

学 位 論 文 題 名

Variation in isozyme and sterility between tow forms
and among populations of *Utricularia australis* in Japan.

（日本産タヌキモの酵素多型分析による区分と不稔性の集団間変異）

学位論文内容の要旨

種子による有性繁殖に加えて何らかの栄養繁殖をおこなう種が多いことは水域で生育する被子植物の大きな特徴である。しかし実際にそれら二つの繁殖方法が個体の繁殖や長期的に見た場合の系統の維持においてそれぞれどの程度貢献しているかは多くの場合わかっていない。水生植物群落の安定性、そしてなぜ多くの種で栄養繁殖が進化したのかという問題を考える上でこれらの情報は必須である。また、一部の種は不稔性のため栄養繁殖だけで存続しているが、不稔の原因や、栄養繁殖系列での突然変異の蓄積が有性繁殖機能の崩壊につながっていく過程は具体的には理解されていない。

本研究は、池沼の水生植物であるイヌタヌキモの有性繁殖と栄養繁殖の相対的寄与、タヌキモ（狭義）が主に分布する北海道の、各地の集団の稔性状態とその変異を明らかにすることを目的とした。国内のタヌキモ（広義）にはタヌキモ（狭義）とイヌタヌキモが知られていて、それぞれ独立種、またはイヌタヌキモはタヌキモ（広義）の一品種として扱われている。従来、イヌタヌキモではふつうに結実がみられるのに対しタヌキモ（狭義）は不稔とされていた。これらを対象に、野外観察、栽培下の交配実験、花粉培養、酵素多型分析などの調査を行ない以下の知見を得た。

①栽培下の交配で得られたイヌタヌキモの実生に対する酵素多型分析では、兄弟間で対立遺伝子の分離による酵素泳動パターンの相違が見られた。しかし野外集団の場合は、ほとんどの池沼については同じ池から採集した個体は同じパターンを示した。このことから、自然集団の個体は直接には栄養繁殖に由来し、かつ個々の集団は多くの場合単一のクローンからなると考えられた。一方、集団間にはパターンの差異があり、長期的には種子が新しいクローンの成立に寄与する可能性を示唆した。栽培下の交配実験では、自家受粉、及び酵素泳動パターンから同じクローンに属すると考えられる個体間で交配した場合の結実率はいずれも低く、両者で有意差はなかった。しかし異なるクローンに属する個体間で交配すると高い結実率を示した。これは同一クローン内の交配では自家不和合性が働いたためか、あるいは種子形成に異常をきたすようなホモ接合が生じるためと考えられた。自然集団で観察された結実率は栽培下での自家受粉、同一クローン内の交配の場合と同程度の低い値を示したが、これは各集団が単一のクローンと考えられたことと合致した。

②これまで単に不稔とされていたタヌキモ（狭義）の北海道各地の集団を対象に、野外での果実形成、結実の有無の観察、栽培下での交配実験、花粉培養をおこなった結果、（１）道東（釧路湿原、霧多布湿原など）に正常な稔性を持つ個体からなる集団が分布すること、（２）勇払地

域に種子形成能を持ち、正常な花粉もある程度作られているが、自家不和合性もしくは近交弱性のために集団内の交配では結実しない集団があること、(3) 道央に、他系統から正常な花粉を与えられれば結実するが、自身は正常な花粉を形成しないために集団内の交配では結実しない雄性不稔の集団が分布すること、(4) 道南と勇払地域に雌性器官、雄性器官ともに機能しない両性不稔の集団が分布すること、が示された。酵素多型分析では個々の集団、および近隣の集団は殆どの場合同型で、酵素泳動パターンの違いは主に地域間に見られたことから、北海道のタヌキモを幾つかの地域系統に分けることができた。稔性状態の違いはこの地域系統の違いに対応した。両性不稔と雄性不稔の両系統は酵素のパターンが良く似ていたことから近縁であると考えられたが、このことは両性不稔が雄性不稔を経て進化した可能性を示唆している。

④タヌキモ（狭義）とイヌタヌキモは花茎、または栄養繁殖器官である殖芽がない時季は識別困難であるが、国内各地から採集された植物体を対象とした酵素多型分析の結果、少なくとも2酵素（alcohol dehydrogenase、phosphoglucisomerase）が両者の間で明瞭なパターンの違いを示した。これらは両者の識別に利用できる可能性がある。また両者の間の遺伝的交流は（人為的にはイヌタヌキモと稔性のあるタヌキモとの間の交配は可能だが）長く起こっていなかったことを示唆した。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 岩 熊 敏 夫
副 査 教 授 東 正 剛
副 査 教 授 甲 山 隆 司
副 査 教 授 原 登志彦
副 査 教 授 木 村 正 人

学 位 論 文 題 名

Variation in isozyme and sterility between tow forms
and among populations of *Utricularia australis* in Japan.

(日本産タヌキモの酵素多型分析による区分と不稔性の集団間変異)

水生植物の多くは有性繁殖に加え何らかの栄養繁殖を行なう。一部の種は不稔性で栄養繁殖だけで存続している。有性繁殖が重要な役割を持つなら、なぜ不稔性の系統が存続できるかは大きな問題であり、本来有性繁殖がどのような役割を持っていたかが課題となる。また不稔性の仕組みや、有性繁殖機能の崩壊の過程で栄養繁殖系列での突然変異の蓄積が及ぼす影響は具体的には理解されていない。これらの問題を調べるには互いに近縁な不稔性、稔性の両方の系統を対象に稔性系統での有性繁殖と栄養繁殖の役割、不稔性の各集団における不稔の仕組みを比較することが必要である。日本産のタヌキモ（タヌキモ科）はイヌタヌキモとタヌキモ（狭義）に分けられ、従来前者は種子生産があり、後者は不稔とされていた。本研究は日本産タヌキモを対象に、野外観察、交配実験、花粉培養、酵素多型分析により有性繁殖と栄養繁殖の役割および不稔の機構を検討したものである。得られた結果は以下の通りである。

1. イヌタヌキモの実生では対立遺伝子の分離による兄弟間の酵素泳動パターンの相違が見られたが、各自然集団はほとんどの場合同型を示した。集団内で二型を示した集団では、その泳動パターンから、どちらかが他方の交配に由来するのではないと結論され、また両者の間の交配に由来すると考えられるパターンを持つ個体は見つからなかった。これらから、個々の集団は単一かごく少数のクローンからなり、各個体は種子ではなく殖芽に由来すると考えられた。自家受粉、および複数の酵素で同じ泳動パターンを示した個体間で交配した場合の結実率はいずれも低く、両者

の間で有意差はなかったが、異なるパターンを持つ個体間で交配すると高い結実率を示しその差は有意であった。これは同一クローン内の交配で種子形成を妨げる近交弱性か自家不和合性があるためと考えられた。このことは自然集団における低い結実率、および各集団は単一のクローンと考えられたことと合致した。

2. これまで単に不稔性と考えられてきたタヌキモ（狭義）の北海道各地の集団を対象とした交配実験と花粉培養の結果、（1）道東に種子形成能を持つ集団が分布すること（2）勇払に種子形成能を持ち、正常な花粉もある程度作られているが近交弱性か自家不和合性のために集団内の交配では種子ができない集団があること（3）道央と勇払地域に雄性不稔の集団があること（4）道南と勇払地域に両性不稔の集団があること、が示された。酵素多型分析では各集団または近隣の集団ではほとんどの場合同型で、違いは主に地域間に見られたことから、北海道内の集団は各地域系統に分けることができた。交配実験と花粉培養で示された稔性状態の違いはこれら地域系統の違いと対応した。稔性を持つものも含めて異なる稔性状態を示す系統が北海道内に見られたこと、また雄性不稔と両性不稔の二つの系統は酵素泳動パターンが良く似ていたことから、不稔性の進化が北海道内で起こったこと、及び両性不稔が雄性不稔を経て進化した可能性が考えられた。

3. アルコール脱水素酵素とグルコースリン酸イソメラーゼについてタヌキモ（狭義）とイヌタヌキモの間での明瞭な泳動パターンの相違があった。このことは両者の間の遺伝的交流が長く起こっていなかったことを示唆していた。実際に野外でこの2品種は同所的には分布していない。

4. 種子生産のあるイヌタヌキモ集団でも実際には栄養繁殖だけが有効なので不稔性系統の存続も可能と考えられたが、酵素泳動パターンはタヌキモ（狭義）よりもイヌタヌキモでより多くの組み合わせが見られたことから、長い時間スケールで見ると種子に由来する新しいクローンが定着していると考えられた。パターンの相違は集団内ではなく集団間で見られたので種子の方が他の器官よりも未定住の池沼への移住が起こりやすいという可能性が考えられた。

本研究は水生植物における栄養繁殖と有性繁殖という2つの繁殖様式の意義を明らかにし、不稔性が比較的狭い地域で独立して定着することやその不稔性の進化過程を解明したものである。生物多様性研究上の新しい成果であるとともに、保全生物学上も重要な知見を提供している。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、また大学院における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が研究者として誠実かつ熱心であり、博士（地球環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判断した。