

赤色系バラ花卉における褐色化現象に関する研究 (第2報) 花卉表皮細胞に出現する褐色の 構造物のパラフィン切片による検討

傅 玉蘭*・安田 斉

信州大学理学部生物学教室
(1994年12月27日受理)

はじめに

前報(傅ら, 1993)では, バラ花卉の褐色化現象は赤色系の品種及び1部のピンク系の品種(比較的濃色調のもの)に発生すること, 及びこの現象は花卉の表皮細胞に褐色の構造物が出現することによって起きることを明らかにした。この褐色の構造物の, 花卉の表皮細胞における発生位置並びにその化学的成分等については, まだ不明の点が多い。これらの疑問を解明するためには, パラフィン切片法を導入する必要がある。本報では前報の生花卉に対する細胞組織学的検討結果に基づいて, 褐色化現象が顕著な261株(前報参照)の花卉のパラフィン切片を作製してさらに詳細な検討を行った。その結果, 褐色化現象発生の主因である褐色の構造物の化学的成分には, タンニン様物質及びペクチン様物質とが重要に関係しているとの知見を得た。また, パラフィン切片による観察と並行して, 本報でも生切片による観察も行ったが, これは, パラフィン切片による観察結果と生切片による観察結果との関連性をより厳密にするためである。以下に, 得られた知見を報告する。

材料及び方法

本研究に使用した材料植物は, 花卉に著しく褐色化現象が起きる系統株の一つ, 90 A157-A158-261(以下単に261株という)で, 本学部の圃場で栽培管理されたものである。

開花段階を蕾, 3分咲, 5分咲, 8分咲, 満開の五つに分け, 各段階にある花の最外輪の花弁のほぼ中央部位から, 約5×5 mm角の小片を3個切り取り, それぞれ下記の方法で処理した。

1 カイゼル液固定・トルイジンブルー染色

生花卉の小片を直ちにカイゼル液^註で固定した。さらに厚さ18 μ mのパラフィン切片を作製し, トルイジンブルーで染色した。

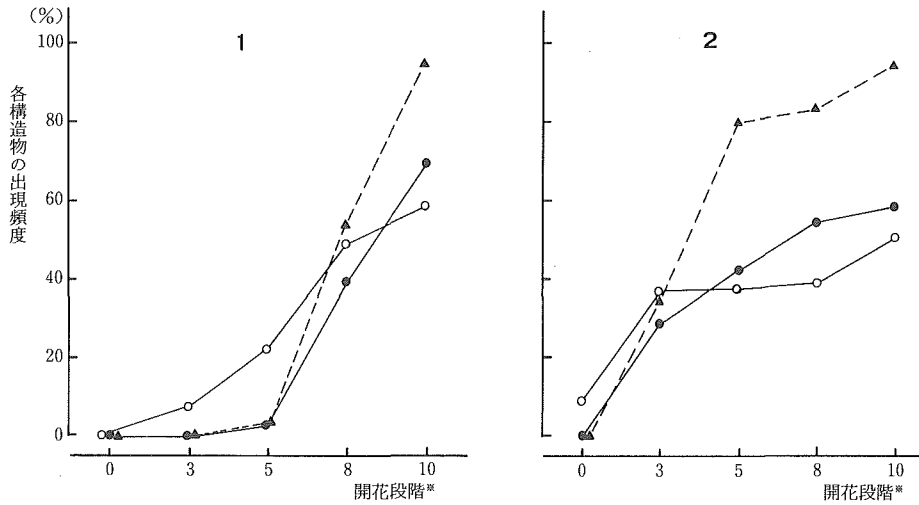
2 中性緩衝フォルマリン固定・ルテニウムレット染色

花卉の小片を直ちに中性緩衝フォルマリン液^註につけて固定し, さらに, 上と同様厚

*安徽農業大学林学系(中華人民共和国合肥市), 現在外国人研究者として信州大学理学部生物学教室に所属。

註 カイゼル液: 塩化水銀(II) 10 g, 氷酢酸3ml, 蒸留水300ml

中性緩衝フォルマリン: リン酸二水素ナトリウム350mg(無水物), リン酸水素二ナトリウム650mg, 蒸留水90ml, 4%フォルマリン10ml



第1・2図 各開花段階における花卉表皮細胞に含まれるタンニン体、ペクチン体及び褐色の構造物の出現頻度の経時変化

1. 上面表皮細胞 —●— タンニン体
 2. 下面表皮細胞 —○— ペクチン体
 —▲— 褐色の構造物

※ 0：蕾； 3：3分咲； 5：5分咲； 8：8分咲； 10：満開

さ18 μ mのパラフィン切片を作製し、ルテニウムレッドで染色した。

3 生切片

安全かみそりの刃を用いて、徒手により生切片を作製した。

観察はすべて光学顕微鏡（オリンパス製，BH-2型）により行い，また観察の対象は，①表皮細胞に出現する構造物の出現頻度の経時変化，②その存在位置及び③その形状とした。

結 果

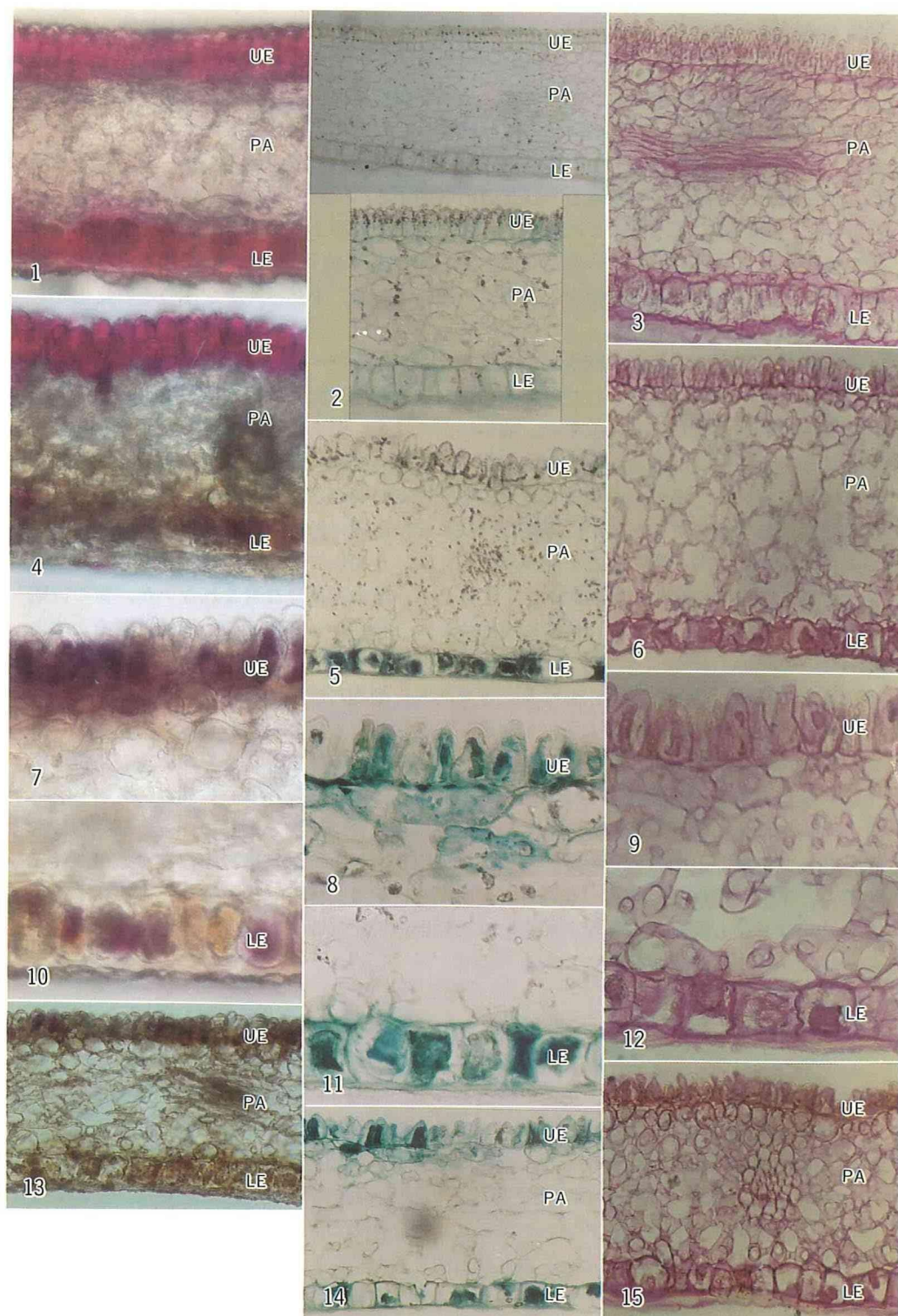
カイゼル液固定・トルイジンブルー染色並びに中性緩衝ホルマリン固定・ルテニウムレッド染色により得られた染色像等（写真1～15）から，261株の花弁に出現する褐色の構造物は，YASUDA（1970，1974，1976，1979）の組織化学的記載に照して，タンニン様

写真1～15 花卉表皮細胞に出現するタンニン体，ペクチン体及び褐色の構造物

1：蕾の生切片； 2：蕾のタンニン体； 3：蕾のペクチン体； 4：3分咲の生切片；
 5：3分咲のタンニン体； 6：3分咲のペクチン体； 7，10：5分咲の生切片； 8，
 11：5分咲のタンニン体； 9，12：5分咲のペクチン体； 13：満開の生切片； 14：
 満開のタンニン体； 15：満開のペクチン体

1，4，7，8，9，10，11，12：×300

2，3，5，6，13，14，15：×150



物質を主体とするタンニン体及びペクチン様物質を主体とするペクチン体と相同であると認められる。

これらのタンニン体及びペクチン体は、上下両面表皮細胞に認められるが、第1図は上面表皮細胞におけるこれらの構造物の出現頻度の経時変化を示したものである。これを見ると、蕾から3分咲まではタンニン体は全く観察されないが、3分咲から5分咲までは徐々に出現し、5分咲から満開までは急速に増加する。一方、ペクチン体は蕾の初期には含まれていないが、その後徐々に発生し、3分咲から満開までの段階に著しく増加することが観察された。同時に、同一生花卉の上面表皮細胞における褐色の構造物の出現頻度の経時変化は、タンニン体のその変化とよく一致しており、またペクチン体のその変化ともほぼ一致している。

第2図は、花卉の下面表皮細胞におけるタンニン体及びペクチン体、並びに褐色の構造物の出現頻度の経時変化を示したものである。見ると、上面表皮細胞で観察されたその変化と大体において同じ傾向を示すが、細かい点では違いがある。すなわち、タンニン体については、蕾の初期には全く含まれていないが、蕾の後期に発生し、以後5分咲までは急速に増加する。5分咲から満開まではその増加は緩やかになる。ペクチン体については、蕾の時期にわずかに含まれるが、以後3分咲までは急速に増加する。その後の増加は緩やかになる。また、同一生花卉の下面表皮細胞における褐色の構造物では、タンニン体とペクチン体と同程度の変化の傾向を示す。すなわち、蕾の初期には含まれないが、蕾の後期に発生し、その後5分咲までは急速に増加する。5分咲から満開までの増加は緩やかである。

写真1～15は、各開花段階における上下両面表皮細胞に観察されたタンニン体及びペクチン体、並びに褐色の構造物の発生・発達、存在状態等を示した顕微鏡写真である。これによると、開花に従って、花卉表皮細胞におけるタンニン体とペクチン体、及び褐色の構造物の変化は第1・2図に示した結果と一致していることがわかる。それに、タンニン体とペクチン体との表皮細胞に存在している位置は褐色の構造物と同じで、主に細胞の液泡に存在していることが認められる。その外、細胞質あるいは細胞壁にも存在する可能性があるが、本研究では詳しく調べなかった。また、タンニン体とペクチン体との形状も褐色の構造物の形状と同様に下面表皮細胞には不規則の塊状になり、上面表皮細胞には不規則の長い柱状になることが観察された。

考 察

以上述べたパラフィン切片による観察結果と、生切片による観察結果に基づいて、ここではタンニン体、ペクチン体、褐色の構造物3者の相関を中心にして考察を進める。

花卉の上面表皮細胞に含まれるタンニン体並びにペクチン体を生花卉の上面表皮細胞に出現する褐色の構造物と比較すると、ほぼ同程度の出現頻度の経時変化が見られた。特にタンニン体と生花卉の褐色の構造物とは、その変化が極めて近似的であった。このことは、上面表皮細胞においてはタンニン体とペクチン体との発生・発達は、褐色の構造物の形成と発達との主因であることを示すものと考えられる。両者のうち、どちらかといえばタンニン体の影響力の方がペクチン体のそれより大きい要因と考えられる。

花卉の下面表皮細胞においても、含まれているタンニン体とペクチン体とは共に生花卉の褐色の構造物とはほぼ同様の出現頻度の経時変化を示した。従って、上面表皮細胞の場合と同様に、下面表皮細胞においてもタンニン体及びペクチン体の発生・発達は褐色の構造物の形成と発達との主因であると考えられる。また、上面表皮細胞の場合と同様、やはりタンニン体の影響力の方がペクチン体のそれよりも大きいものと考えられる。

以上の考察に基づき、筆者らは以下のことを提唱したい。

すなわち、赤色系バラ花卉の上下両面表皮細胞における褐色の構造物の発生・発達は、それらの細胞におけるタンニン体及びペクチン体の発生・発達によって起きる。従って、褐色の構造物の化学的 성분としては、少なくともタンニン様物質とペクチン様物質とが混合して分布しているものと考えられる。そのうち主な成分はタンニン様物質であって、ペクチン様物質は2次的な存在と考えられる。その外にまだ別の成分が含まれている可能性もあるが、このことについては将来の調査にゆずりたい。

また傳ら(1994)は、光がこの褐色化現象の発生・発達に促進的に作用しているのではないかと報告している。本論文で述べた内容に基づけば、タンニン体及びペクチン体の発生・発達も光によって促進的影響を受けるはずである。このことについての具体的な検討も今後期待したい。

摘 要

バラの系統株の一つ、90A157-A158-261の花卉からパラフィン切片を作製し、褐色化現象を細胞組織学的に検討した。顕微鏡観察用の資料は次の二つの処理により作製した：①カイゼル液固定、トルイジンブルー染色、②中性緩衝ホルマリン固定、ルテニウムレッド染色。またこれと並行して、パラフィン切片による染色との比較の基準として、生切片を作製した。

得られた結果の大略は下記の通りである。

- 1 褐色化現象が現われている花卉の上下両面表皮細胞には、タンニン体及びペクチン体が数多く認められた。
- 2 褐色化現象が発現している花卉表皮細胞に含まれているタンニン体の出現頻度の経時変化と、生花卉の褐色の構造物のそれとはかなり近似的であった。また、ペクチン体の発生・発達もタンニン体の場合とほぼ同じ傾向を示した。
- 3 タンニン体及びペクチン体の表皮細胞における存在位置は、褐色の構造物の存在位置と同じであった。タンニン体及びペクチン体の形状は共に褐色の構造物の形状と同じであった。

以上のことからタンニン体とペクチン体とは、生花卉に出現する褐色の構造物と相同のものであり、花卉の褐色化現象の主因となっているものと考えられる。

謝 辞

本研究を行うに当たり、材料の御提供を頂き、その上種々有益な御助言を賜りました京成バラ園芸株式会社研究所の鈴木省三、平林 浩両先生に、深甚なる謝意を表する。

引用文献

- YASUDA, H. (1970) Studies on "bluing effect" in the petals of red rose, I. Some cytochemical observations on epidermal cells having a bluish tinge. Bot. Mag. Tokyo **83**: 233-236.
- YASUDA, H. (1974) Studies on "bluing effect" in the petals of red rose, II. Observation on the development of the tannin body in the upper epidermal cells of bluing petals. Cytologia **39**: 107-112.
- YASUDA, H. 1976. Studies on the insoluble states of anthocyanin in rose petals II. Histochemical observation on its basal substance. Cytologia **41**: 487-492.
- YASUDA, H. (1979) Studies on the insoluble state of anthocyanin in rose petals III. The observation on the developmental process of the massive structure. Cytologia **44**: 687-692.
- 傅 玉蘭・安田 斉 (1993) 赤色系バラ花卉における褐色化現象に関する研究 (第1報) 生花卉に対する細胞組織学的検討 信州大学理学部紀要 **28**: 71~79
- 傅 玉蘭・安田 斉 (1994) 赤色系バラ花卉における褐色化現象の細胞組織学的検討 日本植物学会第58回大会研究発表記録 p218

Studies on the Browning Phenomenon in Red Rose Petals.
II The Observation of Petals Exhibiting the Browning Phenomenon,
Using Paraffin Sections.

YU LAN FU and HITOSHI YASUDA

Department of Biology, Faculty of Science, Shinshu University
(Received at December 27, 1994)

Cytological investigation of the browning phenomenon was conducted using paraffin sections prepared from the petals of an unnamed breeding line of rose, "90A 157-A 158-261". For the preparation of rose petal microscopic specimens two different methods were applied: ① Kaiser's solution-fixing and toluidin blue-staining, ② neutral buffered formalin-fixing and ruthenium red-staining.

At the same time, fresh sections of petals were also prepared to serve as a standard for comparison with the microscopic views of paraffin sections.

The results obtained are summarized below.

- 1 Both tannin and pectin bodies were abundant in upper and lower epidermal cells of the petals which exhibited brownish color.
- 2 There was little difference in time course of frequency appearance between the tannin body and the brownish structure.
- 3 The pectin body also displayed the same tendency to the result shown in 2.
- 4 The sizes of the bodies, their shapes and their positions in the cells closely resembled those of the brownish structures.

From the results presented here, it is evident that the tannin and pectin bodies are equivalent to the brownish structures in fresh petals, being suggesting that they in the first place caused the development of brownish color in the rose petals.