

機関番号：15401
 研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2007 ~ 2010
 課題番号：19570088
 研究課題名 (和文) 蘚苔類の大綱分類体系に関する伝統的形質の再検討と新分類体系構築
 への総合的研究
 研究課題名 (英文) Researches toward an integrated system of bryophyte classification

研究代表者
 出口 博則 (DEGUCHI HIRONORI)
 広島大学・大学院理学研究科・教授
 研究者番号：60117017

研究成果の概要 (和文)：蘚苔植物の主要分類群の系統関係を比較形態学および分子系統学的観点から研究を行った。蘚類については葉緑体ゲノムの全塩基配列の解析した。イシヅチゴケの孢子体の原始性を明らかにした。苔類では形態的特徴に乏しく、系統的位置が不明確であったヌエゴケの系統的位置を明らかにした。また、ゼニゴケ類でみられる単色素体性孢子母細胞と無極性孢子母細胞の系統学的意義、孢子体の形態との関連について研究した。

研究成果の概要 (英文)：Comparative morphological and molecular phylogenetic investigations were conducted to obtain a more natural system of arrangement of the main groups of bryophytes. A complete nucleotide sequence of chloroplast genome for major groups of mosses was obtained. Sporophyte anatomy of *Oedipodium* was investigated as it has features suggestive of a basal position within the Bryalean clade. The enigmatic genus *Mizutania* proved to be positioned in the family Calypogeaceae. Phylogenetic relationships of marchantioid liverworts were investigated on the basis of spore mother cells (monoplastidic or apolar).

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：植物分類学，蘚苔類学

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：分類学，コケ植物，比較形態，大綱分類体系，蘚苔類，分子系統，葉緑体ゲノム

1. 研究開始当初の背景

蘚苔類は陸上植物の中で、配偶体世代が生活の本体となり、それに孢子体が寄生的に発達するというGs型世代交代を示す唯一の陸上植物群で、陸上植物の系統・進化を議論する上で重要な位置を占める。蘚苔類についての現在の一般的理解は、蘚類と苔類、ツノゴケ類からなるという伝統的に継承されてきた

ものである。この高次分類群は、生活の本体である配偶体の形質を副次的に扱い、半寄生的孢子体の形質を重視して定義されている。近年、ナンジャモンジャゴケ（不実標本にもとづく発見から30年間、原始的な苔類とされてきたコケ）の蘚類へという亜綱レベルの所属替え（孢子体形態から蘚類に所属を替えられた）、分子系統学的研究成果によって示

された多様な系統樹と新高次分類群の提案がなされている。しかしながら、一致した分類体系の合意には至っていない、むしろ解決すべき更なる課題が浮上してきた。そうした状況において、細胞から組織、器官レベル、分子レベルからの総合的な研究が求められている。

2. 研究の目的

申請者らはこれまでコケ植物の分類・系統の研究を、細胞レベルを含む比較形態、分子系統学的研究を一貫して行ってきて、多くの知見を得た。また、その間、海外の研究者による類似の研究、特に分子系統学的研究が進んだ。これらの成果を総括すると、蘚苔類の系統関係の研究は骨格部分が描き出されたものの分子ならびに形態の更なる情報収集が求められている。本研究ではこれら浮上した研究課題を中心に蘚苔類の系統について、下記テーマを掲げて総合的に研究を進める。

(1) 胞子体形質の再検討

コケ植物の胞子体は、配偶体に比べ、形態の多様性に乏しいと一般的には考えられている。胞子体は、その低い出現頻度、標本としての低い保存性のために、胞子体の形態の多様性（外部形態の分化、内部組織の発生様式と構造など）は、属や種といった低次分類群を認識するための指標となりにくいため、配偶体の形態にくらべ情報が圧倒的に不足している。申請者らは、胞子体は配偶体の上に半寄生的に生活しているため、形態の多様性の進化を導くような淘汰圧が低く、形態進化が、配偶体の形態進化よりも遅い可能性があると考えている。従って、情報が不足している胞子体の形態の多様性を明らかにすることは、高次分類群の系統関係を明確に反映する形質の探索につながると考える。

(2) 『単色素体性細胞』の系統的意義の再検討

高等陸上植物（種子植物）の細胞内には、通常、数十から数百の色素体が存在する。しかし、下等陸上植物（コケ、シダ）では、細胞内に大きな色素体を一つしか持たない細胞（単色素体性細胞）がみとめられることがある。陸上植物では、コケ（セン類、タイ類、ツノゴケ類）、シダ植物（ミズニラ属、イワヒバ属、ヒカゲノカズラ属など小葉類、リュウビントライ属など一部の大葉類）の生殖細胞（精子、卵、胞子）の形成過程で多くの報告例がある。種子植物では現在までに単色素体性細胞の報告はなく、ごく少量の細胞質しかもたない精細胞の中でさえ複数の色素体が確認されている。陸上植物と祖先を共有する

と考えられるシヤジク藻類では単色素体性が一般的であり、単色素体性細胞は、その系統的な分布から考えて、下等陸上植物における祖先的な形質の一つと考えられている。

栄養組織での単色素体性細胞の存在の報告は少なく、シダ植物のミズニラ属、イワヒバ属、コケ植物ではツノゴケ類、セン類のナンジャモンジャゴケ属のみで知られているが、最近、本申請者らは、セン類のスギゴケ目などの、植物体の茎頂付近でも単色素体性細胞が存在することを見いだした。栄養組織における単色素体性細胞は、従来考えられていたよりも幅広い分類群に存在する可能性があり、その系統的分布をあらためて、詳細に調査する。

(3) 分子系統学的解析

コケ植物を含む陸上植物の系統関係については、これまで複数の領域の塩基配列やアミノ酸配列にもとづく解析が行なわれている。しかし、古い時代に分岐した分類群がすでに存在しない、あるいはツノゴケ類では複雑な RNA エディティングが起こっているなど、これまでの分子系統学的方法の延長だけでは、陸上植物とくにコケ植物間の関係を明らかにするための情報としてはおのずと限界がある。本研究では、既存の分子系統学的解析方法に加えて、ゲノム上の共有派生形質と言える塩基配列中への配列の挿入パターンを利用した解析方法を利用する。また、コケ植物でも葉緑体ゲノム中の *rpoA* 遺伝子などが系統関係の推定に非常に有効なシグナルをもつマーカーである可能性が示唆されている。

減数分裂などの形態形質の詳細な観察と、塩基配列やアミノ酸配列にもとづいて分子系統学的解析方法で得られる系統関係に加えて、ゲノム上で見られる逆異や転座、遺伝子の順番の入れ替わりなどゲノム上に残る系統を反映する質的なイベントの情報を加えることで、統計的な誤差や外群の違いによる結果の違いを小さくすることができ、コケ植物の系統関係についてより信頼性の高い結果を導く。

3. 研究の方法

(1) 高次分類群を代表する種を抽出し、野外調査で生鮮資料を収集して、研究試料とする。また、国内外研究機関に収蔵される標本の形態学を研究する。

(2) 形態の観察には実体顕微鏡、光学顕微鏡、走査型ならびに透過型電子顕微鏡、共焦点レーザー顕微鏡を駆使し、生体観察には免疫抗体法を用いる。

4. 研究成果

(1) 孢子体形質の再検討

①本研究では蘚類イシヅチゴケ科イシヅチゴケ (*Oedipodium griffithianum*) の孢子体を観察した。マゴケ亜綱には蒴歯がみられない種が、系統的に離れた分類群で散発的にみられるが、それらの多くは孢子体が小さく、蒴を構成する細胞数も少ない。したがって、発生学的に蒴歯を形成する余地が無く、孢子体全体の退化にともない、蒴歯を失ったと考えられている。一方、イシヅチゴケの孢子体は、よく発達した蓋をもち、孢子室の上部に蒴歯の出来る余地と細胞群があるにも関わらず蒴歯の分化が見られない。本来、蒴歯となるべき細胞群は、蒴が裂開する際に、蓋の一部として孢子嚢から外れてしまう。また孢子の向心面にY字条溝が存在することを確認した。このような形態の孢子がクロゴケ、ミズゴケ、ナンジャモンジャゴケなど、マゴケ亜綱以外の、原始的な形態をとどめていると考えられる蘚類に特徴的に見られる。またイシヅチゴケの孢子体では蒴と蒴柄の組織分化が不明瞭であり、蒴柄のようにみえる部位には、他のセン類では蒴の下部のみにみられる気孔が全体に分布していることを明らかにした。蒴柄のようにみえるが、組織学的には蒴の性質をもつこの組織を「偽蒴柄 (pseudoseta)」という新しい名称でよぶことを提案した。イシヅチゴケでは、イシヅチゴケ1種からなるイシヅチゴケ科は、葉や孢子体の外形の類似からヒョウタンゴケ目に分類される例が多かった。しかし、最近の分子系統学的解析は、ヨツバゴケ科やキセルゴケ科とともにマゴケ亜綱で最も原始的な位置を占めることを示している。本研究の結果もイシヅチゴケのマゴケ亜綱における原始性を強く支持する。イシヅチゴケの孢子体に蒴歯が無いこと、蒴と蒴柄の分化が不明瞭なことは、退化によるものではなく、マゴケ亜綱の中で最も原始的な形態をとどめていると考える方が妥当と考えた。原系体が葉状であることなど、配偶体世代の特異な形態も、マゴケ亜綱における原始的な形質として再評価する必要があると考えられる。

(2) 単色素体性細胞の系統的意義の再検討

①『ゼニゴケ類でみられる単色素体性孢子母細胞と無極性孢子母細胞の系統学的意義、孢子体の形態との関連について』

コケ植物の孢子形成過程で行われる減数分裂では、将来の孢子領域への葉緑体の1つずつの配分、孢子母細胞の細胞質の4葉のくび

れなどが、核の分裂に先立っておこり、将来の分裂面を決定することが知られている。しかしゼニゴケ類の一部では、そのような核分裂に先立つ分裂の極性決定がみられない。核分裂に先立つ葉緑体の配分と細胞質のくびれの両方、あるいは一方が、すべてのセン類とツノゴケ類、大半のタイ類でみられるため、ゼニゴケ類の一部でみられる無極性の孢子母細胞は派生的な形質と考えられる。本研究で、ジンチョウゴケ科のタカネゼニゴケ (*Sauteria japonica*) とチチブゼニゴケ (*Athalamianana*) が、無極性の孢子母細胞を形成することを確認した。分子系統解析の結果は、無極性の孢子母細胞を形成するジンチョウゴケ科、ハタケゴケ科、ヤワラゼニゴケ科、ジンガサゴケ科の単系統性を支持した。それらとは別に、ゼニゴケ類の比較的基部で分岐したと考えられるダンゴゴケ科も無極性の孢子母細胞を形成することから、この形質はゼニゴケ類の進化の中で複数回、独立に獲得されたと考えられる。単色素体性で4葉にくびれた孢子母細胞をもつウスバゼニゴケとシヤクシゴケを含むクレードが、ゼニゴケ類の最も基部に位置することは、この形質がゼニゴケ類において祖先的な形質であることを支持している。ミミカキゴケ属、ケゼニゴケ属、アズマゴケ属は、配偶体の形態が全く異なっているにも関わらず、その単系統性が支持された。減数分裂様式の観察の結果もその結果を支持する。

(3) 分子系統学的解析

① 蘚類の主要分類群の統関係を明らかにするために、ナンジャモンジャゴケ類、ミズゴケ類、クロゴケ類の葉緑体ゲノムの全塩基配列の解析を行った。これらの分類群では葉緑体ゲノム中にマゴケ類にみられない遺伝子が存在した。葉緑体ゲノムが、進化の過程で遺伝子構成がより単純化する傾向があることを前提に考えると、ナンジャモンジャゴケ類がもっとも祖先的な遺伝子構成と考えられた。ナンジャモンジャゴケの葉緑体ゲノム中の (*rpoA*, *cysA*, *cysT*, *ccsA*) は、これまでタイ類のゼニゴケやツノゴケ類のホウライツノゴケの葉緑体ゲノムでは存在が確認されているが、セン類のヒメツリガネゴケの葉緑体ゲノムには存在しない。これらの遺伝子の存在が、セン類の系統関係を考える上で新たな指標となると考えられた。

② 分類学的位置づけが明確でない、タイ類ヌエゴケ属について、新たな生鮮試料を得て、形態学的研究と分子系統学的研究を行った。

その過程でこれまで未知であった造精器をつけた雄花序の形態について報告した。葉緑体の *rbcL* 遺伝子、核の *rps4* 遺伝子を用いた系統解析は、ヌエゴケ属が、莖葉性タイ類のツキヌキゴケ科 (Calypogeiaceae) のクレードに含まれた。ヌエゴケ属が、莖葉性タイ類に含まれることは、これまで指摘されたことがない意外な結果であるが、ツキヌキゴケ科とヌエゴケ属には生殖器官、油体、細胞表面のペルカなどに共有派生形質があることを指摘し、ヌエゴケ属をツキヌキゴケ科に含めることを提案した。

(4) その他の形態学的研究

セン類ホソバミズゴケの原糸体が、糸状と葉状の体制を繰り返し出現させながら成長することを明らかにした。ホソバミズゴケの糸状原糸体では他のセン類と同様、表層微小管系が見られなかったが、葉状原糸体の細胞には、表層微小管が存在することを確認した。進化の過程で、葉状原糸体が糸状原糸体に先行して獲得されたと考えるならば、糸状原糸体での表層微小管系の欠如は、藻類的な原始的な形質を反映したのではなく、派生的な形質であると考えられた。コケ植物のタイ類の中で最も初期に分岐したと考えられているコマチゴケの塊状原糸体で、蘚類の糸状原糸体とは異なり表層微小管、分裂準備帯が存在することを明らかにした。これらの表層微小管系は陸上植物の主要な系列が分岐する前に獲得されたことが示唆された。

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 17 件)

1. Katagiri, T., Yamaguchi, T., Deguchi, H., Taxonomic studies on the liverwort *Jubula Dumort.* (Marchantiophyta: Jubulaceae) in Japan and Taiwan, *Hikobia*, 15 巻, 査読有, 2010, 453-462
2. Katagiri, T., Masuzaki, H., Masuzawa, T. & Deguchi, H., *Mannia pilosa* (Aytoniaceae, Marchantiophyta) - new to the Japanese flora. *Tropical Bryology*, 31 巻, 査読有, 2010, pp76-80
3. Masuzaki, H., Shimamura, M., Furuki, T., Tsubota, H., Yamaguchi, T., Haji Mohamed Abdul Majid, Deguchi, H., Systematic position of the enigmatic liverwort *Mizutania* (Mizutaniaceae, Marchantiophyta) inferred from molecular phylogenetic analyses, *Taxon*, 59 巻, 査読有, 2010, pp448-458
4. 片桐知之, 出口博則, 日本におけるリシリゼニゴケとタカネゼニゴケの新産地, 蘚苔類

研究, 10 巻, 査読有, 2010, pp1-4

5. Masuzaki, H., Tsubota, H., Shimamura, M., Yamaguchi, T., Deguchi, H., A taxonomic revision of the genus *Apometzgeria* (Metzgeriaceae, Marchantiophyta), *Hikobia*, 15 巻, 査読有, 2010, pp427-452
6. Oguri, E., Yamaguchi, T., Tsubota, H., Shimamura, M., Deguchi, H., Phylogenetic relationships among *Leucobryum juniperoideum* and related species (Leucobryaceae, Musci) inferred from ITS sequences, *Hikobia*, 15 巻, 査読有, 2010, pp453-462
7. 内田慎治, 山口富美夫, 出口博則, 北硫黄島の蘚苔類, *Hikobia*, 15 巻, 査読有, 2010, pp485-492
8. Arikawa, T., Tsubota, H., Deguchi, H., Nishimura, N., Higuchi, M., Phylogenetic analysis of the family Hypnaceae based on *rbcL* gene sequences, In: Mohamed, H. et al. (eds.), *Bryology in the New Millenium*, 査読有, 巻無し, 2009, pp215-225
9. Shimamura, M., Deguchi, H., Sporophyte anatomy of *Oedipodium griffithianum* (Oedipodiaceae), In: Mohamed, H. et al. (eds.), *Bryology in the New Millenium*, 査読無, 巻無し, 2009, pp309-316
10. 片桐知之, 出口博則, ムカシヒシヤクゴケ (*Scapania ornithopodioides*) の雄花序, 蘚苔類研究, 査読有, 9 巻, 2009, pp365-366
11. Sakakibara, K., Nishiyama, T., Deguchi, H., Hasebe, M., Class 1 KNOX genes are not involved in shoot development in the moss *Physcomitrella patens* but do function in sporophyte development, *Evolution & Development*, 5 巻, 査読有, 2008, pp555-566
12. Oguri, E., Yamaguchi, T., Shimamura, M., Tsubota, H., Deguchi, H., Phylogenetic and morphological re-evaluation of *Leucobryum boninense* (Leucobryaceae), endemic to the Bonin Islands, *Bryologist*, 111 巻, 査読有, 2008, pp260-270
13. Fujita, T., Sakaguchi, H., Hiwatashi, Y., Wagstaff, S. J., Ito, M., Deguchi, H., Sato, T., Hasebe, M., Convergent evolution of shoots in land plants: lack of auxin polar transport in moss shoots, *Evolution & Development*, 10 巻, 査読有, 2008, pp176-186
14. Shimamura, M., Yamaguchi, T., Deguchi, H., Airborne sperm of *Conocephalum conicum* (Conocephalaceae), *Journal of Plant Research*, 121 巻, 査読有,

2008, pp69-71

15. 嶋村正樹, 安原隆史, 出口博則, 乗鞍岳におけるガッサンクロゴケとナンジャモンジャゴケの生育状況, *Bryological Research*, 9 巻, 査読有, 2008, pp268-269

16. Fujita, T., Sakauchi, H., Hiwatashi, Y., Wagstaff, S. J., Ito, M., Deguchi, H., Sato, T., Hasebe, M., Convergent evolution of shoots in land plants: lack of auxin polar transport in moss shoots, *Evolution & Development* 10 巻, 査読有, 2008, pp176-186

17. Sonoyama, K., Sulayman, M., Shimamura, M., Yamaguchi, T., Deguchi, H., New records of 19 mosses from Xinjiang, China, *Hikobia*, 15 巻, 査読有, 2007, pp67-85

[学会発表] (計 17 件)

1. 嶋村正樹, 工藤珠美, 山口富美夫, 出口博則, コケ植物における生活環を通じた細胞分裂様式変遷パターンの比較, 日本植物学会第 74 回大会, 2010 年 9 月 11 日, 春日井市

2. 坂井建輔, 嶋村正樹, 山口富美夫, 出口博則, コケ植物の精子形成過程における中心体構成物質の動態について, 日本植物学会第 74 回大会, 2010 年 9 月 11 日, 春日井市

3. 奥田有貴, 嶋村正樹, 山口富美夫, 出口博則, ゼニゴケ植物体の組織発生学的研究, 日本植物学会第 74 回大会, 2010 年 9 月 11 日, 春日井市

4. 嶋村正樹, 斉藤信一郎, 酒井健輔, 山口富美夫, 出口博則, ケゼニゴケの 4 本鞭毛精子形成における中心体の動態, 日本植物学会第 73 回大会, 2009 年 9 月 19 日, 山形市

5. 嶋村正樹, 斉藤信一郎, 山口富美夫, 出口博則, ケゼニゴケの精子形成における微小管とγチューブリンの動態, 日本植物学会中国四国支部第 66 回大会, 2009 年 5 月 16 日, 高知市

6. 宮内博嗣, 嶋村正樹, 山口富美夫, 出口博則, 乗鞍岳(北アルプス南部)のタイ類相, 日本植物学会中国四国支部第 66 回大会, 2009 年 5 月 16 日, 高知市

7. 石丸岳志, 嶋村正樹, 山口富美夫, 出口博則, オオミズゴケ(蘚類)の葉緑体ゲノムの解析, 日本植物学会中国四国支部第 66 回大会, 2009 年 5 月 16 日, 高知市

8. 出口博則, 安原隆史, 山口富美夫, 嶋村正樹, 乗鞍岳の蘚類フロラ, 日本植物学会中国四国支部第 66 回大会, 2009 年 5 月 16 日, 高知市

9. 有川智己, 坪田博美, 出口博則, 西村直

樹, 樋口正信, ハイゴケ科(蘚類)の分類学的研究 3. 葉緑体 3 遺伝子を用いた分子系統解析, 日本植物分類学会第 8 回大会, 2009 年 3 月 13 日, 仙台市

10. 坪田博美, 長谷信二, 榊崎浩亮, 向井誠二, 出口博則, 沖縄県西表島で見つかった苔類ウロコゼニゴケ属の一種について, 日本植物分類学会第 8 回大会, 2009 年 3 月 13 日, 仙台市

11. 嶋村正樹, 工藤珠美, 山口富美夫, 出口博則, タイ類コマチゴケの細胞分裂装置について, 日本植物学会第 72 回大会, 2008 年 9 月 26 日, 高知市

12. 工藤珠美, 嶋村正樹, 出口博則, コマチゴケの体細胞分裂装置, 第 37 回日本蘚苔類学会大会, 2008 年 8 月 30 日, 秋田市

13. 出口博則, ナンジャモンジャゴケ研究史, 第 37 回日本蘚苔類学会大会, 2008 年 8 月 30 日, 秋田市

14. 坪田博美, 長谷信二, 榊崎浩亮, 向井誠二, 出口博則, 西表島の苔類ウロコゼニゴケの一種について. 日本蘚苔類学会第 37 回大会, 2008 年 8 月 30 日, 秋田市

15. 鎌田真博, 中村朋史, 長野克也, 出口博則, 星和良, 九州におけるオオミズゴケの遺伝的多様性の研究, 植物地理・分類学会 2008 年度大会, 2008 年 5 月 24 日, 豊橋市

16. 工藤珠美, 嶋村正樹, 山口富美夫, 出口博則, コマチゴケ(タイ類)の体細胞分裂装置, 日本植物学中国四国支部第 65 回大会, 2008 年 5 月 17 日, 東広島市

17. 嶋村正樹, 野口加耶子, 山口富美夫, 出口博則, セン類ヨツバゴケとアリノオヤリの雑種孢子体について, 日本植物学中国四国支部第 65 回大会, 2008 年 5 月 17 日, 東広島市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

出口博則 (DEGUCHI HIRONORI)
広島大学・大学院理学研究科・教授
研究者番号: 60117017

(2) 研究分担者

()
研究者番号:

(3) 連携研究者

山口富美夫 (YAMAGUCHI TOMIO)
広島大学・大学院理学研究科・准教授
研究者番号: 60244290
(H19: 研究分担者)

古木 達郎 (FURUKI TATSUO)
千葉県立中央博物館・上席研究員
研究者番号：40250146
(H19: 研究分担者)

嶋村 正樹 (SHIMAMURA MASAKI)
広島大学・大学院理学研究科・助教
研究者番号：00432708
(H19: 研究分担者)

坪田 博美 (TSUBOTA HIROMI)
広島大学・大学院理学研究科・准教授
研究者番号：10332800
(H19: 研究分担者)