

論 説

ムラサキツユクサ花粉発育期の微細構造について

仁木輝緒*・中沢 潤**

Studies on the fine structure of pollen development in
Tradescantia reflexa Rafin.

Teruo NIKI* and Zyun NAKAZAWA**

ムラサキツユクサ花粉発育過程の微細構造については、Bal and De (1961), Maruyama (1965, 1966-a, b), Mephram and Lane (1970) らによって報告されており、また、Echlin (1968a, b, 1969, 1972) は *Helleborus foetidus* について、Sanger and Jackson (1971a, b, c) は *Haemanthus katherinae* について、それぞれ一連の研究結果を発表している。

当研究室では、雄性不稔のムラサキツユクサ3倍体の小孢子退化過程の微細構造の変化を調べるために、その比較として正常なムラサキツユクサの花粉発育過程の電子顕微鏡的観察を行ったので、今回は4分子期から成熟花粉にいたるまでの細胞内の微細構造の変化について、その概要を報告する。

材料および方法

本学甫場に栽培している *Tradescantia reflexa* Rafin. (2n=24) を材料に用いた。

つぼみの中の葯の1個を酢酸カーミンおしつぶし法によって検鏡し、花粉の発育時期を決定した。花粉の発育段階は前報(中沢, 1957, 1972)と同じく P₁~P₁₀ の10段階に分けた。

残りの葯は3% glutaraldehyde 溶液、または paraform-glutaraldehyde 混液(何れも1/15 Mリン

酸緩衝液で pH7.2 に調整)の中で細断し、同液で2時間前固定した後、2% OsO₄ 液 (pH7.2) で後固定を2時間行った。このほか、膜系観察のために、1.5% KMnO₄ 溶液も用いた。

多くの場合、これらの材料を3%酢酸ウラニル液で1時間ブロック染色をした後、エタノール脱水を経てエポン812で包埋した。

切片は酢酸ウラニル、Reynold 鉛染色による二重染色の後、日立 HU-11 型電子顕微鏡によって観察された。

結果および考察

還元分裂後の4分子期にある細胞では、大きな核と大形のでん粉粒の存在が顕著であるが、mitochondria は小形で cristae の発達もわるく、Bal and De (1961) のいわゆる promitochondria に相当する。ゴルジ装置、小胞体、ribosome も存在するが、その量は少ない(図1, 2)。これらは Mephram and Lane (1970) の観察とも一致する。また、核内や核膜の内外膜の間に小球状顆粒が含まれているのがしばしば観察される(図1, 2)。これに類似した顆粒は Maruyama (1966), Mephram and Lane (1970), Dickinson (1971) らによっても報告されている。これら

* 現住所：北海道大学低温科学研究所(札幌市北19条西8丁目)(〒060)

* Present adress : Institute of Low Temperature Science, Hokkaido University, Sapporo, Japan.

** 弘前大学教養部生物学研究室(弘前市文京町1)(〒036)

** Department of Biology, Faculty of General Education, Hirosaki University, Hirosaki, Japan.

の中には、核起原のものもあると思われるが、還元分裂終期で核膜が再構成されるときに、mitochondria, plastid, lipid 顆粒等が核内にとりこまれたものも多い。特異な例として、mitochondria 様の顆粒が数十個の集塊となって、核内に存在しているのがみられた(図3)。これらの核内含物は $P_2 \sim P_3$ 期の核でも認められるが(図4)、その数は少ない。おそらく核外へ排出されたか、核内で分解されたのであろう。

また、この時期の核表面には、Aldrich and Vasil (1970), Dickinson and Bell (1970), Willemse (1971)などが4分子期で指摘しているような核膜の陥入(図5)のほか、核膜の重量現象がみられる(図6)。このような現象は核活動と何等かの関連性があるのかも知れない。なお、核膜形成の際にみられる核一細胞質関係の詳細については別に報告する予定である。

4分子より分離後間もない $P_1 \sim P_2$ 期の小孢子では、核は細胞の中央にあり、液胞もまだ発達していないが(図7)、細胞質器官は次第に発達し、 P_3 期には小さな胞状体の合体によって発達した液胞が細胞質の大部分を占めるようになり、核は片側に偏在する(図8)。この時期になるとでん粉粒は少なくなるが ribosome 量が増し、粗面小胞体も発達する。 P_4 期になるとこの傾向はますます顕著となり、核膜が細胞質内に突出して小胞体と連絡する像しばしばみられる(図9)。 P_4 期の後半には核内 DNA の倍加がみられる(Sato and al. 1967)。

P_5 期になると偏在していた核が再び中央に位置するようになるが、この時期の細胞質内には mitochondria 数が増加し、cristae 構造も発達してくる。 P_6 期に核分裂が細胞の短軸に沿っておこり、花粉壁の furrow 側に大部分の細胞質器官が集まり、その反対側の壁に接した核が生殖核となる(図10)。2娘核の間には、生殖核に接近して一列に並んだ小胞間の癒合によって隔膜を生じ、細胞質を大小に区分するが、初期の段階(P_7 期)ではこの隔膜は花粉壁の intine と連絡している(図11)。栄養核は大きくて、

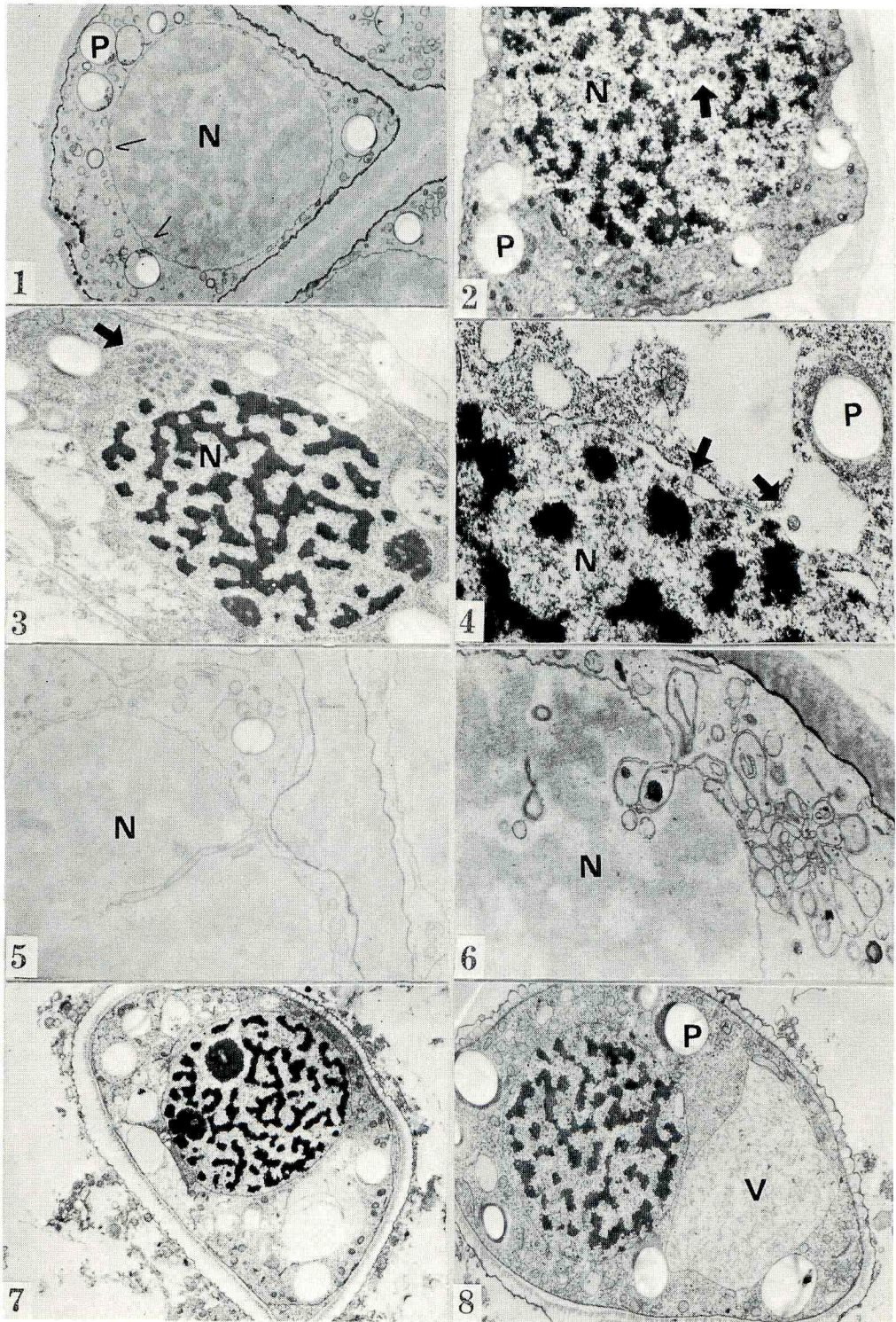
染色質部分は細かく核内に分散し、仁は存続するが、生殖核では染色質部分は粗に凝縮しており、仁は消失する。また、生殖細胞には細胞質部分が少なく、mitochondria、ゴルジ装置、小胞体なども僅かであるが、栄養細胞は細胞質成分にとみ、mitochondria、ゴルジ装置、小胞体は著しく発達し、ribosome 量も多く、両者の間に著しい対照がみられる。

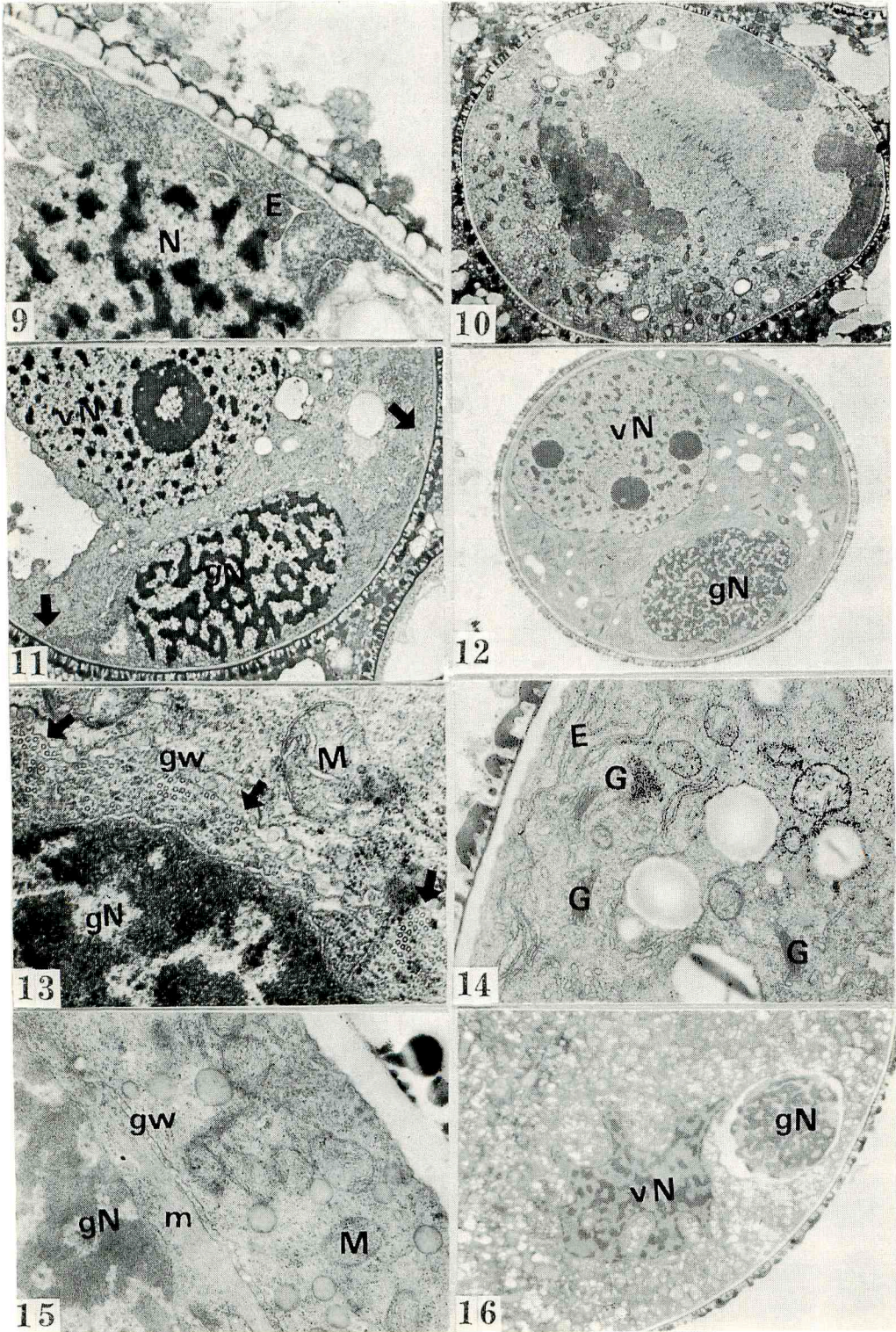
P_7 期から P_8 期に進むと、生殖細胞は花粉壁から遊離して周囲を栄養細胞質に取り囲まれるようになり(図12)、生殖核は次第に楕円状になるが、この時期に生殖核では DNA 合成がおこることが知られている(Sato 1964, 中沢・佐藤 1971)。 P_9 期になると生殖核はさらに発達して紡錘形になるが、その周囲には長軸に平行して多くの microtubules が発達するのが認められる(図13, 15)。Sanger and Jackson (1971)は *Gasteria* の生殖細胞で同様な構造を報告し、これは核の紡錘状の形態を保持する役割をしていると論じている。しかし、Mephram and Lane (1970)は *Tradescantia paludosa* で生殖細胞の分化について詳しい観察を行っているが、このような microtubules については報告していない。

成熟が進むにつれて栄養細胞質中の細胞器官が豊富になるが、特に小胞体の発達が著しく、ゴルジ装置の cisternae や mitochondria の cristae もよく発達している(図14, 15)。そして開葯時の成熟花粉内には代謝系に著しい変化がおこるらしく、栄養細胞中には多量の多糖類または lipid 様顆粒が充満するようになる(図16)。

Maruyama (1965)はゴルジ装置の発生環が、還元分裂期、小孢子期、花粉成熟期の3期に繰り返されることを報告している。今回の観察でもほぼ同様の傾向は認められたが、4分子期にも層状のゴルジ装置が認められる(図1)など、Maruyama の指摘しているほどこの3つの時期が画然と区別されないようである。これは材料、あるいは生育条件の違いによるのかも知れない。

その他、mitochondria, ribosome、小胞体などの花粉発育過程での消長は、Mephram and Lane (1970)





の観察と大体一致する。

なお、栄養細胞と生殖細胞との分化・成熟過程の微細構造の変化および、その細胞化学的性状については、さらに追究中である。

謝 辞

この研究を進めるにあたり、奈良女子大学、重永

道夫名誉教授、左貝アイ子博士、ならびに日本女子大学、大隅正子教授に種々御助言を賜ったことに厚く御礼申し上げる。また、電子顕微鏡写真撮影に協力された田中実君にも謝意を表する。

なお、本研究の一部は文部省科学研究費補助金、総合研究(A) (課題番号 830407) によって行なわれた。

Abstract

The ultrastructural changes in the nucleus and cell organelles during the development of their tetrad into mature pollen grains in *Tradescantia* are described. In the tetrad stage, the cell has some plastids with a large starch granule and a few other cell organelles. The mitochondria are small and look like so-called promitochondria. Nuclear invagination and inclusion of the cell organelles, mainly mitochondria, in the nucleus are often observed.

As the microspore develops, the cell organelles, such as endoplasmic reticula, Golgi bodies and ribosomes, generally increase in number, while the starch grains diminish. A large vacuole arising from the fusion of small vesicles occupies a greater part of the cell cavity.

Prior to microspore mitosis, the nucleus returns to the center of the cell, mitosis then occurring along the short axis of the cell. After the mitosis, one daughter nucleus locates itself opposite the furrow of the pollen wall, and a cell plate is formed around the nucleus and fuses with the pollen wall to enclose the generative cell. After that, the generative cell separates from the pollen wall and suspends in the cytoplasm of the vegetative cell. The generative nucleus elongates into a spindle-shape, and many microtubules grow parallel to the long axis of the nucleus to surround it. In the cytoplasm of the vegetative cell, mitochondria, endoplasmic reticula and Golgi bodies develop remarkably in both quantity and quality during the maturation, and a great deal of lipid-like granules appear at anthesis.

参考文献

- Aldrich, H. C. and I. K. Vasil 1970 Ultrastructure of the postmeiotic nuclear envelope in microspore of *Podocarpus macrophyllus*. J. Ultrastruct. Res. 32 : 307-315.
- Bal, A. K. and D. N. De 1961 Developmental changes in the submicroscopic morphology of the cytoplasmic components during microsporogenesis in *Tradescantia*. Dev. Biol. 3:241-254.
- Dickinson, H. G. 1971 Nucleo-cytoplasmic interaction following meiosis in the young microspores of *Lilium longiflorum*. Events at the nuclear envelope. Grana 11 : 117-127.
- Dickinson, H. G. and P. R. Bell 1970 Nucleocytoplasmic interaction at the nuclear envelope in postmeiotic microspores of *Pinus baksiana*. J. Ultrastruct. Res. 33 : 356-359.
- Echlin, P. 1972 The ultrastructure and ontogeny of pollen in *Helleborus foetidus* L. IV Pollen grain maturation. J. Cell Sci. 11 : 111-129.

- Maruyama, K. 1965 Cyclic changes of the Golgi body during microsporogenesis in *Tradescantia paludosa*. Cytologia 30 : 354-374.
- Maruyama, K. 1966 Behavior of membrane system in the cell during cell divisions of microsporogenesis in *Tradescantia paludosa*. III Postmeiotic mitosis. Cytologia 31 : 257-269.
- Mephram, R. H. and G. R. Lane 1970 Observations on the fine structure of developing microspores of *Tradescantia bracteata*. Protoplasma 70 : 1-20.
- Nakazawa, Z. 1957 Studies on pollen mitosis in relation to the pollen development I. Relation between the changes in the amount⁵ of starch grains and the mitosis during the pollen development in *Pinus* and *Tradescantia*. Sci. Rep. Hirosaki Univ. 3 : 52-59.
- 中沢 潤 1972 培養薬内でのムラサキツユクサの花粉発育について 日本花粉学会々誌 9 : 1-8
- 中沢 潤・佐藤進一 1971 ムラサキツユクサの花粉発育過程での ³H-thymidine のとりこみ (講演要旨) 染色体 85-86:2751
- Sanger, J. M. and W. T. Jackson 1971a Fine structure study of pollen development in *Haemanthus katherinae* Baker I. Formation of vegetative and generative cells. J. C. Sci. 8 : 289-301.
- Sanger, J. M. and W. T. Jackson 1971b Fine structure study of pollen development in *Haemanthus katherinae* Baker. II. Microtubules and elongation of the generative cells. J. C. Sci. 8 : 303-315.
- Sanger, J. M. and W. T. Jackson 1971c Fine structure study of pollen development in *Haemanthus katherinae* Baker III. Changes in organelles during development of the vegetative cell. J. C. Sci. 8 : 317-329.
- Sato, S. 1964 Variation of deoxyribonucleic acid amount during differentiation of the nuclei of pollen in *Tradescantia*. Sci. Rep. Hirosaki Univ. 11 : 35-39.
- Sato, S., Y. Kondo and Z. Nakazawa 1967 On the DNA synthesis in microspore of *Tradescantia*. Sci. Rep. Hirosaki Univ. 14 : 49-52.
- Willemse, M. Th. M. 1971 Morphological and quantitative changes in the population of cell organelles during microsporogenesis of *Pinus sylvestris* L. III. Morphological changes during the tetrad stage and in the young microspore. Acta Bot. Neerl. 20 : 498-523.

写真説明

Figs. 1-16. Electron micrographs of the developing microspores of *Tradescantia reflexa*. 1,5,6, fixed in KMnO₄, the others, fixed in GA-OsO₄. Abbreviations : N, nucleus; P, plastid with a starch granule; M, mitochondria; G, Golgi body; V, vacuole; E, endoplasmic reticulum; m, microtubule; g, generative; v, vegetative; gw, generative cell wall.

Fig. 1. Tetrad stage : small bodies between outer and inner nuclear envelopes (arrows). x4,000. Fig. 2. Tetrad stage : mitochondria-like bodies in the nucleus (arrow). x5,000. Fig. 3. P₂ stage : dozens of mitochondria-like bodies in the perinuclear space. x6,000. Fig. 4. P₂-P₃ stage : a small body between outer and inner nuclear envelopes and evagination of outer nuclear envelope, containing a body (arrows). x20,000. Fig. 5. Tetrad stage : a channel of nuclear envelope into the nucleus.

x7,500. Fig. 6. Tetrad stage : invaginations and piles of nuclear envelope. x10,000. Fig. 7. P₂ stage : a nucleus at the center of the cell. x4,000. Fig. 8. P₃ stage : a well developed vacuole in the cytoplasm. x6,500.

Fig. 9. P₄ stage : ER are connected with the nuclear envelope. x10,000. Fig. 10. P₆ stage : ana-telo-phase of microspore mitosis, most of the organelles are present at the future vegetative side. x4,000. Fig. 11. P₇ stage : the generative cell wall is connected with the intine of the pollen wall (arrow). x4,700. Fig. 12. P₉ stage : the generative cell suspends in the cytoplasm of the vegetative cell. x3,000. Fig. 13. P₉ stage : cross section of microtubules (arrows) around the generative nucleus. x37,500. Fig. 14. P₉ stage : a part of the vegetative cytoplasm; well developed ER and golgi bodies. x20,000. Fig. 15. Early mature pollen stage before anthesis : vertical section of microtubules around the generative nucleus, and well developed mitochondria and lipid bodies in the vegetative cell. x20,000. Fig. 16. Late mature pollen stage after anthesis : an irregular shaped vegetative nucleus and a great deals of reserve vesicles within the vegetative cytoplasm. x6,000.

雑 録

Bee Research Association について

B. R. A. については本誌 No. 11 にも紹介したが、今回ドロシー・ホッジスの名著「ミツバチの花粉荷」を再版することとなった。

D. Hodges : The Pollen Loads of Honeybee.

価格は未定とのことですが、購入希望の有無を調査中ですので、御希望の方（図書館などにも御照会いただけると有難いですが）は、当方まで御知らせ下さい。発刊予定、価格などについて改めて御連絡します。

昨年までに発表されたハチに関連した論文を B. R. A. 図書室あて（できれば4部）お送り下さい。また、できれば当方にも1部御恵送いただけると幸いです。別刷等がお手元にない場合には、発表論文題名、掲載誌をお知らせ下さいませんか？直接 B. R. A. に送っていただいたものについてもお手数ですがよろしくお願ひします。

（当方に5部いただければ、B. R. A. には手配いたします。）

〒194 町田市玉川学園 6-1-1 玉川大学農学部昆虫学研究室 係・松香 光

京都・花粉研究会100回記念集會を祝す

京都付近の花粉研究者グループで約10年前に結成された花粉研究会は昭和49年3月31日に目出度く第100回の記念集會を迎えることとなり、別記プログラムのような花粉科学ゼミナールを開催した。京大名譽教授の木原博士をはじめ多数の花粉学者は會場の京都大学樂友會館2階大ホールを埋め、朝か

ら夕方まで熱心に発表・討論を行った。その盛大な集會を成功させたのは、京都花粉グループの長年にわたる地道な努力と周例な用意によるもので、世話役をされた市河、渡辺諸兄に心から敬意と祝意を表したい(上野実朗)。

特別講演 私の花粉研究 木原 均 P.M. 1:30~2:30

・寿命・交雑・発芽時における静止核と栄養核の行動・転座と花粉稔性・将来

抗原性植物の分布と拡散可能性・とくにSolidagoについて；市河三次 A.M. 10:00

花粉症・セイタカアワダチソウ花粉について；富田 仁 A.M. 10:30
(京大・医)

現生花粉の形態学的諸問題・とくに尾状花序群；上野実朗 A.M. 11:00
(静大理・日本花粉学会会長)

現生及び化石花粉の形態的問題；嶋倉巳三郎 A.M. 11:30
(奈教大名譽教授)

—— 休 憩 ——

タバコにおける葯培養の研究；田中正雄 P.M. 1:00
(大阪・青山短大)

花粉及び生長調節物質によるApomixis誘導の試み；藤下典之 P.M. 2:30
(大阪府大・農)

イネ科作物の花粉について；山田一郎 P.M. 3:00
(島根大学・農)

有機溶媒中の生命・花粉を中心として；岩波洋造 P.M. 3:30
(横浜市大・理)

花粉分析の役割と2・3の問題；那須孝悌 P.M. 4:00
(大阪自然史博物館)

綜合討論； P.M. 4:30 渡辺光太郎

領域別小集會； P.M. 5:00