Fumio IWASAKI, Motohisa TSUKADA and Tomoo Hosoda : MORPHOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL OBSERVATIONS ON THE DEVELOPMENT OF FLORAL ORGANS IN *BRASSICA*. (With English summary, p. 436)

Synopsis. The experiment was carried out to study the morphological and histochemical changes of the floral organs during the growth in *Brassica*. The following results were obtained : (1) The rapid elongation of stamen and filament was observed. (2) Histochemical reactions (PAS, Brachet and protein reactions) were the strongest at the flowering time.

菜類における花器の発育の形態的、組織化学的研究

岩崎文雄・塚田元尚・細田友雄

(東京教育大学農学部, 153 東京都)

育種の基本問題として、その作物の開花習性を知っておく必要があるが、この種の研究は生理的な研究などに比べて少ない。しかも菜類の開花時の花器の変化についての報告はみられなかった。

本実験では菜類の雄性不稔性または不和合性の機構を検討するに先立って、正常な個体の場合にどのように花器が発育するのかについて観察を行なった。

I. 実験材料および実験方法

実験にはチーフーハクサイ (*Brassica pekinensis* RUPR), シモフサカブ (*B. rapa* L.), コモチカンラン (*B. oleracea* var. *gemmifera* ZENK), チウモリア (*B. oleracea* var. *acephala* L.), ミチノクナタネ (*B. napus* L.) および Regina (*B. napus* L.) を使用した。これらの種子をN (硫酸アンモニア), P (過磷酸石灰), K (硫酸カリ) を各成分 1g で施用した鉢に8月末に播種し、翌春、開花と同時に各種実験を行なった。各実験方法は次のとおりである。

a. 形態学的検討

メシベ、オシベの全長およびこれらを構成している花柱、子房部分、花糸、葯などの長さを測定したが、蕾は開花日を中心として前後7日間のものを用いた。

b. 組織化学的検討

形態的な調査に用いたと同じ発育時期の蕾を用いて pH 反応、単糖類、多糖類、蛋白質、核酸について実験を行なった。そのうち、pH 反応、Flückigen 反応は岩崎、塚田 (1969), PAS 反応、蛋白反応、核酸反応は岩崎、細田 (1969) と同じ方法で実施した。核酸反応に用いた試薬の調製法は岩崎、河村 (1967) と同様である。なお、その他の実験は次のような操作で行なった。

i. テステープによるグルコースの検出

1969 年 10 月 6 日受領

ステープをスライドガラス上にのせ、その上に測定する材料をのせ、その上にさらにスライドガラスをかぶせて材料を押しつぶし、搾液をテストテープに吸着させて反応を調べる。このようにするとグルコース含量に比例して変色がおこる。

ii. ヨード反応 各生育時期の徒手切片を作りスライドガラスにのせ、これにヨード・ヨードカリ液を滴下してからカバーガラスをかけて検鏡した。

II. 実験結果

a. 生育に伴う花器の形態的变化

生育に伴うメシベ、オシベの形態的な変化を調べた結果、全品種で次のような傾向がみられた。

まず、メシベでは第1図のように開花前日からやや大きい生長がおこる。そして、メシベを構成している花柱、子房部分を調べたのが第2図である。

一方、オシベでは第3図でみられるように開花前日から開花当日にかけて著しい生長をする。この原因を葯と花糸の生長の点から検討した結果、第4図のように、その著しい生長は花糸によつておこされていることがわかった。

b. 組織化学的变化

i. pH の変化 : 花器の発育過程中的 pH の変動は全品種とも 6.0~7.2 の範囲内にあつたが、特に柱頭、花粉の場合は第5図、第6図で示したように生育が進むにつれて pH の値はいずれも大きくなっていく傾向がみられた。このことは全品種でみられた現象である。また、どの品種も柱頭部分が花粉に比べて pH 値が大きい傾向にあることも注目された。

ii. テステープによる検討 : テステープを用いてグルコース含量を調べた結果、柱頭部分ではどの品種も開花時に最も多くなり、それより離れるに従つて減少

Fig. 1. Growth curve of pistil in *Brassica*.

-5..... 5 days before flowering

0..... flowering day

2..... 2 days after flowering

していく。子房部分にも多く存在し、生育の進展に伴って増加する。葯では初期には殆んど反応がおこらず生育が進むと認められ、開花時には最も強い反応がみられ、開花後も変化しなかつた。

iii. Flückigen 反応: Flückigen 反応ではテストテープで検出されなかつた部分でも反応が認められたが、反応の傾向はテストテープの場合と同様であつた。すなわち、テストテープでは反応がみられなかつた花粉粒や葯の組織中にも多くの糖が検出された。また、組織内の分布

Fig. 2. Growth curve of ovary and style in *Brassica*.

▲..... ovary

○..... style

Table 1. Flückigen reaction (Chûmoria)

Stage*	Pollen	Anther	Stigma	Style	Ovary	Embryo
-5	±	+	±	±	+	++
-3	±	+	±	±	++	++
-2	++	++	±	±	++	++
0	++	+	±	+	++	+++
1	+++	±	+	+	+++	+++
2	++	±	+	+	+++	+++

*Stage... { -5.....5 days before flowering
0.....flowering day
2.....2 days after flowering

Fig. 3. Growth curve of stamen in *Brassica*.

状態の一部を第1表に示したが、子房、子房壁、胚などに多くの単糖類が認められた。なお生育が進むとそれらの含量は一様に増加する。

iv. 多糖類

1. ヨード反応

ヨード・ヨードカリに対する反応は第2表で結果を示したが、花粉は發育の初期に少し反応がみられるが、開花直前にはみられない。これに対して、葯は初期には相当強い反応がみられるが生育が進むと弱まる。一方、柱頭では全生育期間を通じて全く反応が認められなかつたが、花柱では發育の初期には認められず開花後から少し認め

Fig. 4. Growth curve of filament and anther in *Brassica*.

○—○ filament
▲.....▲ anther

Table 2. Iodine reaction (Chûmoria)

Stage*	Pollen	Anther	Stigma	Style	Ovary	Embryo
-5	±	++	—	—	##	++
-3	±	++	—	—	##	++
-1	—	+	—	±	##	++
0	—	±	—	±	++	+
1	—	±	—	±	++	+
2	—	±	—	±	+	+

*Stage... { -5.....5 days before flowering
0.....flowering day
2.....2 days after flowering

Fig. 5. pH values of stigma in *Brassica*.

-5 5 days before flowering
 0 flowering day
 2 2 days after flowering

られた。また、子房と子房壁には強い反応がみられた。

2. PAS 反応

柱頭部分では開花時に最も反応が強く、それより離れるに従って PAS 反応は弱くなる。糖顆粒は柱頭部分には無いが花柱の花粉管誘導組織附近には沢山認められた。また、胚珠部分は開花前は少ないが開花後は急激に増加した。一方、花粉粒中にも PAS 反応で呈色する小粒が認められた。

Fig. 6. pH values of pollen in *Brassica*.

v. 核酸反応, 蛋白反応: メシベの場合, 柱頭および花粉管誘導組織の部分では発育の初期には DNA の反応が強いが, 開花前日頃からは RNA が強い反応を示すようになる。また, 開花前日以降には胚珠の部分も非常に強い RNA 反応を示す。この他, 柱頭直下のクビレの部分に RNA の集積が認められた。

蛋白反応は核酸反応と殆んど同じ傾向がみられた。

III. 考察

a. 花器の形態的变化について

菜類の花器および子実の発育については戸刈、斎藤(1941)によつて詳細な報告が為されているが、本実験では特に開花日を中心とした花器の発育状態について調査を行なつたものである。その結果、第3図のようにオシベでは開花前日から開花当日にかけて急激な生長をすることが全品種で認められた。このような急激な生長がどのような機作でおこるのかについて、オシベを構成している各部分の生長状態を調べたところ、第4図のように、この急激な生長をおこす原因になつてゐるのは花糸の伸び方であることがわかつた。メシベの伸長はオシベでみられるほどでは無いが、やはり開花前日からの伸長量は大きくなる。このようなオシベ、花糸の急激な伸長現象は *Gramineae* 属でもみられることが SCHAEVERBEKE (1967) によつて報告されている。

このメシベ、オシベにみられる開花前日から開花当日にかけての伸長現象が受粉、受精現象にどのような意味を持つかについては本実験結果のみでは論ずることはできないが、メシベの長さの重要性について JAVANOVIĆ ら (1965) や VENKATESWARLV ら (1967) によつて指摘されていることから考えても検討を要する問題である。

b. 組織化学的变化について

花器を用いて、それを組織化学的に検討を加えた報告としては村上ら (1958) が稲の葯で、細川ら (1963) がてん菜で、DOKUCHAEV (1966) がトウモロコシ、ヒマワリなどの花粉や柱頭の組織で検討した結果についての報告がみられる。本実験では pH, 単糖類, 多糖類, 蛋白質, 核酸などについて調査を行なつてみた。

pH は周知のように細胞内にあつて各種の代謝作用に関連する酵素活力に直接影響をおよぼすものとして注目したのであるが、一般に植物の各組織、器官などは微酸性の値を示すものが多く篠遠、中村 (1938)、藤野 (1959)、MANZOS ら (1960) のいずれの場合も殆んど微酸性の値を報告している。本実験でも発育期間中のメシベ、オシベの各部位は pH 6.0~7.2 までの範囲にあつた。また、これらの値が測定部位あるいは生育の進展に伴つてどのような変化をするかについて調べたところ、全品種とも開花日が近づくにつれて中性の値に近づく傾向がみられた。これに対して、細川ら (1963) はビートでジグザグ形の pH 値の変化がみられたことを報告しているが、本実験結果との違いは何に起因するかわからない。

また、これまでの報告では花粉の pH 値についての報告はみられるが、花粉と柱頭を対比させながら測定したものはみられなかつた。本実験では第5図、第6図で示したように、特に花粉と柱頭を比較しながら測定したのであるが、生育時期の如何にかかわらず、どの品種もつ

ねに花粉は柱頭より酸性が強い傾向がみられた。このことが交配時の花粉管の伸長にどのような影響をもつたは速断できないが注目すべき現象である。

次に糖類の場合、本実験では生体代謝に直ちに用いられる単糖類と、その予備的なものとしての多糖類に分けて調査を行なつた。単糖類ではテストテープによる方法と Flückigen 反応の2つの方法を用いた。

テストテープによつて植物のグルコース含量を知りうることは高柳ら (1968) によつて紹介されたが、我々はこれによつて花器内のグルコース含量を知ることができないかと考えて実験を試みた結果、花粉粒の場合は利用できないが、液汁の出るメシベの組織では利用できることがわかつた。そして、このテストテープを用いて花器の発育時期あるいは花器の部分によつてグルコース含量に差があることを確認できた。一方、Flückigen 反応を用いると細胞内の極微量の単糖類が検出できることは岩崎・塚田 (1969) で指摘したが、本実験でもテストテープで検出できなかった花粉粒内の単糖類の存在を確認することができた。

以上、2つの方法によつて花器の器官内に存在する単糖類を調査したが、いずれの品種も開花日が近づくにつれて各器官の各部分で含量が増加し、開花時に最も強い反応がみられる。細川ら (1963) もビートで Fehling 反応を行ない、葯の還元糖は生育が進むにつれて多くなると述べている。

単糖類とともに細胞あるいは組織中にあつて花粉の発芽や伸長に重要な役を演ずるものとして多糖類があるが、本実験ではヨードおよび PAS 反応に反応するものを対象にした。その結果、ヨード反応では第2表のように柱頭には反応がみられず花粉、花柱なども非常に反応が弱い。細川ら (1963) はビートでデンプン反応は若い葯で多く開花期には全く見られないことを報告しているが、本実験でも初期の葯や子房壁には多くみられ、開花が近づくとも減少する傾向が観察された。

この他、PAS 反応、核酸反応および蛋白反応のいずれの場合も開花期に最も強い反応がみられた。なお、蛋白反応は岩崎・細田 (1969) が指摘したように核酸反応と反応の強さ反応の分布とも殆んど同じ傾向が本実験でもみられた。

しかし、本実験の材料は総て無交配のもので結果であり交配個体の場合は改めて実験を行なわなければならない。

IV. 摘 要

1. 菜類を用いて花器の発育時の形態的・組織化学的变化を調査した。

2. 形態的な点としてはメシベ, オシベの伸長量を, 組織化学的には各部位の pH, 単糖類, 核酸, 蛋白質などを調べた。

3. その結果, オシベは開花前日から開花当日にかけて著しく伸長することがみられたが, その原因は花糸の伸長によることがわかった。

4. 花粉と柱頭の pH を調べたところ, どの生育時期でも花粉が柱頭より酸性側の値を示した。

5. 多糖類, 殊にデンプンの場合, 花粉では初期に少しみられ開花時にはみられないが, 花柱では逆に初期には認められず開花期になつて少し認められた。

6. 組織化学的な反応 (PAS, 核酸, 蛋白反応) は開花時に最も強い反応がみられ, それより前・後に離れるに従つて弱くなる。

引用文献

- DOKUCHAEV, V. V., 1966, Some histochemical reactions of pollen and stigma tissues in corn plants self-pollinated with the participation of alien pollen. Chem. Abst. 65 (12) : 18993 d.
- 藤野正義, 1959. ツユクサの気孔開閉運動と pH, 塩類, 澱粉量および浸透濃度との相互関係. 科学. 29 : 147~148.
- 細川定治・津田周弥・武田竹雄, 1963. てん菜の雄性不稔現象に関する組織化学的研究 (葯組織の水素イオン濃度, 炭水化物及びアミノ酸の消長について) 育雑. 13 : 117~124.

岩崎文雄・細田友雄, 1969. 菜類の抽苔に関する研究. 第3報. 生育に伴う生長点部位の組織化学的变化について. 育雑. 19 : 39~46.

岩崎文雄・河村重行, 1967. ピロニン・メチルグリーンによる染色体の観察. 農技. 22 : 28~29.

岩崎文雄・塚田元尚, 1969. 脂肪性種子の発芽時における組織化学的变化. 農技. 24 : 81~84.

JAVANOVIĆ, B. and Z. JAVANOVIĆ, 1965. Contribution to a study of the influence of stigma length on fertilization and grain yield in maize. Plant Breed. Abst. 37 (4) : 6189.

MANŽONS, A. M., 1960. A study of the pH (acidity) of pollen of forest trees and shrubs. Plant Breed. Abst. 33 (4) : 5126.

村上寛一・川口数美・水島宇三郎, 1958. 低温下での稲の葯の組織化学的異常とその品種間差異について. 育雑. 8 : 119~127.

SCHAEVERBEKE, JEAN, 1967. Elongation of stamen filaments in Gramineae. Biol. Abst. 50 (10) : 55179.

篠遠喜人・中村 浩, 1938. 雌花及び雄花の水素イオン濃度に就て. 遺雑. 14 : 302~303.

高柳謙治・村上寛一・山野昌敏, 1968. テステープによるビール麦種子の生死迅速判別法. 農及園. 43 : 857~858.

戸刈義次・斎藤 清, 1941. 菜類の花器並に子実の発達過程. 日作紀. 13 : 170~191.

VENKATESWARLU, J. and C. K. RAO, 1967. Pollen size/style length ratio as an evolutionary factor in the genus *Tephrosia pers.* Plant Breed. Abst. 38 (2) : 3194.

Summary

The growth of the floral organs in *Brassica* was studied using morphological and histochemical methods.

In this experiment, several varieties were used as materials. The seeds were sown in autumn and the development of floral organs was observed in next spring. In the morphological study, the length of the pistil and stamen was measured. pH values and contents of mono-saccharide, poly-saccharide, protein and nucleic acid were observed with histochemical method.

The results were as follows: The elongation of the stamen turned rapid abruptly the day before flowering. The rapid elongation was mainly due to the growth of the filament. pH value of the pollen

was lower than that of the stigma. Both PAS and nucleic acid reactions were the strongest at the flowering time, and the reactions were weak at the other stages.

Iodin reaction of pollen was observed, though it was slight, in early stage, and disappeared at the flowering time. In case of style, on the contrary, iodine reaction was not observed in early stage, and was obtained slightly at the flowering stage.

F. IWASAKI

M. TSUKADA

T. HOSODA

Faculty of Agriculture, Tokyo University of Education. Tokyo 153