

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：12101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26440205

研究課題名(和文)被子植物無胚乳種子種における胚珠内栄養分移動経路の多様性解析

研究課題名(英文) Variations of the pathway of the transport of nutrition from the chalaza to the embryo through the endosperm in legume ovules (Angiospermae)

研究代表者

遠藤 泰彦 (Endo, Yasuhiko)

茨城大学・理学部・教授

研究者番号：30250145

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、マメ科を対象として、胚の成長に必要な栄養分の内乳から胚への移動経路の多様性の実態を明らかにする。一般的に被子植物において、胚への栄養分移動経路は<前々世代の孢子体(珠皮) 前世代の配偶体(内乳) 胚柄 胚>と推定される。ところが、被子植物の胚珠内では、胚柄が早期に計画的細胞死により消失する。つまり、内乳から胚への経路が失われる。この経路の補填のためには、二次的な胚と内乳の接着が考えられるが、この実態を解剖学的な研究により明らかにする。このため、マメ科植物の主要な系統を代表する10種の種子を発達を追って採集し解剖を行い、蛍光顕微鏡を用いた観察が有効である事を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：I aim to know variations of the transferring pathways of the nutrition from the chalaza to the embryo through endosperm in the ovules of Leguminosae. Generally, the pathway was considered as follows; chalaza - endosperm - suspensor - embryo. However, the suspensor is lost by programmed cell death (PCD) at the early stage of the seed development. Therefore, I consider that the adnation between the two organs, i.e., embryo and endosperm, may be needed after the PCD. In order to know the adnating portion in legume ovules, I observed the ovules of 10 representative legume species (*Gladitsia japonica*, *Caesalpinia decapetala*, *Albizia julibrissin*, *Cladrastis platycarpa*, *Maackia tashiroi*, *Euchresta japonica*, *Indigofera pseudotinctoria*, *Sesbania exaltata*, and *Lotus corniculatus*) using a fluorescence microscope. I aim to detect the adnating portion by observing the loss of cuticular layer in the embryo. The layer was detected by the observation using the fluorescence microscope.

研究分野：植物分類学

キーワード：胚 被子植物 マメ科 無胚乳種子 内乳 原形質連絡 胚柄 クチクラ層

## 1. 研究開始当初の背景

被子植物において、胚珠中の胚の発達に必要な栄養分は、前世代の孢子体由来の珠皮を通じて、内乳を経て供給される。この際、内乳へ接着している胚柄を通じ、胚は栄養分を受け取る。ところが、被子植物では、胚柄は計画的細胞死により、胚発達の初期に消失すると言われて来た。では、胚柄消失後、胚はどのようにして栄養分を内乳から受け取るのだろうか。この疑問に関連し、被子植物の一群であるマメ科において、胚柄の寿命が短いものから長いものまで存在し、多様であることが報告者の以前の研究で示されている(Endo 2012)。つまり、内乳から胚への栄養分移動経路が、一部の胚柄長寿命種では、胚発達の後期まで胚柄経由であり、一方、胚柄短寿命種では、胚柄以外の栄養分移動経路が二次的に形成される必要があるということになる。以上により、胚珠内における胚発達のための内乳から胚への栄養分移動経路は、マメ科において多様である可能性が考えられた。

## 2. 研究の目的

本研究では、被子植物における胚発達の際に、胚の発達に必要な栄養分が内乳から胚へどのような経路を辿って移動するのか、その移動経路の多様性の実態を明らかにすることを目的とする。その端緒として、胚柄寿命が多様であることが分かっているマメ科(Endo 2012)を対象として、胚柄寿命の多様性と栄養分移動経路の多様性に対応関係があるのかどうかを明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

前述のように、内乳から胚への栄養分移動には、異なる器官の間の接着による原形質連絡が必要であると考えられる。これは、胚柄が存在している状態では、内乳と胚の間を橋渡しする形で、胚柄が両器官(内乳と胚)と結合している状態からも明らかである。とすると、胚柄消失後の栄養分移動経路は、胚と内乳との二次的な接着による原形質連絡成立が必要となるであろうと推測できる。つまり、栄養分移動経路の多様性とは、胚と内乳の接着方法(接着場所、接着時期、接着構造等)の多様性の実態解明ということになる。

一般的に、胚は発達の初期より、その表面にクチクラ層が現れるとの報告がある(Chamerlin et al. 1994)。このため、胚と内乳の二次的接着部位は、接着状態の確認の他に、クチクラ層の欠失状態の確認により特定できると考えられる(クチクラ層が存在したままでは、隣接する内乳と胚のそれぞれの細胞間で原形質連絡が成立できないと考えられる)。

そこで、本研究では、マメ科植物の主要な系統(Lewis et al. 2005)を代表する種(胚柄長寿命種、短寿命種を含む)の胚珠の発達を追って採集し、これをパラフィン切片法で解剖し、得た切片を、サフラニン、鉄ヘマトキシリン、ファストグリーンにより染色した後、透過光式の生物顕微鏡および蛍光顕微鏡を用いて観察し、接着部位の特定およびクチクラ層の欠失部位の特定を行うことにした。なお、この際に平行して胚柄がどのような挙動を取るのかを明らかにしておく(短寿命<胚が球状の段階で消失または切断する>なのか長寿命<子葉形成後も幼根が存在し続ける>なのか)。

## 4. 研究成果

試料の収集結果：本研究では、マメ科植物の主要な系統を代表する種類の胚珠を発達を追って採取し、FAA(ホルマリン：酢酸：50%エタノール=0.5：0.5：9)液浸標本とした。採集試料は以下の通りである：

- 1) サイカチ *Gleditsia japonica* Miq.
- 2) ジャケツイバラ *Caesalpinia decapetala* (Roth) Aliston var. *japonica* (Sieb. et Zucc.) H. Ohashi
- 3) ネムノキ *Albizia julibrissin* Durazz
- 4) フジキ *Cladrastis platycarpa* (Maxim.) Makino
- 5) イヌエンジュ *Maackia amurensis* Rupr. et Maxim.
- 6) シマエンジュ *Maackia tashiroi* (Yatabe) Makino
- 7) ミヤマトベラ *Euchresta japonica* Hook. f. ex Maxim.
- 8) コマツナギ *Indigofera pseudotinctoria* Matsum.
- 9) アメリカツノクサネム *Sesbania exaltata* (Raf.) Rdb. ex A.W.Hill
- 10) ミヤコグサ *Lotus corniculatus* L. var. *japonicus* Regel.

なお、この他に、既存の収集資料として、ソラマメ *Vicia faba* L. についても比較調査を行った。

研究環境の整備結果：本研究では研究環境の整備として蛍光顕微鏡(ニコンエクリプス Ni-U)を購入した。なお、これに装着するフィルターキューブとして、ニコン G-2A C-FL を購入・装着した。そして、同蛍光顕微鏡導入後、この顕微鏡を用いた蛍光顕微鏡像の写真撮影方法に習熟した。

この結果、マメ科の胚珠以外の、他の植物の多様な器官での蛍光発光状態を確認し、マメ科の場合での観察結果との比較に備えることができた。特に、前述の蛍光フィルターでは、以下の構造が、パラフィン切片法によって直蛍光を放つ構造として観察された；ク

チクラ層、リグニン沈着細胞の細胞壁(厚壁細胞、カスパー線ほか)、葉緑体。この比較対象結果を元に、マメ科植物の中でソラマメ属のソラマメの胚珠の cotyledon areole (子葉紋)部分を蛍光顕微鏡観察したところ、同部のみでクチクラ層が不明となることが明らかとなった。

本研究結果と今後の展望の着想:本研究の結果、マメ科植物における胚珠内での胚発達後期における胚成長時の挙動が明らかになりつつあり、そこには、胚珠という閉じた場(珠皮によって被われるという意味での)の中で、多様な胚発達様式があることが想像された。そして、このことは、特に、胚発達の過程で内乳の栄養分がほとんど胚へ移行し、種子成熟時には内乳が認められなくなる無胚乳種子を持つマメ科において顕著で有ると考えられた。このことから、今後の展開として、被子植物の無胚乳種子を持つ植物群(シバナ科、ウリ科、ミゾハコベ科、キントラノオ科、サギゴケ科、ハエドクソウ科、クマツヅラ科)における胚珠発達過程を観察することにより、多様な胚発達様式を認めることが可能となる研究へと進展することができると考えられた。

#### <引用文献>

Chamberlin, M. A., Horner, H. T., and Palmer, R. G. 1994. Early endosperm, embryo, and ovule development in *Glycine max* (L.) Merr. *International Journal of Plant Sciences* 155(4): 421-436.

Endo, Y. 2012. Characterization and systematic implication of the diversity in timing of programmed cell death of the suspensors in Leguminosae. *American Journal of Botany* 99: 1399-1407.

Lewis, G., Schrire, B., Mackinder, B., and Lock, M. [eds.]. 2005. *Legumes of the world*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.

#### 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)

[雑誌論文](計 3件)

Ugajin, C. and Endo, Y. 2018. Comparative anatomy of the seeds of *Monotropastrum humile* and *Monotropa uniflora* (Monotropoideae, Ericaceae). *The Journal of Japanese Botany* (in press).

Endo, Y., Miyuchi, T. 2017. Circumscription of two *Phryma* species (Phrymaceae) in Japan. *The Journal of*

*Japanese Botany* 92: 1-11.

Endo, Y., Miyuchi, T., and Sannohe, T. 2014. Morphological differences in flowers between Eastern Asian and Eastern North American *Phryma* (Phrymaceae). *The Journal of Japanese Botany* 89: 394-408.

[学会発表](計 3件)

遠藤泰彦、猪貝啓介、藤田冬華. 2018. ハエドクソウ科ハエドクソウ属の介在分裂組織の特徴. 2018. 日本植物分類学会第17回大会.

宇賀神智晴、遠藤泰彦. 2017. 周食型種子散布ギンリョウソウと風散布型アキノギンリョウソウの果実内部構造分化の実態解析. 日本植物学会第81回.

遠藤泰彦. 2016. 日本産ハエドクソウ属の形態変異の解析. 日本植物分類学会第16回大会.

[図書](計 3件)

遠藤泰彦 2017 サギゴケ科 Mazaceae; ハエドクソウ科 Phrymaceae; クマツヅラ科 Verbenaceae. 日本の野生植物第5巻【大橋広好他編】. P.144-145; P.146-147; P.175-177. 平凡社.

遠藤泰彦 2016 ウリ科 Cucurbitaceae; ミゾハコベ科 Elatinaceae; キントラノオ科 Malpighiaceae. 日本の野生植物第3巻【大橋広好他編】. P.121-125; P.178-179; P.180-181. 平凡社.

遠藤泰彦 2015 シバナ科 Juncaginaceae. 日本の野生植物第1巻【大橋広好他編】. P.127.. 平凡社.

[産業財産権]

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

[その他]

ホームページ等

<https://info.ibaraki.ac.jp/Profiles/5/000457/profile.html>

<http://endolab.sci.ibaraki.ac.jp/index.html>

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

遠藤泰彦 (ENDO, Yasuhiko)

茨城大学・理学部・教授

研究者番号：30250145

(2)研究分担者：いません

(3)連携研究者：いません

(4)研究協力者：いません