

ガンマー線照射したオウレンの胚様体における ベルベリン含量の変異

Variation of berberine content in embryoid of *Coptis* spp. irradiated by γ -ray.

薬用植物には生育が遅く、通常の育種法の適用が困難なものが少なくない。しかしその安定な生産のためには栽培特性と成分含量の両面の改良が必要である。ベルベリンを主要成分とするオウレンについて、組織培養と放射線照射を組合わせた育種法の開発を試みた。

コセリバオウレン (*Coptis japonica* var. *major* SATAKE)、セリバオウレン (*C. japonica* var. *dissecta* NAKAI)、セリバ型キクバオウレン (*C. japonica* MAKINO) の3系統を用い、カルスの誘導にはMS基本培地に2,4-D (10^{-5} M)、NAA (10^{-4} M) およびBAP (10^{-6} M) 等の植物ホルモンを添加した、蔗糖2~3%、寒天0.9%を含むpH5.4の固形培地を用いた。 γ 線の照射は放射線育種場のガンマーフィールド(緩照射)またはガンマールーム(急照射)で行なった。

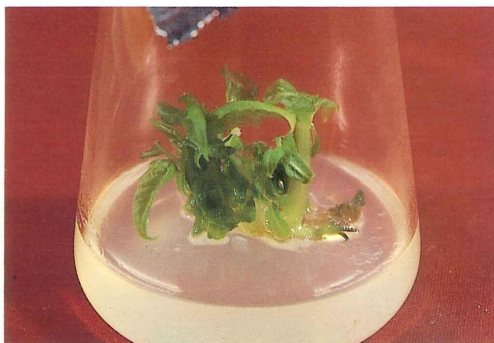
これらの材料に由来する胚様体等についてベルベリン含量の変異を調査した。その結果葉身から誘発したカルスでは葉柄または花芽基部からのものよりも高い含量を示した。含量の変異に及ぼす放射線照射の影響を調べるために、カルスにガンマー線を照射したところ、カルス

の平均ベルベリン含量は低下したが、30kRの緩照射をした葉身由来のカルスの中に高含量のものがみられた。またガンマー線を照射した組織から誘導した胚様体でのベルベリン含量は第1表に示すように正規分布から有意な歪度を示していた。これらについては再生植物体を養成中である。オウレンのカルスは寒天培地中にベルベリンを滲出させるが、カルスでの含量と培地への放出量との間には $r=0.7\sim0.9$ の相関がみられた。これを利用すれば高ベルベリン細胞系の選抜が可能であろう。

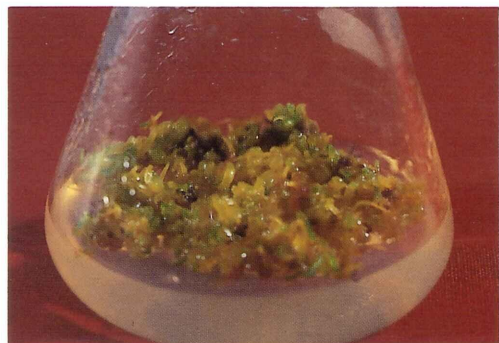
細胞培養法を用いる場合にカルス誘発、個体再生の能力は重要である。本研究においても第2表に示したように産地系統や使用組織によって相当の差異がみられた。本法の適用にあたっては十分な考慮を要する。

(久木村 久)

(本研究は科学技術庁振興調整費によって行なわれた。)



第1図 胚様体からの再分化
Figure 1. Shoot differentiation from embryoids.



第2図 オウレンの胚様体
Figure 2. Embryoids of *C. japonica*.

第1表 セリバオウレン(*C. japonica* var. *dissecta*)の各器官由来の胚葉体におけるベルベリン含量分布の正規性。

Tabell. Normality of distribution of crude berberine content in embryoids derived from various organs of *C. japonica* var. *dissecta*.

使用組織 Source of explant	照射線量 γ ray Exposure (kR)	粗ベルベリン含量 Mean of crude berberin content (%)	正規性 Normality	
			歪度 Skewness	尖度 Kurtosis
急照射 Acute irradiation				
花芽の基部 Basal end of flower bud	0	0.145	0.110	-1.772
	8	0.095	0.203	0.381
葉身 Leaf blade	0	0.225	0.717	-1.336
	8	0.248	1.840**	2.608**
緩照射 Chronic irradiation				
葉身 Leaf blade	30	0.260	0.961	-1.563
	60	0.093	2.234	4.992*
葉柄 Leaf petiole	0	0.111	0.108	-1.726
	60	0.089	1.241**	1.304

*: 5%水準で有意 Significant at 5% level

** : 1%水準で有意 Significant at 1% level

第2表 オウレン各系統のカルス誘導と胚様体分化

Table2. Induction of callus and embryoid differentiation in *C. japonica* varieties.

使用系統 Clone	使用組織 Tissue	外植片数 No. tested	カルス形成率 Callus formed (%)	胚様体形成率 Embryoid formed (%)	幼植物再形成率 Plantlets obtained (%)
<i>C. japonica</i> var. <i>major</i>	葉身 Leaf blade	49	63	85	9 (18) *
	葉柄 Leaf petiole	46	45	83	12(26)
<i>C. japonica</i> var. <i>dissecta</i>	葉身 Leaf blade	105	82	86	10(10)
	葉柄 Leaf petiole	65	61	66	23(35)
<i>C. japonica</i> Makino	葉身 Leaf blade	119	72	78	7(6)
	葉柄 leaf petiole	54	51	70	12(22)

*: () 内は (再分化個体数/外植片数) $\times 100$

() : (Number of regenerated plant / Number of explants) $\times 100$

Most of the perennial medicinal plants are slow growing and still collected from wild habitat. To secure stable supply, improvement of their agronomical and medicinal characteristics are primary requirements for cultivation. To develop a method applicable to such medicinal plant, combination of cell culture and radiation mutagenesis was studied.

As materials, *Coptis japonica* MAKINO, *C. japonica* var. *major* SATAKE and *C. japonica* var. *dissecta* NAKAI were used. The medium used was the fundamental MS-medium with 2, 4-D (10^{-5} M), NAA(10^{-4} M) and BAP(10^{-6} M). Sucrose concentration was 2.0 to 3.0%. The medium was adjusted to pH 5.4, and solidified with 0.9% agar. For gamma irradiation, the gamma field (chronic) or the gamma room (acute) of Institute of Radiation Breeding was used. Thin layer chromatography was used to measure the crude berberine.

Calluses and embryoids derived from these materials were examined. Organ differentiation was observed in the berberine content of callus. Crude berberine content of the calluses were higher in the callus derived from leaf

petiole than that from basal part of flower buds. When calluses were irradiated by gamma ray, their average berberine content decreased. However, some calluses were found to have higher content, in chronically irradiated materials with 30kR for example. This might be expressed as significance in skewness and kurtosis shown in the Table 1. Regenerated plants were planted for further examinations. It was noticed that berberine was excreted to the agar medium. The amount of excretion seemed to depend on berberine content of the callus (correlation factor $r=0. \sim 0.9$). This suggests a new selection method for improvement of medicinal ingredient.

Callus induction and plant regeneration abilities are very important in application of culturing technique. This may be seen in the Table 2. On application of the method reported here, fundamental examinations of the materials are strongly suggested. (H. Kukimura)