

研究ノート

シコクビエの“Giant Dome Culture”について

脇塚 巧*

高等植物の組織や器官のなかで、茎頂は他にない特徴をもっている。Steeves と Sussex (1972) は彼らの著書¹⁾の中で、茎頂の機能的体制について、高度の自律性をもったものと論じた。それは古くから、形態形成やキメラの研究において、重要な材料とされてきた。

一方、茎頂組織培養 (apical meristem culture, shoot tip culture, bud culture) はいろいろな目的で行われてきた。病原除去、栄養繁殖、ならびに株保存への利用が論じられ^{2,3)}、さらにホルモン研究での良質の実験系として利用され⁴⁾、生殖質配布の手段としての利点も挙げられた²⁾。そして重要な特色として、茎頂組織培養では、脱分化状態のカルス培養とは異なり、遺伝的な安定性が強調された³⁾。すなわち、植物体復原能力と遺伝的安定性とを長期間維持し続ける培養系として、茎頂組織培養は資質を備えている。このような培養系は、全能性の維持が比較的困難といわれるイネ科植物では、きわめて有用であると思われる。しかしながら、イネ科植物の茎頂組織培養に関する研究は、現在のところ少ない。

従来のイネ科植物の茎頂組織培養がカルス培養と基本的に異なる点の一つは、分裂細胞群自体が増殖塊となるわけではないことである。しかし、もしイネ科植物の茎頂分裂組織それ自体を増殖させることができ、その特色を失うことなく継代維持することができれば新しい展開が期待できる。すでに筆者らはイネ科栽培植物の一つであるシコクビエ (*Eleusine coracana* (L.) Gaertn. subsp. *coracana*) を用い、このような増殖培養系を確立した^{5,6)}。この培養体からはきわめて多数の茎葉分化を経て、容易に植物体を得ることができた。また組織形態学的観察の結果、体積がきわめて大きいこと以外は、この培養体は茎頂の頂端分裂組織に酷似していた。このようなことから、この培養系を giant dome culture と呼ぶことにした。ここでは、簡単にシコクビエの giant dome の誘導

とその培養法にふれ、この培養系について考えられることをまとめておきたい。

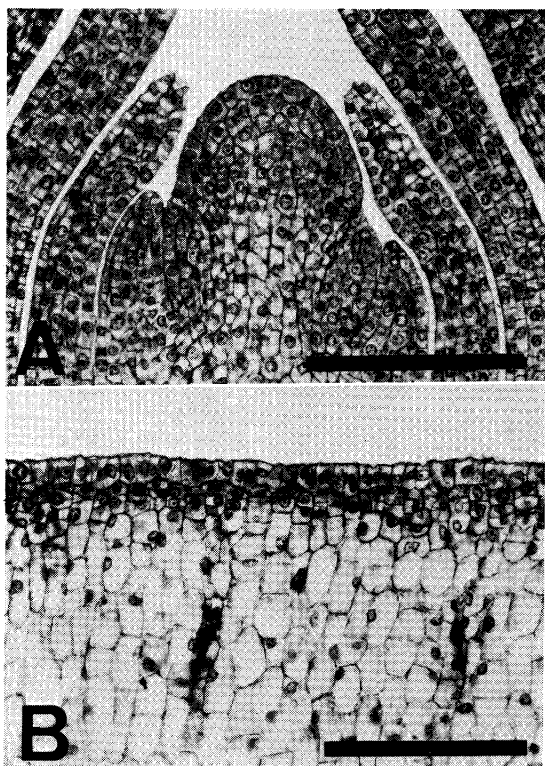
シコクビエの giant dome は完熟した穎果を明所で培養することによって得られる。基本的には 3mg/l の 2,4-D を含むMS の寒天培地 (塩酸チアミンと蔗糖をそれぞれ 1 mg/l, 20g/l に改変, 寒天0.8%) が用いられる。高濃度の 2,4-D のため、発芽直後各部分は褐変枯死する。しかしながら成長点のみは枯死した2枚の葉の間で半球状に発達し、5週間で直径3mm程度の濃緑色の giant dome が得られる。それ自体は分割しなければ直径10mm程度まで発達するが、通常はメスで小分割し、その一部を誘導時と同様の培養条件で継代培養する。28日ごとの継代培養により、性状を変えることなく、増殖と保存を続けることができる。現在まで35ヵ月間継代培養された。

さきに述べた Steeves と Sussex は、茎頂の機能について、成熟した組織や器官を形成しながら、一方でそれ自身分裂組織として発達し続ける点を強調した¹⁾。giant dome は、2,4-D を除くなど培養条件の変更により、維管束の成熟や器官形成を行う。内部形態は正常な apical dome と同様で、垂層分裂部位と並層分裂部位の配置が認められる⁶⁾(第1図)。giant dome は茎頂の自律性に関して、重要な知見を提供することになるかも知れない。また、花芽の分化が可能である。組織学的には未検討であるが、外観からは花芽が直接形成したようである。今後この花芽の形成様式を調査しなければならないが、茎頂起原層の研究⁷⁾や変異原による区分キメラの研究⁸⁾への有効な利用が考えられる。

変異発生を予備的に調査するため、シコクビエ giant dome からの植物体と、その種子経由の次代について、若干の個体を栽培した。1個体由来の12継代目からの155個体とその次代種子を混合して無作為抽出した60個体においては、草丈、出穂期等可視的な形質は均一であった⁹⁾。イネ科牧草⁹⁾やトウモロコシ¹⁰⁾において、病原除去や株保存との関連で in vitro での栄養繁殖の重要性が強調され、腋芽を増加させる茎頂培養 (shoot tip culture) が行われた。イネ科植物の茎頂の培養例が少な

* Takumi WAKIZUKA: "Giant Dome Culture" in Finger Millet

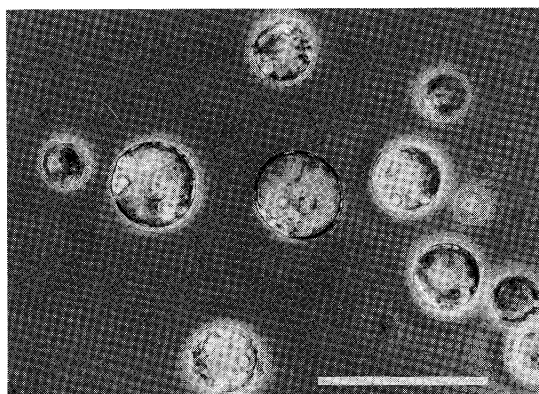
大阪府科学教育センター生物教室 (〒558 大阪市住吉区苅田4)
Science Education Institute of Osaka Prefecture (Karita 4, Sumiyoshi-ku, Osaka, 558)



第1図 A：自然状態で生育したシコクビエの shoot apex. スケール：100 μ m. B：直径 4 mm のシコクビエ giant dome の一部. 最外層で垂層分裂，第2層で並層分裂を示す. スケール：100 μ m.

い現状から，このような目的で giant dome culture を考えてみる必要がある。Tanaka と Ikeda (1983) はキク科ハプロパプスの shoot tip cloning の系は染色体レベルで安定したものであると報告した¹¹⁾。

Green と Phillips (1975) がトウモロコシの未熟胚起源のカルス培養および再分化を行って¹²⁾以来，いくつかの重要なイネ科栽培植物で再分化能の高い培養系を得る道が開けた¹³⁾。このような培養系は，葉切片からのプロトプラスト分離が困難なイネ科植物において，良質のプロトプラストを得るうえできわめて重要なものとなった。シコクビエ giant dome からプロトプラストの分離を試みたところ，予想された自発的融合¹⁴⁾は認められず，容易に大量のプロトプラストを調整することができた(第2図)。脱分化状態の細胞増殖に伴う somaclonal 変異¹⁵⁾の現象を考慮すると，giant dome culture はより遺伝的に均質なプロトプラスト供給源であると考えられる。必要な場合は，giant dome からの脱分化は 2, 4-D の濃度を上げることにより容易である⁶⁾。



第2図 giant dome から分離したシコクビエプロトプラスト(位相差顕微鏡による)。スケール：100 μ m.

つぎに，giant dome の形成が多くのイネ科植物で起こりうるのかどうかを検討しなければならない。しかしシコクビエのカルスからの再分化報告が1例¹⁶⁾しかなく，in vitro での性状が他のイネ科植物と同様であるかを判断するための十分な資料は，いまはない。今後，他のイネ科植物においても，giant dome culture を試みる事が急務となる。

最後に，イネ科植物でも細胞工学的な研究が急速に進展するなかで，この giant dome culture を応用した応範な研究の展開を期待している。また，シコクビエは，栽培植物として系統進化の研究もあり¹⁷⁾，生理学的には C₄ 型イネ科植物として注目される。このような意味でも，シコクビエの培養細胞に関する基礎的な研究の今後の発展を期待している。

本稿のとりまとめにあたって有益な助言をいただいた大阪府立大学農学部 山口俊彦博士に感謝いたします。

(1985年12月17日受理)

文 献

- 1) Steeves, T.A., I.M. Sussex, 1972. 植物の発生様式，竹内郁夫・前田靖男訳，1979，丸善，東京。
- 2) Murashige, T., 1974. Ann. Rev. Plant Physiol., 25 : 135-166.
- 3) Hu, C.Y., P.J. Wang, 1983. In "Handbook of Plant Cell Culture, Vol. 1" (ed. by Evans, D.A., et al.), pp. 177-227, Macmillan, Inc., New York.
- 4) Koda, Y., Y. Okazawa, 1980. Physiol. Plant., 49 : 193-197.
- 5) 脇塚 巧，山口俊彦，1984. 育種学雑誌，34，別2 : 56-57.
- 6) 脇塚 巧，山口俊彦，1985. 第9回植物組織培養

シンポジウム要旨集, p. 94.

- 7) Popham, R.A., 1964. Brookhaven Symp. Biol., **16** : 138-156.
- 8) Lindgren, D., G. Eriksson, K. Sulovská, 1970. Hereditas, **65** : 107-132.
- 9) Dale, P.J., 1980. Ann. Bot., **45** : 497-502.
- 10) Raman, K., D.B. Walden, R.I. Greyson, 1980. Ann. Bot., **45** : 183-189.
- 11) Tanaka, R., H. Ikeda, 1983. Jpn. J. Genet., **58** : 65-70.
- 12) Green, C.E., R.L. Phillips, 1975. Crop Sci., **15** : 417-421.
- 13) King, P.J., I. Potrykus, E. Thomas, 1978. Physiol. Vég., **16** : 381-399.
- 14) Withers, L.A., E.C. Cocking, 1972. J. Cell Sci., **11** : 59-75.
- 15) Scowcroft, W.R., 1985. In "Genetic Flux in Plants" (ed. by Hohn, B., E.S. Dennis), pp. 217-245, Springer-Verlag, Wien-New York.
- 16) Rangan, T.S., 1976. Z. Pflanzenphysiol., **78** : 208-216.
- 17) De Wet, J.M.J., K.E. Prasada Rao, D.E. Brink, M.H. Mengesha, 1984. Am. J. Bot., **71** : 550-557.