

## チューリップ花粉形成過程における 減数分裂と体細胞分裂の観察法

田 中 一 朗

Methods for the Observation of Meiosis and Mitosis during Pollen  
Development in *Tulipa gesneriana*

Ichiro TANAKA \*

Department of Biology, Yokohama City University, Kanazawa-ku,  
Yokohama 236, Japan

### はじめに

細胞分裂は、その機能面から大別すると体細胞分裂と減数分裂とに分けられるが、いずれも高校・大学等の生物実習では基本的かつ重要な観察課題として取り扱われており、これまでも多くの教材研究が報告されている。体細胞分裂の観察には通常根端分裂組織が用いられるが、その際には活発に伸長しつつある新鮮な根端さえ採取できればその観察は比較的容易である。それに対して、減数分裂の観察では減数分裂細胞の採集自体が容易でない場合が多い。それは減数分裂の時期を適当な指標によって推定することが意外に難しいからであり、またそのため収集量にも限度がある。実際に、教材に関する研究も体細胞分裂の場合に比べて少なく、植物では、ユリやムラサキツユクサがよく知られているにすぎない。

そこで、減数分裂の教材開発の一例として、採取が容易で、しかも一度に多量の減数分裂細胞を集めることができるチューリップの場合を紹介しよう。チューリップの花粉形成過程では、球根を室内で管理することによって、減数分裂だけでなく通常の倍数性(2n)の体細胞分裂、さらには半数性(n)の体細胞分裂の観察も容易に行うことができるので、それらも合わせて紹介する。

### 材料の準備

#### 1) 球根の入手法

チューリップ (*Tulipa gesneriana*) は最も親しみやすい花の一つであり、その球根は例年8月末頃よりたいていの園芸店で市販される。小売店では、ばら売りか、もしくは2~3球単位で包装されて種別に売られており、価格は1球50~100円程度である。品種は非常に多いが、観賞が目的ではないので、ここでは安いもので十分である。ただし、できるだけ大きさの均一な球根がそろっている品種を選ぶことが重要である。また、球根の大きさもできるだけ大きい方が望ましい。数は多いのにこしたことはないが、最低同一品種で30球は用意したい。従って、ばら売りで扱っている品種を選ぶか、卸売店で分けてもらうようにすればよい(少しは安く手に入る)。市販は翌年の春まで続くが、後に述べる採集の目的から、遅くとも10月中旬頃までには入手したい。

#### 2) 球根の保存法

入手した球根をそのまま自然の状態におくのが最適である。従って、ネットの袋にでも入れて風通しの良い所にぶらさげておけばよい。最大の問題は温度で、秋に25℃以上になるような所は不適である。従って、日当りは絶対に避けること。また、一定温度に保つこ

\* 〒236 横浜市金沢区瀬戸22-2 横浜市立大学文学部生物学教室

とはかえって不都合なので、できるだけ自然の気温の変化をそのまま反映する所に保存することが望ましい。一方、湿度の高い所では球根にかびがつくことがあるので注意を要する。

### 減数分裂の観察

細胞分裂の教材準備では通常、種子や球根をあらかじめ鉢に植えたり、水栽培する手間がかかるが、チューリップの減数分裂細胞を採集する場合には、その必要がまったくない。入手した球根には芽も根も出ていないが、花芽の分化はすでに球根内で始まっている。試しに球根を一つ割ってみよう。非常に小さい花芽（蕾）が中にみられるはずである。ユリやムラサキツクサなどの植物では、根・茎・葉の成長後、地上で分化した花芽内の花粉母細胞で減数分裂が起こるが、チューリップでは、この花芽が球根内にあるうちに減数分裂が起こる。8月花芽の分化に始まり、関東地方の自然状態では、10月下旬～11月中旬の間に減数分裂が行われる。ただし、この期間は品種による違いを含んでおり、個々の球根内の減数分裂の期間（第一

分裂前期～第二分裂終期）はこのうちの約1週間程である。昨年調査したある1品種の花粉形成過程の具体例を図1に示す。減数分裂の時期が品種によって多少異なることとともに、もう一つ注意しなければならないのは、それが温度によって調節されていることである。すなわち、秋に入ってから気温の低下（約15℃）が減数分裂を引き起こす。従って、気温の低下がより早く起こる東日本では減数分裂の時期がより早まり、西日本では逆に遅くなる。球根を高湿状態あるいは一定温度に保つことの不適さが以上のことから理解できよう。このように減数分裂の時期は品種、地域、保存状態などによって変わるので、入手した球根におけるその時期を外観から予測することは不可能である。

そこで、保存中の球根を逐次調査することによって、減数分裂の時期を見落とさないようにすることが細胞採集の最も重要なポイントとなる。

調査は以下のようにして行う。

- 1) 球根を図2のようにナイフで割り、中から花芽を取り出す。
- 2) 花芽をむき、中から6本の葯を取り出す。

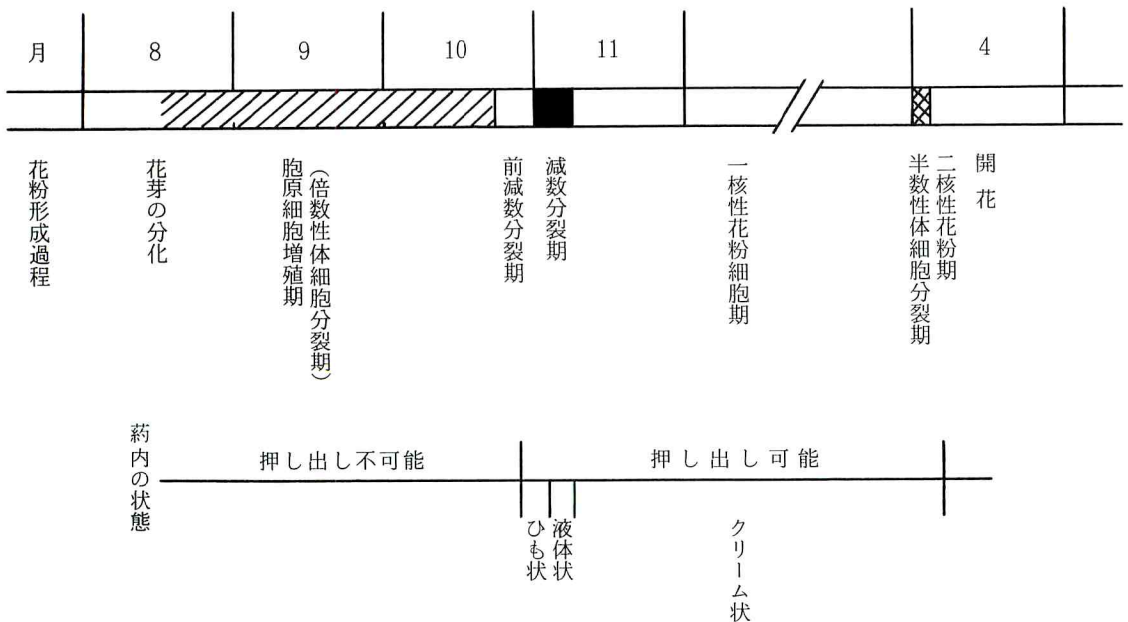


図 1. チューリップの花粉形成過程と葯内の状態

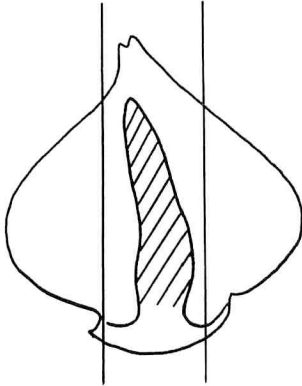


図 2. 花芽の取り出し方

- 3) 葯の先端 1～2 mm をカミソリで切る。
- 4) 葯の基部から徐々に力を加えて、中身を切口から押し出す。
- 5) 出てきた中身をスライドグラスにのせる。
- 6) すばやくプロピオン酸（酢酸）オルセイン液<sup>\*</sup>を一滴落とす。
- 7) しばらくしてカバーグラスをかけ、検鏡する（6の後、スライドグラスをアルコールランプ上で数度往復して温めるとより早く観察できる）。

まず 4 の操作で葯が手でつかめないほど小さかったり、あるいは押し出しても中身がまったく出ない状態なら、花粉母細胞の減数分裂はまだ始まっていない。ゆっくり押し出した時中身がひも状で出てくるなら、減数分裂の直前（前減数分裂期）か、第一分裂の前期である。検鏡すると、均一な中間期の核か、もしくは細い糸状の染色体構造をもつ細胞が観察される（図 3 A, B）。このひも状の細胞集団は長時間染色しないと中央部の細胞まではなかなか染まらないが、調査は良く染色された周辺部の細胞だけで行えばよい。品種によって多少異なるが、この減数分裂の開始はおよそ 20 mm 前後の長さの花芽中で起こる。第一分裂の前期はさらに細糸期、合糸期、太糸期、複糸期、移動期に細分

されるが、ここでは詳しく述べない。続いてこのひもの状態がくずれ、押し出したとき中身が白色のどろどろの状態が出るようなら、この頃が減数分裂の第一分裂中期から第二分裂なので、染色体を観察するには最も適当な時期となる（図 3 C～G）。この時期を過ぎると、葯内は完全な液体状になり、続いてクリーム状に変化する。それは減数分裂の終了した四分子か、もしくはそれらが遊離した花粉細胞なので、もう染色体構造はみられない（図 3 H）。花粉形成過程の進行に伴うこうした葯内の状態の変化は、図 1 に示されているように、採集のための一つの指標となる。

チューリップ球根中の花粉母細胞は以上のような発生をするので、入手した球根を 10 月中旬頃より 3 日毎に 1 球ずつ調査していけば、必ず減数分裂期の細胞にぶつかることになる。減数分裂の期間は約 1 週間であるが、そのうち第一分裂の前期が 5～6 日、第一分裂の中期から四分子まではせいぜい 1～2 日なので、前期を見つけたら、調査の間隔を短くして慎重に行う必要がある。同一品種の、同時に入手し、同一条件下で保存中の球根はほぼ同じ進行状態にあるので、一つの球根で第一分裂中期の細胞が見つかったら、残りの球根も減数分裂中のはずである。そこで、他の球根も割れば、一度に多量の減数分裂細胞を集めることができる。

以上のようにして調査中減数分裂の第一分裂中期頃の細胞が見つかったら、必要な量だけカルノア液<sup>\*\*</sup>に固定する。葯の一端から押し出した白濁状のものをピンセットで受けて、固定液につければよい。球根 10 球分（葯 60 本分）で 200～300 名の実習は可能である。1 日後上清を捨て、70% アルコールを加えて冷蔵庫に保存しておけばいつでも実習に使用できる。

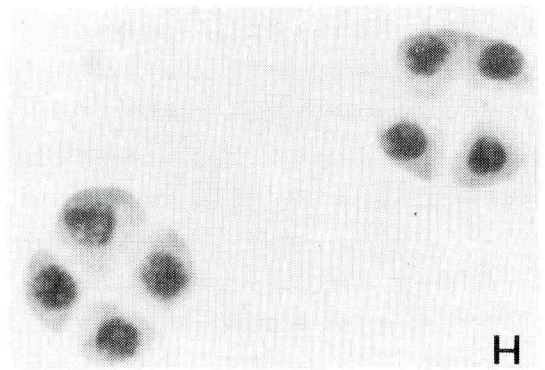
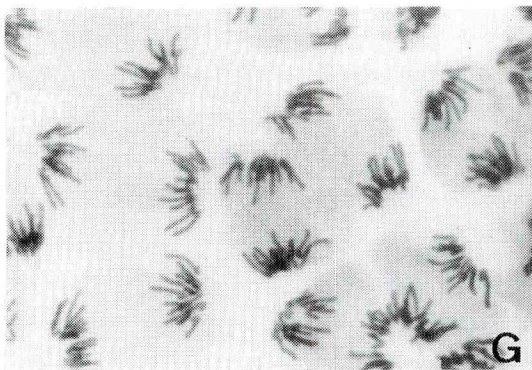
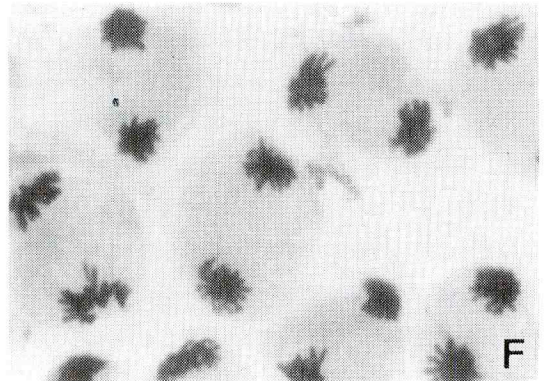
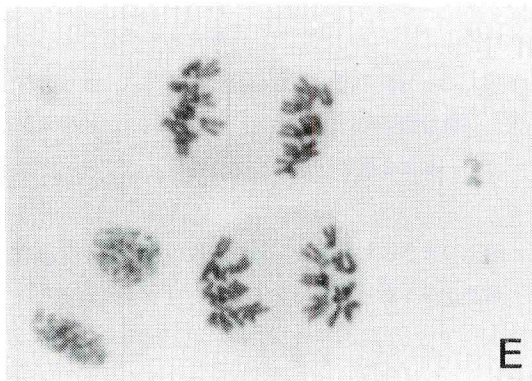
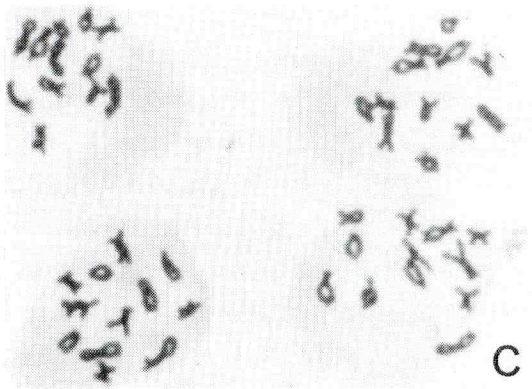
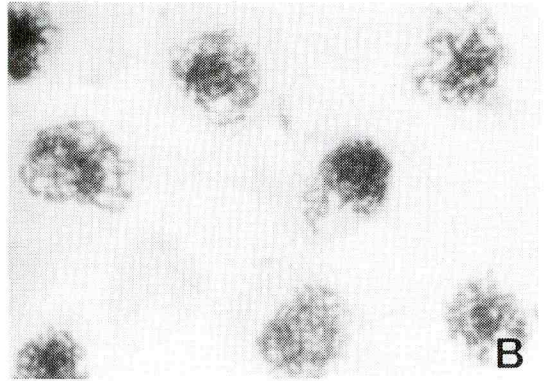
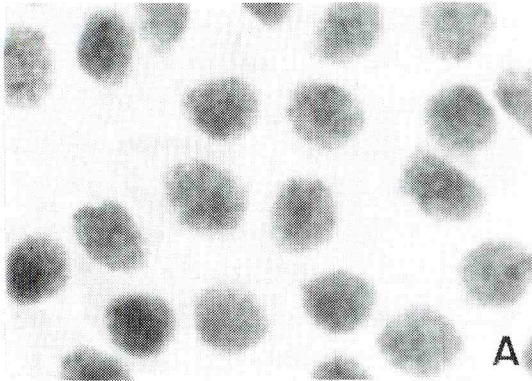
学生実習では、この花粉母細胞のアルコール懸濁液をスライドグラスに少量とり、プロピオン酸（酢酸）

\* プロピオン酸（酢酸）オルセイン液の作り方

45% プロピオン酸（45% 酢酸）100 ml に 1 g のオルセイン粉末を加えて煮沸し、常温に戻した後ろ過する。

\*\* カルノア液の作り方

エチルアルコール 3 に対して酢酸を 1 の割合で混合する（保存は効かないので、使用前に作成する）。



オルセイン液を一滴落として観察させる。最も注意すべき点は、アルコール懸濁液を多量にとると、染色が不十分になったり、あるいはカバーガラスをかけたとき細胞が外にはみ出してしまうことである。従って、細胞が十分含まれている懸濁液をできるだけ少量スライドグラスにとるのがコツである。そのためには、あらかじめアルコール量を減らして、懸濁液の細胞濃度を高くしておいた方がよい。あるいは、スライドグラス上のアルコールが少し乾くのを待ってから染色液を落とすのもよい。それでも学生の自由にさせると、あっという間にせっかく採集した細胞が無くなる危険性があるので注意を要する。この試料の最大の特徴はほとんどの細胞が分裂中ということであり、しかも、その中には減数分裂の第一分裂前期から第二分裂終期までのほとんど全時期の細胞が含まれる。それは、この採集法でも球根毎の発達の差やさらには1本の葯内での花粉母細胞の同調性の差が必ず生じているからである。また、染色体も大きくて見やすいので、実習において、減数分裂の進行に伴う染色体の挙動変化をいろいろ見せるのには好適である。通常のチューリップは2倍体 ( $2n = 24$ ) なので、第一分裂中期では12本の二価染色体が観察される (図3C)。ただし、最近の園芸品種の中には3倍体 ( $3n = 36$ ) も多く含まれているので、入手の際確認できるならしておいた方が無難である。

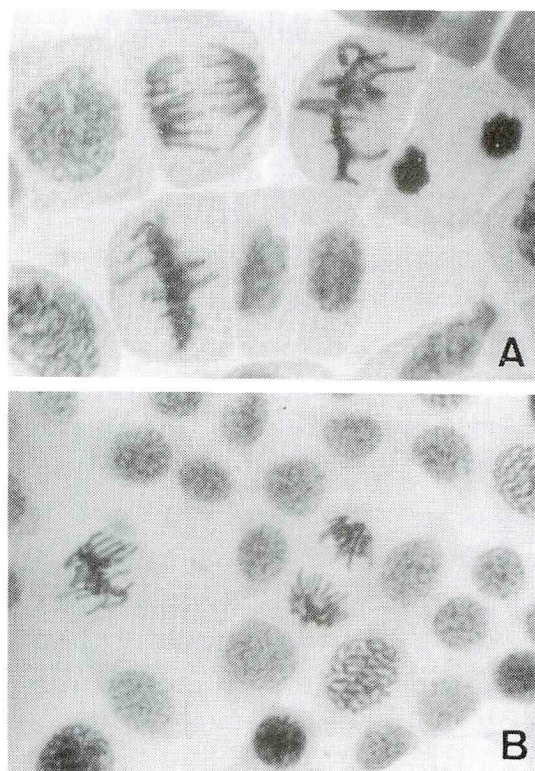
以上のように、チューリップの減数分裂細胞は、室内で材料採集ができるとともに、その観察法も極めて容易である。が、難点は採集のチャンスが年に一度しかないことである。しかしながら、ていねいに調査を行えば必ず一度に多量の細胞を集め得る。この調査の

**図 3.** チューリップの減数分裂 A: 前減数分裂期、B: 第一分裂前期、C: 第一分裂中期 (赤道面に垂直な方向から見た場合)、D: 第一分裂中期 (赤道面に平行な方向から見た場合)、E: 第一分裂後期、F: 第一分裂終期、G: 第二分裂後期、H: 花粉四分子 ( $\times 400$ )

ためにも球根は多めに入手した方がよい。万が一、減数分裂期を逸しても落胆することはない。その教訓を次年度に生かそう。つぎに、残りの球根を使った体細胞分裂の観察法を簡単に紹介する。

### 倍数性 ( $2n$ ) 体細胞分裂の観察

チューリップの球根は、通常秋に地中に植えられ、気温が $15^{\circ}\text{C}$ 以下になると根の伸長を開始する。そこで、減数分裂の終わった球根を室内で水栽培すれば、いつでも新鮮な根を簡単に得ることができる。チューリップは1球より100本前後の根端が採集可能であるが、観察には水栽培後3~5日目頃が最適である (図4A)。その頃必要な数だけカルノア液で固定後70%アルコール中に保存しておけば、いつでも実習等に使用できる。根端を用いた体細胞分裂の観察法については、これま



**図 4.** チューリップの倍数性体細胞分裂 A: 根端分裂組織 (前期~終期の全時期が観察される)、B: 胞原細胞 ( $\times 400$ )

でもいくつかの記載があるので、ここでは省略する。

一方、倍数性体細胞分裂は花粉形成過程中の細胞を用いても観察が可能である。話はさかのぼるが、減数分裂期に入る約1週間前よりさらに以前の葯内の細胞は、胞原細胞として増殖中である(図1)。そこで、10月中旬頃までの葯内の細胞を観察すれば、倍数性の体細胞分裂がみられることになる(図4B)。ただし、減数分裂期の場合よりも葯が小さく、また葯からの細胞の押し出しも不可能である。そこで、根端のように、葯のまま固定・染色した後、押しつぶして観察する。前述の減数分裂細胞採集のためにも、この分裂は一度確認のため見ておくとよい。なぜなら、胞原細胞の増殖が停止後約1週間で花粉母細胞は減数分裂に入るからである。

### 半数性 ( $n$ ) 体細胞分裂の観察

秋の球根を水栽培することによって、根出しは容易であるが、地上部の正常な発達はまだ期待できない。チューリップでは、減数分裂終了後、冬の低温期を経過してはじめて春に地上部の成長が可能になる。葯内の花粉細胞は、この地上部の成長とともに発達し、開花の約10日程前(4月上旬頃)に半数性の体細胞分裂を行う(図1)。

そこで、減数分裂の終わった球根を冬の代わりに2カ月間低温処理(冷蔵庫に保存)した後水栽培すれば、地上部も正常に発達し、春を待たずに半数性の体細胞分裂、さらには開花を観察できるようになる。図5のように、水切りかごに球根が落ちない程度の穴をあけ、窓際で水栽培する。その際、水は毎日取り替えた方がよい。水栽培開始後7~10日目、葉中の蕾が顔を出し始めた頃、葯を取り出し、減数分裂の場合と同様、葯の一端を切ってゆっくりと押し出す。やや黄色味があったクリーム状の内容物をスライドグラスにとり、プロピオン酸(酢酸)オルセイン液を一滴落とした後、スライドグラスをアルコールランプ上で温めしばらくして検鏡する。時期が早いと、一核性

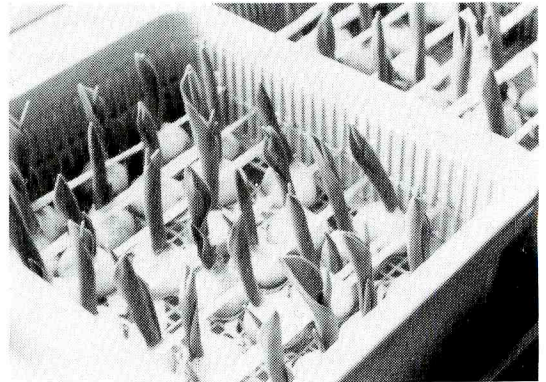


図 5. チューリップの水栽培

の花粉細胞が観察される(図6A)が、その後半数性の体細胞分裂が観察されるようになる(図6B~E)。この分裂も葯内でほぼ同調して起こるので、いろいろな分裂時期の細胞を同時に観察することができる。しかも、半数性( $n=12$ )なので染色体も根端に比べて見やすい(図6C)。

水栽培を同時に開始した蕾はほぼ同じ進行状態にあるので、調査中分裂期にぶつかったら、やはり必要な量だけ採集しておく。固定法、観察法は減数分裂の場合とまったく同じである。もし、押し出しが不可能なら、分裂はすでに終わっている。その場合でも、黄色の粉状の二核性花粉を葯からかき出し染色してみよう。生殖核と栄養核(花粉管核)が大きさ・染色性を異にして観察される(図6F)。より濃く染色される核が生殖核、一方が栄養核である。この半数性体細胞分裂の観察は、球根に余裕がある限り、水栽培を繰り返すことによって何度も行うことができるし、また自然状態での開花前に見ることもできる。

この花粉細胞と根端を同時に採集し、実習で両者を比較させるのも面白い。核相( $n, 2n$ )の違いがおおよそ理解できよう。実習で染色体数を正確に数えることまでは難しいかもしれないが、 $n$ と $2n$ の違いは十分識別できるはずである。

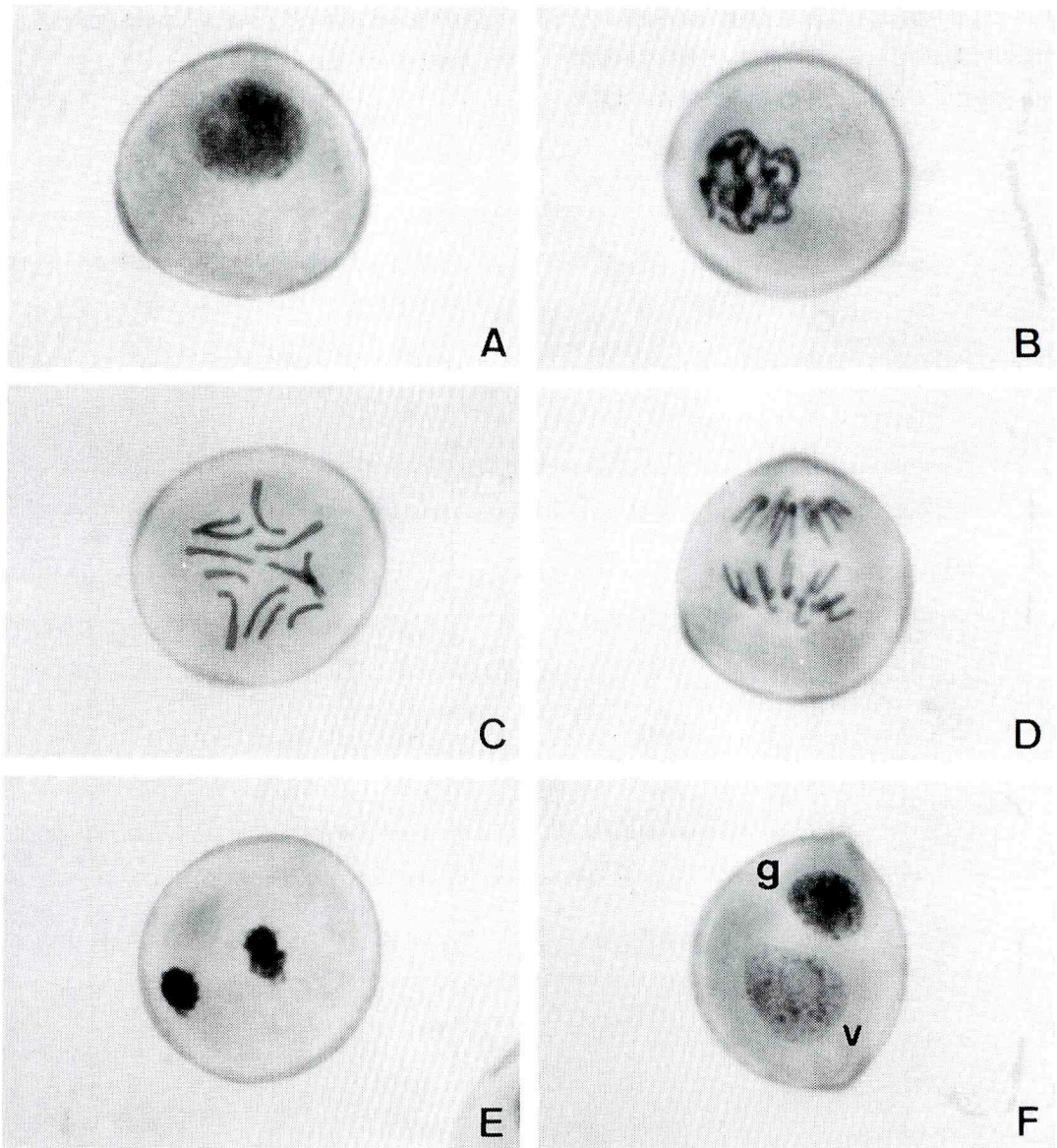


図 6. チューリップの半数性体細胞分裂 A:一核性花粉細胞、B:前期、C:中期、D:後期、E:終期、F:二核性花粉 (g:生殖核、v:栄養核) (×500)

### おわりに

種子植物の花粉形成過程は、その発生時期によって核・染色体が劇的な変化を示すので、染色体観察のための格好の教材を提供する。ただし、発生が高い同調性をもって進行する場合が多いので、分裂時期を適当

な指標によって知ることが最も重要となる。減数分裂細胞採集のための指標として、ユリやムラサキツユクサでは蕾の大きさ(長さ)が利用できるが、ここに紹介したチューリップなどの春咲きの球根植物では、季節変化が一つの重要な指標となる。一方、花粉細胞の分裂も教材としてはまだ余り普及していないが、半

数性という点で優れているので、身近な植物において、これらの分裂時期を前もって調査し、自分なりの指標を持っておくことをお勧めする。本誌の読者には実習

の教材準備で御苦労されている方も多いと思われるので、本稿がその一助にでもなれば幸いである。

(受理日 1986年9月30日)