

第15回 花粉の観察

今回の目標	イネとトウモロコシの柱頭における花粉の発芽を光学顕微鏡で観察する。 花粉の発芽を寒天培地上で観察する。 花粉の発芽に関して、発芽率、密度効果、原形質流動などから興味のあるものを調査する。
今回の提出物	調査結果を余白に書いた、花粉のスケッチ（1枚）

イネ科作物の柱頭における花粉の発芽

目的

被子植物では雌性配偶体（胚嚢）は心皮に包まれていて、心皮の先端に近い部分と先端が柱頭であり、粘液などを分泌して花粉が付着しやすいようになっている。柱頭は粘液を分泌するだけでなく、細胞が乳頭状に突起している。ここに付着した花粉は発芽して、柱頭から花柱の組織の中を通過して胚珠に到達し、最後には胚珠内の胚嚢に入る。ここでは柱頭における花粉の発芽を観察する。

観察材料

イネ科の花は柱頭が樹枝状に分枝しているので観察しやすい。

トウモロコシ *Zea mays* L.

イネ *Oryza sativa* L.

観察方法

スライドガラス状に1%コットンブルー水溶液（染色液）を1滴置く。

開花中の花の雌ずいから柱頭をカミソリで切り、ピンセットでつまんで、染色液中に入れる。

樹枝状に分枝しているので気泡が入りやすいが、なるべく気泡が入らないようにカバーガラスをかける。

トウモロコシの場合は株の上部に雄穂をつけ、株の下方の葉腋に雌穂をつける。雌穂を包む苞からわずかに長い毛髪状の柱頭（絹糸）がでているものを用いる。雌穂の苞を取り除くと絹糸が1つ1つの子房につながっているのが観察できる。絹糸が柱頭と花柱に相当することが分かる。1つの雌穂から100本以上の柱頭を採取できる。

柱頭は長い透明な細胞が互いに付着して樹枝状となり、そこに花粉が見える。コットンブルー水溶液は花粉管の中によく吸着され、柱頭の細胞はあまり染色されない。したがって、この色素で染色されていることと花粉から出ていることを観察すれば、発芽した花粉であると判断できる。花粉管は細胞の中を通過するのではなく、細胞と細胞の間を通過している。

柱頭上における花粉の発芽の様子をスケッチする。

花粉の発芽

目的

被子植物は小孢子を形成し、その後、小孢子核の分裂により栄養細胞と生殖細胞ができ、花粉となる。花粉は柱頭上で発芽し、3細胞の雄性配偶体となる。これらの細胞は栄養細胞が花粉管細胞と生殖細胞の分裂によって生じた2個の精細胞である。この3細胞になる時期は種によって違いがあり、発芽前の花粉ですでに3細胞になっているものや、花粉の発芽後、花粉管内で分裂して3細胞になるものがある。ここでは花粉の発芽によって配偶子が形成することを観察する。花粉を培地にまいて発芽させた花粉管の成長を観察する。



図1 コットンブルーで染色したイネの柱頭と花粉

観察材料

ムラサキツユクサ *Tradescantia reflexa* Rafin.

テッポウユリ *Lilium longiflorum* Thunb.

タカサゴユリ *Lilium formosanum* Wallace

アフリカハマユウ *Crinum longifolium* Thunb.

ツバキ *Camellia japonica* L.

以上の植物はいずれも花粉が大きく、短時間で発芽する。

観察方法

1%寒天を作る。シヨ糖 10～20g と寒天 1g を水 100mL に溶かす。これをビーカーに入れ、沸騰するまで加熱する。棒寒天のときは熱いうちにろ過して、ゴミを除く。試薬用の粉末寒天ではその必要はない。

とかした寒天培地をシャーレに厚さ 2mm 程度に入れる。冷えて固まった寒天をカミソリなどで切り、1.5cm 四方のブロックとする。これをスライドガラスに載せる。

この寒天培地の上に目的とする花粉をまく。裂開した葯を寒天上にこすりつけるとよい。

乾燥すると花粉の発芽が悪くなるので、密閉性の高い容器に湿らせたろ紙を敷いて、その中に寒天培地を載せたスライドガラスを入れる。

花粉のまき方にはほかに、薬包紙に花粉を落とし、花粉を筆の先につけてまく方法、小さく切った紙片の縁に花粉をつけてまく方法などもある。

花粉をまいてから 30～60 分ぐらいで花粉管が伸長し始める。花粉管の伸長を 30, 60, 90, 120 分後に調査し、スケッチする。

図2 ツバキの花粉管の伸長 (A～Dはスケール 50 μ m, Eはスケール 100 μ m)

調査項目

次のうち、自分の興味のあるテーマを1つないし2つ選んで調査する。

A．発芽率

寒天培地のショ糖濃度、寒天培地の温度、経過時間による発芽率などを調べる。ショ糖濃度は0%、5%、10%、15%、20%、寒天培地の温度は20、25、30を用意する。経過時間は花粉置床後、20~30分ごととする。後述するように花粉の発芽には密度効果があり、密集してまかれたところの発芽率の方が高いので、花粉密度の近いところを選んで観察すること。

B．密度効果

培地上に花粉が密集している方が発芽率が高く、花粉管の伸長もよい。この様子をスケッチする。またマイクロメーターで花粉密度を測定し、発芽率との関係をグラフに表す。すくなくとも1つのスライドガラスについて密度の異なる5カ所以上を、3枚以上のスライドガラスについて発芽率を調査する。

C．原形質流動

花粉管内で原形質流動を観察できる。その様子をスケッチする。

D．花粉管の成長曲線

ショ糖の濃度や寒天培地の温度を変えた条件で置床した花粉から出た花粉管の伸長を経時的にマイクロメーターで調べ、グラフにする。花粉管は直線的には伸長しないので、測定には注意しなければならない。5本以上の花粉管を追跡調査すること。

E．花粉管の生殖細胞の観察

花粉を寒天培地から取り、別のスライドガラス上で酢酸カーミン液で染色すると、花粉管内の精核や生殖細胞の分裂を観察できる。

解説

1．減数分裂と花粉の形成

植物はある大きさに育つまで生殖器官を作らない。さらにある環境条件を満たしていないと生殖器官を作らない植物も多い。ある環境条件としては日長がもっともよく知られている。生殖器官である花芽の中に花粉が形成される。花粉は最初、花粉母細胞ができ、その花粉母細胞が細胞分裂した結果、花粉が形成される。

図3 体細胞分裂(上段)と減数分裂(中段)および花粉細胞の花粉への分化

体細胞分裂では個々の染色体が2つに分かれてから染色体が2群に分かれるので、新しい

2つの細胞の染色体数は元の細胞と同じである。花粉母細胞の染色体が分かれるときは個々の染色体は2つに分かれないで2群に分離する(減数分裂)。したがって花粉母細胞の染色体の半数の染色体をもった2つの細胞が新しく形成される。その後は2つの細胞は体細胞分裂と同じ方法で分裂するから、1つの花粉母細胞は半数の染色体をもった4つの細胞となる(図3)。

花粉母細胞から分かれてできた4つの花粉細胞はそれぞれ1つずつ核を持っている。ところが成熟した花粉を核染色液(酢酸カーミン液など)で染めると1つの細胞に2あるいは3つの核を見つける。ムラサキツユクサの場合は2つであり、2核性花粉(図5)と呼び、イネやトウモロコシの花粉では3つあるので、3核性花粉と呼ぶ。2核性花粉も受精後には2つのうち1つの核(生殖核)がさらに分裂して2つに分かれるので、最終的にはすべての花粉は3つの核を持つ。実際には2核性花粉は2つの

細胞からなっていて、大きな細胞（栄養細胞）の中に小さな細胞（生殖細胞）が入っている状態になっている。栄養細胞の核を花粉管核あるいは栄養核といい、生殖細胞の核を生殖核という。生殖細胞は2つの精細胞に分裂する。精細胞の核を精核という。2核性花粉は花から出てきたときは2細胞であるが、受粉して花粉が発芽してから花粉管中で生殖細胞が2つの精細胞になるから、2核性花粉と3核性花粉の間には本質的な違いはなく、生殖細胞の分裂の時期がずれていると考えればよい。

栄養細胞の役割は自力では運動できない生殖細胞や精細胞

を柱頭から卵細胞まで運搬することにあると考えられている。花粉が柱頭に置床すると、栄養細胞は発芽し、花粉管を伸ばしてこれらの小さな細胞を子房中の卵細胞の近くまで送り届ける。

2. 雄ずい、雌ずいと花粉（図7）

雌ずいは柱頭、花柱、子房の3部分からなる。子房中には胚珠があり、その中の胚嚢に卵細胞や極核が作られる。柱頭の表面はざらざらしていたり、粘液が分泌されたりして花粉が付着しやすいようになっている。柱頭について花粉は発芽して雌ずいの中に花粉管を伸ばす。花粉管は花柱内に用意されている誘導組織を通して子房にむかって伸び、胚珠の珠孔から中に入って卵細胞の近くに到達する。こ

図5 2核性花粉の中の栄養核と生殖細胞（生殖核）

図4 ムラサキツクサの花粉形成過程。細かい黒点はデンプン粒を表す。

図6 ツバキの花粉の断面。

VN: 栄養核, GC: 生殖細胞, GN: 生殖核, ER: 小胞体

のときまず花粉管の先端から精細胞の精核が助細胞中に放出される。その後2つの精核のうちの1つは卵細胞と、他の1つは2つの極核と受精する（重複受精）。

子房の中にある胚嚢の形成の仕方は植物の種によってさまざまである（図8）。いずれもまず胚嚢母細胞ができ、それが花粉と同じように減数分裂して染色体nの2個の細胞になり、さらに分裂して4細胞となり、その中の1つが分裂を繰り返しながら成長し、分化して胚嚢を形成する。したがって、卵細胞や極核だけでなく、助細胞など胚嚢中の細胞はすべて染色体数がnとなっている。

図7 花の構造

3. 花粉の発芽

花粉が柱頭に落ちると吸水をし、発芽する。花粉は最初、乾燥しているので半透膜を通して浸透圧によるよりも水がしみこむような形で吸水し、そのあと花粉は浸透圧を高めて膨圧を生じて、細胞膜や細胞壁を内から押し広げながら発芽や花粉管伸長を行う(図9)。

花粉が吸水してから発芽するまでに要する時間(発芽時間)は花粉の種類だけでなく、温度や培地によっても変わる。25℃付近の温度ではハウセンカのように2~3分で発芽するものもあれば、アカマツ、クロマツのように20時間以上かかる種もある。花粉が発芽すると出てくる花粉管は発芽孔から出現する。多数の発芽孔をもつ花粉でも通常は1本だけ発芽管を出す。しかし、人工培地ではしばしば複数の発芽孔から花粉管が出てきたり、花粉管が途中で枝分かれしたりする現象が見られる。

図9 花粉の吸水、物質の流出入、発芽の説明図

4. 花粉管の伸長

花粉管の伸長は、ふつうの細胞の成長のように全体が引き伸ばされるのではなく、管の最先端部で管壁が押し広げられながら膜物質を補填してゆく付加伸長である(図11)。発芽した花粉に木炭などの細かな粒子をばらまいて、目印を付ける方法でこのような伸長を確認できる。

花粉管の最先端部にはつねに粒子を含まない光学顕微鏡的に透明な原形質の塊があり、この部分を帽体と呼ぶ。この帽体の部分で花粉管壁物質が管の最先端に付け加えられることによって伸長するから、管が枝分かれするときや一度伸長した管が伸長を始めるときには、まず管の先端に帽体ができて、その後に管の伸長が起こる。このことから帽体が花粉管の伸長に必須のものであることがわかる。

5. 花粉と冷害・高温障害の関係(水稻の場合)

イネにおける冷害、高温障害は花粉の稔性が失われることによる不受精が原因となるものが多い。これは障害を受けたイネに他の健全な個体から得た花粉を受粉すると稔実することからわかる。

図8 被子植物の胚嚢のでき方のいろいろ

図10 いろいろな花粉の発芽の様子

1:ハウセンカ,2:マツヨイグサ,3:カボチャ,4:ツキヌキソウ,5:ペチュニア,6:テッポウユリ,7:ソラマメ

図11 花粉管とマメの根とゴムの伸び方の比較

冷害と花粉

水稻の冷害には花粉が稔性を失い、不受精となる障害型冷害、出穂が遅くなり、登熟期がより低温の晩秋にずれ込むために十分に登熟しないために起こる遅延型冷害、低温で発生しやすいイモチ病のために起こるイモチ病型冷害などがある。イネでは障害型冷害の危険な発育段階は 2 つあり、穂ばらみ期と開花期である。

穂ばらみ期のうちでもっとも低温に感受性の高い時期は小胞子初期（4 分子期と第 1 収縮期を合わせた時期）である。花粉母細胞が減数分裂を経て、4 つの小胞子となり、これが成熟したものが花粉である。しかし、減数分裂の直後に低温を受けると図 12 のように花粉の充実が妨げられ、稔性を失う。充実不良な花粉の入った葯は裂開しないために不稔になるのが主な原因である。開花期の低温でも不受精の感受性器官は葯である。しかし、穂ばらみ期と開花期の不受精は生理的には異質とみられ、遺伝的にも同じ遺伝子によってそれぞれの耐冷性を強化できるわけではないと考えられている。

高温障害と花粉

熱帯を原産とするイネでも高温によって障害を受け、不稔となることがしばしば問題となる。とりわけ地球温暖化が進行すると、温帯である日本でも真夏の高温によって高温による不稔が起こる可能性も指摘されている。高温にもっとも感受性の高い時期は開花期であり、開花期に日最高気温が 34~35 以上の日が続くと受精障害が発生するという報告がある。

高温不稔の感受性時期は穂ばらみ期と開花期である。冷害とは逆に高温不稔では開花期の方がより危険な時期である。高温不稔の原因は雄ずい側にある。高温によって葯の裂開が妨げられ、柱頭に落ちる花粉の数が減るために受精しなくなる場合と花粉の発芽が高温によって阻害される場合の 2 つがある。図 13 から高温耐性強の品種 N22 は受粉数が多く、受粉後の発芽障害が不受精の原因と考えられる。一方、耐性の弱い品種 BKN6624 は柱頭に落ちた花粉が少なく、受粉不良が不受精の原因である。

イネの開花は午前 10~12 時頃にふつう起こる。イネの品種によってはそれより早い時期に開花する品種もあり、早朝は気温も低いので、開花期高温による不稔を防ぐ方策には、1) 葯の裂開力や花粉の発芽力を高めて高温耐性を増す方法（真の高温耐性の獲得）と 2) 早朝の比較的気温の低い時間に開花させて高温障害を回避する方法（高温回避性の向上）の両面が考えられる。

図 12 小胞子期初期の低温による小胞子の退化ないし花粉の充実不良の発生

図 13 高温処理中に開花した穎花の柱頭上の受粉数と発芽花粉数による群別割合および稔実歩合
穎花の類別基準（棒グラフ）
白：受粉数 19 以下で発芽数 9 以下，斜線：同 20 以上で 9 以下，黒：同 20 以上で 10 以上。 ：稔実歩合

MEMO