

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 25 年 6 月 3 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22570090

研究課題名（和文）ゲノム情報を基礎にした単子葉植物の新規分類形質の探索と初期進化の研究

研究課題名（英文）Studies of reproductive morphological characters and early evolution in monocots in the light of molecular information

研究代表者

戸部 博（HIROSHI TOBE）

京都大学・大学院理学研究科・名誉教授

研究者番号：60089604

研究成果の概要（和文）：

ゲノム情報の利用によって大きく変わった単子葉植物の分類システムをより良く理解するため、基部単子葉植物を中心にショウブ目、オモダカ目、ヤマノイモ目を代表する科の花と種子の発生と構造の解析と単子葉植物の初期進化の研究を行った。この研究による主な研究成果は以下のとおりである。ショウブ科（ショウブ目）は珠皮性閉塞組織と珠心性閉塞組織をもち、前者は固有派生形質、後者（オモダカ目にも見られる）は原始形質である。サトイモ科（オモダカ目）の内乳発生様式は従来の報告とは異なり「細胞型」である。内乳発生様式は、オモダカ目内では「細胞型」から「イバラモ型」、更に「自由核型」へ進化した。キンコウカ科（ヤマノイモ目）は原始形質として下位子房と隔壁蜜腺をもつ。下位子房は真正単子葉植物の共有派生形質であるが、真正単子葉植物内では子房下位から上位子房への逆転が何度も起きた。隔壁蜜腺は、ショウブ目を除く単子葉植物全体に見られ、その喪失が3回起こった。その他、単子葉植物における葯壁形成様式と種皮（及び「周乳」）の形質についても検討した。

研究成果の概要（英文）：

For better understanding of monocot relationships based on molecular data as well as of early evolution in monocots, reproductive morphological characters were investigated using basal monocots and related taxa. Major findings are as follows. Acoraceae (Acorales) have an integumentary obturator (as autapomorphy) and a nucellar obturator as a plesiomorphy. Contrary to previously known information, Araceae (Alismatales) have the cellular type of endosperm development. Thus, evolution is likely to have occurred from the cellular to the helobial type, and from the helobial to the nuclear type in Alismatales. Nartheciaceae (Dioscoreales) have an inferior ovary and a septal nectary as plesiomorphies in the family. The inferior ovary is a synapomorphy of eumonocots, but a reversal from the inferior to the superior ovary occurs many times. The septal nectary, which is prevalent in monocots (except in Acorales), is lost three times in evolution of monocots. Besides, anther wall formation mode and seed structure (seed coat and perisperm) were also discussed in relation to monocot evolution.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：単子葉植物、分類形質、発生学、花、形質進化、サトイモ科、ショウブ科、キンコウカ科

1. 研究開始当初の背景

この数十年間、ゲノム情報の蓄積とその分析により、被子植物の分類システムは大きな変更を余儀なくされ、しかも 479 科という過去にない多くの科が認められるようになった (APG 1998, APGII 2003, Haston et al. 2007) (ただし最近発表された APGIII[2009]では 403 科)。目や科レベルのシステム変更の顕著な例として、単子葉植物の「ユリ科」があげられる。かつての「ユリ科」は 30 科に分解され、ユリ目 (狭義) のほか、オモダカ目、サクライソウ目、キジカクシ目にも分類されている。更に単子葉植物の系統関係についても、ショウブ科 (目) が最初に分岐し、残り全ての単子葉植物の姉妹群となっている。次いで、オモダカ目、サクライソウ目が分岐したことも明らかになってきた。すなわち、ショウブ目、オモダカ目、サクライソウ目の 3 つの目は、単子葉植物の系統の中で最も基部で分岐した植物群 (基部単子葉植物) である。残りのヤマノイモ目、ユリ目、キジカクシ目、イネ目など、従来よく知られている単子葉植物の多くの種を含む 8 つの目と 1 つの科 (Dasypogonaceae) は 1 つのクレード (真正単子葉植物) にまとまる。

このように、近年の被子植物の分類システムは、系統分類システムへと大きく近づくことができるまで発展した。しかしその一方、多くの科の独立性や科間の類縁関係と支持する分類形質、すなわち互いの進化の姿を理解するための形態情報を著しく欠いていることが指摘されている (Stevens 2001 onward)。

2. 研究の目的

本研究は、上にあげた問題に 대응するため、基部単子葉植物のショウブ科 (ショウブ目)、オモダカ目中の基部植物であるサトイモ科とチシマゼキショウ科に焦点を当て、ゲノム情報の解析結果に照らして、分類形質とともに形質進化を理解するための新規形態情報を探索する。そのために、まだ多くの科について未研究である雌雄生殖器官 (葯、胚珠、種子) の発生学の研究を行う。

更に、基部単子葉植物との比較のためにヤマノイモ目のキンコウカ科を加え、同様の方法で分析を進める。キンコウカ科については、花の発生と構造の研究も行い、単子葉植物の花の進化を捉える形質の探索を行う。

3. 研究の方法

ショウブ科 (ショウブ目)、サトイモ科とチシマゼキショウ科 (オモダカ目)、キンコウカ科 (ヤマノイモ目) について、いろいろな発生段階にある花を、ほぼ数日から 1 週間おきに野外で採集した。採集した花は FAA (フォルマリン + 酢酸 + 50% エタノール = 5:5:90) で固定した。

固定した花や種子のサンプルから、葯、胚珠、種子の発生と構造、花全体の発生と構造を観察した。そのために、観察するサンプルをエタノールで脱水後、テクノビット樹脂に包埋し、回転式マイクロームを用いて、約 5 ミクロンの連続切片して顕微鏡観察を行った。

4. 研究成果

(1) ショウブ科

ショウブ属は、他のすべての単子葉植物の姉妹群であり、単子葉植物の系統上では最も基部で分岐した植物群である。子房室内に懸垂する「直生胚珠」をもち、内珠皮も外珠皮も毛をもつことが知られていた。珠孔は内珠皮のみによって形成され、珠孔を形成する毛状細胞には受精時に分泌活性が見られる。また、珠心先端の表皮細胞は受精時にはやや大型化し、分泌活性が見られる。一方、外珠皮の毛には分泌活性は見られない。これらの点から、ショウブ属の花粉管は珠孔を形成する内珠皮の毛状細胞と珠心先端の表皮細胞が閉塞組織 (obturator) として花粉管誘導の役割を果たしていることを明らかにした。また、前者を珠皮性閉塞組織 (integumentary obturator)、後者を珠心性閉塞組織 (nucellar obturator) とした。

本来、“obturator” (閉塞組織) という用語はトウダイグサ科の胚珠の観察をした Baillon (1858) によって初めて使われたが、その後の研究では“obturator” (閉塞組織) の用語はいろいろな組織にも当てて使われている (Shamrov 1992)。本研究では、それらの研究をレビューし、“obturator” (閉塞組織) を胚珠における花粉管誘導組織全般に当てて使うことにした。

ショウブ属で明らかになった珠皮性閉塞組織 (integumentary obturator) は、単子葉植物の中でこれまで知られていない初めての観察結果である。ショウブ科 (ショウブ目)

の派生形質である。また、珠心性閉塞組織 (nucellar obturator) は、後で述べるオモダカ目内の基部植物サトイモ科 (「直生胚珠」をもつ) においても観察されており、単子葉植物の原始形質と考えられる。珠心性閉塞組織は単子葉植物における胚珠の進化を理解する重要な手がかりである。

本研究では、Duvall(2001) がショウブ属において報告した「双子葉型葯壁形成様式」が誤りであることを明らかにした。葯壁の発生様式についてはこれまで4つ様式 (基本型、双子葉型、単子葉型、退化型) が知られている。これまで、単子葉植物では「単子葉型葯壁形成様式」がほとんどであった。しかし例外的にショウブ属とタシロイモ属 (ヤマノイモ目) では「双子葉型葯壁形成様式」が報告されていた。両者を改めて研究したところ、ともに「基本葉型」と「単子葉型」葯壁形成様式をもつことが明らかになった。ショウブ属とタシロイモ属は系統的に離れているために、「基本葉型」は平行進化とみなされる。従って、単子葉植物では「単子葉型葯壁形成様式」が共有派生形質である。

更に本研究では、ショウブ属の種子では「周乳」(perisperm) が発達するという従来の理解が誤りであることも明らかにした。もともと「周乳」は、珠心由来の組織でデンプンを含むなど胚発生のための重要な貯蔵組織に当てられたものである。しかし、ショウブ属で「周乳」とされてきたものは珠心の表皮細胞のみに由来し、しかも貯蔵組織ではなく、保護組織である。これらの点を種子の発生と電子顕微鏡による観察によって明らかにした。ただし、これらの特徴が他の単子葉植物との比較において重要な形質進化を代表しているわけではなく、ショウブ属における固有派生形質である。

(2) サトイモ科とチシマゼキショウ科

本研究ではサトイモ科の内乳形成様式に着目した。サトイモ科では3つの内乳形成様式、すなわち「自由核型 (nuclear)」、「イバラモガ型 (helobial)」、「細胞型 (cellular)」の全てが報告されており (図1参照)、特に「自由核型」は基部植物 Orontioideae において100年以上前に報告され、科の本来の特徴の理解を難しくしていた。

しかし本研究により Orontioideae (バショウ属、ミズバショウ属、*Orontium*) の生材料の研究と文献の精査したところ、実際にはサトイモ科はショウブ目、サクライソウ目と一致する「細胞型」であった (Tobe and Kadokawa 2010)。また、その特徴を他のオモダカ目に比較してみることで、サトイモ科はオモダカ目の中でも原始形質を保有している科であること、オモダカ目内で「細胞型」から「

イバラモガ型」、更に「自由核型」への進化したことが分かった (図2参照)。

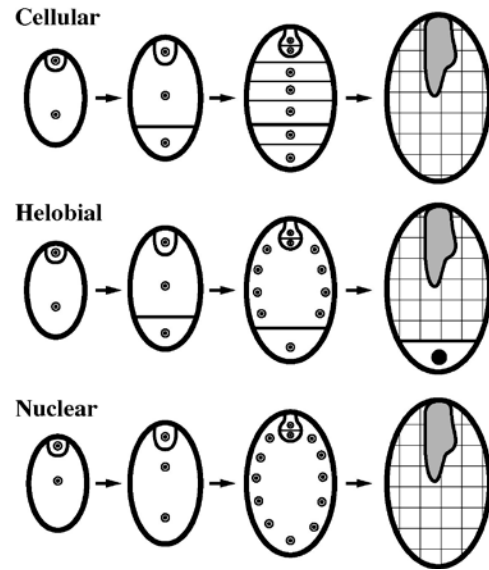


図1

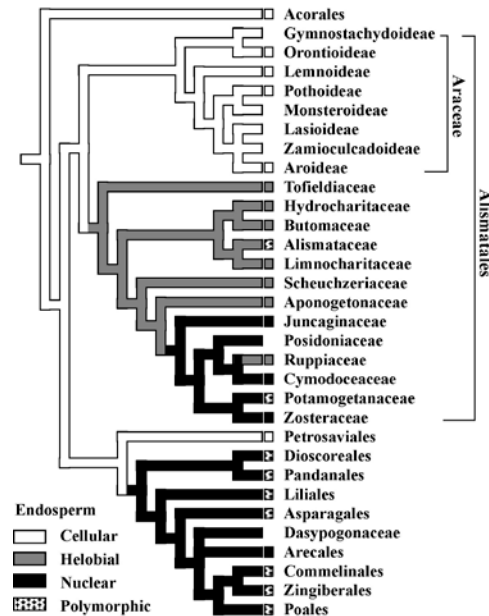


図2

更にこの研究結果を、広く単子葉植物全体と比較した結果、「細胞型」は他の基部単子葉植物ショウブ目やサクライソウ目と共通する単子葉植物の原始形質であること、真正単子葉植物では、「細胞型」から「自由核型」への大き、即ち残り8目に共通のクレードの共有派生形質として1回起こったこと、更に単子葉植物ではよく知られている「イバラモガ型」は平行進化として何度も起こったことが明らかにされた。

チシマゼキショウ科については、本研究課題のためにゲノム情報（葉緑体DNA）による系統解析を行った（Azuma and Tobe 2011）。この研究によって、チシマゼキショウ科に含まれる5属のそれぞれの独立性と、5属間の系統関係を明らかにした（図3参照）。特に、チシマゼキショウ属（*Tofieldia*）とイワショウブ属（*Triantha*）が独立属であり、姉妹群であることを証明した。

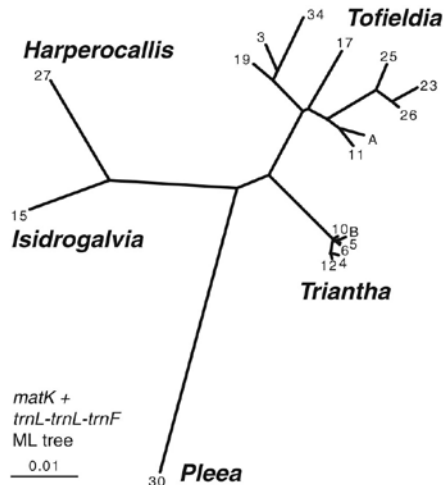


図3

この結果に照らして、日本国内に自生するチシマゼキショウ属ハナゼキショウとイワショウブ属イワショウブの葯、胚珠、種子の発生と構造を比較した。その結果、ハナゼキショウにはカラザ側に大きく長い種子突起が発達すること、イワショウブでは受精後の胚嚢内に腺細胞が珠心表皮下に発達すること、更に、内乳の発生様式がハナゼキショウでは「自由核型」であるのに対して、イワショウブでは「イバラモ型」であることなどが明らかになった。これらの特徴はそれぞれにゲノム情報の解析によって得られた属の独立性を支持する。

(3) キンコウカ科

キンコウカ科（5属、すなわちネバリノギラン属、ソクシンラン属、*Nietmeria*、*Lophiola*、キンコウカ属）の花には、子房の位置（下位、中位、上位）、子房室数の変異（1室、3室）、心皮の着着方法（後天的、先天的）、隔壁蜜腺の有無、花筒の有無、などにおいて属間で違いがあることを明らかにした。さらに、*Lophiola* 属を除く残り全4属の花の発生の観察によって、キンコウカ科では子房の位置が下位から上位（他では上位から下位への進化がふつう）へ進化したことを明らかにした。

従って、キンコウカ科では、下位子房が原始形質である。また、系統解析結果に照らして、隔壁蜜腺の存在もキンコウカ科における原始形質であることを明らかにした。この2つの原始形質を単子葉植物全体のゲノム情報に基づく系統解析結果に照らして分析した結果、子房上位から下位への進化は基部単子葉植物（ショウブ目、オモダ科目、サクライソウ目）を除く真正単子葉植物の共有派生形質であること、真正単子葉植物内では子房下位から上位への逆転が何度も起きている。隔壁蜜腺については、基部単子葉植物のショウブ目を除く単子葉植物全体に見られ、オモダカ目の一部、ユリ目（花被蜜腺をもつ）、イネ目とその類縁群で、合わせて3回隔壁蜜腺が喪失している。

葯、胚珠、種子の発生と構造については、*Nietmeria* を除く全4属について観察を行った。その結果、キンコウカ科の特徴の全容が初めて解明され、種皮（厳密には外種皮外層）の発達に違いが見られる以外には科内の特徴は一致していた。他のヤマノイモ目や姉妹群タコノキ目と比較によって、キンコウカ科に見られる花粉母細胞減数分裂における連続型細胞壁形成様式（*successive*）は、ヤマノイモ目の他の科に見られる連続型（*simultaneous*）に対して、原始形質であることが明らかになった。また、キンコウカ科はイバラモ型の内乳形成様式をもち、ヤマノイモ目の他の科に見られる自由核型に対して、原始形質であることも明らかになった。

以上の他に、ゲノム情報に基づく系統解析結果を背景にして雌雄生殖器官の発生形質に「新しい」分類形質を探索する試みは、真正双子葉植物のモチノキ目、アブラナ目、ムクロジ目の一部についても行い、成果を発表した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計12件）

1. Tobe, H. and P. H. Raven. 2012. Seed morphology and anatomy in Salvadoraceae (Brassicales): systematic and evolutionary implications. *Acta Phytotax. Geobot.* 63: 1-9. 査読有
2. Oginuma, K., Shawn K. Y. Lum and H. Tobe. 2012. Chromosome counts for the Asian Myristicaceae (Magnoliales). *Acta Phytotax. Geobot.* 63: 41-49. 査読有
3. Tobe, H. 2012. Floral structure of *Cardiopteris* (Cardiopteridaceae) with special emphasis on the gynoecium: systematic and evolutionary

- implications. J Plant Res 125: 361-369. 査読有
4. 戸部博. 2012. 変わる陸上植物の分類システムと新たな課題. Journal of Fossil Research (化石植物研究会誌) 44: 57-65. 査読有
 5. Iwashina, T., H. Tobe, H. Takahashi and T. Yukawa. 2011. Flavonoids from achlorophyllous plant, *Peterosavia sakurarii* (Peterosaviaceae). Biochem. Syst. Ecol. 39: 883-884. 査読有
 6. Tobe, H. 2011. Embryological evidence supports the transfer of *Leitneria floridana* to the family Simaroubaceae. Ann. Missouri Bot. Gard. 98: 277-293. 査読有
 7. Tobe, H. and P.H. Raven. 2011. Embryology of the Irvingiaceae, a family with uncertain relationships among the Malpighiales. J. Plant Res. 124: 577-591. 査読有
 8. Azuma, H. and H. Tobe. 2011. Molecular phylogenetic analyses of Tofieldiaceae (Alismatales): family circumscription and intergeneric relationships. J. Plant Res. 124: 349-357. 査読有
 9. Tobe, H., W. Shinohara, N. Utami, H. Wiriadinata, D. Girmansyah, K. Oginuma, H. Azuma, T. Tokuoka, E. Kawaguchi, M. Kono and M. Ito. 2010. Plant diversity on Lombok island, Indonesia: an approach at identification using DNA barcodes. Acta Phytotax. Geobot. 61: 93-108. 査読有
 10. Oginuma, K. and H. Tobe. 2010. First chromosome counts for four families of Malpighiales. Acta Phytotax. Geobot. 61: 49-54. 査読有
 11. Tobe, H. and T. Kadokawa. 2010. Endosperm development in the Araceae (Alismatales) and evolution of developmental modes in monocots. J. Plant Res. 123: 731-739. 査読有
 12. Shinohara, W., Y. Ushio, A. Seo, N. Nakato, M. Kono, H. Kudoh, H. Tobe and N. Murakami. 2010. Evidence for hybrid origin and segmental allopolyploidy in eutetraploid and aneutetraploid *Lepisorus thunbergianus* (Polypodiaceae). Sys. Bot. 35: 20-29. 査読有

[学会発表] (計 8 件)

1. 戸部博 中南米固有の小さな植物群フイロノマ科 Phyllonomaceae (モチノキ

- 目)の花と生殖器官の発生構造とその特徴、第76回日本植物学会大会(姫路市兵庫県立大学2012年9月14日)
2. 戸部博 北米固有属 *Leitneria* (ニガキ科)の花序と花の形態の再研究—特に「異常な胚珠の位置について」. 第11回日本植物分類学会大会(吹田市大阪学院大学2012年3月24日)
 3. 戸部博 変わる陸上植物の分類システムと新たな課題. 第29回化石研究会学術研究会(京都市京都教育大学2011年6月4日)
 4. 戸部博・黄愈菱・田村実 キンコウカ科(ヤマノイモ目)の花の形態と進化. 第75回日本植物学会大会(東京大学駒場キャンパス2011年9月17日)
 5. Tobe, Hiroshi・Hasebe, Mitsuyasu Floral structure of *Saccifolium*: evidence for placing the genus in the Gentianaceae. 第10回日本植物分類学会大会(つくば市筑波大学2011年3月19日)
 6. 戸部博 アブラナ目の系統と形態進化. 第42回種生物学シンポジウム(京都大学2010年12月11日)
 7. 戸部博. *Cardiopteris* (ヤマイモモドキ科)の花と生殖器官の発生学的研究、特に上下逆転した胚嚢について. 第74回日本植物学会大会(愛知県春日井市中部大学2010年9月9日)
 8. Tobe, Hiroshi・Shinohara, Wataru・Nanda Utami・Harry Wiriasinata・Deden Gimansyah・Oginuma, Kazuo・Nanda Utami・Harry Wiriasinata・Deden Gimansyah・Azuma, Hiroshi・Tokuoka, Toru・Kawaguchi, Eri・Kono, Masumi・Itoh, Motomi. Inventory studies of plant diversity in Lombok islands of Indonesia: an approach using DNA barcodes. East Asian Plant Diversity and Conservation 2010 (Korea, Seoul University, 2010年8月20日)

[図書] (計 2 件)

1. 戸部博・田村実(監修・分担執筆) 2012「新しい植物分類学 II」. 朝倉書店
2. 戸部博・田村実(監修・分担執筆) 2011「新しい植物分類学 I」. 朝倉書店

6. 研究組織

(1) 研究代表者

戸部博 (TOBE HIROSHI)

京都大学・大学院理学研究科・名誉教授

研究者番号: 60089604