

論 説

アブラナにおける花粉の分泌現象と
花粉—柱頭相互反応

山 田 義 男*

Pollen Secretion and the Pollen-Stigma Interaction

in *Brassica pekinensis*

Yoshio YAMADA*

結 言

花粉の発芽と管伸長に関しては、古くから密集効果 (crowding or population effect) という現象が知られている¹⁾。すなわち、*in vitro* と *in vivo* とを問わず、花粉粒は多数群がると、相互に接触することにより花粉粒から液体状の分泌物がだされ、その影響で花粉の生長が刺激される現象である。しかしながら、この現象は必ずしも多数の花粉粒が群がったときにのみ生ずるとは限らず、2個の花粉粒が接触したときにも分泌が生ずることを観察している²⁾。したがって、花粉の密集効果はむしろ花粉粒相互の接触によって生起する花粉の分泌現象と解することができよう。

一方、イネ科植物では、柱頭に花粉が付着すると、柱頭の細胞核が色素に対してきわめてよく染まるようになる。この染色性の変化は、受粉後1～2分で

おこり、柱頭細胞の透過性が急激に増加することによって来し、柱頭反応としてよく知られている³⁻⁵⁾。このさい、柱頭に付着した花粉粒の表面には液滴の分泌がみられ、その結果、花粉粒は強く柱頭細胞にひきつけられる。また、液滴の分泌がみられない花粉粒は発芽しないことが観察されている⁶⁾。この事実は受粉現象において、花粉と柱頭細胞との間に複雑な相互関係が存在することを示唆している。

花粉の分泌現象および花粉—柱頭相互反応に関する多くの研究は、従来、主として生理学的ないしは光顕的⁷⁾立場よりなされてきたが、近年にいたり透過型電子顕微鏡(電顕)による研究⁸⁻¹²⁾が行なわれるようになった。しかしながら、その本質的な問題に関しては、まだ不明なことが多い。その原因の一つは花粉および柱頭細胞の表面微細構造の研究が十分になされていないためと思われる。筆者はこのような観点から、走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いて、*in*

* 〒371 前橋市荒牧町 1375 群馬大学教育学部生物学教室

Department of Biology, Faculty of Education, Gunma University, Maebashi 371, Japan.

vitro における花粉の分泌現象および *in vivo* における花粉—柱頭相互反応をしらべ2、3の知見を得たので、その結果を報告する。

本論文を上野実朗教授退官記念号に寄せる。

材 料 と 方 法

供試材料はアブラナ (*Brassica pekinensis*) の成熟花蕾を用いた。*in vitro* の観察では、開葯直後の新鮮な花粉を採集し、直ちに約 1 cm² のカバーガラスの細片上に置いた寒天培地にまき、30 分後、ガラス片ごと固定した。*in vivo* の観察では、圃場で他家受粉したのち、30 分、1 時間および 6 時間経過した柱頭組織をそれぞれ切りとり、直ちに固定した。

試料はすべて 6.25% グルタルアルデヒド (3% ショ糖、0.1 M リン酸緩衝液、pH 7.2) で 4°C、12 時間前固定し、ついで 2% オスミウム酸 (ペロナール酢酸緩衝液、pH 7.4) で 0°C、1 時間後固定を行った。固定後、試料は Anderson の方法¹³⁾により、アルコール系列を通して脱水し、ついで試料中のアルコールを酢酸アミル、液化炭酸で置換し、臨界点乾燥装置を用いて乾燥した。乾燥した試料はいずれも銅の支持台の上にのせ、Ag ペーストで貼付後、試料表面を C-Au で蒸着し、JSM-15 で観察した。加速電圧はすべて 15 kV である。

観察結果と考察

1. 花粉の分泌現象

寒天培地上にまいた花粉粒には 2～3 個が相互に接触しているものがある。このような花粉群を SEM で観察した表面観を図 1 に示した。3 個の花粉粒は相互に糸状の粘液性分泌物によって連なっている。傾斜を変えて、花粉の表面をさらに拡大してみると (図 2)、外壁 (exine) 外層の小網状紋の中心部が径約 1 μm のドーム状の突起として膨出し、やがて突起の先端が破れて粘液性物質を分泌している状態がよくわかる。分泌物はやがて融合し (図 3)、接触した花粉粒相互の間を連絡するようになるが、図から判断する限りではかなり粘性の高い物質と思わ

れる。遊離した単独の花粉粒においては、このようにいちじるしい分泌現象は認められなかった。

Stanley ら^{14,15)}は花粉を人工培地にまくと、花粉はわずか数秒以内に膨潤し、数分を経ると種々の酵素を含むタンパク質が放出されることを認めている。これらの酵素には esterase, acid phosphatase, amylase, pectinase および cutinase などが含まれていて、*in vivo* では柱頭表面に存在する物質の加水分解に役立つこと、および配偶体レベルで自家不和合性を調節することを示唆している¹⁶⁾。この推測は花粉—柱頭相互反応からみてきわめて重要なことである。一方、Knox ら^{11,12)}の電顕観察によると、このようなタンパク質は、最初は内壁 (intine) の膜孔部分 (pore region) に蓄積しているが、やがて外壁の基部に位置し、内壁に接する intexine と mesine の薄層間に放出されることが確認されている。花粉粒が適当な条件下におかれると、タンパク質は容易に外壁を透過して花粉表面へ分泌され、同時に酵素が活性化されると推論している。アブラナの花粉粒において、表層へ分泌された粘液性物質は、光顕的にアニリン青でよく染まることから、おそらくこのようなタンパク性の物質と考えられる。

2. 花粉—柱頭相互関係

Kroh⁹⁾をはじめ 2、3 の研究者はアブラナ科 (Cruciferae) を用いて電顕的観察を行なっている^{10,12)}。アブラナ科の柱頭は一般に dry stigma に属し、乳頭状細胞の表面は完全にクチクラで被われていて、分泌現象が認められないことを報告している。乳頭状細胞に付着した花粉粒は酵素的にクチクラを破り、この部分で直接乳頭状細胞に接するようになる。*B. nigra* では、乳頭状細胞の細胞壁は外側にクチクラ層、ついで中間に薄いペクチン層が位置し、内側はペクチン・セルローズ層という 3 層から構成されている。他家受粉後、花粉管はクチクラ層とペクチン層に侵入する。花粉管は細胞壁のペクチン組成を溶解しつつ、ペクチン・セルローズ層のセルローズラメラ間を伸長するという。*B. oleracea* では、乳頭状細胞のクチクラ層の外側をさらにワッ

クスの薄層が被っているので、管はワックス層をもつらぬいて侵入する。

以上の電顕的知見をもとに、*B. pekinensis* の受粉後30分の柱頭の表面構造をSEMで観察すると、乳頭状細胞の表面はクチクラと思われる物質で様に被われているが、細胞先端部ではわずかに分泌現象が認められる(図4)。一方、乳頭状細胞に捕そくされた花粉粒の表面構造には、すでに明らかな変化が認められる。花粉外壁の外層を形成する小網状紋の構造は不鮮明になり、くぼみは分泌物によって埋まっている。受粉後、時間の経過とともに、花粉粒の表面はさらに分泌がいちじるしくなってくる。受粉後1時間経過した柱頭の一部分の表面観を図5に示した。花粉粒の分泌現象は、前述の花粉粒相互の接触による分泌過程と同様である。花粉粒から分泌された粘液性物質は隣接する花粉粒や乳頭状細胞の表面に粘着するようになる。この時期の乳頭状細胞表面には明らかに分泌現象が認められる。特に細胞先端部ではいちじるしい。この事実は電顕的知見とは異なるが、おそらく電顕用試料作製中に分泌物が消失したものと考えられる。図6は受粉後6時間を経た柱頭の表面観である。花粉と乳頭状細胞両者の分泌物の相互反応のち、やがて花粉は発芽して花粉管の伸長をみるようになる。アブラナでは単独の花粉粒でも乳頭状細胞に接触することにより分泌を開始する。

以上の観察結果は、アブラナも前述のイネ科植物の柱頭反応および花粉の分泌現象と同様な過程を経ることを示すものと思われる。すなわち、花粉粒は他物と接触することにより刺激を受け、膜の透過性

が変化し、分泌を開始すると考えられる。さらに、受粉が引き金となって、¹乳頭状細胞の分泌がさかんになると推測される。このさい、花粉粒が他物に接触することにより受ける刺激の要因はどのようなものか。また、受粉時、他の高等植物においても、花粉—柱頭間にこのような分泌現象がみられるかどうかを確認することは、両者の分泌物の化学的本性の解明とともに今後の課題であろう。

要 約

供試材料はアブラナの成熟花蕾を用いた。

(1) 走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて、*in vitro* (寒天培地)における花粉粒相互の接触による分泌現象を観察した。接触した各花粉粒においては、外壁外層の小網状紋の中心部は径約1 μ mのドーム状突起として膨出し、やがて突起の先端が破れて粘液性の物質を分泌する。これらの分泌物は融合して糸状になり、花粉粒相互間を連絡するようになる。この分泌物はかなり粘性が高く、アニリン青によく染まることからタンパク性の物質と思われる。

(2) 他家受粉した柱頭表面をSEMで観察すると、乳頭状細胞に捕捉された花粉粒の表面には分泌現象がみられる。分泌は経時的にいちじるしくなるが、分泌現象の様式は*in vitro*の場合と同様の過程を経る。花粉粒は糸状の分泌物により乳頭状細胞に粘着する。この時期の乳頭状細胞にも分泌現象がみられ、特に先端部でいちじるしい。受粉時において、花粉—柱頭間にこのような分泌現象がみられると、やがて花粉は発芽し、花粉管の伸長をはじめると思われる。

引用文献

- (1) Brink, R. A. (1924): Am. J. Bot., **11**, p. 417.
- (2) Ariyasu, T. (1959): Bot. Mag. Tokyo, **72**, p. 473.
- (3) Kato, K. (1953): Mem. Coll. Sci., Univ. Kyoto, Ser. **B20**, p. 203.
- (4) Kato, K., and Watanabe, K. (1957): Bot. Mag. Tokyo, **70**, p. 96.
- (5) Watanabe, K. (1958): *ibid.*, **71**, p. 138.
- (6) 渡辺光太郎 (1974): 京都家政短期大学研究紀要, 第13集, p. 26.
- (7) Stout, A. B. (1931): Am. J. Bot., **18**, p. 686.
- (8) Heinen, W., and Linskens, H. F. (1961): Nature, London, **191**, p. 1416.
- (9) Kroh, M. (1964): in: Pollen Physiology and Fertilization, ed. Linskens, H. F., North-Holland, Amsterdam, p. 211.
- (10) Kroh, M., and Munting, A. J. (1967): Acta Bot. Neerl., **16**, p. 182.
- (11) Knox, R. B., and Heslop-Harrison, J. (1970): J. Cell Sci., **5**, p. 1.
- (12) Knox, R. B., Heslop-Harrison, J. and Heslop-Harrison, Y. (1975): in: The Biology of the Male Gamete, ed. Duckett, J. G., and Racey, P. A., Academic Press Inc., New York and London, p. 177.
- (13) Anderson, T. F. (1951): Trans. N. Y. Acad. Sci., Ser. II, **13**, p. 130.
- (14) Stanley, R. G., and Linskens, H. F. (1965): Physiol. Plantarum, **18**, p. 47.
- (15) Stanley, R. G., and Search, R. W. (1971): in: Pollen: development and physiology, ed. Heslop-Harrison, J., Butterworths, London, p. 174.
- (16) Linskens, H. F., and Heinen, W. (1962): Z. Botan., **50**, p. 338.

Summary

Although a large amount of work has been carried out on the observation of the germination and tube growth of pollen grains using different chemical and microscopic techniques, in this study the SEM has been specifically used to observe the secretion of a group of pollen grains and the pollen-stigma interaction in *Brassica pekinensis*. The results indicate that, 1) the secretion is evident when a group of pollen grains in agar surface are compared with individual grains, 2) secretion bulbs, $1\mu\text{m}$ in diameter, are located in the perforation of the reticulum of the exine surface, 3) a thread-like exudate adheres closely to the surface of a group of the pollen grains, 4) when the grain makes contact with the outer surface of papilla following compatible cross it appears to adhere with it. At this time, exudate covers the surface of the grain. On the other hand, the upper surface of papilla is almost free of exudate, 5) within the first 1 hour following pollination, the papilla begin to commence secretion. These findings are discussed in relation to the pollen growth.

Explanation of Plate

- Fig. 1. Surface view of a group of pollen grains growing on an agar plate, 30 min. in culture. Note that thread-like exudate adheres closely to the surface of three pollen grains (p). x2,300
- Fig. 2. High magnification of the same pollen grain. Details of exine surface with reticulate pattern and secretion bulbs, extruded from the perforation of the reticulum. x7,700
- Fig. 3. The surface view of the same pollen grain. The secretion bulbs disrupt and liberate their contents. These bulbs are coloured characteristically (blue) with the Anilin blue. Fragments of thread-like exudate, presumably containing proteins, are visible in lower part of grain. x7,700
- Fig. 4. Pollen grain (p) in contact with a stigmatic papilla (pc); within 30 min. following compatible pollination. Note that exudate covers the surface of the grain. When the grain makes contact with the outer surface of papilla following compatible cross it appears to adhere with it. At this stage, the upper surface of the papilla is almost free of exudate. x1,500
- Fig. 5. Papilla (pc), covered in pollen grains (p); within 1 hr. following compatible pollination. Note that at the papillar tip there are flakes of exudate (ex, arrows) which are continuous with the cuticle overlying the papilla. At this stage, secretion bulbs are precisely located in the perforation of the reticulum of the exine surface. Therefore, the conclusion can be drawn that compatible pollination triggers release of secretion product from the stigmatic papilla. x2,300
- Fig. 6. Papilla with germinating pollen grains; within 6 hrs. following compatible pollination. x1,100

