

原 著

一核性花粉の形態学的・生理学的研究〔II〕

テッポウユリの一核性花粉について

岩波洋造*・立木知子*・三木寿子**

Morphological and Physiological Studies on Mononucleate
Pollen Grains [II]On mononucleate pollen grains in *Lilium Longiflorum*

By

Yozo IWANAMI*, Tomoko TACHIKI* and Hisako MIKI**

(受付：1980年1月29日)

ま え が き

一核性花粉とは、ふつうの花粉が栄養核と生殖核（または栄養細胞と生殖細胞）をもっているのに対して、核を一つしかもたない花粉のことで、花粉が花の葯の中で作られるときに、コルヒチンを吸収させると花粉粒分裂（栄養核と生殖核を作るときに核分裂）が阻害されて、核が一つだけの花粉が作られて花から外に出てくる。この一核性花粉については、最初に Bishop ら⁽¹⁾がヌママラサキツユクサで観察し、後に著者ら⁽²⁾がふつうのムラサキツユクサでみている。

一核性花粉の作らせ方については前報⁽²⁾で詳述した通りである。今回著者らは同じ方法で作ったテッポウユリの一核性花粉の形態と生理について調べたので、その結果について報告する。

I 実験材料と方法

実験材料は市販されている球根を神奈歯科大の圃場で育てたテッポウユリ (*Lilium longiflorum*) で、一ばん大きなつぼみが5 cm になったときに茎を母体から切りとり（約40 cm の長さ）、いわゆる水切り（切り返し）をしてからコルヒチン（1000 ppm）の水溶液に切り口をさして溶液を吸収させた。24時間後にその茎を蒸留水にさしかえ、2、3日ごとに水をかえながら室内の南側の窓辺に置いてつぼみを生長させた。

約10日後に最初のつぼみが開花するが、この花は花びらも短かく、雌ずいも雄ずいもずんぐりとしていて一見テッポウユリの花とは思えないような形になっている。しかしそれでも開花し、葯を開いて花粉を外に押し出す。これらの花粉をとって核を染色

* 横浜市立大学生物学教室 〒236 横浜市金沢区瀬戸町22-2

** 神奈川歯科大学生物学教室 〒238 横須賀市稲岡町82

してみると、その96~98%が一核性花粉であることがわかる。図1は4 cmのつばみがコルヒチン処理後12日目に開花したテッポウユリと、ふつうに開花したテッポウユリの花と花粉を比べたものである。

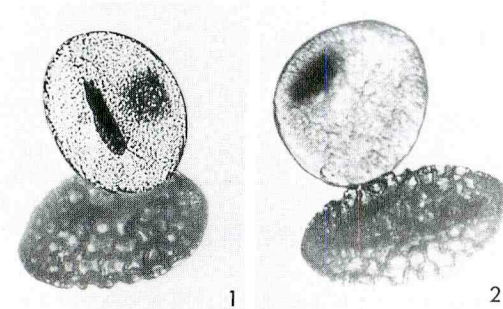


図1 コルヒチン処理によって作られた一核性花粉を出した花(上の写真の上の花)とふつうのテッポウユリの花(上の写真の下)。

1. ふつうの二核性花粉 2. 一核性花粉

この研究においては、まずこうして作られた一核性花粉をもつ花の花べんの表皮を調べ、次に花粉を採取してその大きさ(長径と短径)をふつうの花粉と比べ、花粉の糖、アミノ酸の組成についての調査をし、電子顕微鏡による核などの微細構造の観察を行い、さらにその一核性花粉を人工培地で培養して生長や核の移動について調べた。

まず、糖とアミノ酸の調査においては、25 mgの一核性花粉を1.5 mlの80パーセントエタノール中ですりつぶし、4℃の冷蔵庫中に一時間放置した後に遠心分離(3,000 rpm・30分)し、上澄液を0.5 ml

とって濾紙(東洋濾紙 No 52・10×40 cm)にスポットした。同様の方法で、ふつうの花の花粉の抽出液をもスポットした濾紙を展開剤(ブタノール・酢酸・水4:1:1)を用いて展開し、ベンチジン呈色剤で呈色してクロマトグラムを得た。アミノ酸の場合は同じ方法で展開したものに、ニンヒドリ呈色剤を用いて発色させてクロマトグラムを得た。

電顕用の試料は花粉を3%グルタルアルデヒドと1~2%オスミウム酸(PH 7.3)で二重固定し、それをエタノールシリーズで脱水し、酸化プロピレンで置換後、エポニーアラルダイト混液⁽³⁾およびSpurrの樹脂⁽⁴⁾に包埋した。LKB ウルトラミクロトームで超薄切片を作製し、酢酸ウラニルとクエン酸塩⁽⁵⁾で二重染色した後、JEM-100 B電子顕微鏡で観察した。

花粉の培地は10% sucrose、1% agar、100 ppm boric acid、300 ppm calcium nitrateの寒天培地で、その表面に花粉を散布(直線状散布⁽⁶⁾)し、25℃中で24時間培養した後、拡大鏡(オリンパスSP-150)で拡大して花粉管の長さを測り、平均値を算出した。

II 実験結果と考察

1) 花べんの表皮

茎の切り口からコルヒチン液を吸わせると、コルヒチンが植物体の各部に移行する。それによって一核性花粉が作られるだけでなく、前述のように花の形もちがってくる。図1の写真はこうしてコルヒチン処理をして開花したテッポウユリの花で、花びらの長さ以外にも、たとえば雌ずいの花柱はふつうの花の花柱が10.2 cmであるのに対して2.4 cm、子房の長さは2.6 cmに対して1.3 cmであった。

両者の花の花べんの外側の表皮をはがし、ヨード抱水クロラルで封じて表皮の細胞の形をみたところ、ふつうの花の花べんは図2の1のような独特の形に変化しているのに対して、一核性花粉を作った花の花びらの表皮は図2の2のように形が表皮のそれらしく変化していなかった。これはコルヒチンによって細胞質内のマイクロチューブルが影響をう

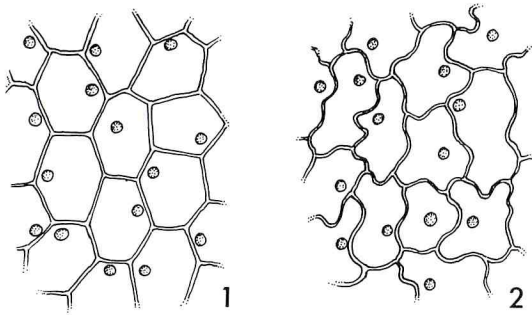


図2 コルヒチン処理によって一核性花粉を作ったテッポウユリの花べんの表皮細胞(1)とふつうのテッポウユリの花の花べんの表皮細胞(2)。

け、そのために細胞壁が正常に分化できなかったためと考えられる。

2) 花粉粒の大きさ

コルヒチン処理によって生じた一核性花粉は、ふつうの二核性花粉とほぼ同じ大きさで、顕微鏡下で見ただけでは区別がつかなかったが、両者の花粉について100粒ずつ長径と短径を測ってグラフにしてみたところ、ごくわずかではあるが違いがあらわれた。図3がその結果を示している。一核性花粉は短径において二核性のふつうの花粉よりやや小さい。したがって一核性花粉はふつうの花粉より細長い型をしている。

3) 糖とアミノ酸

一核性花粉と二核性のふつうの花粉を別々にとり、前記の方法でクロマトグラフにかけて糖とアミノ酸の種類を比較したところ、図4のようにほとんどちがいがみられなかった。つまり両者とも糖においてはショ糖が多く、ブドウ糖と果糖は少なかったし、アミノ酸においてはメチオニン、プロリン、アラニン、アスパラギン酸などがほぼ同じように含まれていた。ただこの実験ではアミノ酸の種類を決めるのが目的ではなかったので二次展開は行わなかったから、細部のちがいについては不明である。

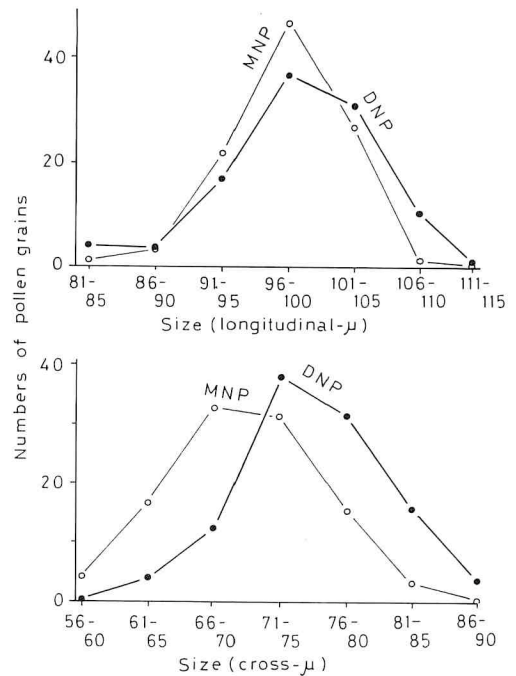


図3 テッポウユリの一核性花粉 (MNP) と二核性花粉 (DNP) の大きさの比較(上は長径、下は短径)。

4) デン粉粒の量

一核性花粉と二核性花粉を別々にヨード抱水クロール液で封じ、花粉粒内のデン粉粒の多少を比較した。ユリの類の花粉は一般につぼみの時にはデン粉を多く含み、開花時にはこれを糖にかえて葯の外に出てくるが、一核性花粉にはデン粉粒が多く、デン粉粒から糖への移行がおくれている傾向がみられた。

5) 花粉の内部構造

一核性花粉を前述の方法で固定し、その断面を電子顕微鏡で観察したところ、外壁、内壁ともにふつうの二核性花粉と同じであった。外壁の網目模様の大さや断面の状態にもとくに違いがみられなかった(図5の左)。ただ一核性花粉の細胞質中に多量のデン粉粒が存在していること、核が核膜で細胞質と境されていて二核性花粉のように小さな細胞の中に核が存在するのではないことなどの点がちがっている。

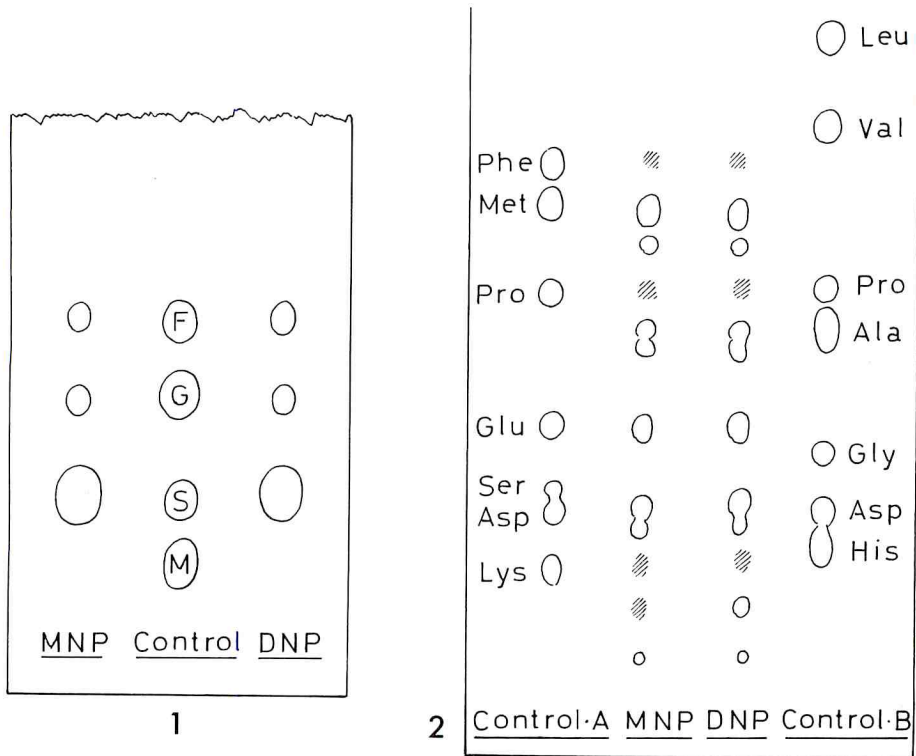


図4 テッポウユリの一核性花粉 (MNP) と二核性花粉 (DNP) に含まれている糖とアミノ酸の比較。

た。つまり一核性花粉は二核性花粉の栄養核と同じような存在であることがわかった。

一核性花粉の核の構造で注目されるのは、クロマチンのあり方がふつうの花粉の栄養核と生殖核の中間の状態にあること、および核の中にセン維状の物体が存在することが確認されたことである。この物体が何であるかは酵素処理や染色法をかえることによって現在追究中であるが、筆者らは紡錘体、あるいは細胞壁のセン維の切れ端 (形成の途中のもの) の何れかであると考えている。何れにしても核の中にこのような物体が存在することは大へ興味あることである。

6) 花粉の生長と核の行動

ムラサキツクサの一核性花粉が発芽力をもって

いることについてはすでに報告⁽²⁾したが、テッポウユリの一核性花粉を培地にまき、その生長の仕方を二核性花粉と比較したところ、花粉管の伸び方には差がみられなかった。たとえば24時間後の花粉管の長さは表1に示すようであった。

生長中の核の行動について述べると、ふつうの花粉の核においては栄養核は細長くのびて管中に移行するのに対して、生殖核はやがて染色体になり、2つの精核に分裂する。一核性花粉の核は花粉管中には移動したが、24時間後も分裂を始める様子からみられず、したがってふつうの花粉の栄養核に近い行動を示した (Fig.6) 。

この一核花粉を雌ずに受粉した時の核についてはまだ観察していないが、雌ずい中でも花粉管は正

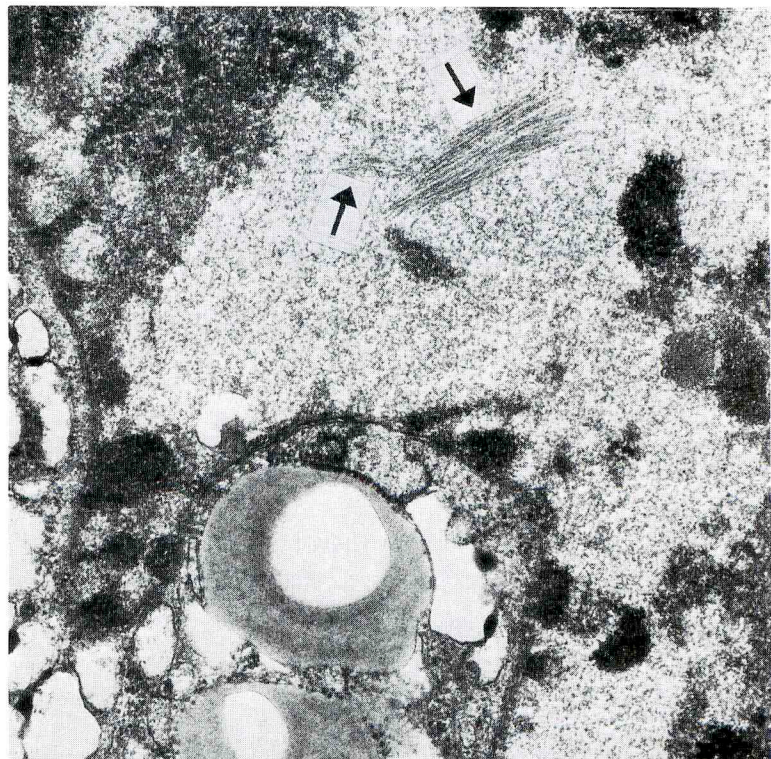
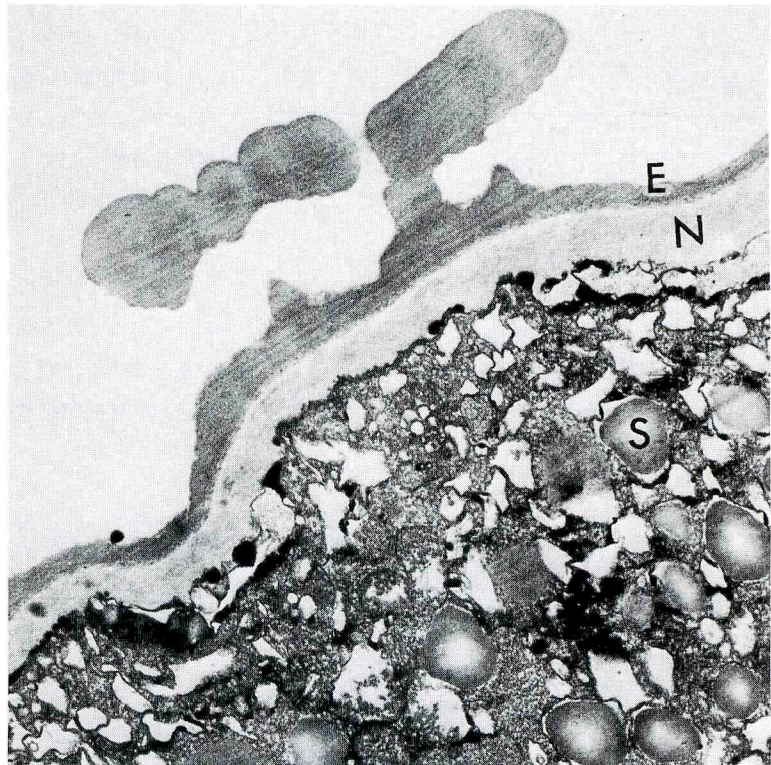


図5 テッポウユリの一核性花粉の断面、上一壁の部分(E—外壁、N—内壁、S—デンプン粉粒)、下一核の中に見られるセン維状物体

表1 テッポウユリの一核性花粉と二核性花粉を20時間培養したときの花粉管の長さの比較。

		花粉管の長さ(mm)	平均長(mm)
一核性花粉	花の 個体 番号 I	8.0	7.5
	II	8.7	
	III	5.4	
	IV	7.8	
二核性花粉	花の 個体 番号 I	6.5	7.4
	II	7.8	
	III	7.9	
	IV	7.4	

常に伸びるが核は分裂しないと思われる。ただしユリの場合は受粉から受精までに62時間を要するから、24時間後にこの核が核分裂をして栄養核と生殖核に分かれ、さらに生殖核が二つの精核に分かれる可能性がまったくとはいえない。これらの問題についてはテッポウユリ、ペチュニアを使って現在調査中である。

この研究を行うにあたって、電子顕微鏡写真の撮影に協力された神奈川県大学の神奈川歯科大学の中村澄夫氏に感謝の意を表す。さらに有益な助言をいただいた横浜市立大学草薙昭雄教授に御礼申し上げる。

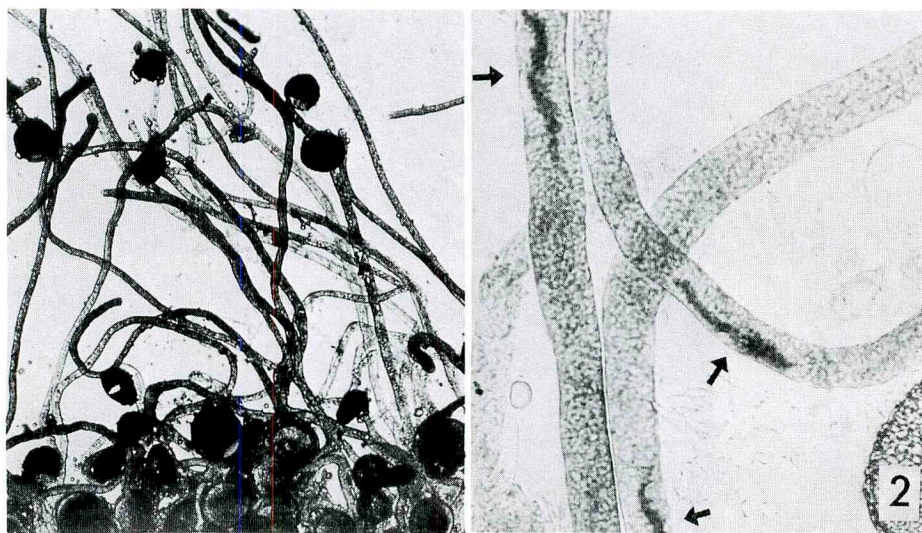


図6 テッポウユリの一核性花粉の生長(24時間培養後)の状態(左)と花粉管内に移行した核(24時間培養後)の様子(右)

引用文献

- 1) Bishop, C.J. and J.McGowan, 1953. Amer.J.Bot. 40. 658—659.
- 2) 岩波洋造・広池訓子・立木知子, 1977. 横浜市大紀要(生物) 4. 1—9.
- 3) Johnson, U.G. and K.R.Porter, 1968. J. Cell Biol. 38. 403.
- 4) Spurr, A.R. 1969. J. Ultrastruct. Res. 26. 31.
- 5) Reynolds, E. 1963. J. Cell Biol. 17. 208.
- 6) Iwanami, Y. 1959. J. Yokohama city Univ. 113. 1—137.

Summary

Mononucleate pollen grains were made in a flower of *Lilium longiflorum* by treatment of colchicine. The flower having mononucleate pollen grains is smaller than a normal one (Fig.1) and the shape of the epidermis cells of the petal is different from that of normal flower (Fig.2).

There is not appreciably different in the size between mononucleate and normal pollen grains, besides a tendency that the short diameter of the mononucleate pollen grain is a little smaller than that of normal one (Fig.3). The cytoplasm components such as sugar and amino acid are not different between mononucleate pollen grain and normal pollen grain (Fig.4), but almost all of the mononucleate pollen grain contains starch grains in large quantities.

On the ultrastructural study, there is not structural difference on the pollen wall and cell organella between these two pollen grains (Fig.5a), except the cytoplasm contains many starch grains and the nucleus contains an aggregational structure of some fibrils in the mononucleate pollen grain.

The mononucleate pollen grain germinates well and grows long pollen tube normally (Fig.6a), but the nucleus does not begin mitosis even after 24 hr cultivation.

☆ 木原 均博士米寿記念号企画予告

日本花粉学会名誉会員 木原均博士は、来る昭和 55 年 10 月 21 日に 88 歳になられます。博士は日本における花粉研究の先駆者として、また遺伝学界の長老として活躍されました。ここに発起人一同は日本花粉学会誌第 26 号（昭和 55 年末発行予定）を博士の記念号として企画することとしました。多くの会員会友諸氏の御協力と御参加を希望します。記念号には下記要領での投稿を歓迎します。

記

- (1) 木原均博士に関する随筆など（800 字位）
- (2) 一般論文には文中に記念号に寄すと書くこと。
- (3) 原稿〆切は昭和 55 年 9 月末。
- (4) 投稿予定の方はなるべく早くテーマだけでも知らせて下さい。

木原均博士米寿記念号発起人会代表

上野実朗・幾瀬マサ・香山時彦・古里和夫

注：記念号の見本として本会会誌の第 18 号・第 23 号があります。御参照下さい。

☆ 新著紹介 奥田 稔著：鼻アレルギー診療の実際

—気道アレルギーをどう考え、どう治療するか—

日本における鼻アレルギーの研究の第一人者である著者が、長年にわたる研究成果を集大成した医師向けの書である。

1. 診療をはじめるにあたり知っておきたいこと。
2. 鼻過敏症（この語は鼻アレルギーと血管運動性鼻炎を包括するもので、発作性再発性のくしゃみ、水性鼻漏、鼻閉を主徴とする疾患の便宜的な総称である）患者に接して
3. 症例の検討
4. アレルゲン健康保険薬価

の4項目に大別され、鼻アレルギーの発症のメカニズムから診断と治療の全分野にわたって一冊にまとめられている。

Pollen shelter の図や花粉の写真などには、花粉学会会員としては不満足な点もあろうが、著者ならではの精密な理論の展開がみられ、平易な文体とあいまって、鼻アレルギーの入門書としても、系統的な知識を持ちたいと考えておられる会員にお勧めしたい。

A 5 判、頁数 260、金原出版株式会社、奥田 稔著、3,200 円 1979 年 10 月 30 日発行。

（宇佐神 篤）