

平成 21 年 12 月 9 日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18370036
 研究課題名（和文） 被子植物雌蕊における花粉管伸長と受精様式の多様性と進化：特にブナ目について
 研究課題名（英文） A diversity and evolution of the mode of pollen-tube growth and fertilization in angiosperms, and particularly in Fagales
 研究代表者
 戸部 博（TOBE HIROSHI）
 京都大学・大学院理学研究科・教授
 研究者番号：60089604

研究成果の概要：

被子植物の雌蕊における花粉管伸長の様式の多様性と受精様式について、特にブナ目のヤマモモ科、ブナ科、Tidodendraceae について研究を行った。その結果、花粉管は、胚珠の発生と成熟に伴い、柱頭から胚嚢まで3 - 5段階の断続的伸長によりただ1本に減数して受精すること、受精遅延と花粉管の断続伸長は雌雄配偶体（花粉管及び胚珠内胚嚢）の選抜に重要な役割を果たしていること、断続伸長における花粉管の休止位置は近い系統群内では一致していることが明らかになった。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	5,700,000	1,710,000	7,410,000
2007年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
2008年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
0年度	0	0	0
0年度	0	0	0
総計	13,400,000	4,020,000	17,420,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

キーワード：被子植物、ブナ目、花粉管、受精様式、トチュウ、サクライソウ科、ショウブ科、進化、多様性

1. 研究開始当初の背景

植物にとって花は生殖の場であり、そこで行われる受精は次世代の子孫を残すための重要なイベントである。多くの植物では受粉によって雌蕊の柱頭に付着した花粉が子房の奥深くへ花粉管を伸ばし、1, 2日間で受精に至る。しかし、本研究の対象であるブナ目の植物では、受粉時に胚珠が未熟なため、受粉から受精までに要する時間が数週間から1月、2月かかることが知られていた。本研究課題の開始前までに、研究代表者と分担

者は各種の顕微鏡を駆使して、ブナ目の2科（モクマオウ科、カバノキ科）の植物における花粉管の行動を追跡し、そのユニークな特徴を明らかにしてきた（Sogo et al., 2004a, b; Sogo and Tobe, 2005）。

すなわち、モクマオウ科とカバノキ科においては、多くの被子植物に見られる珠孔受精ではなく、合点受精が見られること（即ち、花粉管は珠孔を通らず、合点側から胚珠の組織を突き破って侵入し、胚嚢に至る）さらに珠孔受精、合点受精に関わらず、花粉管は

柱頭から胚嚢内の卵細胞に到達するまでに、モクマオウ科では5段階、カバノキ科では4段階の断続的伸長を示すことを明らかにした。

花粉管の断続的伸長には、雌蕊や胚嚢の発達程度が深く関わっている。胚珠（珠孔あるいは合点）までの花粉管誘導には、成熟した胚嚢ではなく、珠孔あるいは合点組織が直接誘導している。風媒植物であるブナ目では、多量の花粉が柱頭で発芽して花粉管を伸ばす。花粉管は胚嚢に近づくにつれ数が減り、最後は1本に減少する。一方、子房内で実際に受精する胚珠数（モクマオウ科の場合は、胚嚢数）もただ1個だけ選抜される。これらの事実から、花粉管の断続的伸長は、雌雄配偶体の相互選抜に寄与していると考えられる。

2. 研究の目的

本研究課題は、ブナ目8科の中で最も進化した群であるヤマモモ科（ヤマモモ）、原始的群であるブナ科、モクマオウ科やカバノキ科に近縁な Ticodendraceae などへと観察を広げ、ブナ目における花粉管伸長様式に関する共通性と多様性を明らかにすることを目的として行われた。また、以前から受粉と受精の間に時間差があることが知られていた風媒植物のトチュウ科、系統的には離れているが花粉管伸長に関して未知の植物群である幾つかの単子葉植物のショウブ科も加えて、花粉管伸長様式に関する多様性を追跡した。

3. 研究の方法

ヤマモモ科（ヤマモモ）、ブナ科（イヌブナ）、Ticodendraceae（*Ticodendron incognitum*）、トチュウ科（トチュウ）、サクライソウ科（オゼソウ）、ショウブ科（ショウブ、セキショウ）の受粉時から受精までにある、いろいろな発生段階にある花を、ほぼ数日から1週間おきに野外で採集した。採集した花はFAA（フォルマリン+酢+50%エタノール = 5:5:90）で固定した。

これらの試料から雌蕊を切り出し、以下のような方法で花粉管の伸長を観察した。

- (1) 雌蕊をナイフで縦に切り、ハイターの希釈液（1g/100ml）が入った小さなガラス瓶に入れ、一晩つけて脱色する。
- (2) 試料の入ったガラス瓶に1N NaOHを入れ、そのまま60℃の恒温槽に3時間入れる。
- (3) 試料をガラス瓶から取り出し、スライドガラスの上に置く。この際、スライドガラスの左右に18mm四方のカバーガラスを置き、その中央に切断面が上になるようにする。
- (4) 試料の周りから液（1N NaOH）をふき

取り、その上からアニリン・ブルーを加えて、すぐに蛍光顕微鏡で観察する。

4. 研究成果

(1) ヤマモモ科

ヤマモモ受粉から受精まで約6-7週間かかる。その間、花粉管は、柱頭から子房室、子房室から珠心表面、珠心表面から胚嚢まで、すなわち3段階の断続伸長によって受精に至ることが明らかになった（Sogo and Tobe, 2006a）。この過程で、柱頭で発芽した無数の花粉管は、最後にただ1本のみ受精に至ることが明らかになった。

また、ヤマモモの花粉管は「珠孔」形成前に珠心（あるいは胚嚢）に到達する。しかし、受精後の胚珠では、あたかも花粉管が「珠孔」を通過してきたかのように見えるため、本来の珠孔受精とは区別できる。ヤマモモに見られる受精様式を「偽珠孔受精」（pseudoporogamy）と命名し、珠孔受精から、合点受精を経て、偽珠孔受精へと進化したとする仮説を得た（Sogo and Tobe, 2006b）。

(2) ブナ科

イヌブナでは受粉から受精まで約5週間かかる。この間、花粉管は、柱頭から子房室（珠柄表面）、子房室（珠柄表面）から珠孔近く、珠孔近くから胚嚢まで、すなわち3段階の断続伸長によって受精に至ることが明らかになった（Sogo and Tobe, 2006c）。ヤマモモの場合とは異なる場所で花粉管伸長が停止するが、この過程で、柱頭で発芽した無数の花粉管は、最後にただ1本のみ受精に至る点では一致する。

(3) トチュウ科

トチュウでは、受粉から受精まで数週間かかる。発生学的研究によれば、受粉後花粉管は11-13日かけて3段階の断続伸長によって胚嚢に到達する。すなわち、柱頭から胎座組織内へ、胎座組織内から珠柄を通過して肥大化した珠皮先端組織へ、珠皮先端から胚嚢へ、である。この過程で、多数あった花粉管が第二段階で数本へ、大第三段階でただ1本へと減少することが確かめられた。このことから、花粉管が示した3段階の断続伸長は受粉時における花粉管選抜に機能をもっている。時には、長い珠孔もまた花粉管を数本から1本へ減少させる働きをもっている。ブナ目数種における花粉管伸長様式と比較すると、トチュウのそれは全く異なるが、このことがトチュウが始新世《しんせい》初期（early Eocene）以来生き残ることができた理由かもしれない（Sogo and Tobe, 2006d）。

(4) Ticodendraceae

中央アメリカに固有の *Ticodendron*

incognitum では、受粉から受精までかかる期間は不明だが、少なくとも他のブナ目の種と同様受粉時には胚珠はまだ未成熟である。発生学的研究によれば、この種の花粉管は柱頭から胚嚢まで5段階の断続伸長を経て受精に至ることが明らかになった。すなわち、柱頭から花柱まで、花柱から子房室上部の組織へ、子房室上部から珠柄へ、珠柄から(合点)を通して胚嚢へ、の5段階を経る合点受精を示す。この間に花粉はただ1本だけ残り、子房室内の4胚珠のうち1個の胚珠に受精する。受精遅延と花粉管の断続伸長は、他のブナ目の場合と同様、雌雄配偶体選抜に寄与している。しかも、花粉管の5段階断続伸長はTicodendraceae、モクマオウ科、カバノキ科の進化系列にとって共通の特徴であることも明らかになった(Sogo and Tobe, 2008)。

(5) サクラソウ科

単子葉植物サクラソウ目のオゼソウでは、受粉時には胚珠が成熟しており、受精遅延も花粉管の断続伸長も見られない。しかし、珠心先端の表皮細胞が平層分裂を行い、受精前後にはそれらの細胞に顕著な細胞質の蓄積が見られた。この組織変化は受精時における花粉管誘導に関与しているものと推定された(Tobe 2008)。

(6) ショウブ科

ショウブ属は、他のすべての単子葉植物の姉妹群であり、単子葉植物の系統上では最も初期に分岐した植物群である。以前から、子房室内に懸垂する倒生胚珠をもち、内珠皮も外珠皮も毛をもつことが知られていた。あ受精時にどのように花粉管が胚嚢へ誘導されるか、光学顕微鏡、走査型電子顕微鏡、透過型電子顕微鏡で詳しい観察を行った結果、以下のようなことが明らかになった。すなわち、珠孔は内珠皮のみによって形成され、珠孔を形成する毛状細胞には受精時に分泌活性が見られる。また、珠心先端の表皮細胞は受精時にはやや大型化し、分泌活性が見られる。一方、外珠皮の毛には分泌活性は見られない。以上の点から、ショウブ属の花粉管は珠孔を形成する内珠皮の毛状細胞と珠心先端の表皮細胞が閉塞組織として花粉管誘導の役割を果たしていることが明らかになった。間もなく論文として投稿予定である。

以上の他に、ニガキ科の北米固有属である *Leitneria* の研究も行った。この属の種は、受精時に長く不規則に折りたたまれ珠孔を形成する。似たような特徴をもつ珠孔がニガキ科内の近縁属 *Brucea* でも見られることが明らかになり、花粉管誘導と通過経路が進化上・分類学上の共通点として評価できることが明らかになった。現在 *Annals of the*

Missouri Botanical Gardenへ投稿中。

以上、ブナ目を中心に研究を進めてきた花粉管伸長と受精様式に関する研究は、成果報告の提出が少し遅れたが、ほぼ順調に進み多くの研究成果を得ることができた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 16件) 全て査読有り

1. Tobe, H. and P. H. Raven. 2008. Embryology of *Koeberlinia* (Koeberliniaceae): evidence for core-Brassicacean affinities. *American Journal of Botany* 95: 1475-1486.
2. Kimoto, Y. and H. Tobe. 2008. Embryology of the Hortoniaceae and Monimiaceae (Monimiaceae, Laurales): characteristics of lower monimiods. *Botanical Journal of the Linnean Society* 158: 228-241.
3. Sogo, A. and H. Tobe. 2008. Mode of pollen tube growth in pistils of *Ticodendron incognitum* (Ticodendraceae, Fagales) and the evolution of chalazogamy. *Botanical Journal of the Linnean Society* 157: 621-631.
4. Tobe, H. and T. Kadokawa. 2008. Embryology of the Araceae: variation and character evolution. *Makinoa N.S.* 7: 29-53.
5. Tobe, H. 2008. Embryology of *Japonolirion* (Petrosaviaceae, Petrosaviales): a comparison with other monocots. *Journal of Plant Research* 121: 407-416.
6. Kimoto, Y. and H. Tobe. 2008. Embryology of *Illigera* and *Sparattanthelium* (Hernandiaceae): family characteristics and relationships. *International Journal of Plant Sciences* 169: 391-408.
7. Tobe, H., Y. Kimoto and R. Prakash. 2007. Development and structure of the female gametophyte of *Austrobaileya scandens* (Austrobaileyaceae). *Journal of Plant Research* 120: 431-436.
8. Kono, M. and H. Tobe. 2007. Is *Cycas revoluta* (Cycadaceae) wind- or insect-pollinated? *American Journal of Botany* 94:847-855.
9. Sogo, A. and H. Tobe. 2006a. Mode of pollen-tube growth in pistils of *Myrica rubra* (Myricaceae): a comparison with related families. *Annals of Botany* 97: 71-77.
10. Sogo, A. and H. Tobe. 2006b. The evolution of fertilization mode independent of the micropyle in Fagales and 'pseudopogamy.' *Plant Systematics and*

Evolution 259: 73-80.

11. Sogo, A. and H. Tobe. 2006c. Delayed fertilization and pollen-tube growth in pistils of *Fagus japonica* (Fagaceae). *American Journal of Botany* 93: 1748-1756.
12. Sogo, A. and H. Tobe. 2006d. Mode of pollen-tube growth in pistils of *Eucommia ulmoides* (Eucommiaceae, Garryales). *International Journal of Plant Sciences* 167: 933-941.
13. Oginuma, K., J. Munzinger and H. Tobe. 2006. Exceedingly high chromosome number in Strasburgeriaceae, a monotypic family endemic to New Caledonia. *Plant Systematics and Evolution* 260: 97-101.
14. Tokuoka, T. and H. Tobe. 2006. Phylogenetic analyses of Malpighiales using plastid and nuclear DNA sequences, with particular reference to the delimitation and relationships of Euphorbiaceae sens. str. *Journal of Plant Research* 119: 599-616.
15. Oginuma, K. and H. Tobe. 2006. Chromosome evolution in the Laurales based on analyses of original and published data. *Journal of Plant Research* 119: 309-320.
16. Kimoto, Y., N. Utami and H. Tobe. 2006. Embryology of *Eusideroxylon* (Cryptocaryae, Lauraceae), and character evolution in the family. *Botanical Journal of the Linnean Society* 150: 187-201.

[学会発表](計 11件)

1. 戸部 博・高橋 弘 サクライソウ(サクライソウ目)のembryology: オゼソウや他の単子葉植物との比較 第8回日本植物分類学会大会(仙台市東京エレクトロンホール宮城 2009年3月14日)
2. 戸部 博 オゼソウ(サクライソウ目)のembryology: 他の単子葉植物との比較. 第7回日本植物分類学会大会(東京都首都大学東京 2008年3月22日)
3. 戸部 博・P.H. Raven 北米固有科 Koeberliniaceae (アブラナ目)の胚珠と種子の発生と構造: 分類学的意味. 第72回日本植物学会大会(高知市高知大学 2008年9月26日)
4. 門川朋樹・戸部 博 ザゼンソウ属とミズバショウ属(サトイモ科)の胚珠の発生と構造の比較研究. 第6回日本植物分類学会大会(新潟市新潟大学 2007年3月16日)
5. 荻沼一男・戸部 博 ニクズク科(モクレン目)の染色体数の再検討. 第71回日本植物学会大会(野田市東京理科大学 2007年9月8日)
6. 門川朋樹・後藤 悠・戸部 博 単子葉植

物に双子葉型の葯壁形成様式はあるのか? 第71回日本植物学会大会(野田市東京理科大学 2007年9月8日)

7. 後藤 悠・戸部 博 ヤマノイモ目の種皮に共通する細胞構造とその発生. 第71回日本植物学会大会(野田市東京理科大学 2007年9月8日)
8. 河野真澄・戸部 博 ソテツの受粉と受精の間に起こる胚珠の成長停止. 第71回日本植物学会大会(野田市東京理科大学 2007年9月8日)
9. 岡田 潤・戸部 博 ヤナギ科 *Tetrathylacium* の花の構造と発生. 第70回日本植物学会大会(熊本市熊本大学 2006年9月15日)
10. 後藤 悠・戸部 博 *Tacca* (ヤマノイモ科タシロイモ属)の種皮の多様性と進化. 第70回日本植物学会大会(熊本熊本大学 2006年9月15日)
11. 門川朋樹・戸部 博 サトイモ科における胚珠の形態と受精様式. 第70回日本植物学会大会(熊本熊本大学 2006年9月15日)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

戸部 博(TOBE HIROSHI)

京都大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号: 60089604

(2) 研究分担者

十河暁子(SOGO AKIKO) (2006年のみ)

京都大学・大学院理学研究科・講師(研究機関研究員)

研究者番号: 50378569