

研究ノート

ニンジン分果から形成される不定胚の起源となる組織

古川 一*・静川幸明*・高市みゆき*

ニンジン (*Daucus carota* L. 染色体数 $2n=18$) は、植物生長調節物質を用いた不定胚形成の実験系として、多くの研究に用いられている¹⁾。しかし、植物生長調節物質は不定胚形成以外の生理作用をも誘発させるので、不定胚形成に関与する生理作用だけを選択するのは困難となる。そのため、植物生長調節物質を用いず、ストレスなどによって不定胚を形成させる方法が確立されてきている²⁾。

最近、Smith and Krikorian は、受精胚由来の植物(実生)が発芽したあとのニンジン分果を植物生長調節物質を含まない培地で培養すると、短期間で不定胚が形成されることを報告している³⁾。私たちは、Smith らの不定胚形成法が、植物生長調節物質を用いない不定胚形成の実験系として利用できると考え、この方法を用いて不定胚形成頻度の高い品種を明らかにした⁴⁾。

しかし、Smith らの報告では、パラフィン切片による組織学的観察によっても、不定胚の起源となる組織が胚乳であるか果皮であるかは特定できていない。起源となる組織が特定できなければ、分析的な手法を用いても、データは不明確なところを残すので、実験系として利用することはできない。そこで、この不定胚形成法をより確立された実験系とするため、不定胚形成過程の経時的な観察、分果の部位別の培養および再分化した植物の染色体数の調査によって、不定胚の起源となる組織(部位)の解明を試みた。

材料には前報⁴⁾で高い不定胚形成頻度を示した“陽明五寸”を用いた。分果の滅菌は70%エチルアルコールに1分間浸漬し、ついで、有効塩素1%の次亜塩素酸ナトリウムに5分間浸漬することによっておこなった。滅菌した分果は不定胚形成培地 (Murashige and Skoog

培地⁵⁾、シヨ糖 20 g/l、寒天 8 g/l) に置床し、実生が発芽したあと培地上に残っていた分果 (400 粒) を新たな不定胚形成培地に再置床して培養した。すべての実験を通して、培養条件は、25°C、16 時間明期 (3,000 lux)・8 時間暗期とした。不定胚の形成過程は、クリーンベンチ内に持ちこんだ実体顕微鏡を使用し、幼根が種子から出た直後から分果の再置床後 40 日目まで、毎日、観察を続けた。こうして再分化した 6 個体について、アセトオルセイン染色による押しつぶし法により、根端細胞の染色体数を調査した。1 個体につき最低 2 本の根を用い、1 本の根につき最低 2 個の細胞の染色体を観察した。

実生は胚乳組織を突き破り、分果の発芽孔をとおって分果外に出現した。こうしてできた胚乳組織の開口部は外輪山状に隆起した。実生の発芽後 7~14 日目には、この外輪山状の胚乳組織の内側から不定胚あるいはエンブリオジェニックカルスの形成が認められた。一方、果皮からの不定胚あるいはカルスの形成を認めることはできなかった。

ニンジンは有胚乳種子で、受精胚は胚乳に埋もれた状態になっている⁶⁾。不定胚やエンブリオジェニックカルスが形成された外輪山状の胚乳の内側は、受精胚と接していた面となる。Borthwick によると、受精後、胚乳細胞は急速に増殖して分果内を満たす⁷⁾ため、受精胚と胚乳とは直接、接することになるが、両者は癒着することなく互いに独立した組織として存在している。したがって、不定胚の起源となる組織は胚乳である可能性が高いと推察した。Smith からも不定胚形成の経時的観察をおこなっているが、胚乳が分果内から隆起し、ここから不定胚が形成されていることには気づいていない。このため、不定胚の起源を明らかにできなかったと推察できる。

つぎに、実生が発芽したあとの分果から、外輪山状に隆起した胚乳片およびその表面上の果皮片を摘出し、前述した不定胚形成培地で培養した。さらに、対照区として、実生の発芽したあとの分果も同じ条件で培養した。

外植片の置床後、14 日目には、胚乳片の内側から、不定胚やエンブリオジェニックカルスの形成が認められ

Hajime FURUKAWA*, Yoshiaki SHIZUKAWA* and Miyuki TAKAICHI*
Origin of Somatic Embryos from Mericarps of Carrot.

* 大阪府立大学農学部

(〒593 堺市学園町1番1号)

College of Agriculture, University of Osaka Prefecture, Gakuen-cho, Sakai, 593 Japan

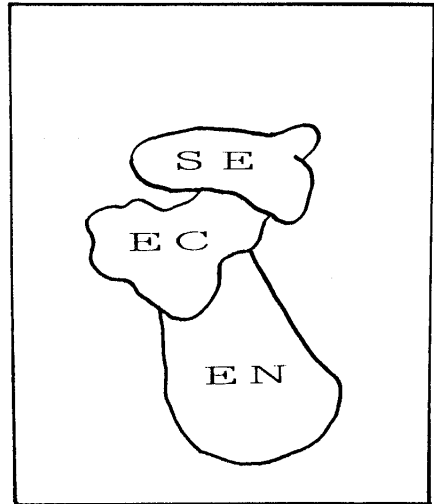
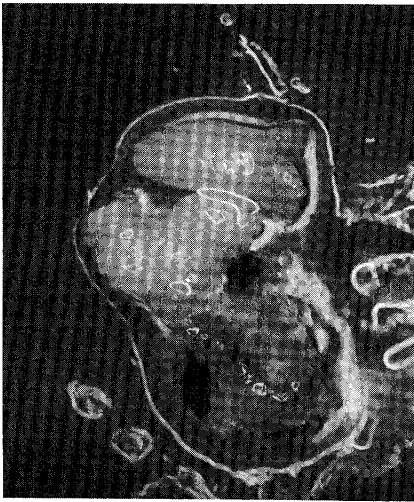


Fig. 1 Somatic embryos from the endosperm explants of carrot.

Endosperm explants were excised from the germinated mericarps and cultured on MS medium without any plant growth regulator.

SE: somatic embryo, EC: embryogenic callus, EN: endosperm explant

Table 1. Frequency of somatic embryos from different explants of *Daucus carota* L. cultured on MS medium without any plant growth regulator (after 40 days of germination).

Explant sources (A)	No. of explants (B)	No. of embryogenic explants	Frequency (B/A×100)
Endsperm	50	15	30
Pericarp	50	0	0
Germinated mericarp (control)	50	32	64

Endsperm and pericarp explants were excised from the germinated mericarps.

た (Fig. 1). しかし、対照区の分果と比べると、不定胚が形成されるまでの期間は長くなり、不定胚形成頻度も低かった。果皮片からは、分果の置床後40日目でも、不定胚やカルスの形成を認めることはできなかった。(Table. 1).

Smithらは分果の中央部の果皮から不定胚が形成されたと報告している⁹⁾が、今回の実験では、果皮からの不定胚形成を認めることはできなかった。さらに、400粒以上の分果を用いて追試したが、不定胚は、隆起した胚乳組織付近から形成されたが、果皮からはまったく形成されなかった。以上の結果から、Smithらが果皮からの不定胚形成としたパラフィン切片の写真は、アーティファクトの可能性があると考えられる。

再分化した6個体の根端細胞の染色体数はすべて18であったので、再分化した6個体の植物は2倍体と判断した。Smithらの報告でも再分化した植物は2倍体であった。スイートオレンジ⁹⁾の胚乳培養では、3倍体の植物が再分化しており、逆に、再分化植物が3倍体であることは胚乳を起源とすることの証明となっている。した

がって、再分化した植物の倍数性から判断すると、この研究で再分化した植物の起源は胚乳ではなく体細胞になる。

しかし、イチゴ⁹⁾やモモ¹⁰⁾の胚乳培養では、異数体、2倍体あるいは半数体が再分化している。また、ニンジンと同じセリ科のパセリでも、胚乳からの不定胚形成が認められており、再分化植物は2倍体であったと報告されている¹¹⁾。この報告では、胚乳組織には3倍性細胞だけでなく2倍性細胞も含まれており、これら2倍性細胞が増殖して不定胚形成の方向に動いたので胚発生がうまく進み、その結果として2倍体が再分化してくるという推測がなされている。この推測が正しいならば、ニンジンの再分化植物でも2倍体が再分化してくる確率は高くなるであろう。他方、再分化植物の多くのものは染色体数に変異を生じているということが明らかにされてきている¹²⁾。これらを考え合わせると、再分化植物の染色体数と再分化植物の植物の起源となる組織の染色体数とは必ずしも一致しているとはいえないであろう。

再分化植物の染色体数についての疑問は残るものの、

これまで述べた観察結果、部位別の培養結果、パセリの報告などから、ニンジン分果から形成される不定胚は胚乳を起源とする可能性が高いと考えられる。

(1992年9月18日受理)

文 献

- 1) 川原良一, 駒嶺 穆, 1991. 蛋白質—核質—酵素, **37**: p. 1249-1256.
- 2) Kiyosue, T., H. Kamada, H. Harada, 1989. *Plant Tissue Cult. Lett.*, **6**: 162-164.
- 3) Smith, D., A. D. Krikorian, 1988. *Plant Sci.*, **58**: 103-110.
- 4) 古川 一, 重松典宏, 1991. 植物組織培養, **8**: 94-97.
- 5) Murashige, T., F. Skoog, 1962. *Physiol. Plant.*, **15**: 473-497.
- 6) 松井弘之, 1981. 園芸学実験・実習 (大阪府立大学農学部園芸学教室編), p. 95-96, 養賢堂, 東京.
- 7) Borthwick, H. A., 1931. *Bot. Gaz.*, **92**: 23-44.
- 8) Gmitter, F. G. Jr., X. B. Ling, X. X. Deng, 1990. *Theor. Appl. Genet.*, **80**: 785-790.
- 9) 玉置 学, 横井昭敏, 1990. 育種, **40** 別冊, 2: 133-134.
- 10) Shu-qiong, L., L. Jia-qi, 1980. *Acta Botanica Sinica*, **22**: 198-199.
- 11) Masuda, K., Y. Koda, Y. Okazawa, 1977. *Physiol. Plant.*, **41**: 135-138.
- 12) 大野清春, 1985. 植物培養細胞の変異と選抜, p. 111-177, 講談社, 東京.