

機関番号：32670

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20570097

研究課題名（和文） 維管束植物の頂端分裂組織の進化を原形質連絡ネットワークから探る

研究課題名（英文） Evolution of apical meristem structures in vascular plants with respect to plasmodesmatal network

研究代表者

今市 涼子（IMAICHI RYOKO）

日本女子大学・理学部・教授

研究者番号：60112752

研究成果の概要（和文）：頂端分裂組織の進化を解明するため、維管束植物 14 科 19 種の根端の透過電子顕微鏡観察を用いて、根端分裂組織の原形質連絡（PD）ネットワークを比較した。種子植物とシダ植物小葉類の複数始原細胞群型根端の PD 密度は全体的に低い値であったが、シダ植物大葉類と小葉類の頂端細胞型根端の PD は頂端細胞を頂点として、約 3 倍の高い密度を示した。この PD ネットワーク 2 タイプは、分類群ではなく根端構造の違いと強く相関する点、茎頂と同様であった。

研究成果の概要（英文）：Plasmodesmatal (PD) networks in the root apical meristem were compared for 14 families and 19 species of angiosperms, gymnosperms, and pteridophytes, using transmission electron microscopy. Root apices of the seed plants, which have multicellular initial cells, show low PD densities per unit area. In contrast, root apices of ferns and some lycophytes, which have single apical cell, show high PD densities that are more than three-times higher than those of seed plants. Like the shoot apical meristem, PD networks in the root apex are strongly correlated to apical organizations.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
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

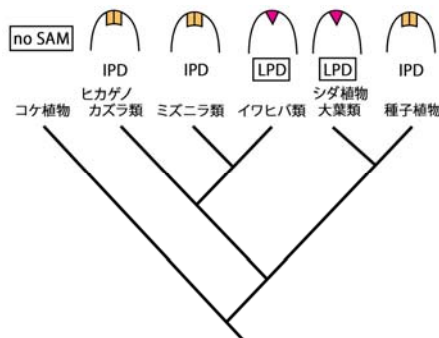
キーワード：植物、進化、根頂端分裂組織、原形質連絡、TEM

1. 研究開始当初の背景

維管束植物は、茎と根の先端に未分化の細胞集団である頂端分裂組織をもち、これから全ての組織が作られる。頂端分裂組織は、最初の陸上植物であるコケ植物には存在しないことから、シダ植物段階へと進化した時に起源したと考えられ、維管束植物進化を理解する上で鍵をにぎる重要な構造である。しかし化石記録もほとんどなく、

頂端分裂組織がどのように生じたのか、その進化過程は未解決の問題として残っている。頂端分裂組織は植物群によって異なった構造をもち多様性を示す。特に茎頂分裂組織（茎頂）については植物の門レベル（シダ植物小葉類、大葉類、裸子植物、被子植物）の間での違いが強調され、始原細胞の数と配置によってタイプ分けがなされてきた。申請者は全維管束植物群を対象に、新たな

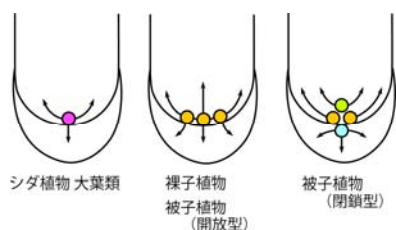
機軸を用いた比較の必要性を考え、原形質連絡(PD; plasmodesmata)に注目し PD ネットワークの解析を行った。PD とは隣接する細胞間をつなぐ微小構造で、物質の移動やシグナル伝達に重要な役割を担う。その結果茎頂分裂組織の PD ネットワークは、①茎頂全体に高密度の PD をもつ(LPD)、②茎頂全体に低密度の PD をもつ(IPD)、という 2 タイプが存在し、①では 1 個の頂端細胞をもち、②では複数始原細胞が存在する、という茎頂構造の違いと関連する可能性が示唆された(Imaichi and Hiratsuka, 2007 下図)。



もう一つの頂端分裂組織、根頂端分裂組織(根端分裂組織)は根冠という根特有の構造をもち、また構造も茎頂より多様であるため、これまで茎頂と直接比較された事がなく、根独自の分類が行われてきた。さらに、一般の根が側根を内生するのに対して、小葉類の根は外生的に二叉分枝するという大きな特徴を示すにもかかわらず、根端分裂組織そのものについての情報が大きく不足している。このような現状にあつて、PD ネットワーク解析を行えば、茎頂と比較が可能になるものと予想される。

2. 研究の目的

根端分裂組織は大きく 3 型に分類される(下図)。1 個の頂端細胞が始原細胞として働く頂端細胞型はシダ植物大葉類全般とシダ植物小葉類の一部にみられる。複数の始原細胞群をもつ開放型は裸子植物と被子植物、シダ類小葉類の一部にみられる。また複数の始原細胞群が 3 層に分かれ、それぞれが根冠、表皮と皮層、中心柱を作る閉鎖型は被子植物に多くみられる。本研究では、上記 3 型の根端分裂組織構造を、PD ネットワークを機軸に整理し、茎頂と根端に共通



する原始的な頂端分裂組織の起源とその進化過程を推定することを目的とする。

3. 研究の方法

被子植物 4 科 4 種(エンドウ、トウモロコシ、シロイヌナズナ、アンボレラ) 裸子植物 3 科 4 種(アカマツ、グネツム、マオウ、イチョウ)、シダ植物大葉類 4 科 5 種(トクサ、ミズドクサ、リュウビンタイ、ゼンマイ、イワヒメワラビ)、シダ植物小葉類 3 科 6 種(ヒカゲノカズラ、トウゲシバ、ミズニラ、ミズニラモドキ、マルテンシクラマゴケ、コンテリクラマゴケ)の根を日本各地および東京大学付属植物園(小石川植物園)にて採集した。透過電子顕微鏡(TEM)観察用に常法で固定・包埋を行った後、超薄切片を作成した。根端の正中縦断面の TEM 写真上で PD 数を数え、該当する細胞壁の全長から $1\mu\text{m}^2$ あたりの PD 数を計算した。PD 密度はこの値を用いて、以下の式により補正し算出した。

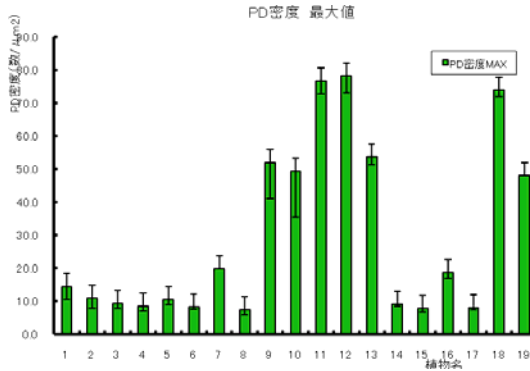
$$\text{PD 密度 (PD 数}/\mu\text{m}^2) = \text{PD 数}/\mu\text{m} \times [1000 / (\text{T} + 1.5\text{R})]$$
T: 超薄切片の厚さ (80nm) ; R: PD の半径 (nm)

なお分裂組織の構成細胞壁の密度は連続する 3 切片の平均を取り、各種 1 ~ 3 個体を材料とした。

4. 研究成果

[PD 密度最高値と根端構造]

茎頂分裂組織と同様、分裂組織がもつ始原細胞の数と PD ネットワークの間に高い相関がみられた。1 個の頂端細胞をもつシダ植物大葉類の根端は、 $0 \sim 83.0/\mu\text{m}^2$ と高い PD 密度をもつものに対して、複数の始原細胞群をもつ種子植物の根端は $0 \sim 19.8$ と低い PD 密度をもっていた。一方シダ植物小葉類は頂端細胞型をもつものと、複数始原細胞群型をもつものがあるが、興味深いことに前者(マルテンシクラマゴケ、コンテリクラマゴケ)はシダ大葉類と同様高い PD 密度 ($0 \sim 75.6$) をもつものに対して、後者(ヒカゲノカズラ、トウゲシバ、ミズニラ、ミズニラモドキ)は種子植物型に相当する低い値の PD 密度 ($0 \sim 20.8$) を示した。これらを次頁のグラフにまとめた。本グラフより、根端分裂組織は PD 密度最高値において 2 つのグループ、頂端細胞型と複数始原細胞型、にわかれ、2 グループ間の中間的は値を示すものはみられなかった。さらに種子植物にみられる開放型と閉鎖型の違いに基づく PD 密度の違いは存在しなかった。興味深いことに、シダ植物小葉類も頂端細胞の有無によって 2 グループにわかれた。



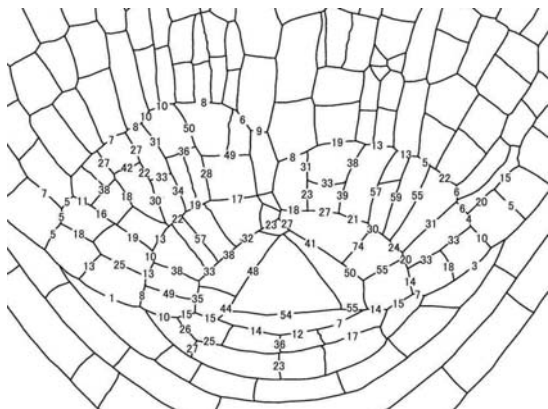
1 エンドウマメ、2 トウモロコシ、3 シロイヌナズナ、4 アンボレラ、5 アカマツ、6 グネツム、7 マオウ、8 イチョウ、9 ミズドクサ、10 トクサ、11 イワヒメワラビ、12 リュウビンタイ、13 ゼンマイ、14 ヒカゲノカズラ、15 トウゲシバ、16 ミズニラモドキ、17 ミズニラ、18 マルテンシクラマゴケ、19 コンテリクラマゴケ

[PD ネットワークと根端構造]

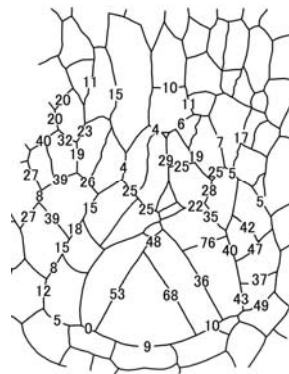
さらに1個の根端分裂組織内におけるPD密度の分布、すなわちPDネットワークについても、頂端細胞型と複数始原細胞群型の2つに分かれた。頂端細胞型では、頂端細胞壁を頂点として頂端細胞とその近くの細胞が高いPD密度をもち、頂端以外は低いPD密度もつ。これに対して複数始原細胞型では全体的にPD密度が低く、頂端部のPD密度が高いなど一部に高いPD密度をもつことはなかった。以上から、根端分裂組織にみられた2つの型は、それぞれ茎頂において提唱されたLPD型、IPD型に相当すると考えられる。茎頂と同様に、同じシダ植物段階にある小葉類の根端分裂組織も、頂端細胞の有無によってLPD型とIPD型を示した。

以下に頂端細胞型の代表的な根端分裂組織とPD密度を図で示す。

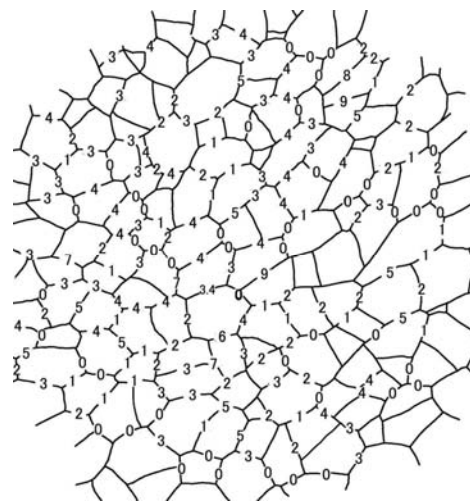
シダ植物大葉類イワヒメワラビ (頂端細胞型)



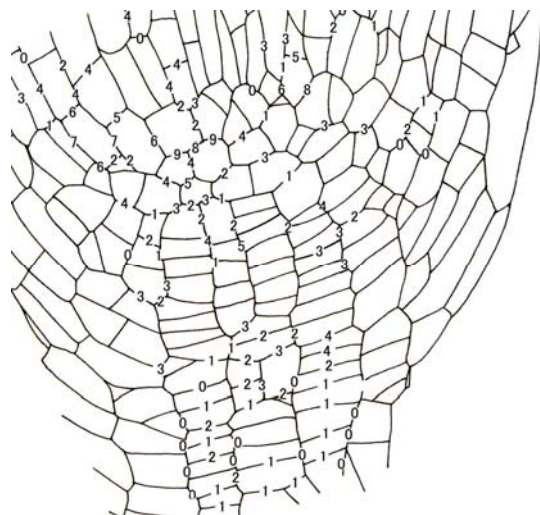
シダ植物小葉類マルテンシクラマゴケ (頂端細胞型)



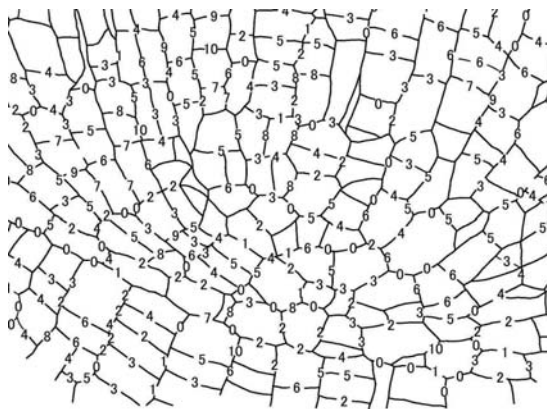
シダ植物小葉類ヒカゲノカズラ (複数始原細胞群型)



裸子植物アカマツ (複数始原細胞群、開放型)

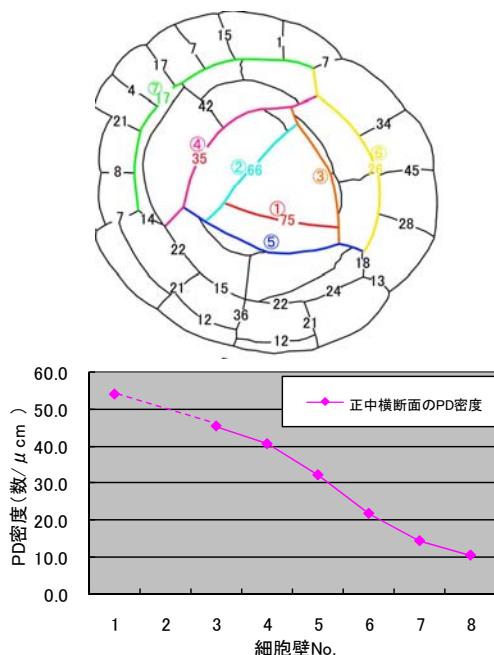


被子植物トウモロコシ (複数始原細胞、閉鎖型)



[LPD型とIPD型の違いと二次PD形成能]

頂端細胞型根端のLPD型と複数始原細胞群型根端のIPD型の違いは、二次PD形成の有無に関連すると考えられる。すなわち頂端細胞型では一次PDのみしか作れないが、複数始原細胞型では二次PDを作る能力をもつ。頂端細胞型では二次PD形成能をもたないため、成長に伴って引き延ばされる細胞壁においてもある程度のPD数を維持するためには、最初に多数のPDを作っておく必要がある。すなわち、頂端細胞から切り出された最新の派生細胞壁が最も高いPD密度をもつことになる。そして派生細胞がさらに分裂を繰り返して細胞壁が引き延ばされるにつれ、PD密度も低くなっていく。イワヒメワラビの根端の横断切片を例に示すと(下図、下グラフ)、最新の派生細胞壁である①が最も高いPD密度をもち、②→⑤にしたがって密度が低くなっていくことがわかる。本事実



端細胞をもつLPD型根端が二次PD形成能をもたないことを示唆している。同じ傾向はトクサの根端においても観察されている。

一方、二次PD能をもっていれば最初から高い密度でPDを作る必要はなく、必要な時にPDを作り足すことができると考えられる。したがってIPD型では1個の根端全体的にPD密度は低く、頂端部が高いということはない(ヒカゲノカズラ、アカマツ、トウモロコシの図を参照)。

また静止中心が明瞭とされるシロイヌナズナでは、静止中心の2細胞と周囲の始原細胞群との間にもPD密度の違いはみられなかった。

本研究結果は分裂組織の構造の違いとPDネットワークが相関する点において、茎頂と根端分裂組織は全く同じであることを示すものである。この結果は、頂端分裂組織をもつ1個の軸(テロム)から茎と根が作られたとするテロム仮説を支持するものである。しかし維管束植物より前段階にあるコケ植物では茎頂も根端分裂組織をもたないため、頂端細胞が何に起原するのか大きな疑問として残っている。コケ植物胞子体は発生初期に三角形の1個の細胞が頂生する。これをシダ植物小葉類と大葉類がリクルートすることによって頂端細胞が進化したとする考えもあるが、コケ植物胞子体の頂端にある細胞の動態は不明で、頂端細胞に比較できるかどうか明らかでない。

[コケ植物ヒメツリガネゴケ胞子体のPDネットワーク]

本研究では、モデルコケ植物ヒメツリガネゴケ胞子体の非常に若い段階(正中縦断切片で10数細胞から構成)から胞子のう形成直前までの数段階の個体のPDネットワークを観察した。結果、コケ植物のPD密度最高値は種子植物の複数始原細胞型とシダ植物大葉類、小葉類の頂端細胞型の間値を示し0~57.4であった。最も若い時期の胞子体ではどの細胞壁も高い密度のPDをもっていたが(19.1~57.4)、その後、成長を進むにつれて最低密度と最高密度がともに低下した(1.8~27.7; 0~23.7)。また胞子体の頂端部には三角形の細胞は存在するが、その細胞壁あるいは近くの細胞壁のPD密度が特に高いということではなく、かたよりなく、あちこちにPD密度の高い細胞壁が分布していた。さらに胞子のう形成直前になると、先端部の細胞壁のPD密度は大きく減少し(0~5.0)、中央部の維管束様組織分化前の細胞壁は高いPD密度(13.7等)を示した。以上から、コケ植物胞子体が二次PD形成能をもつとは考えにくく、一次PDのみを作るという点、シダ植

物大葉類と小葉類の胞子体の頂端細胞型と似ている。しかし、頂端の細胞が高いPD密度を示さなかったことから、本細胞とシダ植物頂端細胞とは大きく異なり、コケ植物の頂端部の細胞がリクルートされてシダ植物の頂端細胞が進化したとする説を支持することはできなかった。

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)

[学会発表] (計2件)

- ①盛一伸子、シダ植物根端分裂組織の構造多様性と原形質連絡ネットワーク、日本顕微鏡学会第66回学術講演会、2010年5月24日、名古屋国際会議場
- ②盛一伸子、維管束植物の根端分裂組織の構造多様性と原形質連絡ネットワーク、日本植物形態学会第21回大会、2009年9月17日、山形大学

[図書] (計4件)

- ①共立出版、進化学事典、(印刷中)
- ②石井龍一 他、朝倉書店、植物の百科事典、2009、548
- ③石川統 他、東京化学同人、生物学辞典、2010、1634
- ④Tom A. Ranker and Christopher H. Haufler (編集), Cambridge University Press, Biology and Evolution of Ferns and Lycophytes, 2008, 75-98.

6. 研究組織

(1)研究代表者

今市 涼子 (IMAICHI RYOKO)
日本女子大学・理学部・教授
研究者番号：60112752

(2)研究分担者

(無し)

(3)連携研究者

佐藤 眞美子 (SATO MAMIKO)
日本女子大学・電子顕微鏡施設・技術員
研究者番号：50112975

(4)研究協力者

- ①盛一 伸子 (MORITOKI NOBUKO)
日本女子大学・電子顕微鏡施設・非常勤職員
- ②森田 奈菜 (MORITA NANA)
日本女子大学・理学部・非常勤助手