

つばきの結実促進に就て 第1報

培養基を異にせる場合の花粉の 発芽並に発育状態に就て

林業試験場九州支場 石崎厚美

園川秀明

はしがき

林業植物はその増殖を種子に俟つべきものが極めて多いので、従来から種子の結実促進の問題について種々の研究結果が報告せられ、種子豊凶調査、種苗供給計画等は造林事業の中に於て最も重要な年中行事として実施せられているが、亦だに結実の際迄程度、種子の豊凶関係に就て確定的な結果が得られていない。之は此等の計画が基礎的な実験観察を省いて、特に野外調査の結果のみから推論していた事に原因するものであつて、苟も種子の問題に就ては生殖細胞の初期にさかのぼつて始めねばならないのであつて、而も結実促進の問題はこの生殖細胞の分裂の初期より終期迄について内部形態及び生理学的特徴に外部条件を關照せしめて考察する場合に初めて科学的基礎に於ける結実促進の新技术なり新しい操作が考察立証せらるゝものである。

つばきは九州に於ては、鹿児島、長崎、熊本、宮崎の諸地方に極めて広い天然林を有し、国有林の経営上のみならず民有林の改善奨励上よりも、特用樹種として極めて重要な位置を占めており、此の種の結実促進の問題は極めて重要な問題であり解決に緊急を要する問題である。つばきは又開花の期間の長いこと、樹高の低いこと、種実が植物油として食用その他の油脂原料として重要な用途に供せられている事などより、林木種子の結実促進の試験材料として申分のない樹種であるので、数年来より営林局に於てこの問題を取り上げ現地調査が行われて来ていたが、昭和22年よりこの問題が林業試験場熊本支場へ移され、解決を急ぐ為、植物の生殖生理学的方面、栄養生理学的方面、品種及び病虫害的方面より鋭利して何等かの結果を得んが為に実施した試験結果の一部であつて、本試験は特につばきの花粉観察の基礎をなす花粉の発芽試験の場合の培養基の種類及び濃度について最も適する種類及び濃度を見出さんが為行つたものである。

実験の材料及び実験方法

つばきは品種が極めて多く園芸品種を加えると400種を下らないと称せられているが、山野に自生するやまつばきの中にも種々の花の形態を異にするものが認められるが、この培養基並に培養濃度の決定に及ぼす関係を排除する為の本実験に供した母樹は最も典型的な樹型、葉及び花の形態及び一般に Deploid の花粉を有して栄養状態も良好にして南面の日当りの良い林縁の、中度に着花せる壯令樹(樹令推定35年生)を熊本市京町本町の営林局に近い民有林内に選び、その供試木の樹冠の中位

より、当日雨池のものを早期採取して実験に供した。花粉の新鮮を特に留意したのは花粉の寿命が花粉の発芽及び発育状態に甚しい影響を及ぼすからである。

花粉の発芽及び花粉管の伸長には外界の条件、即ち温度、湿度、光線、発芽床の種類等に支配せらるゝことが極めて大であつて、従来之等に関して種々の研究報告がなされているが、発芽床の種類の実験としては、(a)柱頭を用いる方法、(b)羊皮紙、水草の葉又は膀胱紙を用いる方法、(c)水を用いる方法、(d)砂糖及び葡萄糖を用いる方法、(e)寒天又は腸液物を添加する方法、(f)他の化学物質を添加する方法等に分けられ、森林植物に於ては Pfundt, Waldendorff, Braunscheidt, P. Busse, Liedfortz, Kuhlwein, Dengler & Scombi, 原田泰の研究があるが殆ど(a)(c)(d)(e)を用いた場合が多く、只原田泰氏のみは(f)の場合も種々試みている。本実験は自然状態に於ける花粉の発芽及び発育に近い状態を、室内培養試験の結果に就て即ち最適培養基の種類及び濃度を見出さんとするのが目的であるから凡ゆる培養基の種類及び濃度に就て実験せらるべきであるが、観察及び実験操作に於て最も簡便なること等の条件の制約をうける場合には Glucose, Saccharose, 水道水及び蒸留水等を与えられ、本実験に於ては Glucose, Saccharose の 2, 4, 5, 10, 15, 20% の各濃度とつばきの花より採取した花蜜を原液そのままのもの、尿液と蒸留水の割合が 1:1, 1:2, 1:3, 1:5 の 5 種類の稀釈液の如き 3 種の培養塩を用い、各液共に向陽液を用いて PH を 6.0 として培養した。之は従来花粉の発芽試験に於て培養基の PH は殆ど絶ての場合に 6.0 が最良の結果を得られているからである。

花粉の培養方法には種々あるが、検鏡に最適の方法は懸濁培養であるので本実験に於てはこの方法を用いた。培養には種子の発芽試験の場合と同様にアクリルの中に入れた発芽試験用染付皿に入れ、その皿の上の方にパラットを並べて恒温器に入れ、湿度を 23°C に固定して 2 昼夜経過の後直ちに検鏡し、発芽率、花粉管の太さ及び長さを測定した。花粉の発芽試験に 23°C を用いたのは、やまづばきに就てかつて佐々木氏が 21°C を最適温度と決めており本試験に使用の恒温器が 23°C にしか調節出来なかつた為であり、2 昼夜にて試験を打切つたのは殆ど認めて 21~23°C に於ては 24 時間以内に於て生長終止するからである。発芽率の測定は $\times 50$ にて全視野内にあるものをかぞえ、発芽の特徴は花粉管が花粉粒の直径の約 1~2 倍に伸びたものを限界として決めた。之は膨圧によつて花粉内容物の押出されているものを発芽と認めることのないためである。

花粉管の太さ及び長さは $\times 200$ にて検鏡し、炭素マイクロメーターを用いて太さは根元、先端及びその中間 3ヶ所を測定し、長さは根元より最先端までの実長を測定した。

実験の結果

つばきの花粉粒は直径 33~50 μ の黄々緑色の円球体の内容をもつて充填せられている塊物にして、発芽に當つては膨圧によつて皮膜が破れ中から殆ど半透明ガラス管状の花粉管が膨出し、その内容は Callose plug が形成されるが之は細胞質の逆流を防ぎ且つ果糖質の流動を花粉管の末端の部分丈けに限るようにするためにつくられるので、この Callose plug がつくられるのはその基部は

例え何等かの障害によつて切除せられてもその先端は何等生理的な発育を遂げることなく伸張を続けて受精を完了するように出来ているのである。

初て Glucose を培養基に用いての全液の 2, 4, 5, 10 の各培養濃度による花粉発芽の関係をみるに第 1 表の如くにして 2% 最も良好で、次いで 4%, 5%, 10% の順位を示している。次に花粉管の長さに見ると之も又 2% が最も良好で 2779 μ を示し、全培養基 4%, 891 μ にして之に次ぎ、5% は 182 μ 、10% は 41 μ にして花粉管の生長は培養液の濃度高さに従い漸減の結果を示している。次に花粉管の大きさにつき見るに 2%, 4%, 5% 共に殆ど硝子管状を呈して先端と根元の部分に大きさの差を認め難いが 10% 以上の濃度には発芽管の先端は稍、尖れる傾向を示している。

次に Saccharose を培養基に用いた場合の花粉の発芽及び花粉管の発育状態を見るに、第 2 表の如くにして花粉の発芽に於ては 4% のものが最も勝つて 87.80% を示し、次いで 5% (80.65%), 2% (80.56%), 10% (78.86%), 15% (68.33%), 20% (64.29%) の順位を示している。花粉の長さは Saccharose 10% のものが最も長く 2881 μ にして、次いで 5% (1678 μ), 2% (1310 μ), 4% (1214 μ), 20% (81 μ), 15% (95 μ) の順位を示し、略々 10% 以下の濃度のものが然らざるものに比べて発育良好の結果を示している。次に花粉管の大きさに就き見るに、何れも 13~16 μ の大きさにしてその形状は Glucose と全称に稍、培養基の濃度のうすいものは先端が細まり、培養濃度の高いものは稍、先端の大きまる傾向を示している(第 4 表参照)。之は細胞内容物の濃度とその固形物と培養基の濃度との水分平衡関係の状態によつて生ずる差異ではないかと推測される。

次につばきの花の蜜腺より採取した蜜を原液として之に蒸留殺菌水 1 を加えたもの、全液に 2 倍量を加えたもの、全液に 3 倍量を加えたもの、全液に 5 倍量を加えたもの、各濃度別に花粉の発芽に就て見ると第 3 表の如くにして、濃度の最も低い 1:5 最も勝つて 74.07% を示し、1:3 は 65.08% にて之に次ぎ、1:2 は 64.15%、1:1 は 22.20% にして之も又濃度のうすまるに従い発芽率の良好なる結果を示しているが、1:5 稀釈液が最適濃度かどうかは更にそれ以上の稀釈液使用の場合の結果を得てからでなければその最適濃度を決定する事はできないが、発芽管の長さに見ると最も長いものは 1:3 の 32.11 μ にして、次いで 1:5 (1296 μ)、原液 (345 μ)、1:2 (156 μ)、1:1 (142 μ) の順位を示し、花粉管の発育に最適の濃度は 1:3 液が得られるので花蜜濃度の限界は略々此の附近にあるものと考えられる。

人工培養基を用いての発芽試験の結果が実際の花粉の場合と稍、異なる結果を示す事は既に藤井健三、斎藤持明及び中村平和氏等の番茄の落花に關する研究に於て証明せられているところであつて、やまつばきに就ても全稱の事が考えられるが、今 Glucose, Saccharose 及びつばき花蜜の 3 種の培養基の優劣を発芽率及び花粉管の伸長量より考察すれば、発芽率は Saccharose 最も勝り、次いで Glucose、つばき花蜜の順位を示しており、花粉管の伸長量はつばき花蜜に最大を求め、次いで Saccharose, Glucose の順位に最大を求め得られるが總じて成績の良好ものは Saccharose 培養基のものといわれる。

初て森林植物の花粉の発芽試験に蔗糖を用いられた結果を見るに、1910年 Pfundt, M. が *Alnus Glutinosa* を用いて花粉の生存期間に及ぼす温度の影響についての研究結果があり、氏は種々の蔗糖培養液濃度のものを使用の結果 10~20% が最も良好なる結果を示したと報告されている。又、Braunscheidt, P. は 1930年花粉の発芽生理とその実験的影響に於て *Corylus* を材料として研究の結果 30~50% が最適濃度であると報告され、Kühlwein (1937) は又 *Corylus-Glutinosa*, *Betula* 等を用いて研究の結果、前者は蔗糖 40~60% を最適とし、後者は 10~20% を最適濃度としている。Dengler & Scamoni (1939) は種々の森林植物の花粉の発芽試験を行い針葉樹に於ては *P. Silvestris*, *P. Banks*, *P. Montana*, *Picea excelsa*, *P. Omorica*, *A. Alba* 等、培養基は蔗糖溶液 5, 10, 20, 30, 40%、*Trauben Zuckerlösung* 20%, 蒸餾水 20%、寒天 1% の 8 種について研究の結果 5% 蔗糖最も勝ると報じ、闊葉樹に於ては *Corylus*, *Aveilla alnus glutinosa*, *A. incana*, *Betula pubesces*, *Carpinus*, *betulus*, *Fagus silvestrica*, *Quercus sobor*, *Q. sessilis*, *Ulmus montana*, *Fraxinus excelsior*, *Sabix* & *Tilia plathyphyllos* に就て実験の結果 *Corylus* 及び *Alnus* に於ては 30%, *Betula*, *Carpinus*, *Fagus*, *Quercus*, *Ulmus*

Fraxinus は 20%、動物の媒介による *Salix* の属に於ては 5%、*Tilia* は 40% の *Saccharose* を最適濃度とし *Glucose* との比較の結果は常に *Saccharose* の勝る結果を示していたと、原田泰氏は又アヲトマツ、アカトマツ、ウツロモミ、シラ、アヲモリトマツ、エゾマツ、アカエノマツ、ハリモミ、タウヒ、マツガタケトウヒ、ドイツトウヒ、カナダトウヒ等につき調査の結果、樹種によつて最適濃度及び *Saccharose*, *Glucose* の培養基の適否を異にし、トマツは *Saccharose* 10~15% を最適とし、ハリモミ、タウヒ、マツガタケトウヒ、ドイツトウヒはより小さいものを可とし、*Saccharose* 及び *Glucose* の間には先づトマツは *Saccharose* よりも *Glucose* 15% が最も勝り、エゾマツ、マツガタケトウヒ、シラベも又 *Saccharose* 勝り、*Glucose* はハリモミ、ドイツトウヒに勝る結果を示している。

斯くの如く従来の実験結果を見るも、最適培養基の濃度は区々であつて花粉の発芽條件は樹種によつて相違あることが明瞭にせられ得る。従来の実験結果は *Saccharose* の 20% 内外の濃度の他に、水道水、蒸餾水及び雨水等に於ても是、良好なる発芽成績を見ている事から花粉の発芽とは従来の実験結果の限度より稍、低い限度に於ても良好結果が得らるべきことが考慮せられ、本実験の結果の 4% をつばき花粉発芽に於ける最適濃度としても誤りないものとする。又全樹の花粉管の発芽には生體的に見ても全樹の花蜜の 1:3 solution を最適とすることが考えられるが、一般には花粉の発芽も合せて考慮せらるべきであるので此の場合には 4% より稍、高い 5~10% の *Saccharose solution* を適当とすることゝなる。各濃度の培養基は前書にかゝり易い関係からも将来のつばき花粉の培養には此等の濃度を与るべきである。

(紙面の関係にて文献を摘要省略)

第1表 種々の濃度のGlucoseを培養基とせる場合の花粉の発育及び花粉管の発育状態

培養液濃度	アベラト数	発芽率				測定数	花粉の発育状態							備考	
		供試花粉数	発芽花粉数	未発芽数	%		花粉の長さ		花粉管の長さ				先端		
							長	巾	根元	1	2	3			
Glucose 2%	49	2037	1554	567	76.29	308	50	46	13	14	14	13	11	2779	懸濁液の濃度不明1ヶ 測定操作中デキガラス破損1ヶ
4	50	1800	1240	560	68.89	450	41	39	13	13	13	13	12	891	
5	49	1764	1183	581	67.06	294	38	38	13	13	13	13	14	182	
10	50	1050	620	430	59.05	500	37	39	12	-	-	-	-	41	

第2表 種々の濃度のSaccharoseを培養基とせる場合の花粉の発育及び花粉管の発育状態

培養液濃度	アベラト数	発芽率				測定数	花粉の発育状態							備考	
		供試花粉数	発芽花粉数	未発芽数	%		花粉の長さ		花粉管の長さ				先端		
							長	巾	根元	1	2	3			
Saccharose 2%	48	576	464	192	80.56	272	38	37	15	14	15	13	13	1310	測定操作中デキガラス破損2ヶ " 2ヶ " 7ヶ " 1ヶ 懸濁液の濃度不明1ヶ
4	50	410	360	50	87.80	200	41	39	14	15	13	13	13	1214	
5	48	476	400	96	80.65	264	38	37	14	14	13	12	12	1678	
10	48	784	776	208	78.86	224	38	39	13	13	12	12	11	2881	
15	48	430	328	56	68.33	240	41	39	16	17	17	18	19	95	
20	50	230	180	100	64.29	170	46	44	15	15	15	15	16	181	

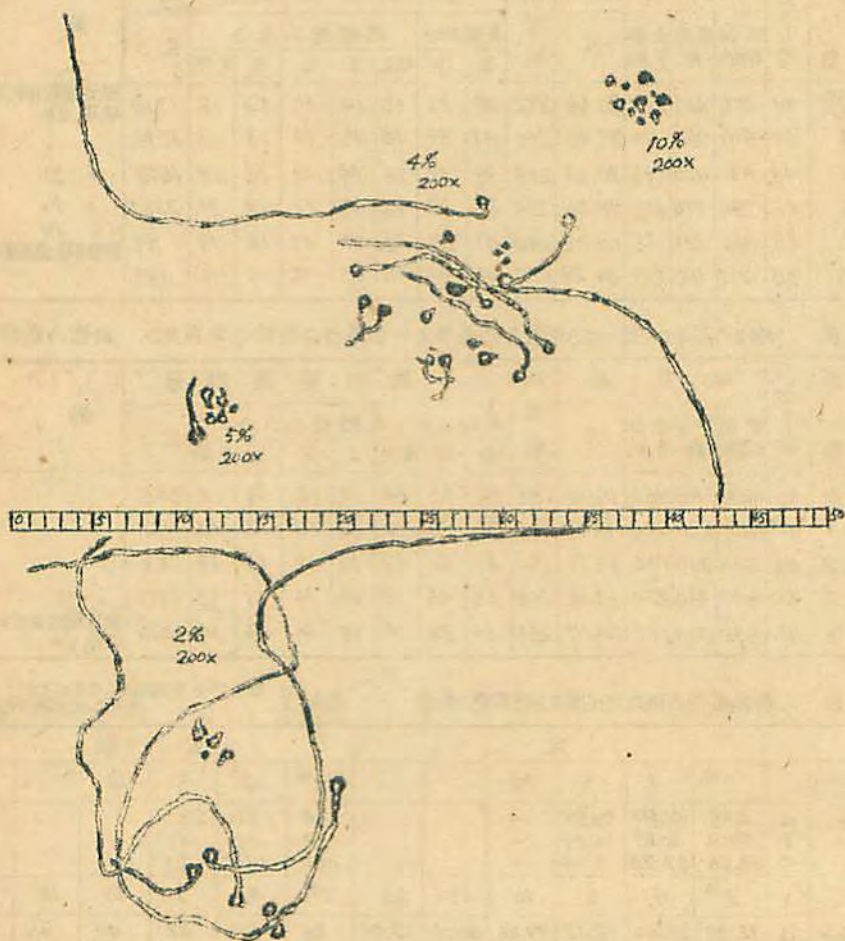
第3表 種々の濃度のやまづば花蜜を培養基とせる場合の花粉の発育及び花粉管の発育状態

培養液濃度	アベラト数	発芽率				測定数	花粉の発育状態							備考	
		供試花粉数	発芽花粉数	未発芽数	%		花粉の長さ		花粉管の長さ				先端		
							長	巾	根元	1	2	3			
原液	50	445	85	360	19.10	85	38	36	14	14	14	14	12	345	測定操作中デキガラス破損2ヶ
1:1	50	480	230	250	47.92	160	36	36	12	12	12	12	12	142	
1:2	50	530	340	190	64.15	240	41	40	13	13	13	14	13	156	
1:3	50	630	410	220	65.08	260	45	45	13	14	14	13	13	3211	
1:5	48	432	320	112	74.07	256	39	38	14	14	14	14	14	1296	

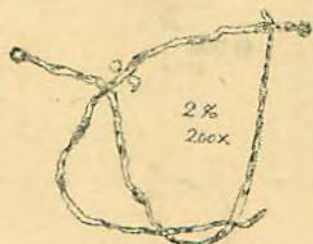
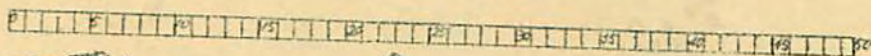
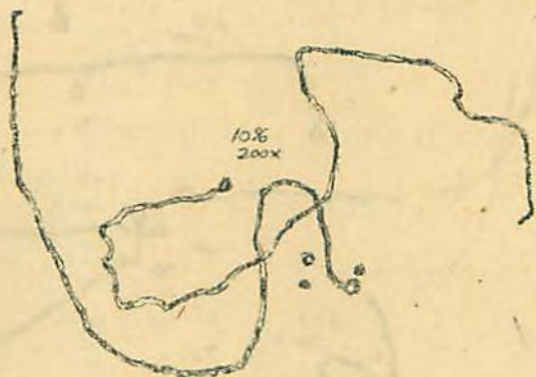
第4表 各培養基の種類及び濃度別花粉管の形状

(1)		%				実数							
		2%	4	5	10	2%	4	5	10				
Glucose	a	4.55	28.89	73.57	-	14	130	231	-				
	b	9.09	8.89	14.29	-	28	40	42	-				
	c	86.36	62.22	7.14	-	266	280	21	-				
(a)		2%	4	5	10	15	20	2%	4	5	10	15	20
	a	32.35	25.00	12.12	17.86	40.00	52.94	88	50	32	40	96	90
	b	23.53	20.00	24.24	14.29	53.33	29.41	64	40	64	32	128	50
c	44.12	55.00	63.64	67.86	6.67	17.65	120	110	168	152	16	30	
(b)		原液	1:1	1:2	1:3	1:5	原液	1:1	1:2	1:3	1:5		
	a	23.53	68.75	54.17	40.00	43.75	20	110	130	100	112		
	b	17.67	18.75	12.50	4.00	28.13	15	30	30	10	72		
c	58.82	12.50	33.33	56.00	28.13	50	20	80	40	72			

Glucose



Saccharose



標本(整):水

