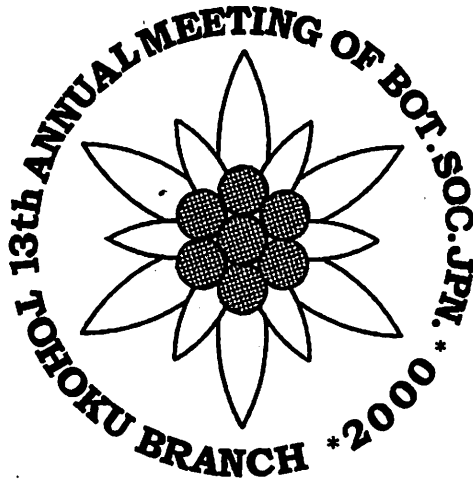


日本植物学会東北支部
第13回盛岡大会

講演要旨集

Abstracts of the 13th Annual Meeting
of the Botanical Society of Japan, Tohoku Branch
in MORIOKA



MORIOKA

開催日：2000年12月16日（土），17日（日）

会 場：岩手大学人文社会科学部4号館

日本植物学会東北支部
2000年 盛岡

日本植物学会東北支部第13回盛岡大会 一般講演プログラム

会期 2000年12月16日(土)・17日(日)

会場 岩手大学人文社会科学部4号館2階42大教室

第1日 12月16日(土)

12:50 開会の挨拶

13:00 1-1 バイカル湖周辺の湿原植生
竹原 明秀(岩手大・人文社会・生物)

13:15 1-2 和賀山塊の植物の多様性とその保全
堀井 雄治郎(角館高校(定))

13:30 1-3 シラカシの発芽・定着に及ぼす林冠パッチの影響
°高橋 智恵子(宮城教育大・院・生物)・平吹 喜彦(宮城教育大・生物)

13:45 1-4 ミヤマタムラソウの無性芽による栄養繁殖の地域間差異の解析
°宇山 嘉秀・横山 潤・牧 雅之(東北大・院・理・生物)

14:00 休憩(10分)

14:10 1-5 ミヤギノハギの起源を探る
°日向 真理子・鈴木 三男(東北大・院・理・植物園)・大橋 広好(東北大・植物園・津田記念館)

14:25 1-6 遺伝子からみたマメ科植物の花の形態の進化
°福田 達哉・横山 潤・牧 雅之(東北大・院・理・生物)

14:40 1-7 Cytological study of genus *Boehmeria* Jacq. in Nepal
°ナビン アチャルヤ・鈴木 三男(東北大・院・理・植物園)

14:55 1-8 腐生化に伴うラン科植物と菌根菌の対応関係の変化
°横山 潤・福田 達哉・山路 弘樹・牧 雅之・大橋 広好(東北大・院・理・生物)

15:10 休憩(10分)

15:20 1-9 日本産シャジクモ目藻類の生育・分布と分子系統学的研究
°坂山 英俊(山形大・院・理工・生物)・野崎 久義(東大・院・理・生物)・加崎 英男(都立大・理・生物)・原 慶明(山形大・理・生物)

15:35 1-10 単細胞紅藻類に見られる光合成器官の多様性とその進化的意義
原 慶明(山形大・理・生物)・横山 亜紀子(山形県企業振興公社)・
°大野 晶子(山形大・理・生物)・土屋 英夫(山形大・院・理工)

15:50 1-11 灰色植物 *Glaucocystis nostochinearum* のシアネルの特性
°土屋 英夫・原 慶明(山形大・理・生物)

- 16:05 1-12 フィジー産単細胞性紅藻の微細胞構造と系統
 °櫻井 羊生子 (山形大・理・生物)・横山 亜紀子 (山形県企業振興公社)
 ・West, J. A. (メルボルン大・植物)・原 慶明 (山形大・理・生物)
- 16:20 休憩 (10分)
- 16:30 1-13 ヒゲカビの接合孢子中における核のアポトーシス
 °鄭 明淑・宮寄 厚・大瀧 保 (東北大・遺生研)
- 16:45 1-14 DNAマイクロアレイによるミヤコグサ・イネ生殖器官特異的遺伝子の探索
 °遠藤 誠・松原 均・国分 孝男・増子 潤美・高畑 義人 (岩手大・農)
 ・土屋 亨 (三重大・生物資源)・東谷 篤志 (東北大・遺生研)・田畑
 哲之 (かずさ研)・渡辺 正夫 (岩手大・農)
- 17:00 1-15 緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* の接合子特異的 *zys2* 遺伝子のゲノミック
 クローンの単離
 内田 英伸 (山形県企業振興公社)・°谷藤 吾朗・原 慶明 (山形大・理
 ・生物)
- 17:15 1-16 シロイヌナズナのエンド型キシログルカン転移酵素遺伝子 *EXGT-A1* の発
 現組織特異性の解析
 °多田 功生・横山 隆亮・西谷 和彦 (東北大・院・理・生物)
- 17:30 1-17 粘菌における新規遺伝子 *zyl* による接合子形成の誘導
 雨貝 愛子 (東北大・院・理・生物)

17:50 日本植物学会東北支部会総会 (人文社会科学部4号館42大教室)

18:45 懇親会 (中央食堂2階, レストラン「イン シーズン」)

第2日 12月17日 (日)

- 9:00 2-1 光条件制御下におけるケヤキの直径変化が示す日周期性
 °山崎 裕 (理研・PDC・光生物Ⅱ)・佐藤 雅史 (東北大・遺生研)・我
 妻 浩充・鈴木 三男 (東北大・院・理・生物)・鈴木 均 (石巻専修大
 ・理工・生物生産)
- 9:15 2-2 ケヤキの枝の内部構造は光の伝送経路として機能する!?
 °依田 清胤 (石巻専修大・理工・基礎理科)・鈴木 均 (石巻専修大・
 理工・生物生産)・鈴木 三男 (東北大・院・理・植物園)
- 9:30 2-3 暗黒下におけるシロイヌナズナ実生の道管分化と道管の動態
 °高橋 文雄・小林 和貴・奈良 久美・山崎 裕 (理研・PDC・光生物Ⅱ)
 ・鈴木 三男 (東北大・院・理・植物園)・鈴木 均 (石巻専修大・理
 工・生物生産)
- 9:45 2-4 水生植物ヒルムシロ殖芽の嫌気条件によるH⁺-ATPaseの活性化と伸長成長
 の誘導
 °小泉 やよい (東北大・院・理・生物)・矢崎 芳明 (農水省・生物研)
 ・坂野 勝啓 (農水省・生物研)・石澤 公明 (東北大・院・理・生物)

- 10:00 2-5 シロイヌナズナの花器官形成におけるジベレリンの役割
後藤 伸治 (宮城教育大・生物)
- 10:15 2-6 レタス種子発芽におけるアブシジン酸含量の変動に及ぼすジベレリン生合成阻害剤の影響
○藤郷 誠・郷内 武・吉岡 俊人・佐藤 茂・羽柴 輝良 (東北大・院・農)
- 10:30 2-7 イヌビエ種子の2次休眠誘導におけるアブシジン酸の関与
○吉岡 俊人・郷内 武・佐藤 茂・羽柴 輝良 (東北大・院・農)
- 10:45 2-8 ヤマノイモ属におけるアブシジン酸 (abscisic acid) の代謝
○丹野 憲昭 (山形大・理・生物)・原田 篤子・成田 純子 (山形大・教育・家庭)・岡上 伸雄 (千葉大・園芸・植物構造)・岡田 勝英 (山形大・教育・家庭)
- 11:00 休憩 (20分)
- 11:20 2-9 細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* から分離された天然有機化合物 dictyopyrone C の生理機能に関する研究
○前田 靖男 (東北大・院・理・生物)・菊地 春久 (東北大・院・薬・医薬資源化学)・雨貝 愛子 (東北大・院・理・生物)・関谷 純一 (東北大・院・薬・医薬資源化学)・高谷 芳明 (名城大・薬)・大島 吉輝 (東北大・院・薬・医薬資源化学)
- 11:35 2-10 エチレン生合成系形質転換遺伝子を導入したカーネーションの作出と切り花のエチレン生成の性質
○岩崎 勇次郎・和気 慶介・山下 淳・小杉 祐介・羽柴 輝良・吉岡 俊人・佐藤 茂 (東北大・院・農)
- 11:50 2-11 アグロバクテリウムの植物腫瘍遺伝子 *AK-6b* の発現によるフェノール化合物の動態
○我彦 広悦・イバン ガリス・垣内 康孝 (秋田県立大・生物資源科学・生物工学研)
- 12:05 2-12 沖縄県慶良間諸島より単離した底棲性渦鞭毛藻の殻形成について
○工藤 創・比嘉 敦・原 慶明 (山形大・理・生物)
- 12:20 2-13 青色光によるフシナシミドロの細胞形態形成：多核細胞では核を寄せて形を作る
○片岡 博尚 (東北大・遺生研)・高橋 文雄 (理研・PDC・光生物Ⅱ)・菱沼 祐 (山形大・理・生物)
- 12:35 2-14 *Gymnochlorella stellata* (クロララクニオン植物門) で見られた多核細胞とその挙動
○金田 美奈子 (山形大・院・理工)・石田 健一郎 (Univ. of British Columbia)・原 慶明 (山形大・理・生物)
- 12:50 2-15 ハネモ胞子体における巨大核の分裂誘導について
○山岸 隆博・菱沼 祐 (山形大・理・生物)
- 13:05 閉会の挨拶

座長一覽

第1日 12月16日(土)

- | | |
|-----------|-----------------------|
| 1- 1~1- 4 | 三浦 修 (岩手大・教育) |
| 1- 5~1- 8 | 黒沢 高秀 (福島大・教育) |
| 1- 9~1-12 | 宮崙 厚 (東北大・遺伝生態研究センター) |
| 1-13~1-17 | 横山 潤 (東北大・院・理) |

第2日 12月17日(日)

- | | |
|-----------|-----------------------|
| 2- 1~2- 3 | 照井 啓介 (岩手大・教育) |
| 2- 4~2- 8 | 鈴木 隆 (山形大・教育) |
| 2- 9~2-11 | 石澤 公明 (東北大・院・理) |
| 2-12~2-15 | 大瀧 保 (東北大・遺伝生態研究センター) |

大会参加の皆様へ

- ◎ 大会係員は黄色いリボンをつけていますので、ご不明の点はお尋ね下さい。
- ◎ 講演会場は禁煙となりますので、ご協力下さい。
- ◎ 休憩室(420番教室)では軽い飲物を用意しておりますので、ご利用下さい。

一般講演の皆様へ

- ◎ 講演時間は発表12分、質疑応答3分の合計15分です。プログラムに余裕がありませんので、時間を厳守して下さい。ベルは一鈴10分、二鈴12分、最終鈴15分です。
- ◎ スライドは、講演番号と氏名を記入し、上下確認のうえ、スライド受付に余裕を持って提出して下さい。また、講演後にはお忘れにならないように取りに来て下さい。
- ◎ OHPは、講演者自身で操作して下さい。

(大会シンボルマークはハヤチネウスユキソウの花をデザイン化したもの 須田 裕 記)

1-1

バイカル湖周辺の湿原植生

竹原明秀 (岩手大・人文社会・生物)

バイカル湖は世界で最古(約3000万年前に誕生)、最深(1643m)、最大容積(2.3億 km³)の淡水湖で、周囲は暗いタイガ(マツ属3種、シベリアモミを主体とする常緑針葉樹林)や明るいタイガ(カラマツ属2種の落葉針葉樹林)からなる亜寒帯針葉樹林が発達している。これらのタイガは微地形によって構成樹種に変化が認められるが、緩やかに流れる河川沿いや大小様々な湖沼の湖岸、モレーン上の凹状地などでは湿原が点在する。これらの湿原を調査地として、現在、湿原堆積物の各種分析を通して最終氷期以降の植生や気候の変遷、植生に与えた人類活動の影響などを解明しているが、ここでは湿原の植生や湿原植物などを紹介する。

(1) 水生植物群落

バイカル湖に流入する河川の河口や湖沼、池塘に発達する植物群落で、ミクリ属の数種、スギナモ、ネムロコウホネ、ヒツジグサなどが単独で優占することが多い。

(2) 低層湿原植生

様々な湖沼の周縁地や河川沿いの後背湿地、河口のデルタ、湖岸のラグーンに発達する植生で、ミズゴケ類をほとんど伴わず、泥炭堆積物も薄い。

ゆるぎ田代タイプ: ヤチスゲ、ミツガシワなどが優占し、サギスゲ属、クロバナロウゲ、ホソバアカバナ、ドクゼリなどが混生する。コケ層でカギハイゴケ、オオヒモゴケ、アオギヌゴケ属の一種などが小さなマットを形成する。

谷地坊主タイプ: ヌマクロボスゲ、イワノガリヤス、ヤチツツジなどが優占する。

(3) 高層湿原植生

ミズゴケを主体とする植生で、貧養なモレーン上の凹状地に発達することが多い。

小凹地(ホロー): ヤチスゲ、ホロムイソウ、ナガバモウセンゴケ、コタヌキモなどに、ハリミズゴケ、フサバミズゴケなどからなるコケ層が発達する。

小凸地(ハンモック): チャミズゴケ、ムラサキミズゴケ、スギバミズゴケなどのコケ層にイソツツジ、ヒメツルコケモモ、ホロムイイチゴなど点生する。特に大型化・集合化すると泥炭丘(ポウニッコ)と呼ばれる。

これらの湿原植生を構成する植物は北日本の湿原に生育する植物と共通性が高く、北半球の寒冷地に共通する周北極要素植物(ツルコケモモ、ミツガシワ、ホロムイソウ、ホロムイイチゴなど)が大部分を占めている。

和賀山塊の植物の多様性とその保全

堀井 雄治郎 (和賀山塊自然学術調査会
角館高校定時制課程)

和賀山塊は奥羽山脈の中部、秋田県と岩手県にまたがる山岳部に位置する。すなわち真昼山地と称される地域の大部分であり、北から貝吹岳・朝日岳・和賀岳・白岩岳・薬師岳・甲山・中ノ沢岳などの山岳地帯一帯をさし、最も南の真昼岳連山を含まない。この和賀山塊には、堀内沢・生保内川・斉内川・川口川などが縫っており、険しい溪谷が、人の入山を阻んでいた。和賀山塊は3万haの広大な面積を有し核心部はブナを優占種とし、ミズナラ、アシウスギ、クロベ、キタゴヨウ、ヒノキアスナロを交えた国有林であり、その自然度の高さと同様さは世界遺産の白神山地と比較しても勝るとも劣らない日本列島に残された最後の秘境である。

1999年7月に「和賀山塊の自然・和賀山塊自然学術調査報告書」(報告書)が和賀山塊自然学術調査会(調査会)によって刊行された。報告書には和賀山塊の魅力に取り憑かれた地元山岳愛好家と研究者が連携し、1990年から9年間にわたる和賀山塊の基本調査の結果が書かれている。入山困難な山岳部および危険な岩峰の調査をすべてボランティアでやりとげ調査回数は延べ200回を越えた。和賀山塊の植物の多様性については演者が1998年の日本植物分類学会富山大会と1999年の日本植物学会秋田大会で発表し報告書にも記した。その骨子は、1)森林の大半が白神山地と同様にブナ原生林である。しかし、白岩岳や小影山などはブナ原生林の中にミズナラ、クリ、クロベなどの巨木が混じり多様な林分を構成している。2)1万点におよぶ植物標本の種数は900余に達し周辺地域よりはるかに多い。3)リシリシノブ、オサバグサ、トガクシショウマなどの遺存種が多く、かつ個体数も多い。4)植物相は日本海要素を主体とし、本州中部の太平洋側に本拠を持つキバナウツギ、ナンブクロカンバ、オオウラジロノキなどのような種類が入り込んでいるいわゆるフローラの滝である。5)アオモリマンテマのような本州北部の固有種や、稀産種および環境庁レッドリストの絶滅危惧種が多く、しかもその自生環境がよく保全されている。6)アザミ属・トウヒレン属・アキノキリンソウ属など分類学上、再検討を要する種が多い。7)関東以西に分布の中心を置くイワタバコ、ハコネシダ、イイギリ、ヤマミズなどが多産する。などである。

報告書の完成後、次の段階として和賀山塊の保全への取り組みがなされた。その結果、全国の研究者と自然保護関係者の連名による真昼山地全域に広げた「和賀山塊の自然環境保全についての要望書」が2000年の1月に環境庁と林野庁にも提出された。

9月にはそれとは別に調査会により秋田県議会に請願書が提出され、和賀山塊の中心部である環境庁の「和賀岳自然環境保全地域 1451ha」とさらに自然度の高い最核心部である秋田県側の5129haを含め拡大することが全会一致で議決された。県はこれを受けて現在環境庁に働きかける準備をしている。しかしながら、相沢山や白岩岳および小景山などや県立自然公園の真木溪谷、甲山、薬師岳、中ノ沢岳などの重要地域は保全地域指定から外れたままの状態である。今後はこの成果を足がかりにしてさらに保全地域の拡大を実現したいと考えている。

1-3

シラカシの発芽・定着に及ぼす林冠パッチの影響

○高橋智恵子、平吹喜彦（宮城教育大・院・生物、宮城教育大・生物）

宮城県の平野～丘陵地域は、暖温帯性常緑広葉樹林帯と冷温帯性落葉広葉樹林帯の境界域に位置するとみなされている。この地域の気候的極相林は、モミを優占種とし、多種類の落葉広葉樹とカシ類が混交する林分とされ（例えば吉岡、1952）、調査地とした東北大学大学院理学研究科附属植物園には、その北限の林分が、国の天然記念物として残っている。ここでは、カシ類やシロダモなどの暖温帯性常緑広葉樹が、常緑針葉樹の樹冠下や南斜面に集中して分布するという特異な現象がみられる（平吹、1991）。

本研究では、この現象の成因を明らかにするために、シラカシ（*Quercus myrsinaefoia* Blume）を用いて、生活史初期段階における個体群動態を実験的に解析した。散布直後の健全種子 75 個を播種したプランターを、斜面方位（北斜面と南斜面）や林冠状況（動態単位と考えられるモミパッチ、落葉広葉樹パッチ、カシパッチ、ギャップのほか、対照区として林外の短茎草本群落＝オープン）、リターの被覆を考慮して 28 個設置し、発芽～定着段階の生死や成長量を追跡した。また、実験期間中（1999 年 11 月～2000 年 11 月）の種子・実生にとっての微気象を把握するために、ファインスケールでの温度や湿度、光量子量の測定も同時に行った。

その結果、①冬季の低温や乾燥によって死亡する種子は少なかったが、発芽直前の日射や乾燥によって、オープンとギャップのリター非被覆プランターで種子の死亡が顕著であった。②発芽開始は、リター非被覆プランターではオープン、南斜面、北斜面の順で連続的に見られ、リター被覆プランターでは南斜面の落葉広葉樹パッチとギャップが早く、オープン、その他の林内パッチの順だった。③リターの有無による発芽開始日の差はオープンで 0 日、南・北斜面のモミパッチとカシパッチでは 7 日であったのに対し、南・北斜面の落葉広葉樹林パッチではそれぞれ 21 日、29 日に達した。④最終発芽率（2000 年 10 月時）はリター被覆プランターで高く、その中でもギャップが最も高い結果となった。⑤実生の葉形や苗高は、設置地点の光条件に応じて陽樹または陰樹の特性を示した。また、⑥9 月から 10 月にかけて枯死した個体のほとんどでは、菌類の感染が観察され、特に湿度の高い南斜面で顕著であった。⑦最終生存数では明確な規則性はみられなかったが、最終生存率は南斜面より北斜面の方が高いという結果になった。

1-4

ミヤマタムラソウの無性芽による栄養繁殖の地域間差異の解析

○宇山嘉秀、横山 潤、牧 雅之(東北大・院・理・生物)

ミヤマタムラソウ(*Salvia lutescens* Koidz. var. *crenata* (Makino) Murata)は、本州中北部に生育する多年生草本である。演者らによって、宮城県に分布しているミヤマタムラソウは開花結実による有性繁殖と並行して、花腋や葉腋から生じる無性芽による栄養繁殖をさかんに行うことが観察されている。岩手県植物誌(1970)などでは、岩手や宮城に分布するものはミチノクタムラソウ var. *borealis* M.Kikuchi、またはハイミチノクタムラソウ var. *borealis* M.Kikuchi f. *repens* M.Kikuchi に分類されている。これは、花腋から高頻度で無性芽を生じること起因していると思われる。しかし、無性芽に関する記載は植物図鑑では見られないため、他地域では無性芽による栄養繁殖を行っていない可能性がある。そこで本研究では、ミヤマタムラソウの無性芽による栄養繁殖の地域間差異を明らかにし、無性芽の出現に関わっている生態的な要因について調べる事を目的とした。

東北から中部地方にかけての 9 集団を調査した結果、宮城(仙台、牡鹿半島)の集団は他地域の集団に比べ著しく高い割合で花腋から無性芽を出していることが明らかとなった。仙台の集団は主に植食性昆虫によって開花前に高頻度で花部器官への食害を受けており、そのため開花時の花の残存率が他地域よりも低かった。

上記の結果をもとに、食害による花の残存率の低下が花腋からの無性芽の出現率に影響を及ぼしているのか、出現率の地域間差異は遺伝的なものなのか、の 2 点を明らかにするため、6 集団について、野外で摘花処理を施したものと無処理のものとの比較を行った。さらに、仙台、戸隠、南牧の 3 集団においては栽培条件下で、摘花処理を施したもの、開花前に袋がけを行うことで結実率をほぼ 0%に下げる処理を施したもの、そして無処理のものとの間での比較を行った。

その結果、ほとんどの集団で摘花処理を施したものの方が高い無性芽出現率を示した。栽培条件下においても、野外で高い出現率を示していた仙台の集団が高い値になり、野外でほとんど花腋からの無性芽が観察されない戸隠や南牧では、非常に低い値を示した。また栽培実験での花腋からの無性芽の出現率は、3 集団ともに摘花処理で最も高く、袋がけ、無処理の順であった。

これらの結果は、花腋からの無性芽は有性繁殖がうまく行かなかった時の補償となっており、特に食害などによって開花前に花を失うような早期のダメージが無性芽の出現を促進していることを示唆している。栽培実験において、3 集団の無性芽出現率の差異が野外と同様のパターンを示したことから、無性芽出現率の地域間差異は遺伝的に決定されていることを示唆している。

1-5

ミヤギノハギの起源を探る

日向 真理子、鈴木三男(東北大・院・理・植物園)、大橋広好(東北大・植物園・津田記念館)

マメ科ハギ属ヤマハギ亜属は、日本に8種の野生種と多くの栽培種があり、花が美しい事から観賞用として広く親しまれていた。栽培種の一つであるミヤギノハギ(*Lespedeza thunbergii* (DC.) Nakai)は、江戸時代には既に広く栽培されていたが、その起源としては、形態の類似性より野生種であるケハギ(*L. patens* Nakai)から選抜育種された(大橋 1981, 1986)という説や、花粉を作らないということから野生種のケハギとチョウセンキハギ(*L. maximowiczii* C.K. Schneid.)、又はケハギと他の種の雑種であるという説(Akiyama 1988)など諸説あり現在でも謎のままである。今まで提示されたとの説も決定的なものではないため、近年確かな精度で推定する事が可能となった分子系統学的手法を用いて、種間の系統関係が解明できれば、ミヤギノハギの起源を探れるであろうと考えた。

そこで本研究では、ミヤギノハギ及びヤマハギ亜属内の野生種において、葉緑体DNA(*psbA*~*trnH* 遺伝子間領域)及び核リボソームDNAのITS領域の塩基配列のデータを用いて解析を行い、ミヤギノハギの起源を明らかにする事を目的とした。

結果及び考察

葉緑体DNAの解析では、ミヤギノハギには特徴的な塩基配列が3ヶ所あり、これと同じ塩基配列を持っていたのはビッチウヤマハギ(*L. formosa* (Vogel) Koehne ssp. *velutina* (Nakai) S. Akiyama & H. Ohba)とマルバハギ(*L. cyrtobotrya* Miq.)であった。

一方、ITS領域の解析では全体的にBootstrap値が低く、信頼度の高い系統樹は得られなかった。その中で、ミヤギノハギ及びケハギそれぞれの単系統性が高い確率で支持され、ミヤギノハギとケハギそれぞれの独立性が示唆される結果となった。

これら以上の結果から、これら二つの種はヤマハギ亜属のグループから別個に進化したのではないかと考えられ、ミヤギノハギはケハギからの選抜育種されたものではなく、又ケハギと野生種との交雑がその起源であるとした説も否定される。ミヤギノハギと一番遺伝的に近いのはビッチウヤマハギであり、その出自にはビッチウヤマハギが関与しているものと思われる。よってミヤギノハギの起源として新たに考えられる説としては、①ビッチウヤマハギから選抜育種された種である、②ビッチウヤマハギを母親に持つ雑種起源種である、の2つである。

これまでの結果からはミヤギノハギの起源として断言できるだけの確証を得る事はできなかった。ミヤギノハギの起源を確実に解明するには、他の遺伝子部位や他の手法などを用いた更なる解析が必要と思われる。

1-6

遺伝子からみたマメ科植物の花の形態の進化 福田達哉・横山 潤・牧 雅之(東北大・院・理・生物)

生物の形は一連の遺伝子系の発現によって形成される。したがって、形の多様性と進化を理解するためには、形を支配する遺伝子の多様性と進化を探る必要がある。近年の分子系統解析の普及によって、形態進化の方向性を正確に同定することが可能になってきた一方で、その形態形質を直接支配する遺伝学的な背景に関しては、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) やキンギョソウ (*Antirrhinum majus*) などといったモデル植物を除いては、これまでほとんど明らかにされてこなかった。自然界で実際に生じた植物の形態進化の遺伝的背景を明らかにするためには、モデル植物で明らかになっている遺伝的メカニズムを野生植物の進化に結びつける必要がある。本研究では、そのモデル系として花の左右相称性の進化を取り上げ、このような問題の解決に適している分類群としてマメ科植物を選んだ。

マメ科植物は、放射相称花のネムノキ亜科、放射相称花から弱い左右相称花を持つジャケツイバラ亜科、そして、特徴的な左右相称花である蝶形花をもつマメ亜科の3つの亜科から構成されており、近年の分子系統解析の結果から、これらの花の形態の進化方向については詳細に把握できるようになってきた。しかし、これらの花の形態、特に相称性を司る遺伝的背景については全く分かっていない。

モデル植物であるキンギョソウでは、花の相称性を司る遺伝子である *cycloidea* が単離されている。この相同遺伝子がホソバウンランやキク科の *Senecio* 属植物などでも花の相称性に関与することが報告されてきている。そこで本研究では、マメ科植物の花の形態の進化と *cycloidea* 相同遺伝子の関連を考察することを目的として研究を行っている。

サンプルは主に野外から蕾および花を採集し、mRNAを抽出後RT-PCR法とRACE法を用いて得られた産物のクローニングを行い、そのクローニング産物の塩基配列を決定した。

その結果、左右相称花であるクララ (*Sophora flavescens*) や *Mucuna nigricans*、放射相称花であるネムノキ (*Albizia julibrissin*) から *cycloidea* 相同遺伝子を単離する事ができた。この単離された *cycloidea* 相同遺伝子に、外群としてアミノ酸配列から *cycloidea* 相同遺伝子と考えられるシロイヌナズナのTCP1等を加えて系統解析を行った結果、マメ科植物の *cycloidea* 相同遺伝子は単系統群を構成し、キンギョソウ *cycloidea* やホソバウンランの *cycloidea* 相同遺伝子等で構成される単系統群の姉妹群となる事が明らかになった。さらに、これらの遺伝子は、マメ科植物の花の相称性が決定される花の発生の初期に発現していることが明らかになった。これは、キンギョソウで報告されている *cycloidea* と類似しており、これらのことからマメ科植物から単離された *cycloidea* 相同遺伝子は、キンギョソウと類似の機能を持っている可能性が示唆された。これらの結果をもとに、マメ科植物の花の相称性の進化について考察する。

1-7

Cytological study of genus *Boehmeria* Jacq. in Nepal

°N. Acharya and M. Suzuki (Tohoku University, Faculty of Science, Botanical Garden)

Chromosome number of the species of genus *Boehmeria* were investigated for the first time in Nepal. Genus *Boehmeria* is distributed in the tropical, subtropical and temperate regions. According to Hara et al (1982) 8 species including 2 varieties has been reported from Nepal. As conceived by Wang wen-tsai (1981), Nepalese species appear to be in 4 major sections based upon the arrangement of leaf and flower. Previous study, particularly of the Japanese specimens revealed that polyploidy and apomixis are most common in this genera (Okabe, 1963 ; Yahara 1983). This study was intended to verify the chromosome number of *Boehmeria* species found in Nepal and to know their ploidy level. The study includes 24 different populations in eastern and central Nepal.

Materials and methods: Root tips were used for cytological study and collected during my field trip June 25 - July 19, 2000 to Nepal together with the voucher specimen. Root tips were pretreated in 0.05% Colchicine solution for nearly 3 hour immediately after collection and fixed in New-commer's fluid. Fixed materials were gradually hydrated through ethyl alcohol series. Hydrated root-tips were soaked in enzyme solution (2 % Pectolyase and 4 % Cellulase) for 55 minnutes at 37° C to macerate (soften) the tissue. The macerated root-tips were stained in 2 % aceto orcein for 12 hours and squashed to spread the cells and observed the chromosome.

Result: It is observed that the chromosome number of *Boehmeria* species found in Nepal is 28. As to the previous reports of Okabe (1963) and Yahara (1983), $2n=28$ is regarded as the diploid chromosome number in genus *Boehmeria*. Table 1 shows the chromosome number counted in different population of *Boehmeria* species and their localities, elevation and voucher specimen number of 16 different population. Figure 1 -5 shows the chromosome observed in the somatic cells of *Boehmeria* species of Nepal. As most of the population includes individuals which belong to the section *Duretia* (Individuals with opposite leaves and spicate inflorescence) which has been found in previous study to be mostly polyploid and apomictic in Japan.

腐生化に伴うラン科植物と菌根菌の対応関係の変化

○横山 潤、福田達哉、山路弘樹、牧 雅之、大橋広好

(東北大・院・理・生物)

腐生性 (myco-heterotrophism) は、必要な全ての炭素源を菌類からの供給でまかなう、いわば菌類に寄生している状態の生活様式を指す。被子植物の11科87属約400種で知られるのみの、全体からすると少数派の生活様式であるが、菌類との相互作用の変化やそれに伴う光合成能を失う過程など、進化学的に興味深い問題を内包している植物群である。ラン科は、全世界の腐生植物の約半数を内包し、腐生性の進化を研究する上で最も重要な分類群である。

腐生性の進化を考える上で、植物に炭素源を供給している菌類との相互作用を明らかにすることは不可欠である。そのための基礎情報として、まず腐生植物と菌類の対応関係を正確に把握する必要がある。しかし、腐生植物を含む多くの植物に共棲している糸状菌は、共棲状態や培養条件下での同定が困難な場合が多く、腐生植物を含めた植物と菌根菌の対応関係の詳細については、まだまだ不明な点が多い。

近年の分子生物学的手法の発達に伴って、DNAの塩基配列などの分子情報を用いて生物を識別する手法が、特に形態的特徴に乏しい生物群の多様性を認識する手法の一環として行われるようになってきた。この方法を援用することで、植物体内にどのような菌類が共棲しているのかを高い精度で調べることができる。本研究ではこの手法を用いて、腐生ランの一種オニノヤガラ *Gastrodia elata* Blume と菌根菌の対応関係を調査した結果を報告し、ラン科植物において腐生性の進化と菌根菌との対応関係の変化の間にどのような関連があるのかについて考えてみたい。

異なる産地から採集したオニノヤガラについて、個体ごとに塊茎をすりつぶしてDNAを抽出し、真菌類に特異的なmtDNA上の1rRNA遺伝子のプライマーを用いてその領域を増幅し、塩基配列を決定した。その結果得られた配列は、樹木の外生菌根であるイボタケ科とキシメジ科の菌類と系統的に近いものであった。オニノヤガラは、ツチアケビ (*Galeola septentrionalis* Reichb. fil.) と同様、腐朽性のナラタケ属の菌類を菌根に持っていると言われていたが、本研究で得られた結果は、それとは異なるものであった。近年、北米産の2種の腐生ラン (*Cephalanthera austinae* (A. Gray) Heller, *Corallorhiza maculata* (Rafinesque) Rafinesque) の菌根にも、針葉樹につく外生菌根菌が共生していることが明らかにされており、ラン科植物の一般的な内生菌根菌である *Rhizoctonia* から樹木の外生菌根菌へのパートナーチェンジは、腐生化に伴う一般的な現象である可能性が高い。オニノヤガラには光合成を行う近縁種は知られていないため、このようなパートナーチェンジがどの段階で起こったのかは特定できないが、北米で研究例のある腐生ランの一つと同属である日本産キンラン属植物の菌根を調査した結果、パートナーチェンジは光合成を行っている段階で既に起こっている可能性があることが示唆された。

1-9

日本産シャジクモ目藻類の生育・分布と分子系統学的研究

○坂山英俊¹・野崎久義²・加崎英男³・原 慶明⁴ (1山形大・院・理工, 2東京大・院・理・生物, 3都立大・理・生物, 4山形大・理・生物)

シャジクモ目藻類(以下シャジクモとする)は透明度の高い湖沼等に生息し、湖中では水生維管束植物の生息域(水草帯)よりやや深い湖底近くに繁茂し、いわゆる“シャジクモ帯”を形成する。我が国では4属74種類が明らかにされ(Hirose & Yamagishi 1977), そのうち日本固有種は35種類にものぼる。ところが近年、関東地方を中心にシャジクモの生育地またはその周辺での開発や水質汚染などにより種類数も現存量も急激に減少しており(Nozaki *et al.* 1995), 1997年に環境庁が公開した『植物版レッドリスト』には74種類のうち絶滅種または絶滅危惧種として30種類がリストアップされている。それ故、日本のシャジクモの生育・分布状況を明らかにしておくことは緊急の課題といえる。一方、最近のシャジクモの分類では卵胞子の表面微細構造が種レベルの識別形質として導入され(John & Moore 1987, John, Moore & Green 1990, Leitch, John & Moore 1990, Casanova 1991), また, *rbcL* 遺伝子・18SrDNA 遺伝子を用いた属・種レベルの系統解析も行われている(McCourt *et al.* 1996, 1999, Meiers *et al.* 1999)。しかし、日本産のシャジクモの卵胞子表面構造を用いた分類学的研究は日本固有種1種(キヌフラスコモ)について(Nozaki *et al.* 1998)のみであり、分子系統学的研究は全く行われていない。

本研究では、日本産シャジクモの生育・分布のデータおよび系統保存株を体系的に蓄積・保存するとともに、走査型電子顕微鏡による卵胞子膜の表面構造の特徴を加えた形態的データ, *rbcL* 遺伝子の塩基配列データにもとづき、これらの種の実態を明らかにする目的で行った。

1998年以来東北・北海道地方を中心にシャジクモの生育・分布調査を実施してきた。同調査地域からシャジクモ属3種類とフラスコモ属12種類の生育を確認した。それらの生育状況を見る限り、比較的大きな湖や沼では人的負荷による水質汚濁で危機的状況下にある一方、池・水田などでは種類や生活史の違いも考慮しなければならないが、健全な状態にあるとの感触を得た。現状がどうであれシャジクモの生育できる環境の保全対策を早急に考えておく必要があるといえる。

この生育分布調査中に確保した保存株(28株)と分与を受けた株(2株)を用いて、それらの*rbcL* 遺伝子にもとづく分子系統解析を行った。

その結果、①各属は単系統であった。②*Chara* 属では各亜属・亜節は単系統であった。③日本産の*Chara globularis* には2つの系統が存在する。④日本産のカタシャジクモとヒメカタシャジクモは同種と思われる。⑤日本産の*C. braunii* には2つの系統または遺伝的多様性がある。⑥*Nitella* 属ではHYELLA 亜属・TIEFFALLENIA 亜属は単系統であったが、NITELLA 亜属は側系統であった。⑦*Nitella* 節, Riddellia 節, Decandollea 節は単系統であり, Tieffallenia 節, Gioallenia 節, Persoonia 節は単系統でなかった。⑧*Nitella opaca* (*N. flexilis* f. *flexilis* のシノニム) は*N. flexilis* f. *flexilis* と別種であり、日本固有種*N. furcata* f. *gracilens* は*N. furcata* とは別種であること(Nozaki *et al.* 1998)を支持した。⑨*Nitella* 属の亜属・節・種の分類の再検討が必要であることが判明した。現在、この分子系統解析で問題となった種類や類縁関係を卵胞子表面構造のデータと対比して検討している。そこで得られた知見のいくつかを紹介する。

1-10

単細胞紅藻類に見られる光合成器官の多様性とその進化的意義

原 慶明¹、横山亜紀子²、○大野晶子¹、土屋英夫³

(1 山形大・理・生物、2 (財) 山形県企業振興公社、3、山形大・院・理工)

真核光合成生物の系統や多様性を理解する上で、これら生物の進化の過程で生じたであろう細胞内共生がどのように関与してきたか、関与した諸処のイベントを改めて検討することが不可欠である。

演者らはこれまで単細胞紅藻類の分類と系統について解析してきたが、この藻群は最も単純な単細胞という体制ではあるが細胞内構造、光合成色素組成、生殖様式、生育分布(それに関連した塩分濃度に対する増殖パターン)などに極めて高い多様性を認めている。分類学的には細胞内微細構造を主な識別形質として1祖先群と5系統群にまとめている。各系統群は多細胞紅藻との類縁を含めて、多系的であることも認識している。一方、細胞内共生を考察する際に、本藻群は1次共生生物であり細胞内構造が複雑でないこと、ほぼ球形で、鞭毛もなく、構造的な極性がないことから細胞内器官の配列や構造を解析するのに好適な系であると考えてきた。

本研究は以上のような研究背景と実験系としての有利性を生かし、この藻群に見られる光合成器官=葉緑体・ピレノイドの微細構造と光合成器官と核の位置関係の多様性を解析し、その進化的意義について検討する目的で行った。今回は共焦点レーザー顕微鏡法を導入し、それが透過電頭による超薄切片法では連続切片による解析が不可欠な光合成器官と核の位置関係をどの程度まで補完することができるかに焦点を当て実施した。

これまでの微細構造学的な知見から、光合成器官と核の位置関係に特徴のある以下の9藻株を選んで、観察に供した：*Porphyridium purpureum* (R-1：東大分生研)、*Rhodella maculata* (SAG45.85)、*Rhodella violacea* (SAG115.70)、*Rhodella cyanea* (原記載株)、*R. cyanea* (徳之島株)、飛島株 (T-2：未記載種) *Rhodospira sordida* (UTEX2616)、西表株 (西表：未記載種)、紋別川株 (②-1、未記載種)。観察は共焦点走査型レーザー落射蛍光顕微鏡 (OLYMPUS-IX70, FLUOVIEW) で、生きた状態およびグルタールアルデヒドで固定した状態の細胞をポリジンを塗布したスライドガラスに貼り付けて行った。核はサイバークリーン(培養液で500-1000倍希釈)で染色した。その結果、①光合成器官、特に葉緑体部は自家蛍光によりその立体構造はかなり鮮明に観察できるがピレノイド部は全く識別できなかった(ピレノイド部の蛍光染色法の開発が必要)。②核はサイバークリーンの染色条件の適不適と藻株の違いに左右され、よく染まるもの、ほとんど染まらないもの、全く染まらないものがあり、染まっても蛍光を発する時間が短く、充分観察できないものがあることがわかった。③方法の改良は必要であるが、透過電頭による微細構造の情報と併用することにより、光合成器官と核の位置関係はある程度解析できることがわかった(連続切片法の省略が可能)。今回の観察結果に基づいて、演者の一人がすでに公表した細胞内共生後に起こる宿主細胞由来のオルガネラ(主に核)と共生体細胞由来のオルガネラ(光合成器官)の構造変化とそれらが機能特性を発揮するために必然的に起こる位置占有の競合・調整と細胞内構造の多様性の関係をどのように理解するか、また、その進化的意義を検討する。

1-11

灰色植物 *Glaucocystis nostochinearum* のシアネルの特性

土屋 英夫 ・ 原 慶明 (山形大・理・生物)

細胞内共生によって原核細胞から真核細胞に進化した生物は、その後も細胞内共生を繰り返し、新たな光合成生物の系統を生み出し、多様化してきた。そのことは各光合成生物群の成立に関与した宿主従属栄養生物と共生体、すなわち葉緑体の起源となる生物の微細構造や分子系統を解析することにより、これらの細胞内共生過程を類推することができる。このように光合成生物の系統・進化を理解するためにはその推進力としての細胞内共生を様々な視点から把握する必要がある。

ここでは共生体が宿主細胞に侵入した後、宿主と共生体、それぞれの分裂時期の間にどのような関係があるのかを、1次共生光合成生物である灰色植物を対象に考察した。

灰色植物は、シアネル(cyanelle)と呼ばれるオルガネラによって、光合成独立栄養生物として生活している。シアネルは、光合成色素組成、一重チラコイド、フィコビリソーム、ペプチドグリカン層の形態的特徴などが藍藻に酷似することから、従属栄養性の原生生物の細胞内に共生した藍藻だと考えられていた。しかし現在では、シアネルのDNA量が、藍藻のそれの約10分の1と、一般の植物の葉緑体に匹敵することが明らかとなっている。そのためシアネルは、共生体が葉緑体へと進化するなかでの、形態的には藍藻の特徴を残し、機能的には葉緑体と変わらない過渡的なオルガネラと考えられる。シアネルの多くは、その中心部にカルボキシソームをもち、宿主の細胞内に散在、あるいは細胞の外周に沿って配置している。しかし灰色植物 *Glaucocystis nostochinearum* では、その長楕円形のシアネルの一端にカルボキシソームが偏在し、さらに複数のシアネルが整然と、カルボキシソームの偏在する端を細胞の中心に向けて、放射状に配列している点で特異である。そのため、灰色植物の中でも *G. nostochinearum* の宿主とシアネルが、どのような共生段階にあるのか興味を持たれる。そこで本研究では、*G. nostochinearum* を培養下で細胞分裂時期を特定し、それにもなったシアネルの分裂時期との相互関係を明らかにすることで、シアネルの特性を理解することとした。

1-12

フィジー産単細胞性紅藻の微細細胞構造と系統

櫻井羊生子¹、横山亜紀子²、West, J. A³、原慶明¹

(¹山形大・理・生物、²(財)山形県企業振興公社、³メルボルン大・植物)

1997年6月、フィジー国 Viti Levu 島の海岸・砂地に生息する緑藻 *Boodieopsis* の1種を採集し、実験室に持ち帰り培養していたところ、その容器中に深紅色で、細胞直径 5.5-11 μm 、厚さ 0.4-1.2 μm の寒天膜に覆われた単細胞性紅藻を発見した。これを単離し (3797株)、微細構造の観察を行ったところ、葉緑体は、細胞周縁部に位置し、不規則な星状を呈し、1-4個の複数のピレノイドを持つことがわかった。これらのピレノイドは、葉緑体から裸出する突出型で、その周縁は厚いデンプン鞘で取り囲まれていた。さらに、ピレノイドマトリックス内には、葉緑体中のチラコイドとつながった管状構造物の侵入があること、ピレノイドと葉緑体が複数ヶ所で結合していることが確認された。本藻のようにピレノイドが細胞分裂期以外に複数見られ、いわゆるマルチピレノイドを形成している例は単細胞性紅藻では他に報告がなく、本株が未記載種であると考えられた。

そこで、他の単細胞性紅藻の形態と比較したところ、本藻のピレノイドの特徴は *Rhodosorus* 属藻類と突出した裸出型ピレノイドで、デンプン鞘に被われ、マトリックスに管状構造物が侵入する点で、非常によく類似しているが、*Rhodosorus* 属藻類ではピレノイドを1個しか持たないこと、葉緑体との結合は1ヶ所であること、および、管状構造物の分岐が多い点で本藻と異なっていた。したがって、形態的特徴から本藻は *Rhodosorus* 属に近縁な新種の可能性が示唆された。

そこで、本藻のピレノイドが細胞周期でどのように変化するかと、本藻の系統的位置を確かめるために 18SrRNA 遺伝子の塩基配列に基づく系統解析を行った。その結果、本藻の多くは基本的には2個以上のピレノイドを有するマルチピレノイドであることが判明したが、ごく一部の藻で、シングルピレノイドの状態が見つかった。系統的には、本藻は *Rhodosorus* 属とは同一の系統群内に出現せず、*Porphyridium* 属、*Flintiella* 属藻類と単系統群を形成することが明らかとなった。しかし、*Porphyridium* 属はチラコイドが貫入する埋没型のピレノイドをもち、*Flintiella* 属はピレノイドを持たないなど、形態的には本藻とは全く異なっている。したがって本藻は、新属新種の単細胞性紅藻であることがわかった。

1-13

ヒゲカビの接合胞子中における核のアポトーシス

○鄭明淑、宮寄厚、大瀧保（東北大学・遺生研）

ヒゲカビ(*Phycomyces*)には (+) と (-) の2つの接合型が存在し、両者の中で接合の結果形成される接合胞子の中には、無数の両親の核が移行する。しかし、数ヶ月の休眠期の後まで生存できるのは、1-2個の2倍体核だけで残りの核は死滅する。この核の死滅はプログラム化されたアポトーシスとしてとらえ、接合胞子中での核の死滅に至る過程を種々の面から調べた。これまでの研究から、(1) この接合胞子は接合後10日目で堅さは5倍となり、発芽直前に元に戻ることに、(2) 同じ時期に接合胞子中に大きな油滴が形成され、発芽直前に消滅すること、(3) 突然変異体を接合させることによって接合胞子中における核の遺伝解析を行った結果、30日目までは核の乗り換えは起こらないこと、(4) 核の DAPI 染色をした結果、10日目以降の接合胞子においては核が数個ずつ集合し、次第に体積が減少するが、発芽直前には生き残った核による減数分裂とそれに続く活発な核分裂の結果、正常な体積の核が多数出現することがわかった。本研究では、接合後、令の異なる多数の接合胞子を集め、それから DNA を抽出し電気泳動で調べ、核 DNA の動態を調べた。その結果、10日までの核の DNA は正常であったが、それ以後は休眠期の進行と共に DNA は量的に減少し、また分解されていくことが明らかになった。

1-14

DNA マイクロアレイによるミヤコグサ・ イネ生殖器官特異的遺伝子の探索

遠藤誠¹, 松原均^{1,2}, 国分孝男^{1,3}, 増子潤美¹, 高畑義人¹,
土屋亨⁴, 東谷篤志⁵, 田畑哲之⁶, 渡辺正夫¹

(1. 岩手大・農, 2. 安達東高, 3. 相馬農高, 4. 三重大・生物資源,
5. 東北大・遺伝生態研, 6. かずさ DNA 研)

高等植物において配偶体形成から受精に至る生殖過程は、精巧に制御されている。この機構が遺伝学的にどのように制御され、どのような遺伝子が関連しているかということ明らかにすることを研究目的としている。一方、近年のゲノム生物学の発展により、特定の器官で機能している遺伝子を網羅的に解析する技術もいくつか確立されつつある。演者らは、すでにマメ科植物であるミヤコグサにおいて、蕾由来 cDNA ライブラリーから EST 解析を行ってきた。そこで、この EST クローンをもとにして、DNA マイクロアレイを作製し、ミヤコグサ生殖器官特異的遺伝子の探索を行った。あわせて、イネ DNA マイクロアレイにより、イネ生殖器官特異的遺伝子の探索を行った。

ミヤコグサにおける実験では、開花直前の蕾に由来する 960 cDNA クローンをプローブとしてスライドガラス上に固定した。ターゲットとしては、葉・開花直前の雌しべ・葯から調整した mRNA を用い、逆転写する際に Cy3, Cy5 で標識したものを、スライドガラス上のプローブとハイブリダイズさせた。得られた各プローブクロンのシグナル強度を組織ごとに比較した。

各組織でのシグナルを比較した結果、葉・雌しべにおけるシグナル強度に比べて、葯のみで強いシグナル強度を示す 72 クローンを同定した。EST 解析の結果から花粉特異的遺伝子であるペクチンメチルエステラーゼ、ポリガラクトツロナーゼ、アスコールビン酸オキシダーゼと高い相同性を示した EST クローンは、DNA マイクロアレイにおいても葯で特異的に強いシグナルを示すことが確認された。また、これらの葯において強いシグナル強度を示したクローンには、既知の遺伝子に相同性がない新規な遺伝子が 4 クローン、機能未知なクローンが 25 クローン、含まれていた。

葉・葯でのシグナル強度と比較して雌しべで強いシグナル強度を示すクローンは 6 クローンのみであった。

イネにおける実験では、実生・カルス・幼穂由来の 1,248 クローンからなるプローブとし、各発達段階の葯、雌しべの mRNA をターゲットとして、ミヤコグサと同様に標識し、ハイブリダイズ、シグナルの検出を行った。3 核期の葯特異的遺伝子として、多くの花粉アレルゲンと高い相同性のあるクローンが見られた。

以上の解析結果から、器官特異的遺伝子の網羅的探索には、DNA マイクロアレイが非常に有効な手段であることが示された。

なお、本研究は、農林水産省イネ・ゲノムプロジェクト(GS-2211)の補助のもとに行われた。

1-15

緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* の接合子特異的 *zvs2* 遺伝子のゲノミッククローンの単離

内田 英伸 (山形県企業振興公社)、* 谷藤 吾朗、原 慶明 (山形大・理・生物)

単細胞緑藻クラミドモナス (*Chlamydomonas reinhardtii*) は培地中の窒素源の欠乏により栄養細胞から配偶子へと分化する。接合型+ と接合型- の配偶子は混合後10分で接合子を形成する。この過程で細胞はさまざまな形態的・生理的变化を示す。これらの現象は接合子形成時に特異的な遺伝子群のカスケード状発現によって制御されていることが推測される。本発表ではこれらの接合子特異的遺伝子群のうち早期に発現する *zvs2* 遺伝子の構造・機能を解析することを目的として同遺伝子のゲノミッククローンの単離を試みた。

材料と方法

接合開始後10分の接合子から作成したcDNAライブラリーから単離した *zvs2* cDNAクローン (pZS1802) の0.5kbのインサートをジゴキシゲニン標識したプローブをもちいてクラミドモナスのゲノミックライブラリーをスクリーニングした。オートラジオグラム上でポジティブシグナルを発するクローンを単離し、さらに2回のハイブリダイゼーションによりシグナルの再現性を確認した。選抜したクローンのDNAインサート中に上記プローブがハイブリダイズする領域が含まれていることを確認するために、得られた候補ファージクローンからDNAを抽出し、前述のプローブをもちいてサザンハイブリダイゼーションを行った。

結果

ゲノミックライブラリー中の 1.3×10^4 個のクローンを一次スクリーニングし、14個のクローンを単離した。これらに対して二次・三次スクリーニングを行い8個の候補クローンを選抜した。これらのうちの4クローンに注目しサザンハイブリダイゼーション解析を行った。その結果、クローンpB44の8 kb EcoRI断片、pB66の9kb EcoRI断片、pB68の9kp EcoRI断片、pB810の15kb EcoRI断片にシグナルを検出した。現在、これらのDNAインサートの制限酵素地図を作成しているのであわせて報告する。

1-16

シロイヌナズナのエンド型キシログルカン転移酵素 遺伝子 *EXGT-A1* の発現組織特異性の解析 ○多田功生、横山隆亮、西谷和彦（東北大院理生物）

エンド型キシログルカン転移酵素 (EXGT) は、細胞壁中のセルロース微繊維間を架橋しているキシログルカン分子の接ぎ換え反応を触媒することが *in vitro* の実験系で確認されている酵素である。EXGT 遺伝子は大きな遺伝子ファミリー (XRP ファミリー) を形成し、シロイヌナズナでは現在までに 31 個の遺伝子が確認されている。それぞれのメンバーは植物の生長の諸過程における細胞壁の構築と再編においてそれぞれ独自の役割を担っていると考えられるが、*in vivo* での機能についての知見はどのメンバーに関しても得られていない。

我々はその中の一つである *EXGT-A1* の発現組織を特定するために、*EXGT-A1* に特異的なプローブを用いて *in situ* ハイブリタイゼーションを行った。その結果 *EXGT-A1* は、下胚軸の前形成層、花茎及び花柄の維管束、根の内鞘で特異的に発現していることが分かった。また、根の先端部及び発達中の花芽の花柄ではほぼ全ての組織で発現が観察された。さらに、*EXGT-A1* の 5' 上流のプロモーター領域にレポーター遺伝子である GFP 及び GUS を結合した融合遺伝子を導入した形質転換シロイヌナズナを作成し、その局在を観察した。GFP の局在は地上部では観察できなかったが、地下部では側根原基で観察された。GUS については現在解析中であるが、側根原基への局在は GUS においても観察されている。これらの結果から *EXGT-A1* の機能について考察する。

1-17

粘菌における新規遺伝子 *zyg1* による接合子形成の誘導

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、細胞融合とそれに引き続く核融合によって接合子が形成される。有性生殖過程は生物の生き残り戦略として重要である。さらに、接合子形成過程で見られる細胞融合は受精のほかにも筋細胞分化過程などでも見られる基本的な生命現象として知られている。したがって、細胞融合を含む接合子形成の機構を解明することは重要な生物学的課題である。そこで本研究では、接合子形成の機構を明らかにすることを目的として、*differential screening* 法によって、接合子形成に関与する候補遺伝子を単離し、その機能を調べた。単離された新規遺伝子 *zyg 1* の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良く似ており、その発現は接合子形成に1時間先行する形で起こった。次に、*zyg 1* 遺伝子を粘菌細胞に導入して、*zyg1* の過剰発現株を作製することにより、その機能を調べた。まず、野生株の Dm7 細胞に *zyg1* を導入して作製した、*zyg1* の過剰発現体は、増殖期において既に非常に大きな多核細胞を形成した。さらに、野生株の Dm7 が子実体を形成する光照射条件下で、*zyg1* の過剰発現体はマクロシストを形成した。次に、ヘテロタリックにマクロシストを形成する *D. disdoideum* の細胞に *zyg 1* を導入したところ、面白いことに、この *zyg 1* 過剰発現体は接合相手である V12M2 細胞なしに、単独で接合子を形成し、最終的にはマクロシストを形成した。一方、アンチセンス RNA による *zyg1* 発現抑制体では、V12M2 細胞と混合して発生させてもマクロシストの形成は著しく抑えられた。以上の事実から、*zyg 1* 遺伝子は種およびホモタリック、ヘテロタリックの接合様式の違いを超えて、細胞融合を介して接合子形成に深く関与していると結論される。

2-1

光条件制御下におけるケヤキの直径変化が示す日周期性

○山崎裕¹・佐藤雅志²・我妻浩充³・鈴木三男³・鈴木均⁴ (¹理研・PDC・光生物Ⅱ、²東北大・遺生研・臨界環境遺伝子生態、³東北大・理・生物、⁴石巻専修大・理工・生物生産)

樹木の幹が日周期で膨張・収縮を繰り返していることは、既に知られている。しかしその詳細については、日照に伴う明暗変化や潮汐現象などが原因として論じられているものの、いまだ明らかにされていない。本研究では鉢植えのケヤキ (*Zelkova serrata*) 苗を材料とし、温度・湿度を一定としたファイトロン内において、鋭敏な応答性を有する光電式直径計測装置を用い、光条件をさまざまに設定して、直径変化に及ぼすその影響を調査した。結果、明暗の切り替えに呼応した24時間周期の変化の他に、14L・10Dの明暗繰り返し条件から連続した明条件下あるいは暗条件下に移行させると、その直後から24時間周期とは異なる一定周期を持った直径変化が認められることを確認した。その周期はおよそ25時間であった。また、その周期性は徐々に減衰してゆき、約5日後には単調な増加、あるいは変化のない状態に移行した。これらのことから、樹木は日照に伴う樹幹直径変化の他に、生理的要因に起因する直径変化の内在リズムを有していることが推測される。

2-2

ケヤキの枝の内部構造は光の伝送経路として機能する！？

○ 依田清胤、鈴木均（石巻専修大・理工、理研・フォトダイナミクス）、
鈴木三男（東北大・理・植物園、理研・フォトダイナミクス）

植物の芽生えの組織は光の伝送経路として機能することが報告されている (Mandoli & Briggs 1984)。この機能は地中、すなわち光が乏しい条件下にある根系に光情報を伝送し、さまざまな生理学的・形態学的現象を制御するという点で重要である。いっぽう樹木内部にはさまざまな物質の輸送経路としての導管、篩管が発達している。これらの構造はまた、植物ホルモンなどを介した各種情報の伝達経路としても機能している。

そこで本研究では、樹木の幹(枝)の内部構造がはたしてどの程度、光の伝送経路としても機能しているのかを検討することにした。

野外に生育するケヤキ成木から 4-5 年生の枝 5 本を切り出し、これらを 10cm の長さに切り分けて試料とした。試料の両横断面を滑らかにしたあと、その一方をハロゲンランプを光源とする光ファイバーに取り付け、他方の横断面で分光測光をおこなった。ついで試料を 8cm、6cm、4cm、3cm、2.5cm、2cm、1.5cm、1cm、0.5cm の順に切り詰め、各々の過程で横断面を滑らかにして分光測光を繰り返した。また光源側の横断面から 1cm、2cm、3cm の長さの部位で、枝側面での分光測光も行った。計測には分光測光装置 PMA-11（浜松ホトニクス）を用いた。

10cm から 4cm の長さの試料では横断面から光は検出されず、枝の長軸方向に沿った光の透過の有無は明らかではなかった。しかし 3cm 以下の長さの試料では明らかな光の透過が認められた。3cm から 0.5cm までの長さの試料では、試料が 5mm 短くなるごとに透過する光の強度は約 10 倍の割合で増加した。5mm の長さの試料では、約 640nm ついで 690nm から 700nm 付近の波長成分の透過率が高かった。両波長域では、試料が短くなるにつれて 690nm から 700nm 付近の波長成分がより高い透過率を示した。試料の長さにかかわらず 670nm から 680nm 付近の波長成分の透過率は低かった。光源側の横断面から 1cm、2cm の位置で枝の側方への光の透過が認められたが、その強度は同じ長さの試料の横断面で検出される光強度の 1/10 から 1/100 程度であった。また木部全体に光の透過が認められたが、特に導管内腔での光の透過が良好であった。

以上の結果は、ケヤキの枝の内部構造、特に導管が光の伝送経路として機能していることを示している。

2-3

暗黒下におけるシロイヌナズナ実生の道管分化と道管の動態

○高橋文雄、小林和貴、奈良久美、山崎裕（理研・フォトダイナミクス研究センター）、
鈴木三男（東北大・植物園）、鈴木均（石巻専修大・理工）

一次木部道管は頂端分裂組織由来の前形成層（procambium）から分化し、水分供給に重要な通導組織として機能する。一次木部道管は原生木部と後生木部に大別することができ、前者の原生木部は成長に伴い引き伸ばされて、おしつぶされ水分通導組織として機能しなくなり、後生木部でのみ水分供給を行うと考えられている。明所で育成したシロイヌナズナ実生では、胚軸伸長は抑えられ、根が伸長する。したがって胚軸の道管はひきのばされてつぶれることなく、通導組織として機能したまま 14 日間以上成長を続ける。根では 2 本の原生木部と 4 本の後生木部が形成され、胚軸においては対照的に 4 本の原生木部と 2 本の後生木部が形成される（小林ら、植物学会 2000）。一方、暗黒下で生育させたシロイヌナズナ実生は、根の伸長が停止し、胚軸のみが伸びる。しかし、暗黒下での道管の形態については詳細な報告がなく、光による成長と道管の形成や道管の動態の相互関係についてもわかってない。

本研究では暗黒下での成長と道管分化と道管の動態を詳細に観察した。縦断面のは抱水クロラルによる透明化法を、横断面に関してはテクノビット包埋法を用い観察を行った。

1%水寒天による明培養（L:D=16:8, 光強度=8W/m² s⁻¹）では、吸水後 20 日前後まで成長した（約 1.91mm/Day）。一方暗黒下では 7 日まで順調に成長をしつづけたが（約 2.37mm/Day）、8 日後に成長は停止した。さらに成長解析の結果、暗黒下 5 日までの材料を L:D 条件下に戻すと、胚軸の伸長が停止し、根の伸長が回復した。しかし暗黒下でも成長可能な 6 日以降の材料を L:D 条件に転換させても成長の回復はみられなかった。ある一定時間の暗黒下にさらされると、構造的に変化が生じるか、もしくは生理的な変化が生じたため、成長の回復ができなくなったと考えられる。

また道管の形態を観察すると、L:D 条件の材料と暗黒下の材料では、次のような違いが観察された。暗黒下 4 日目から胚軸中央での原生木部道管が伸び始め、横断面では、それがつぶれていた。このような道管は通導組織として機能していないと考えられる。また道管細胞壁自家蛍光の観察により、暗黒下の細胞壁が薄くなっていた。さらに暗黒下では後生木部道管の形成が遅れたり、L:D 条件では根と胚軸の境で結合している後生木部と原生木部の位置が、胚軸方向に移動していた。暗黒下 6 日以降の材料では、葉柄と胚軸の間の道管も伸び始めていた。胚軸全体の原生木部道管が引き伸ばされ、つぶれていた。

以上の結果より、成長の回復がみられなくなった原因の一つとして、胚軸伸長に伴う、道管の伸長により、原生木部道管が完全に通導組織として成り立たなくなったことが考えられる。

2-4

水生植物ヒルムシロ殖芽の嫌気条件によるH⁺-ATPaseの活性化と伸長成長の誘導

○小泉やよい¹ 矢崎芳明² 坂野勝啓² 石沢公明¹ (1 東北大・院・理・生物、2 農水省・生物研)

ヒルムシロ (*Potamogeton distinctus* A. Benn.) は、水田や湖沼、水路などに生育する単子葉類の浮葉植物で、地下茎の先端にバナナの房状の越冬芽(殖芽)を形成する。殖芽は、暗黒の無酸素条件下でも、一ヶ月を越えて生存できるという、嫌気条件に対する強い耐性を持つ。形成された殖芽は、一種の休眠状態を経た後、5%以下の酸素濃度にさらすと成長を開始するが、空気中の酸素濃度ではほとんど成長しない。

我々は、この嫌気条件で誘導される殖芽の成長に関与する因子を探るため、各種薬剤の効果調べた。その結果、原形質膜上に存在するP-typeのH⁺-ATPaseの活性化剤として知られるfusococcinとIAAが、嫌気条件下だけでなく空気中でも成長を促進することが判った。また、外部のpHを酸性にした場合にも同様に成長の促進がみられ、酸成長することを確認した。一方、P-type H⁺-ATPaseの阻害剤として知られているvanadateが、fusococcinやIAAによる伸長促進だけでなく、嫌気条件下での伸長成長を抑制することが明らかになった。このことから、殖芽の嫌気条件下での成長に、原形質膜上のH⁺-ATPaseの活性が関与している可能性が示唆された。

このH⁺-ATPaseの活性化をより直接的に観測するために、back-titration法により細胞外へ放出されたH⁺量を測定した。その結果、ヒルムシロ殖芽をfusococcinや嫌気処理すると、H⁺の流出が促進されていることが明らかとなったが、嫌気条件下では、何らかの滴定される酸の放出も起こっていることが分かった。その酸は、薄層クロマトグラフィーにより、乳酸であると同定した。これは、嫌気条件下でのエネルギー生産に、乳酸発酵も寄与していることを示すと考えられる。さらに、³¹P-NMRを用いて細胞内のpHを測定した結果、嫌気条件下で、細胞質のpHはいったん酸性化するものの、その後ゆるやかにアルカリ化することを確認した。細胞質の酸性化は、嫌気条件下にさらされた植物の細胞死の原因の一つと考えられている。ヒルムシロでは、嫌気条件による細胞質の酸性化を回避する機構が存在することを示している。

以上のことから、ヒルムシロ殖芽では、嫌気条件下において、P-typeのH⁺-ATPaseを介したH⁺の放出が活性化されており、その活性は、殖芽の成長だけではなく、ヒルムシロの嫌気条件下での強い嫌気耐性の機構にも関与していると推察している。現在、嫌気条件下による原形質膜上H⁺-ATPaseの活性化を詳細に解析するために、蛍光色素を用いて、H⁺の放出を解析中である。

2-5

シロイヌナズナの花器官形成におけるジベレリンの役割 後藤伸治（宮城教育大・生物）

シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) のジベレリン (GA) 欠損突然変異体 (*ga1-1*) は矮性の表現型を示し、長日条件下で花芽を形成する。しかし、その花器官は未熟のまま終わり、不稔となる。すなわち、ガク片は小さく、花弁は透明なりん片様のままで、それ以上発達しない。おしべの花糸は伸長せず、葯は裂開せず、花粉粒は成熟しない。また、めしべも未成熟で、野生型の花粉を人工受粉しても種子を形成しない。

これらの欠陥は、若い花芽にGAを処理することにより完全に回復し、正常な花器官を形成した。また、これらの花は自家受粉によって、発芽力をもつ種子を形成した。花器官の正常化効果はGAの種類によって異なるが、供試したGAの中では2,2-dimethyl GA₄が最も大きかった。正常な種子を形成する効果は2,2-dimethyl GA₄ > GA₇ > GA₃ = GA₄ > GA₁ > GA₅ = GA₉の順であった。2,2-dimethyl GA₄は人工GAで、シロイヌナズナでは生合成されず、代謝が遅いために効果が大きく表れるものと思われる。また、各花器官の正常化に必要な最適濃度は、2,2-dimethyl GA₄で見た場合、花粉形成に対して1-10 ng、花弁およびめしべ形成に対して1 ng、ガク片形成に対して0.1 ng、乳頭突起（柱頭）形成に対して0.01 ngであった。しかし、花茎上に次々に形成される全部の花が正常な花器官を形成し、種子をつけるためには、GAを常に与え続けることが必要であった。

以上の結果から、シロイヌナズナの花器官が正常に発達するためにはGAが必須であり、また、とくに花弁とおしべ（花糸と花粉）の成長のためにはGAが存在し続けることが不可欠であることが分かった。

方法：ロックファイバーブロック上で生育した、突然変異体および野生型植物（16時間日長、23℃、ハイポネクス液を与える）が花芽を形成した時点（約40日後）で、ロゼット中央の花序（つぼみ群）にGAの50%アセトン溶液を1 μ l処理した。処理後5-7日の花器官の発達状態を観察した。また、花粉を採取し、種々の染色液で染色し検鏡した。葯については通常の方法でパラフィン切片を作り、染色して検鏡した。さらに、めしべの発達度は、野生型またはGA処理で正常化した突然変異体の花粉を人工授粉して種子の形成状態を見ることによって判定した。

2-6

レタス種子発芽におけるアブシジン酸含量の変動に及ぼすジベレリン生合成阻害剤の影響

○藤郷 誠, 郷内 武, 吉岡 俊人, 佐藤 茂, 羽柴 輝良 (東北大学・院・農)

【目的】 種子には種特有の発芽適温がある。種子が発芽適温を超える高温に遭遇すると著しい発芽阻害が起こる。この現象は高温発芽阻害と呼ばれる。高温発芽阻害が起きている環境休眠の状態を高温休眠という。更にこの状態が継続すると二次休眠が誘導される。このように種子には植物体の生育に不適な温度環境での発芽を避けるという防御能力がある。本研究ではレタス(*Lactuca sativa* L. cv. Grand Rapids)種子をモデル材料に用いてアブシジン酸(ABA)とジベレリン(GA)の生合成阻害剤を処理した場合の発芽率と内生ABA量を調べることで、種子が温度に応答してどの様にこれらの植物ホルモンレベルの調節を行い、発芽という反応を制御しているのかを検討した。

【結果と考察】 高温下では、レタス種子のABA含量は高く維持され、発芽が起こらないことが知られている(Yoshioka, Endo and Satoh 1998)。この場合、ABA生合成阻害剤(fluridone)の添加は種子ABA含量を減少させ、発芽を誘導する。しかし、本研究において、GA生合成阻害剤(chlormequat, uniconazol, prohexadione)存在下で fluridone を処理したところ、種子のABA含量は減少せず、発芽誘導が起こらなかった。また発芽適温にインキュベートした種子では、GA生合成阻害剤の単独処理によって発芽が阻害され、その時のABA含量は水処理より高く維持された。

以上の結果より、GA生合成阻害剤によるレタス種子の発芽抑制にABAレベルの変化が関与していることが判明した。Fluridone処理によってABA生合成を低下させてもGA生合成阻害剤存在下でABAレベルが高く維持されたことは、GAレベルの減少がABA代謝を減少させていることを示唆している。GAレベルを介したABA代謝の調節がレタス種子発芽の温度反応を制御する一因であると考えられる。

2-7

イヌビエ種子の2次休眠誘導におけるアブシジン酸の関与

○吉岡俊人・郷内 武・佐藤 茂・羽柴輝良（東北大・院・農）

シロイヌナズナ、トウモロコシやオオムギなどの低休眠系統を用いた最近の研究によって、アブシジン酸（ABA）が種子1次休眠の誘導に関わっていることが分かってきた。しかし、野生植物の休眠/非休眠サイクルにおけるABAの働きについては解析が進んでいない。そこで、夏季一年生雑草であるイヌビエ (*Echinochloa crus-galli* var. *crus-galli*) 種子の2次休眠誘導系を確立し、ABA生合成阻害剤を用いてこの系におけるABAの働きを調べた。

【方法】

2次休眠誘導系：登熟後野外に埋土したイヌビエ種子を5月中旬に掘り上げ、4℃で3日間の乾燥後、-30℃で保存した。この種子を暗黒条件で発芽可能温度域を下回る温度に前置床した。前置床した種子を発芽の好適条件（光条件、28℃、7日間）に後置床して発芽率を求め、前置床による2次休眠誘導程度の指標とした。

ABA測定：種子1gを80%MeOH/0.1M酢酸中で磨砕し、Octadecyl-、Aminoethyl-SPEカラムで精製後、HPLCで(S)-2-cis, 4-trans-ABA (S-ABA)を分画した。この画分をメチル化し、GC/MSを用いてABAの定性、定量を行った。

ABA生合成阻害剤：fluridone—カロチノイド合成系中のphytoen desaturaseを阻害する除草剤。カロチノイド類はABAの前駆物質なので、この薬剤は植物体でのABA生合成の阻害にも働く。

【結果および考察】

イヌビエ埋土種子は、2~3月に1次休眠の覚醒が進行した後、4~6月は環境休眠状態にあり、7~8月に2次休眠が誘導された。土壤最高温度は、野外で発芽が開始される4月中旬に5%発芽に必要な温度を上回ったが、発芽期を通じて50%発芽に必要な温度以下であった。これは、土壤中が発芽に不十分な温度に置かれることが夏生植物であるイヌビエ埋土種子の2次休眠を誘導する要因であることを示唆している。そこで、種子を暗黒中に置き、発芽可能温度以下である18℃から28℃まで段階的に温度を上昇させて前置床したところ、好適条件の後置床においても発芽が認められず、深い2次休眠が誘導された。しかし、fluridoneを添加した発芽床で前置床した種子では2次休眠の誘導が抑制された。この時、種子中のABA量はfluridone非添加条件に比較して顕著に低下していた。

以上の結果から、イヌビエ埋土種子の温度による2次休眠の誘導に種子中でのABA合成が関与しているものと考えられる。

2-8

ヤマノイモ属におけるアブシジン酸 (abscisic acid) の代謝

○丹野憲昭¹、原田篤子²、成田純子²、岡上伸雄³、岡田勝英²

(¹山形大・理・生物、²山形大・教育・家庭、³千葉大・園芸・植物構造)

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 (8'-OHABA) を経て phaseic acid (PA) から dihydrophaseic acid (DPA) へ代謝され、失活することが知られている (図 1)。一方、7'-hydroxyabscisic acid (7'-OHABA、図 1) は培養細胞系における ABA の代謝実験から ABA の人為的代謝産物であると考えられていたが、ヤマノイモ属から 7'-OHABA を天然物として GC-MS によって同定したことは、本支部会で既に報告した。

そこで、ヤマノイモのむかごにおける $^2\text{H}_6$ -(+)-ABA の代謝を調べた。

材料と方法: ヤマノイモ属のナガイモの休眠むかごに $^2\text{H}_6$ -(+)-ABA を与え、それを培養した。そのむかごから酸性酢酸エチル抽出物を得て、それを高速液体クロマトグラフィーにより分離精製し、抽出物中に含まれる ABA 関連物質を GC-MS、GC-SIM によって分析した。

結果: むかごから ABA、DPA、7'-OHABA、 $^2\text{H}_6$ -(+)-ABA が GC-MS のフルスペクトルによって同定された。また、 $^2\text{H}_6$ -ABA、 $^2\text{H}_6$ -PA、 $^2\text{H}_6$ -DPA が GC-SIM の分子イオンピークによって同定された。さらに、 $^2\text{H}_5$ -7'-OHABA が GC-SIM のベースイオンピークによって推定された。

結論: これらの結果は、ヤマノイモ属においては ABA の従来の代謝経路に加えて、ABA から 7'-OHABA への代謝経路が存在し (図 1)、7'-OHABA が ABA の天然代謝産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 ABA 様生理活性を有することから、ヤマノイモ属において ABA 様生理活性を維持するために機能している可能性が考えられる。

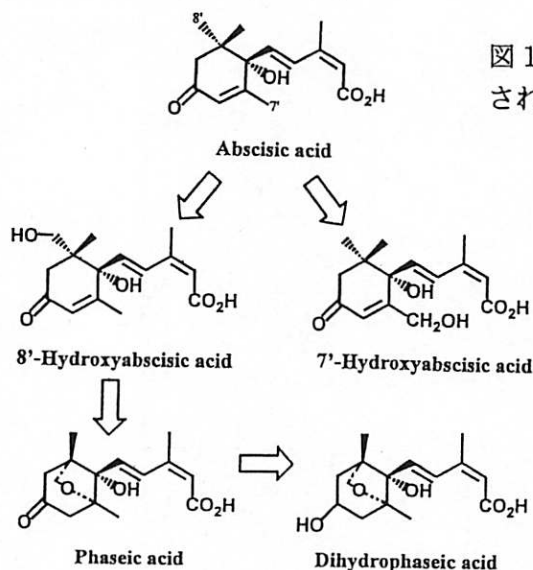


図 1. ヤマノイモ属で推定される ABA の代謝経路

2-9

細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* から分離された天然有機化合物 dictyopyrone C の生理機能に関する研究

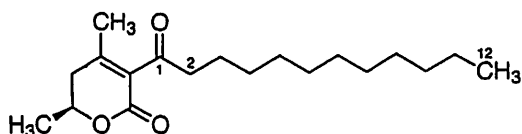
○前田靖男^{1*}, 菊地晴久^{2*}, 雨貝愛子¹, 関谷純一², 高谷芳明³, 大島吉輝² (1東北大・院理・生物, 2東北大・院薬・医薬資源化学, 3名城大・薬)
*equal contribution

細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* の代謝産物のなかに、生物界においてこれまで報告されていなかった新規の天然有機化合物がいくつか見出されている(高谷ら, 1998; Takaya *et al.*, 2000; Kikuchi *et al.*, 2000)。それらのなかにあつて、ピロン環と直鎖状炭素鎖を有する dictyopyrone C (下図A参照; 以下DPCと略称) はきわめてユニークな生理活性をもつことが今回示された。まず分化・形態形成への影響に関しては、比較的低濃度のDPC(1~2 $\mu\text{g/ml}$) が飢餓後における *D. discoideum* Ax-2細胞の分化の進行を促進し、標準塩溶液中での水中培養ではコントロールに比して3~4時間、また、1.5%寒天上では1時間~1時間半ほど細胞集合による多細胞体の形成を早めることが分かった。また、高濃度(10~20 $\mu\text{g/ml}$) DPC存在下では、細胞集合が顕著に阻害されるばかりでなく、多くの細胞は丸くなり、運動性を喪失した。この阻害的效果は寒天培地上において特に顕著であり、3 $\mu\text{g/ml}$ のDPC存在下でも多細胞体の形成はかなり遅れた。

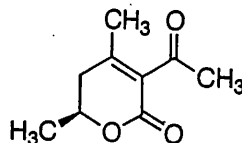
細胞増殖への関与については、栄養培地(PS-培地)に比較的高濃度(10~20 $\mu\text{g/ml}$) のDPCが含まれる場合に増殖が顕著に阻害されることが分かった。しかし、この効果は細胞密度に依存しており、細胞密度の増加に伴ってこの阻害的效果は減少した。半定量的な解析によると、DPC量/細胞数の比が重要であり、10 μg のDPCは 5×10^4 cells によってほぼ完全にトラップあるいは分解され、細胞数が増えるにしたがつてDPCの増殖阻害効果は徐々に薄れることが示された。

ところで、15 μg DPC/ml PS-培地の培養液 1 ml に 5×10^3 cells を入れて培養した場合、多くの細胞は形態的に丸くなって運動性を失い、やがて部分的に溶解して死ぬが、一部の細胞はDPCに対して強い抵抗性を有し、偽足を出して活発に運動できることが見出された。この細胞がピュレーション内でのDPCへの反応異質性の原因を探るために、温度シフト(低温処理)法によりAx-2細胞を同調化し、DPCへの反応性と細胞周期(cell cycle)との関係を調べたところ、両者の間に密接な相関が見出された。すなわち、DPCへの抵抗性を有する細胞は、分裂・DNA合成期(M・S-期: 粘菌細胞ではM-期とS-期が連続しており、G1-期はほとんどあるいは全く存在しない)の直前および直後にある細胞のみで、M・S-期および大半のG2-期にある細胞はDPCへの感受性が強く、これらの細胞周期位相にあるほとんどの細胞は丸くなり、やがて部分的に溶解して死滅した。

因みに、DPCの前駆体であるPDP(下図B参照)は高濃度(20 $\mu\text{g/ml}$) でも何ら生理的活性をもたず、DPCの直鎖状炭素鎖が生理活性の発現に重要であることが判明した。



(A) dictyopyrone C (DPC)



(B) PDP

2-10

エチレン生合成系形質転換遺伝子を導入したカーネーションの作出と切り花のエチレン生成の性質

○岩崎勇次郎, 和気慶介, 山下淳, 小杉祐介, 羽柴輝良, 吉岡俊人, 佐藤茂
(東北大・院・農)

カーネーション(*Dianthus caryophyllus* L.)切り花では, 満開数日後に花卉から大量に発生するエチレンによって, 花卉の萎れが起こり, 花が急速に老化し観賞価値を失う. エチレン生合成経路には, 1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸(ACC)合成酵素(ACS)とACC酸化酵素(ACO)が関与している. エチレン誘導による老化を示す切り花の鮮度保持技術の一つとして遺伝子組換えによるエチレン低生産性形質転換植物の作出が考えられる. 本研究では, エチレン生合成系に働くACS遺伝子とACO遺伝子を導入したカーネーション形質転換体を作成し, その中でエチレン生成がほぼ完全に抑えられたACO遺伝子をセンス方向に導入したsACO-1系統について性質を決定した.

〔実験方法〕

形質転換体の作成:カーネーションACS遺伝子*DC-ACS1*とACO遺伝子*DC-ACO1*のcDNAをそれぞれセンスあるいはアンチセンス方向に組み込んだバイナリーベクター[pIG121-DCACS(OR+), pIG121-DCACS(OR-), pIG121-DCACO(OR+), pIG121-DCACO(OR-), pMLH2113-DCACO(OR+)]を構築した. 継代培養したカーネーション(品種:Nora)の外植片に, 構築したベクターを導入したアグロバクテリウム(*Agrobacterium tumefaciens*)EHA101を感染させ, ハイグロマイシン耐性のシュート塊を誘導し, 形質転換個体を再生した.

花のエチレン生成量の測定:各系統の満開時の花をがく下1cmで切除し脱塩水に生け, ポット中に1時間密閉し, ガスサンプル中に含まれるエチレンを測定した.

花卉および雌蕊のエチレン生合成系遺伝子の発現解析:満開時(0日)および満開3, 4, 5, 7日後のsACO-1系統の花弁と雌蕊についてACOとACS遺伝子のmRNAの蓄積パターンをノザンプロットによって解析した.

〔結果及び考察〕

- (1) それぞれの形質転換遺伝子, *a/sACO*, *a/sACS*およびGUS(対照)を導入した形質転換体を全部で23系統作成した. このうち17系統が開花した. 導入遺伝子は, PCRまたはGUS活性の発現によって確認した.
- (2) *a/sACO* または *a/sACS* 形質転換遺伝子を導入した系統の切り花のエチレン生成が, 非形質転換体よりも低下していた(*sACS-1*, *aACS-1*, *aACS-2*, *sACS-3*). しかし, これらの系統では, 花持ち性の向上は認められなかった.
- (3) 他方, *sACO-1* 系統では, エチレン生成がほぼ完全に抑制され, 対照に比べて2倍の切り花の花持ち性の向上が見られた. この系統の花弁では, ACSとACOの発現が抑制されていた. (既報告, 日本植物学会東北支部大会 第12回大会)
- (4) 今回, 雌蕊のエチレン生成の調節と遺伝子発現の解析の結果から, *sACO-1* 系統に導入した*sACO*形質転換遺伝子の第1次作用点は, 花弁ではなく雌蕊であることを明らかにした.

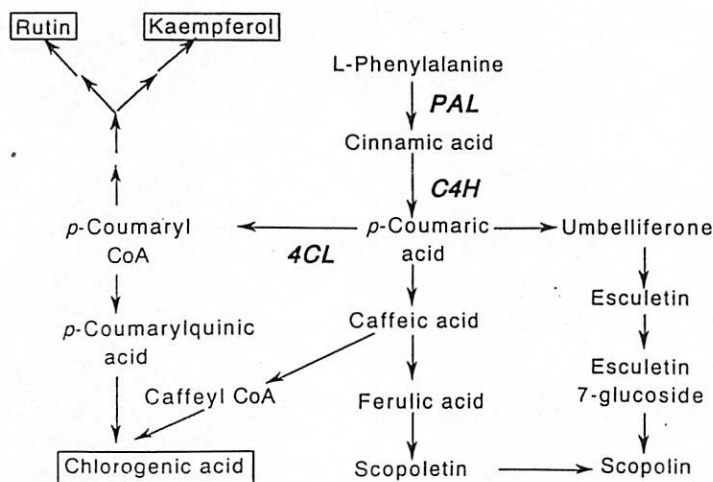
2-11

アグロバクテリウムの植物腫瘍遺伝子 AK-6b の発現によるフェノール化合物の動態

○我彦広悦、イバン ガリス、垣内康孝 (秋田県立大学生物資源科学部附属生物工学研究所)

植物にクラウンゴールを引き起こす *Agrobacterium tumefaciens* はいくつかの腫瘍遺伝子を持つ。6b はそのうちの一つであるが、その分子機能は依然として明確でない。我々はこれまで AKE10 株由来の 6b 遺伝子 (AK-6b) をタバコに導入するとその葉切片はホルモンフリー培地で増殖すること、得られたトランスジェニック植物体は形態変化を起こすこと、内生フェノール化合物代謝が影響を受けていること、を示してきた。今回さらにフェノール化合物の動態について詳しく検討した。AK-6b 遺伝子の発現レベルの異なる独立したトランスジェニックタバコを作成し、オーキシンやサイトカイニンが異なる濃度あるいは組み合わせで含まれる MS 培地で培養した。得られた組織からフェノール化合物を抽出し、HPLC により分画精製し、定量した。その結果、クロロゲン酸やフラボノイドのルチン、ケンフェロールが野生型タバコに比べ、AK-6b タバコ組織で多かった。これら物質の蓄積量と AK-6b mRNA の蓄積量には正の相関関係があった。以上の化合物は大部分フェノール物質合成に置ける最終産物であるが、多くの場合、その蓄積は代謝上の初期過程によって制御されている。そこで、初期過程に位置するフェニルアラニンアンモニアリアーゼ (PAL)、ケイヒ酸 4 ヒドロキシラーゼ (C4H) とクマリル CoA リガーゼ (4CL) の遺伝子発現をノーザンハイブリダイゼーションによって調べたところ、PAL/C4H/4CL の mRNA レベルは AK-6b の発現レベルに依らずほぼ一定であった。従って、フラボノイド等の蓄積は少なくとも PAL/C4H/4CL の活性化によるのではないことが示唆される。AK-6b 遺伝子はフェノール化合物代謝経路の下流にある遺伝子の発現誘発あるいはクロロゲン酸/フラボノイドそのものを合成する酵素活性を持っている可能性が考えられる。

フェノール化合物の生合成



2-12

沖縄県慶良間諸島より単離した底棲性渦鞭毛藻の殻形成について

○ 工藤 創, 比嘉 敦, 原 慶明 (山形大・理・生物)

渦鞭毛藻は淡水・汽水・海水に広く分布し、現在までにおよそ 2000 種あまりが報告されている。渦鞭毛藻は基本的には細胞外被構造の有無や配列、横溝・縦溝の位置など遊走細胞の外部形態の違いによって分類される。一方、生活環の大部分を固着して生活するグループや、遊走細胞を放出せず球状のまま分裂して増殖するグループは、Phytodiales にまとめられ、不動期の形態的特徴に基づいて分類されている。

演者らは 1998 年 2 月に採集した沖縄県・慶良間諸島の砂サンプルから、直径約 60 μm の黄褐色で円盤状で壁面に付着する藻体を単離・培養した。この藻体は 20°C の培養条件下において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。また、培養齢が進むと明期開始後に *Amphidinium* 様の遊走細胞を大量に放出する。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つけ固着し、表面に特徴的なハチの巣状の骨組み構造を持ったヘルメット状の殻を形成する。頻度は高くないが遊走細胞同士が接合した後に壁面に固着する場合もある。細胞のほとんどは殻の中で最大 4 回ないしはそれ以上分裂を繰り返し増殖する。したが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過程、遊走細胞同士が接合した後に再び底棲性群体となる過程をとることが判明した。本藻の遊走細胞は鎧板と呼ばれる細胞外被構造を持たず、横溝が細胞前部にあり *Amphidinium* 属の特徴を示すが、生活環の大部分を固着してヘルメット状の殻の中で増殖することから Phytodiales の仲間であると同定した。また、すでに報告されているヘルメット型殻を有する藻との比較を行った。

本藻の同定を行う上で一つの指標となる特徴的なヘルメット状の殻はどのように形成されるのか、光学倒立顕微鏡とビデオカメラを用いて遊走細胞が固着する様子を観察・記録した。

その結果、遊走細胞が器物に固着する瞬間、細胞表面から全方位に向けて殻を形成する円形の物質が放出される。放出後は広がりながら細胞を取り囲み物質同士が隣接することによって安定して最終的にはハチの巣状の構造となる。この殻形成はわずか 0.5 秒のうちに起こる極めて速い反応であることが判った。

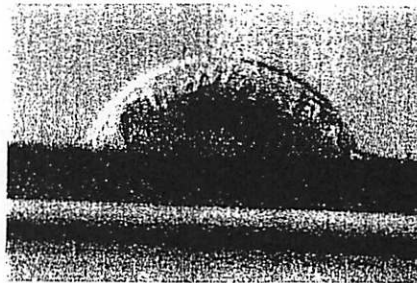


図 1. 藻体が基物に固着している状態

2-13

青色光によるフシナシミドロの細胞形態形成：多核細胞では核を寄せて形を作る

○片岡博尚, 高橋文雄[#] (東北大学遺伝生態研究センター), 菱沼祐 (山形大学理学部) [#]present address : 理化学研究所・フォトダイナミクス研究センター

多細胞植物の形態形成は局所的な核分裂・細胞分裂によって起こる。組織を大きくするには細胞を増殖するしかないからである。では細胞分裂の起こらない多核細胞の形態形成でも核分裂が必要であろうか？ 今回、必ずしも核分裂が必要ではなく、狭い領域に核を高密度に集合させることこそが形態形成に必須であることを提示する。

フシナシミドロ (*Vaucheria*, Stramenopiles) は名前通り隔壁のない疎らに分岐した円筒状の多核細胞 (coenocyte) である。各枝の先端は活発な先端成長をし、光強度に応じて正または負の光屈性を示す。青色光 (BL) 均一照射は先端成長の誘導と維持に欠かせない。細胞の基部の狭い領域を適当な強度の BL で照射すると、最短 4 時間で照射域の中央に新しい成長点が誘導され、既存細胞壁が分解し、原形質の連続した枝が成長を開始する。

この光細胞形態形成反応は以下のような時間経過でおこる。

- 1) 照射開始直後に始まる細胞表層の葉緑体の BL 照射域への集合は 60 分以内で完了する。
- 2) 原形質内層にある核や他の細胞器官の集合は 30 - 40 分後から始まり、枝が発生するまで続く。照射域の核の密度は 4 時間後 2 倍まで増え、隣接領域のそれは 20 - 30% 減少する。
- 3) 集合した核は照射域にとどまり、新たな遺伝子発現が起こる。
- 4) 枝原基は照射域中央に決定され (極性誘導)、既存の細胞壁が局所的に可塑化し、内圧により生じた突起が新しい枝として先端成長を開始する (極性固定)。

1) の反応の作用スペクトルは 480 nm に単一の峰を持ち、光屈性や先端膨張反応のそれとは異なる。Cytochalasin A, Amiprophos Methyl, Actinomycin D などの薬理効果から判断すると、1) はアクチン、2) は微小管が関与する運動と考えられる。2) の反応の作用スペクトルはまだ得られていないが、機構的にも時系列からも 1) とは異なる光反応と思われる。3) も別の光反応である可能性が高いが、その証拠はまだ得られていない。葉緑体の集合は先端成長のためのエネルギー補給源として必要であるが、枝の発生には核の集合と新規の遺伝子発現が引き続くことが必須である。

核の集合に関して興味深い構造—機能相関を見いだした。すなわち、全ての核は中心体近傍から 1 本の長い (50-60 μ m) 微小管束を細胞軸に平行に伸ばしており、微小管が核を引っ張って BL 照射域へ導く。

これらの結果は以下のことを示す。i) 細胞形態形成には核が近距離に位置する必要がある。ii) 形態形成に必要な遺伝子産物の供給は核分裂によらずとも必要数の核を近傍からかき集めることで可能となる。iii) このような核集合は多核細胞が進化させた、多細胞生物には採用できない有利な形質である。

今後、核移動の光受容体のありか、核—微小管複合体の挙動とその移動運動を駆動する細胞質モーターの実体、BL によって発現する遺伝子群を明らかにしたい。協力を請う。

2-14

Gymnochlora stellata (クロララクニオン植物 門)で見られた多核細胞とその挙動

○金田 美奈子 (山形大学 理工学研究科) ・石田 健一郎 (Univ.
of British Columbia) ・原 慶明 (山形大学 理学部)

クロララクニオン植物はクロロフィル a, b を持ち、4重の膜で覆われた葉緑体とヌクレオモルフ (葉緑体の起源となる真核藻類の退化した核)、1個の顕著に突出したピレノイドを持つ海産の単細胞藻の一群である。生活環は基本的にアメーバ状細胞相と球状細胞相、ならびに1本鞭毛を体に巻き付けるようにして泳ぐ遊泳細胞相で構成されるが、アメーバ状細胞相を欠く種やアメーバ状細胞相のみの種も報告されており、種間でかなりの違いがみられる。

本研究では、クロララクニオン植物門に属する *Gymnochlora* 属の一種 *Gymnochlora stellata* (GA6株) から新たに見つかった多核細胞とその挙動について知見を得たので、これを報告する。本種は、培養下では単核のアメーバ状細胞が分裂を繰り返す単純な生活環が報告されている (Ishida et al. 1996)。しかし植継ぐ期間を長くし培養齢を進ませると、直径が約 70 μm に達する大形の球状細胞が出現することが判明した。この細胞を DAPI で核染色し、蛍光顕微鏡で観察したところ、2~18個の核をもつ多核細胞であることがわかった。この大型の球状細胞を新しい培地に植継ぐと短期間のうちに仮足をのぼし、約 24時間で扁平な多核アメーバ状細胞へと変化し、さらに約 12時間経過すると、多核アメーバ状細胞は同調的に分裂して 15~30個の単核アメーバ細胞に移行した。以上のことから、大型多核細胞は、培養齢が進み培養液中の栄養塩類の欠乏が始まる時期に出現し、新たな培養液に植継ぐと単核アメーバ細胞に移行することから、本藻の生活環の一部であることが示唆された。本藻の基準株である Guam-1株 (Ishida et al. 1996) を用いて、多細胞が出現した条件下で培養したところ、全く同じ結果を得た。

このような大型多核細胞は、他のクロララクニオン藻では報告がなく、この2株に特有なものか、この藻群に普遍的なものか興味を持たれた。そこで、他のクロララクニオン藻3株 (Ryukyu株・CCMP240株・*L. globosa*株) について同じ培養条件で観察を行ったが、現在まで多核細胞の出現は確認していない。まだ、天然で大型多核細胞を確認していないが、この大型多核細胞相を持つ生活環は、*Gymnochlora* 属特有の特徴である可能性が高いと思われる。

2-15

ハネモ胞子体における巨大核の分裂誘導について

○山岸隆博、菱沼佑（山形大・理・生物）

多核管状緑藻のハネモ *Bryopsis plumosa* の生活史は巨視的配偶体と微視的胞子体との異型世代交代をおこなう。胞子体は $2n$ の巨大核を一つ有しており、胞子体の成熟により巨大核は分裂し、胞子体は多核化する。その後、多数の環状鞭毛性の遊走子が形成される。胞子体は 23°C 長日条件下では成長するが成熟することはない、高温短日条件によりその成熟が誘導されることが知られている。しかしこのような培養条件下でも、成熟し、巨大核が分裂する細胞は数少なく、巨大核の分裂過程や遊走子形成過程に関する研究はほとんどなされていない。培地条件を検討した我々の予備的な実験は、培地への NaHCO_3 の添加が巨大核の分裂誘導に効果があることを示した。そこで本研究では胞子体成熟に対する培地への NaHCO_3 添加や NaHCO_3 添加培地中における光周期などの効果について検討するとともに、胞子体における巨大核の分裂の同調化を試みた。

ハネモ胞子体の培養に通常用いている PES 培地では、 23°C 、短日条件で2週間培養しても、核分裂をおこした細胞は全く存在しなかった。一方、培地に 5mM NaHCO_3 を添加した NaHCO_3 添加培地を用いて同一条件で培養したところ、培養後4~8日の間に約90%の細胞が核分裂をおこした。また NaHCO_3 添加培地中では長日条件でも同程度の核分裂が観察された。この添加培地中では恒明条件下でも核分裂をおこした細胞が観察されたが、恒暗条件下ではそのような分裂をおこした細胞は観察されなかった。さらに NaHCO_3 添加培地において光強度を上げて培養すると、短日条件下では4~6日の間に約90%の細胞が、恒明条件下では3~5日の間で約90%の細胞が核分裂をおこした。このような恒明条件下での培養とアフィディコリン処理を組み合わせることにより、アフィディコリン除去後2日目に約90%の細胞で同調化して核分裂が誘導された。

以上の結果は、胞子体巨大核の分裂誘導には培地中の炭酸イオン濃度が重要であり、短日、長日条件のような日長条件や明期から暗期あるいは暗期から明期への光の切り替わりは関係していないことを示唆している。おそらく光合成活性の上昇が分裂誘導に密接に関与していると考えられる。

大会参加者名簿

氏名	所属	講演番号*	懇親会
東京都			
駒嶺 穆	進化生物学研究所		○
岩手県			
遠藤 誠	岩手大・農	1-14	○
斎藤 友紀	盛岡市立厨川中学		
須田 裕	岩手大・教育・生物		○
竹原 明秀	岩手大・人文社会・環境生物	1- 1	○
照井 啓介	岩手大・教育・生物		○
平塚 明	岩手県立大・総合政策		
三浦 修	岩手大・教育・地理		○
宮城県			
雨貝 愛子	東北大・院・理・生物	1-17	○
石澤 公明	東北大・院・理・生物	○	○
岩崎 勇次郎	東北大・院・農	2-10	
宇山 嘉秀	東北大・院・理・生物	1- 4	○
大瀧 保	東北大・遺伝生態研究センター	○	○
片岡 博尚	東北大・遺伝生態研究センター	2-13	○
小泉 やよい	東北大・院・理・生物	2- 4	○
後藤 伸治	宮城教育大・生物	2- 5	○
小林 和貴	理研・フォトダイナミクス研究センター・光生物Ⅱ	○	○
佐藤 茂	東北大・院・農	○	○
鈴木 三男	東北大・院・理・植物園	○	○
高橋 智恵子	宮城教育大・院・生物	1- 3	○
高橋 文雄	理研・フォトダイナミクス研究センター・光生物Ⅱ	2- 3	○
多田 功生	東北大・院・理・生物	1-16	
鄭 明淑	東北大・遺伝生態研究センター	1-13	○
藤郷 誠	東北大・院・農	2- 6	
中村 拓磨	東北大・院・理・生物		
ナビン アチャルヤ	東北大・院・理・植物園	1- 7	○
西谷 和彦	東北大・院・理・生物	○	○
早坂 英介	東北大・院・理・植物園		○
日向 真理子	東北大・院・理・植物園	1- 5	○
平吹 喜彦	宮城教育大・生物	○	○
福田 達哉	東北大・院・理・生物	1- 6	○

氏名	所属	講演番号*	懇親会
前田 靖男	東北大・院・理・生物	2- 9	○
宮寄 厚	東北大・遺伝生態研究センター	○	○
山崎 裕	理研・フォトダイナミクス研究センター・光生物Ⅱ	2- 1	○
横山 潤	東北大・院・理・生物	1- 8	○
吉岡 俊人	東北大・院・農	2- 7	○
依田 清胤	石巻専修大・理工・基礎理学	2- 2	○
秋田県			
堀井 雄治郎	角館高校(定)	1- 2	○
我彦 広悦	秋田県立大・生物資源科学・生物工学研究所	2-11	○
山形県			
荒木 龍平	山形県森林研究研修センター	○	○
内田 英伸	山形県企業振興公社		○
大野 晶子	山形大・理・生物	1-10	○
梶川 牧子	山形大・理・生物		○
加藤 良一	山形大・教育		○
金田 美奈子	山形大・院・理工・生物	2-14	○
工藤 創	山形大・理・生物	2-12	○
熊倉 悠気	山形大・教育		
近藤 貴靖	山形大・理・生物		○
坂山 英俊	山形大・院・理工・生物	1- 9	○
櫻井 羊生子	山形大・理・生物	1-12	○
鈴木 隆	山形大・教育		○
高橋 育美	山形大・教育		
高橋 千恵	山形大・教育		
谷藤 吾朗	山形大・理・生物	1-15	
丹野 憲昭	山形大・理・生物	2- 8	○
土屋 英夫	山形大・院・理工・生物	1-11	○
原 慶明	山形大・理・生物	○	○
比嘉 敦	山形大・理・生物	○	○
菱沼 佑	山形大・理・生物	○	○
三浦 直美	山形県森林研究研修センター		○
山岸 隆博	山形大・理・生物	2-15	
横山 亜紀子	山形大・理・生物	○	○
福島県			
黒沢 高秀	福島大・教育		○

*: 講演番号は演壇者のみで、連名者は○で記す。

日本植物学会東北支部第13回盛岡大会講演要旨集

発行 2000年12月16日

編集 日本植物学会東北支部第13回盛岡大会準備委員会
須田 裕, 三浦 修, 照井啓介, 平塚 明, 竹原明秀
〒020-8550 盛岡市上田三丁目18-34
岩手大学人文社会科学部環境生物学教室気付

印刷 株式会社 白ゆり
〒020-0122 盛岡市みたけ六丁目1-50