

論 説

花粉の発芽と花粉管の伸長 IX

ヤマツバキの葯に存在する花粉の発芽と花粉管の伸長を抑制する物質について*(1)

会沢正義**・会沢勝夫***・早川紀信**

The germination of pollen and the elongation of pollen tube IX

On inhibiting substances of pollen germination and pollen tube

elongation existing in *Camellia japonica* anther*(1)

Masayoshi AIZAWA**, Katsuo AIZAWA***& Norinobu HAYAKAWA**

前報¹⁾では、ヤマツバキの花粉の生長に対する花の各部分の影響、熱処理した葯の花粉管伸長におよぼす影響についての結果を報告した。今回、ヤマツバキの葯に存在する抑制物質の性質を調べるために、いろいろな方法でこの物質を取り出して花粉の発芽や花粉管の伸長に与える影響について調べたので報告する。

花粉の発芽や花粉管の伸長に影響をおよぼす物質の寒天板への拡散については、すでに多くの研究がある。たとえば Tsao²⁾は *Hippeastrum Johnsoni* の雌ずいから、三木はテッポウユリ³⁾・チャ⁴⁾・サクラソウ⁵⁾などの雌ずいから、岩波らはヤマユリなど⁶⁾の柱頭やサザンカ⁷⁾の花粉から、また Tanaka⁸⁾はアカマツの花粉から寒天板に花粉の生長に与える物質の拡散を認めている。

そして、これらの物質の半透膜に対する透過性についての研究もあり、Tsao²⁾は *Hippeastrum Johnsoni* の雌ずいに存在する物質はセロハン膜を透過しないと述べているが、三木はユリ³⁾・チャ⁴⁾の雌ずいに存在し花粉管に正の屈向性を示させる物質がコロジオン膜を透過すること、熱処理したチャの雌ずいの負の屈向性を示させる物質は逆にコロジオン膜を透過しないこと、サクラソウ⁵⁾の花柱の物質はセルロース膜・コロジオン膜を透過しないことなどを報告している。Tanaka⁸⁾はアカマツ花粉内の物質はセルロース膜は透過するが、コロジオン膜は薄い場合には、わずかに透過すると述べ、また岩波ら⁷⁾のサザンカの花粉内の物質はセロハン膜を透過しにくいことのほか、テッポウユリの雌ずい内の物質は透析膜を透過することなどが知られている⁹⁾。

* 本研究の一部は、第 16 回日本花粉学会で講演した。

** 神奈川県立青少年センター 〒220 横浜市西区紅葉ヶ丘 9

** Kanagawa Prefectural Youth Center 9 Momijigaoka, Nishi-ku, Yokohama 220

*** 東京医科大学 〒160 東京都新宿区西新宿 6-7-1

Tokyo Medical College 6-7-1 Nishishinzyuku, Shinzyuku-ku, Tokyo 160

材料および方法

この実験に用いた花粉は開花した花から採集したもの、開花直前のつばみから未裂開の葯を採集して机上で裂開させて集めたもの、または、それらを -15°C の冷凍庫に乾燥剤(シリカゲル)と共に保存し、予備実験で発芽力や花粉管伸長力が低下していない花粉が包んである薬包紙のものを使用した。

抑制物質を取り出すために用いた葯は裂開したもので、付着している花粉を取除いたもの、またはそれを乾燥剤と共に -15°C で保存したもので、使用する直前に純水(イオン交換樹脂で製造)で洗い、葯

に水分を吸収させて用いた。

発芽床は純水にショ糖7%、寒天1%を加え、湯せん器を用いて加熱後スライドガラスに厚さ約2mmに流して固めたショ糖寒天板を用いた。これに花粉を一直線状^{6), 10)}に置床(直線法と名づける)し、花粉粒の列から1mm離れた所に試料を置き、 28°C に保温した温室(ペトリ皿に水を吸収させたる紙を入れた)内で20時間培養した。

試料によって受けた花粉の生長の抑制度は、Fig. 1に示したように花粉管の先端を結んだ線の形状によって0~2の数字で示した。

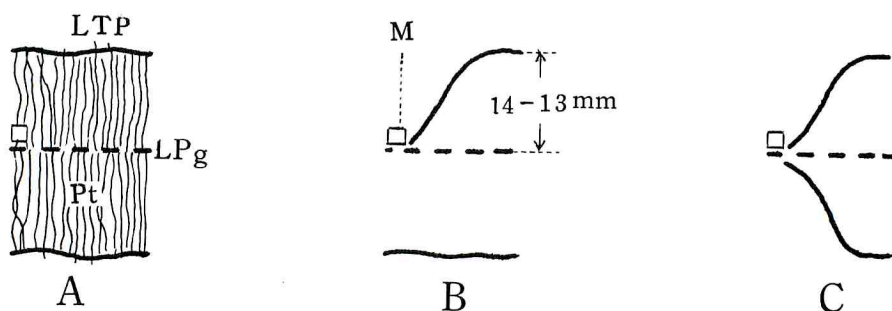


Fig. 1 Diagram showing of the elongation inhibitive effect of pollen tubes

LTP : Line connected tips of pollen tubes

M : Material (An agar bit contained the extract of the anther)

LPg : Line of pollen grains

Pt : Pollen tubes

O : A (No inhibition)

-1 : A-B

-2 : B-C

結果および考察

1. 抑制物質の寒天片への拡散

発芽床用のショ糖寒天板を $5 \times 5 \text{ mm}$ に切り、それに葯を載せて湿室内に入れ、抑制物質を寒天片に拡散させた。一定時間後に葯を取除き、その寒天片をFig. 2に示すように発芽床に置き、上記の方法で花粉を置床して花粉粒の発芽や花粉管の伸長に対する影響を調べた。Fig. 2のA(左図)は葯を載せた寒天片を裏返して葯の付着面を発芽床の表面に直接置

いた場合、B(右図)は付着面の反対側の面を置いた場合である。Aでは寒天片に付着した葯の組織などが発芽床に移る可能性があるが、Bでは拡散した抑制物質自体の作用だけを調べることができる。

この結果がTable 1に示されている。Aの方法で葯を5分間載せただけでも $5 \times 5 \times 2 \text{ mm}$ の寒天片の裏側へ抑制物質が拡散して発芽や伸長を抑制したが、Bの方法では葯が1個の場合は抑制作用を示さなかった。しかし、長時間処理した場合にはAとBとの相違は見られなかった。

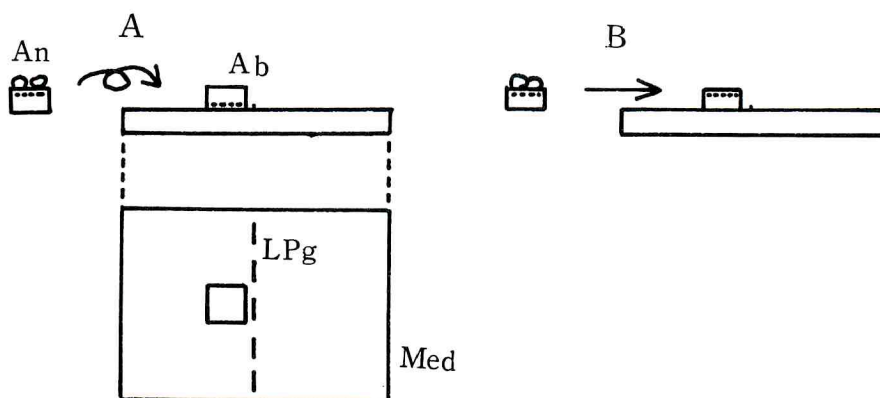


Fig. 2 Diffusion of inhibitive substances from the anther to an agar bit

A : A case put an agar bit on inside out

B : A case put an agar bit as it is

An : Anther

Med : Medium

Ab : Agar bit ($5 \times 5 \times 2^{mm}$)

LPg : Line of pollen grains

Table 1. Effect of inhibitive substances diffused from the anther to an agar bit upon pollen grains germination and pollen tubes elongation.

Time	Method					
	A			B		
	No. of anther			No. of anther		
	0	1	3	0	1	3
5 (min)		-1	-1	0	-1	
30		-1	-1	-1	-1	
60		-1	-1	-1	-1	
2 (hrs.)		-1	-2	-1	-2	
3		-1	-2	-1	-2	
4		-2	-2	-2	-2	
22	0	-2	-2	0	-2	-2

A : A case put an agar bit on inside out

B : A case put an agar bit as it is

これに対して、三木³⁾はテッポウユリなどの雌ずいの切片を寒天板に置いた跡に対して、それらの花粉管が屈向性を示しその作用因子が1時間で拡散したことを認め、チャ⁴⁾の花粉管に正や負の屈向性を示させる作用因子も花柱切片から寒天板に1時間で拡散したことを見ている。ただ、この場合はユリ類の花粉粒を分散して置床した方法(分散法と名づける)での個々の花粉管の屈向性の測定であり、本報では直線法で伸長したヤマツバキの花粉管の抑制度の測定なので、そのまま比較することはできない。

寒天片に多数の薬を載せた時や、その時間が長いほど抑制作用は大きく、一2の抑制を与えるには薬を3個用いた時にはほぼ2時間以上、1個の時はほぼ4時間以上載せる必要があった。

Aの方法は抑制物質が多量に存在すると考えられる寒天片の面が発芽床に接触するのであるから、花粉粒や花粉管に与える影響はBの方法よりも抑制作

用が大きいと考えられる。しかし、薬を寒天片に載せる時間が長い場合は抑制物質が寒天片全体に割合速く拡散するので、A・Bの相違は現われなかったと考えられる。

2. 抑制物質の半透膜に対する透過性

Fig. 3 の下図に示したように、発芽床用の $25 \times 30 \times 2 \text{ mm}$ のショ糖寒天板に薬を1個載せて、その上に $30 \times 35 \text{ mm}$ のセルロース膜 (Visking 社製の Seamless cellulose tubing を切り開いたもの) やコロジオン膜 (試薬の2.5%コロジオンをスライドグラスに流して作製) をかぶせ、更に $25 \times 30 \times 2 \text{ mm}$ のショ糖寒天板を重ね、これに花粉を下側の薬の真上にかかるように一直線状に置床して、花粉管の伸長度によって薬から溶出す抑制物質の半透膜に対する透過性を調べた。

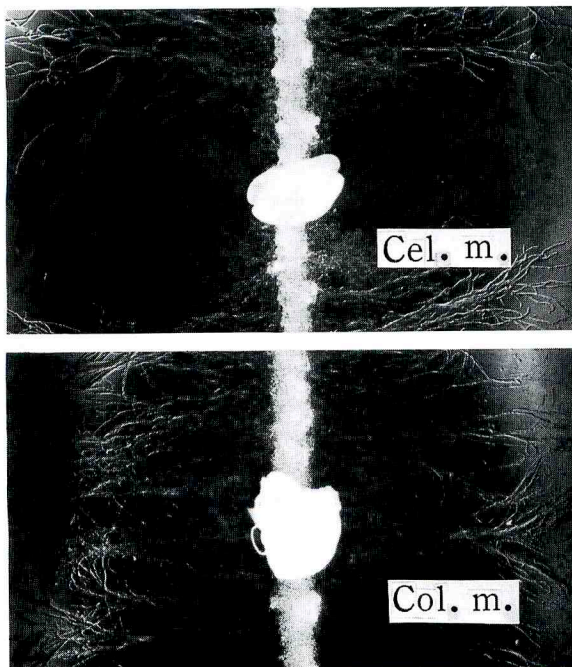
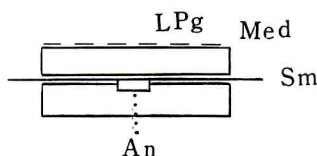


Fig. 3 Permeability of inhibitive substances
Permeating through a cellulose membrane, inhibitive substances suppressed pollen tubes elongation, but did not through a collodion membrane.
LPg : Line of pollen grains
Med : Medium
Sm : Semipermeable membrane
An : Anther
Cel. m. : Cellulose membrane
Col. m. : Collodion membrane



結果は Fig. 3 の写真で示したとおりでセルロース膜（上）の場合は葯の近くの花粉管の伸長が抑制されたが、コロジオン膜（下）の場合はかなり薄くても抑制されなかった。すなわち葯より溶出する抑制物質はセルロース膜を透過したが、コロジオン膜は透過できなかった。この性質は上記の Tanaka⁸⁾が見たアカマツ花粉の抑制物質や、Miki⁴⁾の熱処理したチャの花柱に存在する負の屈向性物質と同様である。

上記の Visking cellulose tubing や試験管にコロジオンを流込んで固めて作ったコロジオンチューブで色素類の水溶液の透過性を調べた結果、この抑制物質と同様なものとしては、iodine がコロジオン膜

をわずかに透過しセルロース膜はよく透過した。neutral red は厚いコロジオン膜は透過しにくかったが、薄いものやセルロース膜は透過した。congo red はコロジオン膜を透過しなかったが、セルロース膜はわずかに透過した。そのため、この抑制物質は、iodine, neutral red, congo red などの粒子性と同様であると考えられる。

この研究について示唆を受けさらに原稿に目を通していただいた横浜市立大学の岩波洋造教授に感謝する。

なお、本研究は昭和 50 年度文部省科学研究費補助金（奨励研究 B・課題番号 92510）の一部によって行なわれた。

文 献

- 1) 会沢正義・会沢勝夫・早川紀信 1975 花粉誌 15 : 17-22
- 2) Tsao, T. H. 1949 Plant physiol. 24 : 494-504
- 3) 三木寿子 1954 植雑 67 : 143-147
- 4) Miki, H. 1955 Bot. Mag. Tokyo 68 : 289-336
- 5) Miki-Hirosige, H. 1961b Mem. Coll. Sci. Univ. Kyoto(B)28 : 365-373
- 6) 岩波洋造・会沢正義 1957 横浜大論叢 8 : 13-31
- 7) ———・高橋京子・中村紀雄 1970 横浜市大紀要（生物）1 : 1-13
- 8) Tanaka, K. 1958 Sci. Rep. Tohoku Univ. (B) 24 : 45-54
- 9) Rosen, W. G. 1961 Amer. J. Bot. 48 : 889-895
- 10) 岩波洋造 1957 植雑 70 : 144-149

Summary

1. It is thought that inhibitive substances contained in *Camellia japonica* anther are water soluble, because they can diffuse from the anther into agar media.
2. The speed of diffusion of inhibitive substances into agar plate was fairly fast but it was necessary plenty time to diffusion of large amounts of inhibitive substances.
3. Inhibitive substances permeated through a cellulose membrane, but did not through a collodion membrane, it is considered that they had the similar size of the pigment molecule of iodine, neutral-red or congo-red.

☆ 花粉研究会（京都）10周年を祝す

関西地区の花粉学者が中心となって活発な研究活動をつづけている花粉研究会（京都）はさきに 100 回記念集会として第 1 回花粉科学ゼミナールを昭和 49 年 3 月 31 日に盛大に挙行了。今年は同会が目出たく 10 周年を迎えることになり、日本花粉学会では祝意をこめて同会と共催で第 2 回花粉科学ゼミナールを昭和 51 年 11 月 14 日（日曜日）に開くことに決定しました。

多くの会友諸氏の参加を希望します。詳しくは日本花粉学会昭和 51 年度集会予告を御覧下さい。

今回は特にアメリカのワシントン大学教授・塚田松雄博士が特別講演をしてくれます。

☆ 塚田松雄博士のプロフィール

昭和 5（1930）年に長野県に生る。本年 46 歳。日本の花粉学者として海外で活躍しているナンバー・ワン。高知大学文理学部の中村純教授の下で花粉分析を学び、のち大阪市立大学理学部生物学科大学院（修士・博士 5 年間）にて上野の指導により花粉形態を研究す。卒業後アメリカに渡り、エール大学スィースル・フェロー（1961）。

現在ワシントン大学教授。岩波新書（910）「花粉は語る」の著者。大学院学生の際に上野の教えたフタバマツとゴヨウマツの花粉識別法をミネソタ大学陸水学研究室ハーブ・ライト教授やその研究員に伝授した話は日米花粉合戦で見事一本勝った気分を味わせてくれる。

今回は上野の定年退官を前にした最後の会長としての司会だと聞いて、中国やポーランドの旅行中を急いで来日し、記念特別講演を引き受けてくれた。このような出藍の譽高い教へ子を持ったことは教育者の冥利であり、昭和 51 年 11 月 14 日の第 17 回集会で彼との再会を楽しみにしている（上野実朗）