

1B-2

トウロウソウ epiphyllous budの形成を用いた生理活性物質検定法

飯野盛利・橋本徹(理研・生物試験)

トウロウソウ (*Bryophyllum calycinum*) は葉縁の notch に芽の原基を有し、葉が植物体に付いている状態では通常この原基は成長することなくほぼ一定の状態 で存在し続けるが、葉を植物体から切り離すと、この原基は成長を開始して芽 (EB, epiphyllous bud) を形成する。この芽はやがて成長して一個の植物体となる。

我々は葉の notch を含む切片を培養することにより、芽の原基の成長に基づいて、芽の形成に関与する生理活性物質の検定法を考案した。この検定法は、既知の植物ホルモンに対して他の検定法とは異なる活性を示し、また植物抽出物からこの検定に阻害活性を持つ分画を幾つか得ている。

切片の培養はシャーレで、水を加えた濾紙の上で行なった。切片の切り出し方によって EB の形成過程には差が生じないので、簡便さからコルクボーラーで disk として打ち抜く方法を採用した。明条件で起こる EB 形成は暗条件では起こらないので、培養は蛍光灯下で行なうことにした。

EB の形成過程を、実体顕微鏡下で観察される形態変化に基づいて図ノの様に 7 つの stage に分けた。この stage を用いて EB 形成の数量化を行ない、これによって培養法の細かい点と芽の形成過程を同調化するための材料の選び方を検討した。さらにこれを検定における測定単位とした。

disk の直径は 9 mm 以上において stage の進行に差がないが、小さい disk では芽が小さくなるので stage の鑑別がしにくくなる。通常直径 12 cm (抽出物検定は 10 mm) を用いた。温度は stage の進行速度に多少影響し、形態変化には影響しない。通常 23°C あるいは 25°C で行なった。Sucrose は stage の進行に影響せず、ホーグランド液で培養すると stage の進行は多少早められた。培養液は最も簡単な方法を取って、蒸留水のみ (抽出物の検定は 0.05% Tween 20) で行なうことにした。

葉が若すぎると stage 進行の出だしが遅れ、古いと stage がすでに 1 や 2 になっているので、shoot の上部の葉で大きくなりきったものを用いることにした。notch の位置が葉の元の方では stage 進行の出だしが遅れるが、中央より先ではほぼ同調的なのでこの部分を用いることにした。

本検定法を用いて植物ホルモンの効果を調べた。IAA はほとんど影響せず st. 5 以上でやや阻害的となり、kinetin は主に st. 2~4 を促進し、ABA は st. 0~1 で阻害的でそれ以上では影響がなく、GA₃ は stage の全域を阻害し主に st. 1~3 で顕著であった。トウロウソウ、Pea 等の acetone 抽出物から中性・酸性分画を取り TLC で 10 分画したものを本検定法で test し、阻害活性を持つ幾つかの zone を得た。茎に付いている葉において芽の原基の成長が止まっていることは生体内における阻害因子の存在を示唆し、本検定法で植物の抽出物から阻害活性を得たことはこの点において意義があると考えられる。

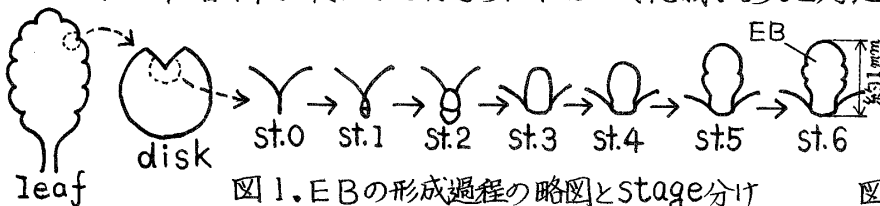


図1. EBの形成過程の略図とstage分け

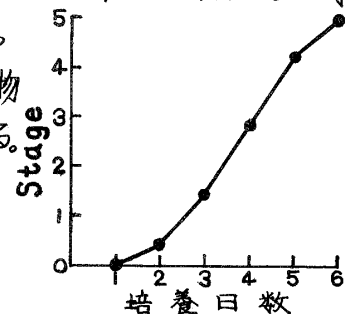


図2. stage進行の標準曲線