

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25440208

研究課題名(和文) ゲノム情報を基礎にした真正双子葉植物モチノキ目の花と生殖器官の形質進化の研究

研究課題名(英文) Evolution of flower and embryological characters in Aquifoliales in the light of molecular phylogeny

研究代表者

戸部 博 (Tobe, H)

京都大学・理学(系)研究科(研究院)・名誉教授

研究者番号：60089604

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、モチノキ目(フィロノマ科、ハナイカダ科、モチノキ科、ステモナルス科、ヤマモモドキ科)の花と雌雄生殖器官の進化について、以下の点を明らかにした。(1)フィロノマ科とハナイカダ科について、葉上花序、下位子房、花盤蜜腺、薄層珠心が共有派生形質である。(2)フィロノマ科は単軸集散花序、腺毛、接線方向に配置した2心皮性1室子房、側膜胎座、胚珠の増加、外種皮外層型種皮を固有派生形質としてもつ。(3)ハナイカダ科は花弁の欠損、逆一輪雄蕊、両媒を固有派生形質としてもつ。(4)ステモナルス科とヤマモモドキ科では、向背軸方向に配置した2心皮性子房と偽単心皮性雌蕊が共有派生形質である。

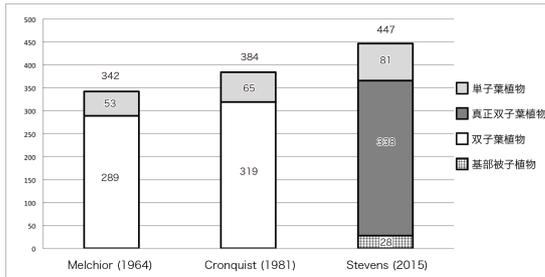
研究成果の概要(英文)：This study clarified the following points about evolution in flower and embryological characters of Aquifoliales (Aquifoliaceae, Cardiopteridaceae, Helwingiaceae, Phyllonomaceae, and Stemonuraceae). (1) Synapomorphies for Helwingiaceae and Phyllonomaceae include epiphyllous inflorescences, inferior ovaries, disk nectary, and tenuncellate ovules. (2) Autapomorphies for Phyllonomaceae include monochasial cymes, glandular trichomes on sepal margin, a gynoeceum composed of two carpels usually in transversal position, parietal placenta, ovule number increase, and exotestal seeds. (3) Autapomorphies for Helwingiaceae include loss of petals, obhaplostemy, and ambophily. (4) Cardiopteridaceae and Stemonuraceae likely share a gynoeceum composed of two carpels usually in adaxial and abaxial positions.

研究分野：植物分類学

キーワード：モチノキ目 花 生殖器官 形質進化 植物発生 植物形態

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改変を余儀なくされ、しかも447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, 2003, 2008; APW 2012) (ちなみに、最近発表された Reveal [2012]では501科) (下図)。



科の数が増えたばかりでなく、科の範疇が変わったもの、科が帰属する目が変わったため目の範疇が変わったものも多い。新たな科が増え、科の範疇と組み合わせが変わった目の1つに、真正双子葉植物のモチノキ目 (5科) がある。

モチノキ目が5科 (フィロノマ科、ハナイカダ科、モチノキ科、ステモヌルス科、ヤマイモモドキ科) からなることが明らかになったのは21世紀になって間もないころで (Olmstead et al. 2000; Kårehed 2001; Bremer et al. 2002)、さらに5科間の系統関係が明らかになったのは僅か1、2年前のことである (Tank & Donoghue 2010; Soltis et al. 2011)。しかしモチノキ目とその中に属する5科の独立性と科間の類縁関係を支持する分類形質、即ち互いの進化の姿を理解するための形態情報は著しく欠けている (Stevens 2001 onward、URL 2015版)。

2. 研究の目的

フィロノマ科、ハナイカダ科、モチノキ科、ステモヌルス科、ヤマイモモドキ科の花と生殖器官の発生学的研究を行う。これにより、モチノキ目全体について花と生殖器官の特徴を明らかにし、形態進化の全体像を明らかにする。

3. 研究の方法

フィロノマ科、ハナイカダ科、モチノキ科、ステモヌルス科、ヤマイモモドキ科のそれぞれについて、いろいろな発生段階にある花と果実 (葯・胚珠・種子) を採集し、電子顕微鏡と樹脂切片の光学顕微鏡観察を行う。そこから得られる60以上の形質に基づいて、科間、属間の厳密な比較研究を行い、ゲノム情報に照らして、各科の特徴、目内における形質進化の全容を明らかにする。更に、キキョウ類の原始形質にも議論を深める。研究に必要な材料は自ら収集に努めるほか、一部は、

国内外の研究協力者の助力を得て補充する。

4. 研究成果

(1) フィロノマ科の花の構造

フィロノマ科の唯一の属であるフィロノマ属はメキシコからペルーにかけて分布する4種から成る小さな木本性植物である。その花の外部・内部構造の特徴のほとんどが120年前に記載されてのものである。本研究ではコスタリカから入手した種 (*Phyllonoma tenuidens*) について花の形態、解剖、維管束走向を詳細に調べた結果、幾つの特徴についてはこれまでの記載を確かめることになり、幾つかは、特に雌蕊の構造についてこれまでの情報が根本的に修正されることになった。すなわち、花は小型で、基本的に5数性で、5枚の萼片、5枚の花弁、5本の雄しべ、接線方向に配置した2心皮からなる1雌蕊から成る。モチノキ目の他の科の花と比較すると、フィロノマ科は東アジアに分布するハナイカダ科と下位子房、葉上花序、子房上蜜花盤を共有するが、フィロノマ科は萼片の縁に腺毛をもつこと、雌蕊が2心皮から成る1室性で、中に側膜胎座に着く多数の胚珠をもつ点で、ハナイカダ科と大きく異なっている。こうした花の形態と構造はフィロノマ科が独立した科であること、ハナイカダ科と姉妹群であることを支持することが明らかになった。

(2) フィロノマ科の花序の形態

フィロノマ科フィロノマ属 (4種) は葉の上に花序をもつ特徴が知られていた。しかし、その花序が果たして集散花序か総状花序か、長い間不明であった。最近の記載によれば小さな縮小した花序をもつ3種 (*Phyllonoma laticuspis*, *P. tenuidens* and *P. weberbaueri*) は総状花序をもち、大きな花序をもつ種 (*P. ruscifolia*) は不規則な単軸集散花序をもつ。本研究では *P. tenuidens* の花序について、花を含む花序軸の連続切片に作成し花序の形態を分析した。その結果、花序は総状花序ではなく単軸集散花序、厳密に言えば「さそり型」集散花序であることが判明した。この結果と他種の花序に関する記載を分析したところ、フィロノマ属は全種で単軸集散花序であることが明らかになった。更に、花序上の苞 (前出葉) が高次の軸に向軸合着する枝軸合着が見られることから、枝軸合着が葉上花序をもたらしたことが示された。

(3) ハナイカダ科の花と生殖器官の特徴

ハナイカダ科の唯一の属であるハナイカダ属は東アジアに分布する3-4種から成る小さな木本性植物である。この属の花の花被は1種類しかなく、それが萼片か花弁かどちらか、議論が続いている。また、生殖器官の特徴もまだ十分には理解されていない。日本に産するハナイカダ (*Helwingia japonica*) の花は、ふつう4数性で稀に5数性と3数性のものがある。そこで本研究では、原始形質である5数性

の雌雄の花を探し、その観察に基づいて、モチノキ目の他の科、特に姉妹群フィロノマ科と比較した。その結果、ハナイカダの5枚の花被片は、姉妹群フィロノマ科の花の5枚の萼片の位置に一致することが分かり、ハナイカダでは花卉が欠損していることが明らかになった。更に全体の比較によって、ハナイカダ科は、フィロノマ科との共有派生形質として、葉上花序、下位子房、子房上蜜花盤をもつ一方、花卉の欠損、逆一輪雄蕊、大きく反転する柱頭、発達程度の弱い蜜花盤、薄層珠心、細胞質が豊富な成熟雌性配偶体、薄い種皮などの固有の特徴をもつことが分かった。こうした比較形態の証拠は分子系統解析結果とも一致し、ハナイカダ科が独立した科であることを支持している。また野外観察の結果とも合わせて、ハナイカダの花が風媒と虫媒であることが明らかになり、モチノキ目における両媒の初めての例となった。

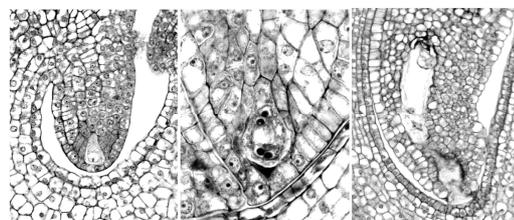
(4) フィロノマ科の生殖器官の発生

花と花序の研究に続いて、フィロノマ科の生殖器官の発生学的特徴を *Phyllonoma tenuidens* を使って調べ、モチノキ目の他の科と比較した。その結果、フィロノマ科の生殖器官の発生学的特徴は全体としてモチノキ目と良く似ているが、珠皮に維管束がないこと、細胞型内乳形成様式をもつ点で、特にモチノキ科とハナイカダ科に似ていることが分かった。ハナイカダ科とは更に薄層珠心を共有する点で一致していた。従って、分子系統解析と比較形態はともにフィロノマ科の独立性と東アジアのハナイカダ科との姉妹群関係を支持した。しかし、フィロノマ科は種皮の特徴においてハナイカダ科と全く異なる。すなわち、フィロノマ属では種子(液果で散布)は不規則に大きく発達し、厚い細胞壁をもつ外種皮外層細胞から成り、一方ハナイカダ科の種子(核果で散布)の種皮は薄い膜質である。これらの観察結果を、既に知られている送粉に関する情報(フィロノマ属では虫媒、ハナイカダ科では両媒)と合わせることで、フィロノマ科では送粉と種子散布について独自の進化を遂げてきたことが明らかになった。

(5) ヤマイモドキ科の生殖器官の発生

ヤマイモドキ属は東南アジアからオーストラリア北部にかけて分布する2-3種から成るよじ登り植物である。かつてはオラクス科やクロタキカズラ科など分類されることもあったが、現在では分子系統解析結果に基づいて他の4属(*Citronella*, *Gonocaryum*, *Leptaurus*, *Pseudobotrys*)とともにヤマイモドキ科を形成している。2002年、Kong et al. によって、ヤマイモドキ属の胚珠と雌性配偶体の特徴が初めて報告されている。それによれば、胚珠は直生、珠皮がなく、薄層珠心をもち、しかも雌性配偶体の卵装置が通常的位置の反対側に作られる。しかし、そのような卵装置の位置は他の被子植物にも前例がな

いため、確認が必要とされていた (Stevens, 2001 onwards)。そこで本研究によって改めて Kong et al. が調べた種 (*Cardiopteris platycarya*) とは異なる種 (*C. quinqueloba*) を用い、胚珠と種子の発生を詳しく調べた。その結果、この種には胚珠と種子の発生について多くのユニークな特徴が見られることが分かった。胚珠は胎座からぶらさがり、直線的(直生ではない)で、珠皮をもたず、薄層珠心をもつこと、更に7細胞8核の雌性配偶体が形成されるものの、その卵装置は Kong et al (2002) に報告した内容と同様、通常的位置と反対側に行われる受精が行われることが確かめられた(下の右図上部に卵細胞が見られる)。



胚珠における他のユニークな特徴として、背線 (raphe、ふつつ倒生胚珠に見られる) が胚珠発生の遅い時期に分化すること、同じように胚珠発生の遅い時期に、珠心表皮細胞が平層分裂して2細胞層の表皮を、ただし反背線側に形成する。ふつつ、この珠心表皮の平層分裂は珠皮形成の初期に見られるもので、珠皮形成のないヤマイモドキ属の胚珠では、この2細胞層の表皮が珠皮に相当するものと考えられる。

また、内乳形成は細胞型様式に従って進むが、2細胞期に珠心先端側の内乳細胞が種子から外に飛び出し膨らんで発達し崩壊する。そのため、種子先端に先端細胞の痕跡を残す。内乳そのものは2細胞期の残り1細胞から由来する。胚発生と内乳形成が進行する一方、背線と上述の2細胞層の表皮が、胚と内乳をそのままの位置に残して反背線側に伸びて発達し、種皮になる。その結果、種子は大きく湾曲して倒生になる。このような、遅れて分化する背線、平層分裂によって形成される2細胞層の表皮、背線と2細胞層の表皮によって形成される種皮、胚珠から種子へ直線的配置から倒生への変化などについて、おそらく珠皮の発生が抑えられたことが引き金になった一連の連鎖反応と推定した。

また、ヤマイモドキ属の雌性配偶体において、卵装置が通常とは真逆の位置にできる現象から、被子植物の多くの種に知られる7細胞8核のタデ型雌性配偶体が、裸子植物(例ソテツ科、イチョウ科)に知られる4細胞からなる卵装置2つに由来するという仮説を立証することができた。

(6) その他

モチノキ目の研究と平行して、同じ真正双

子葉植物に属すムクロジ目のビーベルステニア科とミカン科 (*Harrisonia*) の生殖器官の発生学的研究、更にアブラナ目エンブリンギア科の花の構造を解明する研究を行った。

ビーベルステニア科は、ムクロジ目9科のうちの一つでギリシャから中央アジアにかけて分布するビーベルステニア属5種から成る多年生草本である。かつてビーベルステニア属はフウロソウ科に入れられるか、その近くに置かれていたが、最近の分子系統解析によってムクロジ目内に独立した科として認められるようになった。しかし、他の8科との共通点(共有派生形質)や科として独立性を示す特徴(固有派生形質)が不明であった。本研究によって、タペート細胞が多核融合体であること、種子は繊維状内種皮外層を持たないという2点がムクロジ目の特徴であること、花粉が3細胞であること、雌性配偶体が4孢子性16核からなるペナエア型であること、偽珠孔受精を示すこと、胚珠は1枚の珠皮をもつことなどがビーベルステニア科の固有派生形質であることが明らかになった。

ミカン科の *Harrisonia* 属は、熱帯アフリカ、東南アジアからオーストラリア北部にかけて分布する3種以上から成る。長い間ニガキ科に属すると考えられてきたが、分子系統解析によって現在はミカン科クネオラム亜科8属のうちの一つであることが明らかになっている。しかし、クネオラム亜科は最近まで独立科であったこと、他のミカン科と姉妹群であることから、その形態的特徴の理解がミカン科とムクロジ目の他の科との比較のために欠かせない。本研究による雌雄生殖器官の発生学的研究の結果、以下のことが明らかになった。*Harrisonia* 属は多細胞層からなる外種皮内層をもつ湾性種子をもつこと、内珠皮によって形成される珠孔をもつこと、外種皮に油細胞をもつことなどの特徴によってクネオラム亜科に属する。しかし、クネオラム亜科の他の属の特徴はまだほとんど調べられていないため、今後の研究が必要である。

Emblingia calceoliflora は、アブラナ目エンブリンギア科の唯一の種でオーストラリア南西部の固有種である。その花は種小名の由来であるスリッパ状の花冠をもつ。しかし、花の特徴全体は50年以上前に押し葉標本に基づいて観察されたもので、重要な点が未解決のまま残されてきた。本研究では液浸標本を多数使い、それらの観察によって未解決問題を解決をした。すなわち、花は有柄、強い左右相称性、5数性で、中央萼片を背軸側にもつ。発生過程において、花柄が時計回り、あるいは反時計回りにねじれて伸長し、結果として、2枚の花弁から成る向軸弁(スリッパ)を下方(地面側)に、横に広がった雌雄蕊柄が上方に位置し、中央に大きなトンネル状の空間をつくる。その奥深くには縦に発達した2枚の壁によって左右から包まれた球状の蜜腺が発達する。また、維管束走向の

追跡によって、雄しべは本来5本であるが、それぞれに両分が起こり、その結果、2対4本の稔性葯が向軸側に、反対側に(3から)6本の仮雄しべがひさし(hood)を作る。花は逆一輪雄蕊、雌蕊は3室3心皮であることが明らかになった。アブラナ目の他の科との比較によって、雄蕊外蜜腺がエンブリンギア科を含む core Brassicales(コア・アブラナ目)の共有派生形質であること、エンブリンギア科の花は高度に虫媒に適応した花構造をもつことが明らかになった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 8 件)

1. Tobe, H. 2013. Floral morphology and structure of *Phyllonoma* (Phyllonomaceae): systematic and evolutionary implications. *J. Plant Res.* 126: 709-718.
2. Tobe, H. 2014. Inflorescences of *Phyllonoma* (Phyllonomaceae, Aquifoliales): anatomical observations. *Acta Phytotax. Geobot.* 65: 117-126.
3. Yamamoto, T., Vassiliades, D.D., Tobe, H. 2014. Embryology of *Biebersteinia* (Biebersteiniaceae, Sapindales): characteristics and comparisons with related families. *J. Plant Res.* 127: 599-615.
4. Ao, C., Tobe, H. 2015. Floral morphology and embryology of *Helwingia* (Helwingiaceae, Aquifoliales): systematic and evolutionary implications. *J. Plant Res.* 128: 161-175.
5. Tobe, H. 2015. Floral morphology and structure of *Emblingia calceoliflora* (Emblingiaceae, Brassicales): questions and answers. *J. Plant Res.* 128: 481-495.
6. Tobe, H. 2015. Embryology of *Phyllonoma* (Phyllonomaceae, Aquifoliales): characteristics and character evolution. *J. Plant Res.* 128: 644-642.
7. Yamamoto, T., Fijridiyanto, I.A., Tobe, H. 2016. Embryology of *Harrisonia* (Cneoroideae, Rutaceae): a comparison with related genera and families. *Bot. J. Linn. Soc.* 180: 386-400.
8. Tobe, H. 2016. Embryology of *Cardiopteris* (Cardiopteridaceae, Aquifoliales), with emphasis on unusual ovule and seed development. *J. Plant Res.* 129 (in press).

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