

カラマツの胚のう母細胞減数分裂の時期

横 山 敏 孝⁽¹⁾Toshitaka YOKOYAMA: The Time of Meiosis of Megaspore
Mother Cell in *Larix leptolepis* (SIEB. et Zucc.) GORDON

要 旨: カラマツ (*Larix leptolepis*) の胚のう母細胞 (大胞子母細胞) の減数分裂を観察した。胚のう母細胞は秋 (10月上旬) には形成されるが、減数分裂は翌春になって、開花の直前から開始し、開花の中期 (受粉の適期のころ) に第Ⅰ分裂中期に達し、開花の後期には胚のう (大胞子) がつくられる。減数分裂の期間は、長野県・浅間山山麓の海拔 1,000m 付近 (関東林木育種場長野支場) では、1964年には3月下旬~4月下旬、1965年には4月上旬~5月中旬のころであった。第Ⅰ分裂の中期は1964年には4月中旬、1965年には4月下旬~5月上旬にみられた。

は じ め に

カラマツ (*L. leptolepis*) の花芽分化から開花期までの発育経過については柳原 (1960)¹²⁾、橋詰・今井 (1966)⁹⁾ の報告がある。しかし、雌花芽の胚のう母細胞 (大胞子母細胞) の減数分裂・胚のう (大胞子) の形成については明らかにされていない。胚のう母細胞の形成やその減数分裂については、シベリアカラマツ、ヨーロッパカラマツなどで、JUEL (1900)⁷⁾、SAXTON (1930)¹³⁾、COULTER and CHAMBERLAIN (1917)⁸⁾ などが記載しているが、減数分裂の時期については必ずしも明らかではない。

この報告は、雌花芽の発育のどの段階で胚のう母細胞の減数分裂が行なわれるかを、カラマツについて、明らかにしようとするものである。交雑育種を進めるため、あるいはタネの稔性を高めるための基礎として、カラマツの有性生殖についての理解を深めていくうえでのひとつの資料にしたいと考える。

材 料 と 方 法

観察したカラマツ (*L. leptolepis*) の雌花は関東林木育種場長野支場構内の採種園で1964年4~5月と1964年8月~1965年5月に採取されたものである。

採取した雌花はすぐに FAA 液で固定し、パラフィン包埋によって厚さ 12~15 μ の連続切片をつくり、サフラニンとファーストグリーンで2重染色したのち顕微鏡で観察した。

結 果

筆者の観察した材料では、9月上旬になると種鱗の原基の形成が見られた。10月上旬になると、種鱗の原基のなかの特定の位置にあるひとつの細胞が、他の細胞にくらべて大型となりはじめる。この位置は、雌花芽の縦断切片では、種鱗の原基の先端から計って全長のおよそ 1/3 (苞鱗の基部に近いほうからの距離)、表面から2~3細胞おいたところである。この細胞が胚のう母細胞と考えられる。このころに

1973年1月21日受理

(1) 造林部

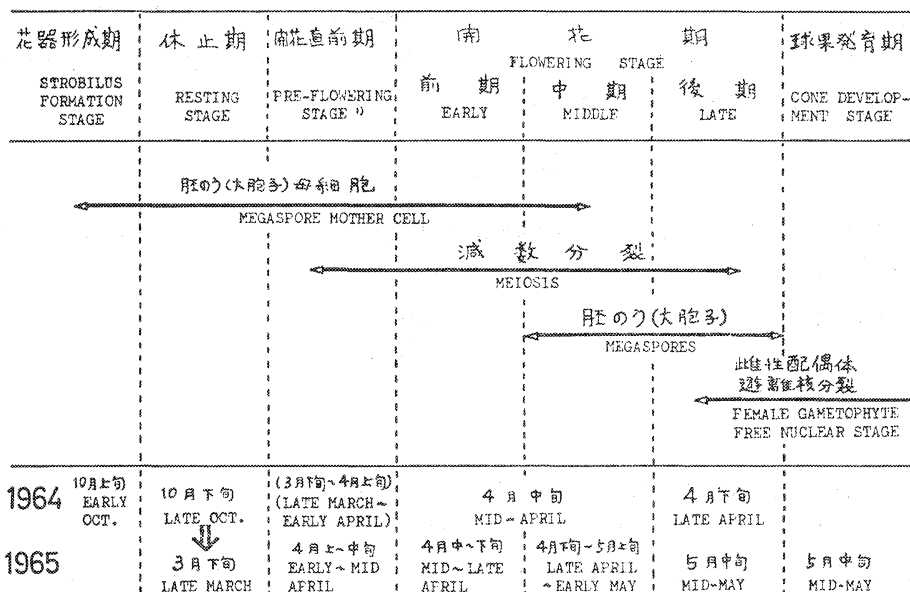
は、まだ、苞鱗、種鱗の原基では細胞の分裂が観察される。その後、休止期に入り、開花の直前まで形態的な変化はみられない (Plate 2)。

開花の直前になると、苞鱗、種鱗の原基などで細胞分裂が再開し、このころから胚のう母細胞は急激に発育をはじめ、やがて、減数分裂の前期の像が見られてくる。開花直前の時期は、1965年では4月上～中旬であり、1964年ではおそらく3月下旬～4月上旬であろう (Plate 3)。

種鱗の原基は発育をはじめ、その基部の向軸側では珠皮が分化し、胚のう母細胞の存在する部分を包みこみ、胚珠が形成されていく。開花の前期のあいだに、胚のう母細胞は、分化した珠心のなかでは、もとの種鱗の原基の表面とのあいだの細胞数がおよそ2倍になることによって、中央部に位置するようになる。しかし、珠心先端から胚のう母細胞までの細胞数にはあまり大きな変化はない (Plate 5A)。

減数分裂の第Ⅰ分裂中期の像が観察されるのは開花の中期、つまり受粉の最適期¹³⁾のころである。この期間には、早いものでは減数分裂を終了して直線状に並んだ3～4個の細胞(大孢子)がみられ、遅いものでは第Ⅰ分裂前期のものもある。減数分裂の進行は個体や雌花によってちがひ、ひとつの雌花中の胚珠でも同時にすすむものではないようにみえる。この時期は1964年では4月中旬、1965年では4月下旬～5月上旬であった (Plate 4)。

第Ⅰ分裂によって2個の娘細胞に分かれたのち、珠孔から遠い側の娘細胞だけが第Ⅱ分裂を行なうために、3個の細胞(大孢子)が形成される場合がよく観察された。4個の細胞(大孢子)が観察されることは、むしろ、まれであった。第Ⅰ、第Ⅱ分裂とも細胞の分裂は不均等分裂であり、珠孔に近いほうの娘細胞は小さくなるようである。珠孔からもっとも遠い位置にある1個の娘細胞(大孢子)だけが発育し、胚のうとしての機能をもつようになる。残りの2～3個の娘細胞(大孢子)はやがて消失する。第Ⅰ分裂で



1) Buds resumes somatic cell division but not bursting.

Fig. 1 胚のう(大孢子)母細胞の減数分裂の時期
The time of meiosis of megaspore mother cells in *Larix leptolepis*.

分かれた娘細胞のほうが遅くまで存在しているのがみられた (Plate 4, Plate 5 B)。

開花の後期には、珠孔からもっとも遠い位置にある1個の胚のう細胞は急激に増大し、雌性配偶体を形成するための遊離核の分裂を開始する。この時期は1964年では4月下旬、1965年では5月中旬であった (Plate 6)。

開花直前になって胚のう母細胞が発育を始めるころから、そのまわりのほぼ一層の細胞が珠心内の他の細胞にくらべて、やや大型になってくる。これらの細胞層は、はじめは区別しにくい、胚のうの遊離核分裂のころには明りようになってくる。珠孔から遠い側のほうが幅広く分化する (Plate 4 C, Plate 6 B)。

考 察

柳原 (1960)¹²⁾ の報告によると、冬芽の縦断面を観察することによって、花芽と葉芽とを区別できるようになるのは長野県下では7月上旬～下旬である。また、時期別に環状剥皮を行なってその効果から花芽分化期を推定する方法によると、6月下旬～7月上旬に花芽が分化するらしい。

橋詰・今井 (1966)⁹⁾ は花芽の発育経過について次のように記載している。花芽の分化後しばらくして雄花芽と雌花芽とに分化する。この時期は長野県下では8月上旬～9月下旬である。雌花芽では、8月中旬から苞鱗が分化をはじめ、9月下旬～10月上旬にかけて種鱗の原基が形成される。この間に急速な成長がみられ「花軸」の長さが2,000 μ くらいになる。その後、成長は停止して「種鱗形成期」のままで越冬し、翌年の3月下旬～4月上旬にふたたび成長を開始する。この時期に、「種鱗の上側基部に胚珠の原基が分化し」、開花期(4月中～下旬)に苞鱗、種鱗、「花軸」は急激に伸長し著しく大きくなる。胚珠は開花の直前に珠皮と珠心とに分化する。珠心の内部は胞原組織であって、中心部の細胞はやや丸味をおびた大きい胞原細胞であり、この胞原細胞が開花期の終りころに胚のう母細胞に発達するようである、以上のように述べている。

筆者が長野県下で採取した雌花芽について観察したところによると、胚のう母細胞は10月上旬ころから認められる。その後、あまり発育せずに休止期に入り、翌春の開花直前になって急激に成長を始め、減数分裂を開始する。開花の後期には胚のう(大孢子)が形成され、遊離核の分裂が始まる。つまり、秋の終り、休止期に入る前にすでに胚のう母細胞が形態的に判別できる。苞鱗の向軸側の基部にある形態的に未分化の細胞の集団(橋詰・今井⁹⁾ はこれを「種鱗の原基」と呼び、珠心は未分化だと考えている)のなかのひとつの細胞が、そのまわりの細胞に比べて大きくなっていくことによって胚のう母細胞として区別できる。明りような胞原組織があり、そのなかの胞原細胞が胚のう母細胞に発達するのではないと思われる。

休止期前にまわりの細胞と区別できるひとつの大型の細胞を胞原細胞と呼ぶならば、胞原細胞は分裂を行わずに直接、胚のう母細胞に発育するといえる。しかし、この報告では、あえて胞原細胞と胚のう母細胞とを区別する必要はないと考えるので、形態的に他の細胞と区別できはじめた時点から胚のう母細胞と呼んでいる。

SAXTON (1930)¹¹⁾ は、ヨーロッパカラマツについて観察して、胚のう母細胞は未分化の珠心から直接に“picked out”され、a recognizable hypodermal archesporium から生じるのではないとしている。

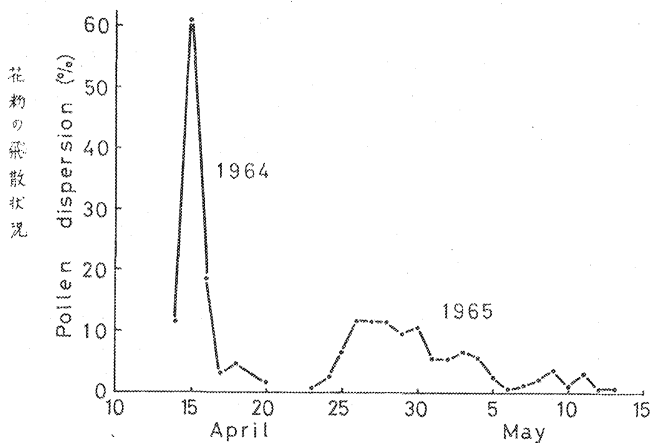
COULTER (1917)⁸⁾ も同様の考えかたを示している。

胚のう母細胞は、ヨーロッパカラマツでは、9月24日には観察されるようになり (SAXTON, 1930¹¹⁾)、

シベリアカラマツでも春に芽の開いたときにはかなり発育している (JUEL, 1900⁷⁾) ことが報告されている。橋詰・今井 (1966)⁶⁾ は「胞原細胞」が分化する時期を明記していないが珠心分化後と考えているようである。この時期は開花直前 (4月中旬ころ) であり、さらに「胚のう母細胞に発達する」のは開花期の終りごろであることを示唆している。筆者の観察した材料は偶然に橋詰・今井 (1966)⁶⁾ と同じく 1964～1965年に長野県下で採取したものである。採取場所による発育の差があるとしても橋詰・今井 (1966)⁶⁾ の示した時期は遅すぎようである。開花期の終りにはすでに胚のう母細胞は減数分裂を終え、胚のうが成長を開始している時期であった。

開花期の直前に胚のう母細胞が大きくなってくるとともに、そのまわりには、胚のう母細胞に栄養を供給すると考えられている細胞層がはっきりしてくる。この部分は、海绵状組織 (Spongy tissue) と呼ばれている。この部分は雌性配偶体形成期にはさらに発達し、明りょうになる。

胚のう母細胞の減数分裂によってできる娘細胞 (大孢子) は、3個あるいは4個が直線状に並んでいるが4個の場合のほうが少なかった。JUEL (1900)⁷⁾ はシベリアカラマツで4個の大孢子を、SAXTON (1930)¹¹⁾ はヨーロッパカラマツで3～4個を、また COULTER (1917)⁸⁾ は4個が普通でときどき3個の場合があることを報告している。3個の大孢子が見られる場合は、珠孔側の娘細胞が第Ⅱ分裂を行わないことによって起こる。胚のうに発達するのは珠孔からもっとも遠い位置にある娘細胞 (大孢子) である。第Ⅰ、第Ⅱ分裂とも均等な大きさの娘細胞に分かれるのではなく、どちらの場合にも珠孔から遠い側の方が大きい。



調査期間内に 1cm² のスライドガラスに付着した花粉粒総数に対する毎日の花粉粒数を % で示した。

関東林木育種場長野支場採種園での調査。

Percentage of daily pollen grains per total pollen grains trapped during the flowering period in the seed orchard.

Fig. 2 1964年と1965年におけるカラマツ花粉の
飛散状況調査 (百瀬, 1966)
Pollen dispersion in 1964 and 1965.

Table 1. 月 平 均 気 温
Monthly mean temperature (°C) at Nagano Branch,
Kanto Forest Tree Breed. Sta., Komoro, Nagano.

	AUG.	SEPT.	OCT.	NOV.	DEC.	JAN.	FEB.	MARCH	APRIL	MAY
1963 ~ 1964	22.1	15.7	11.3	6.5	2.1	- 1.4	- 4.1	0.6	13.0	14.5
1964 ~ 1965	23.7	17.6	11.0	5.6	2.1	- 1.6	- 0.9	- 0.3	6.2	14.2
1961 ~ 1968 (Mean)	22.9	17.7	11.7	6.6	1.3	2.4	3.2	1.7	9.2	14.3

関東林木育種場長野支場・業務記録 (1969) から抜粋。採種園近くの構内で測定された。

1965 年は前年にくらべると減数分裂の時期が遅れており、第 I 分裂中期に達するのは 2~3 週間おそい。この年には、花粉の飛散も同様に遅れている (百瀬, 1966)⁸⁾ (Fig. 2)。これらは春 (3~4 月) に低温が続いたことの影響であるらしい (Table 1)。

カラマツ属の花粉の形成については細胞学的にくわしく調べられている。カラマツ、シベリアカラマツ、ヨーロッパカラマツ、*L. occidentalis* いずれにおいても、花粉母細胞の減数分裂は秋に開始し、前期の途中で一時休止し、翌春になって減数分裂を終了することが知られている (EKBERG, ERIKSSON and ŠULÍKOVÁ, 1968⁵⁾, EKBERG and ERIKSSON, 1967⁴⁾, SAXTON, 1929¹⁰⁾, OWENS and MOLDER, 1971⁹⁾, 橋詰・今井, 1966⁶⁾)。 *L. laricina* とヨーロッパカラマツでは早春に減数分裂が始まるという報告もあるが¹¹⁾²⁾, これらは, EKBERG *et al.* (1968)⁵⁾ によると, diffuse diplotene を見落としたものだろうという。カラマツは, 長野県下では, 橋詰・今井 (1966)⁶⁾ によると大糸期で越冬するが, EKBERG *et al.* (1968)⁵⁾ は, スウェーデンでは, 複糸期での休止が多いことを観察している。また, 秋のうちに第 II 分裂終期に達する場合があることや, 冬の間にも複糸期以降のステージに進み得ることを明らかにしている。筆者の観察した胚のう母細胞では, 減数分裂はすべて開花直前に開始しており, 花粉母細胞でみられる, 減数分裂の途中で休止するという現象は見られなかった。

この研究にあたって終始懇篤な指導を与えられた浅川澄彦博士に対してもここに謹んで感謝の意を表する。実験材料は, 当時の関東林木育種場長野支場経営課長百瀬行男氏に採取していただいた。顕微鏡による観察と写真撮影について, 造林部遺伝育種第二研究室の染郷正孝技官にかずかずの貴重な示唆を受けた。心からお礼申し上げる。

文 献

- 1) CHANDLER, C. and S. MAVRODINEANU : Meiosis in *Larix laricina* Koch. Contrib. Borce Thompson Inst. **23**, 67~76, (1965)
- 2) CHRISTIANSEN, H. : On the effect of low temperature on meiosis and pollen fertility in *Larix decidua* MILL. Silvae Genet., **9**, 72~78, (1960)
- 3) COULTER, J. E. and C. J. CHAMBERLAIN : Morphology of gymnosperms. Univ. Chicago Press, Illinois, U. S. A., (1917)
- 4) EKBERG, I. and G. ERIKSSON : Development and fertility of pollen in three species of *Larix*. Hereditas, **57**, 303~310, (1967)
- 5) EKBERG, I. and G. ERIKSSON and Z. ŠULÍKOVÁ : Meiosis and pollen formation in *Larix*. Hereditas, **59**, 428~438, (1968)
- 6) 橋詰隼人・今井元政 : カラマツ花芽の発育経過について, 日林誌, **48**, 425~35, (1966)
- 7) JUEL, H. O. : Beiträge zur Kenntniss der Tetradentheilung. Jahrb. Wiss. Bot., **35**, 626~59, (1900)
- 8) 百瀬行男 : カラマツをみてやろう (21) 花粉のひ散期, 長野林友, **5**, 末頁 2~5, (1966)
- 9) OWENS, J. N. and M. MOLDER : Meiosis in conifers : prolonged pachytene and diffuse diplotene stage. Can. J. Bot., **49**, 2061~2064, (1971)
- 10) SAXTON, W. T. : Notes on Conifers. II. Some points in the morphology of *Larix europaea* DC. Ann. Bot., **43**, 609~613, (1929)
- 11) SAXTON, W. T. : Notes on conifers. III. Further points in the morphology of *Larix europaea* DC. Ann. Bot., **44**, 161~165, (1930)

- 12) 柳原利夫：カラマツの花芽分化期と結実の豊凶について，北海道の林木育種，3，7～14，(1960)
13) 横山敏孝・金子富吉・伊藤昌司・山崎 忍・浅川澄彦：カラマツの受粉適期と受粉回数，林試研報，253，39～53，(1973)

図 版 説 明

Explanation of plates

Plate 1

- A. 芽鱗にかこまれた雌花芽の縦断面の一部分。苞鱗 (b) が形成されており，その向軸側の基部に未分化の組織 (種鱗の原基) がある。
1964年9月4日 ×110.
A part of the longitudinal section of a ovulate strobilus bud. Bracts (b) have been formed and a undifferentiated humplike structure, called ovuliferous scale, is recognized in the axil of the bract. Sept. 4, 1964. ×110.
- B. Aの一部分を拡大して示した。胚のう母細胞はまだ判別できない。
1964年9月4日 ×390.
Enlarged view of the axial part of the bract shown in A. The megaspore mother cell is not recognized. ×390.
- C. 雌花芽の縦断面。胚のう母細胞が判別されはじめてまもなく，休止期に入ったばかりの時期である。b：苞鱗。
1964年10月25日 ×71.
Longitudinal section of a ovulate strobilus bud, which has just been rested soon after the megaspore mother cell differentiated. b: bract Oct. 25, 1964. ×71.

Plate 2

- A. 苞鱗 (b) の向軸側の基部にある種鱗の原基のなかに胚のう母細胞 (m) が認められる。
1964年10月25日 ×560.
The megaspore mother cell (m) has been differentiated in the humplike structure in the axil of the bract (b). Oct. 25, 1964. ×560.
- B. 雌花芽の縦断面の一部分。胚のう母細胞 (m) の位置を示す。b：苞鱗。
1965年3月18日 ×220.
A part of the longitudinal section of a ovulate strobilus bud showing the position of the megaspore mother cell (m). b: bract March 18, 1965. ×220.
- C. Bの一部分の拡大。胚のう母細胞は明りょうであるが減数分裂は開始していない。
1965年3月18日 ×1,090.
Enlarged view of the megaspore mother cell shown in B, before meiosis begins. ×1,090

Plate 3

- A. 減数分裂前期の早い時期の胚のう母細胞。開花直前に多くみられる。
1965年4月26日 ×910.
The megaspore mother cell at the early prophase stage of meiosis. Meiosis starts just before flowering. April 26, 1965. ×910.
- B. 減数分裂前期 (大糸期)
1964年4月15日 ×1,100.
The megaspore mother cell at the pachytene stage of meiosis. April 15, 1964. ×1,100.
- C. 減数分裂前期 (複糸期)
1965年5月11日 ×1,080.
The megaspore mother cell at the diplotene stage of meiosis. May 11, 1965. ×1,080.
- D. 減数分裂前期 (複糸期の後期)

1964年4月12日 ×1,100.

The megaspore mother cell at the late diplotene stage of meiosis.

April 12, 1964. ×1,100.

Plate 4

- A. 減数分裂の第Ⅰ分裂中期。開花中期のころに多くみられる。核分裂は珠孔側にかたよった位置でみられる。

1964年4月12日 ×980.

The megaspore mother cell at the metaphase of the first division of meiosis. This stage occurs most frequently during the middle of flowering period, the favourable time of pollination. April 12, 1964. ×980.

- B. 第Ⅰ分裂の結果形成された2つの娘細胞。珠孔側の娘細胞が小さい。

1964年4月12日 ×1,100.

Results of first meiotic division of the megaspore mother cell. Two daughter cells have been formed, the micropylar daughter cell is smaller than the other.

April 12, 1964. ×1,100.

- C. 減数分裂によって形成された直線状の3個の大孢子。多くの場合、珠孔側の娘細胞が第Ⅱ分裂をせず、3個の大孢子がつくられた。大孢子的まわりの細胞が海綿状組織に分化をはじめている。

1964年4月12日 ×450.

Three haploid megaspores formed in an axial row. The micropylar daughter cell of the first division does not divide, so that there appears a row of three cells, which has been observed more frequently than a tetrad. Spongy tissues are recognized.

April 12, 1964. ×450.

- D. 四分子。發育して胚のうとしての機能をもつ大孢子が同一切断面に現われていないので(d)に示した。

1964年4月12日 ×450.

Tetrad. The functional megaspore is clearly seen in the section following D, which is shown in d. April 12, 1964. ×440.

Plate 5

- A. 開花中期における雌花の縦断面の一部分。苞鱗(b), 種鱗(os), 珠皮(i), 珠心(n), 大孢子(胚のう)の位置関係を示す。受粉が行なわれ stigmatic flap に花粉粒(p)が付着している。

1964年4月12日 ×140.

A part of longitudinal section of ovulate strobilus in the middle of flowering period showing the relative size and position of bract (b), ovuliferous scale (os), integument (i), nucellus (n), and megaspores. A pollen grain (p) attaches to the stigmatic flap, after pollination.

April 12, 1964. ×140.

- B. Aの一部を拡大して示した。珠孔から最も遠い位置にある大孢子(胚のう)が成長をはじめている。他の2個はやがて消失する。

1964年4月12日 ×1,140.

Enlarged view of megaspores shown in C. The chalazal megaspore is functional and growing, while the other two degenerate. ×1,140.

Plate 6

- A. 開花後期の雌花の縦断面の一部分。苞鱗(b), 種鱗(os), 胚珠を示す。珠孔の先端部がとじてきている。

1964年4月20日 ×55.

A part of longitudinal sections of ovulate strobilus in late period of flowering showing the relative size and position of the ovule and the central, developing female gametophyte. The stigmatic flap has collapsed and the mouth of micropyle closed.

April 20, 1964. $\times 55$.

B. A の珠心の部分を拡大して示した。胚のうがが大きくなりはじめ、遊離核分裂が始まっている。珠孔側にある第 I 分裂の娘細胞が第 II 分裂を行わずに消失しつつある。

1964 年 4 月 20 日 $\times 270$.

Enlarged view of the developing female gametophyte shown in A at early free nuclear stage. The micropylar daughter cell of the first division of meiosis has been degenerating without second division. $\times 270$.

The Time of Meiosis of Megaspore Mother Cell in *Larix leptolepis*

(SIEB. et ZUCC.) GORDON

Toshitaka YOKOYAMA⁽¹⁾

Summary

The purpose of this paper is to investigate the time of meiosis of megaspore mother cells (embryo sac mother cells) in *Larix leptolepis*. Ovulate strobili were collected in 1964 and 1965 from a seed orchard at 1,000 m elevation on the slope of Mt. Asama, Nagano. Ovulate strobili were fixed in FAA and embedded in paraffin. Their longitudinal sections were cut in series on a rotary microtome at 12~15 μ thickness and stained with safranin-first green combination.

Megaspore mother cells were recognized early in October. Growth of megaspore mother cells was resumed the following spring, and meiosis started shortly before the ovulate strobilus bud bursting. Metaphase I and tetrad were observed in the middle of flowering period, when the ovulate strobili seem to be at the most receptive stage. As a result of meiotic division of a megaspore mother cell, three or four haploid megaspores were formed in an axial row; most frequently the micropylar daughter cell of the first division did not divide, so that there appeared a row of three cells. The functional megaspore began to develop in the late period of flowering. The period of meiosis lasted from late March to late April for 1964 and from early April to mid-May for 1965. Megaspores were formed during mid-April to late April for 1964 and during late April to mid-May for 1965.

HASHIZUME and IMAI (1966) reported: "archesporial cells in the nucellus repeated the cell division at flowering time, and in the late period of flowering they seemed to develop into embryo sac mother cells." However, the results of the author's investigation are not in agreement with their description. From the facts observed, the conclusion seems inevitable that the megaspore mother cell (embryo sac mother cell) is directly "picked out" from an undifferentiated nucellus in autumn, but not derived from a recognizable archesporium, and that in the late period of flowering the functional megaspore is enlarging and vacuolating and the free nuclear division of female gametophyte has just started.

Received January 21, 1973

(1) Forest Silviculture Division

