

2Cp-4

トレニアの茎表皮組織における不定芽分化の研究

II. RNAおよび蛋白合成阻害剤の影響

谷本静史・原田 宏 (筑波大・生物)

トレニア節間切片表皮組織における不定芽分化はきわめて早く進行し、培養のごく初期にサイトカイニンを培地中に添加することで、この反応を著しく促進することができる(植物生理学会, 1981)。さらに、不定芽分化に先立って起るM区(meristematic zone)形成期において、蛋白量の急激な増加が見られ、M区形成と蛋白合成との関連が示唆される(前報)。そこで、M区—不定芽形成を促進する条件下で、培地中に種々のRNAおよび蛋白合成阻害剤を添加し、それぞれのもたらし影響について検討した。

基本培地としては、Murashige & Skoog の無機塩類組成、蔗糖2%、寒天0.8%にBA 0.1%を添加したものをを用いた。RNA合成阻害剤としてcordycepin (Cor.), 5-fluorouracil (5-FU), actinomycin D (Act. D) を、蛋白合成阻害剤としてcycloheximide (CHI)を使用した。培養後7日目に表皮をはぎ取り酢酸カーミンで染色してM区数を測定し、一部の外植片は培養を継続して4週目に不定芽形成率を測定した。M区数は、一実験区あたり少なくとも200枚の表皮の観察により、不定芽形成率は、一実験区あたり少なくとも60個の外植片より算出した。

RNAおよび蛋白合成阻害剤を添加しない場合、表皮1枚あたり6~7個のM区が形成され、不定芽形成率は90%以上となった。Cor. と Act. D は 0.1%の濃度で添加すると抑制効果があられ、3.0%では完全にM区および不定芽形成を阻害した。5-FUでは3.0%の濃度で完全な阻害が見られた。CHIによる阻害はさらに低い濃度であられ、0.3%で全く不定芽を形成させなかった。しかしながらCHIの濃度を3.0%まで上昇させても、M区はわずかながら形成された。

次にM区および不定芽形成を阻害する濃度のAct. DあるいはCHIを、種々の期間培地中に加えて、それぞれの阻害時期について検討した。外植片をBA (0.1%)を含む培地で1~6日間前培養した後、さらにAct. D 3.0%、あるいはCHI 1.0%を加えた培地に移植し、あわせて4週間の培養後不定芽形成率を測定した。1~2日間の前培養後Act. Dを含む培地に移植すると、不定芽は全く形成されず、3日の前培養で24%、4日の前培養で53%の不定芽形成率が得られた。6日間の前培養後Act. Dを含む培地に移植した場合には、Act. D無添加の場合と同様の高い不定芽形成率が得られた。しかし、形成された不定芽の発達はきわめて悪く、培養6週間後で多くの不定芽は枯死した。CHIを同様の方法で添加すると、4日間の前培養後CHIを含む培地に移植した場合に不定芽が形成されはじめ、CHI添加の時期が遅れるほど不定芽形成率は上昇した。

これらの結果から、不定芽形成を阻害する時期は、Act. Dの場合、培養開始後48~72時間、CHIの場合、72~96時間であるものと思われる。これらの阻害剤はM区形成の初期に阻害効果を示し、M区から不定芽への発達は抑制しないようである。現在、培養初期において新たに合成される蛋白の量的・質的変動についても検討を加えている。