

ヨーロッパトウヒの培養細胞を用いた管状要素分化誘導系の開発

環境資源学専攻 森林資源科学講座 樹木生物学 鎌田 裕

1. はじめに

植物において水や無機塩類の通道を行う細胞は管状要素と総称される。針葉樹は二次木部の大部分が管状要素である仮道管によって占められることから、仮道管の形態形成を理解することは針葉樹の育種や生産において重要である。管状要素の形成は植物体の内部で進むことから分化過程の直接的な解析が難しいため、ヒヤクニチソウやシロイヌナズナなどの草本植物を用いた *in vitro* での管状要素分化誘導系が開発・利用されている。しかし従来の誘導系で誘導される管状要素は一次木部の特徴をもつため、針葉樹の二次木部の解析には適さない。また、針葉樹の培養細胞を用いて、二次木部の特徴をもつ管状要素が誘導された報告はあるが、その微細構造に関する知見は少ない。そこで本研究では遺伝子導入の報告があり、全ゲノム解読が完了しているなど分子生物学的な研究への応用が期待できる針葉樹であるヨーロッパトウヒ (*Picea abies*) を材料として、二次木部の特徴をもつ管状要素を形成する分化誘導系の開発に取り組み、さらに形成された管状要素の微細構造についての観察を行った。

2. 方法

林木育種センター北海道育種場から提供いただいたヨーロッパトウヒ成熟種子(系統 C622, 2012年採取)を用いた。滅菌した種子から胚を切り出し、培地に植えることでカルス誘導を試みた。カルスの獲得および継代維持にはオーキシン 2, 4-D 20 μM を添加した窒素源半量の MS 固体培地を用い、約1ヶ月間隔でカルスを継代維持した。カルスの一部を偏光顕微鏡下で観察し、撮影した画像中の複屈折を示す面積の割合を管状要素の面積率として算出した。同時に、管状要素の二次壁肥厚様式を主に壁孔の形状に基づき分類し、それぞれの割合を算出した。また、カルス内部に形成される管状要素が樹木に類似した細胞壁構造をもっているかを検討するため、カルスをエタノール凍結切断することで細胞の断面を露出させた試料を作成し、走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いて有縁壁孔をもつ管状要素の細胞壁の微細構造を観察した。

3. 結果と考察

成熟種子胚から不定胚形成細胞が形成され、その後カルスが形成された。カルス内には厚い二次壁をもつ管状要素が見られ、管状要素面積率は $4.6 \pm 2.0\%$ だった。管状要素の二次壁肥厚様式とその割合はそれぞれ、網状の二次壁をもち、壁孔をもたないものが 11%、網状の二次壁と壁孔をあわせもつものが 17%、円状の壁孔をもつものが 8%、レンズ状の壁孔をもつものが 10%、有縁壁孔をもつものが 55% で、約5割の管状要素が有縁壁孔をもっていた。SEM 観察により、形成される管状要素には、壁孔縁内腔側に孔口を迂回するようなマイクロフィブリル配列がみられ、壁孔室側の壁孔縁のマイクロフィブリル配列と思われる円状の構造がみられた。一方で、壁孔壁にはトールスやマルゴといった針葉樹仮道管にみられる構造が観察されなかった。

4. まとめ

今回開発したヨーロッパトウヒの培養細胞を用いた管状要素分化誘導系には、高い割合で二次木部の特徴をもつ管状要素が形成され、その二次壁構造は仮道管と類似していたことから、針葉樹仮道管の形態形成機構を理解するための材料として活用できる可能性がある。