

日本植物学会東北支部昭和62年度大会

シンポジウム および 一般講演

日時：昭和62年12月18, 19日

場所：東北大学理学部生物学教室共通講義室

日本植物学会東北支部

日本植物学会東北支部昭和62年度大会
シムポジウム及び一般講演プログラム
昭和62年12月18, 19日 東北大学理学部共通講義室

12月18日(金) 13:00 / 開会

- 13:10 1。エチレンによる糖転流の調節
石澤 公明 (東北大・教養)
- 13:30 2。細胞性粘菌 *Dictyostelium mucoroides* における
マクロシスト形成のエチレンによる調節
雨貝 愛子 (東北大・理・生)
- 13:50 3。細胞性粘菌の細胞内Ca²⁺イオン濃度の測定法
阿部 知顕、前田 靖男 (東北大・理・生)
- 14:10 4。フシナシミドロの負屈光性とCa
片岡 博尚 (東北大・農研)
- 14:30 5。β-カロチン過剰生産変異株の負の屈光性の解析
大瀧 保、岡崎良子 (山形大・教育)
- 14:50 6。ダイズ芽生えの胚軸の切片の伸長に対する
カルシウムイオンの影響について
山岡 剛、加藤 ゆかり、保坂 三千恵 (秋田大・
教育・理科教育)

15:10

休憩

15:30

シンポジウム 栽培植物の起源

日本作物学会東北支部会・仙台育種談話会

・日本遺伝学会仙台談話会と共催

- 15:30 S1。北西インド・ネパールの自然—東アジア農耕文化の
西方への伝播に関する調査に参加して。
菊池 多賀夫 (東北大・理・生)
- 16:20 S2。イネ・コムギ・トウモロコシの生理機能の分化。
角田 重三郎 (宮城県農業短大学長、東北大名誉教授)
- 17:10 S3。なぜ日本起源の栽培植物は少ないのが
星川 清親 (東北大・農・作物)

18:00

懇親会 (生協軽食堂 あおば。会場より徒歩1分)

20:00

12月19日(土)

- 09:00 7. ジベレリンの免疫アッセイ
○高梨 道明、丹野 憲昭、伝法 隆、
安部 守(山形大・理・生)
- 09:20 8. アラビドプシスの花形態異常突然変異と
ジベレリンの効果
後藤 伸治(宮城教育大)
- 09:40 9. 接木によるサツマイモの花成誘導
竹能 清俊(東北大・農)
- 10:00 10. メダケ属とササ属との人工交雑由来種子の
発芽と実生の形態
西脇 亜也(東北大・農・草地)
- 10:20 11. イチョウにおける小孢子ならびに花粉の
形成過程について。
梶原 淳(弘前大・理・生)
- 10:40 12. ラン科植物の種子形態、特に広義の
Habenaria 属について
遠田 宏(東北大・理・植物園)
- 11:00 13. カタクリ胚の形成過程における
合点側細胞核の DNA 量の変化
佐藤 進一(弘前大・理・生)
- 11:20 14. ニンジン培養細胞の単離核による in vitro RNA 合成
○増田 清、工藤 敦子(秋田県農短大・生物工学)
- 11:40 15. イネ培養細胞における分化の機構
○小沢 憲二郎、駒嶺 穆(東北大・理・生)
- 12:00 16. イネのアミノ酸アナログ耐性株の選抜と
体細胞雑種育成
○李 孝淵、亀谷 寿昭(東北大・農研)
鳥山 欣哉(東北大・農)、畑田 清隆(東北工試)
- 12:20 17. ワサビダイコンの葉片培養と培養過程におけるアイソ
ザイムの変動
○宮沢 登、亀谷 寿昭(東北大・農研)

12:40

総会(国際植物学会、支部規約、その他)

閉会

石沢 公明 (東北大・教養・生物)

植物における糖転流機構の解明は、植物生理学上の問題に留まらず、その調節機構が解明されれば、植物生産能の改善に多大な貢献となる。いわゆる植物ホルモン類による糖転流の調節の試みは多数なされているが、その作用機作はもちろん明らかにされていない。特に、エチレンに関しては、報告例自体が少ない。エチレンが、イネ子葉鞘の伸長生長を著しく促進することは以前から知られていたが、最近、この伸長促進に伴い、子葉鞘乾量、Suc、GlcとFru含量が増大すること、子葉鞘細胞の浸透ポテンシャルが低く維持されることを明らかにした。これらの事柄は、エチレンが胚乳から子葉鞘への物質供給量を高めていることを想像させる。本講演では、イネ芽生に ^{14}C -Glcを投与した実験結果を報告し、エチレンが糖転流を促進することを示す。

3日目のイネ (*Oryza sativa* L. cv. Sasanishiki) 黄化芽生えから胚乳、根を切除した外植体 (explant) の胚盤に ^{14}C -Glcを投与し、子葉鞘、本葉へ転流する放射能、及びその放射性物質の動態を追跡し、併せてエチレンの効果を検討し以下の結果を得た。

A. 糖転流過程と糖代謝

1) 胚盤に吸収されたGlcはUDP-Glc, F6Pに代謝され sucrose-phosphate synthase (EC 2.4.1.14)により Suc が合成される。

2) 胚盤で合成された Suc は、symplasmicに胚盤内の維管束師部に loading され、子葉鞘、本葉に転流されると思われる。

3) 子葉鞘に転流された Suc は unloading 後、invertase (EC 3.2.1.26) により Glc, Fruに加水分解される。

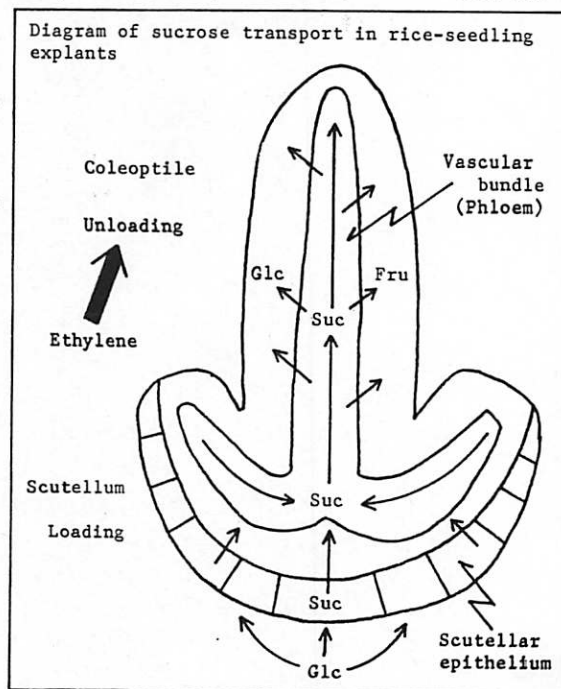
B. エチレンの作用

1) 胚盤での Suc 合成に対するエチレンの作用は小さい。

2) 胚盤から子葉鞘への Suc 転流速度はエチレンにより増大するのに対し、本葉へのそれは影響を受けない。

3) 子葉鞘での Suc の invertase による加水分解はエチレンにより高められるのに対し、本葉でのそれは全く影響を受けない。

以上の結果より、エチレンによる子葉鞘への糖転流の促進は、子葉鞘での sucrose unloading の促進の結果であると結論した。



細胞性粘菌 Dictyostelium mucoroides における
マクロシスト形成の I4 レンによる調節

雨貝愛子 (東北大・理・生物)

細胞性粘菌 Dictyostelium mucoroides-7 (Dm7) には 2 つの発生様式, すなわち, 無性生殖過程である子実体形成と有性生殖過程と考えられているマクロシスト形成が認められる。マクロシスト形成においては, 増殖を終えた細胞が多数集って, 大きな集合塊を形成し, この大きな集合塊はやかに細分されて, 小さないくつかの集合塊の集団となる。それぞれの集合塊内には接合(細胞融合と核融合)の結果として巨大細胞(giant cell)が現われ, これが周囲のすべての細胞を食いつくして, 非常に巨大な1個の細胞になる。この点か子実体形成過程と著しく異なっているといえる。巨大細胞の最外層には厚い細胞壁が形成され, マクロシスト形成が完了する。

マクロシストを形成するか, 子実体を形成するかは光や水分条件などの環境要因によって制御されている。光照射条件下や寒天培地上では子実体が形成され, 一方, 暗黒下や水中ではマクロシストが形成される。さらに, 細胞によって合成・分泌され, 活性炭で吸収される揮発性物質もマクロシスト形成を誘導する。

そこで, Dm7 から分離された突然変異株 MF1 は光照射条件下でもマクロシストを形成する。そこで, 光照射条件下での Dm7 と MF1, 両者の発生・分化を比較検討することによって, 子実体およびマクロシスト形成の調節機構の解析を試みた。その結果, サイクリックAMP(cAMP)は子実体形成を誘導し, 一方, マクロシスト形成を誘導する揮発性物質はエチレン(ethylene)であることがわかった。子実体とマクロシスト, いずれの発生様式も細胞が選択するかは主としてcAMPおよびエチレンという2つの物質によって調節されている可能性を示唆した。この可能性は, エチレンあるいはcAMPを外部から投与する実験, および発生過程におけるcAMPおよびエチレンの定量によってさらに確かなものになった。

次に, エチレンがどのような機構でマクロシスト形成を誘導するのかを細胞レベルでさらに詳しく解析することを目的として, まず, エチレンが発生のどの時期に作用するかを調べ, また, エチレンがマクロシスト形成のうちのどの過程を誘導するかを, 特に巨大細胞の形成に注目して調べた。その結果, 巨大細胞(細胞融合の結果生じた2核細胞)の出現の時期とエチレン作用が効果的な時期がほとんど一致することがわかった。このことは, エチレンが巨大細胞の形成過程に特異的に作用してマクロシスト形成を誘導する可能性を示唆している。

3

粘菌細胞の細胞内 Ca^{2+} イオン濃度の測定法

阿部 知頭 ・ 前田 靖男 (東北大・理・生物)

細胞性粘菌は細胞増殖・分化や形態形成の機構の解析に優れた研究材料として注目されている。しかし、種々の物質に対する粘菌細胞の膜透過性は総じて低く、このことが研究上の大きな障害にしばしばなる。例えば、細胞内カルシウムイオン (Ca^{2+}) のインジケータとして近年盛んに用いられている quin II / AM も粘菌の細胞膜を透過できず、したがってこの物質を用いての細胞内 Ca^{2+} 濃度の決定は不可能であった。細胞内情報伝達物質としての Ca^{2+} の重要性がますます認識されつつある現在、粘菌細胞でその濃度や、細胞内局在性を決定できないことは大きな課題として残されていた。そこで、核酸やタンパク質などの生理的に重要な高分子物質を細胞内に導入する方法として開発された、平行電極を使った高電圧電場効果によるエレクトロポレーション法を用いて quin II / AM を細胞内に導入し、細胞内 Ca^{2+} 濃度を測定することを試みた。エレクトロポレーションの条件をいろいろ検討した結果、細胞を 50 mM のショ糖溶液に懸濁し、氷冷下で 500~700 V/cm 程度の高圧パルスを与えることが適当であることがわかった。この条件下では、FITC-デキストラン (分子量約 7 万ダルトン) やパーオキシダーゼ標識抗体などの高分子物質をも細胞内に導入できることが確認された。また、FITC を用いた実験において、1 回の高電圧パルスにより 60% 以上の細胞に FITC が導入され、この際エレクトロポレーションの操作自体は細胞にとってほとんど害がないことが示された。quin II / AM の場合、高電圧パルスそのものによって、10% 程度蛍光量が減少するが、スペクトルは変わらず、 Ca^{2+} 濃度に対応した蛍光量の変化の割合も変わらなかった。さらに、パルスによって細胞表面に quin II / AM が付着するというような現象もみられず、1 回のパルスで測定に十分な量の quin II / AM が細胞内に導入された。これまでの結果によると、栄養増殖期の細胞 (*Dictyostelium discoideum* Ax-2) の細胞内 Ca^{2+} 濃度は細胞内に一様に分布すると仮定すると 70~80 nM であることが示された。現在は、細胞外 Ca^{2+} 濃度を变化させた際の細胞内 Ca^{2+} 濃度の変化量の測定を試みている。また、細胞周期の各時期に対応した Ca^{2+} 濃度の決定も行いたいと考えている。

赤色光 (660nm) を背景光として、オカフシナシミドロ (*Vaucheria terrestris*) の先端に青色光 (455nm) を一方向照射すると、通常の強度 ($< 4W \cdot m^{-2}$) では正屈曲しか観察されない。しかし、自然の光条件 (白色光 $\sim 6W \cdot m^{-2}$) では常に負屈曲を示し、微小光束を用いると一方向照射より少ない光量で負屈曲を起こすことができる。この負屈曲の原因を探った。フシナシミドロは細胞先端にある透明帽で光方向を感受し、正屈曲は青色光照射域でのエクソサイトシスが促進されることによる。もし、一方向からの刺激光より十分に強い青色光を背景光に使えば、先端両側の光受容体は飽和し屈曲は起こらないはずである。負屈曲を説明するためには青色光によって徐々に蓄積する阻害物質を想定しなければならない (図1)。

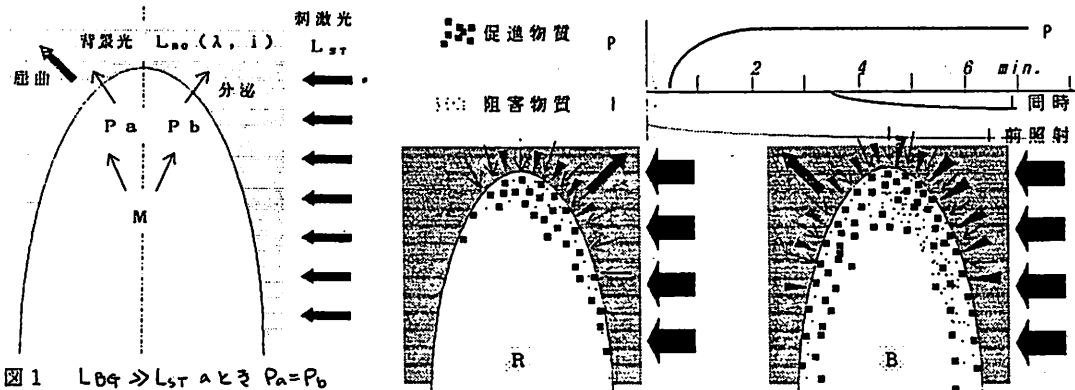
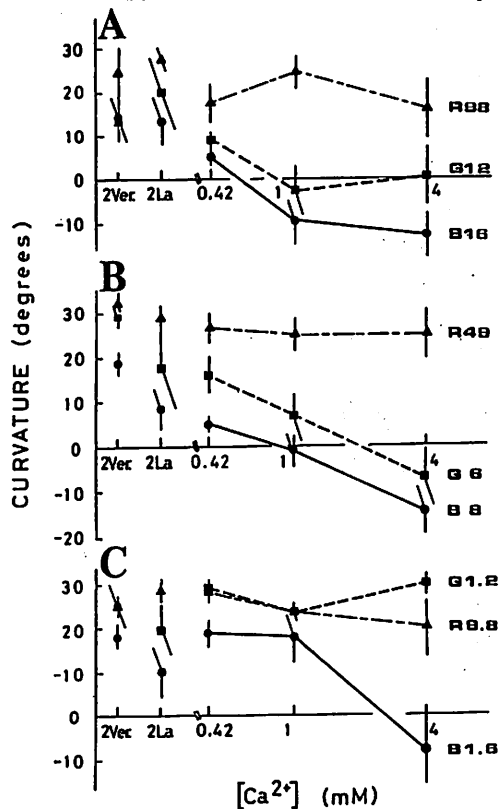


図1 $L_{00} > L_{ST}$ のとき $P_a = P_b$ となり屈曲=0のはずだが現実は... 図3 $L_{00} = R$ のとき I は徐々に蓄積する。 $L_{00} = B$ のとき P は既に飽和している。

最近、培養液中の Ca^{2+} を通常の 0.42 mM から $1 - 4 \text{ mM}$ に増やすと、ずっと弱い青や緑 (536nm) の背景光で負屈曲が現れ、逆に、Caチャンネルの阻害剤である $LaCl_3$ やヴェラパミルは負屈曲の出現を阻害することを発見した (図2)。このときの刺激光強度 (455nm, $0.7 W \cdot m^{-2}$) では対照区 (0.42 mM) で負屈曲を起こすことはなかった。緑色光 (536nm) の効果は光屈性の作用スペクトルにほぼ一致する。このことは、光屈性に有効な光がCaの先端部への流入を起こし、その結果高まった細胞内Caが負屈曲の原因であることを示す (図3)。Ca欠乏やヴェラパミルの添加は先端へのイオン電流の流入を促進する事実 (Kataoka & Weisenseel, in press) とよく一致する。他の光反応の系でも光順応や不応期をCaのインフラックスと蓄積で説明できるかも知れない。きわめて興味深いことに、赤色光 (660 nm) は全く無効であり、フィトクロムに仲介される赤色光依存性のCaインフラックス (例えばヒザオリ葉緑体運動で見られるような) とは対照的である。今後、Caインフラックスを測定し、エクソサイトシスの阻害までの経路を明らかにしたい。

図2 一方向刺激光は 455 nm , $0.7 W \cdot m^{-2}$, 15分向。
 横軸: 対数不自感った Ca^{2+} 濃度。右の数字は (B1.6) は背景光との強度 (B1.6は青色光 $1.6 W \cdot m^{-2}$)。



ヒゲカビ (*Phycomyces*) の野生株の孢子嚢柄は、一方から入射する可視光線に対しては常に正の屈性を示す。一方我々は、孢子嚢形成後、孢子嚢直下の生長域がしだいに伸長を停止し、代わって膨潤するミズタマカビ型突然変異株 (遺伝子型 *pil*) の光屈性を調べた結果、生長域が $210\mu\text{m}$ 以上に膨潤すると、孢子嚢柄の屈曲が正から負に転ずることを明らかにした。この *pil* 変異株の負の光屈性は、孢子嚢柄の生長域の直径の増加に伴って光の細胞内通過距離が増大し、その結果細胞の反光源側に達する光の量が減少し、これまで反光源側の細胞表層で見られたレンズ効果による *focus advantage* 効果が消失したために起こったものと考えられた。また、このことから、ヒゲカビの光屈性の方向性は、光源側と反光源側との間の最大光強度 ($I_{F\text{max}}$ と $I_{D\text{max}}$) のバランスによって決定されるという仮説を提唱した (61年度日本植物学会東北支部大会発表)。

今回の発表では、 β -カロチン過剰生産変異株である M_1 株 (遺伝子型 *carS*) を用い、その光屈性を調べることによって、我々の仮説を再確認した。培地に過剰のビタミン A を加え、 15°C で M_1 株を培養すると、その孢子嚢柄は非常に多量の β -カロチンを生長域に蓄積し、一方向からの光照射に対し、野生株とは対照的に負の屈曲を示すことが明らかとなった。このような光屈性の逆転は、おそらく、過剰の β -カロチンが生長域に蓄積した結果、入射した光の細胞内減衰が増加し、細胞の反光源側へ到達する光量が減少し、その結果、反光源側の最大光強度 ($I_{D\text{max}}$) が、光源側の最大光強度 ($I_{F\text{max}}$) 以下に減少したために起こったものと考えられる。すなわち、前述の *pil* 変異株では、直径の増大による光路長の増大によって、また、*carS* 変異株では細胞内の光減衰率の増加によって、細胞内の総光減衰量が増大し、その結果、反光源側の細胞表層で見られたレンズ効果による *focus advantage* 効果が消失したために起こったものと考えられる。*carS* 変異株で得られた結果は、*pil* 変異株で得られた結果同様、ヒゲカビの孢子嚢柄における屈曲の方向は、 $I_{F\text{max}}$ と $I_{D\text{max}}$ との間のバランスによって決定されるという仮説を支持するものであった。

ダイズの芽生えの切片を材料として、伸長成長に対する Ca^{2+} の影響を検討した。ダイズを 25°C の暗所で三日間発芽させ、胚軸の鈎状部の下1cmを切り出した。表面を金剛砂で軽く擦ったのち種々の液に浸して 25°C で振とうし、以下の結果を得た。

- 1) pH 5のNa-酢酸緩衝液中での切片の伸長速度は、はじめの2時間は時間当たり7%ほどであり、時間の経過とともに低下する。
- 2) pH 7のbis-tris-HCl緩衝液中で切片は、時間当たり約1%の伸長を示す。
- 3) pH 7の緩衝液中に置いた切片をpH 5の液に移すと活発な伸長が見られるが、pH 7に置く時間が長いほど(1~4時間)pH 5での伸長速度は徐々に低下する。
- 4) pH 5の緩衝液にmMの桁の Ca^{2+} を加えると切片の伸長は明瞭に阻害される。またpH 7の液に Ca^{2+} を加えたものに予め切片を浸して置いてからpH 5の液に移す場合は、3)の場合にくらべて、pH 5に移したのちの伸長速度が小さい。
- 5) pH 5のK-酢酸緩衝液を用いると、Na-酢酸緩衝液の場合と同様の伸長が見られるが、 Ca^{2+} を前者に加えた場合は、後者に加えた(4)に述べた)場合より伸長の阻害が著しく少ない。 Ca^{2+} の阻害効果の大きさは K^{+} と Na^{+} の比率に関係するようにも思われる(この点はさらに検討を加える必要がある)。
- 6) Na-酢酸緩衝液(pH 5)に Mg^{2+} を加えると、 Ca^{2+} よりも小さいが明瞭な伸長阻害が見られる。

次に、上で用いたのと同じ部分の切片から細胞壁を単離し、それを種々の液に懸濁して 25°C に置いたのちペクチンを抽出して、そのメチルエステル化の度合を調べて以下の結果を得た。

- 7) 単離した直後の細胞壁から抽出されたペクチンではウロニドの65%程度がメチルエステルになっている。
- 8) 単離した細胞壁をpH 7で0.5mMの Ca^{2+} を含む緩衝液に懸濁し、1時間後にペクチンを抽出するとメチルエステル化の度合は半分以下になっている。 Sr^{2+} や Mg^{2+} を加えても同様の結果が得られるが、 Na^{+} や K^{+} を加えたりあるいは緩衝液のみで用いると、メチルエステルの減少はわずかである。細胞壁をpH 5の緩衝液に懸濁した場合、 Ca^{2+} の有無にかかわらず脱メチルはほとんど起こらない。また、細胞壁を予め沸騰メタノールで加熱すると、ここに述べた脱メチルは起こらない。
- 9) 8)で述べた、pH 7で Ca^{2+} あるいは Sr^{2+} を加えた液に懸濁した細胞壁の場合だけ(Mg^{2+} を除く)、ペクチンが他の場合にくらべて抽出されにくくなっていた。

以上の結果は、1. Ca^{2+} による酸成長の阻害が細胞によるイオンの吸収・放出過程に密接に関連している可能性がある、2. 細胞壁領域のpH値が中性に近ずいたときそこに Ca^{2+} があると、PEの作用を介してペクチンが固化して細胞成長がかなり速やかに妨げられであろう、という二つのことを示唆する。

ラダック (インド北西部)

中国とネパールの国境をなしているクレートヒマラヤはインドに入ってカシミール盆地の北側を西方に延び、インダス川に達する。インダスの上流はここからクレートヒマラヤの背後(北側)にそってチベットにまわりこむ。クレートヒマラヤ背後のこのインダス上流地域はラダックと呼ばれ、チベット人の世界である。カシミール盆地からクレートヒマラヤを越えてラダックに入ると植生は一変する。ヒマラヤ南面に見られた森林 (Cedrus林、Abies林、Betula林、etc.) は一切姿を消し、砂漠(荒原)となる。ラダックの中心地レー(高度約3600m)に見られるようにここでも農業は成立するが、雨量が絶対的に不足するここではオアシスの農業で、インダス支流からの水に頼った扇状地上の耕地に、主としてハダカムギ、ジャガイモが作られている。上流に十分な集水域を持たない扇状地は未開発で、斜面も未開のままである。ところが斜面には家畜の採食路が縦横に走り、ここにも牧畜(ヒツカキ)による別の生産があることがわかる。そのほかアンズ、クルミ、リンコ等の果樹栽培がある。

収穫のあとの耕地には家畜(ヤクおよびそれとウシの雑種)を入れて刈り残しのムギワラを喰わせ、その際に落とされる相当量のフンは地力の維持に何らかの助けになっているものと思われる。ラダックでも低高度にはオオムギ、ソバ、カブなどの組み合わせによる二期作があるが、その場合でも同様のことが行われる。家畜のこのような使われ方はヒマラヤ高地に広く見られるものらしく、東ネパールではより長期的に耕地への放牧が行われて、耕地は草地化するほどである。

カシミール (インド西北部)

カシミール盆地底部の沖積地には落葉樹 (Platanus、Juglans、Aesculus、Morus、Populus、Salix、etc.) が多いが、盆地周辺の斜面にはCedrus(ヒマラヤスギ)林がみられる。それも高度2300m付近から上はAbies林にかわり、森林の成立の上限は3500m付近となる。これらの森林は主として北向き斜面に成立し、南向き斜面には主にマツ林が成立し、それとともに草地が発達する。おそらくは日当りの差が少ない土壌水分の保持に差を生み、それが植生、土地利用の差に顕在化するものであろう。雨量が絶対的に不足するラダックではこのような斜面方位による植生、土地利用の差は明らかではなく、土地利用に決定的な役割を果たしているのは地表水で、それに依存してオアシスが形成されていた。両地方の対照には興味深いものがある。

盆地底部には水田(イネ)が卓越するが周辺にはトウモロコシその他の雑穀、そ

栗、リンゴ、アンス、クルミなどの果樹が栽培される。

バイタデ（西ネパール）

日本西南部にも成立する照葉樹林は中国南部を経てヒマラヤ東・南麓をこの付近まで延びて行く。ただここでは組成は単純化し、*Quercus*（アカガシ亜属）に属する一種が優先する。その森林も多くは北向き斜面に限定され、南向き斜面には多くの場合マツ林が成立する。その差は土地利用の面でも顕著で、耕地の多くは北向き斜面に発達し、南向き斜面の多くは草地として使われている。

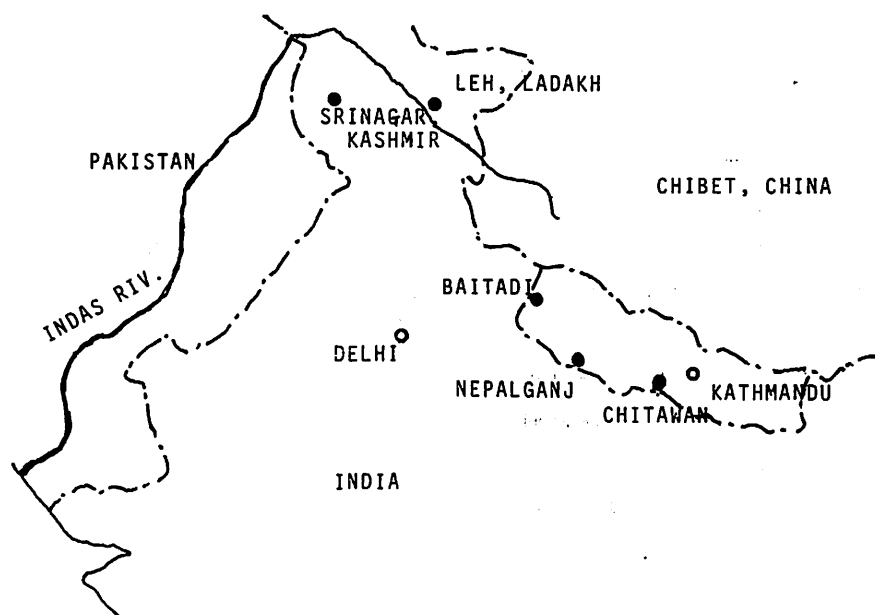
家畜（ウシ、水牛）は舎飼いされ、そこからでるフンは堆肥として耕地に入れられる。家畜を耕地で放牧することも皆無ではないが、組織的に行われることはない。堆肥の利用はネパール南部の低地（テライ）でも同じである。

1500m付近より低地にはイネ（水田）も栽培されるがそれより高地ではトウモロコシ、シコクビエ、オカボ、ソバ等が作られる。

ネパールガンジ、チトワン（ネパール南部）

自然植生は*Sborea*、*Terminaria*などを主とする森林であるが、これは乾期には落葉する雨林である。水田によるイネ栽培が主である。

各地を通して耕地雑草の種組成調査を行ったが、標本の同定も含めて資料は未整理である。水田についてはカシミール、バイタデ、ネパールガンジを通じて共通性が極めて高いが、畑地の雑草には地方的な違いがあるように思われる。資料の整理によりこの点にも触れる予定である。



角田重三郎 (宮城県農業短期大学)

イネ (*Oryza sativa*) とコムギ (*Triticum sp.*) とトウモロコシ (*Zea mays*)、この三者が現在の世界の穀類番付けの三横綱です。

イネ科植物は、中世代のうちに、はじめ熱帯に出現したもののようで (Stebbins, 1956)、その後いろいろの系統に分化して生育地をひろげた。大別すると、タケ亜科、ウマノケクサ亜科、キビ亜科の三群に分けることができる (Prat, 1936)。

イネは、この Prat の分類ではタケ亜科に属し、熱帯の沼沢地を原生地としている。コムギは、ウマノケクサ亜科に属し、寒冷に適應するようになっている。ウマノケクサ亜科の植物は、染色体のサイズが大きい。このことが寒冷適應と関係しているという説がある (Avdulov, 1931)。トウモロコシは、キビ亜科に属する。キビ亜科の植物の多くは、トウモロコシを含め、いわゆる C₄ 光合成の仕組みをもつ。この仕組みは、高温高日照比較的小雨環境での光合成の維持促進に有利である。

ここでは、光合成を主な焦点として、イネとコムギとトウモロコシの比較をしてみたい。イネとコムギについての各種のデータは、東北大在任当時に共同研究者とともに計測したものが多し。

1. 基本特性のちがい

光合成の原材料の CO₂ 吸収の態勢・戦略についてみると、イネは葉の通気性を良くすることによって、コムギは葉面あたりの CO₂ 固定酵素量を多くすることによって、トウモロコシは C₄ 光合成の仕組みを持つことによって、CO₂ の取り込みの促進を図っている。

以下イネを中心にして述べると、根への酸素補給に関係している通気系もイネで良く発達している。植物として、作物としてのイネの一大特徴は「通気性が良いこと」であり、高温多湿で洪水もある地帯ではガランドウで高床式の床上床下ともに通気性の良い建物が適しているのと符合している。

そして、イネの葉の良通気性には、次のような多くの特性が関与している。①葉を薄くして広く葉面を展開すること、②高気孔密度、③小型の葉肉細胞、④疎散型の葉配置、⑤適当に細葉であること、⑥葉がコムギのように巻かず、トウモロコシのように波うたず、ほぼフラットであること、⑦気孔位置があまり沈んでいないこと、⑧葉の表面での空気の乱流を促進する程度の立毛があること、⑨低いクテクラ拡散抵抗。

次に、光合成のエネルギー源の太陽光の受け止め方に関して、イネは元来は、「葉を薄く広く、水平的に、疎散的に展開するものであり、それはイネの原生地の比較的高温・比較的低照度、湿潤で水供給は十分、窒素供給量は限定されている環境条件に適應し、限定葉室素量で最大受光量をうる態勢であった」ことが、指摘できる。

つまり、イネは高温 (極高温ではない) 多湿、水供給潤沢、比較的低照度の環境

下で、葉の過冷却や乾燥の心配なしに、葉の通気性を高めまた葉を薄く広く水平的に疎散的に展開し、限定葉窒素量で最大の CO_2 の取り込み、最大の太陽光受光を図るように、その基本光合成態勢をつくり上げてきた植物であり、作物であると言える。

イネの葉光合成の最適温は 25°C から 35°C 近くまで(コムギは $15\sim 25^{\circ}\text{C}$ 、トウモロコシは $35\sim 40^{\circ}\text{C}$)。3~4万ルクス程度の比較的低照度での光合成の能率が高く、高照度下での能率はコムギやトウモロコシに劣る傾向をもつ。湛水下で高い光合成速度を維持し、一方、土壌や空気が乾燥すると顕著に光合成速度を低下させる。これらは、原生地の環境にたいする適応であり、上に述べた諸特性もこれに関係しているであろう。その他の酵素特性や生体膜特性などの関与も無視できないことはもちろんであるけれども。

2. 生態型分化

以上述べたイネ、コムギ、トウモロコシの基本的特性は、それぞれの植物・作物の原生地や原産地の環境に対する適応として、形成されたものである。それぞれの栽培が、原生地や原産地とことなる条件下でおこなわれるようになると、それに応じて基本特性の微調整が必要となり、それぞれの内部で生態型の分化がおこった。

この点についても、ここではイネを中心に述べる。

イネの原生地よりも、寒冷な環境、乾燥した環境、高日射の環境にイネの栽培が拡大するに応じて、以上に述べたイネの基本的態勢の微調整が進行した。また、近年における肥料とくに窒素肥料の施肥量の増大に応じた態勢の調整も顕著である。

栽培稲におけるジャポニカとインディカの分化は、温度適応と関係している。ジャポニカはインディカよりも寒冷に耐える。その耐冷性には、酵素や生体膜の特性も関係していることが示唆されているが、緻密な厚い葉や少ない気孔数の方向への葉構造の調整つまりコムギの葉構造の方向への微調整も重要であったとみられる。

熱帯多雨林の林間における焼畑での稲作をはじめとして、イネの畑栽培が展開され、陸稲として総括される品種群が成立した。陸稲においても、上述したイネの基本特性についての微調整がみられる。それは、厚葉・葉面積抑制、気孔数制限、気孔開度調整、無毛の広葉(いはゆる界面層ガス拡散抵抗の増加)、クチクラ抵抗の増加などである。高日照の地帯では、厚い葉の方向への調整が有効である。

さらに、多肥集約稲作では、ノータッチの光ロスよりも、上葉の光飽和と下葉の光不足が大きな問題となり、この両者の同時解決策として、①上葉を厚く小型にする、②上葉の葉面を直立的にする、③個体として葉を規制密集配置する、この三者を適当に組み合わせることが有効で、関連して、④短く充突して直立的な葉身中肋、短く充突して直立的な稈(茎+葉鞘)が望ましい。この方向への光合成態勢の調整・草型育種が近年劇的に進行し、世界的なイネの多収を実現している。

文献 : Tsunoda, S. 1959. Japan. J. Breed. 9:237-244.

Tsunoda, S. 1984. Biology of Rice, pp. 89-115, 361-375, S. Tsunoda and N.

Takahashi, eds. Japan Sci. Soc. Press, Tokyo/Elsevier, Amsterdam.

角田重三郎 1987. 農業および園芸 62:367-372.

星川清親（東北大・農・作物）

作物のふるさと、つまり作物化された原生野生種が生えていた場所を、個々の作物について調べてみると、そのほとんどが地球上の6ヶ所の地域に局在する。それ以外の地域（日本を含む）に生える植物からは、近代の栽培技術をもってしても、作物化されたものはまれである。

作物となりうる要素を持った植物が、なぜ地球上の限られた場所에만存在したのか？ その限られた地域には作物となりうる植物がなぜ多く存在したのか？ これらの疑問についてはまだほとんど解明されていない。

作物のふるさととなった地域は、概して植物の生育にとって、自然環境が劣悪な山岳地帯であること、温帯にあること、などが謎の解明の糸口となろう。

バイオテクノロジーのために、作物として有用な遺伝子を拾集するに当たって、こうしたルーツの謎の解明は重要である。また有用な遺伝子そのものが生じた原因が解明されれば、バイオテクノロジーの発展に役立つところが大きいはずである。

引用文献

- 1 DeCandolle, A. 1883 L'Origine des plantes cultivées. (加茂儀一訳「栽培植物の起源」1976).
- 2 Harlan, J.R. 1975 Crops and man. (阪本寧男訳「作物と人間」).
- 3 星川清親 1978 栽培植物の起原と伝播.
- 4 中尾佐助 1966 栽培植物と農耕の起源.
- 5 Vavilov, N.I. 1926-1928 (中村英司訳「栽培植物発祥地の研究」).

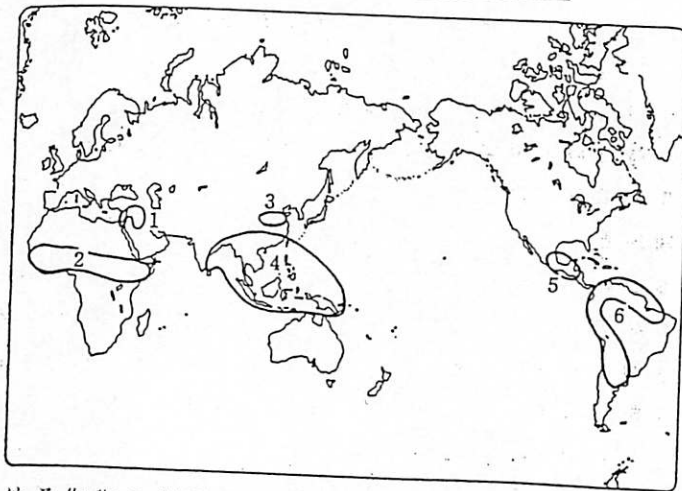


図1 世界における作物の起源中心地域

(ハーラン (J.R.Harlan), 1975 による. 阪本寧男 1987)

1:中東 2:アフリカ 3:中国 4:東南アジア 5:メソアメリカ 6:南アメリカ

表1 代表的な作物とその地理的起源中心地域

(ハーラン (J.R.Harlan), 1975より阪本寧男編集, 1987)

地域 作物	中 東	アフリカ	中 国	東南アジア	メソアメリカ	南アメリカ
	地中海周辺より中 央アジアに至る地 域	西アフリカより エチオピア高原 を含む地域	中国大陸とその 周辺地域	東南アジアの大 陸部と島嶼部を 含む地域	メキシコを中心に 北アメリカから中 央アメリカまでの 地域	主としてアンデス 山脈に沿った地域
穀 類	一粒系コムギ 二粒系コムギ パンコムギ オオムギ ライムギ エンバク	アフリカイネ モロコシ シコクビエ トウジンビエ テフ フォニオ	アジアイネ ニホンビエ アワ ソバ ダツタンソバ	アジアイネ ハトムギ インドビエ	トウモロコシ センニンコク類	キノア カニワ センニンコク
マメ類	エンドウ ソラマメ ヒヨコマメ レンズマメ グラスビ ルーピン	ササゲ フジマメ パンパラナツ	ダイズ アズキ	キマメ リョクトウ ブラックGRAM	インゲンマメ リマビーン ペニバナインゲン	ナンキンマメ インゲンマメ リマビーン
野菜類	キャベツ キュウリ タマネギ ニラ レタス パセリ	オクラ	ハクサイ キュウリ	ナス	トウガラシ カボチャ トマト ハヤトウリ	セイヨウカボチャ トウガラシ
根菜類	ニンジン ダイコン カブ ピーツ	ヤムイモ類数種	カブ ヤマノイモ類 ハス ダイコン クワイ	サトイモ コンニャク ダイジョ	サツマイモ キャッサバ クズウコン	キャッサバ ジャガイモ オカ ヤウティワ
油料植物	アブラナ カラシナ ペニバナ アマ オリーブ	アブラヤシ スグ トウゴマ	アブラナ	ココヤシ ゴマ	ヒマワリ リクチメン (陸地綿)	ナンキンマメ カイトウメン (海島綿)
果物類	リンゴ ナシ ブドウ イチヂク アンス スモモ サクランボ ザクロ ナツメヤシ メロン	スイカ パオパブ	スモモ モモ アズキ ナシ カキ	バラミツ ライム レモン カンキツ類 ドリアン マンゴー バナナ ランブータン	パイナップル パパイヤ グアバ アボカド サボジラ	パイナップル チリモヤ パパイヤ アボカド グアバ
堅果類	セイヨウハシバミ セイヨウクルミ ピスタチオ アーモンド		クリ ハシバミ クルミ イチョウ			カシュナツ ブラジルナツ
香辛料物	イノンド ウイキョウ ヒメウイキョウ コエンドロ クミン アニス	マラグエーテ	トンキンニッケ イ ワサビ サンショ ショウガ	コショウ ナツメグ チロウジ カルダモン ウコン	トウガラシ パニララン	トウガラシ
繊維植物	アサ アマ	ワタの一種 (<i>G. herbaceum</i>)	アサ ラミー	ココヤシ ジュート ケナフ マニラアサ	サイザル リクチメン (陸地綿)	カイトウメン (海島綿)
薬用植物 飲料植物	ジギタリス ペラドンナ	コーヒー チャット	チャ ウセンニン ジン クス	ペテル センナ	カカオ	タバコ マテチャ ココ
その他	アルファルファ オーチャードグラ ス チモシー	ヒーダン タマリンド	ヒーダン モウソウチク マダケ	サトウキビ	ヒーダン ベニノキ	ヒーダン ベニノキ ダリスグラス

高梨道明・丹野憲昭・伝法 隆・安部 守（山形大・理・生）

ジベレリン (GA) に対するイムノアッセイは、Weilerらによって概ねその手法が確立され、最近では、MacMillanらやTakahashiらによって、種々のスぺーサーを導入して作成した免疫原による抗体産生とその抗体によるイムノアッセイの例が報告されている。

我々は、草本植物のむかご内のGA検出にイムノアッセイを用いるため、Weilerらの方法に倣って作成した抗体によるラジオイムノアッセイ (RIA) と二次抗体を用いた固相エンザイムイムノアッセイ (ELISA) を試みている。これらの方法を用いて我々が得た測定感度は、Weilerらの報告に比べかなり低かった。一方、植物材料から得た未精製な抽出物を直接イムノアッセイに供すると、抽出物中に多量に存在する抗原抗体反応を阻害する物質のために、GAの含量が過大に評価される可能性が示唆されている。この阻害作用は、アッセイに供する抽出物を精製すること、抽出物をできるだけ希釈することによって取り除かれると考えられる。これを可能にするためには、イムノアッセイの測定感度をより高いものにする必要がある。測定感度を高めるためには、二次抗体と酵素反応の間に種々の増幅系を導入することのできるELISAが有効であると考えられる。

そこで我々は、同一の血清から得られた抗GA抗体を用いて、RIA、二次抗体を導入した従来のELISA、更に、biotin/avidinによる増幅系を導入したELISAの測定感度を比較した。

その結果、図1に示すように、RIAに比べてELISAの測定限界濃度がおよそ100倍低くなった。ELISAにおいては、biotin/avidin増幅系を導入したアッセイの測定限界濃度がわずかながら低い傾向にあった。

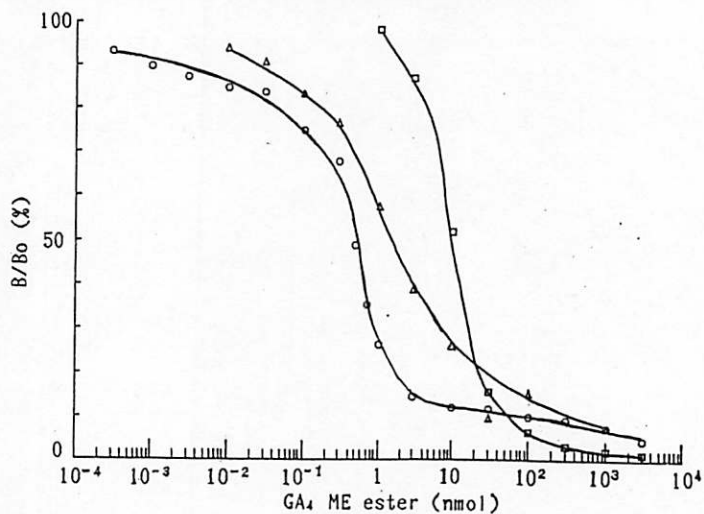


Fig.1

○: ELISA (biotin/avidin)
 △: ELISA (conventional method)
 □: RIA

後藤伸治 (宮城教育大学・生物)

ロゼットを形成する長日植物では通常花芽形成と急速な茎の伸長(抽だい)が連動して起こる。また、ジベレリン(GA)はこれらの植物の花芽形成を促進する。その際のGAの効果は抽だいを早めることで、必ずしも花芽形成を誘導するものではないとされている。したがって、このような植物では花芽形成過程と抽だい過程は独立した生理的制御を受けていると考えられる。

アラビドプシス(*Arabidopsis thaliana*)の単一劣性遺伝子変異による花形態異常突然変異(Pin-formed, pm)は茎の伸長は起こすが花器官を形成しないか、または形成しても雄ずいや花弁を欠き、不稔となる。この形質はホモ(pm/pm)でのみ現われ、ヘテロ(+/pm)の表現型は完全に野生型と同じである。本研究ではpm突然変異を用いて花芽形成と茎の伸長との関係およびそれらに対するGAの効果調べた。

Arabidopsis seed bank(フランクフルト)より分与された種子をビートモスに播き、長日条件下(16時間明期-8時間暗期)の温室(20°C)で生育した。発芽後4日目よりGA₃またはGA₃₊₇溶液を葉に処理した(50 μ l/日/植物)。約1ヶ月間処理を続け、各個体の表現型およびpm植物の花器官の形成程度を調べた。

GA処理区におけるpm植物の出現頻度は無処理区のものと同じであることから、GAはpm植物の花芽形成過程を野生型にする効果を持たないことが分かった。pm植物の茎頂は通常ピン先のようにとがり、花器官の分化は認められないが、個体により種々の発達程度の花の各器官を分化させる。それらの発達程度は形態的不完全さによりいくつかの段階に分類することができる。高濃度のGA(10⁻²M)はpm植物の花器官を完全に欠く個体の頻度を減少させた。すなわち、GA処理により雌ずい、雄ずいまたは花弁をある程度分化させた個体が増加した。このことはGAが花の形態形成過程を一定程度正常化する働きを持つことを示唆している。

GAは野生型およびpm型の両者に対してロゼット葉数を減少させるように働いた。この効果はGA₃₊₇の方がGA₃よりも大きかった。このことはpm植物もまた野生型と同様GAによって抽だいが促進されることを示している。さらに、pm植物の抽だいは長日条件下でも短日条件下でも野生型と同時期に起こった。これらの結果はGAおよび光周(長日)作用が直接には花芽形成過程よりも茎の伸長(抽だい)過程に働くことを確認させるものであり、さらに光周を感受する遺伝子と花芽形成を支配する遺伝子が別のものであることを示すものである。

竹能清俊（東北大・農・園芸）

サツマイモは通常栄養繁殖をし、めったに花を咲かせない植物であるが、育種学の分野では交配を行なう必要から、アサガオに接木することによってサツマイモに花を咲かせることが普通に行なわれている。接木によるサツマイモの開花促進の解釈としては従来からいくつかの説があるが、花芽分化の生理学という見地からの研究はほとんどなかったもので、本研究は、この機構を明らかにすることを目的とした材料には、サツマイモ、F₁「ビッグワン」とアサガオ、品種「ムラサキ」の芽生えを使った。接木は割接ぎとし、花芽形成の有無は実体顕微鏡下で全ての芽を解剖して調べた。

サツマイモはアサガオに接木して、短日下で育てれば花成を誘導された。接木せずに短日下で育てても花成を誘導されることはなく、アサガオに接木しても連続照明下では花成は誘導されなかった。台木のアサガオの子葉を着けたままにしておけば、短日下におかれたときにサツマイモは花成を誘導されたが、アサガオの子葉を切除してしまうと短日下でも花芽は着かなかった。サツマイモを接いだアサガオをさらにサツマイモに接いだ場合も、短日下では花成を誘導されたが、長日下では花成は誘導されなかった。アサガオに接木した直後から短日処理を開始した場合、接穂のサツマイモに花成を誘導するためには18日間以上の短日処理が必要であったが接木してからあらかじめ18日間長日条件下で育てた後に短日処理をすれば、4日間の短日処理で花成を誘導できた。接穂のサツマイモの子葉と展開した本葉の全てを除去した場合も短日下では花成が誘導された。このときの花成反応は接穂の葉を残した場合よりもかなり強かった。しかし、サツマイモの葉を除いても連続光下におかれれば花成は誘導されなかった。一方、逆に、葉をつけた主茎を残したサツマイモ芽生えを台木として、子葉を着けたアサガオを接穂とする接木をした場合、接木後14日間長日下で育てた後1回だけ短日処理をすればアサガオは100%が花芽を着け台木のサツマイモによる花成阻害は認められなかった。

以上の結果から、サツマイモ芽生え自身は短日に反応せず、接木されたこと自体によって、または、それ自身の根から開放されたことによって花成を誘導されることもなく、短日下のアサガオ子葉で生産された花成刺激が接木面を通して移動して来たときにのみ、これに反応して花成を誘導されることが強く示唆された。さらにサツマイモの葉の存在は花成に対して阻害的に作用するが、この阻害作用からの解除が花成を誘導するわけではなく、また、これがtransmissibleな阻害物質であるとは考えにくいことがわかった。

西脇 亜也 (東北大・農・草地)

昨年の植物学会東北支部大会において“ササ類3属の間の交雑実験”の結果を報告した。その際、チマキザサとアズマネザサ、アズマザサ相互間の人工交雑が可能であることと、アズマザサの花粉稔性が低かったことを述べた。今回は1. 日本に分布するタケ亜科植物の中で上記の材料がそれぞれどのような分類群の代表なのかを述べる。また、2. チマキザサとアズマネザサ及びそれらの交雑由来種子の発芽についてと実生の形態(葉形)の相対変異について述べる。

1. 日本に分布するタケ亜科植物の成体の葉長-葉幅関係を両対数グラフ上で見てみると、北に分布する属ほど大きく幅の広い葉をもつ傾向があった。また、大きく4群に分けることが可能であると思われた(下表)。チマキザサはササ群にアズマザサはタケ-ササ中間群にアズマネザサはタケ群に含まれる(群名は仮称)。

2. タケ亜科植物の種子は一般に休眠を持たない。そのため種子が落下すると数週間以内に発芽する。アズマネザサ(メダケ属)も休眠をもたない種子を生産する。しかしチマキザサ(ササ属)の種子は休眠をもち落下翌年に発芽する。今年(1987)の交雑実験によって、チマキザサを母親とし、アズマネザサを父親とする種子が6粒得られた。その6粒を播種したところ、4週間以内に5粒が発芽した(残り1粒は腐った)が同時に播種したチマキザサの種子は休眠している。交雑由来の種子は休眠がなかったことから、この種子は雑種であると判断された。

チマキザサ、アズマネザサ、アズマザサそれぞれの成体の葉長、葉幅は大きく異なっていたが、実生ではほとんど差がなかった。実生と成体の葉長、葉幅を両対数グラフ上で比較してみると、チマキザサは葉幅に、アズマネザサは葉長に優調な相対変異をしており、アズマザサはほぼ等調であることがわかった。上記3種の成体の葉形の差は、葉長-葉幅の相対変異係数の差によって生じる。ところで、今回得られたチマキザサ(♀)×アズマネザサ(♂)由来の実生の葉長-葉幅関係はアズマザサのものと一致していた。このことから、アズマザサ属がササ属とメダケ属の交雑起源である可能性は高まった。今後は他の性質についても調べ、交雑によってアズマザサ属のササが作出されたのかどうかについて、より詳しく検討したい。

表1 日本に分布しているタケ亜科植物の大別(仮案)

	地下茎	2n	雄ずい数	枝数/節	種子休眠
バンブー群	なし	72	3	多数	なし
タケ群	あり	48	3	2~10	なし
タケ-ササ中間群	あり	48	3, 6	1~3	なし, あり
ササ群	あり	48	6	1	あり

梶原 淳 (弘前大・理・生物)

イチヨウにおいては、受粉から約4ヶ月半後に、花粉管内にせん毛を有する精子を形成して受精が行なわれることが、平瀬(1896)によって明らかにされた。その後、この花粉の形成過程(小孢子母細胞の減数分裂から四分体、小孢子形成を経て、その後3回の体細胞分裂を行なって成熟花粉となる)や花粉の発芽・発達過程(雄原細胞の分裂による柄細胞と中心細胞の形成、中心細胞の分裂による精細胞の形成、精細胞から精子への変化)の研究が行なわれてきた。

われわれの研究室では、数年来、主として成熟花粉の発芽・発達過程を無菌培養などによって調べてきたが、今回は、小孢子母細胞の減数分裂から成熟花粉形成までの過程について、次の諸点について実験を行なった。

- (1) 弘前地方における全過程の進行時期とそれぞれのステージの経過時間。
- (2) 各ステージの形態的特徴。
- (3) 同一葯内および同一花序内での各ステージでの同調性。

これら実験の結果(1987年)は次のとおりである。

- (1) 小孢子母細胞が減数分裂に入るのは、4月15日前後であり、以後、およそ次のように進行していくことが明らかになった。

4月15日	Leptotene	18日	Zygotene	
	20日	Pachytene~Telophase II	21日	Tetrad, Microspore
5月2日	1st Prothallial cell (evanescent)・Embryonal cell			
	4日	1st Prothallial cell・2nd Prothallial cell (persistent)・Antheridial cell		
	8日	1st Prothallial cell (degenerated)・	}	Mature pollen grain
		2nd Prothallial cell・Generative cell・		
		Tube cell		

- (2) 各ステージの形態的特徴:
 - でんぶん粒の多少、細胞内分布の変動が顕著である。
 - Tetradの各細胞は、共通の外壁で包まれていて、それから脱出して小孢子となる。
 - 小孢子の時期に花粉外壁の極性的形成が認められ、成熟花粉の口の位置が決まり、その後の体細胞分裂の軸が一定となり、口の反対極側から順次、細胞が切り出されて行く。
- (3) 同一葯内でも、著しい非同調性が認められ、また、それはステージによって変動する。

遠田 宏 (東北大、理、植物園)

ラン科植物の種子形態は、かなり多様であることは古くから知られていたが、その詳細な研究は近年まで行われず、従ってランの分類・系統を考察する場合にも種子形態は全く無視されてきた。それは、ランの種子は極めて微小(0.1-3 mm)で取り扱いにくい上、一般に個体数は少なく、且つ種子散布期での種の同定が困難であるなど、各分類群にわたって広く確実な種子を得ることの困難さからくるものであった。演者は以前より国内外のラン種子の収集につとめてきたが、その結果各分類群での種子形態の比較検討が、ある程度可能となったので、ここにその一例として *Habenaria* 属(s.lat.)の種子について報告する。

Habenaria 属に関しては、はなはだしく拡大した範囲を考える研究者と、それを細分して取り扱う研究者とがある。前者は北アメリカに多く、後者はヨーロッパやソビエトに多い傾向がある。日本では、*Habenaria* 系(*Habenaria* s.str.ミズトンボ属、*Peristylus* ムカゴトンボ属)と *Platanthera* 系(*Platanthera* ツレサギソウ属、*Tulotis* トンボソウ属)及びこの両者の中間に位置すると考えられる *Coeloglossum* アオチドリ属にわけ、合計5属を広義の *Habenaria* 属として扱うのが一般的である。しかし、例えば前川は *Habenaria* 系の2属を再編し、*Habenaria* と *Glossula* の2属にわけている。また *Platanthera* 属もかなり幅の広い属であり、更に細分する研究者もいるが、一方、*Tulotis* 属を *Platanthera* 属に含める者もいる。いささか混乱しているこの広義の *Habenaria* 属を種子形態の面からみたらどうなるか、上記の5属に属する42種(*Habenaria* 11種、*Peristylus* 3種、*Platanthera* 23種、*Tulotis* 4種、*Coeloglossum* 1種)についてその種子形態(外形、大きさ、種皮細胞数と長さ、種皮細胞壁面の肥厚模様)を光顕およびSEMを用いて、主として属レベルで比較した。

結果は次の通りである。

- 1) 5属42種全体として、大きく次の3群にわけられる。

第一群：*Habenaria* 7種と *Peristylus* 3種を含みこの両属は区別出来ない。

第二群：*Habenaria* 4種と *Platanthera* 20種、*Tulotis* 4種をふくみ、このうち *Habenaria* は外形や表面肥厚模様のないことで、梯子状模様をもつ他の2属から区別されるが、この2属は区別できない。

第三群：*Platanthera* 3種と *Coeloglossum* 1種をふくみ区別は困難。

- 2) *Pl. hyperborea* シロウマチドリにおいて、グリーンランドから北海道に至る10地点に産するものは、いずれも第三群に属するが、日本北アルプスに隔離分布するものは、それらとは大きく異なり第二群に含まれ、且つ梯子状模様を表面にもつ。

- 3) *Hab. tridactylites* はカナリー諸島特産の隔離によって分化し種であるが、他の *Habenaria* の種子と異なり、梯子状表面模様をもつ。

カタクリの胚のう形成様式は、*Fritillaria*型であるが、減数分裂後に生ずる染色体数 n の4核は珠孔部位に1個、合突部位に3個の配置(第一4核期)をとる。正常な胚のうでは減数分裂後の第1回目の有糸分裂が4核で同調的に起り、珠孔部位には n の2核が生ずるが、合突部位では3個の有糸分裂像の融合が起り、その結果として $3n$ の2核が生ずる(第二4核期)。この時期の胚のうを観察すると、合突部位に3核、4核あるいは6核をもつ異常なものがみられた。また、正常な胚のうの合突部位の2個の $3n$ 核は、その後形態的に分化を生じ、珠孔側 $3n$ 核は楕円体状であるが合突側 $3n$ 核は、すりばら状の構造をとる。前者は珠孔部位の n 核と同調的に第2回目の有糸分裂を行うが、後者は分裂しないか、あるいは異常な分裂像を示す。

今回の報告は、第二4核期の胚のうにおいて合突部位に異常な核配列を生じている胚のうが出現する原因および合突部位の $3n$ 核が形態的に分化することについてそれぞれの核に含まれるDNA量から考察を加えることを目的として行われた。

DNA量の測定は、パラフィン切片をFeulgen反応をほどこし、MSPによる2波長法で行われたが、測定すべき核が他の核と接近してこの方法が使用できない場合には、核の中心部の吸光度(E)と核面積(S)との積(ES)でDNA量を示してある。

(1) 第二4核期で合突部位に4核をもつ異常な胚のうでは、その部位に比較的大きな2核と小さな2核が観察されるが、前者のDNA量の平均値は珠孔部位の n 核の平均DNA量の約2倍であり、後者のDNA量は n 核のそれとほぼ等しかった。このことより、合突部位での大きい核は $2n$ であり、小さい核は n であることが推定され、第一4核期の胚のうが分裂する際に2核が融合して生じた核と融合に参加しなかった1核より生じた核であると解釈される。また、合突部位に6核が存在する胚のうでの測定結果は、それらの核に含まれるDNA量は n 核のもつDNA量と等しいことを示し、第一4核期の合突部位の3核が独立に分裂した結果と解釈される。

(2) 第二4核期の胚のうにおいて、合突部位の2個の $3n$ 核のDNA量を測定した結果、静止期におけるDNA量は、2つの階級値をもつものに分けられる。第1の階級値を1.00とすれば第2の階級値は約2.00となりDNA合成が起ったことを示している。第2の階級値は珠孔側 $3n$ 核の第2回目の有糸分裂前期核のもつDNA量とほぼ等しい。これらのことは、珠孔側 $3n$ 核についてであるが、合突側 $3n$ 核においては異なった結果が得られた。即ち、第1の階級値の核はDNAの合成を開始するが第2の階級値に達せず、珠孔側 $3n$ 核が第2回目の有糸分裂前期になっても合突側 $3n$ 核のDNA値は依然として低いままであった。この両者での非同調的DNA合成が起る理由は現在未知であるが、このことが核の分化となんらかの関連があることが予想される。

増田 清・工藤敦子 (秋田農業短大・生物工学研究所)

全能性細胞における転写調節を調べる目的で、ニンジン培養細胞から核を単離し、*in vitro* での RNA 合成に關与する諸要因について検討した。

《材料》 ニンジン (*Daucus carota* L., cv. Red Core Chantenay) の培養細胞は下胚軸から誘導し、 1×10^{-6} M 2,4-D を含む修正 Murashige & Skoog 培地で細胞培養により維持した。

《核の単離》 遠心によって採取した細胞を 30% グリセロール、0.4 M シュークロス、10 mM $MgCl_2$ 、10 mM KCl 、0.2 mM PMSF、10 mM β -メルカプトエタノールを含む 20 mM MES (pH 5.9) に懸濁し、ガラス製 Potter 太モジナイダーで摩砕した。これを 63, 37, 20 μ m の篩で段階的に透過し、低速遠心によって核を含む沈澱を得た。この分画には核の他、澱粉などの顆粒性成分や細胞壁破片を多量に含み、未破壊細胞も混在していた。そこでより純度の高い核を精製するために、この粗核分画を Percoll 密度勾配上に遠心分離した。形態的に障害を受けていない核は 30% グリセロール、0.4 M シュークロスを含む 45%~30% Percoll の密度域に浮遊し、細胞壁破片、顆粒性成分、未破壊細胞はより低い密度域に分離した。澱粉粒は勾配を通過した。一方、この精製操作に先立ち、粗核分画を 0.05% Triton X100 で処理すると、核周囲物質が効果的に除去された。密度勾配より回収した核は遠心と再懸濁により数回洗ひ、50% グリセロールを含む溶液中で $-80^\circ C$ に保存した。

《単離核の性質》 単離した核の大きさは 4~8 μ m で、いずれも明確な核小体が認められた。核当りの平均の DNA 量は 1.0~1.8 pg で顕微分光光度計による測定結果に近似していた。核より抽出した塩基性蛋白質の SDS-PAGE はヒストン H2A, H2B, H3, H4 に典型的パターンが認められ、H1 は量的にも多く多成分であった。一方、非塩基性蛋白質は 12k~160 kda に多くのバンドが検出された。これらの結果から分離した核が高純度であり、物理的障害の少ないことが示された。

《RNA 合成》 ニンジン単離核を用い転写活性を測定した。反応溶液は 0.25 M シュークロス、15% グリセロール、0.1% BSA、0.1 mM DTT、50 mM Tris (pH 8.0) 5 mM $MgCl_2$ 、0.1 mM NTP、 1μ G [H]-UTP/100 μ l 反応液を基本とした。RNA 合成は反応開始後約 60 分間つき、合成量は反応液に含まれる核の量に比例した。 $MgCl_2$ 、 $(NH_4)_2 SO_4$ の添加はともに合成活性を高めたが、 $MgCl_2$ は $MgCl_2$ に代りうる程の効果ではなかった。また、 α -アマンニチンによる阻害から RNA ポリメラーゼ I および II の存在が確かめられた。シュークロス密度勾配遠心法による分析は、合成された RNA が高分子であり、転写産物の分子種について検討することも可能であることを示した。以上の実験系を使い、ニンジン細胞の全能性が胚形成を通して発現する過程で、転写の調節がどのように行なわれているか解析することができると考えている。

単子葉植物の分化のメカニズムの解明の研究の第一歩として、高頻度で分化し、分化の研究に適しているイネ培養細胞系の確立を試みた。種々の品種のいくつかの組織、器官からカルスを誘導し、これらから種々の条件下での分化誘導を行った。各品種における分化率は、品種により大きく異なっている事がわかった。分化率の高かった数品種を選び、継代培養、分化誘導の条件を検討した。その結果として、コナンソウの未熟胚を2,4-D (1mg/l) プロリン(25mM)、カゼイン加水分解物(300mg/l)を含むN6培地で2週間毎に継代培養後 NAA(1mg/l)、カイネチン(5mg/l)を含むN6固体培地へ移すことによって90%以上の分化率を示す培養系が得られた。継代培養の条件は高い分化率を得るためには、極めて重要であった。次に分化のメカニズムを生理学的に研究するためによりすぐれた実験系である、懸濁培養系を得ることを試みた。従来イネの培養細胞を懸濁培養すると分化率が著しく低下することが知られている。まず懸濁培養系でも高い分化率を維持する条件を検討した。その結果、上記の培地のプロリン濃度を10mMに下げた液体培地中で、3日毎に継代培養し、直径が1mm以上のサイズの細胞塊を上記の分化培地に移すことによって90%以上の分化率が得られた。さらに、液体培地中で小さい細胞塊を分化させることを試みた。200-400 μ mの細胞塊を用い、1/2N6液体培地に、NAA 0.01 mg/l 4-PU 0.1 mg/lを添加した液体分化培地にこの細胞塊を移すことにより分化を誘導することに成功した。この時の分化率は約40%だが、イネの培養細胞を、液体中で約40%という高い頻度で分化を誘導したのは、これがはじめての例である。

イネ培養細胞からの分化は、Organogenesisによるのか、またはEmbryogenesisを経て分化してくるのかははっきりとしていない。今までのイネの分化系は、大きな細胞塊を分化させ、またその分化率が低かったため、形態観察が困難であった。この系は、細胞塊が小さいので、形態観察が行ないやすい。そこでこの系における分化過程を観察し分化の経路が、EmbryogenesisなのかそれともOrganogenesisなのかを調べたので、これについて報告する。

イネのアミノ酸アナログ耐性株の選抜と体細胞
雑種育成。

李 孝淵、亀谷 寿昭、(東北大農研)、鳥山 欽
哉(東北大農)、畑田清隆(東北工試)

イネ品種ササニシキのアミノ酸アナログ(5-methyl tryptophane: 5MT)耐性細胞株を選抜するために、50mg/lの5MTを含むAA培地で培養し、その耐性程度と遊離アミノ酸組成を分析した。次にこのササニシキ(再分化能なし)とハナヒカリ(再分化能あり)の間で細胞融合を行い5MT耐性と再分化能を利用して雑種植物を選抜した。培養方法は鳥山ら(1986)に従った。5MTで選抜したササニシキのカルスは200mg/lの5MT培地においても生長し、その耐性は安定していた(Fig1.)。カルスの遊離アミノ酸は無選抜カルスに比べて著しく増加した(Table1)。次に5MT耐性ササニシキとハナヒカリのプロトプラストをデキストラン法で融合させ、3株のアルビノが得られた(Table2)。

5MT耐性ササニシキは再分化能力を消失していたこととアルビノ植物体の根から誘導したカルスは5MTに対して抵抗性を示したことから得られたアルビノ植物は融合産物と考えられる。

以上の実験から5MT耐性は雑種選抜のマーカーとして有効であると考えられる。

Table 1 Amino acid analysis
nmol/gFW

	control	resistance
Asp	51.07	254.46
Thr	104.72	166.90
Ser	136.12	282.11
Glu	155.93	714.80
Gly	251.67	625.80
Ala	361.65	712.48
Cys	78.39	134.64
Val	192.40	304.71
Met	54.47	112.31
Ile	109.90	168.56
Leu	167.98	256.42
Tyr	93.32	133.63
Phe	87.16	147.97
Lys	217.03	208.24
His	66.49	93.82
Trp*	24.34	1370.75
Arg	997.51	618.38
total	3150.15	6305.98

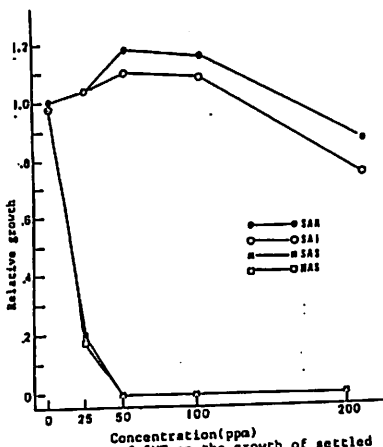


Fig. 1. Effect of 5MT on the growth of settled cell volume.
SAR:SASANISIKI(SMT resistance)
SAI:SASANISIKI(SMT resistant, after growth on free medium for 2 months)
SASI:SASANISIKI(wild type)
HAH:HANAHIKARI(wild type)

Table 2 Regeneration frequency from protoplast

cultivar	Density of protoplast	Repetition	NO of callus transplanted to regeneration medium	NO of callus produced		
				Green Plant	Albino Plant	Root
SAR	2-5x10 ⁵	2	300	0	0	0
HA	"	2	/	/	/	/
SAR-HA	"	5	570	0	3	5

SAR:SASANISIKI(SMT Resistance callus). HA:HANAHIKARI

ワサビダイコン (*Armoracia rusticana*) の葉片を培養し、効率的な再分化系を確立した。更にこの系を用いて、脱分化時、再分化時のアイソザイムの変動を調べた。

温室で栽培した株分け後1ヶ月位のワサビダイコンの上位葉を採取し、70%エタノール、3%次亜塩素酸ナトリウムで消毒後、滅菌水で洗浄し、5mm²の葉片に分け、NAAとBAPの濃度を組み合わせたMS培地に置床し、25℃、明所(3000lux)培養した。培養3週間後と4週間後に再分化率を調べたところ(Table 1)、幅広い濃度域で不定芽の再分化が可能であり、NAA単独でも再分化した。しかしながら、NAA単独区ではカルス当りの分化する不定芽の数が、1~2本と少なかったのに対し、BAPと組み合わせた場合、不定芽の数は増加する傾向にあった。不定芽の発生後に不定根の発生が観察されたが、伸長した莖葉は形態が異常なものが大部分であり、これらの莖葉をホルモンフリーのMS培地に移植することにより、正常な植物体が復元できた。

以上のことからワサビダイコンは培養組織の脱分化、再分化の機構を研究するのに極めて有効な実験材料と考えられ、脱分化時(培養後7日目)、不定芽形成時(培養後16~19日目)のアイソザイムの変動を調べた。葉片またはカルス(MS+NAA 1ppm+BAP 1ppm)をTris-HCl Buffer(pH 7.5)で抽出し、遠心分離後、上清をポリアクリルアミド等電点電気泳動で分離し、活性染色を行なった。その結果Table 2に示した様に、いくつかの酵素では脱分化時、不定芽形成時に特徴的なザイモグラムの変化が観察された。これらの酵素は培養組織の脱分化、再分化に関連しているものと思われる。

Table 1. Effect of NAA and BAP on callus formation and redifferentiation in horse-radish.(4 weeks culture)

BAP (ppm)	NAA(ppm)			
	0	0.2	1.0	5.0
0	0 ^a	40	50	50
	0 ^b	100	100	100
	0 ^c	40	100	100
	0	100	100	100
0.2	40	100	50	75
	0	100	100	100
	0	100	100	100
	0	100	100	100
1.0	40	100	100	50
	0	100	100	100
	0	100	100	50
	0	100	100	100
5.0	0	50	75	50
	0	100	100	100
	0	0	0	0
	0	0	0	0

a:shoot formation(%) b:callus formation(%) c:root formation.(%)

Table 2. Isozyme patterns during leaf segments culture.

Enzyme	leaf		Shoot formation
	callus	Initiative	
PDX	+	+(C)	+(C)
Est	+	+(C)	+(C)
Hdh	+	+(C)	+(C)
Gdh	0	0	+
Adh	+	+(C)	+
ACP	+	+(C)	+
Asp-At	+	+	+
Lap	+	+	+

0:no activity. +:activity present.
+(C):activity present.but band pattern changed.