

第2章 カラシナ類の胚珠と花粉の結実能力の検定

カラシナ類などアブラナ属複二倍体植物は、通常自家和合性であり、自家受粉で結実する自殖性であるとされている (Kakizaki 1925)。しかし、第1章により自殖性の程度に品種間・品種内変異があり、その程度を左右する自家和合性程度や自動自家受粉能力に大きな変異がみられ、自殖性は不完全であった。花粉媒介者排除下の自動自家受粉による結実率は、基本的には自動自家受粉能力と自家和合性程度という2つの性質によって決まるため、真の自殖性の程度を示しているものと考えられる。しかし、胚珠や花粉が正常な稔性を示していても胚珠と花粉の組み合わせによっては結実能力が異なることがある (安田 1951)。したがって、自動自家受粉能力や自家和合性程度が高くても胚珠や花粉の結実能力が低ければ自動自家受粉結実率は低くなることがある。

第1章により調査した不完全自殖性のカラシナ類の中で、真の自殖性が最も低い品種はタイの「Knock out」(T4)であり、最も高い品種は中国の「瘤子芥」(C6)である。しかし、これらの品種間の自動自家受粉結実率すなわち自殖性程度の差異には、自動自家受粉能力、自家和合性程度の他にも胚珠や花粉の結実能力など別の要因が影響しているものと思われる。ここで、胚珠と花粉の結実能力の大きさを規定する要因として、花の齢ならびに受粉花粉の種類(質)と量が挙げられる。また、受粉量が少ない場合には子房内の胚珠の結実部位にかなり決まった法則性があることが知られている (Hill and Load 1986; Stephenson *et al.* 1988; Namai and Ohsawa 1992) ことから、受粉量が少ない自動自家受粉の場合には子房内の胚珠の結実部位が異なるものと思われる。

そこで、本章ではカラシナ類の適応と分化を生殖生物学的に追究するための基礎として、不完全自殖性のカラシナ類において自殖性が低いタイの「Knock out」(T4)と自殖性が高い中国の「瘤子芥」(C6)について胚珠や花粉の結実能力

を 3 つの側面から解析した。すなわち、第 1 節では花の齢すなわち胚珠や花粉の齢を変えた人工自家受粉の結果に基づいて花の齢が結実率に及ぼす影響を解析し、両品種の胚珠と花粉の結実能力について考察した。第 2 節では両品種の人工自家受粉ならびに正逆交雑による人工他家受粉の結果に基づいて、結実能力と受粉花粉の種類との関係を解析した。さらに第 3 節では、受粉花粉量が少ない場合の結実能力について、特に莢内の部位別に胚珠の結実能力を解析した。

第 1 節 花の齢による胚珠と花粉の結実能力の差異

雌蕊の受容能力保持期間と花粉の受精能力保持期間は植物によって大きな違いがあるが、一般には花粉の方が短命であり、花粉は環境条件により敏感である (Frankel and Galun 1977; Shivanna and Johri 1985)。アブラナ属植物における胚珠や花粉の受精能力は齢によって異なるが、一般に開花後数日から一週間程度は保たれている (安田 1951; 柿崎 1930; 生井 1991)。Tian *et al.* (1995) は、自家和合性のアブラナ (*Brassica rapa*) において開花後 24 時間以内に他家受粉したときは、50%以上の受精した胚を含む莢が 69.2%を占めるが、開花後 4 日以降に受粉されたときは、全く結実しないことを報告した。しかし、胚珠と花粉の組み合わせによって結実能力が異なることも知られている (安田 1951) ことから、花の齢が異なれば胚珠や花粉に稔性があっても結実能力が異なる可能性もある。

アブラナ属作物における雌蕊の受容能力保持期間と花粉の寿命は雌蕊と花粉の齢で変化する (Hodgkin 1975)。カラシナ類は無限花序であるため、花粉媒介者の訪花がなければ、同一花房内において下位の花の齢が進み老化した花の柱頭に上位の開花当日花の花粉が落下して隣花受粉されることがある。また、下位分枝における上位花房の開花当日花の柱頭に上位分枝における下位花房の老

化の進んだ花粉が隣花受粉されることもある。同様にして、老化花粉が老化柱頭に隣花受粉されることも考えられる。さらに、花粉媒介昆虫によって開花当日花に受粉される場合でも、個体における花の数や配置が異なれば隣花受粉の行われる程度が変化する (Lloyd and Schoen 1992)。これらの隣花受粉はいずれも自家受粉に変わりはないが、隣花受粉と同一花内の自花受粉 (同花受粉) では植物の適応と分化を考察する際には次代植物に対する効果が異なることが知られている (Craig 1989; Philbrick and Bernardello 1992)。また、老花受粉によれば、結実種子の特性が通常受粉による場合と異なることがある (安田 1951)。

そこで、本節では不完全自殖性カラシナ類を供試して、花の齢が胚珠と花粉の結実能力に及ぼす影響について追究した。

材料および方法

供試材料として、第 1 章で明らかにした不完全自殖性カラシナ類の中で自殖性が最も低いタイの「Knock out」(T4) と最も高い中国の「瘤子芥」(C6) の 2 品種を供試した。「Knock out」(T4) はタイ国チェンマイの種苗店で購入した種子であり、「瘤子芥」(C6) は儼サカタのタネから入手した種子である。両品種とも筑波大学育種学研究室において原種子を低温乾燥下で保存中のものである。これら 2 品種の原種子を 1994 年 4 月 16 日に筑波大学農林技術センター内の温室内で 5×5 の連結ポット中の培養土 Metro-Mix350 (Grace Sierra 社製) に個体別に播種した。実生を 5 月 10 日に 6 号植木鉢 (直径 18cm) に移植し、開花直前からはビニルハウス内の隔離網室 (#300 寒冷紗) 内の花粉媒介者排除下で生育させた。網室内には花粉媒介昆虫は存在せず、風も吹き込まない。各品種 8 個体を用いて、老花受粉の効果を調べるために花の齢すなわち雌蕊と花粉の齢を変えて多量の花粉を用いて人工自家受粉した。実験で用いた雌蕊と花粉の齢は、隔離網室内では開花後 3~4 日までに葯から花粉が離れるため、雌蕊と花粉の齢

ともに開花当日 (0) から開花後 4 日 (4) までの範囲とした。様々な齢の雌蕊と花粉の齢による受粉の 3 つの組み合わせについて個体当たり 3 花房で自家受粉した。自家受粉の組み合わせを雌蕊の齢、花粉の齢の順に数字を用いて表した。すなわち、①開花当日から 4 日後までの様々な齢の雌蕊 (0~4) と開花当日の花粉 (0) を用いた (00) から (40) までの自家受粉、②開花当日の雌蕊 (0) と開花当日から 4 日後までの様々な齢の花粉 (0~4) を用いた (00) から (04) の自家受粉および、③開花当日から 4 日後までの同一齢の雌蕊と花粉を用いた (00) から (44) の自家受粉である。

受粉花については、予め開花前に除雄した。個体ごとに生育の程度が異なるために、3 花房について 10 花以上咲き揃った個体から順に 1 個体当たり 1 花房ずつ人工自家受粉した。受粉期間は 6 月 7 日から 6 月 23 日であった。自家受粉の 3 つの組み合わせにおける花房当たりの平均花数±標準偏差は順に 27.3 ± 4.2 、 11.8 ± 22.4 、 18.6 ± 2.9 であった。

種子が成熟した 7 月 20 日に、受粉処理ごとに花房を採取し、花ごとの結実率を胚珠数当たりの結実種子数で求めた。花当たりの平均胚珠数±標準誤差は「Knock out」(T4) で 15.9 ± 1.6 であり、「瘤子芥」(C6) で 23.4 ± 2.6 であった。

結果

「Knock out」(T4) と「瘤子芥」(C6) の 2 品種における雌蕊と花粉の開花後各日数の平均結実率を表 2-1 に示した。「Knock out」(T4) と「瘤子芥」(C6) における雌蕊と花粉の開花後各日数と平均結実率の関係を図 2-1 に示した。開花当日の花粉と雌蕊を用いた自家受粉 (00) による結実率は、自殖性の低い「Knock out」(T4) では 32.8%と低かったのに対し、自殖性の高い「瘤子芥」(C6) では 78.5%と高かった (表 2-1, 図 2-1)。両品種とも開花当日の花粉と雌蕊を用いた自家受粉 (00) による結実率が全ての受粉組み合わせの中で数値的に最も高い値

表 2-1. 品種「Knock out」(T4) および「瘤子芥」(C6) における雌蕊または花粉の齡の各組み合わせによる人工自家受粉結実率¹⁾

自家受粉の組 み合わせ ²⁾ (♀♂)	「Knock out」(T4)		「瘤子芥」(C6)	
	平均値 (%)	変動係数 (%)	平均値 (%)	変動係数 (%)
00	32.8 a ³⁾	31.0	78.5 a	12.3
10	16.9 bcd	51.0	57.8 abc	17.7
01	27.1 ab	66.3	64.6 ab	54.6
11	22.2 ab	68.8	70.6 ab	16.4
20	8.8 cd	62.5	35.9 cde	44.1
02	18.8 abc	118.4	45.7 bcd	77.8
22	10.8 cd	80.7	50.8 bcd	29.1
30	10.8 cd	110.3	17.2 e	66.5
03	6.5 cd	122.8	23.8 de	90.0
33	7.7 cd	107.5	28.8 cde	19.3
40	1.4 d	171.2	5.9 e	72.3
04	7.2 cd	81.5	—	
44	6.0 cd	87.0	16.9 e	96.4
F 値	3.29**		7.15***	

¹⁾ 各品種 5 個体の平均で各個体の各開花後日数における花数は 2~5 である。

²⁾ 開花後の日数による雌蕊と花粉の齡。受粉組み合わせにおける前者は雌蕊の齡を後者は花粉の齡を示す。

³⁾ 品種ごとに受粉組み合わせ間で Duncan の多重検定を行い、同じアルファベットは 5%水準で有意差のないことを示す。

、*はそれぞれ 1%、0.1%水準で有意であることを示す。

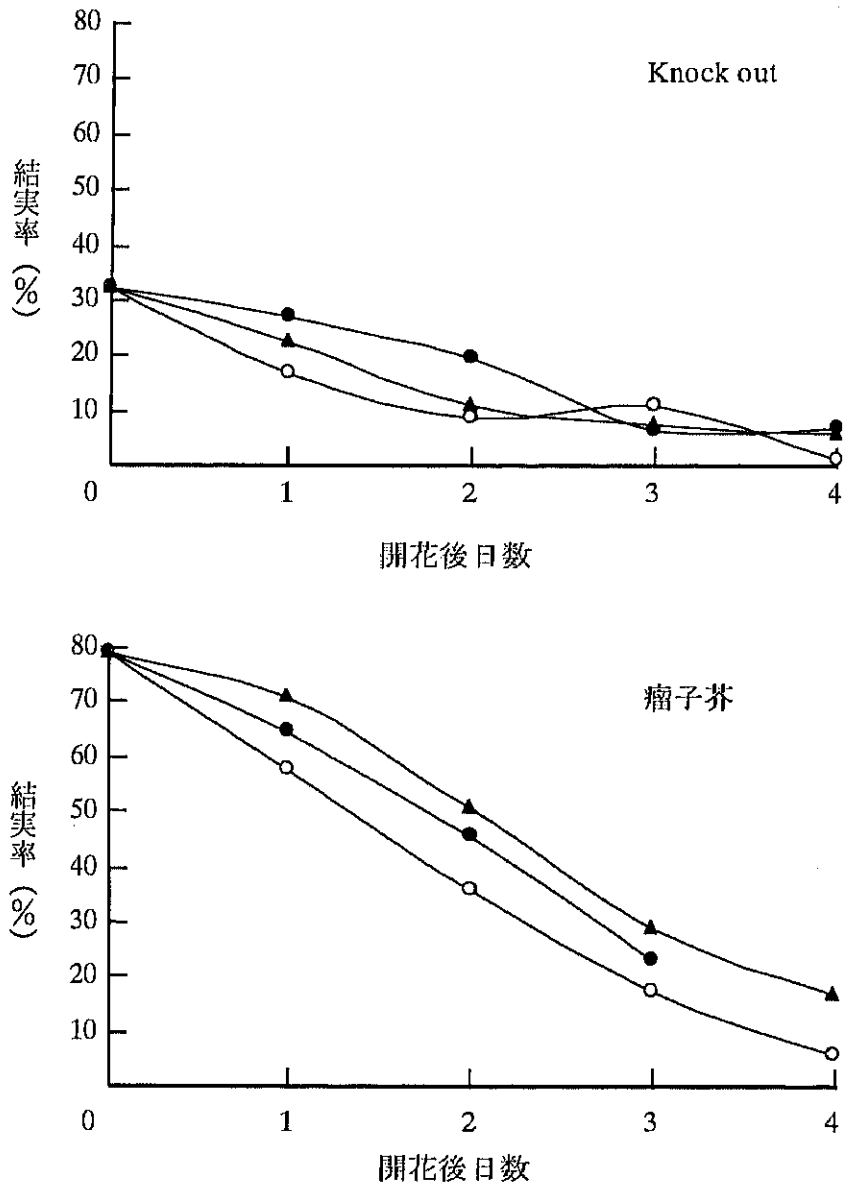


図2-1. 品種「Knock out」(T4)と「瘤子芥」(C6)における雌蕊または花粉の齢（開花後日数）と人工自家受粉結実率の関係。
 —○—: 開花後様々な日数の雌蕊と開花当日の花粉による自家受粉 [(00)~(40)]. —●—: 開花当日の雌蕊と開花後様々な日数の花粉による自家受粉 [(00)~(04)]. —▲—: 開花後様々な日数で同じ齢の雌蕊と花粉による自家受粉 [(00)~(44)].

を示したが、開花後 1 日における自家受粉の各組み合わせ (10, 01 および 11) による結実率は開花当日の結実率との間に有意差はなかった (表 2-1).

開花後 2 日における自家受粉の各組み合わせ (20, 02 および 22) による結実率は「Knock out」(T4) では 8.8%から 18.8%であったのに対し、「瘤子芥」(C6) では 35.9%から 50.8%であった。この場合、「Knock out」(T4) では開花当日の雌蕊と開花後 2 日の花粉を用いた自家受粉 (02) による結実率 (18.8%) を除いて、また「瘤子芥」(C6) では全ての組み合わせにおいて、開花当日の花粉と雌蕊を用いた自家受粉 (00) による結実率よりも有意に減少した。開花後 3 日以降においては、全ての受粉組み合わせにおいて開花当日の花粉と雌蕊を用いた自家受粉 (00) による結実率よりも有意に減少した。

開花後 4 日の自家受粉の各組み合わせ (40, 04 および 44) の結実率はかなり低く、「Knock out」(T4) では 1.4%から 7.2%であったのに対し、「瘤子芥」(C6) では 5.9%から 16.9%であった。しかし、両品種とも雌蕊と花粉は開花後 4 日経っても結実が可能であることが分かった。このことは花粉が葯上に残っている開花後 3~4 日間以内は結実が可能であることを示す。

開花後 1 日から 4 日における雌蕊または花粉が同一齢となる自家受粉の各組み合わせによる結実率 (10:01:11, 20:02:22, 30:03:33, 40:04:44) の間には、それぞれ有意差は認められなかった。

結実率の変動係数をみると、両品種とも開花当日の花粉と雌蕊を用いた自家受粉 (00) が、他の老化した花粉や雌蕊を用いた自家受粉の組み合わせと比較して最も低く、「Knock out」(T4) が 31.0%であり、「瘤子芥」(C6) が 12.3%であった。花粉または雌蕊の老化が進むに連れて変動係数は大きくなる傾向があった。また、大部分の組み合わせにおいて「Knock out」(T4) が「瘤子芥」(C6) より全体的に変動係数が大きかった (表 2-1)。

図 2-2 に示すとおり、開花当日の自家受粉による結実率に対する開花後 1 日か

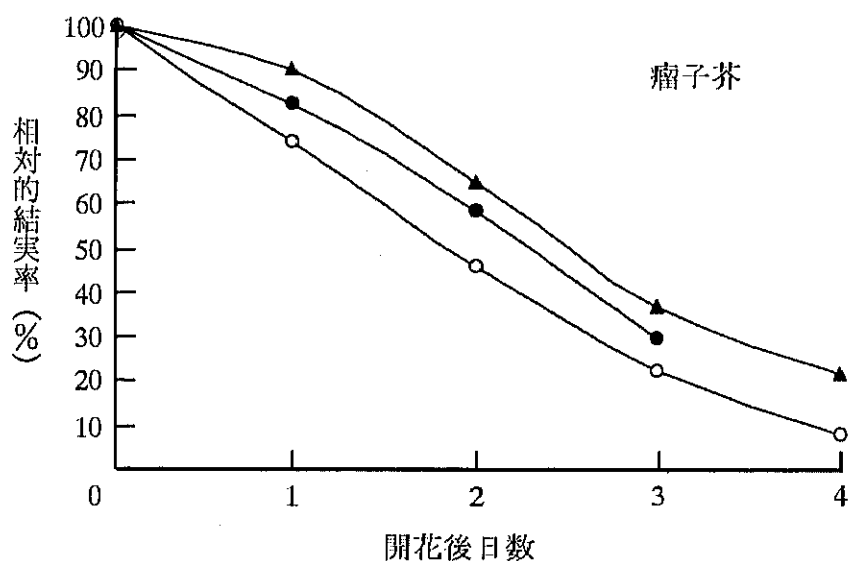
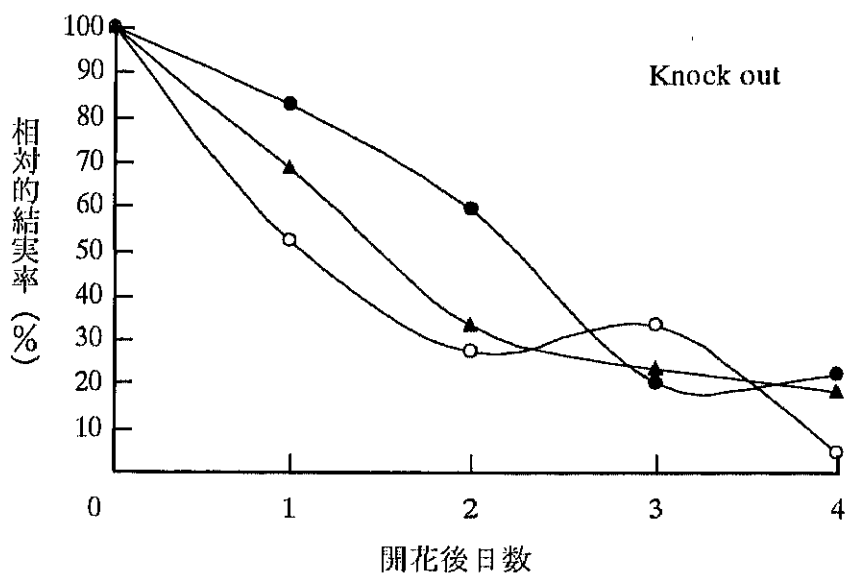


図2-2. 品種「Knock out」(T4)と「瘤子芥」(C6)における開花当日の雌蕊と花粉による結実率に対する老化した雌蕊または老化した花粉による相対的結実率。

—○—: 開花後様々な日数の雌蕊と開花当日の花粉による自家受粉 [(00)~(40)]. —●—: 開花当日の雌蕊と開花後様々な日数の花粉による自家受粉 [(00)~(04)]. —▲—: 開花後様々な日数で同じ齢の雌蕊と花粉による自家受粉 [(00)~(44)].

ら 4 日の期間における様々な老花受粉による結実率の減少率は、自殖性の低い「Knock out」(T4) と自殖性の高い「瘤子芥」(C6) と同様の傾向を示した。また、これらの結果は老化した雌蕊と花粉の一方または両方が受粉に用いられたときでも、結実率は減少することを示す。

考察

花粉の受精能力保持期間は植物の種によって大きな変異がみられ (岩波 1980)、数時間の植物もあるが (Kraai, 1962)、数週間保持している植物もある (Johri and Vasil 1961)。雌蕊の受容能力保持期間についても同様に数時間の植物もあれば、数週間保持している植物もある (Morse 1987)。アブラナ属植物では雌蕊の受容能力保持期間は開花後 6 日である (Tian *et al.* 1995)。また、アブラナ科などの自家不和合性植物において、開花後 3~4 日の花の雌蕊に開花当日の開花後の花粉を用いて自家受粉すれば、自家不和合性が弱まっているため受精・結実して自殖種子を得ることができる (Kakizaki 1930; Mohammad 1935; Ascher and Peloquin 1966; Ichimura and Yamamoto 1992)。しかし、不完全自殖性のカラシナ品種においては老花受粉による結実率の向上はみられず、両品種とも開花当日の雌蕊と花粉による自家受粉の組み合わせが最も高い結実率を示したことから、自家不和合性は示されなかったものと思われる。

開花後 1 週間経っても花粉媒介者が花に訪れなかったり、自動自家受粉も全く起こらなかったりすることは自然条件下では極めてまれであると考えられる。しかし、長い年月にわたる進化の過程ではそのような状況が幾度も起こったと考えられる。本研究の結果、不完全自殖性のカラシナ品種においては花粉が葯上に残り得る開花後 4 日以内には自花受粉または隣花受粉によって自家受粉されるものと思われる。したがって、悪天候などによって花粉媒介者が著しく制限されたために開花当日に受粉されなくても、自花受粉または老花受粉として

の隣花受粉という形で自家受粉が開花後数日間に行われる。このような隣花受粉は自家受粉ではあるが、同一花内の自花受粉（同花受粉）とは種子に及ぼす効果が異なることが知られている（安田 1951; Craig 1989; Philbrick and Bernardello 1992）。すなわち、個々の花粉は異なる遺伝子をもっているため、隣花受粉による老花受粉では通常の開花当日の自花受粉（同花受粉）と比べて受精・結実する花粉の質が異なる可能性があり、次代集団の遺伝構造が変化する可能性がある。

両品種とも開花後 1 日の雌蕊または花粉を用いた自花受粉による結実率は開花当日の雌蕊と花粉を用いた自花受粉と比較して有意には減少しなかった（表 2-1）。また、両品種とも老化雌蕊と老化花粉を用いた自花受粉による結実率は開花後日ごとに徐々に減少した（図 2-1）。しかし、花粉は開花後 3 日から 4 日までは葯上に残っているため、開花後 3 日から 4 日以内の雌蕊と花粉を用いた受粉は結実が可能であった。これらの結果から、このような作物において制限された環境条件下で様々な老花受粉が容易に起こり得ることが分かった。

両品種とも開花当日の花粉または雌蕊を用いた結実率の変動係数が最も小さかった。また、「Knock out」(T4) は「瘤子芥」(C6) よりも全体的に変動係数が大きい傾向があった（表 2-1）。これらの結果から、多くの種子を採種するためには開花当日の花を用いることが良いことが分かった。また、「Knock out」(T4) は老化受粉による結実能力の個体変異が大きいことが分かった。

第 1 章により、不完全自殖性のカラシナ類は品種間・品種内に生殖様式の遺伝的多様性を示すことが分かった。同一植物体上の花間の隣花受粉による自殖は同じ花内の自家受粉（自花受粉）による自殖と異なり結実および子孫の生育特性に対する花粉の質の効果が異なる（Craig 1989; Philbrick and Bernardello 1992）ので、老花した花粉と胚珠が受精した場合には、次代の遺伝子型の割合は開花当日のものと異なる可能性がある。

したがって、カラシナ類のような不完全自殖性植物において老花受粉や隣花

受粉によって結実した植物は遺伝的変異が拡大され易く、長い年月にわたる進化の過程では老花受粉や隣花受粉は適応と分化に関係しているものと思われる。不完全自殖性植物を花粉媒介者排除下で自動自家受粉によって採種した場合には、開花当日の自花受粉だけでなく隣花受粉や老花受粉が行われて、集団の分化が促進され易い可能性が高いものと思われる。

第2節 受粉花粉の種類による胚珠の結実能力の差異

種子繁殖植物は、栄養成長の後に開花したとしても胚珠に結実能力がなければ種族を維持することはできない。また、受粉花粉の結実能力によって胚珠の結実能力が著しく制限される場合も考えられる。すなわち、雌雄配偶子の稔性や配偶子の組み合わせによって胚珠と花粉の結実能力に差異がみられる可能性がある。受粉花粉の量を様々に変えたときの受粉花粉と胚珠の生殖成功率 (RSR-P, RSR-O) を論じた報告はある (Namai and Ohsawa 1986, 1988) が、受粉花粉の量を変えたときの胚珠の結実能力について詳しく論じた報告はない。また、一般に植物においては種間あるいは属間には正逆交雑によって交雑成功率が異なることが多いが、種内の品種間においては受精あるいは結実に対する生理的不調和が少ない。したがって、不完全自殖性カラシナ類の中で自殖性の低い品種「Knock out」(T4) と自殖性の高い「瘤子芥」(C6) において、胚珠の結実能力が同じであれば、多量の花粉を用いた正逆交雑を行った場合には、両品種間に結実率の大きな差は生じないものと思われる。この交配組み合わせにおいて正逆交雑により両品種間の結実率に差が生じた場合には、胚珠と花粉の不和合性によるのではなく、花粉または胚珠の結実能力に差があるものと考えられる。

そこで、本節では自殖性の低い「Knock out」(T4) と自殖性の高い「瘤子芥」

(C6) の 2 品種において多量の花粉による人工自家受粉と正逆交雑の人工他家受粉および少量の花粉しか受粉されない自動自家受粉の結果に基づき、胚珠と花粉における結実能力の差異が自殖性にどのように影響しているかを追究した。

材料および方法

本章第 1 節と同様に、不完全自殖性カラシナ類の中で自殖性の低い品種「Knock out」(T4) と自殖性の高い「瘤子芥」(C6) について、1995 年 4 月 19 日に筑波大学農林技術センター内の温室内で 5×5 の連結ポットの培養土 Metro-Mix350 (Grace Sierra 社製) に各品種とも 50 粒の種子を播種した。5 月 10 日に 6 号植木鉢に移植し、開花直前からはビニルハウス内の隔離網室 (#300 寒冷紗) の花粉媒介者排除下で栽培した。各品種の中から無作為に 6 個体を抽出し各個体について、(1) 自動自家受粉、(2) 1000 粒以上の多量の自家花粉を用いた人工自家受粉を行い、さらに (3) 正逆交雑による 2 個体の多量の花粉を用いた人工他家受粉、すなわち「Knock out」(T4) には「瘤子芥」(C6) の 2 個体の花粉を、「瘤子芥」(C6) には「Knock out」(T4) の 2 個体の花粉を用いた人工他家受粉を行った。受粉は各 2 花房ずつ開花受粉法により 10 花ずつ行うことにした。結実後受粉花ごとの結実率を求めて胚珠と花粉の結実能力を解析した。人工受粉は 6 月 15 日から 6 月 24 日の間の開花当日に行い、他家受粉に際しては開葯前に除雄した。また、花粉親となった個体から開花当日の 3 花を採取し、各花 1 葯ずつアセトカーミン染色によって 100 粒を 3 回数えて花粉稔性を調べた。

結果

不完全自殖性カラシナ品種の「Knock out」(T4)、「瘤子芥」(C6) における自動自家受粉結実率、人工自家受粉結実率ならびに正逆交雑による人工他家受粉結実率の各平均値を表 2-2 に示した。また、表 2-2 の結果に基づいて、胚珠と花

表 2-2. 品種「Knock out」(T4) と「瘤子芥」(C6) における自動自家受粉結実率，人工自家受粉結実率および人工他家受粉結実率

「Knock out」(T4)

個体番号	自動自家受粉 結実率 (%) ¹⁾	人工自家受粉 結実率 (%)	人工他家受粉 結実率 (%) ²⁾
T4-5	26.8	49.4	51.4
T4-6	18.0	54.8	45.8
T4-9	18.5	42.5	45.5
T4-13	15.1	40.3	51.5
T4-15	12.7	41.7	49.6
T4-18	5.7	24.5	40.8
平均値	16.1 b ²⁾	42.2 a	47.4 a

「瘤子芥」(C6)

個体番号	自動自家受粉 結実率 (%)	人工自家受粉 結実率 (%)	人工他家受粉 結実率 (%) ²⁾
C6-1	33.6	91.2	86.0
C6-6	17.4	87.9	71.5
C6-9	43.9	87.2	83.9
C6-14	28.0	85.3	67.0
C6-16	25.0	74.9	64.2
C6-17	19.5	88.1	76.8
平均値	27.9 c	85.8 a	74.9 b

¹⁾ 各品種とも各個体 2 花房における各 10 花の平均である。

²⁾ 品種間他家受粉による結実率を示す。

³⁾ 品種ごとに各受粉処理における結実率間で Duncan の多重検定を行い，同じアルファベット (小文字) は 5%水準で有意差のないことを示す。

粉の結実能力を解析するために、図 2-3～図 2-5 を作成した。なお、花粉稔性は両品種とも全ての個体が 90%以上で正常であった。

調査の結果、平均結実率は全ての受粉処理において、「Knock out」(T4) が「瘤子芥」(C6) よりも低い値を示した (表 2-2, 図 2-3)。すなわち、「Knock out」(T4) の自動自家受粉結実率は 16.1%で「瘤子芥」(C6) の 27.9%よりも低い値を示し ($t = 2.399 > t_{(10, 0.05)} = 2.228$)、人工自家受粉結実率でも「Knock out」(T4) が 42.2%で「瘤子芥」(C6) の 85.8%より低い値を示した ($t = 9.104 > t_{(10, 0.05)} = 2.228$)。さらに、正逆交雑による人工他家受粉結実率において、「Knock out」(T4) が 47.4%で「瘤子芥」(C6) の 74.9%よりも低い値を示した ($t = 6.857 > t_{(10, 0.05)} = 2.228$)。この結実率の差異によって、胚珠の結実能力は「Knock out」(T4) が「瘤子芥」(C6) よりも低いことが分かった。また、両品種において、自動自家受粉結実率は人工自家受粉結実率および正逆交雑による人工他家受粉結実率よりも低かった。このうち、人工自家受粉結実率と人工他家受粉結実率の間には、「Knock out」(T4) では統計的に有意ではないが人工他家受粉結実率が 47.4%と人工自家受粉結実率の 42.2%よりも数値的に高い値を示した。一方、「瘤子芥」(C6) では人工他家受粉結実率が 74.9%で人工自家受粉結実率の 85.8%よりも有意に低い値を示した。個体ごとにみた場合でも、「Knock out」(T4) では T4-6 を除いて、人工自家受粉結実率よりも人工他家受粉結実率が数値的に高い値を示しており、「瘤子芥」(C6) では全個体において人工他家受粉結実率よりも人工自家受粉結実率が高い値を示した (表 2-2, 図 2-4, 図 2-5)。このことは、自殖性の低い「Knock out」(T4) の花粉の結実能力が自殖性の高い「瘤子芥」(C6) よりも低いことを示しているものと思われる。

考察

Namai and Ohsawa (1986, 1988) における個々の受粉花における胚珠の生殖成功

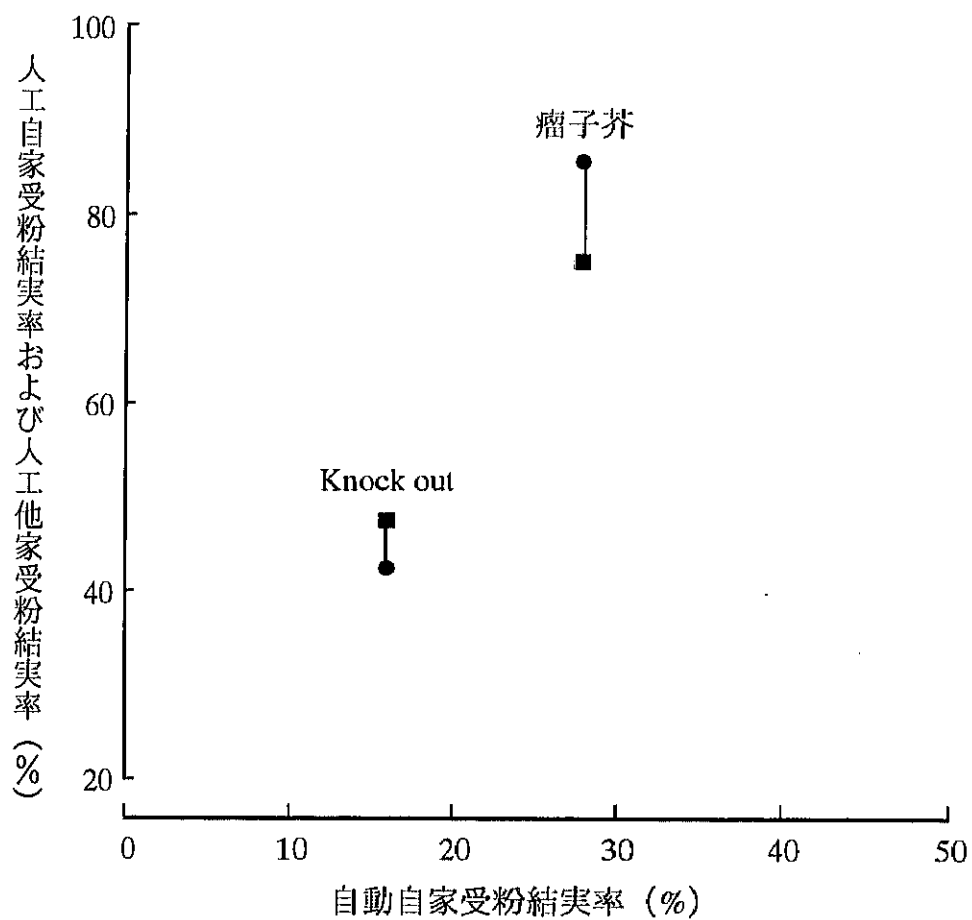


図2-3. 品種「Knock out」(T4)と「瘤子芥」(C6)における自動自家受粉結実率, 人工自家受粉結実率および人工他家受粉結実率の平均値の差異.

●: 人工自家受粉結実率, ■: 人工他家受粉結実率.

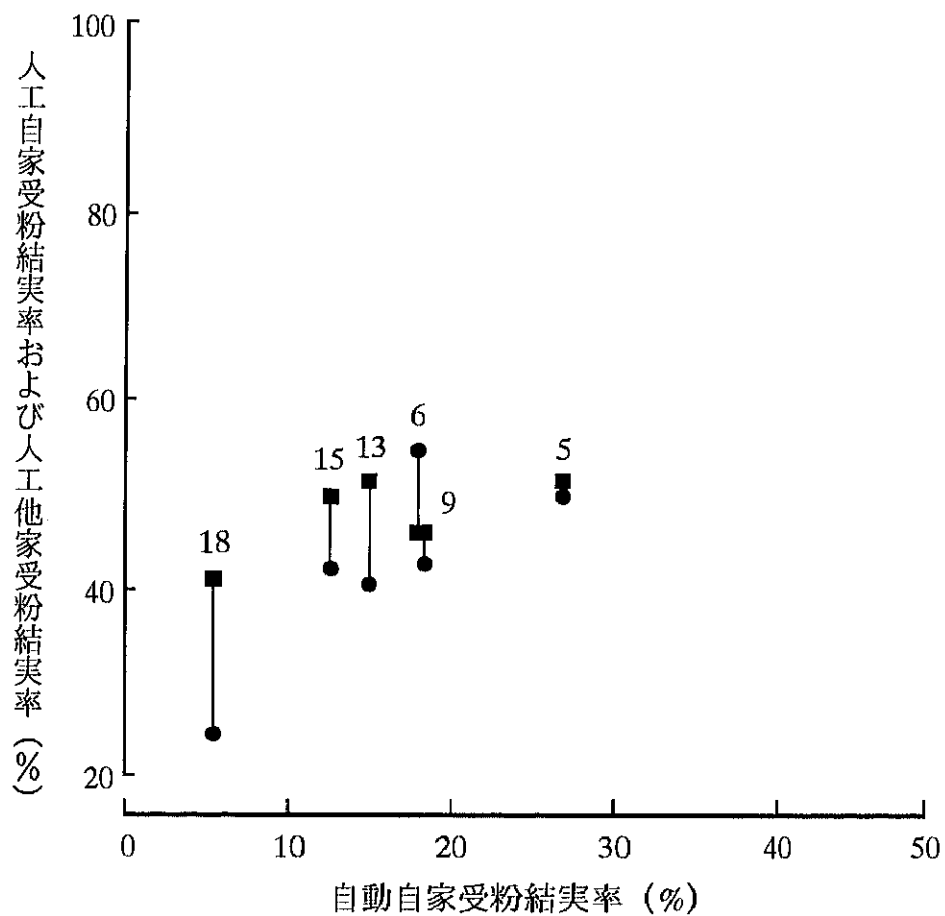


図2-4. 品種「Knock out」(T4) の各個体における自動自家受粉結実率, 人工自家受粉結実率および人工他家受粉結実率の平均値の差異.

● : 人工自家受粉結実率, ■ : 人工他家受粉結実率. 数字は個体番号を示す.

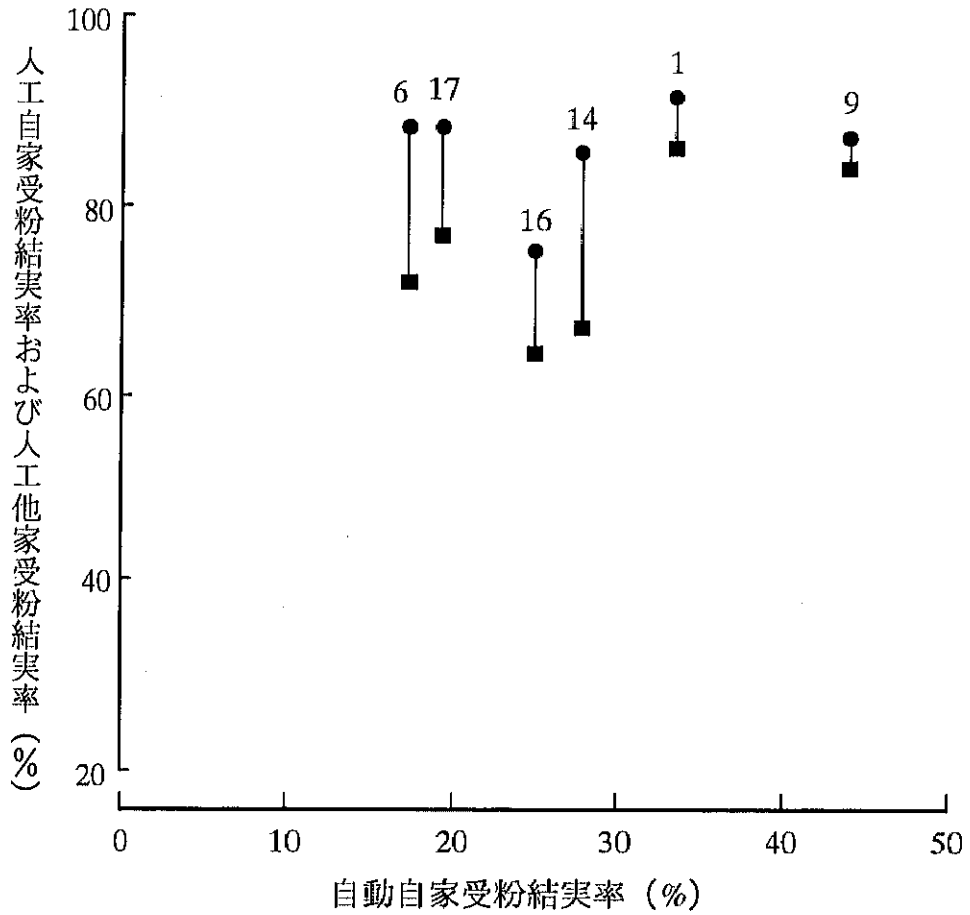


図2-5. 品種「瘤子芥」(C6) の各個体における自動自家受粉結実率, 人工自家受粉結実率および人工他家受粉結実率の平均値の差異.

● : 人工自家受粉結実率, ■ : 人工他家受粉結実率. 数字は個体番号を示す.

率 (RSR-O) は通常の結実率に相当する。彼らの研究によれば、カラシナ類において受粉花粉粒数が増加すれば RSR-O は向上するが、500 粒の花粉でも約 80% となっており、100%近い結実率を得るためには 800~1,000 粒の花粉が受粉される必要がある。また、彼らの用いた 2 品種において同じ受粉花粉粒数当たりの RSR-O は異なっていることから、通常の自然受粉における結実率の平均値や最大値は品種によって異なるものと思われる。

自殖性の低い「Knock out」(T4) と自殖性の高い「瘤子芥」(C6) の 2 品種について、正逆交雑を利用して胚珠と花粉の結実能力を解析した。その結果、「Knock out」(T4) は全ての受粉処理において「瘤子芥」(C6) よりも結実率が低く、胚珠の結実能力が低いことが分かった。また、人工自家受粉結実率と人工他家受粉結実率の結果から、「Knock out」(T4) の花粉を用いた受粉では、「瘤子芥」(C6) の花粉を用いた受粉よりも結実率が低かったことから、「Knock out」(T4) の花粉は「瘤子芥」(C6) の花粉よりも結実能力が低いことが分かった。

以上の結果から、「Knock out」(T4) の結実率が低い原因は胚珠の結実能力が低いだけでなく花粉の結実能力も低いためであることが分かった。カラシナ類だけでなく、他の植物においても雌雄両配偶子の稔性や配偶子の組み合わせにより胚珠と花粉の結実能力が異なる様々な品種や系統が存在するものと思われる。このように、生殖様式を論ずる場合には雌雄両配偶子の稔性や配偶子組み合わせによる胚珠や花粉の結実能力について事前に知る必要がある。

第 3 節 受粉量が少ない場合の莢内胚珠部位による結実能力の差異

両性花を備えた不完全自殖性植物においては、花粉媒介者のいない状況下では自動自家受粉を余儀なくされ、花粉媒介者のいる条件と比較して受粉花粉粒

数が少なくなり結実率が低くなる可能性がある。実際に、カラシナ類を自動自家受粉によって結実させた場合には、莢内のいくつかの胚珠がわずかに実るだけで、1 莢当たりの結実種子数が少なくなる (本章第 2 節)。

ところで、柱頭から伸長してきた花粉管が受精し易い胚珠の部位や結実し易い胚珠部位にはかなり決まった法則性があることが知られている (Hill and Load 1986; Stephenson *et al.* 1988; Namai and Ohsawa 1992)。アブラナ科植物では、花粉管は柱頭側から子房中央部に位置する胚珠が最初に受精することが知られている (Hill and Load 1986)。

そこで本節では、カラシナ類の自動自家受粉に着目し、少量の受粉花粉が受精・結実する際に莢内の胚珠の部位によって結実率が異なるか否かを検討した。

材料および方法

カラシナ類の中で自殖性が低いタイの「Knock out」(T4) と自殖性が高い中国の「瘤子芥」(C6) の 2 品種についてビニルハウス内の隔離網室で自動自家受粉によって継代栽培した自殖第 2 代 (S_2) における各品種 4 系統を供試した。これらは、次に述べるような手順で選抜した。「Knock out」(T4) については原集団 (S_0) においてこの品種としては自動自家受粉結実率が高い個体 T4-7 (44.4%) と中程度の個体 T4-10 (28.0%) から採種した自殖第 1 代 (S_1) 系統の中からそれぞれ結実率が高い個体 T4-7-6 (11.2%) と T4-10-15 (18.6%) および低い個体 T4-7-1 (9.7%) と T4-10-12 (3.2%) を選抜した。これらの自殖第 2 代 (S_2) 個体から自動自家受粉によって採種した系統を材料とした。「瘤子芥」(C6) については原集団 (S_0) において、この品種としては自動自家受粉結実率が中程度の個体 C6-1 (74.5%) と低い個体 C6-5 (54.1%) から採種した自殖第 1 代 (S_1) 系統の中から、各系統内で結実率が高い個体 C6-1-6 (37.8%) と C6-5-4 (2.3%) および低い個体 C6-1-7 (12.2%) と C6-5-6 (0.8%) を選抜した。これらの自殖第 2 代 (S_2) 個体か

ら自動自家受粉によって採種した系統を材料とした。

1992年2月29日に筑波大学農林技術センター内の温室内でビニルポットの培養土 Metro-Mix350 (Grace Sierra 社製) に播種した。4月1, 2日に各系統約30個体を6号植木鉢に個体ごとに植えて移植し、ビニルハウス内の隔離網室 (#300 寒冷紗) に移して栽培した。花が盛期に達した6月17日と6月19日に各系統の中で無作為に6個体を選び、各個体当たり6花について開花2日後の柱頭を採取し、顕微鏡下で自動自家受粉粒数を数えた。また、結実後各個体の主茎花房の中程にある20花について莢の部位ごとの自動自家受粉結実率を調査した。すなわち、これら20花が結実後、各莢を開き種子の結実した胚珠部位を調べた。各莢の2室に分かれている各室ごとに莢の部位を柱頭側、中央部、花梗側に3等分し、部位ごとに種子数と胚珠数を数えて結実率を求めた。なお、本実験では花当たりの平均胚珠数±標準誤差は「Knock out」(T4) が 16.7 ± 2.4 、「瘤子芥」(C6) が 25.1 ± 1.2 であった。

結果

表2-3に示すとおり、「Knock out」(T4) と「瘤子芥」(C6) の各品種4系統の自動自家受粉による平均結実率は統計的に有意ではないが自殖性の低い「Knock out」(T4) が14.4%であり、自殖性の高い「瘤子芥」(C6) でも19.4%と低かった ($t = 1.004 < t_{(6, 0.05)} = 2.447$)。また、各品種とも部位ごとの結実率は花梗側が柱頭側よりも有意に低く、種子は柱頭側から中央部にかけて実り易かった。しかし、その傾向は品種、系統、個体によって異なっており、「瘤子芥」(C6) の柱頭側は32.0%と非常に高かったのに対し、「Knock out」(T4) では柱頭側でも16.9%とそれほど高くなく、中央部とほぼ同じ結実率であった。したがって、「瘤子芥」(C6) の平均結実率が高かった原因は柱頭側の結実率が高かったためであると思われる。

表 2-3. 品種「Knock out」(T4) および「瘤子芥」(C6) における莢内部位別自動自家受粉結実率

部位\品種	「Knock out」(T4)		「瘤子芥」(C6)		平均値
	平均値 (%)	標準誤差	平均値 (%)	標準誤差	
柱頭側	16.9 ¹⁾ a ²⁾	7.9	32.0 a	11.3	24.5
中央部	16.5 a	9.0	19.4 b	6.6	18.0
花梗側	9.9 b	7.3	6.8 c	0.4	8.4
平均値	14.4		19.4		

¹⁾ 4系統の平均値を示す.

²⁾ 品種ごとに結実部位間で Duncan の多重検定を行い, 同じアルファベットは5%水準で有意差のないことを示す.

品種内の系統ごとに莢内部位ごとの自動自家受粉結実率をみると (図 2-6, 図 2-7), 「Knock out」(T4) では柱頭側と中央部の結実率がほぼ同様であり, 花梗側の結実率との差も小さく, かつ, 受粉花粉粒数が少ない系統は結実率が著しく低かった. 一方, 「瘤子芥」(C6) では部位ごとの結実率の大小が受粉花粉粒数に関係なく明確であった. また, 両品種において平均結実率が最も高かった系統 T4-10-15 について系統内の各個体ごとにみると (図 2-8, 図 2-9), 「Knock out」(T4) では結実率の高い個体から低い個体まであり, 約 20%の平均結実率を示し, 部位ごとの結実率の差が小さい個体が多かったのに対し, 「瘤子芥」(C6) はどの個体も部位ごとの結実率の大小が明確であった. したがって, カラシナ類の自動自家受粉では結実しにくい花梗側に近い胚珠には, 花粉間の競争力の弱い花粉が受精して結実する可能性が高いことが分かった.

考察

花粉管が柱頭から胚珠に侵入して受精する際, 最初に侵入した花粉が受精し易い胚珠の部位や結実し易い胚珠の部位には, 植物の種類ごとによりかなり決まった法則性があることが知られている (Hill and Load 1986; Stephenson *et al.* 1988; Namai and Ohsawa 1992). 例えば, 野生ダイコンでは柱頭側から伸長してきた花粉管は柱頭側から中央部の胚珠が早く受精し易く花梗側の胚珠が先に受精することはない (Hill and Load 1986). マメ科のベニバナインゲン (Rocha and Stephenson 1990) やズッキーニ (Stephenson *et al.* 1988) においては, 子房の柱頭側と中央部の中間に位置する胚珠が最初に受精し, その部位に実った種子の次代植物は他の部位に実った種子の次代植物よりも揃って旺盛な生育をすることも知られている.

さらに Namai and Ohsawa (1986) は, 柱頭に受粉した花粉粒数当たりの結実種子数を意味する受粉花粉の生殖成功率 (RSR-P) と 1 花当たりの胚珠の生殖成功

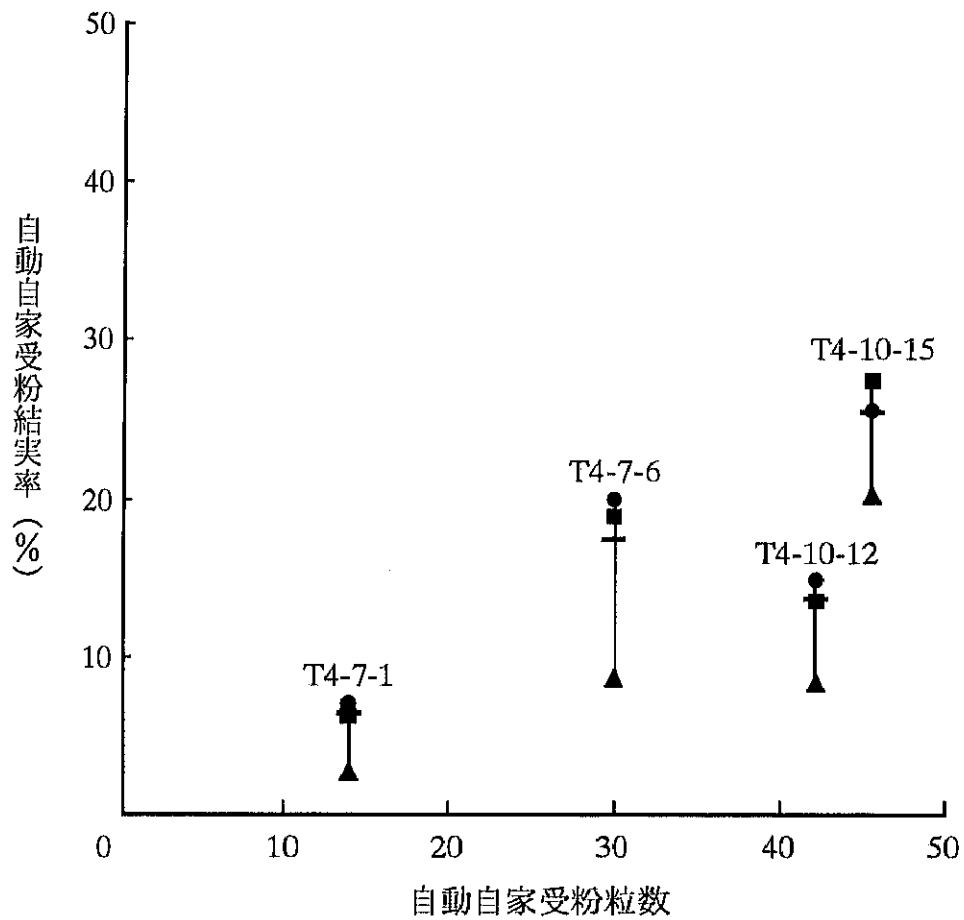


図2-6. 品種「Knock out」(T4)における各系統の自動自家受粉粒数と莢内部位別の自動自家受粉結実率の関係.

● : 柱頭側, ■ : 中央部, ▲ : 花梗側, — : 系統平均. 英数字は系統番号を示す.

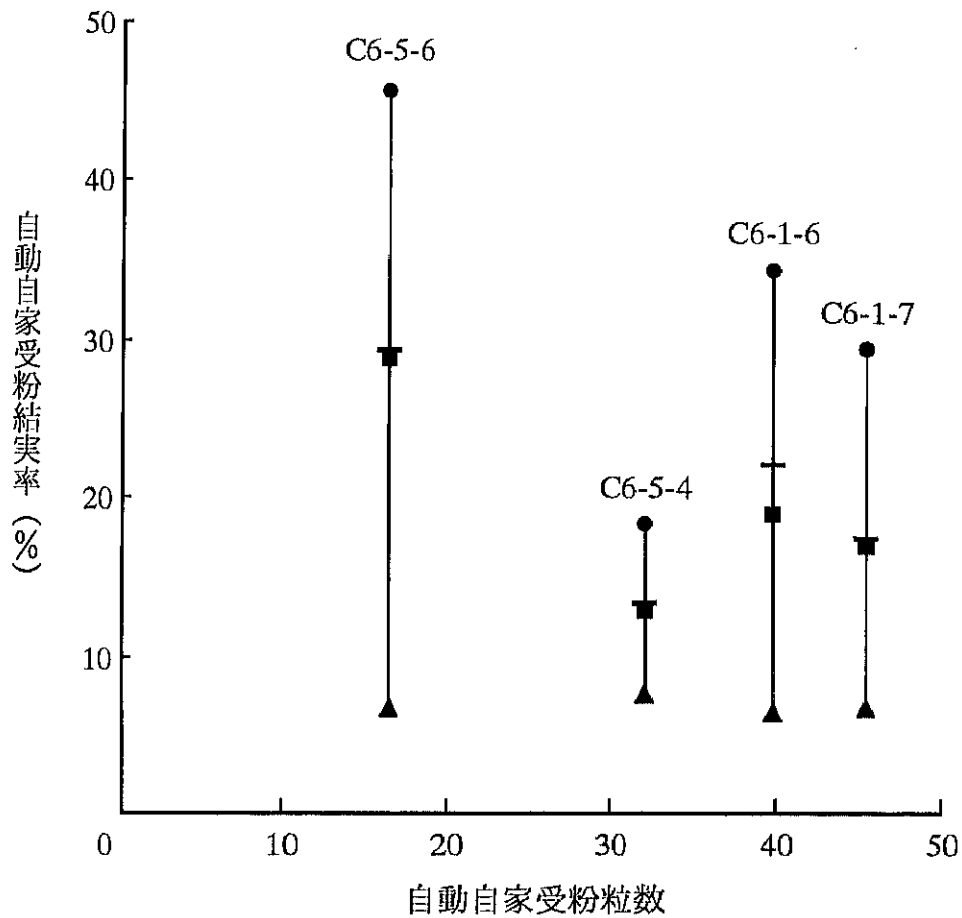


図2-7. 品種「瘤子芥」(C6)における各系統の自動自家受粉粒数と莢内部位別の自動自家受粉結実率の関係.

● : 柱頭側, ■ : 中央部, ▲ : 花梗側, — : 系統平均. 英数字は系統番号を示す.

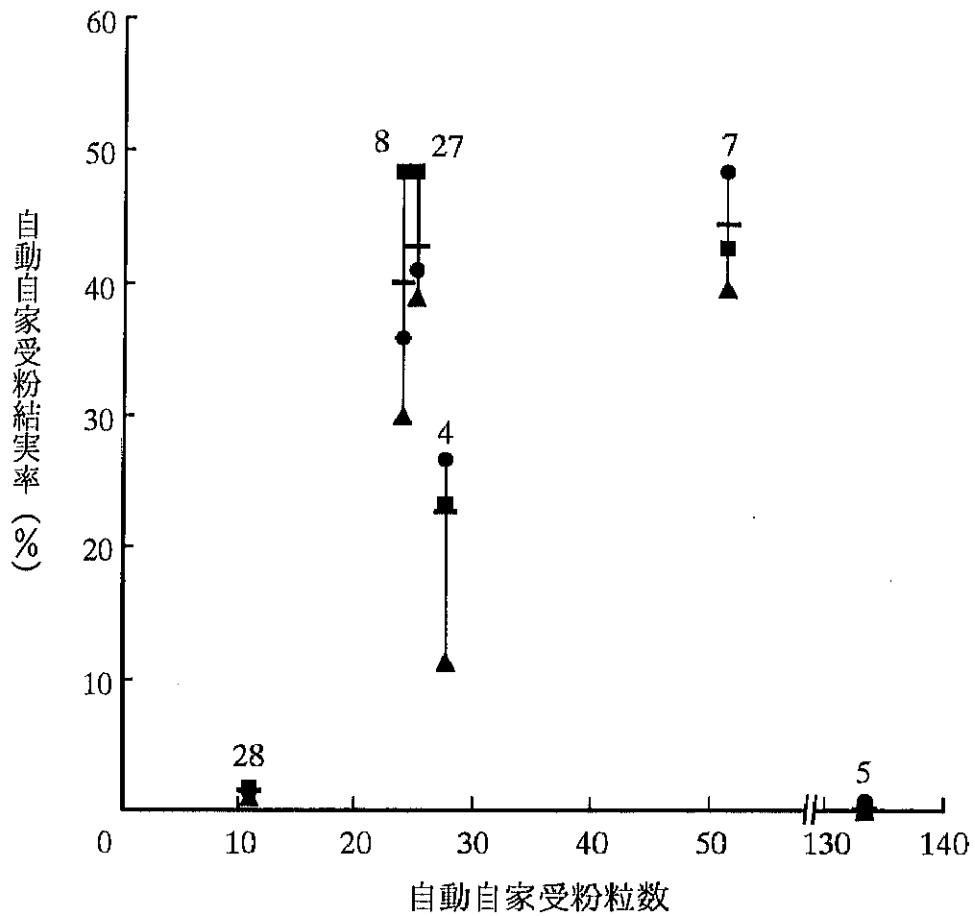


図2-8. 品種「Knock out」(T4) の系統T4-10-15における各個体の自動自家受粉粒数と莢内部位別の自動自家受粉結実率の関係.

● : 柱頭側, ■ : 中央部, ▲ : 花梗側, - : 系統平均. 数字は個体番号を示す.

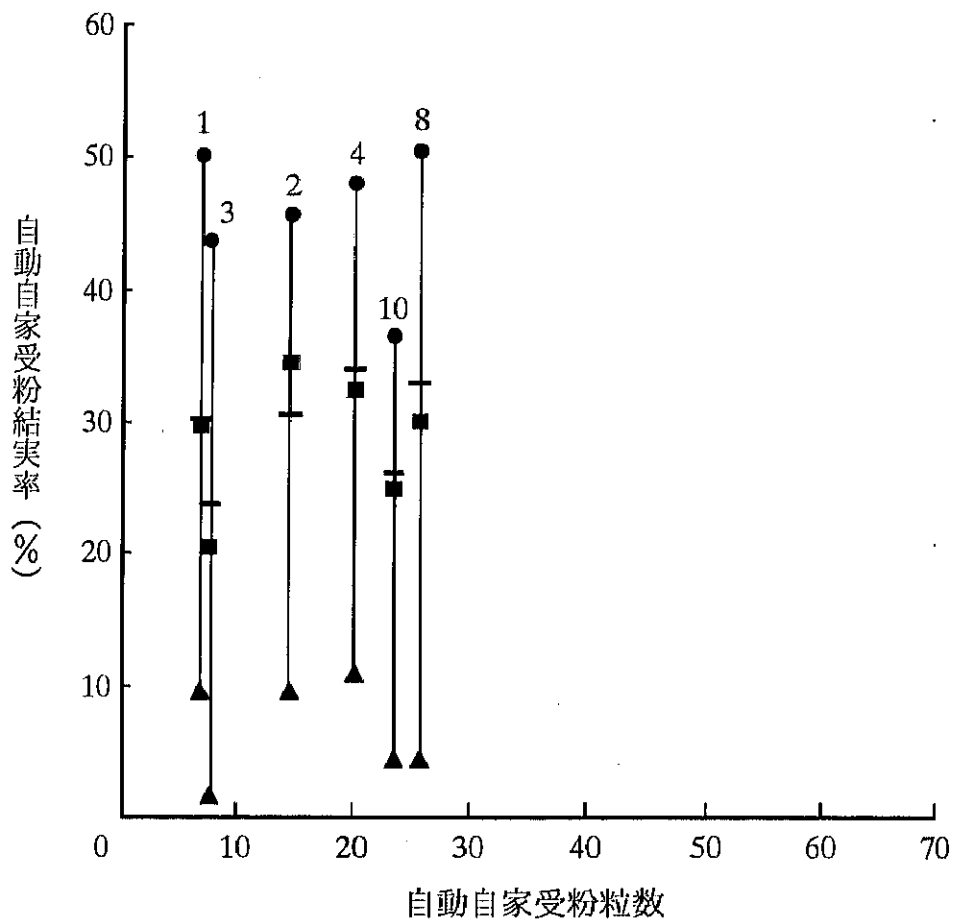


図2-9. 品種「瘤子芥」(C6) の系統C6-5-6における各個体の自動自家受粉粒数と莢内部位別の自動自家受粉結実率の関係.
 ●: 柱頭側, ■: 中央部, ▲: 花梗側, —: 系統平均. 数字は個体番号を示す.

率 (RSR-O) という概念を提起し、毛状の針金を利用して花粉粒数を制御した受粉実験を行っている。彼らの報告によれば、カラシナの RSR-P は受粉花粉粒数が 1~4 粒では 0%であるが、5 粒では約 12%となり、1 花当たりの胚珠数と同数の 20 粒の花粉が受粉されると RSR-P は約 24%と最高値を示す。20 粒以上の花粉が受粉されると受粉花粉粒数が増すごとに RSR-P は減少し、500 粒では約 3%となる。また、RSR-O は受粉花粉粒数が 1 花当たりの胚珠数と同数の 20 粒では約 24%であるが、100 粒でも約 52%であり、受粉花粉粒数が増加するに連れて徐々に高まるが直線的には向上せず、500 粒の花粉が受粉されても RSR-O は約 82%である。さらに、ほぼ全ての胚珠が結実する場合の花では 800~1,000 粒が受粉されている。したがって、最高の RSR-P 値を示す 20 粒前後の花粉が受粉されたときに花粉間の競争が最も小さくなることから、このような少量受粉によれば、多量受粉では結実し得ない競争力の弱い花粉でも受精に至ることができ、変異が拡大する可能性を報告している。しかし、20 粒前後の花粉が受粉されて RSR-P が最高値を示した場合でも、花粉間の競争力には差があると考えられる。このことから少量受粉においても花粉の競争力の違いによって結実し易い胚珠の部位があり、結実種子の莢内部位によって種子の特性が異なる可能性があるものと予想される。

本実験に用いた自殖性の異なる「Knock out」(T4) と「瘤子芥」(C6) の 2 品種においては、自動自家受粉では受粉量にかかわらず、いずれも結実し易い莢内部位は柱頭側であることが明らかになった (図 2-6, 図 2-7)。柱頭側から花梗側への結実率の減少の傾向を見ると、自殖性の低い「Knock out」(T4) では柱頭側の胚珠は花梗側の胚珠よりも高い結実率を示したが、その差異は自殖性の高い「瘤子芥」(C6) に比べて小さかった (表 2-3)。ただし、「Knock out」(T4) でも平均結実率の高かった系統 T4-10-15 は他の系統とは異なり、花梗側でも比較的高い結実率を示した (図 2-8)。一方、「瘤子芥」(C6) では受粉量に関係なく柱

頭側の胚珠が他の部位に比べて非常に高い結実率を示した (図 2-9), それゆえ, 「瘤子芥」(C6) は「Knock out」(T4) よりも平均結実率が高かった (表 2-3). 以上のことから, 自殖性の低い「Knock out」(T4) は自殖性の高い「瘤子芥」(C6) よりも自家受粉花粉粒数が多くなければ受精・結実できないが, 平均受粉花粉粒数は 50 粒以下であり, 莢内部位間における結実率の差異も小さいので, 結実部位の異なる種子間における次代特性の差は小さいものと思われる. また, 「Knock out」(T4) は胚珠の結実能力が低いため, 花粉間競争が受精・結実に明確に反映されず, 結実率の部位別差異が小さかったものと思われる. したがって, 「Knock out」(T4) において平均結実率の高かった唯一の系統 T4-10-15 は自動自家受粉粒数が多かった (自動自家受粉能力が高かった) ために胚珠の部位全体の平均結実率が高かったと考えられ, 自動自家受粉能力の向上が自殖性の向上に影響することを示唆している. このことから, 自動自家受粉による受粉量によって結実率が大きく異なる「Knock out」(T4) を供試して, 花粉媒介者を排除した条件下で自動自家受粉能力や自家和合性程度の品種内変異を調査することや継代栽培によって自動自家受粉能力などの変化を追究することは, 生殖生物学的に大きな意義があるものと思われる.

Namai and Ohsawa (1992) はカラシナとダイコンについて毛状の針金を用いて受粉花粉粒数をいろいろに変えた受粉により, 胚珠の結実し易い部位について解析している. 彼らが供試したカラシナ品種「葉からしな」では, 30 粒以下の少量受粉では莢の中央部の結実率が柱頭側よりも低く, 31~100 粒では莢の中央部の結実率が他の部位よりも低いという結果であった. 一方, ダイコン品種では受粉量にかかわらず, いずれの品種でも花梗側が柱頭側よりも高い結実率を示した. したがって, 本実験の結果とあわせると, 種や品種さらに品種内の系統や個体によって受精し易い胚珠の部位や結実し易い胚珠の部位は大きく異なることが分かった.

不完全自殖性カラシナ品種では自殖性の低い「Knock out」(T4)でも自殖性の高い「瘤子芥」(C6)でも各花の子房において、自動自家受粉によって結実し易い胚珠の位置は花梗側よりも柱頭側であったことから、花粉間で競争力の強い花粉は先に柱頭側の胚珠と受精すると考えられ、花梗側に近い胚珠ほど競争力の弱い花粉が受精することが示唆された。競争力の弱い花粉は、多様な潜在的遺伝変異を有していたとしても、多量受粉のように花粉間に強い競争が生じる受粉では受精・結実にあずかり得ないものと考えられる。本実験で行った自動自家受粉のような少量受粉では、数十粒の花粉しか受粉されないために花粉間競争が生じにくく、多様な花粉が結実に至り変異が拡大する可能性がある (Ter-Avanesian 1978; Schlichting *et al.* 1987; Namai *et al.* 1991)。また、自動自家受粉のような少量受粉によって花粉間の競争を少なくし、競争力の弱い花粉を受精・結実に至らせた場合でも、相対的に競争力の強い花粉は柱頭側の胚珠に受精・結実し易く、花梗側に実った種子の方が柱頭側に実った種子よりも潜在的遺伝変異を有している可能性が高いものと思われる。ただし、結実率の低い品種では、莢内部位間における結実率の差異が小さいので、種子の部位による潜在的遺伝変異の大きさの差は小さいものと思われる。

したがって、ヘテロ性の高い不完全自殖性植物において、少量受粉としての自動自家受粉または少量花粉による人工自家受粉によって継代栽培し、結実部位別に採種して系統を育成する方法は、潜在的遺伝変異を拡大できる可能性が高いものと考えられる。特に花梗側の結実種子を用いればその可能性が一層高まり、遺伝資源の維持・増殖と有効利用のための採種法として活用できるものと考えられる。しかし、その前にまず、供試材料としての不完全自殖性カラシナ品種の生殖様式を明確にしておく必要がある。

要約

植物には、いかに子孫を残すかといった適応度の問題がある。種子繁殖植物における生殖様式は植物自身の適応度と密接な関係があるが、その基本となる結実能力がなければ植物は種族を維持することはできない。したがって、不完全自殖性カラシナ品種の適応と分化について生殖生物学的観点から追究する本研究では、初めに供試植物の結実能力の程度について明らかにする必要がある。

そこで、第 2 章では、自殖性の程度が異なるカラシナ品種の胚珠と花粉の結実能力を検定した。

まず、花の齡すなわち雌蕊と花粉の齡による結実能力を、自殖性の低い「Knock out」(T4) と自殖性の高い「瘤子芥」(C6) の 2 品種を供試して調査した。開花数日後の老化した雌蕊と老化した花粉を用いた組み合わせの自家受粉による結実率は自殖性の低い「Knock out」(T4)、自殖性の高い「瘤子芥」(C6) ともに開花翌日は開花当日と同様であるけれども、開花後 2~4 日の老花受粉による開花当日の受粉と比較して低かった。花粉媒介者の制限された条件下では同一花内の自家受粉 (自花受粉) や老花受粉を含めた同一植物内の花間の自家受粉 (隣花受粉) が行われ、自動自家受粉によって採種した場合には集団の分化が促進され易い可能性が高いものと思われる。また、花粉が葯上に残存することのできる開花後 3~4 日の雌蕊と花粉でも結実が可能であることから、開花当日に受粉できなくても、後日、隣花受粉や老花受粉により結実して種族を維持することが可能であることが明らかとなった。

次に、受粉花粉の量と質を考慮した胚珠の結実能力を同じく「Knock out」(T4) と「瘤子芥」(C6) の 2 品種を供試して調査した。受粉花粉の種類を変えて、自動自家受粉、人工自家受粉、品種間の正逆交雑による人工他家受粉の結果、自殖性の低い「Knock out」(T4) は全体的に低い結実率を示した。また、自殖性の低い「Knock out」(T4) の花粉で結実した場合の結実率は自殖性の高い「瘤子芥」(C6) の花粉で結実した場合の結実率よりも低かった。

芥」(C6)の花粉で結実した場合よりも低かったことから、「Knock out」(T4)における自殖性が低い原因は胚珠と花粉の結実能力が「瘤子芥」(C6)よりも低いためであることが明らかとなった。したがって、他の植物においても雌雄両配偶子の稔性や配偶子の組み合わせによる花粉と胚珠の結実能力が様々な品種や系統が存在すると思われ、生殖様式を論ずる場合には事前に結実能力を知っておく必要がある。

さらに、受粉量が少ない場合の莢内の部位別結実能力を、同じ2品種を供試して調査した。少量の花粉しか受粉されない自動自家受粉では、「Knock out」(T4)は柱頭側と中央部の結実率が同程度の値を示し、花梗側との結実率の差も小さく、かつ、受粉花粉粒数が少ない系統は結実率が著しく低かったが、「瘤子芥」(C6)では受粉量にかかわらず莢内における部位ごとの結実率の差が明確であり、柱頭側が花梗側よりも結実し易かった。自殖性の低い「Knock out」(T4)は自殖性の高い「瘤子芥」(C6)よりも自動自家受粉による受粉花粉粒数が少ないと受精・結実しにくいですが、平均受粉花粉粒数は50粒以下であろうと莢内部位間における結実率の差異も小さいので、種子の結実部位による次代生育特性の差は小さいものと思われる。

以上のことから、自殖性の低い「Knock out」(T4)は自殖性の高い「瘤子芥」(C6)よりも結実能力が小さいことが明らかとなった。このように胚珠や花粉の結実能力を把握しておくことは、植物集団の適応や分化を生殖生物学的に追究する上で最初に理解しておくべき重要な事項である。また、自殖性の低い「Knock out」(T4)は品種内変異が大きいことから、植物の適応や分化を追究する上で適した供試材料であるものと思われる。