5	30.8±2.7	10.3±1.9	2.5±0.5	3.8±0.7	29.8	20.0
	6 : 4	35.2±3.8	13.5±2.0	2.8±0.7	4.3±1.0	38.5	8.3
	7 : 3	38.4±4.5	15.6±2.9	3.1±0.9	4.8±1.1	52.6	4.2
	8 : 2	36.5±3.7	13.5±3.1	2.9±0.9	3.7±0.8	40.3	0
	9 : 1	36.0±5.1	14.2±2.7	2.9±0.7	3.8±1.1	37.3	0
	10 : 0	30.3±4.3	9.0±2.6	1.8±0.8	2.5±0.8	34.5	4.2

N.B. ±values represent the confidence limit of the mean value at 95% level.
* Discarded under contamination.

発根後の苗令Ⅱの苗に対しても，おおまかな傾向としては苗令Ⅰの場合と同様であった。しかし，生体重の急激な落込みがNO_3の40％の点で見られたこと，また，NH_4に対するNO_3の比が5以上になると総じて良好な生育が見られたことなどから，NH_4に対する適応性が発根前の苗よりも大きくなっているものと思われる。

Ⅳ 考　　察

前報では，Cattleyaの幼苗を2段階に分けて，それぞれに対する窒素養分の形態と濃度の影響を調べ，その結果，生育ステージの進展に伴って吸収利用できる範囲が形態および濃度の面で拡大することを確かめた。ここでは同様の考えをDendrobium nobileの幼苗にあてはめて，同じような関係を調査，検討した。

一連の実験で最も目立ったことの一つは尿素に対する反応の仕方である。前報のCattleyaの場合と同じく，Dendrobium nobileの場合にも，protocormから芽が動き出した程度でまだ発根していないステージの幼苗と，発根して完全な植物体を形づくった後の苗とでは，生育反応が全く異っていたことである。このことは当然，尿素の吸収力が両者で大きく異なっていることを示しており，さらに尿素吸収に伴なうオルニチン代謝に関する酵素の活性がprotocormのステージでは十分でないということも意味しているものと思われる。

NH_4とNO_3に関しては，Dendrobium nobileの幼苗に対して，それぞれを単独に窒素源として使用すると，NH_4は全く不可であるが，NO_3にしても平均的な結果しか得られなかった。これに反して，両形態の窒素が同時に培地に含まれると幼苗の生育は極めて良く，濃度が2倍になっても阻害作用は見られなかった。単独では不良で併用すると良好ということは興味深いことであり，このことはたぶんに寒天培地内におけるイオンのバランスが，窒素養分吸収後もつりあっているためではないかと思われる。

NO_3とNH_4の比率の及ぼす影響については，総じて両者が5：5の割合よりも，前者の割合の多い方が生育結果は良く，最も大きな値は発根前の幼苗でNO_3の80％，発根後の幼苗で70％の区で見られた。つまり苗令が進むことによっていくらかNH_4側に移行したことになり，このことは同時にNH_4の吸収利用がいくらか可能になったということを意味しているものと思われる。

また発根した苗を材料にした，尿素高濃度区で分枝数が増加していることが観察されたが，このことは生長促進の問題と関連して興味あることと思われる。Dendrobium nobileは生態的な特性として，複茎性の生長様式をもっているが，この性質は成株ばかりでなく試験管内における初期生育においてもみられるものである。新芽の発生，伸長，バルブの肥大，さらに新芽の発生というように生長サイクルが進行するのが複茎性ランの生長様式だが，このことを考慮して，一サイクルの期間を何らかの方法によって縮めることができれば，幼苗期間の短縮に効果的になるものと思われる。尿素による分枝数の増加が直接にこの問題につながるのかどうか，さらに他の養分との関係なども含めて検討を進めていきたい。

Ⅴ 摘　　要

Dendrobium nobile（King george × TO－12）の初期幼苗を発根前と発根後の2段階に分け，それぞれに対する窒素養分の形態と濃度の影響を調査した。

1. 発根前の幼苗の生育に対して最もよい結果はNH_4とNO_3の併用区で得られた。ついでNO_3単独区がよく，NH_4のみの区は生育を阻害した。発根後の幼苗に対してもほぼ同様の傾向が見られた。

2. 尿素態窒素は，発根前の幼苗に対しては生育を阻害したが，発根後の苗に対しては生育を促進し，

むしろNH_4，NO_3併用区よりもよい結果が得られた。

3. 同一培地の中におけるNO_3とNH_4の混合割合についての，生育に対する最適比率は，それぞれ発根前の苗では8：2，発根後の苗では7：3であった。

謝　辞

本研究は，九州大学大学院農学研究科園芸学教室在学中に実施したものである。研究の過程で種々ご教示いただいた上本俊平教授，ならびにご校閲していただいた琉球大学農学部福島栄二教授に深く感謝します。

文　献

1. Arditti, J. 1967 Factors affecting the germination of orchid seeds. Bot. Rev. **33**：1－97
2. Kano, K. 1965 Studies on the media for orchid seed germination. Mem. Fac. Agr. Kagawa Univ. 20
3. Knudson, L. 1922 Nonsymbiotic germination of orchid seeds. Bot. Gaz. **73**：1－25
4. Lugo, H.L. 1955 The effect of nitrogen on the germination of *Vanilla planifolia*, Amer. jour. Bot. **42**：679－684
5. Raghavan, V. 1964 Effects of certain organic nitrogen compounds growth in vitro of seedlings of cattleya. Bot. Gaz. 125：260－267
6. Raghavan, V., and Torrey, J.G. 1964 Inorganic nitrogen nurition of the seedlings of the orchid cattleya. Amer. Jour. Bot. **51** (3)：264－274
7. Rappaport, J. 1954 In vitro culture of plant embryos and factors controlling their growth. Bot. Rev. **20**：201－225
8. Spoerl, E. 1948 Amino acids as sources of nitrogen for orchid embryos. Amer. Jour. Bot. **35**：88－95
9. 上里健次，上本俊平 1970 ラン幼苗の生育と培地における窒素形態について 昭和45年園芸学会九州支部会発表要旨 34
10. 上里健次 1973 Cattleya 幼苗の生育に及ぼす培地における窒素形態の影響 琉大農学報 **20**：1～12
11. Withner, C. L. 1959 Orchid physiology. The Orchid a scientific survey. Ronald press, New York 315－360

Summary

Studies to make clear the effect of forms and concentrations of nitrogenous nutrients upon the growth of Dendrobium nobile (King George x TO－12) seedlings, at their not yet rooted (Age I) as well as at their

ting (Age II) stages, were carried out using aseptic culture techniques. Results obtained are briefly summarized in the following;

(1) The best growth could be detected when Age I (not yet rooted) seedlings were grown in the medium containing both NH_4 and NO_3 as nitrogen sources. Those grown in the medium containing NO_3 exclusively came next to the above, showing somewhat retarded growth responses. Those growth in the medium with only NH_4 showed, in turn, a certain inhibition in their growth. Quite similar situation was also observed on the growth responses of Age II (rooting) seedlings.

(2) In the medium containing urea as nitrogen source Age I seedlings showed definite inhibition in their growth so far as the high concentrations were used, but the growth of Age II seedlings in the same medium was fairly good, in contrast, revealing that there occurred even a more advanced promotion of growth as compared to those grown in the favorable medium containing both NH_4 and NO_3.

(3) The most favorable of Age I seedlings could be obtained in the medium containing both NH_4 and NO_3 nitrogens at the ratio of 20 : 80, and for Age II seedlings the most preferable ratio became, in turn, to be 30 : 70.