

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02553

研究課題名（和文）ヒカゲノカズラ類における地下茎から根への進化過程の解明

研究課題名（英文）Evolutionary processes of roots from subterranean stems in lycophytes

研究代表者

山田 敏弘 (Yamada, Toshihiro)

北海道大学・理学研究院・教授

研究者番号：70392537

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 11,200,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究では「小葉類の根は根冠を獲得した地下茎である」という仮説を検証した。まず、現生ヒカゲノカズラの発生学的特徴を観察し、初生根が茎の分枝部付近に生じること、初生根が葉緑体を持つこと、を明らかにした。また、初生根が複数回分枝して生じた後生根は、初生根と組織学的特徴や細胞の分裂動態が異なることがわかった。これらの結果は、初生根と茎との同一性を支持した。さらにベトナム北部や日本のシルル紀からデボン紀の地層において、“根幹のない最古の根”を探索した。ベトナムではアジア最古の植物化石群、日本では日本最古の植物化石群を発見したが、“根幹のない最古の根”の発見には至らなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

すべての植物は根を持つが、根がどのように起源したのかは長らく謎だった。私たちは、植物の中で最初に根を獲得した小葉類に着目し、それら根が地下茎と相同であることを初めて明らかにした。また、ヒカゲノカズラの根は分枝するにつれ、茎的性質を徐々に失い、根としての性質を確立することを明らかにした。つまり、小葉類は、他の植物とは異なり、根と茎との中間的器官を保持していることになる。この成果は、現生小葉類が他の植物とは異なる体制を持つことを示す点で、驚くべきものである。一方、日本最古の植物化石群の発見は研究の副産物的なものであるが、日本の植物史の理解に大きく貢献した。

研究成果の概要（英文）：To test the hypothesis that the root in lycophytes is a stem that acquires a root cap, we observed root development in the extant *Lycopodium clavatum*. Our observations revealed that the first root with chloroplasts emerges near a branching point of the stem. This primary root branches multiple times to form third- or fourth-order roots, which exhibit distinct meristematic characteristics and cell division dynamics compared to the primary root. These findings suggest that the first root is homologous to the stem. Furthermore, we searched for the oldest root fossils lacking a root cap from the Silurian to the Devonian in northern Vietnam and Japan. We discovered the oldest plant fossils in Asia in Vietnam, as well as the oldest ones in Japan. However, we did not find the oldest root.

研究分野：進化古植物学

キーワード：小葉類 ヒカゲノカズラ 根の起源

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

デボン紀初頭(約4.1億年前)に起きた根の起源は植物にとって革命で、根を持つ植物だけが陸上の水分と養分を独占できた。そのため、維管束植物はデボン紀の間に競って根を進化させ、陸上の資源を奪い合った。一方、根を持つ植物の拡散により、陸地は急速に風化し、土壌形成が進んだ。また、土壌に二酸化炭素が取り込まれた結果、大気中の二酸化炭素量が減少し、今日の地球生命圏の礎が築かれた。従って、根の起源は地球にとっても革命だった。

ところが、根の獲得過程は長らく未解決のままである。根と茎は、どちらも円柱状で、先端に幹細胞群を持つ。そのため、根が茎から進化したという「根の茎起源説」が100年も前に提唱されたが(Kidston & Lang, 1921. Trans. R. Soc. Edin.), その真偽は不明だった。

デボン紀の小葉類は根を持たないが、地下茎を発達させる。従って、この地下茎が先端を覆う組織「根冠」を獲得すれば、根の進化は起こり得る。また、この仮説に立てば、茎と根は共通する発生学的性質を持つはずだが、小葉類における根の発生は十分に観察されていなかった。

根の最たる機能は水分と養分を吸収することで、その獲得過程も根の起源を推定する鍵となる。現生植物の根は分泌物を放出し、その周囲に独特の細菌相を宿す根圏を形成する。根圏は、根の周囲での土壌形成を促し、根への水分や養分の供給を助ける。一方、根が確立する以前に、地球では土壌形成が始まったことがわかっている。そこで私たちは、「地下茎が根冠の獲得に先立ち、根圏を介した養分の吸収を行っていた」という着想を得た。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、以下の2つの仮説を検証することである。

- (1) 小葉類の根は地下茎に由来する
- (2) 地下茎が根冠の獲得に先立ち、根圏を介した養分の吸収を行っていた

### 3. 研究の方法

#### (1) ヒカゲノカズラにおける根の発生過程の観察

ヒカゲノカズラ科は、現生の小葉類3科(残りはイワヒバ科とミズニラ科)の中で最初に分岐したグループで、デボン紀末に絶滅したドレパノフィクス類やゾステロフィルム類と類似した外見を持つ。それら化石小葉類は、根を持たず、地上茎の分枝部から生じる地下茎を持った。従って、現生ヒカゲノカズラ科植物の根が地下茎に由来するのであれば、根は茎の分枝部に生じるはずである。また、根と茎は共通する発生機構を持つと予想される。そこで本研究では、①ヒカゲノカズラ(*Lycopodium clavatum*)の茎頂付近の連続切片を作成し、茎の分枝点と根の発生位置との関係を観察した。また、②根が茎と同様に葉緑体を持つのか、③根と茎の分裂組織の性質が類似するのか、を検討した。さらに、根を形成する仕組みを理解する糸口を得るため、④根に対するオーキシシン阻害剤投与実験、を行なった。

#### (2) 栄養吸収する地下茎化石の探索

ベトナム北部に分布するシルルーデボン系において、土壌化石と地下茎化石の探索を行なった。しかし、コロナ禍によりベトナムへの渡航が厳しく制限されたため、代替措置として日本国内でも土壌化石と地下茎化石の探索を行なった。

### 4. 研究成果

#### (1) ヒカゲノカズラの根の発生過程

##### ① 根の発生位置の観察 (Ito et al. 2022. Front. Ecol. Evol.)

成熟したヒカゲノカズラの根を観察したところ、それらは茎の中で生じた後、茎の中を横走し、茎表面を突き破って裸出することが多かった。結果として、茎の分枝位置と発根位置とは、一見すると離れて見える(図1)。そのため本研究では、ごく若い茎、すなわち茎頂付近で根の発生位置を観察することにした。

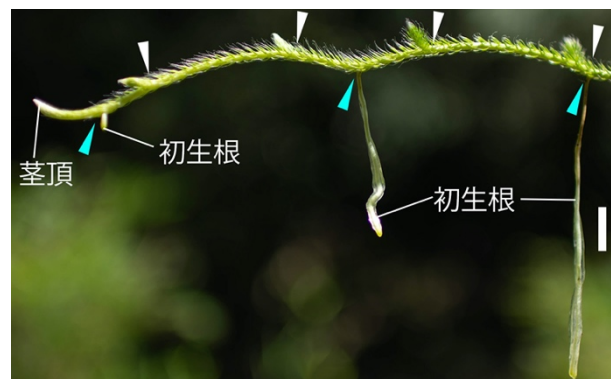


図1. ヒカゲノカズラの根と茎の分枝. 茎の分枝部を白, 根の出現部を青の矢頭でそれぞれ示す.

ヒカゲノカズラの茎は、茎頂から数ミリメートル以内の範囲で1ないし2回分枝した。また、その分枝点の近傍で、根原基を内生的に発生させた(図2, 3)。この結果は、現生のヒカゲノカズラがドレパノフィクス類やゾステロフィルム類と同じように、地下器官(地下茎または根)を地上器官(地上茎または茎)の分枝部につけることを示唆した。

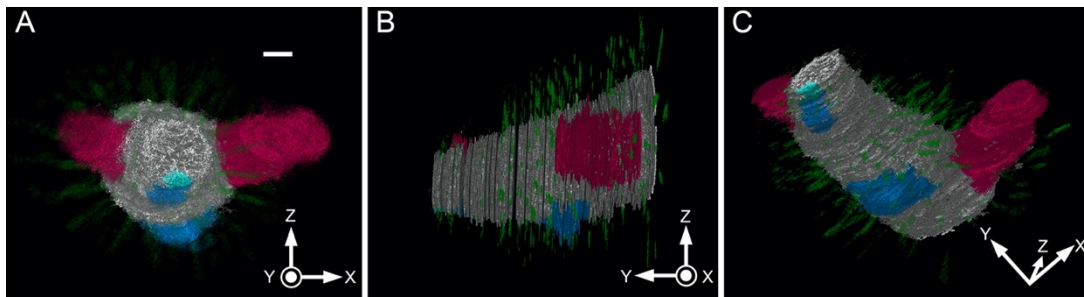


図2. ヒカゲノカズラの茎頂付近における連続切片の三次元構築像. 赤色で側シュート, 青色で根原基を示す. 根原基が茎の分枝点近傍に生じていることに注意. スケールバーは200  $\mu\text{m}$ .

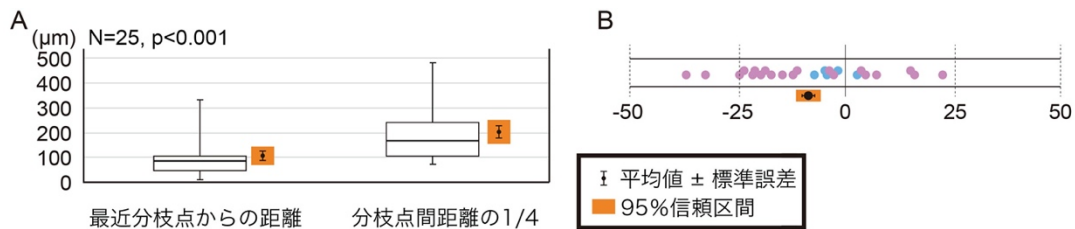


図3. A, 最も近い分枝点から根原基までの距離は、分枝点間距離の1/4の長さよりも有意に短い. B, 分枝点間の距離を100とした時の根原基の位置(ピンクまたは青のドット). 0の位置に分枝点がある. また、マイナスの値は分枝点より先端側、プラスの値は基部側に、根原基があることを示す.

## ②根における葉緑体の観察

ヒカゲノカズラの初生根(茎から内生発生した分枝前の根)は、茎から裸出したとき、緑色である(図1)。そこで、初生根における葉緑体の有無を観察したところ、初生根は葉緑体を持つことがわかった。また、クロロフィル蛍光(Fv/Fm)を計測したところ、初生根は十分な光合成活性を示した。しかし、初生根が数回分枝して生じた後生根では、光合成活性が検出できなかった。この結果は、ヒカゲノカズラの根は初め茎的な器官として生じ、分枝するにつれ根としての性質を増加させていくことを示唆した。

## ③根と茎の分裂組織の性質

私たちは、ヒカゲノカズラの“根”端分裂組織の中央部に、分裂頻度が低い細胞塊(QC様領域)が存在することを報告した(Fujinami et al. 2017. *New Phytol.*)。また、同様の細胞塊は茎頂分裂組織の中央部にも存在する(OC様領域, Fujinami et al. 2020. *New Phytol.*)。この類似性から、私たちは本研究での作業仮説である「根の地下茎起源説」の着想に至った。しかし、上述のように、初生根は分枝するにつれ、その性質を変化させる可能性があった。そこで、根端分裂組織における細胞分裂動態を、初生根と後生根とで比較することにした。

その結果、2回分枝した“根”の多くでは、初生根と同様にQC様領域が保たれていたが、3回以上分枝した“根”ではQC様領域が消滅した。また、それに伴い、根端分裂組織の構造が変化した。この結果は、茎的な細胞分裂動態を持つ初生根が、分枝するにつれ根的な性質を増していく様を表し、初生根は根と茎との中間的器官であることを示唆した。

さらに、初生根の性質に迫るため、茎頂、初生根端、後生根端におけるRNA-seq解析を行なった。現在、リードをヒカゲノカズラのドラフトゲノム(Yu et al. 2023. *Plant Mol. Biol.*)に貼り付け、発現量比較を進めている。

## ④ヒカゲノカズラに対するオーキシシン阻害剤投与実験

オーキシシンが根形成に関与するのかを検証するため、オーキシシン輸送阻害剤であるN-1-naphthylphthalamic acid (NPA)をヒカゲノカズラの根に投与する実験を行った。NPAを投与すると、QC様領域が消失し、細胞の成熟が促進された。また、初生根型から後生根型の分裂組織へと変化が起きた。このことは、オーキシシン応答を低く保つことで、茎から根への転換が起きることを示唆した。

## (2) 栄養吸収する地下茎化石の探索

ベトナム北部において化石小葉類を含む堆積物の観察を行った。また、化石小葉類の地下器官の

周囲に見られる化学化石を解析するため、地下器官を含む堆積物を採集した。一方、これらの化石を含む堆積物の年代を詳細に決定するため、貝形虫 (McGairry et al. 2021. *Biol. Lett.*; Williams et al. 2023. *Paleontol. Res.*) や孢子などの微化石の解析を併せて行った。その結果、これらの化石が後期シルル紀のものであることが確実となった。残念ながら、栄養吸収する地下茎の発見には至らなかったが、この調査で発見した植物化石群集はアジア最古の記録となった (Legrand et al. 2021. *Ann. Paleontol.*)。

本研究では、ベトナム国内でのさらなる調査を予定していたが、コロナ禍のために、その継続が困難となった。そのため、日本国内でシルル紀–デボン紀の地層を調査した。その結果、日本最古の植物化石群集を発見したが (Maher et al. 2024. *Paleontol. Res.*)、地下茎の発見には至らなかった。

### (3) 研究成果の意義

私たちの成果は、ヒカゲノカズラの“根”には2種類の器官、すなわち初生根と後生根とが含まれることを示した。また、ヒカゲノカズラにおける真の根は後生根であり、初生根は茎と根との中間的な器官である。

現生の小葉類3科のうち、イワヒバ科とミズニラ科は、担根体と呼ばれる茎と根との中間的な器官を持つ。しかし、小葉類の中で原始的な体勢を維持するヒカゲノカズラ科には担根体が無いと考えられてきた。本研究の結果、“約200年ぶり”となる新器官の発見がなされた。この成果は、植物形態学の常識を覆す驚くべきものである。また、本研究の結果、小葉類における根の起源は、茎から中間的器官を経て起きたことが示された。このように本研究は、植物の器官進化の理解に大きく貢献した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 4件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ito Yuki, Fujinami Rieko, Imaichi Ryoko, Yamada Toshihiro	4. 巻 10
2. 論文標題 Shared body plans of lycophytes inferred from root formation of <i>Lycopodium clavatum</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Ecology and Evolution	6. 最初と最後の頁 1~12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fevo.2022.930167	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Legrand Julien, Yamada Toshihiro, Komatsu Toshifumi, Williams Mark, Harvey Tom, De Backer Tim, Vandenbroucke Thijs R.A., Nguyen Phong Duc, Doan Hung Dinh, Nguyen Hung Ba	4. 巻 107
2. 論文標題 Implications of an early land plant spore assemblage for the late Silurian age of the Si Ka Formation, northern Vietnam	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annales de Paleontologie	6. 最初と最後の頁 102486~102486
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.annpal.2021.102486	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 該当する
1. 著者名 McGairy Anna, Komatsu Toshifumi, Williams Mark, Harvey Thomas H. P., Miller C. Giles, Nguyen Phong Duc, Legrand Julien, Yamada Toshihiro, Siveter David J., Bush Harrison, Stocker Christopher P.	4. 巻 17
2. 論文標題 Ostracods had colonized estuaries by the late Silurian	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biology Letters	6. 最初と最後の頁 1~7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1098/rsbl.2021.0403	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 該当する
1. 著者名 Williams Mark, Komatsu Toshifumi, Nguyen Phong Duc, Siveter David J., McGairy Anna, Bush Harrison, Goodall Robert H., Harvey Thomas H. P., Stocker Christopher P., Legrand Julien, Yamada Toshihiro, Miller C. Giles	4. 巻 27
2. 論文標題 Ostracods from the Upper Silurian Si Ka Formation, Northern Vietnam, and Their Paleobiogeographical Significance	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Paleontological Research	6. 最初と最後の頁 261~276
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2517/PR210032	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 該当する

1. 著者名 Maher Ahmed, Legrand Julien, Yamada Toshihiro, Komatsu Toshifumi	4. 巻 28
2. 論文標題 Early Land Plant Spore Assemblage from the Devonian Nakazato Formation of the South Kitakami Belt, Northeast Japan	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Paleontological Research	6. 最初と最後の頁 1~10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2517/PR230018	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 該当する

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Julien Legrand, 山田敏弘, 小松俊文, Mark Williams, Tom Harvey, Tim De Backer, Thijs R.A. Vandenbroucke, Phong Duc Nguyen, Hung Dinh Doan, Hung Ba Nguyen
2. 発表標題 初期植物の微化石群集から解明する北部ベトナムSi Ka層の地質年代と古環境
3. 学会等名 日本古生物学会2021年年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊藤雄氣, 藤浪理恵子, 山田敏弘
2. 発表標題 根の形成位置から考える小葉類の根と根形成器官の進化
3. 学会等名 日本植物分類学会第21回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuki Ito, Rieko Fujinami, Ryoko Imaichi, Toshihiro Yamada
2. 発表標題 Evolution of subterranean organs in lycophytes based on Lycopodium clavatum root characters
3. 学会等名 2nd Asian Palaeontological Congress, Tokyo (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔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
研究分担者	中村 英人 (Nakamura Hideto)  (00785123)	北海道大学・理学研究院・助教  (10101)	
研究分担者	小松 俊文 (Komatsu Toshifumi)  (40336201)	熊本大学・大学院先端科学研究部(理)・教授  (17401)	
研究分担者	藤浪 理恵子 (Fujinami Rieko)  (40580725)	京都教育大学・教育学部・准教授  (14302)	
研究分担者	LEGRAND Julien (Legrand Julien)  (60737534)	静岡大学・理学部・助教  (13801)	

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			
ベトナム	ベトナム地質科学鉱産資源研究所	ベトナム国立科学博物館		
英国	レスター大学			
ベルギー	ゲント大学			
エジプト	アルアズハル大学			