

マツ属花粉の人工発芽試験

岩 川 盈 夫⁽¹⁾
渡 辺 操⁽²⁾

1. はじめに

花粉の発芽力の検定は、生殖生理学や遺伝学の理論研究上はもちろんのこと、育種の実際問題を取り扱ううえでも必要なことが多い。貯蔵した花粉、遠くから輸送された花粉はもとより、交配に使用する花粉は、すべて事前に発芽能力を知る必要がある。この場合、花粉の発芽能力の検定は、その花粉の受精能力を知ることが目的であるから、もっとも確実な方法は、実際に受粉して試みることである⁸⁹⁾。しかし、この方法は当然その結果がわかるまでにはかなりの時間がかかるので、交配の前に簡単に、手早く花粉の生死、あるいは、受精能力の程度を知りたいというような場合にはそぐわない。このために、花粉の外部形態、染色などによる判定法もあるが、これは誤差が大きいので、比較的正確な結果がえられる人工培養基（発芽床）を用いての発芽試験を行なうのが普通である⁸⁹⁾¹⁵⁾。しかし、人工発芽試験の結果と、実際の受精力とはかなりのくいちがいがあることが知られているので⁶⁾、この点、実用的には、大きな問題が残されているといえよう。

この報告はマツ属、主としてアカマツ、クロマツ花粉について、最適の人工発芽床と発芽条件をみいだすために行なった実験結果である。

この試験を実施するにあたり、いろいろとご協力をいただいた千葉 茂氏（現王子林木育種研究所長）、花粉採取をしていただいた大塚尚四郎氏（現調査室実験林）に感謝の意を表す。

2. 人工発芽床について

2-1. これまでの関連研究の概要

花粉の人工発芽床として、もっとも普通に用いられているものは、蒸留水、糖類の水溶液などの液体発芽床と、寒天、ゼラチンなどの膠質物を加えた固体発芽床である。

発芽床として蒸留水のみを使用した場合、マツ属花粉がよく発芽することは DENGLE & SCAMONI⁷⁾、RIGHTER²⁷⁾、JOHNSON⁴⁷⁾、DUFFIELD¹⁰⁾、TANAKA³⁵⁾、ECHOLS & MERGEN¹²⁾ らによって知られているが、とくに GIORDANO & BONECK¹³⁾、DILLON & ZOBEL⁹⁾ らは、蒸留水が発芽床として、もっともよいと報告している。

水道水は、それに含まれる Ca イオンが花粉の発芽を阻害するといわれ¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾、BUSSE⁴⁾、DENGLE & SCAMONI⁷⁾ らは、マツ属の花粉が発芽しないことをみているが、斎藤²⁹⁾は、水道水にシロ糖を加えて、よい発芽をえている。

飽和水蒸気または一定の水蒸気張力のなかに置くだけで花粉が発芽する例は、広葉樹類ではいくらか知られているが²⁷⁾³²⁾³⁷⁾、マツ属もよく発芽することは DUFFIELD¹⁰⁾、BROWN³⁾ らによって明らかにされ、発芽

検定法として推奨している。

主として花粉の吸水を調節するために固形発芽床が用いられるが、寒天、ゼラチンなどの膠質物を加えて好結果をえている例が多い。マツ属については、DENGLER & SCAMONI⁷⁾ は濃度1%の寒天、DUFFIELD & SNOW¹¹⁾ は寒天2%にシ≡糖10%を加えたもの、JOHNSON¹⁷⁾ は0.75%の寒天、また斎藤は²⁹⁾ 3%の寒天が最適とのべているが、BUSSE⁴⁾ は1.5%のゼラチンにシ≡糖を加えて用いている。膠質物を加えることが、悪い影響を与える例は、*Taxus*¹⁹⁾、*Picea*⁷⁾ その他で若干知られているが、マツ属では、そのような例はまだ報告されていない。

発芽床に糖類を加えることは広く試みられて、多くの場合もっともよい結果をえている。糖類は花粉が発芽するとき、栄養源としても働くことが知られているが¹⁹⁾³⁴⁾、花粉は貯蔵養分だけで、ある程度花粉管をのばすものであるから、糖類は主として発芽床の浸透圧に関係して、花粉の吸水を調節するように働くとも考えられている³⁶⁾。TANAKA³⁴⁾は、アカマツで、糖類を加えると発芽がはやめられるが、最終発芽率は糖を加えない場合と差がないことをみている。

糖類のなかでは、一般にシ≡糖がもっとも多く用いられ、報告も多いが、マツ属については、STRASBURGER³³⁾ はすでにシ≡糖溶液中での発芽をみており、その後、MOLISH²³⁾、PFUNDT²⁶⁾、BUSSE⁴⁾、KÜHLWEIN¹⁹⁾、DENGLER & SCAMONI⁷⁾、DUFFIELD & SNOW¹¹⁾、JOHNSON¹⁷⁾、斎藤²⁹⁾、McWILLIAM²²⁾、TANAKA³⁴⁾ など多数の報告がある。これらを総合すると、シ≡糖濃度は3~30% (約0.1~0.9M) の、かなり広い範囲でよく発芽するようである。広葉樹類では、*Corylus avellana* のように最適濃度が50~60%というような例もあるが²⁾¹⁹⁾、一般に針葉樹類は20%以下で⁷⁾¹⁴⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁹⁾²⁴⁾、マツ属も例外ではない。

シ≡糖以外の糖類については、マツ属では、ブドウ糖はシ≡糖に劣ることが報ぜられている⁷⁾³⁴⁾。

発芽床の水素イオン濃度は、林木で、カラマツのpH1.8~2.6¹⁴⁾、スギの7.2~7.5¹⁶⁾ のような例もあるが、概観してみると、ほぼpH4~6の弱酸性がよいようで¹⁾⁸⁾¹⁴⁾¹⁹⁾、マツ属については、*P. montana* でpH4.5¹⁹⁾、アカマツでpH3.6~6.2²⁹⁾ が報告されている。

2-2. 材料と方法

樹種は林業試験場構内に生育していたアカマツ(*Pinus densiflora*) (7年生)、テーダマツ(*P. taeda*)、リギダマツ(*P. rigida*)、タイワンアカマツ(*P. Massoniana*) (いずれも30~40年生)と、水戸営林署管内村松海岸砂防林内に生育していたクロマツ(*P. Thunbergii*)、茂道松 (いずれも15年生) の花粉を使用した。

テーダマツ、タイワンアカマツ、リギダマツは4月中~下旬、クロマツは4月下旬、アカマツは5月上旬に、それぞれ開花の数日前に雄花の着生している小枝を切り取って、室内の水瓶に挿し、開花をまって花粉を集めた。採取した花粉はただちに5°C、相対湿度40%で貯蔵した。

発芽床は、液体の場合は Van-Tiegem の湿室を用いて懸滴とし、寒天を用いた固体発芽床の場合は、溶けた寒天溶液を消毒したシャーレーの中に、厚さ1~2mmになるように流し、固まったのち1cm平方に切断して、よく洗浄消毒したスライドガラスののせて二重湿室中においた。

発芽床のpH調節は、塩酸、クエン酸および苛性ソーダを用い、東洋濾紙製水素イオン濃度試験紙をつかって行ない、キンヒドロ水素イオン濃度測定器で検定した。

寒天は普通の粉末寒天を用い、シ≡糖その他の糖類は武田製の最純を用いた。水は硬質ガラス製の蒸留装置で採取した再蒸留水を用い、スライドガラスはアルカリ溶出のないことをたしかめて用い、クローム硫酸液で洗った後、十分水洗したものをを用いた。

花粉は毛筆をもちいて発芽床上に散布し、2～4日後に Lactic-phenol で固定、染色後検鏡した。発芽率は各区とも、1発芽床について花粉約200粒を数え、6発芽床の平均値をとった。花粉管の形成が認められたものはすべて発芽とみなし、同時に花粉管が花粉粒の長径(翼を含む長さ)より長くのびたものの%をも算出した。

2-3. 実験結果および考察

2-3-1. 蒸留水、水道水および水蒸気

発芽床として、蒸留水、水道水のみを用いた場合、および発芽床を用いず、飽和水蒸気中に置いた場合の結果は Table 1 のとおりで、水道水では全く発芽しなかったが、蒸留水、水蒸気ともに、かなりよく発芽した。

Table 1. 水蒸気、再蒸留水および水道水でのマツ類の花粉の発芽
Germination of pine pollen on vapor, double-distilled water and tap water
after 72 hour periods of incubation at a temperature of 37 degrees C.

樹種 Species	発芽率 Germination percentage (%)							
	A ¹⁾				B			
	発芽床 Germination media				発芽床 Germination media			
	水蒸気 Vapor		蒸留水	水道水	水蒸気 Vapor		蒸留水	水道水
(蒸留水) ²⁾ (Dist. water)	(水道水) ³⁾ (Tap water)	Dist. water	Tap water	(蒸留水) (Dist. water)	(水道水) (Tap water)	Dist. water	Tap water	
アカマツ <i>P. densiflora</i>	81	70	79	0	72	61	70	0
クロマツ <i>P. Thunbergii</i>	46	44	50	0	29	28	35	0

1) 発芽率A：花粉管の発育が認められたすべての花粉の百分率

同 B：花粉の長径より長い花粉管をもった花粉の百分率

Germination percentage A：Percentage of pollen with any pollen tube.

Germination percentage B：Percentage of pollen with tube longer than diameter of pollen grain.

2) 再蒸留水の水蒸気 Vapor from distilled water.

3) 水道水の水蒸気 Vapor from tap water.

スライドガラスを飽和水蒸気中におくと、表面に微細な水滴がついて、これが発芽床になるので、蒸留水を発芽床に用いた場合と、結果的には同じであるが、本実験での発芽率は両者全く一致している。蒸留水は発芽床としては、もっとも簡単であり、また、マツ類の花粉は水滴の表面に浮ぶので、懸滴にする必要もなく、操作が簡単であるため、飽和水蒸気法とともに発芽検定の簡便法として十分利用できる。ただ、液体発芽床では、固体発芽床にくらべて、花粉の分布が一様でなく、検鏡にやや不便を感じた。

水道水で全く発芽しなかったことは、BUSSE⁴⁾、DENGLER & SCAMONI⁷⁾ らの報告と一致するが、齋藤²⁹⁾はアカマツでシロ糖を加えた水道水をつかって発芽をみている。水道水は、それに含まれる Ca イオンが発芽を阻害するといわれていることは前述のとおりであるが、水道水の含有物は場所により異なると考えられるので、発芽に及ぼす影響も、それにしたがって異なると思われる。本実験では、水道水を用いると、水蒸気の場合でも、発芽率が低下した。

2-3-2. 寒天の濃度

Table 2. マツ類の花粉の発芽におよぼす発芽床の寒天濃度の影響
Effect of concentration of agar on germination of pine pollen
incubated for 72 hours at a temperature of 37°C.

樹種 Species	発芽率 Germination percentage (%)									
	A					B				
	寒天濃度の濃度 Concentration of agar (%)					寒天濃度の濃度 Concentration of agar (%)				
	0	0.5	1.0	2.5	5.0	0	0.5	1.0	2.5	5.0
アカマツ <i>P. densiflora</i>	77	87	85	82	80	41	84	84	80	78
クロマツ <i>P. Thunbergii</i>	48	59	54	50	54	27	57	50	47	48

発芽床にはシロ糖 2.5% を添加 Germination media : 2.5% sucrose.

寒天濃度の影響を0~5.0%の範囲でしらべた結果は Table 2 のとおりである。寒天濃度が高くなるにしたがって、発芽はやや低く、花粉管の伸長もわるくなるようで、0.5~1.0%の低濃度がやや良好であった。この結果は、いままで多数の研究者によっておこなわれた実験が、寒天濃度0.5~3.0%の間で好結果をえていることと全く一致するようである。0.5%では、やや軟らかすぎて、取扱いに不便を感じるの、実用的には1.0%が適当と思われる。

2-3-3. 添加糖類の種類と濃度

Table 3. マツ類の花粉の発芽におよぼす発芽床の糖の種類と濃度の影響
Effect of kind and concentration of sugars on germination
of pine pollen incubated for 72 hours at 37°C.

樹種 Species	糖の種類 Kind of sugars	発芽率 Germination percentage (%)												花粉管の長さ Tube length (μ)				
		A						B										
		糖の濃度 Concentration of sugar (%)																
		0	2.5	5	10	20	40	0	2.5	5	10	20	40	0	2.5	5	10	20
アカマツ <i>P. densiflora</i>	シロ糖 Sucrose	85	89	85	86	63	0	84	88	83	83	43	0	73	77	77	68	29
	ブドウ糖 Glucose	—	88	87	72	52	—	—	86	83	47	7	—	—	86	61	34	13
	麦芽糖 Maltose	—	84	82	79	25	—	—	82	78	73	5	—	—	62	60	40	14
	乳糖 Lactose	—	83	86	84	61	—	—	81	84	80	34	—	—	73	77	58	17
クロマツ <i>P. Thunbergii</i>	シロ糖 Sucrose	58	60	65	51	54	0	45	45	54	34	36	—	41	36	39	29	23
	ブドウ糖 Glucose	—	68	51	57	25	—	—	54	32	23	3	—	—	36	31	18	11
	麦芽糖 Maltose	—	45	42	35	18	—	—	27	22	11	5	—	—	26	25	22	15
	乳糖 Lactose	—	54	45	41	21	—	—	39	27	27	20	8	—	—	30	43	19

発芽床：寒天 1.0%, pH 5.5 Germination media : 1.0% agar, pH 5.5

2-3-3-1. 実験 I

使用した糖類はシ₃糖, ブドウ糖, 麦芽糖, 乳糖の4種類で, 濃度は0~40%の範囲で6段階とした。結果は Table 3 に示すとおりで, 糖類4種の中では, 発芽率ならびに花粉管の伸長からみて, シ₃糖が他の糖類よりもやや良好のようである。また, ブドウ糖も濃度の低い区は良い結果を示しており, 乳糖でも濃度が低い場合はシ₃糖やブドウ糖と大きな差がなかった。

2-3-3-2. 実験 II

アカマツおよびクロマツについて実験を行なった。用いた糖類はシ₃糖, 麦芽糖, ブドウ糖, 果糖の4種で, 濃度は, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 M の4区とした。結果は Table 4 のとおりで, 糖の種類, 濃度とも

Table 4. マツ類の花粉の発芽におよぼす糖の種類と濃度の影響
Effect of kind and concentration of sugars on germination
of pine pollen incubated for 72 hours at 33°C.

樹種 Species	糖の種類 Kind of sugars	糖の濃度 Conc. of sugar (M)				平均 Mean	有意差 Sig. diff. betw. means at 5% level
		0.05	0.1	0.2	0.3		
アカマツ <i>P. densiflora</i>	シ ₃ 糖 Sucrose	87	89	93	92	90.3	2.4
	麦芽糖 Maltose	92	91	94	90	91.8	
	ブドウ糖 Glucose	87	88	92	88	88.7	
	果糖 Fructose	89	90	89	92	89.9	
	平均 Mean	88.8	89.5	92	90.3		
	有意差 Sig. diff. betw. means at 5% level	2.9					
クロマツ <i>P. Thunbergii</i>	シ ₃ 糖 Sucrose	88	90	92	90	89.8	3.7
	麦芽糖 Maltose	88	88	89	89	88.3	
	ブドウ糖 Glucose	82	87	85	82	84.1	
	果糖 Fructose	82	85	89	84	84.9	
	平均 Mean	83.8	86.2	88.6	86.4		
	有意差 Sig. diff. betw. means at 5% level	2.3					

発芽床: 寒天 1.0% pH 5.5 Germination media: 1.0% agar, pH 5.5

に大きな影響は見られないが, シ₃糖と麦芽糖の二糖類の方が単糖類よりややよく, 濃度は0.2M がややよく, 0.05M ではいくらか低い値を示している。

2-3-3-3. 実験 I, II のまとめ

実験 I, II を通じて一貫した傾向をつかみにくい, 調べた範囲内では, 糖の種類による発芽のちがいは, さほど著しいものではない。しかし, 広い濃度範囲で比較的発芽がよく, 花粉管の発育も良好なシ₃糖が, やや他にまさるように思われる。糖の濃度の影響も, 約10%以下では大差ないが, しいていえば, 0.2M (二糖類: 約7.0%, 単糖類: 3.6%) 前後がややよいようである。

糖類を全く加えない場合は、シ₃糖の最適濃度の場合より、やや劣るようであるが、著しい差ではない。樹種間の差は明らかでなかった。

2-3-4. 人工発芽床の水素イオン濃度

Table 5. マツ類の花粉の発芽におよぼす発芽床の水素イオン濃度の影響
Effect of hydrogen ion concentration of media on germination
of pine pollen incubated for 72 hours at 37°C.

樹 種 Species		発 芽 床 の pH 価 pH of media								
		3.5		4.5		5.5	6.5	7.5	8.5	
		塩酸による Adjusted by hydrochloric acid	クエン酸による Adj. by citric acid	塩酸による Adj. by hydrochloric acid	クエン酸による Adj. by citric acid					
発 芽 率 Percent germination (%)	A	アカマツ <i>P. densiflora</i>	27	87	83	91	90	91	50	20
		クロマツ <i>P. Thunbergii</i>	13	67	47	76	69	80	61	33
		茂道マツ <i>P. Thunbergii</i>	43	93	95	97	94	94	83	52
	B	アカマツ <i>P. densiflora</i>	7	80	75	89	90	89	41	14
		クロマツ <i>P. Thunbergii</i>	3	60	35	67	65	73	54	19
		茂道マツ <i>P. Thunbergii</i>	0	75	74	95	92	92	77	47
花粉管の長さ Tube length (μ)		アカマツ <i>P. densiflora</i>	—	45	60	101	125	135	53	36
		クロマツ <i>P. Thunbergii</i>	—	76	73	84	89	96	81	38
		茂道マツ <i>P. Thunbergii</i>	—	104	92	114	95	107	88	47

発芽床：寒天 1.0%，シ₃糖 5.0% Germination media : 5.0% sucrose in 1.0% agar.

Table 6. マツ類の花粉の発芽におよぼす発芽床の水素イオン濃度の影響
Effect of hydrogen ion concentration of media on germination
of pine pollen incubated for 48 hours at 37°C.

樹 種 Species		発 芽 床 の pH 価 pH of media								
		3.5		4.5		5.5	6.5	7.5	8.5	9.5
		塩 酸 Hydrochloric acid	クエン酸 Citric acid	塩 酸 Hydrochloric acid	クエン酸 Citric acid					
		発 芽 率 Percent germination (%)								
	アカマツ <i>P. densiflora</i>	—	1	—	10	15	7	0	0	—
	クロマツ <i>P. Thunbergii</i>	1	3	75	80	82	74	4	0	0
	タイワンアカマツ <i>P. Massoniana</i>	0	0	17	39	36	23	1	0	0
	テーダマツ <i>P. taeda</i>	49	66	91	95	98	80	51	6	0
	リギダマツ <i>P. rigida</i>	—	6	—	99	98	65	—	0	—

発芽床：寒天 1%，シ₃糖 5.0% Germination media : 1.0% agar and 5.0% sucrose.

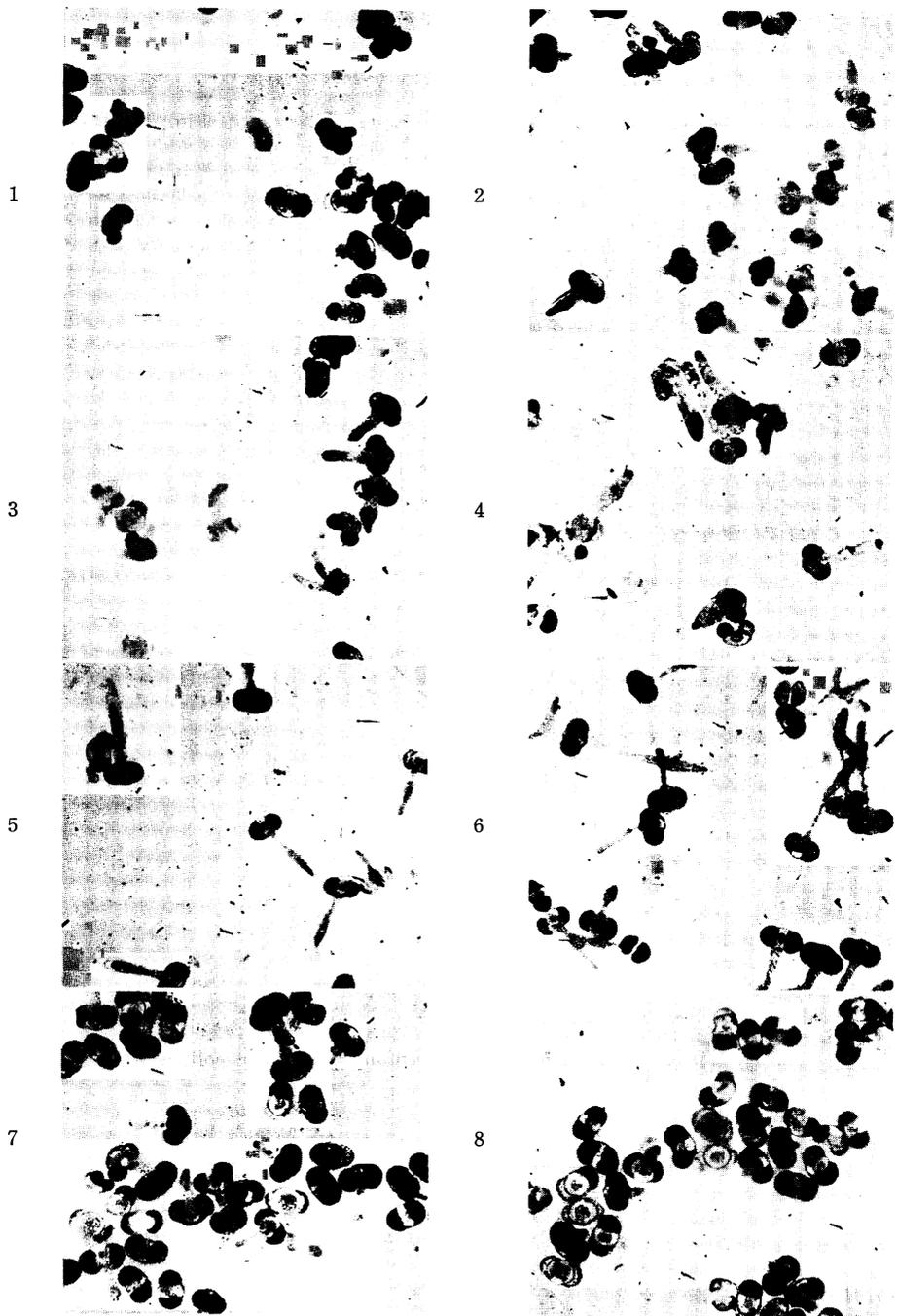


Fig. 1 発芽床の水素イオン濃度がアカマツ花粉の発芽におよぼす影響
Effect of hydrogen-ion concentration of media on germination of *Pinus densiflora* pollen incubated for 72 hours at 37°C.

1. pH 3.5 (塩酸による調整, Adjusted by hydrochloric acid); 2. pH 3.5 (クエン酸による調整, By citric acid); 3. pH 4.5 (塩酸による調整, By hydrochloric acid); 4. pH 4.5 (クエン酸による調整, By citric acid); 5. pH 5.5; 6. pH 6.5; 7. pH 7.5; 8. pH 8.5

アカマツ、クロマツ、テーダマツ、リギダマツ、タイワンアカマツの花粉を用い、pH 3.5~9.5 の範囲について調べた。pH 値の調整には、pH 3.5 および pH 4.5 では塩酸およびクエン酸の2つを使ったが、その他はすべてクエン酸または苛性ソーダを用いた。結果は Table 5, 6 および Fig.1 に示すとおりで、発芽率は Table 5 によれば pH 4.5~6.5 の間で、また Table 6 では pH 4.5~5.5, 各樹種とも好結果を示している。花粉管の伸長はアカマツ、クロマツでは pH 6.5 がもっとも良好であった。KÜHLWEIN¹⁹⁾ は *Pinus montana* で、花粉管の伸長が最高の pH 値は発芽率最高の pH 値よりやや高いことをのべているが、ここでもその傾向がうかがえる。以上のことから、マツ類では発芽床の適当な pH 値は 4.5~6.5 の付近にあるものと考えられる。

pH 値の調節には、塩酸よりもクエン酸を用いた方が、明らかによい結果がえられたが、このことは単に pH 値だけが問題ではなく、酸の種類そのものが発芽に影響を与えることを示している。

3. 発芽条件について

温度、光、花粉の前処理（置床前の吸湿処理）が、花粉の発芽に及ぼす影響をしらべた。

3-1. これまでの関連研究

マツ属花粉の発芽の最適温度は、DENGLE & SCAMONI⁷⁾ が *Pinus banksiana*, *P. silvestris* で 25~30°C, McWILLIAM²²⁾ が *P. nigra* で 30~32°C と報じている。他樹種についての報告を概観してみると、針葉樹類では、*Picea Abies*, *P. omorica*, *Abies alba* — 30°C⁷⁾; エゾマツ, トドマツ — 25°C¹⁴⁾; スギ — 22~27°C¹⁶⁾ などで、広葉樹類では、*Camellia* — 20~27°C³⁰⁾; *Hicoria* — 23°C³⁸⁾; *Corylus* — 20~30°C, *Alnus* — 25°C, *Betula* — 30°C, *Carpinus* — 18°C, *Fagus* — 18~30°C, *Quercus* — 30°C⁷⁾; *Alnus*, *Betula* — 20°C³¹⁾ などがある。広葉樹の一部を除いて、大部分は 25~30°C 付近にあって、マツ属の場合とほぼ一致している。

光線が花粉の発芽に及ぼす影響を、JOHNSON は螢光燈を用いて、*Pinus*, *Picea*, *Quercus* についてしらべたが、光線の影響はほとんど見られなかった¹⁷⁾。佐々木が、ウメ、ヤマツバキ、チャについて行なった実験結果も同様であった³⁰⁾。紫外線の照射が花粉の発芽を阻害することは知られている⁵⁾。

木原¹⁸⁾は、乾燥したヤナギ、ニレの花粉の発芽試験を行なう場合は、直接発芽床にまきつける前に、花

Table 7. マツ類の花粉の発芽におよぼす温度の影響
Effect of temperature on germination of pine pollen.

樹種 Species	温度 Temperature (°C)				
	室温 (Room temp.)	23	28	33	37
	発芽率が最終発芽率の90%に達するまでの日数 Germ. percent attained to 90% of final percent after (days)				
アカマツ <i>P. densiflora</i>	4	3	1	1	1
クロマツ <i>P. Thunbergii</i>	4	4	2	2	2
テーダマツ <i>P. taeda</i>	3	2	1	1	1
リギダマツ <i>P. rigida</i>	2	2	2	1	1

- 1) 発芽床：寒天 1.0%, シュ糖 5.0%, pH 5.5
Germination media : 5.0% sucrose in 1.0% agar, pH 5.5.
- 2) 室温：実験期間中の平均最高温度は 17°C
Room temperature : Mean maximum temperature was 17°C.

Table 8. マツ類の花粉の発芽におよぼす温度の影響
Effect of temperature on germination of pine pollen.

樹種 Species	温度 Temperature (°C)	保温時間 Period of incubation (hours)			
		24	48	72	96
		発芽率 Germ. percentage (%)			
アカマツ <i>P. densiflora</i>	37	74	77	81	86
	41	2	18	33	22
	47	0	0	0	0
クロマツ <i>P. Thunbergii</i>	37	0	30	33	33
	41	0	1	3	7
	47	0	0	0	0
テーダマツ <i>P. taeda</i>	37	75	95	90	88
	41	5	42	31	35
	47	0	0	0	0
リギダマツ <i>P. rigida</i>	37	77	95	90	91
	41	11	31	48	37
	47	0	0	0	0

発芽床：寒天 1.0%，シロ糖 5.0%，pH 5.5

Germination media : 5.0% sucrose in 1.0% agar, pH 5.5

粉を湿室内におくか、パラフィン紙に包んで水に浮かべ、徐々に吸水させた後、まきつけるほうがよく発芽するとのべている。このような前処理の効果は、果樹類²⁸⁾ やグラジオラス²⁵⁾ などの花粉についても知られているが、DUFFIELD & SNOW¹¹⁾ は、マツ属の花粉について、この方法で高い発芽率をえている。

3-2. 発芽温度について

3-2-1. 材料と方法

アカマツ、クロマツ、テーダマツ、リギダマツの4樹種の花粉を用いた。実験は室温ならびに23~37°Cと、33~47°Cの2回にわけて定温器を用いて行ない、温度が花粉の発芽に及ぼす影響をしらべた。

3-2-2. 実験結果

結果は Table 7, 8, Fig. 2, 3, 4 に示すとおりで、23~37°Cでは最後の発芽率には差異はないが、23°Cでは発芽

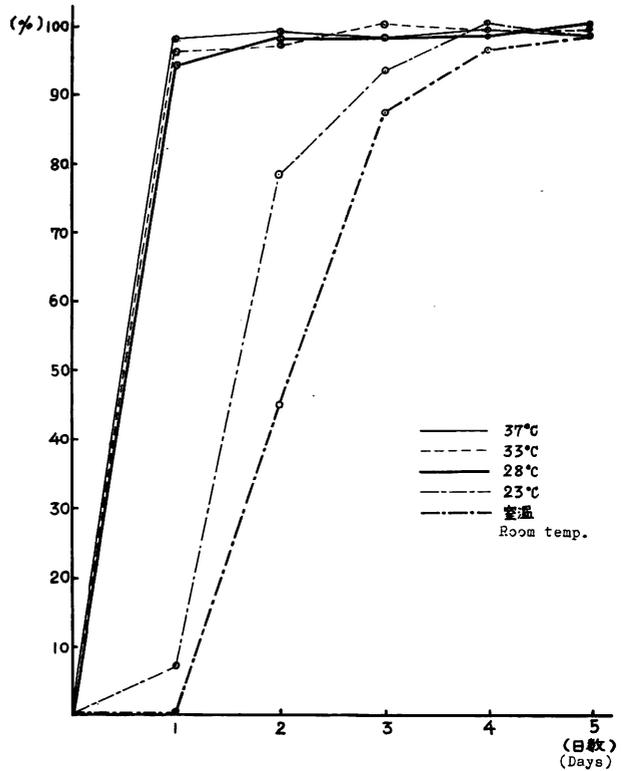
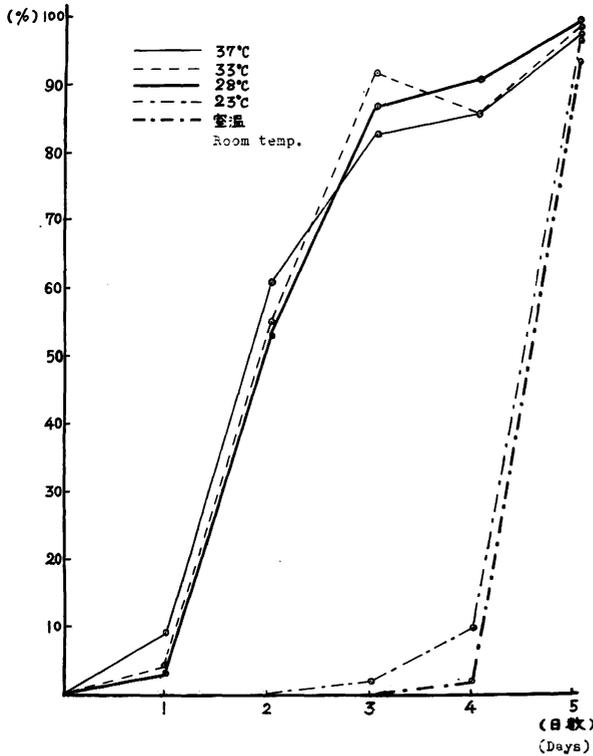


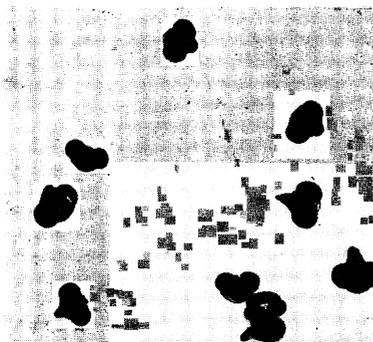
Fig. 2 アカマツの花粉のいろいろな温度での発芽経過
Germination curves under different temperature conditions of *Pinus densiflora* pollen.



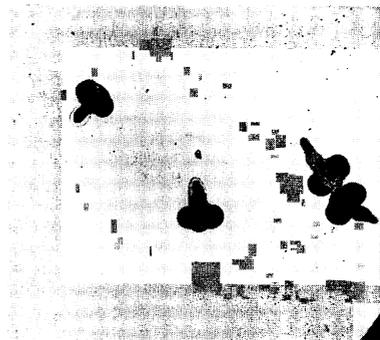
の早さと花粉管の伸長がかなりおくれる。28~37°Cでは著しい差は認められなかった。また、41°Cでは発芽率は著しく低下し、47°Cでは各樹種ともすべて発芽しなかった。テーダマツとリギダマツは、低温と高温の差が少なくなかったが、これは樹種の特長か、あるいは、供試花粉の活力の差によるものか、明らかでない。

3-3. 花粉の発芽と光との関係

←Fig. 3. アカマツの花粉のいろいろな温度での発芽経過 (花粉径より長い花粉管をもった花粉の百分率) Germination curves under different temperature conditions of *Pinus densiflora* pollen. Percentage of pollen with tubes longer than diameter of pollen grain.



Room temperature



23°C



33°C

Fig. 4. アカマツの花粉のいろいろな温度での発芽 Germination under different temperature conditions of *Pinus densiflora* pollen incubated for 72 hours.

3-3-1. 実験 I

アカマツ, クロマツ, テーダマツ, リギダマツ, タイワンアカマツの5樹種の花粉をもちいて, 7月6日, 8月28日の2回にわたって, 室内の直射日光をさけた明るい場所と, 光を遮った暗所とで発芽の比較を行なった。結果は Table 9 のとおりで, 発芽率には有意な差は見られなかった。

3-3-2. 実験 II

アカマツとクロマツの花粉をもちいて, 光の強さが花粉の発芽におよぼす影響をしらべた。光の照射は, ガラス張り定温器の上部および側面にとりつけた8本の20ワット昼光蛍光灯を光源として行ない, 照射の明るさを600ルクス, 1,200ルクスの2段階として, 光を全く遮断した場合を対照区として加えた。

結果は Table 10 のとおりで, アカマツでは有意差は見られなかったが, クロマツでは明らかに1,200ルクスで発芽が減少した。

Table 9. 光の有無がマツ類の花粉の発芽におよぼす影響
Effect of light and dark on germination of pine pollen
3 days after sowing at room temperature.

樹種 Species	実験 I Exp. I		実験 II Exp. II	
	明るい所 Light	暗い所 Dark	明るい所 Light	暗い所 Dark
	発芽率 Germ. percentage (%)			
アカマツ <i>P. densiflora</i>	79	72	67	73
クロマツ <i>P. Thunbergii</i>	92	89	89	92
タイワンアカマツ <i>P. Massoniana</i>	69	77	75	81
テーダマツ <i>P. taeda</i>	89	92	93	92
リギダマツ <i>P. rigida</i>	—	—	96	96

発芽床: 寒天 1%, シュ糖 5.0%, pH 5.5

Germination media : 5.0% sucrose in 1.0% agar, pH 5.5

Table 10. マツ類の花粉の発芽におよぼす光の影響
Effect of light on germination of pine pollen
incubated for 72 hours at 29 to 30°C

樹種 Species	処理の種類 Kind of treatment	発芽率 Germ. percentage (%)					有意差 Sig. diff. of mean at 5% level
		Exp. I	Exp. II	Exp. III	平均 Mean		
アカマツ <i>P. densiflora</i>	暗黒 Dark	77	85	77	79		
	照射 Light	600 lux	84	87	72	81	
		1200 lux	77	75	20	57	
クロマツ <i>P. Thunbergii</i>	暗黒 Dark	60	68	70	66		
	照射 Light	600 lux	61	43	64	56	
		1200 lux	27	28	12	22	

発芽床: 寒天 1.0%, シュ糖 5.0%, pH 5.5

Germination media : 5.0% sucrose in 1.0% agar, pH 5.5

3-3-3. 実験 I, II のまとめ

実験 I, II を通じて、普通室内の散光程度の光では、花粉の発芽に影響はないことがわかったが、1,200ルクス程度の明るさになると、発芽はやや阻害されるようである。紫外線の阻害作用は知られているが、蛍光灯から放射される短波長光が、発芽阻害の原因かどうか、この実験ではわからない。

3-4. 花粉の予措

3-4-1 材料と方法

温度5°C、相対湿度10%または20%で、43か月間貯蔵したテーダマツおよびクロマツ花粉を用いた。花粉を発芽床にまきつける前の予措として、次の処理を行なった。

A : 温度は5°Cのままとし、相対湿度を90%としたもの

B : 温度27°C、相対湿度90%としたもの

以上の2区について、それぞれ、24時間および48時間処理し、処理を終わった花粉は、ただちに発芽床にまきつけた。対照区は、貯蔵花粉を、そのまま発芽床にまきつけたものである。発芽床、発芽温度、発芽率算定法などは、前述の実験と同じであるが、長期貯蔵花粉は発芽がややおそいので、発芽期間は4日間とした。

3-4-2. 実験結果

結果は Table 11 に示すとおりで、相対湿度10%で貯蔵したテーダマツ花粉の場合は、効果が判然としなかったが、その他の場合は、概して5°C、相対湿度90%の処理で発芽率は向上した。温度を27°Cとした場合、発芽率はかえって低下したが、その理由はわからない。処理時間については、24時間と48時間の間に著しい差は認められないので、24時間処理で十分であろう。

Table 11. 花粉の吸湿前処理がマツ類の花粉の発芽におよぼす影響
Effect of humidifying pollen before sowing on germination
of pine pollen stored for 43 months at low humidity.

樹種 Species	供試花粉 ²⁾ の貯蔵湿度 Storage humidity of pollen (%)	吸湿処理の時間 ¹⁾ Humidifying period (hours)				無処理 Not humidified
		24		48		
		吸湿処理中の温度 Humidified at temperature of (°C)				
		5	27	5	27	
		発芽率 ³⁾ Germination percentage (%)				
クロマツ <i>P. Thunbergii</i>	10	91	58	76	39	76
	20	75	54	77	35	60
テーダマツ <i>P. taeda</i>	10	59	12	32	4	52
	20	72	74	78	37	49

- 1) 吸湿処理の湿度は90%
Humidified at 90% relative humidity.
- 2) 貯蔵湿度は5°C
Stored at 5°C.
- 3) 37°Cで96時間保温。発芽床：寒天 1.0%, シュ糖 5.0%, pH 5.5
After 96 hour incubation at 37°C.
Germination media : 5.0% sucrose in 1.0% agar, pH 5.5

本実験の結果は、若干の混乱はあるが、低温、高湿度による前処理によって、貯蔵花粉の発芽率が向上することは認めてよいと思われ、DUFFIELD & SNOW¹¹⁾ が *Pinus strobus*, *P. resinosa* で、4°C、相対湿度75%で24時間処理することによって、良好な発芽をみたことと一致する。

4. 要 約

マツ属、とくにアカマツおよびクロマツ花粉の実用的な人工発芽試験のための適当な条件をみいだす目的で本試験を行なった。その結果は次のとおりであった。

- 1) マツ属花粉の人工発芽に用いる発芽床としては、寒天 0.5~1.0%，シロ糖濃度は 0.1~0.3M，水素イオン濃度は 4.5~6.5%が適当と思われる。
- 2) 発芽床として、蒸留水あるいは水蒸気のみを使用した場合でも、かなり高い発芽を示すので、マツ属の花粉の発芽検定の簡便法として利用できるように思われる。水道水では発芽しなかった。
- 3) 水素イオン濃度の調節には、塩酸よりクエン酸をつかう方がよい。
- 4) 発芽温度は 27~37°Cで最良の結果を示し、41°Cでは発芽率が著しく低下し、47°Cでは発芽が認められなかった。23°Cおよび室温では、最後の発芽率には差異はなかったが、発芽の早さには大きな差があった。
- 5) 普通の室内の散光程度の弱光では、花粉の発芽に影響はなかったが、強い光は発芽を阻害した。
- 6) 置床前に花粉を湿室内において、あらかじめ吸湿させると、少なくとも貯蔵花粉では、発芽率がかなり向上した。温度 5°C、相対湿度 90%で 24時間処理が適当である。

文 献

- 1) BERG, H. v. : *Planta*, 9, pp. 105~143, (1929)
- 2) BRANSCHIEDT, P. : *Planta*, 11, pp. 368~456, (1930)
- 3) BROWN, A. G. : *Aust. For.*, 22, pp. 10~12, (1958)
- 4) BUSSE : *Tharandt. Forstl. Jahrb.*, 77, pp. 225~231, (1926)
- 5) COSCIELNY, S. : *Roczm. Dendrol. Polsk. Tow. Bot. Worsz.*, 15, pp. 31~78, (1961)
- 6) CUMMING, W. C. & F. I. RIGHTER : *U. S. Dept. Agr., Circular No. 792*, (1948)
- 7) DENGLE, A. & A. SCAMONI : *Ztschr. Forst- u. Jagdwes.*, 71, pp. 1~40, (1939)
- 8) DIJKMAN, M. J. : *Arch. Rubberculture*, 22, pp. 239~259, (Chem. Abstr., 34 p. 135) (1940)
- 9) DILLON, E. S. & B. V. ZOBEL : *Journ. For.*, 55(1), pp. 31~2, (1957)
- 10) DUFFIELD, J. W. : *Ztschr. Forstgen.*, 3, pp. 39~45, (1954)
- 11) DUFFIELD, J. W. & A. G. SNOW, Jr. : *Amer. Journ. Bot.*, 28, pp. 175~177, (1941)
- 12) ECHOLS, R. M. & F. MERGEN : *For. Sci.*, 2 (4), pp. 321~327, (1956)
- 13) GIORDANO, E. & R. BONECH : *Ital. For. Mant.*, 11(4), pp. 175~181, (1956)
- 14) 原田 泰・柳沢聰雄 : *北海道林試報.*, 2 : pp. 45~70, (1946)
- 15) 岩川盈夫 : *育林学新説*, pp. 1~31, (1955)
- 16) 岩川盈夫・千葉 茂・渡辺 操 : *青森支場第3回林業試験研究発表記録*, pp. 1~5, (1951)
- 17) JOHNSON, L. P. V. : *Canad. Journ. Res.*, 21, pp. 332~342, (1943)
- 18) 木原 均 : *札幌博物会報.*, 7 : pp. 179~184, (1919)
- 19) KÜHLWEIN, H. : *Beih. Bot. Cbl.*, 57, pp. 37~104, (1937)
- 20) LIDFORSS, B. : *Jahrb. Wiss. Bot.*, 29, pp. 1~38, (1896)

- 21) LIDFORSS, B. : Jahrb. Wiss. Bot., 33, pp.232~312, (1899)
- 22) McWILLIAM, J. R. : For. Sci., 6(1), pp.27~39, (1960)
- 23) MOLISH, H. : Sitzungsber., Akad. Wiss. Math. Naturwiss. Kl., 102, pp.423~448, (1893)
- 24) 岡田幸郎・森川広映 : 日林誌, 32 : pp.109~110, (1950)
- 25) PFEIFFER, N. E. : Contr. Boyce Thompson Inst., 10, pp. 429~440, (1939)
- 26) PFUNDT, M. : Jahrb. Wiss. Bot., 47, pp.1~40, (1910)
- 27) RIGHTER, F. I. : Journ. For., 37, pp.574~576, (1939)
- 28) RUTTLE, M. L. & B. R. NEBEL : Journ. Pomol. and Hort. Sci., 14, pp.347~359, (1937)
- 29) 斎藤雄一 : 日林誌, 32, pp.217~19, (1950)
- 30) 佐々木喬 : 農学会報, 208, pp.1033~1049, (1919)
- 31) 佐藤義夫・武藤憲由 : 63回日林講, pp.126~128, (1954)
- 32) SCHOCH-BODMER, H. : Protoplasma, 25, pp.337~371, (1936)
- 33) STRASBURGER, E. : Jenaische Ztschr. f. Naturwiss., 11, (1877)
- 34) TANAKA, K. : Sci. Rep. of Tohoku Univ., 4th Ser., Biology, 21 (3~4), pp.185~198, (1955)
- 35) TANAKA, K. : Sci. Rep. of Tohoku Univ., 4th Ser., Biology, 22(4), pp.219~224 (1956)
- 36) 徳川義親 : 植雑, 28 : pp.494~513, (1914)
- 37) WALDERDORFF, M. G. v. : Bot. Archiv, 6, pp.84~110, (1924)
- 38) WOODROOF, J. G. : Journ. Agr. Res., 40, pp.1059~1104, (1930)
- 39) 安田貞雄 : 高等植物生殖生理学, (1944)

Artificial Germination of Pine Pollen.

MITSUO IWAKAWA and MISAO WATANABE

(Résumé)

The effects of different constitutions of artificial media, different temperatures, different light conditions and pre-treatment of pollen on germination of pine pollen were studied with a view to arranging a practical method of testing pine pollen germination.

1) The media containing 0.5 to 1.0% agar and 0.1 to 0.3 M sucrose, being adjusted to pH 4.5 to 6.5, seemed to be the best of media tested. Vapor or double-distilled water without nutrients was also an excellent medium for pine pollen germination, although it tended to give slightly lower germination percentage. Tap water gave no germination. Citric acid decidedly gave better results than hydrochloric acid in adjusting pH value of media.

2) Pollen germination percentage was best at temperatures of 28 to 37°C, while considerably lower at 41°C and none at 47°C. At temperature of 23°C or at room temperature the pollen germination was delayed, though the final germination percentage was not affected.

3) Results from studies on light and dark incubations of pollen showed no significant difference in germination percentage under moderate light conditions, but tended to indicate a depression of germination percentage by strong light.

4) Humidifying of pollen at temperature of 5°C in 90% relative humidity for 24 hours before placing it on a wet medium gave beneficial effects on the germination of pollen stored at low humidity