

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 1 日現在

機関番号：12101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21570087

研究課題名（和文）種子植物胚の栄養摂取体制転換期における胚嚢内構造多様性の実態解明—マメ科を端緒に

研究課題名（英文）An analysis of the diversity of developmental patterns of leguminous embryos

研究代表者 遠藤 泰彦 (ENDO YASUHIKO)

茨城大学・理学部・准教授

研究者番号：30250145

研究成果の概要（和文）：被子植物の中でも比較的発達した胚を持つマメ科（種子植物中3番目に大きな科）を対象に、種子の発達に伴う胚嚢の内部構造の変化を解析した。その結果、マメ科植物の胚柄は一般的に比較的長命であるが、中には短命のものもあることが明らかとなった。そして、長命の状態が祖先的であり、短命のものが子孫的な特徴であると考えられた。また、短命のものでは、胚柄消失後に胚柄に替わって栄養分の通過と胚の固定を行う機構が現れることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Angiosperm suspensors function at early stages of embryogenesis by holding the growing embryo in a fixed position, and providing a route for nutrients transport to the embryo proper. The suspensors develop fully, before the cotyledons initiate, and degenerate subsequently, i.e., the suspensors are subject to programmed cell-death (PCD) before the maturation of embryos. In the present study, a comparative study of the embryo and suspensor development of 66 leguminous species was done using paraffin sectioning method. As the results, I found two types of suspensors, i.e., longer-lived one and shorter-lived one. The longer-lived ones persist at least until the early cotyledon stage, and the shorter-lived ones separate from the wall of the embryo sac or disappear at the early cotyledon stage. The evolutionary polarity of leguminous suspensors would be that from the longer-lived one to the shorter-lived one. After PCD of shorter-lived suspensors, their functions would be taken over by another tissue.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

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：子葉紋、内乳、胚、胚嚢、胚柄、被子植物、マメ科、有胚植物

1. 研究開始当初の背景

(1) 栄養摂取体制転換期と種子形成

陸上植物は別名有胚植物とも呼ばれ、胚発生の初期に前世代の植物体に寄生して発達

する、いわば従属栄養体制をとる。一方、陸上植物は他の植物同様、その生活環の大部分の間、光合成を行って栄養分を獲得する独立栄養体制をとる。このことから、陸上植物は、

その生活環の中で栄養摂取体制を転換していることになる。

陸上植物である種子植物は、この栄養摂取体制の転換を種子内で行う。つまり、種子植物の受精卵は種子内で胚となり、種皮側から栄養分を受けて発達し、発芽後の独立栄養体制確立へと向かう。

(2) 大型の胚を持つ種子植物—マメ科

マメ科は比較的大型の種子を持ち、その種子は大型の胚で占有されている。つまり、マメ科では、この大型の胚を形成するために、比較的長期にわたって種子内での従属栄養体制が維持されていると考えられる。マメ科(約2万種)は3亜科(ジャケツイバラ亜科、ネムノキ亜科、マメ亜科)で構成され、種子植物中3番目に大きな科であり、ダイズ、ササゲ、エンドウ、ソラマメ、小豆、落花生など重要な経済植物を含む。

(3) マメ科の子葉紋と胚柄

マメ科3亜科の中でマメ亜科(約1.4万種)の大部分の種類の子葉の背軸面には、子葉紋という斑紋が現れることが知られている。そして、この斑紋部は子葉と内乳との接着部であり、種皮側から胚側への栄養分の通り道であるとの推定がある。

一方、一般的に種子植物の種皮側から胚側への栄養分の通り道としては胚柄が知られている。胚柄は受精卵が2分割した際の基部側の1細胞由来の構造であり、先端側の1細胞由来の胚本体の発達に伴い計画的細胞死(PCD: Programmed Cell Death)が起る部分である。この胚柄は胚嚢壁の内側に接着し、内乳から栄養分を得て胚へ送る、いわば哺乳類のへその緒に相当する役割を果たしている。なお、通常、胚柄は子葉分化と共に計画的細胞死による分解が始まると言われているが、この時点では胚は未成熟な状態にある。他方、胚は球状胚段階(globular stage)、心臓型胚段階(heart-shaped stage)、子葉段階(cotyledon stage)という発達段階をたどり、成熟へと向かう。

(4) マメ科胚の従属栄養体制の変化

前述の事実から、マメ科の胚は発達の当初は胚柄経由で種皮側から栄養分を獲得し、発達の後期には PCD による胚柄消失に伴い、胚が内乳に接着することで栄養分を吸収するという従属栄養方法の切替えを行っている可能性がある。実際に、マメ科ソラマメ連 Fabae に属する栽培植物であるエンドウ *Pisum sativum* やソラマメ *Vicia faba* において、胚柄の早期消失と contact zone と呼ばれる胚の内乳組織への接着点の存在が報告されている。この部分は子葉紋に対応する部分である可能性がある。これに対し、マメ科ジ

ャケツイバラ亜科(約2.3千種)やネムノキ亜科(約3.3千種)には子葉紋が認められていない。このことは、両亜科では胚柄消失後に他の機構による胚の栄養分吸収が必要になることを意味している。つまり、胚柄消失後の従属栄養体制継続方法がマメ科内で多様であることが推定される。

(5) マメ科胚の研究の問題点

マメ科植物の胚発生については、これまで胚発達初期の解剖学的研究が多く成されてきた。そして、得られた解剖学的特徴の分類学的意義に関し議論され、その重要性が指摘されて来た。これに対し、子葉分化後の胚(胚発達の後期)に関する情報は限られた種類に関するもののみである。しかしながら、前述のように、この子葉分化後、つまり発達後期の胚は従属栄養体制から独立栄養体制への体制転換を行うことが予想され、かつ、その過程が多様である可能性がある。このため、この時期の胚柄を含む胚の挙動の実態解明が待たれていた。

2. 研究の目的

栄養摂取体制転換過程が多様であると推定されるマメ科を対象とし、この多様性の実態を明らかにし比較解析することで、その分類学的意義と進化過程について議論することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 材料

マメ科66種(3亜科、21連、49属からなる)、および比較のため、マメ科の姉妹群と考えられているヒメハギ科1種について発達を追って種子を収集し、液浸標本とした。

(2) 方法

① 解剖

本研究費補助金で整備した回転式マイクロームを用い、採集試料から厚さ約5 μ mの連続切片を作成した。作成した切片を、サフラン、ファストグリーン、ヘマトキシリンで三重染色を行い、透過型光学顕微鏡にて観察しデジタルカメラを用いて写真撮影した。

② 形質進化の推定

本研究で明らかとなったマメ科植物の胚嚢内の胚の挙動に関する特徴を既存の分子系統樹の末端に配置し、最適化することで祖先の形質状態を推定した。

4. 研究成果

(1) 胚柄の消長の3型の発見

本研究の結果、マメ科植物の胚柄の発達パターンに以下の3型を認めた。

A型：心臓型胚の段階でも胚柄が存続する型(胚柄長命型)。

B 型：心臓型胚の段階では胚柄は胚嚢壁から離れ、胚柄の痕跡のみが幼根の先端に残る型（短命型）。

C 型：心臓型胚の段階では胚柄は完全に消失する型（短命型）。

つまり、マメ科植物では、胚柄の寿命が多様であることが確認された。そして、A 型は、本研究で調査を行った大部分のマメ科植物およびヒメハギ科の種に認められたのに対し、B 型は主にネムノキ亜科に、C 型はソラマメ連のみに認められた。

ソラマメ連では、胚柄消失後に胚の子葉に相当する部分が内乳に接着することを確認した。この事は、ソラマメ（ソラマメ属 *Vicia*）およびエンドウマメ（エンドウマメ属 *Pisum*）で既に他の研究者により報告されており、この接着部経路で内乳から胚へ栄養分が移動することが推定されている。なお、本研究では、同連の他属であるレンリソウ属 *Lathyrus*、レンズマメ属 *Lens* でもこの接着を確認した。つまり、胚発達の早期に胚柄が消失する型では、内乳からの栄養分移動のための新たな機構が形成されることが推定された。

（2）胚柄の消長パターンの進化

前述の 3 形質状態のマメ科内での分布解明結果を既知の分子系統樹上で最適化した。これにより、マメ科では「胚の発達の後期まで胚柄が存続し内乳からの栄養分を受け取るという状態」が祖先的な形質状態であり、これに対し「胚柄が胚発達の早期に消失または機能を失う状態」、つまり胚柄が短命である状態が派生的な形質状態にあると推定された。そして、これら短命な胚柄への進化には、胚柄に替わる胚柄の機能を引き継ぐ機構（例えば胚と内乳の接着）の獲得が必要であったと推察された。

（3）マメ科胚柄の形態および構造の多様性

本研究での胚柄の形態および内部構造の観察の結果、マメ科植物の胚柄に次のような多様な特徴を認めた。

a 型：胚柄の表皮細胞が根毛状に伸びて内乳組織に入り込むもの（タヌキマメ属）、

b 型：胚柄の長さが顕著に長く（約 1mm 以上、その他の種では 0.6mm 以下）、その内部にデンプン粒を含むもの（*Tibetia* 属、*Stylosanthes* 属）、

c 型：胚柄基部の細胞群が顕著に膨らむもの（Phaseoleae 連の一部の種）、

d 型：胚柄が幼根の向軸側に付くもの（*Amorpheae* 連や *Desmodieae* 連の一部の種、その他の種では幼根の先端に付く）。

これらの特徴は属ごとに現れることから、今後 属レベルでの分布を明らかにし、その分類学的意義を解明する必要がある。

（4）研究結果の意義

本研究の結果、マメ科植物において「長命な胚柄と短命な胚柄」という形質状態を認め、その科内での分布の概要を明らかにした。そして、この胚柄の寿命の長短という形質が、同科の亜科または連階級の分類群の特徴となる可能性を示した。

さらに、マメ科の胚柄の形態や内部構造の特徴が極めて多様であること、しかも属レベルでの種のまとまりを示す特徴となる可能性が明らかとなった。このことから、マメ科植物の多様化過程を考える上での胚柄の形質の検討の重要性を改めて提示することができたものと言える。

これまで、マメ科の胚柄に関する比較解剖学的研究は主に胚発達の初期段階に限られていた。この原因としては「子葉分化開始時という胚発達の比較的初期に胚柄が消失するのが被子植物の一般的性質である」とこれまで考えられて来たことがその原因ではないかと推察される。つまり、子葉分化後には胚柄は既に消失した後であり、観察できないというわけである。また、胚柄は胚に比べ小型の構造であることから、連続切片を作成し、その存在を意識しながら注意深く探索しなければ見落としてしまう。これに対して、本研究では、胚柄の存在を強く意識しながら幼根先端部を詳細に観察することで胚発達後期の胚柄を発見できた。この結果は被子植物にあっても比較的巨大な胚を持つマメ科植物では、胚柄は一般的に長命であるということを示した。そして、子葉分化後も胚柄は胚発達において重要な役割を持つことが考えられ、その多様性を研究することに重要な意義があることを示すことができた。

（5）今後の研究の展望

本研究で解析されたマメ科植物は連の階級では 36 連中 21 連と約 58% に達するが、マメ科全体での胚の発達過程の多様性を総合的に議論するには不十分な状態であり、今後できるだけ多くの連を代表する種について胚柄を含む胚の挙動を観察する必要がある。また、胚柄の形態や内部構造の特徴が連内の属間の関係を考える上で重要な形質となる可能性が示されたが、属レベルでは、全 727 属中 49 属（約 6.7%）について調査したに過ぎない。特に早急に検討されるべき群としては、連内の属間で同形質に違いが認められた Phaseoleae についてである。今後、同連所属の全属について、胚柄の特徴を明らかにし、その分類学的意義を検討する必要がある。

本研究の結果、ネムノキ亜科については、ソラマメ連同様胚柄が短命であることが明らかとなった。したがって、胚柄の早期機能消失後、種皮側から胚側への栄養分の新たな

移動経路が確立されていると考えられる。この経路については未だ明らかになっておらず、これを解明する必要がある。

マメ亜科の大部分の種で知られている子葉紋は胚と内乳との接着痕である可能性が明らかとなっているが、実際この接着が確認されたのはソラマメ連のみである。今後、ソラマメ連以外のマメ亜科植物においても胚と内乳の接着が認められるのかどうかについて検証する必要がある。

以上のような今後の研究により、マメ科植物における栄養摂取体制転換期での胚の挙動の実態とその進化が明らかになるものと期待される。

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 3 件)

① Yasuhiko Endo, Anatomical diversity of funicles in Leguminosae, *Journal of Plant Research*, 査読有, 125 巻, 2011, 41-53

② 遠藤泰彦, 大橋広好, マメ科種子の cotyledon areole と seed-coat inside areole の日本語用語の提案, *植物研究雑誌*, 査読有, 85 巻, 2010, 126-130

③ Yasuhiko Endo and Hiroyoshi Ohashi, Diversification of seed arrangement induced by ovule rotation and septum formation in Leguminosae, *Journal of Plant Research*, 査読有, 122 巻, 2009, 541-550

[学会発表] (計 1 件)

① Yasuhiko Endo, 2010, Anatomical diversity of funicles in Leguminosae, Fifth International Legume Conference: Advances in the XXI Century, August 11, 2010, Buenos Aires, Argentine Rep.

[図書] (計 1 件)

① 遠藤泰彦, (印刷中) 豆と莢, 閉じた場での形態形成と多様化, 戸部博・田村実 (編) 新しい植物分類学 II, 講談社サイエンティフィク, 2012, pp. 129-139

6. 研究組織

(1) 研究代表者

遠藤 泰彦 (ENDO YASUHIKO)

茨城大学・理学部・准教授

研究者番号: 30250145