

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：14302

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06380

研究課題名(和文) シダ植物小葉類を用いた軸の分枝の形態進化

研究課題名(英文) Morphological study of extant lycophytes to elucidate evolution of branching system in vascular plants

研究代表者

藤浪 理恵子 (Rieko, Fujinami)

京都教育大学・教育学部・准教授

研究者番号：40580725

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：シダ植物小葉類は根と茎が二又分枝し、現生の維管束植物の中で最も原始的な形質を保持すると考えられている。そのため、初期の維管束植物の分枝の進化過程を推定する上で、非常に良いモデルとなり得る。本研究では、シダ植物小葉類の根と茎の分枝様式について、EdU蛍光法とRNA in situ Hybridization法、および植物ホルモンの投与実験を行い、発生解剖学的に解析を行った。その結果、小葉類ヒカゲノカズラの根と茎は分枝形成時に生じる細胞群によって頂端分裂組織が分割されることによって分枝するということが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物の主要器官である根、茎、葉の進化過程は、現生の維管束植物の形態多様性を知るうえで明らかにすべき問題である。分枝は、維管束植物が根と茎を獲得するためには必要不可欠な形質で在り、原始的な植物群の分枝形成の制御機構が根と茎の起源解明への鍵となる。本研究結果から、原始的な維管束植物であるシダ植物小葉類の分枝は、頂端分裂組織が分枝時に出現する分裂細胞群によって分割され、新たな枝分かれが生じるという様式をもつ種の存在が明らかとなり、初期の維管束植物の根と茎の起源解明へ繋がる重要な知見となり得る。

研究成果の概要(英文)：Lycophytes have dichotomously branching roots and shoots, and maintain the primitive features of vascular plants. To address evolution of the branching and origin of the roots and shoots, extant lycophytes are excellent material. In this study, we monitored cell division activities in two species of Lycopodiaceae using molecular markers for DNA replications to clarify meristematic dynamics during shoot and root branching. We also observed branching of roots treated with different concentration of auxin. We revealed that the branching of shoot and root began with the appearance of actively dividing cells within the parental meristem of shoot and root, and the parental meristem is divided to form two daughter meristems.

研究分野：植物形態学

キーワード：分枝 維管束植物 小葉類 根 茎 進化

1. 研究開始当初の背景

私たちが普段目にしてしている植物は、一見複雑な外見をしているように見えるが、根、茎、葉という3つの基本的な器官の組み合わせによってつくられる。多様な形を生み出す要因の一つとして「分枝」という特徴があり、多くの維管束植物(シダ植物、裸子植物、被子植物)は種ごとや生育環境など様々な状況に応じて根と茎を分枝させ、植物体を形づくる。植物の分枝の進化的な歴史は古く、約4億年前にコケ植物段階からシダ植物段階へと進化した時、1本の胞子体の軸が二又に枝分かれ(分枝)したと考えられている。初期維管束植物であるアグラオファイトン(化石)は、軸が単純に二又分枝し、根、茎、葉の器官はみられない。他の化石植物の証拠においても根、茎、葉より先に軸の分枝が出現し、分枝がその後の植物の形態進化に大きな影響を及ぼしたと推定されている。茎と葉の場合、二又分枝した軸に強弱が生じて主軸が形成され、軸の扁平化と軸間の癒合が生じたことにより獲得されたとするテロム説

(Zimmermann, 1951)が提唱されている。根に関しては、維管束植物の小葉類と真葉類(シダ植物大葉類、種子植物)が分岐した後、各々で進化したとされているが、祖先種の根に相当する器官は二又分枝や立体的な分枝をもつ化石情報から報告されており、根の進化にも分枝は関与すると考えられる。したがって、軸の分枝は植物の形態進化に重要な形質であると考えられるが、分枝メカニズムや現生の植物群へどのように分枝が進化したのかということについては手付かずのままである。この難問を突破するためには現生の植物群であるシダ植物小葉類が重要である。

2. 研究の目的

現存する維管束植物のうち、シダ植物小葉類は根と茎が二又分枝する特徴をもち、原始的な分枝様式を保持していると考えられている。一方、真葉類は側根を根内部から形成し、茎は葉の基部から側枝を生じる側方分枝するため、全く異なる特徴をもつ。したがって、小葉類の分枝は、初期の分枝様式から現生の維管束植物のみにみられる形態への進化過程を推定するために必要不可欠であると考えられる。そこで、本研究ではシダ植物小葉類の分枝様式を明らかにし、軸の分枝の形態進化解明を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

シダ植物小葉類の分枝様式を明らかにするために、分枝形成の要である根と茎の頂端分裂組織の細胞分裂動態について発生解剖学および分子遺伝学的手法を用いて解析した。解析には小葉類のヒカゲノカズラ科のヒカゲノカズラ、トウゲシバ、イワヒバ科のコンテリクラマゴケを用いた。本実験は分枝時のRAMとSAMの細胞分裂動態について、根はEdU蛍光法を用いた分枝動態の解析、茎は細胞分裂のS期に発現する*HistoneH4*相同遺伝子とSAM特異的に発現するclass 1 *KNOX*相同遺伝子を用いたRNA *in situ* hybridization法による発現解析を行った。さらに、植物ホルモンであるオーキシン及びオーキシン輸送阻害剤による分枝動態を解析し、小葉類の分枝形成の制御機構を明らかにすることとした。

4. 研究成果

ヒカゲノカズラの根の分枝は、EdU 蛍光染色法による細胞分裂動態解析から、分枝の発生段階を明らかにすることができた。ヒカゲノカズラの根頂端分裂組織(RAM)は、種子植物の静止中

心 (QC) の分裂動態に類似した、極度に細胞分裂頻度の低い QC 様領域という構造をもつ (Fujinami et al. 2017)。真円の形状を示す QC 様領域は、分枝段階に入ると領域内の細胞分裂頻度が上昇し、細胞数を増加させ、横幅を拡大する。拡大した QC 様領域の中央部に、分裂細胞群 (IC) が縦に並ぶように生じ、垂層分裂を行うことで QC 様領域が二分される。その後、IC は層状構造を保ちながら垂層分裂を繰り返し、QC 様領域間を広げる。QC 様領域間がある程度広がると、IC 領域中央部が分化し、RAM が 2 つ形成され、二又分枝が生じる。以上の結果から、ヒカゲノカズラの根の分枝は、QC 様領域内に生じる分裂細胞群による QC 様領域の分割で生じることが明らかとなった (Fujinami et al. 2020)。一方、ヒカゲノカズラの茎の分枝は *LcHistoneH4* と *LcKNOX1* を用いた RNA *in situ* Hybridization 法による解析から、茎頂分裂組織 (SAM) 中央部に分裂細胞群がほとんどみられず、被子植物の SAM にみられる Organizing Center (OC) と似た、OC 様領域という構造をもつことが示唆された (Fujinami et al. 2020)。茎の分枝時、主軸 SAM の領域が側方に広がり、それと同時に OC 様領域も側方に広がる。その後、拡大した OC 様領域のほぼ中央部に分裂細胞群が生じ、その働きによって OC 様領域が分割されて 2 つの新しい SAM が形成された。

以上の解析結果から、ヒカゲノカズラの根と茎の分枝は QC 様領域と OC 様領域の内に分裂細胞群が生じることで RAM と SAM が分割され、分枝するということが明らかとなり、根と茎で同じ分枝様式をもつと考えられる。

RAM 構造が層状を示すトウゲシバ (ヒカゲノカズラ科) の場合、QC 様領域のような構造はもたない (Fujinami et al. 2017)。根の分枝について EdU 蛍光染色法を用いて同様に解析した結果、ヒカゲノカズラと同様に RAM 領域内に分裂細胞群が生じ、RAM を分割する様式をもつことが示唆された。したがって、小葉類の根の分枝は、複数始原細胞群の RAM 構造をもつグループで共通の分枝様式をもつと考えられる。さらに、茎の分枝についても解析を進め、小葉類全体で比較する必要がある。

小葉類の根の形成機構を解明するために、植物ホルモンであるオーキシンおよびオーキシン阻害剤の投与実験を行い、その影響を解析した。オーキシン輸送阻害剤を投与した根は、伸長が著しく阻害され、根頂端部における RAM 領域が縮小した様子が観察された。オーキシンは小葉類の RAM 構造維持に関与する可能性が考えられ、更なる検討を進めている。

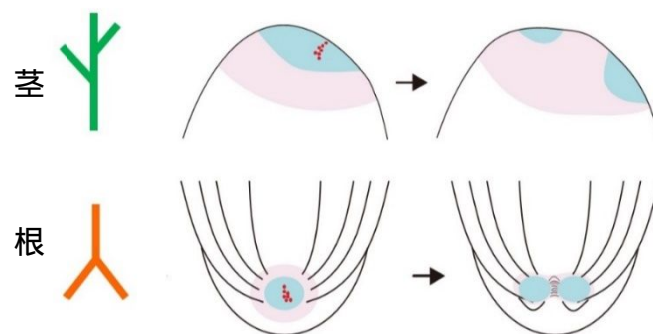


図 小葉類ヒカゲノカズラの根と茎の分枝過程 (茎：上段，根：下段)
SAM の OC 様領域 (青) と RAM の QC 様領域 (青) に分裂細胞群 (赤点) が生じ、2 つに SAM と RAM が分割され、分枝する (改図、Fujinami et al. 2020)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Fujinami Rieko, Nakajima Atsuko, Imaichi Ryoko, Yamada Toshihiro	4. 巻 229
2. 論文標題 Lycopodium root meristem dynamics supports homology between shoots and roots in lycophytes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 New Phytologist	6. 最初と最後の頁 460-468
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/nph.16814	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Rieko Fujinami, Toshihiro Yamada, Ryoko Imaichi	4. 巻 133
2. 論文標題 Root apical meristem diversity and the origin of roots: insights from extant lycophytes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Plant Research	6. 最初と最後の頁 291-296
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10265-020-01167-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 藤浪 理恵子	4. 巻 31
2. 論文標題 シダ植物小葉類の根頂端分裂組織の構造と形態進化	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant Morphology	6. 最初と最後の頁 47-52
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5685/plmorphol.31.47	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 3件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Rieko Fujinami, Yamada Toshihiro
2. 発表標題 Diversity of RAM organization and cell division dynamics in the extant lycophytes
3. 学会等名 日本植物生理学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Rieko Fujinami
2. 発表標題 Root apical meristem diversity and the origin of roots: insights from extant lycophytes
3. 学会等名 日本植物学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤浪理恵子
2. 発表標題 Root apical meristem diversity in extant lycophytes and implications for root origins シダ植物小葉類の根頂端分裂組織の多様性
3. 学会等名 日本植物形態学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Rieko Fujinami	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Humana Press	5. 総ページ数 9
3. 書名 Chapter 10, Analysis of Cell Division Frequency in the Root Apical Meristem of Lycophytes, Non-seed Vascular Plants, Using EdU Labeling. In: Plant Stem Cells (eds. Muhammad Naseem, Thomas Dandeka).	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------