

日本植物学会東北支部
第10回（仙台）大会

講演要旨集

Abstracts of the 10th Annual Meeting
of the Botanical Society of Japan, Tohoku Branch
in SENDAI

開催日：1996年12月13日（金），14日（土）
会場：東北大学理学部附属植物園本館

日本植物学会東北支部
1996年 仙台

日本植物学会東北支部第10回(仙台)大会 一般講演プログラム

日時：1996年12月13日(金)，14日(土)

場所：東北大学理学部附属植物園本館

第1日 12月13日(金)

13:30 開会の挨拶

- 1) 13:40 極相林の更新と埋土種子の役割-朝日山系角楯沢ブナ林の場合-
川田昌弘, 辻村東國(山形大・理・生物)
- 2) 13:55 魚取沼の沼沢植生とその動態
山本美奈¹, 平吹喜彦¹, 大友敬雄², 飯泉 茂³
(¹宮教大・生物, ²東北大・理・植物園, ³東北学院大・教養)
- 3) 14:10 ブナ林下層低木4種の個体群動態(1)
菅野 洋¹, 原 正利², 平吹喜彦¹, 竹原明秀³
(¹宮教大・生物, ²千葉中央博, ³岩手大・人文社会科学)
- 4) 14:25 発生後4年間における数本のスギ一次シュートの成長と分岐
宮浦真澄(平岡森林研究所)
- 5) 14:40 邦産フクジュソウ属植物の分化VI 気孔の大きさ, 葉の形状および小花柄の構造
須田 裕(岩手大・教育・生物)

14:55 休憩(10分)

- 6) 15:05 東北地方における温泉藻類の生育分布と種組成
近藤貴晴, 原 慶明(山形大・理・生物)
- 7) 15:20 形態および酵素多型から見た緑藻アノオサの種内変異
土井考爾, 原 慶明(山形大・理・生物)
- 8) 15:35 *Rhodella* 属藻類(紅色植物門)の分類と系統 原 慶明
原 慶明¹, 横山亜紀子²(¹山形大・理・生物, ²東北大・院・理・生物)
- 9) 15:50 ヨーロッパのヤマノイモ科植物 *Tamus* 属の休眠性, 特にジベレリン誘導休眠について 北澤由美
北澤由美¹, 丹野憲昭¹, 岡上伸雄²
(¹山形大・理・生物, ²東北大・院・理・生物)
- 10) 16:05 高温による種子の発芽抑制とABA含量の変化
遠藤貴司, 吉岡俊人, 佐藤 茂(東北大・農・環境適応)

16:20 休憩(10分)

- 11) 16:30 アグロバクテリウムAK-6b遺伝子によるホルモンフリー培地でのタバコの再分化 我彦広悦
我彦広悦, 峯村昌代(秋田農短大・生物工学研)
- 12) 16:45 道管前駆細胞で発現するTED3遺伝子の発現調節と機能
出村 拓¹, 岡澤立夫¹, 五十嵐恵², 福田裕穂²
(¹東北大・院・理・生物, ²東京大・理・植物園)
- 13) 17:00 シロイヌナズナの種子に含まれる成長促進物質
後藤伸治(宮教大・生物)

根毛のこと?

- 14) 17:15 毛状根におけるカルモジュリン依存性のタンパク質磷酸化酵素 17:30-45.
奥山かおり, 加藤良一, 鈴木 隆 (山形大・教育・生物)
- 17:30 東北支部総会 議長依頼 12.9.96. OK. 宮崎氏よりtelあり.
18:30 懇親会 (大学生協文系食堂グリル「ルポ」)

第2日 12月14日(土)

- 15) 9:00 ナス科クコ属の種間系統関係と生物地理
福田達哉, 横山 潤, 大橋広好 (東北大・院・理・生物)
- 16) 9:15 小笠原諸島におけるイチジク属植物とその送粉昆虫の種分化
横山 潤¹, 大橋広好¹, 加藤雅啓² ママヒロ
(¹東北大・院・理・生物, ²東京大・院・理学系・生物科学)
- 17) 9:30 最終氷期トウヒ属およびカラマツ属植物化石のDNAを用いた系統解析の
試み カズタカ
小林和貴, 横山 潤, 鈴木三男 (東北大・院・理・生物)
- 18) 9:45 日本最古の双子葉木材化石
高橋賢一¹, 鈴木三男 (東北大・院・理・生物)
- 19) 10:00 環孔材と散孔材の初期道管形成とリーフフェノロジー
平野 亮, 鈴木三男 (東北大・院・理・生物)
- 10:15 休憩 (10分)
- 20) 10:25 粘菌 *Dictyostelium mucoroides* の接合子形成に関する遺伝子の単離・同定
雨貝愛子 (東北大・院・理・生物)
- 21) 10:40 粘菌細胞における増殖/分化の切り換えにおいて特異的に発現する遺伝子
蔡 洙天, 前田靖男 (東北大・院・理・生物)
- 22) 10:55 粘菌細胞における飢餓応答は $[Ca^{2+}]_i$ の上昇によって誘起される
田中由岐子, 板倉 龍, 雨貝愛子, 前田靖男 (東北大・院・理・生物)
- 23) 11:05 粘菌細胞における飢餓応答遺伝子をREM法により単離・同定する試み
板倉 龍, 田中由岐子, 前田靖男 (東北大・院・理・生物)
- 24) 11:20 青色光局所照射が誘発するフシナシミドロの同調的核分裂
高橋文雄¹, 菱沼 佑², 片岡博尚¹ (¹東北大・遺生研, ²山形大・理)
- 11:35 休憩 (10分)
- 25) 11:45 接合菌類ヒゲカビの生活環における細胞骨格の分布
田部 茂, 大瀧 保 (東北大・遺生研)
- 26) 12:00 ヒゲカビの接合子形成における光阻害
山崎 裕, 片岡博尚, 宮寄 厚, 大瀧 保 (東北大・遺生研)
- 27) 12:15 オナモミ種子組織に分布するβ-シアノアラニン合成酵素 α -バクテロ
丸山明子, 石沢公明 (東北大・院・理・生物)
- 28) 12:30 ガマ (*Typha latifolia* L.) の嫌気耐性とアルコール発酵 誘の用法.
一瀬成広, 石沢公明 (東北大・院・理・生物)
- 29) 12:45 無酸素条件下で成長する水生植物の生理 → 13:15
石沢公明, 村上正剛, 川上祐司 (東北大・院・理・生物)
- 13:00 閉会

...の??

○ 小島 啓子
デントウ 啓子

プログラム訂正のお知らせ

第2日の講演日程の中に、講演時間に関する誤りがございました。誠に申し訳ありませんが、23番目以降の発表時間を以下のように5分ずつ繰り下げるように訂正させていただきます。プログラム編成上の不手際で皆様にご迷惑をおかけいたしましたこと、お詫び申し上げます。

日本植物学会東北支部
第10回仙台大会実行委員会

- 20) 10:25 粘菌 *Dictyostelium mucoroides* の接合子形成に関する遺伝子の単離・同定
雨貝愛子 (東北大・院・理・生物)
- 21) 10:40 粘菌細胞における増殖/分化の切り換えにおいて特異的に発現する遺伝子
蔡 洙天, 前田靖男 (東北大・院・理・生物)
- 22) 10:55 粘菌細胞における飢餓応答は $[Ca^{2+}]_i$ の上昇によって誘起される
田中由岐子, 板倉 龍, 雨貝愛子, 前田靖男 (東北大・院・理・生物)
- ★23) 11:10 粘菌細胞における飢餓応答遺伝子をREMI法により単離・同定する試み
板倉 龍, 田中由岐子, 前田靖男 (東北大・院・理・生物)
- ★24) 11:25 青色光局所照射が誘発するフシナシミドロの同調的核分裂
高橋文雄¹, 菱沼 佑², 片岡博尚¹ (¹東北大・遺生研, ²山形大・理)
- ★ 11:40 休憩 (10分)
- ★25) 11:50 接合菌類ヒゲカビの生活環における細胞骨格の分布
田部 茂, 大瀧 保 (東北大・遺生研)
- ★26) 12:05 ヒゲカビの接合子形成における光阻害
山崎 裕, 片岡博尚, 宮寄 厚, 大瀧 保 (東北大・遺生研)
- ★27) 12:20 オナモミ種子組織に分布するβ-シアノアラニン合成酵素
丸山明子, 石沢公明 (東北大・院・理・生物)
- ★28) 12:35 ガマ (*Typha latifolia* L.) の嫌気耐性とアルコール発酵
一瀬成広, 石沢公明 (東北大・院・理・生物)
- ★29) 12:50 無酸素条件下で成長する水生植物の生理
石沢公明, 村上正剛, 川上祐司 (東北大・院・理・生物)
- ★ 13:05 閉会

↓

大会に参加される方へ

- 1) 会場入口の受付で参加手続きを済ませて下さい。受付は、13日(金)は12時30分から、14日(土)は8時30分より行います。

当日申込の場合の諸経費は次の通りです。

大会参加費：一般 1,500円, 学生 1,000円

懇親会費：一律 2,000円

- 2) 大会係員は黄色のリボンをつけています。ご不明の点は係員までお尋ね下さい。
- 3) 講演会場内は禁煙となります。ご協力お願いいたします。会場の一角に軽い飲み物を用意いたしますので、ご利用下さい。
- 4) 会場までの交通

仙台市営バス：西口バスプール9番のりばより、以下の系統番号のバスを利用して「扇坂」で下車し、下図にしたがっておいでください。

仙台駅から扇坂までの所要時間は、15～20分程度です。

W2-3 (緑が丘 (広瀬通り, 工学部経由))

W3-2 (西の平 (工学部, 動物公園経由))

W7-1 (青葉城址循環 (工学部経由))

W8-2 (宮教大 (理学部, 工学部経由))

W8-3 (青葉台 (工学部経由))

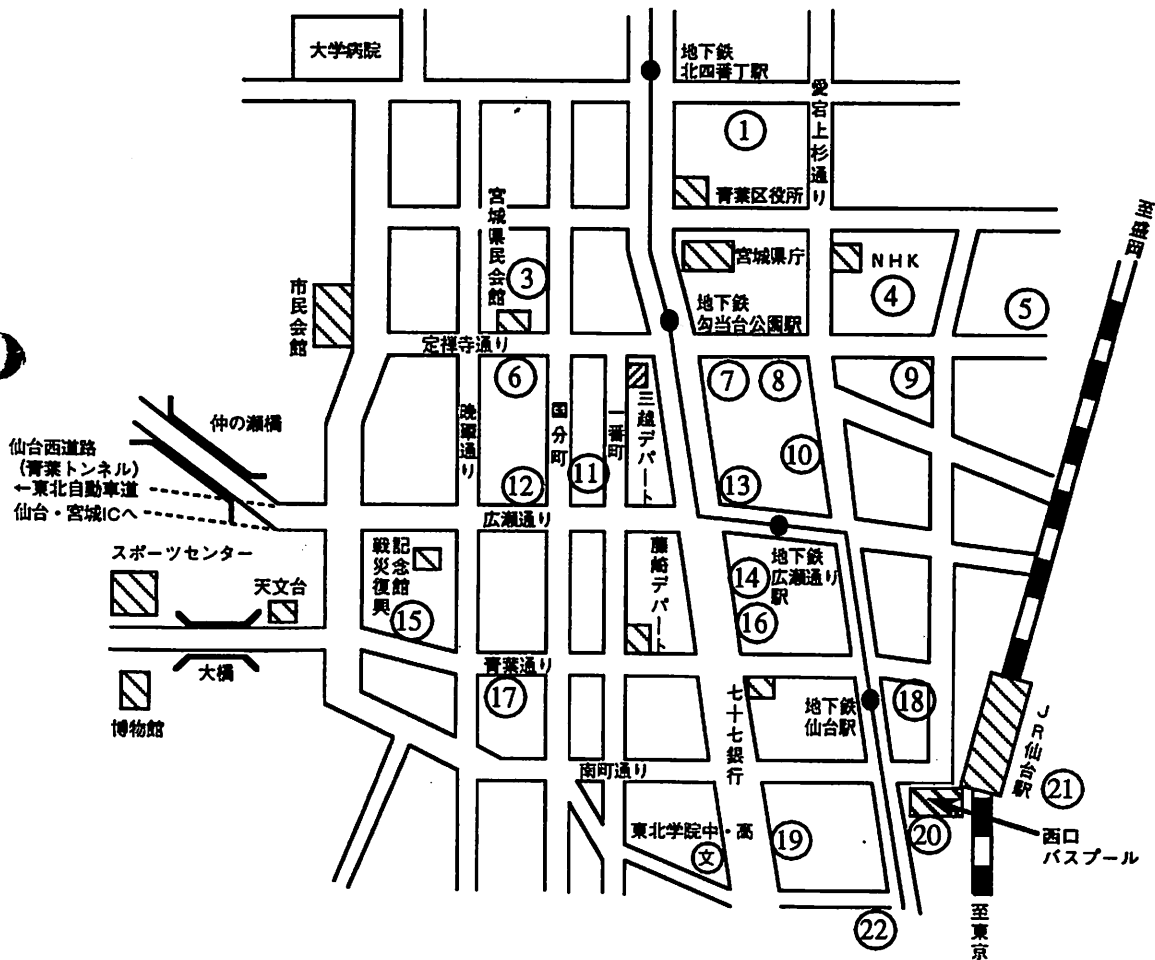
W8-4 (成田山 (理学部経由))

自家用車でおいでになる方は、植物園本館前の駐車場をご利用下さい。



仙台駅周辺のホテルおよび共済宿舎

- 1) パレス宮城野 (警察) 022-265-2223
- 2) 仙萩閣 (建設) 022-222-6345
- 3) 勾当台会館 (地方公務員) 022-222-3301
- 4) KKRホテル仙台 (国家公務員) 022-225-5201
- 5) ホテル白萩 (公立学校) 022-265-3411
- 6) 仙台ゴールデンパレス 022-267-2121
- 7) 三井アーバンホテル仙台 022-265-3131
- 8) ホテル仙台プラザ 022-262-7111(代), 022-262-8161(予約)
- 9) ホテルメイフラワー仙台 022-262-5411
- 10) 法華クラブ仙台 022-224-3121(代), 0120-123489(予約)
- 11) ホテルユニバース仙台 022-261-7711
- 12) ホテルリッチ仙台 022-262-8811
- 13) 江陽グランドホテル 022-267-5111
- 14) ホテルセンチューリー仙台 022-221-8111(代), 022-227-5151(予約)
- 15) 仙台第1, 第2ワシントンホテル 022-222-2111(代), 022-264-0861(予約)
- 16) 東京第一ホテル仙台 022-262-1355(代), 022-261-6651(予約)
- 17) 仙台東急ホテル 022-262-2411
- 18) 仙台ホテル 022-225-5171
- 19) 仙台国際ホテル 022-268-1111(代), 022-268-1112(予約)
- 20) ホテルメトロポリタン仙台 022-268-2525
- 21) 仙台ガーデンパレス (私立学校) 022-299-6211
- 22) 仙台弥生会館 (JR) 022-227-9515(代), 022-227-9518(予約)



座長一覽

第1日 12月13日(金)

一般講演

- | | | | |
|-----------|-------------|-------|--------------|
| 1) ~ 5) | 13:40~14:55 | 樫村 利道 | (福島大・教育・生物) |
| 6) ~ 10) | 15:05~16:20 | 後藤 伸治 | (宮教大・生物) |
| 11) ~ 14) | 16:30~17:30 | 前田 靖男 | (東北大・院・理・生物) |

第2日 12月14日(土)

一般講演

- | | | | |
|-----------|-------------|-------|---------------|
| 15) ~ 19) | 9:00~10:15 | 須田 裕 | (岩手大・教育・生物) |
| 20) ~ 23) | 10:25~11:20 | 我彦 広悦 | (秋田農短大・生物工学研) |
| 24) ~ 26) | 11:20~12:15 | 原 慶明 | (山形大・理・生物) |
| 27) ~ 29) | 12:15~13:00 | 岡上 伸雄 | (東北大・院・理・生物) |

1

極相林の更新と埋土種子の役割—朝日山系角檜沢ブナ林の場合— °川田昌弘、辻村東國（山形大・理・生物）

埋土種子の組成は地上植生のそれと似ている場合があるが、異なる場合もある (Pickett and McDonnell, 1989)。極相林においては埋土種子中に地上植生と異なるパイオニアの種子が含まれているか否かによって、攪乱を受けた後の植生回復の過程が異なるものと思われる。

ブナ林の更新はササの存在の影響を受けるといわれる。Nakashizuka (1982) は、ササが少ないブナ林では、林冠下に既に存在していたブナの実生がギャップ内で成育する実生バンク型更新が起こり、ササが多い場合には、ギャップ形成後のササの繁茂によってブナの実生の成育が阻害され、ササの一斉枯死後にヤマウルシやタラノキなどのパイオニア種が侵入することから始まる二次遷移が起こると推測した。また Nakagoshi (1984) は、大型のブナの枯死によって形成されたギャップでは、土壌中に既に存在していた埋土種子（キイチゴ属）によってギャップ更新が始まると述べた。しかし、これらの研究では、パイオニアとしてギャップに侵入する植物のソースがどこにあるのか、つまり大規模な攪乱の起こることが稀で、近くに二次植生のないブナの原生林でもそのようなパイオニアの種子が得られるかどうかを検討していない。

そこで本研究では、このような種子の供給と更新様式との関係を明らかにするために、二次植生からかなり離れて存在する朝日山系角檜沢のブナ原生林において、毎木調査を行うことによってその林の更新様式を推測するとともに、埋土種子調査、および種子トラップを用いた降下種子の調査を行い、地上植生との比較を試みた。

その結果、(1) 本ブナ林内のギャップのサイズはそれほど大きくなく、単木単位の倒木により形成されたものと思われた。ギャップ内にササは存在するが、オオバクロモジ、ウワミズザクラなどの樹木がササの層を越えて生育していた。これらの樹木は閉鎖林冠下でも稚樹として生育していることから、本ブナ林では稚樹バンクによる更新が行われているものと思われた。(2) 埋土種子はその種類数、種子粒数ともに少なかった。それらの種子はいずれも調査区内に母樹のある植物の種子であり、キイチゴ属、タラノキといったパイオニア植物の埋土種子は確認できなかった。(3) 降下種子についても同様に、地上植生に見られる種のみが観察された。

以上のことから、本林分においてはパイオニア種の種子の移入が恒常的には起こっていないといえる。従って、本林分のように小ギャップ更新が行われている林では、もし大規模なギャップ形成、あるいはギャップ形成に続くササの密生、枯死が起こったとしても、パイオニア樹木の侵入から始まるような更新過程が行われる可能性は低いものと考察された。

2

魚取沼の沼沢植生とその動態

⁰山本美奈¹、平吹喜彦¹、大友敬雄²、飯泉 茂³ (¹宮教大・生物、
²東北大・理・植物園、³東北学院大・教養)

魚取沼は、宮城県の北西部、奥羽山脈の一峰・翁峠の南東斜面に位置する崩壊堰止湖である (38° 38'N、140° 34'E; 海拔630m)。その形状は浅い碗状で、湖表面積が3.32ha、湖岸線延長が810m、最大水深が7.6mである (佐藤ほか、1989)。1933年には「鉄魚 (テツギョ) 棲息地」として国指定天然記念物に指定され、1979年には、その集水域内外のおよそ84haが宮城県の自然環境保全地域となって保護の手が加えられてきた。

本講演では、魚取沼の沼岸からブナ・チシマザサ群落前面にかけての領域における植生 (以後、'沼沢植生' と呼ぶ) と立地に関する成帯的構造について報告する。特に今回は、沼岸の 'ゆるぎ田代' (浮島状の植生の張り出し) に注目した。

(1) 沼を囲むように50本の調査線 (line transect) を設置し、優占種の分布状態と立地を調べた (1995年6~10月)。その結果、調査地点によって分布幅は異なるものの、湖心側から順にフトイ→マコモ→ミツガシワ→ウロコミズゴケ→オオカサスゲ→ヤチダモ・湿生低木・湿生高茎広葉草本→トチノキ・サワグルミ→ブナ・チシマザサ・チマキザサという優占種 (群) の配列が認められた。この同心円状の植生構造には、微地形 (沼岸→湿地→沖積錐→崖錐→高位斜面) と地表堆積物 (湖泥→植物体・泥炭→粘土・砂礫→礫・岩塊→粘土・砂礫) の状態が関わっていることが示唆された。

(2) 典型的な '草本性' 沼沢植生内に、一辺が50cmの方形区を連続して並べ (belt transect)、順次、出現した植物の種類と被度、水深を調べた (5帯状区; 1995年9月)。帯状区あたりに8~16種が出現し、個々の種の湖心側の分布限界は水深によって規定されていることが示唆された (例えば、ミツガシワの分布限界水深は約40cm)。

また、基線に沿って地表堆積物を適宜、柱状に掘り上げ、その組成や層構造を調べた (2帯状区; 1996年6月)。沼岸の 'ゆるぎ田代' では、湖水面にミツガシワ根茎塊→植物遺体・泥炭・泥炭質粘土層の2層が認められ、それらは層厚を減じながら湖心側に 'ひさし' 状に張り出していた。

(3) 'ゆるぎ田代' の形成に主導的な役割を果たすと推察されたミツガシワについて、さまざまな節数からなる2年生根茎の切断片をつくり、再生や伸長の状態を観察した (東北大附属植物園内の人工池で、移植個体を用いて; 1993年6~10月)。その結果、2節以上を有する根茎片では、側芽や根出芽から新根茎の再生がなされ、さらに節間から多数の根が発生する、といった旺盛な再生・成長が認められた。

また、根の伸長が及ばない深水域における成長をみると (1995年5~11月)、体制が不安定となって浮葉・根茎部分が横転を繰り返し、生育が著しく阻害されることが観察された。魚取沼の調査結果から、ミツガシワが湖心側に分布を拡大してゆく場合、固着可能な基質が水面下約40cmより浅い水域に存在することが重要であると考えられた。

3

ブナ林下層低木4種の個体群動態(1)

菅野 洋¹・原 正利²・平吹喜彦¹・竹原明秀³

(¹宮教大・生物、²千葉中央博、³岩手大・人文社会科学)

[はじめに]

森林の下層に生育する低木種は、森林生態系の欠くことのできない構成要素であるにも関わらず、その生活史については未だ研究が進んでいない。その最大の原因は、低木種には萌芽や伏条によって個体の維持や繁殖を行うものが多く、個性性を認識することが難しいことにあるが、現実には地上部の幹の動態に関してすら、ほとんど分かっていない。

演者らは、日本海型のブナ林に生育するオオカメノキ、オオバクロモジ、タムシバ、ノリウツギの4低木種を対象にして、生活史全般にわたる比較調査を行っている。本講演では、樹高(自然高) $>1.3\text{m}$ で、胸高直径 $>2.0\text{cm}$ の生きている幹集団における生育密度、サイズ・分散構造、3年間での変化について報告する。

[調査地と調査方法]

調査区(100m \times 100m)は、宮城県栗駒山の南麓に広がる日本海型のブナ極相林の一角に位置する(海拔約870m; 38° 55' N、140° 48' E)。4低木種の幹集団を対象とした毎木・追跡調査は、この調査区を細分した5m \times 5mのサブコドラートごとに、1993年10月と1996年7月に行った。調査項目は、種名、自然高、胸高直径、生育状態(開花や結実の状態、倒伏)、死亡要因(立枯れ、幹折れ、落下木による押しつぶし)である。

調査区では、散在するブナの大径木が疎な林冠を形成し、中層にウワミズザクラやハウチワカエデが認められる(Hara et al., 1991)。林床にはチマキザサやヒメモチ、ツルシキミが生育している。最深積雪は2m程度、根雪日数はおよそ160日である。

[結果]

(1) 4種の中で最も幹数が多かったのはオオカメノキで(1993年=696本、1996年=677本)、次いでオオバクロモジ、タムシバ、ノリウツギの順であった。

(2) 胸高直径階分布は、オオカメノキとオオバクロモジでL字型の分布を示した。これに対して、タムシバ、ノリウツギでは小さな幹が前2種ほど多くはなく、比較的大きなサイズの幹が存在していた。

(3) I_h 指数を用いて幹の分散状態を解析したところ、最小の区画サイズ(25m²)以下で4種ともに集中分布を示し、その中でもタムシバで、特に強い集中性がみられた。また、 ω 指数を用いて4種間で分散の重なり度を解析したところ、いずれも強い重なり合いはなく、タムシバとオオバクロモジ、ノリウツギの間で排他的な分布関係が得られた。

(4) 3年間の補充・死亡率をみると、オオバクロモジの補充・死亡率は他の3種よりも高く、主たる死亡要因は立枯れであった。これに対して、オオカメノキの補充・死亡率は低く、落下した大枝に押しつぶされて死亡したものが多かった。

4 発生後4年間における数本のスギ1次シュートの成長と分岐

宮浦 真澄 (平岡森林研)

1. はじめに

個体樹冠の葉齢構成や葉面積の空間分布は、個体樹冠の発達過程、個体および林分の機能量、林分内における個体間競争などの推定と解析に重要な情報である。演者のこれまでの研究からスギ葉の表面積はシュート長に比例することがわかった。そこでスギシュートの分岐、成長、枯死の過程について観察すれば、樹冠葉面積の空間分布の推移を解析することができる考えた。

2. 材料と方法

本研究は愛知県北設楽郡稲武町名古屋大学稲武演習林の1995年現在25年生スギ人工林で行った。林内の1個体を対象として以下の観察と定義を行った。

スギシュートのうち、緑色針葉でおおわれている部分を葉シュートと呼ぶ。針葉が枯死したシュートのうち、葉シュートを支持するものを枝シュート、支持しないものを枯死シュートと定義する。

幹から分岐して主軸を形成するシュートを1次シュートと呼ぶ。同様に、1次シュートから分岐するものを2次シュート、2次シュートから分岐するものを3次シュートなどとする。

1993年3月の観察では、1992年度に試料木の梢端部に発生した14本の1次シュートが確認された。これら14本の1次シュートとこれから分岐したすべてのシュートについて、1993年3月と1993年、1994年および1995年の12月の計4回、葉シュート長 (I_L)、枝シュート長 (I_B) および枯死シュート長 (ΔI_D) を1mmの精度で測定した。枯死シュートは毎回の測定後に切断採取した。

3. 結果と考察

各シュートについて、 ΔI_D を時間方向に積算して、各測定時までの積算枯死シュート長 (I_D) を求めた。 I_L 、 I_B および I_D の和を各測定時までの積算展開シュート長 (I) と呼ぶ。ある1次シュートから分岐した全てのシュートについて I の値を足しあわせることによって、1次シュートごとに積算展開シュート総延長 (L) を算出した。スギ葉面積はシュート長に比例すると仮定すれば、 L は、1次シュートが発生してからある時点までにこの1次シュート上に展開した葉面積に比例する。

1次シュート長 (I) と L の間には密接な関係があった。2次シュートについても同様の計算を行ったところ、2次シュート長と2次以上の積算展開シュート長の関係は、1次シュートレベルにおける I - L 関係とほとんど分離しなかった。このことはスギシュートのフラクタル性をしめすものではないかと考える。

形態の自己相似性

1996. Dec. Sendai

5

邦産フクジュソウ属植物の分化 VI.

気孔の大きさ、葉の形状および小花柄の構造

須田 裕 (岩手大・教育・生物)

前々回の第八回福島大会で演者は、①開花後の花弁・萼片の形態変化、②倍数性の変化と1分離複果あたりの瘦果数の変異、③倍数体における種子の形態的特徴の相違について報告した。

『日本産のフクジュソウ属植物では、倍数性の変化と植物体各部の形質は、どのように関連するか?』を中心課題として、今回は二倍体、三倍体および四倍体のフクジュソウの間で、①気孔の大きさはどのように変化しているか、②葉の大きさおよび形状に違いはあるか、③小花柄の構造はどのように異なるか、について検討し以下のような結果を得た。

①気孔の大きさは、14か所、41個体の平均値を比較すると、倍数体間の差異は明確とはいえ、必ずしも倍数性の高次化と平行しているとは言い難い。②つぎに17か所 437個体の調査から、葉の大きさと形状については、倍数体の中で相違はほとんど見出せない。③小花柄の構造は、15か所 47個体の観察から、髓腔の特徴と維管束周縁の厚膜組織の有無について、倍数体間に明らかな相違がある。

さらに、これらの結果と既に報告した結果を合わせ、倍数体相互の類縁関係について形態学的視点から検討を試みた。

二、三および四倍体の中で、少なくとも何れかの二者間で異なる17の特徴を取りあげて、お互いの類縁関係を分析すると、本州産のフクジュソウでは(1)自然三倍体は形態的に二倍体より四倍体に近い。(2)また、二倍体と四倍体は明確に区別できる。さらに、先行研究の結果を踏まえて、北海道産の二倍体をも含めた四者の類縁関係を考察すると、(1)北海道産の二倍体と本州および北海道産の四倍体は、染色体数と一茎当たりの着花数の二点で違うだけで形態的によく似ていること、(2)染色体数は同じでも、本州産の二倍体と北海道産の二倍体では、形態的に似ているとはいえないことがわかった。

したがって、本州産の二倍体と北海道産の二倍体を種のランクで区別して、夫々 *Adonis multiflora* Nishikawa et Ko. Ito および *A. amurensis* Regel et Radde とする西川(1989)の分類には同意できる。しかし、本州および北海道産の四倍体を、*A. ramosa* Franch. として種のランクで *A. amurensis* と区別する扱い方(西川 1989)にはやや疑問が残るように思われる。むしろ、本州および北海道産の四倍体を変種のランクに下げて *A. amurensis* Regel et Radde var. *ramosa* (Franch.) Makino とする扱いの方がより妥当である(牧野 1908)と考える。

6

東北地方における温泉藻類の

生育分布と種組成

° 近藤貴靖・原 慶明（山形大・理・生物）

温泉藻類とは温泉源口及びその周辺の岩石などの表面に、おもに青緑色の斑紋状またはマット状の群体を形成して付着し、高温の水中または飛沫に晒される環境に生息する藻類をさす（はがれて浮遊するものも含む）。それらの現存量および種類数は原核光合成生物の藍藻類が圧倒的に多く、真核光合成生物としては紅藻類と緑藻類の極く限られた種類が知られているのみである。

演者らは山形県を中心に東北地方に散在する温泉を対象に、そこに生育する温泉藻類の種組成を現地での採集標品と室内予備培養で出現した標品に基づいて調査している。とくに温泉藻類と温泉の水質、温度、pHなどの環境要因との関係を知ること、および最近の分子系統解析で、真核光合成生物の中で最も古い時代に分岐したイデユコゴメ藻群の生育分布と種組成を探查することを主な目的とした。

調査の第1段階として、1995年10月から翌年の3月にかけて、山形県下40ヶ所、群馬県草津温泉と神奈川県大涌谷を調査し、以下の結果を得た。

- 1) イデユコゴメ藻群はpHが低く、35℃以上の水温で、硫黄ないしは硫化物を主成分とする4温泉（蔵王温泉：pH1.4、姥湯温泉：pH2.8、草津温泉：pH1.7、大涌谷：pH2.4）に生育していた。しかもこれらの温泉ではイデユコゴメ藻群以外の藻は全く出現しなかった。
- 2) pHが5.6-9.2の弱酸性-弱アルカリ性の温泉（30数カ所）ではイデユコゴメ藻群は出現せず、かわりに Phormidium、Microsarcina、Halosiphon、Plectonema、Anabaena および Dichothrix 属の藍藻類が出現した。
- 3) pH6.2-7.4の中性付近の4温泉（今神、銀山、山辺、新寒河江の各温泉）から藍藻類に混じって、不動の緑藻1種が出現した。
- 4) 単離した藻の培養株を用いて、pHを1.5-8.0までの8段階に調整した実験区で、増殖の有無を調べたところ、多少のずれはあるもののそれらの生育場所のpH付近で、最もよく増殖することが判明した。

第1段階の結果を踏まえ、第2段階では対象藻類をイデユコゴメ藻群に絞り、青森、秋田、および岩手県下の多様な環境の温泉の中から事前に高温、酸性で、硫黄ないしは硫化物を主成分とする、すなわち、イデユコゴメ藻群の生育の可能性が高い温泉19ヶ所に絞って調査した。その内、10ヶ所でイデユコゴメ藻群が確認できた。現在、温泉毎のイデユコゴメ藻群（既知種は2属8種）の種組成を解析しているが、同所的に生育する種類が多く、種の同定には、少なくとも培養下で1細胞が形成する内生胞子の数を確認するため、かなりの時間を要する。今までに同定できたのは Cyanidium caldarium と C. sulphurarius のわずか2種である。

7

形態および酵素多型から見た
緑藻アナアオサの種内変異

○土井 考爾・原 慶明 (山形大・理・生物)

アオサ属藻類は、アオサ藻綱に属する大型藻の一つである。藻体は2細胞層よりなる膜状で、この形態を属の第一義的な分類形質としている。日本には少なくとも6種が生育するとされているが、なかでもアナアオサは、日本各地の海岸に普通にみられ、最も分布域が広い。ところが、この藻の藻体の大きさ、外形、厚さなどに変異が認められ、ある場合には別種と思わせる程であり、分類学的扱いを難しくしている。

静岡県下田市恵比須島には、典型的なアナアオサと共に、藻体の基部が細く柄のように伸びた、特異的な外形を持つ藻体の生育が以前から知られ、アナアオサとは便宜上区別して「エツキアオサ」と仮称している。一方、長崎県大村湾には、成熟せず栄養生長を続け巨大な藻体を形成する、「不稔アオサ」と呼ばれる特異な藻の生育が知られている。

これらの藻の呈示する形態変異や地理分布を考慮するとき、アナアオサの形態的な種内変異と単純に片付けるわけにはいかない。そこで、典型的なアナアオサを含めたこれらの藻の分類学的位置付けを明らかにする目的で、形態比較と同時に4種類の酵素(GDH, IDH, GOT, G6PDH)についての酵素多型解析を用い、遺伝学的な変異を調査した。

恵比須島の典型的なアナアオサには、GDHに二つの遺伝子型(GDH-A, GDH-B)が存在した。特に、「エツキアオサ」が混在する同島の南側の集団では、全ての個体がGDH-A型であった。さらに、北海道・東北・関東地方の16の典型的なアナアオサ集団を調査したところ、恵比須島と八戸市蕪島の集団を除き、全てGDH-A型であった。ところが、長崎県の典型的なアナアオサの殆どは、東日本では全く認められなかったGDH-D型であった。G6PDH, GOTについては、調査した集団間での明瞭な差異は認められなかった。IDHについては、蕪島の集団に特異的な遺伝子型を持つ個体の存在が認められたが、その他の集団では変異は認められなかった。

「エツキアオサ」は、すべての酵素について、同所的に生育する典型的なアナアオサと同一の遺伝子型を持ち、一方の「不稔アオサ」は、長崎周辺の多くのアナアオサ集団と共通であった。

以上の結果を踏まえて、これらの藻の形態を改めて観察すると、典型的な個体同士と比較では形態的に明瞭な差異が認められるものの、実際には中間的な形態を持つ個体が多く生育していることが明らかになった。「エツキアオサ」、「不稔アオサ」を外部形態や酵素多型からアナアオサと区別することは困難であり、それぞれを別種と判断しうる証左は得られなかった。従って、これらは全てアナアオサの種内変異と見なすのが妥当と考えられる。一方、アナアオサの集団間で、GDHのみではあるが、遺伝子頻度に地域的な差異が認められたことは、同藻の種分化や分布の中心を探索する上で重要な手掛かりとなる。

8

Rhodella 属藻類（紅色植物門）の分類と系統

・原 慶明¹, 横山亜紀子²

(¹山形大・理・生物, ²東北大・院・理・生物)

演者らはこれまで Rhodella属が所属するチノリモ目藻類を、それらの細胞内微細構造、光合成補助色素（フィコピリン）の組成、生育場所、それに関連した塩分濃度に対する増殖特性および生殖方法に依拠して分類し、1 祖先群と 5 系統群を認識した。一方、このチノリモ目藻類の分類体系の評価と紅色植物門内における系統関係をj知るために遺伝子の塩期配列の相同性に基づく分子系統学的解析を進めてきた。これらの一連の研究を纏めることは容易ではなく、確たる成果を得るに至っていない。今回はそのなかでは比較的解析の進んだ Rhodella属藻類について、それらの分類と系統に関する成果を紹介したい。

Rhodella属には現在までに 4 種 (R. maculata, R. violacea, R. grisea および R. cyanea) が記載されている。いずれの種も汽水域ないしは陸域の塩分濃度のある環境に生息し、単細胞で、厚い寒天質の外被で被われ、2 分裂で増殖する。各細胞はその中央に 1 個の星状葉緑体を持ち、その色調は鮮赤色からオリーブ緑まで、種によって異なる。なお、本属は単細胞であることに基づいて、原始紅藻亜綱、チノリモ目に所属する見解が広く受け入れられている。

Evans(1970) が R. maculataを基準種として本属を設立した際に、電子顕微鏡観察による細胞内微細構造を特徴に採用した。その結果、R. maculata と他の単細胞紅藻との違いを明瞭に示したが、取り上げた特徴を種レベルと属レベルの形質として明確に識別しなかったために、本属及び近縁の藻群の分類に混乱を招いた経緯がある。本研究では Rhodella属の 2 未記載種の知見を加え、Evansの導入した微細構造の形質を再評価し、同属藻類の分類の問題点を指摘・整理した。

紅色植物の分子系統の研究に関しては既に 18 S r DNA (Ragan et al. 1994) あるいは r b c L (Freshwater et al. 1994) 遺伝子を用いた解析が体系的に進められ、とくに真正紅藻亜綱は単系統群との結果が出ている。しかし、原始紅藻亜綱の藻類の調査は少なく、とくにチノリモ目藻類は演者らのこれまでの研究以外にはほとんどない。演者らの解析では、原始紅藻亜綱もチノリモ目も単系統を形成しないこと、1 祖先群と 5 系統群に認識した同日内の系統関係は各群毎の系統的まとまりを示すものの、祖先群と系統群の差はなく、4 系統群となること等を確認した。これらの系統関係の解析をさらに進めるには調査する種類を増やすよりも、別の遺伝子による解析を導入する方がよいと判断し、p s b A (光化学系 II 反応中心タンパクをコード) 遺伝子に基づく解析を進めている。その結果でもチノリモ目内あるいは原始紅藻亜綱内の系統関係を明らかにする有力な情報は得られなかったが、単細胞の Rhodella属を含む系統群が真正紅藻亜綱と姉妹群を形成することが判った。

9

ヨーロッパのヤマノイモ科植物 *Tamus* 属の休眠性、特にジベレリン誘導休眠について

北澤由美¹⁾，丹野憲昭¹⁾，岡上伸雄²⁾

(山形大・理・生¹⁾，東北大院・理・生²⁾)

植物ホルモンのジベレリンに特徴的な作用として休眠を打破し発芽を促進する作用がある。ところが、いくつかの植物ではジベレリン処理が発芽を抑えることが見られている。これらの植物のうちヤマノイモ属では多くの種について調べられ、ジベレリンによる発芽抑制（ジベレリン誘導休眠）は属に普遍的な性質であるらしいことが分かっている。また、この属ではジベレリン生合成阻害剤処理により自然状態の休眠が破られることから、自然状態での休眠が内生ジベレリンによって誘導されている可能性が考えられている。また、この属に特徴的なジベレリン生合成経路も明らかになっている。ジベレリンに関する特異と思われるこのような性質をどのような植物が有しているかを知ることは重要であると考え、まず、今回の研究では、このような性質がヤマノイモ科に共通する性質であるかどうかを知るため、この科の *Tamus communis* L. について、ジベレリン誘導休眠の有無を調べる実験を行なった。またその際、種子とイモの発芽条件を知る必要があるため、基本的な休眠性をも調べた。

【用いた植物】ヤマノイモ科は8属ある(表)。

Tamus 属はヨーロッパに広く分布する *T. communis* L. とカナリア諸島に固有な *T. edulis* Love. の2種よりなる。東北大学の実験圃のほぼ自然状態で栽培している10株の *T. communis* から得た種子および、その種子を発芽させ1シーズン成育させた植物体に形成されたイモを用いた。栽培している10株のものとなった種子は、種子交換制度のお世話になりベルギーの Meise 植物園から入手した。

【結果】基本的休眠性：種子は8~14°Cの狭い温度範囲でしか発芽しなかった。ヤマノイモ属の多くの種で見られるような23°C以上の高温での休眠誘導や、発芽に先立つ低温前処理の必要性などは、見られなかった。イモでは高温により二次休眠が誘導された。

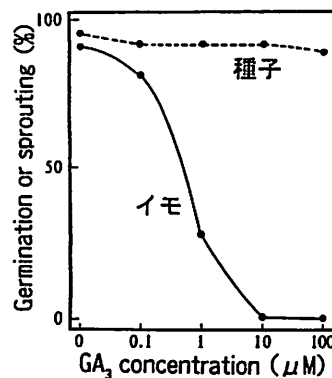
ジベレリンの作用：イモの発芽はジベレリン処理により強く抑制された(図)。この濃度依存性はヤマノイモ属のいくつかの種における結果とほぼ同じである。種子の発芽はジベレリン処理によりほとんど影響されなかった。

【まとめ】以上のように、*Tamus* 属の1種についてもジベレリン誘導休眠が見られた。ジベレリン誘導休眠はヤマノイモ科に普遍的である可能性が考えられる。今後は内生ジベレリンの関与の仕方や生合成経路などを調べるとともに、他のいくつかの属の種をも入手し調べる予定である。

T. communis のイモは、アジアの中緯度に分布するヤマノイモ属の多くの種のイモと同様に高温により二次休眠が誘導される性質をもち、また同様にジベレリン誘導休眠を示すこともわかった。しかし種子は、ヤマノイモ属の種子とは異なり、高温により二次休眠は誘導されず、またジベレリン誘導休眠をも示さない。高温により二次休眠が誘導されるものがジベレリン誘導休眠を示すことから、ヤマノイモ科の植物における高温による二次休眠の誘導は、内生ジベレリンによって制御されている可能性が予想される。

ヤマノイモ科の属

属	概略の分布域	概略の種数
<i>Avetia</i>	マダガスカル東北部	1
<i>Stenomeris</i>	マレーシア	2
<i>Tricopus</i>	インド南端 スリランカ	1
<i>Dioscorea</i>	世界の湿潤熱帯	650-800
<i>Tamus</i>	カナリア諸島, ヨーロッパ南半	2
<i>Borderea</i>	中央ピレネー	2
<i>Rajania</i>	カリブ海諸島	23
<i>Epipetrum</i>	チリーアンデス低部	4



(遠藤 貴司, 吉岡 俊人, 佐藤 茂 東北大学・農・環境適応)

高温により種子の発芽が抑制されることが知られている。ここで高温とは夏期における地表下数cmの土壤温度(30~35℃)をさす。この現象は、農作物においては播種期や栽培域を限定する要因になっており、野生植物においては発芽期を決定する要因になっている。今回、私どもは高温による発芽抑制が広範な植物種においてみられる現象であることを明らかにし、高温下におかれたときに種子内ABAが高レベルで維持されることを認めたので、その概要を報告する。

はじめに、高温による種子の発芽抑制がみられる植物種の範囲を知るために、園芸作物から野生植物にいたるまでの広範な種を用いて、高温下で発芽試験を行った。そして、20種の植物種で高温による発芽抑制の現象を確認した。また、高温による発芽抑制がみられた種のうち11種において、ABA合成阻害剤であるフルリドン进行处理することによって高温下で発芽抑制が解除されることを明らかにした。次に、この高温により発芽抑制をうけ、なおかつ、フルリドンによる発芽抑制の解除効果が顕著に見られたレタスの種子を用いて種子内のABA含量を測定した。その結果、適温下での発芽とフルリドンによる高温下での発芽においては、乾燥種子中に含まれていたABA含量が発芽率の増加とともに速やかに減少した。一方で、高温下で発芽が抑制されている種子内には高レベルのABA含量が維持されていた。これらのことから高温下で発芽が抑制されている原因の一つは種子内に蓄積された高レベルのABAであること、さらに、種子内ABA含量の調節機構が温度を制御因子の1つとしている可能性が推察された。

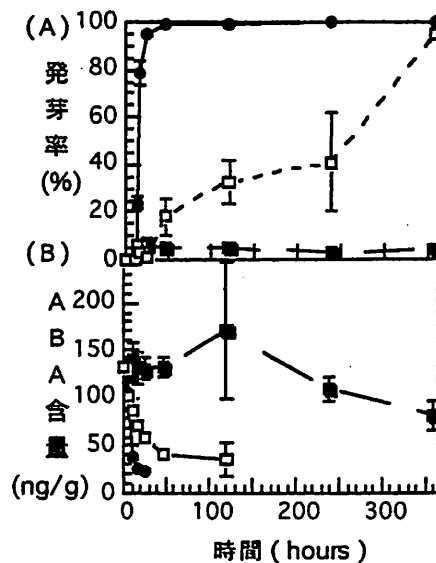


図. レタス種子の経時的な発芽率(A)と種子内ABA含量(B)の変化。レタス種子は以下の温度、培地条件下で暗黒下に置床した。
●23℃, 水
■33℃, 水
□33℃, 30 μMのフルリドン溶液

アグロバクテリウムAK-6b遺伝子によるホルモンフリー培地でのタバコの再分化

○我彦広悦、峯村昌代 (秋田県立農短大、生物工学研)

植物の根頭癌腫病は土壌細菌 *Agrobacterium tumefaciens* の感染により生じる。これは菌の持つTiプラスミド上のT-DNAが植物ゲノムに組み込まれることによる。T-DNAにはオーキシンやサイトカイニン合成およびそれら植物ホルモンの作用を調節する遺伝子群があり、その発現により腫瘍組織は培地においてはホルモンがなくても増え続ける。調節遺伝子の一つである6b遺伝子は、それ自身で、ある種の植物の茎に腫瘍を誘発したり、オーキシンやサイトカイニンの働きを強めたり、弱めたりすることが報告されているが、その分子レベルでの機能は依然として不明である。我々はその働きを調べる第一歩として、AKE10株から6b遺伝子 (AK-6bと呼ぶ) を分離し、Tiプラスミドベクター、pGA580にクローニングした。さらに腫瘍能のない、遺伝子導入用 *A. tumefaciens* LBA4404株に導入し、タバコの葉切片に感染させ、植物ホルモンを含まないMS培地で培養した。3-20%の切片よりカルスが生じ、それらの大部分は茎葉を分化した。サザンハイブリダイゼーション法により6b遺伝子の存在を確認した。別の菌から得られた6bではホルモンフリー培地でのカルス形成、再分化は報告されておらず、6bの活性が菌特異的であることがわかる。いくつかの茎葉カルスは発根し、正常な植物体となった。種子も得られ、正常に発芽した。しかしながら、見かけ上正常な植物体の葉をよく観察すると、裏側の葉脈から新たな葉が発生したり、葉の左右が非対称となるなど、奇形がいくつか観察された。得られたトランスジェニックタバコから葉切片を作り、再びホルモンフリー培地に置くと、傷口より多数の茎葉を分化し、この植物は再分化能が高いことを示している。ノーザンハイブリダイゼーションおよびRT-PCR解析により、AK-6b mRNAは茎葉分化カルスでは大量に蓄積し、成長した正常な植物体ではわずかしかなかった。このことから、AK-6bの発現はタバコの再分化の初期過程に必要であり、またタバコの成長過程においてAK-6b自身の発現が制御されていると考えられる。培地におけるサイトカイニンが茎葉を誘発するのは良く知られている。そこでAK-6bにより生じた茎葉カルスから抽出液を調製し、内生サイトカイニンレベルをバイオアッセイ法およびELISA法により測定した。いずれの場合も正常なレベルと変わりがなかった。従って、AK-6bによる茎葉形成は内生サイトカイニンレベルが上昇した結果によるのではないことが示唆される。可能性としてこの遺伝子はサイトカイニンの代謝あるいは情報伝達に関与していることが考えられる。次にオーキシンやサイトカイニンに対するAK-6bの影響を調べた。AK-6bを持つトランスジェニックタバコの茎にオーキシンあるいはサイトカイニン合成遺伝子のみを持つLBA4404を感染させたところ、いずれも大きな腫瘍を形成した。野性型タバコに同様の菌を感染させても腫瘍形成は見られないことから、AK-6bは見かけ上いずれのホルモンの働きも高めていることがわかる。

12 道管前駆細胞で発現するTED3遺伝子の発現調節と機能

○出村 拓¹、岡澤立夫¹、五十嵐恵²、福田裕穂²

(¹東北大・院・理・生物、²東京大・理・植物園)

ヒヤクニチソウの芽生えの第一葉から機械的に単離した葉肉細胞は、オーキシンとサイトカイニンを含む液体培地で培養することにより管状要素（道管・仮道管構成細胞）へと分化する。私たちはこの系を用いて、管状要素分化に関連して発現する様々な遺伝子の cDNA クローンを単離してきた。その中で、二次細胞壁の肥厚や細胞内容物の自己分解などの形態形成に先立って発現する遺伝子として単離した TED 遺伝子群（TED2, TED3, TED4）について詳細な解析を進めている。これら TED 遺伝子の mRNA は、組織内では維管束組織に局在し、TED2 mRNA は前形成層と未成熟な木部と師部に、TED3 mRNA は道管へ分化しつつある細胞（道管前駆細胞）に、TED4 mRNA は未成熟な木部に発現することがわかっている。このような形態形成に先だって発現する遺伝子を解析することは、道管分化の形態形成に先立つ過程を理解する上で大変重要であると思われる。今回は、TED3 遺伝子の発現調節機構と TED3 タンパク質の組織内での機能を明らかにするために行ってきた研究の成果を中心に報告したい。

発現調節機構は、ヒヤクニチソウゲノムライブラリーから単離した TED3 遺伝子のプロモーターと GUS レポーター遺伝子の融合遺伝子をシロイヌナズナに導入し、GUS 活性を測定することによって解析している。これまでに、維管束領域、特に道管前駆細胞での GUS 遺伝子の発現を -541bp までの TED3 プロモーター配列が制御することを明らかにした。更に、このプロモーターのデリーション断片を用いた解析から、-354bp までのプロモーターが -541bp までのプロモーターと同様の発現を制御するのに対して、-157bp までのものでは道管分化に伴う発現を制御しないことがわかった。以上の結果は、TED3 プロモーターの -354bp から -157bp までの配列に道管分化に伴った発現を制御する領域が存在することを示唆している。

TED3 タンパク質の機能は、TED3 遺伝子のアンチセンス DNA を導入したヒヤクニチソウ形質転換毛状根の形態等を調べることによって解析している。まず、アンチセンス DNA 導入により TED3 の mRNA 量が低下した毛状根の形態を調べたところ、それら毛状根の伸長成長が著しく抑制されていることがわかった。更に、透明化した毛状根のノマルスキー微分干渉顕微鏡観察によって、この伸長成長の抑制と個々の細胞の伸長抑制とに深い相関関係があることがわかった。TED3 タンパク質の配列には多数の繰り返し配列が含まれているなど、これまでに知られている細胞壁タンパク質の特徴と類似した点が多い。以上のことから、TED3 タンパク質は細胞壁タンパク質として機能し、細胞の伸長性を増大させる働きを持つことが示唆される。また、これらの結果は、維管束細胞（特に道管）の伸長が根の伸長成長を規定している可能性を示唆している。

後藤伸治 (宮教大 生物)

シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* L. Heynh.) の種子は、水に浸漬されるとただちに種皮より粘質物を分泌する。粘質物は主に種皮細胞の中央部にある隆起構造 (Central Elevation) から分泌される。隆起構造を持たない突然変異もある。分泌される粘質物には、レピジモイド様物質 (LML) が低濃度で含まれており、ヒモケイトウやシロイヌナズナの下胚軸の伸長を促進する作用を示す。

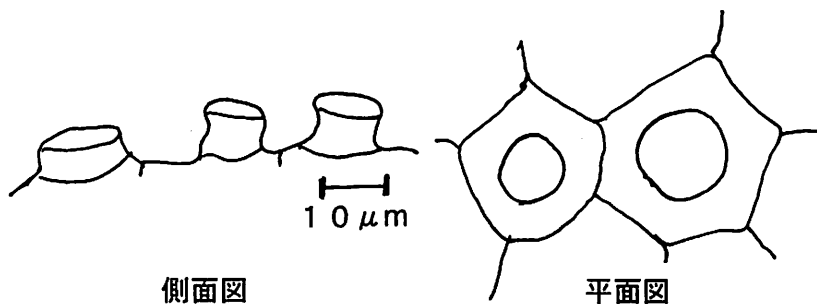
今回、シロイヌナズナ種子から分泌される LML の量と効果について、いくつかの野生型および突然変異系統の系統間差異を検討したので報告したい。

LML の含量：野生型 (WS, Col, La er) は一般に隆起構造を持ち、粘質物を分泌する。しかし、いくつかの突然変異株 (F, ttg, tt9, gl2 など) は隆起構造を持たず、粘質物の分泌が少なく、LML 活性も小さかった。このことから、隆起構造は粘質物の蓄積とその細胞内での乾燥によってできること、および粘質物の量と LML の量はある程度平行関係があること、などが分かった。

LML への反応：隆起構造の有無と LML への反応性 (胚軸伸長) のあいだにははっきりした対応関係は認められなかった。すなわち、隆起構造の有無に拘わらず、著しく促進された系統 (F)、ほとんど反応しない系統 (La er, tt9) およびその中間の反応を示す系統 (WS, Col, ttg, gl2) などに分かれた。

生育中の植物に LML を継続的に処理することにより、ロゼット葉の展開と花芽形成が促進された。また、形成される花数、成熟時の草丈、生重量、乾燥重量、種子の収量などが増加した。また、LML の継続処理によりロゼット葉や植物体の早い老化が起こり、生活環が短縮された。これらの発育過程への LML の効果は、系統によって大きく異なり、隆起構造との対応関係は認められなかった。

種皮細胞の隆起構造 (Central Elevation)



° 奥山かおり・加藤良一・鈴木 隆 (山形大・教育)

合成されたタンパク質の多くが、細胞内においてその機能を発現するために、種々の修飾を受けることが知られている。タンパク質の磷酸化反応はその一例であり、この反応をつかさどるタンパク質磷酸化酵素について、多種の酵素が植物細胞において報告されている。カルモジュリン依存性のタンパク質磷酸化酵素もその中の一つであり、これはカルモジュリンがCaイオンと結合して活性化し、その活性化したカルモジュリンが存在するとその磷酸化酵素も活性化するものである。しかし、このカルモジュリン依存性タンパク質磷酸化酵素は、植物細胞においてどのような機能を果たしているのかは明らかにされていない。本研究では、この酵素によるタンパク質磷酸化反応が根の生長に関与している可能性が得られたので、ここに報告する。なお、実験材料には、毛根病菌 (*Agrobacterium rhizogenes*) の感染によって形質転換されたニンジン及びペラドンナの毛状根を用いた。

(1) 毛状根を破碎・遠心操作 (85k xg) し、得られた上清を Centricon-10 で濃縮・脱塩した。それに、 $[^{32}\text{P}]$ -ATP 及びカルモジュリン阻害剤 (W-7, W-5, Trifluoperazine 又は Fluphenazine 等) を加えて Incubate し、磷酸化反応を行わせた後、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) 及び Autoradiography にかけた。結果は、W-7, Trifluoperazine 又は Fluphenazine の添加がタンパク質の磷酸化反応を阻害し、カルモジュリン依存性タンパク質磷酸化酵素の存在の可能性が示された。(2) 毛状根からその先端部 (14 ± 1 mm) を切り出し、W-7 又は W-5 を含む培地上に並べ、6日間培養した後、毛状根の生長量を測定した。結果は、W-7 の濃度が高い培地で培養した毛状根ほどその生長阻害率は大きく、W-5 によるその生長阻害は同濃度のW-7 の場合と比較して小さかった。よって、カルモジュリンが毛状根の生長に関与していることが示された。(3) 4、16又は25度の温度下で毛状根を培養すると、高い温度で培養したもののほどその生長率は大きくなる。そこで、4、16又は25度の温度下で一定時間 Incubate した毛状根の先端部 (14 ± 1 mm) を、上記(1)と同様に、破碎・遠心操作し、得られた上清を濃縮・脱塩した。それに、 $[^{32}\text{P}]$ -ATP を加えて Incubate し、磷酸化反応を行わせた後、SDS-PAGE 及び Autoradiography にかけた。結果は、より高い温度で Incubate した毛状根ほど、すなわちその生長率が大きい毛状根ほど、カルモジュリン依存性のタンパク質磷酸化反応の程度が大きかった。

上記(1)から(3)までの実験結果から、毛状根にはカルモジュリン依存性タンパク質磷酸化酵素が存在し、この酵素によるタンパク質磷酸化反応がその生長に関与している可能性が示された。また、この結論は、本研究で用いられた実験材料の毛状根に限らず、植物の一般的な根においても当てはまるのではないかと我々は考えている。

ナス科クコ属(*Lycium*)は温帯や亜熱帯の主に乾燥地域を中心に約70種が知られている。この属は南アメリカを中心に、北アメリカ、南アフリカ、オーストラリア、アジア・ヨーロッパに隔離分布しており、それぞれの大陸間に共通してみられる種はない。また、この属には特異的な分布を示す種としてアツバクコ(*Lycium sandwicense* A. Grey)がある。この種はハワイ諸島や小笠原諸島などの海洋島にしか分布しておらず、外部形態的には、アジアに分布する種や、北アメリカに分布する種などと近縁であるという説もある。このようにアツバクコを含めて、この属は生物地理学的に大変興味深い分類群である。

このような分布パターンの形成過程を推測するには種間系統解析が必要である。アメリカ大陸に分布するグループなどにおいては外部形態から類縁関係が推測されているものの、この属全体を対象とした種間系統関係に関する研究は現在まで行われていない。

そこで演者らは、どのような経路で分布を広げ現在の分布パターンを形成するに至ったのかということをはっきりさせるためにクコ属植物の種間系統解析を行った。種間系統関係の推定には、葉緑体DNAの *matK* 領域と、*trnT*(UAU)-*trnF*(GAA)の遺伝子間領域の塩基配列の情報を合わせて用いた。その結果、次のようなことがわかった。(1)ハワイや小笠原などの海洋島に分布するアツバクコはアメリカ大陸に分布するグループと単系統になった。このことより、外部形態から推測された北アメリカに分布する種との類縁関係とは矛盾しない結果となり、また、これら海洋島へはアメリカ大陸から分布を広げたのではないかと推測される。(2)南アメリカと北アメリカのグループは、それぞれの地域ごとに単系統を構成しなかった。このことより、南アメリカと北アメリカの間では複数回の移動があったのではないかと推測される。(3)アジア・ヨーロッパ、南アフリカ、オーストラリアに分布する種は単系統になった。このことより、これらの地域は単一の祖先から分化したのではないかと推測される。

小笠原諸島は本州の南約1000 kmの太平洋上に位置する海洋島で、諸島内の植物相構成種の約40%が固有種で占められる高い固有率を示すことでよく知られている。その中には諸島内で複数の固有種に分化したグループも知られており、イチジク属はそのようなグループの一つである。小笠原諸島のイチジク属植物はこれまで3種が記載されており、これらは単一の共通祖先種から島嶼内で分化したことが葉緑体DNAの解析から示唆されている。このうち母島に固有のオオヤマイチジクは、形態的に他の2種と著しく異なり、イチジク属では稀な4倍体であることなどから、他の2つの固有種と生殖的に隔離された別種と判断できる。これに対して、2倍体の固有種であるトキワイヌビワとオオトキワイヌビワは、中間的な形態を示す個体が存在することから、近年では両者を独立種として区別しない見解が一般的である。両者は酵素多型レベルでは遺伝的にほとんど分化しておらず、共生しているイチジクコバチ類も形態的な差異が軽微で明瞭に区別できないことからこの見解は支持される。しかしその一方で、両者の典型的な個体は外部形態も生育場所も異なっており、これら2種の間には生殖的隔離機構が成立している可能性もある。本研究では、この2倍体のイチジク属固有種は生殖的に隔離されているのか、隔離されているとすれば具体的な隔離機構はどのようなものなのかを明らかにすることを目的とした。

イチジク属植物にとって、種特異的なイチジクコバチ類は唯一の送粉者である。したがって、トキワイヌビワとオオトキワイヌビワの送粉者の間に選好性の差が認められれば、両者は生殖的に隔離された状態にあるといえる。野外での選好性テスト及び揮発性化学成分を用いた選好性テストの結果から、オオトキワイヌビワの送粉者には有意な寄主選好性が認められ、部分的な生殖的隔離が成立している可能性が示唆された。両者は花囊から放出される揮発性化学成分の組成に違いがあり、これが送粉者の寄主選好性に関与していると考えられる。イチジクコバチ類は成虫の寿命が非常に短く飛翔能力も低いことから、空間的に離れた集団の間では送粉者の行動範囲が制限されていることによる隔離の効果も考えられる。典型的なトキワイヌビワとオオトキワイヌビワは生育環境が異なるので、このことが揮発性化学成分による生殖的隔離を補強していると考えられる。両者の送粉者の間ではmtDNAの非コード領域の塩基配列に多型があり、その多型は寄主とよく対応している。このことは、揮発性化学成分による隔離は不完全だが、野外では他の要因の効果により、トキワイヌビワとオオトキワイヌビワの間には十分な生殖的隔離が成立していると考えられる。

○小林和貴、横山潤、鈴木三男（東北大・院・理・生物）

トウヒ属 (*Picea*)、カラマツ属 (*Larix*) は、現在の日本ではごく限られた地域にしか分布していないが、最終氷期の地層から球果や材、針葉の化石が多産することから、最終氷期には森林の優占樹種のひとつとして、日本列島に広く分布していたと考えられている。しかし、トウヒ属、カラマツ属が、最終氷期から現在に至る気候変動のなかで、その分布域を縮小していく過程は具体的にどのようなものだったのかはまだ明らかになっていない。この過程を明らかにすることは、トウヒ属、カラマツ属の進化、系統を考える上で重要であると思われる。

現在のところ、トウヒ属、カラマツ属の化石種は、主に球果の形態形質で分類・同定されているが、化石種の中には、その形態的特徴が現生種のいずれにも当てはまらないために、分類・同定の困難なものがある。そこで演者らは、いろいろな生物の系統解析においてその有効性が示されているDNAの塩基配列を用いることで、化石種の分類・同定の難しさを解消して、化石種と現生種との系統解析を行うことを目的として本研究を始めた。現在は、その予備的な研究として、DNAのどの領域を使うのが妥当であるのかを検討している。化石DNAは、長い年月の間に酸化等によって、損傷を受け短い断片のDNAしか残っていないと考えられるので、比較的短い領域であることと、そのなかに、種間及び産地間の違いを示すことができるだけの情報（塩基配列の違い）を持っていることが必要な条件となってくる。そこで本研究ではまず、現在までに、裸子植物において情報が集積していて、保存的な領域が多いために短い断片で増幅の可能な *rbcL* 遺伝子を用いて、現生のトウヒ属、カラマツ属の種間及び産地間でどのような塩基配列の違いがあるのかを調べた。

トウヒ属については、アカエゾマツを2産地（北海道と早池峰山）から、エゾマツ、トウヒ、イラモミ（さく葉標本）、バラモミ（さく葉標本）、ヤツガタケトウヒ、ヒメマツハダ、ヒメバラモミ、アズサバラモミをそれぞれ1産地から採集し、カラマツ属については、カラマツを2産地（本州中部と南蔵王馬ノ神岳）から、グイマツも2産地から、チョウセンカラマツを1産地から採集して試料として用いた。結果は、カラマツ属ではカラマツとグイマツの間で3塩基の違いが、カラマツとチョウセンカラマツの間で2塩基の違いがみられた。トウヒ属ではヒメバラモミとアズサバラモミが同じ配列で、その他の樹種と3塩基違っていただけで、他には種間で塩基配列の違いはなかった。同種内での産地間の違いは、トウヒ属、カラマツ属ともに全くなかった。このことから、本研究で使うには *rbcL* 配列だけでは情報量不足であることが示された。そこで、*rbcL* 配列よりも短い、挿入・欠失を含む変異が *rbcL* よりも多いといわれる葉緑体DNA上の *trnL* と *trnF* の遺伝子間領域を用いて、同様のことを調べた。結果は、*rbcL* よりも多くの種間で塩基配列の違いがあり、*rbcL* を用いた場合よりも種を細かく分類することができた。それで現在は、この領域を化石DNAから増幅することを試みている。

被子植物の起源はジュラ紀の終わりから白亜紀の初めにかけてであると一般に考えられているが、日本において被子植物の化石が産出し始めるのは後期白亜紀(9,500万年~6,500万年前)の地層からである。白亜紀の地層は日本では北海道に広く分布しているが、それらは全て海成層であり、木材化石はアンモナイト・二枚貝などの軟体動物化石とともに石灰質岩塊(ノジュール)中に含まれている。多くのものが直径数cm程度の枝や根の木材であるが、ときには幹の直径が10cmを超えるものや大材の破片なども見られる。それらの木材化石は細胞内腔が炭酸カルシウムで充填され、細胞壁が炭化物として残存しており、解剖学的に研究することが可能である。本研究ではこれまでに北海道の小平地域、大夕張地域、幾春別地域などから産出した200点余りの木材化石を観察した結果、そのうち80点が双子葉類であり、残りのものは球果類・ソテツ類などであることが分かった。

採集した木材化石標本の年代は前期白亜紀の終わりのAlbian期~後期白亜紀のSantonian期であり、そのうち双子葉類が含まれていたのは後期白亜紀の最初のCenomanian期~Santonian期である。日本におけるAlbian期以前の被子植物化石の報告はないため、本研究で採集したCenomanian期の広葉樹木材化石は日本の被子植物化石の最も古い記録である。Cenomanian期の双子葉木材化石が見つかったのは北海道留萌郡小平町の小平薬川源流部の東雲沢及び樺の沢である。5点の標本が得られたが、保存が良好であり多くの形質について観察することができたのは2点のみであった。一点(No.96052501)は直径2cm程度のものであり、もう一点(No.96052304)は長さ5cm、短径4cmの大材の破片でもとの幹の直径は20cm以上に及ぶと思われるものである。2つの標本に共通して認められる材形質は、比較的細く(No.96052501は30-75 μm ; 平均51.0 μm 、No.96052304は70-115 μm ; 平均87.5 μm)密度の高い(72.8/ mm^2 、50.6/ mm^2)道管、横棒の本数が多い(10-21本、9-22本)階段穿孔、階段状~対列状の道管壁孔、幅が広く(ともに3-15細胞列)、平伏細胞と直立細胞から成る異性の放射組織などであり、またNo.96052304には不明瞭であるが成長輪が認められる。両者に見られる材形質は良く一致しており、同じ種類の樹木の枝と幹という関係にある可能性が示唆される。これら2つの標本に認められた材形質は北米・ヨーロッパの後期白亜紀の地層から*Icacinoxylon*あるいは*Plataninium*の名の下にしばしば報告されている化石に道管の大きさや密度、穿孔板の横棒の数、道管壁孔の形態、放射組織の幅、放射組織を構成する細胞の種類などの点で類似している。*Icacinoxylon*、*Plataninium*ともに現生の分類群との直接の類縁は明らかになっていないが、このような材形質を有する木材化石は本研究においてTuronian期~Santonian期のものも見つかっており、後期白亜紀に北米・ヨーロッパ・東アジアという広い範囲に渡って類似した材形質を有する双子葉類が分布していたことが分かる。また他の3点の標本に関しては保存状態が悪いため十分な観察が行えなかったが、放射組織の幅が狭い(No.96052303及びNo.96052306は1-2細胞列、No.TK-109は4-5細胞列)という点で明らかに前の2点の標本と異なっており、このことからCenomanian期において既に複数のタイプの双子葉類が存在していたことが分かる。

広葉樹材の道管配列には様々なパターンが存在することが知られている。そのうち環孔材と呼ばれるものは年輪の最初に大きな道管を作りその後は小さな道管しか作らないものであり、散孔材と呼ばれるものは成長期間を通じて同じくらいの大きさの道管を作るものである。

環孔材は系統の異なる様々な分類群に見られることや、北半球の温帯にのみ生育することなどから樹木が温帯に適応する際に平行進化によって生じた形質であると考えられている。それゆえ環孔材を特徴づける大道管の形成を含む二次木部の形成過程と、温帯性の樹木の特徴を最もよく示すリーフフェノロジーの関係を明らかにすることは環孔材の進化を考える上で重要であると考えられる。Suzuki et al. (in press) では道管の形成開始および二次壁の完成と開葉の時期の関係を環孔材と散孔材で比較し、1；環孔材は散孔材に比べて道管形成の開始、二次壁の完成の時期が早いこと、2；環孔材は開葉以前に道管形成を開始し、開葉とほぼ同時期に1層目の大道管の二次壁が完成するのに対して、散孔材では開葉とほぼ同時に道管形成を開始することを明らかにしている。しかし開葉の過程を時間を追って観察し、木部形成の過程との関係を環孔材と散孔材で比較した研究は行われていない。そこで、環孔材からケヤキ、クリ、コナラ、キハダ、散孔材からブナ、ウワミズザクラ、ミズキ、ホオノキのそれぞれ四種を選び、1995年3月22日から一週間ごとに樹冠部分のシュートを切り取り、そこから20枚の葉を選び、その葉面積を測定した。それとともに幹の胸高部分から形成層を含んだ二次木部のブロックを打ち抜き、切片を作製して道管形成状態を観察した。そして道管の形成開始、完成の時期と葉面積の時間変化との関係を環孔材と散孔材で比較した。

その結果、道管形成の開始時期は環孔材が散孔材に比べて約1月早いこと、そして道管形成の開始は環孔材では開葉より早いのに対して散孔材では開葉とほぼ同時期であることが確認された。そして開葉は環孔材、散孔材ともに4月11日から5月2日までの間に見られ大差はなく、開葉過程にも両者を区別する特徴的な現象は見られなかった。さらに1層目の道管の二次壁が完成する時点で、環孔材は開葉が始まっていないか、わずかに開葉している程度であるのに対して、散孔材では葉はかなり開いた状態、あるいはほぼ開ききった状態であることが明らかになった。

20

粘菌 *Dictyostelium mucoroides* の接合子形成に関する 遺伝子の単離・同定

雨貝愛子 (東北大・院・理・生物)

細胞性粘菌 *Dictyostelium mucoroides*-7 (Dm7)株は、無性生殖である子実体形成のほかに、有性生殖過程のマクロシスト形成を行う。マクロシスト形成過程ではエチレンは細胞融合と核融合によって形成される接合子を誘導する。細菌におけるマクロシスト形成は生物界にあって原始的な有性生殖形態であると思われ、その過程の解析は広く有性生殖機構の解明に貢献すると考えられる。

本研究では、エチレンによる接合子形成の誘導機構を分子レベルで明らかにするために、接合子形成に関する遺伝子の単離を試みた。そこでまず、接合子形成に関する遺伝子の発現時期を α -アマニチン投与実験により特定し、次いで、その時期のpoly⁺RNAを回収して、cDNAライブラリーを作成した。ディフレンシャルスクリーニング (differential screening)法による解析の結果接合子形成に深く関与している遺伝子クローンZYIを単離した。

ノーザン解析の結果、ZYIはマクロシスト形成過程のみでなく、子実体形成過程にも発現した。子実体形成とマクロシスト形成の2つの発生過程におけるZYIの発現様式を詳細に調べた結果、ZYIは接合子形成に関与している遺伝子が発現している発生時期にはマクロシスト形成過程にのみ発現した。さらに、ZYIの発生過程における発現様式は接合子形成のパターンと類似しており、またその発現時期は接合子の出現する時期に先行していた。これらの結果からZYIは接合子形成に深く関与していることが示唆された。ZYI遺伝子の塩基配列、ゲノミックサザン解析の結果から、ZYIは細胞内にシングルコピー存在し、その塩基配列は細胞性粘菌をはじめ他の生物で今までに報告されていないユニークなものであることが明らかにされた。

○蔡 洙天・前田靖男(東北大院・理・生物)

粘菌 (*Dictyostelium discoideum*, AX-2) 細胞は、周囲の栄養源を取り込みながら 2 分裂法によって増殖するが、栄養源がなくなって飢餓状態におかれると増殖期から分化期へ移行する。このように、粘菌細胞では増殖と分化とが時間的に明瞭に区別されており、これらを容易にコントロールできる。従って、細胞性粘菌は増殖と分化との関係を解析する上で非常に優れたモデル生物であるとされている。この増殖から分化への切り換えに関して、細胞は栄養源の有無に関わりなく細胞周期 G2 期の中-後期にある 1 つの特異点 (putative shift point; PS 点) まで周期を進行させ、この PS 点において栄養源がない場合に細胞周期から離脱して分化に移行することが示唆されている。

これまでに、この PS 点直後に特異的に発現量が顕著に増加する 3 つの遺伝子 (*Quit 1*, *Quit 2*, および *Quit 3*) が単離されている。*Quit 1* は初期分化形質の発現に必須の cAMP レセプター 1 (CAR1) をコードし (Abe and Maeda, 1994)、*Quit 2* は新規の Ca²⁺-結合性タンパク質 (CAF-1) をコードする (Abe and Maeda, 1995) ことが示されている。また、*Quit 3* は annexin VII と相補的な配列を持ち、このタンパク質の合成をアンチセンス RNA により制御している可能性が示唆されている (Okafuji *et al.*, 1996)。そこで、増殖/分化の切り換えに関与する遺伝子群をさらに明らかにするために、細胞周期を温度シフト (低温処理) 法により同調化し、分化直後の細胞として PS 点の直前 (T7) で 2 時間 飢餓処理された T7+2 細胞、PS 点直後の増殖期の細胞として T9 細胞、またもう一つの対照として G2 期の前期 (T4) で 2 時間 飢餓処理されたがまだ未分化な T4+2 細胞、のそれぞれから mRNA を抽出し、differential display (DD) 法によって T7+2 細胞でのみ特異的に発現するように見える遺伝子を検索して 31 種類の遺伝子断片を得た。次いで、これらを polymerase chain reaction (PCR) によって再増幅し、プローブにして northern hybridization を行い、PS 点直後 (分化初期) で特異的に発現するものとして 4 つを選抜してサブクローニングした。現在、plaque hybridization によって T7+2 細胞の cDNA library から全長をもつ遺伝子の単離を試みており、将来的には、遺伝子破壊実験等によりこれらの遺伝子の機能を解析する予定である。

°田中由岐子・板倉龍・雨貝愛子・前田靖男（東北大・院・理・生物）

粘菌細胞(*Dictyostelium discoideum*)において、飢餓は細胞に増殖から分化への移行という、ダイナミックな行動パターンの変化をもたらす。粘菌細胞がどのようにして、この飢餓情報を認識するのかという問題は、非常に興味深いテーマである。一般に、 Ca^{2+} は細胞内外の情報伝達系において重要なイオンであり、また粘菌細胞において飢餓処理後に $[Ca^{2+}]_i$ の上昇が起こるという知見(Gabriele Fischer, 私信)も得られていた。そこで、飢餓処理後の $[Ca^{2+}]_i$ の変化を、エクオリンを導入した形質転換細胞を用いてフォトンカウンターにより測定したところ、飢餓処理後30分という早い時期に $[Ca^{2+}]_i$ の一過的な上昇が見られた。我々は、この $[Ca^{2+}]_i$ の上昇が飢餓に起因するものであって、飢餓情報の伝達に Ca^{2+} が深く関与するとの想定のもとに、 $[Ca^{2+}]_i$ を人為的に増加させる効果を持つ薬剤の投与によって、増殖中の細胞に飢餓応答を起こさせることが出来ないであろうかと考えた。本研究では、投与する薬剤の効果を検出しやすくするために、低栄養培地中での培養系を用いた。栄養培地(HL-5)を約1/15濃度に希釈したこの培地中では、細胞は、栄養源が少量存在するために、飢餓応答を示すことが出来ないし、増殖もほとんどしないという、いわば半飢餓の状態にある。このような状態の細胞に、 Ca^{2+} -ATPaseの特異的阻害剤である thapsigargin を投与すると、細胞内 Ca^{2+} ストアへの Ca^{2+} の取り込みが阻害され、その結果、 $[Ca^{2+}]_i$ が一過的に上昇することが示された。この際、面白いことに、飢餓応答が thapsigargin によって誘起され、発生の促進が見られた。同様なことは、thapsigargin とは別な機構で $[Ca^{2+}]_i$ を増加させる nigericin の投与によっても認められた。これらの事実は、粘菌細胞における飢餓情報の伝達に $[Ca^{2+}]_i$ の上昇が密接に関与していることを示唆している。また、細胞が飢餓応答していると判断するための確かな指標として、飢餓に応じて特異的にチロシン残基のリン酸化状態が変化する95kDaタンパク質を見出した。この95kDaタンパク質のチロシン・リン酸化状態をモニターすれば、より早い時期の細胞の生化学的変化をより鋭敏に捉えることができるので、thapsigargin や nigericin の投与によってこのタンパク質のリン酸化状態が実際に変化するかどうかを現在調べている。得られたデータをもとに、飢餓情報の伝達系における Ca^{2+} の重要性について論じたい。

23

粘菌細胞における飢餓応答遺伝子を REMI 法により 単離・同定する試み

° 板倉 龍、田中由岐子、前田靖男 (東北大・院・理・生物)

細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* は、周囲に栄養源が存在するときには単細胞のアメーバとして増殖を続けるが、栄養源を失って飢餓状態に陥ると個々の細胞は分化期へと移行し、やがて多細胞体制を確立する。粘菌細胞は、飢餓という刺激をどのようなメカニズムによって認識しているのだろうか？ この機構は、その重要性にも関わらず未だに不明である。細胞性粘菌はこの種の解析に格好の研究材料である。本研究は、粘菌細胞が飢餓を認識し、次いでその情報を介して細胞分化をスイッチ・オンする機構を遺伝子レベルで解明することを目標としている。そのために我々は、この機構に欠陥のある突然変異体を人為的に作製し、これを解析することによって飢餓応答遺伝子を単離・同定することを試みている。

突然変異体を作成する手段として、Kuspa & Loomis (1992) 及び Morio et al. (1995) によって報告されている *Bsr*-REMI (*Bsr*; Blasticidin S 耐性遺伝子、REMI; Restriction Enzyme Mediated Integration) 法を採用した。REMI は、適当な選択マーカー遺伝子を持つベクターを制限酵素とともに電気穿孔法により細胞内に導入して粘菌細胞ゲノム中の一箇所をランダムな位置で切断し、そこにベクターを挿入することによって、単一の遺伝子が破壊された変異株のライブラリーを作ることのできる方法である。この方法の利点は、形質転換効率が高いことと、目的とする機能遺伝子の単離がきわめて容易なことである。この新しい分子生物学的手法を主として用いながら、粘菌細胞における飢餓認識機構の分子機構及び増殖/分化の切り換えに関与する機構の解明をめざしたいと考えている。

飢餓応答遺伝子を単離するためには、何を指標にしてスクリーニングするかが大きな問題である。したがって、飢餓特異的に誘起される分子レベルでの事柄を知る必要が生じた。そこで、細胞内におけるタンパク質のリン酸化状態を抗リン酸化チロシン抗体を用いて解析したところ、幸いなことに、95kDa のリン酸化タンパク質のチロシン残基におけるリン酸化状態が飢餓に応じて速やかにかつ顕著に変化することが見出された。この 95kDa タンパク質は飢餓応答に直接関与する分子である可能性がある。また、このタンパク質のチロシン・リン酸化状態をモニターすることによって飢餓応答に特異的な遺伝子をスクリーニングできる道が拓かれた。

高橋文雄 菱沼佑¹ 片岡博尚 (東北大遺生研、¹山形大理生物)

多核細胞体制をもつ黄緑色藻フシナシミドロ (*Vaucheria*) は直径 50-70 μm の疎らに分岐する管状の藻体から成る。活発な先端成長を示す細胞先端には、分泌小胞からなる透明層がみられる。成長域でない基部からも光によって、透明層を持つ枝を形成する。この分枝誘導は青色光 (BL) がもっとも有効である。BL の局所照射域に 30 分以内に葉緑体が集積し、5-7 時間後に照射域の中央から枝が発達する (Kataoka 1975)。この葉緑体の集積や分枝形成に必要な小胞の輸送に、微小管や F-アクチンなどの細胞骨格の関与が考えられる。しかしフシナシミドロでは細胞骨格系と形態形成反応を関係づける研究はほとんどなされていない。そこで、葉緑体運動と分枝形成の全過程における微小管の動態の観察を始めた。微小管が、BL 照射により消滅したり配向が乱れることを発見したが、同時に、照射域にある核が同調して分裂することを発見したので、今回は主にこの現象について報告する。

方法：微小管は、ホウライシダ (*Adiantum*) の原糸体で用いられた方法 (Kadota and Wada 1992) を改良して、間接蛍光抗体法で観察した。核は DAPI 染色により蛍光顕微鏡で観察した。分枝誘導は細胞一部を幅 300-500 μm の BL の帯で照射した。

結果：①微小管は太い束となって、細胞長軸に平行に配向しているが、成長中の細胞先端成長端に近づくにつれ収束し、先端半球基部でランダムな配向を示した。BL 照射域では、葉緑体集積が完了する 30 分後には微小管の配向は変化していないが、照射開始後 1 時間を過ぎると微小管束は細くなったり、配向が乱れた。5 時間を過ぎると微小管は消失し、枝が形成する間に、枝の原基である突起に向かう細く短い微小管が観察された。さらに微小管が消失する前 (1-3 時間後) に、分断された微小管の中に紡錘体が観察された。しかも、同じ形の紡錘体が照射域に多数観察された。

② DAPI 染色により核分裂の様子を観察すると、照射域では全ての核が同調的に分裂していることがわかった。核は照射域へ移動せず、葉緑体の運動機構とは異なることが明らかである。非照射域では核分裂はみられないことから、照射域での同調的核分裂は青色光の特異的な効果であろうと考えられる。さらに、1-3 時間で分裂が起こることから、核は G2 期で待機していたと考えられる。

③同調的核分裂や分枝誘導の最適条件を見つけるためにも、通常の 12hL/12hD の明暗周期における核分裂の挙動を調べることにした。間期には洋梨型の核が、中期では染色体が赤道面に集まって細長くなり、終期には、一对の娘核が、核の間に長くのびた紡錘体微小管の両端に位置する。分裂前後の核の大きさには明瞭な差があった。12hL/12hD の明暗周期の明期開始 2 時間後から分裂像が見られ、4-6 時間後分裂頻度が最大になった。暗期には分裂しなかった。核分裂は先端部にはじまり、分裂相の進みが基部へ向かって伝播した。核分裂相は 500 μm に亘って同調していた。

真核生物で観察される形態形成過程では、成長極性の変化、細胞伸長に必要な材料の輸送、急激な細胞伸長に対応した細胞壁形成などの現象が必要とされる。このような現象に、細胞骨格、すなわち、微小管とアクチンが重要な役割をはたしていることが示唆されているが、細胞骨格がどのようにこれらの現象の制御にかかわっているのかについて、詳細はわかっていない。

接合菌類ヒゲカビはその無性生活環、有性生活環のいずれにおいても、孢子形成器官の分化という、顕著な形態形成を示す。それは、無性生殖では、孢子嚢柄および孢子嚢の形成という過程であり、有性生殖では、接合枝形成から前配偶子嚢、配偶子嚢形成を経て接合孢子形成に至る接合過程である。どちらの過程においても前述のような種々の現象が必要とされ、細胞骨格の関与が考えられる。しかし、ヒゲカビの細胞内での細胞骨格の挙動についての報告はほとんどなされていない。そこで本研究では、ヒゲカビの形態形成過程における細胞骨格の役割を知るための第一歩として、生活環の各ステージでの微小管とアクチンの挙動を間接免疫蛍光法により観察した。

まず栄養菌糸について観察したところ、アクチンはドット状の染色像を示し、細胞表層に存在していた。特に菌糸先端にははっきりとした局在が観察され、糸状菌で一般に知られている“アクチンキャップ”を形成していた。微小管は細胞質微小管として菌糸長軸方向に配向していた。また、紡錘体が菌糸の様々な部位で観察された。

孢子嚢形成過程では、アクチンははっきりとした染色像として観察することが出来なかった。微小管は孢子嚢柄の先端から基部にまで長軸方向に表層微小管として配向しており、これはどのステージにおいても同様であった。核は表層微小管に沿うように配列しており、核の移動に微小管が関係している可能性が示唆された。また、膨らみつつある孢子嚢の微小管はランダムに配向していた。孢子嚢柄、孢子嚢いずれにおいても紡錘体が観察され、有糸分裂が特定の部位でのみ起こっているのではないことがわかった。

接合過程では、アクチンの染色像は、孢子嚢柄と同様どのステージにおいても観察されなかった。微小管は前配偶子嚢の先端から基部にまで長軸方向に表層微小管として配向しており、先端部の細胞質中にはランダムに配向している細胞質微小管も観察された。紡錘体は前配偶子嚢全体で観察された。また、隔壁が形成され配偶子嚢が出来た後でも、紡錘体は、配偶子嚢内に観察され、接合孢子形成まで有糸分裂が起こっていることが示された。

26

ヒゲカビの接合子形成における光阻害

°山崎 裕・片岡博尚・宮崎 厚・大瀧 保 (東北大・遺生研)

接合菌類ケカビ目に属するヒゲカビ (*Phycomyces blakesleeanus*) には(+)及び(-)の二つの接合型が存在し、今両方の菌糸が同一培地上で遭遇すると、著しい形態変化を伴った一連の接合反応が起こる。このヒゲカビの接合反応が光によって阻害されることは古くから知られているが、どの波長の光がどの段階の接合反応を阻害するのか、また菌体のどの部分が光感受性を有するのかなど、詳細な解析はなされていなかった。

これらの問題を明らかにするために、岡崎国立共同研究機構の大型スペクトログラフ装置を用い、異なる波長と異なる強度の光で48時間の連続照射を行い、そこで観察される接合反応の光阻害効果を次期の器官への移行率に対する影響に着目して解析し、その光強度-応答曲線及び作用スペクトルの作成を試みた。その結果、ヒゲカビの接合反応には、その発生段階に応じて異なる波長の光によって阻害される複数の反応系が存在することが示唆された(1995年日本植物学会第59回大会発表)。

更にこれら阻害効果をより詳細に解明するため、短時間の光照射実験系の開発を試みた。この実験では、最も光阻害効果が顕著であったS6→S7の接合子発達期に焦点を絞り、また、短期間に多数の接合胞子を形成する新培地(ブドウ糖-グルタミン酸-微量元素-培地に、窒素源として更に塩化アンモニウムを添加し、微量元素として亜鉛、カルシウム、モリブデンを増量したもの)を使用した。まず、最も有効な照射時期と時間を決定するため、種々の令の接合器官を用い、異なる期間について、比較的高い強度の青色光(420nm)の照射を行った。その結果、接合開始後12時間目(S3、S4期の前配偶子囊の構成比が最大となる時期)から、6-12時間の照射が最もS6→S7の接合子形成を阻害することが明らかになった。この照射プログラムに従い、大型スペクトログラフ装置による光阻害作用の光強度-応答曲線及び作用スペクトルを作成した。その結果、S6→S7阻害の作用スペクトルに340nm、420nm、480nm付近に三つのピークが存在し、またこれらの阻害を引き起こす光受容は、接合器官がS3及びS4の前配偶子囊期に行われたことが明らかとなった。

β -シアノアラニン合成酵素 (CAS) は、シアンとシステインから硫化水素と β -シアノアラニンを合成する反応を触媒し、 β -シアノアラニンはこの後、アスパラギン、アスパラギン酸へと代謝される。この酵素は植物に普遍的に存在して、高い活性を維持している。従来、その役割は植物体内で発生するシアンの解毒にあると考えられていた。オナモミ (*Xanthium pennsylvanicum* Wallr.) 種子では、シアン、システイン、硫化水素及びCAS活性を上昇させる作用を持つエチレンによって発芽促進が認められる。オナモミの種子発芽に伴ってアミノ酸含量が増大することが知られているが、このアミノ酸の供給にCASが関与している可能性を指摘してきた。また、この酵素はミトコンドリアに局在するものと考えられてきたが、オナモミ種子組織では、ミトコンドリア外の細胞質にもCASが存在することが示唆されている。乾燥種子にはサイトゾリックCAS (cyt-CAS) 活性のみが検出され、最適pHが異なるミトコンドリアCAS (mit-CAS) の活性は、水浸直後に急激に上昇する。そこで、CASの種子発芽における役割を解析することを目的として、両CASの性質を詳しく検討することにした。今回、現在までに報告例のないcyt-CASの精製を行った。

オナモミ種子組織から抽出したミトコンドリア区分と可溶性区分に存在するCAS活性は、MonoQ等の各種カラムやnativePAGEで異なった位置に分離され、更にそれぞれが複数の活性区分に分けられることが明らかになった。そこで、エチレン処理によりCAS活性を上昇させた後、オナモミ種子子葉の可溶性区分から、DEAE-Sephacel、Superdex200、MonoQ、Hydroxylapatite、ResourcePHEカラム等でcyt-CASを精製し、SDS-PAGEで1バンド (35kDa) の精製試料 (比活性約3000倍) を得た。この活性は、nativePAGEで3つに分離され、最適pHはいずれも10付近であり、それぞれがシアン、システインに対して異なるKm値を持つことが分かった。これらの値は、今までに報告されているCASに近いものである。ところが、この酵素の部分アミノ酸配列を決定したところ、コムギ、アラビドプシス、ホウレンソウのシステイン合成酵素 (CS) と高い相同性を示した。CSは本来、セリンと硫化水素からシステインと酢酸を合成する反応を触媒する。実際に精製cyt-CASがCS活性を持つかどうかを検討したところ、CS活性が認められることが明らかとなった。また、各種カラムクロマトグラフィーによってもCS活性はCAS活性と同じ位置に分離されることが明らかとなった。これらの結果から、cyt-CASは植物体内においてもCASとCSの機能を合わせ持つ可能性があり、更に検討を加えている。現在精製中であるmit-CASとの関連も含めて報告する予定である。

抽水植物であるガマ(*Typha latifolia* L.)は河川敷等の水辺に繁茂する植物で、休耕田等に侵入し、時として水田の雑草となる。秋に茎葉地上部を枯らし、発達した根茎で越冬、翌春栄養繁殖する。この発達した根茎に形成される芽は、嫌気条件で4週間以上も生存ができるほどの強い耐性を持つことが知られている(Barclay & Crawford 1982)。このようなガマ根茎芽の嫌気耐性機構を検討することは、水辺に侵入する水生植物群の適応戦略を解明することに繋がると考えている。最初に、ガマ根茎芽のタンパク質合成が、嫌気条件でどのような変化を受けるかを、 ^{35}S -メチオニンにより検討した。放射能標識されたin vivo合成ポリペプチドを二次元電気泳動法で解析した。空気中に置かれた根茎芽のタンパク質合成は、嫌気処理後2時間以内に停止し、その後の時間経過と共に、新たに合成が始まる10種以上のポリペプチドが嫌気条件でのタンパク質合成を特徴づけていることが明らかとなった。このような急激なタンパク質合成の質的転換は、トウモロコシ等の根が嫌気処理された場合のタンパク質合成の変化と非常に似ており、ガマの根茎芽でも解糖系の諸酵素を含む anaerobic polypeptides の誘導が起こることが示唆された。一方、嫌気条件に曝された多くの植物組織で、アルコール脱水素酵素 (ADH) の活性が上昇することが一般的に認められている。嫌気条件での生存に必要なエネルギー生産は、主にアルコール発酵によるとの考えから、嫌気耐性とアルコール発酵の持続機構は密接に関連しているとの見解が受け入れられている。そこで今回、強い嫌気耐性を示すガマ根茎芽と、嫌気条件では長く生存出来ないガマの葉において、嫌気処理によるADH活性の誘導とアルコール発酵の程度を比較検討することにより、嫌気耐性とアルコール発酵の関連を追求してみた。

根茎から切り取った約4cm長の根茎芽もしくは約4cm長に切りそろえた葉を120mlのガラス容器に入れ、純窒素(酸素濃度5ppm以下)又は空気を25°C暗所で連続通気培養し、ADH活性は還元されるNAD量を340nmの吸光度変化から求めた。葉におけるADH活性の誘導は、少なくとも嫌気処理3日後まで比活性は上昇を続け、その後タンパク質量の減少に伴い、活性は減少した。このガマの葉でみられた誘導のパターンは、今まで報告されている多くの植物組織でのADH活性の誘導のパターンと似ている。他方、根茎芽では、空気を通気したものではADH活性の上昇は見られないが、窒素気中での根茎芽のADH活性は少なくとも1時間後には上昇を始め、その比活性は6時間後には6倍に達し、その活性は少なくとも10日間維持された。根茎芽のこのようなADH活性の誘導パターンは葉の誘導と著しく異なることが分かった。このことは、両者の嫌気耐性能の違いが、このADHの活性誘導の違いにあり、ガマの根茎芽が強い嫌気耐性をもつ原因の一つにADHが深く関与していることを示唆している。現在、ADHのアイソザイム間の誘導パターンについてもデンブング電気泳動法により解析している。また、ガマ根茎芽から抽出したRNAを用いたRT-PCRによりトウモロコシのADH-1と高い相同性をもつDNA断片を増幅した。このDNAを用いて、ガマの各器官でのADH遺伝子の発現調節についての検討も計画している。

水生植物と呼ばれる一群の維管束植物群は、陸上生活をしてきた維管束植物が、水中環境に適応することにより、その生活圏を拡大してきたものと理解されている。陸生の維管束植物が水中に進出する上で克服しなければならなかった最も深刻な環境因子として、ガス拡散速度の著しい低下に由来する酸素分圧の低下、即ち嫌氣的条件がある。そのことは、現存する水生植物に見られる多様な形態的、生理的適応の多くが、嫌氣条件に関するものであることが示している。我々は、水生植物の中でも、生活環の一時期を極端に厳しい嫌氣的環境で過ごす植物群に注目し、これらの生理的適応進化の機構を解明したいと考えている。従来、イネやヒエの幼葉鞘、また、ヒルムシロ科のリユノヒゲモ (*Potamogeton pectinatus* L.) 塊茎が、酸素が殆どない嫌氣条件でも成長することが知られていた。我々は、無酸素条件 (酸素濃度が50ppm以下) でも成長する水生植物の検索を行い、新たにオモダカ科のウリカワ (*Sagittaria pygmaea* Miq.) の塊茎や、ヒルムシロ科のヒルムシロ (*Potamogeton distinctus* A.Benn) の殖芽やオヒルムシロ (*P. natans* L.) の殖芽の成長が、無酸素条件で誘導され、しかもその伸長成長は空気中よりも促進されることを見出した。これら植物の無酸素条件でのエネルギー代謝がどのように維持されているのか、その維持機構を解明することを目的とした研究を開始した。

イネ幼葉鞘、ウリカワ塊茎、ヒルムシロ殖芽の初期成長に伴うアルコール脱水素酵素 (ADH) の活性変動とATP, ADP, AMP含量の変動及びエネルギー充足率 (EC) の変動を中心に調査することにした。ADH活性は、アルコールを基質にして、NADHの生産量を340nmの吸光度変化より測定した。ATP, ADP, AMP含量は、ルシフェリン/ルシフェラーゼを用いた化学発光量を

Luminescence reader (Aloka) で計測することにより測定した。また、タンパク質合成の質的变化を調べるために、³⁵S-メチオニンを投与したウリカワ芽生えからタンパク質を抽出し、これを二次元電気泳動法により分析した。

イネ芽生えの幼葉鞘の伸長成長は無酸素条件で約1週間継続する。ADH活性は、4日目まで上昇するが、その後低下する。この間、ATP, ADP, AMP含量は大きく変動し、それに伴いEC値は0.8から0.6へと徐々に減少し、必ずしもADH活性の変動と対応しないことが明らかとなった。一方、ウリカワの塊茎の葉は、無酸素中で少なくとも10日間伸長し続ける。ADH活性は4日以降減少する傾向が認められる。ATP含量は無酸素条件2日目で約半分に低下するが、EC値は0.8付近の高い値を維持し続け、この点でイネ幼葉鞘と異なっているようである。ヒルムシロの殖芽も無酸素中で活発に成長する。その成長は10日を超えて持続するが、ADH活性は3日目をピークに減少する傾向が認められた。これら3種の植物の無酸素条件での成長促進は、何れも高いEC値により支えられていることが示されたが、ADH活性の変動は必ずしもこれと一致しない。ウリカワでは、無酸素条件でも活発なタンパク質合成を持続することから、これら水生植物には、無酸素条件でのエネルギー代謝を維持する特別の機構を獲得している可能性が示唆された。

日本植物学会東北支部第10回（仙台）大会参加者名簿

参加者氏名	所属	大会参加 ¹⁾	講演 ²⁾	懇親会
岩手県				
須田 裕	岩手大・教育・生物	○	◎	○
竹原 明秀	岩手大・人文社会科学		○	
照井 啓介	岩手大・教育・生物	○		○
和田 雅人	農水省・果樹試リング支場	○		○
秋田県				
峯村 昌代	秋田県立農短大附生物工学研		○	
我彦 広悦	秋田県立農短大附生物工学研	○	◎	○
宮城県				
雨貝 愛子	東北大・院・理・生物	○	◎	○
飯泉 茂	東北学院大・教養		○	
五百川 裕	東北大・院・理・生物	●		○
石沢 公明	東北大・院・理・生物	○	◎	○
板倉 龍	東北大・院・理・生物	●	◎	○
一瀬 成広	東北大・院・農・環境修復	●	◎	
伊藤 美樹子	東北大・院・理・生物	●		○
上野 雄規	仙台市太白山自然観察センター	○		○
遠藤 貴司	東北大・農・環境適応	●	◎	
大瀧 保	東北大・遺生研	○	○	○
大友 敬雄	東北大・理・植物園		○	
大橋 広好	東北大・院・理・生物	○	○	○
岡上 伸雄	東北大・院・理・生物	○	○	○
岡澤 立夫	東北大・院・理・生物		○	
片岡 博尚	東北大・遺生研	○	○	○
川上 祐司	東北大・院・理・生物	●	○	
菅野 洋	宮教大・生物	●	◎	○
後藤 伸治	宮教大・生物	○	◎	○
小西 彰一	東北大・理・生物	●		○
小林 和貴	東北大・院・理・生物	●	◎	○
斎藤 憲司	東北大・院・理・生物	●		
斎藤 周平	東北大・院・理・生物	●		○
佐藤 茂	東北大・農・環境適応	○	○	○
鈴木 三男	東北大・院・理・生物	○		○
高橋 賢一	東北大・院・理・生物	●	◎	○
高橋 文雄	東北大・遺生研	●	◎	○
田中 由岐子	東北大・院・理・生物	●	◎	○
田部 茂	東北大・遺生研	○	◎	○
蔡 洙天	東北大・院・理・生物	●	◎	○
出村 拓	東北大・院・理・生物	○	◎	○
寺田 和雄	東北大・院・理・生物	●		○
縄田 朋樹	東北大・医療技術短大	○		○
根本 智行	東北大・院・理・生物	○		○
彦坂 幸毅	東北大・院・理・生物	○		○
平野 亮	東北大・院・理・生物	●	◎	○

平吹 喜彦	宮教大・生物	○	○	○
福井 丈	東北大・遺生研	●		
福田 達哉	東北大・院・理・生物	●	◎	○
前田 靖男	東北大・院・理・生物	○	○	○
松山 晋一	東北大・院・理・生物	●		○
丸山 明子	東北大・院・理・生物	●	◎	○
宮寄 厚	東北大・遺生研	○	○	○
村上 正剛	東北大・院・理・生物	●	○	
本村 浩之	東北大・院・理・生物	●		○
山崎 裕	東北大・遺生研	●	◎	○
山本 美奈	宮教大・生物	○	◎	○
横山 亜紀子	東北大・院・理・生物	●	○	○
横山 潤	東北大・院・理・生物	○	◎	○
吉岡 俊人	東北大・農・環境適応	○	○	○
山形県				
岩澤 磁	山形大・理・生物	●		○
岩滝 光儀	山形大・理・生物	●		○
エーエーモンウー	山形大・教育・生物	●		
奥山 かおり	山形大・教育・生物	●	◎	○
加藤 良一	山形大・教育・生物	○	○	○
川田 昌弘	山形大・理・生物	●	◎	
北澤 由美	山形大・理・生物	●	◎	
草なぎ 真紀	山形大・理・生物	●		○
近藤 貴靖	山形大・理・生物	●	◎	○
鈴木 隆	山形大・教育・生物	○	○	○
鈴木 光宏	山形大・理・生物	●		
高橋 宏之	山形大・教育・生物	●		○
丹野 憲昭	山形大・理・生物		○	
辻村 東國	山形大・理・生物	○	○	○
土井 考爾	山形大・理・生物	○	◎	○
長谷川 俊一	山形大・教育・生物	●		○
長谷川 裕子	山形大・理・生物	●		○
原 慶明	山形大・理・生物	○	◎	○
菱沼 佑	山形大・理・生物		○	
保科 亮	山形大・理・生物	●		○
宮坂 佳代子	山形大・理・生物	●		○
福島県				
櫻村 利道	福島大・教育・生物	○		○
他県				
五十嵐 恵	東京大・理・植物園		○	
加藤 雅啓	東京大・院・理学系・生物科学		○	
原 正利	千葉中央博		○	
福田 裕穂	東京大・理・植物園		○	
宮浦 真澄	平岡森林研究所	○	◎	

○一般、●学生 ◎登壇者 ○連名者