

トマトとイヌホウズキのキメラの代謝的研究

その2 茎の呼吸について

熊谷孝美 宇佐美正一郎

キメラ雑種というのは、種を異にする二つの植物の組織を一個体内に共有する特殊なタイプの植物の通称である。キメラは自然環境においてまれに出来ることもあるが、Winklerが1907年に同じナス科の植物であるトマトとイヌホウズキを接木することによつて人為的にキメラを作ることに成功し、形態学及び細胞学的に研究して⁽¹⁻⁶⁾以来、主として遺伝学の分野に興味のある実験材料として注目されて来た。

著者等が用いた実験材料は Winkler が作ったキメラの中の一つと同じものであり、植物体のどの組織も内層がトマト (*Lycopersicon esculentum* var. *Kinnari*) 起源で、外側の二層即ち表皮と次表皮がイヌホウズキ (*Solanum villosum*) 起源の組織から構成されている。この事實は勿論、細胞核の染色体数を細胞学的に調べた結果明らかにされたことであつて、組織断面を肉眼的に観察しただけで認められることではない。このキメラを構成しているトマトとイヌホウズキは、分類学上同じナス科であるが異属の植物であり、葉形、毛茸、花、果実などの形態及び大きさに著しい相違がある。このように二種類の植物に起源をもつ組織が共存して独立した一箇の植物体を成しているキメラは、二つの対照(起源)植物のいずれとも似ない独特な外観を呈している。特に著しい特徴は、キメラの葉が裏側に大きくまくれ込んだ珍奇な様相を呈することと、花が痕跡的に着くだけで果実を全く生じないことである。増淵はこのキメラの形態を詳細に研究し、キメラが形態学的に種々の点で対照植物の中間的性質を示すことを報告した⁽⁷⁾。これとは別に Jørgensen⁽⁸⁾、Günther⁽⁹⁾ 等も数種のキメラの形態を対照植物のそれと比

較研究し、キメラを構成する組織間に形態的相互作用のあることを報告している。

形態の発現はその根底に存する代謝的機構の帰結であると考えるから、以上のようにキメラが対照植物と異なる形態学的特性を有することは吾々に次のことを暗示するものである。

即ち、二種類の異なる植物に起源をもつ組織がキメラという特殊な植物の場で共存することにより、代謝的にも本来有する性質を独立的にそのままつものではなく、相互に影響し合うことにより、対照植物とは異つた性質を有する組織に変化しているのではないかということである。

以上のような観点から著者等は、キメラの代謝的研究の一段階として、キメラの呼吸活性を対照植物と比較的に研究した。既に葉の呼吸活性についての研究を終え、上述のような推測を支持する結果を得ているが⁽¹⁰⁾、葉の場合にはキメラを構成している二種類の組織を分離して実験することが技術的に困難であつたので、その立証の根拠に明確さを欠いたが、茎の場合にはそれぞれの組織を分離して実験出来たので、ここにその結果を報告する。

材料と方法

実験に用いた材料は、増淵(北大、教養、植物学教室)が Winkler の方法で接木により作ったキメラで、外側の二層(表皮と次表皮)がキメラを作る場合に接穂としたイヌホウズキ (*Solanum villosum*) 起源の組織から成り、内側が台木としたトマト (*Lycopersicon esculentum* var. *Kinnari*) 起源の組織から成つている。著者等は このキメラを便宜上 L_e×S_v(Ⅱ)と

呼んでいるが、カッコ内は外側の細胞層の数を示している(図2)。図1はキメラと対照植物(いづれも2.5ヶ月の発育ステージ)の写真である

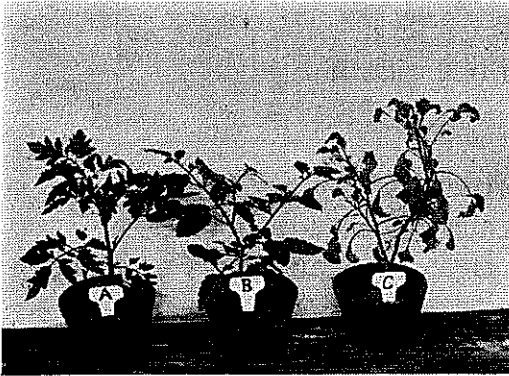


図1 実験材料

- A: トマト (*Lycopersicon esculentum* var. Kinnari)
 B: イヌホウズキ (*Solanum villosum*)
 C: キメラ (*Le* × *Sv* (II))

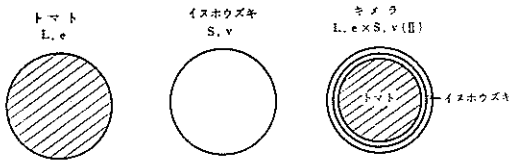


図2 キメラの茎の組織構成を示す模式図

が、キメラが対照植物とかなり異なつた外観をもつていることがわかる。このキメラは果実をつけず、従つて種子も出来ないので挿木によつて分栽し代を重ねた。一方、対照植物のトマトとイヌホウズキは比較のためにキメラと同様挿木によつて分栽した場合もあるが、種子から発芽させて作つたものと本質的な差がないことをみたので、多くは発芽によつて育てたものを用いた。植物はすべて四季を通じて約25°Cの温室内で6寸鉢で育てた。比較する三種の植物(トマト、イヌホウズキ、キメラ)は出来るだけ条件を同じにするように努め、同じ発育ステージ(発芽及び挿木から2~3ヶ月)のものを実験に用いた。同種の植物でも多少の個体差があるので、実験には少くとも同種の二株から適宜に材料を得、2~3回の実験結果を平均してデータとした。植物の頂部から10~15cmの茎を切り、葉柄を基部からカミソリで切除し水洗い

してからそれぞれの実験に用いた。

茎切片の作り方; 茎を薄いカミソリで厚さ約1mmの切片に切り、水で湿した炉紙を敷いたシャーレに集めた。茎の組織を内外の層に分離するには、茎の一端にカミソリで小さなきざみを入れ、手で剥皮する方法で行つた。剥皮したものが、どの部分も完全に2層の細胞層から成つているとは云い難いが、時折顕微鏡で観察した結果に依れば、おおむね二層と云える。分離した組織の中、内層は上述のように約1mmの厚さの切片とした。剥皮した外層はその細長い組織を0.5~1.0cmの長さに切り、長形状の切片として用いた。

無細胞抽出液の調整; 水洗いした茎を細かくきざんで水で冷した乳鉢に入れ、脱イオン水を茎の重さの二倍量加えてよくすりつぶし、それを四層のガーゼで濾した液を無細胞抽出液とした。

酸素吸収はすべて Warburg の検圧計を用い、30°C で1時間測定した。外から与えた各基質の酸化測定の場合は、基質を検圧計容器の側室に入れ、15分の温度平衡の後に主室に流入してから測定を開始した。副室には常に15% KOHを0.5 ml 入れた。

切片の自家呼吸測定の場合は、切片を作つてから30分以内に実験に用い、無細胞抽出液の場合は、調製後氷室に保存して、大抵その日の内に用いた。

乾燥重量は切片または無細胞抽出液を秤量びんに入れ、90°Cの恒温槽で48時間熱して後測定した。

結 果

1. 茎切片の自家呼吸能と pH の影響

最初に茎切片が示す自家呼吸能に三種の植物で差があるかどうかをみるために、組織を分離せず、茎そのままの切片で各 pH における呼吸活性を調べた。

図3に示すように、トマトとイヌホウズキでは大差がない活性を示したのに対して、キメラはそれらより20~30%高い活性を示した。呼吸

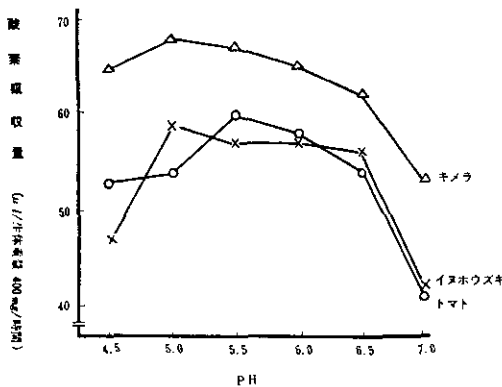


図3 茎切片の呼吸活性におよぼす pH の影響
(M/20 磷酸緩衝液使用)

能に対する至適 pH はトマトでは pH 5.5 であったが、イヌホウズキとキメラでは pH 5.0 であった。この実験ではキメラの組織を分離せず、両対照植物起源の組織を同時に含む切片を用いたのであるが、pH に対する以上の結果は、キメラを構成する組織全体が量的には非常に少いイヌホウズキの組織に影響されていることを示すと考える。

2. 分離した茎組織切片の自家呼吸能

茎の全組織切片の自家呼吸能がキメラで対照植物の示す呼吸能の20~30%高い値を示したことは、如何なる理由に依るものであろうか。

キメラを構成する二種類の組織の両方が影響をもつのか、あるいはその一方であるか。この疑問を解明するため、キメラの組織を内外の二層に分離すると共に、対照植物のそれぞれ対応する組織の呼吸能を比較するため、キメラと同様に分離した。表1は分離した組織切片の呼吸

表1 内層外層に分離した茎切片の呼吸活性
(M/20 磷酸緩衝液 pH 5.5)

部分	植物	トマト	イヌホウズキ	キメラ
		酸素吸収 μl/生体重量 400mg/時間		
外層		63(2.0)	74(2.7)	89(3.0)
内層		39(2.1)	40(3.0)	50(4.5)

() 内は QO_2 ; 酸素吸収 μl/乾燥重量 mg/時間

能を pH 5.5 で比較したものである。pH 5.5 で比較したのは、図3の結果から判断して pH 5.0 より適当と考えたからである。又、表1で呼吸

活性を生体重量当りと乾燥重量当りの二方法で示したのは、外層が内層に比べて著しく水分含量が少ない(乾燥重量比率が大きい)ために、二つの表示が必要と考えたからである。

表1から明らかなように、キメラの両組織はいつでも対照植物のそれより大きな活性を示した。対応する組織、即ち、トマトとキメラの各内層、及びイヌホウズキとキメラの各外層、これ等は両者共同起源の組織であるにも拘らずキメラの組織が対照植物より相当高い活性を示したことは注目し得る。

3. 無細胞抽出液による呼吸基質の酸化

キメラの茎が対照植物のそれより高い呼吸能をもつことが明らかとなったが、その原因を解明する一つの試みとして、種々の呼吸基質を外から加えて、それらが茎の無細胞抽出液でどれ程酸化されるかを調べた。これは茎の細胞にどんな酵素があるかを知るためと、自家呼吸の基質が何であるかをおよそ推定出来ると考えたからである。

これら基質の酸化における至適 pH はそれぞれの基質について求めなかつたが、葉の無細胞抽出液による実験結果などから pH 6.5 (M/20 磷酸緩衝液)が適当と考えてそれを用いた。但し、Glycolic acid の場合だけは pH 8.8 (M/20 Veronal 緩衝液)を用いた。表2はその結果を示す。各植物共に Chlorogenic acid の酸化活性が著しく大きいことは、葉の場合と同じであったが、Glycolic acid に対する活性が葉の場合と異り著しく小さかつたことは注目される。

表に示されていないものでは、T.C.A. サイクルの中間代謝物質のいくつか、及び数種のアミノ酸などを基質として用いた実験したが、全く酸化されなかつたか、あるいは極めて小さい活性より示さなかつた。

表2に示したように、基質無添加、即ち無細胞抽出液の自家呼吸が全く無いことは、切片の自家呼吸能と比較して興味のある現象である。各植物による基質の酸化活性には著しい差異は認められなかつたが、キメラの活性がおおむね

表 2 茎の無細胞抽出液による各種呼吸基質の酸化
(M/20 磷酸緩衝液 pH 6.5)

基 質	濃 度	トマト イヌホウズキ キメラ		
		酸素吸収 $\mu\text{l}/\text{乾燥重量 mg}/\text{時間}$		
無 添 加	M	0.0	0.0	0.0
Hydroquinon	2×10^{-2}	5.0	5.5	5.2
p-Phenylendiamine	〃 〃	10.5	5.2	7.5
DOPA ¹⁾	1×10^{-2}	10.4	17.0	17.0
Chlorogenic acid	〃 〃	148.0	155.0	164.0
Glycolic acid ²⁾	2×10^{-2}	1.0	1.5	2.4
Ascorbic acid	〃 〃	8.2	7.5	13.0

1) 3, 4-Dihydroxyphenylalanine
2) M/20 Veronal 緩衝液, pH 8.8 を使用.

対照植物のそれより大きい傾向を示した。各基質についていうと、Hydroquinone, p-Phenylendiamine ではキメラが対照植物の中間的活性を示したのに対し、DOPA では対照植物の中、高い値を示したイヌホウズキと同じ活性を、また、あとの三つの基質においては対照植物のいづれよりも大きい活性を示した。しかし、この実験に用いた無細胞抽出液は分離しない茎の全組織から調整したものであつたから、次に分離した組織の切片を用いてこれら基質の中で特に注目すべき Ascorbic acid の酸化を調べた。

4. 分離した組織切片によるアスコルビン酸の酸化

この実験では、キメラの内外層とそれに対応する対照植物の組織だけについて行つた。

表 3 茎の内外層の組織切片による
Ascorbic acid ($2 \times 10^{-2}\text{M}$) の酸化
(M/20 磷酸緩衝液 pH 6.5)

部分	植物		
	トマト	イヌホウズキ	キメラ
	酸素吸収 $\mu\text{l}/\text{乾燥重量}/\text{時間}$		
外 層	—	1.4	6.2
内 層	12.7	—	21.5

1) 切片の自家呼吸量は差引いてある。

表3にみられるように、イヌホウズキ外層のアスコルビン酸酸化能は極めて低いのにに対してキメラの外層はその4倍以上の活性を示した。また、キメラの内層はトマトの内層の2倍に近い酸化能を示した。

以上の事実は、アスコルビン酸酸化能に関してキメラを構成する両組織がその起源組織と明

らかに異なる機構を備えていることを暗示するものである。その原因が酵素量の違いによるものか、あるいは他の因子、例えば細胞内のその酸化を阻害する物質の多少などによるものか、この実験からは速断出来ないが、とにかくキメラが対照植物の組織と異なる性質を示したことは、自家呼吸能の高いことと考え合せて興味ある問題である。

5. トマトとキメラの各内層の無細胞抽出液によるアスコルビン酸の酸化

前の実験においてアスコルビン酸酸化に関し興味ある結果を得たので、更に詳細にこの問題を追究する目的で、トマトとキメラの内層の無細胞抽出液による種々の濃度のアスコルビン酸酸化能を測定した。表4に示したように低濃度

表 4 トマトとキメラの茎内層の無細胞抽出液による
Ascorbic acid 酸化におよぼす濃度の影響
(M/20 磷酸緩衝液 pH 6.5)

濃 度	トマト内層 キメラ内層	
	酸素吸収 $\mu\text{l}/\text{乾燥重量 mg}/\text{時間}$	
M		
2×10^{-3}	4.5	5.0
5×10^{-3}	4.8	6.9
1×10^{-2}	5.0	8.5
2×10^{-2}	6.5	10.5
4×10^{-2}	7.2	12.9
1×10^{-1}	11.0	18.1
2×10^{-1}	10.2	18.0

においては、両者に殆んど差がみられないが高濃度になるに従いキメラの酸化能は著しく増大するのに対し、トマトではそれ程の増大はみられなかつた。この結果は、同じ起源の二つの組織に含まれるアスコルビン酸酸化酵素に質的な差があることを暗示するものである。又、表3と表4とからわかるように、同濃度 ($2 \times 10^{-2}\text{M}$) のアスコルビン酸に対する酸化能が、組織切片と無細胞抽出液とではかなりの差があること、即ち切片の方が2倍の活性を示したことは注目すべき点である。

考 察

周知の如く、従来の植物分類学研究の手段は主として形態学に基礎を置いたものであるから種が異なるということは、それらの植物に大なり小なり形態的な差異があるのは当然である。形態の発現はその根底に存する代謝的メカニズムの帰結であると考えられるから、異種の植物ではそれぞれの種に特有な遺伝子支配に基づく代謝系に何等かの違いがあつて然るべきである。

この実験の対照植物であるトマトとイヌホウズキは同科異属の植物であり、葉茎の形及び表面に生える毛茸、果実の形、大きさ、色素などに大きな差異をもっているから、その代謝系にもかなりの違いがあると推定される。一方、このキメラはこれら異属の植物の細胞組織を一個の独立した植物体の中に有しているわけであるから、かかる状態に置かれているキメラの両組織がその本来の代謝的機能をそのまま維持しているか、あるいは共存することによつて相互に影響し合い本来の特質を何等かの形で変えられて存在するか、の疑問を解くことは代謝生理学的見地からまことに興味ある問題である。二、三の研究による詳細な研究^(7,8,9)でも明らかなように、このキメラは形態学的に概して両対照植物の中間的性質を示すことから、キメラの両組織に代謝的にも相互作用が存在することは当然考えられる。以上の想定のもとにこの実験ではキメラの代謝生理学的一側面として茎の組織の呼吸の問題に解析のメスを入れた。

茎の組織を内外の二層に分離してその切片の自家呼吸を調べた実験において、キメラの両組織がいづれも対照植物の対応する組織切片より高い呼吸能を示したことは、キメラを構成する両組織が呼吸のメカニズムにおいて対照植物の組織と何等かの点で異つた特質をもっていることを示すものである。キメラの組織が対照植物のいづれにも無い別な呼吸代謝系を新たに獲得したというような飛躍的な可能性は少いとしても、呼吸に関与するある種の酵素に量的あるいは質的变化を獲得している可能性は十分考えら

れる。茎の自家呼吸の基質が何であるかを追究しないで速断することは危険であるが、無細胞抽出液による種々の呼吸基質の酸化能を比較した実験結果は以上の推論をある程度支持するものとする。特にアスコルビン酸の酸化能を分離した組織で比較した結果は、酵素の質的差異を暗示している点で注目し得る。このことは葉の呼吸に関する研究である前報⁽¹⁰⁾において、アスコルビン酸の酸化能にキメラの組織が対照植物に比べて著しく大きな活性を示したこと、及びこれらの植物の葉や茎に相当量のアスコルビン酸が含まれていたことと考え合せて興味ある問題である。

葉の場合には組織を分離することが技術的に困難であつたからそのままの組織を用いたが、茎の場合には分離してそれぞれの組織について比較できた点、一歩前進した実験と云えるが切片の自家呼吸能は別としても、呼吸基質の酸化能を精製した酵素によらず、無細胞抽出液という種々の因子の混雑する場において測定したことなど不十分な点は多々ある。しかし、この実験を進める場合最も困難を感じたのはキメラの材料不足ということである。挿木による分枝でふやすことは出来たがそれ程多くの材料を得ることは難かしかつたし、茎を用いた場合、一度使つた材料は再び用いることが出来なかつたからである。

キメラを雑種と云えるかどうかは問題ある点であるが、一般的意味で云う雑種には雑種強勢の現象がよくみられる。この実験においてキメラを構成する両組織が対照植物の各組織より高い呼吸能を示したことは、「代謝生理的雑種強勢」と呼んでもよい現象と考える。

要 約

トマトとイヌホウズキの接木によつて作つたキメラの茎の呼吸能を対照植物(トマト、イヌホウズキ)の茎と比較的に研究した。その結果を要約すると、

1. 分離しない茎の組織切片の自家呼吸能ではキメラが対照植物より20~30%高い活性を示

した。最適 pH はトマトが 5.0, イヌホウズキとキメラが 5.5 であつた。

2. 茎の組織を内層、外層に分離して同じ起源の組織同志で自家呼吸能を比較した結果、キメラの両組織がいずれも対照植物の各組織より 20~30% 高い活性を示した。

3. 無細胞抽出液による各種呼吸基質の酸化能を各植物で比較した。いずれの基質に対する酸化能も各植物で大差なかつたが、キメラによる酸化能が対照植物のそれより概して高い傾向を示した。特にアスコルビン酸の場合に大きな差が認められた。

4. トマトとキメラの各内層、及びイヌホウズキとキメラの各外層の組織切片によるアスコルビン酸酸化能では、いずれもキメラの方が高い活性を示した。同じ植物で云えば内層の方が外層より 5 倍以上の活性を示した。

5. トマトとキメラの各内層の無細胞抽出液による種々の濃度のアスコルビン酸酸化能を調べた結果、トマトとキメラでそのパターンが異なることをみた。

以上の結果より、キメラを構成する両組織は

呼吸代謝のある面においてその起源組織と異つた性質をもっていることがわかつた。換言すればキメラが代謝生理的な雑種強勢の現象を示したと云える。

本研究を行うにあたり、貴重な材料を提供して下さつた北大教養部助教授増淵法之氏に深く謝意を表する。

文 献

1. H. Winkler; Ber. deut. bot. Ges., 25, 518-576 (1907).
2. H. Winkler, Ber. deut. bot. Ges., 26, 595-608 (1908).
3. H. Winkler, Zeitschr. f. Bot., I, 315-345 (1909).
4. H. Winkler, Zeitschr. f. Bot., II, 1-38 (1909).
5. H. Winkler, Sitz. Phys. Med. Ges. Wurzburg, 95, 119 (1913).
6. H. Winkler, Planta, 27, 680-707 (1938).
7. 増淵, 植物学雑誌, 74, 34-41 (1961).
8. C. A. Jørgensen and M. B. Crane, Jour. Genet., 18, 247-260 (1927).
9. E. Günther, Flora, 144, 497-517 (1957).
10. T. Kumagai, S. Usami, P.C.P. (in press).