

# 花粉管伸長のしくみ

伊藤 嘉矩 岡田 賢 萩尾 華子 三輪田 恵理  
名古屋市立向陽高等学校 SS クラス

## 要旨

花粉管伸長における糖の役割を明らかにすることを目的として、寒天培地上で花粉管を伸長させる実験を行った。培地のスクロース濃度 0~20%での伸長の違い、原形質流動の様子、花粉管壁のカロースを観察した。また、培地の濃度と異なるスクロース溶液を滴下して、花粉管の浸透圧調整の様子を観察した。実験結果から次のことがわかった。浸透圧が大きく異なるスクロース濃度 0~20%培地でも、すべての濃度で伸長することができる。花粉管はスクロースを分解しながら、その糖を原形質流動のエネルギー源として伸長している。また、その糖が花粉管壁形成を促進させるはたらきをもつ。スクロースがない場合は、花粉管内の糖が消費されると伸長が止まる。また、花粉管は、外液の浸透圧に応じて内部の浸透圧を高く調整することによって、膨圧をつくり出し、伸長している。

## 1 序論

植物では受粉が起きた後、柱頭の花粉から花粉管が花柱の中を胚のうへ向かって伸びる。花粉管の中では精細胞が、花粉管内の原形質流動によって、胚のうへ運ばれ、その後、胚珠内の胚のうの卵細胞と受精する。

生物 I の教科書に、花粉管をスクロースを含む寒天培地で伸長させる実験が紹介されており、試料としてツバキ、ユリ、インパチェンスなどが用いられている。しかし、この実験において、二糖類であるスクロースがどんな役割をしているかについての記述があまりなかった。そこで私たちは、糖の種類や濃度を変えた寒天培地上で、花粉管を伸長させる実験を行い、花粉管が伸びるために必要な物質や浸透圧の条件を調べることで、花粉管伸長における糖の役割を明らかにしようと考えた。

## 2 材料と観察・記録の方法

### <材料>

実験に使用した花はツバキ(*Camellia japonica*)、トレニア(*Torenia fournieri*)、インパチェンス(*Impatiens walleriana*)、テッポウユリ(*Lilium longiflorum*)、の 4 種類。主にツバキを使用した。

### <観察・記録の方法>

写真撮影にデジタルカメラ (Canon PowerShot A530)、長さの測定にマイクロメーターを用い、微速度撮影に USB カメラ、パソコン、フリーソフトの slow cam を利用した。

## 3 実験

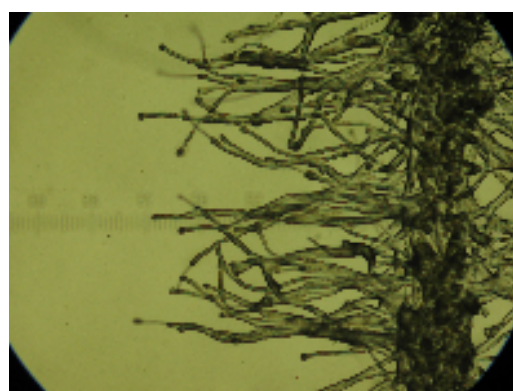
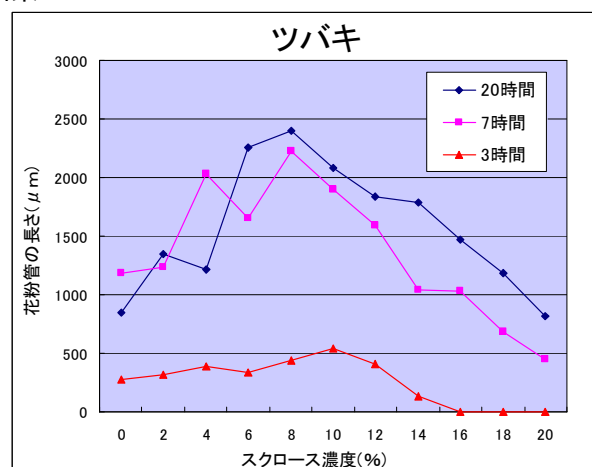
### 実験 1 <スクロース濃度による伸長の違い>

スクロース濃度を、0~20%の間で 2%間隔で変え

た寒天培地をスライドガラス上につくり、ツバキの花粉を散布し、伸長させた。散布後、22 度の定温器の中の密閉容器で多湿に保っておき、3 時間後、7 時間後、20 時間後の花粉管伸長を観察した。

寒天培地は寒天 1.0%と塩類水溶液( $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{H}_3\text{BO}_4$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  それぞれ 0.01%)を使って作った。

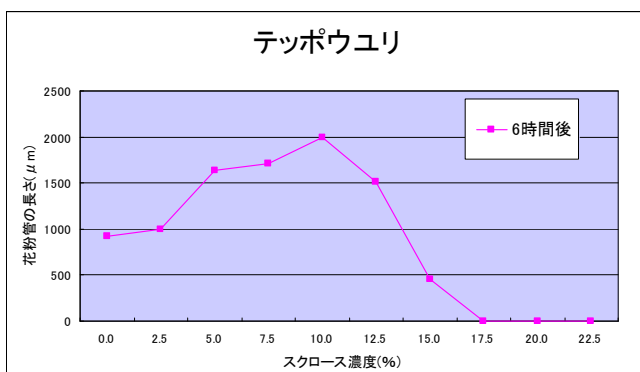
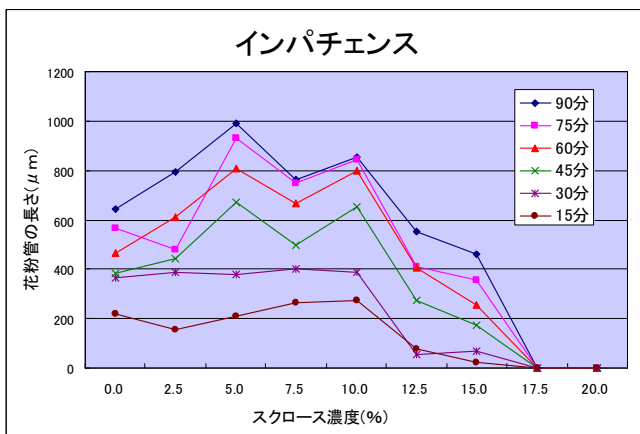
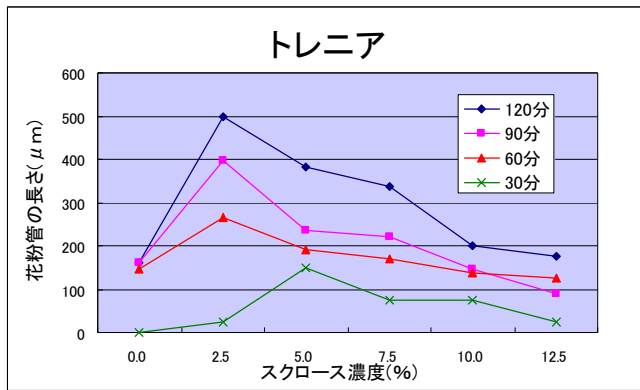
## 結果 1



8%スクロース培地上での  
20 時間後のツバキの花粉管

時間がたつにつれて花粉管は長くなり、スクロース濃度が 8%の培地で最も伸長した。また、0~20%

の全ての濃度で花粉管は伸長した。



ツバキ以外のトレニア、インパチエンス、テッポウユリの花粉管を寒天培地で伸長させたが、ツバキ同様、伸長に適した濃度はあったが、幅広い濃度において伸長していた。

スクロースの役割を文献で調べたところ、培地の条件を、花粉管伸長に適した浸透圧に調整する他に、花粉管が培地のスクロースを分解・吸収しているという説があった。

そこで、スクロースの役割「花粉管が培地のスクロースを分解、吸収し、伸長に利用しているか」を調べる実験2から実験10をツバキの花粉を用いて行った。

### 実験2 <伸長後のスクロース培地に含まれる糖>

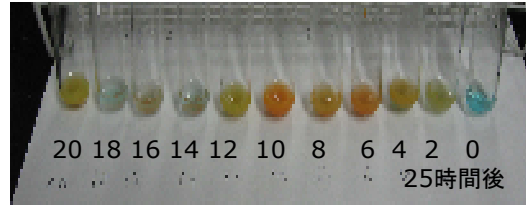
- 各培地の花粉の散布された場所を5mm四方に

切断し、1ccの水を加えた後、ベネジクト液を5滴滴下する。加熱後の様子を観察する。

- 同様に切断した寒天を、花粉のないほうを下にして尿糖試験紙に置いて、変化を見る。

### 結果2

- ベネジクト液の反応(還元糖に反応して赤褐色の沈殿を生じる)



ベネジクト液を滴下してから3時間後では、スクロース濃度16、20%だけが反応し、7時間後では8%で少し反応した。25時間後では伸長が大きかった4~10%で反応し、10%がオレンジ色で還元糖が一番多く、0%だけが変化しなかった。

- 尿糖試験紙の反応(グルコースに反応する)



ベネジクト反応が大きかった10%の寒天培地を調べると、5mg/ml程度のグルコースが検出された。

### 考察

実験2から以下の2つの疑問が生じた。

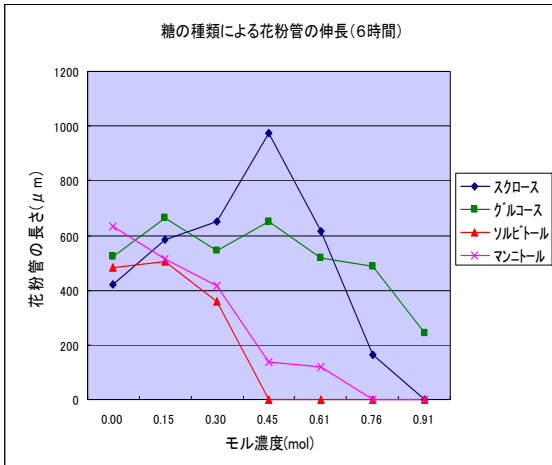
- 花粉管は伸長するために、スクロースをグルコースやフルクトースに分解していると考えられる。スクロースを分解して、どのように利用しているのか。
- スクロース濃度が0%~20%では浸透圧が大きく異なるのに、なぜ伸びるのか。

### 実験3 <糖の種類による伸長の違い>

糖の種類を変えることによって、スクロースの役割を調べる。

寒天培地は、寒天1.5%、塩類水溶液(CaCl<sub>2</sub>・H<sub>2</sub>O、H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub>、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>それぞれ0.01%)、糖類(スクロース、グルコース、マンニトール、ソルビトール)である。スクロースは0~30%を5%ずつで、他の糖は0~15%を2.5%ずつとした。スクロースの分子量が他の糖に比べて約半分なので、モル濃度をそろえるようにした。

### 結果 3



糖の種類による伸長の違いがあった。

- スクロースでは最も花粉管が伸び、0~0.5Mあたりまでの変化が大きかった。
- グルコースでは2番目に長く伸び、0~0.5Mあたりまでの変化が小さかった。
- マンニトール、ソルビトールでは0.3M以上では極端に伸びなくなった。

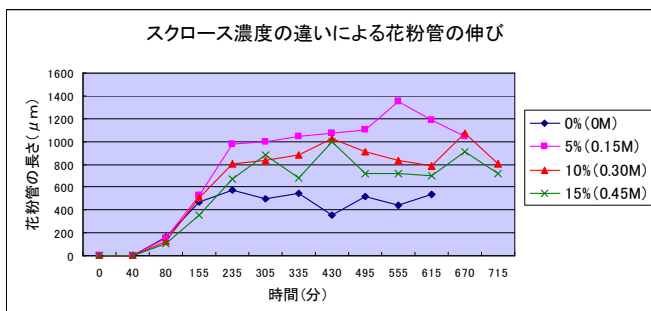
#### 考察

- スクロースが最も花粉管伸長に適していて、次にグルコースが適している。
- マンニトールとソルビトールは濃度が高いほど伸長を抑制する効果がある。マンニトールは植物に利用されない糖なので、浸透圧の効果のみが現れて、伸長が抑制されると考えられる。
- スクロースの場合には花粉管内の浸透圧を上げるしくみはたらくのかという疑問が生じた。

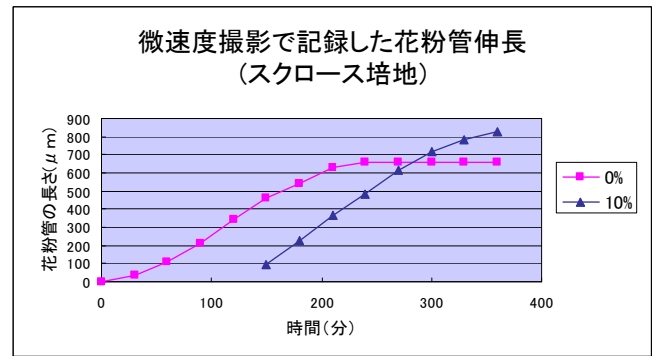
#### 実験 4 <スクロース濃度による伸長の経過の違い>

次に、スクロース培地上で花粉管の伸長の過程を観察し、経過をグラフにした。観察は、(A)スクロース培地(濃度0~15%まで5%ずつ)で約1時間ごとに観察し、デジタルカメラで記録する、(B)スクロース0%培地と10%培地上である1本の花粉管の伸長を微速度撮影し観察するという2つの方法で行った。

#### 結果 4 (A)



#### (B)



花粉管が伸長し始めて約3時間後までは、培地のスクロース濃度が違ってほぼ同じように伸長した。しかし約3時間後以降では、0%培地では伸長が止まり、ほかの濃度ではゆっくりと伸長し続けた。

この結果は、特定の本の花粉管を微速度撮影し観察したグラフでも同様にみられた。

#### 考察

以上の結果より、花粉内にもとから糖があり、最初の3時間あたりまではその糖を利用し伸長できるが、それ以降は伸長していくために外部から糖を取り入れる必要があるのではないかと考えられた。

#### 実験 5 <花粉内の糖の存在>

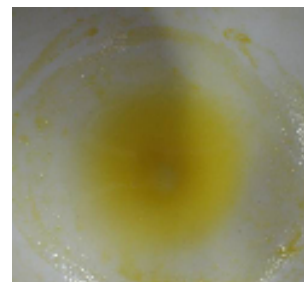
花粉内のデンプンの存在をヨウ素反応で調べた。

#### 結果 5

花粉をすりつぶした後、ヨウ素ヨウ化カリウムを滴下したところ下の写真のように反応があった。

#### 考察

花粉管内には糖があり、ある程度まではその糖を利用して伸長していると考えられる。



#### 実験 6 <蛍光染色によるカロースと精細胞の観察>

次に、花粉管が伸長する際の花粉管の様子を詳しく調べるため、0%と10%培地上の花粉を伸長させた後、蛍光色素で処理し観察した。

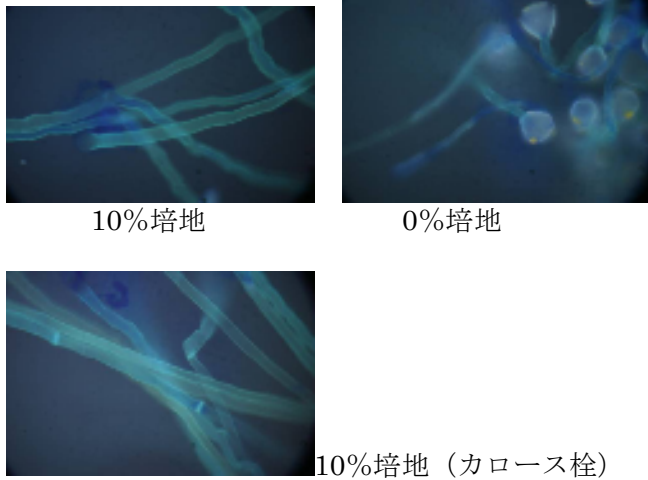
方法は次の通りである。

- スクロース培地(0,10%)に花粉をまく
- 伸長した花粉管を3%ホルムアルデヒド溶液で固定する
- 10分間放置後、同濃度のスクロース溶液で洗う
- 蛍光色素とTritonX(界面活性剤)を加え、10分間放置し染色する
- 再び同濃度のスクロース溶液で洗う

蛍光色素は、花粉管壁に含まれる多糖類であるカロースを染めるアニリンブルーを用い、伸張した花粉管の様子を蛍光顕微鏡を用いて観察した。

また雄原細胞・花粉管核を染める DAPI 色素を用い、花粉管伸長の際の雄原細胞・花粉管核の位置を蛍光顕微鏡を用いて調べた。

### 結果 6 (アニリンブルー)

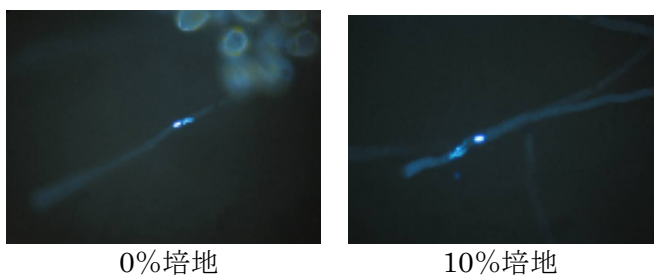


カロースで処理した花粉管は、10%培地では先端を除いた花粉管壁が強く光り、時間が経ったものでは、カロース栓がみられた。カロース栓とは、花粉管の途中に花粉管内の物質の輸送や代謝を一定の範囲以内に限るためにできるものである。しかし、0%培地では花粉管壁の光り方が弱く、カロース栓も見られなかった。

### 考察

このことから、花粉管は伸長する際にスクロースを分解し吸収した糖を利用し、カロースを花粉管壁の材料として付け足しつつ伸長している可能性が考えられる。この仮説に基づく、外部から糖を取り入れられない 0%培地では花粉管壁のカロースも少なく伸長が止まってしまうが、10%培地では先端に付け足しているため、カロース形成途中の先端の光り方は弱い、ほかの部分ではカロースを十分に多く含んだ花粉管壁が形成されていると考えられる。

### 結果 6 (DAPI)



DAPI で処理した花粉管内で雄原細胞・花粉管核は、0%培地では花粉管の途中で止まってしまっていたが、10%培地では花粉管の先端近くまで移動していた。普通、花粉管核を先頭に雄原細胞は移動していくのだが、0%培地ではこの順序が逆転していた。この現象の原因についてはよくわからない。

### 実験 7 <培地の濃度による原形質流動の違い>

前の実験で雄原細胞・花粉管核が途中で止まってしまっていたことから、0%培地では原形質流動もあまり起きていないのではないかと考えられ、花粉管内の原形質流動の様子を詳しく調べるために、微速度撮影によって観察した。

### 結果 7

0%培地では、伸長が止まった 4 時間後には原形質流動が花粉管の中間あたりで止まってしまっていたが、10%培地では 4 時間後以降でも先端付近まで活発に原形質流動していた。

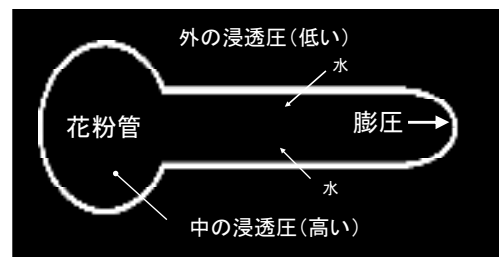
### 実験 6 と実験 7 の考察

これらのことからスクロースが原形質流動のエネルギー源となって、細胞や核を運んでいること、また物質を運んでカロース形成を促進していることが考えられる。

0%培地でも 3 時間以内では原形質流動が見られたが、その間に伸びた花粉管のカロースが少なかったことから、培地のスクロースを材料にしてカロースを形成している可能性が高いと考えられる。

次に、実験 2 の考察から生じた「スクロース濃度が 0%~20%では浸透圧が大きく異なるのに、なぜ伸びるのか。」という疑問について考えてみた。

### <花粉管の浸透圧調節について>

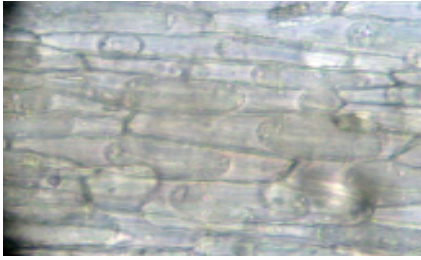


伸長している花粉管は、花粉管内の浸透圧を外液の浸透圧よりも高くしておくことで、花粉管内に水を取り込み膨圧を作っていると考えられる。花粉管が雌しべの花柱内を伸長しているとき、外液は花柱内の環境である。

### 実験 8 <ツバキの雌しべの等張液>

実際の雌しべの等張液を調べるために、雌しべの花柱を裂いて、それを 12%・14%・16%・18%のスクロース液に浸し、原形質分離の様子を観察した。

結果 8 <雌しべの細胞の等張液>



18%スクロース液に浸した雌しべの細胞

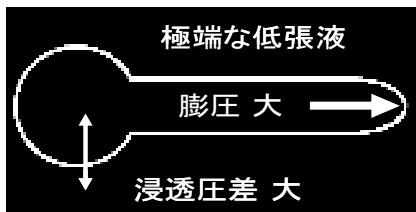
12%では原形質分離がおこらず、14%では1割程度の細胞が原形質分離し、16%、18%の細胞ではほとんどの細胞が原形質分離した。

考察

この結果から、雌しべの等張液は14%程度で、花粉管が通っていく細胞の間は、14%より低いことが分かった。ここで、花粉管が0~20%という幅広い濃度の培地上で、なぜ伸びることができたのかという疑問が出てきた。

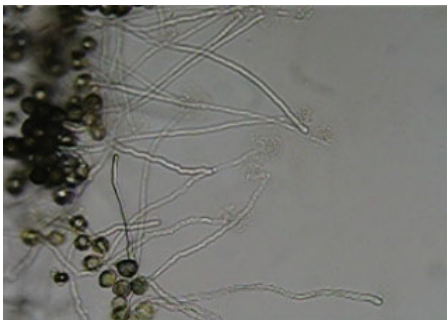
そこで、花粉管は培地の濃度によって浸透圧を変えている、と仮説を立てて、花粉管に、ある濃度のスクロース液を滴下し、外液の浸透圧条件を瞬間的に変化させる実験を、低張液と等張液を用いて行った。

実験 9 <低張液による浸透圧ジャンプ>



培地上で伸長している花粉管に、極端な低張液をかけると、浸透圧の差が大きくなり、花粉管に働く膨圧が大きくなり過ぎて、花粉管の先端が破裂する。このことを利用し、花粉管に低張液をかけた時の、花粉管の先端の破裂の様子を観察することで、浸透圧についての情報を得た。

結果 9



低張液の滴下により、破裂する花粉管

滴下 培地	0%	5%	10%	15%	20%
0%	○	○	○	○	○
5%	×	○	○	○	○
10%	×	×	○	○	○
15%	×	×	×	○	○
20%	×	×	×	×	○

×：破裂する ○：破裂しない

培地の濃度よりも低い濃度のスクロース液を滴下すると、花粉管の先端が破裂した。また培地の濃度の違いにより破裂する濃度も異なっていた。

考察

培地の浸透圧が異なると、花粉管内の浸透圧も異なっていると考えられる。

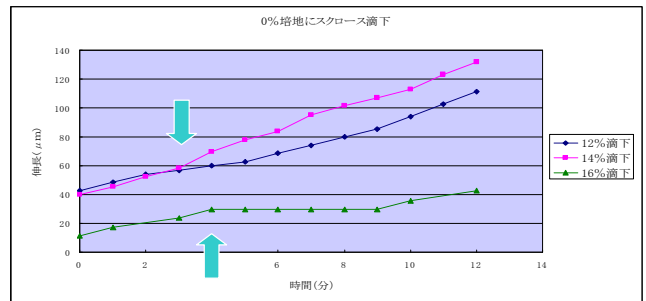
実験 10 <等張液による浸透圧ジャンプ>



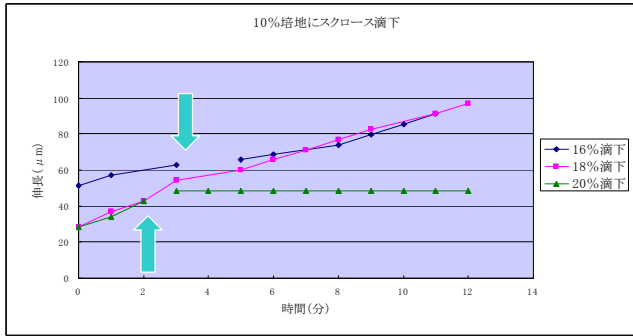
培地上で伸長している花粉管に等張液をかけると、浸透圧の差がなくなり花粉管に働く膨圧がなくなるので、伸長は止まるはずである。

このことを利用し、花粉管の伸長の様子を微速度撮影しているときに、濃度の異なるスクロース溶液を滴下し、伸長の止まる様子を観察して、等張液を調べた。

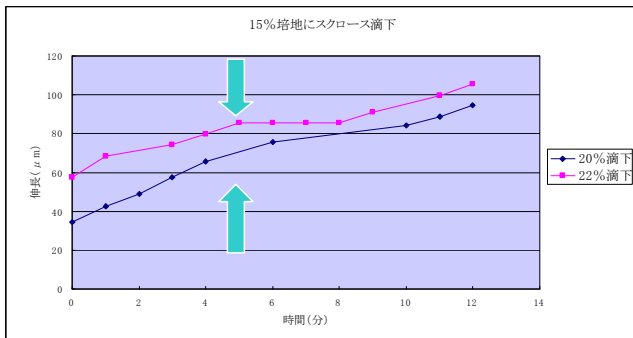
結果 10



0%の培地に12%・14%のスクロース液を滴下すると伸長は続き、16%のスクロース液を滴下すると伸長は止まり、その後また伸長を始めた。このことから、16%スクロース液が等張液であると考えられる。グラフの矢印は滴下した時間を表す。



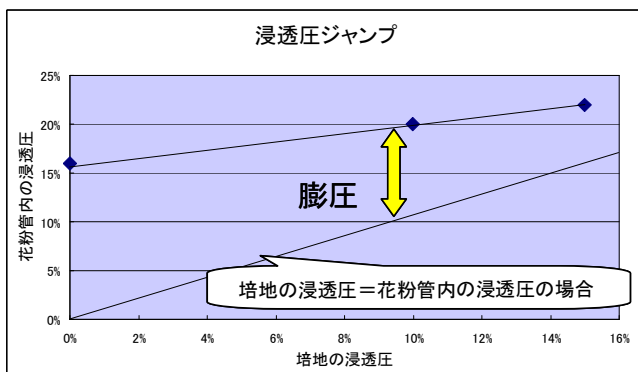
10%の培地に16%・18%のスクロース液を滴下すると伸長は続き、20%のスクロース液を滴下すると伸長は止まった。このことから、20%スクロース液が等張液であると考えられる。



15%の培地に20%のスクロース液を滴下すると伸長は続き、22%のスクロース液を滴下すると伸長は止まり、その後また伸長を始めた。このことから、22%スクロース液が等張液であると考えられる。

### 考察

この結果をグラフにまとめると次のグラフが得られた。培地の浸透圧が小さければ膨圧は大きく、培地の濃度が高くなればなるほど、膨圧が小さくなっていることが分かる。また、培地の浸透圧が大きくなりすぎれば、膨圧がつくれなくなることが推測できる。また伸長が止まった後再び伸長し始めることから、花粉管は外液の浸透圧変化に対応し、花粉管内の浸透圧を調節し、外液の浸透圧より高くして伸長し続けることができると考えられる。



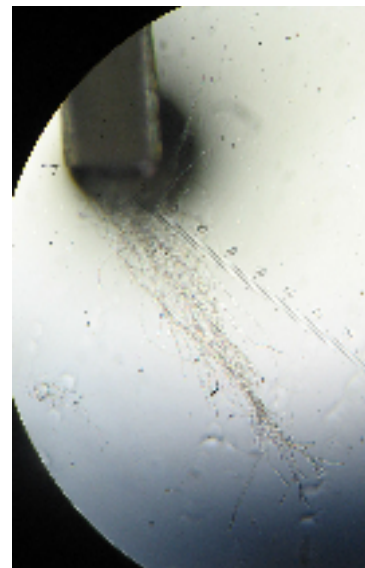
### 4 まとめ

- 伸長している花粉管はスクロースをグルコース・フルクトース（単糖類）に分解して吸収して利用している
- 吸収した糖を、花粉管の伸長のために原形質流動のエネルギー源にし、花粉管壁の材料として伸長している
- 花粉管はスクロース（二糖類）を分解して、花粉管内の浸透圧を周りの環境に応じて変化させ、膨圧を作って伸長している

### 5 今後に向けて

今後は、寒天培地上ではなく実際の雌しべにおいての花粉管の伸長の様子を調べたいと考えている。現在トレンアの雌しべの柱頭に花粉をつけ、1時間後に雌しべを切断しスクロース液内で3~4時間伸長させ、切り口を観察する実験を行っている。

これまでの結果は、写真のように切り口の先端から花粉管が伸びて、また伸長の様子は寒天培地上に比べて約10倍の速さで伸長していることが観察できている。



### 〈謝辞〉

本研究に関して、名古屋大学大学院理学研究科 生命理学専攻 東山哲也教授より、ご助言をいただきました。ありがとうございました。

### 〈参考文献〉

- 示佐 誠・加藤 幸雄 (1962) 植物生殖生理学 誠文堂新光社
- Tetsuya Higashiyama et al.:(1997) Kinetics of double fertilization in *Torenia fournieri* based on direct observations of the naked embryo sac *Planta* 203:101-110