

ホワイトジンジャー花粉粒の細胞壁に及ぼす 強酸類および加熱処理の影響

小波本直忠*・宮田重文*・宮平寿*・福田俊一郎*

Effects of Strong Acids and Heat Treatments on the Pollen of
Hedychium coronarium Koenig

Naotada KOBAMOTO*, Sigefumi MIYATA*, Hisasi MIYAHIRA*
and Shunichiro FUKUDA*

Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture, University
of the Ryukyus, 1 Senbaru, Nisihara, Okinawa 903 - 01, Japan

The rate of polleniplast (pollen protoplast) production by acid-heating treatment of the mature pollens of *Hedychium coronarium* Koenig appeared in a decreasing order of hydrochloric acid, sulfuric acid and nitric acid and was 95.7% in 5.0 M hydrochloric acid solution.

Polleniplast production of less than 1% occurred by heating treatment in distilled water, while no polleniplasts appeared with the treatments in the three kinds of inorganic acid solutions.

It was shown that the acid-heating treatment in 0.5 M solutions of the three acids used in this work was suitable for pseudopolleniplast (intine-enclosed polleniplast) production from the mature pollen grains.

緒 言

成熟花粉粒の細胞壁に作用する除雄剤を開発するために行った塩酸濃度の各種植物の花粉粒に及ぼす影響は種により変化に富んでいることを先に報告したい⁽¹⁾。本報では、ショウガ科植物のホワイトジンジャー (*Hedychium coronarium* Koenig) の成熟花粉粒の細胞壁に及ぼす塩酸、硫酸および硝酸処理と加熱処理の影響を検討した。

実験材料および方法

1. 花粉粒

開花直後のホワイトジンジャー (*Hedychium coronarium* Koenig) の花粉粒を採集し、アセトンで一度洗浄し、再びアセトンに浸漬し、1.0℃で冷蔵

保存^(2,3)した。花粉粒約 10,000 個を試験管に取り、貯蔵溶媒のアセトン揮発させた乾燥花粉粒を試料とした。

2. 加熱処理

乾燥花粉粒に蒸留水を 0.5 ml 加え、沸騰した湯浴中で 30 秒以内に所定の温度に達するまで加熱した後、流水中で 4 秒間、さらに、氷水中で 30 秒間冷却し静置した。パスツールピペットで花粉粒をスライドガラス上にとり、光顕で約 1,000 個について観察した。

3. 各種酸処理

乾燥花粉粒に塩酸、硫酸または硝酸の各濃度の溶液を 0.5 ml 注入し、2 分後に水酸化ナトリウム溶液で pH 7 に中和し、懸濁液と等量の 0.6 M マンニトール溶液を試験管を廻しながら器壁を伝わらせてゆっくりと

*〒 903-01 沖縄県西原町千原 1 琉球大学農学部農芸化学科

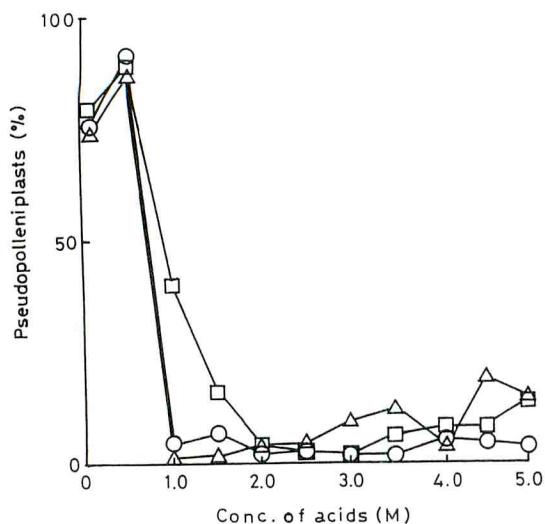


Fig. 1 The percentage of the pseudopolleniplasts (intine-enclosed polleniplasts) produced by the heat treatment in inorganic acids. ○: hydrochloric acid, △: sulfuric acid, □: nitric acid.

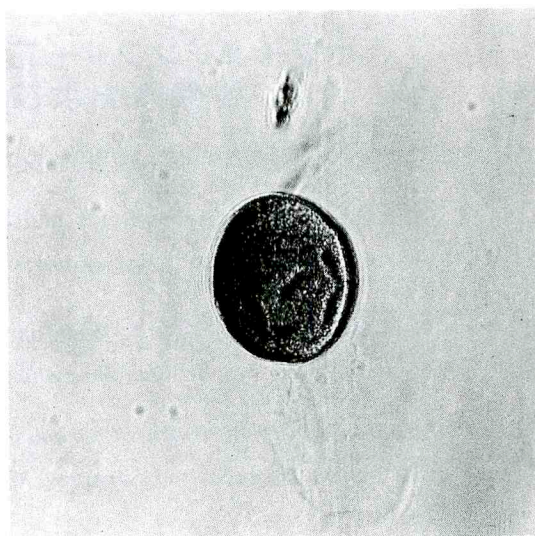


Fig. 2 Coronarium mature polleniplast (pollen protoplast) produced by 3 M hydrochloric acid-heating treatment following the treatment with 0.3 M mannitol solution. (×400)

試験管の底にそそぎ込み静置して花粉粒を沈澱させた。さらに、上澄みをパスツールピペットで除去し、0.3 M マンニトール溶液を 1.0 ml 加えて懸濁し、沈澱物を光顕観察した。

4. 各種酸加熱処理

乾燥花粉粒に各濃度の塩酸、硫酸または硝酸を 0.5 ml 加え、軽く振とうしながらガスバーナー (120 °C) で 3 秒間加熱し、速やかに流水で 4 秒間、氷水中で 30 秒間冷却した。その後の操作は 3 節で述べたとおりである。

結 果

1. 加熱処理

蒸留水中で 100 °C まで加熱しても、殆ど内壁および外壁を保持した無変化花粉粒のままであった。ポレニプラスト (polleniplast, 花粉のプロトプラスト)⁽⁴⁾ の発生率は低く、1 % を越えなかった。外壁が剥離し、内壁を保持した花粉粒 (擬ポレニプラスト、pseudo polleniplast)⁽¹⁾ および原形質膜が破断した花粉粒も

見出されなかった。

2. 酸処理

成熟花粉粒を各種酸溶液に加えると、擬ポレニプラストを生じたが、ポレニプラストの段階まで反応が進行することはなかった。原形質膜の破断も殆ど認められなかった。

3. 酸加熱処理

細胞壁の状態に非可逆的に影響を与える塩酸、硫酸または硝酸の各溶液中で加熱処理を受けた花粉粒は形態的に、無変化花粉粒、擬ポレニプラスト、ポレニプラストおよび破断花粉の 4 種類に分けられた。

無変化花粉粒は、各酸の 0.5 M 処理では、10 % 以下の低い値を示した。酸加熱処理の後、マンニトール溶液による洗浄操作時の洗浄液の注入によって花粉粒が液中で流動し、物理的に外壁を剥離し、内壁を留めた状態になることが確認できた。つまり、マンニトール溶液で洗浄操作を繰り返し行うことにより、擬ポレニプラストの発生率が高まることが示された。塩酸および硫酸の 1.0 から 2.5 M における加熱処理では、無変

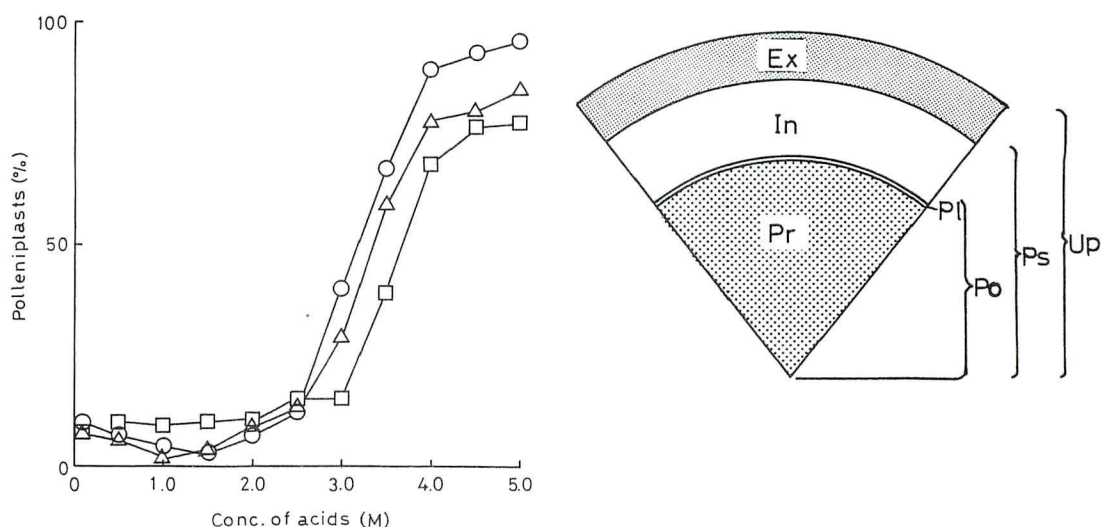


Fig. 3 The percentage of the polleniplasts produced by the heat treatment in inorganic acids.
 ○: hydrochloric acid, △: sulfuric acid, □: nitric acid.

Fig. 4 A schematic drawing of the cell wall of the mature pollen grain of *Hedychium coronarium* Koenig and the terms used in this work. Ex:Exine, In:Intine, Pl:Plasma membrane, Pr:Protoplasm, Up:Unaffected pollen, Ps:Pseudo-polleniplast, Po:Polleniplast.

化花粉粒の残存率は増加したが、それ以上の濃度では次第に減少した。硝酸加熱処理においては、無変化花粉粒の残存率は1.0 Mから増加し、3.0 Mでは80.7%であったが、それ以上の濃度処理では減少した。

擬ポレニプラストの出現率は、各酸ともに0.5 Mが他の濃度における加熱処理に比べて高かった。塩酸処理は、1.0から5.0 Mまでの範囲において、10%以下であるのに対して、硫酸処理では、1.0 Mで最も低い値をしめし、それ以上の濃度における加熱処理では濃度の上昇とともに、その出現率はいくぶん増加した。硝酸処理においては、1.0 M以上の溶液の加熱処理で擬ポレニプラストの出現率は減少傾向にあった(Fig. 1)。

ポレニプラスト (Fig. 2) の出現率は、各酸の0.01から2.5 Mまでは低く、用いた酸の種類による差は少ないが、3.0 Mから差異が現われると共に増加した。5.0 Mでは塩酸加熱処理による花粉粒のポレニプラスト出現率は95.7%になり、硫酸処理(84.8%)、硝酸処理(77.0%)の順に高い値を示した(Fig. 3)。

原形質膜が破断した花粉の発生は各酸とも3.0 Mま

では殆ど認められず、3.5 Mから増加した。硫酸が最も強い破断力を示し、塩酸が逆に最も弱かった。

考 察

酸溶液中での加熱処理によって、ホワイトジンジャー花粉粒の細胞壁は外壁、内壁、原形質膜に区別された(Fig. 4)。この花粉粒の外壁は、酸加熱処理により、亀裂が生じて剥離し、ポレニプラストおよび内壁を保持した擬ポレニプラストが出現することから、スボロポレニンと共にセルロースなどの可分解性多糖類を含有する可能性が考えられる。

また、蒸留水中で加熱することにより、低率であったがポレニプラストが作製されたことは、外壁が何らかの原因で弱められた場合には、原形質の膨潤力によって内壁を含めた壁構造が一挙に剥離することを示すものと考えられる。

各種の酸処理では、外壁の剥離は起こるが、加熱処理をしなければ内壁の剥離は起こらないことから、効率的なポレニプラスト化を図るには、加熱処理をする必要がある。加熱処理は、壁構造を弱めたり、原形質

を膨潤させることによってポレニプラスト化を促進するものと推測される。

酸化熱処理によるこの花粉粒のポレニプラスト化の現象は、スポロポレンと共に外壁を構成しているセルロースなどの多糖類が、酸熱分解を受け、外壁に亀裂が生じた後、塩酸および硝酸によって膨張した内壁が、その圧力で外壁を剥離し、さらに内壁も分解を受けて亀裂が生じて内壁を剥離したと考えられる。硫酸の場合には、膨潤した原形質が、亀裂を受けた外壁を剥離する原動力となるものと推測される。

一方、ポレニプラスト化の過程として、内壁までの壁構造の全てが同時に分解を受け、外壁と内壁を共に剥離してポレニプラスト化するとも考えられる。それは、光顕観察時に、酸加熱処理を受けた無変化花粉粒や擬ポレニプラストが外壁や内壁を剥離してポレニプラストとなることが確認できたことで示される。酸加熱処理後のマンニトール溶液による洗浄の際の花粉粒の物理的流動（いわゆるピペッティングのような液内の攪はん）も、ポレニプラスト化を促進する一つの要因と思われる。

硫酸は、原形質を外壁に接するほど膨張させ内壁を圧迫させることから、内壁の透過性が高く、原形質内に入り変性させ細胞の正常な機能の破壊を招くものと考えられる。これに対し、塩酸と硝酸は外壁との境に

間隙ができるほど内壁を膨張させ、原形質の状態は無処理に比べて変化は見られないことから、内壁が原形質への塩酸および硝酸の侵入を阻止するものと推測される。このような効果も加熱処理によって初めて発生するものであることに注目すべきである。

この成熟花粉の酸加熱処理による擬ポレニプラスト化およびポレニプラスト化に適した酸としては、原形質の変性を誘起する硫酸は不適であり、原形質に対する作用の類似している塩酸と硝酸の間では効率の高い塩酸があげられる。さらに、この擬ポレニプラスト化およびポレニプラスト化のための塩酸の最適濃度は、効率の点からそれぞれ0.5 Mおよび5.0 Mであるといえよう。

要 約

塩酸、硫酸、硝酸の各溶液中における加熱処理による *Hedychium coronarium* Koenig の成熟花粉のポレニプラスト化の効率は、3.0 M以上の濃度で塩酸、硫酸、硝酸の順で高く、5.0 M塩酸では95.7%にも達した。蒸留水中では100℃の加熱処理でポレニプラスト化は1%以下であり、各種の酸溶液中では擬ポレニプラストを生じポレニプラストは全く見られなかった。この花粉粒の擬ポレニプラスト化は、0.5 M各酸中での加熱処理が最適であった。

引 用 文 献

- (1) 小波本直忠、福田俊一郎：花粉誌 33, 53-55 (1987)。
- (2) Iwanami, Y. : Plant Cell Physiol. 13, 1139-1141 (1972)。
- (3) Iwanami, Y. and N. Nakamura : Stain Technol. 47, 137-139 (1972)。
- (4) 小波本直忠、宮田重文、宮平寿、福田俊一郎：花粉誌 32, 121-127 (1986)。

(受理日 1987年10月1日)