

紫果物時計草の受精に関する研究

—受粉および受精の観察—

石畑清武・萩内千里*・岩堀修一*

(指宿植物試験場・*果樹園芸学研究室)

昭和61年8月9日 受理

Studies on the Fertilization in Purple Passion Fruit, *Passiflora edulis* Sims

—Observation on Pollen Germination, Elongation of Pollen Tube and Fertilization—

Kiyotake ISHIHATA, Chisato HAGIUCHI* and Shuichi IWAHORI*

(Ibusuki Experimental Botanic Garden, *Laboratory of Fruit Science)

緒 言

石畑ら⁷⁾は、紫果物時計草の栽培において人工受粉が結果、収量を増加させ、果実品質を向上させるのに有効であり、果実生産に効果が大きいことを報告した。特に、人工受粉の際3本の柱頭のうち1本又は2本のみの柱頭に人工受粉しても、3本の柱頭すべてに受粉した場合と同じように結果し、果実重、果実品質を向上させることを示した⁶⁾。*Passiflora* 属の雌蕊は3本の花柱 (Fig. 1), 3心皮1室、縁辺胎座からなる¹⁰⁾。柱頭に受粉され、発芽した花粉管はそれぞれの心皮組織につながる柱頭—花柱—胎座へ伸長し、受精するものと思われていた。しかし、前述のとおり1本~2本の柱頭のみを受粉しても完全な果実発達が得られたことから、3本の柱頭のどれに受粉してもそれぞれの花柱から子房室内胚珠への花粉管伸長が平等に行われることが推測される。

Passiflora 属の受粉、受精に関する研究はほとんどなく、わずかに Gilmartin⁴⁾が黄実時計草の受粉、受精、子房の発育について報告しているのみである。本実験では、雌蕊組織内における花粉管伸長と受精にいたる過程を経時的に究明するため観察を行った。この際特に花柱と子房内の胎座の位置関係、および1本の花柱の柱頭上で発芽した花粉管が3心皮の胎座にどのように伸長していくかについて注目した。

材 料 と 方 法

材料としては鹿児島大学農学部附属農場指宿植物試験場の圃場に栽培し、パイプ利用トンネル型に誘引した6年生紫果物時計草の実生を供試した。

柱頭3本のうち2本の柱頭を花柱基部より除去し、

1本の柱頭を受粉する柱頭1本区及び柱頭無切除で柱頭3本を受粉する柱頭3本区の受粉、受精の行動を比較した (Figs. 3, 4)。

人工受粉は1985年5月11日~5月20日の間に行った。受粉前日に柱頭切除と除雄を行い、袋かけた。開花当日花柱が水平に曲がった花(接触型花及び接近型花)^{1, 5)}のみに、同じ株の別の花の花粉を丁寧に人工受粉を行い袋かけた。なお紫果物時計草は自家親和性である。受粉後の花粉発芽、花粉管の伸長状況、胚珠への到達、受精を経時的に追及するために、受粉後1時間、3時間、6時間、12時間、18時間、24時間、36時間、48時間に花を採取し、直ちに固定した。供試花数は各サンプリングごと10花とし、同数ずつを光学顕微鏡と走査型電子顕微鏡 (SEM) の観察用とした。

光学顕微鏡用材料としては雌蕊を FAA 液で固定し、常法に従いパラフィン誘導を行い、厚さ12~14 μ m の連続切片を作成しデラフィールドのヘマトキシリンで染色し、永久プレパラートを作成した。走査型電子顕微鏡用材料はリン酸バッファー (pH 7.2) に溶かした4%グルタルアルデヒドで固定しエタノールシリーズで脱水後、酢酸イソアミルによる臨界点乾燥 (HITACHI HCP-1) を行った。これを金属片にドータイトで接着し、イオンスプッター (日本電子製 JFC-1, 100) による金蒸着を行い、走査型電子顕微鏡 (日本電子製 JSM-15 型) で加圧電圧15 kV で観察した。

結 果

実験地における観察期間中の気象は Table 1 に示すとおりで、気温は最高28.4℃、最低14.0℃の温暖な気候下で推移した。5月中旬は紫果物時計草の開花が

Table 1. Climatic conditions of the field during the experiment periods in May, 1985

Date		11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Maximum temperature	℃	27.1	28.4	28.1	27.1	26.4	26.9	27.1	25.9	25.8	28.3
Minimum temperature	℃	17.3	14.0	15.2	21.9	19.8	17.4	16.2	19.7	20.5	22.5
Precipitation	mm	8.5	—	—	19.5	—	—	—	—	—	6.0
Hour of day light	h	1.9	9.5	10.0	7.4	5.0	7.3	8.6	8.8	6.3	7.2

Table 2. Time course of pollen germination, pollen tube elongation and fertilization in purple passion fruit, *Passiflora edulis* Sims

Times after pollination (h)	1	3	6	12	18	24	36	48
Beginning of pollen germination	○	○						
Passage of pollen tube through the base of the style			○	○				
Passage of pollen tube through the micropyle				○	○			
Fertilization					○	○		
Initiation of ovary development					○	○	○	○

最も多い時期^{5, 8)}で、期間中3日の降雨があったが、実験は支障なく行われた。開花は日の出とともに始まり、開花開始1時間～2時間後には開葯した。開花時の花柱の長さは 12.9 ± 0.6 mmであった。

柱頭は馬蹄形で長径 5.8 ± 0.5 mm、乳頭状の組織からできている (Figs. 5, 6)。花粉は球形、直径 $74.4 \pm 14.6 \mu\text{m}$ 、網目状の外皮膜をもち、3本の環状の溝がある (Fig. 7)。

花粉の発芽、伸長及び受精の経時的推移を Table 2 に示した。柱頭上で発芽した花粉は受粉1時間後には花粉管を乳頭状組織の中に伸ばしていた (Fig. 8)。花粉管は受粉後3時間には花柱溝内へ伸長し (Fig. 9)、受粉後6時間には最も早い花粉管は花柱基部を通過して、子房上部まで伸長していた (Fig. 10)。受粉後12時間には、最も伸長の早い花粉管は子房の中間部位か最下部位まで伸長した (Figs. 11, 12)。

花柱溝は独立にそれぞれの胎座につながっているのではない。3本の花柱の花柱溝は子房上部の接合位置で合体して、一つの共通の花柱溝になり子房室へ接続していた (Figs. 13, 14)。胎座は隣接する2つの花柱溝の延長上の中間 (心皮の縁辺) に位置した。したがって、花粉管は別々の柱頭-花柱溝、または1本の柱頭-花柱溝から伸長しても、花柱基部の花柱溝合体部位では合体した共通の花柱溝には入り、同一心皮組織とつながる胎座とは無関係に各胎座へと伸長した (Figs. 15, 16, 17)。

胚珠基部まで伸長した花粉管は珠柄に沿って伸長し (Figs. 17, 18)、伸長速度の早い花粉管は受粉後12時間で珠孔を通過した (Figs. 19, 20)。受粉後18時間にはほとんどの胚珠で受精が終わり (Fig. 21)、子房は肥大を開始し、受粉後48時間には開花当日の約2倍の大きさに肥大していた (Fig. 22)。

考 察

Passiflora 属は虫媒花であるとされている^{1, 2, 9)}。花は新梢の葉腋に単生する。上位子房花⁴⁾で、開花開始後、花糸は外側へ水平に曲がり、葯は下向きとなる。同時に、花柱も横方向に曲がり、柱頭は葯に近づきまたは接触する。花床に蜜槽があり、訪花した虫は蜜を求めるとき、背に花粉をつけやすく、また、柱頭にも背が接触し、受粉しやすい花の形である^{2-5, 7, 11)} (Figs. 1, 2)。しかし、南九州ではこの訪花昆虫は非常に少なく、放任受粉による結果率は著しく低い。石畑ら⁷⁾は放任受粉による結果率は、晴天で19.0%、雨天で6.7%であると報告し、弥富と石崎¹²⁾は5.21%であると報告している。

本実験において柱頭上に受粉された花粉の発芽は早く、受粉後1時間には花粉管は乳頭状の組織内へ伸長し、受粉後3時間には花柱溝内、受粉後6時間後には子房の上位まで伸長していた。そして受粉後12時間には花粉管の先端は珠孔に侵入しているものも見出された。Gilmartin⁴⁾は黄実時計草で受粉後24時間以内に

花粉管が珠孔内に侵入していることを観察した。石畑（未発表）は人工培地での花粉発芽試験で、花粉置床後30分後には発芽が始まることを観察しており、本実験では確認されなかったが、柱頭上ではもっと短い時間内に発芽することが推察される。

本研究において花柱3本の花柱溝が子房との接合部で合体し、子房室へ続くこと、また花粉管はもとの花柱溝から心皮組織でつながる胎座のみに伸長するのではなく、どの花柱、花柱溝を通っても3カ所の胎座部へほぼ均等に伸長し、各々の胚珠で受精することを明らかにした。このことは、石畑⁶⁾および弥富と石崎¹²⁾が紫果物時計草で、また、AkamineとGirolami¹⁾が黄実時計草で、1本又は2本のみの柱頭に受粉しても、柱頭3本に受粉した場合と同様に結果し、果実は発達して、品質にも差異が認められなかったと言う報告をうらづけるものである。

石畑ら⁷⁾は、これまでに人工受粉は結果率だけでなく、果実の品質向上の効果の大きいことを報告した。石畑⁶⁾の報告と本実験の結果から、3本の柱頭のうち、1本のみの柱頭に受粉しても受精は子房1室内3胎座のすべての胚珠において行われうることが判明した。このことは、人工受粉の省力的な作業が可能であることを示すものである。

要 約

紫果物時計草の受粉、花粉発芽、花粉管の伸長及び受精の過程を明らかにするため実験を行った。柱頭3本のうち、柱頭を花柱基部より2本切除し、柱頭1本のみにした花と柱頭無切除の柱頭3本の花に受粉し、経時的に光学顕微鏡及び走査型電子顕微鏡で観察した。結果は次のとおりである。

1. 花粉は受粉後1時間内に柱頭上で発芽し花粉管を乳頭状の柱頭組織内に伸ばした。花粉管は受粉後6時間で子房内へ伸長した。胚珠基部まで伸長した花粉管は珠柄に沿って伸長し、珠孔から胚珠へ伸び受精した。受粉18時間後には受精が終了し、子房の肥大が始まった。

2. 3本の花柱の花柱溝は、花柱基部の子房との接合部で合体して、子房室に接続している。胎座は花柱溝の延長上の中間に位置する。

3. 柱頭で発芽した花粉管は花柱溝を通過し、心皮組織でつながる胎座とは関係なく、花柱溝合体部から子房室を3胎座に向かって伸長し各胚珠に達する。したがって、1本の柱頭に受粉しても各胎座の胚珠は正常に発達することが認められた。

4. 1本の柱頭に受粉することで十分な果実発達が得られるので、受粉作業の省力化が可能であることを実証した。

謝辞 本実験を行うにあたり電子顕微鏡用資料作成、検鏡に御協力いただいた鹿児島大学農学部有村光生講師に謝意を表す。

文 献

- 1) Akamine, E. K. and Girolami, G. : Pollination and fruit set in the yellow passion fruit. *Tech. Bull. Hawaii Agr. Exp. Stat.*, **39**, 1-44 (1959)
- 2) Akamine, E. K. and Girolami, G. : Problems in fruit set in yellow passion fruit. *Hawaii Farm Sci.*, **54**, 3-5 (1981)
- 3) Cox, J. E. : Flowering and pollination of passion fruit. *Agricultural Gazette of N. S. W.*, **68**, 573-576 (1957)
- 4) Gilmartin, A. J. : Post-fertilization seed and ovary development in *Passiflora edulis* Sims. *Trop. Agriculture*, **35**, 41-58 (1958)
- 5) 石畑清武：紫果物時計草の花の形態と結果に関する研究。鹿大農学術報告, No. **31**, 25-31 (1981)
- 6) 石畑清武：紫果物時計草の受精に関する研究。受粉処理した柱頭数が結果率ならびに果実品質に及ぼす影響。鹿大農学術報告, No. **36**, 53-56 (1986)
- 7) 石畑清武・林 満・池田三雄：紫果物時計草の人工受粉による結果率および果実品質の向上。鹿大農学術報告, No. **34**, 9-16 (1984)
- 8) 片山義勇・斎藤泰治・重山俊男：暖地に於ける新導入作物としての果物時計草。宮大農研時報, **5**, 18-28 (1959)
- 9) Kuhne, F. A. : Cultivation of granadillas. *Farming S. Africa*, **43**, 29-32 (1968)
- 10) Purseglove, J. W. : Tropical crops, Dicotyledons. **2**, p. 420-429, Longman, London (1968)
- 11) Shearer, A. R. : Passion fruit culture in New Zealand. p. 1-23, Government Printer, New Zealand (1973)
- 12) 弥富忠夫・石崎義人：パッションフルーツの開花結実に関する研究。山口大農学報, **9**, 991-996 (1958)

Summary

The studies presented here were undertaken to ascertain pollen germination on stigma, elongation of pollen tubes in pistillate tissues and fertilization, in purple passion fruit, *Passiflora edulis* Sims. Special attention was paid to the confirmation of the positional relationship between the stigma and placenta. Two stigmas were removed from the base of the style one day before flowering and only one stigma pollinated on the flowering day, was left intact. This treatment enabled the authors to ascertain whether pollen tubes germinated on one stigma were equally elongated into three placentae, or not. The stigma of the flower was dusted with pollen grains obtained from different flowers on the same vine. The pollen germination, elongation of the pollen tube and fertilization were observed with the samples taken at a certain time-interval after pollination. The results obtained were as follows :

1. The pollen grains that landed on the tips of individual papilla of stigma germinated in one hour after pollination. Pollen tubes became elongated into the style canal through the stigma, reaching the upper portion of loculus in six hours after pollination. Pollen tubes continued their growth up to the base of the ovules, then elongated themselves up along the funiculus, entering ovule through the micropyle. Fertilization was performed within 18 hours after pollination. Following the fertilization the ovary development was noted.

2. Each of the three style canals joined together at the basal part of the style and at the upper portion of the ovary, and connected itself into loculus. Topologically, placenta was lying half-way between the two style's projected lines.

3. Pollen tubes germinated on the tips of a stigma continued their growth on to loculus through style canals, being elongated equally to each of the three placentae. Therefore, even only one stigma was pollinated, each ovule situated on three placentae was occasioned to become fertilized, performing the respective normal development.

4. Thus, even when only one stigma was pollinated, normal fruit development was observed to have occurred likewise all the three stigmas were pollinated simultaneously. These results indicate that only one pollination of the stigma may be enough for the pollination in the field, which will enable us to save the considerable amount of labour required for the artificial pollination indispensable for the realization of higher fruit-set and normal fruit-growth.

Explanation of figures

- Fig. 1. A flower of purple passion fruit, *Passiflora edulis* Sims. $\times 1$.
- Fig. 2. Longitudinal section of a flower of passion fruit. $\times 1$.
- Fig. 3. A flower out of which two stigmas were removed. $\times 1$.
- Fig. 4. An emasculated flower. $\times 1$.
- Fig. 5. Surface of stigma. $\times 10$.
- Fig. 6. Papillae of the stigma. $\times 120$.
- Fig. 7. Pollen grain. $\times 500$.
- Fig. 8. The pollen tubes elongating themselves into the papillae of stigma in one hour after pollination. $\times 100$.
- Fig. 9. The pollen tubes continuing their growth through the style canal in three hours after pollination. $\times 20$.
- Fig. 10. The pollen tubes stretching themselves on the vicinity of the upper portion of loculus in six hours after pollination. $\times 100$.
- Fig. 11. The pollen tubes stretching themselves on the vicinity of the lower portion of loculus in twelve hours after pollination. Some pollen tubes grew along the funiculus of the ovule. $\times 50$.
- Fig. 12. The pollen tubes stretching themselves on the vicinity of the lower portion in loculus. $\times 25$.
- Fig. 13. Longitudinal section of the style showing three style canals joined at the base of the style. $\times 50$.
- Fig. 14~15. Cross section of the style where three style canals united at the base of the style. $\times 25$, $\times 60$.
- Fig. 16. Cross section of the upper part in loculus showing the pollen tubes elongated to the placenta. $\times 60$.
- Fig. 18~19. Longitudinal section of ovules in eighteen hours after pollination showing the pollen tube had entered micropyle. $\times 40$, $\times 100$.
- Fig. 20. Longitudinal section of ovule in twelve hours after pollination. $\times 200$.
- Fig. 21. Longitudinal section of fertilized ovule in eighteen hours after pollination. $\times 200$.
- Fig. 22. Pistils at 0, 1 and 2 days after flowering from left to right showing marked initial growth of the ovary.
- Abbreviation:
a : aril, e : embryo, f : funiculus, ii : inner integument, l : loculus, m : micropyle, n : nucellus,
nec : nectary, oi : outer integument, p : papilla, pt : pollen tube, sc : style canal.





