

テッポウユリ葯内におけるタペータム組織の発達

三木寿子*・中村澄夫*

Development of Tapetum in Anther of *Lilium longiflorum*.

Hisako MIKI-HIROSHIGE and Sumio NAKAMURA

Biological Laboratory, Kanagawa Dental College, Yokosuka 238, Japan

Tapetal cells are borne by cell division at 8mm bud length stage. Each tapetal cell has rough ER, mitochondria, Golgi bodies and proplastids in its cytoplasm during the stable stage until ca. 14mm bud length. After around this stage, their cell walls are broken, the electron dense nuclei often fuse, and structure of other organelles become undiscernible, while there are many vesicles until the microspore formation stage. Around the microspore formation stage, rough ER, Golgi bodies, mitochondria and proplastids are observed in the rearranged tapetal cytoplasm. Lipid-like globules formed in the cytoplasm appear in a channel which is the trace of the cell wall. Electron dense minute granules (probably precursor of sporopollenin) deposited in vacuoles, come out of there to the anther locule and attach on the surfaces of a microspore wall (sexine) and orbicles. Around 42mm bud length stage, the cytoplasm changed to pollenkit which surrounds the pollen grains in the locule. The pollenkit and orbicles remain in the anther locule until the florescence stage.

緒 言

被子植物において、非常に若い・は4つの葯室を持ち、それぞれの中に胞原組織が作られ、やがてこれらは下図の通り、小孢子母細胞 (Microspore Mother Cell) とタペータム組織とに分化する。葯室の内壁をつくるタペータム組織は、その中で花粉へと発達して小孢子の集団をとり囲むように発達する。

小孢子細胞が小孢子を経て花粉粒へと成長するとき、これらへ供給すべき物質はすべてタペータム組織を通過して行われるにちがいない、事実 *Allium* (Jain; 1959)⁽¹⁾, *Festuca*, *Lolium* (Crowder; 1954)⁽²⁾, *Salvia* (Delestaing; 1953)⁽³⁾ では、葯室内で発達する花粉は、タペータム組織に近いものは稔性を持つようになり、遠いものは不稔性になるという。また、タペータム組織が異常な条件下 (たとえば低温) におかれると、花粉の発達に有害な影響を与えるという

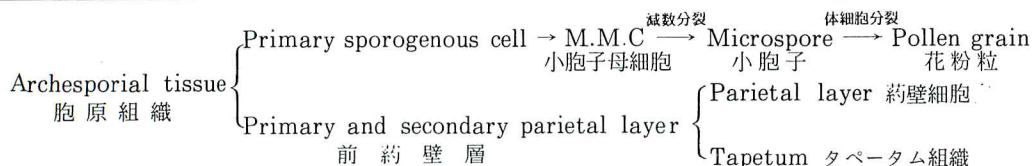
報告もある。⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾ またキカノコユリ (*Lilium henryi*) の小孢子母細胞をタペータム組織から分離して人工培養すると、発育させることは困難であった。⁽⁷⁾ このように小孢子の発達は蕾全体、あるいは葯全体のいろいろな生理現象により調節されており、タペータム組織は小孢子や花粉の発達に密接な関係をもっていると考えられる。

本報では、発育過程の葯内で、小孢子母細胞→小孢子→花粉へと発達していく雄性配偶体を取囲み、それらを養う栄養物の通路であり、自らも栄養物を供給していると考えられるタペータム細胞が正常な細胞構造を有する状態から崩壊していくまでの過程の微細構造的変化を報告する。

材 料 お よ び 方 法

材料は、本学圃場に栽培している テッポウユリ (*Lilium*

* 〒238 横須賀市稲岡町82 神奈川歯科大学生物学教室



longiflorum)を用いた。蕾長8 mm~52 mmの各時期の蕾から葯を取り出し、3%グルタルアルデヒド(0.05 Mリン酸緩衝液、pH 7.3)で5時間、前固定(4°C)した。この試料は同緩衝液で3回洗浄したのち、2%オスミウム酸(pH 7.3)で8時間、後固定した。葯内の物質の流出を防ぐため、葯を切らずにそのまま固定を行った。固定試料は蒸留水で5回洗浄後、エタノール・酸化プロピレンシリーズで脱水し、エポニーアラダイト混合樹脂⁽⁸⁾に包埋した。LKBウルトロトームで超薄切片を作製し、常法にしたがい二重染色⁽⁹⁾を施したのち、JEM-100 B電子顕微鏡で観察した。

多糖類検出のためには、超薄切片作製後、Periodic Acid Silver Methenamine method (PAS 染色)⁽¹⁰⁾により染色して検鏡に供した。

結 果

テッポウユリでは蕾長と花粉の発達段階とが Fig.1 に示すように相関関係を有するので⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹³⁾、蕾長によって各发育段階の基準とした。

蕾長8 mm期近傍では、細胞分裂により経時的にタペート細胞が形成される (Fig. 2)。その後細胞内では染色糸が核内に拡がり、細胞質内には粗面小胞体、ミトコンドリア、ゴルジ体、プロプラスチドなどが出現する。その他には vacuole が目立ち、細胞間には原形質連絡が見られる。この状態は蕾長14 mm期頃まで続くので、この期間を分裂生成期と呼ぶことにする。

蕾長16 mm期の頃からタペート細胞の細胞壁が崩壊しはじめ、細胞質が互に融合し、核は凝集して電子密度が高くなり、ときには融合する。ミトコンドリアなどの細胞内小器官の形態は不鮮明になり、vacuole 状や vesicle 状のものが多く現われる。しかし、ゴルジ体や層をなした粗面小胞体は残存している。蕾長18 mm期

では、細胞質内にはオルガネラは見られず多くの vesicle が存在する (Fig. 3)。細胞壁は小孢子が存在する葯室 (anther locule) 側と薬壁細胞側に残る。葯室側に残った壁は PAS 反応に対して陽性を示す。この細胞壁に沿って電子密度の高い直径約 170 nm の微小粒子 (Sporopollenin またはその前駆体。これ以後は一応スポロポレニン前駆体と呼ぶ。)の沈着が僅に現れ始める。また、こわれた細胞壁が集まってできたと思われる渦巻状のミエリン様構造が多く存在する (Fig. 4)。この状態は蕾長23 mm期頃迄続く。この期間にだんだん増えてくる細胞質中の空胞内に前記の微小粒子が蓄積されてくる。この期間を細胞崩壊期と呼ぶことにする。

蕾長26 mm期は、ちょうど小孢子母細胞の減数分裂が終って小孢子 (microspore) ができる時期であるが、タペータム組織内には再び構造的な要素が観察される。タペート細胞には多くのポリソームが付着した粗面小胞体 (rER) が出現し、盛んな蛋白質合成が想像される。さらにこれら rER の間にはゴルジ体も多く存在し、タペータム組織はあたかも小孢子に輸送すべき物質の製造工場の観がある。その他に多数のミトコンドリアやプロプラスチドが観察される (Fig. 5)。以前に細胞壁があったと思われる場所が溝となり、この溝に沿って直径約0.8 μmの比較的電子密度の低い、脂肪球のような顆粒が沢山集まる。このような顆粒の周囲を前述の電子密度の高い微小粒子がとり囲んでいる (Fig. 6)。この溝の両側にあるくぼみには PAS 陽性のせんい状構造が観察される。これはスポロポレニンとは異なる性質で葯室の中で小孢子的外壁に付着する。⁽¹³⁾ 蕾長29 mm期では、溝に集った脂肪性の顆粒にさらに多くのスポロポレニン前駆体微小粒子が沈着してオービクル (orbicle) と呼ばれる直径約2 μmの顆粒に発達する。

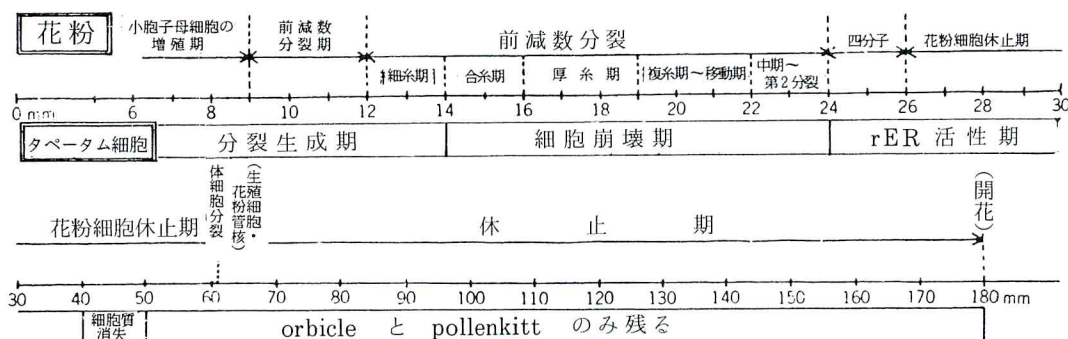


Fig. 1 テッポウユリの蕾の長さと同内での花粉およびタペータム組織形成過程との関係

これらはタペータム組織の内腔にのびた溝を通して分泌され、内腔の壁に並び、さらにスポロポレニン前駆体を沈着して大きくなる。スポロポレニン前駆体は同時に花粉の外側にもついてsexineを厚くする。ここで注意すべきことは、オービクルが花粉壁に付着してsexineの成分となるような事実は観察されなかったことである。蕾長38mm期では、タペータム組織内にさらに多くのvacuoleが生じ、この中に多くのスポロポレニン前駆体が蓄積され、これらが葯室内に分泌されて花粉粒やオービクルの外壁に沈着する。スポロポレニン前駆体がタペータム組織内で作られることは確かであるが具体的にどのように産出されるかは形態的につかみにくい。タペータム組織内にはまだER様の構造やアミロプラスト様の構造は残存するが、ミトコンドリアやゴルジ体は見られない (Fig. 7)。この時期をrER活性期と呼ぶことにする。

蕾長42mm期 (Fig. 8) には、葯腔側および葯壁側に残っていた細胞壁はだんだん薄くなって膜のようになる (Fig. 8 and 9)。タペータム組織はこの膜上に並ぶオービクルを残して、細胞質はすべてなくなり、そのあとに電子密度の高い物質ポレンキット (pollenkitt) が蓄積される。蕾長52mm期 (Fig. 9) では、上記のタペータム壁内に貯えられていたポレンキットは葯室内に拡がって子胞子の周囲をとりまく。ときには個々のオービクルの融合が観察されるが、オービクルは開花期まで花粉の周辺に残っている。蕾長40mm頃から開花までをタペータム組織の細胞質消失期と呼ぶことにする。

論議

タペータム組織の形態学研究としては、光学顕微鏡レベルでの Buss et al.⁽¹⁴⁾ (*Desmodium glurinosum* および *D. illinoense*) の研究、電子顕微鏡レベルでは Dickinson & Bell (*Pinus banksiana*)⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾ Hoefert (Betta)⁽¹⁷⁾, Mephram & Lane (*Tradescantia bracteata*)⁽¹⁸⁾, また Gupta および Nanda による Bignoniaceae を用いての研究、その他にも Steer (1977)⁽¹⁹⁾、Misset (1984)⁽²⁰⁾ Tiwari and Gunning (1986)⁽²¹⁾ などの報告がある。しかし、タペータム組織の形態やその発達段階における変化、ならびに花粉の発達との関係は、植物の種により少しずつ異なるようである。⁽²²⁾⁽²³⁾⁽²⁴⁾

ファーストグリーン・エオシン二重染色法⁽²⁵⁾により塩基性蛋白質を染色すると、テッポウユリの崩壊前のタペータ細胞の核はエオシンで桃色に染まるが、崩壊が始まるとファーストグリーンで濃い青色に特異的に染まるようになり、明らかに核の活性が変化したことを示す⁽²⁶⁾。実際に、この時期、タペータ細胞の核のDNA含有量は低下している⁽²⁷⁾。Hotta および Stern⁽²⁸⁾⁽²⁹⁾⁽³⁰⁾⁽³¹⁾によれば、*Trillium*の葯内に、DNA前駆物質であるデオキシリボソイド (deoxyriboside) が pre-meiotic interphase と late microspore interphase にあらわれ、このあと小胞子内のDNA量が増す。

本報から得られたタペータム組織の形態的变化を花粉形成過程の表に書き込むとFig. 1のようになる。タ

Key to abbreviations

AL : anther locule	CP : cell plate
G : Golgi body	L : lipid body
Lg : lipid-like globule	M : mitochondrion
MMC: microspore mother cell	Ms : microspore
My : myelin-like profile	N : nucleus
Or : orbicle	P : pollen grain
Pk : pollenkitt	Pr : proplastid
PSW: pollen sac wall cell	rER: rough endoplasmic reticulum
Se : sexine	T : tapetum
V : vacuole	

Fig. 2 8mm bud length stage. New tapetal cells are borne by cell division. x 3,300

Fig. 3 18mm bud length stage. Remains of broken tapetal cell wall (arrows). Many granules and vesicles are observed in the tapetal cytoplasm. x5,000

Fig. 4 18mm bud length stage. A myelin-like profile derived from broken cell walls is observed. x3,000

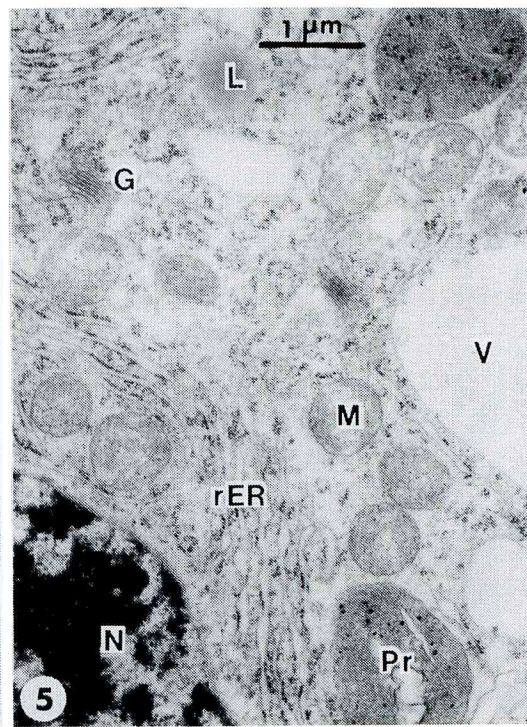
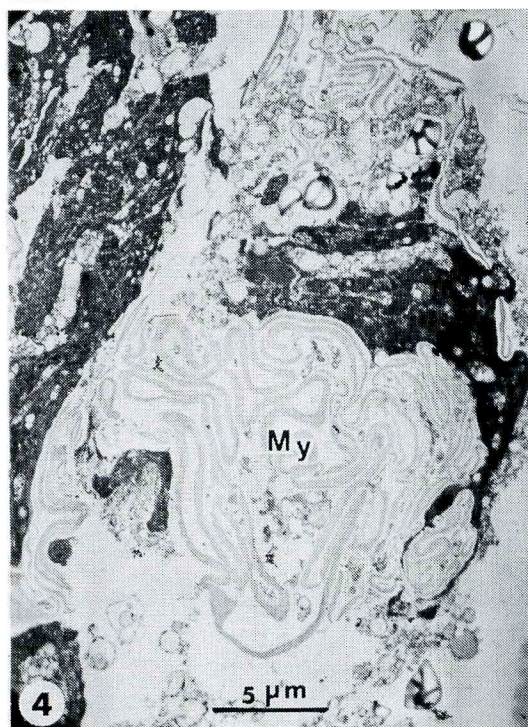
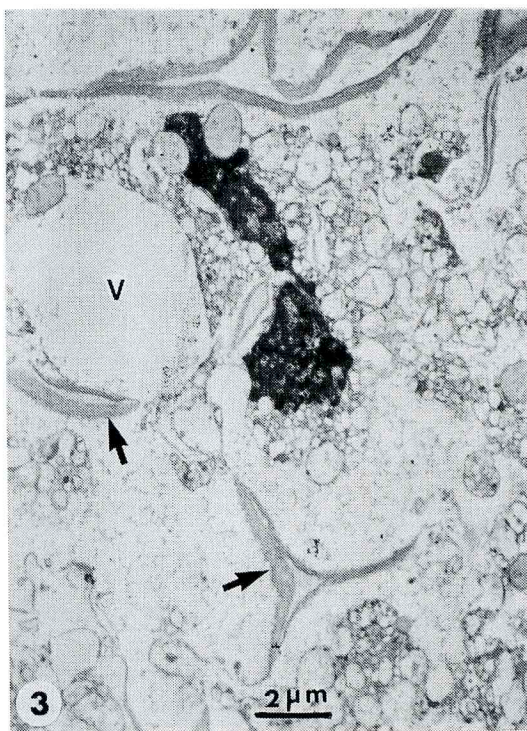
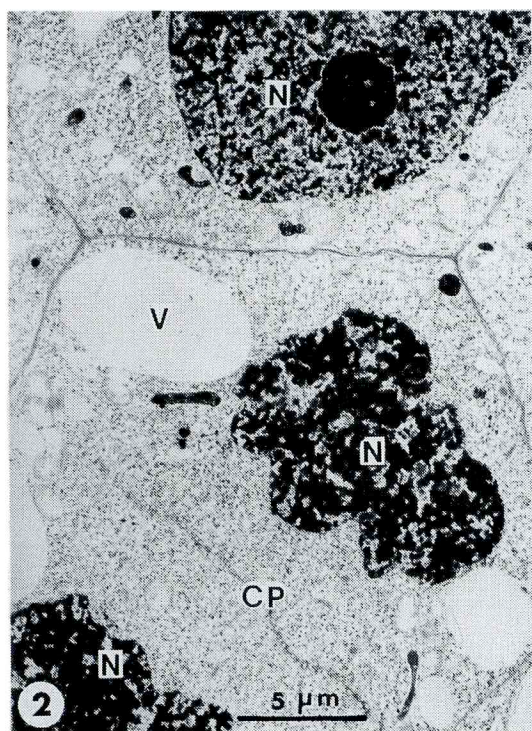
Fig. 5 26mm bud length stage. Rough ER, Golgi bodies, proplastids and mitochondria are observed in the rearranged tapetal cytoplasm. x13,600

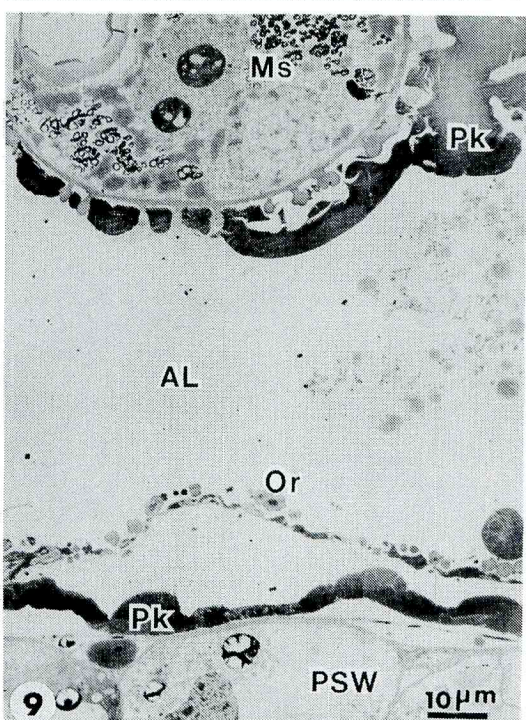
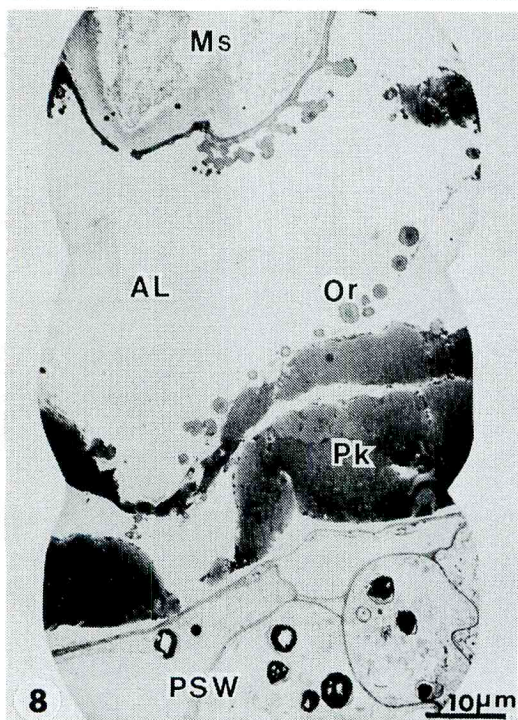
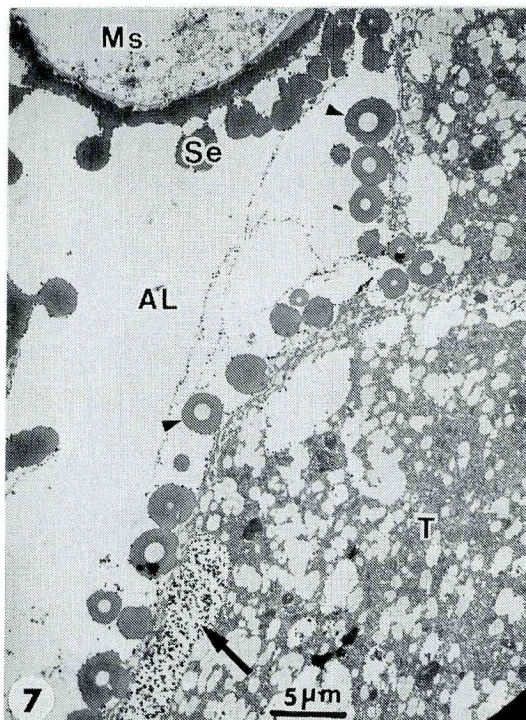
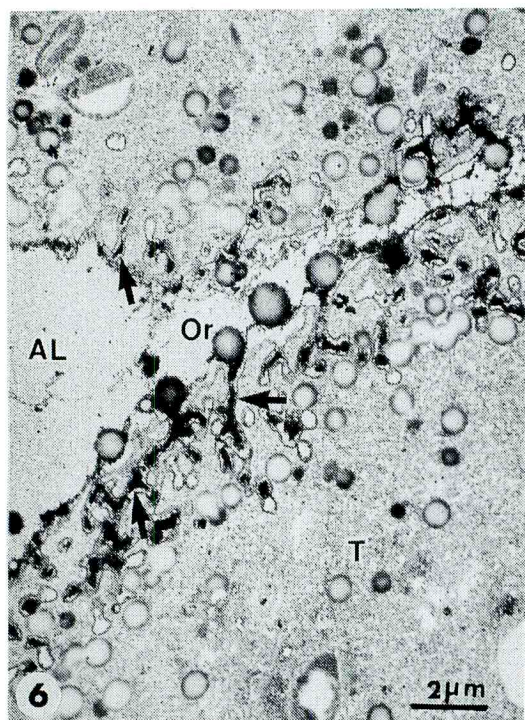
Fig. 6 26mm bud length stage treated with PAS staining. Lipid-like globules are observed in the tapetal cytoplasm, some globules in a channel are covered with electron dense minute granules (probably precursor of sporopollenin). PAS positive substances of fibrous structure (arrows) are shown in cavities beside the channel. x5,000

Fig. 7 38mm bud length stage. Electron dense minute granules are attaching to surfaces of a microspore wall (sexine) and orbicles (arrow heads). The deposited minute granules in vacuoles (arrow) and many vacuoles are observed in the tapetal cytoplasm. x2,000

Fig. 8 42mm bud length stage. Pollenkitt, orbicles and microspore are observed. x1,060

Fig. 9 52mm bud length stage. A pollen grain surrounded with pollenkitt and fusing orbicles (arrow) are observed. x760





ペータム組織が活性をとり戻して盛んにゴルジ体が vesicle を産生したり、粗面小胞体上にポリゾームが多量出現する時期は花粉が盛んに外壁の sexine を形成している時期⁽¹³⁾と一致する。蕾長29mm期で溝の中に見られる脂肪顆粒は Reznickova および Dickinson (1982) が *Lilium hybrida* を用いて観察しているが彼らはその上に沈着されるスボロボレニンについては言及していない。小胞子における細胞分裂期前の蕾長50mmの頃タペータム組織の細胞質は全部なくなってポレンキッドとなり、タペータム組織のあとへー列に並ぶオービクルとともに残される。この時期より開花迄の間約2週間花粉は栄養物を直接葯壁細胞を通して受取ることになると思われる。

われわれは、以前に^(33,26) テッポウユリの蕾の中で四分胞子ができたころ(蕾長25mm、四分胞子がまだカロース膜に包まれており、細胞壁形成がまだ始まらない時期)に³H-ミオイノシトールを花梗の切り口から吸収させた。ミオイノシトールは、多糖類とくに細胞壁の構成物質であるペクチンおよび、分泌多糖類の前駆物質であるので、維管束から吸収されていったんタ

ペータム組織に入り、ここからさらに花粉に栄養物質として供給されるならば、花粉のタペータムに対する依存状態を調べる手がかりになるかと考えた。³H-ミオイノシトール由来の放射性物質は、花粉の exine 部とオービクルの外側の層に集まる。この二つの部分は他の組織化学反応でも、いつも同じ色調の反応を呈することからも、同じ物質からできていることが想像される。他にも同様の報告がある^(15,34)。さらに実験をすすめて蕾長30mm、すなわち花粉の exine 部がほとんど作られて intine 部ができるころに上記と同様にして³H-ミオイノシトールを蕾にとりこませてみると、今度は放射性物質が花粉の intine 部とオービクルの芯の部に集るのが観察された。吸収された放射性物質がいったんタペータムに貯えられてから、あらためてここから花粉粒に供給されるかどうかという点を確認するために、時間的経過を追って放射線物質の分布を調べてみたが、このような状態はみられず、ミオイノシトールに限っては、タペータムは単なる物質の通り道の役割を果たしただけのようである。

引用文献

- (1) Jain, S.K.: Bibliotheca genet. **18**, 101-166 (1959)
- (2) Crowder, L.V.: J. Hered. **44**, 95-203 (1953)
- (3) Dalestaing, N.: Rev. Cytol. Biol. Vég. **15**, 95-236 (1954)
- (4) Gupta, S.C. and K. Nanda: Bot. Gaz. **134**, 125-129 (1973)
- (5) Gupta, S.C.: Amer. J. Bot. **65**, 395-399 (1978)
- (6) Nanda, K. and S.C. Gupta: Amer. J. Bot. **65**, 400-405 (1978)
- (7) Peddada, L.B. and J.P. Mascarenhas: Devel., Growth and Diff. **17**, 1-8 (1975)
- (8) 中村澄夫・三木寿子: 日本花粉学会会誌 **32**(2) 145-148 (1986)
- (9) Rambourg, A. and C.P. Leblond: J. Cell Biol. **32**, 27-53 (1967)
- (10) 三木寿子: 生物科学 **32**(2) 57-68 (1980)
- (11) 三木寿子: 生物科学 **32**(4) 213-220 (1980)
- (12) 三木寿子: 生物科学 **33**(1) 51-56 (1981)
- (13) Nakamura, S.: J. Electron Microsc. **28**, 275-284 (1979)
- (14) Buss, P.A., Jr. D.F. Galen and N.R. Lersten: Amer. J. Bot. **56**, 1203-1208 (1969)
- (15) Dickinson, H.G. and P.R. Bell: Planta **107**, 205-215 (1972)

-
- (16) Dickinson, H.G.: *Ann. Bot.* **49**, 1101-1109 (1976)
- (17) Hoefert, L.L.: *Amer. J. Bot.* **56**, 363-368 (1971)
- (18) Mepham, R.H. and G.R. Lane: *Protoplasma* **68**, 175-192 (1969b)
- (19) Steer, M.W.: *J. Cell Sci.* **25**, 125-138 (1977)
- (20) Misset, M.T.: *J. Cell Sci.* **72**, 65-74 (1984)
- (21) Tiwari, S.C. and B.E.S. Gunning: *Protoplasma* **133**, 100-114 (1986)
- (22) Godwin, H.: *Nature* **220**, 389 (1968)
- (23) Mepham, R.H. and G.R. Lane: *Nature* **219**, 961-962 (1968)
- (24) Mepham, R.H. and G.R. Lane: *Nature* **221**, 282-284 (1969a)
- (25) Bloch, D.P.: *Chromosoma* **19**, 317-339 (1966)
- (26) Miki-Hirosige, H. and S. Nakamura: *Phytomorphology* **32**, 85-94 (1982)
- (27) Linskens, H.F. and J. Schrauwen: *Proc. Kon. Nederl. Acad. Wet. Ser. C* **71**, 267-279 (1968)
- (28) Hotta, Y. and H. Stern: *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **11**, 311-319 (1961)
- (29) Hotta, Y. and H. Stern: *J. Cell Biol.* **16**, 259-279 (1963a)
- (30) Hotta, Y. and H. Stern: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **49**, 648-654 (1963b)
- (31) Hotta, Y. and H. Stern: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **49**, 861-865 (1963c)
- (32) Reznickova, S.A. and H.G. Dickinson: *Planta* **155**, 400-408 (1982)
- (33) Miki-Hirosige, H. and S. Nakamura: *Acta Soc. Bot. Polo.* **50**, 77-82 (1981)
- (34) Heslop-Harrison, J. and H.G. Dickinson: *Planta* **84**, 199-214 (1969)

(受理日 1987年3月26日)