

薬用植物種子の研究(第2報)¹⁾

シャクヤクの発芽についての胚培養による検討(1)

米田該典, 太田由喜代, 辻本節子²⁾大阪大学薬学部³⁾Seed Biology of Medicinal Plants. II.¹⁾The Studies on the Germination of *Paeonia albiflora*
PALLAS. by Embryo Culture. (1)KAISUKE YONEDA, YUKIYO OHTA and SETSUKO TSUJIMOTO²⁾Faculty of Pharmaceutical Sciences, Osaka University³⁾

(Received August 22, 1974)

Embryo culture of *Paeonia albiflora* PALLAS was made for knowing the state of embryo in the germinating term. Embryoes were taken out from sterilized seeds, and embedded on Nitsch's medium, and were incubated. As the result, the following properties became clear. The temperature desired for radicle elongation of embryo is about 20~25°C. The radicle starts elongation in 7~10 days after embedded on but seed cold stored takes more. The dormancy of hypocotyl is caused by embryo, and is broken by 10~100 µg/embryo of gibberellic acid.

シャクヤク種子の発芽に長時間を要する大きな要因に、発根後の上胚軸の休眠がある。この休眠の由来を知り、発芽時の胚の状況を知るために胚培養をおこなった。また、種子の発芽はジベレリンにより促進されることが確認される³⁾ので、胚についてジベレリンによる発芽促進およびその他の因子の発芽促進に対する影響についても検討した。

材料および方法

I. 材料 種子は、国立衛生試験所北海道薬用植物栽培試験場(北海道名寄市)において栽培して得たもの(1972, 1973年採種)その時の形態は前報の通りである。

II. 方法 種子を30% NaOCl 溶液で10分間消毒した後、1~2日滅菌水に浸し、その胚を摘出して用いる。胚は培地に埋め込んだ場合と表面に置いた場合とでは、明らかに後者の方が結果が良好であったので、以下の実験は全て表面に置床した。これをインキュベーターに入れ、10°C, 20°C, 25°C, 30°C で暗黒で培養した。

胚が肥大した後、幼根が伸長を開始したと認められる段階を発根とし、本葉の頂芽が明りょうに認められる段階を発芽とした。通常では、この発芽後、上胚軸は休眠し伸長を認めない。

III. 培地

Nitschの胚珠培養用培地⁴⁾およびWhiteの培地⁵⁾で予試験を行ない、培養経過をみたが、Nitschの培地の方が良好であった。以下の実験は全てNitschの無機塩、ビタミン、アミノ酸、5%ショ糖、0.8%寒天でおこなった。寒天をNitschの考案通り1%とすると、培地が固くなり、シャクヤクの胚には不適當であるので、0.8%とした。

1) 前報, 米田該典, 太田由喜代, 辻本節子, 生薬, 29, 1 (1975)

2) Location: Yamadakami, Suita, Osaka

3) 詳細は続報の予定

4) Nitsch, J.P. and C. Nitsch, *Amer. Journ. Bot.*, 43, 839 (1956)

5) White, P.R., "The Cultivation of Animal and Plant cells," 1954, Ronald press

6) Golubinskaya, E.S., Kult's Izolirovannykh Organov, *Tkanei Kletok Rast.*, Tr. Vses. Konf., 1st 36 (1968) [C.A. 74, 95691r (1971)] なお、用いた種は不明である。

Golubinskaya は実生苗の育成に胚培養の利用を試みている⁶⁾が、その際に用いた培地では寒天を 2% としている。これでは培地が固くなり、不適當と考えられる。滅菌はオートクレーブ (120°C, 2 気圧, 30 分) で行なった。

IV. ジベレリンによる影響

培地にジベレリン溶液 (1 ppm, 10 ppm) を加え、上記の方法で培養した。実験には協和発酵製の gibberellin A₃ を用いた。

V. 低温処理

1973 年産、採取後 140 日間 4°C で保存した種子の胚を同ように培養した。また、胚培養にて 20°C, 25°C において発根した胚を発根後約 15 日目より 10 日間, 20 日間 4°C で処理した後 20°C にもどして培養を続けた。

VI. 乾燥による影響

吸水完了後 (7~10 日で完了)⁷⁾の種子、および 1972 年産で大阪豊中にて室温保存した種子の胚を培養した。

実験結果

I. 至適温度 Fig.1 TABLE 1

25°C の条件では、10~23 日後に発根し、発根率も高い。25°C では発根開始期には差はみられないが、発根率はやや低い。さらに 10°C では 30 日経過後も発根は認められない。20°C, 25°C, 30°C では、置床後 40~60 日後に発芽を開始するが、わずかに先端をみせるだけで、その後は休眠し、成長を認めない。30°C においては子葉は肥大成長するが、根の伸長はみられない。

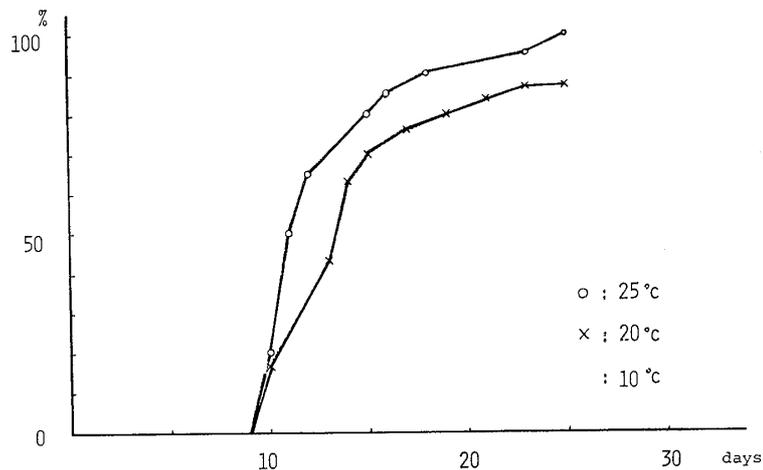


Fig.1. The Effect of Temperature on Radicle Elongation

TABLE 1. Effect of Temperature on the Germination of Embryos (Cult. for 40 days)

Temperature	Samples	Growth of Cot.	Radicle Elongation	Germination
10°C	10	0	0	0
20°	30	30	27	12
25°	20	19	19	10
30°	10	10	0	0

II. ジベレリンの影響 Fig.2 TABLE 2

発根については、1 ppm 添加群は対照群と差を認めない。10 ppm 添加によって少し早くなっている。発芽には大きな効果がみられ、上胚軸の休眠はなく、本葉の伸長が認められる。本葉の頂芽の伸長についても、1 ppm 添加群より、10 ppm 添加群の方が早い傾向にある。

III. 低温処理 Fig.3 TABLE 2

種子の段階で低温処理した胚では、発根が遅れ、発芽は全く認められない。発根後 10, 20 日間の低温処理した胚では、本葉の頂芽伸長はみられなかった。

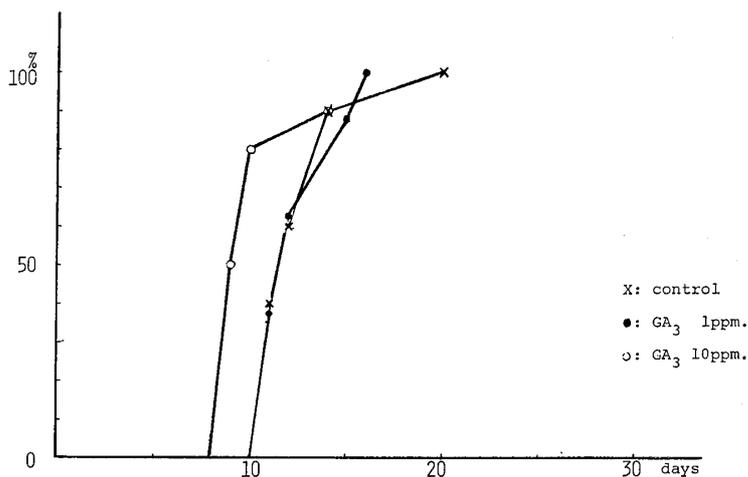


Fig. 2 The Effect of GA₃ on Radicle Elongation

TABLE 2. Effect of GA₃ and Low Temperature Storage on the Growth of Embryos (Cult. for 40 days at 20°C)

Medium	Samples	Growth of Cot.	Radicle Elongation	Germination
Nitsch	10	10	10	8
N.+GA ₃ •1 ppm	8	8	8	7
N.+GA ₃ •10 ppm	10	10	9	9
N. 4°C 140 days	9	9	8	0

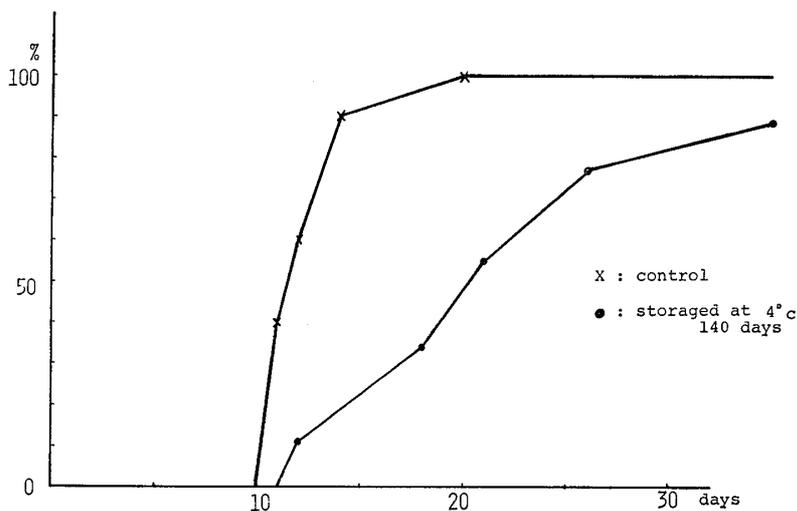


Fig. 3. The Effect of Stored at Various Conditions on Radicle Elongation

IV. 乾燥による影響

完全吸水後の種子の胚は、対照群より、発根が早くなる傾向にある。1972年産種子の胚は25日目に発根を開始したものを1個認めたが、他の胚は肥大成長を認めなかった。

考 察

シクヤクの胚培養の適温は20~25°Cである。Golubinskayaは26°Cにて培養をおこなっているが妥当であると考え。種子の発根適温が20°C前後であるのに比べ、やや高めであるが、種子中の温度は、表面より高くなると考えるとほぼ合致した結果である。

発芽の開始は、特に処理をほどこすことなくおこる。種子中においても、発芽の開始はおこなわれていることが、解剖により明らかである。胚培養の場合も、発芽期において上胚軸の休眠がみられることから、この休眠はたしかに胚自身に起因していると考ええる。

II の実験からジベレリンにより、シャクヤク種子の上胚軸の休眠が破られることが実証された。その濃度について、Barton⁷⁾ は同属の *Paeonia suffruticosa* の種子の発芽には、1~100 $\mu\text{g}/\text{seed}$ で有効であると報告し、本実験で用いた 1~10 ppm \times 10 ml/embryo の濃度とほぼ一致している。

低温処理については、発根前に処理すれば逆に、発根、発芽遅延をもたらすことが明らかである。発根後も 10~20 日程の処理では効果は認められない。Barton は種子では 2~3 カ月間の処理で有効としているので、胚においても、より長期間の処理による効果を検討中である。

1972 年産種子の胚は、成長を示すものは少ないが、乾燥によるものであるかどうか疑問である。種子においても、発根期に影響する因子として乾燥と共に温度を重要視すべきであることから、保存温度の要因を無視できない。

胚培養では 10 日前後から発根を開始するのに対し、種子の発根には 40 日以上かかることなどから、発根に、胚乳および種皮の影響を検討する必要がある。

謝 辞： 試料を提供された国立衛生試験所北海道薬用植物栽培試験場、本間尚治郎場長、堀越司技官に深謝する。

7) L. V. Barton and C. Chandler, *Contributions from Boyce Thompson Institute*, 19, 201 (1957)