

「陸上植物起源研究の最後のフロンティア，ツノゴケの生物学」

オーガナイザー

嶋村 正樹¹, 西山 智明², 榊原 恵子³

¹ 広島大学大学院統合生命科学研究科 〒739-8526 東広島市鏡山 1-3-1

² 金沢大学疾患モデル総合研究センター 〒920-0934 金沢市宝町 13-1

³ 立教大学理学部 〒171-8585 東京都豊島区西池袋 3-34-1

Biology on Hornworts: the last frontier in the study of the origin of land plants

Masaki Shimamura¹, Tomoaki Nishiyama², Keiko Sakakibara³

¹ Graduate School of Integrated Sciences for Life, Hiroshima University

1-3-1 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima 739-8536, Japan

² Research Center for Experimental Modeling of Human Disease, Kanazawa University,

13-1 Takara-machi, Kanazawa 920-0934, Japan

³ College of Science, Rikkyo University,

3-34-1 Nishi-Ikebukuro, Toshima-ku, Tokyo 171-8501, Japan

Keywords: Anthoceros, Genome, Hornworts, Origin of Land Plants

DOI: 10.24480/bsj-review.12d1.00214

約5億年前にシャジク藻類との共通祖先から進化した陸上植物は、タイ類、セン類、ツノゴケ類を含むコケ植物と小葉類、シダ類、裸子植物、被子植物を含む維管束植物に多様化した。このうち、ツノゴケ類は約200種からなる最も種数が少ない分類群で、葉状の植物体（配偶体）上にツノ状の孢子体をつける植物である。種数は少なく、小さな目立たない植物であるが、ツノゴケ類は他のコケ植物あるいは陸上植物に見られないユニークな形質で注目される。例えば、ツノゴケ類の葉緑体は、緑藻類のように細胞内に1-2個しか存在しないのが普通で、ピレノイドによる二酸化炭素濃縮機構を持つ。接合子の最初の細胞質分裂面の方向は、他の多くの陸上植物とは異なり、縦方向である。接合子より形成される孢子体は他のコケ植物とは異なり、孢子嚢を支える蒴柄（seta）を欠き、基部の分裂組織から連続的かつ非同調的に孢子が形成される。孢子体には維管束植物のものによく似た2つの孔辺細胞を持つ気孔が形成され、配偶体にも気孔によく似た形態の粘液孔が形成される。配偶体は様々なシアノバクテリアや菌類との共生関係を結ぶ。ツノゴケ類はコケ植物としても例外的な性質を多く持つため、陸上植物の中で独立的な系統群なのか、他のコケ植物よりも維管束植物に近縁なのか、あるいはセン類、タイ類と共にコケ植物として単系統群を形成するのか、その系統的位置についてさまざまに議論されてきた一群である。

2008年にセン類のヒメツリガネゴケ *Physcomitrium (Physcomitrella) patens*, 2011年に小葉類

のイヌカタヒバ *Selaginella moellendorffii*, 2017年にタイ類のゼニゴケ *Marchantia polymorpha* など陸上植物の系統を決定する上で重要な植物群のゲノム配列情報が解析され、陸上植物の共通祖先が持っていた遺伝子構成の推定が可能になって来た。様々な植物でゲノム情報を基盤とした多面的な研究が進んでいる現在、これまで立ち遅れてきたツノゴケ類の研究は、陸上植物起源と多様化の研究の最後のフロンティアと考えられる。そのような中、2020年にホウライツノゴケとナガサキツノゴケのゲノム配列が相次いで発表され、ゲノム情報を基盤としたツノゴケ類の研究への道が開かれた。遺伝子導入系など分子遺伝学的な解析技術も確立しつつある。

最近の研究では、ツノゴケ類が陸上植物の初期進化において重要な位置を占めていることが改めて浮き彫りになってきている。ゲノム情報に基づいた包括的な分子系統解析の多くは、ツノゴケ類はセン類・タイ類とともにコケ植物として単系統群を形成し、その中でツノゴケ類が最基部を占めるという結果を示している。今世紀初頭まで広く受け入れられてきた、タイ類が陸上植物の最基部の系統を占め、ツノゴケ類が維管束植物の姉妹植物であるという考え方は疑問視されるようになってきた。ツノゴケ類が特殊でユニークに見えるのは、他の植物よりも初期陸上植物の特徴をより色濃く残しているからなのかもしれない。ツノゴケ類での多面的な研究の発展は、陸上植物の初期進化に起きたイベントや共通祖先の性質をより詳しく知ること役立つと考えられる。

本総説集は、オンラインで開催された日本植物学会第84回大会(2020年9月)でのシンポジウム「陸上植物起源研究の最後のフロンティア、ツノゴケの生物学」の内容をもとに取りまとめたものである。ツノゴケ類に関して、系統分類学・組織発生学・細胞生物学・生理学・比較ゲノムなどに関する現在の知見を概観した内容となっている。奇妙な植物「ツノゴケ」の魅力を知っていただき、多くの皆様の研究への参画の呼び水となれば幸いである。以下に、ツノゴケ類の生活環及び各部名称と(図1)、本総説集に登場するツノゴケの種(図2)を示した。目を通してから、各総説を読み進めて頂ければ、理解の助けとなるはずである。

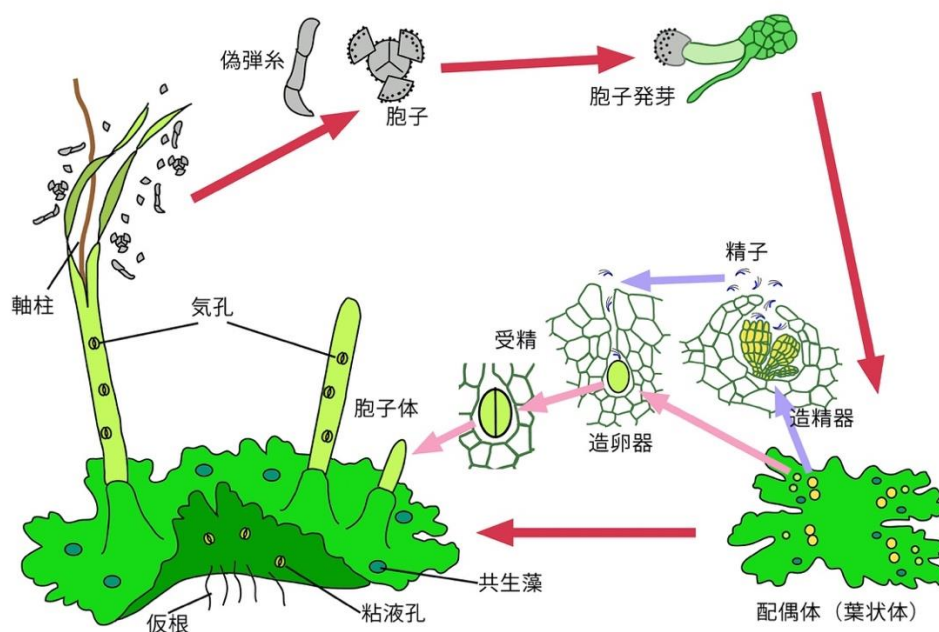


図1. ツノゴケ類の生活環及び各部名称

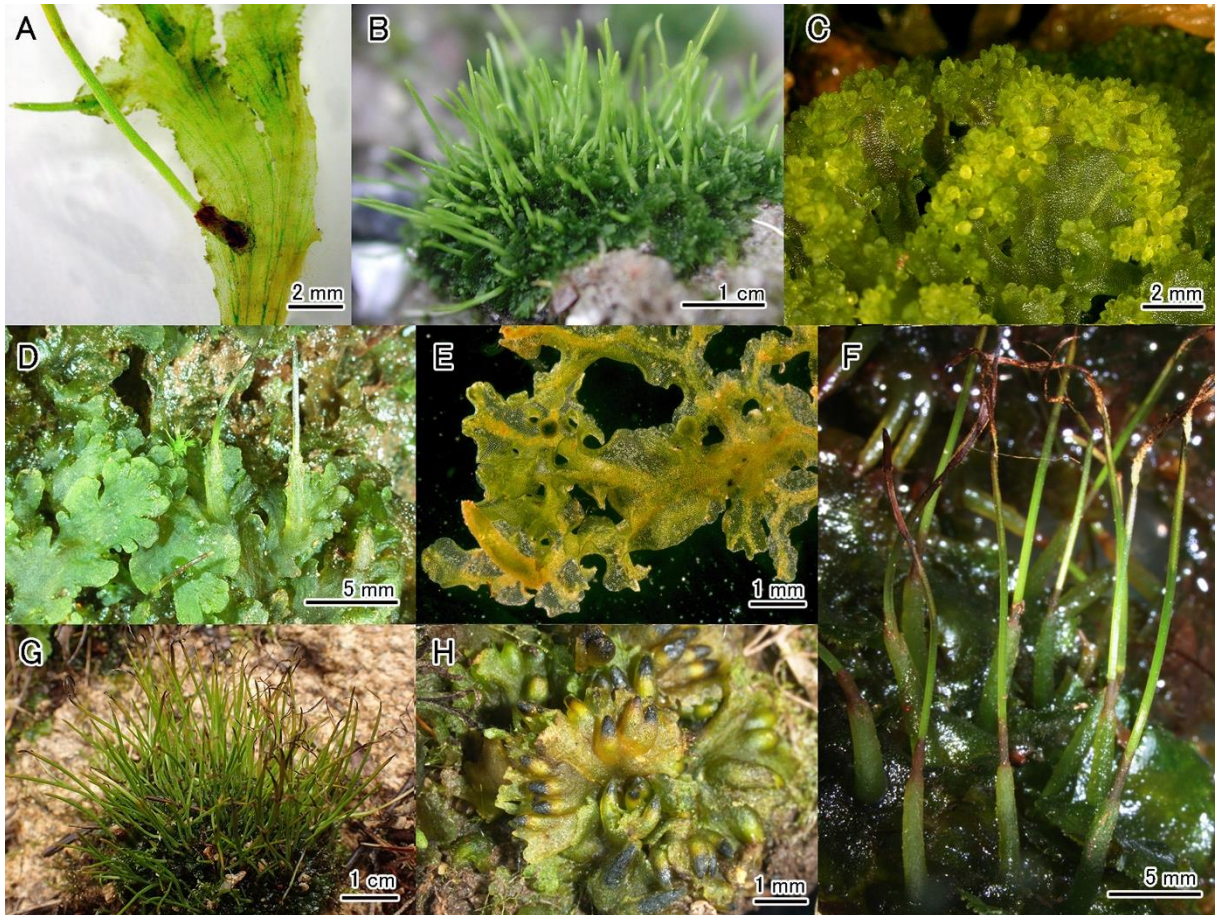


図 2. ツノゴケ類の種 A: スジツノゴケ *Leiosporoceros dussi*. スジツノゴケ属はツノゴケ類の系統最基部に位置すると考えられている。葉状体中に共生藻（ラン藻）の棲む腔所が筋状に分布するのが特徴。中南米のみに分布する (J.C. Villarreal 博士より提供)。B: ナガサキツノゴケ *Anthoceros agrestis*。農地やその周辺に生育し、北半球に広く分布する。ツノゴケ類のモデル植物種としてゲノム解析がなされ、分子遺伝学的研究の開発が行なわれている。C: ホウライツノゴケ *Anthoceros angustus*。ナガサキツノゴケと近縁種だが雌雄異株で葉状体の縁に無性芽を形成する点で異なる。日本を含むアジア地域に分布。最近ゲノム解析が行われた。D: ミヤベツノゴケ *Folioceros fusiformis*。葉状体は羽状に深く切れ込む。日本を北限とする東アジア～東南アジアに分布。E: オガサワラキブリツノゴケ *Dendroceros tubercularis*。空中湿度の高い場所で樹幹上に生育。琉球、小笠原に分布。F: アナナシツノゴケ *Megaceros flagellaris*。暗い溪谷で水辺、水中の岩上に生育する。アジア、太平洋地域に広く分布。G: ニワツノゴケ *Phaeoceros carolinianus*。人家の周りや道路沿いなど湿った裸地に多い。ニワツノゴケ属 *Phaeoceros* は、葉状体の内部に細胞間隙がない、胞子が黄色いことなどでナガサキツノゴケ属 *Anthoceros* と区別される。H: ヤマトツノゴケモドキ *Notothylas temperata*。胞子体が他のツノゴケ類のように立ち上がらず、苞膜に包まれたまま成熟する。本州以南で、水を抜いた水田などの裸地に生育。

ツノゴケゲノムと陸上植物の発生進化

西山智明¹, 嶋村正樹², 榎原恵子³

¹金沢大学疾患モデル総合研究センター 〒920-0964 金沢市宝町 13-1

²広島大学大学院統合生命科学研究科 〒739-8526 東広島市鏡山 1-3-1

³立教大学理学部生命理学科 〒171-8501 東京都豊島区西池袋 3-34-1

Cell biology on hornwort genomes provides insight into developmental evolution of land plants

Tomoaki Nishiyama¹, Masaki Shimamura², Keiko Sakakibara³

¹Research Center for Experimental Modeling of Human Disease, Kanazawa University, 13-1 Takara-machi, Kanazawa, 920-8640, Japan.

²Graduate School of Integrated Sciences for Life, Hiroshima University
1-3-1 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima 739-8536, Japan

³Department of Life Science, College of Science, Rikkyo University, 3-34-1 Nishi-Ikebukuro, Toshima-ku, Tokyo, 171-8501, Japan.

Keywords: chromosome, hornworts, KNOX1, rhyniophytes, YABBY

DOI: 10.24480/bsj-review.12d2.00215

要旨

コケ植物はセン類, タイ類, ツノゴケ類の三つのグループからなり, 陸上植物進化の初期に維管束植物のグループと分かれた一群である。そのなかで, セン類からは2008年にヒメツリガネゴケ (Rensing et al. 2008), タイ類からは2017年にゼニゴケの全ゲノム情報が出版され2020年ツノゴケ類のゲノムが公開されたことで, 陸上植物の主要系統のゲノムが出そろった。我々は, *Anthoceros agrestis* 2株 (Bonn, Oxford) および *A. punctatus* の2種3株のゲノムをスイス, アメリカのグループと共同で発表し, 別のグループが *A. angustus* のゲノムを発表し4系統のアセンブリーが公開されている状態である。また, 形質転換法も確立され, 興味深い遺伝子の機能解析が可能となった (Frangedakis et al. 2021)。

1. はじめに

コケ植物はセン類, タイ類, ツノゴケ類の三つのグループからなり, 陸上植物進化の初期に維管束植物のグループと分かれた一群である。セン類, タイ類, ツノゴケ類の3群と維管束植物の系統関係については, 諸説あったが, 現在では, コケ植物は維管束植物の姉妹群にあたる単系統群であり, その中でツノゴケ類が最初に分岐し, セン類とタイ類は互いに姉妹

群であるというのがもっとも有力な考え方である。セン類では 2008 年にヒメツリガネゴケの (Rensing et al. 2008), タイ類では 2017 年にゼニゴケの全ゲノム情報が出版され (Bowman et al. 2017), 比較解析の基盤がそろってきた。ここに, ツノゴケ類の全ゲノム情報が加わることで陸上植物進理解の解像度が上がると期待される。我々は, 2020 年にナガサキツノゴケ *Anthoceros agrestis* 2 株 (Bonn, Oxford) および *A. punctatus* の 3 株のゲノムをスイス, アメリカのグループと共同で発表し (Li et al. 2020), さらに中国 BGI を含むグループが *A. angustus* (ホウライツノゴケ) のゲノムを発表したことから (Zhang et al. 2020), 現在 3 種 4 株のアセンブリーが公開されている状態である。本稿では, ツノゴケのゲノム解読によって実際どのようなことがわかってきたのかを紹介する。

2. 小さいゲノムサイズと染色体レベルスーパーキャフオルドの構築

ツノゴケ 4 株のゲノムサイズはどれも百数十 Mb 程度で, これはゼニゴケ (226 Mb), ヒメツリガネゴケ (467 Mb) など, 他のコケ植物よりも小さく, 被子植物で既知の最小のゲノムサイズを持つとされるシロイヌナズナ (120 Mb 程度) に匹敵する小さなゲノムサイズであった (表 1)。ゲノム解読は基本的に, Oxford Nanopore によるロングリード (長い断片の配列を連続的に決定できるが誤り率は高い) と Illumina によるショートリード (短い断片の配列しか決定できないが正確) を組み合わせて行われた。*A. agrestis* Bonn のみさらに Hi-C によるスーパーキャフオルディングを行うことで染色体スケールの並びを復元した。これにより, *A. agrestis* Bonn については 10 Mb 以上のスーパーキャフオルドが 6 本とそのほかの短いスーパーキャフオルドにまで整理された (図 1 左)。*A. agrestis* の DAPI 染色による染色体の蛍光顕微鏡像を捉え, これもほぼ 6 本であり, 大きいスーパーキャフオルドの数と一致した (図 1 右)。このことからほぼ染色体に対応すると思われるスーパーキャフオルドを得たと認識できる。

染色体全体に渡るアセンブリーが得られたことで, ゲノム全体としての特徴がわかった。これまで, シロイヌナズナなどの被子植物をはじめ多くの生物では, 染色体の動原体付近には反復配列が集まり遺伝子密度が低くなり, 動原体から離れた部分で遺伝子密度が大きくなるパターンが知られていた (Lang et al. 2018)。これに対して, 今回判明した *A. agrestis* Bonn 株のゲノムではそのような動原体付近での反復配列の集積, 遺伝子の排除は見られず, 例外的に遺伝子がほぼ均一に分布していることが知られているセン類のヒメツリガネゴケ (Lang et al. 2018) に類似していることが判明した。

また, ツノゴケゲノム全体を見てわかる特徴として, 全ゲノム重複の痕跡がないということが挙げられる。これは, ゲノム内シンテニーが見つからないことおよびパラログ間同義置換距離 (Ks) 解析の双方によって全ゲノム重複の痕がないという結果が得られている。これは, 同様にゲノムサイズが小さいシロイヌナズナではゲノム解読によって全ゲノム重複が明らかになったのと対照的である。コケ植物では, ヒメツリガネゴケは 2 回のゲノム重複の痕跡があり, ゼニゴケはゲノム重複の痕跡がない。

ツノゴケはゲノムサイズが小さいことから, 他の植物より遺伝子総数が少ないかというところではなく, 遺伝子密度が高いようである。遺伝子総数の報告は, *A. angustus* と *A. agrestis*,

表 1 陸上植物のゲノムサイズ比較

種類	推定ゲノムサイズ (Mb)	遺伝子数	Reference
ヒメツリガネゴケ <i>Physcomitrium patens</i>	467	35,307	Lang et al. 2017
ゼニゴケ <i>Marchantia polymorpha</i>	226	19,138	Bowman et al. 2017
シロイヌナズナ <i>Arabidopsis thaliana</i>	119	27,655	Cheng et al. 2016
<i>Anthoceros angustus</i>	119	14,629	Zhang et al. 2020
<i>A. punctatus</i>	128-150	25,426	Li et al. 2020
<i>A. agrestis</i> Bonn	122-132	25,837	Li et al. 2020
<i>A. agrestis</i> Oxford	123-135	24,739	Li et al. 2020

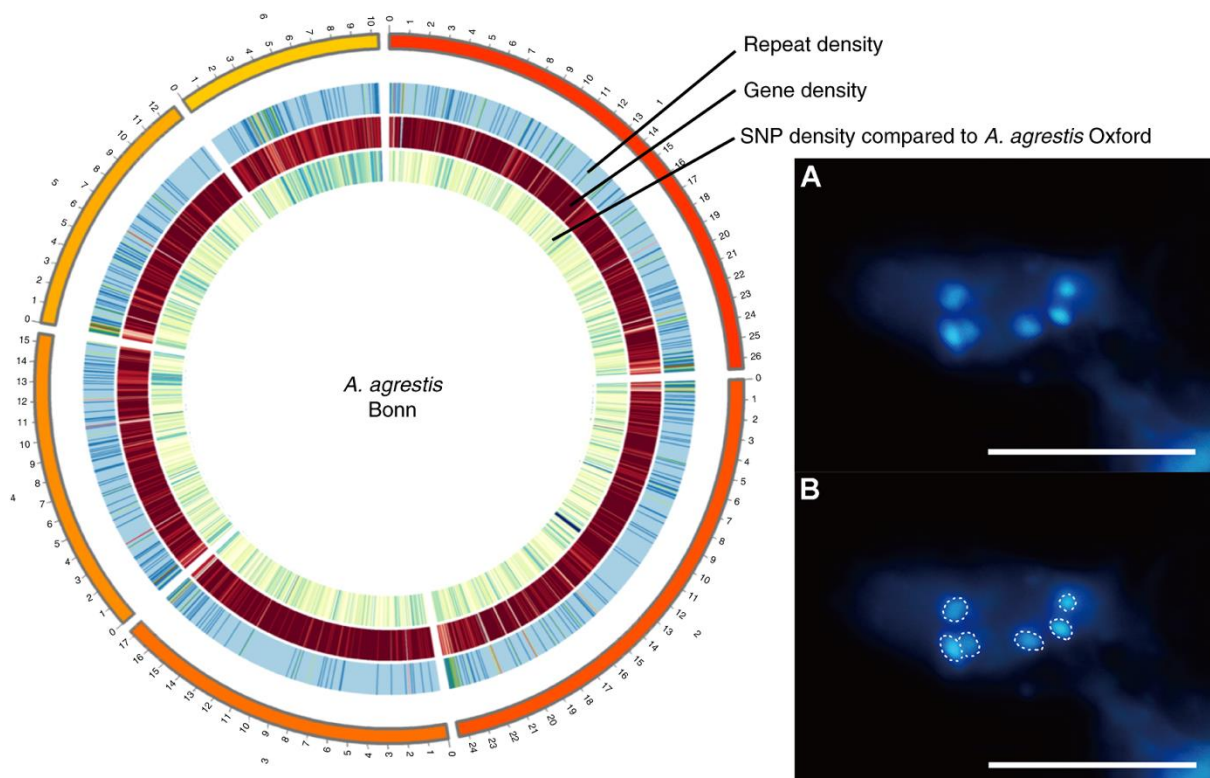


図 1. *Anthoceros agrestis* の super scaffold と染色体像 左: *A. agrestis* Bonn の 6 本の super scaffold. 反復配列, 遺伝子, Oxford 株と Bonn 株の間の塩基置換の密度を表示している。右: (A) *A. agrestis* Oxford 株の DAPI 染色像。(B) A のうち染色体にあたる部分を波線で囲って示したもの。スケールバーは 10 μ m。Li et al. 2020 Fig1a および Fig S1 より。 <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

A. punctatus で大きく異なっているが、これは *A. angustus* の遺伝子数が少ないというよりはゲノムアノテーションの方向性の違いの結果であって、*A. agrestis* のアノテーションでは遺伝子が見落としが無いことを目指して予測を進めたことによると考えている。また、まだ isoform を多く予測している部分もあると思われる。また、個別の遺伝子ファミリーを見ると大抵、少数の遺伝子からなっている。

予測されたタンパク質配列の機能アノテーションにおいて、転写関連遺伝子の割合は 2.4~2.6% に留まり、陸上植物の中では少ない方であった。ファミリーごとに見ても、遺伝子数はゼニゴケより少ないか、同じ遺伝子数で構成されているファミリーが半分程度あった。このことからツノゴケはシンプルな転写ネットワークを持つことが予想され、遺伝学的解析がし易いことが期待される。

ゲノムサイズが小さい一方で、*PPR* 遺伝子群など特徴的な遺伝子には増加が見られた。静岡大学の吉永先生の研究グループにより、ツノゴケ類のホウライツノゴケ *A. angustus* でオルガネラでの RNA-editing が非常に多いという知見が見出されている (Kugita et al. 2003)。ヒメツリガネゴケ、シロイヌナズナなどで *PPR* 遺伝子が特定の RNA editing を制御していることが報告されている。*PPR* 遺伝子群がツノゴケゲノムで増加していることは、RNA-editing に DYW 型の *PPR* 遺伝子が関わっていて各 editing site のために別の遺伝子があるということと整合的である。

ツノゴケゲノムを解読したところで陸上植物の主要系統と陸上植物に最も近縁な藻類である接合藻類とシャジクモの全ゲノム配列がでそろったので、セン類、タイ類、ツノゴケ類と維管束植物間の系統解析をゲノムにあるほぼシングルコピーな遺伝子に基づいて行くと、コケ植物が単系統で維管束植物の姉妹群であるという、色素体ゲノム上のタンパクコード遺伝子の解析 (Nishiyama et al. 2004)、および近年のトランスクリプトームデータに基づく系統解析の結果 (Wickett et al. 2014) と一致する結果が再現した。コケ植物の単系統性は、Li et al. (2020) および Zhang et al. (2020) 双方で同様の結果である。

3. 発生関連遺伝子

ツノゴケ類は孢子体の基部に介在分裂組織があり無限成長する。このため、孢子体は比較的長く生きることになり、孢子体が優占する維管束植物との類似性が議論されてきた (Simpson 2019)。もしかしたら、ツノゴケは維管束植物と同様の分裂組織制御機構を持っており、いずれも孢子体の拡大にあたって機能したのかもしれないと、我々は考えていた。維管束植物のシュート頂分裂組織の形成維持に関与する遺伝子としてはシロイヌナズナの *SHOOT MERISTEMLESS (STM)* 遺伝子が含まれる *KNOXI* 遺伝子ファミリーが知られている (Hay & Tsiantis 2010) が、*KNOXI* ファミリーの遺伝子はツノゴケのゲノムにはないことがわかった (Li et al. 2020)。このことは、ツノゴケ類孢子体基部の分裂組織の存在はシュート頂分裂組織に類するものではなく、発生パターン通り介在分裂組織であることを支持する。すなわち、ツノゴケ類が維管束植物に近いことを示唆することもなく、コケ植物が単系統であり、その中で、ツノゴケ類で *KNOXI* 遺伝子が消失する (図 2) などの変化が生じたという見方と整合的である。

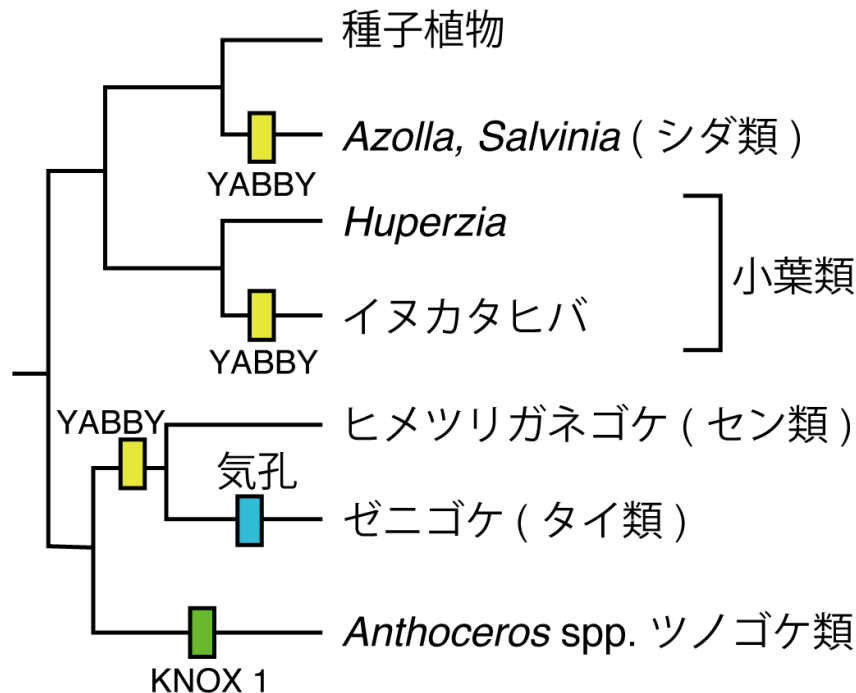


図 2. 陸上植物の進化過程において、気孔および YABBY 遺伝子と KNOX1 遺伝子が失われたと想定される枝を分岐図上に示した。

シロイヌナズナにおいて、KNOX1 遺伝子の側生器官（葉）での発現を抑制し、葉の背側細胞運命決定を制御する YABBY 遺伝子ファミリーが報告されている (Kumaran et al. 2002; Siegfried et al. 1999)。YABBY 遺伝子はゲノムが報告されている小葉類イヌカタヒバ、セン類ヒメツリガネゴケ、タイ類ゼニゴケのゲノムからは見つかっていないため、この遺伝子は種子植物の系統で獲得されたと筆者らは考えていた。しかし、2017 年、小葉類コスギラン *Huperzia selago* の茎頂組織のトランスクリプトーム解析から YABBY 遺伝子の転写産物がみつき、今回のツノゴケゲノムからも YABBY 遺伝子が見つかった。一方、シダ類 (*Azolla*, *Salvinia*; Li et al. 2018) にはやはり YABBY 遺伝子がなかった。すなわち、YABBY 遺伝子はコケ植物と維管束植物の共通祖先ではすでに獲得されていたが、セン・タイ類、イヌカタヒバ、シダ類の少なくとも 3 回喪失したということになる (図 2)。

タイ類以外の陸上植物は、胞子体の表皮に気孔と呼ばれる孔を持つ。気孔は地上部に形成され、維管束植物では開閉によりガス交換や蒸散の役割を担っており、コケ植物では胞子囊の乾燥と裂開に機能していると考えられている (Chater et al. 2017)。

ツノゴケゲノムにおいても気孔形成関連遺伝子はほぼそろっていることが確認された。気孔形成関連遺伝子は、陸上植物の進化の初期に獲得され、保存されてきた遺伝子群と言えるだろう。これらの遺伝子は胞子体で発現しており (Li et al. 2020)、ツノゴケ類、セン類、維管束植物の持つ気孔は相同であり、タイ類で消失したり (図 2)、セン類でより単純な遺伝子ネットワークによってその形成が制御されるようになったのではないかと議論されている (Harris et al. 2020)。

4. ゲノムを通して考えられる、陸上植物の祖先と進化

陸上植物の進化の過程で、様々なタイプの孢子体分裂組織（分類群ごとに形態の異なる頂端細胞、孢子体の蒴柄の介在分裂組織、多細胞性のシュート分裂組織など）が進化した過程については未だによくわかっていない。ツノゴケ類を含む現生のコケ植物との系統関係は不明だが、初期の陸上植物には、配偶体と孢子体世代の双方が分枝を伴うある程度複雑な組織分化を示す、現生のコケともシダとも異なる同型世代交替的な性質を持つものが数多く知られる (Kenrick 2017)。デボン紀に生育していた葉をつけない細長い分枝した孢子体を作る *Rhynia* や孢子囊の内部に軸状の組織（コルメラ）を有する *Horneophyton* などの絶滅したりニア状植物は、孢子囊部分だけ見ればコケ植物とよく似ており、ツノゴケのような単一の軸からなる孢子体が分岐するようになったことで進化したと解釈されることがあった (Campbell 1924; Smith 1955)。一例として、Smith (1955) の Fig. 82 を図3として示す。一方、Schuster (1966) などでは、同様の図を逆向きに並べ、リニア状植物の孢子体が退行的に進化することで、ツノゴケの孢子体が進化したことを議論している。ゲノム解析の結果からは、ツノゴケの孢子体はかつて頂端成長をしていたものが、孢子体分裂組織の活動を制御する *KNOX1* 遺伝子の喪失 (Li et al. 2020) によって、分枝をせず、一過的な介在分裂のみで成長する奇妙な発生様式に変化したと解釈することも可能であり、絶滅したりニア状植物の分岐する孢子体が退化して、分枝しなくなったものが現生のツノゴケの孢子体の起源となったという退行進化の考え方も再評価してよいかもしれない。

維管束植物、セン類、タイ類に存在する *KNOX1* 遺伝子がツノゴケ類に存在しないということは、*KNOX1* 遺伝子はツノゴケ類がセン類、タイ類と分岐してからツノゴケ類の系統で失われたと考えられる (図2)。シロイヌナズナでは *KNOX1* 遺伝子族に属する *STM* 遺伝子がシュート頂分裂組織形成に関わり、同じく孢子体地上部の軸 (stem) の形成に関わっており、ヒメツリガネゴケでは、孢子体発生時に孢子体の軸 (蒴柄: seta) 形成に関わっているとも解釈できる発現パターンと変異体の表現型を示す (Hay & Tsiantis 2010)。ツノゴケ類の孢子体には seta のような孢子囊を持ち上げる構造体としての軸が存在しないが、これは、*KNOX1* 遺伝子の喪失と呼応して軸が失われたのであって、現生陸上植物の共通祖先の孢子体は軸を持っていたかもしれないと考えられる。孢子体が柄を持つセン類、タイ類を合わせて setaphytes と呼ぶことがあるが (Renzaglia & Garbary 2001; Renzaglia et al. 2018)、seta は *KNOX1* 遺伝子とともにツノゴケ類で喪失した形質であって、セン類、タイ類の共通祖先で新規に獲得された共有派生形質ではない可能性があり、分類群の名付けとして最適だったかは議論の余地があるかもしれない。

YABBY 遺伝子がツノゴケで何をしているのか、これはツノゴケ類でその変異体を作成して調べるべきことであるが、現時点で想像をたくましくすることもできる。例えば、ツノゴケ類の孢子囊は、二つの部分に別れて裂けていくような開き方をする。その裂け目の溝になる部分で異なった細胞分化をするためのパターン形成に関わるのではないかと想像される。*YABBY* 遺伝子でなくとも、何らかの遺伝子はその溝のパターン形成をしているはずである。ヒメツリガネゴケやゼニゴケの孢子囊では円周方向に継ぎ目のない袋という様に構造が単純化しているのは、何らかの遺伝子の機能喪失による単純化の結果かもしれない。ゼニゴケ類

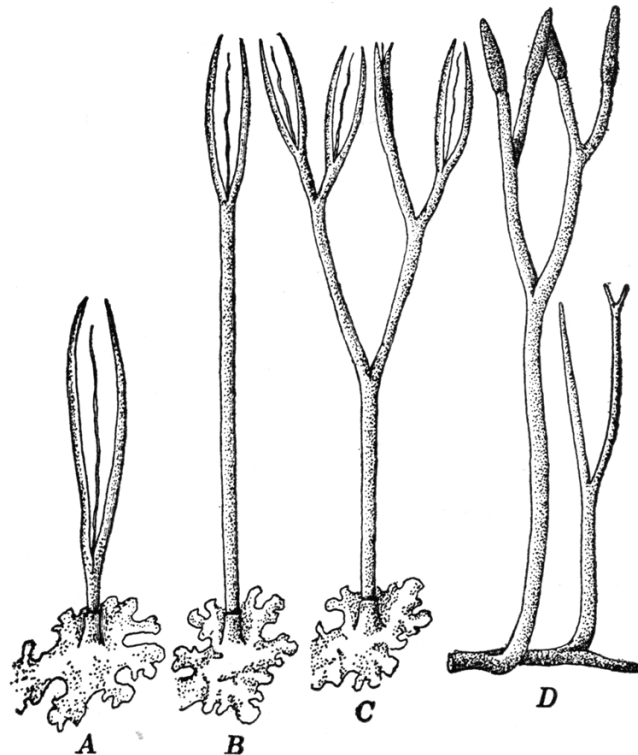


Fig. 82. Diagrams showing hypothetical sequence in the evolution of a semiparasitic anthocerotean type of sporophyte into a free-living psilophytan type of sporophyte.

図 3. Smith (1955) p133 の Fig. 82.

以外の多くのタイ類や、セン類の基部で分岐したナンジャモンジャゴケ属 (*Takakia*) およびクロマゴケ属 (*Andreaeobryum*) では、胞子嚢は特定の部分の縦方向、あるいは斜め方向の裂開線に沿って裂ける (Higuchi & Zhang 1998)。これらは類似の機構である可能性があり、興味深い。

5. コケ植物の退化と遺伝子喪失

現在の地球上でコケ植物は、林床・樹皮上・攪乱地・極圏などのような極端な環境などでも、大きく育つことなく省エネルギーで次世代をつなぐ胞子を作ることに対応しているように見える。また、安定した環境においても、背丈が高い維管束植物が多くの光を利用してしまいう中で、小さな植物体を生かして、維管束植物が利用できないような微環境に適応しているようにも見える。しかし、初期の陸上植物がどのような環境で育っていたかを考えると、現在のような背の高い維管束植物が存在したわけでないで、日当たりの良いところにも共通祖先である植物が暮らしていたと考えられる。そこでは、コケ植物の祖先は、一旦、胞子体が枝分かれした多胞子嚢植物になったものの、維管束植物の出現と繁栄とともに、植物体、特に胞子体世代の背丈をより高くする競争からは撤退し、たくさんの小さな胞子体を配偶体上に生じるようになったのかもしれない。この進化の道筋を選んだおかげで、現在で

も維管束植物が利用できないような環境でも生育し、繁栄を遂げているのかもしれない。

これまで全ゲノム配列が解読されているコケ植物は、維管束植物と比べて遺伝子数が少ないのであるが、多様な系統の解析結果を比べると、陸上植物の進化の過程で、遺伝子は獲得されるだけでなく、失われるという例も多かったことが示唆されている。つまり、遺伝子レベルでの退化（遺伝子の消失）によって現在のコケ植物ができたという過程があったかもしれない。最近 *Anthoceros agrestis* の形質転換が実現されたことから (Frangedakis et al. 2021), 今後、さらに実験的検証も進むと期待される。

引用文献

- Bowman, J.L., Kohchi, T., Yamato, K.T., Jenkins, J., Shu, S.Q., Ishizaki, K., Yamaoka, S., Nishihama, R., Nakamura, Y., Berger, F., Adam, C., Aki, S.S., Althoff, F., Araki, T., Arteaga-Vazquez, M.A., Balasubramanian, S., Barry, K., Bauer, D., Boehm, C.R., Briginshaw, L., Caballero-Perez, J., Catarino, B., Chen, F., Chiyoda, S., Chovatia, M., Davies, K.M., Delmans, M., Demura, T., Dierschke, T., Dolan, L., Dorantes-Acosta, A.E., Eklund, D.M., Florent, S.N., Flores-Sandoval, E., Fujiyama, A., Fukuzawa, H., Galik, B., Grimanelli, D., Grimwood, J., Grossniklaus, U., Hamada, T., Haseloff, J., Hetherington, A.J., Higo, A., Hirakawa, Y., Hundley, H.N., Ikeda, Y., Inoue, K., Inoue, S.I., Ishida, S., Jia, Q.D., Kakita, M., Kanazawa, T., Kawai, Y., Kawashima, T., Kennedy, M., Kinose, K., Kinoshita, T., Kohara, Y., Koide, E., Komatsu, K., Kopischke, S., Kubo, M., Kyozuka, J., Lagercrantz, U., Lin, S.S., Lindquist, E., Lipzen, A.M., Lu, C.W., De Luna, E., Martienssen, R.A., Minamino, N., Mizutani, M., Mizutani, M., Mochizuki, N., Monte, I., Mosher, R., Nagasaki, H., Nakagami, H., Naramoto, S., Nishitani, K., Ohtani, M., Okamoto, T., Okumura, M., Phillips, J., Pollak, B., Reinders, A., Rovekamp, M., Sano, R., Sawa, S., Schmid, M.W., Shirakawa, M., Solano, R., Spunde, A., Suetsugu, N., Sugano, S., Sugiyama, A., Sun, R., Suzuki, Y., Takenaka, M., Takezawa, D., Tomogane, H., Tsuzuki, M., Ueda, T., Umeda, M., Ward, J.M., Watanabe, Y., Yazaki, K., Yokoyama, R., Yoshitake, Y., Yotsui, I., Zachgo, S., & Schmutz, J. 2017. Insights into land plant evolution garnered from the *Marchantia polymorpha* genome. *Cell* 171:287–304.e215
- Campbell, D.H. 1924. A remarkable development of the sporophyte in *Anthoceros fusiformis*. *Aust. Ann. Bot.* 38:473–483
- Chater, C.C.C., Caine, R.S., Fleming, A.J., & Gray, J.E. 2017. Origins and evolution of stomatal development. *Plant. Physiol.* 174:624–638
- Frangedakis, E., Waller, M., Nishiyama, T., Tsukaya, H., Xu, X., Yue, Y., Tjahjadi, M., Gunadi, A., Van Eck, J., Li, F.W., Szovenyi, P., & Sakakibara, K. 2021. An agrobacterium-mediated stable transformation technique for the hornwort model *Anthoceros agrestis*. *New Phytol.* doi: <https://doi.org/10.1111/nph.17524>
- Harris, B.J., Harrison, C.J., Hetherington, A.M., & Williams, T.A. 2020. Phylogenomic evidence for the nonophyly of bryophytes and the reductive evolution of stomata. *Curr. Biol.* 30: 2001-2012.e2002
- Hay, A., & Tsiantis, M. 2010. KNOX genes: versatile regulators of plant development and diversity. *Development* 137: 3153–3165
- Higuchi, M., & Zhang, D.-C. 1998. Sporophytes of *Takakia ceratophylla* found in China. *J. Hattori Bot.*

Lab. 84: 57–69

- Kenrick, P. 2017. Changing expressions: a hypothesis for the origin of the vascular plant life cycle. *Phil. Trans. R. Soc. B* 373: 20170149
- Kugita, M., Kaneko, A., Yamamoto, Y., Takeya, Y., Matsumoto, T., & Yoshinaga, K. 2003. The complete nucleotide sequence of the hornwort (*Anthoceros formosae*) chloroplast genome: insight into the earliest land plants. *Nucleic Acids Res.* 31:716-721
- Kumaran, M.K., Bowman, J.L., & Sundaresan, V. 2002. YABBY polarity genes mediate the repression of KNOX homeobox genes in Arabidopsis. *Plant Cell* 14:2761-2770
- Lang, D., Ullrich, K.K., Murat, F., Fuchs, J., Jenkins, J., Haas, F.B., Piednoel, M., Gundlach, H., Van Bel, M., Meyberg, R., Vives, C., Morata, J., Symeonidi, A., Hiss, M., Muchero, W., Kamisugi, Y., Saleh, O., Blanc, G., Decker, E.L., van Gessel, N., Grimwood, J., Hayes, R.D., Graham, S.W., Gunter, L.E., McDaniel, S.F., Hoernstein, S.N.W., Larsson, A., Li, F.W., Perroud, P.F., Phillips, J., Ranjan, P., Rokshar, D.S., Rothfels, C.J., Schneider, L., Shu, S.Q., Stevenson, D.W., Thummler, F., Tillich, M., Aguilar, J.C.V., Widiez, T., Wong, G.K.S., Wymore, A., Zhang, Y., Zimmer, A.D., Quatrano, R.S., Mayer, K.F.X., Goodstein, D., Casacuberta, J.M., Vandepoele, K., Reski, R., Cuming, A.C., Tuskan, G.A., Maumus, F., Salse, J., Schmutz, J., & Rensing, S.A. 2018. The *Physcomitrella patens* chromosome-scale assembly reveals moss genome structure and evolution. *Plant J.* 93:515–533
- Li, F.W., Brouwer, P., Carretero-Paulet, L., Cheng, S.F., de Vries, J., Delaux, P.M., Eily, A., Koppers, N., Kuo, L.Y., Li, Z., Simenc, M., Small, I., Wafula, E., Angarita, S., Barker, M.S., Brautigam, A., dePamphilis, C., Gould, S., Hosmani, P.S., Huang, Y.M., Huettel, B., Kato, Y., Liu, X., Maere, S., McDowell, R., Mueller, L.A., Nierop, K.G.J., Rensing, S.A., Robison, T., Rothfels, C.J., Sigel, E.M., Song, Y., Timilsena, P.R., Van de Peer, Y., Wang, H.L., Wilhelmsson, P.K.I., Wolf, P.G., Xu, X., Der, J.P., Schluempmann, H., Wong, G.K.S., & Pryer, K.M. 2018. Fern genomes elucidate land plant evolution and cyanobacterial symbioses. *Nat. Plants* 4: 460–472
- Li, F.W., Nishiyama, T., Waller, M., Frangedakis, E., Keller, J., Li, Z., Fernandez-Pozo, N., Barker, M.S., Bennett, T., Blazquez, M.A., Cheng, S.F., Cuming, A.C., de Vries, J., de Vries, S., Delaux, P.M., Diop, I.S., Harrison, C.J., Hauser, D., Hernandez-Garcia, J., Kirbis, A., Meeks, J.C., Monte, I., Mutte, S.K., Neubauer, A., Quandt, D., Robison, T., Shimamura, M., Rensing, S.A., Villarreal, J.C., Weijers, D., Wicke, S., Wong, G.K.S., Sakakibara, K., & Szovenyi, P. 2020. *Anthoceros* genomes illuminate the origin of land plants and the unique biology of hornworts. *Nat. Plants* 6:259–272
- Nishiyama, T., Wolf, P.G., Kugita, M., Sinclair, R.B., Sugita, M., Sugiura, C., Wakasugi, T., Yamada, K., Yoshinaga, K., Yamaguchi, K., Ueda, K., & Hasebe, M. 2004. Chloroplast phylogeny indicates that bryophytes are monophyletic. *Mol. Biol. Evol.* 21:1813-1819
- Rensing, S.A., Lang, D., Zimmer, A.D., Terry, A., Salamov, A., Shapiro, H., Nishiyama, T., Perroud, P.F., Lindquist, E.A., Kamisugi, Y., Tanahashi, T., Sakakibara, K., Fujita, T., Oishi, K., Shin-I, T., Kuroki, Y., Toyoda, A., Suzuki, Y., Hashimoto, S., Yamaguchi, K., Sugano, S., Kohara, Y., Fujiyama, A., Anterola, A., Aoki, S., Ashton, N., Barbazuk, W.B., Barker, E., Bennetzen, J.L., Blankenship, R., Cho, S.H., Dutcher, S.K., Estelle, M., Fawcett, J.A., Gundlach, H., Hanada, K., Heyl, A., Hicks, K.A., Hughes, J., Lohr, M., Mayer, K., Melkozernov, A., Murata, T., Nelson, D.R., Pils, B., Prigge, M.,

- Reiss, B., Renner, T., Rombauts, S., Rushton, P.J., Sanderfoot, A., Schween, G., Shiu, S.H., Stueber, K., Theodoulou, F.L., Tu, H., Van de Peer, Y., Verrier, P.J., Waters, E., Wood, A., Yang, L.X., Cove, D., Cuming, A.C., Hasebe, M., Lucas, S., Mishler, B.D., Reski, R., Grigoriev, I.V., Quatrano, R.S., & Boore, J.L. 2008. The Physcomitrella genome reveals evolutionary insights into the conquest of land by plants. *Science* 319:64–69
- Renzaglia, K.S., & Garbary, D.J. 2001. Motile gametes of land plants: diversity, development, and evolution. *Crit. Rev. Plant Sci.* 20: 107–213
- Renzaglia, K.S., Villarreal A., J.C., & Garbary, D.J. 2018. Morphology supports -the setaphyte hypothesis: mosses plus liverworts form a natural group. *Bryophy. Div. Evol.* 40:011–017
- Schuster, R.M. 1966. The Hepaticae and Anthocerotae of North America. Vol. 1. Columbia Univ. Press, New York
- Siegfried, K.R., Eshed, Y., Baum, S.F., Otsuga, D., Drews, G.N., & Bowman, J.L. 1999. Members of the YABBY gene family specify abaxial cell fate in Arabidopsis. *Development* 126:4117–4128
- Simpson, M.G. 2019. Plant Systematics. Academic Press
- Smith, G.M. 1955. Cryptogamic Botany. McGraw-Hill, New York
- Wickett, N.J., Mirarab, S., Nguyen, N., Warnow, T., Carpenter, E., Matasci, N., Ayyampalayam, S., Barker, M.S., Burleigh, J.G., Gitzendanner, M.A., Ruhfel, B.R., Wafula, E., Der, J.P., Graham, S.W., Mathews, S., Melkonian, M., Soltis, D.E., Soltis, P.S., Miles, N.W., Rothfels, C.J., Pokorny, L., Shaw, A.J., DeGironimo, L., Stevenson, D.W., Surek, B., Villarreal, J.C., Roure, B., Philippe, H., dePamphilis, C.W., Chen, T., Deyholos, M.K., Baucom, R.S., Kutchan, T.M., Augustin, M.M., Wang, J., Zhang, Y., Tian, Z.J., Yan, Z.X., Wu, X.L., Sun, X., Wong, G.K.S., & Leebens-Mack, J. 2014. Phylotranscriptomic analysis of the origin and early diversification of land plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111: E4859–E4868
- Zhang, J., Fu, X.X., Li, R.Q., Zhao, X., Liu, Y., Li, M.H., Zwaenepoel, A., Ma, H., Goffinet, B., Guan, Y.L., Xue, J.Y., Liao, Y.Y., Wang, Q.F., Wang, Q.H., Wang, J.Y., Zhang, G.Q., Wang, Z.W., Jia, Y., Wang, M.Z., Dong, S.S., Yang, J.F., Jiao, Y.N., Guo, Y.L., Kong, H.Z., Lu, A.M., Yang, H.M., Zhang, S.Z., Van de Peer, Y., Liu, Z.J., & Chen, Z.D. 2020. The hornwort genome and early land plant evolution. *Nat. Plants* 6: 107–118

ツノゴケの細胞生物学

嶋村 正樹

広島大学大学院統合生命科学研究科

〒739-8526 東広島市鏡山 1-3-1

Cell biology on hornworts

Masaki Shimamura

Graduate School of Integrated Sciences for Life, Hiroshima University

1-3-1 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima 739-8536, Japan

Keywords: chloroplasts, hornworts, microtubule, monoplastidy

DOI: 10.24480/bsj-review.12d3.00216

はじめに

コケ植物ツノゴケ類は、葉状体の内部に藍藻類を共生させる腔所をもつこと、葉状体の上で成長するツノ状の孢子体は基部近くに分裂組織があり介在分裂のみで成長するなど、陸上植物として特異的な組織形態をもっている。さらに、陸上植物におけるツノゴケ類の特異性は細胞レベルでの特徴にも及んでいる。ツノゴケ類の細胞内には葉緑体が1個しかないのが普通で、葉緑体の内部にはルビスコが凝集したピレノイドが存在することが多い。細胞分裂時には核の分裂に先立って葉緑体の分裂と移動が起こり、核分裂は葉緑体の分裂を追従する方向に起こる。葉緑体表面から伸びる微小管系は葉緑体の定位や細胞分裂軸の決定に関与する。ツノゴケ類がコケ植物の系統の最基部に位置することが示された現在、ツノゴケ類の細胞は、陸上植物の細胞システムの進化を研究する上で、興味深いモデルとなるかもしれない。以下、現在までのツノゴケ類の細胞生物学的知見、特に葉緑体に注目してまとめ、今後の研究の展開について展望した。

1. 単色素体性

ツノゴケ類の細胞を観察した時に、まず目につくのは、直径数十 μm にも達する、大きな1-2個の葉緑体である(図1)。細胞内に色素体(原色素体、葉緑体、アミロプラストなど様々な分化形態を含む総称)を1つしか持たない細胞は単色素体性細胞(monoplastidic cell)と呼ばれ、緑藻類、コケ植物、シダ植物で知られている(Brown & Lemmon 1990; 嶋村 2004; Shimamura et al. 2003, 2014)。しかし、単色素体性細胞は、陸上植物では孢子形成や精子形成など生殖細胞形成時に限って見られることがほとんどで、ツノゴケ類のように生活環を通じて単色素体性が維持されるのは例外的である(Burr 1970; Brown et al. 2010)。細胞あたりの葉緑体の数については、分類群ごと、組織ごとに多様性があり、ツノゴケ属(*Anthoceros*)では、配偶体の細胞では葉緑体の数は1つだが孢子体の栄養組織では、しばしば2個あるいは4個

のことがある (長谷川・和田 1992)。ツノゴケ属では、葉緑体と核の分裂サイクルが同調的であることが示されており、核分裂に先立って葉緑体ゲノム DNA が増加したのちに葉緑体が将来の核分裂の方向にくびれ切れるように分裂することが観察されている (Izumi et al. 1993) (図 1C)。

アナナシツノゴケ属 (*Megaceros*) では、ツノゴケ類では例外的に表皮細胞は 1-8 個、葉状体内部の細胞は最大 20 個程度と多数の葉緑体をもつ (Bartlett 1928; Burr 1969, 1970) (図 2)。しかし、アナナシツノゴケ属においても葉状体頂端部の若い細胞は単色素体性である。また古い細胞が脱分化して新しく葉状体が形成される過程では、葉緑体同士が融合、あるいは核分裂軸方向に単一の葉緑体のみを切り出すような細胞分裂がおこることで、単色素体性の細胞が新たに形成される (Burr 1969)。

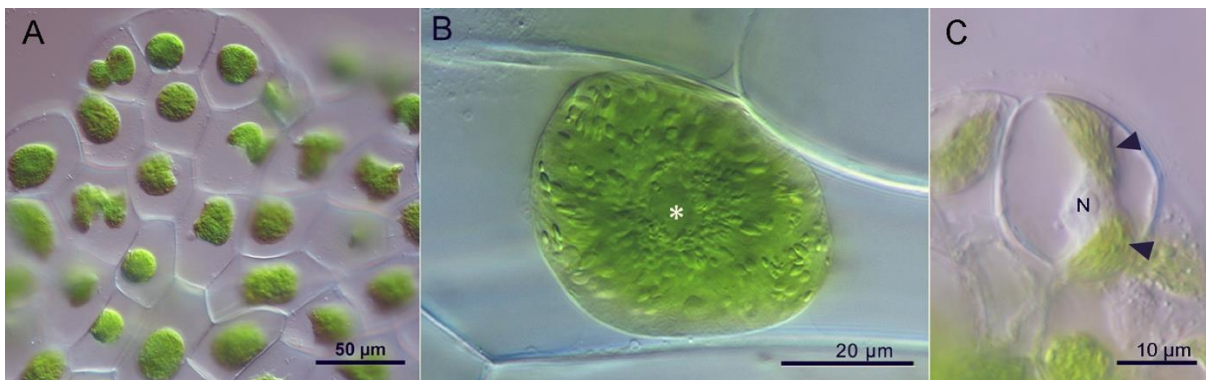


図 1. ナガサキツノゴケ *Anthoceros agrestis* の細胞。(A) 個々の細胞には葉緑体が 1 つずつ存在する。(B) 葉緑体は数十 μm の直径があり、中心部にはデンプン粒に取り囲まれたピレノイド (星印) が存在する。(C) 核(N)の分裂に先立つ葉緑体 (矢印) の分裂。

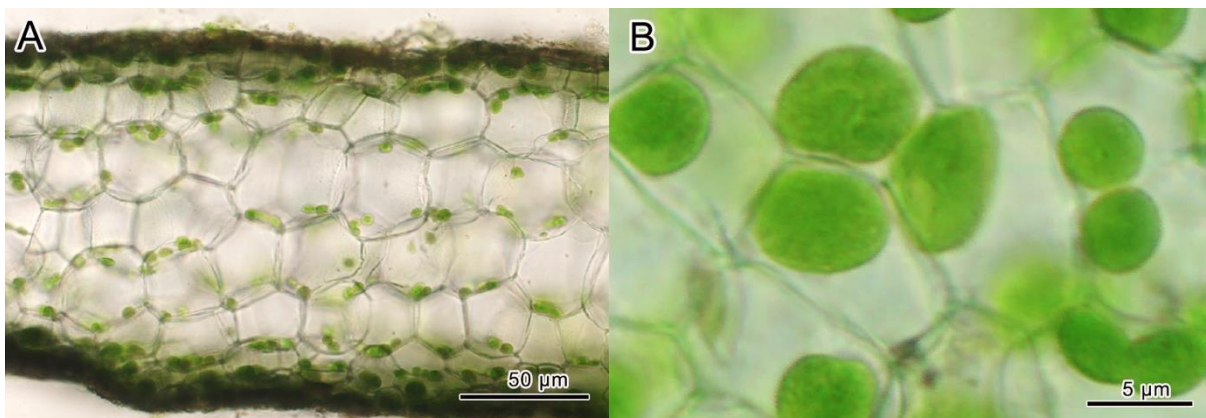


図 2. アナナシツノゴケ *Megaceros flagellaris* の細胞。(A) 葉状体の断面。個々の細胞は、小さな葉緑体を多数持つ。(B) 葉緑体の直径は 5 μm 程度で、ピレノイドは認められない。

2. 葉緑体の微細形態

ツノゴケ類は陸上植物で唯一、葉緑体中にピレノイドを持つ分類群である。このピレノイドには藻類で見られるものと同様、炭酸固定反応を行う酵素であるルビスコ（リブロース-1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ）が集積している (Vaughn et al. 1990; Hanson et al. 2002) (図 3)。ツノゴケ類のすべての種にピレノイドが見られるわけではなく、情報がある 200 種のうち約 100 種にピレノイドがある (Villarrea & Renner 2012)。また、ピレノイドの存在様式は、ツノゴケモドキ属 (*Notothylas*) に見られるように 1ヶ所に小さく凝集するピレノイドから、ナガイモツノゴケ属 (*Phymatoceros*) や一部の *Nothoceros* 属に見られるような細かく分散したピレノイドまで様々である。電子顕微鏡観察によるとツノゴケのピレノイドはデンプン粒に取り囲まれた領域に存在し、多数の円板状の構造からなる複合ピレノイドである。ピレノイドの機能は無機炭素濃縮であり、光化学系 II の酸素発生反応からルビスコを空間的に隔離して、ルビスコの活性部位に対する二酸化炭素と酸素の競合を減少させることができると考えられている (Vaughn et al. 1990; 1992)。ピレノイドを横断するチラコイド膜には光化学系 II の活性が認められないこともこの考えを支持する (McKay et al. 1991)。標準的な C3 植物であるゼニゴケの CO₂ 補償点が 64 ppm であるのに対し、ピレノイドをもつツノゴケ類の種が 11–13 ppm の非常に低い CO₂ 補償点をもつことはツノゴケのピレノイドが実際に CO₂ 濃縮機構に寄与していることを支持する (Hanson et al. 2002)。ピレノイドは、単色素体性のシャジクモ類にも一般的に見られるためツノゴケ類のピレノイドは一般的には祖先藻類から引き継いだ祖先的な形質と考えられている (Graham 1993)。しかし、最近の分子系統解析によって明らかにされたツノゴケ類の系統関係から考えると、ツノゴケ類の系統最基部に位置するスジツノゴケ属 (*Leiosporoceros*) には、ピレノイドがないこと、またナガイモツノゴケ属のように近縁種間でピレノイドの有無に違いがある例があることから、ツノゴケ類の多様化の途中でピレノイドは複数回独立して獲得、消失しているという仮説が提案されている (Villarreal & Renner 2012)。藻類のピレノイドや、被子植物の CO₂ 濃縮機構である C4 型光合成などの進化については、大気中の CO₂ 濃度が低い時期に様々な系統群で独立して進化したという仮説がある (Obsorne & Sack 2012; Young et al. 2012)。しかし、系統樹から推定されるツノゴケ類のピレノイドの獲得は大気中の CO₂ 濃度が非常に高かった約 1 億年前である。

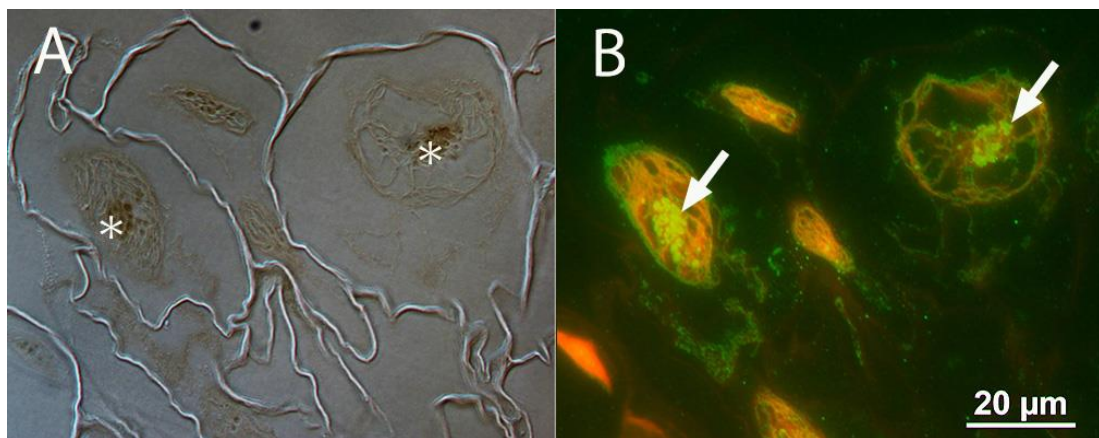


図 3. ピレノイドへのルビスコの局在 (ナガサキツノゴケ) (A) ピレノイド (星印) を含む葉緑体断面。(B) 抗ルビスコ抗体 (緑色) による染色はピレノイド付近に集中する (矢印)。赤色はクロロフィルの自家蛍光。

さらにそれとは独立に、現在よりも大気中の CO₂ 濃度が高かった約 3,500 万年前にも他の幾つかの系統でもピレノイドが獲得されたと推定されている(Villarreal & Renner 2012)。少なくとも、ピレノイドを持つ系統がツノゴケ類の進化史上、非同期的に出現し、CO₂ 濃度が高い時代もピレノイドが維持されているように見える。このことは、他の植物でこれまで提案されていた、二酸化炭素濃縮機構の進化起源と CO₂ 濃度が低い時期との相関関係を支持しない。ツノゴケ類の進化におけるピレノイドの獲得と維持は、大気中の CO₂ 濃度以外の要因にも関係しているのかもしれない。細胞分裂期以外は小さな葉緑体を多数持つアナナシツノゴケ属では、すべての種でピレノイドがないことは、色素体が複数化することで、ピレノイドの存在の優位性が小さくなることを示唆する。ピレノイドを持たないアナナシツノゴケ属と近縁でありながら、乾燥にもさらされる樹上に生育するキノボリツノゴケ属 (*Dendroceros*) にはピレノイドが存在することは、異なる生育環境への適応放散もピレノイドの獲得や消失と関連があることを示唆する。

ツノゴケの葉緑体は、他の陸上植物同様、チラコイド膜が積み重ねられたグラナを形成する。しかし、ツノゴケ類のグラナは短いチラコイドの積層からなり、末端膜が折り返されて閉じてはいない。つまりストロマが複雑に分岐したチラコイドによって分断されているが、他の陸上植物とは異なり、チラコイド内の空間を閉鎖的に囲む膜「囊」が存在しないと解釈されている。このようなツノゴケ類特有のチラコイドシステムは、チャンネル型チラコイドと呼ばれるがその機能は不明である (Vaughn et al. 1990)。

ツノゴケ類の成熟した葉状体の表皮細胞では、葉緑体の外形が滑らかではなく、たくさんの細長い突起が伸長していることがある (Frangedakis et al. 2021) (図 4)。これは、陸上植物の色素体に広くみられるストロミュールと呼ばれる構造とよく似ている。陸上植物のストロミュールは、色素体間での分子の輸送、色素体の表面積を増加による細胞質との物質交換の促進、ストレス応答など様々な細胞内コミュニケーションに関わっていると考えられている (Hanson & Conklin 2020)。単色素体性細胞においてもストロミュール様の構造が存在することは、色素体間での分子の輸送以外にも重要な機能があることを示唆する。多数の葉緑体を持つ他のコケ植物では、ツノゴケ類で見られるほどの顕著なストロミュールの発達は見られないことから、巨大な色素体を一つだけ持つ単色素体性に伴う何らかの機能的制約、例えば葉緑体の体積に対する葉緑体表面積の相対的低下を補っているのではないだろうか。

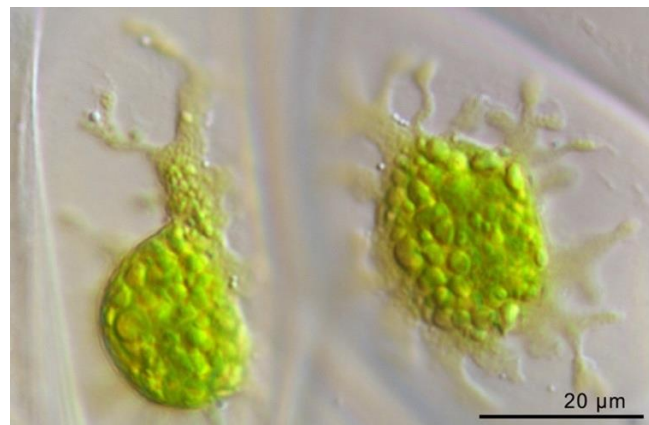


図 4. ナガサキツノゴケの葉緑体に発達するストロミュール様構造

3. 葉緑体定位運動

陸上植物の葉緑体は弱い光環境では、細胞内で光の方向に対し平面的に配置し、より多くの光を受容しようとする（集合反応）。また強い光環境では光障害を避けるために光の方向と平行になるような細胞壁面に沿って配置する（逃避反応）。ナガサキツノゴケ (*Anthoceros agrestis*) の場合、表皮層の細胞の葉緑体は外界に面した側の細胞壁に密着するように配置しており、単色素体の細胞においても他の植物の葉緑体の集合反応に相当する光定位運動が存在することが示唆される（図 5）。しかし他の陸上植物で知られているような強光下で側面の細胞壁へ葉緑体が逃避するような運動は報告がなく、筆者の予備的な実験でも少なくとも白色強光下での明確な逃避運動はみられないようであった。アナナシツノゴケ属では光障害を避けることと関連のありそうな現象として、葉緑体は弱い光環境では大きな平たい外形で内部には層状構造が発達しているが、光強度が高い場合には楕円形に収縮するという報告がある (Burr 1968)。

被子植物では葉緑体定位運動には、青色光受容体であるフォトトロピンが関与する。しかし一部の接合藻類、コケ植物、シダ植物では青色光だけでなく赤色光によっても葉緑体運動が誘導され、赤色光受容体フィトクロムと青色光受容体フォトトロピンの両方が関与することが示されている。さらに、シダ植物と接合藻の 1 種ヒザオリでは、N端にフィトクロムの光受容ドメイン、C端側にほぼ全長のフォトトロピンを持つ奇妙なキメラタンパク質、ネオクロムが発見された (Suetsugu et al. 2005)。これらの植物ではネオクロムを介した赤色光で誘導される葉緑体定位運動が存在する。シダ植物の多様化は赤色光を感知するフィトクロムと青色光を感知するフォトトロピンが一つの遺伝子に融合することで、林床の暗い環境に最適化された新しい適応進化が起きたのではないかと考えられている (Kawai et al 2003; Schneider et al. 2004)。陸上植物ではシダ植物以外にネオクロムをもつ植物は、コケ植物を含めて知られていなかったが、興味深いことに、最近ツノゴケ類からネオクロム遺伝子がみつかった。フォトトロピンとフィトクロム遺伝子ファミリーの大規模な系統解析からは、ツノゴケ類のネオクロム遺伝子の内部にシダ植物のネオクロム遺伝子が入れ子状に配置した系統樹が示されたことから、ツノゴケ類からシダ植物へネオクロム遺伝子が水平伝播した可能性が指摘されている (Li et al. 2014)。ツノゴケ類の単色素体細胞は、陸上植物葉緑体の光定位運動の進化起源や多様性を考える上でも興味深い。ネオクロム遺伝子の発見を機に、実験的な研究が進むことを期待したい。

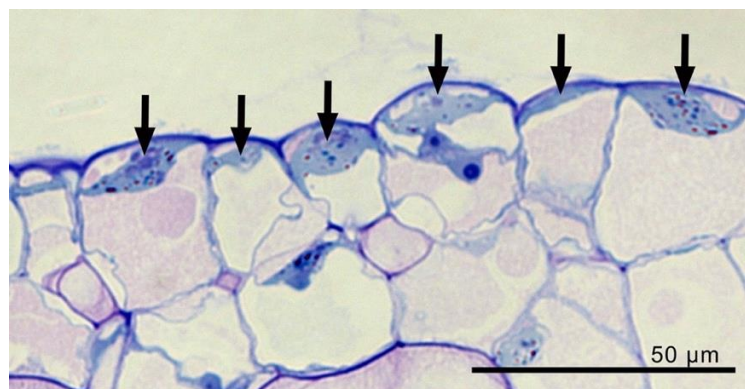


図 4. ナガサキツノゴケ葉状体の背面側表皮の樹脂切片。葉緑体（矢印）は光が入射する側に張り付く様に配置する。

4. 細胞分裂

陸上植物の紡錘体形成様式には、藻類と同様に中心小体を持つ中心体を微小管形成中心 (MTOC) とするものから、被子植物タイプの細胞質に分散した MTOC を持つものまで、様々なものがみられる。この多様性は紡錘体の形成様式が藻類型から被子植物型に移行する様々な進化段階を反映していると考えられている (Shimamura 2004)。初期の陸上植物は、表層微小管という新たな微小管系を使って陸上に適応した体制を発達させる中で、有鞭毛の細胞を形成する時以外は、細胞内の主要な MTOC としての中心体を形成しなくなると考えられる。そして、中心体の代わりに紡錘体形成の足場として、葉緑体表面や、中心小体を持たない中心体様構造 (極形成体) が用いられるようになったと考えられる (Shimamura et al 2004)。ツノゴケ類の単色素体性細胞では、核の分裂に先立って葉緑体の分裂がおこり、葉緑体表面から紡錘体が発達し、核の分裂が葉緑体の分裂を追いかけるように行われることにより単色素体性が維持される (Brown & Lemmon 1990)。胞子体の減数分裂時には、胞子母細胞中で葉緑体が 4 つに分裂する過程で、四極性の第一分裂前期紡錘体が形成され、二度の核分裂は葉緑体の分裂によって決定された極性にしたがって起こり、単色素体性の胞子が形成される (Izumi & Ono 1994; Brown & Lemmon 1997)。

陸上植物の細胞の分裂間期には表層微小管系という独特な微小管系が細胞表層に平行に配向している。G2 期から前期の始めにかけて、将来の細胞質分裂予定位置 (新生した細胞板が既存の細胞壁に合着する位置) で表層微小管が密になり、分裂準備帯 (preprophase band; PPB) が形成される (図 5)。PPB は藻類では観察されないが、陸上植物のすべての分類群 (コケ, シダ, 種子植物) の体細胞分裂で観察される。ただしコケ植物では組織によっては PPB がみられない場合がある。また、種子植物のものほど微小管の束化がみられず、微小管の数も少ないことが知られている。ツノゴケ類では PPB の形成時に葉緑体 (葉緑体) の分裂もおこり、PPB は葉緑体の分裂が進行している狭窄部が存在する側では幅がせまく、全体として非対称な形状をしているのが特徴である (Brown & Lemmon 1988) (図 5B)。

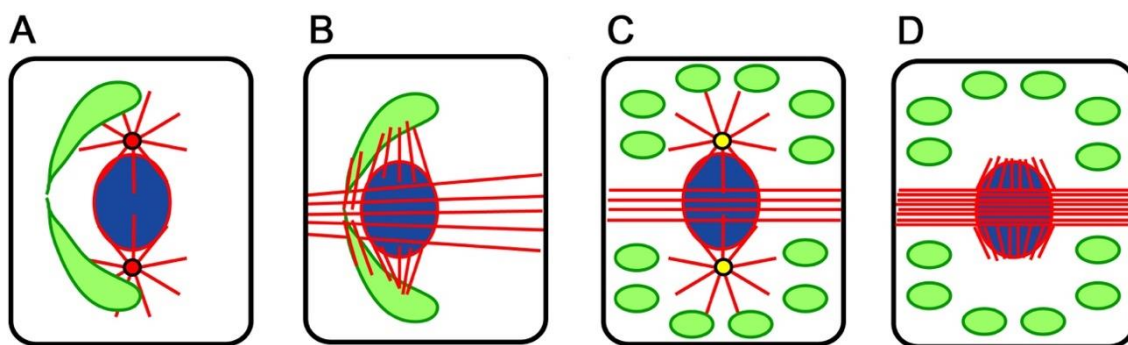


図 5. 陸上植物の紡錘体形成様式の多様性。赤色：微小管，青色：核，緑色：葉緑体。(A) 単色素体性の車軸藻類の紡錘体形成。中心体が紡錘体形成の起点となる。PPB はない。(B) ツノゴケ類の紡錘体形成様式。分裂中の葉緑体表面が紡錘体形成の足場となる。PPB は葉緑体が分裂している側で幅が狭い不均等な配置を示す。(C) コケ植物タイ類の紡錘体形成様式。分裂前期に出現する極形成体が紡錘体形成の起点となる。極形成体の出現後に微小管の本数が少なく、束化の程度も弱い PPB が出現する。(D) 被子植物の紡錘体形成様式。核の近傍で、細胞質オルガネラを足場とすることなく紡錘体形成が開始する、はっきりとした前期紡錘体形成が形成される以前に PPB が発達する。

5. まとめと今後の展望

ツノゴケ類の細胞には陸上植物として例外的で奇妙な性質が多いが、これまで植物科学における大きな関心が払われることはなかった。しかし、ツノゴケ類の系統的位置についてコケ植物もしくは陸上植物の最基部系統であることが有力となり、ゲノム情報の利用も可能になった現在、細胞生物学的な観点からもツノゴケの細胞システムにさらに大きな関心が払われるべきではないだろうか。

ツノゴケ類の細胞の単色素体システムは、陸上植物の祖先が持っていた性質と考えられ、陸上植物の細胞システムの進化を考える上で重要なモデルとなるかもしれない。陸上植物の進化の過程で、細胞あたりの葉緑体の数が増加し、それに伴い葉緑体サイズが小さくなったことには多くの利点があったと考えられている。例えば、葉緑体の表面積と体積の比率が高まり、光合成効率が向上したのかもしれない (Xiong et al. 2017)。また、より効果的な光順応のために細胞内での葉緑体の移動や再配置が可能になったかもしれない。強光下での障害を回避し、一部の葉緑体が機能的、遺伝的に損傷しても、他の多くの葉緑体がバックアップとして働けるようになったのかもしれない (Park et al. 1996; Trojan & Gabrys 1996; Königer et al. 2008)。ツノゴケ類でもゲノム配列が明らかになり、これまで藻類や被子植物で明らかになってきた葉緑体分裂の分子メカニズムとの比較が可能になってきた。今後、陸上植物で細胞あたりの葉緑体の数の増加をもたらされた要因について、遺伝子レベルで明らかになるかもしれない。被子植物の葉緑体の分裂に関与していると考えられる一連の遺伝子のうち、ナガサキツノゴケのゲノムには *parc6*, *pdv1*, *ftsZ2* の相同遺伝子を欠いていることが分かった (Li et al. 2020)。ヒメツリガネゴケやシロイヌナズナの *ftsZ2* ノックアウト変異体では、単色素体の表現型が得られることから (Martin et al. 2009; Schmitz et al. 2009)、ナガサキツノゴケにおける *FtsZ2* の欠如は、ツノゴケ類の単色素体性に関係していることが示唆されている (Frangedakis et al. 2021)。しかし、単色素体性は、他のコケ植物やシダ植物でも組織特異的（主に分裂組織や、生殖細胞系列）に見られるため、遺伝子組成の比較以外の研究アプローチが必要である。

ツノゴケゲノム中には、二酸化炭素濃縮機構に関わる候補遺伝子として *LCIB* が見つかった (Li et al. 2020)。藻類では *LCIB* タンパク質は、ピレノイドの周りに分布して二酸化炭素の漏出を防ぐバリアとして働くと考えられている (Yamamoto et al. 2010)。この遺伝子は他の陸上植物には存在しないが、緑藻類と陸上植物の共通祖先では存在し、シャジクモ類、維管束植物、ツノゴケ類以外のコケ植物では失われたようである。細胞レベルでの二酸化炭素濃縮機構に関連する遺伝子を被子植物の細胞に導入し、被子植物の葉緑体にその機能を付与しようという試みは、緑藻類のクラミドモナスなどのピレノイドにおける分子機序をモデルとして進められてきたが、ツノゴケ類も新たなモデルとして注目されている (Li et al. 2017)。

引用文献

- Bartlett, E.M. 1928. A comparative study of the development of the sporophyte in the Anthocerotae, with special reference to the genus *Anthoceros*. *Ann. Bot.* 42: 409–430
- Burr, F.A. 1968. Chloroplast Structure and Division in *Megaceros* Species. PhD Dissertation (Univ of California, Berkeley).

- Burr, F.A. 1969. Reduction in chloroplast number during gametophyte regeneration in *Megaceros flagellaris*. *Bryologist* 72: 200–209.
- Burr, F.A. 1970. Phylogenetic transitions in the chloroplast number of the Anthocerotales I. The number and ultrastructure of the mature plastids. *Amer. J. Bot.* 57: 97–110.
- Brown, R.C. & Lemmon, B. E. 1988. Preprophasic microtubule systems and development of the mitotic spindle in hornworts. *Protoplasma* 143, 11–21.
- Brown, R.C. & Lemmon, B.E. 1990. Monoplastidic cell division in lower land plants. *Amer. J. Bot.* 77: 559–571
- Brown, R.C. Lemmon, B.E. 1997. The quadripolar microtubule system in lower land plants. *J. Plant Res.* 110: 93–106.
- Brown, R.C. Lemmon, B. E., & Shimamura, M., 2010. Diversity in meiotic spindle origin and determination of cytokinetic planes in sporogenesis of complex thalloid liverworts (Marchantiopsida) *J. Plant Res.* 123: 589–605
- Frangedakis, E., Shimamura, M., Villarreal, J.C., Li, F-W., Tomaselli, M., Waller, M., Sakakibara, K., Renzaglia, K.S., & Szövényi, P. 2021, The hornworts: morphology, evolution and development. *New Phytol.* 229: 735–754.
- Graham, L.E. 1993. The Origin of Land Plants. Wiley & Sons, New York. 287 pp.
- Hanson, D.T., Andrews, T.J., & Badger, M.R. 2002. Variability of the pyrenoid-based CO₂ concentrating mechanism in hornworts (Anthocerotophyta). *Funct. Plant. Biol.* 29: 407–416.
- Hanson, M.R. & Conklin, P.L. 2020. Stromules, functional extensions of plastids within the plant cell. *Curr. Opin. Plant Biol.* 58: 25–32.
- 長谷川二郎・和田清美 1992. ツノゴケ類の孢子体細胞中の葉緑体数. *植物分類地理* 43: 37–43.
- Izumi, Y., Takamiya, M., & Fukui, K. 1993. Chloroplast division in cultured cells of the hornwort *Anthoceros punctatus*. *J. Plant Res.* 106: 319–325.
- Izumi, Y., & Ono, K. 1994. Pattern of the plastid division in spore mother cells of the hornwort *Anthoceros punctatus*. *J. Plant Res.* 107: 147–152.
- Kawai, H., Kanegae, T.T., Christensen, S., Kiyosue, T., Sato, Y., Imaizumi, T., Kadota, A., & Wada, M.M. 2003. Responses of ferns to red light are mediated by an unconventional photoreceptor. *Nature* 421: 287–290.
- Königer, M., Delamaide, J. A., Marlow, E. D., & Harris, G. C. 2008. *Arabidopsis thaliana* leaves with altered chloroplast numbers and chloroplast movement exhibit impaired adjustments to both low and high light. *J. Exp. Bot.* 59: 2285–2297.
- Li, F. W., Villarreal, J. C., Kelly, S., Rothfels, C. J., Melkonian, M., Frangedakis, E., Ruhsam, M., Sigel, E. M., Der, J. P., Pittermann, J. et al. 2014. Horizontal transfer of an adaptive chimeric photoreceptor from bryophytes to ferns. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111(18):6672–6677
- Li F-W., Villarreal J.C., & Szövényi, P. 2017. Hornworts: An overlooked window into carbon-concentrating mechanisms. *Trends Plant Sci.* 22: :275–277

- Li F-W., Nishiyama, T., Waller, M., Frangedakis, E., Keller, J., Li, Z, Fernandez-Pozo, N., Barker, M. S, Bennett, T, Blázquez, M. A. et al. 2020. Anthoceros genomes illuminate the origin of land plants and the unique biology of hornworts. *Nature Plants* 6: 259–272.
- Martin, A, Lang, D., Hanke, S.T., Mueller, S.J.X., Sarnighausen, E., Vervliet-Scheebaum, M., & Reski, R. 2009. Targeted gene knockouts reveal overlapping functions of the five *Physcomitrella patens* FtsZ isoforms in chloroplast division, chloroplast shaping, cell patterning, plant development, and gravity sensing. *Molecular Plant* 2: 1359–1372.
- McKay, R.M.L. & Gibbs, S.P. 1991. Composition and function of pyrenoids: cytochemical and immunocytochemical approaches. *Can. J. Bot.* 69: 1040–1052.
- Osborne, C.P. & Sack, L. 2012. Evolution of C4 plants: a new hypothesis for an interaction of CO2 and water relations mediated by plant hydraulics. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 367: 583–600.
- Park, Y.I, Chow, W.S., & Anderson, J.M. 1996. Chloroplast movement in the shade plant *Tradescantia albiflora* helps protect photosystem II against light stress. *Plant Physiology* 111: 867–875.
- Schneider, H., Schuettelpelz, E., Pryer, K.M., Cranfill, R., Magallón, S., & Lupia, R. 2004. Ferns diversified in the shadow of angiosperms. *Nature* 428: 553–557.
- Schmitz, A.J., Glynn, J.M., Bradley, J.S., Stokes, K.D., & Osteryoung, K.W. 2009. *Arabidopsis* FtsZ2-1 and FtsZ2-2 are functionally redundant, but FtsZ based plastid division is not essential for chloroplast partitioning or plant growth and development. *Molecular Plant* 2: 1211–1222.
- 嶋村正樹 2004. 下等陸上植物で見られる単色素体性細胞について. *Plant Morphology* 16: 83–92.
- Shimamura, M., Mineyuki, Y., & Deguchi, H. 2003. A review of the occurrence of monoplastidic meiosis in liverworts. *J. Hattori Bot. Lab.* 94: 179–186.
- Shimamura, M., Brown, R.C., Lemmon, B.E., Akashi, T., Mizuno, K., Nishihara, N. Tomizawa K. I., Yoshimoto, K., Deguchi, H., Hosoya, H., Horio, T., & Mineyuki, Y. 2004. γ -Tubulin in basal land plants: characterization, localization, and implication in the evolution of acentriolar microtubule organizing centers. *Plant Cell* 16: 45–59.
- Shimamura, M. 2014. Monoplastidic cells in lower land plants. In Noguchi, T. et al. (eds) Atlas of Plant Cell Structure. Springer, Tokyo. pp. 56–57.
- Suetsugu, N., Mittmann, F., Wagner, G., Hughes, J., & Wada M. 2005. A chimeric photoreceptor gene, *NEOCHROME*, has arisen twice during plant evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102:13705–13709.
- Trojan, A., & Gabrys, H. 1996. Chloroplast distribution in *Arabidopsis thaliana* (L.) depends on light conditions during growth. *Plant Physiol.* 111: 419–425.
- Villarreal, J.C., & Renner, S.S. 2012. Hornwort pyrenoids, carbon-concentrating structures, evolved and were lost at least five times during the last 100 million years. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109: 18873–18878

- Vaughn K.C., Campbell, E.O., Hasegawa, J., Owen, H. A., & Renzaglia, K.S. 1990. The pyrenoid is the site of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase accumulation in the hornwort (Bryophyta: Anthocerotae) chloroplast. *Protoplasma* 156: 117–129.
- Vaughn, K.C., Ligrone, R., Owen, H.A., Hasegawa, J., Campbell, E. O., Renzaglia, K. S., & Monge-Najera, J. (1992). “The anthocerote chloroplast: A review”. *New Phytol.* 120: 169–190.
- Xiong, D., Huang, J., Peng, S., & Li, Y. 2017. A few enlarged chloroplasts are less efficient in photosynthesis than a large population of small chloroplasts in *Arabidopsis thaliana*. *Sci. Rep.* 7: 5782.
- Yamano, T., Tsujikawa, T., Hatano, K., Ozawa, S., Takahashi, Y., & Fukuzawa, H. 2010. Light and low-CO₂-dependent LCIB-LCIC complex localization in the chloroplast supports the carbon-concentrating mechanism in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Cell Physiol.* 51:1453–1468.
- Young, J.N., Rickaby, R.E.M., Kapralov, M.V., & Filatov, D.A. 2012. Adaptive signals in algal Rubisco reveal a history of ancient atmospheric carbon dioxide. *Philos. Trans. R. Soc.* 367: 483–492.

ツノゴケの組織と形態

小藤 累美子¹, 嶋村 正樹²

¹金沢大学 理工研究域 生命システム学系 〒920-1192 金沢市角間町

²広島大学大学院統合生命科学研究科 〒739-8526 東広島市鏡山 1-3-1

Morphology and Anatomy of Hornwort

Rumiko Kofuji¹, Masaki Shimamura²

¹Faculty of Biological Science and Technology, Institute of Science and Engineering,
Kanazawa University

Kakuma, Kanazawa, Ishikawa, 920-1192, Japan

²Graduate School of Integrated Sciences for Life, Hiroshima University
1-3-1 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima 739-8536, Japan

Keywords: gametophyte, hornworts, morphological evolution, sporophyte

DOI: 10.24480/bsj-review.12d4.00217

1. はじめに

ツノゴケを野外で見つけたことのある人はさほど多くないだろう。ツノ状の孢子体を形成していない時期の平たい配偶体（葉状体）は、ひと目でツノゴケだと気づくことは難しい。水田や畑地，街中でも広く生育するナガサキツノゴケ（*Anthoceros agrestis*）でさえ，直径数 cm 程度の薄い葉状体は目立たず，雨に遭えば地面に密着して紛れてしまう（図 1）。しかし，顕微鏡レベルで観察してみれば，茎と葉の区別がない薄い葉状体にも，様々な組織分化がある。葉状体には，背面側に陥没するように生殖細胞を保護する造精器，造卵器が形成され，

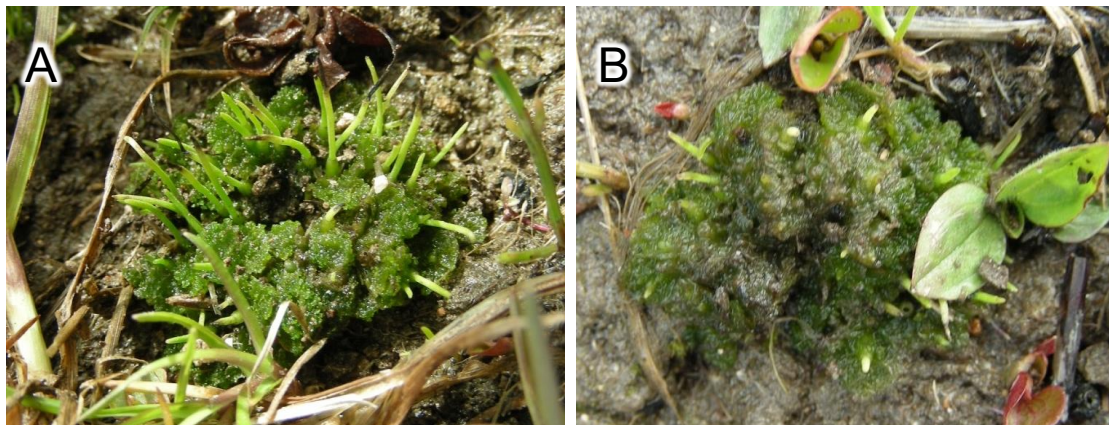


図 1. ナガサキツノゴケ *Anthoceros agrestis* (A) 普段の様子。(B) 雨上がりの様子。

葉状体の内部には、シアノバクテリアの共生腔や粘液腔といったツノゴケ類に特徴的な構造も形成される。一方、ツノ状の胞子体はそのほとんどが胞子嚢で、基部から先端まで同心円状の組織分化が見られ、表面には2つの孔辺細胞からなる気孔が存在する。胞子嚢の基部には持続的な分裂組織があり、先端側に向けて組織の分化、成長が進行する。そして最も発生の進んだ先端から裂開し、順次成熟した胞子が放出されるという、陸上植物の胞子体として、他のコケ植物や維管束植物に類を見ない特異な構造を持つ。

本稿では、ツノゴケの配偶体と胞子体の組織と形態および発生について、実験系統であり全ゲノム配列が決定されている *Anthoceros agrestis* Oxford 系統 (Li et al. 2020, Frangedakis et al. 2020) での知見を中心として、進化的考察を交えながら紹介する。

2. コケ植物における配偶体の立体体制の進化

ツノゴケ類の系統的位置については長谷川 (2021) に詳細が述べられているが、近年の大規模データを用いた分子系統解析からは、コケ植物は単系統群で、ツノゴケ類が基部で分岐した後、セン類とタイ類が分岐したとの結果が得られている (図 2, Puttick et al. 2018, OTPT Initiative 2019)。タイ類の分類群間の系統関係 (Forrest et al. 2006, Yu et al. 2020) と合わせて、コケ植物の系統と配偶体の立体体制の関係を図 2 に示す。

ツノゴケ類とセン類ではすべての種が例外なくそれぞれ平たい葉状性、茎と葉の区別がある茎葉性であるが、タイ類では大まかな系統群ごとに体制が異なる。しかし、タイ類のほとんどの種が茎葉性であり、最基部の系統を占めるコマチゴケ綱も茎葉性であるため、最節約的に考えるとタイ類の共通祖先は茎葉性と考えられている。そして、最近まで主流であったタイ類が陸上植物の基部に位置するという考えに基づけば、コケ植物が進化の過程で最初に獲得した立体体制は茎葉性であることが支持される。したがって、腹鱗片などの葉状体上の小さな突起物は、かつて葉であったものの名残であり、平たい葉状体性は茎葉体の扁平化と葉の癒合によって退化的に生じた可能性が指摘されている (Mehra 1957ab, Naramoto et al. 2019)。

一方、ツノゴケが単系統群であるコケ植物の系統基部に位置するという新しい考えに基づけば、コケ植物の配偶体が最初に獲得した立体体制は平たい葉状性であったという可能性が浮上する。しかし、セン類とタイ類がそれぞれ、12,000 種、8,000 種を擁するのに対して、ツノゴケ類は現存する種が 200 種類程度と非常に少なく (長谷川 2021)、かつて存在した形態的多様性が失われたという可能性も否定できない。コケ植物の祖先は、葉状性でも茎葉性でもなく、葉を持たない分枝する軸のみからなる植物であって、そこから葉状体や茎葉性が多系統的に進化したという可能性もある (Ligrone et al. 2012)。系統関係から安易に植物の体制の進化を推察するのは時期尚早であり、今後、古生物学的研究、分子発生的研究の進展により、コケ植物の祖先の形態が明らかになることを期待する。

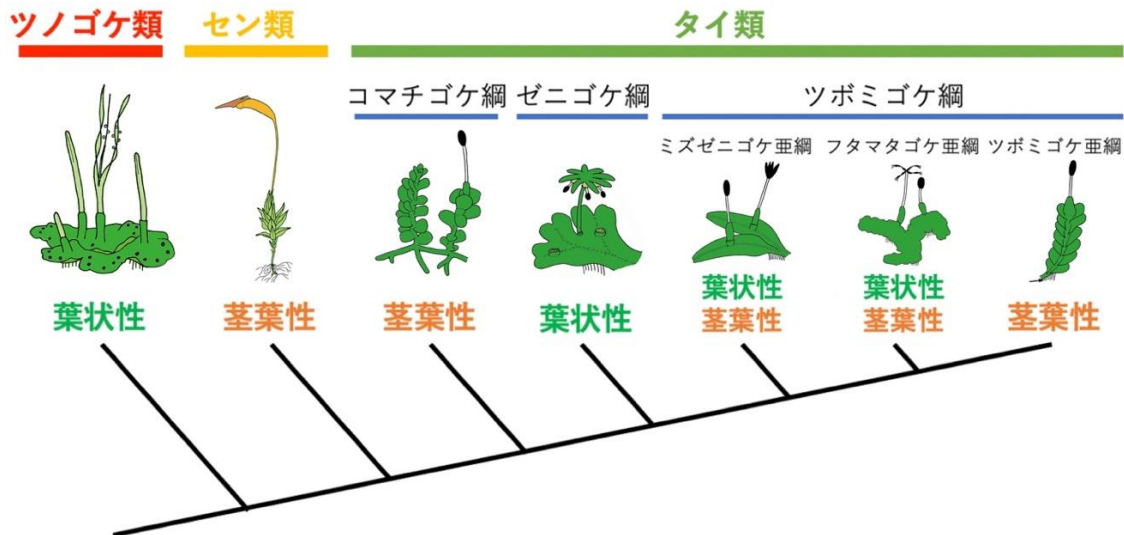


図 2. コケ植物の系統と配偶体の立体体制

3. 葉状体

ツノゴケ類の葉状体は、タイ類ゼニゴケの複雑葉状体とは異なり背面側の気室や腹面側の鱗片をつくらないため、平滑な外観を持つ。しかし、葉状体には背腹性があり、背側に造精器と造卵器、腹側に粘液孔と仮根を形成する（図 3A,B）。造精器と造卵器は、葉状体背面に埋没するように形成される。粘液孔は、葉状体腹面側に開口する細胞間隙で、共生藻（シアノバクテリア）の侵入経路となる。仮根は、表皮細胞から長く伸長した単細胞性である点で、タイ類の仮根や被子植物の根毛と同様であり、多数の細胞が連なったセン類の仮根とは異なる。葉状体の内部には、粘液に満たされた細胞間隙である粘液腔とシアノバクテリアのコロニーが形成される共生腔が分化する。

葉状体は幹細胞である頂端細胞の規則正しい細胞分裂面の転換と、その周辺での周期的な各器官の分化によって形成される。頂端ノッチの奥に存在する頂端細胞は、ゼニゴケと同様に上下（背腹）左右の 4 方向に切り出し面を持つ（図 3G）。キノボリツノゴケ属（*Dendroceros*）のみ、基部方向と左右の 3 面で切り出すスライスかまぼこ型の頂端細胞を持つが、この属は、中央部以外は単細胞厚の例外的な形態の葉状体を持ち、ツノゴケ類の系統では末端に位置することから、この頂端細胞の切り出しパターンは派生的な特徴であると推定される（Renzaglia 1978, Renzaglia et al. 2007, 長谷川 2021）。

ゼニゴケの葉状体が先端部に明瞭なノッチ（頂端細胞を有する凹み）を 1 か所持つものに対し、ツノゴケ類は周縁に不規則な大小のノッチを持つ（図 3C）。また、ナガサキツノゴケの葉状体は他のツノゴケ類と異なり、周縁部全体に多数の細かい刻みがあり、一見して多数のノッチを持つように見える（図 3B）。しかしこれは、頂端細胞を含むノッチで規則正しい細胞分裂で切り出された細胞群が、その後の成長過程において、葉状体の縁で不均等な細胞分裂頻度を示すことに由来する。多数の見かけ上のノッチのうち、頂端細胞を有する真のノッチはごく一部であり、その周辺でのみ生殖器官、粘液孔、仮根の分化が開始していることで識別できる。

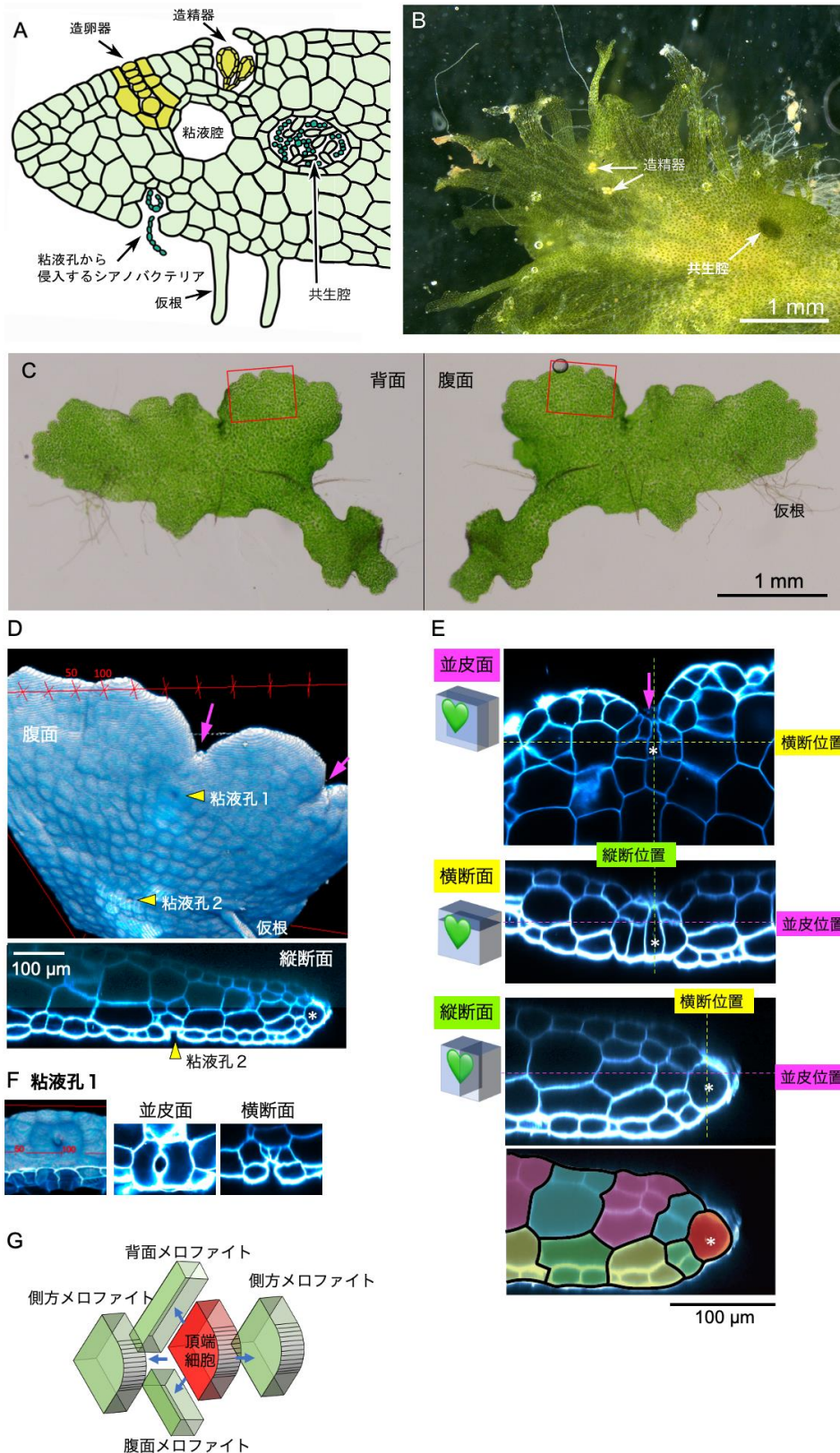


図 3. ツノゴケ類の葉状体 (A) ツノゴケ属の葉状体の縦断面の模式図。(B) ナガサキツノゴケ *Anthoceros agrestis* の背面。(C)-(F) ニワツノゴケ *Phaeoceros carolinianus* の葉状体。矢印はノッチ。矢尻は粘液孔。*は頂端細胞。(D)は(C)の赤枠の領域。(E)は(D)の中央付近のノッチの拡大。(E)の最下図は、縦断面を背面メロファイト、腹面メロファイトごとに色付けした。(G) ツノゴケ類の頂端細胞と切り出し面の模式図。

3-1. 孢子から葉状体の発生

ツノゴケ類においても他のコケ植物と同様、孢子が発芽してまず原糸体を形成したのちに特有の形態の頂端細胞が現れ、そこを起点としてノッチを持つ葉状体へと発達する（図 4, 5）。原糸体とは *protonema* に対応する学術用語で、コケ植物の孢子が発芽してつくられる構造のうち、葉状体や茎葉体を形成する頂端細胞の出現以前に作られる構造を言う（Nehira 1983）。分類群によって糸状、シート状、塊状のものが存在し、ツノゴケ類は一般に塊状の原糸体をつくとされるが、孢子発芽直後に発芽管（*germ tube*）と呼ばれる細胞が直線状に連なった構造をつくる種と、発芽管が短いか不明瞭で、直ちに塊状の構造をつくる種がある（Mehra & Kachroo 1962）。発芽管は弱光下で長くなることが知られており（Mehra & Kachroo 1962, Frangedakis et al. 2020）、種による形態の違いは光の強さに対する応答性の違いを反映しているのかもしれない（図 4）。孢子に近い、発芽管の基部側からは最初の仮根が生える（図 4D）。また、原糸体の側面には粘液孔がつけられ、側面と基部は腹側のアイデンティティを持つと考えられる。原糸体側面に粘液孔と出っ張りが形成された後、上下（背腹）左右の 4 方向に細胞を切り出す頂端細胞（図 5D*）が分化する。発生が進むとノッチが現れ（図 5E）、成長するに伴いノッチの数が増加する（図 5F）。ノッチの奥には頂端細胞が存在し（図 6）、発生が進むとノッチを構成する細胞数が増加してノッチは拡大する（図 5F, G, 図 7）。

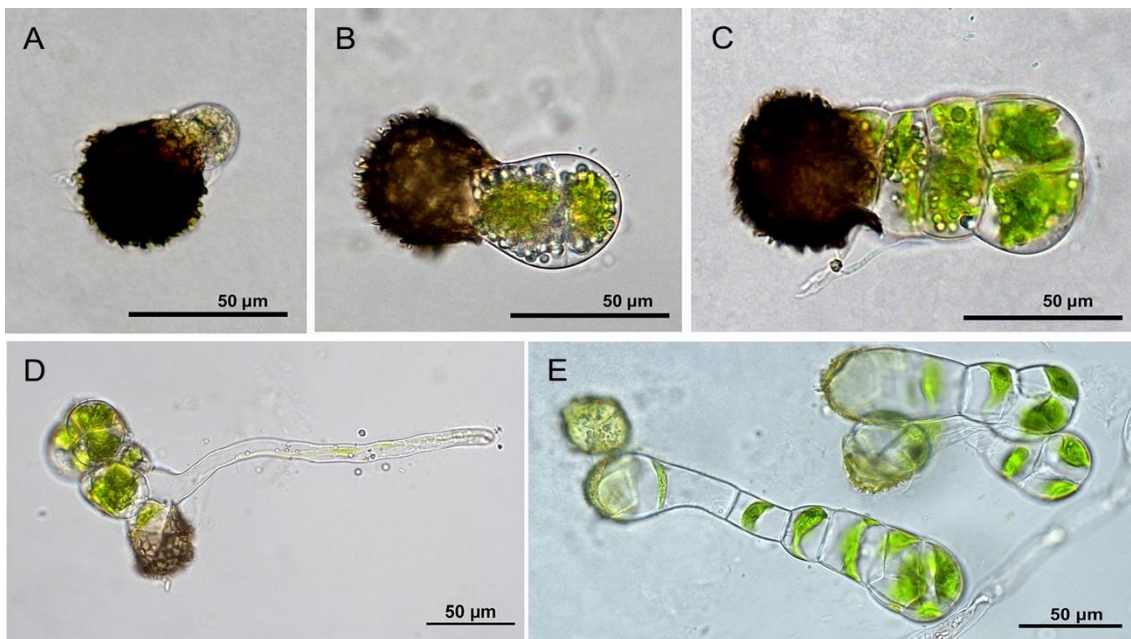


図 4. ツノゴケ類の孢子発芽 (A-D) ナガサキツノゴケの孢子発芽過程。(E) ニワツノゴケの原糸体（発芽管）。(A) 孢子の求心面側から発芽が開始する。(B) 発芽管の伸長方向を横断するように最初の細胞分裂面が挿入される。(C) 発芽管の伸長方向を横断するように数回の細胞分裂が起きた後、先端部で球状の細胞塊が作られ始める。(D) 発芽管の基部側に最初の仮根が分化する。(E) 発芽管の長さは、光条件やツノゴケ類の種ごとに違いがある。

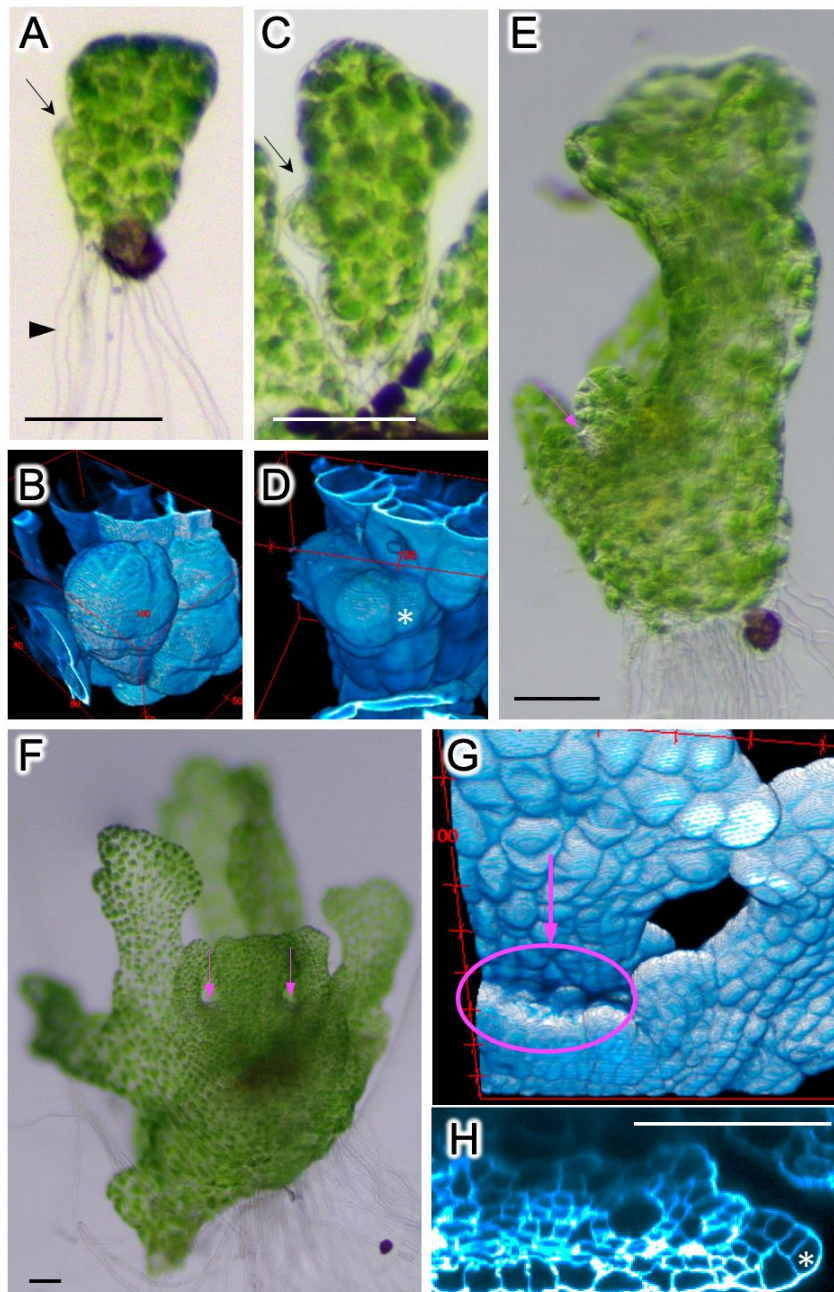


図 5. ナガサキツノゴケの原系体からロゼット状の葉状体が形成される過程 (A-D) 原系体。(E) 原系体の一部から葉状体の分化が始まった様子 (矢印)。(F-H) 葉状体。矢尻は仮根を指す。(B,D)は、A,Cと同じ段階の原系体の出っ張りを A,Cの矢印の方向から見た 3D 像。(E-G)はノッチを腹面から見たもの。(H) G の縦断面。ピンク矢印はノッチ、*は頂端細胞を示す。スケールバーはいずれも 100 μm 。

葉状体の頂端細胞は露出しており、周囲は粘液で覆われている。頂端細胞付近の腹面には粘液孔がつくられる (図 6, 7)。気孔の孔辺細胞のような 2つの細胞の間の中央部が開くが、その奥には腔所がない (図 7B, 図 3D, F)。開く前に内部に特定の配置と形態の細胞が形成されていることから、孔辺細胞様の細胞とこれらの細胞は一連の構造物であると考えられる (図 3F 横断面)。成長して葉状体の厚みを増した部分では、内部が粘液で満たされた粘液孔が見られる (Frangedakis et al. 2020)。またツノゴケ属の発達した葉状体内部には粘液で満た

された大きな粘液腔が多数存在する（図 3A, Renzaglia 1978）。一方、粘液がどこでどのようにつくられるのかはわかっていない。またツノゴケ属は葉状体の周縁に1~2細胞層からなる薄いローブをつくるが（図 3B, 図 5F, G），ローブは頂端細胞ではなく周縁分裂組織によって成長する（Mehra & Kachroo 1962）。培養条件下の *A. agrestis* Oxford 系統では、他のツノゴケ類とは異なりノッチからは常に配偶子嚢が形成されるが、これがツノゴケ属に共通する特徴かどうかは不明である。

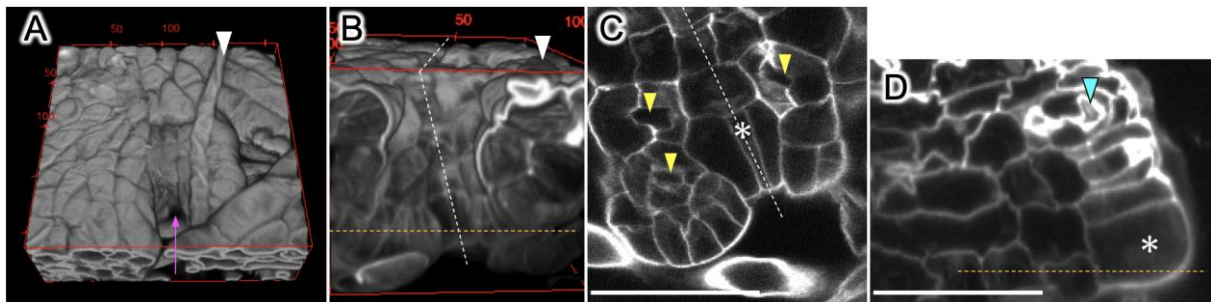


図 6. ナガサキツノゴケの頂端ノッチと頂端細胞 (A) 葉状体を背面から見たもの。ピンク矢印はノッチ。白矢印は仮根。(B) A を矢印側から見たもの。(C) 葉状体の腹面側の並皮面で、B のオレンジ色の点線での光学切片。黄色矢印は粘液孔。(D) 頂端細胞を通る縦断面で、B, C の白色の点線での光学切片。水色矢印は発生初期の造精器。* は頂端細胞。スケールバーはいずれも 50 μm 。

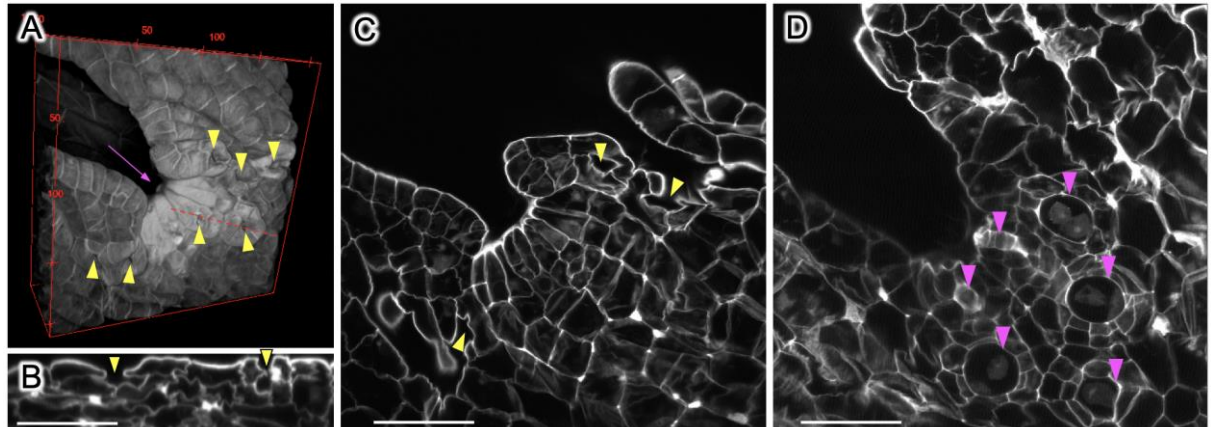


図 7. ナガサキツノゴケの発生の進んだ頂端ノッチ (A) 葉状体を腹面から見たもの。ピンク矢印はノッチ。黄色矢印は粘液孔。(B) A の赤色点線での縦断面。(C) A の腹面側の並皮切片。(D) C に平行な、A の背面側の光学切片。ピンク色矢印は造卵器。スケールバーはいずれも 50 μm 。

3-2. 造精器・造卵器の発生

ツノゴケ類は雌雄同株種が 60%を占めるが、同属内でも雌雄同株種と雌雄異株種が存在し、進化の過程で双方向の変化が起きたと推定されている（Villarreal & Renner 2013）。実験系統が作られたツノゴケのモデル種 *Anthoceros agrestis* は雌雄同株で、造精器が先に形成され、造卵器は遅れて形成される雄性先熟である（図 6, 図 7）。造精器、造卵器とも頂端細胞から背

面に切り出された細胞からつくられ (Campbell 1913), 葉状体の背面には, 頂端ノッチから葉状体の中央部に向かって, 発生が徐々に進んだ造精器腔 (後述) と造卵器が連続的に観察される (図 6D, 図 7D, 図 8A)。

ツノゴケ類は他のコケ植物同様に多細胞性の造精器, 造卵器を形成するが, それらが葉状体の内部で発生する点では他のコケ植物とは異なる。特に造精器は造精器腔 (antheridial chamber) と呼ばれる表面から陥没した腔所で発生するという, 他の植物には見られない特徴を持つ。一つの造精器腔内に形成される造精器の数は分類群ごとに 1~数 10 個と多様で, 造精器腔の底からのびた細い柄の上部に, 内部に精子をつくる膨らんだ構造が形成される (図 8G, H)。造精器腔あたりの造精器数は, ツノゴケ類の進化の過程で段階的に減少したと考えられている (Renzaglia et al. 2008)。造精器は 1 細胞から発生し, 最初の分裂面が縦方向に入り (図 8G 左), 次にそれぞれの細胞で最初の分裂と直交する縦の分裂面が入り 4 細胞となる (Renzaglia 1978)。その後横方向の分裂が起き, 基部の将来柄となる細胞と先端の配偶子嚢をつくる細胞が分化する。配偶子嚢となる上下 2 段計 8 細胞のそれぞれで内外を分ける斜めの分裂が起き, 外側の一細胞層からなるジャケットと内側の生殖細胞が分かれる (図 8G, Renzaglia 1978)。セン類・タイ類とは, 多細胞からなる突出した構造を形成した後, 先端側の複数の細胞でジャケット細胞と生殖細胞を内外に分ける分裂が起き, 多細胞性の配偶子嚢をつくるという点で共通しているが, 最初の一細胞における分裂面が縦方向で, 将来柄になる基部の細胞と配偶子嚢をつくる先端部の細胞が分かれるのは 4 細胞になった後という点で, 異なっている。

ツノゴケ類に特有の造精器腔と内部の造精器は, 葉状体背面の表皮細胞が並層分裂したのち, 外側の細胞が造精器腔の屋根へと発生し, 内側の細胞から造精器がつけられる (Campbell 1913)。表皮細胞が並層分裂して外側の細胞が覆いとなり内側の細胞から精子が発生するという点で, 小葉植物および真囊シダ類の造精器と似ていると言われてきたが (Smith 1955, Renzaglia et al. 2000), 筆者らの研究からツノゴケ属では異なる発生過程を示すことがわかってきた。これまで不明であった内部の腔所がどのように形成されるのか, 形成初期に内部を満たす粘液がどこから作られるのかについても, ツノゴケ属では明らかになった。

造卵器は, 先端が表面から突出するがその他は葉状体内部に埋もれている (図 8)。ツノゴケ類では, まず表面の一細胞で縦に 3 回の分裂が起き三角柱状の細胞がつけられ, 次にこの三角柱状の細胞が並層分裂し, 内側の細胞から卵細胞と腹腔細胞が, 外側の細胞からは頸溝細胞と蓋細胞がつけられる (図 8F, Campbell 1913, Smith 1955, Renzaglia et al. 2000)。セン類・タイ類の造卵器は, 表面に突出した一細胞から全体が突出した構造へと発生する点でツノゴケ類とは異なるが, それ以外の発生過程は共通している。筆者らのツノゴケ属での観察から造卵器の発生過程も従来の記述とは一部異なることがわかってきており, 他属での発生過程の再検討が必要である。

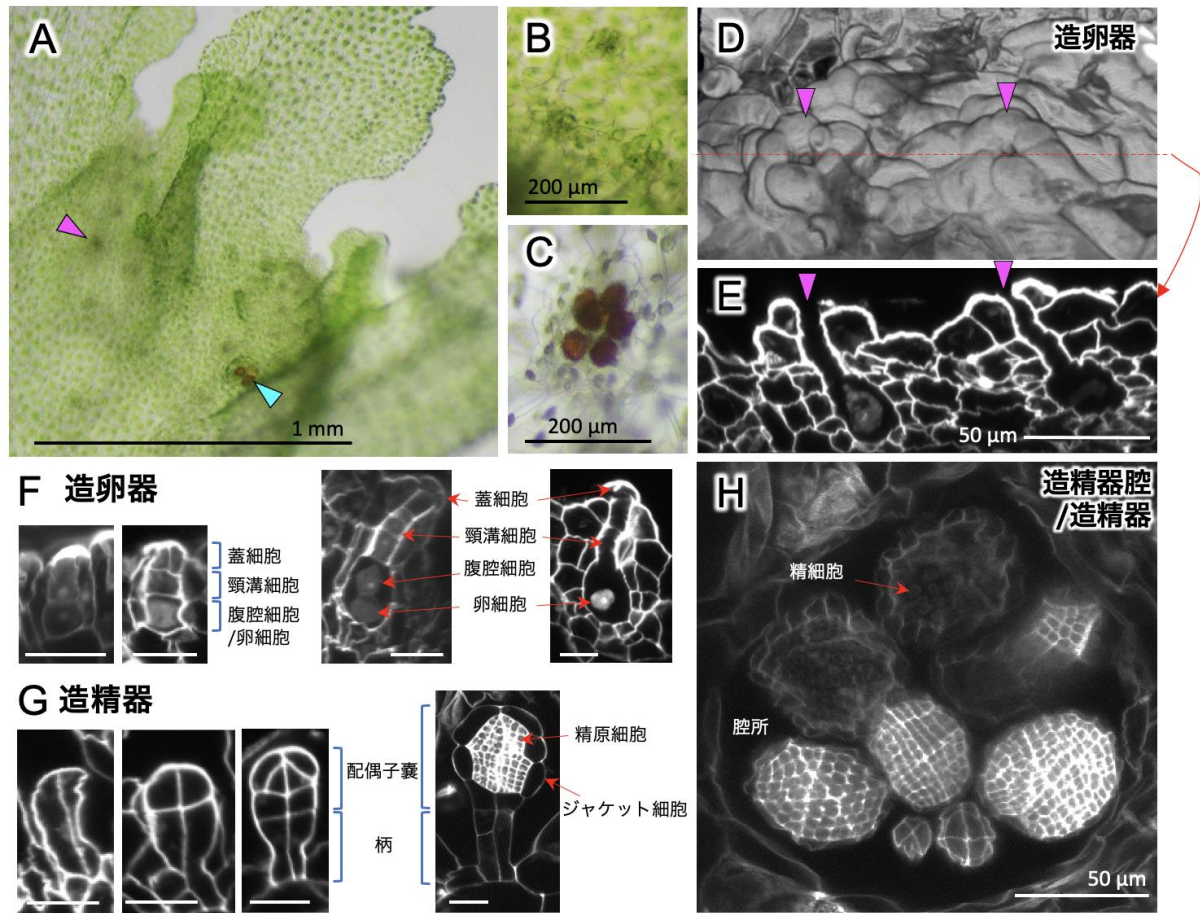


図 8. ナガサキツノゴケの造精器・造卵器の発生 (A) 背面から見た葉状体。ピンク色の矢尻は造卵器の1つ、水色の矢尻は造精器の一つを指す。(B) 背面に突出している造卵器の先端。3つの造卵器が見えている。(C) 1つの造精器腔。内部に多数の造精器がある。(D,E) 造卵器。(F) 造卵器の発生過程。(G) 造精器の発生過程。(H) 造精器腔内の造精器。写真上部のものほど発生過程が進んでいる。(F,G)のスケールバーは20 μm。

4. 共生

維管束植物では、被子植物のグンネラ属、裸子植物のソテツ目、シダ植物のアカウキクサなど様々な系統群で、植物組織内部でのシアノバクテリアとの共生関係が散発的に報告されている (Bergman et al. 1992, Adams 2002)。コケ植物においても、シアノバクテリアとの共生関係が存在することが指摘されているが、多くの場合、シアノバクテリアの植物表面への付着や死細胞内部への侵入であり、共生のための特別な組織分化の例は少ない (Solheim & Zielke 2002)。しかしながら、タイ類のウスバゼニゴケ科とツノゴケ類のすべての種では、葉状体内部にシアノバクテリアが共生する共生腔が分化することが知られている (Ridgway 1967, Stewart & Rodgers 1977ab, Enderlin & Meeks 1983, Kimura & Nakano, 1990)。シアノバクテリアは、光合成を行うだけでなく、大気中の窒素を固定する能力を備えており、共生関係を結んだ植物に対して、固定した窒素分をアンモニウム塩などの植物が利用可能な状態で提供している (Meeks et al. 1983)。陸上植物と共生するシアノバクテリアは多くの場合、糸状体から

なるネンジュモ属であり、糸状体の所々にはヘテロシスト（窒素固定に特化した異質細胞）が分化している（Vagnoli et al. 1992）。ツノゴケ類では、シアノバクテリアは、ホルモゴニアと呼ばれる運動性のある連鎖体として、葉状体腹面側に形成される粘液孔に誘引され、そこから葉状体内部に侵入する（Adams & Duggan 2008）（図 9A）。粘液孔の内部には粘液で満たされた細胞間隙が発達する。シアノバクテリアが侵入し、増殖を開始すると、粘液孔は閉じ、内部の細胞間隙が楕円球型に大きく成長して、共生腔となる（図 9B）。

陸上植物の多くはアーバスキュラー菌根菌との共生を行うことで、効率よくリン酸を得ており、4 億年以上前の古い植物化石においても菌根菌との共生の痕跡が報告されている（Strullu-Derrien et al. 2018）。ツノゴケ類の葉状体の内部には、アーバスキュラー菌根菌の特徴を持つ菌糸も侵入しており、植物と菌類の共生を通じたリン獲得の進化起源を考える上でも重要と考えられる（図 9C）。シアノバクテリアや菌類との共生は配偶体（葉状体）のみの特徴で、孢子体には見られないようである（Stewart & Rodgers 1977a）。

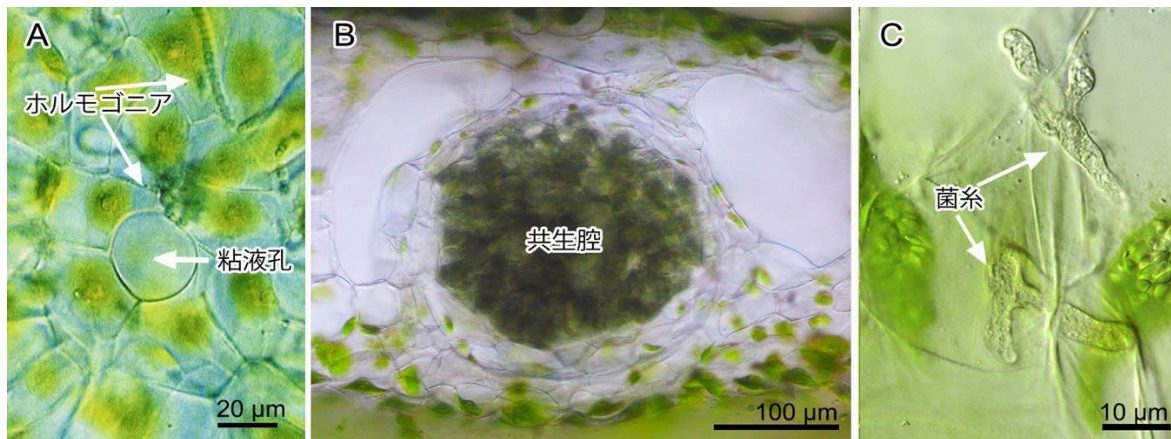


図 9.共生に関連する形態 (A) 葉状体ノッチ周辺の腹面側に形成される粘液孔。周辺に運動性を持ったシアノバクテリアの連鎖体（ホルモゴニア）が集まっている。(B) 葉状体内部のシアノバクテリアの共生腔。(C)葉状体の細胞に見られる共生菌の菌糸。A,C はニワツノゴケ、B はナガサキツノゴケ。

5. 受精と孢子体の初期発生

造卵器が成熟するにつれ、腹腔細胞と頸溝細胞は退化消失し、精子が造卵器に侵入するための通路が開く（図 8E, F, 図 10A）。ナガサキツノゴケでは、一つの造精器腔の内部には、造精器が複数作られ、それらの成熟のタイミングは同調していないため、造精器腔からは、時間をおいて継続的に精子の放出が行われるようである（図 8H, 図 10B）。精子は、他のコケ植物と同様、頭部に 2 本の鞭毛を持つ（図 10C）。セン類・タイ類では、精子の鞭毛基部の 2 つの基底小体は、前後にずれて隣接して並ぶが、ツノゴケ類では、前後のずれはない。また、ほとんどのコケ植物で精子の核は緩やかに左螺旋を描いて伸長しているがツノゴケ類だけは例外に右螺旋（dextral）である（Renzaglia & Duckett 1989）。

ツノゴケ類では、受精後、接合子（受精卵）の最初の分裂は造卵器の軸に対して平行に起こる（図 11A）。これは、最初の細胞分裂面が造卵器の長軸方向に対して、横断的に挿入され

るセン類・タイ類とは異なっている (Campbell 1913, Renzaglia 1978)。胞子体の細胞が 20 細胞以上となる前に、胞子体の上部では並層分裂が起こり、外界に面した細胞層 (アンフィテシウム amphithecium) と内側の細胞 (エンドテシウム endothecium) が形成される。エンドテシウムからは、胞子体の中心部を占めるコルメラ (軸柱) と呼ばれる軸状の組織が形成される。胞子を形成する組織は、タイ類と多くのセン類ではエンドテシウム起源だが、ツノゴケ類ではアンフィテシウム起源とされる (Campbell 1913, Lal & Bhandari 1968, Schofield 1985)。ただし、軸柱がほとんど発達しないツノゴケモドキ属 (長谷川 2021 参照) では、胞子を形成する組織の発生起源はよくわかっていない。その後の成長で胞子体は、上下 (先端-基部) 方向に大きく 3 つの領域で構成されるようになる。もっとも下の領域が、胞子体の足 (foot) を生成し、その上の領域が胞子体の基部分裂組織、その上部が胞子体の先端部を生じる (図 11B, C)。胞子体の足と先端部の細胞は胞子体の発達の初期に分裂を停止する (Ligrone et al. 2012)。

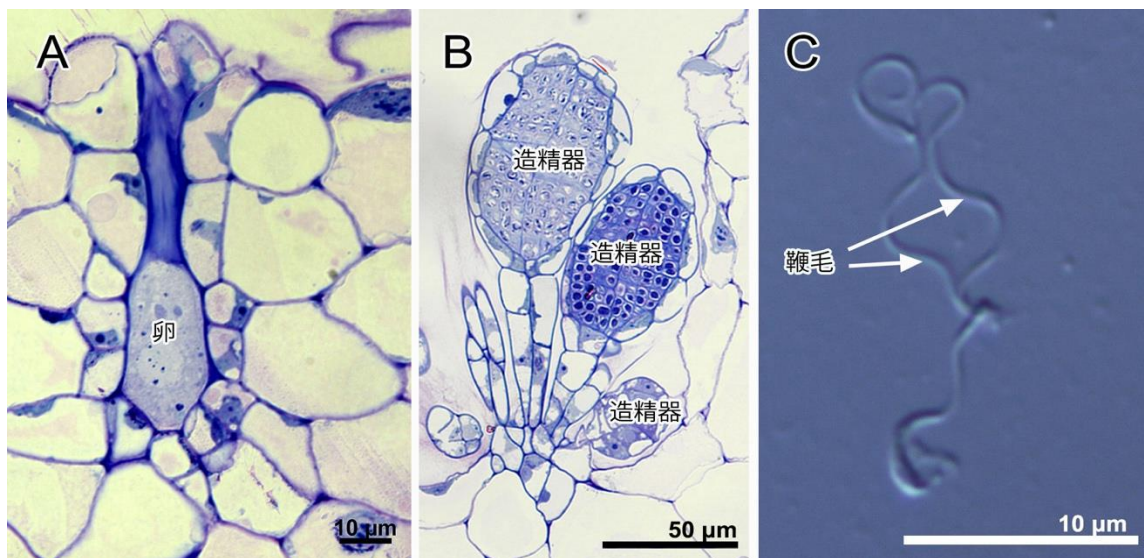


図 10 成熟した造卵器中の卵と成熟した造精器と精子 (ナガサキツノゴケ) (A) 成熟した造卵器の縦断切片。(B) 造精器腔の縦断切片。左端は成熟した精子を含む造精器。(C) 精子。

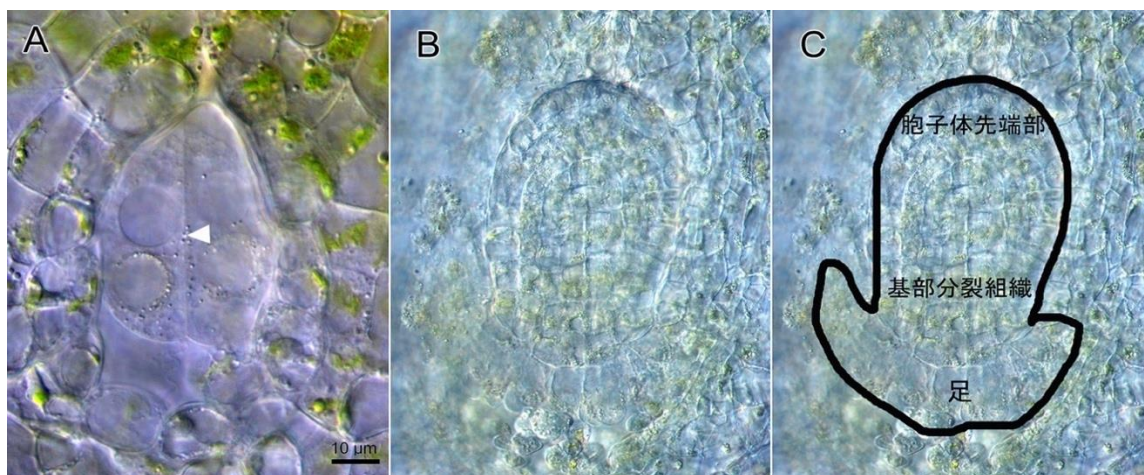


図 11 胞子体の初期発生 (ニワツノゴケ) (A) 受精卵の最初の細胞分裂面 (矢尻)。(B) 数 10 細胞からなる若い胞子体。(C) B と同じ胞子体の 3 つの領域の分化を示す。

6. 孢子体の形態

他のコケ植物と同様に、孢子体は独立生活を行わず、配偶体に依存して成長する。若い孢子体は苞膜 (involucre) と呼ばれる配偶体由来の組織に囲まれているが、成長するに従い、苞膜の上部から突き出して成長を続ける (図 12A)。図 12B にナガサキツノゴケの孢子体の基部を含む縦断面、図 12C に孢子体の横断面を示す。孢子体は、基部分裂組織での細胞分裂に依存して成長し、孢子体の新しい部分を上向きに継続的に生成する。この分裂組織は永続的に維持されることはなく、ツノゴケ類の種類ごとに細胞分裂の持続期間は異なるが、ナガサキツノゴケの場合、孢子体が高さ数 cm 程度に達するまでに分裂を停止する。孢子体の基部末端は、球根状の足によって配偶体に固定されている (図 12B)。配偶体と孢子体の境界領域は胎座と呼ばれ、配偶体から孢子体への栄養素の移動の場となっている。胎座領域では、複雑に肥厚した細胞が、セン類では主に孢子体側、タイ類では配偶体側と孢子体側双方で観察されるが、ツノゴケ類では配偶体側の細胞にのみ複雑な肥厚が見られる (Ligrone & Renzaglia 1990) (図 12D)。成熟した孢子体の横断面を観察すると、中心部から軸柱 (コルメラ *columella*)、孢子と弾糸 (または偽弾糸)、同化組織、表皮組織が認められる (図 12C)。軸柱は孢子体の中央部の軸状の組織で、ナガサキツノゴケの場合 16 個の細胞列で構成されている (図 12C)。軸柱と同化組織の間の細胞列は胞原組織となり、孢子母細胞と弾糸母細胞が上下方向に交互に分化する。孢子が成熟した部分は孢子嚢壁が縦方向に 2 裂して孢子を散布する (図 12E)。孢子母細胞は減数分裂を行い 4 つの孢子を形成するが、弾糸母細胞は減数分裂を行わず、肥厚した死細胞となる。弾糸母細胞が螺旋状の肥厚を形成しながら死細胞となり、乾湿運動を行う弾糸を形成する種もあるが (Shimamura 2009)、ナガサキツノゴケでは弾糸母細胞が体細胞分裂を行い、数個の細胞が連なった偽弾糸を形成する (図 12F)。

ほとんどのツノゴケ類では、孢子体に 2 つの孔辺細胞に囲まれた気孔がある (図 12G, H)。最近の研究では、ツノゴケ類の気孔が、孢子体の乾燥とそれに伴う孢子体の裂開と孢子の分散に関与していることが示唆されている (Renzaglia et al. 2017, Pressel et al. 2018)。気孔は孢子体の基部で形成されるが、最初は孔辺細胞の間に隙間は存在せず、気孔は閉じている (図 12G)。孢子体が上方に成長し、孔辺細胞の細胞壁が厚くなるに従い、孔辺細胞の間に細孔が開き孢子体内部の乾燥が進み、孢子体の裂開が促進される (図 12H)。ツノゴケ類の気孔は一過的に開き、その後開いたまま孔辺細胞が崩壊し、閉じることはない。つまり一般的に気孔の開閉運動として知られる、ABA や CO₂ などの外因性シグナルに対する生理学的な応答を欠いているようである (Pressel et al. 2018)。シロイヌナズナとの孔辺細胞の細胞壁の組成の比較も、ツノゴケ類の気孔が被子植物と異なる性質を持つことを示唆している (Merced & Renzaglia 2019)。ツノゴケ類の気孔は、シルル紀やデボン紀初期の陸上植物最初期の気孔化石と似ていると考えられている (Renzaglia et al. 2017)。一過的に開き、崩壊する孔辺細胞はセン類でも知られており、陸上植物における祖先的な気孔である可能性がある。

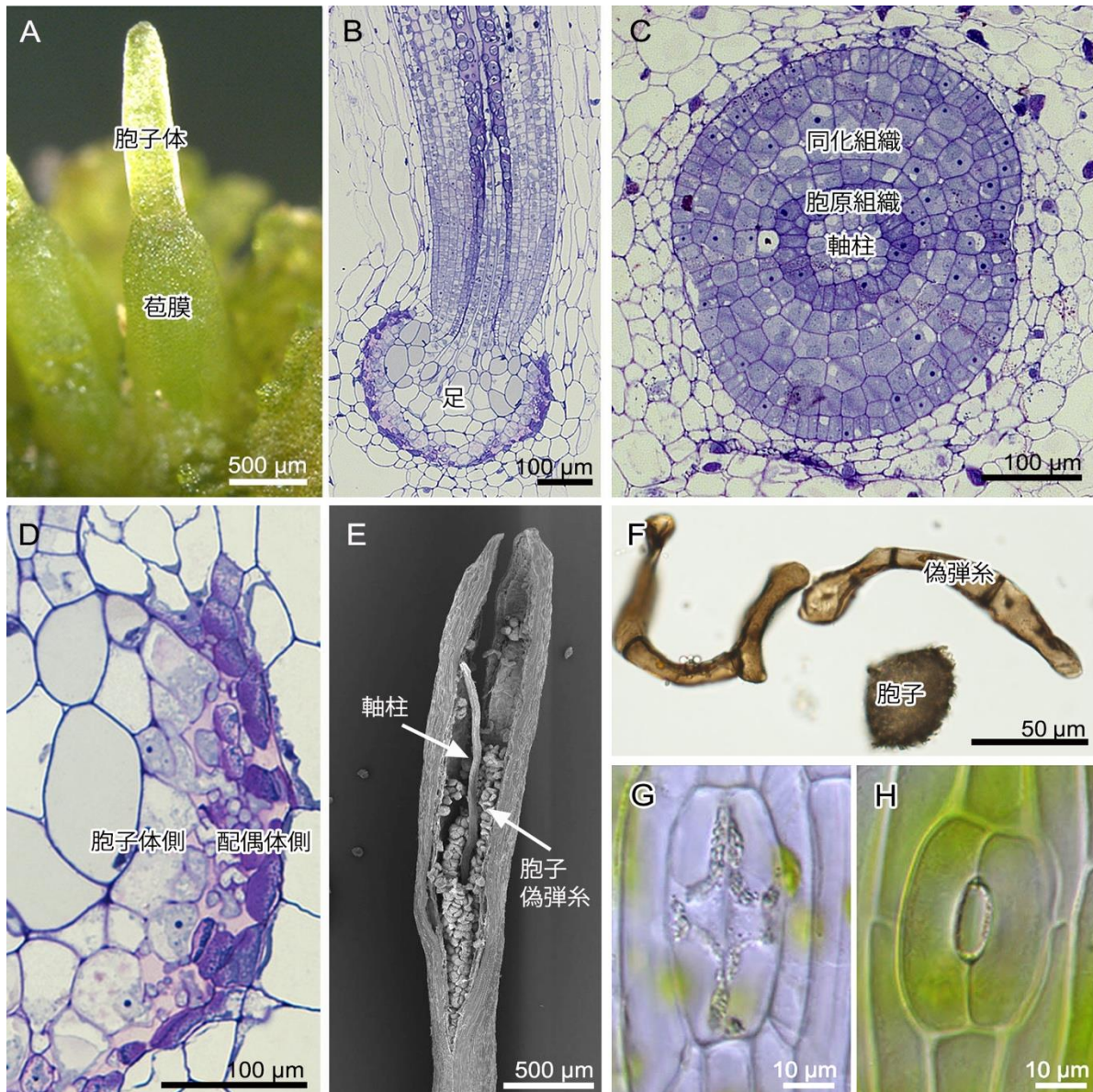


図 12. 孢子体の形態 (ナガサキツノゴケ) (A) 苞膜から伸び出した若い孢子体。(B) 孢子体基部の縦断切片。(C) 孢子体の横断切片。(D) 胎座領域の切片像。(E) 裂開中の孢子体の走査型電子顕微鏡による観察像。(F) 孢子と偽弾糸。(G) 孢子体基部の気孔。(H) 孢子体上部の気孔。

7. まとめと今後の展望

大規模データに基づく分子系統学的解析から、ツノゴケ類がコケ植物の基部に位置すると明らかになった現在、ツノゴケ類の発生・形態に関する過去の研究情報の再検討とその進化学的解釈の再考が迫られている。ツノゴケ類についての発生学的、形態学的知識は、100年以上昔の観察に基づくものも多く、現代的な方法で再検討する必要がある。葉状体にはゼニゴケと同様、4面切り出しの頂端細胞が存在するが、ゼニゴケのようなほぼ完全な左右対称の葉状体を形成しないため、側方メロファイトでの細胞分裂の方向や頻度の制御がゼニゴケとは異なっている可能性があり、比較研究が求められる。造精器の発生過程については、造精器腔に沈生しているように見えるゼニゴケの造精器について、始原細胞は表皮細胞列に起源し、

成長過程で次第に造精器腔に取り囲まれるという例 (Shimamura 2016) もあるため、過去の研究例については注意深い再検討が必要である。胞子体の表面全体に分布する気孔は、維管束植物と共通の形質と考えられてきたが、その機能は大きく異なっていることが最近示された。ツノゴケ類は、気孔の進化を考える上で興味深い研究材料と考えられる。胞子体に存在する気孔とよく似た形態の、配偶体 (葉状体) 腹面側に存在する粘液孔は、組織内部の細胞間隙に通じている点でも気孔と共通性があり、発生や機能形態の研究が進むことを期待したい。陸上植物の進化の過程で、様々なタイプの胞子体分裂組織 (分類群ごとに形態の異なる頂端細胞、胞子体の蒴柄の介在分裂組織、多細胞性のシュート頂分裂組織など) が進化した過程については未だによくわかっていない。発生の初期から頂端細胞や頂端分裂組織を持たず、介在分裂のみに依存するツノゴケ類の胞子体の成長様式については、陸上植物の胞子体世代の発生プログラムの祖先的な性質を示しているのかもしれない。ただし、ツノゴケの胞子体はかつて頂端成長をしていたものが、胞子体分裂組織の活動を制御するクラス 1 KNOX 遺伝子の喪失 (Li et al. 2020, Sakakibara et al. 2008) によって介在分裂のみで成長する奇妙な発生様式に変化したと解釈することも可能であり、「*Horneophyton* のような、ツノゴケとよく似た胞子嚢を持つ、絶滅したリニア状植物の分枝する胞子体が退化したものが、現生のツノゴケの胞子体の起源となった」という考え方 (Kenrick & Crane 1997, Qiu et al. 2006) も再評価する余地があるかもしれない。

今後、現代的な手法でツノゴケ類の発生的、形態学的研究、分子遺伝学的研究が進むことで、化石を含めた初期の陸上植物の系統関係や形態進化の研究に新たな展開がもたらされると考えられる。

引用文献

- Adams, D.G. 2002 Symbiotic Interactions. In Whitton, B.A. & Potts, M. (eds.), *The Ecology of Cyanobacteria*. pp 523–561. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Adams, D.G. & Duggan, P.S. 2008. Cyanobacteria–bryophyte symbioses, *J. Exp. Bot.* 59: 1047–1058.
- Bergman, B., Rai, A.N., Johansson, C., & Söderbäck, E. 1992. Cyanobacterial–plant symbioses. *Symbiosis* 14:61–81.
- Campbell, D.H. 1913. *The Structure and Development of Mosses and Ferns (Archegoniatae)*. Second edition. The Macmillan Company, London.
- Enderlin, C.S. & Meeks, J.C. 1983. Pure culture and reconstitution of the Anthoceros–Nostoc symbiotic association. *Planta* 158, 157–165.
- Forrest, L.L., Davis, E.C., Long, D.G., Crandall-Stotler, B.J., Clark, A., & Hollingsworth, M.L. 2006. Unraveling the evolutionary history of the liverworts (Marchantiophyta): multiple taxa, genomes and analyses. *Bryologist* 109: 303–334.
- Fringedakis, E., Shimamura, M., Villarreal, J.C., Li, F.-W., Tomaselli, M., Waller, M., Sakakibara, K., Renzaglia, K.S., & Szövényi, P. 2020. The hornworts: morphology, evolution and development. *New Phytology* 229: 735–754.
- 長谷川二郎 2021. ツノゴケの分類と系統 *BSJ Review* 12D: 223–242.

- Kenrick, P. & Crane, P.R. 1997. The Origin and Early Diversification of Land Plants: A Cladistic Study. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C.
- Kimura, J., & Nakano, T. 1990. Reconstitution of a *Blasia-Nostoc* symbiotic association under axenic conditions. *Nova Hedwigia* 50, 191–200.
- Lal, M., & Bhandari, N.N. 1968. The development of ex organs and sporophyte in *Physcomitrium cyathicarpum* Mitt. *Bryologist* 71:11–20.
- Li, F.-W., Nishiyama, T., Waller, M., Frangedakis, E., Keller, J., Li, Z., Fernandez-Pozo, N., Barker, M.S., Bennett, T., Blazquez, M.A. et al. 2020. Anthoceros genomes illuminate the origin of land plants and the unique biology of hornworts. *Nature Plants* 6: 259–272.
- Ligrone, R., & Renzaglia, K.S. 1990. The sporophyte–gametophyte junction in the hornwort, *Dendroceros tubercularis* Hatt (Anthocerotophyta). *New Phytologist* 114: 497–505.
- Ligrone, R., Duckett, J.G., & Renzaglia, K.S. 2012. Major transitions in the evolution of early land plants: a bryological perspective. *Annals of Botany* 109: 851–871.
- Meeks, J.C., Enderlin, C.S., Wycoff, K.L., Chapman, J.S., & Joseph, C.M. 1983. Assimilation of $^{13}\text{NH}_4^+$ by *Anthoceros* grown with and without symbiotic *Nostoc*. *Planta* 158: 384–391.
- Mehra, P.N. 1957a A new suggestion on the origin of thallus in the Marchantiales. I. The thallus structure. *Amer J Bot.* 44: 505–513.
- Mehra, P.N. 1957b A new suggestion on the origin of thallus in the Marchantiales. II. The Theory. *Amer J Bot.* 44: 573–81.
- Mehra, P.N., & Kachroo P. 1962. Sporeling germination studies in Anthocerotales. *J. Hattori Bot. Lab.* 25: 145–153.
- Merced, A., & Renzaglia, K.S. 2019. Contrasting pectin polymers in guard cell walls of *Arabidopsis* and the hornwort *Phaeoceros* reflect physiological differences. *Annals of Botany* 123: 579–585.
- Naramoto, S., Jones, V.A.S., Trozzi, N., Sato, M., Toyooka, K., Shimamura, M., Ishida, S., Nishitani, K., Ishizaki, K., Nishihama, R., Kohchi, T., Dolan, L., & Kyoizuka, J. 2019. A conserved regulatory mechanism mediates the convergent evolution of plant shoot lateral organs. *PLoS Biol.* 17: e3000560.
- Nehira, K. 1983. Spore germination, protonema development and sporeling development. In Schuster, R.M. (ed.), *New Manual of Bryology* vol. I. pp. 343–385. Hattori Botanical Laboratory, Nichinan, Japan.
- One Thousand Plant Transcriptomes Initiative (OTPT) 2019. One thousand plant transcriptomes and the phylogenomics of green plants. *Nature*, 574: 679–685.
- Puttick, M.N., Morris, J.L., Williams, T.A., Cox, C.J., Edwards, D., Kenrick, P., Pressel, S., Wellman, C.H., Schneider, H., Pisani, D., & Donoghue, P.C.J. 2018. The Interrelationships of Land Plants and the Nature of the Ancestral Embryophyte. *Curr. Biol.* 28: 733–745.
- Pressel, S., Renzaglia, K.S., Clymo, R.S.(D.), & Duckett, J.G. 2018. Hornwort stomata do not respond actively to exogenous and environmental cues. *Annals of Botany* 122: 45–57.
- Qiu, Y.L., Li, L., Wang, B., Chen, Z., Knoop, V., Groth-Malonek, M., Dombrowska, O., Lee, J., Kent, L., Rest, J., Estabrook, G.F., Hendry, T.A., Taylor, D.W., Testa, C.M., Ambros, M., Crandall-

- Stotler, B., Duff, R.J., Stechi, M., Frey, W., Quandt, D., & Davis, C.C. (2006), "The deepest divergences in land plants inferred from phylogenomic evidence". *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103 (42): 15511–15516.
- Renzaglia, K.S. 1978. A comparative morphology and developmental anatomy of the Anthocerotophyta. *Journal of the Hattori Botanical Laboratory* 44: 31–90.
- Renzaglia, K.S., & Duckett, J.G. 1989. Ultrastructural studies of spermatogenesis in the Anthocerotales. V. The posterior mitochondrion and nuclear metamorphosis in *Notothylas* and *Phaeoceros*. *Protoplasma* 51: 137–150.
- Renzaglia, K.S., Duff, R.J., Nickrent, D.L., & Garbary, D.J. 2000. Vegetative and reproductive innovations of early land plants: implications for a unified phylogeny. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 355: 769–793.
- Renzaglia, K.S., Duff, R.J., Ligron, R., Shaw, A.J., Mishier, B.D., & Duckett, J.G. 2007. Bryophyte phylogeny: Advancing the molecular and morphological frontiers. *Bryologist* 110: 179–213.
- Renzaglia, K.S., Villarreal, J.C., & Duff, R.J. 2008. New insights into morphology, anatomy, and systematics of hornworts. In Shaw, A. J. (eds.) *Bryophyte Biology*. pp. 139–172. Cambridge University Press.
- Renzaglia, K.S., Villarreal, J.C., Piatkowski, B.T., Lucas, J.R., & Merced, A. 2017. Hornwort stomata: architecture and fate shared with 400-million-year-old fossil plants without leaves. *Plant Physiology* 174: 788–797.
- Ridgway, J.E. 1967. The biotic relationship of *Anthoceros* and *Phaeoceros* to certain cyanophytes. *Ann. Missouri Bot. Gdn.* 54: 95–102
- Sakakibara, K., Nishiyama, T., Deguchi, H., & Hasebe, M. 2008. Class 1KNOX genes are not involved in shoot development in the moss *Physcomitrella patens* but do function in sporophyte development. *Evolution & Development* 10: 555–566.
- Schofield, W.B. 1985. Introduction to bryology. The Blackburn Press, Caldwell.
- Shimamura, M. 2009. Sporophyte anatomy of *Megaceros flagellaris* (Dendrocerotaceae). *Hikobia* 15: 261–269.
- Shimamura, M. 2016. *Marchantia polymorpha*: taxonomy, phylogeny and morphology of a model system. *Plant & Cell Physiology* 57: 230–256.
- Smith, G.M. 1955. *Cryptogamic Botany, Vol. II. Bryophytes and Pteridophytes*. Second Edition. McGraw-Hill Book Company, Inc., New York.
- Solheim, B., & Zielke, M. 2002. Associations Between Cyanobacteria and Mosses. In: Rai, A.N., Bergman, B., & Rasmussen, U. (eds) *Cyanobacteria in Symbiosis*. pp. 37–152. Springer.
- Stewart, W.D.P., & Rodgers, G.A. 1977a. The cyanophyte-hepatic symbiosis. I. *Morphology and Physiology* 78: 441–458.
- Stewart, W.D.P., & Rodgers, G.A. 1977b. The cyanophyte-hepatic symbiosis. II. Nitrogen fixation and the interchange of nitrogen and carbon. *New Phytol.* 78: 459–471.
- Strullu-Derrien, C., Selosse, M.-A., Kenrick, P. & Martin, F.M. 2018. The origin and evolution of mycorrhizal symbioses: from palaeomycology to phylogenomics. *New Phytol.* 220: 1012–1030.

- Vagnoli, L., Margheri, M.C., Allotta, G., & Materassi, R. 1992. Morphological and physiological properties of symbiotic cyanobacteria. *New Phytol.* 120, 234–249.
- Villarreal, J.C., & Renner, S.S. 2013. Correlates of monoicy and dioicy in hornworts, the apparent sister group to vascular plants. *BMC Evolutionary Biology* 13: 239.
- Yu, Y., Yang, J.-B., Ma, W.-Z., Pressel, S., Liu, H.-M., Wu, Y.-H., & Schneider, H. 2020. Chloroplast phylogenomics of liverworts: a reappraisal of the backbone phylogeny of liverworts with emphasis on Ptilidiales. *Cladistics* 36: 184–193.

ツノゴケの分類と系統

長谷川 二郎

公益財団法人 服部植物研究所
〒889-2535 宮崎県日南市飢肥6丁目1-26

Classification and phylogeny of the hornworts

Jiro Hasegawa

Hattori Botanical Laboratory, 6-1-26 Obi, Nichinan, Miyazaki 889-2535, Japan

Keywords: *Anthoceros*, hornworts, *Phaeoceros*, phylogeny, taxonomy

DOI: 10.24480/bsj-review.12d5.00218

1. はじめに

ツノゴケ類は、セン類、タイ類とともにコケ植物の3つの系統群の一つと見なされている。しかし、古くから陸上植物の起源と進化を考える上で重要な特徴を有するとして注目され、その系統関係については様々な見解が示されてきた。また、その分類に関しては、セン類やタイ類と比べて種数が少なく（200種前後と考えられている）、比較的少数の属や科などの高位分類群からなる分類体系によって分類されてきた。

最近、分子系統解析によって、系統関係が明らかにされつつあるが、それと同時にツノゴケ類の分類体系の再編がなされようとしている。そして、それらの見解は一般に広く受け入れられてきたこれまでの分類体系の基礎となる部分に大きな変更をもたらそうとしている。ここでは、それらの新見解と伝統的な分類形質との関係について解説し、ツノゴケ類の系統的位置と今後の課題について考える。

2. ツノゴケ類の分類体系と分類形質

2-1. ツノゴケ類の分類体系

ツノゴケ類は1737年のリンネの *Genera Plantarum* の *Cryptogamia Algae* の項に *Anthoceros* として登場しているが、近代的な分類体系の中に登場するのは1846年の *Gottsche et al.* の *Synopsis Hepaticarum* においてである。ここでは、ツノゴケ類はタイ類に分類され、4属 (*Anthoceros*, *Dendroceros*, *Blandowia*, *Notothylas*) を含むものとされているが、その4属のうちの *Blandowia* は被子植物のカワゴケソウの仲間であることが後に明らかにされている。

この分類体系は基本的には1895年の *Engler & Prantl: Natürlichen Pflanzenfamilien* における *Schiffner* の分類体系に引き継がれている。ここでは、コケ植物はセン類綱とタイ類綱に分けられ、ツノゴケ類はタイ類綱の中の3つの目のうちの1つツノゴケ目 (*Anthocerotales*) とされ、その中にツノゴケ科 (*Anthocerotaceae*) 1科とツノゴケモドキ属 (*Notothylas*)、ツノゴケ属 (*Anthoceros*)、キノボリツノゴケ属 (*Dendroceros*) の3属を含む分類体系となっている (表1)。

表 1. ツノゴケ類の分類体系 Engler & Prantl: Die Natürlichen Pflanzenfamilien (1895)

Bryophyta コケ植物門

Hepaticae タイ類綱

Marchantiales ゼニゴケ目

Jungermanniales ウロコゴケ目

Anthocerotales ツノゴケ目

Anthocerotaceae ツノゴケ科

Notothylas ツノゴケモドキ属

Anthoceros ツノゴケ属

Dendroceros キノボリツノゴケ属

Musci セン類綱

表 2. ツノゴケ類の分類体系 Hässel de Menéndez (1988) : Schuster (1992)

Hässel de Menendez (1988)		Schuster (1992)	
Anthocerotales ツノゴケ目	Leiosporocerotales スジツノゴケ目	Anthocerotales ツノゴケ目	
Anthocerotaceae ツノゴケ科	Leiosporocerotaceae スジツノゴケ科	Anthocerotaceae ツノゴケ科	
Anthoceros ツノゴケ属	Leiosporoceros スジツノゴケ属	Anthocerotoideae ツノゴケ亜科	
Sphaerosporoceros	Dendrocerotales キノボリツノゴケ目	Aspiromitus ツノゴケ属	
Notothyladaceae ツノゴケモドキ科	Dendrocerotaceae キノボリツノゴケ科	(Folioceros 亜属を含む)	
Notothylas ツノゴケモドキ属	Dendroceros キノボリツノゴケ属	Anthoceros ニワツノゴケ属	
Phaeoceros ニワツノゴケ属	Megaceros アナナシツノゴケ属	(Leiosporoceros 亜属を含む)	
Foliocerotales ミヤベツノゴケ目		Dendrocerotoideae キノボリツノゴケ亜科	
Foliocerotaceae ミヤベツノゴケ科		Megaceros アナナシツノゴケ属	
Folioceros ミヤベツノゴケ属		(Nothoceros 亜属を含む)	
		Dendroceros キノボリツノゴケ属	
		(Apoceros 亜属を含む)	
		Notothyladaceae ツノゴケモドキ科	
		Notothylas ツノゴケモドキ属	

表 3. ツノゴケ類の分類体系 Hyvönen & Piippo (1993) : Hasegawa (1994)

Hyvönen & Piippo (1993)	Hasegawa (1994)
Anthocerotales ツノゴケ目	Anthocerotales ツノゴケ目
Anthocerotaceae ツノゴケ科	Anthocerotaceae ツノゴケ科
Anthoceros ツノゴケ属	Anthocerotoideae ツノゴケ亜科
Folioceros ミヤベツノゴケ属	Anthoceros ツノゴケ属
Leiosporoceros スジツノゴケ属	(Folioceros 亜属を含む)
Mesoceros	Leiosporoceros スジツノゴケ属
Phaeoceros ニワツノゴケ属	Hattorioceros ハットリツノゴケ属
Sphaerosporoceros	Phaeoceros ニワツノゴケ属
Dendrocetotaceae キノボリツノゴケ科	Dendrocerotoideae キノボリツノゴケ亜科
Dendroceros キノボリツノゴケ属	Dendroceros キノボリツノゴケ属
Megaceros アナナシツノゴケ属	(Apoceros 亜属を含む)
Notothylales ツノゴケモドキ目	Megaceros アナナシツノゴケ属
Notothyladaceae ツノゴケモドキ科	(Nothoceros 亜属を含む)
Notothylas ツノゴケモドキ属	Notothyladoideae ツノゴケモドキ亜科
	Notothylas ツノゴケモドキ属

その後、ツノゴケ属から独立する形で、Campbell (1907) によってアナナシツノゴケ属 (*Megaceros*) が、Proskauer (1951) によってニワツノゴケ属 (*Phaeoceros*)、Bharadwaj (1971) によってミヤベツノゴケ属 (*Folioceros*)、また Hässel de Menéndez (1986) によってスジツノゴケ属 (*Leiosporoceros*) が新属として記載された。それを反映して幾つかの分類体系が提案されることになったが、その代表的なものが以下の4つの分類体系である (表2, 表3)。

なお、これらの分類体系の中で *Sphaerosporoceros*, *Hattorioceros*, *Mesoceros* はその分類的扱いがまだ定まっていないこと、この小論の論旨の展開に直接影響を及ぼすことがないと考えるので、ここではその詳細については議論しない。また、Schuster (1992) においては、命名規約上の問題として、他の分類体系での *Anthoceros* に *Aspiromitus*, *Phaeoceros* に *Anthoceros* という学名を採用している。その一方で、Stotler & Crandall-Stotler (2002) はそれぞれに対して *Anthoceros* と *Phaeoceros* の属名を採用することを提案し、広く支持されている。

2-2. ツノゴケ類の分類形質

ツノゴケ類では配偶体はロゼット状から長形状の葉状体で、孢子体は葉状体から立ち上がるツノ状の細長い棒状体であるが、中には孢子体が小さく長楕円形の袋状で葉状体の組織に包まれたまま成熟するものもある。ツノゴケ類の分類においては、この葉状体と孢子体の構造や、配偶体に形成される造精器、孢子体に形成される孢子と弾糸の特徴が重要な分類形質とされてきた。また、葉緑体の構造と細胞中の数や、含有するフェノール性化合物の違いも分類群の差異を指標する分類形質として用いられてきた。以下にそれらの特徴の分類形質としての評価についてみていくことにする。

2-2-1. 胞子体の形状

ツノゴケ類では細長い棒状の胞子体が葉状体の上に立ち上がる姿 (図 1) が一般的な植物体像として知られているが, 中には胞子体が小さく長楕円形の袋状で配偶体の組織に包まれたまま成熟するものがある (図 2)。後者に属するのはツノゴケモドキ属 (*Notothylas*) で, それ以外の属はすべて前者に属する。この違いは分類上重要な意味があると考えられ, 上記 4 つの分類体系のうち Hässel de Menéndez (1988) 以外の 3 つでは, 後者のような胞子体を有するツノゴケモドキ属は他の属から, 目や科あるいは亜科のレベルで区別する分類体系になっている。このようなツノゴケモドキ属の分類に関する考え方は広く受け入れられてきたが, 最近の分子系統解析はツノゴケモドキ属に対してまったく違った分類上の位置を与えている。これについては, 後に項をかえて解説する。



図 1. ナガサキツノゴケ (*Athoceros agrestis*)



図 2. ヤマトツノゴケモドキ (*Notothylas temperata*)

2-2-2. 配偶体の形状

配偶体は茎と葉の区別がない葉状体であるが、葉状体の形にはロゼット状のものや長方形のもの、周縁が規則的に切れ込むもの、背面に小さな突起を密につけるもの、腹面や葉縁に様々な形の無性芽をつけるものなど、様々な形状のものがあるが、それらの違いは種レベルの分類における形質として用いられてきた。

属レベルでの分類形質としては、葉状体が中肋部と1細胞層からなる翼部から構成されていることがキノボリツノゴケ属 (*Dendroceros*) を他の属から区別する重要な形質として見做されている。また、葉状体の内部に大きな空所 (lacuna) があることがツノゴケ属 (*Anthoceros*) とミヤベツノゴケ属 (*Folioceros*) を定義する重要な形質と考えられている。また、キノボリツノゴケ属では中肋部に大きな空所がある種があり、それらは亜属として分類されることもある。

2-2-3. 造精器の形状

ツノゴケ類の造精器には2つの型がある。一つは球状でその外壁が不規則に配列した細胞からできており (図3-左, 不規則に裂開するもので、もう一つは楕円体状で外壁は規則的に4段に配列した細胞からできており (図3-右, 最上段の細胞の結合が切れることによって裂開するものである。ツノゴケ属とミヤベツノゴケ属は後者に属し、それ以外の属はすべて前者の型になり、ツノゴケ属とミヤベツノゴケ属の近縁性を示唆する形質と見做されている。また、後者の場合は、1つの造精器腔の中に多数の造精器が形成される (多い場合は20以上になることもある) が、前者の場合は形成される造精器の数は1~数個で、1個しか形成されないアナナシツノゴケ属 (*Megaceros*) とキノボリツノゴケ属を他の属から区別する分類形質の1つとされている。

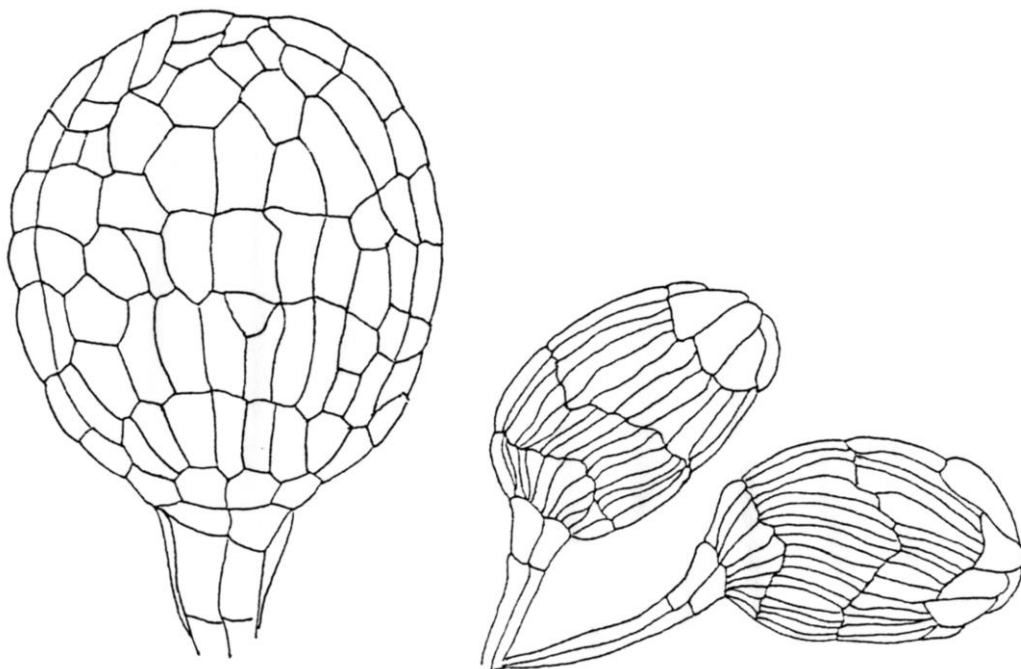


図3. ツノゴケ類の造精器 左: Phaeoceros 型 ニワツノゴケ (*Phaeoceros carolinianus*) ,
右: Anthoceros 型 ナガサキツノゴケ (*Anthoceros agrestis*)

2-2-4. 胞子体表皮の気孔

ツノゴケ類の胞子体の表皮には2個の孔辺細胞を有する気孔(図4)があることが知られているが、気孔が無い種もあり、気孔の有無は属を定義する上での重要な形質とされている。キノボリツノゴケ属とアナナシツノゴケ属には気孔が無く、それがこの2属を1つの目や科あるいは亜科にまとめる分類の根拠の一つとなっている。



図4. 胞子体表皮の気孔(ニワツノゴケ)

2-2-5. 胞子と弾糸

ツノゴケ類の分類においては胞子の色や形状、弾糸の形状がしばしば属以上の分類形質として用いられてきた。胞子の外形はほとんどの種において丸みを帯びた三角形であり、この形状は四面体型四分子(tetrahedral tetrad)を形成することに由来する。しかし、スジツノゴケ属(*Leiosporoceros*)では胞子が楕円形～腎臓形(図5)で、これは相同側型四分子(isobilateral tetrad)(図5)形成に由来する。ツノゴケ類の胞子は表面に様々な模様があり、それが種の分類の重要な形質となっているが、スジツノゴケ属の胞子は表面が完全に平滑でつるつるしている(図6)。ツノゴケ類におけるこのスジツノゴケ属の胞子と四分子の特異性はスジツノゴケ属を他の属から区別する最も重要な形質と考えられている。

胞子の形状に関しては、キノボリツノゴケ属は多細胞性の胞子を有することがこの属を他の属と区別するための主要な形質の一つとされている。

また、胞子の色は黄色～褐色あるいは黒色であるが、胞子が黄色か黒色ということがニワツノゴケ属とツノゴケ属を区別する重要な形質とされている。

弾糸については、多くは細長い長方形状であるが、中には螺旋状に肥厚するものがあり、キノボリツノゴケ属とアナナシツノゴケ属はそのような弾糸を有することが属を定義する重要な形質とされている。螺旋状の肥厚が見られないものを偽弾糸と呼び、区別することがあるが、両者は相同な細胞である。また、細長い長方形状であるが外壁が著しく肥厚するものがあり、ミヤベツノゴケ属はそれによって他の属から区別されている。

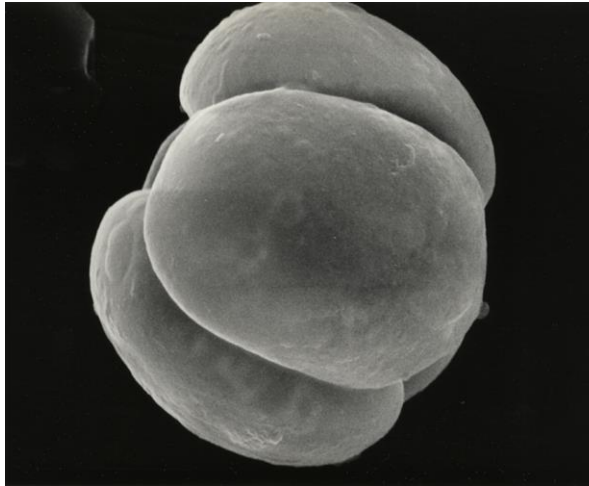


図 5. 相同側型胞子四分子 (スジツノゴケ)



図 6. 胞子と弾糸 (スジツノゴケ)

2-2-6. 含有するフェノール性化合物

ツノゴケ類には、他の陸上植物が含有するフラボノイドがなく、それに代わってリグナン類やそれに類する特異なフェノール性化合物を含有することが知られている (Takeda et al. 1990)。それらのフェノール性化合物のツノゴケ類内での分布をみると、ツノゴケ属とミヤベツノゴケ属はロズマリン酸 (rosmarinic acid) を大量に含有し、それ以外の属にはロズマリン酸は存在せず、代わりにメガケロス酸 (megacerotonic acid) を大量に含んでいる (図 7)。

また、ツノゴケ属とミヤベツノゴケ属以外の属は、紫外線励起光下で弾糸が自家蛍光を有するが、この 2 属には自家蛍光はない (Hasegawa 1990) (図 8, 図 9)。自家蛍光の性質の違いも二次代謝産物の違いを反映していると考えられ、ツノゴケ属とミヤベツノゴケ属の近縁性と、それら 2 属の、ニワツノゴケ属を含む他のすべての属からの独立性を支持する証拠と考えられている。

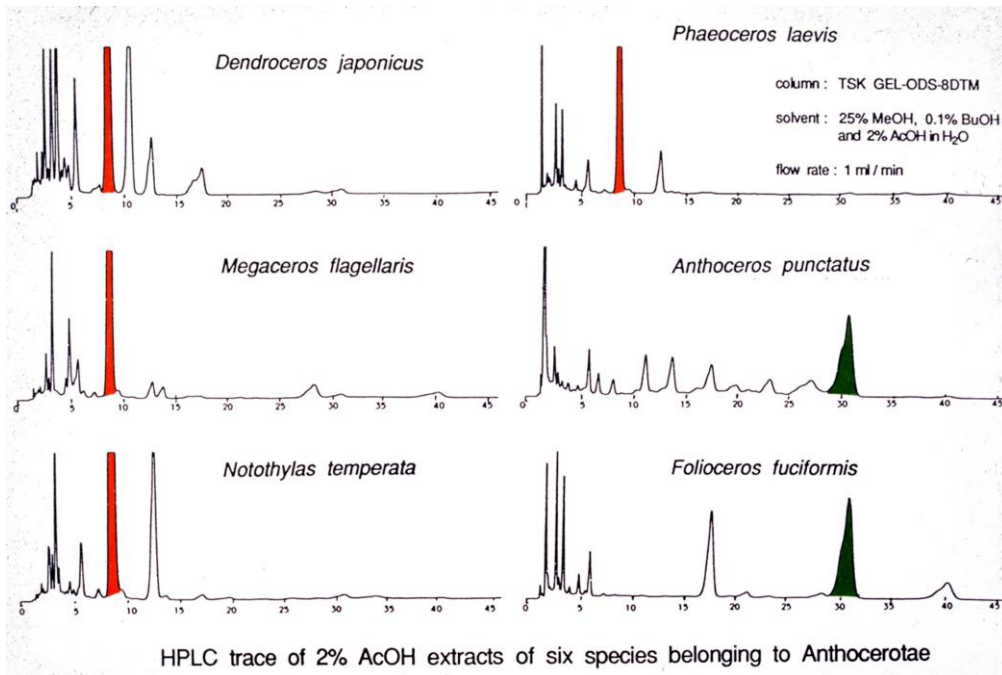


図7. ツノゴケ類の含有するフェノール性化合物。赤のピーク：メガケロス酸（リグナン），緑のピーク：ロズマリニン酸

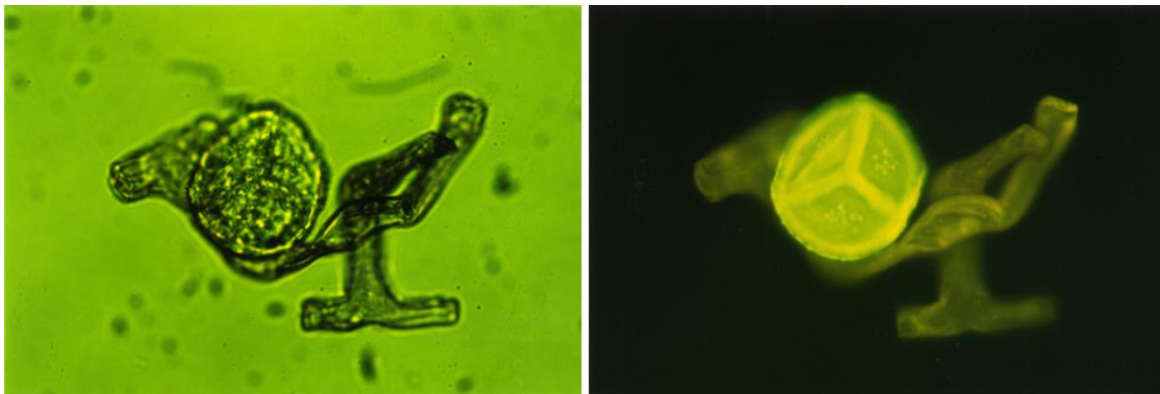


図8. ニワツノゴケ (*Phaeoceros carolinianus*) の孢子と弾糸。左:透過像, 右:蛍光顕微鏡像 (UV 励起)

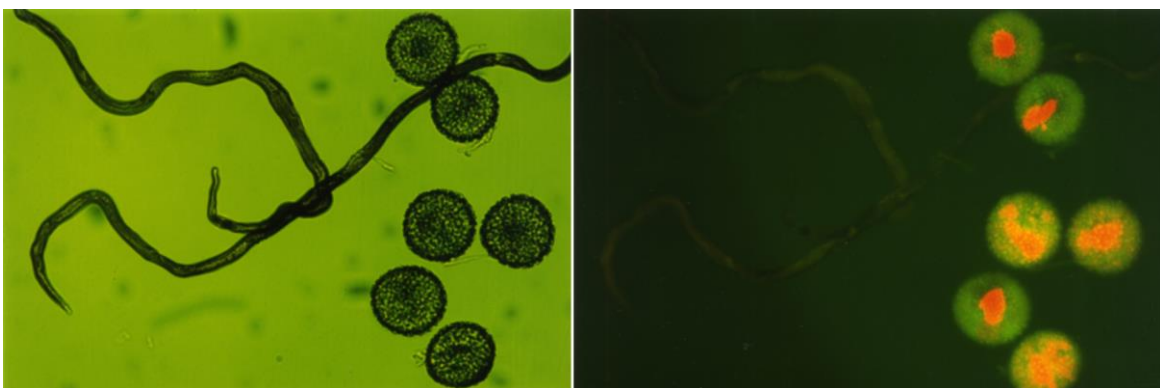


図9. ミヤベツノゴケ (*Folioceros fuciformis*) の孢子と弾糸。左:透過像, 右:蛍光顕微鏡像 (UV 励起)

3. ツノゴケ類の分子系統解析に基づく新しい分類体系

近年、遺伝子の分子情報に基づく系統解析が広く行われるようになり、ツノゴケ類においても2000年代になり分子系統解析に関する多くの注目すべき研究結果が発表され、それに基づき、それまでとは著しく異なる分類体系が提案されている。その主要なものとしては、Duff et al. (2007), Renzaglia et al. (2007), Villarreal et al. (2015), Li et al. (2020) などがある。

それらに共通しているのは、それまでの形態的形質を中心に組み立てられた系統関係あるいは分類体系と以下の点で大きな違いを示していることである。その変更点は、(1)スジツノゴケ属 (*Leiosporoceros*) を他のすべてのツノゴケ類と姉妹関係にある系統群とする、(2)ツノゴケモドキ属 (*Notothylas*) をニワツノゴケ属 (*Phaeoceros*) と近縁の属とする、(3)ニワツノゴケ属は単系統群ではなく、いくつかの異なる系統群を含んでおり、それらを独立の属とする、(4)スジツノゴケ属以外のツノゴケ類は、大きく2つの系統群、1つはナガサキツノゴケ属 (*Anthoceros*) とその近縁のミヤベツノゴケ属 (*Folioceros*) と *Sphaerosporoceros* を含む群で、もう1つはニワツノゴケ属やキノボリツノゴケ属 (*Dendroceros*) など他のすべての属を含む系統群、に分かれるということである。Renzaglia et al. (2007) と Villarreal et al. (2015) の情報を基にした系統樹を図 10、分子系統の研究成果を基にした新しい分類体系を図 11 に示し、上記 (1)~(4) の分析結果と見解について考えることにする。

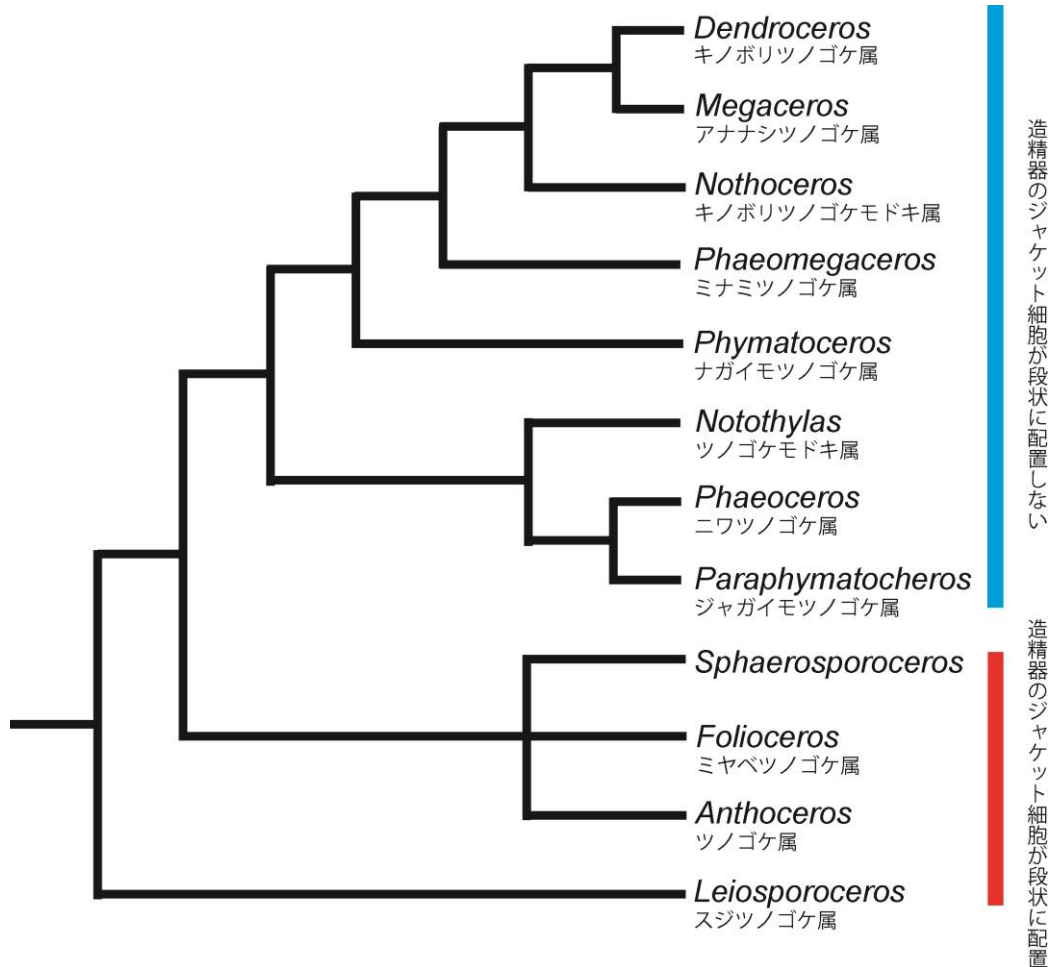


図 10. ツノゴケ類の系統関係

表 4. 分子系統に基づく分類体系 (Duff et al. 2007 と嶋村 2012 を基にし, Paraphymatoceros を追加)。赤字で示されたものは, 分子系統解析に基づいて新設された分類群

- Anthocerotophyta** ツノゴケ門
- Leiosporocerotopsida** スジツノゴケ綱
- Leiosporocerotales** スジツノゴケ目
- Leiosporocerotaceae** スジツノゴケ科
- Leiosporoceros** スジツノゴケ属
- Anthocerotopsida** ツノゴケ綱
- Anthocerotidae** ツノゴケ亜綱
- Anthocerotales** ツノゴケ目
- Anthocerotaceae** ツノゴケ科
- Anthoceros** ツノゴケ属
- Folioceros** ミヤベツノゴケ属
- Notothylatidae** ツノゴケモドキ亜綱
- Notothyladales** ツノゴケモドキ目
- Notothyladaceae** ツノゴケモドキ科
- Notothyladoideae** ツノゴケモドキ亜科
- Notothyilas** ツノゴケモドキ属
- Phaeocerotoidae** ニワツノゴケ亜科
- Phaeoceros** ニワツノゴケ属
- Paraphymatoceros** ジャガイモツノゴケ属
- Dendrocerotidae** キノボリツノゴケ亜綱
- Dendrocerotales** キノボリツノゴケ目
- Dendrocerotaceae** キノボリツノゴケ科
- Dendrocerotoideae** キノボリツノゴケ亜科
- Nothoceros** キノボリツノゴケモドキ属
- Dendroceros** キノボリツノゴケ属
- Megaceros** アナナシツノゴケ属
- Phaeomegacerotoideae** ミナミツノゴケ亜科
- Phaeomegaceros** ミナミツノゴケ属
- Phymatocerotaceae** ナガイモツノゴケ科
- Phymatoceros** ナガイモツノゴケ属

3-1. スジツノゴケ属 (*Leiosporoceros*) の系統的位置

スジツノゴケは中米カリブ海のマルティニク島から 1893 年に、ツノゴケ属の 1 種 (*Anthoceros dussii* Steph.) として記載されたものである。その後、本種について言及した論文はほとんど皆無であったが、1986 年になってほとんど同時に Hasegawa (1986) と Hässel de Menéndez (1986) が、本種が他のツノゴケ類には見られない相同側型の孢子四分子とそれから生じる長楕円形～腎臓形で表面が平滑な小型の孢子 (図 5, 図 6) を有していることを報告した。その際、Hasegawa (l.c.) は孢子の特徴をのぞいてはニワツノゴケ属 (*Phaeoceros*) と共通する特徴が多いことから、本種をツノゴケ属 (*Anthoceros*) からニワツノゴケ属に移し、後にそれをニワツノゴケ属の亜属 *Leiosporoceros* とした (Hasegawa 1988)。それに対して、Hässel de Menéndez (l.c.) は孢子と孢子四分子の特異性に基つき、本種を新属スジツノゴケ属 (*Leiosporoceros*) とし、その 1 属からなる科スジツノゴケ科 (*Leiosporocerotaceae*) を新設した。更に Hässel de Menéndez (1988) においては、この科のみからなるスジツノゴケ目 (*Leiosporocerotales*) が設立された。

スジツノゴケを孢子と孢子四分子の特異性のみによって、このような系統的位置に置くことについては、それを疑問視する見解 (Hyvönen & Piippo 1993, Hasegawa 1994) も示されたが、その後、この問題についてほとんど論じられることはなかった。しかし、最近の分子系統解析により、スジツノゴケ属はツノゴケ類の系統の最基部において他のツノゴケ類から分岐する系統群 (他のすべてのツノゴケ類の姉妹群) であることが示され (図 10), 分類体系においてはスジツノゴケ綱 (*Leiosporocerotopsida*) が他のすべてのツノゴケ類を含むツノゴケ綱 (*Anthocerotopsida*) に対して設定されることになった。

スジツノゴケのこのような分子系統解析の結果は、孢子と孢子四分子が他のツノゴケ類には見られない特徴を有しているにしても、想定を大きく超えるものであった。そのため、スジツノゴケの分類形質について様々な観点から研究がなされ、いくつかの興味深い特徴が明らかにされているが、その中で最も注目されるのは、ツノゴケ類に広く見られる葉状体内での藍藻との共生の状態である。ツノゴケ類では葉状体に藍藻が共生して形成される小さな球状の腔所が葉状体全体に散在しているが、スジツノゴケでは、葉状体の縦方向に筋状に並走する管状体中に藍藻が共生しており (図 12), 他のツノゴケ類とは著しく異なっている。この特徴もスジツノゴケを他のツノゴケ類と区別する重要な形質と考えることができる。

ところで、スジツノゴケはカリブ海とそれを取り巻く比較的狭い地域に分布し、それ以外の地域からは知られていない。また、それと近縁と考えられる種も知られていないが、Hasegawa (1988) は東南アジア産の *Phaeoceros hirticalyx* は、孢子は三稜形であるが、非常に小さく表面が平滑で (図 13), 弾糸も細長く著しく肥厚しており、葉状体の表面が表皮細胞の小突起に密に覆われてビロード状になることなどによって、スジツノゴケと非常によく似ており、両種は太平洋を挟んだ新世界と旧世界で種分化した姉妹種 (vicarious species) である可能性を示唆している。

Phaeoceros hirticalyx を含めた分子系統解析は、スジツノゴケ属の系統関係をより明確にする可能性があると考えている。なお、*Phaeoceros hirticalyx* はこれまでの分子系統解析において用いられ、ミナミツノゴケ属 (*Phaeomegaceros*) の系統に位置付けられているが、その分析で用いられた試料は *Phaeoceros hirticalyx* ではない。その試料はニュージーランド産とされており、Campbell

& Hasegawa (1993) によってニュージーランドから誤って報告された *Phaeoceros hirticalyx* を基に同定されたものと考えられる。



図 12. スジツノゴケ (*Leiosporoceros dussii*) 矢印は葉状体中に筋状に共生する藍藻を示す

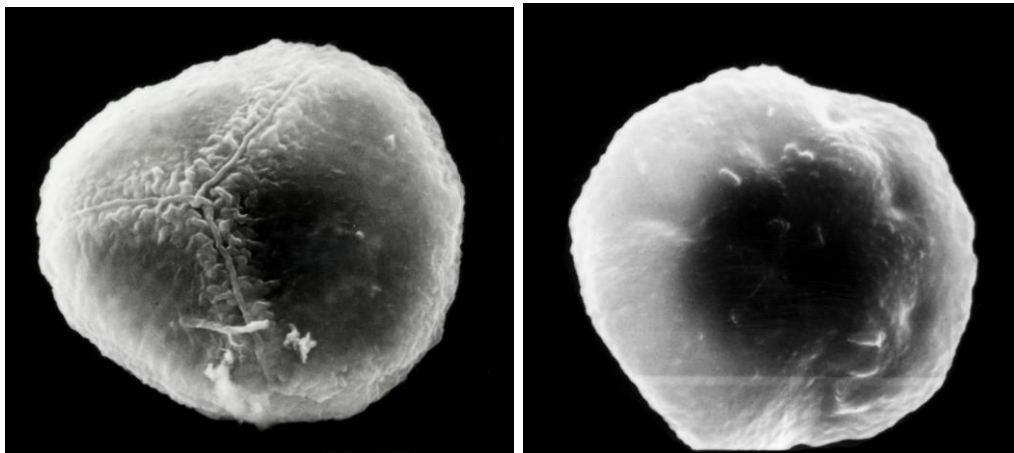


図 13. *Phaeoceros hirticalyx* の孢子。左：求心極面，右：遠心極面 表面が平滑であることに注目

3-2. ツノゴケモドキ属 (*Notothylas*) とニワツノゴケ属 (*Phaeoceros*) の関係

これまでツノゴケモドキ属は、すでに述べたように胞子体の特異な形状によって、他のツノゴケ類から独立した分類群とされることが多かったが、最近の分子系統解析はニワツノゴケ属と姉妹関係にある系統群であることを示している。その分析結果に基づいてこの2属の分類形質を比べてみると、葉状体の内部に空所がない、造精器の壁が不規則に配列した細胞からできている、細胞中の葉緑体の数は1個、などの特徴が共通していることが分かるが、これらの形質はこの2属に特有の形質ではなく、この2属の共有派生形質とみなすことはできない。

ツノゴケモドキ属とニワツノゴケ属の唯一の共有派生形質として、胞子の遠心極面と求心極面の境界（赤道面）に“シンギュラム”（cingulum あるいは equatorial girdle）が存在する（図14）ということがあげられている（Duff et al. 2007）。確かに、ニワツノゴケ属とツノゴケモドキ属を代表するいくつかの種がこのような胞子の特徴を有していることはわかっているが、この2属においてもこのような“シンギュラム”がみられない胞子を有する種もあり、この特徴の分類形質としての評価については、形態学的意味付けを含め、さらなる検討が必要と考えられる。

また、ツノゴケモドキ属では、胞子体に気孔がなく、中には軸柱（columella）を形成しない種、胞子体が2裂開するのでなく不規則に裂開する種があり、その点においてはニワツノゴケ属とはまったく違っている。これらの特徴は胞子体が非常に小さく配偶体の組織に包まれているということと関係した性質と考えられるが、ツノゴケモドキ属とニワツノゴケ属の系統関係においては、このような違いをどう説明するかということも重要な課題である。

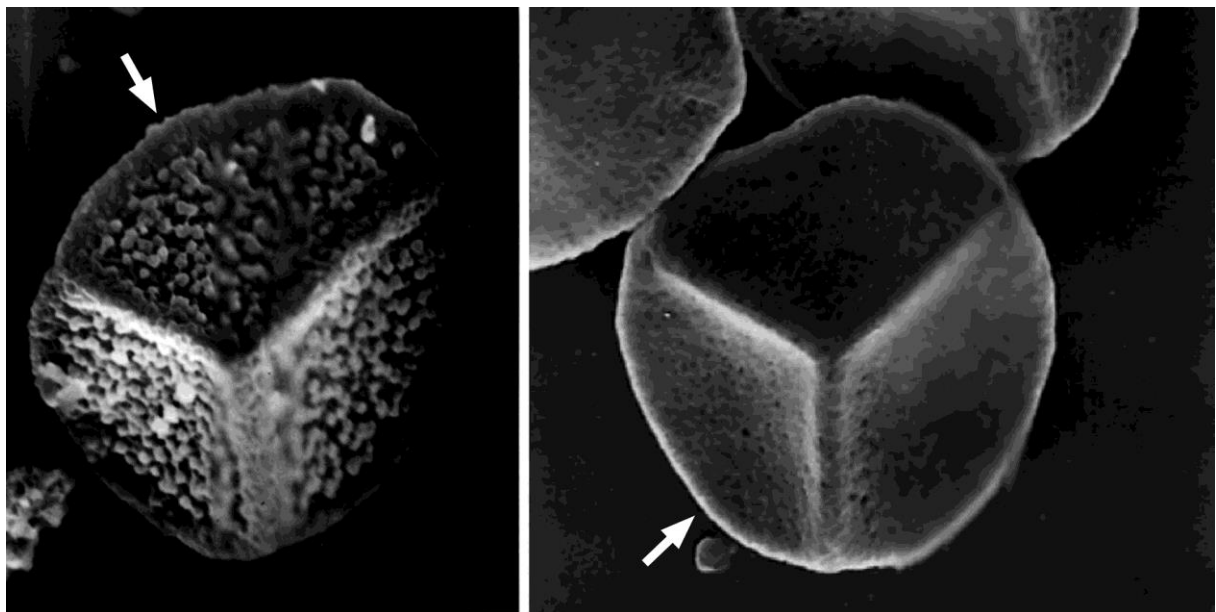


図14. コニワツノゴケ *Phaeoceros parvulus* (左)とヤマトツノゴケモドキ *Notothylas temperata* (右)の胞子（矢印は“シンギュラム”を示す）

3-3. ニワツノゴケ属 (*Phaeoceros*) の単系統性

ニワツノゴケ属は、ツノゴケ属 (*Anthoceros*) とともに世界中に広く分布し、最もツノゴケ的な特徴を備えたツノゴケ類を代表する属と見做され、多くの種がこの属に分類されてきた。しかし、最近の分子系統解析においては、ニワツノゴケ属とされてきた種は4つの系統群に分かれることが示され、ニワツノゴケ属から独立して3つの属：ジャガイモツノゴケ属 (*Paraphymatoceros*)、ミナミツノゴケ属 (*Phaeomegaceros*)、ナガイモツノゴケ属 (*Phymatoceros*) が新設された (図 10)。

これら3属の種はこれまでニワツノゴケ属に分類されていたが、それはニワツノゴケ属が次のような特徴によって定義されていたからである：黄色い胞子を有する、葉状体内部に空所が無い、造精器が不規則に配列した細胞からできている、弾糸が螺旋状に肥厚しない、細胞中の葉緑体数が1つである。これらの特徴はいずれもニワツノゴケ属を含めた4属の共有祖先形質 (symplesiomorphy) と考えられる。新設された3属を定義する形質が調べられるようになり、それぞれの属を特徴づける形質が示されているが、それらの形質の分類学的な評価に関してはさらに検討する必要があると考えられる。以下に、その3属に特徴的と見做されている形質について簡単に解説する。

3-3-1. *Paraphymatoceros* (ジャガイモツノゴケ属)

この属では、葉状体の先端部の腹面にジャガイモ状に膨らんだ塊状の無性芽 (tuber) が形成される (図 15)。このことが最も目立つこの属の特徴となっているが、このタイプの無性芽はこの属に特有なものなのか、またこれ以外のこの属の特徴とされている造精器の造精器腔中の数、胞子体の裂開線に沿った厚壁細胞列の数、胞子表面の微細構造 (Hassel de Menéndez 2006)、ピレノイドの無い葉緑体 (Duff et al. 2007)、などの分類形質としての意義についてさらなる検討が望まれている。

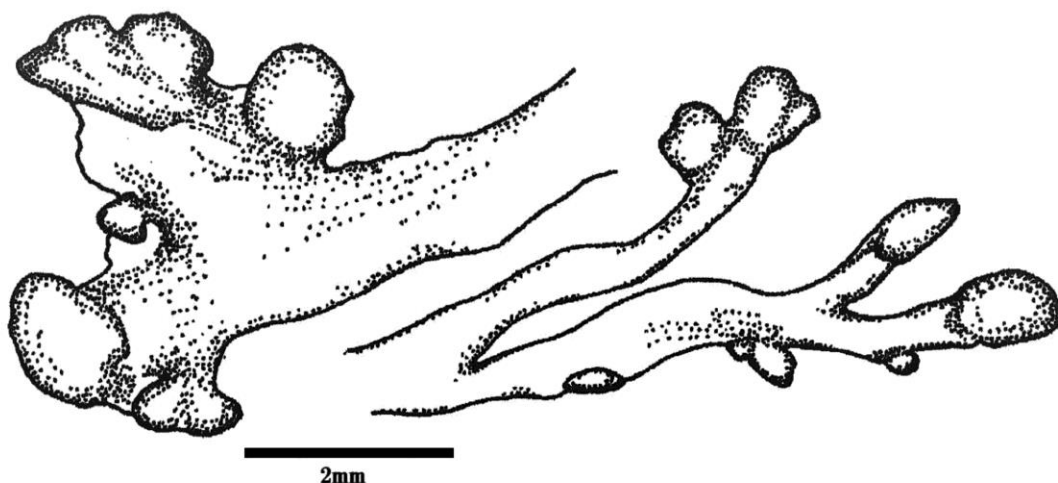


図 15. *Paraphymatoceros pearsonii* の葉状体腹面

3-3-2. *Phaeomegaceros* (ミナミツノゴケ属)

この属を定義する形質としては、葉状体の内部に空所がない、葉緑体にピレノイドがない、胞子体に気孔がある、胞子の遠心極面に数個の窪みのある特異な構造をしている(図 16-右)、などがあげられている(Duff et al. 2007)。しかし、それらの特徴の中で、胞子の表面の構造を除いては、この属に特有な形質とは言えない。分子系統においては、この属の系統には中南米とニュージーランド産の 7~9 種が属している(Villarreal et al. 2015)が、この属のタイプである *Phaeomegaceros fimbriatus* は東南アジア産の *Phaeoceros foveatus* と非常によく似ており、両者は姉妹種である可能性が示唆されている(Hasegawa 2001)。今後、この *Phaeoceros foveatus* も含めての系統解析と形質の評価が望まれる。なお、図 16 は *Phaeoceros foveatus* の胞子を示したものである。

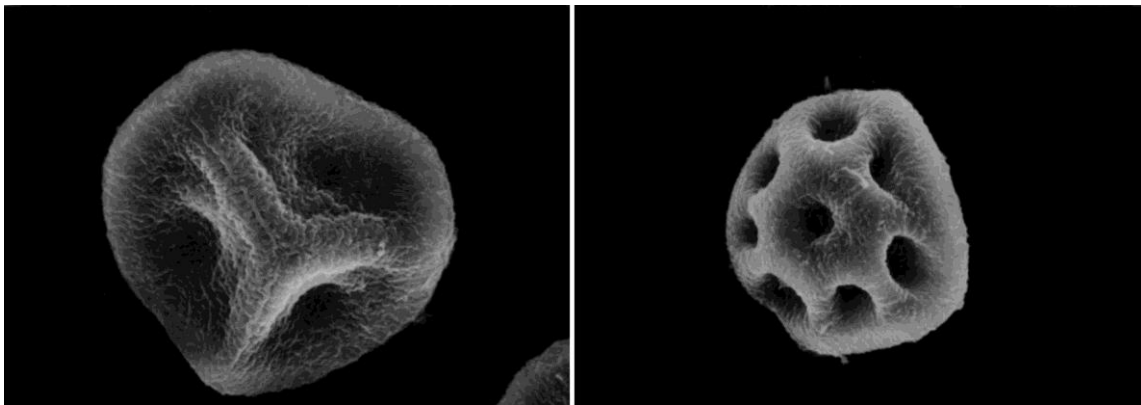


図 16. *Phaeoceros* (*Phaeomegaceros*) *foveatus* の胞子 左：求心極面，右：遠心極面

3-3-3. *Phymatoceros* (ナガイモツノゴケ属)

この属には 2 種 (*P. bulbiculosus*, *P. phymatodes*) のみが知られているが、両種に共通した特徴は葉状体腹面に長い柄の先に球状の無性芽 (tuber) を形成する(図 17) ことである。しかし、このようなタイプの無性芽は日本産のミヤケツノゴケ (*Phaeoceros laevis*) にも知られており、この属を定義する分類形質についてはさらなる検討が必要であると考えられる。

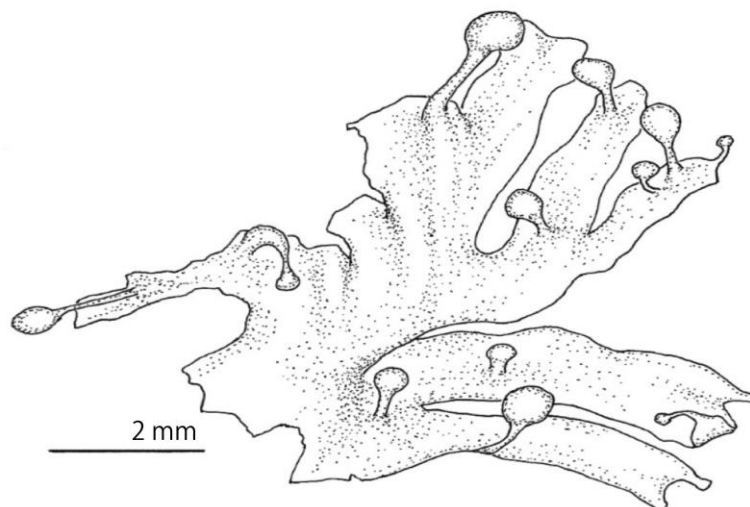


図 17. *Phymatoceros bulbiculosus* の葉状体腹面

3-4. ツノゴケ属（広義）の単系統性と他の分類群との系統関係

ツノゴケ属は、葉状体内部に空所 (lacuna) がある、造精器のジャケット細胞が4段に配列 (図3)、胞子が黒いという特徴によって定義され、多くの種がこの属に分類されてきた。これらの種の多くが分子系統的に解析された結果、この属の単系統性が確認されることになった。Villarreal et al. 2015 では、ミヤベツノゴケ属 (*Folioceros*) はツノゴケ属の系統内部で分岐したことが示されており、ミヤベツノゴケ属を独立した属として取り扱うかどうかなど、分類的な取り扱いについては再検討を必要としている。分子系統においては、スジツノゴケ属以外のツノゴケ類は、2つの系統群すなわち広義のツノゴケ属 (ミヤベツノゴケ属と *Sphaerosporoceros* を含む) とそれ以外のすべての属からなる群に分かれることを示している。造精器のジャケット細胞が段状に配列するかどうかは、この系統をよく反映した形質と考えられている。すでにツノゴケ類の分類形質の項で示されたように、広義のツノゴケ属は含有するフェノール性化合物の種類が他の属とは異なっており (図7)、他の属と違って弾糸の自発蛍光がない (図8, 図9)。これらの特徴も広義ツノゴケ属の単系統性を証明する証拠となっている。

4. 陸上植物におけるツノゴケ類の系統的位置

ツノゴケ類は他の陸上植物と異なるいくつかの特徴的な性質を有している。それらは、細胞中にピレノイドを有する葉緑体が1個存在する、接合子の最初の分裂が縦方向である、胞子体の分裂組織が胞子体の基部にあり新しい組織を上へ押し上げていく、造卵器が葉状体の組織に埋もれている、少なくとも幾つかの種では、造精器が表皮下の細胞に起源するなど (Smith 1955) である。その他にも、含有するフェノール性化合物の特異性や、葉状体の微細構造に、他の植物に見られないチャンネルチラコイドが存在することなどが、ツノゴケ類の特異的な性質として指摘されている (長谷川 1991, 1993)。

これらの特徴が陸上植物において祖先的形質なのか、派生的形質なのか判断することは難しく、そのため、昔からツノゴケ類の系統的位置について様々な考えが提案されてきた (図18)。その代表的なものは、ツノゴケ類はコケ植物とシダ植物を結びつける分類群である (Smith 1955 など, 図18-B, F に相当)、ツノゴケ類は他のコケ植物 (セン類+タイ類) から区別される分類群である (Hy 1884 など, 図18-A に相当)、ツノゴケ類は他のすべての陸上植物から独立して進化した系統である (Schuster 1977 など, 図18-C などに相当) などである。

これらの説に対して包括的な検討はなされてこなかったが、最近の分子系統解析においてはツノゴケ類の系統的位置について3つの可能性の高い系統樹が示されている。その3つは、①ツノゴケ類は陸上植物の系統の最基部で分岐し、全ての陸上植物と姉妹群となる (図18-A)、②ツノゴケ類は有柄胞子体植物 (Setaphyte: セン類+タイ類) とともに単系統群となるが、その基部に位置する (図18-D)、③ツノゴケ類は維管束植物と単系統群となり、それらと有柄胞子体植物とが姉妹群となる (図18-F)、というものである。この3つ中で、最も有力視されているのが② (図18-D) であるが、この章の始めで述べたように、ツノゴケ類には他の陸上植物には見られないユニークな特徴が多数存在する。筆者の考えとしては、ツノゴケ類の特有な形質状態が進化的に説明できない限り、ツノゴケ類を上記① (図18-A) の系統関係 (ツノゴケ類を陸上植物の最基部に置く系統関係) が最も合理的なように思える。

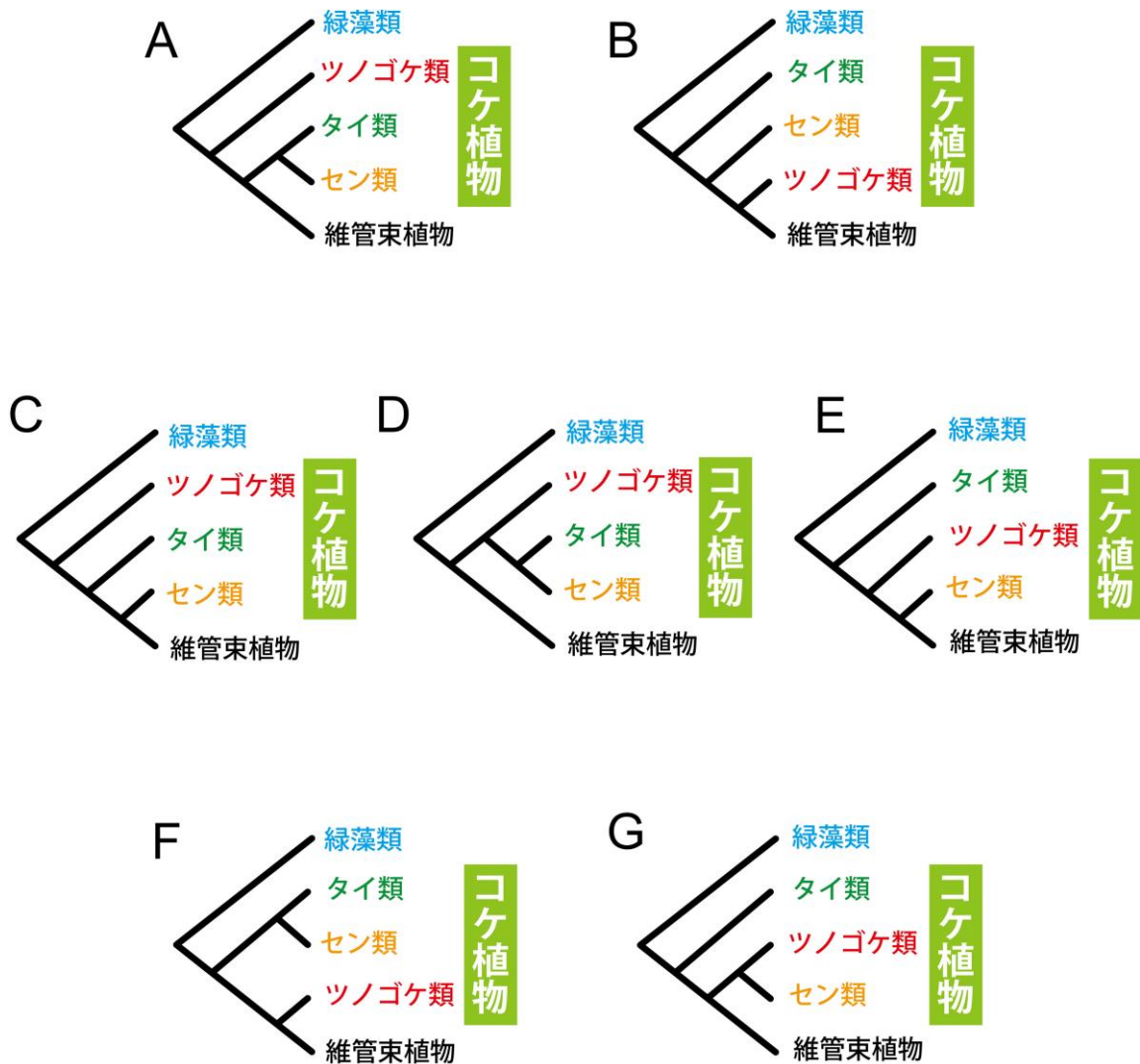


図 18. これまで提案されてきた陸上植物の様々な系統関係 Puttick et al. (2018) より改変

5. まとめと今後の課題

ツノゴケ類は種数の少ない比較的小さな分類群で、属以上の分類群の設定に関しては学者によって考え方の違いはあるが、基本的にはそれほど大きな違いはなく比較的安定した分類体系の下に理解されてきた。そのような分類の基になった分類形質に関しても、その重みづけなどの評価は定まった基準に基づいてではなく、経験的に受け入れられてきた考え方に基づいて行われてきたように思える。

それに対して、Hyvönen & Piippo (1993) や Hasegawa (1994) は分岐分析の手法を使って、ツノゴケ類の系統関係を解析することを試みたが、それまでの分類体系を大きく変更するような新しい知見は得られなかった。その結果の一因は、その分析に用いられた分類形質の形質状態への理解が十分になされていなかったことにあるのではないかと考える。

しかし最近、盛んに行われるようになった分子系統解析は、ツノゴケ類の系統に関するそれまでの見解を大きく変更する結果をもたらした。その中で最大のものは、スジツノゴケ属が他のツノゴケ類と姉妹関係にある分類群であるとしたことである。それ以外では、ツノゴケモドキ属を

ニワツノゴケ属と近縁な分類群であるとしたこと、従来のニワツノゴケ属は単系統群ではなく、いくつかの系統を異にする分類群を含んでいるとしたことをあげることができる。

この結果に基づいて、分類形質の再評価がなされようとしているが、まだ十分に説得力のある説明には至っていない。この観点からの分類形質に対するさらなる追求が求められている。また、現在の分子系統解析の結果をさらに正確にするためには、分析するツノゴケ類の種の選定を改善する必要がある。これまでの研究では、使われた多くの種が南北アメリカ、ニュージーランド産のもので、日本や東南アジア産のものはほとんど使われていない。日本や東南アジアには、分類形質として、また分布のパターンからして興味深い種が多く存在している。それらの種の解析はさらに重大な新知見をもたらす可能性を秘めていると考える。

陸上植物の中でのツノゴケ類の系統的位置に関しては、ツノゴケ類は他の陸上植物とは異なった緑藻類から進化したという考え方もあるので、そのような観点を考慮した系統解析（外群の選定、分析の方法）が求められている。

謝 辞

本稿の執筆を提案され、有益な助言をして下さった広島大学の嶋村正樹博士、スジツノゴケの写真を使用することを許可して下さったラヴァル大学の J.C. Villarreal 博士、ツノゴケ類の生態写真を提供し、図表・図版の編集にご協力くださった服部植物研究所の松本美津氏、草稿のチェック及び貴重なご意見をいただいた広島大学の池松泰一氏に厚くお礼申し上げます。

引用文献

- Bharadwaj, D. C. 1971. On *Folioceros*, a new genus of Anthocerotales. *Geophytology* 1 (1) :6–15.
- Campbell, D. H. 1907. Studies on some Javanese Anthocerotaceae I. *Ann. Bot.* 21: 467–486, pls. 44–46.
- Campbell, E. O., & Hasegawa, J. 1993. *Phaeoceros hirticalyx* (Steph.) Haseg. (Anthocerotae) new to New Zealand. *New Zealand J. Bot.* 31: 127–131.
- Duff, R. J., Villarreal, J. C., Cargill, D. C., & Renzaglia, K. S. 2007. Progress and challenges toward developing a phylogeny and classification of the hornworts. *Bryologist* 110: 214–245.
- Gottsche, C. M., Lindenberg, J. B. G., & Nees von Esenbek, C.G. 1846. Anthocerotae in *Synopsis Hepaticarum* 578–591. Hamburg.
- Hasegawa, J. 1986. *Anthoceros dussii* Steph. (Anthocerotae) and its isobilateral spore tetrads. *Hikobia* 9: 357–360.
- Hasegawa, J. 1988. A proposal for a new system of the Anthocerotae, with a revision of the genera. *J. Hattori Bot. Lab.* 64: 87–95.
- Hasegawa, J. 1990. Autofluorescence of elaters in the Anthocerotae and its taxonomic significance. *J. Hiraoka Envir. Sci. Lab.* 3: 1–9.
- 長谷川二郎 1991. ツノゴケ類の化学成分—陸上植物の起源を探る. 日本農薬学会誌 16: 115–121.
- 長谷川二郎 1993. ツノゴケ類の葉緑体—その系統進化的意義. しだとコケ 服部新佐先生追悼記念号: 74–81.

- Hasegawa, J. 1994. New Classification of Anthocerotae. *J. Hattori Bot. Lab.* 76: 21–34.
- Hasegawa, J. 2001. A new species of *Phaeoceros* with remarkable spore features from Southeast Asia. *Bryol. Research* 7: 373–377.
- Hässel de Menéndez, G.G. 1986. *Leiosporoceros* Hässel n. gen. and *Leiosporocerotaceae* Hässel n. fam. of *Anthocerotopsida*. *J. Bryol.* 14: 255–259.
- Hässel de Menéndez, G.G. 1988. A proposal for a new classification of the genera within the Anthocerotophyta. *J. Hattori Bot. Lab.* 64: 71–86.
- Hässel de Menéndez, G.G. 2006. *Paraphymatoceros* Hässel, gen. nov. (Anthocerotophyta). *Phytologia* 88: 208–211.
- Hy, M. 1884. Recherches sur l'archégon et le développement du fruit des Muscinées. *Ann. Sci. Nat., Ser.* 6, 18: 105–206.
- Hyvönen, J., & Piippo, S. 1993. Cladistic analysis of the hornworts (Anthocerotophyta). *J. Hattori Bot. Lab.* 74: 105–119.
- Li, Fay-Well, Nishiyama, T., Waller, M., Fragedakis, E., Keller, J., et al. 2020. *Anthoceros* genomes illuminate the origin of land plants and the unique biology of hornworts. *Nature Plants* 6: 259–272.
- Linnaeus, G. 1737. *Genera Plantarum*. Pp.1–384. Leyden.
- Proskauer, J. 1951. Studies on Anthocerotales. III. The genera *Anthoceros* and *Phaeoceros*. *Bull. Torrey Bot. Club* 78(4): 331-349.
- Puttick, M. N., Morris, J. L., Williams, T. A., Cox, C. J., Edwards, D., Kenrick, P., Pressel, S., Wellman, C. H., Schneider, H., Pisani, D., & Donoghue, P. C. J., 2018. The Interrelationships of Land Plants and the Nature of the Ancestral Embryophyte. *Current Biology*. 28 (5): 733–745.
- Renzaglia, K. S., Schuette, S., Duff, R. J., Ligrone, R., Shaw, A. J., Mishler, B. D., & Duckett, J. G. 2007. Bryophyte phylogeny: advancing the molecular and morphological frontiers. *The bryologist* 110: 179–213.
- Schiffner, V. 1895. Hepaticae, in Engler & Prantl, *Nat. Pflanzenfamilien* I (3), pp. 97–143. Leipzig.
- 嶋村正樹 2012. コケ植物・シダ植物・裸子植物の新しい分類体系 (コケ植物). 戸部博・田村実 (編). *新しい植物分類学 II*. Pp. 315–318. 講談社. 東京.
- Schuster, R.M. 1977. The evolution and early diversification of the Hepaticae and Anthocerotae. In: Frey, W., Hurka, H. & Oberwinkler, F. (eds.) *Beiträge zur Biologie der niederen Pflanzen*. Pp.107–115. Guatav Fischer Verlag, Stuttgart.
- Schuster, R. M. 1992. *The Hepaticae and Anthocerotae of North America*, vol. 6. Field Museum, Chicago.
- Smith, G. 1955. Anthocerotae. pp. 87–95, Pteridophytes-Introduction. Pp.131-158. In *Cryptogamic Botany II*. McGraw-Hill Book Company, Inc., New York.
- Stotler, R. E., & Crandall-Stotler, B. 2002. Proposals to conserve the name *Anthoceros* with a conserved type and the name *Anthoceros agrestis* against *A. nagasakiensis* (Anthocerotophyta). *Taxon* 51: 628–629.
- Takeda, R., Hasegawa, J., & Shinozaki, M. 1990. The first isolation of lignans, megacrotic acid and anthocrotic acid from non-vascular plants, Anthocerotae (Hornworts). *Tetrahedron Letters* 31(29): 4159–4162.

Villarreal, J. C. , Cusimano, N., & Renner, S. S. 2015. Biogeography and diversification rate in hornworts: The limitations of diversification modeling. *Taxon* 64(2): 229–238.