

研究成果報告書（第26回学術研究助成）

2019 年 7 月 23 日

公益財団法人 藤原ナチュラルヒストリー振興財団
理事長 野村 茂樹 殿

所属機関名 沖縄工業高等専門学校
職 名 技術専門職員
氏 名 渡邊謙太

1. 研究課題

ハワイ諸島産ボチョウジ属植物の性表現と花形態の進化を引き起こした送粉者の解明

2. 共同研究者

Adam WILLIAMS (Department of Forestry and wildlife, State of Hawaii)
Steve PERLMAN (Hawaii Plant Extinction Prevention Program)
Wendy KISHIDA (Hawaii Plant Extinction Prevention Program)
David LORENCEE (National Tropical Botanical Garden, Kauai)
Donald DRAKE (Department of Botany, University of Hawaii at Manoa)

3. 研究報告

I. 研究の目的

ハワイのボチョウジ属（アカネ科）は、諸島内で1種の祖先種から11種に種分化したこと、また分子系統解析から古い島から新しい島へ移入していった順序や各種の分岐年代が推定されてきた (Futuyma 2013)。さらにハワイのボチョウジ属はすべて二型花柱性（異型花柱性＝ヘテロスタイリー）から雌雄異株へ進化したとされていた (Sakai et al. 1995)。しかし具体的な種分化や雌雄異株性の進化の過程については未知のままだった。

これまでの申請者らの調査で、11種の中でも祖先的な3種 (Section *Pelagomapouria*) は長い花筒を持つこと、派生的な8種 (Section *Straussia*) は短い花筒を持つことが示唆されていた。またSect. *Pelagomapouria*のうちの2種は雌性両全性異株、残りの9種は不完全な雌雄異株であることが示唆されていた。さらに、Sect *Pelagomapouria*のうちの2種はハワイミツスイ、残りの1種はガ類、Sect. *Straussia*の8種は小型の昆虫類に花粉媒介されている可能性が示唆されていた。しかし、いくつかの種についての花形態、送粉シンドロームに関しては詳細が明らかでなかった。

本研究ではハワイ産ボチョウジ属の花形態・性表現・送粉者を明らかにすることにより、諸島内での雌雄性と花形態の進化の過程を探ることを目的とし、特に本助成による研究ではこれまで詳細に調べることのできなかつた *Psychotria mauiensis* と *P. hawaiiensis* の花形態・性表現・送粉者及び送粉シンドロームを明らかにすることに力点をおいた。またDNAを用いて、詳細な分子系統解析を行い、進化の過程を明らかにすることを目的とした。

II. 研究の方法

1. 花形態の調査

現地で採集したサンプルを70%エタノールに入れ固定し、実体顕微鏡下で花筒、雄しべ、雌しべの高さを測定した。

2. 性表現の調査

果実の有無、胚珠の有無により雌機能を確認、雄しべの花粉の有無、花粉のアニリンブルーによる染色性により花粉稔性の有無を確認した。

3. 送粉者の観察

野外で花の前に待機し、訪花者を観察した。またインターバルカメラや夜間自動撮影装置を設置し、訪花者を記録した。

4. 送粉シンドローム（花蜜）の調査

ハワイ諸島では本来の動物相が失われつつあり、本来の送粉者の訪花頻度は極めて低いことが予想されたため（特にハワイミツスイは絶滅種が多い）、直接観察に加え、送粉シンドロームを調査した。方法1で調査した花形態の情報に加え、花蜜成分分析により本来適応していた送粉者を推定する解析を行った。

○花蜜の分析 対象8種について各種10個体から各3-4花の蜜量/糖濃度を現地で測定し（屈折計使用）、測定後の蜜をろ紙にアプライし、シリカゲル乾燥後、沖縄高専のHPLCにてショ糖・単糖比を分析した。

5. DNAを用いた分子系統解析・集団遺伝解析

対象種それぞれについて各30個体ずつ程度、葉のサンプルを収集し、シリカゲルに保存して持ち帰り、DNA解析サンプルとした。現在DNA抽出作業中である。今後、分子系統解析と集団遺伝解析を実施することを予定している。

6. グアムに分布する近縁種の調査

ハワイ諸島のボチョウジ属に比較的近縁とされ、ハワイ諸島と同じく海洋島のグアムのボチョウジ属についても、性表現・花形態の調査とDNA配列の取得を試みた。今回は、現地の協力者からサンプルを送付してもらい、そのサンプルについて花形態や、性表現の確認を行う予定である。またDNAについても順次解析することを予定している。

III. 研究結果

1. 花形態の調査

P. mauiensis, *P. hawaiiensis*の2種ともに、花筒の短い小型の花で、雄花と雌花にはっきりとした二型が認められた。

2. 性表現の調査

P. mauiensis, *P. hawaiiensis*の2種ともに基本的には雌雄異株であるが、雄株がまれに果実を産生する不完全雌雄異株であることがわかった。

3. 送粉者の観察

今回の調査実施日程の全てで降雨があったため、ごく少数の昆虫のみの訪花しか観察できなかった。現地で観察できた訪花昆虫は、小型の甲虫、ハエ類、蛾類である。

4. 送粉シンドローム（花蜜）の調査

花の蜜量は、鳥媒と考えられる2種で非常に量が多く、それ以外の9種は相対的に量が少なかった。また糖の組成比をみると、鳥媒と考えられる2種で（Sucrose/hexose）の比が相対的に低いことが確認された。

5. DNAを用いた分子系統解析・集団遺伝解析

DNAを抽出し、解析は今後順次実施していく予定である。

6. グアムの近縁種の調査

サンプルの到着を待って順次、解析を実施する予定である。



*Psychotria mauiensis*の雄花序 (左) と果実 (右)

IV. 考察

これまでの研究代表者の結果と今回の調査の結果を総合して解析することで、ハワイ産ボチョウジ属の性表現・花形態の進化、及び送粉者の関係について以下のことが考えられる。

- ①二型花柱性の祖先が単型に崩壊し、諸島内で再び雌雄異株に進化した可能性が高い
- ②祖先的3種に比べ残りの8種は花の長さが1/10まで矮小化した (約25mm→2.5mm)
- ③花の形態の調査と送粉シンドロームから、カウアイ島固有の祖先的3種の内2種はハワイミツスイ (鳥)、1種は大型のガ類、その他派生的8種は口吻の短い昆虫に送粉されていたと可能性が高い
- ④ 性表現 (①) と花形態 (②) の進化は、分岐年代推定と現在の種の分布から、最も古いカウアイ島内で生じたと考えられ、この進化に送粉者 (③) が重要な役割を果たした可能性が高い

V. 成果発表

国際島嶼学会の大会にて、以下のタイトルで本研究の成果を含む内容を発表した。

Kenta WATANABE, Adam WILLIAMS, Steve PERLMAN, Wendy KISHIDA, David LORENCEE and Donald DRAKE (2019) “**Evolution of dioecism in Hawaiian *Psychotria* species.**” International conference on Island Evolution, Ecology, and Conservation 2019. Université de La Réunion, La Reunion, France. (2019年7月12日レユニオン大学、フランス 査読あり)

VI. 今後の課題

今後現在行っているDNA解析、及びグアムに分布する近縁種の調査をすすめる予定である。カウアイ島内で生じたと考えられる性表現と花形態の進化、及び鳥媒花への変化がどのような要因によって生じたのかを解明することが今後の最大の課題である。そのためには、より詳細な系統関係を明らかにするとともに、各種の環境への適応について、より詳細に解析する必要がある。