

第3節 植物の栄養器官・植物の三層構造（L1, L2, L3）の観察

3.1 はじめに

【全ての維管束植物が持っている茎頂分裂組織】

茎頂分裂組織は未分化の細胞群であり、植物体の茎の頂端部に位置する（図1a）。実体顕微鏡下で小さな葉を順番に取り外すと、最後には必ず茎頂分裂組織を見つけることができる。ここから植物体のほとんど全ての地上部器官が発生し、発達する。葉原基と呼ばれる小さな突起が発生し、発達することで葉になる（図1a,b）。次々に茎頂分裂組織で発生する葉と葉の間が節間となる。

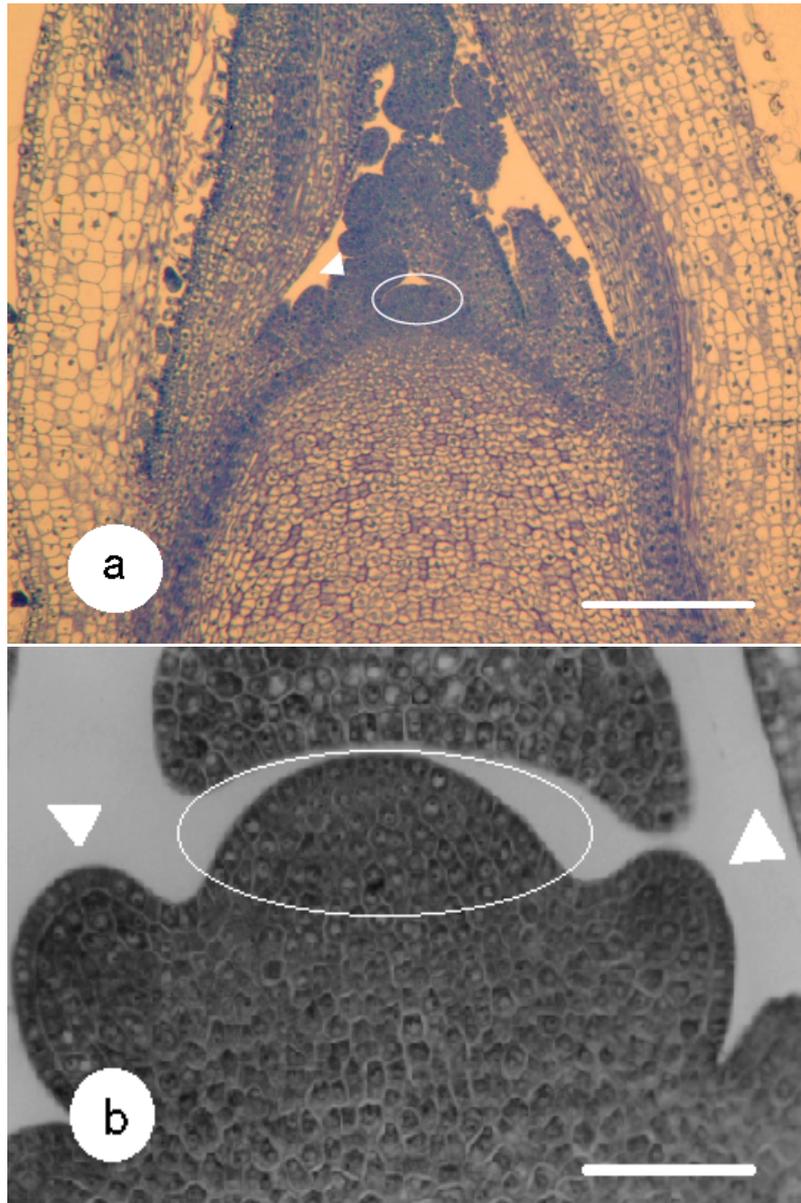


図1 植物の茎頂分裂組織

白丸は茎頂分裂組織、矢印は茎頂分裂組織から発生したばかりの葉原基を表す
a: キクの茎の頂端部 バーは0.5mm b: カーネーションの茎頂部 バーは0.1mm

【茎頂分裂組織は数層の起源層から構成される】

多くの維管束植物の茎頂分裂組織は層状構造をしていることが知られている(図2)。外側の層からL1, L2, L3・・・などと呼ばれている。それぞれの層の細胞は表層に対して垂直に新しい細胞壁を形成し分裂を繰り返す。これを**垂層分裂**と呼んでいる。垂層分裂のみを繰り返す層は一層の細胞層となり、垂層分裂と**平層分裂**(細胞層と平行に細胞壁を形成する)を行ったばあいには細胞層にはなり得ない。茎頂分裂組織において独立したそれぞれの細胞層を**起源層**という。茎頂分裂組織に起源層がどれだけあるかは植物種によっても、また育成環境によっても異なる。

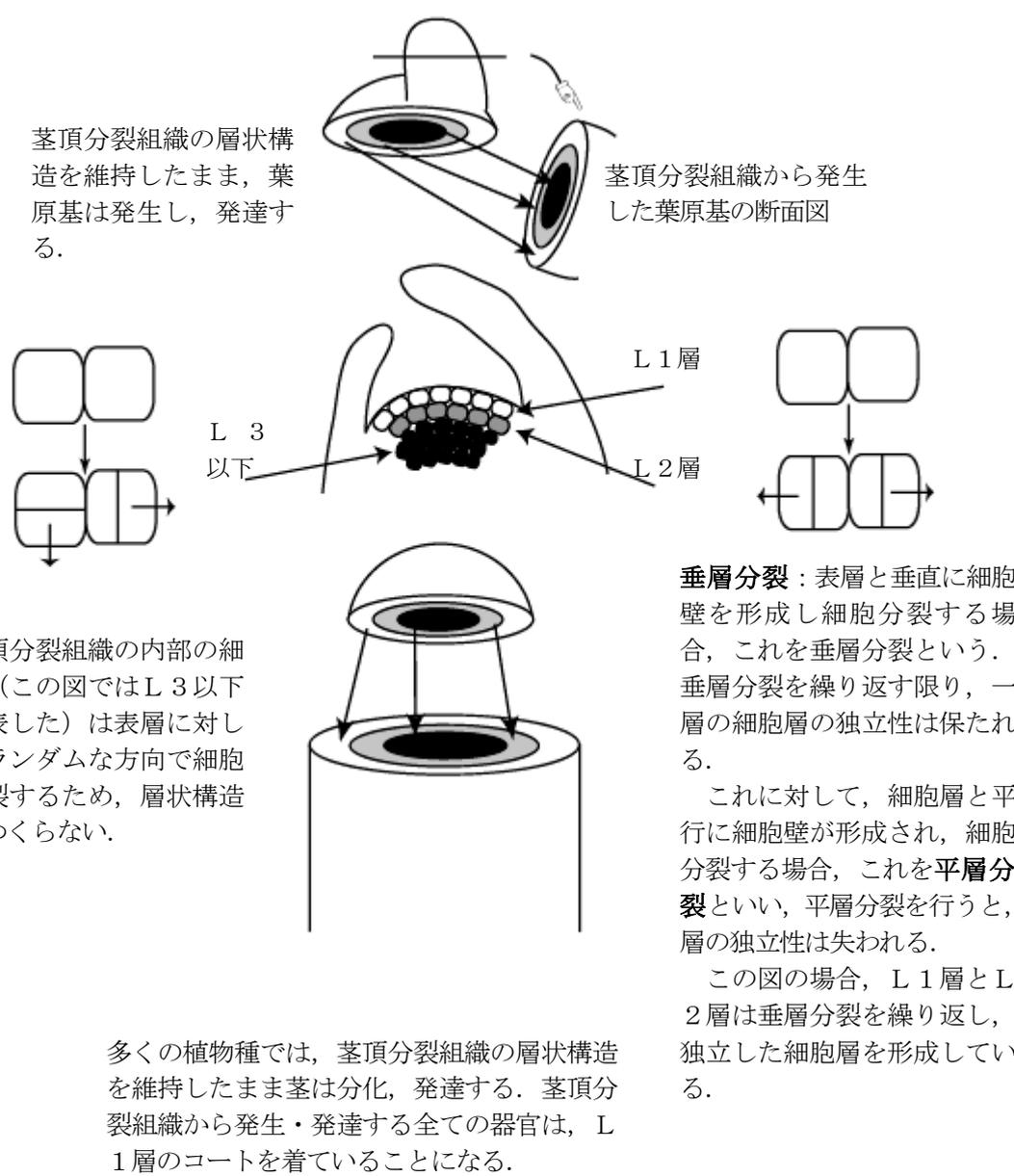


図2 茎頂分裂組織内の細胞の分裂パターンと層状構造の形成、また組織・器官分化後

の層状構造の維持

一つの植物体が遺伝的に異なる二つの細胞群から構成される場合、この植物体をキメラ植物と呼ぶ。遺伝的に異なる細胞群が茎頂分裂組織を構成する場合、遺伝的に異なるそれぞれの細胞群は、組織・器官分化に永続的に預かることになる。特に、一つの起源層が **wild type** とは遺伝的に異なる細胞で満たされた場合には、その植物体を**周縁キメラ植物**と呼ぶ。図3に一例を示した。

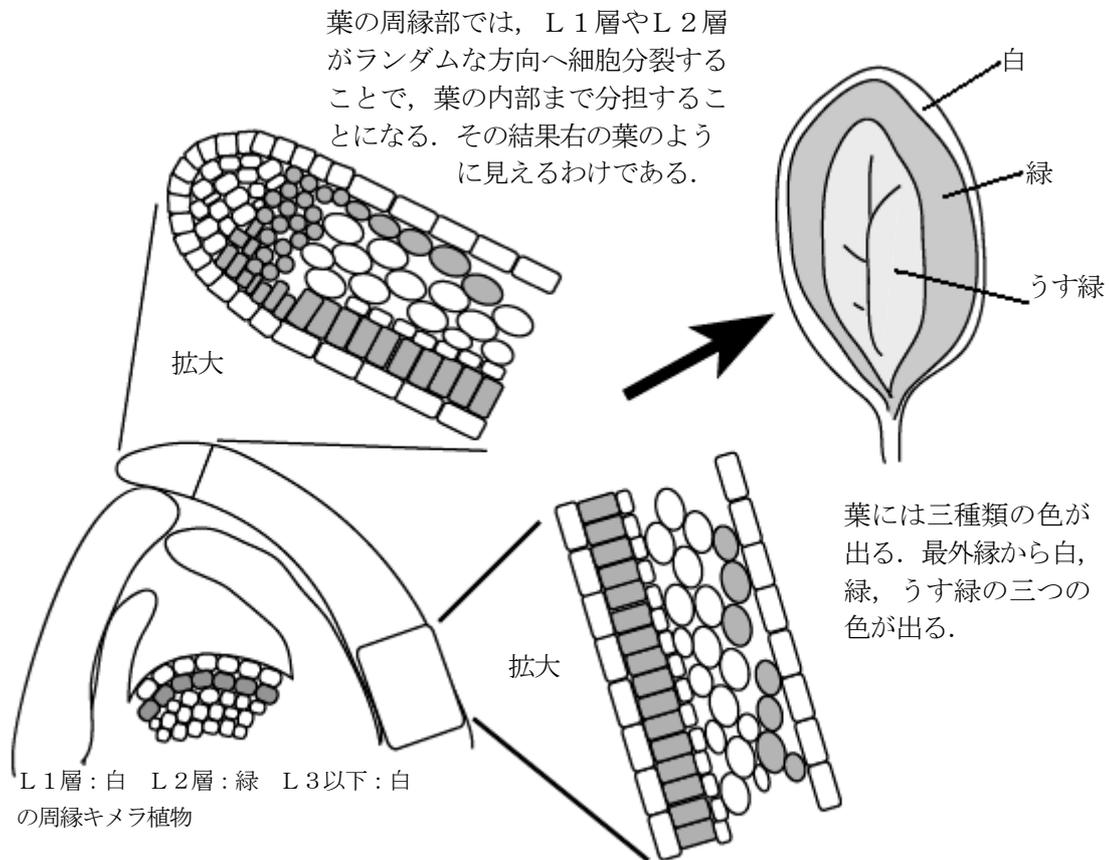


図3 斑入り植物の斑入り発現と茎頂分裂組織の起源層を構成する細胞の種類の関係

3.2 実験の目的

周縁キメラ植物である斑入り植物を利用して、茎頂分裂組織の各起源層の分化する組織の分担域を観察する。

3.3 実験の方法

【斑入り葉の徒手切片と樹脂切片の作成と観察】

徒手切片では、緑色の細胞層と白色細胞層を見分けることができるため、斑入り植物がどのような色の細胞層の重ね合わせで斑入りを発現しているのかを見ることができる。樹脂切片では、5ミクロンの薄い切片の観察ができるため、徒手切片よりシャープな層状構造の観察をすることができる。樹脂切片の観察から葉の構造をスケッチする。その際、白色細胞と緑色細胞の分布が分かるようにしておくといよい。

【茎頂分裂組織の切片の観察】

こちらで用意した茎頂分裂組織の樹脂切片について層状構造が分かるようにスケッチする。なお、

茎頂分裂組織における葉の発生・発達過程が分かるものを選んで観察するのがよい。二つのスケッチを見比べ、用いた植物が茎頂分裂組織のどの層に白色突然変異を持つ周縁キメラ植物なのかを推定する。また、茎頂分裂組織の各起源層は葉におけるどの組織に分化するのかを推定する。レポート用紙の【考察】が観察のポイントであるが、各自気が付いたことなどもスケッチには付記しておくが良い。

3.4 プロトコール

【徒手切片】

切片は薄ければ薄いほど観察しやすいが、細胞や組織が壊れない程度の厚さの切片を作る必要がある。図4に徒手切片作成の概略図を示した。

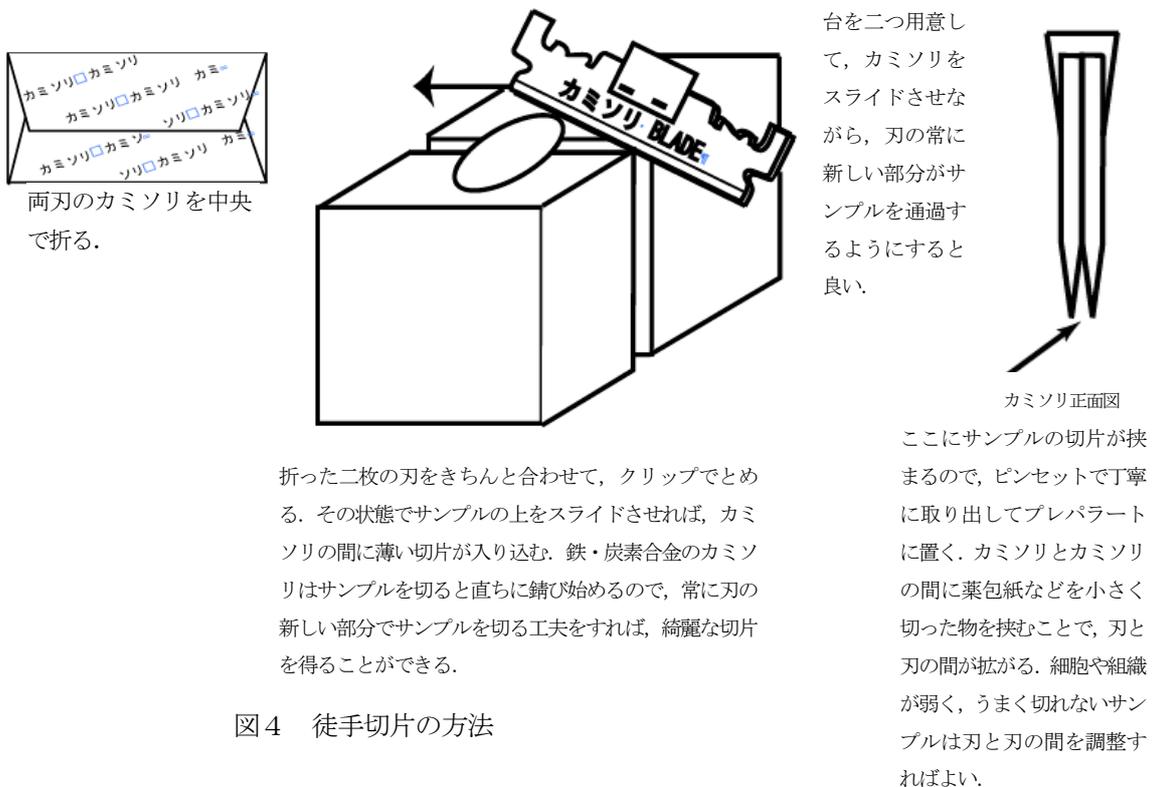


図4 徒手切片の方法

【樹脂切片】

葉は1cm角程度に切り、FAA（エタノール：水：ホルマリン：酢酸 12:6:1:1 v/v）に浸し、エバポレーターで脱気する。一日間脱気し、泡が出なくなったことを確認する。脱気の済んだサンプルはFAAにさらに一週間程度つけて置いた方が望ましい。FAAから取り出したサンプルを一日間水洗し、エタノールシリーズで脱水する。脱水したサンプルは樹脂に置換し、樹脂でブロックとする。

樹脂ブロックは金属ヤスリなどでトリミングし、なるべく無駄な部分を削り取る。作成した切片は用意して置いた水槽に入れ伸展させる。切片をプレパラートですくい取り、乾燥させる。乾燥したプレパラートはトルイジンブルーで十分間染色し、水洗・乾燥させる。なお、トルイジンブルーは細胞壁をはじめとした多糖類などを染色する染色剤であり、植物の細胞構造の観察などではよく使われている。