

第5章 総合考察

多くの種子繁殖植物は個々の花に雌蕊と雄蕊が存在する両性花を持つ (Frankel and Galun 1977). それらのうち虫媒受粉植物は, 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る不完全他殖性や不完全自殖性の植物であることが知られている (Ornduff 1970; DeGrandi-Hoffman *et al.* 1984; Aide 1986; Namai 1986; Jarne and Charlesworth 1993). これらの植物は環境の変動に適應するために集団内の遺伝変異を維持・拡大する他殖の機構と, 生育環境下において最適適應度を示す遺伝子型を増大させて斉一性を高める自殖の機構を共有しており, 個々の植物ごとに様々な環境に対して最も適應的な繁殖体系をとりながら進化している (Stebbins 1957; Oka and Morishima 1967). 種を存続するために重要となるのが生殖様式である. 生殖様式はそれ自身が進化の産物であると同時に進化の原動力となる. しかし, 植物の生殖様式の進化を論じた報告はある (Jain 1976; Lande and Schemske 1985; Holsinger 1988; Inoue 1990; Iwasa 1990; Yahara 1992) が, 生殖様式を支配する要因について継代的に解析した報告はない. したがって, 個々の植物の生殖様式を自家和合性程度と自動自家受粉能力に分けて考え, 受粉・受精・結実様式やそれに付随した生育特性を生殖生物学的に解析し, 植物集団がどのような生殖様式で繁殖を行い環境に適應していくかを知ることが, 個々の植物集団が適應・分化してきた過程の解明に不可欠である. しかし, 自家和合性程度と自動自家受粉能力の品種間・品種内変異について詳しく調べた例はほとんどなく, また, 自動自家受粉採種で継代栽培した場合の自家和合性程度と自動自家受粉能力の変化および 1 花における胚珠 (O) 当たりの花粉生産量 (P) である P/O 比の変化に関する研究はほとんどない.

本研究は以上の観点から, 不完全自殖性カラシナ品種の生殖様式を自家和合性程度と自動自家受粉能力に分けて解析して, カラシナ品種の適應や変化に関

する生殖生物学的研究を行ったものである。

すなわち、第 1 章では不完全自殖性カラシナ類における自家和合性程度と自動自家受粉能力の品種間変異を明らかにするとともに、自動自家受粉能力に関連する花器形質の品種間変異を明らかにして、自動自家受粉能力と花器形質との関係を追究することによって、カラシナ類の生殖様式を明確にすることを試みた。第 2 章では、不完全自殖性カラシナ品種の適応と分化に関して生殖生物学的に追究するための基礎としての胚珠と花粉の結実能力を明らかにするために、自殖性の低い「Knock out」(T4) と自殖性の高い「瘤子芥」(C6) の 2 品種を供試して胚珠や花粉の齢と結実能力の関係や、受粉花粉の種類による胚珠の結実能力を調査し、品種による胚珠や花粉の結実能力の差異を明らかにすることを試みた。第 3 章では、自殖性の低い「Knock out」(T4) と自殖性の高い「瘤子芥」(C6) を供試して品種によって結実能力が異なることを考慮して、自殖性程度を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、両性質の最適かつ正確な評価法を確立した。さらに、生殖様式と胚珠 (O) 当たりの花粉生産量 (P) である P/O 比の関係を明らかにした。第 4 章では、自殖性の最も低い不完全自殖性カラシナ品種「Knock out」(T4) を花粉媒介者排除下で自動自家受粉採種によって継代栽培し、原集団 (S_0) で自殖性が中程度の個体に始まり、自殖第 1 代 (S_1) で自殖性が高い個体と低い個体を選抜し、自殖第 2 代 (S_2) 以降は自殖性が高い個体を選抜した場合の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。その結果、自殖性が高い個体由来の系統には自殖後代においても自殖性が高い系統があり、自殖性が低い個体由来の系統と明確に分かれることが分かった。また、花粉媒介者を排除した継代栽培により自動自家受粉能力が向上することが明らかとなった。それに付随して生育特性の変化もみられた。さらに、不完全自殖性カラシナ品種の生殖様式は自家和合性程度と自動自家受粉能力を調整しながら、不

完全自殖性を示すことが最も適応的であることが分かった。また、自動自家受粉能力の向上にともない P/O 比も減少することが明らかとなった。

そこで本章では、長い進化の過程を経て現在に至っており、生殖様式の幅広い品種間変異を示す不完全自殖性カラシナ類の中で、自殖性の高い「瘤子芥」(C6) と自殖性の低い「Knock out」(T4) において明らかになった真の自殖性程度(自動自家受粉結実率)の要因(自家和合性程度と自動自家受粉能力)などの品種間・品種内変異の実態、ならびに自殖性の低いカラシナ品種について花粉媒介者排除下における自動自家受粉採種の継代栽培による生殖様式の分化に関して生殖生物学的追究を行った。これらの研究の結果得られた知見に基づいて、新しい品種を育成する上で必要な植物遺伝資源の保全と有効利用のための効果的な採種法と育種法の確立について検討した。すなわち、第 1 節では不完全自殖性カラシナ品種の生殖様式を自家和合性程度と自動自家受粉能力という観点から論じ、第 2 節では育種法や採種法の確立のために、第 1 節で得られた結論にしたがって、不完全自殖性カラシナ品種を自動自家受粉採種によって継代栽培した場合の適応と分化に関して、生殖生物学的観点から論じた。

第 1 節 不完全自殖性カラシナ品種の生殖様式

高等植物の生殖様式が他殖性から自殖性まで連続的に変異している中で、不完全自殖性はその中間に位置しており、他殖種子と自殖種子を生じるため混殖性と呼ぶことができる(生井 1996b)。不完全自殖性植物が完全他殖性植物と完全自殖性植物の中間に位置している意義は、集団内の遺伝変異の維持・拡大を図る他殖の機構と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増殖を図る自殖の機構をともに備えていることである。したがって、不完全自殖

性植物は完全他殖性植物や完全自殖性植物に比べて環境の変動に対してかなり適応的であるといえる。自殖性・他殖性という生殖様式は、自家受粉によって受精・結実できる性質である自家和合性程度と花粉媒介者の助けを借りずに自家受粉できる性質である自動自家受粉能力という大きな 2 つの要素によって成っている (生井 1991; Namai *et al.* 1992)。しかし、自家和合性程度と自動自家受粉能力の品種間・品種内変異について詳しく調べた例はほとんどなく、自動自家受粉採種で継代栽培した場合の自家和合性程度と自動自家受粉能力の分化に関する研究は皆無に等しい。ゆえに、このような観点からカラシナ類の中で自殖性の低い品種「Knock out」(T4) の生殖様式について自家和合性程度と自動自家受粉能力を明らかにすることは、不完全自殖性植物の適応と分化ならびにその進化的意義を論ずる上で極めて大きな意義がある。

まず、本研究第 1 章、第 2 章および第 3 章で得られた知見に基づいて、不完全自殖性カラシナ品種の生殖様式を総括すると以下のようなになる。

カラシナ類の生殖様式について、自殖性程度の品種間変異が大きいことが明らかになった (第 1 章, 八城ら 2001)。自殖性の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) であった。自殖性程度の品種間変異は自家和合性程度および、柱頭と葯の接触程度や位置関係などの花器形質に関連した自動自家受粉能力の大きさという独立した二形質の変異によって連続的に存在していることが分かった。また、自殖性程度の低い品種は自殖性程度の高い品種よりも自殖性程度の個体間変異が大きい傾向があることから、自殖性程度に関する選抜が可能であるものと思われる (八城ら 2001)。

カラシナ類の中で自殖性の低い「Knock out」(T4) と自殖性の高い「瘤子芥」(C6) の 2 品種について胚珠と花粉の結実能力についてみると、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両品種とも開花後の日数によって徐々に減少した。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、これらの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。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。また、自殖性の低い品種「Knock out」(T4) は自殖性の高い品種「瘤子芥」(C6) よりも花粉と胚珠の結実能力が低いことが分かった。さらに、受粉花粉が少量の場合には、結実し易い莢内部位が決まっており、両品種とも柱頭側が花梗側よりも結実し易かった。しかし、このことは品種によって異なり、自殖性の高い「瘤子芥」(C6) では受粉量に関係なく柱頭側の結実率が抜きん出て高く、自殖性の低い「Knock out」(T4) では柱頭側と中央部は同程度に結実して花梗側との差も小さく、かつ受粉量が増えるにしたがって結実率が向上することが観察された (第 2 章)。

自殖性程度を支配する要因は自家和合性程度と自動自家受粉能力である (生井 1991; Namai *et al.* 1992)。そこで、本研究では自家和合性程度と自動自家受粉能力の簡便かつ正確な評価法を考案することによって不完全自殖性カラシナ品種の自家和合性程度と自動自家受粉能力を評価した。その結果、自殖性の低い「Knock out」(T4) と自殖性の高い「瘤子芥」(C6) において、自家和合性程度には品種間差がなく、自動自家受粉能力は「瘤子芥」(C6) が高いことから、「Knock out」(T4) の自殖性が低い原因は自動自家受粉能力の低さであることが分かった。不完全自殖性カラシナ品種においては品種内にも様々な自家和合性程度や自動自家受粉能力を示す個体が存在していた。特に自動自家受粉能力の変異が大きく、供試 2 品種間に大きな差がみられ、自殖性の高い「瘤子芥」(C6) では自殖性の低い「Knock out」(T4) よりも自動自家受粉能力の程度が高く変異も大きかった。また、1 花における胚珠 (O) 当たりの花粉生産量 (P) を示す

P/O 比の関係は品種内の個体間においては明確ではなかったが、2 品種間に大きな差がみられ、自殖性の高い「瘤子芥」(C6) よりも自殖性の低い「Knock out」(T4) は「瘤子芥」(C6) よりも P/O 比が高かった。さらに、P/O 比と自家和合性程度との関係は特にみられず、自動自家受粉能力と P/O 比の間に相関がみられたことから、カラシナ類において P/O 比は自殖性を支配する要因のうち主として自動自家受粉能力と強い関係があることが分かった (第 3 章)。

本節では、このような不完全自殖性カラシナ品種に関する生殖生物学的知見を踏まえて、不完全自殖性植物の生殖様式の分化について考察した。

通常、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、植物の生殖様式の進化の一つの方向は他殖性から自殖性であると考えられている (Stebbins 1957; Jain 1976; Fægri and Pijil 1979; Wyatt 1983, 1984)。

カラシナ類 (*B. juncea*) などのアブラナ属複二倍体植物は自家不和合性の二倍体種間の雑種として二次性種分化の過程を経て成立したことが細胞遺伝学的研究から明らかにされている (U 1935)。その一つであるアブラナ属複二倍体植物 *B. juncea* は、自家不和合性の二倍体種である *B. rapa* と *B. nigra* の野生型が共存するイラク南部からアラビア半島の地域で両品種の自然雑種として成立したと推測されている (水島・角田 1969)。

アブラナ属複二倍体植物は一般に自家和合性程度が高く不完全自殖性作物であるとされている (Kakizaki 1925)。複二倍体のナタネは不完全自殖性でその自殖性程度に品種間差異があることが報告されている (生井 1983a)。アブラナ属植物では、既存の二倍体種の人為合成による複二倍体種の作出が試みられている (U 1935; Olsson 1960b, 細田ら 1963; 生井・細田 1967; Namai 1987)。これらによると、人為合成種は初期世代では自殖不稔で、かつ放任受粉でも完全不稔の場合から、わずかに自殖稔性を示す場合まであり、世代を重ねるごとに自殖稔

性が向上する例がみられる。

本研究の結果、不完全自殖性カラシナ品種には様々な自家和合性程度や自動自家受粉能力を示す品種や個体があることが明らかになった。不完全自殖性カラシナ品種の自家和合性程度は比較的高く、自動自家受粉能力は様々であることが明らかとなった。ただし、この自家和合性程度や自動自家受粉能力には、品種間・品種内差異があり、両性質が高く自殖性が高い品種から、自家和合性は中程度であるが自動自家受粉能力が低く自殖性が低い品種まであり、個体においては、花粉媒介者がいない環境では全く結実しない個体から、比較的高い結実率を示す個体まであることも明らかになった。

自動自家受粉能力に関しては、雌雄蕊の成熟期の同調程度ならびに雌蕊と雄蕊の位置関係に依存している (Kohn and Barrett 1992; 生井 1996a)。第 1 章ではカラシナ類の自動自家受粉能力に関する形質の種内変異について述べ、自動自家受粉能力は品種間・品種内で大きく異なることを示した。第 2 章ではカラシナ品種の自動自家受粉能力は P/O 比と関連があり、自殖性の高い「瘤子芥」(C6) は自殖性の低い「Knock out」(T4) よりも P/O 比が低いことを示した。

植物集団が環境の変動に適応するためには、集団内の遺伝的変異の保持と生育環境下での最適適応度を示す遺伝子型の増加という矛盾する条件を満さなければならず、個々の植物集団は個々の生育環境条件に対して最も適応的な繁殖体系を取りながら進化しているものと考えられている (Stebbins 1957; Oka and Morishima 1967)。

多くの植物種が不完全な他殖性または自殖性を示すといわれている (Ornduff 1970; DeGrandi-Hoffman *et al.* 1984; Aide 1986; Namai 1986; Jarne and Charlesworth 1993)。Inoue (1990) は有効な花粉媒介者の種類に変異がみられる場合に中間的な他殖性となることをホタルブクロの他殖率の研究から考察している。また、植物には隠蔽的自家不和合性を示す種が知られている (Weller and Ornduff 1977,

1989; Bowman 1987; Casper *et al.* 1988; Cruzan and Barrett 1994). これらの植物は自家受粉でも結実できるが、自家受粉による自殖種子だけでなく他家受粉による他殖種子も得ようとする性質を持っており、花粉媒介者排除下なら自殖種子を实らせるが、花粉媒介者がいれば他殖が主となる。

他殖性と自殖性の中間的な混殖性などの生殖様式を示すためには自殖性の程度を求めなければならない。これまで自殖性の評価法として、アロザイムを利用した自殖率が用いられている。これは自然条件下で自家花粉と他家花粉が混合受粉された場合に、親集団のアロザイム変異と種子から育てられた子孫集団のアロザイム変異を調べる方法である。前述の Inoue (1990) はこの方法を用いて他殖率 ($1 - \text{自殖率}$) として表している。しかし、この方法は自然条件下であるため花粉媒介者の影響が大きく、植物自身の真の自殖性を評価できるとは考えにくい。花粉媒介者を排除した条件下では、Wyatt (1983, 1984) による自動自家受粉結果率や Levin (1995) による自動自家受粉結実率などがある。真の自殖性としての自動自家受粉結実率も自家和合性程度と自動自家受粉能力に分けることができる (Namai *et al.* 1992) が、これら自家和合性程度と自動自家受粉能力の正確な評価法は確立されていなかった。本研究によって、これら自家和合性程度と自動自家受粉能力の簡便かつ有効な評価法が確立できた (第 3 章)。

また、中間的な生殖様式を示す不完全他殖性や不完全自殖性などの混殖性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の遺伝的斉一性を維持する自殖の機構の両方を備えており、不安定な環境下では完全他殖性植物や完全自殖性植物に比べてかなり適応的であるといえる。これらの観点から、アブラナ属複二倍体植物の不完全自殖性カラシナ品種は自家和合性程度と自動自家受粉能力の程度に品種間・品種内で変異があり (第 1 章, 八城ら 2001), 生殖様式の面から見ても二倍体種に比べて進化した種であるといえる。

その他の栽培植物においてもナタネなどのアブラナ属複二倍体植物やトウガ

ラシ、ナスなども不完全自殖性植物であり、ダイコン類やカボチャ類などは不完全他殖性植物である (生井 1983a, b, 1992)。したがって、カラシナ類だけでなくこれら他の植物についても、本研究により考案された自家和合性程度や自動自家受粉能力の評価法が有効と思われ、生殖様式を自家和合性程度と自動自家受粉能力に分けて考えることで、これまで知られていなかった新しい多くの生殖生物学的知見が得られるものと期待できる。

以上のことから、本研究で用いた自動自家受粉採種によって継代栽培した場合の生殖様式や生育特性の解析などの分析手法を用いた生殖生物学的研究によって、今後、不完全他殖性または不完全自殖性植物の適応と分化の機構の解明が進展するものと期待される。

第 2 節 不完全自殖性カラシナ品種の自動自家受粉採種の継代栽培による適応と分化に関する生殖生物学的解析

両性花を備えた植物は、花粉媒介者のいない状況では自動自家受粉能力を備えた植物だけが自家受粉でき、自家和合性を有していれば自家受精によって自殖種子を結実することができる。また、自殖性が高い植物は 1 花における胚珠 (O) 当たりの花粉生産量 (P) を示す P/O 比が低く、花粉を遠くへ飛散させる必要がないため、無駄な花粉生産を減らしているものと考えられる。しかし、次代植物において近交弱勢が強い個体であれば自殖の子孫は集団から淘汰される。そのため結果的に近交弱勢がないかまたは近交弱勢が弱い植物だけが子孫を維持することになる。花粉媒介者の密度が少なくなる状況は自然環境下でも十分考えられる。したがって、他殖性集団から自殖性集団への進化は逆の場合よりも起こり易く、植物の生殖様式の進化の主要な方向であると考えられている

(Stebbins 1957; Jain 1976; Fægri and Pijil 1979; Wyatt 1983, 1984). このような植物の生殖様式の適応や分化については、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; Schemske and Lande 1985; Aide 1986; Uyenoyama 1986; Yahara 1992).

Yahara (1992) は Uyenoyama (1986) の難解なモデルを分かり易くして発展させた。近交弱勢と他殖のコストの両方が変化する場合を想定し、Lande and Schemske (1985) の植物の生殖様式が他殖性か自殖性のどちらかに進化するというモデルと Uyenoyama (1986) の血縁個体どうしの交配が無視できない条件下において部分的自殖性が進化的に安定するというモデルの他にいくつかの新たなモデルを示した。これらのモデルを合わせると、生殖様式の進化の方向については、①完全な自殖性か他殖性に分化して進化的に安定する場合、②中間的自殖性に分化して進化的に安定する場合の他に、③様々な自殖性 (または他殖性) の程度において進化的に安定しており生殖様式の分化が起こりにくい場合があることになる。さらに Yahara (1992) は、Holtsfold and Ellstrand (1992) のアカバナ科 *Clarkia tembloriensis* について他殖のコストと近交弱勢を彼らの実験結果から推定したデータをプロットし、集団内に自殖性が中程度の個体から高い個体までが混在した状態で進化的に安定していることを③の実例として示した。

ところで、本研究第 4 章により得られた知見によると、不完全自殖性のカラシナ類の中で最も自殖性の低いタイの品種「Knock out」(T4) では、花粉媒介者を排除した隔離網室で自動自家受粉採種によって継代栽培し、自殖第 1 代 (S_1) で自殖性が高い個体と低い個体を選抜し、以後自殖性の高い個体を選抜したところ、自殖性が高い個体由来の系統は低い個体由来の系統より世代を重ねても自殖性が高く、自殖性程度は変化することが分かった。自殖性程度の変化を自家和合性程度と自動自家受粉能力に分けてみると、自家和合性程度に特に変化はなく自動自家受粉能力に大きな向上がみられた。このことは、カラシナ品種

は適度に自家和合性程度を備えた植物であるため、自動自家受粉能力の向上によって自殖性程度が向上したものと思われる。しかし、自殖第 5 代 (S_5) まで継代栽培しても自殖性程度に一定以上の飛躍的向上はみられなかった。その自殖第 5 代 (S_5) において受粉花粉の量と質を考慮して、自家和合性程度と自動自家受粉能力の変化について検討した。その結果、同一の親個体において多量の花粉による人工自家受粉や人工他家受粉によって得た系統は自動自家受粉能力が低下するなどの傾向がみられた。したがって、花粉媒介者排除下で少量の自家花粉しか受粉されない自動自家受粉採種を続ければ自動自家受粉能力が向上するが、自動自家受粉採種を中断して人工的に多量受粉した場合や花粉媒介者が豊富にいる環境下で採種した場合には、植物は自動自家受粉能力を必要としないため淘汰圧がかからず自動自家受粉能力が低下するものと思われた。

また、原集団 (S_0) の 1 個体から自動自家受粉または人工自家受粉によって継代した自殖第 6 代 (S_6) 系統においては自殖性程度の変化に伴って、1 花における胚珠 (O) 当たりの花粉生産量 (P) を示す P/O 比も変化した。特に自動自家受粉能力が P/O 比と相関が高く、P/O 比は自動自家受粉能力と深い関係があることが分かった (Yashiro *et al.* 1999)。このように、不完全自殖性カラシナ品種「Knock out」(T4) は受粉花粉の量や質などの受粉条件に敏感に反応し、種族を維持するために適応的な繁殖体系を示すことが明らかとなった。さらに、自家和合性程度が高い系統は自動自家受粉能力が低く、自動自家受粉能力が高い系統は自家和合性程度が低い値を示すなどの傾向もみられた。このことから、「Knock out」(T4) では、他殖性と自殖性の間で不完全自殖性などの混殖性を示すことが進化的に最も安定した状態であると推察できる。したがって、「Knock out」(T4) は Lande and Schemske (1985) によるモデルに相当する①の場合の植物ではなく、Uyenoyama (1986) モデルに相当する②または Yahara (1992) モデルに相当する③の場合に近い集団であるものと思われる。

Iwasa (1990) は、資源配分モデルによって自殖の進化を考察している。これは、植物の持つ資源は一定であるという制約のもとで、適応度を最大にするための花粉媒介者の誘因と種子生産や植物形態などへの資源配分を示すモデルである。花粉媒介者を引きつけるために花の機構や花粉、花蜜に資源を多く使えば、種子生産量が少なくなる (Iwasa 1990; 巖佐 1992)。さらに、自家不和合性のために他の個体の花粉を受粉しなければ、種子を生産しにくい場合もある。第 3 章第 2 節において自殖性が低い個体由来の系統で分枝数が増加するなどの変化がみられたことから、植物は近交弱勢により自殖が困難な場合には、分枝数を増すことで花数を増加させ、他殖のために植物の資源を配分していたとも考えられる。このように植物は自殖性の変化に伴う生育特性の変化もみられ、生殖様式は植物の分化に関して極めて重要な役割を果たしていることが確認された。

以上、本研究では不完全自殖性カラシナ品種には生殖様式に大きな品種間差異があることを示すとともに、花粉媒介者を排除するなど生殖過程に影響する受粉条件を制限することによる適応と分化について生殖生物学的に解析した。不完全自殖性カラシナ品種は花粉媒介者を排除するなどの受粉条件を制限して自動自家受粉採種によって継代栽培すれば、適応度を高めるために各個体は自動自家受粉能力などの生殖様式はもとよりそれに付随した形質も変化させることが明らかとなった。すなわち、花粉媒介者を排除するなど生殖様式に影響する条件を制御することで、特定の形質を変異させることが可能であることが分かった。一方、形質の安定した市販品種の種子を十分に採種するためには、花粉媒介者が豊富にいる条件が必要であることが分かった。したがって、ここで得られた知見によりカラシナ類などのアブラナ科植物をはじめ不完全他殖性や不完全自殖性などの混殖性植物集団における遺伝資源の維持・増殖や変異の拡大・安定化を図るための効果的な採種法や育種法を確立する上で、本研究のような生殖生物学的研究が大いに役立つことを実証できた。