

(社) 日本植物学会中国四国支部

# 第 6 3 回大会講演要旨

PROCEEDINGS OF THE 63RD ANNUAL MEETING  
OF THE CHUGOKU-SHIKOKU BRANCH  
OF  
THE BOTANICAL SOCIETY OF JAPAN

(20-21 May 2006, Ehime)

愛 媛 大 会

(愛媛大学)

平成 18 年 5 月 20・21 日

## 目 次

- BP-01 ナショナル・バイオリソース・プロジェクト・『広義キク属』  
○近藤勝彦, 落合利紀, 増田優 (広島大・院・理学・植物遺伝子保管実験施設)
- BP-02 カヤツリグサ科スゲ属アオスゲ類の系統分類学的研究  
○藤井純一, 星野卓二 (岡山理大・院・総情・生地)
- BP-03 カヤツリグサ科クロハリイの種内異数体における細胞学的研究  
○矢野興一, 星野卓二 (岡山理大・院・総情・数理環境)
- BP-04 カヤツリグサ科の分子系統学的研究 2. 胚の進化  
○平原友紀, 星野卓二 (岡山理大・院・総情・数理環境)
- BP-05 ナガバヤクシソウとヤクシソウ (キク科) の種間雑種形成  
○山本 伸子, 矢野 興一, 池田 博, 星野 卓二 (岡山理大・院・総情・数理環境)
- BP-06 ナンゴクアオキ (ミズキ科アオキ属,  $2n=16$ ) の減数分裂における染色体の対合分析  
○津坂 真智子, 池田 博, 星野 卓二 (岡山理大・院・総情・数理環境)
- BP-07 平泉寺およびその周辺地域における蘚類フロラ  
○園山和志<sup>1</sup>, 小林則夫<sup>2</sup>, 松本 淳<sup>3</sup>, 坪田博美<sup>1</sup>, 山口富美夫<sup>1</sup>, 若杉孝生<sup>3</sup>, 出口博則<sup>1</sup> (<sup>1</sup>広島大・院・理, <sup>2</sup>元勝山市南部中, <sup>3</sup>福井総合植物園)
- BP-08 屋久島で発見された新種ミジンコミゾゴケ (ミゾゴケ科, 苔類)  
○横山勇人<sup>1</sup>, 山口富美夫<sup>1</sup>, 古木達郎<sup>2</sup>, 坪田博美<sup>1</sup>, 出口博則<sup>1</sup> (<sup>1</sup>広島大・院・理・生物科学, <sup>2</sup>千葉県立中央博物館)
- BP-09 藍染め染料すくものマイクロフロラ  
○榊井秀雄<sup>1</sup>, 榊井珮瑛子<sup>2</sup> (<sup>1</sup>鈴峯女子短大, <sup>2</sup>広島医技専)
- BP-10 Variation of rDNA sequence and lipopolysaccharides among *Agrobacterium* biovar 1, 2 and 3 strains and phylogenetic implication between the two characteristics  
○Hussam Hassan Arafat Hassan<sup>1</sup>, J-ney Bautista-Zapanta<sup>1</sup>, Katsuyuki Tanaka<sup>1</sup>, Hiroyuki Sawada<sup>2</sup> and Katsunori Suzuki<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Hiroshima Univ., Grad. Sch., Dept. Biol., <sup>2</sup>NIAES)
- BP-11 南極昭和基地周辺の塩湖すりばち池と舟底池に生育する嫌気呼吸菌の分離及びその性質の解析  
○脇谷昌俊<sup>1</sup>, 工藤栄<sup>2</sup>, 伊村智<sup>2</sup>, 高橋陽介<sup>1</sup>, 松崎雅広<sup>1</sup> (<sup>1</sup>広島大・院・理, <sup>2</sup>極地研)

- BP-12 光合成細菌の DMSO 呼吸系のセンサーヒスチジンキナーゼ DmsS のセンシングシグナルの解析  
○松崎雅広<sup>1</sup>, 伊藤岳<sup>1</sup>, 山本勇<sup>2</sup>, 佐藤敏生<sup>1</sup>, 高橋陽介<sup>1</sup> (<sup>1</sup>広島大・院・理, <sup>2</sup>神戸女子大・家政)
- BP-13 *Escherichia coli* K-12 株およびプロリン輸送系変異株の高浸透圧適応における温和な浸透圧処理の効果について  
○西釜貴大<sup>1</sup>, 石田昭夫<sup>2</sup>, 佐々木秀明<sup>3</sup>, 大島朗伸<sup>4</sup> (<sup>1</sup>島大・院・生資・生物科学, <sup>2</sup>熊本大・理・環境科学, <sup>3</sup>いわき明星大・生命環境, <sup>4</sup>島大・生資・生物科学)
- BP-14 中海底質より分離した好アルカリ性細菌の菌体外酵素について  
佐々木 健一, ○大島朗伸 (島大・生資・生物科学)
- BP-15 好アルカリ性 *Bacillus* U-21 におけるエクトイン合成の最適化及びその抽出について  
○大澤飛鳥<sup>1</sup>, 永田進一<sup>2</sup>, 大島朗伸<sup>3</sup> (<sup>1</sup>島大・院・生資・生物科学, <sup>2</sup>神戸大・海事科学, <sup>3</sup>島大・生資・生物科学)
- BP-16 トウモロコシ芽生えの成長とグルタチオン濃度および膜過酸化に対する光照射の影響  
○大庭一井, 井上雅裕 (愛媛大・理・生物)
- BP-17 ジベレリンによるアズキ上胚軸の伸長促進におけるアクチンフィラメントの関与  
松本裕子, 佐木宣親, ○金田剛史 (愛媛大・理・生物)
- BP-18 ヒャクニチソウ単離葉肉細胞の管状要素分化およびリグニン化への灰色カビ病菌エリシターの影響  
長谷浩二, ○佐藤康 (愛媛大・理・生物)
- BP-19 静置状態により誘導されるタバコ培養細胞 BY-2 のプログラム細胞死  
○平賀旭, 金田剛史, 佐藤康, 佐藤成一 (愛媛大・理・生物)

- B-01 マンノースに順応したアズキカルス細胞の糖リン酸エステルと糖ヌクレオチド組成  
○加藤 晶<sup>1</sup>, 井上雅裕<sup>2</sup> (<sup>1</sup>愛媛大院・理工・環境科学, <sup>2</sup>愛媛大・理・生物)
- B-02 酵母 *Yarrowia lipolytica* の glycerol 培地における銅の排出  
○伊東裕康, 井上雅裕, 遠山鴻, 城尾昌範 (愛媛大・理・生物)
- B-03 GA 3-酸化酵素遺伝子 *AtGA3ox1* のフィードバック制御機構の解析  
○山香賢治<sup>1</sup>, 金本理沙<sup>1</sup>, 松下茜<sup>2</sup>, 古本強<sup>1</sup>, 高橋陽介<sup>1</sup> (<sup>1</sup>広島大・院・理, <sup>2</sup>東京大・院・理)
- B-04 蘚類における雌雄性と異形胞子の進化 —日本産ミノゴケ属を例に—  
○坪田博美<sup>1</sup>, 畦 浩二<sup>2</sup>, 出口博則<sup>1</sup> (<sup>1</sup>広島大・院・理, <sup>2</sup>広島大・附属福山中高)
- B-05 アナンデルカイメン *Radiospongilla cerebellata* から単離した共生藻の形態と系統  
○中原美保<sup>1</sup>, 坪田博美<sup>1</sup>, 半田信司<sup>2</sup>, 益田芳樹<sup>3</sup>, 出口博則<sup>1</sup> (<sup>1</sup>広島大・院・理, <sup>2</sup>広島県環境保健協会, <sup>3</sup>川崎医大・生物)
- B-06 ヒガンバナ( $2n=3x=33$ )の稔性 —野外観察と授粉実験—  
○村松幹夫 (岡山大・名誉教授)
- B-07 核リボゾーム遺伝子を用いた日本産スゲ属植物の分子系統学的研究  
○正木智美, 星野卓二 (岡山理科大学・総情・生地)
- B-08 カヤツリグサ科スゲ属イワカンスゲ近縁種の系統進化  
○名波太郎, 星野卓二 (岡山理大・院・総情・生地)

## BP-01

ナショナル・バイオリソース・プロジェクト・『広義キク属』

○近藤勝彦、落合利紀、増田優 (広島大・院・理学・植物遺伝子保管実験施設)

K. Kondo, T. Ochiai and Y. Masuda: National Bioresource Project of Japan “*Chrysanthemum sensu lato*”

広義キク属は、100 属 1,000 種以上の多様な分類群が東アジアを中心にユーラシア大陸全体に分布する植物相多様化モデル植物である。また、遺伝、進化メカニズムの研究において、野生染色体倍数モデルとして顕著である。そして、農学的研究、育種学的研究、病理学的研究、生理学的研究、薬学的研究など、幅広い分野の研究材料として応用、利用されている。しかし、いまだ資源植物として、未研究、未開発、未利用の種も多く存在する。本事業では、広義キク属の日本、中国、ロシア連邦における野生種を中心とした系統の収集、保存、提供体制の充実を進めている。これら提供植物の利用価値を高める特性評価として、オルセイン染色・押しつぶし法によるオーソドックス分析、種々分染法による分析、蛍光インシチュ・ハイブリダイゼーション法、ゲノミック・インシチュ・ハイブリダイゼーション法などを使った染色体比較、属間、種間の類縁性比較、ITS 解析などを用いた分子系統解析、DNA 多型を利用した分子マーカーの開発、評価などを進めるとともに、様々な比較研究とデータベース化公表に取り組んでいる。

## BP-02

カヤツリグサ科スゲ属アオスゲ類の系統分類学的研究

○藤井純一、星野卓二 (岡山理大・院・総情・生地)

J. Fujii and T. Hoshino: Phylogenetical studies of *Carex leucochlora* and allied species.

スゲ属アオスゲ類は互いに形態がよく似ており、スゲ属の中で分類が困難なグループの1つである。Koyama (1962) はアオスゲ類を他の多くの種とともにシバスゲ節としてまとめている。しかし、秋山 (1955) は、アオスゲ類をアオスゲ亜節とシバスゲ亜節の2つに分けている。このように、アオスゲ類は研究者によって分類が異なり、分類体系について統一した見解はない。そこで、本研究では核リボソーム遺伝子 ITS 領域および ETS1f 領域を用いて分子系統解析を行ない、アオスゲ類 14taxa の分類を再検討することを目的とした。

分子系統樹からアオスゲ類は、秋山 (1955)、Koyama (1962) のどちらとも異なり、アオスゲとクサスゲの2つのグループに分かれた。アオスゲのグループには 11taxa が含まれており、タイワンスゲ亜節と単一のクレードを形成した。このグループは雌小穂が上部に密集するという形態的特徴が確認できた。クサスゲのグループは、クサスゲ、イセアオスゲ、ハガクレスゲが含まれており、ホンモンジスゲ亜節と単一のクレードを形成した。このグループは雌小穂を頂部から根元まで互いに離れてつけるという形態的特徴が確認できた。

以上のことから、アオスゲ類は雌小穂の付き方によって、アオスゲとクサスゲの2つのグループに分けられると考えられ、亜節の再検討が必要であると考えられる。

#### BP-03

カヤツリグサ科クロハリイの種内異数体における細胞学的研究

○矢野興一, 星野卓二 (岡山理大・院・総情・数理環境)

O. Yano and T. Hoshino: Cytological studies of aneuploidy in *Eleocharis kamtschatica*.

クロハリイは主に中国～ロシア～カナダの沿岸部に生育する多年草である。これまでに  $2n=12, 38\sim 40, 42, 44, 46, 56$  の種内異数性が報告されているが、詳しい成因は明らかにされていない。本研究では、北海道の4場所とアラスカの1場所で採集したクロハリイ 61 株の核型分析を行い、種内異数性の成因を明らかにすることを目的とした。その結果、 $2n=41\sim 47$  の7種類の連続した種内異数体が観察された。 $2n=42$  の出現率が最も高く(59%)、核型は8本の大型染色体と34本の小型染色体から構成されていた ( $2n=42=8L+34S$ )。また、 $2n=44$  と  $2n=46$  は34本の小型染色体と10, 12本の大型染色体から構成されていた ( $2n=44=10L+34S$ ,  $2n=46=12L+34S$ )。クロハリイでは、染色体数の増加に伴い大型染色体が増加する傾向が見られた。また、大型染色体の大きさがほとんど同じことから染色体の重複による核型の分化がおこっていると考えられる。

#### BP-04

カヤツリグサ科の分子系統学的研究 2. 胚の進化

○平原友紀, 星野卓二 (岡山理大・院・総情・数理環境)

T. Hirahara and T. Hoshino: Molecular phylogenetic studies of *Cyperaceae*. 2. Evolution of embryos.

カヤツリグサ科の胚は花序とともに、系統を反映する形質として重要であることが報告されている。しかし、これらの形質と分子系統樹の比較は行なわれていない。前回の第62学会では、花序と系統樹を比較し、単性花の分化が異なる系統で起こったことを報告した。そこで今回は、葉緑体 *ndhF* 遺伝子を用いた分子系統樹と胚のタイプの比較を行ない、胚の進化について推定した。

その結果、カヤツリグサ科の胚は幼芽の湾入に対する第一葉の方向から大きく2つに分かれることが明らかになった。1つは幼芽の湾入に対して水平に第一葉が形成されるカヤツリグサとホタルイの2タイプである(水平グループ)。水平グループは1つのクレードを形成しており、単系統であった。他は幼芽の湾入に対して垂直に第一葉が形成されるタイプである(垂直グループ)。この垂直グループにはハリイ、ハタガヤ、テンツキ、スゲ、ノグサ、ヒトモトススキの6タイプが含まれる。分子系統樹は、水平グループが垂直グループから派生したことを示した。以上のことから、カヤツリグサ科の胚は、水平な第一葉を形成する方向に進化したと考えられる。

## BP-05

ナガバヤクシソウとヤクシソウ（キク科）の種間雑種形成

○山本 伸子, 矢野 興一, 池田 博, 星野 卓二 (岡山理大・院・総情・数理環境)

N. Yamamoto, O. Yano, H. Ikeda and T. Hoshino: A new natural hybrid between *Paraixeris yoshinoi* (Makino) Nakai and *P. denticulata* (Houtt.) Nakai (Asteraceae).

ナガバヤクシソウ (*Paraixeris yoshinoi* (Makino) Nakai) は、岡山県西部から広島県東部の石灰岩地域 (阿哲地域) に特産するキク科の多年草である。ナガバヤクシソウは、全国版レッドデータブックでは「絶滅危惧 IB 類」、岡山県レッドデータブックでは「留意種」に指定されている。同属のヤクシソウ (*P. denticulata* (Houtt.) Nakai) は、北海道～九州、朝鮮、中国、ベトナムに広く分布する越年草である。

今回、岡山県高梁市備中町で、ナガバヤクシソウとヤクシソウとの種間雑種と考えられる植物を発見した。この推定雑種 (アテツヤクシソウ, 仮称) について、推定両親種とともに、外部形態、体細胞染色体、減数分裂過程、DNA を比較した。

外部形態については、葉の基部の形、葉裏の色、小花の数、小花の長さ、瘦果の大きさなどで、アテツヤクシソウは推定両親種の間接形を示した。染色体数はアテツヤクシソウ、ナガバヤクシソウ、ヤクシソウともに  $2n=10$  で、核型に顕著な違いはみられなかった。減数分裂はアテツヤクシソウにおいても異常はみられなかった。形態・染色体・DNA の結果から、ナガバヤクシソウとヤクシソウは遺伝的に近く、両者が近接して生育するところでは雑種 (アテツヤクシソウ) が生じるものと考えられる。

## BP-06

ナンゴクアオキ (ミズキ科アオキ属,  $2n=16$ ) の減数分裂における染色体の対合分析

○津坂 真智子, 池田 博, 星野 卓二 (岡山理大・院・総情・数理環境)

M. Tsusaka, H. Ikeda and T. Hoshino: Meiotic chromosome configurations of *Aucuba japonica* var. *ovoidea* (Cornaceae,  $2n=16$ ).

ナンゴクアオキ (*Aucuba japonica* Thunb. var. *ovoidea* Koidz.) はアオキの変種とされ、中国四国地方西部から沖縄にかけて生育する。染色体数は、母種のアオキが  $2n=32$  の 4 倍体であるのに対し、ナンゴクアオキは  $2n=16$  の 2 倍体であることが知られている。これまでアオキ属植物の減数分裂については、4 倍体のアオキと 2 倍体種である台湾アオキ (*A. chinensis* Benth.) で調べられているが、ナンゴクアオキについては調べられていない。2 倍体アオキ (=ナンゴクアオキ) に性染色体があることが報告されていることから、ナンゴクアオキの減数分裂時の染色体の分配過程を明らかにすることにより、植物の性分化に関する知見が得られるものと考えられる。そこで本研究は、岡山県産のナンゴクアオキの減数分裂を観察し、染色体 (特に性染色体) の分配過程を明らかにすることを目的とした。

岡山県吉備中央町で採集した 1 個体から、計 54 細胞の減数分裂第一分裂中期像を観察した。染色体の対合状態には 2 価、4 価、6 価染色体が観察され、8II、6II+IV、5II+VI、4II+2IV の 4 つのパターンが確認された。そのうち 6II+IV がもっとも多く (85%) みられた。したがってアオキ属では、2 倍体においても多価染色体を形成する機構があると考えられる。また、4 価染色体を形成する染色体は、中型から小型のものであった。ナンゴクアオキの体細胞染色体は、大型の 3 対、中・小型の 5 対に区別され、性染色体は大きいほうから 4 対目であることから、多価染色体の形成に性染色体が関与している可能性がある。

## BP-07

平泉寺およびその周辺地域における蘚類フロラ

○園山和志<sup>1</sup>, 小林則夫<sup>2</sup>, 松本 淳<sup>3</sup>, 坪田博美<sup>1</sup>, 山口富美夫<sup>1</sup>, 若杉孝生<sup>3</sup>, 出口博則<sup>1</sup> (<sup>1</sup>広島大・院・理, <sup>2</sup>元勝山市南部中, <sup>3</sup>福井総合植物園)

K. Sonoyama, N. Kobayashi, J. Matsumoto, H. Tsubota, T. Yamaguchi, T. Wakasugi and H. Deguchi: Moss flora of Heisenji and its adjacent areas, Fukui, Japan.

平泉寺は、福井県北東部の勝山盆地に位置し、日本海側気候下にある。本地域の植生は、主にスギ・ヒノキ植林、クリ・ミズナラ群集に含まれ、湿潤な環境下で蘚苔類も多く生育している。日本海側の蘚類フロラの情報は不足しており、日本の蘚類相を明らかにするのに十分ではない。そのため本研究では、平泉寺における蘚類フロラを明らかにし、日本海沿岸地域の情報を収集することを目的に調査を行い、蘚類リストを作成した。本研究により約 140 種の蘚類を確認した。これらの各種をその分布型に従って類別すると、東アジア要素が最も高い割合を占めることが分かった。平泉寺の蘚類フロラの特徴を把握するため、太平洋側と比較を行うと、本地域は熱帯の様相を示す蘚類が少ないことが明らかになった。また、本調査で見出した植物地理学上・分類学上興味深い種について報告した。

## BP-08

屋久島で発見された新種ミジンコミゾゴケ (ミゾゴケ科, 苔類)

○横山勇人<sup>1</sup>, 山口富美夫<sup>1</sup>, 古木達郎<sup>2</sup>, 坪田博美<sup>1</sup>, 出口博則<sup>1</sup> (<sup>1</sup>広島大・院・理・生物科学, <sup>2</sup>千葉県立中央博物館)

*Marsupella pseudostoloniformis* H.Yokoy. & T.Yamag. (Heparicae, Gymnomitriaceae)  
a new species from Yakushima Island, Japan

ミゾゴケ属 (*Marsupella*) はミゾゴケ科 (Gymnomitriaceae) に属する苔類で、主に北半球の温帯～亜寒帯に広く分布する。日本では 12 種 2 亜種が報告されており (古木・水谷 2004)、葉が横につくこと、先端が 2 裂し槌状に 2 つに折りたたまれること、腹葉がないこと、花被が発達せず雌苞葉に隠れることが形態的特徴である。

2005 年から始めた屋久島の調査で、屋久島の最高峰である宮之浦岳山頂の巨岩上にて微少な *Marsupella* の一種を見出した。本種は以下の形態的特徴をもつ (1) 植物体は匍匐し、緑褐色～褐色, (2) 茎は長さ 5-8 mm, 葉を含めて幅 0.1-0.2 mm と非常に小さい, (3) 葉は離在, 茎に圧着, 幅 90-100  $\mu\text{m}$ , 長さ 75-100  $\mu\text{m}$ , (4) 葉身細胞は厚壁で平滑, トリゴンは不明瞭, (5) 花被は雌苞葉に隠れ, 先端は鈍鋸歯状となる。本種は植物体がきわめて小形で匍匐枝状に分枝すること, 葉は離在し茎に圧着することなどの点でボルネオのキナバル山から記載された *M. stoloniformis* N. Kitagawa に類似している。しかし, *M. stoloniformis* は葉が幅約 150  $\mu\text{m}$ , 長さ 100  $\mu\text{m}$  で先端は 2 裂しない。よって, 本種をミゾゴケ属の新種 *M. pseudostoloniformis* H.Yokoy. & T.Yamag. として報告する。

## BP-09

### 藍染め染料すくものマイクロフロラ

○榎井秀雄<sup>1</sup>, 榎井佩瑳子<sup>2</sup> (<sup>1</sup>鈴峯女子短大, <sup>2</sup>広島医技専)

H. Masui and H. Masui: The microbial flora in Sukumo indigo dye

天然の藍染めは藍瓶の中で増殖した嫌気性細菌が作り出す還元力と空気中の酸素が示す酸化力を巧みに利用して行なわれる特異な染色法である。藍瓶の中には染料としてすくもまたは藍玉が投げられる。すくもは古くより阿波の特産品で、夏季に採取したインジゴ植物タデアイの乾燥葉を床が土の寝床と称する特別な部屋で秋から冬にかけて発酵（実は酸化）させ、3～4ヵ月かけて作られる。藍玉はこのすくもを搗き固めてさらに濃縮したものである。この製造工程の途中では雑多な微生物が検出される。中盤では熱くなるが、その時期には耐熱性あるいは好熱性の細菌が検出された。この工程は堆肥が生成される過程とほぼ同じである。実際、すくもは肉眼的にも顕微鏡的にも植物体の形状を失って黒い堆肥状を呈している。ところが、自然界の枯葉の集積分解した堆肥や園芸資材として市販されている堆肥からは多くの種類の、多数の微生物が検出されたにもかかわらず、生成過程も形状もよく似たすくもからは、嫌気性細菌は出現せず、好気性の桿菌のみが2、3種検出され、しかも、その個体数が少なかった。すくものマイクロフロラは極めて貧弱と考えられる。今回は堆肥とすくものマイクロフロラの違いについて述べる。

## BP-10

Variation of rDNA sequence and lipopolysaccharides among *Agrobacterium* biovar 1, 2 and 3 strains and phylogenetic implication between the two characteristics

○Hussam Hassan Arafat Hassan<sup>1</sup>, J-ney Bautista-Zapanta<sup>1</sup>, Katsuyuki Tanaka<sup>1</sup>, Hiroyuki Sawada<sup>2</sup> and Katsunori Suzuki<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hiroshima Univ., Grad. Sch., Dept. Biol., <sup>2</sup>NIAES

Variation of rDNA sequence was investigated in 36 *Agrobacterium* strains belonging to biovar 1 (*Rhizobium radiobacter*), biovar 2 (*R. rhizogenes*) and biovar 3 (*R. vitis*). 16S rRNA gene sequence was highly conserved especially among each biovar. Internal transcribed spacer (ITS) between the 16S and 23S rRNA genes was more variable than the rRNA genes but was well conserved among each biovar. The variation of ITS in each biovar arose by short insertions or deletions. Unlike with the 16S rRNA and ITS sequences, the intervening sequence (IVS) was variable irrespective of biovar groups. Thereby, we can distinguish a strain of one biovar from the other biovar strain by the 16S rRNA gene sequence, whereas, the ITS sequence enables intra-species identification. On the other hand, because of the lack of knowledge about *Agrobacterium* lipopolysaccharides (LPS), we examined the LPS patterns among 31 *Agrobacterium* biovar 1, 2 and 3 strains using two different media. The LPS profile of each strain is similar in the two different culture conditions. LPS profile was highly variable in biovar 1 strains, while LPS profile was highly conserved among biovar 2 and biovar 3 strains. Interestingly, the dendrogram based on LPS patterns is consistent with the phylogenetic tree based on 16S-23S ITS sequence.

## BP-11

南極昭和基地周辺の塩湖すりばち池と舟底池に生育する嫌気呼吸菌の分離及びその性質の解析

○脇谷昌俊<sup>1</sup>, 工藤栄<sup>2</sup>, 伊村智<sup>2</sup>, 高橋陽介<sup>1</sup>, 松崎雅広<sup>1</sup> (<sup>1</sup>広島大・院・理, <sup>2</sup>極地研)

M. Wakitani, S. Kudoh, S. Imura, Y. Takahashi and M. Matsuzaki: Isolation and characterization of anaerobic bacteria from Suribati Ike and Funazoko Ike, in Antarctica

昭和基地周辺の露岩地域にあるすりばち池と舟底池は水の流出が全くない高濃度塩湖である。両湖とも塩分濃度の違いによる層が形成され、特にすりばち池の水深 10 m 以深では酸素がほとんど存在しない嫌気状態にある。これまでに南極湖沼に多様な細菌が存在しているという報告はなされていたが、嫌気呼吸能を有する細菌についての報告は硫酸還元細菌のみである。

本研究では嫌気呼吸細菌が両池の物質循環に関与していると考え、池に存在する細菌のうち、嫌気呼吸能を持つものの割合を明らかにしようとした。そこでまず両池に生息する細菌の分離およびその性質の解析を行うこととした。両池から *Halomonas* sp. と *Marinobacter* sp. を単離・同定した。そのうち *Halomonas* sp. は DMSO 呼吸及び硝酸呼吸を行うことが確認された。両池の *Halomonas* sp. 各 2 株の最適塩濃度は 6~10%、最適温度は 20~25℃であり、実際の両池の環境とは異なっていることが明らかとなった。

## BP-12

光合成細菌の DMSO 呼吸系のセンサーヒスチジンキナーゼ DmsS のセンシングシグナルの解析

○松崎雅広<sup>1</sup>, 伊藤岳<sup>1</sup>, 山本勇<sup>2</sup>, 佐藤敏生<sup>1</sup>, 高橋陽介<sup>1</sup> (<sup>1</sup>広島大・院・理, <sup>2</sup>神戸女子大・家政)

M. Matsuzaki, T. Itoh, I. Yamamoto, T. Satoh and Y. Takahashi: Sensing signal of the sensor histidine kinase DmsS for DMSO respiration in phototroph.

光合成細菌 *Rhodobacter sphaeroides* f. sp. *denitrificans* の DMSO (dimethyl sulfoxide) 呼吸系の *dmsCBA* オペロンの転写は二成分制御系の DmsS/DmsR により制御されている。一般にセンサーキナーゼは N 末側から膜貫通ドメイン, PAS ドメイン, リン酸リレーに関与するドメインを持ち, 細胞外の領域が環境のシグナルを認識すると考えられているが, 融合遺伝子を用いた解析から DmsS が細胞膜の細胞質側局在するタンパク質であることが示された。

本研究では DmsS のセンシング機能の解析を目的とし, DmsS の膜結合領域を部分的に除去し DmsA 発現量を調べた。その結果, 膜結合領域はセンシング機能に必要で C 末端側が特に重要であることが示された。一方, DMSO および生成産物である DMS の存在により DmsA の発現がともに誘導された。これらの結果から DmsS は生成産物である DMS をシグナルとして感知しているのではないかと推定し, *dmsA* 遺伝子破壊株を構築してその可能性を調べた。*dmsA* 遺伝子破壊株は DmsA が合成されないにもかかわらず, DMSO の存在によりオペロンの活性化が起こり, DMS がシグナルではないことが示唆された。

## BP-13

*Escherichia coli* K-12 株およびプロリン輸送系変異株の高浸透圧適応における温和な浸透圧処理の効果について

○西釜貴大<sup>1</sup>, 石田昭夫<sup>2</sup>, 佐々木秀明<sup>3</sup>, 大島朗伸<sup>4</sup> (<sup>1</sup>島大・院・生資・生物学,  
<sup>2</sup>熊本大・理・環境科学, <sup>3</sup>いわき明星大・生命環境, <sup>4</sup>島大・生資・生物学)

T. Nishigama, A. Ishida, H. Sasaki, A. Oshima : Effect of moderate osmotic treatment on the adaptation to hyperosmotic stress in *Escherichia coli* K-12 and its proline transporter mutants.

大腸菌は非好塩性細菌であるが、1.0 M NaCl を含む培地中에서도長い停滞期の後、増殖を開始する。しかし、この長い停滞期は、大腸菌を温和な浸透圧条件下(0.5 M NaCl)で1時間程度処理することにより著しく短縮する事が見いだされている<sup>(1)</sup>。昨年の本大会において大腸菌が高浸透圧適応の際に細胞内に蓄積する補償溶質の一つとして proline を利用する事を報告したが、今回は温和な浸透圧処理と proline 輸送能力との関係を明らかにする事を目的に実験を行った。温和な浸透圧処理により、1.0 M NaCl 環境下での呼吸活性は約 2 倍上昇し、proline の取り込みも増加した。さらに proline 輸送系変異株を用いた proline 取り込み実験などから、温和な浸透圧処理の効果は、大腸菌の持つ proline 輸送系の一つである ProU の発現が関与していることを示唆する結果が得られた。これらの結果から、温和な浸透圧処理に伴う ProU の発現が高浸透圧環境において、より短時間で適応するための要因の一つではないかと考えられる。

(1)A. Ishida, Y. Kawatake, and N. Ono, (1994), Osmotic Stress Conditioning for Induction of Acquired Osmotolerance in *Escherichia coli*. J. Gen. Appl. Microbiol., 40 35-42.

## BP-14

中海底質より分離した好アルカリ性細菌の菌体外酵素について

佐々木 健一, ○大島朗伸 (島大・生資・生物学)

K. Sasaki & A. Oshima: Extracellular enzymes from alkaliphilic bacteria isolated from sediment samples of the Lake Nakaumi.

湖沼の水底の表層には陸上から流入する栄養塩過剰の汚濁物を含む底質汚泥が堆積する場合がある。これらは一般にヘドロと呼ばれ、魚介類等の水生生物の生息環境を悪化させるなど様々な弊害を生じる。そこで、我々はアルカリ性資材の添加によりヘドロ中のリン酸態リンを不溶化後、アルカリ性 pH となった処理物中に残存する有機物を微生物分解し、再利用可能な生産物の製造を計画した。今回は、中海底質から好アルカリ性細菌を分離し、これら細菌の菌体外酵素について検討した。

ヘドロから含塩アルカリ性平板培地で分離した 6,000 余りのコロニーの中で増殖性の良いものを 600 コロニー選び、プロテアーゼ及びアミラーゼ生産菌選択培地に植え、菌体外に生産される両酵素活性について検討を行った。プロテアーゼ活性のみを示すものは 303 株、アミラーゼ活性のみを示すものは 49 株、両活性を示すものは 95 株であった。大部分の菌には芽胞の形成が認められたため、多くが *Bacillus* に属するものと考えられた。両酵素をとともに分泌する 95 株をアルカリ性 pH の液体培地で培養し、増殖能力及び、培地中に分泌される酵素活性について検討したが、菌体外に分泌される酵素活性と増殖能力との間に相関関係は必ずしもなかった。プロテアーゼの一部について最適 pH を調べたところ、最適 pH を 12-13 に持つ好アルカリ性酵素であった。

## BP-15

好アルカリ性 *Bacillus* U-21 におけるエクトイン合成の最適化及びその抽出について  
○大澤飛鳥<sup>1</sup>, 永田進一<sup>2</sup>, 大島朗伸<sup>3</sup> ( <sup>1</sup>島大・院・生資・生物科学, <sup>2</sup>神戸大・海事科学, <sup>3</sup>島大・生資・生物科学)

A. Osawa, S. Nagata and A. Oshima: Optimization of ectoine synthesis and its extraction from alkaliphilic *Bacillus* U-21

エクトインは高浸透圧環境に適応した細菌の細胞内に蓄積する補償溶質の一つである。エクトインは細胞成分を様々なストレスから保護する機能も有しているほか、近年では皮膚の保湿剤としても利用されており、様々な応用面での利用に興味を持たれている補償溶質である。好アルカリ性 *Bacillus* U-21 は高濃度の NaCl を含む高浸透圧栄養培地中で増殖すると細胞内に多量のエクトインを蓄積する。そこで、今回本菌を利用したエクトイン合成に最適な培養条件及び、抽出方法について検討を行った。

細胞内に蓄積したエクトインは低浸透圧ショック処理により、細胞を破砕することなく細胞外に放出させることができた。この処理による菌の生存率の低下は無く、菌体を再び高塩濃度の培地に懸濁することにより、エクトインの再生産を行わせることも可能であった。細胞外に放出されたエクトインは Galinski らの方法<sup>(1)</sup>を参考に精製を試みたが、細胞外に放出されたエクトインの回収率は約 40%であった。また、エクトイン合成に最適な培養条件についても検討し、培地中にグルタミン酸を 5%添加することにより、通常の場合に比べ 5 倍以上ものエクトイン収量を得ることが出来た。

(1) Sauer, T., and E. A. Galinski. 1998. Bacterial milking: a novel bioprocess for production of compatible solutes. *Biotechnol. Bioeng.* 57:306-313.

## BP-16

トウモロコシ芽生えの成長とグルタチオン濃度および膜過酸化に対する光照射の影響  
○大庭一井, 井上 雅裕 (愛媛大・理・生物)

I. Ooba & M. Inouhe: Effects of light on growth, glutathione redox and lipid peroxidation in dark-grown maize seedlings.

暗所で生育したトウモロコシの各器官の成長に対する白色光照射の影響を調べた。光は第一葉の成長を殆ど阻害せず、根、幼葉鞘、中胚軸の順に成長を強く阻害した。特に中胚軸の阻害は著しく不可逆的であった。そこで、その中胚軸に対する光の作用と細胞内グルタチオンレドックスと膜過酸化の関係に注目し、以下の実験を行った。まず、中胚軸の生重量と乾燥重量を測定し、その差から組織の水分含量を求めた。その結果、短時間光照射により組織の水分含量が有意に減少していた。この影響は中胚軸切片をリン酸緩衝液中に浮かべた条件では見られないことから、光による成長阻害は細胞の吸水力低下と関係があることが示唆された。主要な浸透物質である中性糖の細胞内濃度を HPLC で測定したが、これらに対する光照射の影響はみられなかった。次に、細胞内レドックス状態について調べるために、主要な抗酸化剤であるグルタチオンの含量とその還元型と酸化型の比を測定した。その結果、細胞内グルタチオンの含量とレドックス比が光によって有意に低下することが確認された。すなわち光によって細胞内が酸化状態に移行することが示唆された。還元型グルタチオンの消費は光照射によって生じた有害な活性酸素の除去のために促進された可能性があるため、今後、活性酸素の濃度を測定する必要がある。なお、TBA 法を用いて膜脂質の過酸化物を測定したが、光照射による有意な変化は見られなかった。

## BP-17

ジベレリンによるアズキ上胚軸の伸長促進におけるアクチンフィラメントの関与  
松本裕子, 佐木宣親, <sup>○</sup>金田剛史 (愛媛大・理・生物)

Y. Matsumoto, N. Saki and T. Kaneta: The role of cortical actin filaments in the GA-induced elongation of azuki bean epicotyls.

アズキ上胚軸より調製した茎切片はオーキシシン(IAA)処理により伸長し、ジベレリン(GA)処理はこの IAA の伸長効果を促進する。この GA による伸長促進は表皮細胞の細胞質表層微小管(MT)が細胞長軸に対して垂直な方向へ配向することによって引き起こされると考えられている。本研究においては、GA による伸長促進および MT 配向変化におけるアクチンフィラメントの関与について検討を行った。

上胚軸切片において IAA+GA 処理中にアクチンフィラメントの破壊剤である Latrunculin B を 30  $\mu$ M の濃度で処理すると GA による伸長促進は阻害された。またこの時 GA による MT の配向変化も抑えられていた。表皮細胞のアクチンフィラメントを抗アクチン抗体を用いた間接蛍光抗体法により観察すると、IAA+GA 処理後の上胚軸では細胞質全体に網目状に存在するフィラメントと細胞質表層に高密度に存在する細胞長軸に対して垂直に配列したフィラメントが観察されたが、30  $\mu$ M Latrunculin B 処理後の上胚軸では網目状のフィラメントは観察されたものの細胞質表層のアクチンフィラメントはほぼ完全に破壊されていた。これらの結果から、GA による上胚軸の伸長促進および MT 配向変化には、細胞質表層に存在する細胞長軸に対して垂直に配列したアクチンフィラメントが関与している可能性が示唆された。

## BP-18

ヒャクニチソウ単離葉肉細胞の管状要素分化およびリグニン化への灰色カビ病菌エリシターの影響

長谷浩二, <sup>○</sup>佐藤康 (愛媛大・理・生物)

K. Nagatani and Y. Sato: The effects of elicitor derived from *Botrytis cinerea* on tracheary element differentiation and lignification of isolated mesophyll cells of *Zinnia*.

本研究では植物の病害応答と管状要素分化及びリグニン化の関係性を明らかにするため、ヒャクニチソウ管状要素分化実験系を用い、灰色カビ病菌細胞壁から抽出したエリシターを投与したときの管状要素分化やリグニン化への影響について調べた。

エリシターを培養開始時に様々な濃度で投与しても、顕著な細胞死の上昇は見られなかった。一方、最終的な分化率は高エリシター濃度ほど抑制され 16.7  $\mu$ g/ml で完全に抑制された。またリグニン蓄積も高濃度ほど抑制された。次に培養開始から時間をずらしエリシターを投与後 120 時間目まで培養し分化とリグニン化への影響を調べた。その結果最終的な分化率はエリシター投与時の分化率とほぼ同じだったのに対し、分化開始後にエリシターを投与したものでは最終的なリグニン量が増加しており投与時のリグニン量と一致しなかった。それらの細胞をリグニン染色したところリグニン量の増加が顕著だったものでは細胞外リグニンの蓄積が見られた。一方、分化開始前にエリシターを投与したものでは細胞外リグニンは見られなかった。

以上の結果から管状要素分化開始後にエリシターを投与すると管状要素への分化は抑制されるがリグニン前駆体合成細胞への分化は抑制されないと考えられた。一方、管状要素分化開始前にエリシターを投与すると管状要素及びリグニン前駆体合成細胞への分化の両方が抑制されるため分化もリグニン化も起こらないと考えられた。

## BP-19

静置状態により誘導されるタバコ培養細胞 BY-2 のプログラム細胞死

○平賀旭, 金田剛史, 佐藤康, 佐藤成一 (愛媛大・理・生物)

A. Hiraga, T. Kaneta, Y. Sato, S. Sato: Programmed cell death of tobacco BY-2 cells induced by stilled condition.

タバコ培養細胞 BY-2 は、通常液体培地で振とうして培養する。本研究は液体培地を振とう状態から静置することによって誘導される細胞死について調べた。

Evans Blue 染色により培養条件と死細胞の頻度の関係を調べたところ、植え継ぎ後の振とう培養日数が長くなるにつれ、静置条件で誘導される死細胞の増加率が低くなるという傾向が見られた。これより、分裂能力の高い細胞ほど低酸素感受性が高いと考えられる。

大部分の死細胞は原形質分離を起こしていた。DNA の電気泳動を行ったところ DNA ラダーリングが検出され、TUNEL 染色では陽性の反応を示す細胞が検出された。これらのことから、低酸素などの要因により DNA がヌクレオソーム単位で断片化されたことが示唆される。

これらの結果から、静置状態によって誘導されるタバコ培養細胞 BY-2 の細胞死は PCD であると考えられる。

## B-01

マンノースに順応したアズキカルス細胞の糖リン酸エステルと糖ヌクレオチド組成

○加藤 晶<sup>1</sup>, 井上 雅裕<sup>2</sup> (<sup>1</sup>愛媛大院・理工・環境科学, <sup>2</sup>愛媛大・理・生物)

A. Kato & M. Inouhe: Sugar phosphates and sugar nucleotide compositions in azuki bean calli adapted to agar media containing mannose.

炭素源としてマンノース (Man) を含む培地に順応したアズキのカルス細胞は、Man からスクロース (Suc) を合成することによって成長する (加藤ら 2005 支部会)。しかし、どのような経路で Man が Suc に転換されるのかまだ不明である。本研究では Man が糖リン酸エステル (SP) や糖ヌクレオチド (SN) を経て Suc 合成に至る経路を検証した。まず、90mM の Suc と Man を含む MS 寒天培地に、各 1g の細胞を移植し 10~30 日間 25℃ で培養した。採取した細胞を 8% TCA で抽出し、酸性糖画分を HPLC と DEAE-Sephadex A-25 カラムで分離した。分離した SP 画分の糖含量は Suc より Man 培地の細胞の方が約 70% も高かった。SP 画分の組成を特異的な酵素法を用いて調べた結果、Man で増加する細胞の SP は Man-6-P と Fru-6-P で、G-6-P 量は一定であった。すなわち Man → Man-6-P → Fru-6-P の転換経路が実証された。一方、Suc 合成には Fru-6-P だけでなく SN である UDPG (または GDPG) が必要である。そこで、SN 画分を調べた結果、やはり Man 培地において細胞内の UDP 糖と GDP 糖濃度がそれぞれ 1.7~2.5 倍、2.5~4.1 倍に増加していた。今後、Man 培地で増加する SN 画分の糖組成を GLC や HPLC で解析し、Man から Suc への転換経路の全容を解明したい。

## B-02

酵母 *Yarrowia lipolytica* の glycerol 培地における銅の排出

○伊東裕康, 井上雅裕, 遠山鴻, 城尾昌範 (愛媛大・理・生物)

H. Ito, M. Inouhe, H. Tohoyama, M. Joho: Efflux of copper by yeast *Yarrowia lipolytica* in glycerol medium.

酵母 *Yarrowia lipolytica* は高濃度の銅に対して耐性を示すが、その機構に関しては未解明の部分が多い。*Y. lipolytica* を通常の栄養培地に銅を添加して培養した際、銅は細胞の不溶性分画に蓄積し、培養時間に伴ってその量を増加する。今回我々は種々の培養条件を検討した結果 *Y. lipolytica* により一度細胞内に蓄積された銅が定常期において著しく減少することを見出した。この現象は特に炭素源を glycerol にし、さらに培地のリン酸を制限すると顕著であった。細胞内の銅の低下は指数増殖期後期（培養 24 時間）から始まった。しかしながら、培養液を低温下に（約 4°C）、あるいは細胞を緩衝液に移すことにより減少は緩和される。このことから、glycerol 培地における銅含有量の低下はリン酸代謝に依存した銅排出機構による可能性が考えられる。

## B-03

GA 3-酸化酵素遺伝子 *AtGA3ox1* のフィードバック制御機構の解析

○山香賢治<sup>1</sup>, 金本理沙<sup>1</sup>, 松下茜<sup>2</sup>, 古本強<sup>1</sup>, 高橋陽介<sup>1</sup> (<sup>1</sup>広島大・院・理, <sup>2</sup>東京大・院・理)

K. Yamaka, R. Kanamoto, A. Matsushita, T. Furumoto and Y. Takahashi: Analysis of feedback regulation of gene encoding gibberellin (GA) 3-oxidase

ジベレリン (GA) は高等植物の発芽や伸長成長などを制御する植物ホルモンである。植物は GA 内生量の変動を自ら察知し、GA 生合成や分解にかかわる酵素遺伝子の発現を協調的に変化させる事で GA 内生量を一定の範囲内に維持する機構を備えている。活性型 GA の生合成過程の最終段階を触媒する GA 3-酸化酵素は、GA による負のフィードバック制御を受けることが知られており、GA の合成阻害剤を投与することによって GA の内生量を人為的に下げたときに遺伝子発現が転写レベルで上昇し、GA を投与したときには遺伝子発現が抑制される。

我々は現在までに GA 3-酸化酵素遺伝子の GA によるフィードバック制御機構の解明を目的とし、シロイヌナズナの GA 3-酸化酵素遺伝子 *AtGA3ox1* のプロモーター解析を行った。その結果、GA に負に応答するシス領域の決定と、そのシス領域に結合する転写因子として AT-hook モチーフをもつタンパク質 AGF1 を同定した。また、AGF1 に特異的に相互作用する Zn フィンガー型転写因子 ZAF1 を単離した。プルダウン法により、AGF1 と ZAF1 の *in vitro* での特異的結合を証明した。35S::ZAF1-GFP を発現する植物体において、蛍光顕微鏡を用いて解析した結果、ZAF1-GFP は核に局在することが明らかになった。

## B-04

蘚類における雌雄性と異形胞子の進化 —日本産ミノゴケ属を例に—

○坪田博美<sup>1</sup>, 畦 浩二<sup>2</sup>, 出口博則<sup>1</sup> (<sup>1</sup>広島大・院・理, <sup>2</sup>広島大・附属福山中高)  
H. Tsubota, K. Une and H. Deguchi: Evolution of sexuality and anisospory in mosses, with special reference to Japanese *Macromitrium* (Orthotrichaceae).

蘚類では、生殖器官が配偶体上で形成される位置、つまり雌雄性の違いが同じ系統群内で見られる。また、蘚類の多くの系統群で見られる矮雄も、雌雄性同様に性戦略に関わる形態のひとつと考えられる。一方、異形胞子を作る蘚類では、これらの性戦略と異形胞子の形成に関係があることが示唆されてきたが、どの程度系統を反映したものか明らかになっていない。そこで本研究では、異形胞子形成や雌雄性・矮雄がどの程度系統を反映したものか明らかにすることを目的として、日本産ミノゴケ属とその近縁属を例に研究を行った。系統解析の結果、日本産ミノゴケ属は単系統群となった。系統樹上に各形質を配置したところ、雌雄性については少なくとも日本産ミノゴケ属の基部で矮雄性異株の状態にあり、系統を反映した形質であった。一方、異形胞子形成はモミゴケ属を含むミノゴケ亜科内では派生的な形質であり、日本産ミノゴケ属内で最低2回変化していた。異形胞子形成は比較的限られた分類群にだけ見られる現象であるが、直接系統を反映した形質ではないことが示唆された。

## B-05

アナンデルカイメン *Radiospongilla cerebellata* から単離した共生藻の形態と系統

○中原美保<sup>1</sup>, 坪田博美<sup>1</sup>, 半田信司<sup>2</sup>, 益田芳樹<sup>3</sup>, 出口博則<sup>1</sup> (<sup>1</sup>広島大・院・理, <sup>2</sup>広島県環境保健協会, <sup>3</sup>川崎医大・生物)

M. Nakahara, H. Tsubota, S. Handa, Y. Masuda, and H. Deguchi: Morphology and phylogeny of symbiotic algae isolated from *Radiospongilla cerebellata*.

後生動物淡水海綿には原始細胞、襟細胞、芽球の貯蔵細胞などの細胞内に共生藻をもつものがある。淡水海綿の共生藻の存在については19世紀から報告があるが、共生藻のほとんどが zoochloellae としてまとめて扱われ、分類学的研究はほとんど行われていない。このため、1つの淡水海綿のさまざまな細胞に共生している藻類は同一種であるのか、あるいは宿主の淡水海綿の種によって共生藻が種特異性をもつかどうかについても明らかになっていない。淡水海綿は水中で生息する固着濾過摂食生物であるため、生体から細胞内に共生している藻類だけを確実に分離することが非常に困難である。これまで著者らは定量的な分離手法により、4種の淡水海綿（ヌマカイメン *Spongilla lacustris*、アナンデルカイメン *Radiospongilla cerebellata*、センダイカイメン *R. sendai*、ヨワカイメン *Eunapius fragilis*）の生体と芽球から共生藻を単離し、細胞が小型の共生藻がトレボウクシア藻綱の *Choricystis minor* であることを確認した。さらに2004年8月18日に広島県三次市で採集したアナンデルカイメンの芽球から *C. minor* と同時に *Choricystis* とは異なる単細胞性の緑藻を単離した。本研究では、その共生藻の形態学的特徴と18S rRNA 遺伝子を用いた系統解析の結果を報告する。

## B-06

ヒガンバナ(2n=3x=33)の稔性 — 野外観察と授粉実験 —

○村松幹夫 (岡山大・名誉教授)

M. Muramatsu: Seed fertility of *Lycoris radiata* (2n=3x=33) under field conditions and by a pollination experiment.

ヒガンバナ(*Lycoris radiata* Herb., 2n=3x=33)は本州、四国、九州の人里周辺に広く分布し、畦畔や道路に多いが、牧野植物図鑑(1960年版など)に「子房は下位で、緑色、成熟しないので種子は出来ない」と記されるなど、同質三倍体による不稔植物として広く知られている。本報告者は野生条下で、自然結実したヒガンバナ花茎を認めることがあった。そこで、詳細な野外観察・調査や栽植株による授粉実験を行った。なお、ヒガンバナは花粉不良だが葯が裂開する。

自然結実調査には1994年から予備観察を行い、観察が容易な河川堤防、寺院境内、公園周縁の垣など、比較的安定し概ね人手が加わらない7ヶ所を選んだ。調査を継続した結果、水田畦を除き各地点で結実茎を認めた。そこで、1地点をえらび2ヶ年にわたり調査したが18本の結実茎を見出した。調査した結実種子に大小の差があったが、それらすべてを一応、正常配偶子間の種子としても種子稔性は0.016と0.019%であった。同質三倍体に期待されるよりも低い。このことは授粉に関係があると考えられ人為授粉を試みた。授粉は開花直後から終了まで毎日自家授粉を繰り返したが、比較的少数の供試花から種子が1粒得られた。種子稔性は0.25%であった。完全不稔でなく極めて低稔性の植物と受けとめるべきである。

## B-07

核リボゾーム遺伝子を用いた日本産スゲ属植物の分子系統学的研究

○正木智美, 星野卓二 (岡山理科大学・総情・生地)

T. Masaki & T. Hoshino: Molecular phylogenetic studies of Japanese *Carex* (Cyperaceae) based on nuclear ribosomal sequences

カヤツリグサ科スゲ属植物は日本に300種以上が存在しており、1属あたりの種数は高等植物の中で最も多い。ところが、形態が単純であるため、亜属や節の分類は研究者により異なり統一した見解はない。

そこで本研究では、日本産スゲ属植物34節113種、外群としてカヤツリグサ科6属の核リボゾーム遺伝子ITS、ETS1fを用いて分子系統学的解析を行い、日本産スゲ属の系統関係を明らかにすることを目的とした。

その結果、日本産スゲ属植物は次の3つのクレードに分かれた。1) スゲ亜属タガネソウ節: 小穂は雌雄性で葉幅が広く、染色体数は2n=12とスゲ属内で最も少ないことから原始的な分類群であると考えられる。2) マスクサ亜属と外群3属(*Uncinia*, *Schoenoxiphium*, *Kobresia*): 花序が稈の上部に集まってつく点で支持される。3) スゲ亜属: スゲ亜属はほぼ単系統であったが、ナキリスゲ節とジュウモンジスゲ節は雄雌性の小穂を総状につけ、他の節とは別系統であることが示された。

以上のことから、スゲ亜属タガネソウ節は独立した新亜属として位置づけられ、日本産スゲ属植物は3亜属に分けられることが示唆された。また、外群の3属(*Uncinia*, *Schoenoxiphium*, *Kobresia*)はマスクサ亜属に含まれることが明らかとなった。

スゲ属イワカンスゲ節には日本で 11 taxa が報告されている。そのうち、南西諸島、九州、四国、近畿地方に分布するイワカンスゲ近縁種は南方由来の分類群と考えられている。しかし、北方系の種が多いスゲ属植物の中で、南方系の種分化に関する研究は少ない。本研究では、南西諸島から近畿地方に生育するイワカンスゲ近縁種の形態と分子系統の解析を行い、イワカンスゲ近縁種の系統を明らかにすることを目的とした。

核リボソーム遺伝子 ITS 及び ETS 1f を用いた分子系統樹は、南西諸島に生育するグループが先に分化し、その後、九州以北に生育するグループが分化したことを示した。このことから、イワカンスゲ近縁種は分布域を南から北東へ広げながら分化したものと推定できた。しかし、九州以北に生育するグループのコイワカンスゲには多型があり、グループ内の系統関係は明らかにできなかった。そこで、葉緑体遺伝子 *trnT-L-F* の塩基配列の解析を行った。その結果、分類群ごとの多型は見られず、イワカンスゲ、ミヤマイワスゲ、カンサイイワスゲは 100%一致した。しかし、これら 3 taxa とコイワカンスゲ間には 12bp の置換と 2bp の挿入欠失が確認できた。このことから九州から近畿地方に生育するイワカンスゲ近縁種には 2 系統があることが明らかになった。