

第 11 回講演会要旨

平成 14 年 6 月 22 日(土)にサゴヤシ学会第 11 回講演会が開催された。

当日は以下の 13 本の講演があったが、近くオリジナル論文として発表予定のものを除き、本号では 3 本を掲載する。なお、図表や写真の一部は編集の都合上、割愛してある。

1. サゴ澱粉を用いたくずきりの調理・加工特性

濱西知子・平尾和子・貝沼圭二¹⁾・高橋節子
共立女子大学家政学部 ¹⁾生物系特定産業技術研究推進機構

2. ヤシ科植物の種子と発芽初期について

矢野義治・岡崎正規¹⁾
ジョグリーンテック(株) ¹⁾東京農工大学 BASE

3. サゴヤシ属が產生する浸透圧調節物質の定量

広津紗和・岡崎正規・豊田剛己・関 勝之・辻本浩子・Young-Sik HAM・A.P. POWER¹⁾
東京農工大学 ¹⁾Sago Industries Limited, Papua New Guinea

4. Genetic relationships of sago palm species in Papua New Guinea by RAPD analysis

Lani Llego CELIZ・Koki TOYOTA・Masanori OKAZAKI・A.P. POWER¹⁾・Angelo R. JOSUE²⁾
Tokyo University of Agriculture and Technology ¹⁾Sago Industries Limited, Papua New Guinea ²⁾Central
Mindanao University, Philippines

5. タイヘイヨウゾウゲヤシ (*Metroxylon amicarum*) の生産生態

江原宏・内藤整¹⁾・三島隆・溝田智俊²⁾・松井もえ・J. PHILLIP³⁾・J. SOUND⁴⁾
三重大学 ¹⁾倉敷芸術科学大学 ²⁾岩手大学 ³⁾College of Micronesia ⁴⁾Department of Agriculture, Chuuk

6. サゴヤシ内生細菌に関する基礎研究

豊田剛己・岡崎正規
東京農工大学 BASE

7. 幹立ち時におけるサゴヤシの幹と葉の諸形態

中村聰・後藤雄佐¹⁾・新田洋司²⁾
宮城県農業短期大学 ¹⁾東北大学大学院農学研究科 ²⁾茨城大学農学部

8. サゴヤシの葉面積の解析方法

中村聰・後藤雄佐¹⁾・新田洋司²⁾
宮城県農業短期大学 ¹⁾東北大学大学院農学研究科 ²⁾茨城大学農学部

9. サゴヤシの幹立ち後年数に伴う葉形質の変化

山本由徳・大森一輝・新田洋司¹⁾・角田憲²⁾・Y.B. PASOLON³⁾・R.S. GUSTI³⁾・宮崎彰・吉田徹志
高知大学農学部 ¹⁾茨城大学農学部 ²⁾山形大学農学部 ³⁾Haloueo 大学

10. サゴヤシ幹立ち後年数に伴う地上部の器官(部位)別乾物重と乾物率の変化

山本由徳・大森一輝・新田洋司¹⁾・角田憲一²⁾・Y.B. PASOLON³⁾・R.S. GUSTI³⁾
宮崎彰・吉田徹志
高知大学農学部 ¹⁾茨城大学農学部 ²⁾山形大学農学部 ³⁾Haluoco 大学

11. サゴヤシ茎中心部基本柔組織におけるデンプン蓄積に関する走査電子顕微鏡観察

生長点およびその基部側組織におけるプラスチド——アミロラスト系の様相

新田洋司・本多舞・中村聰¹⁾・後藤雄佐²⁾・松田智明
茨城大学農学部 ¹⁾宮城県農業短期大学 ²⁾東北大学大学院農学研究科

12. 葉位が異なるサゴヤシ葉柄におけるデンプン蓄積に関する電子顕微鏡観察

本多舞・新田洋司・中村聰¹⁾・後藤雄佐²⁾・松田智明
茨城大学農学部 ¹⁾宮城県農業短期大学 ²⁾東北大学大学院農学研究科

13. デンプン蓄積性ヤシの分子育種(第1報): *Caryota urens* 葉からのカルス誘導

荻田信二郎^{1,2)}・山口タ¹⁾
¹⁾奈良先端科学技術大学院大学遺伝子教育研究センター ²⁾バイオテクノロジー開発技術研究組合

Determination of Osmoregulating Compounds in Sago Palm

Sawa HIROTSU¹⁾, Masanori OKAZAKI¹⁾, Koki TOYOTA¹⁾, Yoshiharu YANO¹⁾,
Katsuyuki SEKI¹⁾, Hiroko TSUJIMOTO¹⁾, Young-Sik HAM¹⁾, Anthony P. POWER²⁾

¹⁾Tokyo University of Agriculture and Technology, Koganei, Tokyo 184-8588 Japan

²⁾Sago Industries Limited, Port Moresby, Papua New Guinea

サゴヤシ属が産出する浸透圧調節物質の定量

広津紗和¹⁾・岡崎正規¹⁾・豊田剛己¹⁾・関勝之¹⁾・辻本浩子¹⁾・Young-Sik Ham¹⁾・A. P. Power²⁾

¹⁾東京農工大学 ²⁾Sago Industries Limited, Port Moresby, Papua New Guinea

Introduction

There has been no information on osmoregulating compounds in sago palm even though sago palm can grow in brackish water areas. Among osmoregulating compounds proline (Pro) and glycinebetaine (GB) are familiar in plants and microorganisms. Pro is an important free amino acid in plants and is induced very much under the salt-stressed condition, resulting in accumulation of Pro in cytoplasm (Stewart

and Lee, 1974). On the other hand, GB forms an inner salt with a quaternary ammonium group and a carboxyl group and has the function of acceleration of DNA transfer and reproduction as well as of controlling the inside pressure of the cell against the outside pressure (Nishimura et al., 2001a). To make a balance of the osmotic potential between the cytoplasm and the vacuole GB accumulates in the cytoplasm (Storey et al., 1977) and remains fairly constant throughout the plant growing season.

Table 1 Pro and GB concentrations in sago palms

Species	Common name	Pro mmol kg ⁻¹	GB DW	Pro/GB	Literature
Leaf sample					
<i>Metroxylon sagu</i> wild 92	sago	12	15	0.80	this study
<i>Metroxylon sagu</i> semi-wild 83	sago	36	nd	—	this study
<i>Metroxylon salomonense</i> 1–1	sago	290	4.3	67	this study
<i>Metroxylon salomonense</i> 1–2	sago	260	2.6	100	this study
<i>Spartina alterniflora</i>		11*	130*	0.0077	Cavalieri
		4.3*	110*	0.039	and Huang (1981)
<i>Spartina anglica</i>		3.1*	49*	0.063	Mulholland and Otte (2001)
Root sample					
<i>Metroxylon sagu</i> wild 96	sago	70	4.0	18	this study

*FW bases

The objective of this study is to determine GB, Pro and Pro/GB ratio in sago palm in comparison with those of other halophytes (salt-tolerant plants).

Materials and Methods

1) Sago palm samples

Sago palm seedlings were collected from Papua New Guinea in Oct. of 2001 and are growing in a temperature-conditioned room of green house with an agricultural heating system, which can control more than 25°C. There is no salt-stressed condition. Fresh leaf and root samples were taken from the seedlings with several leaves (7 months after germination).

2) Extraction of osmoregulating compounds from sago palm samples

About 1 g of fresh samples was extracted with 5 mL water in a 10 mL glass tube in 80°C water bath for 20 min. After cooling, the supernatant was filtered with 0.22 μm Milipore filter. To 0.2 mL of filtrate, 0.05 mL of 500 mmol L⁻¹ sodium dihydrogen phosphate solution (filtered through 0.45 μm Milipore filter) including 0.25 mmol L⁻¹ benzylamine (BA) solution as an internal standard were added (Nishimura et al., 2001b).

3) Determination of osmoregulating compounds in sago palm samples

The osmoregulating compounds were determined

by capillary electrophoresis (Waters Quanta 4000E). It was used with a fused-silica capillary of 75 μm in diameter, total length of 75.5 cm (effective length 68 cm) at 25°C. The samples were injected in the hydrostatic mode. Applied potential was 25 kV. Peaks of the samples were monitored at 185 nm with positive power supply by direct UV method. A hundred mmol L⁻¹ sodium dihydrogen phosphate solution at pH 2.3 was used as electrolyte solution. Pro and GB were determined by calibration curves with good linearity.

Results

The concentration and composition of osmoregulating compounds in leaf and root samples of sago palm are shown in Table 1. The great difference of Pro concentrations between the wild and semi-wild type of *Metroxylon sagu* was indicated. Relatively low concentration of GB was observed in the wild type and semi-wild type of *Metroxylon sagu*. The Pro concentrations of *Metroxylon salomonense* were at least 7 fold higher than those of *Metroxylon sagu* and other halophytes. However, the GB concentration of *Metroxylon salomonense* was markedly lower than those of *Metroxylon sagu*. The Pro/GB ratios of all of the samples varied from 0.80 to 100.

GB concentrations in sago palms were lower than those of other halophytes (Cavalieri and Huang,

1981; Mulholland and Otte, 2001).

Meanwhile, the root sample of wild type of *Metroxylon sagu* gave higher concentration of Pro and lower concentration of GB than those of the leaf samples.

Discussion

Sago palms can grow in the brackish areas con-

tinuously affected by sea water. High concentration of salt in water gives a stress to sago palms with respect to osmotic pressure. Sago palms may induce Pro under salt stress. It should be required to try a growing experiment of sago under the different salt condition.

タイヘイヨウゾウゲヤシ (*Metroxylon amicarum*) の生産生態

*江原宏・内藤整¹・三島隆・溝田智俊²・松井もえ・J. Phillip³・J. Sound⁴

三重大学・¹倉敷芸術科学大学・²岩手大学

³College of Micronesia・⁴Department of Agriculture, Chuuk

Production Ecology of Ivory Nut Palm (*Metroxylon amicarum*) in Micronesia

*H. Ehara, H. Naito¹, T. Mishima, C. Mizota², M. Matsui, J. Phillip³, and J. Sound⁴

Mie University, ¹Kurashiki University of Science and The Art, ²Iwate University

³College of Micronesia, ⁴Department of Agriculture, Chuuk

カロリン諸島の中・東部に位置するミクロネシア連邦には、*Metroxylon* 属 *Coelococcus* 節のタイヘイヨウゾウゲヤシ (ivory nut palm: *Metroxylon amicarum* Becc.) が分布することが知られているが、本種の生産特性など農学的視点からの調査はほとんど行われていない。そこで本研究では、チューク州とポンペイ州において *M. amicarum* の生産生態を調査した。

調査概要

調査は、2001 年 8 月 19 日から 31 日にかけてカロリ

ン諸島 (Caroline Is.) の中部に位置するミクロネシア連邦のトラック諸島にあるモエン島 (Moen) とウマン島 (Uman), 東部に位置するポンペイ島 (Pohnpei) において実施し、生育環境、利用の実態、形態的特徴、収量および収量構成要素を調査した。

(1) 生育環境

第 1 表に各調査地点と地方名を示した。チューク州とポンペイ州では使用言語が異なっており、タイヘイヨウゾウゲヤシの呼称も異なる。各地点の生育環境は次ぎに

Table 1 Research sites and plant materials in Micronesia.

Research site	Lat. and long.	Alt. (m)	Sample	Vernacular name
Moen	7°26'N 151°51'E	25	MON-1	Foun rüpwung
		25	MON-2	Foun rüpwung
Uman	7°18'N 151°53'E	40	UMN-1	Foun rüpwung
Pohnpei	6°54'N 158°17'E	15	PNI-1	Oahs (Ohs)

Table 2 Morphological characteristics indicating plant type of *M. amicarum*.

Sample	Plant ht. (m)	Inflorescence lgth. (m)	Trunk lgth. (m)	Diam. (cm)	Leaf scar no.	Leaf scar int. (cm)	Leaf no. ¹⁾
MON-1	19.30	3.73	8.85	50.0	34	25.3	18 (2)
MON-2	10.95	3.55	7.40	54.1	40	18.1	18 (1)
UMN-1	20.69	1.56	14.00	34.6	78	17.7	12 (2)
PNI-1	16.20	2.34	12.60	40.8	79	15.8	17 (0)
Mean	16.79	2.80	10.71	44.9	57.8	19.2	16.3

¹⁾ Numerals in the parenthesis are dead leaf number.

Table 3 Starch and sugar yield and their components of *M. amicarum*.

Sample	Pith f.w./U. cube (g/cm ³)	DM % of pith	Pith d.w./ trunk (kg)	Starch cont. of pith (%)	Sugar cont. of pith (%)	Starch yield (kg)	Sugar yield (kg)
MON-1	0.779	20.0	236.1	41.0	10.3	96.8	24.3
MON-2	0.794	14.6	182.6	51.0	10.0	93.1	18.3
UMN-1	0.813	12.3	174.7	21.0	7.7	36.7	13.5
PNI-1	0.789	16.9	208.3	42.3	12.0	88.1	25.0
Mean	0.794	16.0	200.4	38.8	10.0	78.7	20.3

示す通りである。

モエン島

調査地点は、標高およそ 25 m の、隆起したサンゴ石灰岩のほぼ平坦な段丘上に立地している。土壤はサンゴ石灰岩の碎片を多く含む、重粘な黄色土であり、土層の分化がほとんど認められない。土壤は半湿性で、貧栄養の Inceptisols である。調査を行った時期の土壤は過湿で飽水しており、この付近の年間降水量が 5000 mm に達することに対応していた。

ウマン島

調査地点は、標高およそ 40 cm に位置し、玄武岩の巨細礫が散在し、小河川に直接隣接している。一部には基岩が露出しているところもある。25 度位の急傾斜地にあるために、土層の発達は未熟で、概ね 10 cm 程度と大変薄い。しかし、母岩は塩基性の玄武岩であり、発達が未熟であることから自然肥沃度は比較的良好であると推察される。付近にはパンの木が数多く植栽されている。土壤は Inceptisols に分類される。

ポンペイ島

調査地点は、標高 15 m 程度の玄武岩流の緩斜面に位置し、Uman の例と同様に小溪流のすぐ側に立地している。

土壤の厚さは 50 cm 程度、部分的には 1 m 程度あるところも観察される。粘土の含量が高く、風化物の厚さが厚いことから、土壤の風化段階は比較的進んでいることが周辺の土壤の露頭観察から推察できる。地域の一部は家庭菜園に利用されている。土壤の天然肥沃度はあまり高くないと推定される。土壤は赤色系の風化の進んだ Inceptisols に分類される。

(2) 利用

モエン島では葉柄に着生したままの小葉を切り揃えた柄付き筍(1 本 US\$2)と小葉を利用した屋根葺き材(1 枚 US\$2.5)としての利用が主である。柄付筍はモエンのほとんど全ての家庭で使われているといわれるほど現在でも多く利用されているが、民家が屋根葺き材として本種の小葉を使う機会は減少しているのが実状である。一方、観光施設や公共施設では、伝統的スタイルのディスプレーといった意味合いで本種小葉を使った屋根葺き材が広く使われている。他方、ポンペイ島ではバームアイボリーと呼ばれる硬い胚乳を工芸品の材料として利用している(US\$4~12 の製品が多い)。

日本時代にモエン島では籠からのデンブン採取が行われたこともあったが、現在では何れの地域でもデンブンの利用はみられない。

(3) 生産生態

本属は小葉厚は 0.39 mm と厚いが、葉面積当たりクロロフィル含量が $48.7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ と低く、無機成分含量が全体に低いことが特徴的であった。また、本種は花序が上位葉の各葉腋から抽出する点が形態的に他種と大きく異なる。

成熟期の樹型は *Metroxylon* 属の中で大形の *M. salomonense* や *M. sagu* と比べても大きいが(第 2 表)、ヴァヌアツに分布する *M. salomonense* や *M. warburgii* と同様に髓乾物率とデンプン含量が低いためにデンプン生産量は高くなかったが、全糖含量は平均 10% と比較的高かった(第 3 表)。

デンプン蓄積性ヤシの分子育種(第 1 報): *Caryota urens* 葉からのカルス誘導

荻田信二郎^{1,2)}・山口夕¹⁾

¹⁾奈良先端科学技術大学院大学・遺伝子教育研究センター

²⁾バイオテクノロジー開発技術研究組合

Molecular breeding of starch accumulative palms (I):
Callus induction from leaves of *Caryota urens*

Shinjiro OGITA^{1,2)} and Yube YAMAGUCHI¹⁾

¹⁾Research and Education Center for Genetic Information, Nara Institute of Science and Technology,

²⁾Research Association for Biotechnology

1. はじめに

ヤシ科に属する植物種は、主に亜熱帯から熱帯地方の湿润地域から半乾燥地域まで幅広く分布しており、現在までに約 3800 種が確認されている。これらの中で樹幹にデンプンを蓄積するヤシ植物が知られており、主要なものとしては *Arenga*, *Caryota*, *Eugeissoana*, *Corypha* および *Metroxylon* の 5 属が挙げられる。熱帯地域においては、デンプンが採集され、主に食用デンプンとして利用されている。また、近年高いデンプン生産性が注目され、工業原料としての用途拡大が期待されている。例えばヤシデンプンのアルコール変換による石油代替エネルギーとしての利用も考えられている。ヤシ植物の持つ食用・工業用原料としてのポテンシャルは、木本植物の中でも極めて高く類を見ないものであり、持続的に利用可能な生物資源として非常に興味深い。

私たちは、ヤシ植物の持つ環境適応能力や有用代謝能カ=デンプン生産能を積極的に利用するために、細胞・組織培養法を用いた大量増殖技術の確立、さらに分子育種技術を応用した「高品質デンプン高蓄積性ヤシ」の生産技術確立による未利用熱帯木本資源の開発を目指してい

る。本講演では、花序や蓄積デンプンが現地住民に食用あるいは薬用として重用されるものの、特に大規模な育種・栽培の対象とはされていないヤシ植物の一種である *Caryota urens* (クジャクヤシ)について、今までの研究進捗状況を報告する。

なお本研究は、平成 14 年度 日本学術振興会 热帯生物資源研究助成事業「未利用熱帯木本資源の持続可能な開発のための分子育種技術の確立: Application of Molecular Breeding for Sustainable Development of New Tropical Bio-resources」の一環で行っている。

2. 材料の採取地

研究を進めるにあたり、Sri Lanka, Coconut Research Institute の Vijitha Vidhanaarachchi 氏のご好意により *Caryota urens* の種子を入手した。種子は 2000 年 9 月に Sri Lanka の中央部、Kandy 近郊に自生する *Caryota urens* 個体から採取された。

3. 種子の発芽

種子を発芽させるため、1) 川砂に 12 粒、2) 混合土 A (赤玉土(下層) / バーミキュライト(上層)) に 12 粒、さら



図1 種子の発芽状況(混合土B)

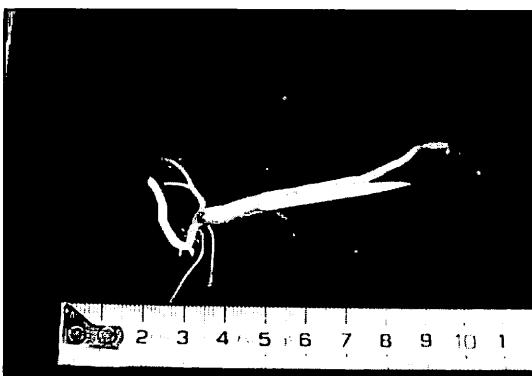


図2 Caryota urens の発根・発芽(3ヶ月)

表1 Caryota urens 種子の発根・発芽状況
(播種後 6ヶ月)

播種床	未反応種子		反応種子
	種子根のみ	発根・発芽	
川砂	6/12 ^b	5/12	1/12
混合土A ^a	9/12	3/12	0/12
混合土B	6/18	5/18	7/18

^a混合土Aについては下層土の上に播種し、上層土を被せた。

^b(未)反応数/供試数

に3) 混合土B(バーミキュライト: ピートモス=1:1)に18粒播種し、温室内で栽培した。播種後1ヶ月を経過する頃から、順次種子根の伸長が認められ始め、3-6ヶ月で図1および2に示すように発根・発芽した。6ヶ月目の発根・発芽状況を表1にまとめた。Caryota urensの種子は、通常の挿し木や播種床に用いられる川砂や、熱帯樹木の



図3 混合土Bで生育した Caryota urens

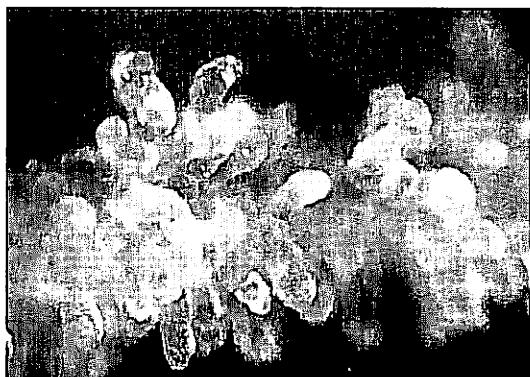


図4 展開葉より増殖した細胞(3ヶ月)

播種床に用いられている混合土Aに比べて、バーミキュライト: ピートモス=1:1の混合土において良好に発根・発芽した。

4. カルス誘導条件の検索

混合土Bより図3のように生育したCaryota urens個体から展開葉(成熟葉)、未展開葉(未成熟葉)、茎を採取した。これら植物組織は次のような手順で滅菌処理を行った。中性洗剤を滴下した流水中で5分間洗浄した後、70%エタノール中で5分間、次いで、有効塩素濃度2%

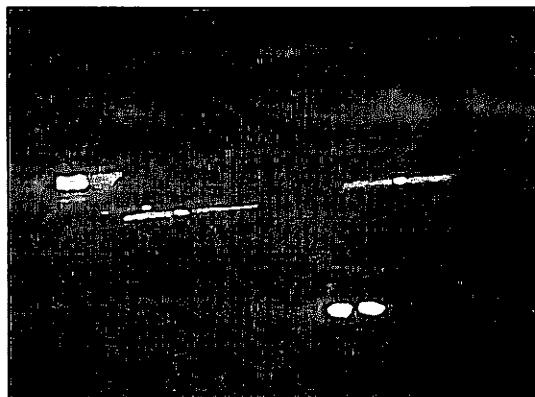


図 5 未展開葉での GFP 発現(30 時間後): 白い点は GFP を発現した細胞を示す。

NaClO (tween 80 滴下) 液中で 10 分間洗浄した。この処理により、ほとんどの植物組織を無菌化できた。

カルス誘導条件の検索には MS, 無機成分を 1/2 に減らした改変 MS (m1/2MS) およびアミノ酸類を多量に含む改変アミノ酸培地 (mAA) を用いた。なお、すべての培地には炭素源としてサッカロースを 30 g/l, 各種植物ホルモンを加えて、pH を 5.6 に調節した後、培地固化剤としてゲランガムを 3 g/l 加えてオートクレーブによって滅菌した。

まず、サイトカイニンの種類と濃度を検索した。アデニンタイプのサイトカイニンである 2-isopentenyladenine (2ip) およびフェニルウレアタイプのサイトカイニンである N-phenyl-N'-1,2,3-thidiazol-5-ylurea (thidiazuron; TDZ) を 1, 10 μM の濃度でそれぞれの培地に添加し、未展開葉を 28°C 暗黒条件で培養した。その結果 TDZ が葉の切断面からの細胞増殖に有効である傾向が認められた。次いで TDZ を 1 μM にオーキシンである 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) を 1, 10, 100 μM の濃度で組み合わせた条件を設定し、展開葉、未展開葉、および茎を暗黒条件か明条件(16 時間日長、蛍光照明 30–35– $\text{mol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)で培養した。

10 μM 以上の高濃度オーキシンの添加によって植物組織は枯死に至った。また、茎はいずれの条件でもほぼ未反応であった。結果として、TDZ および 2,4-D を 1 μM

づつ組み合わせて添加した MS または mAA 培地、暗黒条件で展開葉、未展開葉を 1–3 ヶ月培養することによって、葉全体が肥大傾向を示すと同時に主に切断面より細胞が増殖していくことが分かった(図 4)。しかし、培養を継続すると 6 ヶ月程度で葉や増殖した細胞が褐色に変色して、培地中に多量のフェノール性物質が放出され、カルスの増殖を急激に阻害することも明らかになった。今後、PVP や活性炭などの添加により褐色化の防止や、フェノール性物質の除去を行う必要があると判断できた。

5. パーティクルガンによる GFP 遺伝子の導入

Caryota urens の分子育種に取り組むにあたって、最初にパーティクルガン法によって GFP (Green Fluorescent Protein) 遺伝子の導入を行い、一過性の遺伝子発現を確認した。用いたプラスミド DNA は pUC18 にカリフラワーモザイクウイルス: CaMV35S プロモーター、sGFP (S65T) および NOS3' を組み込んだものである。金粒子へプラスミド DNA をコーティングし、パーティクルガン(Bio-Rad 社, PDS-1000/He)によって *Caryota urens* の展開葉(成熟葉)、未展開葉(未成熟葉)、茎、葉由来の培養細胞に導入した。

導入後、3–6 時間経過すると、未展開葉および培養細胞において GFP の蛍光が検出された。一方、展開葉や茎など、より成熟した組織においてはこの時点で GFP 特異的な蛍光は検出できなかったが、30 時間経過後には弱いながらも蛍光が観察された。未展開葉および培養細胞では GFP 蛍光が多数観察された(図 5)。これにより、CaMV35S プロモーターの有効性が示され、*Caryota urens* の分子育種が可能であることが示唆された。今後、増殖したカルスからの再分化系を確立し、形質転換を行う予定である。

6. 謝辞

本研究を行うにあたり *Caryota urens* の種子採取にご尽力いただいた Sri Lanka, Coconut Research Institute の Vijitha Vidhanaarachchi 氏、種子の発芽試験にご協力いただいた、住友林業株式会社 筑波研究所 バイオ・環境グループ 中村健太郎氏に心から感謝いたします。