

日本植物学会東北支部第5回(山形)大会

一般講演とシンポジウム

## 講演要旨集

公開シンポジウム

東北の自然—その現状と保護—

共催：東北育種談話会・東北植物バイオテクノロジー研究会  
日本生態学会東北地区会

日時：1991年12月13(金)・14日(土)

場所：山形大学理学部11番教室

日本植物学会東北支部

1991年 山形

# 平成3年度日本植物学会東北支部 第5回（山形）大会 シンポジウムおよび一般講演プログラム

日時:1991年12月13日(金)~14日(土) 於:山形大学理学部11番教室

12月13日(金)

(°印:演者)

- 13:00 開会の挨拶
- 13:05 ① フジ (*Wisteria floribunda* (Willd.) DC.) の胚学的研究  
大宮 徹 (東北大・理・生物)
- 13:25 2 イヌエンジュの花の変異と温量指数  
°星 比呂志・大橋広好 (東北大・理・生物)
- 13:45 3 邦産フクジュソウ属植物の分化 2.  
-花期と分布及び自然三倍体の生成-  
°須田 裕・°安達裕司 (岩手大・教育・生物, °盛岡市立仁王小学校)
- 14:05 4 接木法により研究したシソの花成刺激の性質-生殖器官への  
花成刺激の保持  
菅 洋 (東北大・遺生研)
- 14:25 5 シロイヌナズナ花芽形成突然変異の特徴について  
°後藤伸治・唐沢佳子 (宮城教育大・生物)
- 14:45 6 苗条再分化が温度感受性を示すシロイヌナズナ変異株の単離と解析  
°保谷 泉・小澤正一・杉山宗隆・駒嶺 穆 (東北大・理・生物)
- 15:05 7 ニンジン細胞の培養にともなう胚分化能の低下と蛋白組成の変化  
°宮城任子・増田 清・野村港二・高橋清子・井上正保 (秋田県立  
農業短大・生物工学研究所)
- 15:25 休 憩
- 15:35 公 開 シ ン ポ ジ ウ ム  
東北の自然-その現状と保護-
- 15:40 S 1 海藻養殖からみた海域の漁場行使と環境との関係について  
小河久朗 (北里大・水産)
- 16:10 S 2 葛根田川源流地域の植生と保護  
菅原亀悦 (岩手大・人文社会)
- 16:40 S 3 五葉山のシカとササ -東北地方の自然における積雪の意義-  
高槻成紀 (東北大・理・生物)
- 17:10 総 合 討 論

17:30 東北支部総会

18:00 懇親会(山形大学厚生会館二階 20:00まで)

### 12月14日(土)

- 9:00 8 根の重力屈性の情報伝達系におけるカルシウムイオンの役割  
°鈴木 隆・加藤良一・菅原珠美・村田 透・渡辺文樹(山形大・教育)
- 9:20 9 光強度によって変わるフシナシミドロの光屈性の屈曲方向  
片岡博尚(東北大・遺生研)
- 9:40 10 フォスファターゼ阻害剤(オカダ酸およびカリクリンA)による  
粘菌細胞の増殖・分化の制御  
°秋山正行・前田靖男(東北大・理・生物)
- 10:00 11 粘菌細胞における異型接合子形成のエチレンによる誘導  
雨貝愛子(東北大・理・生物)
- 10:20 12 ニチニチソウ同調培養系の細胞周期S期特異的に発現する遺伝子  
cyc07の解析  
°橋本一憲・伊藤正樹・<sup>1</sup>山田高也・<sup>1</sup>鈴木達男・駒嶺 穆(東北大・  
理・生物, <sup>1</sup>北里研究所病院・バイオメディカル)
- 10:40 13 PCRによるヒャクニチソウphenylalanine ammonia-lyase遺伝子の  
単離  
福田裕穂(東北大・理・生物)
- 11:00 14 新しい形質転換系によって得られたヒゲカビ形質転換体の諸特性に  
ついて  
°福井 丈・宮崎 厚・大瀧 保(東北大・遺生研)
- 11:20 15 ヒゲカビ胞子のう柄に存在する結晶体の解析  
°阿久津健一・<sup>1</sup>宮崎 厚・<sup>1</sup>大瀧 保(山形大・理・生物, <sup>1</sup>東北大・  
遺生研)
- 11:40 16 パロー地区湖沼群(アラスカ)の黄金藻類相  
°石本佳代・高橋永治(山形大・理・生物)
- 12:00 17 ナガイモの生活環と休眠における13-OH GA合成経路と13-H GA合成  
経路の役割  
°鈴木成夫・丹野憲昭・安部 守・<sup>1</sup>横田孝雄・<sup>2</sup>岡上伸雄(山形大・  
理・生物, <sup>1</sup>帝京大・理工・バイオ, <sup>2</sup>東北大・理・生物)
- 12:20 閉会の挨拶

## 座 長 表

月 日	講演番号	時 間	座 長 名 (所 属)
12月13日			
(金)	一般講演		
	1～3	13:05 - 14:05	川野辺 英昭(秋田大・教育・理)
	4～5	14:05 - 14:45	山岡 剛(秋田大・教育・理)
	6～7	14:45 - 15:25	後藤 伸治(宮教大・生物)
	シンポジウム		
	1	15:40 - 16:10	高橋 永治(山形大・理・生物)
	2	16:10 - 16:40	須田 裕(岩手大・教育・生物)
	3	16:40 - 17:10	大橋 広好(東北大・理・生物)
	総合討論	17:10 - 17:30	櫻村 利道(福島大・教育)
12月14日			
(土)	一般講演		
	8～9	9:00 - 9:40	福田 裕穂(東北大・理・生物)
	10～11	9:40 - 10:20	菅 洋(東北大・遺生研)
	12～13	10:20 - 11:00	増田 清(秋田県立農業短大・ 生物工学研)
	14～15	11:00 - 11:40	前田 靖男(東北大・理・生物)
	16～17	11:40 - 12:20	大瀧 保(東北大・遺生研)

### 【交通 山形駅から大学まで】

#### ●バス

路線：東原經由千歳公園行き  
 発車バスホーム：2番ホーム(山形駅前)  
 下車停留所：山形大前  
 所要時間：10～15分  
 料金：150円('91年8月現在)  
 バス時刻：未定(12月にバス時刻改訂のため)

#### ●タクシー

行き先：山形大学 小白川キャンパス  
 所要時間：7～10分  
 料金：800円前後

山形交通バス時間案内 ☎ 0236-32-7272 にお問い合わせ下さい。

フジ属 (以下 *Wisteria* 属と記す) はマメ科マメ亜科 *Tephrosia* 連 (tribe *Tephrosieae*) に属するとされてきた。しかし、*Wisteria* 属を *Tephrosia* 連に含める見解は最近疑問視されるようになってきている (Lavin et al, 1990)。

胚学的研究は目から種までのさまざまなレベルで分類群の輪郭を明らかにするために有力な手段とされるが、このことは近年ますます注目を集めるようになった (Tobe, 1989)。*Wisteria* 属の *Tephrosia* 連への帰属如何を判断する上でも、その胚学的形質は有力な根拠になると考える、マメ科においては Prakash (1987) が、これまでに調べられてきた胚学的形質を整理し、科レベルでの特徴をかなりの程度まで明確にすると同時に、連レベルでの研究の必要性を指摘した。*Tephrosia* 連に属する植物の胚学的研究は、これまで *Tephrosia* 属 (Seshavatharam, 1982, その他)、*Milletia* 属 (Pal, 1960) および *Pongamia* 属 (Anant-swamy Rau, 1951) でなされてきたが、*Wisteria* 属での研究 (Rembert, 1967, その他) は部分的な形質の記載にとどまっている。

そこで *Wisteria* 属と *Tephrosia* 連の他の属との胚学的形質を比較するため、フジにおける胚学的形質について詳しく調査したので、その結果を報告する。

フジの花粉形成において、葯室の数は4、葯壁形成は双子葉型であり、葯表皮は宿存、内皮は繊維状肥厚をし、胞子は同時形成、タペタムは分泌タイプである。これらの点は *Tephrosia* 連の他の属と一致する。しかし、雄性配偶子形成においては、フジの成熟した花粉粒は2細胞であり、3細胞である *Tephrosia* 連の他属での例とは異なった。

大胞子形成において、フジは、珠皮が2枚、珠心が厚層珠心となる点で、*Tephrosia* 連の他の属と共通であった。しかし、珠孔を形成する珠皮が内外の両珠皮である点は、それが外珠皮のみによって形成される *Tephrosia* 連の他の例と異なった。さらに、フジは、胞原細胞が多細胞であり、大胞子四分子がT型であることなどで、それぞれ1細胞、線形である *Tephrosia* 連の他属の例と異なった。フジの胚嚢形成はタデ型であり、*Tephrosia* 連の他の属と一致した。

受精と受精後において、花粉管の経路が珠孔を通過することや、胚乳形成のタイプが遊離核型であるなど、フジは *Tephrosia* 連の他の例と一致した。

以上あげたフジと *Tephrosia* 連の他属との一致点はすべて、マメ科における科のレベルでの胚学的共通点でもある。一方、フジ以外の *Tephrosia* 連がマメ科全体に対して持っている胚学的特徴はことごとくフジとの不一致点 (珠孔の形成を除く) として現われた。

このことから、*Wisteria* 属は *Tephrosia* 連から排除される可能性がある。

## 2

### イヌエンジュの花の変異と温量指数

星 比呂志・大橋 広好 (東北大・理・生物)

イヌエンジュ属 (*Maackia*) はマメ科マメ亜科のクララ連に含められ、日本には3種が知られている。このうちイヌエンジュ (*M. amurensis* Rupr. et Maxim. subsp. *buergeri* (Maxim.) Kitamura、分布: 本州中部地方以北~北海道) とハネミノイヌエンジュ (*M. floribunda* (Miq.) Takeda、分布: 本州中部地方以西、四国および九州) は花、葉、果実の形態で区別されているが、中部地方や近畿地方にはしばしばどちらの種か同定の難しい個体がみられる。したがって、分類形質の再検討のために両種を分布域全体で詳しく検討することが必要となった。

花の形態は両種間で最も違いが大きい形質とされているので、これを詳しく検討した。まず従来の形質に基づく典型的な個体同士を比較したところ、区別点とされてきた2つの形質状態に加えさらに2つの形質状態で違いがみられた。そこでこの4形質状態を分布域全体にわたって検討した。しかし、どの形質状態でも両種の花の形態は連続的であった。

次に、4形質状態の分布域全体での変異の傾向を見たところ、各形質状態は北日本から西南日本に向かう地理的クラインを示した。このクラインは、中部地方と近畿地方の間では勾配が急だが関東地方~北海道の間および中国地方~四国・九州の間ではそれぞれ勾配が緩やかという特徴を示した。

これまで日本列島の植物においてはいくつかの種類で地理的クラインが知られ、このうちブナやジュウモンジシダ等では種内変異が生育地の温度環境の違いと対応していることが見いだされている。そこで、本研究では、花の形態の各形質状態と温量指数の関係を検討した。温量指数の算出は、気象庁統計課(1960)の方法によって生育地の推定月平均気温を求め、これにもとづいて行った。

その結果、いずれの形質状態においても温量指数との間に有為な相関関係が見いだされ、各形質状態の個体ごとの違いは生育地の温量指数の違いに対応していることが分かった。また、形質状態のクラインにおいて各地方間にみられる勾配は、いずれの場合も各地方間の温量指数の勾配に対応していることが分かった。

### 3

#### 邦産フクジュソウ属植物の分化 2. -花期と分布及び自然三倍体の生成-

須田 裕\*・安達 裕司(岩手大・教育・生物,  
盛岡市立仁王小)

演者は 1988 年の東北支部会第三回大会(仙台)で、フクジュソウ属植物の分化について、主に細胞学的立場から概略以下の様な報告を行った。

- (1) 岩手県内の 11 個体群、106 個体のフクジュソウの体細胞染色体数を調査したところ、基本数は  $x=8$  で、二倍体、三倍体及び四倍体が見られる。
- (2) 核型分析によると、二倍体の染色体組は、4 対の中部狭窄をもつ m 染色体と 4 対の次中部狭窄をもつ sm 染色体から成り、それらの sm 染色体には、大きさの異なる付随体のある 2 対の SAT 染色体がある。
- (3) 倍数性の変化と相関のみられる形態的、植物季節的特徴として、花期、分離複果の大きさ及びその成熟期の違いが挙げられる。
- (4) 盛岡市の北部、2 万 5 千分の 1 地形図「鷹高」に入る全地域で、二倍体と四倍体の分布状況を詳しく調査した結果、両倍数体は普通、異所性を示すが、稀には混ざり合ったり隣接していたりすることが分かった。この事実は、更に多くの自然三倍体の生ずる可能性を示唆している。

演者等は上記の (3) と (4) について更に詳しく研究・調査を進めて、以下の様な結果を得た。

- (1) 岩手県内各地から、個体群毎に集めた二倍体、三倍体及び四倍体の個体を、ほぼ同じ条件の下で栽培すると、四倍体と三倍体は二倍体よりも早く開花する。最盛期が 2~3 週間程ずれる点も自然条件下と変わらない。しかし、花期の重なる期間は野外における場合よりも短い。
- (2) 2 万 5 千分の 1 地形図「渋民」と「沼宮内」に入る全地域での調査でも、二倍体及び四倍体の個体は厳密な意味で異所的に分布している。しかし、これまでの調査地域内で、両者が混生する個体群が 15 箇所で見られている。
- (3) 自然三倍体と確認された 22 個体のうち、二倍体個体群中に現れた 1 個体を除き、全て二倍体、四倍体の混生個体群中に発見されている。

# 4

## 接木法により研究したシソの花成刺激の性質—生殖器官への花成刺激の保持 菅 洋 (東北大・遺生研)

シソでは一度誘導処理により誘導葉に成立した花成刺激は、その葉が存在している限り花成刺激を生産し続け、その葉を接木することにより非誘導植物に開花を誘導することができる。また、誘導葉を接木する際、誘導葉は最低  $1\text{cm}^2$  あれば、非誘導植物に開花を誘導する。すなわち、わずか  $1\text{cm}^2$  の面積の誘導葉に、非誘導植物に開花を誘導できる情報（花成刺激）が存在していることを示している。

一方、誘導処理により誘導葉に生じた花成刺激は、生長点に移行しそこで花芽の分化を誘導するが、その後もその花成刺激は生殖器官たる花部に残存しているのか、あるいは速やかに消費されるのか、または代謝されてしまうのか、その運命については、ほとんど何も知られていない。

本研究においては、この点を明らかにするため、誘導処理（8時間明期+16時間暗期）サイクルを与え、生長点に分化した花穂（3-4cmの発育途中のもの）を非誘導条件下（24時間明期）において非誘導植物の頂部に接木し、その直下に残した一对の側芽の開花反応を見ることにより、生殖器官たる花穂における花成刺激の保持の有非を検定した。

その結果、接木した植物の21.4%に開花を誘導した。この比率はそんなに高くないが、この開花誘導には再現性があった。しかし、開花までの日数は、直接誘導葉を接木する場合に比較して極めて長期間を必要とした。しかし、これらの結果は、誘導葉で生成した花成刺激の表現として分化した花器官に、花成刺激が一部はまだ保持されていることを示すものと思われる。（本研究は、文部省科学研究費重点領域研究「生殖生長への転換機構に関する研究」の一部として行われた。）



○後藤伸治・唐沢佳子（宮城教育大学・生物）

花芽形成（花芽誘導）は光質、光周、温度等によって大きな影響を受ける。このような環境要因を植物が感受し、反応する機構や過程について従来多くの研究がなされてきたが、花芽形成に関する分子的メカニズムはいまだに不明のままである。花成時期（早生や晩生）についての遺伝的分析は花芽形成をコントロールしている遺伝子作用を明らかにする上で有効な情報を提供する。その際、単一遺伝子変異を持つ突然変異の利用は環境要因によって発現する遺伝子の機能を明らかにすると同時に、環境要因と花芽形成との関係を分子レベルで理解することに役立つと考えられる。しかし、従来用いられてきた植物ではそのような遺伝子支配がはつきりした系統がきわめて少なく、またその遺伝子の発現産物も不明なため、遺伝子の発現と花芽形成を対応させて説明するのは困難であった。

シロイヌナズナは量的（quantitative）な長日植物で、長日下では花芽形成が促進されるが、これは絶対的な要求ではなく、短日下でも時期は遅れるが花芽を形成する。同様に低温処理（vernalization）も花成を促進するが、低温にさらされなくともいずれは花芽形成が起こる。このような量的な性質は一般には花芽形成の研究には適さない。しかし、シロイヌナズナでは単一遺伝子変異による花成突然変異（late mutant）が多数単離されており、それらのいくつかでは染色体上の遺伝子座も決定されている。これらの突然変異の光や温度等の環境要因への反応の特徴を解析することは環境と花成遺伝子の発現との関連を理解するうえで役立つと思われる。また、従来花芽形成の研究は多くが短日植物で行なわれており、長日植物での研究は比較的少ない。短日植物と長日植物では環境要因に対する反応様式が異なっていることが知られているので、この違いを明らかにする上でもシロイヌナズナを材料とする意義があると考えられる。

今回、我々はシロイヌナズナの花成突然変異（Sf-2, fB, fca, fy）について光周性、光中断、低温処理等の環境要因への反応の特徴を調べたのでその概要を報告する。

## 6

### 苗条再分化が温度感受性を示すシロイヌナズ変異株の単離と解析

○保谷泉・小澤正一・杉山宗隆・駒嶺穆(東北大・理・生物)

植物の再分化過程において働く遺伝子群を明かにすることを目的として、苗条再分化が温度感受性を示すシロイヌナズ変異株の単離を試みたところ、複数の変異系統が得られたのでそれらについて報告する。シロイヌナズ種子(Landsberg)をEMSで処理し突然変異を誘発した後、2回自家受粉を繰り返して得たM3種子系統から変異株の選抜を行った。各M3系統について、22℃(許容温度)および27℃(非許容温度)で根の外植片から苗条再分化を誘導し、3週間後に苗条再分化の有無を比較して温度感受性を示す系統を選抜した。その結果、約2300のM3種子系統から再分化が温度感受性を示すものが21系統得られた。このうちの3系統(L1045、L1047、L1919)については次世代のM4植物体でも苗条再分化が温度感受性を既に確認した。

L1045とL1047についてさらに詳細な解析を行なった。まず、20℃から30℃の範囲で苗条再分化を誘導し野生型株の場合と比較した。野生型株は20℃から27℃までの範囲で高頻度で苗条が再分化するのに対して、L1045、L1047はともに、22℃で最も再分化率が高く、22℃から27℃にかけて再分化頻度の急激な低下が認められた。L1047は、27℃でも低頻度ながらも苗条再分化が起るが、L1045はどの温度でも野生型株に比べて再分化率は低く、特に27℃においてはほとんど苗条再分化が起らないことがわかった。野生型株の場合、一部カルス化した根の外植片にまず濃緑色のスポットが形成され、その場所から苗条が再分化してくる。L1045を27℃で培養した場合にも同様な苗条原基と考えられる濃緑色のスポットが形成されるが、それはその後発達せず、根の外植片はカルス増殖を続ける。このことからL1045では苗条原基の形成ではなく、その後の発達が温度感受性になっているのではないかと考えられる。なお、カルス増殖はいずれの系統においても温度感受性を示さなかったので、再分化の温度感受性は増殖に必須な基礎代謝の変異によるとは考えにくい。また、許容温度で生育させた植物体の形態を比較すると、L1045では植物体は全体的に小さく鞘の形も異常であったが、L1047については形態上の異常はみられなかった。

現在、L1045を中心に遺伝学的解析を行なっている。これまでに得られた予備的な実験結果からは、L1045の温度感受性は、単一遺伝子座に生じた劣性変異によるものであると考えられる。

## 7

## ニンジン細胞の培養にともなう胚分化能の低下と蛋白組成の変化

宮城任子・増田 清・野村港二・高橋清子・井上正保  
 (秋田県立農業短大・生物工学研究所)

オーキシンを含む培地で増殖したニンジン細胞を、生長調節物質を除いた培地に移し培養すると不定胚が分化する。この場合、オーキシン存在下で形成されるembryogenicな細胞塊が胚の主要な起源となることが知られている。細胞塊からの不定胚分化の系は実験の再現性が高く、方法が簡単であることから、不定胚分化の生理、生化学的研究にしばしば用いられ、これまでに多くの知見が集積されてきた。しかしその一方で、オーキシンを除くことで胚を分化する細胞の性質あるいはそのようなembryogenicな細胞に見られる特徴的な機能については現在得られている情報が極めて少ない。一般に、培養細胞を長期間にわたって継代培養すると、胚や器官の分化能が低下する現象が認められる。演者らは、この性質を利用し、長期間の継代培養によって胚分化能を失った細胞が、胚を分化する細胞を解析する際の対照となりうると考え、実験法の開発を進めてきた。今回の発表ではその実験系について述べ、得られた胚分化能の異なる細胞の蛋白種について比較検討したので報告する。

<材料および方法> ニンジン(*Daucus carota* L. cv. Red Cored Chantenay)の培養細胞は、殺菌種子より発芽した芽生えの下胚軸切片から $1 \times 10^{-6} \text{M}$  2,4-Dを含む修正Murashige-Skoogの培地を用いて誘導し、懸濁培養によって継代維持した。懸濁培養を開始して6-8週間後、細胞の一部を採りオーキシンを含まない培地で培養することによって胚分化能を検定した。胚分化能の高い細胞はプログラムフリーザーを用いて凍結し、液体窒素中で保存した後、必要に応じて解凍、再培養して用いた。同一の細胞株から胚分化能の異なる細胞を得るために、まず保存細胞の一部を解凍し、継代培養を続けた。この細胞がオーキシンを含まない培地に移しても胚の分化が認められなくなった時点で凍結保存しておいた細胞を再培養し、胚分化能の高い細胞を得た。以上の方法で調製した細胞について蛋白を抽出し、二次元電気泳動法によって解析した。

<結果と考察> 継代維持したニンジン細胞の胚分化能は培養期間の長期化にともなって低下し、細胞株によっては解凍後8-10週間の後に胚分化が認められなくなった。一方、解凍直後のニンジン培養細胞はTTC法で80%以上の生存率を示し、保存による胚分化能の低下は認められなかった。細胞から8M尿素を用いて蛋白を抽出し、IEF-SDS二次元電気泳動によって比較した結果、胚を分化する細胞に量的に多く存在する蛋白は認められず、むしろ胚分化能を失った細胞ではいくつかの蛋白種に顕著な量的増加が見られた。このことは継代培養した細胞では蛋白組成が単純化することが示唆された。次に細胞分画によって得た核から蛋白を調製し比較したところ、胚を分化する細胞に特徴的な蛋白種の存在が認められた。これら一連の実験系は凍結保存細胞を用いているため、同一の細胞株での再現が可能で、より詳細な解析ができるものと考えている。

## 公開シンポジウム

1991年12月13日(金)15:35-17:30

### 東北の自然－その現状と保護－

共催：東北育種談話会

東北バイオテクノロジー研究会

日本生態学会東北地区会

- S 1 海藻養殖からみた海域の漁場行使と環境との関係について  
小河久朗（北里大・水産）
- S 2 葛根田川源流域の植生と保護  
菅原亀悦（岩手大・人文社会）
- S 3 五葉山のシカとササ－東北地方の自然における積雪の意義－  
高槻成紀（東北大・理・生物）

---

メ モ

---

## S - 1

### 海藻養殖からみた海域の漁場行使と環境との関係について

小河久朗（北里大・水産）

海藻の養殖漁場は時間、労力、経済的理由から主として沿岸域にあるため、ここでの水環境は陸域からの流入水による影響を受けやすい。海藻養殖を環境という立場からみると、養殖海藻は生長する過程において目に見えない溶存状態のN、Pを吸収し、目に見える形に固定し、しかも経済的価値があるので、海藻養殖は金をかけることなく海域に存在する富栄養物質を回収していることになる。海藻養殖がもつこの様な特性を効果的に発揮させるためには、環境に応じた養殖種の選択、技術開発、漁場としての海域の利用（漁場行使）が重要となる。ここでは、漁場行使という視点から海藻養殖と環境との係わりを見たとき、どの様な点に問題があるのか、どの様な漁場行使が海藻養殖にとって望ましいのかについて考えてみたい。

海藻養殖漁場として海域を使用する場合、海域への人為負荷が多い場所（人間の生活・生産活動に伴う排水の流入がある）と、そうでない場所（自然が多く残っていて人間の生活・生産活動に伴う排水の流入が殆ど無い）とでは、環境測定項目の値が例え同じであっても自ずとその中味は異なり、そこでの環境変動の様相に相違があるだろうということは容易に想像できよう。CODの場合、生物に影響を及ぼすことが殆ど無いと考えられる物質でも、そうでない物質と一緒に測定されてしまう欠点がある。例えば、環境に対して都合の悪い物質とは思えないコンブ、ワカメなどの褐藻類から排出される代謝産物は、そこに生息している他の生物の生活を脅かすような影響は与えていないにもかかわらずCODでは測定されるため、これら海藻群落中の値が周辺域の値に比べて高い結果が得られることがある。濃度についても、ここで定めている値は年間平均値を基準にしているため、養殖漁場として利用可能な場所であるにもかかわらず使えない場合がある。例えば、下水の二次処理として現在、塩素が用いられているが、添加した塩素とアンモニアとによって生じたクロラミンや残留塩素がノリの生長阻害を引き起こすことがわかっている。ノリの養殖時期に限って塩素添加量を減らすことにより、養殖漁場の拡大が計れるだけでなく、その水域の環境改善も期待できる。

将来、海域に放流される水の水質は現在よりも改善されるだろうけれども、その放流量が減少しなければ海域の環境改善には結びつきにくい。排水の放散域あるいは排水場所の限定等、場所を限っての海域への放流を考えることも必要であろう。海藻養殖を含め沿岸養殖漁業の今後の安定化を考えると、沿岸域の水環境の改善とそれに伴った漁場行使の在り方は大きな意味がある。

## S — 2

### 葛根田川源流地域の植生と保護

菅原亀悦（岩手大・人文社会科学部）

葛根田川源流地域は盛岡市街地から北西約30kmの地点にあり、雫石町の北西部を占めている。この面積は約6600haで、その外縁は秋田県と接し、北から三ツ石山（1466m）、小畚山（1467m）、曲崎山（1334m）、西に大沢森（1178m）、大白森（1216m）、小白森（1144m）、南に烏帽子岳（1450m）など1100m以上の山稜が馬蹄形状に連なり、この地を取り囲んでいる。そして東側が開いたようになり、葛根田川が東流している。この地域は古くから人手が加わることが少なく、わが国における最も優れた自然地域の一つとして知られ、十和田・八幡平国立公園の一部に指定されている。特に、この地域の大部分は見事なブナの原生林に覆われ、その規模においてわが国随一といわれている。

この地域の植生を調査した結果、次のような主な群落が見られる。

(1) 亜高山帯植生：ハイマツ低木林、アオモリトドマツ林、ダケカンバ林、亜高山落葉広葉樹林、チシマザサ群落、ブナ低木林、湿原植物群落、雪田植物群落

(2) 山地帯植生：ブナ林、ミズナラ林、トチノキ・オヒョウ林、ドロノキ林、キタゴヨウ・クロベ林、硫気孔荒原、水生植物群落

上述した群落はいずれも原生的状態を保ち、この地域の美しい自然景観を保持している。これらの群落で最も特徴のあるものはブナ林と湿原植物群落、水生植物群落である。ブナ林はこの地域に広い範囲にみられ、湿原植物群落は栗木ヶ原湿原、水生植物群落は白沼、平ヶ倉沼に主に発達している。

このような貴重な自然を末永く保存するため、多くの県民から要望があり、平成元年に葛根田川流域森林総合調査が実施された。平成2年森林生態系保護地域設定委員会が設置され、種々検討の結果、平成3年4月1日に森林生態系保護地域に設定をみるに至った。その面積は4748haである。

保護地域の目的：当地域は日本海型のブナ林を主とする原生的な天然林を保存することにより、森林生態系からなる貴重な自然環境の維持、動植物の保護、遺伝資源の保存、森林の管理、学術研究に資する。

保護地域の区域：(1) 保存地区－原則として人手を加えずに自然の推移に委ねる地区（3819ha）、(2) 保存利用地区－保存地区に外部の環境の変化が直接及ばないように緩衝の役割を果たす地区（929ha）。

## S - 3

### 五葉山のシカとササ —東北地方の自然における積雪の意義— 高槻成紀（東北大・理・生物）

東北地方は冬季、日本海を越えてくるシベリアからの季節風を受けるため脊梁山脈は稀にみる多雪地となっている。このため日本海側と太平洋側とでは植生に著しい違いが認められ、いわゆる「背腹性」として植物生態学の重要なテーマのひとつとなっている。

雪の影響を受ける植物のうちササ属においては日本海側の多雪域にはチシマザサ節、中間域にはチマキザサ節が優勢で、太平洋側の寡雪地のミヤコザサ節と明瞭な境界をなしている（Suzuki, 1961）。この境界（ミヤコザサ線）は積雪50cmの線とほぼ一致しており、分布の違いは冬芽の高さとの関係で説明されている。

一方、東北地方のホンシュウジカ（*Cervus nippon centralis*）の分布は狩猟圧や生息地の破壊によって寸断されており、現在では那須から牡鹿半島まで広い空白域があり、その北部では再び広い空白域をはさんで北上山地南部の五葉山まで隔離されている。このシカの分布は積雪50cm以下の範囲に限られている。シカの脚の長さや蹄の面積などの計測により、積雪50cmを越えるとシカの行動が妨げられることが確認されたが、これによって日本列島のシカの分布もよく説明できる（Takatsuki, 1991）。

北日本のシカにとってはミヤコザサ節のササ（以下単にミヤコザサ）は非常に重要な食糧であり、このことはミヤコザサの持つ次のような特性と深くかかわっている（Takatsuki, 1986）。

- 1 供給量の豊富さ
- 2 供給量の安定性（常緑性）
- 3 栄養価（タンパク質含量）
- 4 嗜好性
- 5 採食に対する耐性（地上部の回転率）

このような事実から中部以北の太平洋側にブナ-ミヤコザサ-シカ複合というバイオームが想定される。これは同じ範囲の日本海側にあるであろうブナ-チマキザサ-カモシカ複合と対比される。

自然保護という観点からは、太平洋側は早くから開発が進んだため、すでに危機的な状態にある上、数年に一度襲う豪雪のために管理上一筋縄ではゆかない問題が多くあり、予断を許さない状況にある。

## 8

## 根の重力屈性の情報伝達系におけるカルシウムイオンの役割

°鈴木 隆・加藤良一・菅原珠美・村田 透・渡辺文樹（山形大・教育）

根の重力屈性の発現が外生のカルシウムイオンにより制御されることが報告されて以来、重力屈性の情報伝達系においてもカルシウムイオンの役割が研究されてきた。しかし、材料として使用されているトウモロコシの根の重力屈性は光依存であるため、多くの実験は‘光照射下’で‘屈曲を指標’に重力屈性反応が解析されているので、どこが重力刺激で、どこが光刺激による反応なのか区別することが難しい。にもかかわらず、結果を重力刺激による反応として考察している報告が殆どである。このような状況にあるのは、重力屈性反応の解析の指標として屈曲を使用しているからである。トウモロコシの根の実験系で屈曲を指標にした解析は、重力刺激下における光刺激の役割を研究しているに過ぎない。屈曲以外の指標を検索しない限り、重力屈性で一番知りたいところである重力刺激の情報伝達系を明らかにすることはできない。最近我々の研究室では、トウモロコシ(*Zea mays* L., cv. Golden×Bantam 70)の一次根の伸長成長が重力刺激によって抑制されることを見いだした。この重力依存伸長抑制は根冠の細胞外プロトンやカルシウムイオン濃度を変化させることによって制御でき、この伸長抑制には根冠で細胞外遊離カルシウムイオン濃度の高まりが必要であることを明らかにした。さらに、伸長抑制が起こる条件下では遊離カルシウムイオン濃度が高まることを明らかにした。このことは、細胞外遊離カルシウムイオンの動向を調べることによって、重力刺激の情報伝達系を細胞レベルで解析できることを示唆している。現在‘重力依存伸長抑制’と‘遊離カルシウムイオン’を指標に、重力刺激の情報伝達系を解析しているところである。

暗下、約1.5cmに成長したトウモロコシの一次根の根冠を含む先端5mmあるいは10mmを材料とした。根冠に対する種々の阻害剤処理は、寒天片(pH6.0, 10 mM MES-KOH)を用いて行った。切片の長さは読み取り顕微鏡、カルシウムイオンは蛍光検出フローインジェクション分析法で測定した。細胞内Ca<sup>2+</sup>拮抗薬(TMB-8), Ca<sup>2+</sup>チャンネル阻害剤(verapamil), カルモデュリン阻害剤(W-7), プロトンポンプ阻害剤(Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>)を使用して、重力依存伸長抑制におけるカルシウムイオンやプロトンポンプの役割を調べたところ、これらの阻害剤はすべてこの伸長抑制効果を消失させることがわかった。そこで、まず細胞外遊離カルシウムイオンの動向に及ぼすプロトンポンプ阻害剤の影響を調べたところ、この阻害剤は遊離カルシウムイオン量の増加を抑制することがわかった。他の阻害剤、さらにタンパク質のリン酸化反応については現在実験中であるが、重力刺激の情報伝達系は、カルシウム/カルモデュリン系を介したプロトンポンプの活性化につながるカスケード反応により制御されている可能性が高いと思われる。細胞外遊離カルシウムの作用については今後の課題である。



片岡博尚 (東北大・遺生研)

黄緑色藻に属する淡水産の糸状多核細胞であるフシナシミドロの光屈性は光強度が増すに従って、光に向かう正光屈性から、光から逃げる負光屈性に変わる。光強度に応じた屈曲方向の転換は生理的にも生態的にも合理的であり、従って、普遍的な現象に見えるが、高等植物はもちろんのこと、他の藻類細胞でも知られていない。最近の数年間に、この光強度に依存した光屈性の屈曲方向の逆転は、青色光によって、 $\text{Ca}^{2+}$ が生長域である細胞先端に過剰に流入することが原因である証拠を得た。しかし、実験的困難から、その直接的証明はまだなされていない。今回は、これまでの知見を概説し、青色光照射による細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度の変化を捉える方法への展望と、光屈性方向転換の生態的、系統的研究への展開の可能性を検討したい。

この藻細胞の光屈性反応は典型的な青色光反応であり、細胞先端の生長域で光強度と光の入射方向の受容から突出屈曲 (bulging) による屈曲の発現までの全ての反応が完了する。正屈曲から負屈曲へ変わる光強度は、種によって異なるが、 $5 \text{ Wm}^{-2}$ 以下で負屈曲を示すオカフシナシミドロ (*Vaucheria terrestris*) は最も敏感な群に属する。負光屈性を起こすには強い青色光光源と長時間の照射が必要なので、これまで詳しい解析はできなかったが、最近、背景光同時照射法を開発し、数分の照射で10分以内に負屈曲を起こすことに成功した。この方法は刺激光としての $2 \text{ Wm}^{-2}$ 程度の数分間の一方向単色青色光と同時に上から強い青色背景光を照射するものである。負屈曲への転換が外液の $\text{Ca}^{2+}$ 濃度と青色背景光量の積に依存することから、細胞先端で $\text{Ca}^{2+}$ が青色光依存的に流入し、その結果上昇した細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度が負光屈性への転換を起こしていることがわかる。ヴェラパミル、ニフェチピンなどのCaチャンネル阻害剤は屈曲転換を阻害し、逆に、A23187は背景光なしで(一方向照射単独で)負屈曲を起こした。背景光同時照射は正屈曲の感度も約十倍高めるが、これは $\text{Ca}^{2+}$ が、屈曲方向制御以外にもっと初期の光受容過程にも重要な役割を演じていることを示唆する。

アルゴン連続発振レーザー (458nm,  $\sim 6 \text{ kWm}^{-2}$ ) を単独の(背景光なしで)高強度青色光一方向照射の光源に用いることにより、数十秒の照射で $\text{Ca}^{2+}$ 濃度に依存した負光屈性を起こせることを渡辺(基生研)との共同研究で明らかにした。このことは、強烈な青色光一方向照射は細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度を高めるうえで青色背景光と同義であると仮定できる。しかし、この仮定を検証するためには背景光効果の作用スペクトルを求める必要がある。

[参考文献] Kataoka, H.: Plant Cell Physiol. 29:1323-1330 (1988); -: ibid. 31:933-940 (1990); -: 環境応答 pp.64-84, 朝倉書店(1991); -: 細胞 23:252-258 (1991); 片岡博尚、渡辺正勝: 日本植物学会第56回大会、東京 (1991)

粘菌細胞 (*Dictyostelium discoideum* 無菌培養株 Ax-2) の増殖から分化への移行は、細胞周期の G<sub>2</sub> 期内の特異点 (putative shift point; PS 点) において起こることが示されている (Maeda et al., 1989)。すなわち、温度シフト法により同調化した Ax-2 細胞を分化させるために飢餓処理しても、細胞は PS 点まで細胞周期を進行させ、この PS 点において栄養源がない場合に限って、細胞周期から離脱し、分化形質発現の方向に移行する。このことは、PS 点周辺における細胞内での出来事の、栄養源の有無による差異が増殖と分化の切り換えに決定的に重要であることを示している。我々は、この PS 点において特異的に変化するものとして、分子量 101K および 90K の2つのリン酸化タンパク質 (phosphoproteins) を見出し、1) これらのタンパク質は PS 点から分化に移行する際に脱リン酸化されるらしいこと、2) 101K は細胞質に、一方、90K は少なくとも核内に存在すること、また 3) 両タンパク質のリン酸化部位はセリン (serine) であることを明らかにした (第56回日本植物学会大会で発表)。

そこで今回、タンパク質・フォスファターゼ (protein phosphatase; P P 1, P P 2 A) の特異的阻害剤であるオカダ酸 (okadaic acid) およびカリクリン A (calyculin A) を用いて、PS 点におけるタンパク質のリン酸化状態が初期分化形質の発現にいかに関与しているかについて検討した。その結果、増殖中の細胞 (非同調の細胞) を飢餓処理すると同時にこれらの薬剤 (0.5-1.0 μM) で処理すると、細胞の発生・分化は完全に阻害された。しかし、これらの薬剤の効果は可逆的で、薬剤除去により細胞の発生・分化能は再獲得されることが示された。この際、発生・分化の進行はほぼ正確にこれらの薬剤による処理時間だけ遅れることがわかった。このことは、タンパク質のリン酸化状態 (おそらく、101K タンパク質 および/あるいは 90K タンパク質の脱リン酸化) が PS 点から分化への移行に重要であることを示唆している。なお、基本的に同様な結果は同調化された細胞においても得られた。現在、オカダ酸、カリクリン A 等のフォスファターゼ阻害剤が細胞周期のどこをブロックしており、どのようなリン酸化タンパク質の脱リン酸化を抑えているかについて検討している。

雨貝愛子 (東北大・理・生物)

細胞性粘菌の発生・分化系には無性生殖過程の子実体形成と有性生殖過程のマクロシスト形成とが認められ、いずれの発生様式をとるかはエチレンをはじめとする種々の因子によって決定される。すなわち、高等植物において伸長阻害、組織肥大、上偏生長などを誘起するホルモンとして知られているエチレンは、*Dictyostelium mucoroides*-7(Dm7)において細胞融合とそれに引き続く核融合によって形成される接合子形成を誘起し、それによってマクロシスト形成を誘導する(53回植物学会大会発表)。マクロシスト形成はメチオニンの拮抗阻害剤であるエチオニンによって阻害され、その阻害効果はS-アデノシルメチオニン(SAM)、1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸(ACC)、あるいはエチレンの投与によって解除されることから、細胞性粘菌におけるエチレンは、高等植物におけると同様、メチオニンを基質とし、SAM、ACCを経て生合成されることが示唆された(56回植物学会大会発表)。

ところで、マクロシスト形成過程においては、Dm7や*D. discoideum*(Dd)のAC4株で見られるホモタリック(homothallic)な接合と、DdのNC4株とV12M2株の間でのヘテロタリック(heterothallic)な接合が知られている。そこで、本研究ではヘテロタリックな接合子形成やAC4株のマクロシスト形成においてもエチレンが誘導因子として機能しているかどうかについて検討した。ヘテロタリックなマクロシスト形成においては、NC4とV12M2株を別々にバクテリアと一緒に暗黒中で16-17時間、振盪培養すると、細胞融合能が獲得され、その後両者を混合すると30分以内に巨大細胞(接合子)が形成されることが知られている(Saga & Yanagisawa, 1983)。そこで、エチオニン存在下で振盪培養してからエチオニンとバクテリアを除いて両者を混合したところ、巨大細胞は出現せずマクロシスト形成が阻害された。しかし、エチオニンとともにACCを共存させるとエチオニンの効果は打ち消されて巨大細胞が出現し、マクロシストが形成された。次に、巨大細胞形成後にもエチレンが関与しているかどうかを、NC4とV12M2株を混合後にエチオニンを加えることによって調べた。その結果、エチオニンによるマクロシスト形成の阻害は巨大細胞形成後には観察されなかった。また、Ddでホモタリックなマクロシスト形成を行なうAC4株においてもエチレンの関与が認められた。以上の事実は、細胞性粘菌における有性生殖過程(マクロシスト形成)にはホモタリックかヘテロタリックかの差異、あるいは種のちがいをこえて、エチレンによって誘導される共通のメカニズムが存在することを示唆している。

演者らの研究室では、高等植物の細胞周期の制御機構の解明へのアプローチを行うため二度のリン酸飢餓処理によるニチニチソウの同調培養系を用いて解析を行ってきた。演者らはそのアプローチへの一つ的手段として細胞周期の特定の時期に発現する遺伝子を単離する事を考え differential screening を行った。この結果、細胞周期のS期に特異的に発現する遺伝子をいくつか単離したが、その中で特に *cyc07* と名付けた遺伝子に注目して解析を進めてきた。*cyc07* はリン酸飢餓やオーキシン飢餓によるニチニチソウ同調培養系における細胞周期のS期特異的に発現した。また、リン酸飢餓処理による同調培養系において、DNA合成阻害剤であるアフィディコリンを培地中に添加しDNA合成を阻害すると *cyc07* のS期での発現は抑えられた。つまり *cyc07* の発現はDNA複製に共役していた。バッチ培養過程では log phase に発現し、ニチニチソウ幼植物体においては根端に多く発現した。このようにインタクトな植物体においても培養細胞においても増殖の盛んな細胞で強い発現を示した。mRNAのサイズは1.2kbからなり、in vitro translationを行うと分子量34.6kDaのタンパク質が翻訳された。また、cDNAの塩基配列を決定したところ塩基性アミノ酸に富みヒストンと同程度の塩基性を持つタンパク質をコードしている事が分かった。このように *cyc07* は発現パターンやその構造においてヒストンと類似していたが、そのアミノ酸配列には相同性は認められなかった。さらに演者等は *cyc07* のタンパク質の解析を行うために *cyc07* タンパク質を大腸菌内で融合タンパク質として発現させ、これに対する抗体を調製した。この抗体を用いて解析を進めた結果、*cyc07* タンパク質はニチニチソウ同調培養系の細胞周期全体を通じて存在していた。バッチ培養過程においては増殖が盛んな log phase に強く発現し、増殖の停止した stationary phase や lag phase には存在しなかった。また、ニチニチソウ幼植物体においては分裂組織の含まれる芽や根端に多く存在していた。このように *cyc07* タンパク質量は細胞の分裂活性に伴って変動した。ニチニチソウ培養細胞を核、細胞質、膜のフラクションに分け *cyc07* タンパク質の細胞内での局在を調べた結果、このタンパク質は、核タンパク質である事が分かった。この結果は間接蛍光抗体法を用いた細胞染色により裏づけられた。以上の結果から *cyc07* は核に局在する非ヒストンタンパク質をコードし、その機能は細胞増殖に密接に関係している事が示唆される。

私たちはこれまでヒャクニチソウ葉肉細胞から管状要素（道管・仮道管細胞）への単細胞分化系を開発し、これを用いて植物細胞分化の仕組みについて詳細な解析を行ってきた。この実験系は、分裂を経ることなく、高頻度かつ同調的に細胞分化がおき、世界的にみても最も優れた木部細胞分化実験系の一つである。私たちの10年以上に渡る細胞生物学的・生理生化学的研究から、分化の誘導条件、分化の様々なプロセスが明らかになってきた。このうち、リグニン生合成は管状要素分化の最も特徴的な生化学的 event である。私たちは、ヒャクニチソウ管状要素分化のリグニン合成において、phenylalanine ammonia-lyase (PAL)、細胞壁結合 peroxidase が key 酵素となっていることを明らかにした。このうち、PAL活性は分化過程で2つの時期にピークになり、このうち後半のピークがリグニン合成の時期と一致した。このPAL酵素活性の上昇の機構を遺伝子レベルで解析するための第一歩として、今回は、ヒャクニチソウからのPAL遺伝子の単離を試みた。

#### 【材料と方法】

14日間育てたヒャクニチソウ (*Zinnia elegans*, cv Canary bird) の芽生えの第一葉を出発材料として用いた。この葉から機械的に葉肉細胞を単離し、ベンジルアデニン1mg/L、ナフトレン酢酸0.1mg/Lを含む液体培地で培養し、管状要素分化を誘導した。管状要素は60時間目から出現し始め、80時間目には約40%の細胞が分化した。ヒャクニチソウcDNAは48時間分化条件で培養した細胞から単離したmRNAをもとに作製した。

#### 【結果】

これまでに報告されている3種類の植物、インゲンマメ、サツマイモ、イネのPALのアミノ酸配列の共通部分を基に、5' と3' の2つのDNAプライマーを合成した。これを用いて、ヒャクニチソウのゲノムDNAと培養48時間目のcDNAから、PAL-DNAをPCR法により増幅した。cDNAを基にした場合のみ増幅がみられ、増幅したDNA断片は予想される長さ約550bpであった。これをpPCR1000ベクターにクローニングし、そのDNAの一部、454塩基の配列を決定した。また、この塩基配列を基に、アミノ酸配列を予想した。その結果、塩基レベルで、インゲンマメ、サツマイモと約76%、イネと73%のホモロジー、アミノ酸レベルで、インゲンマメ、サツマイモと約90%、イネと82%のホモロジーがあった。これにより、単離したDNAがPAL-DNAであることが明らかになった。現在、これをプローブとして全長のPALcDNAの単離を試みており、同時にこのPAL-DNAの遺伝子導入による分化の攪乱について実験を始めている。

ヒゲカビ (*Phycomyces blakesleeanus*) における形質転換系としては若い胞子発芽体にポリエチレングリコール処理をすることで外来DNAを取り込ませる方法 (PEG法) が知られているが、我々はヒゲカビの胞子形成過程に着目して新しい形質転換系を開発した。

胞子形成直前のステージの胞子の内部には細胞質中に多数の核が浮遊しており、やがて数個の核を取り込むようにして膜が形成され、平均 3.9個の核を含む胞子が約  $10^5$  個形成されることが知られている。そこで胞子形成直前の胞子の内部に外来DNAを顕微注射することによって形質転換された胞子を得ることが可能になると考えた。宿主としてヒゲカビ野生株 NRRL1555 を、そして形質転換用の外来ベクターDNAとしては、トランスポゾン In903 由来のカナマイシン耐性遺伝子 ( $km^r$ )、パン酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) で自律複製可能なヒゲカビ由来のDNAフラグメント (ARSP)、パン酵母での選択マーカー遺伝子 (URA3) 及び pUC19 から構成されるプラスミド、pJL2 を用いた。形質転換体の選抜はカナマイシンのアナログであるジェネテシン (G418) を含む最小培地 (SIV) 上で行った。その結果、G418 耐性を示す形質転換効率は  $882/10^4$  胞子 となり、同じベクターDNAを用いたPEG法に比べて350倍以上の高い効率を示した (1)。

こうして得られたG418耐性の形質転換体についてプラスミドの行動を調べた。始めに形質転換体の全DNAを *Escherichia coli* コンピテントセル (HB101) に対して形質転換を行ったところ、カナマイシン耐性を示すコロニーは回収できなかった。次に EcoRI 処理を行った形質転換体全DNAを  $km^r$  フラグメントをプローブとしてサザンハイブリダイゼーションによる解析を行ったところ、pJL2 を EcoRI 処理したときに検出される1.5kbpのバンドは見られず、6.0kbpのところにバンドが出現した。これらの結果から、導入されたpJL2 はヒゲカビ細胞内では自律複製因子としてARSP配列の存在にもかかわらずプラスミドとして存在するのではなく、染色体DNAにインテグレートした状態で保存されていることを示唆している。このような形質転換の様式は他の糸状菌、*Neurospora crassa* 及び *Aspergillus nidulans* で行われた数多くの形質転換の報告と一致する。

(1) T. Ootaki et al., (1991) Japan. J. Gent., 66: 189-195

ヒゲカビ (*Phycomyces blakesleeanus*) の胞子のう柄内部には透明な結晶体が存在することが知られているが、その機能等に関しては不明な点が多い。これらの点を明らかにするために、結晶体を純粋な形で大量に単離することを試みた。その結果、胞子等の混入が極めて少ない結晶体試料を得ることが可能となり、また、この試料を用いて結晶体に関する幾つかの性質を明らかにしたので報告する。

ヒゲカビ野生株 NRRL1555 を薄明下で培養することにより、胞子のうの形成を比較的抑えた胞子のう柄が得られた。この胞子のう柄を Tris-HCl buffer (0.1M pH7.2) 中で細断、攪拌、濾過して抽出液を得た。この抽出液を 30% (w/w) ショ糖溶液に重層し、4℃で24時間静置すると、胞子等がショ糖溶液内部にバンドを形成するのに対し、結晶体は抽出液とショ糖溶液の界面上部に存在することがわかった。したがって、この部分を回収、精製することによって、大量の結晶体を得ることが可能となった。

以上のようにして得られた結晶体の生化学的特性について分析を行った。はじめに、微小電気泳動法により、結晶体の表面荷電特性は pH3~4 では正、pH 5 以上では負にチャージしていることがわかった。次にこの結晶体を構成する蛋白質を SDS-PAGE で調べた結果、2つのメインバンドが認められ、分子量は各々 16,000 及び 48,000 ダルトンであった。また、結晶体を種々の色素を用いて直接染色したところ、この結晶体は蛋白質及び核酸を検出する色素によって染色されたが、糖質及び脂質を検出する色素に対しては反応が見られなかった。加えて、結晶体を SDS-PAGE 後、PAS 染色を行った結果特定のバンドが検出されなかったことから、糖成分を含んでいないことが示唆された。

ここで、結晶体が核酸と特異的に結合する染色物質 DAPI によって染色される点に着目した。一般に昆虫に感染する細胞質多角体病ウイルスが細胞質中に封入体の結晶(多角体)を形成することが知られていることから、ヒゲカビの結晶体も内在するウイルスの封入体である可能性が考えられる。そこで、この点を明らかにするために、フェノール/クロロホルム法及び CTAB 法を用いて、結晶体及び菌糸からの核酸の抽出を行った。菌糸から回収した全核酸をアガロースゲル電気泳動を行い、エチジウムブロマイド染色した結果、dsRNA の存在を示すバンドが検出された。

ヒゲカビには結晶体の検出されない変異株の存在が確認されているので、現在種々の変異株を用いて dsRNA バンドと結晶体の存在との関連性について研究を進めている。

石本佳代・高橋永治 (山形大・理・生物)

バロー地区はアラスカ州を東西に走るブルックス山脈北側に広がるツンドラ地帯にあり、北極海に面する最北端の土地である。地表の40%以上を多数の湖沼が占め、9月下旬から翌年の6月中旬まで氷雪に覆われる。このようなアラスカの北極圏湖沼の藻類相について、PRESCOTT (1953, 1963, 1963a, 1965) は Imikpuk 湖など6湖沼について調査を行い、6月下旬から7月中旬にかけて生物量が最大になること、Imikpuk 湖では黄金藻の *Dinobryon* spp. と *Uroglena americana* と緑藻の *Cosmarium botrytis* が、Skimo 湖と Malikipuk 湖では緑藻の *Pediastrum* spp. が、Radio 湖では同じく緑藻の *Ankistrodesmus convolutus* がそれぞれ優占し、近接した池でも藻類相が異なること、*Pediastrum* spp. の細胞の形態とコロニーの大きさに大きな変異が見られたことを報告した。アメリカ-IBP極地湖沼研究班 (1980) は、バローから東へ2 km程内陸にある、スゲ等の水草が水面の約30%を覆う湖沼群 (IBP Ponds group) について研究を行い、この湖沼群では黄金藻とクリプト藻が優占すること、出現した植物プランクトンは105種、黄金藻は14属24種であることを報告した。高橋 (1990) は1988年6・7月のバロー湖沼群からの採集品を用いて、黄金藻10属22種類を再見した。

今回、バロー地区湖沼の黄金藻類相をより明確にするために、1988年6・7月、1989年8・9月と1990年8月の5回、15湖沼から採集された試料を光学顕微鏡と電子顕微鏡を用いて観察した。その結果、シヌラ綱の *Mallomonas* 属21種、*Synura* 属6種、黄金藻綱の *Paraphysomonas* 属5種、*Spiniferomonas* 属4種、*Chryso-sphaerella* 属2種、*Chrysococcus* 属4種、*Kephyrion* 属4種、*Bicosoeca* 属2種、*Dinobryon* 属3種、*Epipyxis* 属3種、*Pseudokephyrion* 属4種の合計11属58種と未同定種9を再見した。高橋 (1990) の結果を加え、バロー湖沼群に分布する種類数は12属61種と未同定種15となった。それらのうち、鱗片を持つ *Mallomonas* 属8種、*Paraphysomonas* 属2種、*Chryso-sphaerella* 属1種の合計11種がアラスカ新産種であった。各湖沼における出現種数は、IBP池が42種、7.3 Miles池が26種、IMIKPUK 湖が20種、その他の湖沼は0~15種であった。そして鱗片や剛刺にみられる種的特徴には変異は認められず、種の形質は極地の厳しい環境下においても安定している事を示した。バロー地域に出現した種は、日本の温帯湖沼から記録された93種よりも少ないが、38種 (61%) は共通する。さらに熱帯湖沼 (バングラデシュ) にも共通種が分布しており (高橋・早川, 1979)、黄金藻が世界的分布を示すことを明らかにした。



°鈴木成夫・丹野憲昭・安部 守・<sup>1</sup>横田孝雄・<sup>2</sup>岡上伸雄  
 (山形大・理・生物、<sup>1</sup>帝京大・理工、<sup>2</sup>東北大・理)

ジベレリン (GA) は植物の伸長生長や発芽を促進するホルモンとしてよく知られているが、ナガイモのムカゴではGAによって休眠が誘導される。しかし、ナガイモの内生GAについてはほとんど知られていない。そこで、ムカゴの休眠と内生GAの関係をj知るために、GAの生合成阻害剤であるユニコナゾールの効果を調べた。その結果、ある程度休眠の覚めたムカゴではユニコナゾールによってその発芽が促進され、逆に、完全に休眠が覚めたムカゴではその発芽が阻害された。このことから、GAはナガイモの休眠と発芽の両方に関与している可能性が推定された。

ところで、最近ナガイモのムカゴの内生GAとして、GA<sub>53、19、20、24、36、9、4</sub>がGC/MSによって同定され、13-OHと13-Hの二つのGA合成経路が機能していることが示唆された。13-OH GA合成経路は、トウモロコシ、イネ、エンドウなどの伸長生長において重要な役割を果していると考えられている。

そこで、ナガイモの生長と休眠に、これらの二つのGA合成経路がそれぞれどのような役割を果しているか知るために、ナガイモの生活環を追って、いろいろな成長段階にある各器官の内生GAの変動を生物活性によって調べた。その結果、7月上旬に採集したムカゴが形成される前の成長が盛んな茎・葉では、GA<sub>1</sub>様物質が最も多く見られ、ムカゴが成熟する10月中旬に採集したものでは、その量は減少する傾向が見られた。また、7月上旬に採集した未熟なムカゴや担根体では、GA<sub>1</sub>様物質が多く、GA<sub>4</sub>様物質は少なかったが、10月中旬に採集した成熟して完全な休眠状態にあるムカゴや担根体では、GA<sub>1</sub>様物質は減少し、GA<sub>4</sub>様物質が増加する傾向が見られた。

さらに、ムカゴの休眠と発芽に二つのGA合成経路がどのように関係しているか知るために、採集直後のムカゴ、低温処理したムカゴ、常温で保存したムカゴについて内生GAを比較した。その結果、最も休眠状態が深いと考えられる採集直後のムカゴでは、GA<sub>1</sub>様物質、GA<sub>4</sub>様物質ともに多く見られた。低温処理によって完全に休眠が覚めたムカゴでは、GA<sub>1</sub>様物質が多かったが、GA<sub>4</sub>様物質は少なかった。常温保存によって幾分休眠が覚めかかったムカゴでは、GA<sub>1</sub>様物質、GA<sub>4</sub>様物質ともに少なく、それぞれの前駆体である、GA<sub>53、19</sub>様物質、GA<sub>24</sub>様物質が顕著に見られた。

以上のことから、ナガイモの茎・葉の成長およびムカゴの発芽には、GA<sub>1</sub>あるいは13-OH GA合成経路が関与していると推定される。一方、ナガイモのムカゴや担根体の休眠誘導・維持には、GA<sub>4</sub>あるいは13-H GA合成経路が関与している可能性が考えられる。