HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	作物の細胞質雄性不稔性に関する組織化学的研究 : 第４報　テンサイの葯の電子顕微鏡的観察
Author(s)	中嶋, 博
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 9(3), 247-252
Issue Date	1975-03-20
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/11874
Type	bulletin (article)
File Information	9(3)_p247-252.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

作物の細胞質雄性不稔性に関する組織化学的研究

第4報　テンサイの葯の電子顕微鏡的観察

中　嶋　　博
(北海道大学農学部工芸作物学教室)

(昭和49年9月24日受理)

Histochemical studies on the cytoplasmic male-sterility of some crops

IV. Electron microscopic observations in sugarbeet anther

Hiroshi NAKASHIMA
(Laboratory of Industrial Crops, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Japan)

(Received, September 24, 1974)

テンサイの細胞質雄性不稔性に関する光学顕微鏡レベルでの研究 (ARTSCHWAGER, 1947; 細川ら, 1954, 1963; 中嶋ら, 1971) において，発育初期の葯組織は表皮，内被，中間層およびタペート層の葯壁と花粉母細胞よりなり，この時期では両稔性間に形態的な差異は見られない。しかし，発育が進むにしたがって，稔性個体の葯では花粉母細胞が四分子，小胞子を経て，完全な成熟花粉と発達するが，一方，不稔性個体の葯では，小胞子までは稔性のものと同様な経過をたどるが，その後葯腔内の崩壊をきたし，花粉は壊疽様の塊となって葯腔内に存在する。このような現象はタペート細胞の異常な行動と関連することが推定されている。

雄性不稔性に関する電子顕微鏡レベルでの観察は EDWARDSON (1962) がトウモロコシで，VRIES と IE (1970) がコムギで，WARMKE と OVERMAN (1972), OVERMAN と WARMKE (1972) がソルガムで行なっているにすぎない。

本研究では，テンサイの細胞質雄性不稔個体とその O 型個体の葯組織のタペート細胞および花粉などについて，電子顕微鏡レベルで微細構造を観察し，細胞質雄性不稔性の生起の機作を解明する一助とした。

材料および方法

テンサイの一年生細胞質雄性不稔系統 TA-1-MS と，その O 型の TA-1-O を供試した。種々の発育段階の葯を採取し，2% グルタルアルデヒドの 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 6.8) で1時間固定し，その後，水洗し，1% オスミック酸で1時間固定した。固定した試料をアルコールで脱水し，SPURR (1969) の低粘度包埋剤に包埋し，超薄切片をつくり，酢酸ウラニールとクエン酸鉛で電子染色し，電子顕微鏡で観察した。

結　　果

稔性葯の花粉母細胞期のタペート細胞 (Ta) においては，顕著な仁 (Nu) をもつ核 (N)，ミトコンドリア (M)，プラスチッド (P)，リボゾーム (R) および空胞 (V) などの細胞構造物が観察された。タペート細胞は2核になっているものも認められる。この時期では，両稔性間には細胞構造物についてとくに明らかな差異は認められない (Fig. 1, 2)。

発育が進み四分子期になると，稔性葯では，花粉母細胞には認められなかった前ユービッシュ体 (pU) と推定される構造物が，タペート細胞の葯腔側の細胞壁 (CW) の内側に存在する。細胞壁は厚く，タペート細胞の細胞間隙に電子密度の高い物質 (dm) がみられ，この物質が細胞間隙を通って，葯腔中に流出しているように思われる。葯腔中にもタペート細胞に沿って，同様の物質が存在している。この物質と中間層の崩壊とは密接な関係が

大要は日本作物学会　第156回講演会 (1973年10月) において発表した。

あるものと思われる。この時期の細胞では，リボゾーム(R)が細胞構造物のないわずかな空間に密に集まっている(Fig. 3)。

不稔性のものでは，おおむね稔性のものと同様に前ユービッシュ体(pU)が認められ，また，タペート細胞間隙には，電子密度の高い物質(dm)が存在する(Fig. 4)。タペート細胞の細胞壁が伸長しているもの，細胞質が細胞壁より外に流出しているものも認められる。稔性葯に較べて，プラスチッドにでん粉が早期に集積し，空胞に顆粒がみられ，ミトコンドリアは多数存在する傾向がある。その後，厚い細胞壁はほとんど消失し，ミトコンドリア(M)のクリステが消失し，タペート細胞は異常になってくる(Fig. 8)。

小胞子期になると，稔性葯では小胞子(PG)のカロース壁は消失し，花粉外壁(E)にはスポロポーレニンが集積するが，花粉内壁はまだ形成されていない。タペート細胞(Ta)では，ユービッシュ体(U)が発達し，厚い細胞壁がほとんど消失し，タペート細胞間隙および葯腔中にみられた物質は消失している。プラスチッド(P)にはでん粉(S)の集積が，また空胞中には顆粒が認められる(Fig. 5)。さらに発育が進むと，ユービッシュ体(U)が発達し，プラスチッドはほとんど認められなくなるが，ミトコンドリア(M)は顕著に認められるようになる(Fig. 7)。

一方，不稔性のものでは小胞子期になると，ユービッシュ体は認められないが，細胞質中に多くの脂質様物質(lm)が認められる。プラスチッド(P)にでん粉(S)の蓄積が顕著に認められるが，ミトコンドリアは崩壊して，正常なものは見い出されない(Fig. 6)。

さらに発育が進むと，稔性のものではタペート細胞(Ta)はタペート細胞としては正常な行動をとり崩壊して，細胞としては異常になってくる。ミトコンドリア(M)およびユービッシュ体は認められるが，プラスチッドおよび細胞膜は認められなくなる(Fig. 9)。その後，タペート細胞には，葯壁に平行な細胞を二分するような構造物が出現し，タペート細胞は厚さがほぼ半分となり，漸次，消失するものと思われる。この時期では，タペート細胞の葯壁側の細胞膜に沿って，細胞膜の突起から分泌してきたと思われる油滴様物質(ld)が多数ならんで存在しているのが観察される。リボゾーム(R)がみられるがその他のものは明らかでない。小胞子は外壁(E)および内壁(IN)が発達してくる(Fig. 11)。

不稔性のものでは，タペート細胞(Ta)は崩壊し，プラスチッドおよびミトコンドリアなどの崩壊残滓と思われる構造物が認められる(Fig. 10)が，稔性葯で認められた油滴様物質は全く認められない。小胞子(PG)自体ではプラスチッドおよびミトコンドリアなどの構造物が崩壊し，花粉外壁(E)の発達が著しく劣っており，内壁は全く形成されない。また稔性の小胞子の発芽孔に特異的な物質(Fig. 9の(O))が集積しているが，不稔性の小胞子にはこの物質が認められない(Fig. 10)。

花粉期に到ると，稔性の花粉粒は成熟するが，一方，不稔性のものでは，小胞子の残滓が認められるのみとなる(Fig. 12)。

考　　察

雄性不稔性に関する最初の電子顕微鏡的観察において，EDWARDSON (1962)は形態的な報告を行なっていないが，トウモロコシのT型細胞質雄性不稔系統とその維持系統を供試し，根端細胞とタペート細胞の封入体について報告した。すなわち，不稔性個体の根端細胞では直径約50～60 mμの濃い封入体を見い出し，一方，稔性個体ではそのような封入体を見い出さなかった。また不稔性個体のタペート細胞では，直径約58～64 mμの封入体を含んでいたが，稔性個体では直径約45～52 mμの封入体を見い出し，この封入体と雄性不稔性の関係を論じている。これまでの研究では，細胞質雄性不稔性を支配する細胞質遺伝要因はまだ明らかにされていない。一方，ウイルスが細胞質雄性不稔性を支配する細胞質要因であるとする考えに基づく報告もあり，この封入体の存在はこれらと関連して非常に興味あるものであるが，本研究のテンサイについては，そのような封入体は見い出されなかった。

HOEFERT (1969 a, b, 1971)は，テンサイの正常個体の花粉粒とそのタペート細胞について報告し，これを雄性不稔性と関連させて研究を進めようとしている。本研究の稔性葯とHOEFERT (1971)の報告では，仁の小管の存在およびミトコンドリアの膨脹を除いては，タペート細胞でユービッシュ体と細胞壁の行動が同様であることが認められた。なお本研究では，主として，両稔性個体の葯の電子顕微鏡による観察で得られた差異について考察することにする。

ユービッシュ体に関しては，四分子期では両稔性ともタペート細胞に前ユービッシュ体が認められる。稔性のものでは，発育が進むにしたがって発達し，外壁を形成しユービッシュ体となるが，一方，不稔性のものでは四分子期以後，その存在が認められなくなる。ユービッシュ体はUBISCH (1927)によって最初に報告されており，

ROWLEY (1963) および ECHLIN と GODWIN (1968) などによって研究されている。ECHLIN (1971) は，その発達と機能について総括的に報告している。すなわち，ユービッシュ体は分泌型タペートの植物に存在し，プラズモジウム型タペートの植物には存在しない。胞子形成の後期に，タペート細胞の自己消化で，ユービッシュ体は内被に隣接するタペート細胞残滓上と，成熟花粉間に残存する傾向がある。初期の仮説では，ユービッシュ体は，スポロポーレニンをタペート細胞から花粉壁への移行機能をもつ顆粒と考えた。しかしいまでは，ユービッシュ体を単にタペート細胞の自己消化の結果として，葯腔内に放たれる粒子と考えるのが最も妥当とされている。

本研究で観察された稔性葯のユービッシュ体は，上述のような行動をとるが，一方，不稔性葯のタペート細胞では，発達したユービッシュ体が見い出されなかった。このことは，不稔性葯のタペート細胞の自己消化に異常をきたしているものと推定できる。さらに不稔性花粉粒でも，花粉外壁にわずかではあるが，スポロポーレニンの集積がみられた。このことは，ユービッシュ体がタペート細胞からスポロポーレニンを花粉外壁に運搬する機能をもつものではないことを裏づけるものである。一方，VRIES と IE (1970) はコムギで，また，WARMKE と OVERMAN (1972) はソルガムにおいて，両稔性のいずれにもユービッシュ体を見い出している。これはテンサイの不稔性とはタペート細胞の崩壊過程に差異があるためではないかと推定される。すなわち，コムギでは，不稔性花粉においても，稔性のものと同様な花粉外壁が示され，稔性のものに較べて薄い内壁が形成されていたと報告されている。また，ソルガムでは，不稔性のもので，二分子期にカロース壁が形成されていないことが報告されている。しかしながら，本研究で用いたテンサイでは，四分子はカロース壁に包まれており，両稔性間に形態的な差異はみられなかった。しかしながら，花粉壁については両稔性間に著しい差異がみられ，不稔性花粉では，稔性のものに比して，非常に貧弱な花粉外壁より形成されず，また花粉内壁は全く形成されなかった。このように，不稔の様相が作物によって異なり，ユービッシュ体の行動も異なるものと考えられる。

ECHLIN と GODWIN (1968) は小胞体とリボゾームが，ユービッシュ体の形成と関係しているとしているが，HESLOP-HARRISON (1962) はその起原はミトコンドリアではないかと推定している。

また，不稔性葯の小胞子期のものでは，タペート細胞質中に大型の脂質様物質が多く認められ，これはユービッシュ体の発達しないことと関連しているのではないかと推定される。さらに，タペート細胞の崩壊の後期に，外側の細胞膜に沿って，油滴様物質が稔性のものでは多数認められたが，不稔性のものでは全く認められなかった。

ミトコンドリアについては，不稔性のものでは初期のタペート細胞中に多数存在する傾向を示し，四分子期には異常が認められ，クリステの構造が明確には認められなくなり，二重の膜構造をもつ空胞のような構造で存在する。さらに，小胞子期の稔性葯では，タペート細胞が崩壊した後もミトコンドリアが葯腔内に認められる (Fig. 9) が，不稔性葯では認められない (Fig. 10)。ミトコンドリアの異常は呼吸活性の低下と密接に関係しており，細胞の代謝の異常と直接関係することは容易に推定される。またミトコンドリアが核酸を持つことから，なんらかの遺伝的な支配が関係していると考えられる。本研究からただちにミトコンドリアが細胞質雄性不稔性の遺伝的細胞要因であるとはいえないが，深沢 (1961) はコムギの葯のコハク酸脱水素酵素活性を比較し，不稔性葯で酵素活性の低いことを認め，ミトコンドリアが不稔性と関連するのではないかと推定している。仮説的な推定として，遺伝的な考え方をすれば，タペート細胞が多核になった時に不稔性の遺伝的細胞質要因をもつミトコンドリアとの間に相互作用が起こり，タペート細胞のその後の機能に異常を起すことが考えられる。

プラスチッドは，両稔性とも認められ，でん粉粒の蓄積，消失の時期およびプラスチッドの崩壊の時期では前述のような差異が両稔性間で認められた。すでに細川ら (1963) は光学顕微鏡レベルでてん菜の葯におけるでん粉粒の蓄積，消失の時期および局在について報告しており，両稔性のものとも，内被および中間層にこれを認めており，稔性葯では，花粉粒の発育にしたがって消失するが，不稔性葯では残存することを認めている。本研究の電子顕微鏡レベルでは，上述の組織のほか，表皮，タペート細胞および花粉のプラスチッドにでん粉粒が認められた。タペート細胞中のでん粉粒の消長は，内被および中間層で認められたのとほぼ平行的に認められ，不稔性葯では後期まで残存する傾向であった。

HOEFERT (1969 a, 1971) も，正常葯の花粉粒およびタペート細胞中にでん粉粒を認めている。これらのことより，でん粉の消長は不稔現象と密接に関連しているものと思われる。

花粉粒自体については，ソルガムで観察されたような

不稔性個体の発育初期の二分子でのカロース壁の欠如および不整形は，本研究のテンサイでは観察されず，小胞子までは，不稔性のものも同様に発達する。しかし稔性の花粉粒の発芽孔にみられた特異的な物質 (Fig. 9) は，不稔性花粉では観察されなかった。さらに花粉粒の花粉外壁，とくに tectum と foot layer の発達が悪く，花粉内壁も形成されない。これは花粉の未発達によると考えられる。コムギの場合は不稔性花粉粒でも，花粉外壁は稔性のものと同様に発達しているが，内壁は稔性のものと比較して著しく薄いことを報告している。花粉粒の形態は植物の種によって著しく異なっているが，不稔性花粉の形態的な異常は経過的な結果として観察されたものと思われる。

以上のように，不稔性個体におけるユービッシュ体およびミトコンドリアなどの発育初期で認められた異常が，その後の花粉の異常と密接に関係しているものと思われる。これらの異常が相互にどのように関連しているかは，今後の研究をまたねばならない。

本実験の実施にあたって，ご教示とご鞭達をいただいた北海道大学農学部細川定治教授に深謝する。また電子顕微鏡の技術的なご指導をいただき，さらに電子顕微鏡の使用にご便宜をはかられた同四方英四郎教授に厚くお礼申し上げる。

摘　　要

作物の細胞質雄性不稔性について，トウモロコシ，コムギおよびソルガムなどで葯組織の電子顕微鏡レベルでの観察が行なわれている。本研究はテンサイの一年生の細胞質雄性不稔系統と，そのO型系統の種々の発育段階の葯を用いて，雄性不稔現象の生起の機作を解明する一助として，電子顕微鏡レベルの観察を行なった。

不稔性葯のタペート細胞では，四分子期でミトコンドリアに異常が認められ，クリステが崩壊している。また稔性葯の小胞子期では，ユービッシュ体がタペート細胞の葯腔側に顕著に存在するのが観察されたが，不稔性葯では全く観察されなかった。不稔性葯ではタペート細胞質中に，多数の脂質状物質が認められたが，稔性のものではこれらはわずかに認められたにすぎなかった。小胞子期の後期には，稔性葯ではタペート細胞の葯壁側の細胞膜に沿って，多数の油滴様物質が認められたが，不稔性のものでは全く認められない。小胞子では，稔，不稔で明らかな差異が見られ，不稔小胞子では，外壁の発達が悪く，また内壁も形成されない。さらに，稔性花粉の発芽孔に認められた特異的な物質は，不稔性のものでは認められなかった。雄性不稔現象と，これら稔，不稔による差異との因果関係は明らかでないが，ユービッシュ体の未発達，あるいはミトコンドリアの異常など，発育の初期で認められた差異が，その後の発育過程での稔性の差異として現われるものと推定される。

引 用 文 献

ARTSCHWAGER, E. F. 1947. Pollen degeneration in male-sterile sugar beets, with special reference to the tapetal plasmodium. J. Agr. Res. **75**: 191–197.

ECHLIN, P. and H. GODWIN. 1968. The ultrastructure and ontogeny of pollen in Helleborous foetidus L. I. The development of the tapetum and Ubisch bodies. J. Cell Sci. **3**: 161–174.

——— 1971. The rule of the tapetum during microsporogenesis of angiosperms. In Pollen development and physiology (Ed.) J. HESLOP-HARRISON, Butterworths London, 41–61.

EDWARDSON, J. R. 1962. Cytoplasmic differences in T-type cytoplasmic male-sterile corn and its maintainer. Amer. J. Bot. **49**: 184–187.

深沢広祐 1961. 細胞質的雄性不稔コムギのコハク酸脱水素酵素による TTC 還元. 核と細胞質 **2**: 32–35.

HESLOP-HARRISON, J. 1962. Origin of exine. Nature **195**: 1069–1071.

HOEFERT, L. L. 1969 a. Ultrastructure of Beta pollen. I. Cytoplasmic constituents. Amer. J. Bot. **56**: 363–368.

——— 1969 b. Fine structure of sperm cells in pollen grain of Beta. Protoplasma **68**: 237–240.

——— 1971. Ultrastructure of tapelal cell ontogeny in Beta. Protoplasma **73**: 397–406.

細川定治・武田竹雄・大谷義雄・池畑瑞子 1954. 甜菜雄性不稔の細胞組織学的研究. 第1報 花粉退化とタペート細胞の異常肥大について, 育雑 **4**: 62–68.

———・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について, 育雑 **13**: 117–124.

中嶋 博・細川定治 1971. 作物の細胞質雄性不稔性に関する組織化学的研究. II. てん菜の葯における DNA, 多糖類および蛋白質の消長ならびに光合成産物の移行, 北大農邦紀 **8**: 1–4.

OVERMAN, M. A. and H. E. WARMKE 1972. Cytoplasmic male sterility in sorghum. II. Tapetal behavior in fertile and sterile anthers. J. Hered. **63**: 226–234.

ROWLEY, J. R. 1963. Ubisch body development in

Poa annua. Grana Palynol. **4**: 25–36.

SPURR, A. R. 1969. A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. J. Ultrastructure Res. **26**: 31–43.

UBISCH, G. V. 1927. Zur entwicklungsgeschichte der Antheren. Planta **3**: 490–495.

VRIES, A. Ph. DE and T. S. IE 1970. Electron-microscopy on anther tissue and pollen of male sterile and fertile wheat (Triticum aestivum L.). Euphytica **19**: 103–120.

WARMKE, H. E. and M. A. OVERMAN 1972. Cytoplasmic male sterility in sorghum. I. Callose behavior in fertile and sterile anthers. J. Hered. **63**: 103–108.

Summary

Anther tissues of annual cytoplasmic male sterile sugar beets and those of corresponding O-type sugar beets were observed under the electron microscope.

Clear differences were observed between fertile and male sterile anthers. At the tetrad stage, mitochondria of sterile tapetal cells were abnormal and the cristea of mitochondria were found to be degenerated. At the microspore stage, Ubisch bodies of fertile anthers were seen at the surface of inner tapetal cells, but they were not observed in sterile anthers.

Other differences were also observed in the behaviors of lipid-like materials. Numerous lipid-like materials were present in the sterile tapetal cells at the microspore stage. In the late microspore stage, many lipid-like droplets were observed along the outer tapetal cell menbrane in fertile anthers, but they were not observed in sterile anthers.

As regards the microspore itself, characteristic unkown substances were observed at the pore of pollen in fertile microspores, but which however were not observed in sterile microspores. Incomplete pollen exine and no intine were found in the sterile microspores.

From the above mentioned observations, it is surmized that the differences in behaviors of tapetal organelle such as the mitochondria and the Ubisch bodies, may be connected with pollen fertility.

Explanation of Figures

The scale bars represent 1 μ.

Abbreviation and Symbols

C:	Callose	Nu:	Nucleolus	dm:	dense material
CW:	Cell Wall	P:	Plastid	ld:	lipid like droplet
E:	Exine	PG:	Pollen Grain	lm:	lipid like material
IN:	Intine	S:	Starch	pU:	pro Ubisch body
M:	Mitochondrion	T:	Tetrad	O:	peculia substance
ML:	Middle Layer	Ta:	Tapetum		
N:	Nucleus	U:	Ubisch Body		

Figures 1, 3, 5, 7, 9 and 11; fertile anthers.
Figures 2, 4, 6, 8, 10 and 12; male sterile anthers.

Fig. 1 and 2. Pollen mother cell stage: Each tapetal cell has one or more nuclei with prominent nucleoli, mitochondria, plastid, ribosomes, and fairly large vacuoles. No clear difference can be found between both fertile and male sterile tapetal cells.

Figs. 3 and 4. Tetrad stage: Many pro Ubisch bodies are observed in the inner tapetal cell wall both fertile and sterile anthers.

Fig. 5. The exine of microspore deposits sporopollenin. The thick tapetal cell walls have disappeared and pro Ubisch bodies develop into Ubisch bodies coated with sporopollenin.

Fig. 6. Microspore stage: The tapetal cell walls and pro Ubisch bodies have disappeared. The mitochondria are not observed, but many lipid like materials are observed in the tapetal cytoplasm.

Fig. 7. Microspore stage: The mitochondria and the Ubisch bodies are conspicuous.

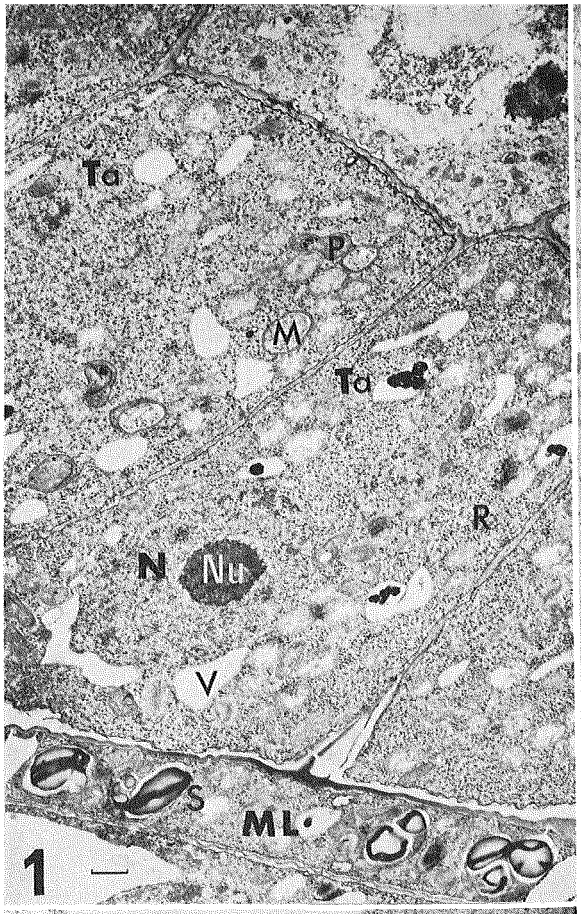
Fig. 8. Tetrad stage: Since the cristae of mitochondria have degenerated, typical mitochondria are never observed.

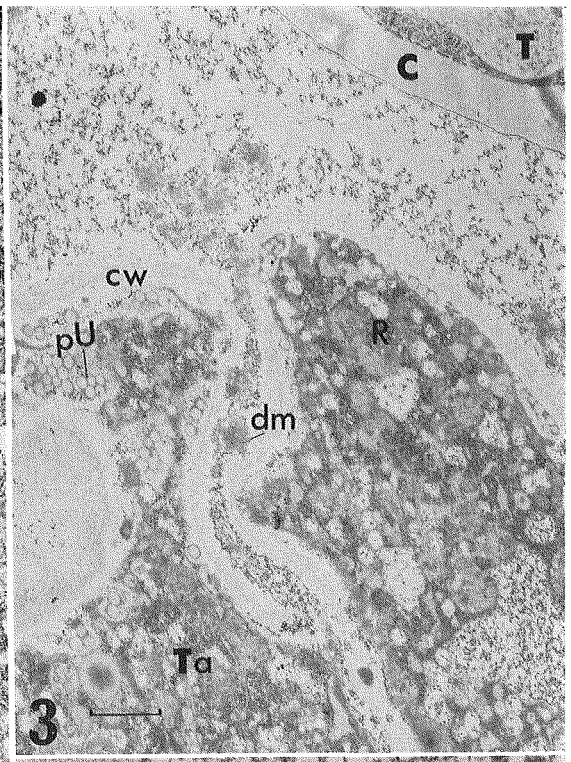
Fig. 9. Microspore stage: The tapetal cell membrane has deteriorated and mitochondria are seen in the anther cavity. The peculiar substances are observed at the pore of pollen.

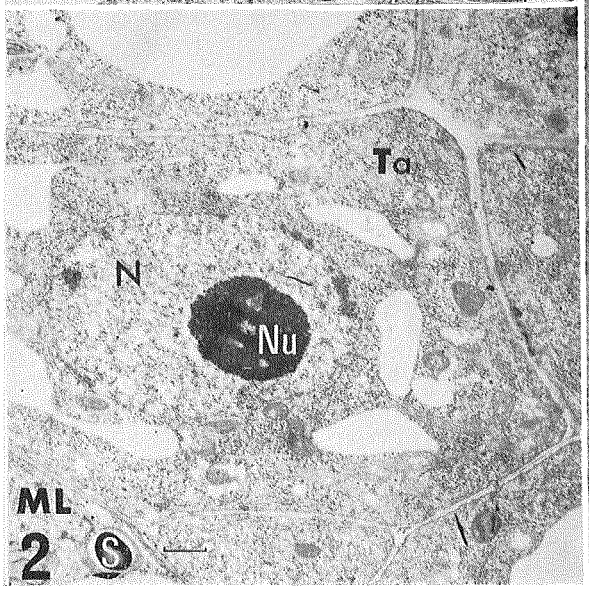
Fig. 10. Microspore stage: The tapetal cell has degenerated and remnants of tapetal cytoplasm exist in the anther cavity, but cell organelles are not readily recognizable.

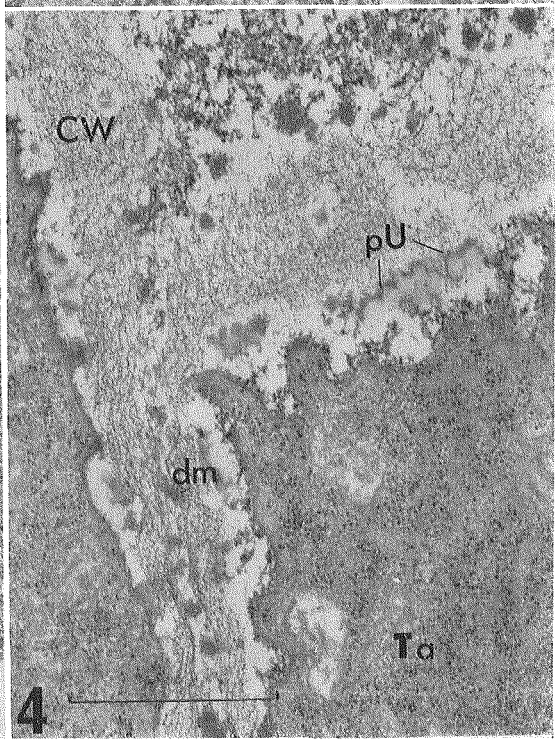
Fig. 11. The lipid like droplets are seen along the outer tapetal cell membrane.

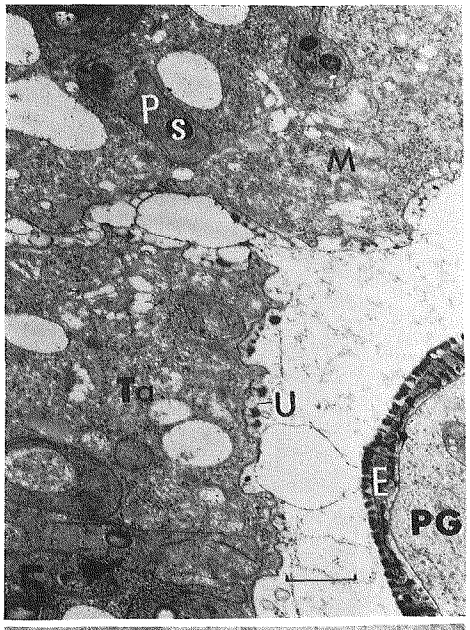
Fig. 12. Organelles of sterile microspore begin to degenerate and exine does not develop fully.

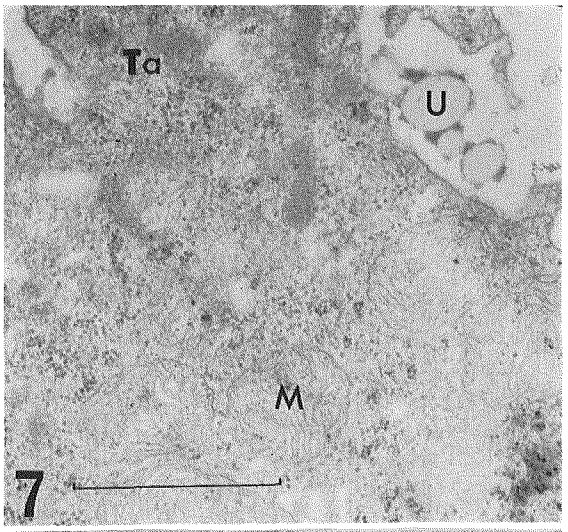

Ta
P
M
Ta
R
N
Nu
V
S
ML
1

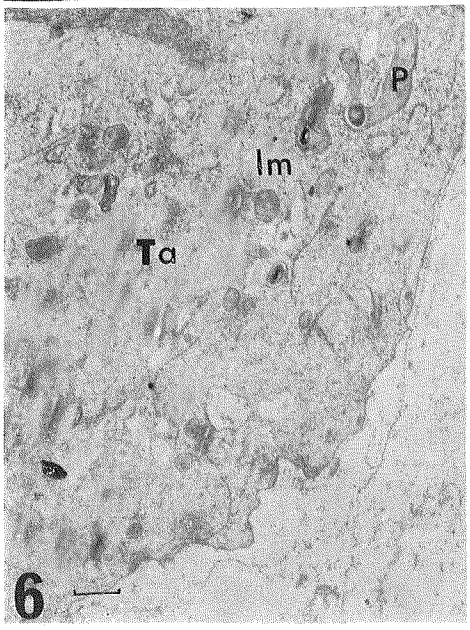

C
T
cw
pU
R
dm
Ta
3

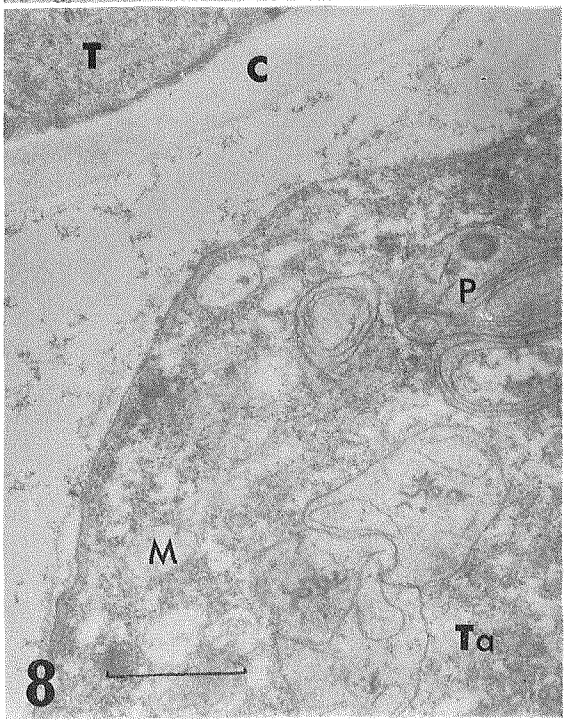

Ta
N
Nu
ML
2

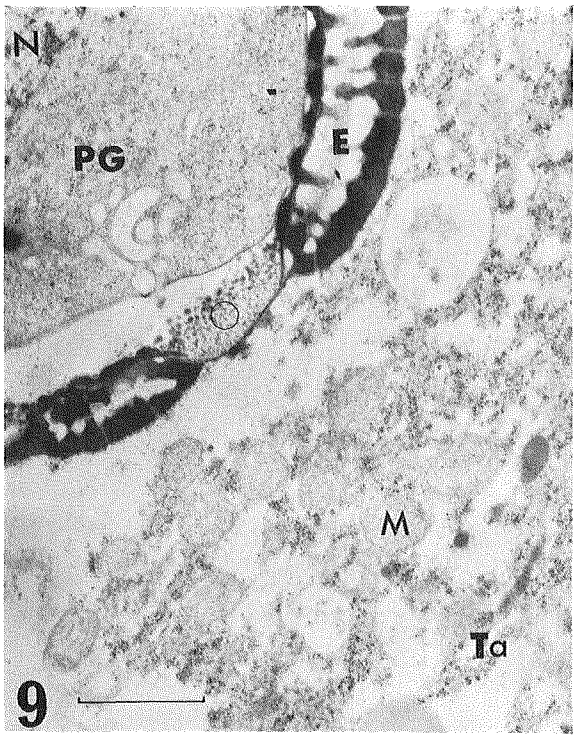

CW
pU
dm
Ta
4

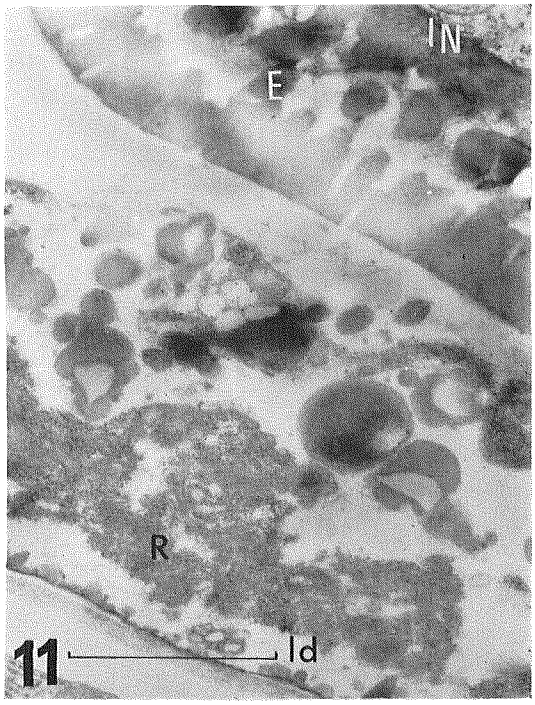

P
S
M
Ta
U
E
PG

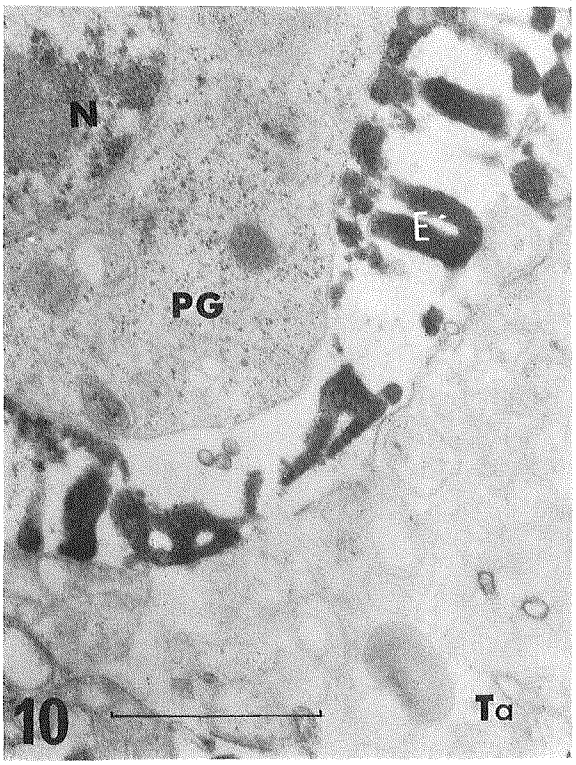

Ta
U
M
7

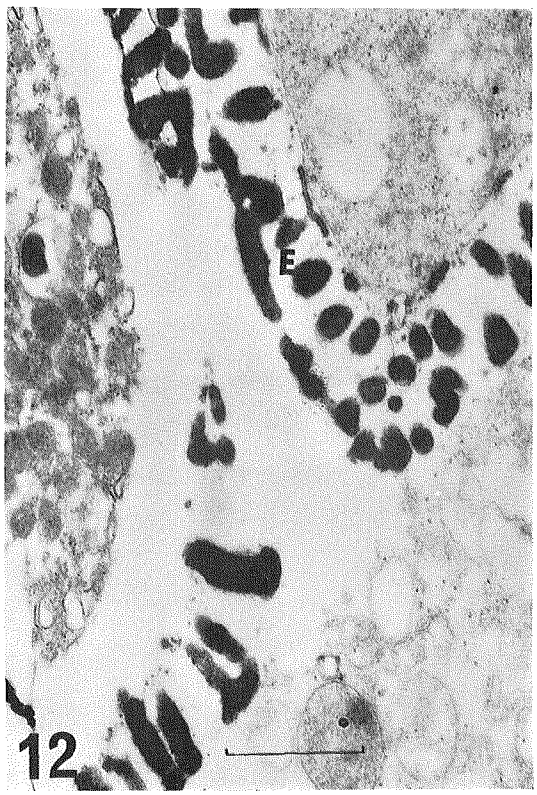

P
Im
Ta
6


T
C
P
M
Ta
8


N
PG
E
M
Ta
9


IN
E
R
11
Id


N
E
PG
10
Ta


E
12