



# 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 : II. てん菜の蒴における 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
Author(s)	中嶋, 博; NAKASHIMA, Hiroshi; 細川, 定治 他
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 8(1), 1-4
Issue Date	1971-03-31
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/11817">https://hdl.handle.net/2115/11817</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	8(1)_p1-4.pdf



# 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

中 嶋 博・細川定治  
(北海道大学農学部工芸作物学教室)

### Histochemical studies on the cytoplasmic male-sterility of some crops

#### II. Changes of DNA, polysaccharides and proteins, and trans- location of photosynthetic products of sugarbeets

Hiroshi NAKASHIMA and Sadaji HOSOKAWA

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

Received September 28, 1970

前報<sup>6)</sup>のはじめに述べたように、著者らは細胞質雄性不稔が種子生産に利用されるいろいろな作物について、その植物生理学的な現象や機作を明らかにし、それらの共通点の有無が普遍化され得るかどうかについて、組織化学的な研究を行ってきた<sup>4)~6)</sup>。

本報はこれらの研究の一環として行なわれたもので、HIMES ら<sup>3)</sup>による三染色法により、DNA、多糖類および蛋白質の所在とその消長、ならびに<sup>14</sup>Cトレーサー法による光合成産物の葯組織内における行動についててん菜の稔性、不稔性間で比較検討を行なった。調査の主眼点は各葯の組織化学的な特異性および異常肥大タペート細胞と小孢子への養分移行についての関連性を見ることである。

#### 材 料 と 方 法

供試材料は、てん菜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 である。1968 年と 1969 年につき述べる方法で実験を行なった。

#### 実験方法 I. HIMES らの三染色法<sup>3)</sup>

供試材料より花蕾を採取し、ホルマリン・酢酸・アルコール (FAA) で固定し、稔性、不稔性の葯組織中における DNA、多糖類および蛋白質の差異の有無や発育に伴うこれらの消長をプレパラート検鏡により観察した。DNA はアズール A-シッフ反応により緑から青に、多糖類は PAS 反応により赤、また蛋白質はナフトールエロ

-S により黄に染色される。

#### 実験方法 II. <sup>14</sup>C トレーサー法によるマイクロオート ラジオグラフィ<sup>7)</sup>

供試材料を、所定の同化箱に入れ、約 1.5 mc の Ba<sup>14</sup>CO<sub>3</sub> に乳酸を作用させて <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> を発生させ、1 時間同化を行なわせた。処理 28 時間後に供試材料より花蕾を採取し FAA で固定した。固定材料を常法によりパラフィン切片を作った。パラフィン溶除後に浸漬法によりマイクロオートラジオグラムを作製した。その露光時間は 48 時間とした。乳剤は“さくら”NR-M2 を用いた。現象、定着後サフランで染色し、組織および銀粒子の分布について調査を行なった。

#### 実 験 結 果

I. 稔性、不稔性葯の発育の各段階における三染色法による反応の観察結果を Table 1 および Plate I に示した。緑と青は DNA の反応、赤は多糖類および黄は蛋白質の反応を示す。花粉母細胞期 (Plate I-A, B) には、稔性、不稔性の各葯間にはその染色状況について特に差異は観察されない。内皮、中間層および柔組織において多糖類の反応を示す赤色顆粒が認められ、またタペート細胞および花粉母細胞では黄色の蛋白質の反応が顕著であった。また DNA の所在を示す青緑色の反応は花粉母細胞中の核に相当する部分にわずかに観察された。四分子期 (Plate I-C, D) になると、両稔性とも黄色が優ってい

**Table 1.** Histochemical observations of the tissue in fertile and male-sterile anther

		Developmental stage of anther			
		PMC	T	MS	P
PMC or Pellen	F	+	-	-	-
	S	+	-	-	-
Tapetum	F	-	+	+	-
	S	-	+	+	-
Transitory tissue	F	-	-	-	-
	S	-	-	-	-
Epidermis	F	-	-	-	-
	S	-	-	-	-
Parenchyma	F	-	-	-	-
	S	-	-	-	-

F: fertile  
S: male-sterile  
PMC: pollen mother cell  
T: pollen tetrad  
MS: pollen microspore  
P: mature pollen

-: no reaction  
±: trace "  
+: small "  
#: middle "  
#: large "

## b) polysaccharides

		Developmental stage of anther			
		PMC	T	MS	P
PMC or Pollen	F	-	±	±	+
	S	-	±	±	+
Tapetum	F	-	-	-	-
	S	-	-	-	-
Transitory tissue	F	+	+	+	-
	S	+	+	+	±
Epidermis	F	-	-	-	-
	S	-	-	-	-
Parenchyma	F	+	+	+	±
	S	+	+	+	+

## c) proteins

		Developmental stage of anther			
		PMC	T	MS	P
PMC or Pollen	F	+	±	±	-
	S	+	±	±	-
Tapetum	F	+	+	+	-
	S	+	+	+	-
Transitory tissue	F	-	±	±	-
	S	-	±	-	-
Epidermis	F	±	±	±	-
	S	±	±	±	±
Parenchyma	F	-	-	-	-
	S	-	-	-	-

た花粉母細胞では總体的に赤色が目立ち、DNAの反応である青緑色はほとんど認められなくなる。内皮と中間層の赤色顆粒は、稔性葯ではかなり少なくなっているが、不稔性葯では花粉母細胞期のそれと比較して大差はない。タペート細胞は一樣に放射状に伸長するが、細胞質は黄色の蛋白質反応と青緑色のDNAの反応が顕著になるが、その充実度には両稔性間に差が認められた。小孢子期(Plate I-E, F)になると、タペート細胞の崩壊あるいは異常肥大が始まることはすでに述べられたところである<sup>1)</sup>が、三染色法による観察では、稔性葯においては退化途上のタペート細胞中には蛋白質の反応の黄およびDNAの反応の青緑色が明らかに認められる。不稔性葯では異常肥大したタペート細胞は癒合して空胞を多く含む原形質塊あるいは仮柄状侵入体を形成する。これらは黄色の反応は一樣であるが、青緑色の反応は後者ではほとんど認められなかった。多糖類の反応は不稔性葯には葯壁における赤色顆粒の残存量が多い。小孢子にはいずれも多糖類の反応を主とし、蛋白質の弱い反応が認められたが、小孢子間にはその反応の程度について著しい異同があった。花期期(Plate I-G, H)では稔性葯ではタペート細胞は完全に消失し、葯壁の多糖類の反応も消失するが、不稔性葯では葯壁に多糖類の反応による顆粒はなお残存し、蛋白質の反応も認められる。また稔性葯において稔性花粉は赤く、遅延または不稔花粉は赤色が淡く、やや黄色を呈し、不稔性葯においては小孢子の残査が凝縮して赤色反応を示した。

II. <sup>14</sup>C トレーサー法によるマイクロオートラジオグラフィによる同化産物のとりこみの結果を Table 2 および Plate II, III に示した。花粉母細胞期(Plate II-A, B; III-A, B)のものもまた四分子期(Plate II-C, D; III-C,

**Table 2.** Distribution of <sup>14</sup>C-compound in anther tissue of fertile and male-sterile sugarbeets

		Developmental stage of anther			
		PMC	T	MS	P
PMC or Pollen	F	+	+	+	+
	S	+	+	±	-
Tapetum	F	+	+	+	-
	S	+	+	+	-
Anther wall	F	+	+	+	±
	S	+	+	+	±
Parenchyma	F	+	+	+	+
	S	+	+	+	±

Note: Symbols are the same as Table 1.

D) のものでも、稔性、不稔性とも葯組織のいずれの部分においても一様に銀粒子がみられ、 $^{14}\text{C}$  のとりこみについて、両稔性での差異は全く認められない。小孢子期 (Plate II-E, F; III-E, F) のものでは、稔性葯の小孢子は不稔性葯のそれに比較して多量の  $^{14}\text{C}$  のとりこみが観察された。不稔性葯ではこの時期にはすでにタペート細胞の異常肥大がみられるが、これらタペート細胞および肥大原形質塊には著しい  $^{14}\text{C}$  のとりこみが認められ、小孢子ではとりこみ量はきわめて少ない。花粉期 (Plate II-G, H; III-G, H) では、タペート細胞の消失した稔性葯では  $^{14}\text{C}$  の存在が認められるが、不稔性葯ではあまり明らかでない。

### 考 察

細川ら<sup>5)</sup> はさきにてん菜の葯組織における炭水化物の消長について、ヨードヨードカリによる澱粉反応とフェーリング反応による還元糖の反応によって観察を行なっているが、三染色法はこの結果をさらに補い、関連物質の消長をも併せて観察するために行なわれた。その結果 DNA では葯の発育段階いかにかわらず、稔性、不稔性間に明らかな差異が認められたとは言い難いが、不稔性のタペート細胞肥大期ではその行動は特異的で、異常肥大部には不整な集中が認められるが、仮柄状侵入体には認められない。すなわち核物質の分布は部分により著しく不同となる。また黄色の蛋白質の反応もその形成のはじめには特異な差異は認められないが、四分分子期以後では、稔性のものでは小孢子と蛋白質の反応は不稔性のそれと比較してやや大きい。小孢子期ではタペート細胞の蛋白質の反応は顕著となり、また不稔性のタペート細胞異常肥大大部分にもその反応は同様である。蛋白質代謝はアミノ酸代謝と軌を1つにするものであろうが、蛋白質構成アミノ酸であるプロリンの存否が稔性、不稔性に関連する実験結果<sup>2,5,6)</sup> から見れば、蛋白質代謝と関連してなんらかの因果関係のあることも推定される。多糖類の反応は、さきに述べた細川ら<sup>5)</sup> の観察結果と大体同じであるが、その赤色反応は小孢子より花粉において著しいのは炭水化物蓄積が経過的に認められ、その成長に炭水化物がなんらかの役割をになっていることも、葯壁におけるその消長と併せて考えられるところである。いままで述べたように稔性、不稔性と炭水化物の消長は関連することが知られたので、これらをさらに解析的に見る手掛りの1つとして  $^{14}\text{C}$  トレーサー法による実験を行なった。施設と材料との制約で実験は予備段階となったが、一応の傾向は把握できたものと思われた。すなわ

ち花粉母細胞期および四分分子期の葯では、稔性、不稔性とも  $^{14}\text{C}$  は多量に組織内にとりこまれ、その差は見られない。小孢子期のものでは、稔性葯の小孢子には  $^{14}\text{C}$  は多量に取り込まれているが、不稔性葯のそれではほとんど認められない。しかし不稔性葯のタペートの異常肥大大部分に多量のとりこみが見られるところから、炭水化物の小孢子への供給が、花粉の稔性、不稔性と関連していることがここでも前と同様に確かめられるものと思われる。このことは三染色法によるタペート細胞の蛋白質の反応と併せて考えて、小孢子への養分供給の阻害が不稔性を結果するという考えを支持する。また小孢子以後では不稔性葯でとりこみ量が少ないことは、生育時期による代謝活性の差もその一因であろう。葯のとりこみを経時的に追跡し、とりこまれたものがどのように利用されるかをさらに実験を進めたい。またこの研究では、組織の固定は FAA でおこない、アルコール処理の過程を通っているの、いろいろな可溶性の物質の溶脱が考えられるので、凍結切片により研究を進める必要がある。

### 摘 要

作物の細胞質雌性不稔現象についての植物生理学的な機作を明らかにする一助として、てん菜の細胞質雌性不稔系統 TA-1-MS とその O 型の TA-1-O を用いて、葯組織中の 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について組織化学的な調査をおこなった。

1. 三染色による DNA、多糖類および蛋白質のそれぞれの観察結果から、両稔性間には大きな差異は見出されなかったが、タペート細胞、異常肥大したタペート細胞および仮柄状侵入体は蛋白質の反応を示す黄色によく染色され、また不稔葯で多糖類の葯壁での残存性がみられた。

2.  $^{14}\text{C}$  トレーサー法による観察結果から、四分分子には両稔性の葯とも多量の  $^{14}\text{C}$  がとりこまれていたが、小孢子には不稔性葯のものでは  $^{14}\text{C}$  のとりこみが著しく少ない。小孢子期でタペート細胞に異常が観察されたか、 $^{14}\text{C}$  のとりこみは稔性のものと差異は認められない。

これらのことより、雌性不稔現象は葯壁から小孢子への養分の供給の段階において、タペート細胞の異常と関連して養分の移行が阻害されるためにおこるものと推定される。

### 参 考 文 献

- 1) ARTSCHWAGER, E. 1947. Pollen degeneration in male-sterile sugar beets, with special refer-

- ence to the tapetal plasmodium. Jour. Agr. Res. 75: 191-197.
- 2) FUKASAWA, H. 1954. On the free amino acids in the anthers of male sterile wheat and maize. Jap. Jour. Gent. 29: 135-137.
  - 3) HIMES, M. and L. MORIBER 1956. A triple stain for deoxyribonucleic acid, polysaccharides and proteins. Stain Technol. 31: 67-70.
  - 4) 細川定治・武田竹雄・大谷義雄・池端瑞子 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. 育種, 4: 196-202.
  - 5) ———・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. 育種, 13: 117-124.
  - 6) 中嶋 博・細川定治 1970. 作物の細胞質雄性不稔性に関する組織化学的研究 I. とうもろこし, およびソルガムの葯における炭水化物の消長とアミノ酸. 北大農邦紀 7: 201-208.
  - 7) 津屋 旭・百瀬郁光・服山公江 1966. オートラジオグラフィ実習. 日本放射性同位元素協会編. ラジオアイソトープ講義と実習, pp. 553-581, 丸善.

#### Summary

In order to clarify the common physiological causation responsible for the cytoplasmic male-sterility among various crops, the authors have been conducted the histochemical studies on the male-sterile plants in comparison with their normal ones.

Present paper described the results of the obser-

vation on sugarbeet, *Beta vulgaris* L., which inherit the male-sterility through the cytoplasm incorporation with chromogene.

Applying the histochemical method of the triple stain for DNA, polysaccharides and proteins, and the microautoradiography for photosynthetic products, the following results were obtained.

1) The reaction intensities of DNA, polysaccharides and proteins were approximately the same in both types of fertility. Normal tapetum, abnormal tapetum and pseudopodiumlike incursions were stained bright yellow, which indicates the presence of proteins. At mature pollen stage, reaction of polysaccharides in fertile lines completely disappeared. On the other hand, those of male-sterile line remained still in the endothecium.

2) Abundant  $^{14}\text{C}$ -compound were observed in the anther tissues of both lines at pollen tetrad stage. But at the microspore stage, little  $^{14}\text{C}$ -compound were observed in the microspore of male-sterile line. On the other hand, abundant  $^{14}\text{C}$ -compound were found in that of fertile line.

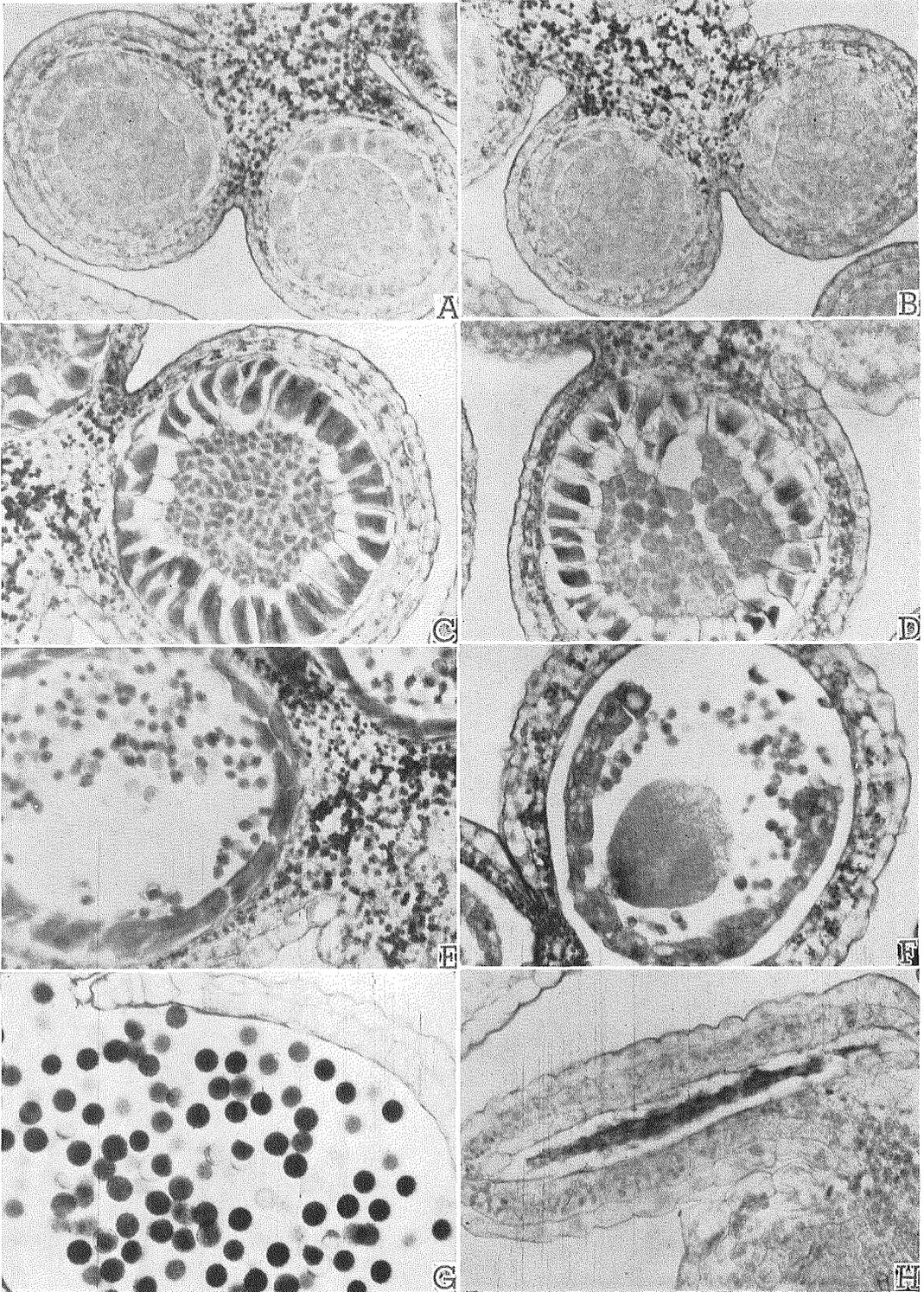
The amount of  $^{14}\text{C}$ -incorporation into normal tapetum, abnormal tapetum and pseudopodiumlike incursions were the same.

On the basis of such observations, one of the causes of male-sterility was presumed the insufficient supply of carbohydrates and other essential nutrients from the tapetum to microspore, which was connected with the abnormality of tapetum.

**Plate I**

Triple stained microphotograph of anther tissue in fertile and male-sterile sugarbeets.

- A. fertile; pollen mother cell stage
- B. male-sterile; *ibid.*
- C. fertile; pollen tetrad stage
- D. male-sterile: *ibid.*
- E. fertile; pollen microspore stage
- F. male-sterile; *ibid.*
- G. fertile; mature pollen stage
- H. male-sterile; *ibid.*

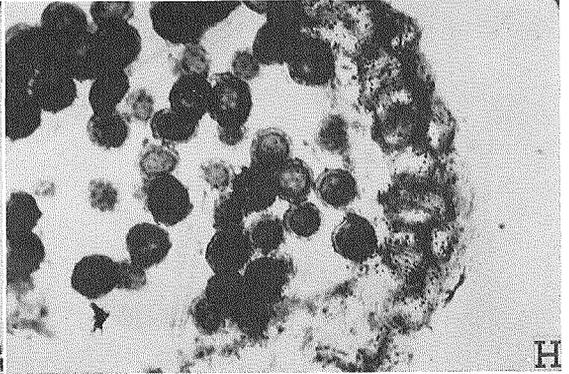
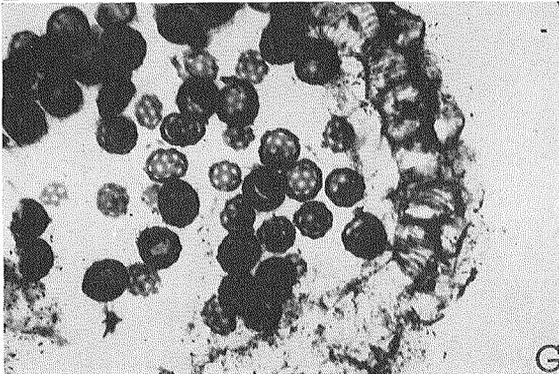
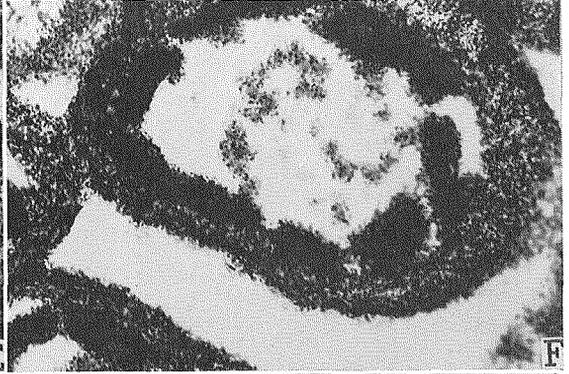
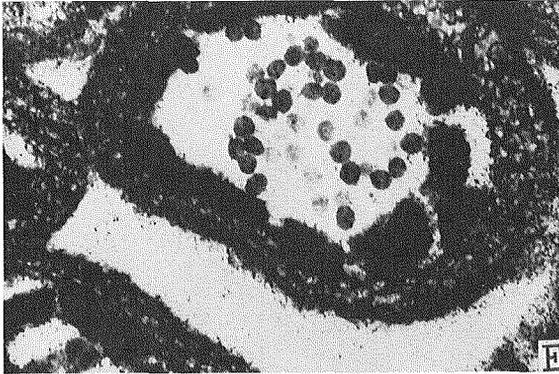
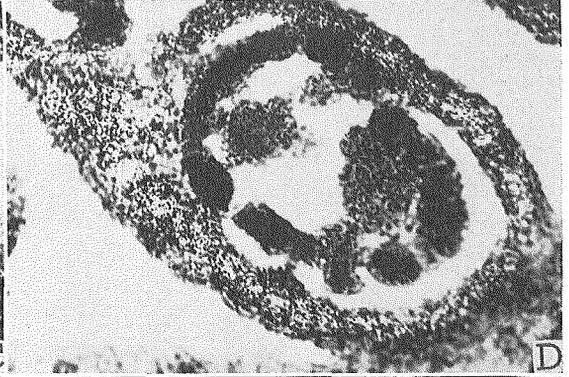
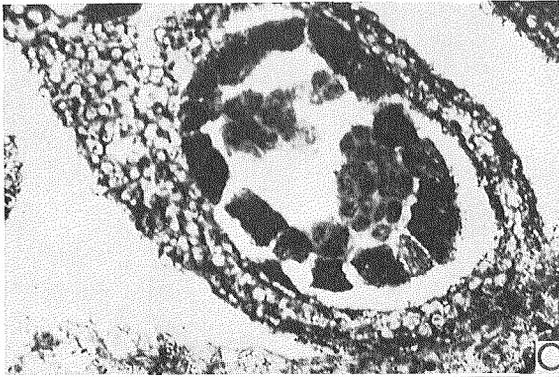
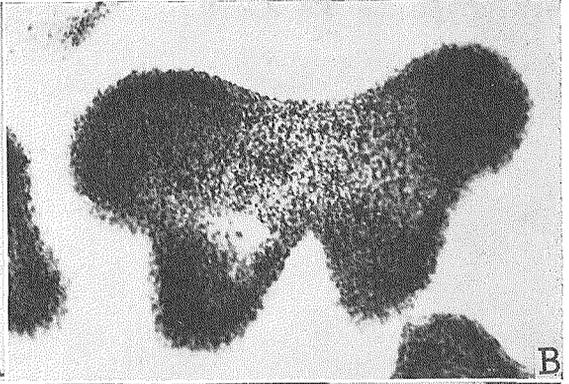
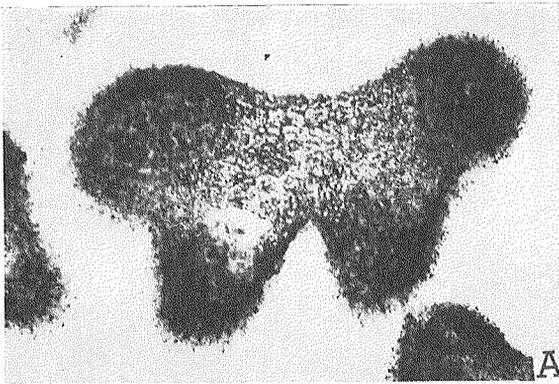


**Plate II**

Autoradiograph of anther tissue in sugarbeets. Anthers were labeled with  $^{14}\text{C}$  by photosynthesis.

Fertile Anther

- A. pollen mother cell stage; forcal level of tissue
- B. *ibid.*; forcal level of emulsion
- C. pollen tetrad stage; forcal level of tissue
- D. *ibid.*; forcal level of emulsion
- E. pollen microspore stage; forcal level of tissue
- F. *ibid.*; forcal level of emulsion
- G. mature pollen stage; forcal level of tissue
- H. *ibid.*; forcal level of emulsion



**Plate III**

Autoradiograph of anther tissue in sugarbeets. Anthers were labeled with  $^{14}\text{C}$  by photosynthesis.

Male-sterile Anther

Note: Symbols are the same as Plate II.

