

外植片の生理的状態と不定器官分化能

谷本 静史*

高等植物の組織や器官を培養して、不定器官分化や *in vitro* での花芽形成について検討しようとする場合に、材料植物体のどの部分を外植片として用いるかという問題は、非常に重要なものであると思われる。しかしながら、実際の報文中では、各種の外植片を用いた場合の反応や、外植片の生理的状態についての記述は、ほとんど見られないようである。本稿では、器官培養における不定芽分化と花芽形成という二つの分化現象を例として、外植片の生理的状態と、それらの分化能との関連について検討した結果を報告したい。

一般に広く用いられている外植片は、葉、莖、根などの切片や、幼植物体の胚軸、子葉などである。タバコやトレニアのように、非常に分化能が高いと思われる植物では、どのような外植片を用いても、高い頻度で不定芽を形成する。しかし、アスターのように、葉切片の不定芽形成率はほぼ100%であるのに対して、子葉や胚軸を外植片として用いると、種々のホルモン濃度について検討しても、ほとんど不定芽が形成されないという例もある。筆者がこれまでに調べたいくつかの植物の、外植片の種類とそれらの不定芽形成率を第1表に示す。

なぜ用いる外植片によって、その反応が異なるのかという疑問は、さらに、なぜ分化しやすい植物と、分化しにくい植物があるのかという疑問に通じるものであるが、解答を与えるためには、器官分化能、すなわち分化全能性の実体が解明される日を待つしかない。ただ、各種外植片の反応性の違いには、植物ホルモン、それもオーキシンとサイトカイニンのみではなく、ジベレリンやアブサイシン酸などをも含む植物ホルモンが、何らかの役割を担っていることは間違いないと思われる。たとえば GA_3 は一般に不定芽形成に対して抑制的に作用するが、ルドベキアでは、子葉を外植片として用いると不定芽形成を抑制するにもかかわらず、葉切片では GA_3

の抑制効果は見られない¹⁾ (第2表)。

培養組織や培養器官からの花芽形成においては、外植片を採取する際の親植物体上の位置によって、花芽形成率が大きく変動することがある。植物体の上部から採取した外植片ほど高い花芽形成率を示すという、いわゆる「花芽形成能の勾配」はタバコの茎切片で報告されており²⁾、筆者らは、青ジソの葉切片³⁾ や、トレニアの茎切片⁴⁾ においても、同様の勾配が存在することを確認している (第3表)。この花芽形成能の勾配には、植物体内の内生ホルモンの量的な勾配が関与している可能性がある。トレニア植物体の下部節間から切り出した茎切片における花芽形成は、培地中にオーキシンやサイトカイニンを添加することにより、上部節間由来の茎切片と同程度にまで促進される⁵⁾。

同じ位置から切り出した外植片を用いた場合にも、親植物体の齢によって、その器官分化能に違いが見られる。多くの場合、若い植物体から採取した外植片ほど、高い不定芽形成率を示すようである。青ジソの上部第二葉の切片を外植片とした場合に、発芽後9週の植物体から採取した時は、不定芽形成率は100%を示すのに対し、発芽後24週の植物体の葉切片を用いると、不定芽は全く形成されない。すなわち、葉そのものの生理的齢ではなく、植物体自体の齢が、不定芽分化能に影響しているものと思われる。植物体の老化に伴う、葉切片の不定芽形成率の減少は、培地中にオーキシンを添加することにより、ある程度回復させることができる³⁾ (第4表)。

トレニア茎切片からの花芽形成の場合にも親植物の齢が影響をおよぼす。花芽形成期 (発芽後12~14週) の植物体から採取した茎切片は、80%程度の花芽形成率を示すが、栄養相 (4~6週) や老化期 (18~20週) の植物体からの茎切片では、各々20%および40%の切片が花芽を分化するにすぎない⁴⁾。そこで、種々の齢にある親植物の同じ位置から茎切片を採取し、培地中に添加した各種の植物ホルモンが花芽形成におよぼす影響について検討してみた^{5,6)}。栄養相の植物体由来の茎切片ではアブサイシン酸が高い花芽形成促進効果を示すのに対し、ゼアチンはほぼ完全に花芽形成を抑制した。しかしなが

* Shizufumi TANIMOTO: Correlation between Adventitious Organ Differentiation and Physiological State of Explants

筑波大学生物科学系 (〒305 茨城県新治郡桜村)
Institute of Biological Sciences, University of Tsukuba
(Sakura-mura, Niihari-gun, Ibaraki-ken, 305)

第1表 各種外植片の不定芽形成率

植物材料	子葉	胚軸	葉切片	茎切片
トレニア	100	95	98	98
ルドベキア	75	38	71	70
青ジソ	64	60	92	81
ヤグルマソウ	44	11	100	82
アスター	5	7	97	—

(基本培地は Murashige と Skoog の無機塩類組成に蔗糖 2%, 寒天 0.8% を添加したものをを用いた。0.01 から 1mg/l の範囲で NAA と BA を添加, 得られた中で最も高い不定芽形成率を% で示した。外植片数は最低 75。)

第2表 ルドベキアの各種外植片における不定芽形成に対する GA₃ の影響

GA ₃ 濃度 (mg/l)	子葉	葉切片	茎切片
0	74	77	65
0.1	13	70	50
1.0	21	81	51

(条件は第1表と同様。数値は不定芽形成率。)

ら, 老化期の植物体由来の切片では, IAA の花芽形成促進効果が著しく, ゼアチンも若干促進的であったが, アブサイシン酸を添加すると花芽はまったく形成されなくなった。

以上述べてきた実験結果から, 外植片の分化能には, 数種の内生植物ホルモンが, なんらかの形で関与している可能性が示唆される。すなわち, 外植片の生理的状態は, 数種の植物ホルモンの量的なバランスによって規定されているのかもしれない。

むろん, より遺伝学的な, あるいは生化学的な要因も, 外植片の分化能に影響をおよぼしていると思われる。しかしながら, たとえば, トマトの各種系統間での雑種や, *Nicotiana* 属の雑種を用いた実験から, 植物体のホルモン生合成能とゲノム構成との間には相関関係が見られるという結果も得られており, 分化能に関与する遺伝子と, ホルモン生合成の調節因子との関連性が示唆されている⁷⁾。そのような観点から, 近年, Ti プラスミドの各種組み換え体を導入した形質転換体を利用して, 不定器官分化の制御機構を解明しようとする試みも始められており, 今後の研究の進展が期待される。

(1983年12月26日受理)

第3表 植物体上の各位置から採取した外植片の花芽形成率

外植片の位置	青ジソ葉切片	トレニア茎切片
第一葉または第一節間	14	50
第二葉または第二節間	31	67
第三葉または第三節間	5	31
第四葉または第四節間	9	24
第五葉または第五節間	0	29

(青ジソ葉切片の基本培地は第1表と同様。BA 1.0 mg/l, NAA 0.1mg/l を添加。トレニア茎切片の培地は 1/5 稀釈の Murashige と Skoog の無機塩類組成から NH₄NO₃ を全量取り除いたもの。ホルモン無添加。外植片数は一設定実験区当り最低 50。外植片の位置は材料植物体の上部から数えたもの。)

第4表 種々の齢の青ジソ植物体からの葉切片における不定芽形成率

NAA 濃度 (mg/l)	植物体の週齢			
	9	14	18	24
0	100	27	21	0
0.01	100	42	40	10
0.1	100	72	74	25

(基本培地は第1表と同様。BA 1.0mg/l 添加。各々の齢の植物体の上部第二葉から葉切片を採取した。外植片数は最低 50。)

文 献

- 1) Tanimoto, S., H. Harada, 1982. *Plant Cell Physiol.*, **23**: 107-113.
- 2) Tran Thanh Van, M., 1973. *Planta*, **115**: 87-92.
- 3) Tanimoto, S., H. Harada, 1980. *Ann. Bot.*, **45**: 321-327.
- 4) Tanimoto, S., H. Harada, 1979. *Z. Pflanzenphysiol.*, **95**: 33-41.
- 5) Tanimoto, S., H. Harada, 1981. *Plant Cell Physiol.*, **22**: 543-550.
- 6) Tanimoto, S., H. Harada, 1982. In "Plant Tissue Culture 1982" (ed. by Fujiwara, A.), p. 155-156, Maruzen, Tokyo.
- 7) 鎌田 博, 原田 宏, 1979. 植物細胞組織培養 (原田 宏, 駒嶺 穆編), p. 73-91, 理工学社, 東京.