走査型電子顕微鏡によるアブラナ科蔬菜の花弁形成時期の観察

*垣渕和正・藤目幸擴

香川大学農学部 761-07 香川県木田郡三木町

A Scanning Electron Microscopic Observation of Petal Initiation in Cruciferous Vegetables

Kazumasa Kakibuchi* and Yukihiro Fujime

Faculty of Agriculture, Kagawa University Miki-cho, Kida-gun, Kagawa 761-07

Summary

The initiation of floral organs, especially that of petal primordia was observed by a scanning electron microscope in cabbage, Chinese kale, kohlrabi, kale, hong-tsai-tai, pak-choi, tsai-shin and Japanese radish.

1. Seven floral stages could be discerned in cultivars in every species : the vegetative stage; the dome-forming stage; the flower bud-forming stage; the sepal-forming stage; the stamen and pistil-forming stage; the early petal-elongation stage, and late petal-elongation stage.

2. Petals and outer stamens of tsai-shin were formed earlier followed by the initiation of inner stamens. In other cultivars, the petals and stamens were initiated almost simultaneously.

3. Petal primordia were smaller than those of other floral primordia and their development stopped soon after initiation. The elongation of petal was delayed, compared with that of stamens and pistil.

4. These observations confirm the normal sequence of sepal initiation followed by those of petals, stamens, and pistil in all eight cruciferous vegetables studied.

緒 言

蔬菜類の花芽形成ならびに花芽発育過程の形態的観察は数多くの種類について行われている。アブラナ科蔬菜のなかではキャベツ（江口・香川, 1955）、ダイコン（江口, 1950）、タイサイ（江口・西垣, 1935）、カリフラワーとブロッコリー（藤目, 1983）について観察されており、花芽の発育段階も何段階かに分類されている。しかし、花芽発育段階の分類はアブラナ科蔬菜の種類間で統一されておらず、形態の特徴も示されていないものが多い。

これらの問題点を整理することを目的として、著者らは数種のアブラナ科蔬菜について花芽の発育過程を走査型電子顕微鏡で観察し、花芽発育段階を分類して

きた（藤目・垣渕, 1992 a; 藤目・垣渕, 1992 b）。その結果、花芽の発育段階を7段階に分け、がく片、雄ずい、雌ずいの分化時期を確認してきたが、花弁原基の分化時期は確認できなかった。

通常、花芽の発育過程では、初めに花芽原基の最も外輪にがく片が分化し、続いて花弁、雄ずい、雌ずいの順に分化するとされている。しかし、アブラナ科のキャベツとカブ、およびアヤメ科の植物では花葉の分化順序が変わって、雄ずいと雌ずいの分化後に花弁が分化するという、花弁分化時期の逆転現象が報告されている（Orr, 1978; Thompson, 1976; 塚本, 1969）。著者の一人・藤目も、カリフラワーとブロッコリーにおいて花弁分化時期の逆転現象を観察している（藤目, 1983）。しかしこの場合、走査型電子顕微鏡で観察したにもかかわらず、花芽原基が極めて小さいために、雄ずい分化前に花弁が分化していたことを識別できなかったという可能性も指摘してきた（藤目・垣渕,

1993年8月23日 受理。数種蔬菜の花芽形成並びに花芽発育過程に関する研究（第3報）本研究の一部は平成2年度園芸学会春季大会で発表した。

*現在、株式会社四国総合研究所

1992 b).

この点を明らかにすることを目的として、本論文では、数種のアブラナ科蔬菜の花芽發育過程を走査型電子顕微鏡を用いて再度観察し、花弁分化時期と雄ずいおよび雌ずい分化時期との関係を調べようとした。

材料および方法

材料には、第1表に示したキャベツ1品種、カイラン4品種、コールラビ3品種、ケール2品種、コウサイタイ3品種、パクチョイ2品種、サイシン3品種、ダイコン2品種の、合計8種・20品種を供試した。カイランとコウサイタイは1988年3月7日と9月9日に、サイシンは1988年3月14日と10月3日に、キャベツ、コールラビ、ケール、パクチョイ、ダイコンは1989年9月25日に播種し、最低気温を20℃以上に保った温室内で育苗した。カイランとコウサイタイは本葉が5~8枚になった1988年4月27日と10月15日に、サイシンは1988年4月27日と10月26日に、キャベツ、コールラビ、ケール、パクチョイ、ダイコンは1989年10月24日に、それぞれ株間30cm、条間30cmの3条植えて圃場に定植した。栽培管理は慣行に従って行った。

各品種とも、定植時より5~10日おきに5~10個体を採取し、茎頂部をFAAで固定した。その後、茎頂部を実体顕微鏡下で解剖し、花芽發育段階を調査した。花芽發育段階の分類は前報(藤目・垣測, 1992 b)に従い、0(未分化期), 1(膨大期), 2(花芽原基分化期), 3(がく片分化期), 4(雄ずい・雌ずい分化期), 5(花弁伸長前期), 6(花弁伸長後期)の7段階とし

た。

実体顕微鏡下で解剖した茎頂部は、Gouge 修正法(藤目, 1983)に従い、4%グルタルアルデヒドと1.6%オスミウム酸によって2重固定し、ついでエタノールシリーズで脱水し、酢酸イソアミルに置換した。その後、試料を臨界点乾燥機(日立 HCP-1)に移し、20℃で酢酸イソアミルを液化炭酸ガスに置換し、43℃で臨界点乾燥を行った。乾燥後、蒸着装置(Eiko 社)でPtもしくはPt・Pd蒸着を行い、走査型電子顕微鏡(日立 S-800 型)で観察した。加速電圧は5~8 kVとした。

アブラナ科蔬菜の花芽發育を他の科の蔬菜と比較するため、ナス'千両2号'を供試した。1989年7月12日に催芽種子を播種し、子葉が展開した7月21日に直径15cmの黒色ポリポットに鉢上げした。栽培は最低気温を20℃以上に保った温室内で行い、栽培管理は慣行に従って行った。

鉢上げ後、5日おきに7~14個体を採取し、アブラナ科蔬菜で行った操作と同様の固定・乾燥操作を行い、走査型電子顕微鏡で観察した。

さらにカイランとコウサイタイについて、雄ずいの分化開始から花弁が伸長を始めるまでの花芽を10~20個体選び、各花葉の詳細な發育段階を上記同様走査型電子顕微鏡で観察し、花弁、雄ずい、雌ずいの長さを測定した。

結 果

1. 花芽發育段階の分類

花芽の外部形態は、各發育段階とも供試したすべて

Table 1. Plant materials used in this experiment.

Vegetables	Cultivars
Cabbage	'Kakiba-kanran'(Takii)
<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i> L.	
Chinese kale	'Kairan'-A(Takii), 'Kairan'-B(Takii), 'Kairan'(Sakata), 'Kairan'(Known-Youn)
<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>alboglabra</i> L. H. Bailey	
Kohlrabi	'Grand duke'(Takii), 'Kohlrabi'(Sakata), 'Purple bird'(Sakata)
<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>gongylodes</i> L.	
Kale	'Aojiruyou-kale'(Takii), 'High crop colard'(Takii)
<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>acephala</i> DC.	
Hong-tsai-tai	'Kousaitai'-A(Takii), 'Kousaitai'-B(Takii), 'Kousaitai'(Sakata)
<i>Brassica campestris</i> L.	
Pak-choi	'Pak-choi'(Sakata), 'Aojiku-Pak-choi'(Sakata)
<i>Brassica campestris</i> L.	
Tsai-shin	'Wasekei-saishin'(Takii), 'Saishin'(Takii), 'Saishin'(Sakata)
<i>Brassica campestris</i> L.	
Japanese radish	'Tenshin-koushin-daikon'(Sakata), 'Kouto-aonaga-daikon'(Sakata)
<i>Raphanus sativus</i> L. var. <i>longipinnatus</i> L. H. Bailey

Fig. 1. Floral stages of Chinese kale.

0) The vegetative stage. 1) The dome-forming stage. 2) The flower bud-forming stage. 3) The sepal-forming stage. 4) The stamen and pistil-forming stage. 5) The early petal-elongation stage. 6) The late petal-elongation stage. Lp, Leaf primordia; Am, Apical meristem; Lm, Lateral meristem; Li, Lateral inflorescence; Se, Sepal; Fb, Flower bud; Pe, Petal. Os, Outer stamen; Is, Inner stamen; Pi, Pistil.

の種類でほとんど同じであり、前報（藤目・垣測, 1992 b）の結果と同様であったので、カイランを例として、再度第1図に示した。未分化期の茎頂は直径が100~200 μ mで、突起状または円錐形をしていた（花芽発育段階0, 第1図-0）。膨大期の茎頂は著しく肥大・肥厚し、その直径は200~500 μ mとなり、ドーム状となった（花芽発育段階1, 第1図-1）。花芽原基分化期では、肥大したドームの基部にある包葉原基の内側から数個の腋生の分裂組織が分化した（花芽発育段階2, 第1図-2）。これらの分裂組織のうち、外輪のいくつかは側花序として、またそれより内輪のものは頂花序の花芽として発育するが、この時点ではその識別が困難であった（藤目・垣測, 1982 a）。次のがく片分化期では、それぞれの花芽原基に4枚のがく片が分化した（花芽発育段階3, 第1図-3）。雄ずい・雌ずい分化期では、雄ずいががく片の内側に外輪雄ずいとして2本、さらにその内側に内輪雄ずいとして4本の、合計6本が分化し、心皮が花芽原基の中央部に分化した（花芽発育段階4, 第1図-4）。この時、外輪雄ずいの両側に4枚の花弁が分化しているのが認め

られた。花弁伸長前期では雄ずいと共に花弁が伸長を始めた（花芽発育段階5, 第1図-5）。また、花芽原基分化期以降の花芽発育はほぼ一定の速さで進んだが、花弁伸長前期で花芽発育が若干停滞する傾向が認められた。花弁伸長後期では花弁が著しく伸長し、雄ずいよりも長くなった（花芽発育段階6, 第1図-6）。

2. 花弁の分化時期

前記の実験において、花弁は花芽発育段階4の雄ずい・雌ずい分化期にすでに分化していたので、本実験では花芽発育段階4を中心として前後の花芽発育段階3と花芽発育段階5の間について、花弁の分化ならびに発育を詳細に検討した。

カイランのがく片分化期である花芽発育段階3から、花弁伸長前期である花芽発育段階5までの間を第2図に示した。4枚のがく片が分化して伸長を始めた直後に、がく片を切除して観察したところ、がく片の内側に外輪雄ずいと内輪雄ずいが分化していたのみならず、がく片と外輪雄ずいとの間に花弁も分化しているのが認められた（第2図-1）。花芽原基は2本の外輪雄ずいの両側に4枚ほぼ同時に分化していた（第2図-5）。

Fig. 2. Initiation and development of the floral organs in Chinese kale.

1) The 1st stage; initiation of petals, outer and inner stamens (after floral stage 3). 2) The 2nd stage; start of stamen development (before floral stage 4). 3) The 3rd stage; elongation of stamens and initiation of pistil (at floral stage 4). 4) The 4th stage; start of petal elongation (at floral stage 5). 5) enlargement of Fig. 2-1. Pe, Os, Is, Pi; see Fig. 1.

次に雄ずいが膨大を始め（第2図-2）、続いて心皮の分化が認められた（第2図-3）。この間、花卉の発育は認められなかった。心皮分化後、花卉は突起状からディスク状になり、急激に伸長した（第2図-4）。

ダイコン（第3図）など、他のアブラナ科蔬菜においても、花卉は内輪雄ずいおよび外輪雄ずいとほぼ同時に分化していた。特に、サイシンでは花卉と外輪雄ずいが内輪雄ずいより早い時期に分化していた（第4図）。

第5図にナスの花芽を示した。ナスではがく片分化後に5~6枚の花弁が、がく片の内側にがく片と交互の位置に分化していた（第5図-1）。また、アブラナ科蔬菜では花卉と雄ずいがほぼ同時に分化していたのに対して、ナスでは花卉の分化後に雄ずいが分化していた。雄ずいは花卉の内側に花卉と交互の位置に分化していた（第5図-2）。さらに、アブラナ科蔬菜の花

弁は心皮が分化するまで目立った発育をしなかったが、ナスの花弁は分化後ただちに発育を始めた。

以上の観察結果に基づき、花芽発育段階3のがく片分化期から発育段階5の花弁伸長前期までのアブラナ科蔬菜の花芽の発育をさらに詳細に分類したところ、花卉と雄ずいが分化した第1期、雄ずいが膨大した第2期、雄ずいが伸長し、心皮が分化した第3期、心皮分化後、花卉が急激に伸長を開始した第4期の4段階に分けられた。また、以上の花葉の分化・発育と花芽発育段階との関係を見ると、第1期は花芽発育段階3のがく片分化期の直後で、第2期は花芽発育段階4の雄ずい・雌ずい分化期の直前で、第3期は雄ずい・雌ずい分化期と同時期となり、第4期は花芽発育段階5の花弁伸長前期と同時期であった（第6図）。

以上の結果、アブラナ科蔬菜における花葉の分化位置と分化順序は他の科の植物と同様で、基部から順に、

Fig. 3. Initiation of petal primordia in Japanese radish.

1) Initiation of petals and 2 outer and 4 inner stamens. 2) Enlargement of Fig. 3-1. Pe, Os, Is; see Fig. 1.

Fig. 4. Initiation of petal primordia in tsai-shin.

1) Initiation of petals and 2 outer stamens. 2) Enlargement of Fig. 4-1. Pe, Os.; see Fig. 1.

がく片, 花弁, 外輪雄ずい, 内輪雄ずい, 心皮の順に分化していることが確認された。

3. 花弁原基の発育

カイランとコウサイタイの花芽について, 第1期から第4期までの各発育段階における花弁, 外輪雄ずい, 内輪雄ずい, 雌ずいの長さを第7図と第8図に示した。なお, 雌ずいの分化は第2期まで確認できないので, 第1期, 第2期については花芽の中央部の長さを雌ずいの長さとして表した。

花弁は第1期から第4期までの各段階において雄ずいと雌ずいよりも著しく短かった。例えば第1期のカイランでは, 外輪雄ずい, 内輪雄ずい, 雌ずいの長さが $18\sim 26\ \mu\text{m}$ であったのに対して, 花弁原基の長さは $8.80\pm 2.95\ \mu\text{m}$ であった。第1期のコウサイタイでも外輪雄ずい, 内輪雄ずい, 雌ずいの長さは $14\sim 19\ \mu\text{m}$ であったのに対し, 花弁原基の長さは $5.43\pm 2.76\ \mu\text{m}$ であった。雄ずいと雌ずいの伸長はカイランとコウサイタイ共に, 第2期から目立ちはじめ, 第3

Fig. 5. Petal and stamen development of eggplant.

1) Petal initiation. 2) Stamen and carpel initiation. Pe; Petal, S; Stamen, Ca; Carpel

Fig. 6. Schematic relationships between floral stages and the initiation and development of floral organs.

Fig. 7. Growth curves of floral organs in Chinese kale.
^zStages; 1) Initiation of petals and stamens (after floral stage 3). 2) Start of stamen development (before floral stage 4). 3) Elongation of stamens and initiation of pistil (at floral stage 4). 4) Start of petal elongation (at floral stage 5).
^yPistil; Stages 1 and 2: Length of central axis of flower bud. Stages 2 and 3: Length of pistil.

Fig. 8. Growth curves of floral leaves in hong-tsai-tai.
^zStages; 1) Initiation of petals and stamens (after floral stage 3). 2) Start of stamen development (before floral stage 4). 3) Elongation of stamens and initiation of pistil (at floral stage 4). 4) Start of petal elongation (at floral stage 5).
^yPistil; Stages 1 and 2: Length of central axis of flower bud. Stages 2 and 3: Length of pistil.

期から第4期にかけて著しく伸長した。しかし、花弁は第4期まであまり伸長しなかった。

考 察

前報において、カイランやサイシンなど数種のアブラナ科蔬菜の花芽発育段階を7段階に分類した(藤目・垣渕, 1992b)。本試験で供試した8種20品種においてもほとんど同じであったので、ほとんどのアブラナ科蔬菜の花芽発育段階は未分化期から花弁伸長後期の間を7段階に分類するのが妥当であると考えられた。

ただし、カリフラワーおよびブロッコリーについては、花芽原基形成後に花芽が著しく増加し、その間個々の花芽の発育が停滞するという特異性があるため、著者の一人・藤目は花芽発育段階2の花芽原基分化期をさらに、花らい形成前期、花らい形成中期、花らい形成後期の3段階に分けて、合計9段階に分類した(藤目, 1983)。なお前報では、がく片、雄ずい、雌ずいの分化期は確認できたが、花弁原基の分化時期についての確認は不十分であった。

そこで、がく片分化期である花芽発育段階3と花弁伸長前期である花芽発育段階5の間をさらに詳しく観察したところ、4つの発育段階に区別されるとし、花弁はがく片分化期の直後に、雄ずいとほぼ同時に分化していることが確認された。

光学顕微鏡で観察したキャベツ(Thompson, 1976)、カブ(Orr, 1978)、アヤメ科植物(塚本, 1969)の場合も、走査型電子顕微鏡で観察したナタネ(Polowick and Sawhney, 1986)の場合も、花弁原基は雄ずいより後に分化すると報告されているのは、花弁原基が5~10 μm程度と非常に微細なもので、その発育の開始も雄ずいより遅れており、さらにがく片の分化から心皮の分化までが比較的短い時間で行われるためであろう。

以上のことから、供試したアブラナ科蔬菜の花芽では、まずがく片が分化し、続いて花弁と雄ずいが分化し、最後に雌ずいが分化することが確認されたので、他の多くの種類の花芽と同様に、アブラナ科蔬菜においても外輪から内輪へと順に分化すると考察された。花弁分化の逆転現象が報告されている他の種類でも、花弁は雄ずいより早いあるいはほぼ同時に分化している可能性があるため、今後検討する必要がある。

摘 要

キャベツ、カイラン、コールラビ、ケール、コウサイタイ、パクチョイ、サイシン、ダイコンを供試し、花芽の発育過程、とくに花弁原基の分化と発育について走査型電子顕微鏡を用いて観察した。

1. 供試したすべての種類において、花芽発育段階は、未分化期、膨大期、花芽原基分化期、がく片分化期、雄ずい・雌ずい分化期、花弁伸長前期、花弁伸長後期の7段階に分けられた。

2. すべての種類について、花弁原基は雄ずい原基とほぼ同時に分化することが確認された。特にサイシンの花弁と外輪雄ずいは内輪雄ずいより早い時期に分化していた。

3. 分化直後の花弁原基は他の花葉原基に比べて極めて小さく、分化後の發育がしばらくの間停止しており、その發育開始は雄ずいと雌ずいより遅れていた。

4. 以上の結果、供試した8種・20品種のアブラナ科蔬菜の花芽では外輪から、がく片、花弁および雄ずい、雌ずいの順に分化していると判断された。

引用文献

- 江口庸雄. 1950. 花芽分化の研究 [7]. 農及園. 25: 855-856.
- 江口庸雄・西垣明義. 1935. 体菜, 山東菜の播種期と花芽分化との関係に就いて. 園学雑. 6: 71-83.
- 江口庸雄・香川 彰. 1955. 甘藍の採種に関する研究. 第1報. 頂花序の分化並に發育に就いて. 農技研報. E 4: 217-224.
- 藤目幸擴. 1983. ハナヤサイ類の花らい形成並びに發育の温度条件に関する研究. 香大農紀要. 40: 1-102.
- 藤目幸擴・垣渕和正. 1992 a. 数種蔬菜の花芽形成並びに花芽發育過程に関する研究. 第1報. 数種アブラナ科蔬菜の花芽並びに花序形成に関する走査電顕像. 香大農学報. 44: 39-46.
- 藤目幸擴・垣渕和正. 1992 b. 数種蔬菜の花芽形成並びに花芽發育過程に関する研究. 第2報. 走査型電顕による数種アブラナ科蔬菜の花芽發育段階の分類. 香大農学報. 44: 47-54.
- 香川 彰. 1977. 2. 花芽分化・抽台. p. 253-265. 清水茂監修. 野菜園芸大事典. 養賢堂. 東京.
- Orr, A. R. 1978. Inflorescence development in *Brassica campestris* L. Amer. J. Bot. 65: 466-470.
- Polowick, P. L. and V. K. Sawhney. 1986. A scanning electron microscopic study on the initiation and development of *Brassica napus* (cv. Westar) Amer. J. Bot. 73: 254-263.
- Thompson, K. F. 1976. Cabbages, kales etc. p. 49-52. In: Simmons, et al. Evolution of crop plants Longman. London.
- 塚本洋太郎. 1969. 花卉総論. p. 228-305. 養賢堂. 東京.