



花粉の生理、形態学的研究（第5報）：
ミヤマエンレイソウの花粉の発芽に就いて

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2012-11-07 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 沢田, 義康 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.32150/00000480

花粉の生理、形態学的研究

第 5 報 ミヤマエンレイソウの花粉の発芽に就いて

沢 田 義 康

北海道学芸大学旭川分校生物学教室

Yoshiyasu SAWADA : Physiological and morphological
studies on the pollen-grain
Part 5. On the germination of the pollen-grain of
Trillium Tschonoskii Maxim.

〔I〕 緒 言

花粉には蔗糖寒天培地上で、容易に発芽する種類と、発芽が極めて困難な種類の花粉とに大別される。前報^{4, 5)}に報告した如く、蔗糖寒天培地上にて発芽不能な花粉、及び発芽に長い時間を必要とする種類の花粉をアミノ酸微量加えた蔗糖寒天培地に培養すると花粉の発芽に促進的な影響がみられ、その結果発芽率の増加、花粉管伸長の促進、発芽迄の時間の短縮がみとめられたことについて報告した。其処で本実験においては、花粉、雌薬にどのようなアミノ酸が含まれているかについて、ペーパークロマトグラフィーによつて明かにし、且つ量的関係についても調べた。花粉、並びに雌薬に含まれている種類のアミノ酸と、蔗糖寒天培地に加える事によつて発芽の促進が認められると思われる各種アミノ酸との間に、どのような関係があるかについて調べた。又蔗糖寒天培地にこのような発芽に関係あるアミノ酸を加え培養することが、花粉の発芽に如何なる作用を及ぼすかについて追求して、二、三、の知見を得たので茲に報告する。

尚本研究を行うに当り、御指導御援助を賜つた、北海道大学農学部田川隆教授、並に北海道学芸大学旭川分校末松格教授に対して深謝する。又実験に際して多大の援助をいただいた舟橋正弘君に対して謝意を表す。

〔II〕 実験材料並に実験方法

A) 供 試 材 料

実験材料としては Liliaceae の *Trillium Tschonoskii* maxim. (みやまえんれいそう) を採集し、葯裂開直後の花粉及び雌薬を実験に用いた。

B) 測 定 方 法

花粉の発芽培地には、蔗糖 5%、寒天 1% を基本培地とし、これにアミノ酸を各々 50mg/l, 100mg/l, 300mg/l になるように添加し、花粉を撒布播種した。25°C, 4 時間培養し 150 個の発芽率と 30 個以上の花粉管長をマイクロメーターにて測定した。Control は基本培地を用いた。アミノ酸は下記の如き種類のものを使用した。Alanine, Arginine, Aspartic acid, Cysteine, Cystine, Glutamic acid, Glycocol, Glycine, Histidine, Hydroxyproline, Leucine, Lysine, Tyrosine, Methionine, Phenylalanine, Proline, Serine, Threonine, Tryptophan, Valine 次いで花粉 0.2g, 子房 0.2g

を採りペーパークロマトグラフィーでアミノ酸の種類を調べた。先ず供試材料を 95% アルコール 20ccで、50°~60°C にて1時間浸出濾過後、減圧濃縮し濾紙に於たえた。展開剤としてはブタノール、氷醋酸、水 (4:1:1) を用い呈色剤にはニンヒドリンを使いアミノ酸の種類を調査した。呈色程度によつて、卅、卅、+、±、-、の5種類の符号を以つて示した。但し-はアミノ酸が全然認められない事を示す。展開装置は 2×40cm の濾紙で、上昇式によつて行つた。濾紙は東洋濾紙 No. 50 を用いた。25°C で16時間後に測定し種類を調べた。

〔III〕 実験結果及び考察

a) 花粉の発芽に及ぼすアミノ酸の影響

Trillium Tschonoskii Maxim. の花粉は蔗糖寒天培地上では発芽が極めて困難な花粉である。しかるに各種アミノ酸を加えた蔗糖寒天培地に培養すると容易に発芽することが確かめられた。其の発芽状況を示すと第1表の如くである。即ち 0.0005%濃度の各種アミノ酸を加えた培地上の花粉

Table 1. The effect of Amino acid on the germination of pollen grain in *Trillium Tschonoskii* Maxim.

Sorts of Amino acid	Concentration of Amino acid		
	0.0005%	0.001%	0.003%
	Germination rate	Germination rate	Germination rate
	%	%	%
DL-Alanine	10.2	10.9	10.7
L-Arginine	11.9	trace	trace
L-Aspartic acid	10.1	40.4	22.0
L-Cysteine	23.9	40.9	12.5
L-Cystine	13.0	11.9	trace
L-Glutamic acid	17.8	60.5	10.7
Glycocoll	13.3	12.0	trace
Glycine	12.5	12.8	trace
L-Histidine	19.0	20.0	46.1
L-Hydroxyproline	12.0	trace	trace
L-Leucine	13.0	14.0	trace
L-Lysine	13.8	trace	trace
L-Methionine	10.5	trace	trace
L-Phenylalanine	10.8	13.0	trace
L-Proline	trace	trace	trace
DL-Serine	trace	trace	trace
DL-Threonine	12.9	trace	trace
L-Tyrosine	10.0	trace	trace
DL-Tryptophan	trace	trace	trace
DL-Valine	15.3	trace	trace
Control	trace	trace	trace

については、第1表に示すごとく L-Cysteine の場合に 23.9%という最高の発芽が認められた。しかし他の種類のアミノ酸を加えたいずれの培地においても、花粉の発芽は、Control に比較して促進の傾向が多少認められた。次にアミノ酸濃度を更に増加した 0.001%濃度の培地についてみると L-Aspartic acid, L-Glutamic acid, L-Cysteine の各培地では、0.0005% 培地に比較していずれも

花粉の生理形態学的研究

発芽率の促進を認め、40%~60%という高い発芽率を認めた。更にアミノ酸濃度を増加した 0.003%濃度培地においては、上記の 0.001% 培地にて著しい発芽の促進が認められた L-Aspartic acid 培地では次第に発芽率は低下した。他方、L-Histidine 培地では更に発芽率の増加が認められた。前報^{4, 5)}に報告した如く、花粉の発芽が、蔗糖寒天培地上で困難な *Lilium lancifolium* Thunb. *Lilium dauricum* Ker-Gawl. 又 *Spathyema foetida* Raf. forma *latissima* Makino. (ざぜんそう) においても L-Aspartic acid L-Glutamic acid, L-Cysteine, L-Histidine の各々の培地においては、いずれも花粉の発芽を促進する傾向を認めたが、*Trillium Tschonokii* Maxim. (みやまえんれいそう) でも同様な傾向が認められた。殊に 0.001% 濃度の各種アミノ酸添加培地においては、発芽が著しく促進されるように思われる。結果的にみて、各種アミノ酸は蔗糖寒天培地上の花の発芽機構に直接影響を与え発芽促進がみられるものと思われる。

b) 花粉の伸長に及ぼすアミノ酸の影響

各種アミノ酸添加培地で、花粉の発芽に顕著な影響を認めたアミノ酸培地の花粉管の伸長状況については第 2 表に示す如く花粉管の伸長をも促進することを知つた。しかるにアミノ酸添加が花粉の発芽に対し著しい促進的傾向を示さなかつたアミノ酸添加培地上の花の花粉管の伸長状態は、一般的に悪く、しかもいずれの培地の花粉管長も大体同じ位の長さを示した。此の結果、蔗糖寒天培地

Table 2. The effect of Amino acid on the growth of pollen tube
in *Trillium Tschonokii* Maxim.

(The length of pollen tube in micrometer scale)

Sorts of Amino acid	Concentration of Amino acid					
	0.0005%		0.001%		0.003%	
	M ± σ	V	M ± σ	V	M ± σ	V
DL-Alanine	12.1±2.5	20.6	16.3±3.4	21.2	12.5±4.1	32.8
L-Arginine	17.1±4.7	27.4				
L-Aspartic acid	13.3±4.4	33.0	14.8±4.7	31.9	9.7±3.9	40.2
L-Cysteine	12.4±4.1	33.0	13.1±5.3	40.4	9.0±3.6	40.0
L-Cystine	13.4±3.4	25.3	14.5±6.3	43.4		
L-Glutamic acid	14.0±3.6	25.7	18.3±5.8	31.7	12.5±4.9	39.2
Glycocoll	15.6±5.7	36.5	18.3±7.0	38.2		
Glycine	16.8±6.0	35.7	18.2±5.1	28.0		
L-Histidine	13.9±6.4	46.0	13.1±4.6	34.3	15.5±5.0	32.2
L-Hydroxyproline	17.6±5.2	29.5				
L-Leucine	14.1±5.0	35.0	16.2±9.1	56.2		
L-Lysine	13.0±4.2	32.3				
L-Methionine	14.1±4.8	34.0				
L-Phenylalanine	9.4±3.1	32.9	13.2±3.0	24.3		
L-Proline						
DL-Serine						
DL-Threonine	12.5±3.7	29.5				
L-Tyrosine	10.9±3.2	29.3				
DL-Tryptophan						
DL-Valine	14.3±6.8	48.8				
Control						

のアミノ酸が、花粉の発芽に対して促進的に働いても、花粉管の伸長には特別の促進的な影響がみられないように思われる。しかも 0.001% から 0.003% とアミノ酸濃度の増加に伴い花粉管の伸長は次第に低下した。前報⁴⁾に報じた *Lilium dauricum* Ker-Gawl (えぞすかしゆり) *Lilium lancifolium* Thunb. (おにゆり) の花粉管の伸長は、発芽率に促進的影響がみられる種類のアミノ酸培地では、他のアミノ酸培地に比較して、花粉管長は著しく促進される傾向が認められた。しかるに *Trillium Tschonoskii* Maxim. (みやまえんれいそう) の花粉では、0.0005% より 0.001% 濃度において発芽率の著しい増加がみられた L-Glutamic acid, L-Aspratic acid, L-Cysteine 培地の花粉でも、花粉管の伸長には殆んど促進が認められなかつた。しかるに、先に報告した *Spathyema foetida* Raf. *forma latissima* Makino. (ごぜんそう) の花粉は培地に添加したアミノ酸が発芽に対し促進的な影響のあることを認めたが、他方花粉管の伸長に対しては *Trillium Tschonoskii* Maxim. (みやまえんれいそう) と同様に、著しく促進的に作用しないように思われた。結果的に考察すると、*Trillium Tschonoskii* Maxim. *Spathyema foetida* Raf. *forma latissima* Makino. の花粉管伸長の場合と同様培養時間の短い間は、花粉粒内に透過した少量のアミノ酸によつて、花粉が活性化され発芽に促進的に作用する如く考えられる。此の場合培養時間の経過に伴つて、花粉粒中にアミノ酸の次第によく蓄積されて、これに伴つて花粉管の伸長速度は時間の経過に従つて遅延するよう思われる。

c) 花粉並に雌薬におけるアミノ酸の種類

Trillium Tschonoskii Maxim. の花粉をアミノ酸添加の蔗糖寒天培地に培養することによつて発芽が著しく促進される種類のアミノ酸と、花粉、雌薬に貯蔵されているアミノ酸との関聯について調査した。先ず *Trillium Tschonoskii* Maxim. の花粉に含まれている主なるアミノ酸は第 3 表に示すような種類がみとめられた。L-Proline ++, DL-Alanine +, L-Glutamic acid,

Table 3. The Amino acid contents in the pollen grain and pistil of *Trillium Tschonoskii* Maxim.

Sorts of Amino acid	Stamen (pollen grain)	Pistil (stigma, ovary)	Sorts of Amino acid	Stamen (pollen grain)	Pistil (stigma, ovary)
DL-Alanine	+	+++	L-Leucine	-	+
L-Arginine	-	-	L-Lyaine	-	-
L-Aspartic acid	±	+	L-Methionine	-	+
L-Cysteine	-	-	L-Phenylalanine	±	-
L-Cystine	-	-	L-Proline	++	±
L-Glutamic acid	±	++	DL-Serine	-	-
Glycocoll	-	-	DL-Threonine	-	-
Glycine	-	-	L-Tyrosine	-	-
L-Histidine	-	±	DL-Tryptophan	-	-
L-Hydroxyproline	-	-	DL-Valine	-	+

L-Phenylalanine, L-Aspartic acid, ±, の順で、花粉中には主として L-Proline を多く認めた。又花粉に含まれるアミノ酸を蔗糖寒天培地に添加して培養すると、L-Proline 以外のアミノ酸添加培地において顕著な発芽が認められた。このことはこの花粉の発芽に必要な充分の量の Proline が既に花粉粒内に蓄積されかつその必要量も僅少ですむものと考えられる。

次に雌薬に含まれているアミノ酸の種類についてみると、8 種類のアミノ酸が認められた。即ち DL-Alanine ++, が最も多く含まれ、次いで L-Methionine, L-Leucine, DL-Valine L-Aspartic acid は各々 +, L-Histidine, L-Proline は ± 程度に認められた。即ち花粉、雌薬に含まれるア

ミノ酸の中で、L-Proline 以外の各種アミノ酸はこれを蔗糖寒天培地に添加し、花粉を培養すると発芽が促進される種類のアミノ酸であつた。これらの結果を考察すると、花粉並に雌薬に含まれている各種アミノ酸は花粉の発芽に際して、直接、或は間接に関係するものの如く考えられる。この場合柱頭上での発芽を更に一層確実に進むために、花粉の発芽に必要なアミノ酸が柱頭にも含まれており、これらのアミノ酸の影響を受け花粉の発芽がより速かに、より確実に進むのではないと思われる。

即ち蔗糖寒天培地へのアミノ酸添加による花粉の発芽促進は、花粉の貯蔵物質の一つとしてのアミノ酸が、花粉の発芽生理上重要な意義を有するものと考えられるが、更に花粉の発芽に必要なアミノ酸と雌薬上にみられるアミノ酸との間に一致がみられることは、花粉の発芽生理上意義あることであり、また誠に興味ある事実である。

〔IV〕 摘 要

1) 本研究は蔗糖寒天培地にて発芽が困難な *Lilium Tschonoskii* Maxim. (みやまえんれいそう) の花粉を各種アミノ酸、L-Aspartic acid, L-Lysine, L-Arginine, L-Hydroxyproline, L-Leucine, DL-Serine, L-Histidine, L-Phenylalanine, DL-Valine, DL-Threonine, L-Proline, Glycocoll, L-Glutamic acid, L-Tyrosine, DL-Alanine, DL-Tryptophan, L-Cysteine, L-Cystine, Glycine, L-Methionine, を 0.0005%~0.003% 濃度を添加した各培地に培養し、発芽、並に花粉管の伸長に及ぼす影響について実験した。さらにこれらのアミノ酸と、花粉並に雌薬に含まれるアミノ酸の種類との相互、異同関係を明かにする目的でペーパークロマトグラフィー法により分析した。

2) 花粉の発芽並に伸長に及ぼすアミノ酸添加の影響は、L-Aspartic acid, L-Glutamic acid, L-Cysteine, を夫々濃度 0.001% になる様蔗糖寒天培地に加えた場合、対照に比し 40%~60% の高い発芽率が認められた。しかし花粉管の伸長状態は高い発芽率を示すアミノ酸添加培地においても、その他のアミノ酸添加培地においても、花粉管の伸長状態には殆んど差異が認められなかつた。けだし花粉粒の発芽と花粉管の伸長という二つの過程においてアミノ酸のもつ生理的意義に差異があるのではないかと考えられる。

3) 花粉に含まれ、かつ発芽に対し促進的に作用する主なるアミノ酸は DL-Alanine, L-Glutamic acid, L-Aspartic acid, L-Histidine 及び L-Cysteine, である。

4) 雌薬に含まれる主なるアミノ酸は DL-alanine, L-Glutamic acid, L-Methionine, L-Leucine, DL-Valine, L-Aspartic acid, L-Histidine, L-Proline であり、このうち花粉のそれと共通するものは L-Glutamic acid, DL-Alanine, L-Histidine, 及び L-Aspartic acid である。

5) 花粉、雌薬に含まれているアミノ酸は、これらを蔗糖寒天培地に加えて培養することにより著しく発芽率を促進することが認められた。しかし花粉の発芽を促進する作用のあるアミノ酸は、必ずしも花粉管の伸長生長を促進するとは限らない点からみると、花粉の発芽と伸長という二つの過程においてアミノ酸のもつ生理的意義に差異があるものと思われる。

6) 花粉粒並に雌薬に含有されるアミノ酸類には共通なるもの多く、この事実はまた花粉の生理上誠に興味あることであり、その生理的意義についても今後の研究に残されたものが多い。

〔V〕 参 考 文 献

- 1) 岩波洋造 ; 植物学雑誌 69 (1956) 198~202
- 2) Hatano, Ken-ichi ; Bull. Tokyo univ. Forests. 48 (1955~202)
- 3) H. F. Linskens ; Papir chromatographie in der Botanik Berline (1955) 1~250

- 4) 沢田義康 ; 北海道学芸大学紀要 7 (1956) 112~120
- 5) 沢田義康 ; 北海道学芸大学紀要 8 (1957) 登載予定

Résumé

The present investigation is one of a series of experiments carried out under the title of physiological and morphological studies on the pollen grains. The pollen grains of *Trillium Tschonoskii* Maxim. were used as materials throughout the present investigation. At the same time the effect of amino acid on the germination of pollen grain and on growth of pollen tubes were studied. Amino acid contained in the pollen grain and pistil were ascertained by means of paper chromatography.

Aspartic acid, lysine, arginine, phenylalanine, valine, threonine, proline, glycocoll, glutamic acid, tyrosine, alanine, tryptophan, cysteine, cystine, glycine, methionine, Hydroxyproline were used as the sources of amino acids.

Generally speaking, it was found from these experiments that the pollen grain of *Trillium Tschonoskii* Maxim. does almost not germinate on the artificial culture agar medium with sucrose. By the addition of some kinds of amino acids which are shown in table 1, to the culture medium. however, the germination of this pollen grain was much accelerated and especially the addition of aspartic acid, glutamic acid, and cysteine respectively to the culture medium at the concentration of 0.001% was very favourable for their germinations.

Although the high rate of pollen germination was obtained by the addition of suitable kind of the amino acid to the culture medium, such an addition of amino acid is not always suitable for the growth of the pollen tube.

Amino acids contained in the pollen grain and pistil were examined by means of paper chromatography and proline, alanine, glutamic acid, phenylalanine and aspartic acid were found to be contained in the pollen grains and alanine, glutamic acid, proline, valine, methionine, leucine, histidine and aspartic acid in the pistil respectively.