

原 著

クロマツ花粉の生長とデンプン粒形成

中村紀雄*¹・新井勇治*²Starch granule formation during the growth of *Pinus Thunbergii* pollenNorio NAKAMURA* and Yuji ARAI*²

(受付：1981年10月30日)

緒 言

前報では9種類の完熟花粉について、デンプン合成酵素が存在するかどうかの検討を行った¹⁾。デンプン合成酵素はすべての花粉に存在していたが、トウモロコシとクロマツ花粉の酵素活性が高かった。このうちとくにクロマツ花粉は生長にともない著しいデンプン形成がみられること、また培養が容易であることなど、花粉のデンプン合成機構を調べるのに適した材料と思われた。そこでクロマツ花粉生長過程のデンプン粒形成を顕微鏡で調べ、またデンプン合成酵素の活性変化等について調べた。

ここでは光学および電子顕微鏡による観察結果について報告し、これに対応した生化学的研究については、あらためて報告する予定である。

材 料 と 方 法

クロマツ花粉は室内で開葯させて集め、日照下で

よく乾燥させた後、シリカゲルとともに容器に入れ、使用まで冷凍庫中に保存しておいた。

花粉の培養は、ショ糖-寒天(2.5%)培地を用い、25~27°Cでおこなった。

デンプン粒形成の様子は、生長花粉をヨード試薬で染色してから、または電子顕微鏡観察の場合と同様に作成した切片をスライドグラスにとり、黒滝の方法²⁾によりマラカイトグリーン、トルイジンブルー、塩基性フクシンで重染色をおこなってから光学顕微鏡で観察した。また前報¹⁾に準じて、花粉を2%過マンガン酸カリで固定してから、エポン樹脂に包埋し、切片作成後、酢酸ウラニル、硝酸鉛で染色してから、JEOL100B電子顕微鏡で観察した。

結 果 と 考 察

クロマツ完熟休止花粉をヨード試薬で染色し、光学顕微鏡(光顕)で観察すると、5~30%の花粉にデンプン粒が検出された(図1)。この時期のデンプ

*¹ 〒236 横浜市金沢区瀬戸22-2 横浜市立大学生物学教室

*² 〒305 茨城県新治郡桜村 筑波大学応用生物化学系

*¹ Department of Biology, Yokohama City University, Yokohama 236, Japan.

*² Institute of Applied Biochemistry, The University of Tsukuba, Sakura-mura, Ibaraki 350, Japan.

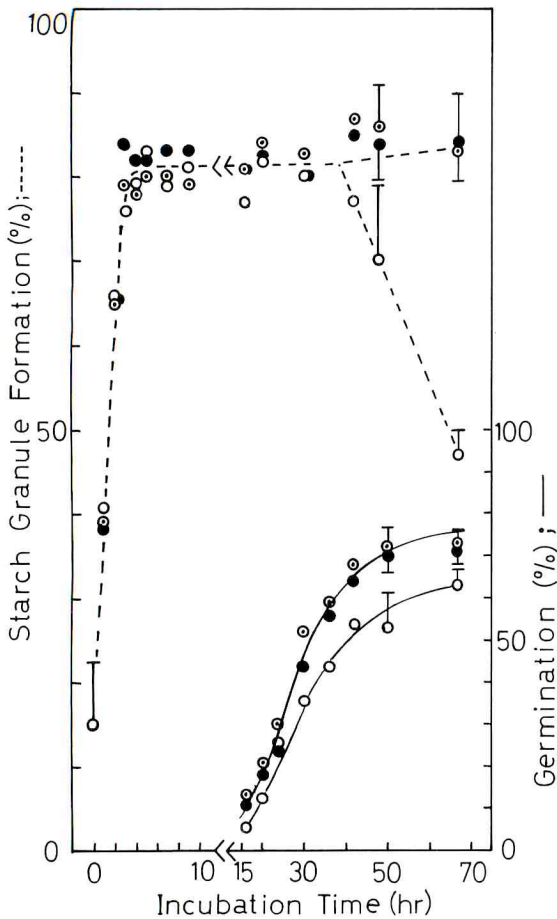


Fig. 1. Starch granule formation during the growth of *Pinus thunbergii* pollen

Pollens were incubated on 1% sucrose (○), 5% sucrose (●) or sugar-free (○) medium at 25-27°C. Growing pollens were stained with I₂-KI solution and the number of pollens containing starch granules was counted.

ン粒は細かく、多くの場合、細胞質中に環状に並んで分布するのが観察された。そのように見えたのは、電子顕微鏡(電顕)、および重染色した後の光顕観察の結果、核の周りにデンプン粒が位置しているため(図2-3)と思われる。またデンプン粒は電顕観察(図2-1)するとほとんどの花粉に見い出された。ただデンプン粒の数と大きさは個々の花粉により大きな違いがみられ、ヨード試薬によるデンプン粒の

染色性はデンプン粒の発達程度やその量に影響されるものと思われる。デンプン粒の形は楕円～球形であったが、輪郭が明瞭でないものが多く、その大きいものの長直径は1.5~2 μmであった。この時期の生殖細胞中にはデンプン粒は見られなかった。培養1~2時間ではデンプン粒を形成した花粉の数が倍増し、また花粉内の粒子数も増加するのがみられたが、粒の大きさやヨード試薬の染色性には大きな変化は見られなかった。3~5時間になるとほぼ80%の花粉にデンプン粒がみられ、光顕、電顕によっても形の大きなデンプンが多くみられるようになった。このような現象に対し培地の糖濃度の影響はみられなかった。培養7~9時間のデンプン粒の大きさは5~6 μmと大きくなり、その輪郭も明瞭に認められるものが多くなった。ヨード試薬でも紫色に染まり、休止花粉のデンプン粒とは明らかな違いが認められた。9時間では発芽しかけた花粉もみられた。なおこの時間にデンプン粒を含有していなかった花粉は、その後発芽しなかった。発芽花粉は16時間頃より急速に増えはじめ、無糖培地では67時間後約60%が、糖培地では75%の発芽がみられた。培養24時間後電顕観察(図2-2)すると、デンプン粒は単粒型のものが多くみられ、アミロプラスト中に2~3ケのデンプン粒を含む複粒も少数みられた。テッポウユリ花粉では複粒が多く、時にアミロプラスト中に6~7ケのデンプン粒がみられることがあり、クロマツ花粉とは様子が異なっている。この時期には、生殖細胞中にもデンプン粒がみられた。培養30時間を過ぎると、無糖培地で培養された生長花粉のデンプン粒数は減少しはじめ、42時間頃からは急減し、67時間後にはデンプン粒をもつ花粉の数は約50%になった。これに対して糖培地での生長花粉のデンプン粒は生長にともない花粉全体に密に増加蓄積し(図2-4)、ヨード試薬により黒紫色に染色された。ただ花粉管先端部分は染色されず、電顕によってもこの部分にデンプン粒は見られなかった。

デンプン粒形成は5%シヨ糖培地の方が、また花粉管伸長は1%シヨ糖培地の方が良好であり、いず

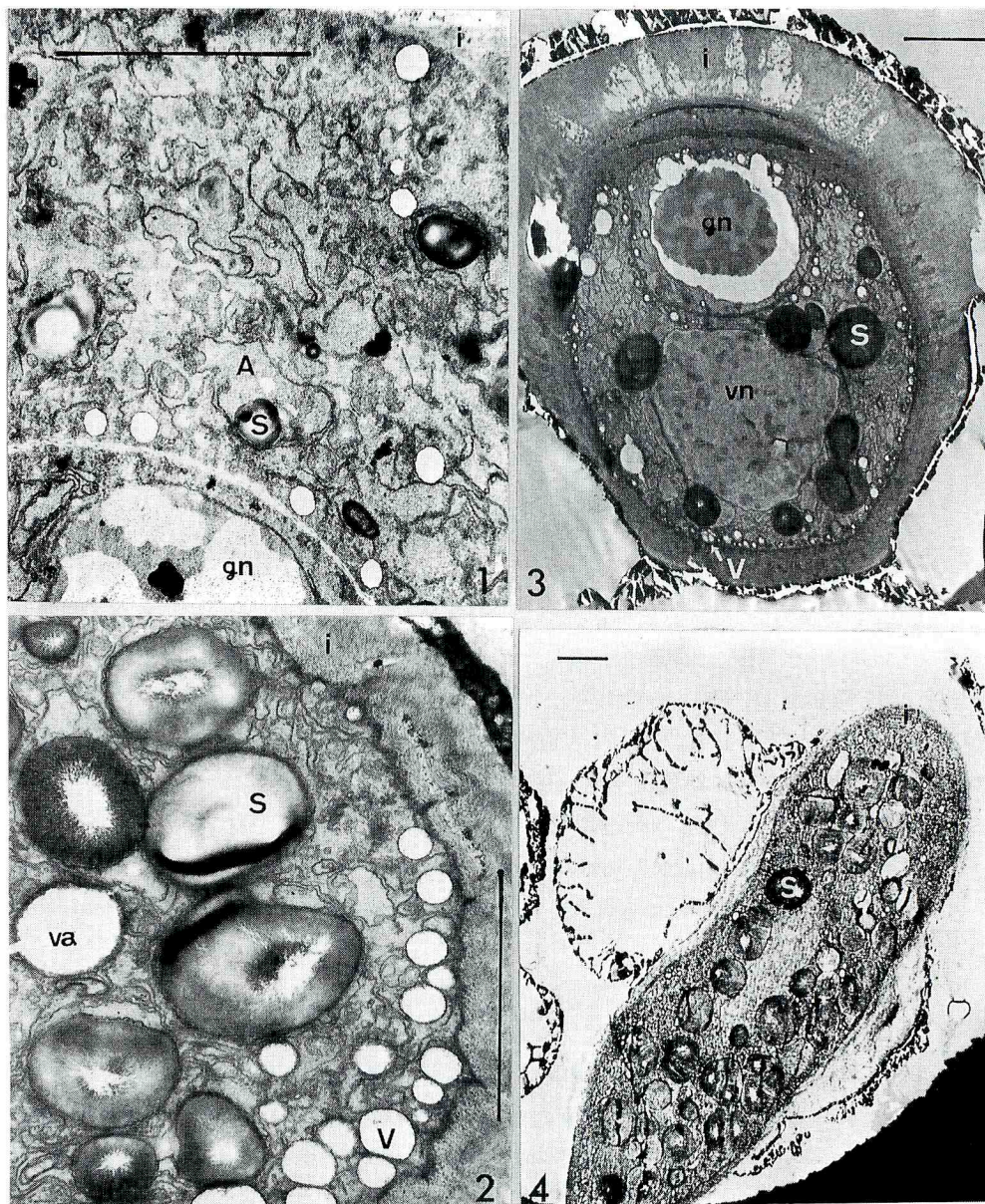


Fig. 2. Starch granules in a pine pollen

Note the size and number of starch granules in an amyloplast of mature quiescent pollen grain (1), and of a pollen incubated for 24 hr (2) or 48 hr (3 and 4). Each bar in figures means 5 μ m long.

Abbreviations :

- | | | |
|--------------------|-------------------------|--------------|
| i : intine | v : vesicle | va : vacuole |
| s : starch granule | gn : generative nucleus | |
| A : amyloplast | vn : vegetative nucleus | |

れの場合も、生長の良好な花粉ではデンプン粒が多く、未発芽花粉にはデンプン粒は検出されなかった。

以上のデンプン形成の形態観察においても、生理的变化と同じように⁽⁵⁾ 生長初期では培地の糖の影響はみられず、管伸長期にその影響がみられた。これは生長初期では主に花粉自身が含有していた糖を利用し、管伸長期では培地より供給される糖を利用するためと考えられる。ただ生長とデンプン粒形成はかならずしも並行していなかった。

クロマツ花粉管壁は厚く、しかも花粉内壁と花粉管壁は連続してみえ、その構造的区別は困難であった。また今回は花粉管先端付近に Golgi vesicle を観

察できなかったが、花粉生長の全過程で、とくに細胞壁付近に多くの vesicle が存在するのが観察された(図2)。この vesicle は生殖細胞中にも常に存在した。クロマツ花粉のこのような構造は、少なくともツバキやユリ花粉とは異なっている。マツ類花粉の微細構造に関する研究は^(6,7)ほとんど花粉粒形成と完熟過程にかぎられており、生長過程についての研究がみられない。花粉の生長機構を知るためには、種々の花粉について比較することが必要であり、クロマツ花粉に関しても、生長過程の微細構造について詳しい研究が望まれる。

文 献

1. 中村紀雄・新井勇治: 花粉誌 (印刷中).
2. 黒滝光明: 解剖学雑誌 **47**, 237—250 (1972).
3. 中村紀雄・岩波洋造: 花粉誌 **12**, 19—24 (1973).
4. 中村澄夫・三木寿子: 花粉誌 **26**, 39—48 (1980).
5. P. Nygaard: *Physiol. Plant.* **39**, 306—210 (1977).
6. H. G. Dickinson: *Sporopollenin* (ed. by J. Brooks et al) p. 31—67. Academic Press, New York (1971).
7. M. T. M. Willemse: *Sporopollenin* (ed. by J. Brooks et al) p. 68—107. Academic Press, New York (1971).

Summary

Starch granule formation during the growth of *Pinus Thunbergii* pollen was studied with light and electron microscopy. A small number of starch granules were detected in a mature quiescent pollen grain: they were spherical and the granule diameters were in the range of 1.5-2.0 μm . Number of the small starch granules increased rapidly with pollen growth and after 3-5 hr incubation many big granules (5-6 μm diameter) were detected. In the early stage of pollen growth, the starch granules were formed without the supply of exogenous sugar. Many amyloplasts contained one granule each, but a few two or three granules. In the stage of tube growth, the pollen cell was filled with many starch granules and also starch granules were detected in a generative cell. However, the starch content was influenced by a concentration of sugar supplied. Pollen which could not form starch granules or which starch granules did not increase with pollen growth, could not germinate.