

Coix 属の改良に関する育種学的研究 (III)

Coix 属及び Zea 属の花粉膜の表面構造について

村上道夫*・竹岡政治**

MICHIO MURAKAMI and MASAJI TAKEOKA : Studies on the breeding of genus *Coix*. III. On the surface structure of pollen membrane of genus *Coix* and *Zea*.

I 緒 言

Coix 属植物を改良して、諸種の不良環境条件に耐える優良な多年生の飼料作物を育成するという見地から、筆者村上は数年来育種試験を続行中である。すでにハトムギとジュズダマの交雑 F_1 植物がきわめて有望な育種素材となりうること、及び両者の異質四倍体植物もかなりの期待を持ちうることを報告した。(1958, '59)。しかしながら *Coix* 属の改良のためには、更に他の近縁植物の優良形質の導入という問題に発展せしめなければならない。このためには、同属間の異種の交雑と、近縁の異属間の交雑が考えられるが、*Coix* 属と最も近縁の属である *Zea* 属を交雑の対象としてとりあげたのである。MIMEUR, G (1951) は形態学的に *Coix* 属の分類を確立し、NIRODI, N (1955) は細胞学的に、*Coix* 属は *Maydeae* に属して *Zea* 属と近縁種であることを立証している。筆者等は更に重要な生殖器官である花粉について、電子顕微鏡によつて検討を加えたのである。本研究によれば、従来光学顕微鏡によつては到底明確になし得なかつた、*Coix*, *Zea* 両属の花粉の表面微細構造を明らかにすることができ、また両属花粉の間にきわめて高い類似性をみとめた。なお *Coix* 属内の雑種 F_1 及び4倍体花粉の表面構造も同時に観察し、2, 3の興味ある結果をえたので、ここに報告する。

電子顕微鏡による花粉膜の研究は、MÜHLETHALER, K. (1955) が花粉に直接 carbon を蒸着し、その carbon 膜を分離して観察した1例が報告されている。しかしながら、山崎・竹岡 (1957) 等は、この Carbon Replica 法の改良法として、林業試験場の原田、若島両技官が木材組織に応用した方法を花粉に適用することに成功した。両氏はこの Carbon Replica 法による電子顕微鏡的研究の結果、既に20科、30属、46種の樹

木花粉の膜面微細構造を明かにし、花粉分析による林木種属の分類上、きわめて興味ある事実を報告している (1957, '58, '59)。

本実験の遂行にあたり、筆者竹岡は主として replica の作成及び撮影を、村上はその観察及び光学顕微鏡による検討を担当した。なお実験にあたり、終始懇切なる指導と助言を賜つた、本学農学部山崎次男教授及び原田賢之教授に対し、衷心より謝意を表すると共に、電子顕微鏡の使用を許された鳥津製作所の研究部長、鳥津新一氏に対し併せて感謝の意を表する。

II 実験材料及び方法

本実験に供試した花粉は Table 1 に示す6種である。*Zea* 属1種、*Coix* 属5種はいずれも本学圃場に於いて育成中のものであり、各種類共、開花直後に飛散する新鮮花粉を採取し、不純物を除去して硫酸紙の袋に入れ、硫酸 desicator 中に保存したものである。供試材料の調整は下記の如き順序に従つて行つた。

1. 光学顕微鏡用の試料

- slide glass 上に少量の花粉をとり、Conc. HCl を一滴加え弱焰にて加熱し、HCl を蒸発する。
- 10% NaOH を一滴加え、同様弱焰にて加熱蒸発する。
- glycerine-gelatine を以て封入し、cover glass をかけ parafine で封緘して検鏡試料とする。

以上の薬品処理によつて、花粉粒の内容物は完全に分解溶出され、花粉膜のみ原形を保ち検鏡試料として好適となる。

2. 電子顕微鏡用の試料

- Methylmethacrylate 10 cc と Benzolperoxy-side 50mg を試験管にとり、80°C、10~13分で重合後、放冷して樹脂とする。
- 乾燥セルロイド板 (7×10mm) 上に樹脂を展開

* 京都府立大学農学部作物学・育種学研究室

** 同造林学研究室

Table 1 Materials

Family	Subfamily	Tribe	Genus	Species	2n	Notes
Gramineae	Panicoideae	Maydeae	Zea	<i>Z. Mays</i> L.	20	white dent corn
		"	Coix	<i>C. Ma-yuen</i> ROMAN	20	Hatomugi
		"	"	<i>C. Lacryma-Jobi</i> L.	20	Juzudama
		"	"	F ₁ (<i>C. Ma-yueu</i> × <i>C. Lacryma-Jobi</i>)	20	
		"	"	4x F ₁ (<i>C. Ma.</i> × <i>C. La.</i>)	40	
		"	"	4x <i>C. Ma-yuen</i> ROMAN	40	

し, 50°C で48時間乾燥する.

- c. 供試花粉粒を 50°C ~72時間で乾燥後, 上記樹脂板上に撒布し, 他の樹脂板上より sandwich したものを定温器中で 100°C ~1時間加温する.
- d. 次に室温迄放冷後, 樹脂上の花粉は 20% gelatine を塗布, 乾燥後剝離して除去し, 花粉の replica を得る.
- e. 真空蒸着装置を用いて chromium metal で shadowing し, 更に carbon 或いは aluminium を以て直上蒸着する.
- f. 蒸着後, carbon 或いは aluminium 薄膜を約 2 mm² に切断し, benzol : chloroform (1:1) 混合液中に浸漬して薄膜片を分離する.
- g. 分離した薄膜切片は, 更に上記の混合液中で 2

回 (20分及び10分) 洗滌する.

- h. sheet mesh (150 mesh, 径 1/8 inch) 上に薄膜をすくい上げ, 電子顕微鏡の観察に供した.
- i. 電子顕微鏡は SM-D4 型を使用し, 写真撮影には電子顕微鏡用乾板 KSK-2 型と, 一般写真用 process (hard) 乾板を使用した.

III 実験結果及び考察

1. 光学顕微鏡による観察結果

上述の花粉処理によつて光学顕微鏡用試料を作成し, その形状を観察した. Fig. 1 は Zea 属1種及び Coix 属5種の光顕像で, 一般の禾木科植物花粉の通則にしたがつて, いづれも単孔型花粉 aperturate に属

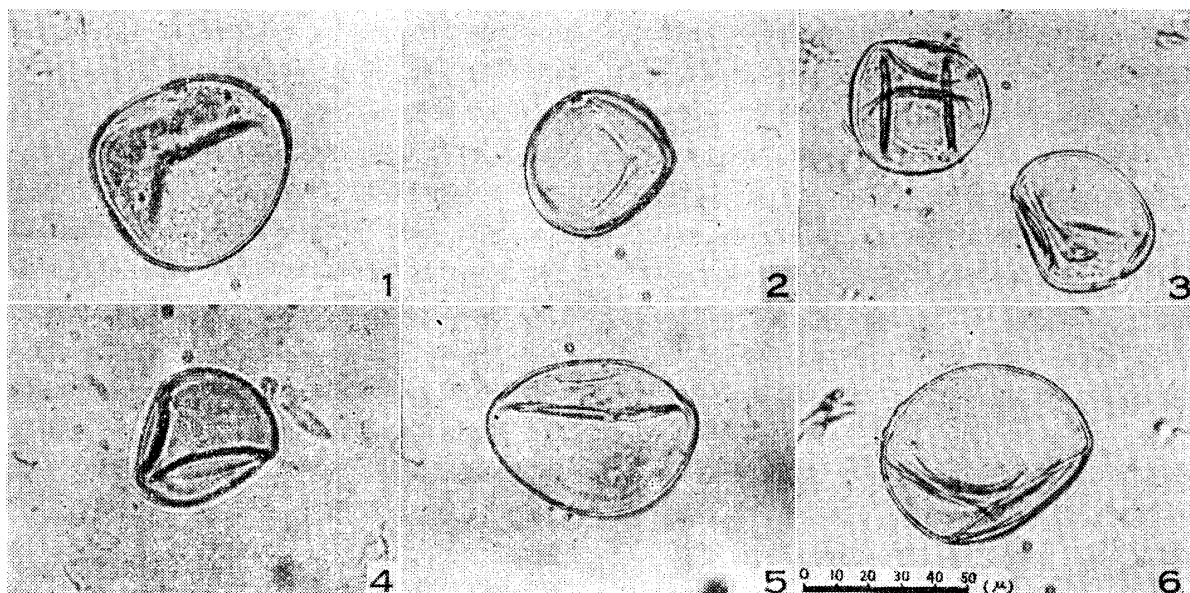


Fig. 1 Pollen under microscope.

1. Pollen of *Zea Mays* L.
2. " *Coix Ma-yuen* ROMAN
3. " *C. Lacryma-Jobi* L.
4. " F₁ (*C. Ma-yuen* × *C. Lacryma-Jobi*)
5. " 4xF₁ (*C. Ma-yuen* × *C. Lacryma-Jobi*)
6. " 4x *C. Ma-yuen*

し、唯1個の発芽孔を有している。花粉膜の構造は、最外層より *extexine*, *mesoexine*, *endoexine* 及び *intine* の4層に分かれているが、顕像に於いては前三者が一体となり、あたかも一層の如くに見え、*intine* はその *exine* の内側に明瞭に観察された。なお *exine* は薄く、逆に *intine* はきわめて厚いというのが禾木科植物の特長であるが、Fig. 1 の6種の顕像においても明瞭に認められた。また *exine* の表面には微

細な斑点があるが、各種間において顕著な差を認め得なかつた。

これらの花粉は試薬によつて殆ど壊裂することはないが、僅かに歪曲変形することがある。一般に花粉は乾燥した時は殆ど変形を起すことなく、吸水のため膨潤によつて、外形にやや拡大変形を来す場合がある。花粉粒の大きさは Table 2 に示す通りであるが、本実験処理の花粉は、各種とも一様にこれより少しく縮

Table 2 The size of pollen

Variety	Mean (μ)	Standard deviation (μ)
<i>Zea Mays</i>	89.27	± 5.57
<i>Coix Ma-yuen</i>	60.43	± 2.72
<i>C. Lacryma-Jobi</i>	62.49	± 3.18
F ₁ (<i>C. Ma-yuen</i> × <i>C. Lacryma-Jobi</i>)	65.16	± 3.35
4x F ₁ (<i>C. Ma.</i> × <i>C. La.</i>)	75.87	± 8.61
4x <i>C. Ma-yuen</i>	74.68	± 7.22

少していた。一般に四倍体花粉は二倍体花粉に比して大型化するのが通例である。またハトムギとジュズダマの F₁ 花粉は、両親の花粉の大きさと大差が認められなかつた。なお発芽孔上に独特の乳状突起物が認められることは、禾木科植物花粉の特長とする点であるが、顕像では明瞭にとらえることが出来ない。しかし沃度沃度カリで染色すれば、その位置のみは容易に確認しうる。

2. 電子顕微鏡による観察結果

上述の Carbon Replica 法によつて作成した試料の電顕像は Plate I 及び II に示した通りである。本実験に供試した *Zea* 属及び *Coix* 属各種の花粉粒の *extexine* は、いづれも全面にわたつて微細な刺状物 *spine* によつておほわれ、なお *spine* と *spine* との間は、極微の疣状の凸起によつてうづまつている。*spine* の高さはいづれも 0.1 μ 程度であり、*spine* 間にみられる小さい疣状凸起は更にその 1/10 程度である。

両属花粉の間には一見顕著な相違を発見することは出来ないが、詳細に比較すれば、トウモロコシの *spine* は、ハトムギ及びジュズダマの *spine* より小さい傾向がある。又 F₁, 4x F₁ 及び 4x ハトムギ等の膜面にみられる *spine* は、その尖端が前三者に比して鋭利でなく、*spine* 周辺の隆起もきわめて不規則である。四倍体花粉は二倍体に比して巨大化するが、*spine* の大きさには大差が認められない。要するに、*Coix* 属

及び *Zea* 属の花粉の膜面は、これまで顕像によつては、ほぼなめらかな表面を有するものと考えられていたのであるが、電顕像によつて、頗る複雑な表面微細構造を有することが明確になつた。なおこれは、禾木科植物に共通かつ独特のものであると考えるのであるが、今後更に他の多くの禾木科植物についても検討しなければならない。

つぎにトウモロコシ花粉の発芽帯は、Plate I~Fig. 1 のように、乳状突起の中心に *spine* をもつた隆起部が観察され、更にその *spine* 間に微細な疣状物がみられる。乳状突起の表面は殆ど平滑であるが多少のうねりがある。この様な発芽帯の表面構造は、顕像では到底解明し得ないところであつた。

ハトムギ及びジュズダマの花粉の発芽帯は Plate I~Fig. 3, 5 に示すように、平滑な乳状突起のみがみられ、すくなくとも本実験の結果においては、トウモロコシにあらわれる様な *spine* をもつ隆起部は全然観察されなかつたのである。しかしながら詳細にみれば、*Coix* 属の花粉においても、乳状突起の部分にごくわずかの *spine* が不規則に点在するのを認めた。

ハトムギとジュズダマの雑種 F₁ 花粉の発芽帯は、Plate II~Fig. 7 に示すように、トウモロコシ花粉にみられた *spine* をもつ隆起部が発達している。また四倍体 F₁ 及び四倍体ハトムギ花粉の発芽帯も Plate II~Fig. 9, 11 に示すように、F₁ と同様に *spine* をもつ隆起部の発達がみられる。かように両親植物に出現

しなかつた、発芽帯における乳状突起の隆起部が、その雑種及び四倍体にみられたことは興味ある現象である。

発芽帯の大きさは、トウモロコシは直径 8μ 前後、ハトムギ、ジュズダマ及びその F_1 は $5\sim 7\mu$ 、四倍体 *Coix* は $10\sim 13\mu$ と著しく大きくなっている。一般に四倍体花粉は二倍体花粉に比して、その粒径は増大するが、粒径の増大と共にその発芽孔径も著しく増大することが電顕像で明らかになった。発芽状態にある花粉の replica をとつていないため断定はし得ないが、恐らく四倍体花粉の発芽管は二倍体のそれに比しかなり太いであらうと思われる。更に発芽孔膜と表面をおおう膜は、光顕像においては全然別個の膜の如く観察されたが、電顕像によれば全く同一膜であることが判明した。山崎・竹岡 (1957, '58, '59) が現在迄に研究した樹木20科, 30属, 46種の花粉の表面構造に関して、次の如き考察を下している。即ち同一属内の種の異同を判定するには、更に花粉膜の section を作成して観察することが必要であり、この点に関しては、将来更に研究の余地がある。これに対し異なる属の間には明らかな差異を認めている。即ち異属の花粉の *extexine* は種々の点で相違し、属間の近縁性が離れるに従つてその程度は大きくなる。従つて逆に属を異にする2種類の植物の *extexine* の構造がきわめて類似しておれば、その両属の類縁関係は近いものと考えてよいであらう。以上の観点より本実験の結果を考察すれば、*Coix* 属と *Zea* 属の花粉膜表面の微細構造は殆ど類似していて、その間に顕著な差異を認め得ない。*Coix* 属は従来より *Zea* 属と近縁種であるとされていたが、本実験の結果からも両属の近縁性がきわめて大きいことを知り得た。

今後 *Coix* 属を改良して有用な飼料作物を育成せんとする場合、近縁植物の優良形質を積極的に導入することは、最も効果のある育種法であると思われる。而もここに *Coix* 属の近縁植物として、最近青刈飼料作物としての利用度が急速に高まつて来た *Zea* 属のトウモロコシが存在することは、*Coix* 属の改良に極めて明るい希望をいだかせるものであり、当然両属間の交雑及び優良形質の固定の操作が開始されなければならない。

なお花粉膜表面の微細構造の Carbon Replica 法による観察は、農作物については初めての試みであつて他にその例をみない。従つて今後他の多くの作物に対してこの方法が適用されるならば、更に興味ある事実が判明し、その近縁関係に関する推論も、より確実性を増すであらう。また本実験と関連して、*Coix* 属及び *Zea* 属を有するトウモロコシ連 *Maydeae* と分類学上

近接しているカルカヤ連 *Andropogoneae*、シバ連 *Zoysieae* 及びキビ連 *Panicaceae* 等に含まれる多くの植物の花粉構造の研究、また一方稲麦等の主要作物においても将来観察が進められるならば、主として生殖器管の構造による現在の分類学上の位置との間の関係が明らかとなり、進んで交雑親和性を推論する一手段にも利用しうるのではないかと思われる。

IV 摘 要

筆者らは現在改良試験を実施中である *Coix* 属のハトムギ、ジュズダマ及びその F_1 雑種、更にその四倍体植物の花粉を、*Zea* 属のトウモロコシ花粉と共に薬品処理による花粉膜の光学顕微鏡的観察と、Carbon Replica 法の適用による花粉膜の表面微細構造の電子顕微鏡的観察を行い、両者の比較を行った。

1. 光学顕微鏡的観察 光顕像においては、供試植物の花粉の間には、花粉粒の大きさ以外に形態学的差異は観察されなかつた。発芽孔は一つであり、花粉膜は *extine* が薄く *intine* が厚く観察された。また発芽帯周辺は一般に厚膜であり、花粉の変形、壊裂は極の方に多い。発芽帯には乳状突起が観察された。

2. 電子顕微鏡的観察 電顕像による花粉の *extexine* の微細構造は、供試花粉ではいずれも微細な *spine* によつておおわれ、各種間に明らかな差は認められない。ただ *Coix*、*Zea* 両属間には *spine* の大きさにおいて、*Coix* 属内の各種間には形状においてやや差が認められるようである。発芽帯の状態は、トウモロコシでは乳状突起の中心に、*spine* をもつ隆起部が発達し、ハトムギ及びジュズダマでは共にこの隆起部はなく、わづかなうねりをもち、なお乳状突起には不規則に少数の *spine* が点在していた。しかし、この *spine* をもつ隆起部は、 F_1 及び四倍体植物においては著しく発達していた。発芽帯の孔径は、四倍体は二倍体に比して著しく大きかつた。一般に *Coix* 属と *Zea* 属の花粉表面構造の間には、きわめて高度の類似性が認められた。

引用文献

1. ERDTMAN, G. (1952) : Pollen morphology and plant taxonomy. Stockholm : Almqvist and Wiksell.
2. _____ (1954) : An introduction to pollen analysis. Stockholm : Almqvist and Wiksell.
3. 幾瀬マサ (1956) : 日本植物の花粉. 広川書店.
4. 村上道夫・原田賢之 (1958) : 西京大学報・農, 10. 111~120.

5. _____ (1959) : 京都府大学報・農, 11. 1~9.
6. MÜHLETHALER, K. (1955) : Planta, 46. 1~13.
7. WODEHOUSE, R. P. (1935) : Pollen grains. New York and London.
8. 山崎次男・竹岡政治 (1957) : 日林誌, 39. 427~434.
9. _____ (1958) : 日林誌, 40. 7~11.
10. _____ (1958) : 日林誌, 40. 154~159.
11. _____ (1958) : 西京大学報・農, 10. 28~32.
12. _____ (1959) : 日林誌, 41. 125~129.
13. _____ (1959) : 京都府大学報・農, 11. 86~90.

Explanation of the plates

Plate I.

- Fig. 1 Lateral view of *Zea Mays* pollen (right side showing germinal zone)
- Fig. 2 " (surface only)
- Fig. 3 Distal face of *Coix Ma-Yuen* pollen (central part showing germ pore)
- Fig. 4 " (surface only)
- Fig. 5 Distal face of *Coix Lacryma-Jobi* pollen (central part showing germ pore)
- Fig. 6 " (surface only)

Plate II.

- Fig. 7 Distal face of F_1 (*C. Ma-Yuen* × *C. Lacryma-Jobi*) pollen. (central part showing germ pore)
- Fig. 8 " (surface only)
- Fig. 9 Lateral view of $4x F_1$ (*C. Ma-Yuen* × *C. Lacryma-Jobi*) pollen. (central part showing germ pore)
- Fig. 10 " (surface only)
- Fig. 11 Distal face of $4x$ *Coix Ma-Yuen* pollen (central part showing germ pore)
- Fig. 12 " (surface only)

Summary

The morphology of pollen is investigated as a main section of palynology. In the present time the studies on the surface structure of pollen are paid special attention to make progress of the pollen analysis.

The present paper deals with the results of microscopic and electromicroscopic investigations on the surface structure of the pollen membrane. The materials used in this studies are the pollen of *Zea mays*, *Coix Ma-Yuen*, *C. Lacryma-Jobi*, F_1 plant (*C. Ma-Yuen* × *C. Lacryma-Jobi*), $4x F_1$ plant and $4x C. Ma-Yuen$. The pollen used in the microscopic observation was treated by HCl and NaOH previously and electromicroscopic observation was based on the carbon replica method.

1. Microscopic observation : The morphological difference of pollens between the material plants was not recognized except the diameter of these pollen grains. The pollen of *Zea* and *Coix* plant

are apurate pollen similarly other gramineae plants. The extine of pollen membrane was thin but the intine was observed very thickly. These pollens have thick membrane around a germinal zone, for that reason the transformation and the bursting of pollen occurs near the pole of pollen. In germ pore of pollen grain the papilla was observed slightly.

2. Electromicroscopic observation : According to electromicroscopic observation, the extine of pollen membrane was covered with fine spinules, there were no significant differences between the material plants on the surface structure of the pollen membrane. It is, however, obviously to the slight difference were recognized in the size of spine between the genus *Coix* and *Zea*, and in the shape of spine between the each plants in genus *Coix*. In the state of germ pore, there are fairly different between the material plants. In the germ pore of *Zea* pollen, the protrusion

with fine spinules was well-developed in the central part of papilla, on the contrary, in the *Coix Ma-Yuen* and *C. Lacryma-Jobi* a few spines are dotted irregularly on the whole surface of slight concaved papilla. The protrusion with fine spinules was not found in the other pollen of *C. Ma-Yuen* and *C. Lacryma-Jobi*. But the protrusion was well-developed in the pollen of F₁ plant, 4x F₁

plant and 4x *C. Ma-Yuen*. The diameter of germ pore of 4x *Coix* pollen was larger as compared with that of 2x *Coix* pollen. As the results of these experiment it was revealed generally that the similarity between the surface structure of pollen membrane of genus *Coix* and *Zea* was very closely.

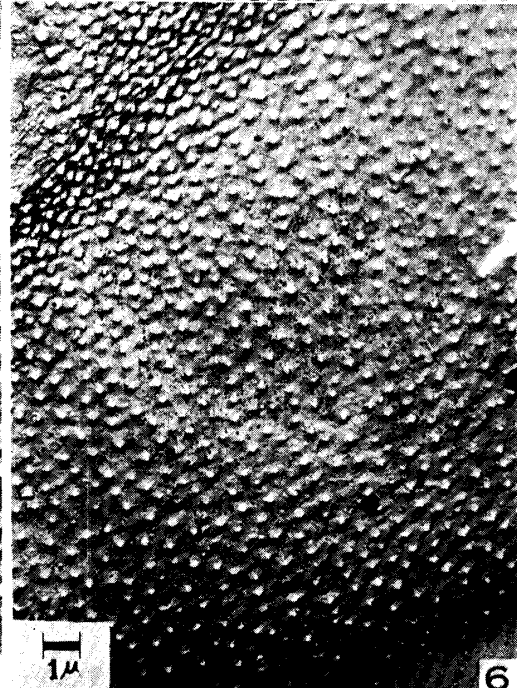
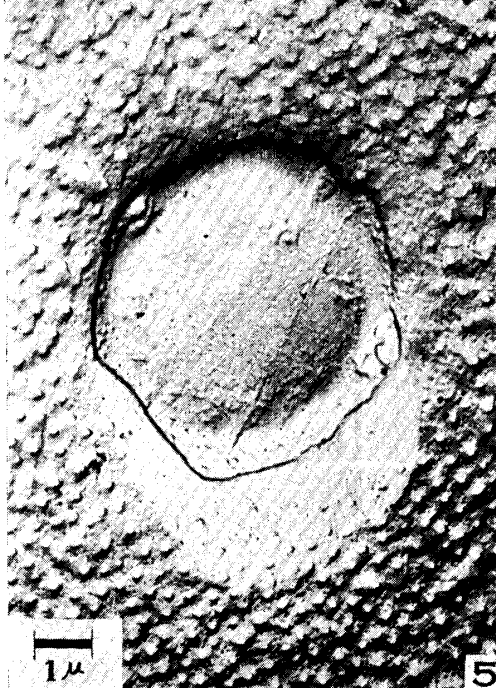
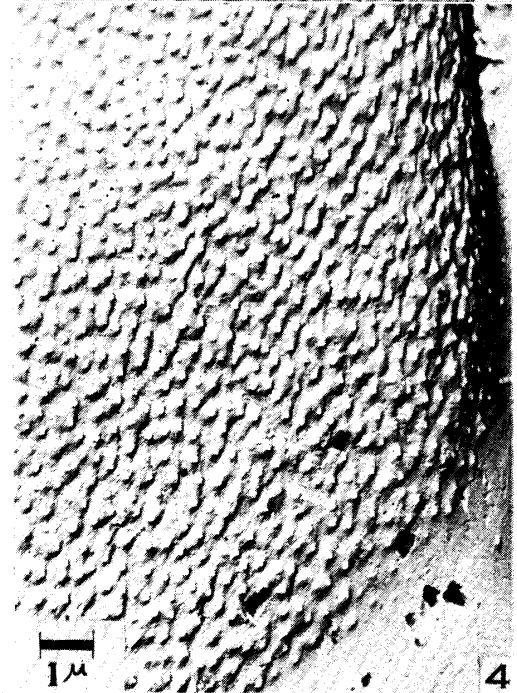
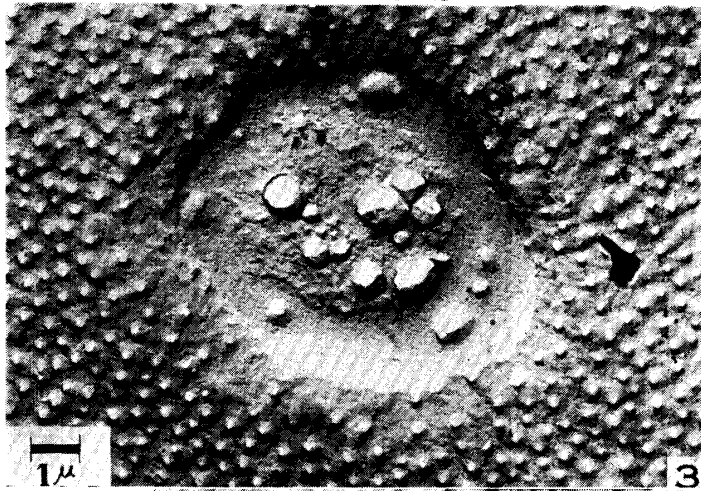
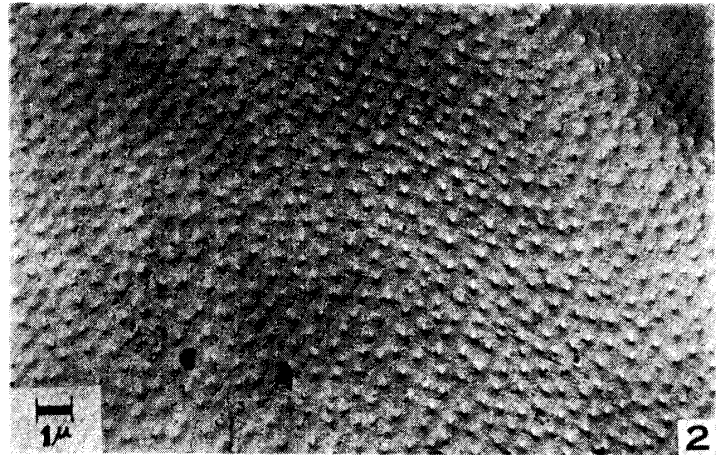
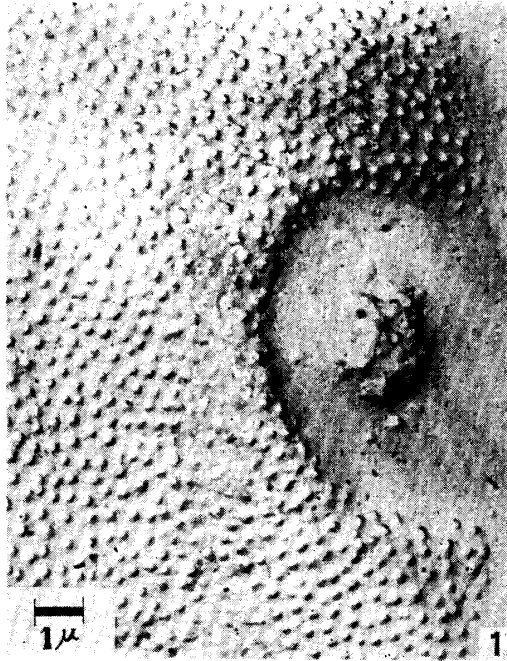


Plate II

