

緒論

(1) 高等植物の生殖様式の実態

有性生殖を行う種子繁殖植物では、各個体の雌性配偶子の遺伝子と他の個体あるいは同一個体の雄性配偶子の遺伝子が結合して種子となり次世代に伝わっていく。種子繁殖植物の生殖様式は、非常に複雑で変異に富んでいるが他殖性と自殖性に大別され、他殖性を示す多くの植物では自殖を重ねると生活力が減退し近交弱勢を引き起こす (Darwin 1876; Richards 1986; Charlesworth and Charlesworth 1987; Charlesworth *et al.* 1990; Lande *et al.* 1994).

他殖性植物は他家受粉による他家受精によって結実するためホモ化は進まず、遺伝子型の異なるヘテロ個体で集団を構成し、適応度の低い劣性遺伝子が淘汰されないままに遺伝的多様性を維持している。また、他殖性植物は常に他の個体から雄性配偶子を受け取る必要があるが、開花期の環境条件によって花粉の飛散が不十分であったり、雌雄蕊に生理障害が生じたりした場合には、確実に受粉・受精できるとは限らない。

一方、自殖性植物は自家受粉による自家受精によって結実するため遺伝的にホモ化が進み、遺伝子型の異なるホモ個体で集団を構成し、劣性ホモ形質は表現型として発現するのでこの点において遺伝的多様性は向上するが、適応度の低い劣性ホモ個体は淘汰されるので、このような遺伝子は集団から消え遺伝的多様性は減少する。自殖性植物は花粉を遠くへ散布する必要がないので、他殖性植物に比べて花粉数が少なくなり、生産される花粉 (P) と胚珠 (O) の数の比である P/O 比が低い (Cruden 1977; Ritland and Ritland 1989; Inoue 1990)。また、自殖性植物は花粉媒介者を引きつける必要もないので、蜜や花卉などへの投資も多くを要しない。自殖性の高い植物は受粉を確実に行うことができるので、個体密度の低い環境でも生存が可能である。

一つの花に雄蕊と雌蕊を持つ両性花を備えた種子繁殖植物には、同一花の花粉 (自花花粉) による自花受粉 (同花受粉) や同一個体上の隣花受粉による自家花粉で受精・結実できる自家和合性植物と、自家花粉では受精・結実できず遺伝子型の異なる他個体の他家花粉による他家受粉によってのみ受精・結実できる自家不和合性植物が存在する。自家和合性植物には、花粉媒介者の助けなしに葯と柱頭が接触したり、重力により花粉が葯から落下して柱頭に降りかかったりして自動的に自家受粉できる種がある。また、花粉媒介者が花卉に触れるなどの物理的的刺激によって自家受粉 (自花受粉) できる種がある。これらの種は自家花粉だけで受精・結実できるため自殖性の高い植物となる。しかし、自家和合性植物でも花粉媒介者が直接的に雄蕊や雌蕊に触れることによって自家受粉される種では自家と他家の混合受粉となることが多く、不完全な自殖性となる。また、花器特性上、雌蕊と雄蕊が離れている雌雄離熟や雌蕊と雄蕊の熟期が異なる雌雄異熟のため自家受粉しにくい種は、自家和合性の有無に関わりなく通常は他家受粉によって結実する他殖性植物となる。一方、自家不和合性植物では、自動的に自家受粉できる種でも自家花粉では結実できないため、花粉媒介者の助けによる他家受粉によって結実する他殖性植物となる。したがって、自殖性、他殖性という生殖様式は、自家花粉によって受精・結実できる程度を示す自家和合性程度と、花粉媒介者がいない環境下における植物自身の受粉能力である自動自家受粉能力の強弱によって決まる (生井 1991; Namai *et al.* 1992)。

種子繁殖植物には、花粉媒介者を必要とせず閉花受粉によって自動自家受粉するスマレやエンドウなどの完全自殖性植物や、花粉媒介者を必要として他家受粉するアスパラガスやハウレンソウなどの雌雄異株の完全他殖性植物がある。そして、これらの完全自殖性植物から完全他殖性植物の間には、ソラマメのように花粉媒介昆虫の訪花による物理的的刺激で自家受粉する植物から、ソバやサクラソウのように異型花柱性をともなう自家不和合性のため花粉媒介者が直接

接触することによる他家受粉を必要とする植物、あるいはトウモロコシやカボチャのように自家和合性であるが雌雄異花で雌雄異熟のためもっぱら他家受粉による他殖を行う植物などが存在し、非常に多様で複雑な生殖様式がみられる (生井 1989)。したがって、完全自殖性植物や完全他殖性植物以外では、自然受粉の際に花粉媒介者の助けを直接あるいは間接的に受け、自家受粉や他家受粉あるいは自家と他家の花粉が混合した混合受粉や、何回も受粉が行われる追加受粉がなされているものと思われる (Fryxell 1957)。実際に多くの種子繁殖植物では、個々の花に雌蕊と雄蕊が存在する両性花を持ち (Frankel and Galun 1977)、花粉媒介昆虫が訪花することによって自家花粉とともに他家花粉が混合受粉されていることが知られている (Ornduff 1970; DeGrandi-Hoffman *et al.* 1984; Namai 1986)。そして、他家受粉によって受精・結実する他殖性植物と自家受粉によって受精・結実する自殖性植物が多いが、その中間には他殖性または自殖性の程度の異なる様々な生殖様式を示す植物が連続的に存在している (Jain 1976; Schemske and Lande 1985; Aide 1986)。以上のように植物の種は極めて多種多様な生殖様式を持っている。そのため、集団の遺伝構造の変化や適応と分化によって受粉様式を始めとする生殖様式が重要な要因であることが Darwin (1876, 1877) 以来、多くの研究者によって論じられてきた。

植物集団が環境の変動に適応して分化するためには、集団内の遺伝変異の維持および現在生育している環境下で最適な適応度を示す遺伝子型の保持という矛盾する条件を満たしていなくてはならない。ここで、他殖は集団内の変異を増大させヘテロ性を保ちながら環境に適応する機構であり、自殖は集団をホモ化し、環境に適応した遺伝子型を急速に増加させる機構である (Lloyd 1979)。植物集団では個々の集団がさまざまな環境条件に対して最も適応するような繁殖体系をとりながら進化している (Stebbins 1957; Oka and Morishima 1967)。したがって、不完全他殖性や不完全自殖性の植物集団は、集団内で変異を維持、拡大

する他殖の機構と集団内の遺伝的斉一性を維持する自殖の機構の両方を備えているため、不安定な環境においては種族維持を図る上で完全他殖性や完全自殖性に比べてかなり適応的であるといえる。

種子繁殖植物では、一つの個体でも他殖種子と自殖種子が混在して結実する場合が多い (Fryxell 1957)。他殖種子と自殖種子の相対的割合は花粉媒介者の活動によっても左右される (Schmitt 1983)。集団内の遺伝変異に関わる要因の一つに、花粉媒介者による個体間や集団間の花粉の動きである花粉流動が考えられる。両性花を持つ自家和合性植物において、花粉媒介者が存在する場合は、その活動によって他家受粉の割合が増加し、他殖種子の相対的割合が増加することになる。しかし、花粉媒介者が存在しない場合は、自動自家受粉能力を有する個体だけが自家受粉により自殖種子を結実させることができる。一方、他殖を主な繁殖様式とする多くの植物集団では、自家受粉による自殖種子起源の個体が混在する場合でも、他殖種子起源の個体より成長が劣り、近交弱勢を発現するという遺伝的要因を保持していることが多い (Darwin 1876; Richards 1986; Charlesworth and Charlesworth 1987; Charlesworth *et al.* 1990; Lande *et al.* 1994)。

高等植物において、生殖様式が集団の遺伝構造に及ぼす影響を追究する生殖生物学的研究は、植物集団の進化、すなわち適応と分化の生殖生物学的要因の解明に役立つ。さらに、植物集団内の遺伝変異の拡大や制御を人為的に操作する上で有益な知見を与え、植物遺伝資源の維持・増殖と有効利用のための採種法の確立にとって極めて重要である (生井 1989)。したがって、自動自家受粉能力が受粉・受精・結実に果たしている役割を考慮して生殖様式を明らかにすることは種の適応と分化の要因解明のための大きな指針になると思われる。

(2) アブラナ属カラシナ類の概要と生殖様式

アブラナ (*Brassica*) 属植物は油料用、野菜、飼料、香辛料、薬用として重要

な作物であり，世界中で栽培されている．これまでに，多くの研究者によって国内外のアブラナ属植物間の遺伝的類縁関係が明らかにされている (U 1935)．アブラナ属植物には作物として分化の著しい二倍体種とそれらの間の種間交雑によって成立した複二倍体種がある．二倍体種にはハクサイ，カブおよびコマツナなどの *B. rapa* ($n = 10$, A ゲノム)，クロガラシなどの *B. nigra* ($n = 8$, B ゲノム)，キャベツ，ブロッコリーおよびケールなどの *B. oleracea* ($n = 9$, C ゲノム) がある．二倍体種の生殖様式はいくつかの品種，系統を除いて自家不和合性であり，花粉媒介者を必要とする他殖性とされている (Bateman 1955; Wiering 1964; Ockendon 1974; 1975)．他方，複二倍体種にはカラシナ，タカナおよびザーサイなどの *B. juncea* ($n = 18$, AB ゲノム)，アビシニアガラシなどの *B. carinata* ($n = 17$, BC ゲノム)，およびナタネ，ルタバガなどの *B. napus* ($n = 19$, AC ゲノム) があり，これらは二倍体種の自然交雑によってできた異質四倍体 (複二倍体種) であり，一般に自家和合性程度が高く不完全自殖性作物とされている (Kakizaki 1925)．しかし，その自家和合性程度には種内変異がみられるという報告 (Olsson 1960a; Namai *et al.* 1992) や自殖性程度に品種間変異があるという報告がある (生井 1983a)．

カラシナ類 (*B. juncea*) は油料作物，香辛料作物および野菜として世界的に分布している．油料用としてはインド，エジプト，ヨーロッパを中心に分布し，北米でも栽培される．また，野菜用としては東アジア，東南アジアを中心に分布している (山岸 1989)．カラシナ類はアブラナ科の中では最も高温性でほとんどの品種は花芽分化，抽苔に低温を必要とせず，長日によって抽苔が促進される (Khatikarn *et al.* 1991)．カラシナ類の原産地は中央アジアとされ，第二次中心地にはインドおよび中国東部が挙げられている (水島・角田 1969, 山岸 1989)．特に野菜としてのカラシナ類は，中国を中心にアジア南部の広い地域で分化・発達していることから，生殖様式にも種内変異がみられるものと考えられる．

カラシナ類は，自家和合性が高いが不完全自殖性とされている (Kakizaki 1925)．しかし，これまでカラシナ類について生殖様式の詳細は不明確である．

(3) 高等植物の生殖様式の進化と適応

種子繁殖植物にみられる他殖性の機構と自殖性の機構を比べると，他殖性はその原形であるといわれている (河野 1974)．また，種子繁殖植物の生殖様式の進化の一つの方向として他殖性から自殖性へという方向が挙げられる (Stebbins 1957; Jain 1976; Fægri and Pijil 1979; Wyatt 1983, 1984)．このような植物の生殖様式の進化や適応と分化については近年いくつかのモデルとともに実例も報告されている．

Lande and Schemske (1985) は植物の受粉様式について自殖性か他殖性のどちらかへ進化するということを理論的に予測した．彼らは，植物の他殖率に関する文献調査も行って 55 種の植物の頻度分布を作成し，他殖率の高い植物と自殖率の高い植物が多く，中間的な性質を示す植物が少ないことを示して彼らの理論が支持されると主張した (Schemske and Lande 1985)．しかし，Aide (1986) は Schemske and Lande (1985) の資料を再検討し，風媒花では他殖率の高い植物と自殖率の高い植物の二頂分布を示すが，虫媒花では分布がほぼ一様であることを明らかにした．したがって，種子植物の自殖率の進化には，彼らのモデルでは考慮されていない要因が重要な影響を及ぼしていると考えられる．

Uyenoyama (1986) は血縁個体どうしの交配が無視できない条件下では部分自殖性が進化的に安定になる場合があるという難解な理論を発表した．次いで，Yahara (1992) は Uyenoyama (1986) のモデルを分かり易くして，血縁個体間での他殖と近交弱勢を考慮に入れたモデルにより，生殖様式の進化理論をさらに発展させた．すなわち，他殖は他家花粉を得るために花卉や蜜などの投資が必要であることを考え，最適な他殖率は 0 から 1 までのあらゆる値になり得ること

を示した。

また、他殖性から自殖性への進化に関連して、偽自家稔性 (Pseudo-self-fertility) という概念がある (Levin 1996)。偽自家稔性とは、自家花粉と他家花粉が混合受粉された時は自家花粉の競争力が他家花粉よりも弱いため他家受精が促進されるが、他家花粉が制限された時は自家受粉でも受精・結実可能なので、他殖と自殖の有利な機構を備えた性質である。また、偽自家稔性は S 遺伝子座にある自家不和合性を示す S 対立遺伝子の発現を変更する多数の対立遺伝子によって決まる自家稔性である。したがって、環境による影響はあるが、偽自家稔性を選抜すれば自家不稔性から自家稔性への移行が容易であり自殖性を向上できるので、自殖性への進化を考える上で偽自家稔性の概念は重要である。

Lloyd and Schoen (1992) は部分的自家不和合性の植物にも自動自家受粉能力が高い植物や自家和合性でも自動自家受粉能力が極めて低い植物があることを示している。したがって、自殖性程度は自家和合性程度と自動自家受粉能力の程度によって決まることになる。自家和合性程度と自動自家受粉能力が極めて低い完全他殖性植物から、両性質が極めて高い完全自殖性植物へと進化していく過程は様々である。生井 (1991) および Namai *et al.* (1992) は、生殖様式を自動自家受粉能力と自家和合性程度に分けて考え、花粉媒介者が豊富な環境下では自動自家受粉能力に関係なく自家和合性を示せば受精・結実できることから、自然条件下で自殖性が高まる過程では、まず自家和合性程度を高め、その後に自動自家受粉能力を高めていくことが主な方向であると推測している。また、花粉媒介者が少ないなど著しく受粉条件の制限された環境では、自家和合性程度はあまり高まらないままに、まず自動自家受粉能力を高め、その後に自家和合性程度を高めていく場合や、両形質とも徐々に高めていく場合などがあると推測している。

さらに、ナタネ (*B. napus*) において、花粉媒介昆虫が豊富に存在する日本で

は自殖性の高い品種から低い品種まで存在しているが、花粉媒介昆虫が著しく不足しているカナダでは自殖性の低い品種は存在しないことが見出されたことから、花粉媒介者が著しく不足した環境下で継代栽培されると、自家和合性程度や自動自家受粉能力の高い個体だけが自然選択される結果、自殖性の高い集団に分化したものと推察している (Namai and Ohsawa 1987).

(4) 本研究の目的

植物の生殖様式の進化およびそれに伴って生じる環境適応性の向上について追究するためには、特定の栽培環境において継代栽培を行うことによって生じる生殖様式の変化を明らかにする必要がある。すなわち、自家和合性程度と自動自家受粉能力の変化による自殖性程度や他殖性程度の変化と、これらの生殖様式に及ぼす形態的特徴、さらに近交弱勢など植物自身の生育量に及ぼす要因について総合的に考察することが不可欠である。このような植物の適応と分化に関する生殖生物学的研究のためには、受粉花粉の量と質、すなわち、人工的に受粉花粉の粒数を変えたり受粉花粉の種類を変えたりするなどして植物集団の潜在的遺伝変異の顕在化や拡大、安定化について追究しなければならない。

同じ種類の花粉でも受粉花粉の量の多少によって、次代植物の生育に及ぼす効果が異なることが知られている (Mulcahy and Mulcahy 1975; Mulcahy *et al.* 1975; Ter-Avanesian 1978; Schlichting *et al.* 1987; Winsor *et al.* 1987; Namai and Ohsawa 1986, 1988)。したがって、これらのことを追究するための供試植物には、他殖の機構と自殖の機構の両方を備えた不完全他殖性や不完全自殖性を示し、集団内に幅広い生殖様式の変異を有する植物種を用いることが効果的であると考えられる。しかしながら、従来、不完全自殖性植物を用いて花粉媒介者がいない環境条件などにおける継代的な栽培によって自家和合性程度と自動自家受粉能力の変化や、これらの生殖様式の関わりと植物自身の適応や分化について

追究した報告はない。これらに関する生殖生物学的解析を行うことは、不完全自殖性植物や不完全他殖性植物などの混殖性植物の適応と分化の要因解明に役立つばかりでなく、種子繁殖植物の生殖様式の進化の方向の位置づけや植物自身の適応度をも含めた繁殖様式の解明のための有益な情報を与えるものと期待できる。さらに、アブラナ属植物をはじめ、他殖性や不完全自殖性を示す植物遺伝資源の維持・増殖と有効利用のための望ましい採種法を確立する上でも重要である。

そこで、本研究ではアブラナ属の複二倍体種で不完全自殖性作物であるカラシナ類について生殖様式と品種間差異の実態を解明するとともに、受粉条件がカラシナ品種の生殖様式に及ぼす影響について以下の 4 つの側面から生殖生物学的解析を行った。

第 1 章では、日本・中国・タイのカラシナ類 21 品種について自家和合性程度と自動自家受粉能力の品種間差異を明らかにするとともに、これら 21 品種の中で両形質に特徴的な 8 品種について自動自家受粉能力と花器形質との関係を追究することで、カラシナ類の生殖様式が明らかになった。その結果、自殖性の最も高い品種は中国の「瘤子芥」であり、最も低い品種はタイの「Knock out」であった。

第 2 章では、カラシナ品種における胚珠と花粉の結実能力について、花の齢すなわち胚珠と花粉の齢と結実能力との関係や、受粉花粉の種類による胚珠の結実能力を調査し、品種ごとの結実能力の差異を明らかにすることを試みた。また、受粉花粉の量の問題として、和合性の花粉の受粉量が多い場合と少ない場合について品種ごとに莢内における胚珠の部位別結実能力の差異を明らかにすることを試みた。その結果、品種によって花粉や胚珠の結実能力が異なることが明らかとなった。また、莢内の胚珠の部位によって結実能力が異なり、結実し易い部位は花梗側よりも柱頭側であることが明らかとなった。

第 3 章では、品種によって結実能力が異なることを考慮して、自殖性の目安としての自動自家受粉結実率を自家和合性程度と自動自家受粉能力の 2 つの性質に分けて考え、両性質の評価法を考案するとともに実際の自動自家受粉粒数と比較することによって評価法としての実用性の可否を検討した。また、生殖様式と 1 花における胚珠 (O) 当たりの花粉生産量 (P) を示す P/O 比の関係を解析した。その結果、簡便かつ適切な自家和合性程度と自動自家受粉能力の評価法を確立できた。また、供試品種の中で自殖性が最も低い品種の自殖性が低い原因は自動自家受粉能力が低いためであることが明らかとなった。自殖性程度と P/O 比の間には自殖性程度が高ければ P/O 比が低くなるという関係がみられ、特に自動自家受粉能力が高ければ P/O 比が低いことが分かった。

第 4 章では、自殖性の低い品種「Knock out」における自動自家受粉採種によって継代栽培して、生殖様式の変化とそれに付随した生育特性の変化について解析した。花粉媒介者を排除した隔離網室で原集団 (S_0) の結実率が中程度の個体から出発して、自殖第 1 代 (S_1) で結実率が高い個体と低い個体を選抜し、これら 2 個体をもとに自殖第 2 代 (S_2) 以降はそれぞれの集団から結実率の高い個体を選抜した。その結果、自殖性が高い自殖第 1 代 (S_1) 個体由来の系統は、自殖後代 ($S_3 \sim S_5$) においても自殖性が高い傾向があり自殖性が低い自殖第 1 代 (S_1) 個体由来の系統と明確に分かれ、自動自家受粉能力が向上するとともに、それに付随して生育特性の変化もみられた。自殖第 6 代 (S_6) 系統において自動自家受粉能力の向上した系統は P/O 比が低かった。すなわち、生殖様式は花粉媒介者不在などの受粉条件の変化に適応して変化することが分かった。

以上の結果に基づき、アブラナ属複二倍体植物の不完全自殖性カラシナ類における適応と分化の機構について、生殖様式と関連させながら生殖生物学的に解析した。さらに、不完全他殖性や不完全自殖性の植物遺伝資源の維持・増殖と有効利用のための望ましい採種法と育種法の確立について論及した。