育苗温度の相違がプリムラ・オブコニカのプリミン分泌に及ぼす影響

樋口幸男¹・北島章好²・荻原 勲²・箱田直紀²・志村 勲²

¹ 恵泉女学園大学人文学部 206-0032 東京都多摩市南野 2-10-1

² 東京農工大学農学部 183-8509 東京都府中市幸町 3-5-8

Effect of Temperature Regimen at the Seedling Stage of *Primula obconica* on Primin Secretion

Yukio Higuchi¹, Akiyosi Kitajima², Isao Ogiwara², Naotosi Hakoda² and Isao Shimura²

¹ Faculty of Humanities, Keisen University, 2-10-1, Minamino, Tama, Tokyo 206-0032

² Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, 3-5-8, Saiwaicho, Fuchu, Tokyo 183-8509

Summary

Primula obconica Hance secretes primin which causes allergic-dermatitis, and seedling test of primin is important for breeding primin-free cultivars. To be able to select primin-free *Primula obconica* at their seedling stage, plants grown under different temperature were observed.

1. Primin secretion began in the cotyledonary stage in 'Crystal Apricot' seedlings.

2. When 'Crystal Apricot' seedlings were grown under either low (20/13 °C) or high (30/23 °C) (day/night) temperature, all seedlings secreted primin at the 1st leaf expanding stage under 20/13 °C. Furthermore, the primin secreting percentage of the leaves at lower nodes were consistently high under 20/13 °C. However, the onset of primin secretion was delayed at 30/23 °C, and it ceased earlier at 30/23 °C than it did at 20/13 °C. The percentage of primin-secreting leaves directly below the expanding apical leaf was higher than those of leaves at lower nodes independent of the ambient temperature.

3. The percentage of primin-secreting leaves directly below the expanding apical one in four 'Crystal' cultivars revealed difference among cultivars as to when the secretion began. Primin secreting percentage of all cultivars reached 100% in cotyledon as the first leaf was expanding at 20/13 °C, whereas it was the 4th leaf as the 5th-leaf was expanding at 30/23 °C.

In conclusion, our results demonstrate that primin-free plants can be selected at the cotyledon as the first leaf was expanding by growing them at 20/13 °C or at the 4th leaf as the 5th-leaf was expanding at 30/23 °C.

Key Words: *Primula obconica*, primin, secretion, seedling test, temperature.

緒 言

プリムラ・オブコニカ (*Primula obconica* Hance) は我が国における冬季の重要な鉢花の一つであるが、葉や花茎などの毛じからアレルギー性皮膚炎を引き起こすプリミンを分泌することが知られている。プリミンは Schildknecht ら (1967) により 2-methoxy-6-pentyl-benzoquinone と同定されている。近年ではプリミンを分泌しない品種 (以下プリミンフリー品種) が育成されているが、プリミンフリー品種はプリミン保有品種に比べ、花色の幅も小さく、開花時期が遅いことから、花色の多様性や早生性などに着目して、さらに改良を進めることが必要である。

プリミンフリーの品種改良を進めるにあたってはプリミン分泌の遺伝様式を解明するとともに、プリミン分泌の有無を容易かつ確実に検定する方法の確立が必要である。さらに、検定の際は多量の個体を扱うため、幼苗のなるべく早い段階で検定を行うことが必要である。プリミン分泌の遺伝については Heyting・Toxopeus (1989) の報告があり、プリミン検定法についてはキノンの検定試薬 (Craven, 1931) を用いた Heyting・Toxopeus (1987) の報告や毛じの形態観察による樋口ら (1999) の報告がある。しかし、幼苗期においてのプリミン分泌の開始時期や分泌部位についての詳細な報告例がないため、プリミンの早期検定法は確立しているとは言い難い。

一方、プリミン分泌と栽培環境との関係を見ると、成苗を用いた実験ではプリミンの分泌は温度の影響を受けること (Klein・Tröthandl, 1929) が報告されており、Horn (1990) は温度 (24 °C, 8 °C) と日長 (16 時間, 8 時間)

を組合せてプリミン分泌量を調査した結果、この範囲では24℃、16時間日長でプリミン分泌が増加することを報告している。また、著者らはプリミン分泌が少なかった開花株を低温条件(昼温20℃、夜温13℃)のファイトトロンに移したところ、プリミン分泌が再び盛んになることを観察していることから、プリミンの分泌は温度に影響されると考えられる。

そこで、本実験では幼苗期におけるプリミン分泌の生態を明らかにする目的で、プリミン保有品種とフリー品種を用い、1)プリミンの分泌開始時期、2)育苗温度の相違がプリミン分泌に及ぼす影響、3)幼苗期におけるプリミン分泌の品種間差異について調査した。これにより、幼苗期におけるプリミン検定の可能性を考察した。

材料および方法

実験 1. プリミンの分泌開始時期

供試品種にはプリミン保有品種である‘Crystal Apricot’とフリー品種である‘Libre Light Salmon’を用いた。両品種は1998年6月9日には種し、ミスト室で子葉展開期(6月23日)まで育苗した後、昼温20℃、夜温13℃のファイトトロン内で育苗した。光および日長は自然条件としたが、ファイトトロン内の苗は寒冷紗で50%遮光した。調査は、子葉展開期(6月23日)、第1葉展開期(6月30日)、第3葉展開期(7月14日)および第5葉展開期(7月28日)に行った。調査日には各品種とも20個体を供試した。プリミンの有無の判定は樋口ら(1999)の報告をもとに、地上部の子葉および各葉の毛じ先端部の形態を実体顕微鏡下で観察し、赤褐色の分泌物を有する毛じが一本でも認められた個体をプリミン分泌個体とし、プリミン分泌個体率(プリミン分泌個体数/供試個体数×100)を算出した。

実験 2. 育苗温度の相違がプリミンの分泌に及ぼす影響

供試品種には1998年6月9日には種したプリミン保有品種‘Crystal Apricot’を用いた。苗はミスト室で子葉展

開期(6月23日)まで生育させた後、低温区(昼温20℃、夜温13℃)および高温区(昼温30℃、夜温23℃)のファイトトロンに入庫した。光および日長は自然条件としたが、ファイトトロン内の苗は両区とも寒冷紗で50%遮光した。プリミン分泌の調査は実験1と同様に第1葉展開期(6月30日)、第3葉展開期(7月14日)および第5葉展開期(7月28日)の個体を用いて行った。各調査時期に20個体を採取し、直ちに子葉と各葉に分け、これらの表側と裏側の表皮に発生した毛じすべてを実体顕微鏡下で観察した。プリミンの有無は実験1と同様に判別した。プリミンは葉の表面の毛じのみで分泌している場合、葉の裏面の毛じのみで分泌している場合および葉の表裏両面の毛じで分泌している場合があったので、プリミン分泌個体率に加えて、葉位別および各葉位の表裏別のプリミン分泌率を以下のように算出した。葉位別プリミン分泌率=各葉位にプリミンを分泌していた個体数/供試個体数×100。各葉位の表裏別プリミン分泌率=各葉位の表面あるいは裏面にプリミンを分泌していた個体数/供試個体数×100。

実験 3. 幼苗期におけるプリミン分泌の品種間差異

供試品種には‘Crystal Rose’、‘Crystal Deep Blue’、‘Crystal Pink’および‘Crystal Red and White’を用いた。育苗、調査時期および調査方法は実験2と同様に行った。実験2において、‘Crystal Apricot’の分泌率が高かった葉位、すなわち第1葉展開期の子葉、第3葉展開期の第2葉および第5葉展開期の第4葉について調査を行い、各葉位の表裏別および葉位別にプリミン分泌率を実験2と同様に算出した。

結 果

実験 1. プリミンの分泌開始時期

‘Crystal Apricot’と‘Libre Light Salmon’におけるプリミン分泌個体率の推移を第1表に示した。プリミン保有品種である‘Crystal Apricot’のプリミン分泌個体率は子

Table 1. Percentage of ‘Crystal Apricot’ and ‘Libre Light Salmon’ *Primula obconica* plants secreting primin when exposed to 20/13 °C (day/night) temperature.

Growth stage of plants ^z	Cultivars	
	‘Crystal Apricot’ (%)	‘Libre Light Salmon’ (%)
Cotyledonary	25 ^y	0
1	100	0
3	100	0
5	100	0

^z 1, 3 and 5 indicate the 1st- leaf expanding stage, the 3rd- leaf expanding stage, and the 5th- leaf expanding stage, respectively.

^y Percentage of plants secreting primin was calculated by following equation; (No. of plants secreting primin on the leaves / No. of observed plants) × 100, n=20.

葉展開期では25%であったが、第1、第3および第5葉展開期では100%であった。一方、フリー品種である‘Libre Light Salmon’では各調査時期ともプリミン分泌は全く認められなかった。

実験 2. 育苗温度の相違がプリミンの分泌に及ぼす影響

‘Crystal Apricot’を異なる温度で育苗したときのプリミン分泌個体率を第1図に、葉位別および葉の表裏別のプリミン分泌率を第2表に示した。プリミン分泌個体率をみると、低温区では第1葉展開期ですでに100%であったが、高温区では低温区より遅れて第3葉展開期で100%になった。次に、葉位別のプリミン分泌率をみると、低温区では第3葉展開期の第3葉と第5葉展開期の子葉を除いたすべての葉位の分泌率が100%であった。一方、高温区で

Fig. 1. Percentage of ‘Crystal Apricot’ *Primula obconica* plants secreting primin when exposed to 20/13 °C (□) or 30/23 °C (■) (day/night) temperature. The legend is the same as Table 2.

は第3葉展開期の第1、2葉と第5葉展開期の第4葉でのみ100%となったが、第1葉展開期の子葉および第1葉の分泌率は著しく低かった。しかし、第3葉展開期および第5葉展開期の最上位葉の一つ下位の葉、すなわち第2葉および第4葉についてみると、両区とも100%であった。さらに、これら二つの葉位についてプリミン分泌率を葉の表裏別でみると、第3葉展開期の第2葉では両区とも表裏両面が100%であった。しかし、第5葉展開期の第4葉では低温区では表裏両面とも100%であったが、高温区では表面および裏面はそれぞれ80%および90%で、ともに100%に達していなかった。

さらに、葉齢に伴う各葉位のプリミン分泌率の変化を第3葉展開期および第5葉展開期で比較してみると、低温区では第3葉展開期でプリミン分泌率が100%であった子葉が第5葉展開期では40%と低くなったことを除くと、分泌率は低下せず、第1葉から第3葉まで100%であった。一方、高温区では第3葉展開期における子葉、第1葉、第2葉および第3葉のプリミン分泌率はそれぞれ80, 100, 100および95%であったが、第5葉展開期ではそれぞれ10, 30, 45および70%となったことから、発生したプリミンがその後消失してしまうことが観察された。

実験 3. 幼苗期におけるプリミン分泌の品種間差異

低温区および高温区で育苗した‘Crystal’シリーズ4品種の幼苗期におけるプリミン分泌状況を第3表に示した。表では、各ステージにおいて最上位葉より一つ下位の葉におけるプリミン分泌率を示した。

葉全体でみると、低温区では各品種ともすべての葉齢で100%であった。一方、高温区では‘Crystal Red and White’にのみ第1葉展開期の子葉にプリミン分泌が認められ、他の品種では第3葉展開期から分泌が認められたことから、プリミン分泌の早晩に品種間差異が認められた。

Table 2. Percentage of ‘Crystal Apricot’ *Primula obconica* plants secreting primin on each leaf position when exposed to 20/13 °C or 30/23 °C (day/night) temperature.

Growth stage of plants ^z	Day/night temperature	Leaf position					
		Cotyledon (%)	1 (%)	2 (%)	3 (%)	4 (%)	5 (%)
1	20/13 °C	100 ^y (100 ^x , 95 ^w)	100 (100, 95)				
	30/23 °C	15 (0, 15)	0 (0, 0)				
3	20/13 °C	100 (100, 95)	100 (100, 100)	100 (100, 100)	80 (60, 65)		
	30/23 °C	80 (50, 60)	100 (100, 90)	100 (100, 100)	95 (85, 90)		
5	20/13 °C	40 (20, 40)	100 (100, 100)	100 (100, 100)	100 (100, 100)	100 (100, 100)	100 (100, 85)
	30/23 °C	10 (5, 5)	30 (20, 25)	45 (30, 30)	70 (60, 70)	100 (80, 90)	40 (15, 40)

^z See Table 1.

^y Percentage of plants secreting primin on each leaf position was calculated by following equation, (No. of plants secreting primin on each leaf position / No. of observed plants) × 100.

^x Percentage of plants secreting primin on adaxial surface of each leaf position.

^w Percentage of plants secreting primin on abaxial surface of each leaf position.

Table 3. Varietal difference in percentage of *Primula obconica* plants secreting primin when exposed to 20/13 °C or 30/23 °C (day/night) temperature.

Growth stage of plants ^z (Observed leaf position)	Cultivars	Day/night temperature	
		20/13 °C (%)	30/23 °C (%)
1 (Cotyledon)	'Crystal Rose'	100 ^y (100 ^x ,100 ^w)	0 (0,0)
	'Crystal Pink'	100 (100,100)	0 (0,0)
	'Crystal Deep Blue'	100 (85,100)	0 (0,0)
	'Crystal Red and White'	100 (95,100)	10 (0,10)
3 (2nd leaf)	'Crystal Rose'	100 (100,100)	100 (100,90)
	'Crystal Pink'	100 (100,100)	90 (90,70)
	'Crystal Deep Blue'	100 (100,100)	100 (90,100)
	'Crystal Red and White'	100 (100,100)	100 (95,100)
5 (4th leaf)	'Crystal Rose'	100 (100,100)	100 (100,100)
	'Crystal Pink'	100 (100,100)	100 (100,95)
	'Crystal Deep Blue'	100 (100,100)	100 (95,100)
	'Crystal Red and White'	100 (100,100)	100 (80,95)

^z See Table 1.^{y, x, w} See Table 2.

また、第3葉展開期の第2葉で100%に至らない品種があったが、第5葉展開期の第4葉では各品種とも100%となった。

さらに、葉の表裏別にみると、低温区では'Crystal Deep Blue'と'Crystal Red and White'の第1葉展開期における子葉の表面が100%にならなかったが、その他はすべて両面とも100%であった。高温区では葉全体でみたときの分泌率が100%であっても、第5葉展開期の'Crystal Rose'を除いて表裏両面あるいは片面が100%にならなかった。

考 察

プリミン保有品種とフリー品種の幼苗の毛じを子葉展開時から観察したところ、保有品種では子葉展開期にプリミンを分泌している個体が認められたことから(第1表)、幼苗の早い段階からプリミンの分泌が始まることが明らかとなった。

そこで、子葉展開後の植物体を異なる温度条件下で生育させ、温度とプリミン分泌の関係を検討した。その結果、高温区では低温区と比較して分泌開始時期が遅れた(第1図)。また、プリミン分泌と葉位の関係についてみると、両区とも展開中の葉を除き若い葉ほどプリミン分泌率が高く、特に展開中の葉の一つ下位の葉において分泌率が葉齢に関わらず最も高かった。さらに注目すべきことは、一度分泌したプリミンが高温区において早く消失したことである(第2表)。プリミンはSchildknechtら(1967)により2-methoxy-6-pentyl-benzoquinoneと特定されているが、ベンゾキノンには昇華性があることが知られている。また、Biniら(1992)はプリムラ・オブコ

ニカの毛じ先端部の微細構造について、多くの植物種の分泌性毛じで先端部のクチクラ層の内部に分泌物が蓄積しているのと異なり、プリムラ・オブコニカの場合、クチクラ層は存在しないことを報告している。本報告とこれらの報告とを考え合わせると、プリミンは高温条件下で蒸発したため、葉が古くなるとプリミンを持っている葉が減少したものと考えられた。さらに、各葉位のプリミン分泌率の変化から(第2表)、一度プリミンが消失した毛じからプリミンが再分泌されている可能性は極めて小さいと考えられた。

以上の結果から、低温で育苗した個体ではプリミンは子葉展開期から分泌されるが、高温で育苗した個体ではその分泌が遅れることが明らかとなった。また、高温で育苗した場合、下位葉ではプリミンが消失してしまう場合があるのに対して、展開中の葉の一つ下位の葉では高い率でプリミンを分泌していたので、プリミン検定には下位葉よりも上位葉を用いることが良いと考えられた。

そこで、プリミン分泌率の高かった葉位、すなわち、展開中の葉の一つ下位の葉のプリミン分泌率をプリミンを保有している'Crystal'シリーズの4品種について調査した(第3表)。その結果、低温区ではすべての供試品種が第1葉展開期の子葉で100%であった。さらに、低温区のすべての供試品種では第3葉展開期の第2葉および第5葉展開期の第4葉の表面および裏面どちらも分泌率が100%であった。このことから、低温区においては、第1葉展開期においては子葉の両面を、第3葉および第5葉展開期においてはそれぞれ第2葉および第4葉の表面あるいは裏面のいずれか一方を調査することにより、プリミンの有無を検定できることが示された。一方、高温区ではプリミ

ン分泌の早晩に品種間差異が認められ、第3葉展開期までの個体では調査した葉位のプリミン分泌率が100%に達しない品種があったので、第3葉展開期まではプリミン検定ができないことが明らかになった。次に、第5葉展開期の第4葉を表面および裏面に分けてプリミン分泌率をみると、いずれか一方あるいは両面ともに100%に達しない品種があったが、第4葉全体でみるとすべての供試品種のプリミン分泌率が100%となったので、高温下で育苗した場合、第5葉展開期の第4葉の表裏両面を調査することにより、プリミンの有無を検定できることが明らかとなった。

以上のことから、プリミンの有無を早期に、かつ正確に判定するには20℃の低温下で生育させることが望ましい。しかし、日本におけるプリムラ・オブコニカの栽培では4月から6月には種するため、気温が上昇する条件下で育苗しなければならない。このような育苗条件下では、第5葉展開期に達した個体の第4葉の表裏両面の毛じを観察することによりプリミン検定を容易に行えと考えられた。

なお、本実験ではプリミンが高温条件で蒸発することが示唆されたので、今後は湿度がプリミン分泌に及ぼす影響について調査する必要がある。

摘 要

異なる温度条件下におけるプリムラ・オブコニカのプリミン分泌状況を調査し、幼苗期におけるプリミン検定の可能性について検討した。

1. 'Crystal Apricot'では子葉展開期からプリミンの分泌が認められたが、フリー品種の'Libre Light Salmon'では認められなかった。

2. 'Crystal Apricot'を低温(昼温20℃、夜温13℃)および高温(昼温30℃、夜温23℃)下で育苗し、個体別および葉位別にプリミン分泌率を調査した。低温下で育苗した場合は、第1葉展開期にはすべての個体がプリミンを分泌していた。さらに、低温下では下位葉のプリミン分泌率も高く維持された。一方、高温下で育苗したところ、プリミン分泌の開始が遅れ、一度分泌したプリミンの消

失も早かった。また、育苗温度に関わらず最上位葉の一つ下位の葉においてプリミン分泌率が高かった。

3. プリミンを保有している'Crystal'シリーズ4品種について葉位別のプリミン分泌率を調査した。プリミン分泌の早晩には、品種間差異が認められたが、各品種とも低温下では第1葉展開期の子葉において、また、高温下では第5葉展開期の第4葉においてプリミン分泌率が100%であった。

4. 幼苗期に毛じの形態からプリミン分泌の有無を判定するには、低温下では第1葉展開期の子葉を、高温下では第5葉展開期の第4葉を調査すればよいことが明らかとなった。

引用文献

- Bini Maleci, L., M. M. Lippi and B. Mori. 1992. Secreting trichomes in *Primula obconica* Hance. *Caryologia* 45: 123-134.
- Craven, R. 1931. A sensitive colour reaction for certain quinones. *J. Chem. Soc.*: 1605-1606.
- Heyting, J. and S. J. Toxopeus. 1987. Een snelle en eenvoudige toets op de aanwezigheid van de allergie veroorzakende stof primine in *Primula obconica*. *Prophyta* 41: 107-108.
- Heyting, J. and S. J. Toxopeus. 1989. Breeding primin-free *Primula obconica*. *Neth. J. Agric. Sci.* 37: 371-378.
- 樋口幸男・北島章好・荻原 勲・箱田直紀・志村 勲. 1999. プリムラ・オブコニカのプリミン保有品種とフリー品種における毛じの形態学的特性. *園学雑*. 68: 614-621.
- Horn, W. 1990. Blütenfarbe und Primin. *Züchtungsforschung bei Primula obconica*. *Deutscher Gartenbau* 23: 1500-1501.
- Klein, G. and O. Tröthandl. 1929. Nachweis, Verteilung und verbreitung des Primelgiftes in der Pflanze. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* 17: 211-231.
- Schildknecht, H., I. Bayer and H. Schmidt. 1967. Struktur des Primelgiftstoffes. *Z. Naturforschung* 22b: 36-41.