

令和元年5月25日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H05236

研究課題名(和文) シソ科ムラサキシキブ属におけるアリ植物の進化と形態進化の遺伝的背景の研究

研究課題名(英文) Phylogeny and genetic background of myrmecophytic morphology of *Callicarpa saccata* (Lamiaceae).

研究代表者

副島 顕子 (Soejima, Akiko)

熊本大学・大学院先端科学研究部(理)・教授

研究者番号：00244674

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,700,000円

研究成果の概要(和文)：ボルネオ島固有種の*Callicarpa saccata*という植物は、日本にも分布するムラサキシキブの仲間であるが、葉の基部が袋状になり、その中にアリが住むという特殊な形質をもつ。野外調査と分子系統解析により、花外蜜腺の役割をもつ腺点や枝の空洞といった、アリ植物としてはより一般的な形態特徴をもつ複数の他の種が近縁種に存在することが明らかになり、アリとの共進化が段階的に起こったことが示された。一方、葉身基部の袋を形成する遺伝的背景として、シロイヌナズナにおいて葉身の発生異常に関することが知られているBOP相同遺伝子が*C. saccata*の葉原基の基部で発現していることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生物種は互いにさまざまな相互作用を行いながら、複雑な生態系を形成している。その中でも特に、強い固有の結びつきを持つ特異的な関係は、その進化の過程において影響し合う共進化によって生じてきたと考えられる。アリ植物はその特殊な例のひとつであり、多くの植物のグループで知られている。しかし、本研究で発見されたような、近縁な種間にアリとの段階的な共生系が存在している例は稀であり、共進化の過程を理解する上で大きな意義が認められる。

一方、特殊な形態変化が生じる遺伝的背景に関わる遺伝子が特定できたので、今後、形態発生における遺伝子発現のメカニズムとその進化背景についての解明が進むことが期待できる。

研究成果の概要(英文)：*Callicarpa saccata*, an endemic species of Borneo island, is a relative of *C. japonica*. It is a myrmecophyte plant possessing a pair of sacs inhabited by ants at the leaf base. Our field observation and molecular phylogenetic analyses showed that a few other myrmecophytic species provided with extrafloral nectary or branch cavity as myrmecophytic features are closely related to *C. saccata*. It means that coevolution between the plant and ant occurred through a stepwise process in this group.

For the genetic background, expression of BOP genes were detected at the leaf base of developing young leaves of *C. saccata*, which suggested the relationship between the sac formation and the genetic mutation of these genes.

研究分野：植物系統分類学

キーワード：系統分類 共生進化 形態形成

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

熱帯ではアリと共生できるように特殊化した「アリ植物」が複数のグループに知られている。代表的なものは旧熱帯の *Macaranga*, *Myrmeconuclea*, *Myrmecodia*, *Acacia*, 新熱帯の *Cecropia* などで、特に東南アジアではトウダイグサ科の *Macaranga* についての生態や系統進化の研究が世界各国の研究者によって行われている。生態学的な研究としては、アリと植物相互の種特異性の解析、相互依存程度の解析、アリによるアブラムシ・カイガラムシの飼育や植物が提供する栄養体といったアリによる利用形態の解析などがあり、系統学的な研究としては、植物の系統と形態変異の対応や、アリと植物の系統樹の比較による共生系の進化についての解析がある。*Macaranga* についてのこれまでの研究では、アリと植物の間の種特異的な関係が存在することや、アリとの共生関係が独立に複数回起こっていることなどが示されている。また、系統的分岐年代の推定により、*Macaranga* では極めて短期間に多くの種が分化したことがわかり、アリとの共生を引き金とする急速な適応放散が起こった可能性が指摘された(Blattner et al. 2001, Inui et al. 2001 など)。しかしながら、アリと植物の共進化の一般性や、形態変化の遺伝的な機構についての説明はまだ十分に行われているとはいえない。

申請者は 2011 年の予備的な野外調査で、ボルネオのムラサキシキブ属植物に複数の「アリ植物」が存在することを新たに発見した(日本植物学会第 77 回大会発表 2013)。ボルネオ固有種である *C. barbata* と *C. glabrifolia* の 2 種の枝に空洞があり、そこにアリが営巣していることを確認したのである。共に古くから知られる種であるが、標本による観察ではアリとの関係が気付かれなかったものと思われる。一方、それまでにもアリ植物として知られていた *C. saccata* は枝に空洞がない代わりに、葉身の基部が袋状になり、そこにアリが生息している。これら 3 種はほぼ同所的に生育しているが、それぞれに共生しているアリは全て異なる種であることも明らかになった(同上 2013)。さらにボルネオの別の 1 種 *C. involucrata* では葉の基部に大きな腺点をもち、アリが訪れていることが現地でも観察された。このような段階的なアリと植物との関係は他の分類群では見られず、ムラサキシキブ属において、より一般的な形質である腺点によってアリとの共存関係が成立し、その後特殊化した「アリ植物」へと進化した可能性が示唆される。

枝の空洞にアリが生息するタイプのアリ植物は、*Macaranga*, *Myrmeconuclea* や *Cecropia* などでも知られているが、*C. saccata* のように葉の基部に袋状構造をつくるアリ植物は珍しい。このような形態変化はどのような遺伝的な変化によるのか。また、このような構造はアリとの共生関係の進化のどの段階で生じたのか。これと似た葉形の変異体がモデル植物のシロイヌナズナに見つかっており、その変異の原因遺伝子が *BOP* 遺伝子群として同定されている。

2. 研究の目的

本研究では熱帯におけるムラサキシキブ属内のアリ植物の生態的な観察と系統解析を同時に行うことで、その共生化の起源と進化の歴史を明らかにするとともに、*C. saccata* の特殊な袋状構造をもたらした遺伝的な変化がどのようなものであるかについての遺伝学的解析も行う。

3. 研究の方法

(1) 現地生態観察と採集：生育地が特定できている 3 種の「アリ植物」のうち、*C. saccata* については「アリ植物」であることが知られていたが、その生態的な観察記録はほとんどない。他の 2 種はこれまで「アリ植物」であることが知られていなかったため、アリとの共生に関する生態的な特徴が全く不明である。本研究では現地での観察により、花外蜜腺や巣の構造などのアリによる利用形態や防御行動の有無などを明らかにする。また、各種に共生しているアリを採集し同定することで、アリと植物が互いに種特異的な関係にあるのかどうかを検証する。

(2) 「アリ植物」の探索：ムラサキシキブ属内でも見落とされている「アリ植物」がないかどうかを可能な限り標本から推測する。そのためにボゴールやサラワクなど現地の植物標本庫の標本を精査するとともに、東南アジアのコレクションが豊富なキューやライデン、パリなどヨーロッパの標本庫の標本調査も行う。この調査により、今回新たに見つかったような、枝に空洞をもつ種が他にも見つかる可能性がある。また、花外蜜腺としての機能が期待される腺構造の有無や分布、形状を標本から明らかにすることで、アリとの共生関係の進化過程についても推測する。

(3) 系統解析：ムラサキシキブ属には約 170 種が知られるが、野外採集と標本庫収蔵標本から収集したサンプルをもちいて特にアジアに分布する約 50 種を中心とした分子系統解析を行う。Bramley (2009) の先行研究(ムラサキシキブ属の分子系統解析が行われているが、「アリ植物」は含まれていない)により、おもにボルネオの約 20 種の核 ITS と葉緑体の複数領域が GeneBank に登録されているので、十分な種数の分子データを得ることが可能である。これにより「アリ植物」の単系統性と系統関係を解明する。

(4) 葉形変異の遺伝子解析：*C. saccata* の *BOP* 遺伝子を用いてシロイヌナズナの *bop* 変異体との相補性試験を行なうことで、どのような遺伝的な変化が形態進化をもたらしたのかを明らかにする。また、系統解析の結果を用いて *C. saccata* の姉妹群を選定し、それらの *BOP* 遺伝子の全長配列および推定制御領域を比較することで、アリとの特殊な共生形態をもたらした遺伝的な変化がどの段階でどのように生じてきたのかを明らかにする。

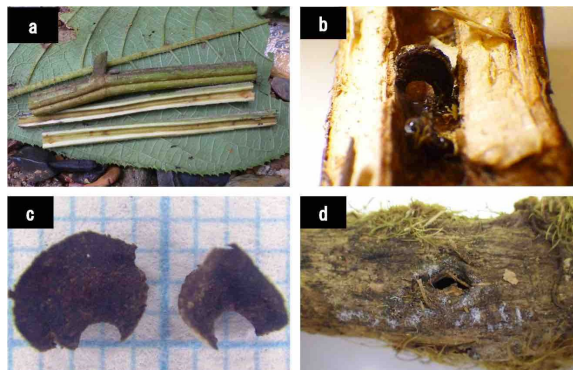
4. 研究成果

(1) 現地生態観察と採集：ムラサキシキブ属でアリとの共生関係が示唆されていた3種についての生育地での調査観察により、花外蜜腺への実際のアリの誘引や、枝の空洞、葉の基部の袋におけるアリの巣の構造などが確認され、アリと植物の共生の実態が明らかになった。また、アリ植物各種に共生しているアリの種類はそれぞれ異なることがわかった。このことは、アリと植物が並行的に進化したのではなく、途中でホストシフトが起こったことを示唆している。

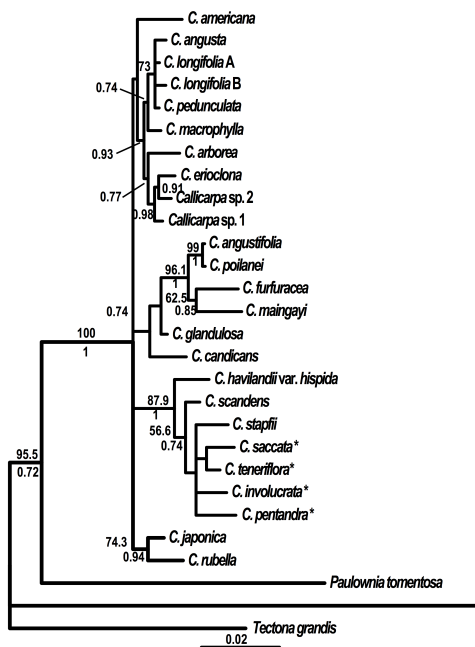
(2) 「アリ植物」の探索：標本庫所蔵の押し葉標本の調査により、枝に空洞をもつ種が一種見出された。これは他のアリ植物と同様、ボルネオ島に分布する種であり、形態的特徴からも他のアリ植物と近縁である可能性が示唆されている。

(3) 系統解析：本研究における調査で得られたサンプルの他、標本庫標本や、各地の採集者からもたらされたサンプルを用いて分子系統解析を行った。その結果、なんらかの程度のアリとの共生関係をもつ種はひとつのクレードにまとめることがわかり、共生的な形態変化が単系統的に段階を経て確立した可能性と、アリによるホストシフトが起きた可能性が強く示唆された。

(4) 葉形変異の遺伝子解析：形態形成に関しては、よく似た形態をもつ他のアリ植物との比較を行ったところ、ともに基部の葉身が膨らんで袋になるという、共通した発生様式を示すことが明らかになった。遺伝的背景としては、*C. saccata* の BOP1/2 の配列を決定し、アミノ酸配列として機能している可能性を示すことができた。また、葉身の発生過程において、KNOX1 遺伝子が葉身基部で発現していることが確認されたことから、この遺伝子が袋状構造をつくる要因となっていることが明らかとなった。



新たに判明したムラサキシキブ属のアリ植物。枝の空洞にアリの営巣が確認できた。



葉緑体と核 ITS 領域を用いた分子系統樹。*はアリ植物を示す。単系統であることがわかった。



C. saccata の袋構造。発生時に KNOX1 遺伝子の発現が確認できた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

1. Tsukaya H. 2017. Leaf shape diversity with an emphasis on leaf contour variation, their developmental background, and their adaptive meanings. *Seminars in Cell and Developmental Biology*. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.11.035> (査読あり)
2. Sabino Kikuchi IAB and Tsukaya H. 2017. Epitypification with an emended description of *Tropidia connata* (Orchidaceae, Epidendroideae, Tropicieae). *Phytokeys*. doi: 10.3897/phytokeys.80.12304 (査読あり)
3. Okada H, Tsukaya H., Soejima A. 2017. A new species of the genus *Heteroblemma*, Melastmataceae, from West Kalimantan, Borneo Island, Indonesia. *Acta Phytotaxonomica Geobotanica* 68: 101-104. doi.org/10.18942/apg.201622 (査読あり)
4. Nakashima S, Sarath E, Okada H, Ezaki K, Darnaedi D, Tsukaya H., Soejima A. 2016. Morphological and phylogenetic investigation for several cryptic ant-plants found in *Callicarpa* (Lamiaceae) from Borneo. *Journal of Plant Research* 129: 591-601. doi: 10.1007/s10265-016-0820-5 (査読あり)
5. Soejima A., Tagane S, Van NN, Duy CN, Huong NTT, Yahara T. 2016. *Callicarpa bachmaensis* Soejima & Tagane (Lamiaceae), a new species from Bach Ma National Park in Thua Thien Hue Province, Central Vietnam. *PhytoKeys* doi: 10.3897/phytokeys.@.7974. (査読あり)

〔学会発表〕(計 1 件)

Sarath E, Tsukaya H. 2018. Anatomical and molecular characterisation of domatia development in myrmecophytes. 植物生理学会ポスター

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：塚谷 裕一

ローマ字氏名： Tsukaya Hirokazu

所属研究機関名：東京大学

部局名：大学院理学系研究科

職名：教授

研究者番号（8桁）：90260512

(2)研究協力者

研究協力者氏名：岡田 博

ローマ字氏名：Okada Hiroshi

(3)研究協力者

研究協力者氏名：永益 英敏

ローマ字氏名：Nagamasu Hidetoshi

(4)研究協力者

研究協力者氏名：デディ ダルナエディ

ローマ字氏名：Dedy Darnaedi

(5)研究協力者

研究協力者氏名：ナンダ ウタミ

ローマ字氏名：Nandai Utami

(6)研究協力者

研究協力者氏名：モニカ スレイマン

ローマ字氏名：Monica Suleiman

(7)研究協力者

研究協力者氏名：ビビアン アナック

ローマ字氏名：Bibian Anak

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。