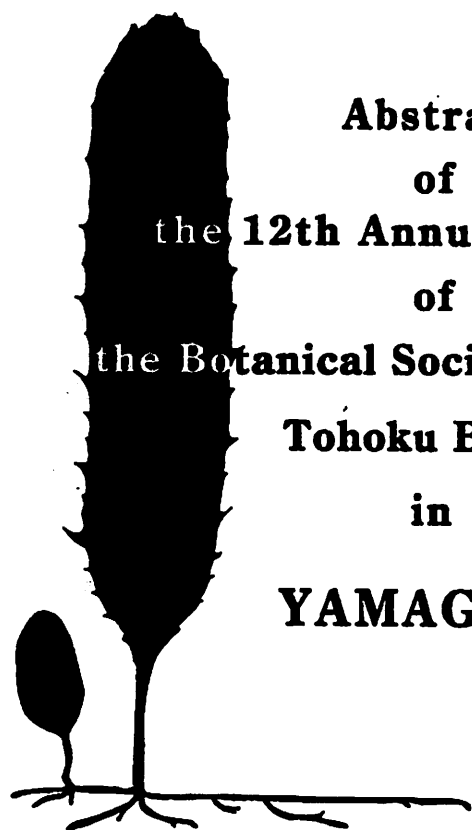


日本植物学会東北支部

第12回山形大会

講演要旨集



Abstracts
of
the 12th Annual Meeting
of
the Botanical Society of Japan,
Tohoku Branch
in
YAMAGATA

開催日：1998年12月12日(土), 13日(日)

会場：山形大学理学部先端科学実験棟

日本植物学会東北支部

1998年 山形

日本植物学会東北支部第12回山形大会 一般講演プログラム

日時：1998年12月12日（土）、13日（日）

場所：山形大学理学部先端科学実験棟 大講義室（4階）

第1日 12月12日（土）

13:00 開会の挨拶

13:10 1-1 花輪堤ノハナショウブ群落の植生動態
竹原明秀（岩手大・人文社会・生物）

13:25 1-2 荒廃熱帯低湿地の先駆優占樹木・*Melaleuca cajuputi* の
セーフサイトの検出
○富田瑞樹¹、平吹喜彦¹、鈴木邦雄²
（¹宮教大・生物、²横浜国大・経営）

13:40 1-3 青葉山温帯混交林における2型の林冠パッチ間の土壌環境の比較
○會田憲之¹、平吹喜彦¹、渡邊孝男²
（¹宮教大・生物、²宮教大・生活系）

13:55 1-4 ブナ林下で優占するオオカメノキとオオバクロモジの種子生産の
時空的変動
○木村 恵¹、平吹喜彦¹、菅野 洋²、原 正利³
（¹宮教大・生物、²東北大・院・農、³千葉県・中央博物館）

14:10 1-5 蔵王連峰に散在する湿原間の遺伝的交流
—RAPD法によるキンコウカの集団構造解析—
○金子恭史、石澤公明（東北大・院・理・生物）

14:25 1-6 邦産フクジュソウ属植物の受粉機構Ⅱ —訪花昆虫と花内温度—
○斎藤友紀、須田 裕（岩手大・教育・生物）

- 14:40 1-7 マルハナバチ送粉共生系における植物と送粉者の対応関係
 ○中島真紀、横山 潤、大橋広好 (東北大・院・理・生物)
- 14:55 1-8 マメ科ヌスビトハギ連における花部形態と送粉機構との関連
 ○笹本展世、根元智行、横山 潤、大橋広好 (東北大・院・理・生物)
- 15:10 休憩 (15分)
- 15:25 1-9 ウスバサイシン属植物の地域集団間の形態変異の解析
 ○山路弘樹、横山 潤、根元智行、大橋広好 (東北大・院・理・生物)
- 15:40 1-10 小笠原諸島産イチジク属植物の遺伝的分化
 ○横山 潤¹、福田達哉¹、大橋広好¹、加藤雅啓²
 (¹東北大・院・理・生物、²東京大・院・理・生物科学)
- 15:55 1-11 サルクラハンノキ (カバノキ科) の再発見とその正体に関する知見
 ○米倉浩司¹、大橋広好²
 (¹東北大・理・八甲田実験所、²東北大・院・理・生物)
- 16:10 1-12 金華山島に産する矮小植物の成長の解析
 ○吉田 馨、横山 潤、大橋広好 (東北大・院・理・生物)
- 16:25 1-13 オニドコロの種子の発芽と芽生えの成長
 ○平野剛史、海野智幸、岡上伸雄 (東北大・院・理・生物)
- 16:40 1-14 ヤマノイモ属の種子の発芽と芽生えの成長
 ○海野智幸、平野剛史、岡上伸雄 (東北大・院・理・生物)
- 16:55 1-15 ヤマノイモ属に含まれている abscisic acid 類縁化合物
 7'-hydroxy abscisic acid
 ○原田篤子¹、千田芳裕²、丹野憲昭³、岡田勝英¹、岡上伸雄⁴
 (¹山形大・教育、²東北大・院・情報科学、³山形大・理・生物、
⁴東北大・院・理・生物)

17:10 1-16 レピジモイドの植物ホルモン様生理活性について
○鍋谷 浩¹、後藤伸治¹、富田・横谷香織²、長谷川宏司²
(¹宮教大・生物、²筑波大・応用生物化学)

17:25 1-17 遺伝資源としてのシロイヌナズナ系統保存と
「仙台種子保存センター」の活動
後藤伸治 (宮教大・生物)

17:40 休憩 (5分)

17:45 東北支部総会

18:45 懇親会 (山形大学小白川キャンパス生協食堂「テール」)

第2日 12月13日(日)

9:00 2-1 沖縄県慶良間島産底棲性渦鞭毛藻 1 未記載種の形態と生活環
○工藤 創、岩滝光儀、原 慶明 (山形大・理・生物)

9:15 2-2 クラミドモナスの低光呼吸突然変異株とその性質
○鈴木健策、Mamedov, T. G. (農水省・東北農試)

9:30 2-3 カルモジュリン阻害剤によるミカツキモ半細胞の伸長阻害
縄田朋樹 (東北大・医短大)

9:45 2-4 多核細胞フシナシミドロの核から伸びる微小管
○高橋文雄、片岡博尚、大瀧 保 (東北大・遺生研)

10:00 2-5 ヒゲカビの胞子のう柄の分化発生に及ぼす赤色光の影響
○崔 寛三、堀江直司、大瀧 保 (東北大・遺生研)

- 10:15 2-6 付加機能を持つキチン合成酵素遺伝子のヒゲカビからの単離
○三岡周子、宮寄 厚、大瀧 保 (東北大・遺生研)
- 10:30 2-7 アグロバクテリウムの腫瘍遺伝子と植物の二次代謝物質
○我彦広悦、Galís, Ivan (秋田農短大・生物工学研)
- 10:45 休憩 (15分)
- 11:00 2-8 形質転換タバコ培養細胞 BY-2 を用いた EXGT 機能の解析
○坂本亜矢子、伊藤 寿、横山隆亮、西谷和彦
(東北大・院・理・生物)
- 11:15 2-9 ACC酸化酵素遺伝子をセンス方向に導入したカーネーション
におけるエチレン生成の減少と花持ち性の向上
○小杉祐介¹、鶴野樹々子¹、岩崎勇次郎¹、佐藤 茂¹、望月 淳²
(¹東北大・院・農・環境適応、²農水省・東北農試・水田利用)
- 11:30 2-10 西洋ナシ追熟性欠損突然変異体のエチレン生成と作用
○菅家智ゆり¹、佐藤 茂¹、吉岡俊人¹、米野智弥²
(¹東北大・院・農・環境適応、²山形県・園試)
- 11:45 2-11 増殖/分化の切り換えにおけるリン酸化タンパク質の機能：
Dictyostelium を用いた解析
○斎藤憲司、前田靖男 (東北大・院・理・生物)
- 12:00 2-12 ミトコンドリア遺伝子 (*dia3*) は *Dictyostelium* 細胞の増殖と
分化の切り換えに必要
○稲津裕司、蔡洙天、前田靖男 (東北大・院・理・生物)
- 12:15 2-13 細胞性粘菌における接合子形成に関する *zyg1* の機能解析
雨貝愛子 (東北大・院・理・生物)
- 12:30 閉会の挨拶

座長一覽

第1日 12月12日(土)

1-1~1-5	須田 裕
1-6~1-8	後藤伸治
1-9~1-12	平吹喜彦
1-13~1-17	石澤公明

第2日 12月13日(日)

2-1~2-4	前田靖男
2-5~2-7	佐藤 茂
2-8~2-10	我彦広悦
2-11~2-13	大瀧 保

【交通】 山形駅から山形大学まで

●バス

路線： 東原経由千歳公園行き
バス乗り場：4番乗り場（山形駅前）
下車停留所：山形大前
所要時間：10～15分
料金： 170円

バス時刻： 山形駅発	山形大前発→山形駅行き
8:05	7:44
9:00※	8:44※
10:00	9:44
11:00※	10:44※
12:00	11:44
13:00※	12:44※
14:00	13:44
15:00※	14:44※
16:00	15:44
17:00※	16:44※
18:00	17:44
19:00※	18:44※

※日・祭日運休

山形交通バス案内 ☎ 023-632-7272

●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： 1,000円前後

●徒歩

所要時間：25～30分

〔お願い〕

山形大学小白川キャンパスでは、当日の駐車スペースがほとんど無い状態なので、自家用車での来校は避けたほうが良いと思われます。各自の宿泊施設の駐車場か山形大学近くの駐車場を御利用下さい。

1-1

花輪堤ノハナショウブ群落の植生動態

竹原明秀（岩手大・人文社会・生物）

我が国にみられる草原（広義の草本植物群落）にはススキ草原やシバ草原のように半自然性のものが代表とされるが、ヨシ草原やヌマガヤ草原などの湿生植物群落のように自然性のものもある。これらの草原は人為環境下あるいは特殊環境下に成立するもので、草原として存続させるためには成立環境を継続させる必要がある。ここでは特殊な環境下に成立している草原として、国の天然記念物に指定されている花輪堤ノハナショウブ群落（昭和10年4月指定、名称「花輪堤花菖蒲群落」、岩手県花巻市宮野目）を取り上げ、歴史的変遷（周辺地域の環境変化）と近年の植生動態について述べる。

花輪堤ノハナショウブ群落がある堤は、江戸時代末期から明治時代初期に水田の灌漑用に築立されたもので、周囲は原野、草生地、水田となっており、天然記念物指定当時、堤内にはノハナショウブが群生していた。その後、開墾事業とともに堤周辺は区画整理が行われ、全てが水田に変わり、ノハナショウブ群落の孤立化が進行した。このため、ノハナショウブ群落に変化が生じ、群落維持のために火入れや表土の剥ぎ取り、取水口の設置などが行われたが、以前の姿に戻らなかった。さらに1993年から始まった水田の大区画圃場整備事業によって、堤内に給・排水のための給水栓・吸水渠・集水渠の設置、ため池内に溜まった堆泥の浚渫などの整備が行われ、堤内の植生は大きく攪乱し、一部に裸地が出現した。

このような環境変化の中で、堤内には連続する水分環境に沿い、（乾性地）ススキ群落、（湿潤地）コシンジユガヤノハナショウブ群落・ノテンツキ群落・トダシバーヌマトラノオ群落、（冠水地）アゼスゲーチゴザサ群落、カンガレイ群落などが1983年当時確認されている。これらの群落は1992年にも同様の場所にみられたが、種組成に大きな変化が生じ、より湿性な立地に出現する種が侵入・増加し、より乾性な立地に出現する種が減少・消失した。この原因に関して明らかでないが、堤内の地下水位が定期的に変動していたものがより高い水位に定常化し、より湿性化した環境になったと考えられる。これは従来までの堤の利用がなくなり、ため池の水位変動が消失したためといえる。一方、圃場整備事業に伴う整備による環境の変化（1994年）は、植物によって出現頻度や積算優占度の増減に大きな違いが認められ、環境の変化に対する植物の反応は種によって異なった。また、出現した裸地には一年生草本が早急に侵入したが、短期間に消失した。このように草原に属する群落は、環境の変化によって種組成も大きく変化していくことが示唆された。

1-2

荒廃熱帯低湿地の先駆優占樹木・*Melaleuca cajuputi* の セーフサイトの検出

○富田瑞樹¹・平吹喜彦¹・鈴木邦雄² (¹宮城教育大・生物、
²横浜国立大・経営)

東南アジアの低海拔域には、膨大な面積の泥炭低湿地が存在するが、大規模な農地開発により、原植生の消失が顕著である(Rieley et al., 1996)。しかも、多くの開発地では、泥炭層と硫化鉄鉱物を含む粘土層に起因する過湿や強酸性(Charoenphong, 1986; Kyuma, 1995; Maltby et al., 1996)といった土壌条件、および火入れや伐採、排水などの人為圧の存在により、荒廃の進行が著しい。

本講演では、野火直後の荒廃泥炭低湿地における「*M. cajuputi*の定着と初期成長の状況、およびファインスケール解析から検出されたセーフサイト」について報告する。

調査地と調査方法

調査は、タイ国南端の泥炭低湿地(6° 30'22"N, 101° 44'42"E)で、1997年8月末と1998年2月末および8月上旬に実施した。Nagano et al. (1995)によれば、当該地域の年平均気温は27.6°C、年降水量は2560mmであり、1年は乾期(1~9月)と雨期(10~12月)に区分される。1997年5月下旬に発生した野火は、くすぶるように燃え続け、地上部の植物体や泥炭層の上層部(厚さ約25cm)を焼いたと見積もられた。

焼失地における *M. cajuputi* の更新過程を明らかにするために、10m×1m と 5m×1m の帯状区を設置し、1 m²の区画ごとに、以下の調査を行った: (1)すべての生育個体をピンでマーキングした上で、種名、自然高、根元位置、実生か萌芽か、定着した基質などを調べ、以降、生死と自然高を追跡した。(2)0.1m 間隔の格子枠を水平に被せ、すべての交点で地表までの深度を測定し(0.5cm 括約)、さらに地表に分布する枯死植物体の形状を描いた。また、微細地形と実生の定着・初期成長との関連を解析し水位の季節的変動(長野ほか、私信)との係わりを検討した。

結果と考察

*M. cajuputi*の総個体数は、野火3か月後(1997年8月末)には690個体/15 m²に達し、雨期を挟んだ約6か月後(1998年2月末)には679個体/15 m²(侵入154個体、死亡165個体; 枯死率23.9%)、約11か月後(1998年8月上旬)には673個体/15 m²(侵入7個体、死亡13個体; 枯死率1.9%)と変化した。6か月後までに枯死した個体の70.9%は、当初の自然高が0.5cm以下の微細な実生個体であった。また、発生した個体はすべて実生由来で、その97.1%が根株等の木質部ではなく、泥炭上に定着していた。

1997年8月末から6か月後、および11か月後の *M. cajuputi*の伸長量(平均±標準偏差)は順に、31.7±20.0cm (*n*=525) 44.28±26.39cm(*n*=518)で、*M. cajuputi*が著しい伸長成長能力を有し、個体間で格差が拡大してゆく実態が把握された。

1997年8月末のデータに基づいて、地表面の微細地形(比高-17.5~41.0cm)と *M. cajuputi*の根元位置を対応づけると、実生は-12.5~-5.0cmの地表面に集中して分布し(104.0~125.2個体/m²)、伸長の著しい個体は-17.5~-10.0の地表面に分布していた。*M. cajuputi*の定着と成長が補償されるこの「セーフサイト」は季節的に変動する気候と水位(長野ほか、私信; Sasaki et al., 1995)に密接に係わって形成されていることが示唆された。

1-3

青葉山温帯混交林内における2型の林冠パッチ間の土壌環境の比較

○會田憲之¹・平吹喜彦¹・渡邊孝男²

(¹宮城教育大・生物、²宮城教育大・生活系)

はじめに

一般に極相群落の内部には、発達段階の異なる「パッチ」と呼ばれる小域がモザイク状に存在し、このパッチを単位とする循環遷移によって、極相群落の維持がなされていることが知られている。本研究では、このパッチダイナミクス理論を物質循環の立場から検証する手始めとして、実生の発芽・成長に大きな影響を与えると思われる土壌の表層(F層からA₁層上部に当る厚さ5 cmの層)環境について重点的な調査を行うことを目指した。そのための実験系として、温帯混交林内に普遍的に存在し、発達段階の異なる林冠パッチとして認識されている、モミパッチと落葉広葉樹パッチ(平吹, 1991)を選んだ。従来林分レベルの研究で示された土壌環境の差異が、同一林分内で隣接するパッチという小さなサイズにおいても認識できるのか否かを検証した。

調査地と調査方法

調査地は東北大学理学部附属植物園の「モミノキ尾根」直下に位置する2型の林冠パッチである。土壌サンプルは1993年12月～1995年9月まで38回にわたり、それぞれの林冠パッチ下の土壌から採取され(山本, 1996)、標準的方法により調整、抽出した。交換性ナトリウムとカリウムは原子吸光度計を用いて、交換性カルシウムとマグネシウム、および可給態リンは発光分光分析装置とそれぞれ用いて、各濃度を測定した。また土壌表層環境に大きな影響を及ぼす降雨についても、2型の林冠パッチで1997年5月～1998年1月まで21回にわたって雨水を採取し、その量と栄養塩類濃度(元素の種類・分析方法は土壌と同じ)を測定した。一連の調整および分析方法については、主に『土壌標準分析・測定法』(土壌標準分析・測定法委員会, 1986)に準拠した。

結果と考察

土壌表層中の栄養塩類および降雨によってもたらされる栄養塩類は、全元素がモミパッチで高い値を示した。このことはパッチダイナミクスという観点から、より発達したステージに位置づけられるモミパッチ(平吹, 1990)が、潜在的により豊かな栄養環境を有していることを示す点で興味深い。また、林分の物質循環を明らかにする際には、パッチという動態単位の存在を考慮する必要があることを示唆し、あわせてモミパッチは「栄養塩類の貯蔵庫」としての機能を有していることが推察された。

雨量は、常緑針葉樹の林冠によって多くの雨や雪が遮断されるモミパッチに比べ、落葉広葉樹パッチで多かった。この結果はまた、山本(1996)による土壌含水量の測定結果を支持する。すなわち、「モミパッチの表層土壌がより乾燥している」ことの一因として雨量の少なさが指摘された。

土壌サンプルにおいて、測定した諸元素の季節変動には相互に連動が見られた。しかし、サンプル採取日ごとに測定値のふれが大きく、現段階では一定の傾向を見出すことが出来なかった。一方、降雨中の諸元素の季節変動は、落葉期にあたる11月～12月にかけて降下量が増加していた。老化・落下した葉からの溶脱が原因と考えられた。

1-4

ブナ林下で優占するオオカメノキとオオバクロモジの種子生産の時空的変動

○木村恵¹・平吹喜彦¹・菅野洋²・原正利³

(¹宮城教育大・生物、²東北大・大学院農学研究科、³千葉県立中央博物館)

はじめに

オオカメノキとオオバクロモジは日本海型ブナ林の林床を特徴づける重要な低木種であり、林冠木による被陰や落枝による損傷、積雪による重圧といった環境下に生育している。この2種が盛んに行う萌芽や伏条といった栄養繁殖(Hara, 1990; 山中, 1989 など)は、こうした環境に適した生活史戦略といえる。しかし、遺伝子の交流を行い、個体群の拡大をはかる上で重要な種子繁殖の寄与の程度については、ほとんど調査がなされていない。そこで本研究では種子の生産過程に注目し、①開花から散布までの果実の成長・生存過程と、②3年間にわたる種子と結実幹の数、およびそれらの空間分布の年変動について調査を行った。

調査地と調査方法

調査地は、宮城県栗駒山の南斜面に位置する日本海型ブナ林で、対象とした2種が、低木層において圧倒的に優占している(Hara et al., 1984; 海拔約780m; 38° 55'N, 140° 48'E)。100m×50mの方形区を設置し、内部を5m×5mの小区画200個に細分して諸調査を行った。

1998年5月1日に両種の花序をマーキングし(オオカメノキ45花序、オオバクロモジ87花序)、1花序あたりの果実(=種子)数の変動を追跡した(1998年11月1日まで)。同時に調査区外の個体から果実を採取し、果実や種子の外形や乾燥重量を調べ、それらの成熟過程を明らかにした。

また1995年から1997年の3年間、調査区内で結実した幹を見出し、果実数と幹自然高を計測した(1995年9月2・3日および20日、1996年8月28日、1997年8月19日)。

結果と考察

(1) 両種は積雪から解放されて間もない5月初旬に、ほぼ同時に開花した。オオバクロモジ(雌雄異株)では、雄花の方が雌花に比べいくぶん早く開花した。花序あたり平均99.6個の生殖花をつけたオオカメノキは、6月中旬に果実数を著しく減少させ(残存率10%程度)、その後は安定した果実数を保っていた。一方、オオバクロモジは、1花序あたり平均6.5個の雌花をつけ、8月中旬まで徐々に果実を減少させ、0個から4個程度となった。両種とも、果実や種子は9月初旬には成熟していた。

(2) 個体群あたりの結実数を年ごとに比較すると、両種ともに豊凶現象がみられた。豊作年には種子数と幹数の双方が増加し、より低樹高の幹で結実がみられた。最多結実年はオオカメノキが1996年で、種子数、幹数は順に7841個/0.5ha、258本/0.5ha、オオバクロモジが1997年で、7388個/0.5ha、150本/0.5haであった。

(3) I_s -指数(Morisita, 1959)により、結実した種子の分布状況を解析してみると、両種とも3年間にわたって集中分布を示し、10m×10mのサイズで顕著な集中斑が検出された。また、 ω -指数(Iwao, 1977)による解析から、こうした集中斑は、同種内では毎年同所的にあらわれる反面、2種間での重複は小さいことが判明した。

以上のように種子生産に関わって、ブナ林の林床で優占する2種が、いくつもの相似た様式を有していたことは注目される。一方両者には、豊凶の年や結実幹の分布に明瞭な違いがあった。今後は、こうした現象が生じた機構やその意義について調査、解析を深めて行きたい。

1-5

蔵王山系に散在する湿原間の遺伝的交流 —RAPD法によるキンコウカの集団構造解析—

金子 恭史・石澤 公明 (東北大・院・理・生物)

宮城・蔵王両県にまたがる蔵王連峰では、海拔1600m付近の地表傾斜の緩やかな場所に湿原が点在している。ここでは、アオモリトドマツ低木林や滑落した崖によって、地形的に分断されている湿原や、微小な水流に沿って発達している湿原などが見られる。このように、環境要因により大きな制約を受けている湿原の成立・発達・維持過程には、湿原を構成する植物個体の分散が重要な役割を果たしていると考えられる。そこで、湿原の集団内・集団間での遺伝的交流の解析を試みた。

本研究では、特に刈田岳西側(御田神東側・地滑り地)のアオモリトドマツ林の中にパッチ状に散在している小湿原に注目した。これらの小湿原を、地理的な分布により北部、東部、南部集団に分けて比較を行った。ここに生育しているキンコウカ (*Narthecium asiaticum* Maxim.) を対象として、RAPD(random amplified polymorphic DNA)法を用いて遺伝的多型を検出し、解析を行った。RAPDによって得られた多型のバンドパターンの解析には、RAPDistance (Armstrong et al. 1994) を用い、近隣結合法(Saitou & Nei 1987)によって、個体間の近縁図を作成した。分集団間の遺伝的距離の解析には、AMOVA(analysis of molecular variance, Excoffier et al. 1992)を用いた。

個体間の近縁図では、それぞれの湿原の中での分集団ごとに比較的よいまとまりが見られた。個々の湿原間が地理的に離れている北部集団では、その傾向が顕著になる。それに対し、湿原間が比較的近くに位置する南部集団では、分集団ごとのまとまりは弱く、近縁度の高い個体が広い地域に分散する傾向が見られた。両集団の中間部にあたる東部集団では、両者の中間的な傾向が見られた。また、集団間の遺伝的距離においても、北部に比べ南部の集団間で低い値になった。

以上の結果を、キンコウカの個体分散の方法と、湿原の地理的な分布の違いとに関連させて考察を試みた。

キンコウカの種子は、水中に完全に沈んだ状態でも発芽する。また、湿原内の小さな水流に沿って発達している集団も見られることから、種子の分散には水の流れが重要な役割を果たしていると考えられる。また、キンコウカは根茎を伸ばし、その先にシュートを形成して増えてゆく、いわゆるクローン植物である。

北部の湿原では、分集団ごとの近縁度が高いが、これは地理的隔離によって、個体の分散が妨げられ、集団内がいくつかの限られたクローンで構成された結果であると推論される。南部の湿原間では、近縁度の高い個体が広範囲にわたって分散しているが、これは南部の湿原が互いに近接し、水流のつながりもみられることから、湿原間での遺伝的な交流が起こりやすく、数多くの多様なクローンから集団が形成されるためと考えられる。

RAPD法には精度に限界があることが指摘されているが、今回のように、集団間の多個体の比較を行い、全体の傾向をつかむ場合では有効であることが示唆された。

1-6

邦産フクジュソウ属植物の受粉機構 II.

- 訪花昆虫と花内温度 -

齋藤 友紀^{*}・須田 裕 (岩手大・教育・生物)

11回盛岡大会で演者等は、フクジュソウ属植物の受粉機構、なかでも結実率と訪花昆虫について報告し、①花被片の開閉による自動同花受粉は高い結実率を示すこと、②二倍体、四倍体の主な送粉者はそれぞれヒメハナバチ、ミツバチであり、両者に共通する訪花昆虫にはこれらの他にハナアブ、ハエがあることを明らかにした。また、訪花頻度は高いが、送粉者としての有効性が疑わしい昆虫がいることを示唆した。

今回は、四倍体個体群について、①花内温度と訪花昆虫の種類構成および様態にはどのような関係があるのか、②訪花頻度とその様態からみて、有効な送粉者はどの訪花昆虫か、を調べたので報告する。

花内温度は、雌雄蕊群のある中央部分が相対的に最も高く、周りの気温より3~4℃も上回る。しかし、重なり合う花被片を交互に除去して通風をよくすると、花内温度は下がって、周囲との気温差は小さくなる。このような花被片の部分除去処理をした花を訪れる昆虫の種類構成とその頻度を調べた。その結果、種類構成に変化はないものの、ハエの訪花頻度がやや下がる傾向がみられた。

次に、それぞれの訪花昆虫の移動頻度（訪れる花の数）とその様態をfeeding, basking, mating, searching の4態にわけて調べた。その結果、ミツバチは一時間に平均5花移動し、feedingのみ行っていた。一方ハナアブとハエはほとんど移動せず、ハナアブはfeedingとbasking、そしてハエはbaskingのみを行っていた。

更に、内部の温度を保てるように、生花に似せて作製した模型花を使って、それらを訪れる昆虫の種類構成と様態を調べた。その結果、模型花にはハエやアブが多く訪れ、様態としてはbaskingが多かった。

以上の結果から、四倍体フクジュソウの受粉機構について、以下のことが明らかになった。①ミツバチはfeedingを目的に訪花しており、その訪花頻度と花内温度の高低とは無関係である。一方、ハエやアブは花内の暖かさを求めてbaskingのために訪れている。②ミツバチは花粉を集めるのに無駄な動きがなく、花の間の移動回数（花の数/匹/時）も多いので、同花受粉、他家受粉共に最も有効な送粉者といえる。ハナアブはfeedingやbaskingに訪花し、花の間はほとんど移動しない。しかし、feedingの際に歩き回るので同花受粉には有効である。ハエは主にbaskingのみで、花の間も移動しないので、送粉者とは言えない。

1-7

マルハナバチ送粉共生系における植物と送粉者の対応関係

○中島 真紀、横山 潤、大橋 広好

(東北大・院・理・生物)

送粉者となる昆虫は、その形態や行動により植物の花部形態の進化に大きな影響を及ぼしていると考えられている。そのような昆虫として知られているマルハナバチは、高い体温維持能力を有し、温帯から寒帯にかけて適応放散した真社会性のハナバチであり、餌として必要な花蜜や花粉を大量にかつ効率良く得る必要がある。このため利用植物の認識・学習能力に優れ、高い定花性を持つことから、多くの植物にとって特に重要な送粉者となっている。マルハナバチは種間だけでなく種内にも、口吻長をはじめとする体のサイズに変異があり、花との対応関係を明らかにするためには、個体単位でマルハナバチの体のサイズの変異に着目する必要がある。しかしこのような研究例は少なく、マルハナバチの体のサイズと植物の花部形態との対応関係も十分に調べられていない。

演者らのこれまでの調査で、宮城県には6種のマルハナバチの生息が確認されている。東北地方が属する冷温帯ではマルハナバチの送粉者としての重要性が暖温帯により高く、他の送粉者に比べ植物の花部形態の変異に対して強い影響を及ぼすと考えられる。そこで本研究では、東北地方に自生している植物の花部形態とマルハナバチとの対応関係を調べるために、マルハナバチの体各部のサイズの計測、訪花パターンの観察、さらにマルハナバチの訪花を受ける植物の花部形態の計測を行い、各調査地間で比較した。調査地として、マルハナバチ相の異なる仙台市近郊の3地域、太白山、笹谷峠、泉ヶ岳を選んだ。

観察の結果、調査地間でマルハナバチの訪花パターンに違いが見られた。太白山では1種のマルハナバチにのみ訪花される植物が多いのに対して、笹谷峠では数種のマルハナバチが1種の植物に訪花する傾向が見られ、泉ヶ岳ではその中間的な訪花パターンが確認された。また、同じ植物種でも、地域によって訪花するマルハナバチ相や、その頻度が異なることが観察され、さらにそのような植物で、地域間で花部形態の変異が見られた。タニウツギには、調査地間で口吻長および体のサイズが異なる3種のマルハナバチのクィーンが訪花しており、同様に花部形態にも花冠長および花冠幅に変異が見られた。太白山のホタルブクロでは、2地域に比べて体の大きい個体の訪花が多く確認され、その花部形態は笹谷峠のホタルブクロと泉ヶ岳のヤマホタルブクロに比べて花筒の入り口の幅が広がっていた。テンニンソウは、笹谷峠では頭部幅の狭い3種が訪花者であるのに対して、泉ヶ岳ではその他に頭幅の広いオオマルも訪花しており、花部形態は泉ヶ岳の集団で花筒幅の変異の幅が大きくなる傾向が見られた。以上のことから、調査地間における植物の花部形態の変異は、その植物に訪れたマルハナバチの体のサイズと対応している可能性が示唆された。

1-8

マメ科ヌスビトハギ連における花部形態と送粉機構との関連 笹本 展世^{*}、根本 智行、横山 潤、大橋 広好 (東北大・院・理・生物)

マメ科マメ亜科に属するヌスビトハギ連 *Desmodieae* は、主に節果をもつという特徴でまとめられており、3 亜連 27 属約 550 種が含まれ、世界の熱帯、亜熱帯地域に広く分布している。

マメ科マメ亜科の植物は、1 枚の旗弁と各 2 枚の翼弁と竜骨弁からなる蝶形花と呼ばれる特徴的な花をつける。マメ亜科の花の送粉機構には 4 つの異なるタイプが報告されているが、本研究で材料として用いたヌスビトハギ連では、このうちマメ亜科で一般的に知られている単純型と呼ばれる送粉機構の他に、破裂型と呼ばれる送粉機構が認められる。単純型では、送粉者である昆虫が吸蜜のために翼弁と竜骨弁の上に停まると、その重みで翼弁と竜骨弁が押し下げられ、竜骨弁に包まれていた雄ずいと雌ずいが飛び出す。昆虫が飛び去るとそれらの花弁はもとの位置に戻る。これに対して破裂型では、昆虫の訪花を受けるとその物理的な刺激で 1) 雄ずいと雌ずいが飛び出すタイプ、2) 翼弁と竜骨弁が勢いよく下方に下がるタイプ、あるいは 3) その両方が同時に起こるタイプが知られている。破裂型ではいずれのタイプでも、昆虫が飛び去った後も花はもとの位置に戻らないという点で単純型と異なる。ヌスビトハギ連では、このうち 2 のタイプの破裂型の花が見られる。本研究では、単純型と破裂型の花部形態の差異を明らかにし、このような破裂という特殊な現象を生み出す花の構造上の仕組みを解明することを目的とする。

これまでにヌスビトハギ連 9 属 30 種の花について、肉眼およびパラフィン切片を用いた花部形態の観察を行った。その結果、破裂型の花では、翼弁と竜骨弁が接着しており、単純型の花では、翼弁と竜骨弁は離生していた。さらに、接着部分の切片を観察すると、破裂型では竜骨弁の一部に膨らみが生じていること、またこの膨らみには他の部分とは形態が異なる長方形の表皮細胞が存在していることがわかった。一方、単純型の花の切片では、破裂型の花で見られたような竜骨弁の膨らみおよび長方形の表皮細胞は観察されなかった。このように、送粉機構が異なる花では、特に竜骨弁に違いがあることが明らかになった。また、開花した破裂型の花を観察すると、翼弁と竜骨弁の基部から両者が接着している部分までの長さが、翼弁と竜骨弁で異なっていることがわかった。以上の結果と、翼弁と竜骨弁が下方に下がるという破裂様式をあわせて考えると、翼弁と竜骨弁の接着が生じた後のそれぞれの花弁の伸長速度が異なることが、花の破裂を引き起こしていると考えられる。

1-9 ウスバサイシン属植物の地域集団間の形態変異の解析

*山路弘樹、横山潤、根本智行、大橋広好

(東北大・院・理・生物)

ウスバサイシン属(*Asiasarum*)は東アジアに分布するウマノスズクサ科の多年草で、Maekawa(1936)により4種2変種が認識され、日本にはそのうちの3種が分布するとされていた。その後Nakamura (1986)は分類学的な再検討を行い、日本のウスバサイシン属を2種1亜種4変種に再分類した。

これまで北海道にはオクエゾサイシンのみが分布するとされていたが、最近空知南部・日高地方から、それとは形態的に異なるウスバサイシン属植物が見付けられた。

そこで演者らは、その新植物と既知の分類群の形態的相違を明らかにし、その分類学的位置を調べるために、Nakamura(1986)の示した全分類群と比較を行った。各産地より生植物を採集し、それらの資料から得た花の各部を計測すると共に花粉形態を走査型電子顕微鏡で観察した。

北海道各地の調査の結果、問題の植物は日高地方の集団において特に多く、さらに胆振から空知南部・十勝西部においても見られることがわかった。オクエゾサイシンが下方に向けて反り返る萼裂片をもつものに対して、この植物は萼裂片が上方に向く傾向が強く、さらにその先端が鋭先端となることが多い。この植物はオクエゾサイシンの変種とされ、本州の関東北部山地に分布するミクニサイシンに類似することがわかったが、花全体に対して萼裂片が小さいことで異なっている。花粉表面模様は、ウスバサイシン属のいずれの分類群もいぼ状突起をもつ。しかしオクエゾサイシンとミクニサイシンではいぼ状突起表面がなめらかなのに対して、問題の植物はうね状の模様がある。

以上の結果により、北海道で新たに見つかった植物は、Nakamura(1986)の示したいずれの分類群にも属さないものであり、新しい分類群として位置づける。

1-10

小笠原諸島産イチジク属植物の遺伝的分化

○横山 潤¹、福田達哉¹、大橋広好¹、加藤雅啓²

(¹東北大・院・理・生物、²東京大・院・理・生物科学)

イチジク属 (*Ficus*, クワ科) は、種特異的なイチジクコバチ科の昆虫のみに送粉を依存する特殊な送粉共生系を持っている。このため、イチジク属植物の種分化はこの送粉を行うコバチ類の種分化を伴って生じると考えられる。しかし、イチジク属と送粉コバチ類の共種分化に関する研究はほとんど行われていないのが現状である。本研究では、小笠原諸島固有のイチジク属植物と送粉コバチ類の系を用いて、両者の共種分化過程の解析を行う一環として、植物の遺伝的分化の程度に関する調査を行った。

小笠原諸島は、本州から約1000km南に位置する典型的な海洋島である。この島々には単一の祖先種から分化したと考えられる3種のイチジク属植物が知られ、いずれも小笠原諸島の固有種である。このうち、2倍体種であるトキワイヌビワ (*Ficus boninsimae*) とオオトキワイヌビワ (*Ficus nishimurae*) は、典型的な個体は形態的にも生態的にも互いに異なっているが、攪乱された環境にはしばしば中間的な個体が出現することから、それぞれの種の独立性を疑問視する意見もある。そこでここでは、この2種が種分化のどのような段階にあるのかを明らかにする一つの指標として、トキワイヌビワとオオトキワイヌビワがどの程度遺伝的な分化を遂げているのかを、RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA)解析を用いて調査した。

12種類のランダムプライマーを用いて調査した結果、父島、母島ともに、トキワイヌビワはオオトキワイヌビワに比べて集団中の遺伝的多型の程度が低かった。本土に分布する最も近縁な種であるイヌビワ (*Ficus erecta*) と比較すると、トキワイヌビワは派生的なバンドパターンを示し、オオトキワイヌビワのある集団から分化を遂げた可能性が示唆された。これはトキワイヌビワが派生的な外部形態的特徴を示すことと一致する。しかし両者とも、島間での遺伝的分化は認められなかった。これらに共生する送粉コバチ類には、集団間にミトコンドリアDNAの明瞭な遺伝的分化が見られ、経年調査からも集団間の送粉コバチ類の移動はほとんど起こっていないと推定された。したがって小笠原諸島のイチジク属-送粉コバチ類の共種分化過程では、集団間の遺伝的分化の程度が植物と昆虫で異なっており、昆虫の遺伝的分化が先行している状態にあることが明らかとなった。

1-11 サルクラハンノキ (カバノキ科) の再発見とその正体に関する知見

米倉浩司・大橋広好 (東北大・理・八甲田山植物実験所)

カバノキ科のサルクラハンノキ (*Alnus hakkodensis* Hayashi) は、林弥栄氏によって南八甲田山系の猿倉温泉と赤倉岳の間で採集された標本に基づき記載された植物で、腎心形凹頭の小形の葉を有する点で日本産の他の全てのハンノキ属の種から容易に区別することができる (林 1952, Hayashi 1954)。本種は八甲田山系に固有の種とされているが、林による記載の後には1979年に山中三男氏によって1回採集された (Yamanaka 1980) 以外に採集記録のない幻の植物であり、その分類学的位置も学者によって異なる意見が出されていた。林 (1952, 1954) は本種を *Alnaster* 亜属のミヤマハンノキ (*A. maximowiczii* Callier) に近縁の種とし、山中 (1980) も再発見した個体の形質の観察結果からこれを支持している。細井 (1994) はさらに本種をミヤマハンノキの奇型とする説を提唱したが、その理由は述べていない。一方、日本の主要な樹木図鑑では、葉が凹頭であることの共通点を重視し、一貫して本種を *Alnus* 亜属のミヤマカワラハンノキ (*A. fauriei* H. Lev.) やヤハズハンノキ (*A. matsumurae* Callier) に近縁の種とみなす説が採用されている (北村・岡本 1958, 北村・村田 1979, 伊藤 1989)。

米倉は、1998年7月に猿倉温泉から赤倉岳方面へ向かう旧軍用道沿いで、矢櫃菴湿原の直下の標高1040 mの地点において1本のサルクラハンノキを再発見した。この樹は高さ3~4 mの斜上する低木で、花や果実をつけていなかったが、特徴ある葉の形質によって本種と同定できるものであった。この場所は、Yamanaka (1980) による本植物の採集地点ともほぼ一致し、同一個体であると思われる。現地ではこの個体しか発見できなかったが、東北大学理学部の標本室に1962年に大橋によって採集された本種の標本があることがわかった。この標本の採集地は今回の採集場所に近いが厳密には一致しないため、少なくともかつては別の個体が存在していた可能性が高い。

再発見されたサルクラハンノキの生育環境は、道から少しはずれた小沢沿いのミヤマハンノキ林中であった。興味深いことに、このサルクラハンノキの幹は、ミヤマハンノキの1個体の幹の基部付近から出ており、両者は地下でつながっているように見えた。また、両者は葉や冬芽の形では異なるが、樹皮では全く区別できなかった。このことから考えて、サルクラハンノキは、ミヤマハンノキの単なる枝交わりに過ぎない可能性が高い。現在、サルクラハンノキと、周辺のみヤマハンノキから葉のサンプルを採集してあり、今後それからDNAを抽出して同一個体か否かの検証を行う予定である。

林弥栄 1952. 日本産樹木新報知 (1). Bull. Gov. For. Exper. Sta. no. 57: 151-157.

Hayashi, Y. 1954. Notes on Japanese plants (1). J. Jap. Bot. 29: 149-152.

細井幸兵衛 1994. 青森県野生植物目録. 84 pp. みどり造園植生調査部.

伊藤浩司 1989. カバノキ科. In: 佐竹義輔他 (編) 日本の野生植物木本編1: 52-65. 平凡社.

北村四郎・岡本省吾 1958. 原色日本樹木図鑑. 306 pp. 保育社.

北村四郎・村田源 1979. 原色日本植物図鑑 木本編II. 545 pp. 保育社.

Yamanaka, M. 1980. Comments on *Alnus hakkodensis* Hayashi. Ecol. Rev. 19(3): 183-186.

1-12

金華山島に産する矮小植物の成長の解析

○吉田 肇、横山 潤、大橋 広好（東北大・院・理・生物）

宮城県牡鹿半島の南東に位置する金華山島には多数のニホンジカが生息しており、その高い被食圧によって草本性の植物の一部は矮小化していることが知られている。演者らは金華山島の矮小植物を本土の同種個体と比較して、どの程度形態的に差異があるのかを明らかにするため、ニリンソウ *Anemone flaccida* F. Schmidt、キツネノボタン *Ranunculus silerifolius* H. Lév.、ダイコンソウ *Geum japonicum* Thunb. ex Murray、コフウロ *Geranium tripartitum* R. Kunth、キバナアキギリ *Salvia nipponica* Miq. の5種を用いて研究を行った。その結果、これまでの報告通り金華山島の個体は本土の個体と比べて植物体の各部が有意に小さく、その傾向は生殖器官よりも主に栄養器官で顕著であることが明らかになった（日本植物学会東北支部第11回大会）。しかし、金華山島の矮小植物がその特殊な形態を獲得してきた背景を知るためには、成長の完了した植物体の比較からだけでなく、成長開始時期からの成長過程に関する情報が必要であると考えられる。

そこで本研究では前述の5種を材料として、金華山島産の個体と本土の個体を東北大学生物学教室実験園で同一条件下で栽培し、茎と葉の成長を計測することにより種間で成長過程を比較することを目的とし、金華山島の矮小植物が本土の同種の個体と異なった成長様式をもっているのかを調べた。

茎と葉を計測し成長率の比較をしたところ、キバナアキギリを除く4種では金華山島の個体と本土の個体の間で相対成長率に違いはみられなかった。キバナアキギリは花期まではほとんど茎を伸ばさず、葉はロゼット状になり、花期が近づくと急速に花茎を立ち上げるという本土の個体には見られない成長様式をとっていた。コフウロでは地上茎自体の相対成長率は金華山島の個体と本土の個体の間で違いがなかったが、本土のコフウロは最初に茎が分岐する前に地面から直立する茎を伸ばすのに対し、金華山島のコフウロは茎が地表面ですぐに分岐をし、それ以後そのまま地面を這うように伸びていくことが明らかとなった。金華山島のニリンソウではこれら2種とは異なり、本土の同種個体との間で茎や葉などの植物体各部で相対成長率に違いがなかったが、花茎や根出葉はコフウロの茎のように地面を這う傾向が見られた。ダイコンソウ、キツネノボタンでは金華山島の個体は本土の個体と相似形に矮小化していることが明らかになった。これらのことから上記の5種は金華山島で矮小化しているという点で共通してしているが、各種は本土の個体とは異なる独自の生活型や成長様式をもっているということが明らかになった。

1-13 オニドコロの種子の発芽と芽生えの成長

ひらのつよし うみのともゆき おかがみのがお
○平野剛史・海野智幸・岡上伸雄(東北大院・理・生)

発芽に特定の条件を必要とする種子が多く知られている。このような種子でも、一旦発芽すると、芽生えは特定の条件を必要とせずに成長をするように見えることが多い。しかし、発芽に必要な条件と芽生えの成長に必要な条件とが、詳細に知られている例は少ないようである。今回我々は、特定の温度範囲でしか発芽しない多年生草本であるオニドコロ(ヤマノイモ属)の種子とその芽生えについて、発芽と成長の様子を詳細に観察した結果を報告する。

【植物材料】

オニドコロ (*Dioscorea tokoro* Makino) の種子は胚乳に脂肪を貯めている。発芽した芽生えは第一葉の葉柄を地上に向かって伸ばしはじめ、ある条件下では地下の節が多糖類を貯めて肥大し始め越年生のイモとなる。これらは、第一葉が光合成を始める前に起きるため、胚乳の脂肪から生じた糖によって成長がまかなわれている過程である。

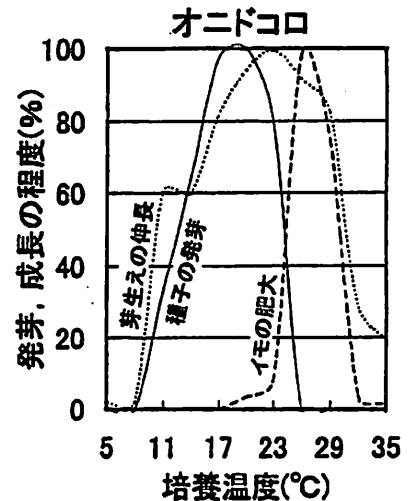
【結果】

種子発芽、芽生えの成長、イモの肥大の温度依存性を図に示す。種子は培養開始10日め頃から発芽し始めた。発芽は23℃よりも低い温度で起き、26℃以上の高温では二次休眠が誘導され発芽しなかった。23℃以下の温度で発芽した芽生えを、5℃から35℃の間のいろいろな温度で成長させた。芽生えは、種子が発芽し得る温度はもちろん、発芽し得ない高い温度を含む広い範囲の温度で伸長した。最も伸長速度が大きい温度は17~29℃の範囲であった。一方、イモは23~29℃でしか肥大しなかった。

【考察】

オニドコロの種子の発芽、芽生えの伸長成長、芽生えのイモの肥大成長などの、種子の貯蔵脂肪に基づいて行なわれる成長過程が、それぞれ異なる温度依存性をもつことがわかった。発芽期のこのような成長様式が、他の植物、殊に多年生草本に見られる普遍的な現象であるかどうかは、今のところわからない。

オニドコロの芽生えのイモは直径1.5mm以上であれば仙台の露地で越年生。イモがこれよりも大きくなれば、芽生えは多年生草本として確立したと考えられる。しかし、仙台の自然環境下で発芽した芽生えにはイモは形成されない。オニドコロの種子が発芽し芽生えが成長する時期の平均地温が23℃以下のためであろう。結局、仙台の自然環境下のオニドコロは、胚乳の貯蔵養分を、イモに貯えて多年生草本としていち早く確立するよりも芽生えの初期成長を早める方に充てていると考えられる。オニドコロの分布域(渡島から大隅)内では、おそらく同じ様式により芽生えの成長が行なわれているものと予想している。



1-14 ヤマノイモ属の種子の発芽と芽生えの成長

うみのともゆき ひらのつよし おかがみ のぶお
○海野智幸・平野剛史・岡上伸雄(東北大院・理・生)

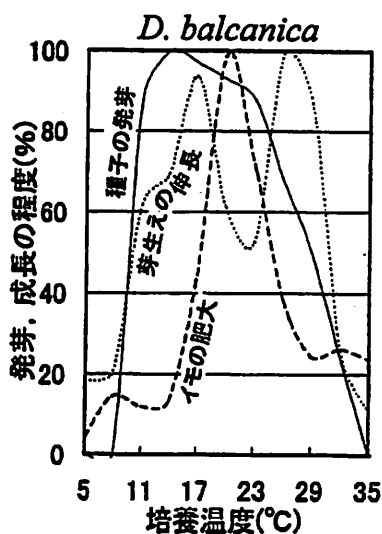
オニドコロの種子は特定の温度範囲で発芽するが、芽生えは普通の温度範囲で伸長成長し、イモはやや高い温度で肥大成長することを見出した(前講演参照)。今回の研究では、オニドコロに近縁な一群の植物について同様な実験を行い、種子期におけるこのような成長様式の普遍性の有無を観察するとともに、このような成長様式の意味の考察を試みた。

【植物材料】

ウチワドコロ(*Dioscorea nipponica* Makino)、オニドコロ(*D. tokoro* Makino)、ヒメドコロ(*D. tenuipes* Franch. et Savat.)、カエデドコロ(*D. quinqueloba* Thunb.)を用いた。これらは、日本を含む東アジアにおいて、この順で北から南に分布している。また、モンテネグロに分布していて第三紀遺存種とされている *D. balcanica* Kosanin をも用いた。これらはすべてヤマノイモ属の *Stenophora* 節の種である。

【結果】

どの種の芽生えも広い温度範囲で伸長した。これらの温度範囲は、発芽温度範囲が広いウチワドコロを別とすると、いずれも種子発芽の温度よりも高温側に広い。イモは、ヒメドコロとカエデドコロはオニドコロと同じく、高温側の狭い温度範囲で肥大した。これらの種とは異なり、ウチワドコロは芽生えの伸長範囲よりも少し狭い範囲の温度で肥大した。*D. balcanica* もそれに似ているが、全温度でイモが肥大した(右図)。



【考察】

ヒメドコロとカエデドコロも、オニドコロと同様に、種子の貯蔵脂肪を伸長に充てていると思われる。一方ウチワドコロとバルカン半島の遺存種は発芽後、直ちにイモを肥大させ、多年生草本としてまず確立するものと考えられる。種子の発芽から果実をつけるまでの年数は、実験圃場での栽培では、ウチワドコロと *D. balcanica* では長く5~7年以上もかかり、他の東アジア種では短く特にオニドコロは発芽した年に種子を稔らせ一年生草本として成長をすることが出来る。今回見出した種子期の成長の仕方、特に貯蔵物質をイモの肥大に充てずに芽生えの伸長に充てることは、一年生草本的な成長をすることの性質の一端であると考えられる。なお、オニドコロ、ヒメドコロ、カエデドコロにおける高温の狭い温度範囲でイモが肥大する性質については、

自然状態の何らかの高温の環境下でイモを肥大させることがあるためのもの；
かつて有していたイモを肥大させるという性質からの escape をした遺传的な性質；
のどちらの解釈が妥当であるかを、今後は検討する予定である。

1-15

ヤマノイモ属に含まれている abscisic acid 類縁化合物 7'-hydroxyabscisic acid

○原田篤子 (山形大・教育)、千田芳裕 (東北大院・情報科学)、丹野憲昭 (山形大・理・生物)、岡田勝英 (山形大・教育)、岡上伸雄 (東北大院・理・生物)

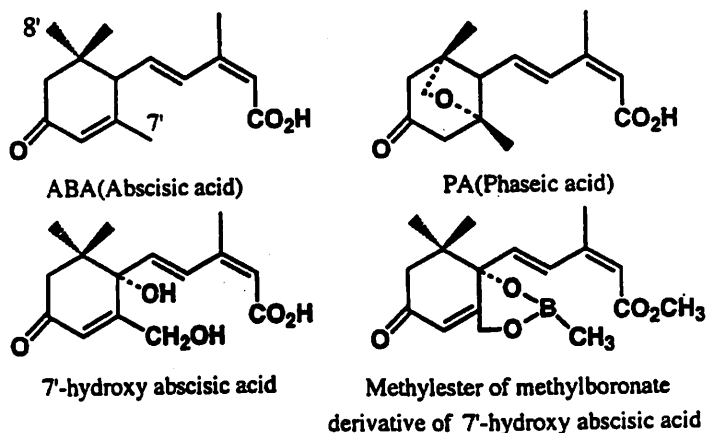
植物の休眠、水ストレスなどに関与している植物ホルモンである abscisic acid (ABA) は 8'-hydroxyabscisic acid を経て phaseic acid から dehydrophaseic acid へ代謝されることが知られている。7'-hydroxyabscisic acid (7'-OHABA) は ABA より酸素が一つだけ多く、7' のメチル基の水素の一つが水酸基 (OH) に置換した物質であり、(±)-ABA を与えられた培養細胞系で (-)-7'-OHABA のみ代謝されることから、ABA の異常代謝産物として考えられていた。しかし、7'-OHABA はソラマメの葉から天然物としてはじめて同定された。私たちはヤマノイモの休眠ムカゴから天然物としてこの物質を ¹H-NMR によって単離・同定に成功し、このことは 1995 年の本大会で報告した。

今回は、ヤマノイモ属の他の種からもこの物質の GC-MS による同定に成功したので報告したい。
方法：ヤマノイモ属のナガイモの休眠ムカゴ、ダイジョとアケビドコロの休眠地下器官から常法により酸性酢酸エチル分画を得、各種の高速液体クロマトグラフィーにより分離精製し、イネ (短銀坊主) 葉鞘生物検定により 7'-OHABA 相当分画を得た。これをボロン化し、メチル化することによって、bismethylboronate 誘導体として GC-MS によって分析した。

結果：7'-OHABA はヤマノイモ属の *Enanthiophyllum* 節に属するヤマノイモのムカゴと同様に、ナガイモのムカゴとダイジョの地下器官および *Lasiophyton* 節のアケビドコロの地下器官から単離・同定された。bismethylboronate 化は、1 分子中に 2 個の OH を有する brassinosteroids の GC-MS に有効な方法として開発された方法であるが、7'-OHABA の GC-MS にも初めて応用され有効であることがわかった。

この物質がヤマノイモ属に広く分布していることは ABA から 7'-OHABA への代謝経路が存在し、この物質が ABA の正常な代謝物である可能性を示唆している。7'-OHABA は、イネ葉鞘の成長抑制活性など生理活性を有することから、ヤマノイモ属に特異なジベレリン誘導体休眠にも関与している可能性が考えられる。

ヤマノイモ属の中で主要で系統的に古いと考えられているグループである *Stenophora* 節の種からは、この物質が薄層クロマトグラフィーによって検出されなかった。このことは、ヤマノイモ属における ABA の代謝経路はヤマノイモ属の系統と何らかの関係がある可能性を示唆している。



References

- 1) 日本植物学会東北支部 第9回大会講演要旨集 pp.12 (1995)
- 2) 16th International Conference on Plant Growth Substances, Abstracts, pp.153 (1998)

1-16

レピジモイドの植物ホルモン様生理活性

○鍋谷浩、後藤伸治、富田-横谷香織¹、長谷川宏司¹
 (宮城教育大・生物、¹筑波大・応用生物化学系)

レピジモイド (sodium 2-O-rhamnopyranosyl-4-deoxy-threo-hex-4-enopyranosiduronate; Lepidimoide) は、クレス発芽種子から分泌される他感作用物質として単離された。この物質は多くの植物の発芽種子に含まれる二糖類の生理活性物質であり、その化学構造も決定されている (Fig.)。また、レピジモイドは、植物 (特にケイトウ *Celosia cristata*) の胚軸の伸長を促進し、根の伸長を抑制するという成長調節物質的な効果を示す。その他に、アベナのクロロフィル量の維持やインゲンマメの葉柄の老化を抑制する効果も報告されている。

今回我々は、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の植物体にもレピジモイドが含まれていることを確認した。また、シロイヌナズナ種子から抽出したレピジモイドがシロイヌナズナ自身の生活環の各段階で成長過程に影響を及ぼすことを認めた。

シロイヌナズナの植物体を根・ロゼット葉・茎と花序 (成長点、幼果実を含む)、の3部分に分け、それぞれを液体窒素中で粉碎し、沸騰水で抽出を行った。この各抽出液の分子量3000以下の画分でケイトウテストを行ったところロゼット葉および茎と花序の画分で高いレピジモイド様活性が見られた。また、分子量3000以上 10^4 以下の画分でも低いレピジモイド様活性が認められた。ロゼット葉の低分子画分をHPLC (TOSOH, SCX(H⁺); ϕ 7.8×300mm, H₂O) によって分析を行った結果、合成レピジモイドと同一物質であることを確認した。このことより、シロイヌナズナの植物体にもレピジモイドが含まれていることが明らかになった。

レピジモイド (分子量3000以下) をシロイヌナズナに与え成長過程への効果を調べた。その結果、レピジモイドは開花までの日数を短くし、また、葉、茎などの初期成長を促進するなどの効果が認められた。

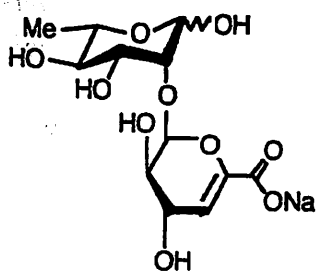


Fig. Chemical structure of lepidimoide.

1-17

遺伝資源としてのシロイヌナズナ系統保存と 「仙台種子保存センター」の活動

後藤伸治 (宮城教育大・生物)

シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* L. Heynh.) はアブラナ科の小植物であるが、現在、分子生物学、遺伝学、生理学などの分野でモデル植物として盛んに用いられるようになってきている。本植物が実験材料として使われる最大の理由はゲノム量が少ないことであろう。シロイヌナズナの5本の染色体が持つDNAは約1億塩基対で、知られている限り種子植物の中では最も少ない。そのため、本植物の核ゲノムの全塩基対を解明しようというプロジェクトが国際的に組織されており、西暦2000年までの完了を目標に精力的に作業が進められている。シロイヌナズナはその他、生活環が短いこと、植物体が小さいこと、突然変異体が得られやすいことなど実験上のメリットが多い。

しかし、シロイヌナズナの分類上の位置はいまだにしっかりと解明されておらず、また、ゲノム量がなぜこのように少なくなったのかについてもほとんど知られていない。本植物が属する *Arabidopsis* (シロイヌナズナ) 属は現在27種ほど知られているが *A. thaliana* 以外のゲノム分析はほとんど行われていない。一方、野生のアブラナ科植物について *rbcL* 遺伝子や葉緑体DNAの制限酵素断片多型などで分子系統的な比較をすると *Arabidopsis* 属の植物が必ずしも互いに遺伝的に近いわけではなく、*A. thaliana* はむしろ *Cardaminopsis arenaza* や *Arabis lyrata* に近縁であるという報告がある。これらのことから *Arabidopsis* 属におけるシロイヌナズナの位置やゲノム量減少の経過を明らかにするには *Arabidopsis* 属や近縁のアブラナ科植物についてさらに詳しい解析が必要である。

従来、仙台シロイヌナズナ種子保存センターでは *A. thaliana* の野生型や突然変異体を中心に収集を行ってきた。そのため、他種の蓄積が非常に少なく、保存系統は *Arabidopsis* 属の他種が6種13系統、*Arabidopsis* 属以外のアブラナ科植物が24系統にすぎない。そこで、今後は *Arabidopsis* 属およびその近縁の植物も視野に入れて収集、保存を行っていきたい。それによってシロイヌナズナのルーツとゲノムの特異性を系統発生的に解明する手がかりを得たい。

今回は種子保存センターにストックされているシロイヌナズナ属の他種についてその形態的、生理的特徴などについて報告したい。

2-1

沖縄県慶良間島産底棲性渦鞭毛藻 1 未記載種の形態と生活環

工藤 創[○]・岩滝 光儀・原 慶明 (山形大・理・生物)

1998年2月に沖縄県慶良間島の海岸の砂サンプルから直径約60 μm の黄褐色で円盤状(1~数細胞)の藻体を見つけ単離培養した。

本藻は20℃の培養条件下では通常容器の壁面に固着し、円盤状群体を形成して増殖する。しかし、培養齢が進むとしばしば遊走細胞を放出する。また、温度を20℃から30℃に変えると培養齢とはあほほ関係なく約1日後に大量の遊走細胞を放出する。遊走細胞は多くの場合、数時間遊泳した後、腹側を容器の壁面に付け固着し、直ちにヘルメット型の殻を形成する。細胞はその殻の中で最大4回ないしはそれ以上分裂を繰り返す。遊走細胞を大量に放出した場合、頻度は高くないが遊走細胞同士の接合が起こる。この接合子はしばらく遊泳したのち、壁面に固着し円盤状群体となる。

従って、本藻は底棲性の円盤状群体を生活環の基本相とし、そのまま増殖する過程と、遊走細胞を放出し再び底棲性群体となるか、遊走細胞が接合したのちに底棲性群体となる生活環をとることが判明した。

遊走細胞の形態は1) 25~55 \times 20~50 μm の卵形で背腹性があり、2) 細胞の前方に横溝、細胞の後方に縦溝があり、3) 両溝の交点から派出した2本の鞭毛はそれぞれの溝に収まり、4) ペダングルはなく、5) 殻面構造は確認できない、6) 細胞中央から前半部に10~15 μm の核が位置し、その周囲を黄褐色~褐色の紡錘型葉緑体が放射状に取り囲む。これらの特徴は渦鞭毛藻の *Amphidinium* 属のそれとよく一致する。円盤状群体を被うヘルメット型の殻の表面には乳頭状突起が多数あり、殻の内側には6角形を基本としたハチの巣状の骨組み構造が観察される。

遊走細胞の構造は *Amphidinium* 属の特徴と一致するが、同属の既知種では本藻の不動細胞と形態的に一致するものはない。ヘルメット状の殻が底棲性群体を被う種に *Spiniferodinium galeiforme* (Horiguchi & Chihara 1987) が知られるが、本藻とは殻の表面構造が異なり、ハチの巣状の骨組みが見られず、またこの種の遊走細胞が *Gymnodinium* 属の特徴を有する点で明らかに異なる。

従ってここでは本種が未記載種であることを確認し、底棲性渦鞭毛藻の一種として扱った。今後本藻と *Amphidinium* 属との類縁性を検討したのちに同定を行う予定である。

2-2

クラミドモナスの低光呼吸突然変異株とその性質

・鈴木健策・Tarlan G. Mamedov (農水省・東北農試・生理生態研)

イネ等のC₃植物の光合成は、光呼吸により25~50%も阻害されている。その主な原因は、光合成のCO₂固定酵素ルビスコが、RuBP carboxylaseとしてCO₂を固定する代わりにRuBP oxygenaseとしてO₂とも反応してしまうことにある。光呼吸が小さい品種や突然変異株を得る試みは多くなされてきたが、これまで成功した例はなかった。しかし最近演者らは、クラミドモナスで光呼吸活性の低い突然変異株を得ることに成功した。

ホスホグリコール酸ホスファターゼ (PGPase) 活性欠損突然変異株 *pgpl-18-7F* は大気条件下では生育できない。これは、RuBP oxygenaseにより作られる光呼吸最初の産物、ホスホグリコール酸が細胞内に蓄積し光合成を著しく阻害するためと考えられる。この株にさらに突然変異を起こさせて得た、大気条件下でも生育できる二重突然変異株の中に、光合成のCO₂親和性が野性株より著しく高い株をいくつか得ている。その二重突然変異株の一つ7FR2Nでは、大気条件下での光合成速度が野性株より明らかに高かった。新たに開発した手法でこの株の光呼吸速度を調べたところ、野性株の半分しかないとわかった。今回は、この低い光呼吸速度 (LPR) 及びその原因となっている突然変異部位解明の手がかりを得るため現在行っている解析の一部を紹介する。

7FR2Nでは、PGPase活性が *pgpl-18-7F* と変わらないにも関わらず、5% CO₂ 培養細胞を大気条件に移したときのホスホグリコール酸蓄積速度は、*pgpl-18-7F* の3分の1以下しかなかった。また、その時のグリコール酸生成速度は *pgpl-18-7F* と同じであったが、野性株と比べると40%しかなかった。ホスホグリコール酸蓄積速度とグリコール酸生成速度の和として光呼吸速度を計算したところ、野性株と *pgpl-18-7F* はほぼ同じで $6.6 \mu\text{mol} \cdot \text{mg Chl}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ で、他の野性株で報告されている値とよく一致した。これに対して7FR2Nでは $3.6 \mu\text{mol} \cdot \text{mg Chl}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ と野性株の半分程度であった。大気条件に24時間適応させた後では、野性株の光呼吸速度も半減したが、7FR2Nでは3分の1にまで減少した。

7FR2NのルビスコのCO₂/O₂特異性には野性株との有意の差は認められなかった。この株の光合成の高いCO₂親和性は、カーボニックアンヒドラーゼ (CA) の阻害剤 ethoxyzolamideにより打ち消された。しかし細胞壁CAの発現には野性株との違いが見られないため、LPRの遺伝子は、葉緑体またはミトコンドリアのCA、もしくはCO₂輸送系等その他のCO₂濃縮機構の構成成分の活性発現に関与するものと考えられる。

7FR2Nを野性株等と有性生殖させテトラド解析を行ったところ、LPRを持つ株は必ず光合成のCO₂に対する高親和性を同時に持ち、*pgpl*依存の高CO₂要求性は抑制された。これらの形質は野性株の形質に対し2:2の分離比を示した。しかし *pgpl* との連関は認められず、その結果、*pgpl*を持たずLPRのみを持つ突然変異株を得ることができた。今後はその株を中心に、より詳細な検討を行っていく。

2-3

カルモジュリン阻害剤によるミカツキモ半細胞の伸長阻害

縄田 朋樹 (東北大・医短大)

植物が成長する部域では、 Ca^{2+} や H^+ イオンが流れ込み、成長の維持や方向の決定に関与していることは、根、菌糸、花粉管などで分かっている。

単細胞性緑藻ミカツキモ (*Closterium ehrenbergii*) は横二分裂によって、極端に左右非対称の2つの半細胞 (長さ約 $200\mu\text{m}$) になる。その後、それぞれの分裂面側でのみ伸長して、約3時間後には再び元の形状 (三日月状) の細胞になる。この伸長には、細胞外液の Ca^{2+} イオンが伸長中の部域に限って細胞内に流入していることが分かっている。さらに、細胞質内 Ca^{2+} イオン濃度を Ca^{2+} イオン微小電極で測定すると、伸長部域先端の方が、非伸長部域よりも高濃度で、伸長-非伸長部域間に Ca^{2+} イオン濃度勾配が存在すると考えられる。このように細胞内外の Ca^{2+} イオンが伸長に重要な役割をしていると推察できる。

しかし、伸長部域の細胞内に流入した Ca^{2+} イオンが、どのような過程を経て伸長に関わっているのかは、全く分かっていない。そこで、細胞内 Ca^{2+} イオンの役割を探る手がかりを得るために、カルモジュリン (CaM) およびその関連阻害剤 (生化学工業製) の伸長への効果を調べた。

(1) 阻害剤の有効濃度範囲

- CaM の代表的な阻害剤である W-7 は $6\sim 20\mu\text{M}$ (50%阻害 $10\mu\text{M}$) , W-7 の対照薬である W-5 では同じ効果を得るのに約10倍の濃度を必要とした。またトリフルオペラジンは $0.3\sim 2.5\mu\text{M}$ (50%阻害 $1.0\mu\text{M}$) であった。
- CaM 依存性プロテインキナーゼ II 阻害剤の KN-93 は $1.2\sim 4.0\mu\text{M}$ (50%阻害 $2.5\mu\text{M}$) , その対照薬である KN-92 は $500\mu\text{M}$ まで何ら阻害効果はなかった。
- ミオシン軽鎖キナーゼ阻害剤 ML-9 は $2.0\sim 10.0\mu\text{M}$ (50%阻害 $4.0\mu\text{M}$) であった。
- いずれの阻害剤も低濃度で、しかも狭い濃度範囲で伸長阻害効果を示した。

(2) 細胞の様子

- 通常、伸長中の細胞の原形質流動はコマ撮りVTRで記録すると、長軸方向に沿ってかなり長い距離 ($50\mu\text{m}$ 以上) 往復するような流動である。しかし、50%伸長阻害の状態での原形質流動は長軸方向ではあるが、約 $20\mu\text{m}$ 以内の短距離の遅い往復流動に変化するが、停止することはなかった。
- W-7 と KN-93 の処理では、液胞が巨大化するのが特徴的であった。

ミカツキモでは、CaMの存否自体分かっていないが、今回の結果はCaMの存在の可能性を示している。また伸長部域へは新たな膜や細胞壁物質などが輸送供給されているはずで細胞内運動系との関連で、今後調べる必要がある。

2-4

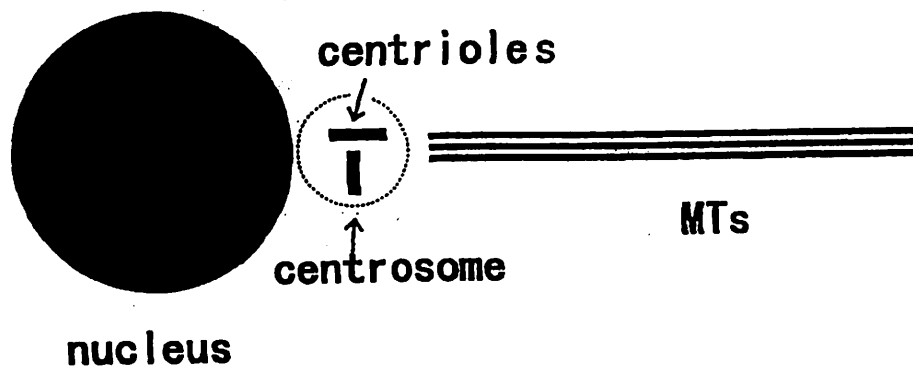
多核細胞フシナシミドロの核から伸びる微小管

○高橋文雄 片岡博尚 大瀧保 (東北大 遺生研)

黄緑藻に属する多核細胞フシナシミドロ (*Vaucheria*) は、管状で隔壁を持たず、菌糸や花粉管と同様に先端成長を行う。この管状の細胞の直径は青色光により太くなり、弱い赤色光や暗黒下で細くなり、成長が停止することが報告されている (Kataoka 1981)。また、葉緑体が青色光の局所照射により集積し、側枝を形成することがわかっている (Kataoka 1975 高橋ら 1996,1997)。これらの報告から、青色光による形態形成に細胞骨格が関与していることが示唆されるが、細胞骨格の挙動や生成についての基礎的研究はほとんどなされていない。本研究では連続白色光と弱赤色光培養条件下で、主要な細胞骨格である微小管と核の動態と構造を観察した。

方法：継代培養 (L:D=12h:12h) 7 日後、各条件下 (明暗条件下、連続白色光、連続赤色光) 4 時間ごとに固定し、蛍光色素 DAPI を用い、核の分布密度 (成長域、非成長域) を調べた。微小管については、間接蛍光抗体法を用い、蛍光顕微鏡および電子顕微鏡で観察した。核と微小管の二重染色には SYBR Green I を用いた。

結果：核密度は通常培養条件下では、先端から 100 μ m までの幅に約 140 個分布し、非成長域では同じ幅に約 50 個分布していた。連続白色光において、核の分布密度はほとんど変化がみられなかったが、連続赤色光条件下では照射後 4 時間後から徐々に減り始め、明暗条件下の核密度の約 60%まで減少した。各条件下での微小管を観察すると、核の密度と同様に連続赤色光下では微小管束の本数が減少した。そこで、核と微小管を同時に蛍光顕微鏡で観察したところ、微小管は核から一方向に伸び、精子に類似した構造にみえた。電子顕微鏡観察により、この微小管束がたしかに、中心小体から伸びていた。現在、その微小管束の極性 (伸長方向) と核の運動方向について検討中である。



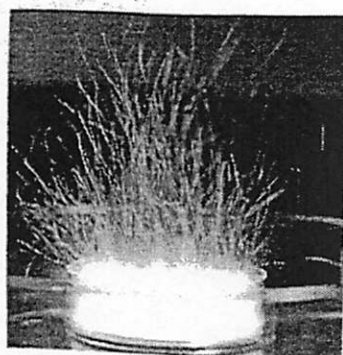
2-5

ヒゲカビ (*Phycomyces blakesleeanus*) の孢子囊柄発生分化に及ぼす赤色光の影響

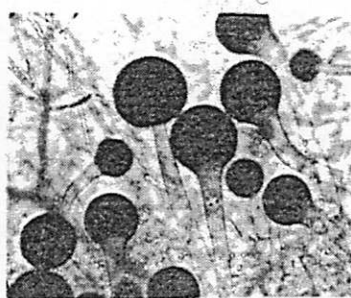
○崔 寛三、堀江 直司、大瀧 保 (東北大・遺生研)

ヒゲカビ (*Phycomyces blakesleeanus*) は、菌糸上に2種類の孢子囊柄、すなわち、直径 150 μ m、長さ 10cm 以上にもなる巨大な macrophore (macrosporangiphore) と直径 10 μ m、長さ 2-3mm の微小な microphore (microsporangiphore) を分化する (図 1)。近年、ヒゲカビの種々の光反応が明らかにされ、特に巨大な macrophores に関しては、①その形成や孢子囊の分化に及ぼす光誘導効果、②光の強さの増減による成長速度の増減変化 (light-growth response)、③非対称的に照射された光刺激に対する光屈性反応 (phototropism) などが知られ、多くの研究がなされている。これらの光反応は主として、青色光や紫外光などの短波長の光によって起こり、例えば光屈性に関しては赤色光は青色光に比べ約 10 億分の 1 程の効果しかなく、また、赤色光は青色光に対して拮抗的に働くことが僅かに知られているに過ぎない。一方、矮性孢子囊柄である microphores に関しては、その発生が白色光、特に青色光によってほぼ完全に抑制され、これまでは暗所か赤色光下での発生しか知られていなかった。この場合、赤色光の積極的な影響はなく、そのため孢子囊柄の発生分化にとっては暗所と全く同じ効果であると信じられてきた。

本研究では、我々はこの microphores の発生分化に対しても、青色光と赤色光との拮抗作用を示唆する実験結果を得ることができた。すなわち、一定時間暗条件下で生育させたヒゲカビの菌糸に青色光を照射すると、microphores の形成は阻害されるが、その阻害効果はその後照射した赤色光によって減少する。現在我々は、この現象をより定量的に証明し、測定するために種々の照射プログラミングや実験方法の開拓を行っている。



A



B

図 1.
ヒゲカビに分化する
2種類の孢子囊柄；
macrophores (A) と
microphores (B).

2-6

付加機能を持つキチン合成酵素遺伝子のヒゲカビからの単離

° 三岡 周子, 宮崎 厚, 大瀧 保 (東北大・遺生研)

接合菌類に属する糸状菌ヒゲカビ (*Phycomyces blakesleeanus*)の細胞壁は、主にキチンとキトサンより構成されている。キチンは、N-アセチル-D-グルコサミンの重合体であり、キトサンは脱アセチル化キチンである。菌類のキチン合成酵素は*chs*遺伝子によりコードされていて、多くの菌類でキチン合成酵素遺伝子の一次構造が報告されている。複数の異なった*chs*遺伝子の存在は今までに調べられたほとんど全ての糸状菌及び*Saccharomyces cerevisiae*で知られており、構造遺伝子のアミノ酸配列に基づき、それらはクラスI~Vに分類することができる。細胞の成長や分化に伴う細胞壁合成の過程で各々の遺伝子あるいは遺伝子の組み合わせの発現時期と場所が制御されている可能性が指摘されている。実際 *Aspergillus nidulans* や *A. fumigatus*において、遺伝子破壊株を用いた研究により特定の*chs*遺伝子の発現が細胞形態の維持や形態形成に必要であることが示されている。ヒゲカビのキチン合成酵素 (*PbCHS*)遺伝子は今までに10種 (*PbCHS1*~*10*)存在し、PCRによって増幅された遺伝子断片のアミノ酸配列より、*PbCHS1,2,3,4*はクラスIIに、*PbCHS5,6*はクラスIIに、*PbCHS7,8,9,10*はクラスIVにそれぞれ分類されている (クラスIIIに属するCHSはヒゲカビではまだ見つかっていない) (Miyazaki and Ootaki, 1997)。また、液体培養したヒゲカビより抽出したポリ(A)⁺-rich RNAを用いたノーザンプロットの結果、*PbCHS8*では8.2kbという長い転写産物が検出されていた。子囊菌アスペルジラス (*A. nidulans*)では、ミオシンモーター様蛋白質をドメインとしてN末端にもつキチン合成酵素 (クラスV) をコードしている遺伝子の存在が報告され、*PbCHS8*もそのような多機能型遺伝子である可能性があり興味深い。そこで、本研究では*PbCHS8*の全長をクローニングし、その塩基配列を決定することを目的とした。*PbCHS8*の保存領域のPCR productをプローブとしてゲノミック サザンを行い、検出バンドに対応する位置からゲルを切出し、精製したDNA (*EcoRI* fragment, 3.6Kb) をpUC19ベクターに繋いでpartialライブラリーを作成した。コロニーハイブリダイゼーションを行い、約80コロニーから*PbCHS8*フラグメントを含む1クローンを得た。シークエンスしてアミノ酸配列を既知の情報と比較したところ、*PbCHS8*は今までクラスIVに分類されていたがクラスVIに属することが明らかになった。また、得られたクローンのキチン合成酵素領域の5'側には、何らかの付加機能を持つ配列があることが確認できた (ホモロジー検索では、precollagenやmyosinの可能性が示唆されている)。接合菌におけるこのような付加機能をもったCHS遺伝子の存在は今まで知られていなかった。このタイプのCHS遺伝子は菌界に広く分布している可能性がある。現在、5'側の付加機能をもった部分を同定するために上流の残りを含む領域のクローニングを、PCR法あるいはpartialライブラリー/コロニーハイブリダイゼーションを用いて行っている。

2-7

アグロバクテリウムの腫瘍遺伝子と植物の二次代謝物質 ○我彦広悦、イバン ガリス (秋田県立農業短大、生物工学研)

土壌細菌 *Agrobacterium tumefaciens* は多くの植物に感染し、根頭癌腫病を引き起こす。これは菌が持つ Ti プラスミドの T-DNA が植物ゲノムに組み込まれ、T-DNA にあるオーキシシンやサイトカイニン合成遺伝子を初めとする腫瘍遺伝子群が発現することによる。我々はこれまで腫瘍遺伝子の一つ *6b* の作用機構について研究してきた。今回 *6b* 遺伝子を持つタバコにサイトカイニンを与えたところ、二次代謝物質であるフェノール化合物の蓄積に *6b* が関与する示唆が得られたので報告する。

2種の異なる菌株より得られた遺伝子 *AK-6b* および *C58-6b* は異なる生理作用を持つ。トランスジェニックタバコでは、*AK-6b* はオーキシシンおよびサイトカイニンの働きを高め、ホルモンフリー培地でもタバコの葉切片は増殖し、得られた植物は形態変化を起こす。これに対し、*C58-6b* の場合にはホルモンフリーでの増殖を誘発する活性はないと思われる。しかし、*C58-6b* を持つタバコの実生に、野性型タバコに対しては成長を抑制するレベルのサイトカイニン(ベンジルアデニン)を与えたところ、抵抗性を示し、成長は促進された。成長に伴ってフェノール化合物の一種であるスコポリンが早期に蓄積した。スコポリンはアミノ酸であるフェニルアラニンを最初の前駆体として、いくつかの段階を経て作られるので、*C58-6b* 遺伝子はその合成経路のあるステップを促進している可能性がある。スコポリン合成に至る中間体、例えばカフェイン酸やフェルラ酸はオーキシシンであるインドール酢酸 (IAA) の分解に関与する IAA オキシダーゼの活性を阻害することが知られている。そこで、これら中間体の蓄積により IAA の分解が抑えられ内生 IAA レベルは上昇することが予測される。実際、サイトカイニン処理をした *C58-6b* タバコでは成長促進に伴って内生 IAA の顕著な蓄積が見られた。さらに、野性型タバコの実生に成長抑制レベルのサイトカイニンとともにオーキシシン (ナフトレン酢酸) を加えておくと成長阻害が緩和された。従って、*C58-6b* タバコのサイトカイニン抵抗性は内生オーキシシンの蓄積によることが示唆された。このように、*C58-6b* はフェノール化合物の生産を調節し、その結果生成する中間体が IAA のレベルを制御している可能性が示された。

これに対し *AK-6b* を発現しているタバコの葉切片をサイトカイニンで処理すると、スコポリンの合成は逆に減り、フラボノイドの蓄積が認められた。フラボノイドはオーキシシンの輸送を阻害することが知られている。今後、フラボノイドの蓄積と *AK-6b* タバコの成長との関連が課題となる。以上のことから腫瘍遺伝子 *6b* は主な二次代謝物質であるフェノール化合物の生合成に関与して植物ホルモンの働きを制御することにより、植物の成長、分化、クラウンゴール形成を調節するのではないかと考えるに至った。

坂元亜矢子 伊藤寿 横山隆亮 西谷和彦
(東北大学・理・生物)

植物の組織や器官の形態は、個々の細胞を覆っている細胞壁によって決定されているといえる。従って、細胞壁が構築されまた変化していく分子過程を明らかにする事が、植物の生長や分化の仕組みを理解する上で必要である。植物の細胞壁は、骨格となる結晶性のセルロース微繊維とその隙間を埋めるマトリックス高分子から構成されている。マトリックス高分子の主要な成分はペクチンとヘミセルロースである。植物が生長し、器官を形成する際に起こる細胞壁の形態変化は、これらの多糖からなるネットワークの合成、分解、構造変化、或いは分子間相互作用の再編を通して達成される、極めて複合的な過程であると想像されている。

細胞壁の構造変化の制御に関わるタンパク質として現在、糖転移酵素、加水分解酵素、糖合成酵素が知られている。糖転移酵素の一つであるエンド型キシログルカン転移酵素 (EXGT) は、セルロースに架橋しているキシログルカンを切断し、他のキシログルカンに繋ぎ換えることにより、細胞壁の再編や構築に関与していると考えられる。タバコ培養細胞 BY-2 では、アポプラスト液に分子量や等電点の異なる数種類の EXGT が存在することを明らかにしてきた。さらに現在までに、2 種類の EXGT (EXGT-N1, EXGT-N2) 遺伝子を私たちの研究室で単離した。これら EXGT の、タバコ培養細胞 BY-2 における *in vivo* での機能を明らかにするために、EXGT 発現を改変させた形質転換体タバコ BY-2 細胞を以下の方法で作成した。カリフラワーモザイクウイルスの 35S プロモーターに、EXGT-N1 遺伝子をセンス方向、アンチセンス方向に繋いだコンストラクトを作成し、アグロバクテリウム感染によってタバコ BY-2 培養細胞に導入した。形質転換体をカナマイシン寒天培地によりスクリーニングし、アズキの抗 EXGT 抗体を用いて、EXGT タンパク質の発現が増加しているもの及び抑えられているものをそれぞれ選抜したことにより、センス形質転換体、アンチセンス形質転換体を得た。

これらの形質転換体の表現型を解析するにあたり、細胞増殖のパターンと細胞形態について調べた。培養細胞の生重量を測定すると同時に、DAPI 染色法を用いて細胞核数の測定を行い、mitotic index の変化を比較したところ、アンチセンス形質転換体では、野生株に比べて細胞増殖が遅いことが示唆された。現在、細胞形態と細胞分裂との関係を明らかにするために、細胞当たりの生重量や細胞壁多糖の組成について解析中である。

2-9

ACC 酸化酵素遺伝子をセンス方向に導入したカーネーションにおけるエチレン生成の減少と花持ち性の向上

○小杉祐介, 鶴野樹々子, 岩崎勇次郎, 吉岡俊人, 佐藤 茂 (東北大・院・農), 望月 淳 (東北農試・水田利用部)

カーネーション (*Dianthus caryophyllus* L.) の花は, 満開数日後に花卉から大量のエチレンを生成する. エチレンは花卉の萎れを引き起こす作用を持ち, 切花の老化の主因子として働く. 本研究では, エチレンによるカーネーション切花の老化促進機構を解明すること, および日持ち性の良い形質転換カーネーションを作出することを最終の目的にして, エチレン生合成系に働く ACC 酸化酵素遺伝子をセンス方向に導入した形質転換体を作成し, 解析を行った.

【実験方法】

- (1)形質転換体の作成: 導入遺伝子はカーネーション ACC 酸化酵素遺伝子 (*DC-ACO1*) cDNA の翻訳領域 (966bp) を用いた. Ti プラスミド pE2113-GUS-Hygro の GUS 遺伝子領域を導入遺伝子と置き換えたものをアグロバクテリウム (*Agrobacterium tumefaciens*, EHA101) に導入した. 継代培養したカーネーション (品種, Nora) のシュート切片 (外植片) をアグロバクテリウムと 1 週間共存培養した後, 選抜培地上で 3 週間除菌培養した. その後, 再分化培地上で 3 週間培養した. 外植片の基部から再分化してきたシュートを 3 週間おきに 2 回継代培養した. 得られたハイグロマイシン耐性のシュート塊を発根, 順化させ, 通常の植物体に再生した.
- (2)葉と茎の ACC 酸化酵素活性の測定: 第 6 葉, 第 6 節を 2mm 長の断片にしてバイアルに入れ, 3mM ACC 存在下, 37°C, 密閉条件で保温し, 2 時間後に採取したガスサンプル中に含まれるエチレンを測定した.
- (3)花のエチレン生成量の測定: 満開の花をかく下 1cm で切除し脱塩水に生け, ポット中に密閉し, 1 時間後のガスサンプル中に含まれるエチレンを測定した.

【結果】

- (1)供試した 380 個のシュート切片から, 1 系統の形質転換体を得られた.
- (2)ゲノム DNA を抽出しサザン解析を行ったところ, この形質転換体に複数 (5 コピー以上) の導入遺伝子の存在が確認された.
- (3)形質転換体の葉と茎における *in vivo* の ACC 酸化酵素活性は, 非形質転換体よりも低かった (葉, 非形質転換体の 40%; 茎, 80%).
- (4)非形質転換体の花では, 満開 3~4 日後にエチレン生成が開始し, 5 日後にピークに達した. 一方, 形質転換体の花では, エチレン生成は微量であった.
- (5)茎を 20cm 残した切花について花持ち性を観察した. 非形質転換体では満開 6~7 日後に花卉のインローリングが始まり, 10 日後に花卉は完全に萎れ乾燥した. 一方, 形質転換体では, 花卉のインローリングは起こらず, 切花の鮮度は非形質転換体より約 4 日間長く維持された.

【考察】

- (1)形質転換体の花卉にインローリングが認められず, さらに切花の老化が遅れた原因は, 花卉におけるエチレン生成が強力に抑えられたためであると考えられる.
- (2)この形質転換体では, 導入遺伝子が高発現を目的としたプロモーターの制御下にあること, またゲノム中に複数コピーの導入遺伝子が存在することから, ACC 酸化酵素遺伝子のコサプレッションが起きていることが考えられる.

2-10

西洋ナシ追熟性欠損突然変異体のエチレン生成と作用

○菅家 智ゆり, 佐藤 茂, 吉岡 俊人, 米野 智弥*
(東北大学農学部, *山形県立園芸試験場)

【目的】

西洋ナシ(*Pyrus communis* L.)果実は、低温にさらされることによってエチレン生合成が誘導され、生成したエチレンを感受して成熟する。西洋ナシの突然変異体として、低温処理を施しても、またエチレンを処理しても果実の軟化が進まない P12-9 と、低温には反応しないが、エチレンを処理することによって軟化が進む P12-111 が発見されている(米野 1985,1986)。しかし、これらの果実の成熟がエチレン生合成と作用のどの段階で阻害されているかは明確にされておらず、新品种の開発に利用されるまでにはいたっていない。これらの突然変異体の変異遺伝子が明らかになれば、将来、日持ち性を改良した遺伝子導入作物の作出に大いに貢献することが期待できる。本研究では、特に低温処理のエチレン生合成系に対する影響に着目して、これらの突然変異体の性質を明らかにすることを目的とした。

【材料および方法】

平成9年10月に山形県立園芸試験場から La France, P12-9, P12-111 を入手した。収穫した翌日から12日間、5℃において低温処理を施し、その後、16℃において追熟させた。2または3日おきに果実を室温に戻し、エチレン生成速度と硬度を測定した。その後、中果皮を5mmの厚さに切り、ドライアイスで凍結させて-30℃に保存した。この果肉を用いて ACC 合成酵素 (ACS) 活性, ACC 酸化酵素 (ACO) 活性, ACC 含量, MACC 含量を測定した。

【結果および考察】

対照の La France は、低温処理後の追熟期間中にエチレンを生成し軟化した。この際、ACS 活性, ACO 活性, ACC 含量および MACC 含量の増加が見られた。

P12-9 のエチレン生成速度は、La France よりもやや大きく、また、ACS 活性と ACO 活性は著しく高かった。このことから、P12-9 では低温感受によるエチレン生合成の誘導系は正常であると考えられた。P12-9 は低温処理をしても果実の軟化が進まないこと、また、エチレンを処理しても軟化が見られないことがわかっているため、エチレンを感受する機構が損なわれていることが予想された。

一方、P12-111 ではエチレン生成および ACS 活性, ACO 活性, ACC 含量の増加は、低温処理、追熟期間を通してほとんど検出されなかった。エチレンを処理することによって軟化が進むことから、低温に対する感受性が損なわれている可能性、あるいは低温を感受することはできるが、エチレンを合成する経路に欠陥がある可能性が予想された。今後は、それぞれの果実の ACS タンパク質量の違い、mRNA 発現量の違いを調べることによって、これらの果実の性質をさらに詳細に解析するとともに、種子を発芽させその芽生えを用いて三重反応試験を行って、エチレンに対する感受性の差異を調べる予定である。

2-11

増殖／分化の切り換えにおけるリン酸化タンパク質の機能：*Dictyostelium* を用いた解析

○ 齋藤憲司、前田靖男（東北大・院・理・生物）

多細胞生物の発生過程は、量的な増加（増殖）と質的な変化（分化）を厳密に調節しながら進行している。増殖と分化とは総じて背反的な関係にあり、両者の切り換え機構を理解することは、発生のしくみを知る上で非常に重要な課題である。これまで様々な生物を用いた研究により、細胞周期を調節する因子がいくつか明らかにされてきている。しかし、増殖から分化への切り換えの分子機構に関しては、ほとんど不明である。

細胞性粘菌は、周囲の栄養源の有無により、増殖と分化とが容易に制御されることから、増殖／分化の切り換え機構の解析に格好のモデル生物だといえる。*Dictyostelium discoideum* AX-2 細胞を用いたこれまでの研究により、細胞周期 G 2 の後期に増殖期から分化期への特異的な移行点（PS 点：putative shift point）が存在し、細胞は飢餓条件下においてこの PS 点から分化期に移行することがわかっている（Maeda *et al.*, 1989）。一般に、細胞周期の調節にタンパク質のリン酸化・脱リン酸化が深く関与することが知られている。AX-2 細胞においても [³²P_i]を用いた研究により、この PS 点から分化する際に特異的にリン酸化レベルの減少する 2 つのタンパク質（90kDa・101kDa）が見出されており、そのリン酸化部位がセリン残基であることが示されている（Akiyama and Maeda, 1992）。本研究では、核に存在することが分かっている 90kDa のセリン・リン酸化タンパク質に注目し、抗リン酸化セリン抗体を用いたウエスタンブロットティングにより、分化期への移行時にセリン残基のリン酸化レベルの減少する 90kDa タンパク質を特定し、分離・精製した。その部分アミノ酸配列を解析したところ、面白いことに、粘菌細胞の heat shock protein 90（HSP90：Boves *et al.*, 1995）の内部アミノ酸配列の一部と完全に一致することがわかった。このタンパク質には核局在性のシグナルがあり、リン酸化されるセリン残基を多数持つことから、目的とする 90kDa セリン・リン酸化タンパク質である可能性が極めて高い。HSP90 は、ほとんどの真核生物及び原核生物で見出されているタンパク質で、様々なターゲットタンパク質の高次構造形成と機能保持に関わっている分子シャペロンである。HSP90 は、細胞周期調節に関わるタンパク質キナーゼを標的分子とすることや、癌との関連が報告されており、これらの点でも非常に興味深い分子である。そこで、HSP90 タンパク質をコードする遺伝子を用い、その遺伝子破壊体を作製することにより、増殖／分化の切り換えにおける HSP90 の機能解析を試みたので、その結果を報告する。また、分子量 90kDa 付近に hsp90 以外に気になるリン酸化タンパク質がもう 1 つ残っており、これについても解析を進めている。

2-12

ミトコンドリア遺伝子 (*dia3*) は *Dictyostelium* 細胞の増殖/分化への切り換えに必要である

◦ 稲津裕司・蔡 洙天・前田靖男 (東北大・院・理・生物)

細胞性粘菌 (*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 期の後期にある1つの特異点 (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されている。この PS 点からの分化に伴って発現量が特異的あるいは顕著に変化するものとして3つ遺伝子 (*quit 1*, *quit 2*, *quit 3*) が differential plaque hybridization により単離・同定されている。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、differential display (DD) 法によって PS 点直後、すなわち分化初期の細胞でのみ特異的に発現する遺伝子の単離を試みた。その結果、3つの遺伝子 (*dia1*, *dia2*, *dia3*) が単離された。そのうち *dia3* は、面白いことに、ミトコンドリアのタンパク質・クラスター (ribosomal protein S2, S4 and NADH dehydrogenase subunit 5, 4L) をコードしていることが、ホモロジー検索と mtDNA をプローブとしたノザン解析により明らかになった。非同調の細胞を用いたノザン解析によれば、約 10kb の *dia3* mRNA は増殖期ではほとんど発現されず、飢餓処理後 2 時間において最も強い発現が認められた。*dia3* はミトコンドリア DNA に単一コピーで存在するが、細胞内には多数のミトコンドリアが含まれるため、細胞当たりでは多コピーで存在することになる。このように多コピーではあるが、我々は、ribosomal protein S4 (*rps4*) 遺伝子をターゲットとしたホモロガス・リコンビネーションによる遺伝子破壊を通じて、増殖/分化の切り換えにおける *dia3* の機能解析を試みた。その結果、得られた形質転換クローンのいくつかは、集合能をはじめとする分化形質の発現に著しい遅れを示した。特に、クローン G3 では *dia3* RNA の発現が顕著に抑えられており、飢餓処理後 24 時間においても多くは未分化な単細胞のままであることがわかった。また、サザン解析の結果、クローン G3 では実際に mtDNA の *rps4* の部位が破壊されていること、さらに正常な mtDNA と mutant mtDNA が細胞内で同時に存在すること (ヘテロプラスミー) が確認された。これらの事実は、ミトコンドリア遺伝子 *dia3* の発現が増殖から分化への切り換えに必要であることを強く示唆しており、ミトコンドリアの新たな機能を示すものとして注目される。

2-13 細胞性粘菌における接合子形成に関与する遺伝子 *zyg1* の機能解析

雨貝愛子 (東北大・院・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) では、植物ホルモンとして知られているエチレンが細胞融合とそれに引き続く核融合によって生じる接合子 (巨大細胞) の形成を誘導する。そこで、エチレンによる接合子形成の機構を分子レベルで解析する目的で接合子形成に関与する遺伝子の単離を行った。Dm7 の細胞から作られた cDNA ライブラリーを用いた differential screening により、cDNA クローン (*zyg1*) が単離された。*zyg1* は約 1 kb の長さで、発生過程での発現パターンは接合子形成のカイネティックスと基本的に良く似ており、その発現は接合子形成に 1 時間先行するような形で起こった。以上のことから、*zyg1* 遺伝子産物は接合子形成に深く関わっていることが示唆された。さらに、塩基配列の全長を決定したところ、*zyg1* は粘菌はもとより、他の生物で未だ報告されていないユニークなものであることが前年度までの研究で明らかにされている。今回は *zyg1* の遺伝子機能を明らかにするために *zyg1* の過剰発現体および、アンチセンス RNA による *zyg1* 抑制体を作成してそれらの諸性質を調べた。その結果、単独ではマクロシストを形成できない Ax2 株に *zyg1* を過剰発現させた所、単独で巨大細胞を形成し、最終的にはマクロシストのような構造を形成した。以上の結果から、*zyg1* が接合子形成に重要な働きをしていることが示唆された。

日本植物学会東北支部第12回山形大会参加者名簿

参加氏名	所属機関	大会参加	講演発表	懇親会
【宮城県】				
會田憲之	宮教大・生物	●	◎	○
雨貝愛子	東北大・院・理・生物	○	◎	○
石澤公明	東北大・院・理・生物	○	○	○
伊藤 寿	東北大・院・理・生物		○	
稲津裕司	東北大・院・理・生物	●	◎	○
岩崎勇次郎	東北大・院・農・環境適応		○	
宇山嘉秀	東北大・理	●		
海野智幸	東北大・院・理・生物	●	◎	○
大瀧 保	東北大・遺生研	○	○	○
大橋広好	東北大・院・理・生物	○	○	○
岡上伸雄	東北大・院・理・生物		○	
片岡博尚	東北大・遺生研	○	○	○
金子恭史	東北大・院・理・生物	●	◎	○
菅野 洋	東北大・院・農		○	
木村 恵	宮教大・生物	●	◎	○
小杉祐介	東北大・院・農・環境適応	●	◎	○
後藤伸治	宮教大・生物	○	◎	○
斎藤憲司	東北大・院・理・生物	●	◎	○
坂本亜矢子	東北大・院・理・生物	●	◎	
笹本展世	東北大・院・理・生物	●	◎	
佐藤 茂	東北大・院・農・環境適応	○	○	○
佐藤竜久	東北大・院・理・生物	●		○
菅家智ゆり	東北大・院・農・環境適応	●	◎	
千田芳裕	東北大・院・情報科学		○	
高橋文雄	東北大・遺生研	●	◎	○

参加氏名	所属機関	大会参加	講演発表	懇親会
縄田朋樹	東北大・医短大	○	◎	○
鶴野樹々子	東北大・院・農・環境適応	●	○	
富田瑞樹	宮教大・生物	●	◎	○
中島真紀	東北大・院・理・生物	●	◎	
鍋谷 浩	宮教大・生物	●	◎	○
西崎友一朗		○		○
西谷和彦	東北大・院・理・生物		○	
根元智行	東北大・院・理・生物		○	
平野剛史	東北大・院・理・生物	●	◎	○
平吹喜彦	宮教大・生物	○	○	○
福田達哉	東北大・院・理・生物	●	○	
堀江直司	東北大・遺生研		○	
前田靖男	東北大・院・理・生物	○	○	○
丸山明子	東北大・院・理・生物	●		○
三岡周子	東北大・遺生研	●	◎	
宮寄 厚	東北大・遺生研	○	○	○
横山亜紀子	東北大・院・理・生物	●		○
横山 潤	東北大・院・理・生物	○	◎	○
横山隆亮	東北大・院・理・生物		○	
吉岡俊人	東北大・院・農・環境適応		○	
吉田 馨	東北大・院・理・生物	●	◎	
米倉浩司	東北大・理・八甲田実験所	○	◎	○
山路弘樹	東北大・院・理・生物	●	◎	
渡邊孝男	宮教大・生活		○	
蔡洙天	東北大・院・理・生物		○	
孫 強	東北大・院・理・生物	●		○
崔寛三	東北大・遺生研	●	◎	○

参加氏名	所属機関	大会参加	講演発表	懇親会
【山形県】				
阿部亮平	山形大・理・生物	●		
岩滝光儀	山形大・理・生物	●	○	
太田理香	山形大・理・生物	●		
岡田勝英	山形大・教育	○	○	○
加藤良一	山形大・教育	○		○
金田美奈子	山形大・理・生物	●		
工藤 創	山形大・理・生物	●	◎	
斎藤員朗	山形大・理・生物	○		○
坂山英俊	山形大・理・生物	●		
佐藤和道	山形大・理・生物	●		
鈴木 隆	山形大・教育	○		○
丹野憲昭	山形大・理・生物	○	○	○
辻村東國	山形大・理・生物	○		○
橋本千佳	山形大・理・生物	●		
原 慶明	山形大・理・生物	○	○	○
原田篤子	山形大・教育	●	◎	○
菱沼 佑	山形大・理・生物	○		○
保科 亮	山形大・理・生物	●		
松沢勇志	山形大・理・生物	●		
吉川伸哉	山形大・理・生物	●		○
米野智弥	山形県・園試		○	
山加夕子	山形大・理・生物	●		
山岸隆博	山形大・理・生物	●		○
山崎和也	山形大・理・生物	●		
山崎 裕	山形大・理・生物	●		○
Moat. War Dine Naw	山形大・理・生物	●		

参加氏名	所属機関	大会参加	講演発表	懇親会
【秋田県】				
我彦広悦	秋田農短大・生物工学研	○	◎	○
大屋俊英	秋田生物資源総合開発利用センター	○		○
Galis, Ivan	秋田農短大・生物工学研		○	
【岩手県】				
斎藤友紀	岩手大・教育・生物	●	◎	○
鈴木健策	農水省・東北農試	○	◎	○
須田 裕	岩手大・教育・生物	○	○	○
竹原明秀	岩手大・人文社会・生物	○	◎	○
乳井美保	岩手大・教育・生物	●		○
照井啓介	岩手大・教育・生物	○		○
松尾愛美	岩手大・教育・生物	●		○
望月 淳	農水省・東北農試・水田利用		○	
Mamedov, T.G.	農水省・東北農試		○	
【福島県】				
黒沢高秀	福島大・教育	○		○
高橋宏之	須賀川桐陽高校	○		○
【他県】				
加藤雅啓	東京大・院・理・生物科学		○	
鈴木邦雄	横浜国大・経営		○	
富田・横谷香織	筑波大・応用生物化学		○	
長谷川宏司	筑波大・応用生物化学		○	
原 正利	千葉県・中央博物館		○	
大会参加	○ 一般 ● 学生			
講演発表	◎ 登壇者 ○ 連名者			