

原 著

スギ花粉色素の吸収および蛍光スペクトル

橋 爪 裕 司*

An Introductory Study on the Fluorescence
Spectra of *Cryptomeria* Pollen Pigments

Hiroshi HASHIZUME*

(受付：1980年4月21日)

一般に花色の生化学的研究は、歴史も古く報文の数も多い⁽¹⁾このことは主として、カロチノイド、フラボノイドの天然物有機化学の研究材料として、或いは生合成機構の研究材料として、花すなわち顕花植物の花弁状に発達した器官を使用するのが量的に有利であることから当然である。一方花粉色素の研究はこの点に関して不利であることから現在まで見過ごされている状態である。しかしながら植物生殖生理学の立場から考えれば、当然この研究の重要性は大きく、花色と花粉色との間に特定の関係がないことから考えても、花粉色素に特異的な生理的役割を想定することはそれほど無理な作業仮説ではない。⁽²⁾⁽³⁾花粉色素—この場合花粉母細胞から由来する細胞外壁に沈着した色素—は花粉細胞の原形質と直接相互作用を行うことは、少なくとも花粉発芽前にはないと考えられるので、この問題は当然、光生物学的現象との関連の下に研究することが必要となって来る。1978年 N. Chhabra と C. P. Malik

は、*Arachis hypogea* (マメ科ラッカセイ属)花粉管伸長にファイトクローム系が関与していることを示し⁽⁴⁾更に A. K. Dhawan と C. P. Malik は、*Pinus roxburghii* (マツ科マツ属)をもちいて花粉発芽過程に密接な関連を持つ酸化還元酵素系が、赤色光・近赤外光による活性化と抑制の効果を受けることを示した⁽⁵⁾また M. Sugai によれば、420 nm 前後の光は、モエジマシダ *Pteris vittata* (シダ目イノモトソウ科)胞子の発芽を抑制する⁽⁶⁾本報告では、スギ花粉色素中に見出されたファイトクローム系による花粉発芽制御機構に関連すると考えられる、670 nm 前後の蛍光を発する色素および紫外から 400 nm 前後までの吸収を持つフラボン系色素について、若干の考察を試みる。

材料および方法

花粉色素の調整 開花直前のスギ *Cryptomeria japonica* (スギ科 Taxodiaceae) 雄花約 1 g を、0.

* 静岡大学理学部化学教室 〒422 静岡市大谷 836

Department of Chemistry, Shizuoka University Shizuoka, Japan.

0.05 M リン酸緩衝液 (0.1 M 食塩を含む) pH 7.6 に浸し乳鉢中で押しつぶす。得られた花粉粒の浮遊液を、3.3 mM CaCl_2 を含む 2.3 M ショ糖上に重層し、約 1000 Xg、20 分遠心すると花粉壁はショ糖上に濃縮されるので、この分画をとり等量のエーテルと数回振って色素を描出した。変法として、最初の浮遊液作成のために 99% エタノールを用い、遠心によって上清をとり 4 倍量のエーテルを加え、生ずる白色結晶を除く方法によっても、得られる色素に定性的な変化はなかった。この後、細胞を利用する場合は上記リン酸緩衝液に脱色花粉を浮遊させることによって脱皮させることが出来る。

スペクトルの測定 花粉の反射光による吸収スペクトル(反射スペクトル)の測定には島津マルチパーパス自記分光光度計 M P S-50 L 型を用いた。蛍光スペクトルの測定には、この本体に、ダブルビーム蛍光測定付属装置 2 型を取付け、光源には 100 W の高圧水銀ランプをフィルターなしで使用した。こ

の光源の波長特性の主成分は、253.7nm の輝線スペクトルである。

結果および考察

花粉色素の吸収スペクトル 花粉色素混合物のエーテル中での吸収スペクトル及び花粉そのものの反射スペクトルを図 1 に示す。色素の吸収パターンで 270nm、280—290nm および 315nm の吸収極大の吸光度比は、試料によって異なった値を示すが、この吸収曲線からこの色素はフラボン系、フラバノン系、ないしはカルコン系色素の混合物であることが推定される。事実この色素のセファデックス LH20 カラムクロマトグラフィーによって、数成分のフラボン系色素が得られている。⁽⁷⁾花粉そのものの反射スペクトルには、抽出された色素と比較して赤方移動がみられるが、本質的に両者の差はないと考えられる。

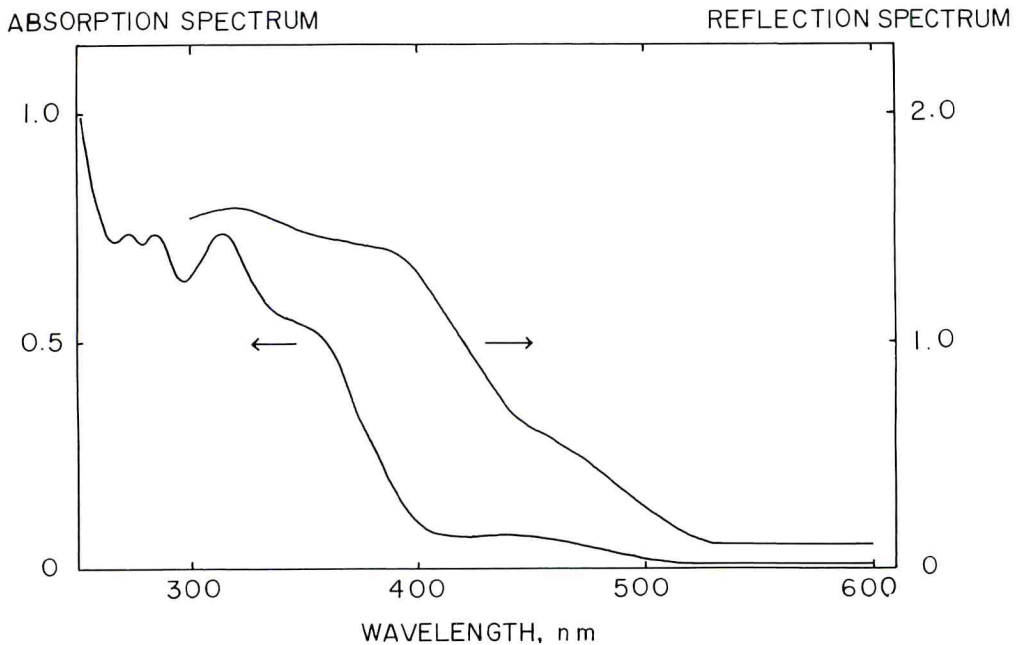


図 1 花粉色素の吸収スペクトル

花粉色素の蛍光スペクトル 蛍光スペクトルのパターンを図2に示す。365nm、404nm、436nmに存在する弱いピークは光源スペクトルの散乱光に由来すると考えられるが、この附近に広がる蛍光と550nm、580nmに弱い蛍光が存在し、665nmには非常に強い蛍光が観察される。これより長波長では、1000nmまでスペクトルは観測されなかった。この場合長波長側の蛍光スペクトルは、カロチノイド色素(例

えばトランスレチノール、490nm⁽⁸⁾)によっても考えられるが、波長は更に長波長側に偏っており、逆に吸収スペクトルはより短波長側にシフトしている⁽⁹⁾しかし、少なくともこの蛍光を示す成分とより短波長側に蛍光を持つ成分とは異なった物質であることが判明しており、現在その同定を行っている。**ファイトクローム系との関係** 植物細胞の核膜、或いはその周辺にファイトクローム系が存在するこ

RELATIVE INTENSITY

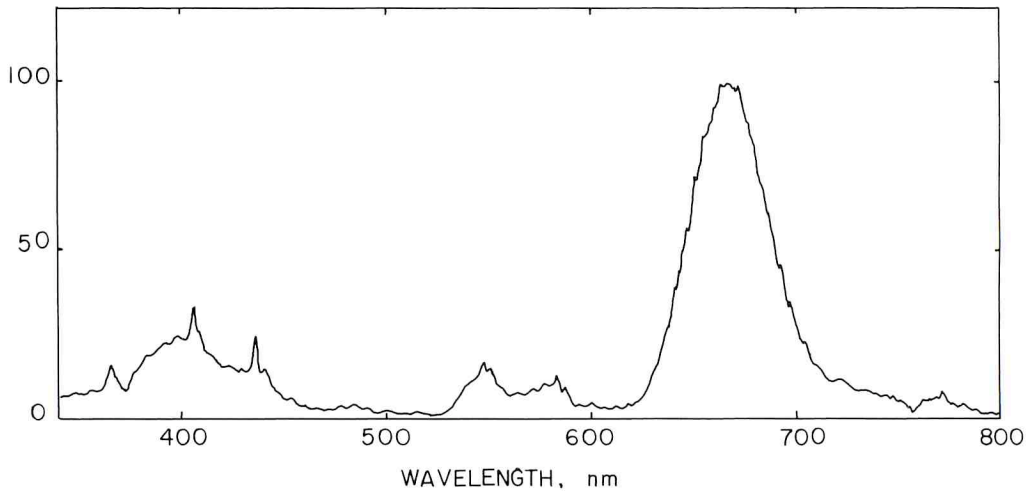


図2 花粉色素の蛍光スペクトル

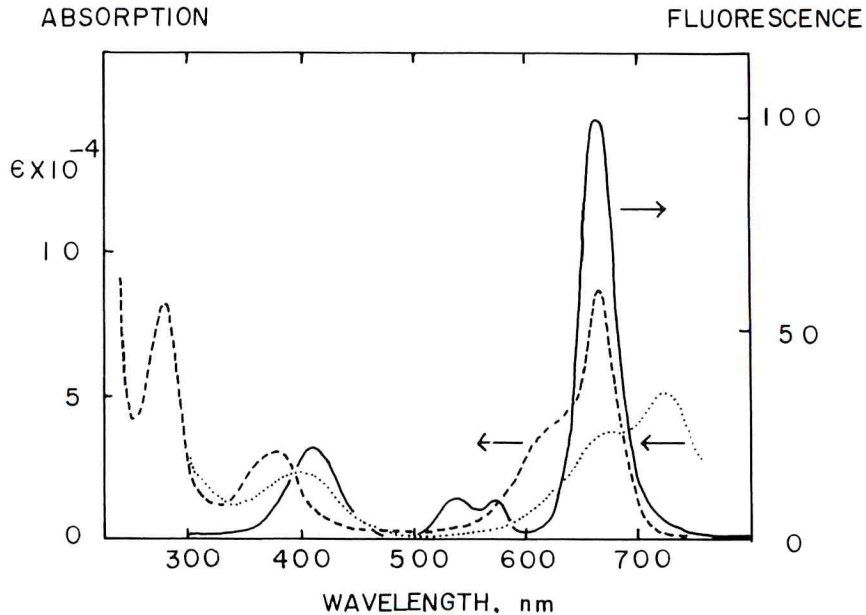


図3 ファイトクロームとの関係

とが、マイクロビーム分光光度法によって証明されている。⁽¹⁰⁾もしもこの系が花粉発芽の光誘導に関係するならば、この細胞外蛍光物質の存在は、花粉にとって非常に有利な条件を与える筈である。即ち図3に示すように、665nmの蛍光(実線)は、ファイトクロームPr(波線)およびPf(点線)の吸収スペクトル⁽¹¹⁾のうち前者の極大波長位置によく一致している。かくて太陽光線のエネルギー分布の紫外部への偏りは、花粉色素系によって有効に赤色光(665nm)に変換された上で、細胞内部に供給されることになる。またもしも、花粉にモエジマシタ胞子やレタス種子の光発芽の場合のような青色光抑制の現象があるならば、⁽⁶⁾⁽¹²⁾フラボノイド色素によるフィルターは、この作用を軽減することになろう。このことは、その作用スペクトルと花粉そのものの反射スペクトルの特性を比較すると納得出来る。したがって、スギ花粉発芽の場合にも、赤色光による

光活性化と青色光によるその抑制現象が、観察出来るかどうかは、非常に興味深い問題であると考えられる。

要 約

- (1) スギ雄花よりエタノール抽出した色素および花粉の反射光による吸収スペクトル測定を行った結果、この色素が花粉細胞に対する青色および紫外光の作用を抑制する機能を持ちうることが示された。
 - (2) この色素には、665nmに強い蛍光を発する物質が含まれ、ファイトクローム系による発芽の光促進現象に関する花粉細胞外色素の重要性が示唆された。
- (この研究のため、貴重な討論の機会を与えられた、上野実朗、宇佐美篤、両先生に厚く感謝致します。)

Summary

Absorption spectra of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen cell wall pigments and fluorescence spectra of the ethanol extract were measured. The absorption below 450 nm region and the remarkable fluorescence at 665 nm suggested the significant role of these pigments in the regulatory system of pollen phytochrome.

参 考 文 献

- (1) 安田 齊 花色の生理・生化学 内田老鶴国新社 昭和48年
- (2) 上野実朗 花粉百話 風間書房 昭和54年
- (3) 加藤幸雄・志佐 誠 新植物生殖生理学 誠文堂新光社 昭和50年
- (4) Chhabra, N. and C. P. Malik, 1978, Ann. Bot., **72** 1109—1117.
- (5) Dhawan, A. K. and C. P. Malik, 1978, Plant and Cell Physiol., **20** 675—678.
- (6) Sugai, M., 1967, Plant and Cell Physiol., **8** 737—748.
- (7) 桜井 厚 橋爪裕司 未発表データ
- (8) Kahan, J., 1967, Acta Chem. Scand., **21** 2515—2524.
- (9) 日本生化学会編 生化学データブック(1) 1274頁
- (10) Galston, A. W., 1968, Proc. Nat'l. Acad. Sci., **61** 454—460.
- (11) Anderson, G. R., E. L. Jenner and F. E. Mumford, 1970, Biochim. Biophys. Acta, **221** 69—73.
- (12) Gwynn, D. and J. Sheibe, 1972, Planta, **106** 247—257.