

日本植物学会東北支部第7回（秋田）大会
シンポジウムと一般講演

講演要旨集

公開シンポジウム
—種の進化—

開催日：1993年12月18日（土）・19日（日）
会場：秋田大学一般教育棟1号館

日本植物学会東北支部

1993年 秋田

日本植物学会東北支部第7回（秋田）大会 シンポジウムおよび一般講演プログラム

日時：1993年12月18日（土）、19日（日）於：秋田大学一般教育棟1号館

12月18日（土）

（°印：演者）

- 13:00 開会の挨拶
- ① 13:05 韓国産ヤナギ属の Section *Daphnoideae* の分類学的研究
°朴 完根・大橋 広好（東北大・理・生物）
- ② 13:20 マメ科植物における果実の裂開性と果皮の構造
°大宮 徹・大橋 広好（東北大・理・生物）
- ③ 13:35 カヤの実の構造について
°遠田 宏（東北大・植物園）
- ④ 13:50 カタクリの胚の形成過程における反足細胞核のDNA量について
°佐藤 進一（弘前大・理・生物）
- 14:05 休 憩
- ⑤ 14:10 ナズナの開花期について
°内藤 俊彦（東北大・植物園）
- ⑥ 14:25 邦産フクジュソウ属植物 (*Adonis* Linn.) の分化 IV. 花の形質
°須田 裕（岩手大・教育・生物）
- ⑦ 14:40 脂肪種子を含むトリアシルグリセロール分子種の植物種間での比較
— ヤマノイモ属 *Stenophora* 節の場合 —
°岡上 伸雄・照井 啓介*（東北大・理・生物、*岩手大・教育・生物）
- ⑧ 14:55 フシナシドロで同時にみられる正負（？）二方向の偏光屈性
°片岡 博尚（東北大・遺生研）
- ⑨ 15:10 糸状酵母の光屈性
°大瀧 保・片岡 博尚・Galina Lazárova*・磯野 邦夫**
（東北大・遺生研、*ブルガリア科学アカデミー、**東北大・情報科）
- 15:25 休 憩
-
- 15:30 公開シンポジウム — 種の進化 —
- はじめに 「種の進化」研究の進展
大橋 広好（東北大・理・生物）
- S 1 15:40 葉緑体DNAによるマメ科ヌスビトハギ属の系統解析
梶田 忠（東北大・理・生物）

- S 2 16:10 マメ科ハギ属とその近縁属の系統と進化
 根本智行 (東北大・理・生物)
- S 3 16:40 邦産フクジュソウ属植物 (キンボウゲ科) の分化
 須田 裕 (岩手大・教育・生物)
- 17:10 総合討論

17:30 東北支部総会
 18:00 懇親会

1 2 月 1 9 日 (日)

- ⑩ 9:00 接合菌類ヒゲカビ (Phycomyces blakesleeanus) 前配偶子嚢間に観察される細胞外繊維と細胞接着
 °山崎 裕・宮崎 厚・大瀧 保 (東北大・遺生研)
- ⑪ 9:15 ヒゲカビにおける胞子のう柄欠損変異株の特性
 °大場 健一・宮崎 厚・大瀧 保 (東北大・遺生研)
- ⑫ 9:30 ヒゲカビ胞子のう柄の細胞骨格
 °井田 譲・大瀧 保*・菱沼 佑 (山形大・理・生物、*東北大・遺生研)
- ⑬ 9:45 細胞性粘菌 (Dictyostelium discoideum) における増殖/分化の切り換えに
 関与する遺伝子発現の解析
 阿部 文快・°前田 靖男 (東北大・理・生物)
- ⑭ 10:00 タンパク質キナーゼ阻害剤、K 252aは粘菌の接合子形成を誘導する
 河合 忍・前田 靖男・°雨貝 愛子 (東北大・理・生物)
- 10:15 休 憩
- ⑮ 10:20 「仙台シロイヌナズナ種子センター」について
 °後藤 伸治 (宮城教育大・生物)
- ⑯ 10:35 温度感受性突然変異体の利用によるシロイヌナズナの器官再分化過程の遺
 伝学的解剖
 小澤 正一・°杉山 宗隆・駒嶺 穆* (東北大・理・生物、*日本女子大・
 理・物質生物)
- ⑰ 10:50 ヒヤクニチソウ単離葉肉細胞の管状要素分化過程におけるプロテアーゼの
 発現
 °南 淳・福田 裕穂 (東北大・理・生物)
- ⑱ 11:05 ダイコン根のペルオキシダーゼ
 °大屋 俊英・森村洋子*・猪川倫好** (秋田県生物資源センター、*恵泉短
 大、**筑波大・生物)
- 11:20 休 憩

- ⑩ 11:25 ペプチド鎖伸長因子EF-1 β および β' サブユニットの構造と種特異性
°照井 儀明・松本 省吾・席 時熊・江尻 慎一郎(岩手大・農・細胞育種)
- ⑪ 11:40 イムノアッセイによるシュウカイドウの内生ジベレリン(GA)の検索
°無量林 英行・須長 恭之・丹野 憲昭・安部 守(山形大・理・生物)
- ⑫ 11:55 小麦のシステイン合成酵素遺伝子を導入したタバコの硫化水素への抵抗性
°中村 道美・Shohab Youssefian・佐野 浩(秋田農業短大・生物工学)
- ⑬ 12:10 海産種子植物アマモ葉組織の耐塩性について
°新井 正善(秋田県生物資源センター)
- ⑭ 12:25 仙台市綱木山のモミ・イヌブナ優占林分 1. 種組成と主要木本種の更新特性
°平吹 善彦・*阿部 功之(宮城教育大・生物、*(株)東北緑化環境保全)
- ⑮ 12:40 ダム湖湖岸に発達する植物群落
°竹原 明秀・菅原 亀悦(岩手大・人文・生物)
- 13:55 閉会の挨拶

2
13:20. 終 }

大会参加の方へ

- 1) 参加者は、会場入口の参加受付で手続きを済ませてください。
受け付けは、18日(土)は12時から、19日(日)は8時30分から開始します。なお会場内では、受け付けのさいお渡しする名札を着用してください。
- 2) 大会係員は黄色いリボンをつけています。ご不明の点は係員にお尋ねください。
- 3) 講演会場内では禁煙をお願いします。喫煙は休憩室、ロビーをお願いします。
- 4) 講演中の呼び出しはご遠慮ください。
- 5) 自家用車の方は正門から入り、別紙の図に示す駐車場を利用してください。

座長一覽

12月18日(土)

一般講演

- | | | |
|-----|-------------|-------------------|
| ①~③ | 13:05~13:50 | 阿部 守 (山形大・理・生物) |
| ④~⑥ | 13:50~14:40 | 櫻村 利道 (福島大・教育・生物) |
| ⑦~⑨ | 14:40~15:25 | 前田 靖男 (東北大・理・生物) |

シンポジウム

開会、S I、S II

15:30~16:40 後藤 伸治 (宮城教育大・生物)

S III、総合討論

16:40~17:30 大瀧 保 (東北大・遺生研)

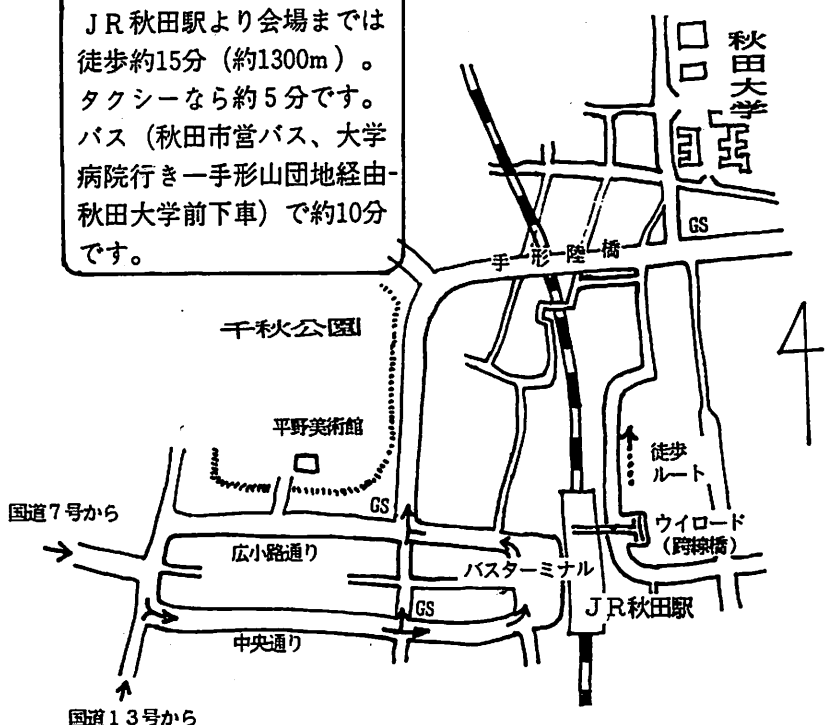
12月19日(日)

一般講演

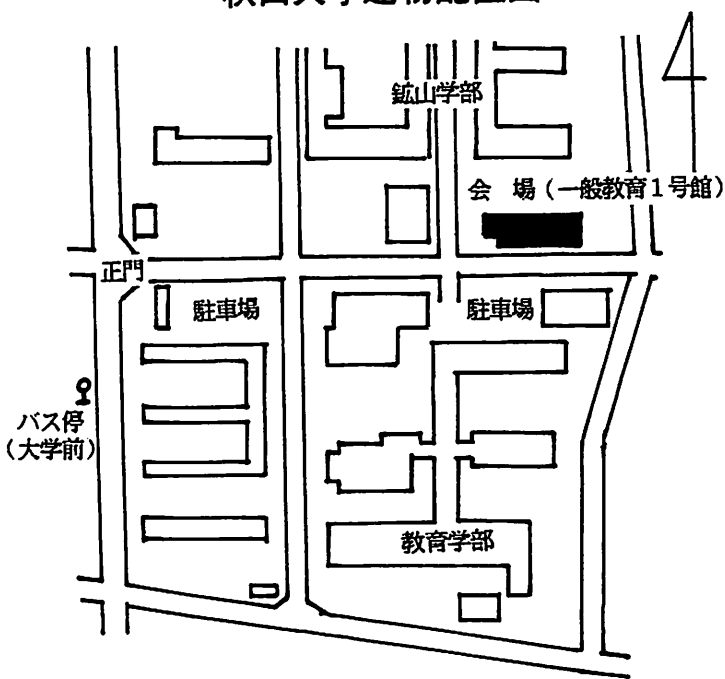
- | | | |
|-----|-------------|-------------------|
| ⑩~⑫ | 9:00~ 9:45 | 杉山 宗隆 (東北大・理・生物) |
| ⑬、⑭ | 9:45~10:15 | 加藤 良一 (山形大・教育・生物) |
| ⑮~⑰ | 10:20~11:20 | 佐藤 進一 (弘前大・理・生物) |
| ⑱~㉑ | 11:25~12:10 | 須田 裕 (岩手大・教育・生物) |
| ㉒~㉔ | 12:10~12:55 | 遠田 宏 (東北大・植物園) |

会場案内

交通
 JR 秋田駅より会場までは
 徒歩約15分(約1300m)。
 タクシーなら約5分です。
 バス(秋田市営バス、大学
 病院行き一手形山団地経由-
 秋田大学前下車)で約10分
 です。



秋田大学建物配置図



1 韓国産ヤナギ属のSection Daphnoideaeの分類学的研究

朴完根・大橋広好 (東北大・理・生物)

ヤナギ科ヤナギ属のエゾヤナギ節(Sect. Daphnoideae)はヨーロッパからアジアにかけて広く分布する。この節は花の向軸側に1個の蜜腺を持ち、小枝および葉の裏面に白蠟を被ることと花柱が長いことによって他の節と区別されてきた。韓国には*S. rorida* Lack.と*S. roridaeformis* Nakaiの2種が知られている。しかし、1. *S. rorida* Lack.、*S. roridaeformis* Nakai、*S. kangensis* Nakaiは互いに混同されている。2. *S. roridaeformis* の雄はまだ報告されてない。3. 今までの報告されていない種類がある。4. *S. kangensis* Nakaiは研究者によってGracilistylae節あるいはDaphnoideae節に入れて扱われている。5. *S. kangensis* Nakaiの雌花の標本には子房全体に毛があるものと子房柄だけに毛があるものの2つのtypeがある。6. *S. kangensis* Nakaiの雄花は1つの花序において花糸が離生するものと半分程度合生するものがある。

以上のことから、この節の種類は見直す必要があると思うので、この節内の植物の形態を再検討することとした。そのため今までの研究に引用されてきた標本と新たに同じ株から別の時期に採集した花部器官と栄養器官を調べた。

その結果、1. *S. kangensis* Nakai、*S. rorida* Lack.、*S. roridaeformis* Nakaiの区別は小枝の毛の状態、小枝と葉の裏面に白粉の有無、托葉の形、子房の毛の有無、苞の腺点の有無によって区別できる。2. *S. rorida* Lack.の雄の引用標本は1つの標本を除いて*S. roridaeformis* Nakaiの雄であること、*S. roridaeformis* Nakaiの雌の引用標本は1つの標本を除いて*S. rorida* Lack.であることが分かった。従って、韓国では*S. rorida* Lack.の雌、*S. roridaeformis* Nakaiの雄が優占して分布することが分かった。3. 未知の種はこれまでヨーロッパに知られていた*S. daphnoides* Vill.であり、韓国に分布することが分かった。4. NakaiによってGracilistylae節の種類とされた*S. kangensis* NakaiはDaphnoideae節の種として扱うことが正しいと思う。5. 子房全体に毛があるものは*S. kangensis* Nakai、子房柄だけに毛があるものは*S. kangensis* var. *leiocarpa* Kitagawaであることが分かった。6. *S. kangensis* Nakaiの雄は、花粉の形質から、Daphnoideae節の種に似ている。そして花糸が1本に合生する特徴はGracilistylae節の種に似ている。この形質から*S. kangensis* Nakai雄の植物は2つの節内の雑種だと思う。

以上のことから韓国には次の4種2変種が分布していることが分かった。

Section	<i>Salix kangensis</i> Nakai var. <i>kangensis</i>	(♀)
Daphnoideae	var. <i>leiocarpa</i> Kitagawa	(♀)
	<i>Salix rorida</i> Lackschewitz	(♀、♂)
	<i>Salix roridaeformis</i> Nakai	(♀、♂)
	<i>Salix daphnoides</i> Villars var. <i>daphnoides</i>	(♀)
	var. <i>pomeranica</i> (Willd.) Koch	(♀)
Sect. Daphnoideae × Sect. Gracilistylae		
	<i>Salix kangensis</i> Nakai	(♂)

2

マメ科植物における果実の裂開性と果皮の構造

○大宮徹・大橋広好（東北大・理・生物）

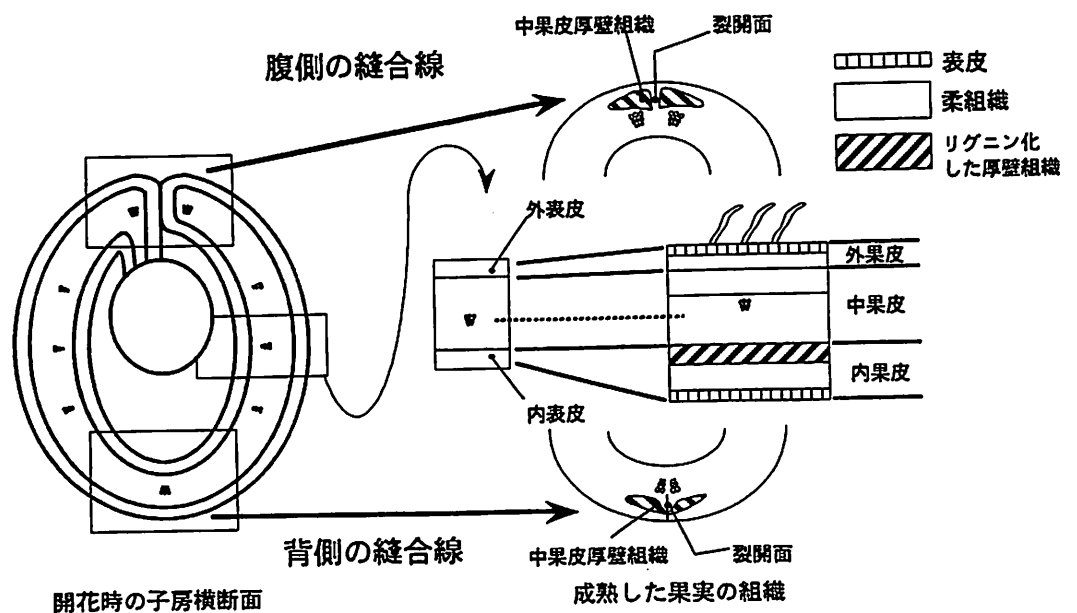
マメ科植物は1心皮よりなる果実をつけ、そのさまざまな外形、表面の質感、裂開性は重要な分類形質と考えられている。これらの果実はその裂開性に注目してまず「裂開果」と「不裂開果」、さらにこの「裂開果」は腹側の縫線に沿ってのみ開く「袋果」と背腹両側で裂開する「豆果」というように類別されている。しかし、分類群によってはこの類別がうまくあてはまらず区別の難しいことがある。このような形質をどう比較し評価するかにあたってはその解剖学的側面を明らかにすることが必要と考えられる。

本研究は特に果実の裂開性に注目し、果皮の構造との関連を調べ、マメ科植物の果実をより明確に比較するための解剖学的形質を得ることを目的とした。

その結果、これらの果実のうちまず2片に裂開する「豆果」の縫合線上の内部構造には次のようなタイプのあることが分かった。

- I. 背腹両側の中果皮厚壁組織はほぼ直線的な横断面をもち、裂開面はリグニン化した細胞が架橋している。
- II. 腹側の中果皮厚壁組織はL字型の断面をもち、背腹両側の裂開面はリグニン化した細胞が架橋している。
- III. 背腹両側の裂開面は柔細胞で構成され、縫合線上の外果皮の細胞がリグニン化して厚壁組織を架橋する。
- IV. 腹側の中果皮厚壁組織は向軸側に長く伸び、柔細胞により構成される裂開面で互いに広く接する。

また、裂開性の異なる「袋果」と「不裂開果」の中には縫合線上の中果皮厚壁組織の形状が「豆果」のどれかのタイプに類似しているものがしばしば見られ、裂開面の有無とは別に縫合線上の中果皮厚壁組織の形状が重要な形質であることが分かった。



3

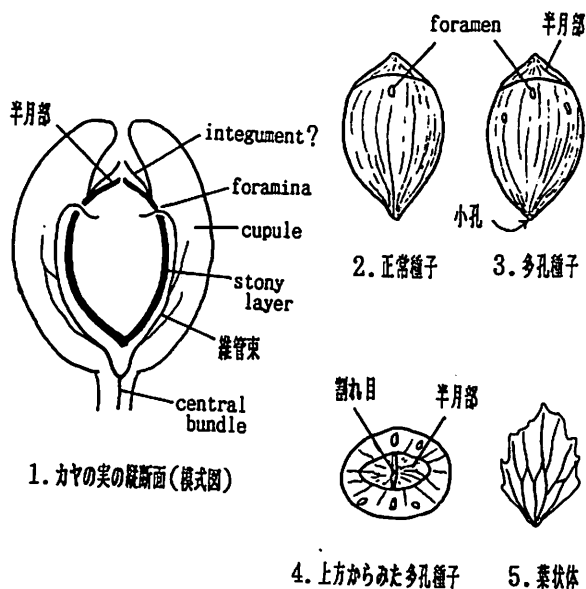
カヤの実の構造について

遠田 宏 (東北大・理・植物園)

カヤの実の構造は古くから論議されてきたが、未だに確立した説明はない。最も不可解なのは、仮種皮(cupule)の中を上方に走る一对の維管束が種子先端近くで突如内側に曲がり、cupuleを離れ種子殻(stony layer)を貫通して種子内部に入る現象である(下図1)。この貫通部は種子上部に一对の穿孔(foramen)となって残りカヤ種子の特徴となっている(図2)。Foramenは稀に3個となることは知られているが、演者は3~6個のforamenをもつ“多孔種子”(図3)を恒常的に産する2個体を見出した。この多孔種子の30~40%には種子下部先端に正常種子では見られない小孔がある(図3)。正常種子でも多孔種子でもforamenに入る維管束は、種子基部において1本のcentral bundleが2裂し左右に別れたものである(図1)。その各々は分岐・再結合をしながらcupuleの内部表皮下を上方に広がり、落果時にはこの維管束群は長さ1~3.5cmの葉状体(図5)となってcupuleから剥離する。この葉状体は種子殻を両側から包んでいて、その主脈にあたる中央の維管束の先端がforaminaに入り、多孔種子では更に側脈にあたる維管束の先端もextra foramenに入っている。この葉状体は若い種子ではcupuleに含まれ、かつ種子殻からは離れないため独立して見ることはできず、また落果後は早急に黒変してcupuleと共に崩壊するため観察できる期間は短い。

種子上部には二個のforamenとは交互の位置に伸びる半月形の部分があるが、多孔種子では乾燥させると、珠孔を通る二つのforamenを結ぶ線に割れ目が入ることが見られた(図4)。この割れ目は正常種子では見られないが、人工的に割ると半月部は例外なくこの線で割れることが確認された。半月部はintegumentからつくられるとされているが、落果直後にはカップ状の帽子?が半月部に乗っていて残存したintegumentの印象を与えるが、これを観察できる期間も短い。また半月部の殻の内壁には他の部分とは異なり少なくとも2層の薄膜が認められ内部からも区別できる。

以上の観察はカヤ種子の構造を考える上でいろいろなヒントを与えてくれるが、あくまでも成熟種子での観察である。発生段階を追っての精密な観察を行っていない現段階で構造の論議は早急にすぎるが、カヤの種子の構造は化石植物や、Taxus, Cycasなどの種子の構造の中にも共通の基盤が含まれているはずであり、それとの若干の比較を試みたい。



4

カタクリの胚のう形成過程における反足細胞 のDNA量について

佐藤進一 (弘前大・理・生物)

カタクリ (*Eritronium japonicum*) の胚嚢形成様式は、及川 (1940) によって *Fritillaria* 型と報告されているが、典型的 *Fritillaria* 型からの変異が観察された。今回の報告は、これらの変異の現象を核DNA量の面から考察することとした。

典型的 *Fritillaria* 型の胚嚢形成過程では、胚嚢母細胞の減数分裂で生じた4個の n 核のうち、1個は珠孔部位に、他の3個の n 核は合点部位に集まり、細胞中央部に大きな液胞で細胞質は両部位に仕切られるようになる。減数分裂後の第1回目の有糸分裂は、4個の n 核で同調的に起こり、合点部位にある3核は、中期において紡錘体の融合により、 $3n$ の核板を形成し、各染色分体は極分離し、 $3n$ の2核を合点部位に形成する (2nd 4-nucleate stage)。次いで第2回目の有糸分裂に入り、珠孔部位と合点部位に夫々4個の核が生じ (8-nucleate stage)、成熟すれば珠孔部位に卵装置、合点部位には3個の反足細胞、中央細胞は2つの極核を含み、7細胞となる。

変異型の胚嚢は先ず2nd 4-nucleate stage に現われ、合点部位に3核、4核、及び6核を含む胚嚢を観察した。それらの出現頻度は、合計で約6.7%程度であり、DNA量の測定から核融合の異常によるものと推定された。

正常に第1回目の有糸分裂を終えた2nd 4-nucleate stage 胚嚢が生長するにつれて、合点部位に存在する2個の $3n$ 核に形態的に明瞭な相違が生じ、珠孔側に存在する chalazal nucleus は棒状あるいは楕円体になるが、合点側に存在する distal chalazal nucleus は、すり鉢状の構造をとるようになる。この2個の核DNA量は有糸分裂後形成されたときには、ほぼ同量の3C値をとるが、第2回目の有糸分裂のためのDNAの複製が完了する時期では、chalazal nucleus は6C値に達するが、distal chalazal nucleus は6C値に達することはできず約4.5C値に止っている。減数分裂後の第2回目の有糸分裂前期のDNA量を比較してみても、distal chalazal nucleus のDNA量は、多少増加の傾向は認められるが、6C値には達することはない。

第2回目の有糸分裂で、chalazal nucleus は極核と1個の反足細胞核を生ずるが、各々のDNA量は等しく配分され、3C値を示す。しかし、distal chalazal nucleus は形態的に多様な変異を生じている。無糸分裂的な像、またそれに加えて多数のクロマチンの断片を伴う像などが出現し、DNA量の測定は非常に困難であった。クロマチン断片などを伴わない無糸分裂的核を選択してDNA量を測定してみると約4C値を示していた。

今回得られた結果から、2nd 4-nucleate stage の合点部位に生じた核数の変異は、何らかの原因による3核の融合の不完全さに起因すると思われる。これらの変異型がその後どのように変化するかについては、今のところ未知である。また典型的 *Fritillaria* 型と大きな相違点は、2nd 4-nucleate stage における2個の chalazal nucleus の形態的分化とそのDNA合成能に大きな違いがあることである。DNA量の相違だけから変異型の出現をすべて説明されるわけではないが、変異型の出現の大きな原因になっていることを暗示する結果を得た。

5

ナズナの開花期について

内藤 俊彦 (東北大・理・植物園)

ナズナは北半球に広く分布し、わが国でも全国に分布しているアブラナ科の2年草あるいは1年草といわれている。前川(1943)は畑作農耕に伴って渡来した旧帰化植物としており、笠原(1969)は水田裏作、畑地冬作、樹園地および芝生地雑草で、耕作地における全国的な強害草としている。一方、わが国古来の風習である七草粥の材料として珍重され、春の七草として現在も食用に利用されている。

宮城県内において、1991年から1992年の2年間、ナズナの開花期の調査を行った。ナズナの開花量については調査地に生育するナズナの個体数に対する開花個体の割合を多い、普通、少ない、稀の4段階に評価した。

野外調査の結果、ナズナは根雪の無い地帯では、一年を通して開花していることが判明した。根雪のある地帯では、晩秋の降雪が根雪となると開花個体は見られなくなり、翌春に根雪が溶けてから1週間ほどで開花が始まるようである。

ナズナの開花は1月から2月中旬までは少量の開花個体しか見られないが、2月中旬を過ぎると開花個体数は増加し始め、3月に入ると急激に開花個体の数が増加し、3月中旬から5月中旬までは多くの個体が開花するようになる。そして、5月下旬を過ぎると開花個体は急激に減少し、6月中旬から8月下旬頃までは開花する個体は稀である。そして、8月下旬からはやや開花個体数は増加し、9月から10月にかけて開花個体はさらに増加するが、3月中旬から5月中旬のように増加しない。11-12月には開花個体は1-2月と同様の頻度であった。このことからナズナの開花は2山型で、3-5月に最大の山があり、この時期がナズナの開花最盛期である。また、9-10月に小さな山が出現する。

文献に報告されたナズナの開花期は大部分は2-6月としている。1697年(元禄10)刊行の野 大必著「本朝食鑑」、宮崎安貞著「農業全書」では2-3月としているが、旧暦であるから現在の3-4月に当たる。以後刊行された図鑑類では、ナズナの開花期は春としている。そして、春から真夏まで開花するとしているのは「那須の植物」。また、「東北道の植物」では5月から秋としている。「種の分化と適応」では前年の11月から開花し、5月まで開花するとしている。

東京天文台編(1988)の「理科年表」によると、東北道の平均初雪が10月下旬にあり、平均終雪が4月下旬である。従って、この地方の根雪はこの期間より遅く始まり、早く消えるであろうから、「東北道の植物」の記載はほぼ妥当な開花期を示しているものと考えられる。

このように文献による開花期は圧倒的に春が多くなっているが、これは本草学時代の記録を意識していたためであろう。

宮城県内のナズナの開花期と文献に報告されたナズナの開花期から、ナズナは積雪の無い地域では、1年を通して開花し、開花の最盛期は3-5月であると結論した。

須田 裕 (岩手大・教育・生物)

鑑賞用植物としての福寿草栽培の歴史は、文献によれば17世紀に遡る。最も育種が盛んだった江戸末期の文久年間には、120種類もの栽培品種が記録されており(本草要正 1862)、それらはそのまま明治時代に受け継がれた。しかし、大正年代以後には失われたものが多く、特に第二次世界大戦後の混乱で多くは散逸した。今日では、50余の栽培品種が埼玉県大里郡岡部町の篤農家達(中村文治郎、隆之等)によって保存、栽培されているに過ぎない。

一方、野生のフクジュソウの花の形質に関する研究はまだ数少ない。この20年間に二、三の研究者が(Gorovoy & Gurzenkov 69, 西川・伊藤 78, 79, 85, 西川 89)、①倍数体間での花弁・萼片比の相違、②倍数体間での一茎あたりの着花数の変化について報告しているが、花の各形質についての詳しい分析はなされていない。

演者等は、岩手県に産する野生のフクジュソウを材料にして、染色体数の変化、核型分析、倍数体の地理的分布、自然三倍体、開花期間の差異及び花粉の稔性と形態変異等について報告して来た(須田・戸来 91, 須田・安達 91, 相馬・須田 92)。現在も引き続き「植物体各部の形質は、倍数体の間ではどのように異なっているのか?」を主要課題として分析を進めているところである。

今回は、①花の形質は二、三及び四倍体間でどのように異なるか、②花茎あたりの花の数は倍数体間でどのように変化するか、の2つの問題について検討し、以下のような結果を得たので報告する。

① 倍数性の変化と最も高い相関を示すのは萼片の長さとその数で、次は花糸の長さである。従って、花弁・萼片の長さの比、萼片の数、花糸の長さを夫々軸にして三次元グラフにまとめると、二、四倍体は明確に異なる分布となる。三倍体は両者の中間で、やや四倍体寄りに分布する。数量化の難しい特徴のうち、萼片・花弁の背軸面の色と先端部分の切り込みの有無、花弁・萼片の形態等も倍数体間で違っている。

② 野外に自生する5317個体について調べたところ、一茎あたりの花の数は二倍体では3~4個、四倍体では1~2個である場合が最も多い。しかし、先行研究にあるように、二倍体は一茎多花、四倍体は一茎一花から一茎多花と言い切るのはやや早計であろう。三倍体は二倍体と似た傾向を示している。

脂肪種子を含むトリアシルグリセロール分子種の植物
種間での比較---ヤマノイモ属 *Stenophora* 節の場合

°岡上 伸雄・照井 啓介* (東北大・理・生、

*岩手大・教育・生物)

発芽の際の energy source として脂肪を貯めているいわゆる脂肪種子は、一般に、spherosome 中に、植物種によりほぼ決まっている数種類から数十種類の triacylglycerol (以下 TAG と略記) 分子種を、さまざまな混合比で、貯蔵脂肪として貯めていることが知られている。しかしこのような貯蔵脂肪の分子種組成に多様性があることの意味は知られていない。かねてより休眠の機構を知るために比較生理学的なやり方での研究対象として用いてきたヤマノイモ属 (*Dioscorea*) の種子も、脂肪種子である。今回の研究では、この属の一つの節に所属する東アジアの6種と北米・コーカサス・バルカンなどに隔離分布する第三紀遺存種 4 種 + 1 form とについて種子の TAG の分子種組成を調べ、分布域に応じた休眠性の異なりや隔離後の歴史と関連づけて比較することにより、TAG 分子種組成の多様性の意味の一端を知ることが試みた。

用いた植物種は、日本を含む東アジアに分布するウチワドコロ・オニドコロ・ヒメドコロ・キクバドコロ・カエデコロ・イズドコロ (おおよそこの順序で北から南へ分布) と、第三紀遺存種の *D. villosa* (アパラチア北部に分布)・*D. quaternata* (アパラチア南部)・*D. caucasica* (黒海沿岸アバシアのコルヒダ地域)・*D. balcanica* Serbian form (セルビアとアルバニアとの国境)・*D. balcanica* Montenegrin form (モンテネグロの内陸) である。これらはいずれも *Dioscorea* の *Stenophora* 節の種であり、これらの種の形態や成長の仕方についての多くの類似点は昨年の本支部会で発表した。

これらの種の種子から、熱 *iso*-propanol で脂質を抽出し、精製し、逆相 HPLC により分子種にまで分け、標準試料との対照および Aitzetmüller & Grönheim の index (J. High Resol. Chromatogr., 15, '92) により、また、加水分解物のメチル化物のガスクロマトグラフィ、intact 種子の Magic Angle Sample Spin ¹³C-NMR などの測定結果にも基づき、分子種の構造を推定し、それぞれの分子種を定量し、植物種ごとの分子種組成を求めた。

その結果、いずれの種も同じ4種類の分子種をおもな分子種として含み、それらの含量比は植物種ごとに少しずつ異なることが分かった。その異なりの傾向は、①第三紀遺存種には、長鎖で且つ二重結合数が多い脂肪酸からなる TAG (例えば LLL) が多く、短鎖で且つ二重結合数が少ない脂肪酸からなる TAG (例えば POO, OOO) が少ない; ②東アジア種には、種ごとにやや異なるものの一般的には遺存種とは反対に、LLL が少なく OOO が多い。東アジア種の中でもっとも広い分布域をもち旺盛に繁茂しているオニドコロは、その傾向が顕著で OOO が非常に多い; などである。

Stenophora の遺存種は分布域が相互にかけ離れてはいても、形態や成長の仕方や脂質分子種組成などが酷似しているゆえ、それぞれの地で独自の進化をせず古い性質を残しているとする仮定が可能であろう。もしそうであれば、Miocene 後期よりも前と思われる遺存種と東アジア種との間の地理的隔離の時から現在までの少なくとも数百万年の間に、東アジア種では炭素鎖が短かく且つ二重結合が少ない方向に変化が起きたことにより分子種組成の異なりが生じた可能性が、上記の結果から考えられる。

8

フシナシミドロで同時にみられる正負(?)

二方向の偏光屈性

片岡 博尚 (東北大. 遺生研)

黄藻 Xanthophyceae に属し、先端成長をする糸状ケノサイト、フシナシミドロ (*Vaucheria*) が偏光の (e-vector の) 振動面に垂直と平行の 2 種の偏光屈性を同時に示すことを見つけた。その原因と光屈性との関連を検討したので報告する。

フシナシミドロは、光強度が低いときは正光屈性を示すが、高光強度では負光屈性を示す。光強度によって光屈性の符号を変える能力はこの藻が適した光環境へ生育地を拡げる上で有利に働いていると考えられるが、他の植物ではあまり知られていない。コケ *Physcomitrella patens* は赤色光の強度上昇によって正光屈性から横光屈性 (Diaphototropism) へ変わるというが⁽¹⁾、方向転換の不完全さと青色光反応ではない点でフシナシミドロに及ばない。フシナシミドロの光屈性に赤色光は無効である。最近、フシナシミドロの負光屈性は、強い青色光により細胞先端での Ca^{2+} 流入が増し、細胞内 Ca^{2+} レベルがある値以上に (一時的にせよ) 上昇することが原因であることを見出した^(2, 3, 4)。さらに、 Ca^{2+} は光屈性における光信号伝達物質としても働いていることが示唆された。

この藻の数種を連続白色偏光下で育てると、あるものは e-ベクトルに垂直な偏光屈性を示すが、普通は e-ベクトルに垂直と平行な 2 種の偏光屈性を示し、中間の角度をとるものはない。その結果、十字形に藻体が拡がる。しかし、垂直と平行の比率は、光強度の上昇にもなって低下した。この傾向は青色偏光で著しく、赤色偏光では、ほとんどが垂直方向に成長した。この傾向や程度は、また、種や株によって異なる。すなわち、これまでの主な研究材料である、淡水産種 *V. terrestris* は約 6Wm^{-2} の白色光 (12hL/12hD) で負光屈性を示すが、 3Wm^{-2} の連続白色偏光で平行と垂直の配向の頻度はほぼ等しく、それ以上強度が増してもその比率はほとんど変わらない；一方、 10Wm^{-2} の白色光 (12hL/12hD) でも正光屈性を示す汽水産種 *V. dichotoma* は、 $3 \cdot 6\text{Wm}^{-2}$ へ連続白色偏光の強度が上昇すると、垂直方向の成長方向が圧倒する頻度分布から平行方向が多い分布へと変わる。

このユニークな偏光屈性は、フシナシミドロの細胞先端の成長域において光受容体が膜に平行に配向し、細胞軸に垂直な偏光が平行な偏光より多く吸収されるため、正光屈性を起こす光強度では垂直方向の、負光屈性を起こす強度では平行方向の偏光屈性を示すと考えると理解できる。そこで、暫定的に前者正偏光屈性、後者を負偏光屈性と呼びたい。

平行方向への偏光屈性は負光屈性をするシダ、コケの仮根や寄生性菌類の菌糸で知られているが、2方向の偏光屈性が共存する例は、フシナシミドロ以外には、上記のコケ *Physcomitrella* で報告されているに過ぎない⁽¹⁾。そこでは、フシナシミドロのような光屈性との明確な対応は見られない。

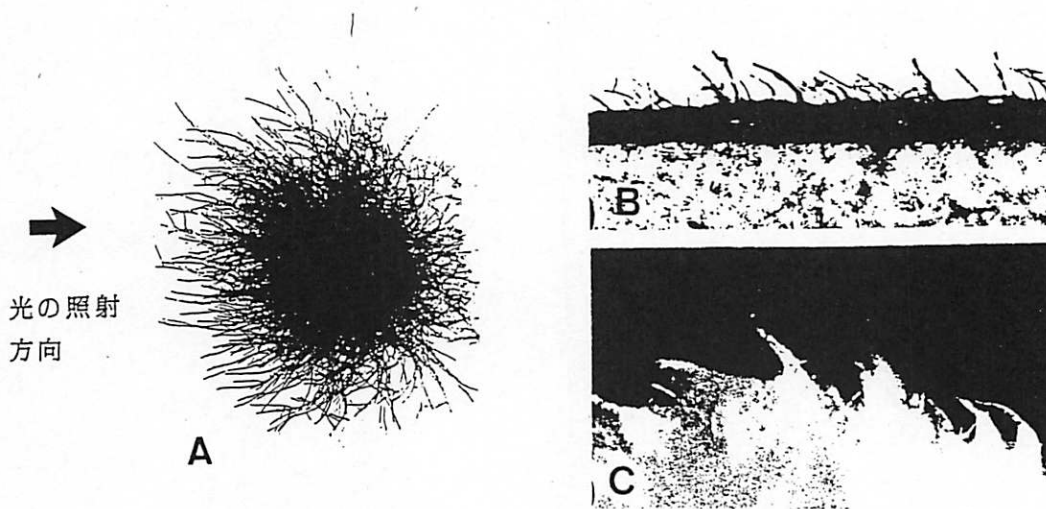
[引用文献] (1) Jenkins, G. I. Cove, D.J. (1983) *Planta* 158:357-364 ; (2) Kataoka, H. (1988) *Plant Cell Physiol.* 29: 1323-1330; (3) Kataoka, H. (1990) *ibid.* 31:933-940; (4) Kataoka, H., Watanabe, M. (1993) *ibid.* 34:737-744.

9

糸状酵母の光屈性

° 大瀧 保・ Galina Lazarova*・片岡博尚・磯野邦夫**
 (東北大・遺伝生態研、*Bulgarian Acad. Sci.・Inst.
 Microbiol.、**東北大・大学院情報科学)

糸状酵母における光反応として、これまで成長率、色素形成、呼吸、代謝物の合成や転移などが報告されているが、光屈性に関しては全く報告がなかった。光屈性以外の屈性にしても、僅かに *Candida* で接触屈性(thigmotropism)と電場における屈曲(electrotropism)が報告されているに過ぎない。我々は糸状酵母の *Sporobolomyces* において、その菌糸(surface hyphae)、単菌糸性の空中菌糸、そして空中菌糸の束状体(synnemata)が、いずれも明確な光屈性を示すことを発見した。この場合、光屈性は近紫外光(主たる波長 360 nm)、青色光(peak, 453 nm)に対しては正の屈性を示し、赤色光(620 nm 以上)に対しては反応を示さなかった。このように異なる様態を示す菌糸が、いずれも光屈性を示すのは珍しく、接合菌類のヒゲカビ(*Phycomyces*)では、胞子嚢柄は鋭敏な光屈性を示すものの、菌糸は屈性を示さず、またクモノスカビ(*Rhizopus*)では、菌糸(葡萄菌糸)は光屈性を示すものの、胞子嚢柄では明かでない。更に、*Sporobolomyces*では synnemata の形成も、短波長の光で誘導されることが明らかになった。



A: 一方向から照射された近紫外光に対して正の屈性を示しながら成長する表面菌糸(top view)

B: 一方向から照射された青色光に対して正の屈性を示す単菌糸性の空中菌糸(side view)

C: 一方向から照射された青色光に対して正の屈性を示す束状の空中菌糸(synnemata)(side view)

公開シンポジウム

1993年12月18日(土) 15:30 - 17:30

一種の進化

- はじめに 「種の進化」研究の進展
大橋 広好(東北大・理・生物)
- S-1 葉緑体DNAによるマメ科ヌスビトハギ属の系統解析
梶田 忠(東北大・理・生物)
- S-2 マメ科ハギ属とその近縁属の系統と進化
根本 智行(東北大・理・生物)
- S-3 邦産フクジュソウ属植物(キンボウゲ科)の分化
須田 裕(岩手大・教育・生物)

総合討論

メ モ

「種の進化」研究の進展

大橋広好（東北大、理、生物）

生物は35億年ほど前に生まれ、全ての種は共通の祖先から進化してきたと推定されるようになった。「種の進化」の問題は生物学の最も根本的な問題の一つとなり、多くの生物群で、研究されている。個々の種について、まず種の範囲が設定され、次に種間の系統関係が推定されることになる。

異なる種を比較して、基本的な形が似ていれば似ているほどそれらは血縁が近いと考えられている。すなわち、形態的差異は進化的差異に比例する、とされている。しかし、平行進化や収斂による形態の類似の例も知られている。表現型の比較は環境の影響を（程度の差はあれ）受けて形成された形質の比較となるためである。そこで、遺伝子の突然変異に基づく種の進化¹⁾では、遺伝子型の直接の比較が必要とされ、そのための研究方法が求められてきた。遺伝子型を異種間で比較できれば、異種間の遺伝的な距離、進化的な遠近関係、をより正確に知ることができると考えられるためである。

遺伝子型解明の試みは、1930年代に始まる染色体の研究から発展した。今日、細胞分類学あるいは種分類学 Biosystematics として、分類学の重要な分野を荷ない、種の進化の解明に大きく寄与している。

1970年代になって、遺伝子を分類学でも研究対象とすることができるようになった。遺伝子上の塩基置換を調べることで分子進化を明らかにし、その分子進化は遺伝子突然変異による種の進化に一致すると推定する。分子系統学は、生物学の中で最も古い分類学と最も新しい分子生物学とが合体して、生まれたと見る人がいるが、分類学は新しい研究方法を取り入れて全ての生物の種を対象に研究するという本性を持っている。分子系統学は生まれるべくして生まれたものといえよう。

分子系統学は、分子生物学の理論と手法に基づいて、種の系統を解明する分野であるが、研究材料の選定は分類学の理論と手法に基づく。研究材料を分類学によって設定された種に同定することから研究が始まる。そのように集めた複数の種を遺伝子で比較し、系統を推定する。個体をもって種に置き換える正当性は分類学的判断による。一方、分類学では、分子系統学の結果によって、種を再検討しなければならないことが起こる。両分野は非常に強い相補的な関係にある。

¹⁾ 種子植物やシダ植物では、雑種形成による種の進化が多くの科や属で知られている。遺伝子突然変異に起因する種進化よりも直接的に新しい種を形成することになる。

S-1

葉緑体DNAによるマメ科ヌスビトハギ属の系統解析
梶田 忠 (東北大・理・生物)

種の進化を解明するには種間の系統関係の解析が重要な課題となる。近年、分子生物学の発展にともない、DNAやタンパク質を用いて系統関係を解析する方法(分子系統学的手法)が盛んに用いられるようになってきた。植物では特に葉緑体DNAがよく用いられ、さまざまな分類群で研究が進められている。

私はマメ科ヌスビトハギ属の種間・属間の系統関係を明らかにすることを目的として、現在、葉緑体DNAの制限酵素断片長多型(RFLPs)の解析と葉緑体DNA上にコードされているリブローズニリン酸カルボキシラーゼを作る遺伝子(*rbcL*)の塩基配列の比較を進めている。今回はヌスビトハギ亜属の10分類群について、RFLPsの結果から推定される系統関係を報告する。

ヌスビトハギ亜属(subgen. *Podocarpium*)は11種からなり、単体雄蕊を持つこと、柄のあるくびれた節果を持つことなどで特徴づけられる。日本には*D. oldhamii* (フジカンゾウ), *D. laxum* ssp. *leptopus* (トキワヤブハギ), *D. laxum* ssp. *laterale* (リュウキュウヌスビトハギ), *D. laxum* ssp. *laxum* (オオバナヌスビトハギ), *D. podocarpum* ssp. *fallax* (ケヤブハギ), *D. podocarpum* ssp. *oxyphyllum* var. *mandshuricum* (ヤブハギ), *D. podocarpum* ssp. *oxyphyllum* var. *oxyphyllum* (ヌスビトハギ), *D. podocarpum* ssp. *podocarpum* (マルバナヌスビトハギ)が産する。これらに北アメリカ北東部に分布する*D. pauciflorum* とアフリカからアジアまで広く分布する*D. repandum* を加え、32集団に対し16種類の制限酵素を用いてRFLPs分析を行った。その結果27個の制限サイト多型が検出され、そのうち17個の変異は系統樹の作成に情報を持つ変異であった。得られたデータをもとに最節約法を用いて系統樹を作成したところ(PAUP ver.3.1, Swofford 1993)、一つの最節約的な系統樹が得られた。その系統樹から、(1)ヌスビトハギ亜属、同亜属内のヌスビトハギ節、ヌスビトハギ亜節はそれぞれ単系統群として認識できること、(2)比較した中ではDollinera 亜属の*D. elegans*がヌスビトハギ亜属の姉妹群とみなされることが示された。

また、マルバナヌスビトハギ(*D. podocarpum*)では4種内分類群にわたって18集団を比較したところ、形態による種内分類群の分類と一致しない3つのグループに分けられることが分かった。この結果は過去に何らかの形で葉緑体DNAの交流があったことを示している。

このようにして得られたDNAによる系統樹を用いて形態形質の進化を推定したところ、オオバナヌスビトハギが分化する際に落葉性から常緑性への変化が、フジカンゾウが分化する際に3小葉から7小葉への変化が生じたことが推定された。

S-2

マメ科ハギ属とその近縁属の系統と進化
根本智行（東北大・理・生物）

生物の系統進化を解明する上で形態学的アプローチは重要な手法の一つである。この手法は古典的ではあるが、形態学的に詳しく解析されていない形質が多くの生物群でたくさん残されている。また、近年、分子生物学的手法が系統進化の解明に取り入れられて、新しいデータが次々と出されている。これらのデータを議論する上でも、形態学的データを充実させる必要がある。

今回のシンポジウムでは、ハギ属とその近縁属についてこれまでに解析した形態学的形質とその系統分類学的意義を中心に報告し、分子生物学的手法によるデータとの関連についても触れる。

ハギ属は東アジアの温帯域を分布の中心とするグループであり、この地域に分布するマメ科植物を代表する属の一つである。最新の分類体系では、この属はヌスビトハギ連ハギ亜連に位置づけられている。ヌスビトハギ連の重要な特徴は、節をもつ果実（節果）であり、果実は種子1個を含む断片（小節果）に分かれる。また、ハギ亜連は、鉤状の毛がないこと、および、そもそも胚珠が1個のため種子が1個しかできないという特徴で区別されている。

ハギ亜連のハギ属、ヤハズソウ属およびハナハギ属の3属は、従来より互いに近縁と考えられており、ハギ属としてひとつの属にまとめる見解もだされている。これら3属について、花序、花および果実の構造を調べた結果、以下の結果を得た。

1) 花序：ハギ属では、花序軸が短縮した側枝をもち、花はこの側枝上につく。これは偽総状花序と呼ばれる形である。ヤハズソウ属は花が花序軸に頂生するように見えるが、実際には短縮した側枝につく。これは、偽総状花序の一形と考えられる。ハナハギ属の花序は、花が花序軸に直接つき、総状花序である。

2) 花：ハギ属とヤハズソウ属では、雄蕊と雌蕊の間に蜜腺が発達する。蜜腺の表面には気孔状の構造があり、内部には雄蕊の維管束から枝分かれした維管束組織が入り込む。一方、ハナハギ属ではいずれの構造も認められない。

3) 果実：ハギ亜連の果実は1個の小節果からできていると考えられてきた。しかし、実際に、節構造が見られるのはハギ属だけであった。

これらの結果から、ハギ属はヤハズソウ属により近縁であると考えられる。また、ハギ属の果実が節構造をもつことから、この属とヌスビトハギ連の他の亜連との系統的関連が示唆された。

また、現在、葉緑体DNAの比較も行っている。これまでに得られたデータは、形態学的形質に基づく3属の系統関係を支持している。

S-3

邦産フクジュソウ属植物（キンポウゲ科）の分化

須田 裕（岩手大・教育・生物）

フクジュソウ属はキンポウゲ科に属していて、世界中に約 20 種知られている。ほぼ半数が一年生で赤い花を咲かせるが、他はおおむね黄色い花をつける多年生の草本である。旧大陸のみに自生しており、ヨーロッパに 10 種余り、残りはアジアの寒冷地に散在している。

従来、日本列島に自生する *Adonis* 属植物は、中国の東北地区やロシアの沿海州に分布する *Adonis amurensis* Regel et Radde と同一種とされて、フクジュソウの和名を与えられてきた。即ち、その変種が二、三報告されてはいるものの、「日本列島産の *Adonis* 属植物は *Adonis amurensis* フクジュソウ唯一種である」とする説が主流をなしてきた。しかし、最近になって、細胞学的、形態学的特徴から邦産のフクジュソウを幾つかに分けようとする試みも現れてきた（西川 1988, 1989）。

演者等は、1973年にほぼ同じ場所から採集したフクジュソウに倍数性の違いを発見したのがきっかけで、爾来、細胞学的、形態学的研究を進めてきた。本講演では、これまで本大会で発表してきた結果（須田・戸来 1988, 須田・安達 1991, 須田・相馬 1992, 須田 1993）を総括して、本邦産の *Adonis* 属植物の分化について考察する。

【染色体数・倍数性・核型分析】

- ①基本数は $x = 8$ であり、二倍体、三倍体及び四倍体が存在する。
- ②染色体組は、4 対の中部狭窄と 4 対の次中部狭窄染色体からなる。次中部染色体には大きさの異なる付随体を持つ 2 対の染色体がある。
- ③付随体 (satellite) の大きさが変化するので、核型は多形性となる。

【開花時期・分離複果の形態】 野外での観察から次のことが明らかになっている。

- ①三月中旬に開花するのは四倍体、四月下旬から開花するのは二倍体である。三倍体は四倍体と開花時期が同じである。全体として、開花期間は三月中旬から五月中旬までの二箇月間となる。
- ②二倍体の開花時期には、四倍体の分離複果が同時に観察できる。
- ③二倍体と四倍体の間では、分離複果の大きさ・形は明らかに異なる。

【地理的分布・自然三倍体】 盛岡市の北部、五万分の一地形図、「盛岡」と「沼宮内」に入る全域について、二倍体、三倍体及び四倍体の分布を詳しく調査した。

- ①二倍体と四倍体は異所的 (allopatric) に分布するのが普通であるが、隣接地域では、稀に同所的 (sympatric) に混生している。
- ②両者が混生する群落 15 箇所のうち 6 箇所で 21 個体の自然三倍体が発見された。
- ③自然三倍体は分離複果の極端な結実異常によって野外でも容易に区別できる。

【開花期間】 二倍体、三倍体及び四倍体、総計 159 個体をほぼ同一条件下で栽培して開花の時期及び開花期間を調べた。

- ①野外での観察と同様、三倍体と四倍体は共に二倍体よりも早く開花する。
- ②二倍体と四倍体は、自然条件下と同様、花の最盛期が 2～3 週間ずれている。
- ③両者の開花期間の重なりは、実験用ハウスの条件下では短縮される。

【花粉の稔性・形態】

- ①稔性は二倍体，四倍体で高く（90%前後）三倍体では非常に低い（ほぼ10%）。
- ②一目で区別つく程の大きさの差はないが，統計的には区別できる。
- ③二倍体と四倍体の間で形とタイプには大きな違いはない。三倍体には非正常タイプが多い。
- ④エキシンの特徴（小刺の密度や形，テクタムの小孔の形等）は，二倍体と四倍体の間で異なり三倍体は両者の中間となる。

【花の形質】

- ①倍数性の変化との相関が強いのは萼片の長さ，萼片の数，花糸の長さであった。萼片・花卉の背軸面の色，先端部切り込みの有無及び形態も倍数体間で異なる。
 - ②一茎あたりの花の数は二倍体では3～4箇，四倍体では1～2箇の場合が多い。以上の結果を基に，フクジュソウの特に二倍体と四倍体の関係を考察する。
- 従来通り，「本邦産のフクジュソウは Adonis amurensis 一種のみで，二倍体，四倍体は種内における倍数性の変異に過ぎない」との考え方もできるが，総合的に検討すると，両者は別の分類群に分けるのが妥当と思われる。
- 西川（1988,1989）は本邦産のフクジュソウに A. amurensis, A. ramosa, 及び A. multifloraの三種を認めている。どのランクで幾つに分けるべきかについては，なお検討の余地があるが，現時点で二倍体と四倍体を別の分類群として区別することに大きな問題はなさそうである。
- この四倍体は，現在の研究対象である二倍体から生じた同質四倍体ではなく，異質四倍体である可能性が高い。「この異質四倍体の近縁種は何か」が次の課題となるであろう。

接合菌類ヒゲカビ(*Phycomyces blakesleeanus*)の
前配偶子嚢間に観察される細胞外繊維と細胞接着

・山崎 裕 ・ 宮崎 厚 ・ 大瀧 保
(東北大・遺生研・生態生理)

子囊菌類、担子菌類、不完全菌類に関して、細菌の線毛に類似した細胞外繊維の存在が報告されている。それらは主に糖蛋白質より構成され、生長、接着、接合反応、病原作用、感染機構に役割を有し、具体的には細胞間認識、性的和合性の確認、寄生における細胞間連絡などの機能を持っていると考えられている。粘液細菌類や藻類でも糖鎖から成る細胞外繊維の存在が報告され、細胞間連絡の機構における細胞外繊維の役割が、構造多糖に作用するカルコフルオルホワイト(CFW)やコンゴレッド(CGR)、エヴァンスブルー(EVB)などを用いて解析されている。

われわれは接合菌類ヒゲカビの接合反応の一過程(S3, S4)に見られる前配偶子嚢(progametangium)の接着部に着目して、走査型電子顕微鏡による観察を行った。その結果、①線毛や鞭毛の保護を考慮したグルタルアルデヒド単独固定とアセトン脱水によって、前述の細胞外繊維に類似した構造を接着部に観察することができた。一方、通常のグルタルアルデヒド・四酸化オスミウム二重固定とエチルアルコール脱水によるものでは、それらはごくわずかに観察されるのみであった。②さらにノマルスキー微分干渉顕微鏡による観察をした結果、生体試料においてもそれらの構造の存在が確認された。③同様に偏光顕微鏡によってそれらの構造は明確な正の複屈折を示し、その配向は前配偶子嚢の接着面に垂直であることがわかった。

④次に、その細胞外繊維は0.25%カルコフルオルホワイト溶液や 10^{-3} Mコンゴレッド溶液および 10^{-4} Mエヴァンスブルー溶液によって特異的に染色でき、またこれらの溶液を用いたそれぞれ2時間の洗浄によって接着部から消失することが確認された。⑤同様に寒天培地上の前配偶子嚢をそれぞれ各溶液で数回にわたり洗浄した後に培養すると接合反応の前配偶子嚢期以降の段階のもの(S5~S8)が減少した。

ヒゲカビの接合反応において、高い培養温度はその反応を中断させることが知られている。⑥25°Cの培養では前配偶子嚢期以降の段階のものは全く形成されず、形成された前配偶子嚢期(S3, S4)の器官もその接着が不完全であった。走査型電子顕微鏡による観察では前述の細胞外繊維がその繊維状の形態を失っていた。⑦4°Cの低温培養では、菌糸の展開は非常に遅いが接合反応は生じる。しかしそれも高温培養と同様に前配偶子嚢期までで、電顕像における細胞外繊維の状態も異常であった。

⑧蛋白質の合成阻害剤として知られるシクロヘキシミド(CHM)を加えた培養によっても、その濃度に応じて接合反応は特定の段階で停止する。前配偶子嚢期で停止したものの電顕像を見ると、その細胞外繊維は整った繊維状ではなく異常であった。

これらのことから、ヒゲカビの接合反応の前配偶子嚢期において、その接着部位に糖鎖を含む細胞外繊維が存在し、それらは一連の接合反応のなかで何らかの役割を有していること、その一つとして細胞外繊維が接着物質としてふたつの前配偶子嚢間に存在し、S3期における前配偶子嚢の平行接着を、またS4期における平行接着から環状前配偶子嚢への移行のための接着部の解離と先端部の融合を、それぞれに支配していることなどが考えられる。

・大場健一、宮崎 厚、大瀧 保 (東北大・遺生研)

ヒゲカビ(*Phycomyces blakesleeanus*)の特徴の一つは巨大な胞子のう柄を形成することである。胞子のう柄形成のメカニズムを解明するための手法として突然変異株を用いて野生株との比較をすることは有効な方法である。そこで突然変異誘発剤(NTG)処理をおこなうことにより、比較的容易に巨大胞子のう柄を作らない突然変異体(遺伝子型 *imb*)を得ることができた。この *imb* 変異株は、野生株に比較して一般に成長が遅く、時には局部的に胞子のう柄が生えるパッチ現象を示したり、継代培養を重ねると形態的に全く正常とは言えないまでも胞子のう柄を作り *imb* の特性を失ったりする特質を示した。また、野生株を液体培養などの低酸素条件下で培養すると胞子のう柄を作らなくなることも知られている。これらのことから、*imb* 変異株と呼吸系とは何らかの関連があり、ミトコンドリア由来の変異体ではないかと考え、以下の実験を行った。

遺伝的マーカーを持った *imb* 変異株と *imb* 株を用いてヘテロカリオンを作り、形成された胞子の表現型を遺伝学的に解析したところ、*imb* 変異は核由来の変異ではなく細胞質由来の変異であることが示唆された。そこで、マノメーター法により野生株と *imb* 変異株との呼吸活性を測定したところ、大きな差は見られず活性と成長率は株によってまちまちで相関が見られなかった。また、MTT ; 3-(4,5-dimethyl-thiazolyl-2)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide や Alamar BLUE™ でミトコンドリアの酸化還元反応を測定したところ野生株に比較して高い活性が見られた。ところが野生株を種々のミトコンドリア阻害剤存在下で培養したところオリゴマイシン存在下で *imb* 変異株によく似た表現型を示した。これらのことから *imb* 変異はミトコンドリアの電子伝達系ではなく、 F_0F_1 -ATPase に何らかの異常が起こった変異ではないかと考えている。酸化還元能力が高い原因は、効率が悪くなった ATP 生産能力を補おうとすることによるのかも知れない。今後、ミトコンドリア ATPase 活性の測定、またミトコンドリア遺伝子プローブを用いたサザン解析などにより、ATPase の性状を分子あるいは遺伝子レベルで研究して行く予定。

°井田 譲・大瀧 保*・菱沼 佑（山形大・理・生物
*東北大・遺伝生態研究センター）

ヒゲカビ (*Phycomyces*) の胞子嚢柄は光に対する反応が顕著であることから、光形態形成のモデルとしてしばしば用いられ、突然変異体をも利用して胞子嚢柄の様々な成長解析が行われている。また伸長にともない胞子嚢柄では活発な細胞質流動が観察される。しかし、多くの植物で形態形成や細胞質流動において微小管やF-アクチンなどの細胞骨格が関与していることが報告されているが、未だヒゲカビではこれらの細胞骨格の機能や細胞内配向についてはほとんど調べられていない。これは単に培地に細胞骨格阻害剤を添加しただけでは、形態形成に対する影響が観察されないことにあると考えられる。

今回我々は、培地に阻害剤を添加するという従来の方法とは異なった方法により、胞子嚢柄の細胞質流動や形態形成に対する細胞骨格阻害剤の効果について、蛍光顕微鏡による細胞骨格の観察を併用し、検討を試みた。

細胞骨格の配向：微小管の配向は、胞子嚢柄を 3.5% パラホルムアルデヒド-MES bufferで固定し、一次抗体として抗チューブリンモノクローナル抗体、二次抗体として抗マウスFITC標識抗体を用いた間接蛍光抗体法により、またF-アクチンの配向は、胞子嚢柄をはじめに切片にし、ローダミン ファロイジンを含む5%パラホルムアルデヒド-リン酸緩衝液で固定染色を行い、蛍光顕微鏡による観察を試みた。

その結果、胞子嚢柄における微小管、F-アクチン双方の配向像が観察できた。そしていずれも胞子嚢柄の長軸に平行あるいはやや傾斜した方向に配向していた。F-アクチンと微小管の位置関係についてはまだ明らかではない。

細胞質流動：細胞質流動に対する細胞骨格の関与を検討するため、細胞質流動が観察しやすいStage IVの胞子嚢柄を用いた。胞子嚢柄から両方の切り口が開いた切片を調製し、シヨ糖液に溶解した各溶液で切片内を灌流し、細胞質流動に対する阻害効果について検討した。

シヨ糖溶液で灌流した場合には数時間にわたり細胞質流動が観察された。一方コルヒチン、サイトカラシンBの双方において、1時間以内に細胞質流動の停止が観察された。しかし、コルヒチン処理後、細胞質流動の停止を確認した切片を間接蛍光抗体法で観察したところ、依然として長軸に配向する微小管像が観察された。サイトカラシン処理の場合については、現在ローダミン ファロイジンを用いて検討している。

形態形成：ヒゲカビ胞子嚢柄の形態形成における細胞骨格の機能を検討するため、胞子嚢形成前のStage Iの胞子嚢柄を用いた。約1cmに伸びた胞子嚢柄を培地から抜き取り、基部から数mmの部分切除した胞子嚢柄を、コルヒチンやサイトカラシンB溶液に沈め、その後24~48時間培養して、成長や形態変化を観察した。

Stage Iの胞子嚢柄は24時間以内に胞子嚢形成を行うが、溶液中では伸長速度が遅く48時間たっても胞子嚢形成を行わなかった。一方、細胞骨格阻害剤では、いっそうの伸長阻害、伸長した胞子嚢柄の形態変化が観察された。このような成長阻害が細胞骨格の配向変化に基づくものであるか現在検討している。

粘菌 (*D. discoideum* Ax-2) 細胞は、周囲に栄養源があるときには2分裂法によって増殖するが、栄養源がなくなりいわゆる飢餓状態におかれると、分化期へと移行する。このように、増殖と分化が、栄養源の有無によって明瞭に区別されていることは、細胞性粘菌がこれら相互の関係を理解する上で非常に有利な材料であることを意味している。

近年、細胞の増殖／分化の調節機構が細胞周期と密接にかかわっていることを示唆する報告が数多くなされている。最近、我々は、Ax-2細胞の増殖から分化への移行が細胞周期のG₂期の特異点 (P S点; putative shift point) からの離脱によって起こることを示唆する結果を得ている (Maeda *et. al.*, 1989)。

このような背景の中で、我々は、P S点近傍における遺伝子発現に注目し、細胞周期からの離脱の引き金となる遺伝子の単離とその機能の解析を目標に研究を始めた。それに先立って行った、細胞内のタンパク質の *de novo* 合成量の変動に関する解析によると、飢餓処理後、P S点近傍で特異的に発現量が増加する分子量18 kDaのタンパク質 (以下、18Kと略称) が見い出された。この18Kの存在は、P S点近傍で特異的に発現する遺伝子の存在を示唆している。

そこで、P S点近傍で飢餓処理した直後の細胞からcDNAライブラリーを作成し増殖期の細胞と分化期の細胞から得られたプローブを用いて differential screening による分化期特異的な遺伝子のクローニングを試みた。Northern hybridization によって、細胞周期の各時期で飢餓処理した際の発現量を比較したところ、P S点近傍で飢餓処理したときにのみ、特に顕著に発現する遺伝子が3つ (Quit1, Quit2, および Quit3) 得られた。それらの塩基配列の決定を行ったところ、Quit1がタンパク質をコードしている領域は、集合期でのcAMPシグナル・リレーの際に、中心的役割を果たすcAMPレセプター遺伝子のそれと完全に一致していることがわかった。しかし、5'側の非翻訳領域は、これまで報告されているものとは異なっていた。Quit2は、169個のアミノ酸からなる分子量19 kDa程度のタンパク質をコードしており、これは4つのEF-handドメインをもつ新規のCa²⁺結合タンパク質であることから、Calfumirin-1 (CAF-1) と名付けた。興味深いことに、CAF-1は、タンパク質の推定分子量、等電点、発現量、および発現時期などにおいて、上述の18Kと非常に良く似ており同一の物質である可能性が高いので、現在、タンパク質レベルでの解析も行っている。さらに、CAF-1のアンチセンスRNAを発現するベクターをAx-2細胞に導入して形質転換体 (transformants) を作成し、その性質を調べることによって増殖から分化への移行時におけるこの遺伝子の機能について検討中である。Quit3については、今、その塩基配列の決定を試みつつある。

14

タンパク質キナーゼ阻害剤, K252aは粘菌の 接合子形成を誘導する

河合 忍 ・前田 靖男 ・雨貝 愛子
(東北大・理・生物)

細胞性粘菌 *Dictyostelium mucoroides*-7(Dm7) の有性生殖過程 (マクロシスト形成) において、タンパク質のリン酸化・脱リン酸化が関与していることが、これまでの研究によって示唆されていた。そこで、今回、我々は、さまざまなタンパク質キナーゼ阻害剤がマクロシスト形成にどのような影響を及ぼすかについて検討した。その結果、広範囲のタンパク質キナーゼ阻害剤であるK252a (2.1 μ M) は、Dm7の有性生殖過程の初期過程である細胞融合 (接合子形成) を促進することが示された。また、接合子形成を阻害するcAMPの効果は、K252aの投与によって打ち消された。一方、K252aと構造的にも機能的にも類似している staurosporine は、K252aとは対照的に、細胞集合 (cell aggregation) をはじめとする発生の進行をかなり遅らせ、正常なマクロシストの形成を阻害した。

次に、K252aがどのような種類のタンパク質キナーゼ活性を阻害することによってその効果を発揮するかを、各種の特異的阻害剤を用いて調べた。その結果、Ca²⁺依存性タンパク質キナーゼ (PKC) の特異的阻害剤である calphostin Cやチロシンキナーゼの特異的阻害剤である herbimycin Aは、いずれもマクロシスト形成に何ら影響を与えなかった。また、cAMP依存性タンパク質キナーゼ (PKA) の特異的阻害剤であるKT5720や、カルモジュリン阻害剤のW7をそれぞれ単独で投与しても接合子形成への効果はなかった。しかしながら、面白いことに、KT5720 (1.9 μ M) とW7 (10 μ M) とを共投与したところ、K252aと同様に接合子形成促進効果が認められた。このことは、Dm7の配偶子あるいは接合子形成には、cAMP依存性タンパク質キナーゼ (PKA) およびカルモジュリンを介した2つの情報伝達系が密接に関与することを示唆しており、有性生殖には、これらの伝達系の遮断が有利に働くと考えられる。

後藤伸治 (宮城教育大学・生物)

シロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)は従来主に遺伝学の分野で用いられてきた植物であるが、現在では分子生物学、植物生理学などの研究においても重要な材料となっている。それは、本植物が以下のような研究上の利点を持つことによる。すなわち、染色体数が少ないこと($n=5$)、ゲノムが小さいこと、DNAの繰り返し配列が少ないこと、100以上の遺伝子座が染色体上に決定されており、また、200以上のRFLPマーカーが得られていること、多数の突然変異が単離、保存されていること、生活環が短いこと、植物体が小さく、せまい面積で多数の個体を扱うことができること、などである。

従来、本植物の研究に必要な突然変異、DNA標品等を供給するセンターとしてフランクフルト、ゲーテ大学のArabidopsis Information Service(AIS)のSeed Bankがあったが、現在、それは米国のオハイオ州立大学および英国のノッチングム大学に引き継がれ、それぞれArabidopsis Biological Resource Center at Ohio StateおよびThe Nottingham Arabidopsis Stock Centreとして活動している。

わが国でもシロイヌナズナへの関心が高まり、本植物を用いる研究者は次第に増加しているが、本植物が経済的に無価値であることや全国的に分布が薄いことなどの理由から必ずしも多くはない。そこで、後藤は主にわが国の研究者の便宜をはかるためにシロイヌナズナ種子センターを設置することを企画し、AISのKRANZ教授の指導、援助を受けながら開設の具体的準備を行ってきた。そして、1993年末より「仙台シロイヌナズナ種子センター」(Sendai Arabidopsis Seed Stock Center)を開設する運びとなった。

当センターの目的と特徴は以下のようである。

(1) センターはAISコレクション約1000系統(野生型350、形態突然変異180、葉色突然変異330、代謝突然変異20、遺伝子マーカー系統120、トリソミー24、アラビドプシス属の他種12)および後藤が従来収集してきたアラビドプシス属の他種20系統ならびに独自に単離、保存してきた突然変異(生理的、形態的)約100系統、合計約1100系統から出発する。

(2) 将来、これらの系統に加えてアジア、特に本種の発祥地といわれるヒマラヤ西部の野生種およびアラビドプシス属の他種植物の収集と保存を行う。

(3) これらの系統を、主にわが国の研究者へ広く広報し、必要な研究者へ種子を供給する。

(4) 各系統の表現型の記載、特徴のカラー写真による記録および実物の標本保存を行い、ハーバリウムとしての役割を果たす。

(5) 保存系統の記載を電算機に組み入れ、保存状態の記録を電算化する。また、電子メールによる系統の検索や種子の請求がパソコンを通してできるようにする。

初代組織培養で誘導される器官再分化においては、分化した細胞が一旦脱分化し器官再分化能を獲得する段階を経て、苗条あるいは根の分裂組織の形成に至ると想定される。このような器官再分化の初期過程は、植物の細胞分化のあり方や器官発生の仕組みを考える上で極めて興味深い。私達は、シロイヌナズナを材料に、器官再分化過程を遺伝学的に解剖し、機構解明の糸口をつかむために、温度感受性変異体を用いて研究を行っている。これまでの解析により、根からの苗条再分化に関与する遺伝子座として、SHRED1、SHRED2、SHRED3 の3つを見いだしているが、今回は組織培養下での種々の形態形成に対するこれらの遺伝子の関与について検討した結果を報告する。

研究対象とした形態形成反応は、根からの苗条再分化、根からのカルス形成、下胚軸からの苗条再分化、下胚軸からの根再分化、下胚軸からのカルス形成の5通りである。苗条再分化の誘導の場合には、根または下胚軸の断片をCIM (カルス誘導培地、0.5ppm 2,4-D と 0.1ppm kinetin を含む) で4日間前培養した後、SIM (苗条誘導培地、0.15ppm IAA と 0.5ppm isopentenyladenine を含む) で3週間培養した。根再分化の誘導には、下胚軸断片をCIMで4日間前培養後、RIM (発根誘導培地、0.5ppm IBA を含む) で3週間培養した。器官再分化の誘導にはCIMでの前培養が重要であり、前培養期間中に再分化能が獲得されると考えられる。カルス形成の場合は、根または下胚軸の断片をCIMで3週間培養した。

3つの温度感受性変異株、L1045 (shred1)、L131 (shred2)、L1919 (shred3) のそれぞれについて、上記の形態形成反応が温度感受性かどうかを調べた。L1045では、根および下胚軸からの苗条再分化は温度感受性であったが、根再分化やカルス形成は温度感受性を示さなかった。なお、苗条再分化で温度感受性となるのは、SIMへの移植後の段階であった。L131では、根からの苗条再分化、下胚軸からの苗条再分化、根再分化、下胚軸からのカルス形成のいずれも温度感受性であったが、根からのカルス形成は温度感受性ではなかった。このとき、根からの苗条再分化ではSIMへの移植後の段階、下胚軸からの苗条再分化ではCIMでの前培養段階とSIMへ移植後の段階の両方、根再分化ではCIMでの前培養段階がそれぞれ温度感受性となっていた。L1919では、根および下胚軸からの苗条再分化においてCIMでの前培養段階が温度感受性であり、カルス形成や根再分化は温度感受性ではなかった。

以上の結果を説明するために、私達は次のような仮説を提唱している。すなわち、器官再分化能をもたない生理状態をIC (incompetent)、根再分化能を有する状態をCR (competent for root redifferentiation)、根および苗条再分化能を有する状態をCSR (competent for shoot and root redifferentiation) と呼ぶとき、根はCR、下胚軸はICの状態にあり、CIMでの前培養中にICからCR、さらにCSRへの変化が起きる。SHRED2 はICからCRへの変化に、SHRED3 はCRからCSRへの変化にそれぞれ関与する。カルス形成はCRまたはCSRを経て初めて起きる。SIMへ移植後の苗条再分化の段階には、SHRED1 と SHRED2 が関与する。

管状要素は道管仮道管の構成要素であり、一次木部においては前形成層から、二次木部においては維管束形成層から形成される。この管状要素の分化の過程で、細胞は二次壁を形成し、同時に細胞核、オルガネラ等、細胞壁を除く全ての細胞内容物を自己分解し、細胞死に至る。この細胞死は発生のコースの特定の時期に起こり、自己分解過程は二次壁の形成という合成的代謝と並行して進行する。したがって、この自己分解過程はあらかじめ決められた、高度に秩序だったプログラムにしたがって進行するものであると考えられる。我々はこの管状要素分化に伴う細胞死を高等植物における"programmed cell death"のモデルとして捉え、そのメカニズムを解明したいと考えている。そこで、in vitroにおいて高頻度かつ同調的な管状要素への分化誘導が可能なヒヤクニソウ (*Zinnia elegans* cv. Canary bird) の葉肉細胞を用いた実験系において生理生化学的な解析をすすめることにした。この実験系では、ヒヤクニソウの葉から単離した葉肉単細胞は、適当な濃度のオーキシシンとサイトカイニンを含む分化誘導培地 (D培地) 中で培養することにより、培養48時間目から72時間目にかけて管状要素分化の形態的マーカーである特徴的な二次壁の形成を示すようになる。また、全ての分化した細胞は二次壁形成の開始から24時間以内に細胞内容物を失う。

我々は細胞の自己分解過程には細胞内の加水分解酵素が中心的な役割を担うと考え、解析の第一歩として培養時の各種加水分解酵素の活性の変動を調べた。その結果、ヘモグロビン分解活性、すなわちプロテアーゼ活性が管状要素分化に関連して発現していることが示唆された。次に、管状要素分化に特異的に発現するようなプロテアーゼを同定するため、人工基質であるMCA化合物を用いた解析をすすめた。培養した細胞中においてpH5でのZ-Phe-Arg-MCAの分解、pH7とpH10でのBz-Arg-MCAの分解にはそれぞれ主に関わる酵素が異なることがわかった。そこで、D培地中及び非分化誘導培地 (C培地) 中で細胞を培養した時の各活性の変動を調べたところ、pH7とpH10でのBz-Arg-MCA分解活性は両条件で同様な活性変動を示すのに対し、pH5でのZ-Phe-Arg-MCAの分解は全く異なった活性変動を示した。この活性はC培地中で培養した場合は大きな変動を示さなかったが、D培地中で培養した場合、培養48時間目から72時間目にかけて劇的に上昇し、その後、96時間目までに急激に減少した。このことから、この活性を担うプロテアーゼが分化に特異的に発現していると考えられる。そのようなプロテアーゼを、D培地中で72時間培養した細胞を出発材料として、一連のカラムクロマトグラフィー (CM Sepharose, Phenyl Superose, Superose 12) によって部分精製した。その結果、Z-Phe-Arg-MCA活性は、Superose 12カラムクロマトグラフィーで単一のピークとなり、特異的活性は420倍になった。この部分精製されたプロテアーゼの性質を調べたところ、その活性はE-64やロイペプチンで完全に阻害され、DTTにより活性化されることがわかり、このプロテアーゼはシステインプロテアーゼの一種であると考えられた。このプロテアーゼは管状要素分化過程において特異的、一過的に発現し、おそらく自己分解過程で重要な働きをされると考えられる。

°大屋俊英・森村洋子*・猪川倫好** (秋田県生物
資源センター、*恵泉短大、**筑波大・生物)

植物のペルオキシダーゼ (PO) にみられる酵素多型は1942年に発見されて以来、その機能や組織間分布について精力的に研究され、また近年は遺伝子レベルの報告も多い。我々はダイコンの根にアスコルビン酸ペルオキシダーゼ (APO) が存在すること、APOはアスコルビン酸 (Asc) に対する特異性が高く、N末端アミノ酸配列はPOとの関係が弱いことなどを報告した。今回、APOと比較するためにダイコン根にみられるいくつかのPOを精製し、特徴を調べたので報告する。

盛夏に収穫したダイコン (耐病総太り) をジューサーミキサーで榨汁し、遠心分離して清澄したのち、硫酸塩析した。POの精製のため、DEAE-Cellulofine, Butyl-Toyopearl, Ether-Toyopearl, CM-Cellulose, ConA-Sepharoseなどのカラムクロマトグラフィーを行った。

DEAEカラムに吸着されたPOは低温度のKClで溶出され、また非常に疎水性が高いためEther-Toyopearlで精製された。これはダイコン根では最も多量のPOであり、森田らの報告にある「No. 3」に相当するらしい。DEAEカラムに非吸着のPOのうち、CMカラム (pH4.4) にも非吸着の画分をConAカラムで分離したところ、非吸着のもの (N) と吸着されてmannoseで溶出されたもの (A) が得られた。いずれのPOもButylカラムで純化され、「A」はDEAE非吸着のうち最も大きな活性を持ち、Ascに対して活性を持っていなかったが、「N」はグアヤコール活性のほか高いAsc活性も持っていた。

SDS-PAGEにより分子量を比較したところ、「No. 3」と「A」は40kDa、「N」は32kDa、APOは28kDaであった。抗HRP抗体に対しては、「No. 3」、「A」、「N」が反応したがAPOは応答せず、抗APO抗体では逆の結果が得られた。

N末端アミノ酸配列を比較したところ (図1)、「No. 3」と「A」には似たところがあったが、「N」は似ていない。また、いずれもAPOやHRPとの間にホモロジーが認められなかった。

図1. ペルオキシダーゼのN末端アミノ酸配列

No. 3	FGTXPQVFNIIGNVIXXALX
A	FGPPPQVFNIIGRRIVDRLA
N	APGPPXGTRIGFYSFTKPGA
HRP	QLTPTFDNSCPNVSNI VRDT
APO	DKNYP AVSEEYQKEIEKXKT

19

は.

② ペプチド鎖伸長因子EF-1 β および β' サブユニット
の構造と種特異性

① 照井儀明、松本省吾、席 時熊、江尻慎一郎
(岩手大・農・細胞育種) による

ペプチド鎖伸長因子EF-1は、 $\alpha\beta\beta'\gamma$ の4種類のサブユニットから構成されており、EF-1 α は、GTP、aminoacyl-tRNAと三重複合体を形成し、aa-tRNAをリボソームに結合させる。一方、EF-1 $\beta\beta'\gamma$ は、EF-1 α ・GDPから、EF-1 α ・GTPを再生させるGDP/GTP交換反応を触媒する。我々は、イネおよびコムギのEF-1 β および β' に関して、EF-1 β' には他の真核生物EF-1 δ および β (植物の β および β' に相当する) に存在するカゼインキナーゼII(CK II)によるリン酸化部位が存在しないこと^{1, 2)}、EF-1 β のセリン残基はCK IIによるリン酸化を受けるが、EF-1 β' は受けないこと³⁾等の特徴を明らかにしてきた。今回、新たにイネEF-1 β cDNAクローンを単離し、他の真核生物EF-1 δ に存在するリン酸化部位中のセリン残基およびロイシンジッパー構造が存在しない等の特徴を見出した。このことは、イネEF-1 β のCK IIによるリン酸化部位は他の真核生物と異なる位置にあることを示唆している。イネのEF-1 β と β' はアミノ酸のレベルで60%の相同性を有し、特にC末側半分の領域では81%と高かった。また、イネEF-1 β のC末側半分の領域は、他の真核生物EF-1 $\delta\beta(\beta\beta')$ とも51%から77%の相同性を有していたが、大腸菌EF-Tsとの相同性は17%と低かった。さらに、イネとコムギのEF-1 β' の相同性(79%)の方が、イネのEF-1 β と β' の相同性(60%)よりも高く、他の真核生物においてもヒトと*Xenopus*のEF-1 β の相同性(83%)の方が、ヒトのEF-1 δ と β の相同性(49%)よりも高いという特徴が見られた。これらの知見をもとに、Software Clustal Vにより作製した進化系統樹に関する結果を交え、EF-1 $\beta\beta'$ の種特異性について述べる。

¹⁾ S. Matsumoto et al. FEBS Lett. 311, 46-48 (1992)

²⁾ N. Ozumi et al. Nucleic Acids Res. 20, 5225 (1992)

³⁾ S. Matsumoto et al. Biosci. Biotech. Biochem. 57, 1740-1742 (1993)

イムノアッセイによるシュウカイドウの
 内生ジベレリン (GA) の検索
 ・無量林英行・須永恭之・丹野憲昭・安部守
 (山形大・理・生物)

これまで一般に報告されているジベレリン (GA) に対する抗体は、抗原である GA を遊離酸型の状態では認識せず、GA をメチル化 (GA メチルエステル) することによってはじめて認識することが可能となる。そのため GA のイムノアッセイに供するサンプルはすべてメチル化を行わなければならなかった。今回我々は Nakajima 等 (1991) の方法に倣って GA をメチル化せずに認識できる抗 GA ポリクローナル抗体を作製した。この抗体を用いたラジオイムノアッセイ (RIA) では 1 pmol ~ 30 pmol の遊離酸型 GA を検出することが可能であり、またエンザイムイムノアッセイ (ELISA) での計測範囲は 1 pmol ~ 300 pmol であった。これらのことからこの抗体を用いたイムノアッセイは植物体の内生 GA 量の検出・定量に用いることが可能であることが解った。そこで得られた抗体をシュウカイドウ (*Begonia evansiana*) の茎葉の内生 GA の検索に用いた。

シュウカイドウのムカゴは、ナガイモのムカゴと同様に GA によって休眠が深まるという他の植物の休眠とは異なる特徴を持っており、GA の作用機作を探るための興味ある材料であると考えられる。以前より、我々は GC-MS (ガスクロマトグラフィー質量分析法) によりシュウカイドウの未熟果実及び茎葉から内生 GA の同定を試み、その結果未熟果実からは GA3、茎葉からは GA19 を同定した。しかし、茎の伸長やムカゴの休眠に、より密接に関わると考えられ、その存在が予想されていた GA1、GA4 は同定されなかった。そのため GC-MS より検出感度の高い ELISA を用いてシュウカイドウの茎葉 (茎葉はムカゴに比べて多量に得やすいので、微量の内性 GA を抽出するのに都合がいい) の内性 GA の検出を試みた。

シュウカイドウの茎葉から常法により得られた酸性酢酸エチル分画を ODS-HPLC で分画・精製した。得られた各分画を ELISA に供したところ、その保持時間から GA1、GA19、GA4 に相当する分画にイムノ活性が認められた (活性の強さは GA4 相当分画 > GA1 相当分画 > GA19 相当分画)。これらの結果はシュウカイドウの茎葉に内生 GA として GA4 が存在することを示唆している。

2.1

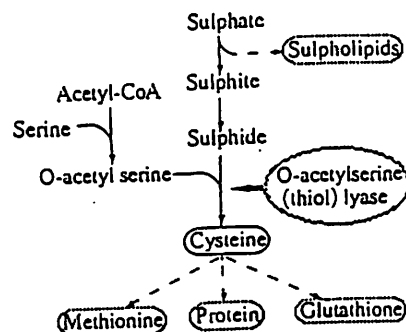
小麦のシステイン合成酵素遺伝子を導入したタバコの

硫化水素への抵抗性

中村道美、S.Youssefian、佐野浩

(秋田県立農業短期大学附属生物工学研究所)

O-acetylserine(thiol)lyase(EC4.2.99.8)は植物や原核生物のシステイン生合成経路におけるかなめの酵素である。この酵素をコードする遺伝子、*cysI*を小麦のcDNAライブラリーより単離した。これはバクテリアに存在する、*cysK*という遺伝子に似ていた。cDNAの長さは1371bpで、コーディング領域は、975bpであった。DNA配列より演繹されるタンパク質は325個のアミノ酸からなり、ホモロジー検索をしたところ、大腸菌とサルモネラ菌のO-acetylserine(thiol)lyaseと53%の相同性がみられた。



このアミノ酸配列を基に、*cysI*はO-acetylserine(thiol)lyaseを暗号化すると推定した。そこで、われわれは、本酵素の補因子であるピリドキサールの結合領域を持ってO-acetylserine(thiol)lyaseAとBが欠落した大腸菌(NK3)を用いて組換え実験をおこなった。プロモーターには*lacZ*を使用し、システインを含まないLB培地で培養したところ、*cysI*をセンス方向に導入した大腸菌のみが増殖した。システインを含んだプレートでは組換え体及び非組換え体ともに増殖した。

*cysI*にCaMV35Sプロモーターをつなげてセンス方向とアンチセンス方向にこの遺伝子をタバコに導入した。サザン分析において、1コピーから数コピーの小麦の遺伝子を確認できた。ノーザン分析でも葉や根にも*cysI*の高い発現が見られた。センス導入の組換えタバコの葉の抽出液によるO-acetylserine(thiol)lyase活性はコントロールのタバコに比べ、3~5倍であった。

センスタバコにおけるO-Acetylserine(thiol)lyase活性が高いということから、硫黄濃度に対する反応に差があるのではないかと仮定して、 H_2S ガスで処理したところ、全ての検体は白くたち枯れたが、数日後に、センスタバコのみが新しい芽を出して回復してきた。

◎ 葉の構造が面白い

22

海産種子植物アマモ葉組織の耐塩性について

新井 正善 (秋田県生物資源センター)

海草と呼ばれる単子葉植物群は、種子植物の中でも、海水中に生育するという点で、極めて特異的な存在といえる。植物の耐塩性を調べるのには様々な方法が考えられるが、常時海中に生育する海草の性質を調べる事は、植物の耐塩性研究の有効な1手段となるであろう。本研究では、海草の中でも最も広く分布する種の1つであるアマモ (*Zostera marina* L.) の葉組織の耐塩性に係わる諸性質について調べた。

【植物材料】 アマモの栄養生長型シュートの基部より約15cmの範囲にある葉を実験に用いた。葉は、その成熟度に応じ、次のように、3段階に分けて実験を行った。

(1)未成熟葉組織：基部にある生長点に最も近い部分(0-5cm)で、白色または黄白色の柔らかい葉組織、(2)若葉組織：未成熟葉組織よりもやや成熟した部分(生長点から5-10cm)で、黄緑色をした葉組織、(3)成熟葉組織：生長点から最も離れた成熟した部分(生長点から10-15cm)で、緑色の硬い葉組織。

【実験方法】 1)原形質分離の観察：1cm角に刻んだ各葉組織を、培地を入れたガラスシャーレ内で24時間培養後、顕微鏡下で原形質分離の有無を調べた。

2)浸透圧測定：各処理濃度の人工海水、次いで、蒸留水で洗浄後、濾紙で余分な水分を拭い、-30℃のフリーザー中で凍結保存後、融解させた各組織の搾汁を得、これを試料として蒸気圧型浸透圧計で測定した。

3)培地の作製：各組織の培養には、市販の人工海水、人工海水培地(1/2濃度のMS培地に、3%ショ糖および人工海水と同程度の主要塩類を加えた培地)、および、MS培地を元に改変し、種々の塩濃度の培地を作製した。

4)耐塩性の検定：表面殺菌した各組織を、人工海水、人工海水培地および改変MS培地で培養後、TTC還元活性を測定した。

【結果】 1)葉組織細胞の原形質分離：成熟が進んだ組織の細胞ほど原形質分離は起こり難く、成熟葉組織では1.0 M NaCl中でも観察されなかった。また、溶液の種類により、原形質分離の起こる度合いが異なる現象が観察された。

2)人工海水濃度と各組織の浸透圧：成熟した組織ほど浸透圧変化の度合いが大きかった。また、内側の葉(より若い葉)を保護していると考えられる葉鞘組織の浸透圧変化は調べた組織の中で最も小さかった。

3)葉組織の耐塩性評価：成熟した組織ほど、処理した培地中の塩分濃度増加に伴うTTC還元活性の低下が小さく、耐塩性の高いことが示唆された。また、成熟した組織ほど、より高濃度の塩分処理によってTTC還元活性が上昇する現象が観察された。

【考察】 本実験から、アマモの葉組織では、成熟度により耐塩性の異なることがわかった。葉組織は、葉鞘に保護されている耐塩性の低い未成熟な状態から、成熟するのに伴い、耐塩性が高められていることが示唆された。

23

仙台市綱木山のモミ・イヌブナ優占林分. 1. 種組成と主要木本種の更新特性

°平吹喜彦・阿部功之* (宮城教育大・生物、*東北緑化環境保全(株))

わが国の植生帯の配列構造を論じる際、研究者の見解に大きな違いが認められる領域に「中間温帯」(鈴木, 1961)がある。人類が植生に対して大規模な破壊や改変を加える直前、仙台平野に隣接する丘陵地一帯はこの中間温帯林によって覆われていたと考えられている(吉岡, 1952a, b, 1953; 菅原, 1978)が、その実体の解明はまだ不十分である。本講演ではまず、仙台市綱木山の温帯混交林における毎木調査の結果を報告する。その上で、1) 吉岡(1952a, 1953)のいうモミ・イヌブナ林や平吹(1990)が調べた青葉山のカシ類が混生する温帯混交林などと、種組成に関して比較を行うとともに、2) 主要構成種の更新特性や調査林分の成立過程を解析した結果に言及する。

調査地の概況と調査方法: 1992年、仙台市青葉区松倉にある綱木山国有林・第57林班 ほぼ1小班の発達した林相を呈する自然林内(38° 15'N, 140° 48'E; 海拔 約260 m)に方形区(50×50m)を設置し、毎木調査を行った。生木(樹高 1.3m以上)に関しては種名、胸高直径、樹高、樹形(萌芽幹の数、幹の傾斜や枝張りの状態)、被陰数(Ogawa et al., 1965; 平吹, 1990)を、枯死木に関しては可能な限り生木と同じ基準・項目においてデータを収集し、枯死状態(幹折れ・立枯れ、根返り、伐採)をも把握するよう努めた。

種組成と生育密度、胸高断面積合計: 毎木調査によって確認された種数は56、生育密度は961個体/0.25ha、幹総数は1570本であった。全個体の胸高断面積合計は37.42 m²/haで、もつとも優勢なモミが55.4%を占め、イヌブナ(7.8%)、カヤ(4.7%)と続いた。常緑広葉樹(高木・亜高木種)は、出現しなかった。

胸高直径階分布: 生木の胸高直径階分布は、5.0cm以下の幹が全体の74.5%を、10.0cm以下の幹が89.0%を占めて、逆J字型の分布を示した。胸高直径が30.0cmを超える幹は、モミ(23本)、カヤ(2本)、アカマツ(2本)、イヌブナ(1本)の4種だけに見い出され、胸高直径の最大値は順に85.5cm、59.5cm、58.0cm、33.0cmであった。調査区で確認できた枯死木は246本で、胸高直径階分布(一部は基部直径で代用)はやはり逆J字型の分布を示した。そのうちケヤキ4本とカスミザクラ1本、種名を特定できなかった幹13本は腐朽の進んだ切株で、基部直径は11~40cmであった。

主要構成種の更新特性: 生木については胸高直径階分布や被陰の度合、個体あたりの萌芽幹数に、枯死幹については胸高直径階分布や死亡原因に着目した解析を行い、7型の更新様式を区分した。とりわけ、1) モミやカヤにおける類似サイズからなる稚樹集団の存在、2) イヌブナにおける萌芽に由来する稚樹集団の存在、3) 林冠下で生活する亜高木・低木種(アワブキ、マンサク、シラキ、ヤブムラサキ、ムラサキシキブなど)における散発的な萌芽交換機構の存在、4) 先駆的樹種(ミズキ、ヤマウルシ、クサギ、キブシ、コゴメウツギなど)における小規模林冠ギャップ(100m²以下)に対応した実生更新機構の存在を具体的に示し得たことは、今後、当地域の温帯混交林や植生帯の動態を考究してゆく上で有用であると考えられる。

13:15.

耕地雑草
帰化植物

24

ダム湖湖岸に発達する植物群落

°竹原明秀・菅原亀悦（岩手大・人社・生物）

一般にダム貯水池（ダム湖）は天然の湖とは異なり、人為的管理下にあり、年間を通して水位変動が大きい。特に制限水位方式で運用されているダム湖では季節による水没と露出が繰り返される水位変動域（湖岸法面）が広がり、耐冠水性・耐水没性の高い植物からなる特異的な植生がみられる。本報では、湖岸法面に発達する群落の構造と分布を明らかにし、そこに生育する植物と水位変動によって制限される生育可能な期間との関連などを報告する。

調査は岩手県湯田ダム（1966年完成）のダム湖湖岸法面において、1991年と1992年の最低水位時（9～10月）に行った。水際から内陸方向に向かって7本の帯状区（長さ118～330m、幅2m）を設置し、地形測量と植生調査（全639株）を行った。

ここでの水位高の変動幅は20m以上に達し、年2回（2～3月と7～10月）、広い面積にわたって露出面が出現する。ここに発達する群落は以下のようであった。

A. 1年生草本群落（一般に路傍や水田、休耕田などの湿性な立地に生育する耕作地雑草や帰化植物などが優占する群落、水際や強度に攪乱を受けた立地に発達）：オオオナモミ群落、イヌビエ群落、オオブタクサ群落、ヌカキビ群落、ハリイ群落

B. 多年生草本群落（高茎草本を主体とし、一般に河辺や湿性に発達する群落、本来の河岸や強度の攪乱を受けていない耕作跡地などに発達）：ツルヨシ群落、ヨシ群落、オギ群落、イタドリ群落、エゾミソハギ群落

C. 低木林（砂防や緑化用に播種・植栽されたイタチハギが逸出し、上記の群落に侵入し、形成された群落、攪乱を受けた荒地に成立）：イタチハギ群落

これらの群落を構成する主要種の分布を表1に示す。植物は生育可能な露出期間が30日以上の上立地から出現し、先駆的にイヌビエ、オオオナモミなどの実生がみられる。70日以上の上立地では多種の1年生草本が出現し、115日以上の上立地からは多年生草本、イタチハギが出現する。ヨシ、イタドリ、オギなどの群落優占種は130日以上の上立地から出現するようになるが、ここでは水際に生育しているイヌビエ、トキンソウ、オオニワホコリなどの1年生草本はほとんど出現しなかった。

以上、湖岸法面の植生上の特徴は帰化植物が高い優占度で出現し、露出期間の長短によって種・群落の分布が帯状となっていることである。

表1 主要種の分布と生育期間（5月～10月：184日）の露出日数

海拔高 (m)	218	221	224	229	233	区	種	備
露出期間 (日)	33	70	115	138	155			
露出率 (%)	18	38	63	75	85	数	数	考
イヌビエ	*****					8	108	1年草
トキンソウ	*****					6	66	1年草
サナエタデ	*****					5	45	1年草
エゾノサヤヌカグサ	*****					5	78	多年草
オオニワホコリ	***					5	66	1年草
タイヌビエ	****					4	60	1年草
アキメヒシバ	*****					7	173	1年草
オオオナモミ	*****					7	426	1年草
アメリカセンダングサ	*****					7	413	1年草
ヌカキビ	*****					7	360	1年草
クサレダマ	*****					5	213	多年草
エゾミソハギ	*****					5	47	多年草
コブナグサ	*****					7	162	1年草
エノコログサ	*****					6	144	1年草
ツルマメ	*****					7	146	1年草
オオブタクサ	*****					7	344	1年草
イタチハギ	*****					7	288	低木
ヒメシダ	*****					5	144	多年草
アメリカネナシカズラ	****					7	106	1年草
ツルヨシ	**					5	81	多年草
アゼスゲ	*					4	89	多年草
オギ	**					3	43	多年草
ヨシ	****					4	132	多年草
イタドリ	****					6	125	多年草

日本植物学会東北支部第7回（秋田）大会

参加者名簿

（1993年11月15日現在）

氏名	所属	大会参加 ¹⁾	一般発表 ²⁾	懇親会
[シンポジウム講演者]				
梶田 忠	東北大・理・生物	○		○
根本 智行	東北大・理・生物	○		○
須田 裕	岩手大・教育・生物	○	◎	○
[一般参加者]				
青森県				
佐藤 進一	弘前大・理・生物	○	◎	○
三浦 昭雄	青森大・工・生物工学	○		○
岩手県				
江尻慎一郎	岩手大・農・細胞育種		○	
小岩 弘之	岩手生物工学研センター	○		○
菅原 亀悦	岩手大・人文社会・生物		○	
席 時熊	岩手大・農・細胞育種		○	
竹原 明秀	岩手大・人文社会・生物	○	◎	○
照井 啓介	岩手大・教育・生物	○	○	○
照井 儀明	岩手大・農・細胞育種	●	◎	
松本 省吾	岩手大・農・細胞育種	○	○	
蓬田 英俊	岩手県林業技術センター	○		
秋田県				
新井 正善	秋田県生物資源センター	○	◎	○
猪川 倫行	筑波大・生物		○	
大屋 俊英	秋田県生物資源センター	○	◎	○
加藤 君雄		○		
鎌田 郁子	秋田県生物資源センター	○		
川野辺英昭	秋田大・教育・生物	○		○
菊地 卓弥	大館鳳鳴高校	○		○
佐々木 揚	秋田県林業技術センター	○		○
佐野 浩	秋田農短大・生物工学研		○	
Shohab Youssefian	秋田農短大・生物工学研		○	
高田 順		○		○
高橋 祥祐	秋田県博物館	○		○
田村 晃	秋田県農業試験場	○		○
中村 道美	秋田農短大・生物工学研	○	◎	
増田 清	秋田農短大・生物工学研	○		○
森村 洋子	恵泉短大		○	
山岡 剛	秋田大・教育	○		○
宮城県				

阿部 功之	東北緑化環境保全(株)		○	
阿部 文快	東北大・理・生物		○	
雨貝 愛子	東北大・理・生物	●	◎	○
磯野 邦夫	東北大・情報科		○	
大瀧 保	東北大・遺伝生態研	○	◎	○
大橋 広好	東北大・理・生物	○	○	○
大場 健一	東北大・遺伝生態研	●	◎	○
太宮 徹	東北大・理・生物	●	◎	○
大脇 頼子		○		
岡上 伸雄	東北大・理・生物	○	◎	
小澤 正一	東北大・理・生物		○	
片岡 博尚	東北大・遺伝生態研	○	◎	○
Galina Lazarova	ブルガリア科学アカデミー		○	
河合 忍	東北大・理・生物		○	
駒嶺 穆	日本女子大・理・物質生物		○	
後藤 伸治	宮教大・生物	○	◎	○
杉山 宗隆	東北大・理・生物	○	◎	○
竹能 清俊	東北大・農・園芸	○		○
遠田 宏	東北大・植物園	○	◎	○
内藤 俊彦	東北大・植物園	○	◎	○
朴 完根	東北大・理・生物	●	◎	○
平吹 喜彦	宮教大・生物	○	◎	○
福井 丈	東北大・遺伝生態研	●		○
福田 裕穂	東北大・理・生物		○	
前田 靖男	東北大・理・生物	○	◎	○
南 淳	東北大・理・生物	●	◎	○
宮崎 厚	東北大・遺伝生態研	○	○	○
山崎 裕	東北大・遺伝生態研	●	◎	○
山形県				
安部 守	山形大・理・生物	○	○	○
井田 譲	山形大・理・生物	●	◎	○
加藤 良一	山形大・教育・生物	○		○
黒沢 浩	山形大・理・生物	●		○
須永 恭之	山形大・理・生物	●	○	○
田丸 一成	山形大・理・生物	●		○
丹野 憲昭	山形大・理・生物	○	○	○
菱沼 佑	山形大・理・生物	○	◎	○
無量林英行	山形大・理・生物	●	◎	○
吉田 直史	山形大・理・生物	●		○
福島県				
櫻村 利道	福島大・教育	○		○

1) ○: 一般、●: 学生 2) ◎: 発表者、○: 連名者