# 林木遺伝資源情報

第3号-5 2003.3 独立行政法人 林木育種センター



遺伝資源の収集・保存に関する技術シリーズ No.3
樹木花粉の取り扱い(Ⅲ) 発芽率の調査方法と虫媒花花粉の収集法 株木育種センター 遺伝資源部 生 方 正 俊

### はじめに

花粉の保存、特性調査及び利用にあたって、定期的に貯蔵花粉の発芽率を調査し記録しておくことが重要です。その調査の概要は、適正な培地に花粉をまきつけ培養し、実態顕微鏡で発芽数を調査します。さらに、本シリーズNo.1で風媒花花粉の収集方法を紹介しましたが、本号では収集方法が困難な虫媒花花粉の収集方法として、有機溶媒を用いた手法を紹介します。

## 1 発芽率の調査方法

#### 1)必要な道具等

シャーレ、ビーカ、蒸留水、ショ糖、寒天(粉末)電子レンジ(無ければガスバーナ、三脚、鍋) pHメータ、恒温器、実体顕微鏡、デジタルカメラ(実態顕微鏡と接続可能なものがあれば便利) 脱脂綿(または綿棒) 数取り器

## 2)調査手順

①ビーカに蒸留水、ショ糖を入れ溶かす。

遺伝資源部では、ショ糖濃度10%、寒天濃度1% にしている。つまり、ショ糖10g、寒天1g、蒸留水 89ml(89g)の割合である。

②pHメータでpH6に調整。

正確に行うためには、pHの調整が必要。一般にKOH(もしくはNaOH)とHCIの希釈した溶液を用いて調整。pHメータに添付されている説明書を参照のこと。

- ③寒天を加える。
- ④電子レンジで加熱し寒天を完全に溶かす。

溶液が完全に透明になり、少し沸騰するくらいが 良い。レンジにかけっぱなしにするのではなく、時 々レンジをとめ、撹拌する。レンジがない場合は、 ガス等に水を張った鍋をかけ、湯煎する。

⑤しばらく冷ましシャーレに分注する。

分注する際に泡立たないように注意する。泡ができると観察の際に見えにくくなる。

⑥完全に冷め培地が固まったら、脱脂綿等で花粉を まく。

なるべくぱらぱらとまくと後の観察が容易になる。

- ⑦恒温器に入れる。
- 25 で48時間恒温器に入れる。これ以上長くなるとカビが生える危険性がある。
- ⑧実体顕微鏡で観察し、発芽花粉及び不発芽花粉を カウント。

視野内にあるすべての花粉をカウントする。徐々に視野を移しながら総カウント数が100個程度になるまでカウントする。なお、実体顕微鏡と接続可能なデジタルカメラがあれば、発芽状況を撮影し、後で印刷してから数えることも可能(写真 - 1)。

センターでは、花粉の直径より長く花粉管の伸長 したものを発芽花粉としている。

⑤発芽率は以下のように算出する

(発芽率) = (発芽花粉数) / (発芽花粉 + 不発芽花粉) × 100

例 発芽花粉が88個、不発芽花粉が12個だったら 88/(88+12)×100=88%

できれば、シャーレ内の場所をかえて3回測定し、 その平均を発芽率とするのが望ましい。



写真 - 1 発芽率調査用の顕微鏡画像

# 花粉の取り扱いについての参考文献

福原楢勝・齋藤幹夫・山本千秋・大津正史・岡崎旦 ・東方喜之:スギ、ヒノキの花粉に関する二、三 の実験,日林誌53(4),98-102,1971

橋詰隼人:ヒノキおよびヒノキアスナロの花粉発芽 について,鳥大学報 X X , 31-34 , 1968

橋詰隼人:ブナおよびコナラ属樹種の開花、受粉、 花粉の採集および花粉の発芽について,鳥大農研 報 X X VII,94-107,1975

平吉 功・熊沢茂則:アカマツ花粉の定温貯蔵(予報),74回日林講,237-238,1963

市川三次・四手井綱秀:樹木花粉の超低温貯蔵に関する基礎的研究(I),京大演報42,51-82,1971

伊藤昌司・齋藤幹夫・伊藤信治: ウラジロモミ花粉 の発芽試験,日林誌65(12),471-472,1983

河野耕蔵:ヒノキ・サワラ花粉の貯蔵ならびにサワラ花粉の発芽試験,45年度林木育種研究発表会講演集,59-62,1971

大黒 正・岡村政則・半田孝俊:クヌギ精英樹花粉 の飛散時期、稔性及び発芽率の推移,日林関西支 部40回大会講演集,350-353,1989

齋藤幹夫・小野 豊:セロハン袋によるマツ・スギ の花粉収集法,日林誌50(12),388-389,1968

## 2 虫媒花の花粉の収集法

虫媒花の花粉は、複数の花粉が固まっていたり、花粉表面に粘着する物質が付着していたりする。また一般に花粉の生産量は風媒花の花粉に比べ著しく少ない。このため特殊な収集法が必要である。以下に有機溶媒を用いた花粉の収集法を紹介する。有機溶媒を用いる理由は、即乾性であること、有機溶媒中では花粉が発芽しないこと、表面の粘着物質を溶かせること等があげられる。なお有機溶媒は人体に有害なため手袋、マスクを着用する。また作業はドラフト内か風通しの良い野外で行う。

## 1)必要な道具等

水差し用の広口瓶、有機溶媒(ヘキサン等) 大型 ビーカ、ロート、濾紙、使い捨て手袋、マスク、筆、 薬包紙、裏ごし器

## 2)手順

①花の咲き始めた虫媒花の枝を採取する。

直接採取したものをそのまま有機溶媒で洗っても 良いが、収量を多くするためには、事前の水差しが

## 必要。

- ②水差しできるように枝を整理する。
- ③水差しし、開花の最盛期まで待つ。 虫媒花のため、虫が訪れない所におく必要があ る。
- ④大型のビーカに有機溶媒を入れ、枝ごと花を溶媒 に漬け花粉を洗い落とす。

有機溶媒に素手や肌が直接触れないようにする。

- ⑤裏ごし器を使って異物を除去する。
- ⑥しばらく静置しておくと花粉が沈殿するので余分な上澄みを捨てる(写真 2)。
- 3)保存方法には以下の2通りがある。
  - ①溶媒中で保存
  - ・有機溶媒に漬けたまま冷蔵庫(5)で保存する。
  - ②乾燥させ保存
  - ・花粉の入った有機溶媒を濾紙をつけたロートにあ ける。
  - ・濾紙が完全に乾くまで待つ。
  - ・筆で濾紙上の花粉を静かに薬包紙上に落として集 める。
  - ・シリーズNo .2 に述べた方法で保存する。



写真-2 有機溶媒で収集されたスダジイの花粉