花粉の生理学的研究 XI

柱頭と花粉中におけるでんぷんと糖について*

岩 波 洋 造**

Yozo IWANAMI**: Physiological Researches of Pollen XI. Starch Grains and Sugars in Stigma and Pollen.*

1956 年 9 月 5 日受付

前報^{1,2)}において花粉粒中の炭水化物の変化とそれに関与する酵素作用の一部について述べ、また、花粉が人工培養中に外から吸収する糖の種類について報告した。今回は自然の状態で花粉が発芽を行う場である花の柱頭中におけるでんぷん粒の変化、糖の種類、及び花粉が培養基上で吸水後に自己の中に形成するでんぷん粒について観察した結果を報告する。

I. 柱頭中のでんぷん粒と糖

花の開花の度と柱頭や花粉の熟度とは、必ずしも平行せずにむしろ少しずつずれる場合が多いが、ここでは開花の度を大よその基準として調査を行った。

実 験 1

花の柱頭の組織を細切片としてスライドグラスにとり、ヨード抱水クロラル液で処理してでんぷん粒の有無を鏡検した。結果は花の生熟の極めて初期にはでんぷん粒はみられないが、次第に柱頭内に充満し、やがて開花の時期が近づくにつれて、でんぷん粒は急激に減少して遂には殆んどその形がみられなくなった。

Fig. 1 の写真は *Lilium longiflorum* Thunb. の柱頭中のでんぷん粒の消失の様子を示している。この中、下段の3葉は上段の○印の部分拡大したもので、黒く、円くみえる一粒一粒がでんぷん粒である。でんぷん粒がもっともおそく迄残るのは、

内壁の組織と、通導組織 (Fig. 1 の 1, 2 の写真で灰色にみえる) の外傾の部分で、もつとも早く消失するのは花柱の外皮に近い部分であった。また通導組織のみは、花の成熟の全過程を通じてでんぷん粒の存在はみられなかった。これと同様の傾向は、*Lilium* の他の種類の柱頭、及び *Gladiolus*, *Antirrhinum*, *Hibiscus* などの柱頭についても観察された。

これらのでんぷん粒の急激な消失は、柱頭自身の生長にも多少は使われるであろうが、前述のごとく花粉が生長時に外から糖を吸収している事実と共に、開花時の柱頭に糖類が貯えられていることを示唆している。これに関しては志佐氏³⁾らが、柱頭をも含めたベチューニヤの雌ずいに sucrose, glucose, fructose の糖が存在することを報告している。

実 験 2

i) *Lilium longiflorum* Thunb., *L. auratum* Lindl., *Gladiolus gandavensis* Van Houtt., *Calystegia hederacea* Wall., *Antirrhinum majus* L., *Camellia japonica* L., *Hibiscus mutabilis* L., などの柱頭 0.2 g を別々に乳鉢にとり、80% アルコール 1 cc ずつを加えてすりつぶし、更に 1 cc ずつのアルコールを加えてよく攪はんした後、遠心分離器にかけて上澄液を小型の蒸発皿にとった。これを 50°C の乾燥器中で一たん乾燥させた後に、0.2 cc の無水ピリジンで溶かし直して

* 文部省科学研究助成金による研究の一部である。

** 横浜市立大学 文理学部 生物学教室。

Fig. 1. *L. longiflorum* Thunb. の柱頭内のでんぷん粒。

1—蕾（開花4日前）の柱頭 2—開花1日後の柱頭
3—1の部分拡大 4—開花1日前 5—2の部分拡大

から、直接濾紙に 0.06 cc ずつ与えてクロマトグラフの実験の系列に移した。展開方法、呈色剤などは前の実験⁽¹⁾の通りである。25~27°C で 20 時間展開後に得られたクロマトグラムが Fig. 2 に示されている。

即ち sucrose, glucose fructose の 3 種類の糖は何れの柱頭にも必ず存在しているが、sucrose が多くて glucose, fructose の少いもの、sucrose が比較的少くて glucose, fructose の多いもの、これらのもの以外の糖をも含むものなどに大別できるようであった。

Fig. 2. 花の柱頭に含まれている糖

LA—*Lilium auratum* Lindl., LL—*Lilium longiflorum* Thunb., G—*Gladiolus gandavensis* Van Houtt., CH—*Calystegia hederacea* Wall., H—*Hibiscus mutabilis* L., CJ—*Camellia japonica* L., A—*Antirrhinum majus* L.
(f—fructose g—glucose s—sucrose m—maltose)

Fig. 3. 花の成熟にともなう柱頭内の糖の変化

GG—*Gladiolus gandavensis* Van Houtt., LL—*Lilium longiflorum* Thunb.,
HM—*Hibiscus mutabilis* L. (—は開花前, +は開花後, 数字は日数を示す)

ii) 上の実験は何れも開花時の柱頭について行ったものであるが, 次に生育の時期による糖の変化を上同の方法で調査した。*Gladiolus gandavensis* Van Houtt., *Lilium longiflorum* Thunb., *Hibiscus mutabilis* L. について調べられた結果が Fig. 3 に示されている。

結果は sucrose は蕾の時期から存在しているが, 次第にその量を増すとともに, glucose, fructose が急激に増加している。一方これらの glucose などは開花時に sucrose に移行するとき様子が *Lilium* の柱頭で観察された。なお柱頭の場合も花粉と同様に maltose の存在はみられなかった。

II. てんぷんの分解合成に関する酵素の存在。

上述の観察のようなでんぷん ↔ 糖の変化が柱頭内で行われているとすれば, 少なくともそれらの組織の中に amylase, phosphorylase などの酵素の存在がみられる筈である。これを確かめるために次の実験を行った。

実験 3

i) 3%の可溶性澱粉を含めた寒天板(寒天1%)を1mmの厚さにしてスライドガラスの上にとり, この上に柱頭, 及びその近くの花柱の組織の細切片(約0.5mmの厚さ)をのせる。このよう

Fig. 4. でんぷん分解力の部分的な違いを示す。(L. longiflorum Thunb.)

黒—分解力のない部分, 斜線, 点部—分解力の弱い部分, 白—分解力の強い部分

にしたものをスライドグラスとともに 28°C の湿室に納め、30 分後に組織片をとり除いて、ヨード液に浸した濾紙で寒天の上面を軽くぬぐい、ヨード反応の強さを解剖顕微鏡で観察した。これはヨード反応が見られなかったり、他の部分より薄れたりしている部分がもしあれば、その部分の寒天板中にあったでんぷんが分解されたと考えられるからである。

Fig. 4 は *Lilium longiflorum* Thunb. の柱頭の横断面、縦断面、花柱の横断面、縦断面のそれぞれの面が接していた附近の寒天のヨード反応を示している。これによって通導組織にはでんぷんの分解力はなく、柱頂細胞、内壁の組織(誘導組織)の部分に強い分解力を有することが推定される。これらの作用は酵素、特に amylase の働きによると考えられるが、これを確かめるために、次にでんぷんを与えて新たに作られる糖の種類を調べた。

ii) 0.8% の可溶性でんぷん液 3 cc (pH 6.5) の中に、*Lilium longiflorum* Thunb. の柱頭 0.4 g を入れてすりつぶし、遠心分離器にかけてとった上澄液を 28°C の湿室に納めた。さらにこれと同様のものを 2 つ作り、1 つは一たん熱を加えて煮沸した後、また他の 1 つはヨード反応の変化をみるためにそのまま同様の湿室に納めた。

時間の経過と共にこの液を 0.04 cc づつ濾紙にとってクロマトグラフの方法で糖の生成を調べた。またこれと平行して液のヨード反応を観察した。これらの結果が表 1、及び Fig. 5 に示されている。

Fig. 5. 可溶性でんぷん液に柱頭組織汁を加えた時の糖の生成

f.—fructose g.—glucose
s.—sucrose m.—maltose

表 1. 柱頭の組織汁を加えた時の可溶性でんぷん液のヨード反応

時 間	1/6	1	2	3	5	8	8 (boil)
色	青	青紫	褐紫	黄褐	黄	薄黄	青

結果はでんぷんが次第に消失するとともに、maltose、及び glucose、fructose などの糖が新たに形成されることを示している。また一たん煮沸したものでは最後まででんぷんが残り、新たな糖の形成もみられなかった。これらの結果、及び実験 1 の観察の結果をみると、柱頭中に amylase が存在していてでんぷんを糖に分解する際に働いていると考えてよいと思われる。

実 験 4

ごく若い柱頭組織にでんぷん粒が形成されることは phosphorylase の存在を暗示するが、この酵素について次の 2 つの実験を行った。

i) Cori-ester (G-1-P) を 0.8% の割合に含む寒天板 (寒天 1.5%, pH 6.5) を作り、実験 3 の i) と同じような方法で phosphorylase の存在をみた。即ち前の場合とは反対に、組織片をのせた部分の寒天がヨード反応で青色に染っていれば、そこにでんぷんが形成されたと考えたものである。

結果は柱頭内の部分的な差違は明らかではなかったが、大よそのヨード反応の強さを ++, +, 及び - で示し、その結果を表 2 にあげた。

表 2. Cori-ester を含む寒天板に柱頭組織をのせた時のヨード反応

	柱 頭	同(熱処理)	花 柱
4 時間後	+	-	-
8 時間後	++	-	+

ii) Cori-ester を 0.5% の割合に蒸溜水 (pH 6.5) に溶かした液を秤量びんに 3 cc とり、この中にでんぷん粒を殆ど失った *Lilium longiflorum* Thunb. の柱頭の細切片を入れた。28°C に保って 4 時間、8 時間を経過する時に、ヨード抱水クロラル液で切片を処理して澱粉の再合成される様子を観察した。その結果が表 3 に示されている。

表 3. *Cori-ester* の液中でみられるでんぷん粒の形成

	柱 頭	通導組織	花 柱
2 時間後	—	—	—
4 時間後	+	—	—
8 時間後	++	—	+

新たに形成されたでんぷん粒は、以前に蕾の時期にみられたものに比較して可成り小粒で、その量も以前のように細胞全体に充滿するには至らなかった。また核の周囲にのみでんぷん粒が密集して形成されている細胞が少なからず観察された。

III. 培養中に形成される花粉粒内のでんぷん粒

Impatiens の花粉が外部から糖を吸収してでんぷん粒を形成することについては既に述べた⁽⁴⁾が、これとは別に *Lilium* の花粉が吸水後に急激にでんぷん粒を形成する現象を示すので一応こゝに報告しておく。

Fig. 6. 花粉の発芽とでんぷんの形成
上段—*Lilium auratum* Lindl.
下段—*L. longiflorum* Thunb.

- 不発芽、澱粉粒有
- 不発芽、澱粉粒無
- · - · - 発 芽、澱粉粒有
- 発 芽、澱粉粒無

実 験 5

sucrose 6%, 寒天 1.5%, pH 6.5 の培養基に *Lilium* の花粉を撒布し、28°C の湿室に納めた。時間の経過とともにこの上から少しずつ花粉をとって、一たんカルノア液で固定後にルゴール液で処理してヨード反応を調べた。顕微鏡下で光を横からあて、黒褐色に染った花粉、及び黒褐色の部分に黄色乃至赤色に染って見える部分より多い花粉をでんぷん粒の形成されたものとしてその数をかぞえた。Fig. 6 はその結果を百分率で示している。

開花時の花粉はでんぷん粒をもっていないが、培養基上に移されると急速にでんぷん粒を形成している。またこのでんぷん粒の形成は発芽前に行なわれ、でんぷん粒をもたずに発芽を行う花粉は全くみられなかった。このことは一見花粉が外から糖を吸収することと直接結びつくかにみられるが、これと同様の現象は xylose などの糖の中でもみられ (未発表)、この時期に花粉が自己のも

つ sucrose を glucose と fructose とに分解している⁽¹⁾ので、この時のでんぷん粒の形成は、むしろ後述のとおり内部の糖の変化であると考えの方がよいと思われる。

しかしながら花粉は一般に無糖の培養基上では発芽を行わないし、この他、花粉が生長時に確かに外から糖を吸収すること^(2,7)、柱頭中に sucrose などの糖が含まれていること、花粉が自体の幾千倍に花粉管を伸した後もなお管中にでんぷん粒を保有していること、花粉は外液の濃度に合わせて滲透圧を調節していること⁽⁵⁾、及び *Impatiens*⁽⁴⁾、*Pinus*⁽⁶⁾、などの花粉は外から得た糖をでんぷん粉粒にかえて貯えることなどが知られているので、これらの現象を考え合わせて筆者は花粉の栄養について大よそ次のように考えている。花粉は自己の中に養分を貯えて葯からでてくるが、これらの貯蔵養分は主として受粉前の呼吸、及び受粉時の滲透圧調節に使われ、余

分のものは生長にも役立てられているが、受粉後は雌ずいから多量の糖を吸収している。しかもこれら外から吸収した糖は、一たんでんぷん粒として内に貯えられ、必要に応じて再び糖として生長に使われるものであろう。

たゞ花粉の種類によっては、でんぷん粒を初めから作らないもの（例 *Camellia* の花粉）もあるので、これらについてはさらに調査中である。

実験に協力された藤綱静子氏に感謝の意を表する。

Summary

- 1) The process of digestion of starch grains in the growing stigma of *Lilium longiflorum* Thunb. was observed and shown in Fig. 1.
- 2) In the immature stigma of *Lilium*, *Antirrhinum*, *Gladiolus* and *Hibiscus* storage starch grains were found abundantly, but with the progress of maturation the starch grains disappeared.
- 3) Sugars in the stigma of *Lilium* and some other flowers were investigated by means of paperchromatography. Sucrose, glucose and fructose were found to exist in the respective stigmas (Figs. 2, 3).
- 4) By the addition of stigma juice of *Lilium* to the solution of soluble starch, maltose, glucose and some other sugars were regularly detected, while the color of iodine reaction of this solution turned into yellow brown from blue (Fig. 5). It may be said that tissues of stigma contain some amylase.
- 5) The localization of amylase in stigma was histochemically investigated. The presence of amylase was demonstrated in all parts of the stigma tissue except vascular tissue, and the activity of the enzymes was found to be highest in the tip tissue and inductive tissue (Fig. 4).
- 6) The tissues of mature stigma of *Lilium* have an activity to produce starch grains from Cori-ester. It may be said that there exists some phosphorylase in these tissues.
- 7) In the mature pollen starch grains are deposited before germination when they are incubated on the sugar media, while germinating pollen which had been freed of starch grain was not found (Fig. 6).

引用文献

- 1) 岩波洋造, 植雑 69: 812 (1956).
- 2) 岩波洋造, 植雑 69: 814 (1956).
- 3) 志佐誠・樋口春三, 育雑 4: 3 (1954).
- 4) 岩波洋造, 植雑 67: 791-792 (1954).
- 5) 岩波洋造, 植雑 67: 787-788 (1954).
- 6) Tanaka, K., Sci. Rept. Tohoku Univ. 21: 3-4 (1955).
- 7) O'Kelley, J. C., Amer. Jour. Bot. 42: 3 (1955).