

ヌママラサキツユクサの加令花粉の雄原核分裂 に対する ATP の影響

上 條 明 雄*・ 斎 藤 美 和 子**

Effect of ATP on the Generative Nuclear Division of Aged
Pollens in *Tradescantia paludosa*.

Akio KAMIZYÔ* and Miwako SAITO**

* Department of Botany and Microbiology, School of Medicine, Teikyo
University, Otsuka, Hatioji, Tokyo 192-03.

** Department of Biology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo
University, Sagamiko, Kanagawa 199-01.

Effect of exogenously added ATP on the generative nuclear division of aged pollen grains in *Tradescantia paludosa* was studied. When fresh pollens were allowed to stand for 3hr in room temperature, the dividing activity of the generative nuclei was decreased. However, the addition of 0.01% ATP to the artificial medium slightly restored the dividing activity and increased the viability of generative nuclei.

はじめに

著者らはこれまでに、テッポウユリ *Lilium longiflorum* Thumb とヌママラサキツユクサ *Tradescantia paludosa* Anderson et woodsonを用いて、培地の違いや花粉の加令の違いによる雄原核の分裂能の違い、および、核分裂能が低下した条件下での培地へのATPの添加による雄原核の分裂能の回復効果について報告してきた^(1~3)。ここでは、ヌママラサキツユクサの加令花粉の雄原核分裂能に対するATPの影響について報告する。

材料と方法

実験に供したヌママラサキツユクサは前報⁽²⁾の通りである。葯裂開直後の午前8時に採取した花粉を室温中で放置して午前11時から培養し(以下、加令花粉と称する)、6および8時間後に固定した。また、採取直

後の午前8時に培養を開始したもの(以下、新鮮花粉と称する)を対照とした。花粉管の培養法とプレパレードの作製法は前報⁽²⁾に準じた。すなわち、カバーガラス上に花粉を散布し湿室中で15分放置した後に、BrewbakerとKwack⁽⁴⁾の液体培地(pH 8.3)を滴下し花粉を懸濁した後、25℃の湿室中で培養した。加令花粉の培養に関しては、0%—0.05%のATP(adenosin 5'-triphosphate disodium salt, 和光純薬)を培地中に添加した。培養後の花粉は酢酸アルコール(3:1)混液で固定・洗浄した後に風乾し、酢酸オルセインで染色して観察に供した。分裂期は前期(図中ではP=prophaseと称する)、中期(M=metaphase)、DEA(DEA=delayed early anaphase)、EA(EA=early anaphase)、後期(A=anaphase)、終期(T=telophase)に分類した。前報⁽³⁾で報告したように、ヌママラサキツユクサの雄原

*〒192-03 東京都八王子市大塚359 帝京大学医学部植物学・微生物学教室

**〒199-01 神奈川県津久井郡相模湖町寸沢嵐1901-1 帝京大学薬学部生物学教室

核分裂では2つの特徴が見られる。第1の特徴は中期から後期に至る経過時間が極めて長いことである。特に、姉妹染色体が分離したまま両極への移行が始まっていない核(DEA)、および、両極への移行が始まったばかりで見かけ上は1核であるように見える核(EA)が高い頻度で観察される。第2の特徴は、核が粘着状を呈し、また染色性も減少していることから明らかに活性を失ったと判断される核(以下、死核と称する、NN=necrotic nuclei)が多く観察されることである。核の死核化は前期から終期に至るすべての分裂期で起こる。特に、終期核は時間の経過と共に次々に死核化し、精核を形成する以前にすべての核が死核化する。そのため、新花粉を用いて10時間以上の長時間培養を試みた場合でも、死核の頻度が高くなるのみで精核の形成は見られない。

結果と考察

図1はヌマムラサキツクサの新鮮花粉と加令花粉を6および8時間培養して得た花粉管内の雄原核における死核、および死核化していない核(以下、生存核と称する)に占める分裂各期の核の割合を示したものである。ただし、加令花粉のうち0.025% ATP添加培地で8時間培養した花粉管では、すべての核が死核となっていたため図に示していない。また、0.05% ATP添加培地での6時間培養でもすべての核が死核化していたため、本来は生存核が0%となるように図示すべきであるが、考察の際の参考のため特にパラメータを変え、死核のうち分裂期の判定が可能な核に占める分裂各期の核の割合を示したものである。このようなパラメータの設定法は、図2でも行った。すなわち図2は、図1と同一の観察結果を集計する際に、死核を除いた生存核の総数を100%に設定し、生存核に占める分裂各期の核の割合を示したものである。ただし、前記したように0.05% ATPでの6時間培養のみは死核での参考値を示してある。

新鮮花粉(図1、2、Control)をATP無添加培地で6時間培養して得た花粉管では約45%の核が死核

化し、残りの生存核のうちほぼ半数が終期に至っていた。一方、2時間後の8時間培養では、死核の割合が約70%に増加していた。これに対して8時間培養での全核に占める終期核の割合は、6時間培養での割合に比べて減少していたが、生存核に占める終期の割合はほぼ80%にまで増加していた。以上の結果は、培養時間の延長により終期に進んだ生存核が増加し、それにもなって終期から死核化する核も増加したことを示している。しかしながら、前期-後期核に由来すると思われる死核も多く観察されるようになることから、培養時間の延長にもなって終期に至ることなく死核化する核も増加するものと思われる。なお、8時間培養では、前期に留まったままの生存核は観察されなかった。

一方、ATP無添加培地で培養した加令花粉(図1、2、0%)では、死核の割合は新鮮花粉のそれと比較して6時間培養で増加しており、またいずれの培養時間でもDEAの割合が増加し、8時間培養では終期核の割合が増加していた。培養6時間での生存核の減少は花粉の加令によって核の生存力が低下したことを意味する。このことは加令花粉では新鮮花粉に比べて前-中期核に由来すると思われる死核が多く観察されることから推察される。また、花粉の加令は核分裂能の低下も引き起こす。すなわち、6時間培養では多数の核がDEAに留まり、その後の2時間の培養によってDEAから終期への進行が急激に進む。このことは、培養8時間での終期核の多くが比較的早い(若い)終期核、すなわち死核に至る程度にまでは核分裂過程が進行していない核で占められていることを意味しており、培養8時間での生存核の増加、および生存核に占める終期核の割合の増加として表れている。以上のように、花粉の加令による雄原核の分裂能の低下は、DEA核の増加として特に強く反映されているが、加令花粉では姉妹染色体の両極への移行に関与するなんらかの機能が低下しているものと思われる。

0.01% ATPの添加(図1、2、0.01%)によって死核の割合がさらに減少し、新鮮花粉と比べても低い割合になった。また、8時間培養では終期核の割合が新

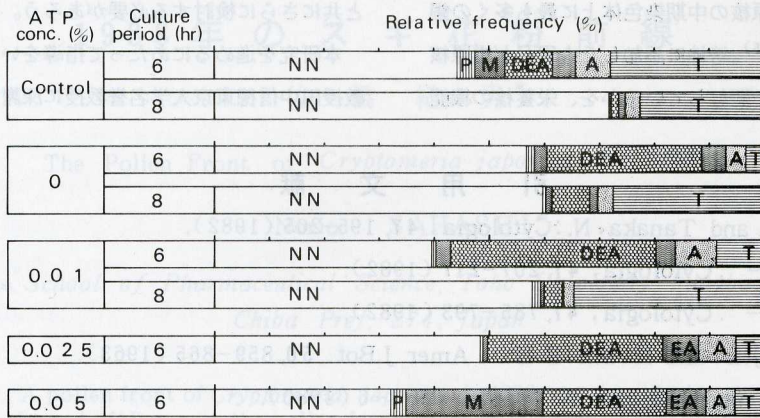


図 1. 加令花粉の雄原核分裂に対する ATP の影響 I。加令花粉を 0 — 0.05% の ATP を含む培地中で 6—8 時間培養した後の花粉管における雄原核に占める死核と分裂各期の生存核の割合。ただし、0.05% ATP 添加培地での 6 時間培養の結果は死核に占める分裂各期の割合を示す。

Control = 新鮮花粉、P = 前期、M = 中期、DEA = delayed early anaphase、EA = early anaphase、E = 後期、T = 終期。

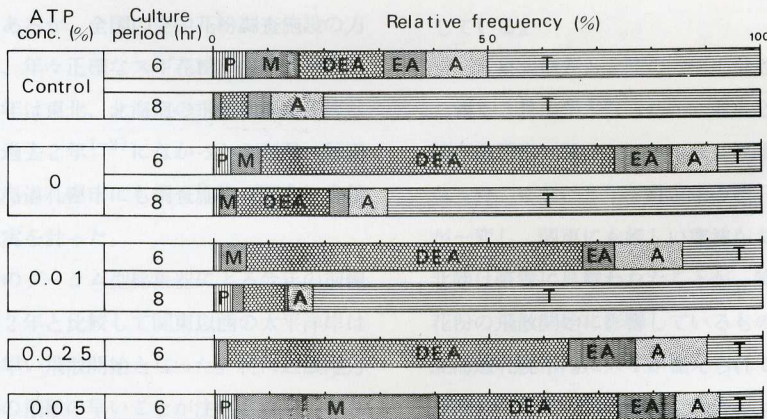


図 2. 加令花粉の雄原核分裂に対する ATP の影響 II。図 1 のパラメータを変え、生存核に占める分裂各期の核の割合を示したものの。ただし、0.05% ATP 添加培地での 6 時間培養の結果は死核での割合を示す。

鮮花粉でのその値よりも高くなった。しかし、ATP 無添加の加令花粉との比較のところで述べたように、これらの結果から培地への 0.01% ATP の添加によって加令花粉の雄原核の生存力や分裂能が新鮮花粉以上に向上したとは断言できない。ただし、ATP 添加培地で培養した加令花粉では無添加の場合と比べて核分裂能が増加したにもかかわらず死核の割合が低下したことから、花粉の加令による雄原核の生存力と分裂能の低下が ATP の添加によってやや回復することが示唆された。過剰な ATP の添加は雄原核に対して阻害的に作用

した(図 1、2、0.025%、0.05%)。特に、0.05% ATP の添加は 6 時間培養でのすべての核の死核化をもたらした。死核の内、分裂期の判定が可能な核に占める中期核の割合が極めて高かったことから、培養開始後の比較的早い時期に死核化したものと思われる。

おわりに

以上のように、培地への適量の ATP 添加は、加令花粉の雄原核の生存力と分裂能を高める効果をもたらした。³H-ATP を用いたオートラジオグラフィーでは、

テッポウユリの雄原核の中期染色体上に最も多くの銀粒子が観察された⁽⁵⁾。培地に添加したATPが雄原核にどのような機構で関与しているかを、栄養核の機能

と共にさらに検討する必要がある。

本研究を進めるにあたって指導をいただいた元本学教授田中信徳東京大学名誉教授に深謝する。

引 用 文 献

- (1) Kamizyô, A. and Tanaka, N. : *Cytologia*, **47**, 195-205 (1982).
- (2) ——— and ——— : *Cytologia*, **47**, 207-217 (1982).
- (3) ——— and ——— : *Cytologia*, **47**, 785-793 (1982).
- (4) Brewbaker, J.L. and Kwack, B.H. : *Amer. J. Bot.* **50**, 859-865 (1963).
- (5) Kamizyô, A. and Tanaka, N. : *CIS*, **29**, 4-6 (1980).

(受理日 1988年3月31日)