

シラベ花粉の形成と發育ならびに
花粉の採集方法

清 藤 城 宏

**Formation and Development of Pollen and Method
for Pollen Collection in *Abies Veitchii* Lindl.**

Kunihiro SEIDO

Summary

Studies were carried out to determine the most favorable time and establish a method of pollen collection in *Abies Veitchii*.

1. In the buds observed in the first collection of late October, cells of anthers formed a mass, and the individual cells had angular outline and possessed 1~8 nucleoli. This stage had primitive archesporal cells.

2. Cells from buds collected on early March showed oval cells and contained number of starch grains, that tended to obscure the internal structure. Namely, this stage marked the formation of pollen mother cell.

3. The formation of tetrads of the second telophase was observed mostly during the period of May 7~11.

4. Immature pollen grains after the separation from tetrads began mitotic division after 1 week and grew rapidly to mature pollen grains.

5. The time required from pollen formation to pollen dispersion was about 3 weeks. The period of mitotic division was about 2 weeks.

6. The period required from acquisition of germination ability to pollen dispersion was about 8 days, and the period required from pollen formation to pollen dispersion was about 29 days.

7. Pollen grains did not acquire germinative capacity immediately after the separation from tetrads. However, when mitotic division began, pollen grains acquired germinative capacity.

8. In pollen collection at early dates (10 days) before pollen dispersion, better results were obtained by soaking the base of the twigs with male catkins in water. When the pollen collection was made just before pollen dispersion (4 days), the method of drying male catkins naturally in glass tubes was better and pollen quantities were more.

9. Therefore, it seems that it is possible to collect pollen some days before the natural dispersion, because the pollen grains showed the germination percentage of about 80% 1 week before pollen dispersion.

要旨： シラベの花粉採取適期、採集方法を把握するため、富士山北斜面、標高2250m付近で雄花を採取し、花粉の形成、発育過程、ならびに花粉の採集方法を検討した。

1. 採取第1回目の10月下旬の観察では葯内細胞は相互に密接しており、個々の細胞は、角ばっている、仁は1～8個、平均3個認められた。この時期は、花粉母細胞になる前の胞原細胞であった。
2. 3月上旬の観察では丸味をおびた細胞となり、内部はデンプン粒でおおわれている。この時期の細胞は花粉母細胞である。
3. 第2分裂終期の4分子形成は5月7日から11日の間に観察された。
4. 4分子から分離直後の未熟花粉の細胞分裂は平均1週間ぐらいで開始し、成熟花粉まで急速に生長する。
5. 花粉粒形成分から分裂終期までは約3週間、分裂期間は約2週間であった。
6. 花粉の発芽能力獲得から飛散までは約8日、また花粉粒形成から飛散までは平均29日であった。
7. 花粉の発芽は4分子から分離した直後ではみられないが、細胞分裂開始の5月18日には発芽がみられ、成熟花粉でなくても発芽能力をもつことがわかった。
8. 花粉の採集方法は、早い時期では切枝水さしがよいが、飛散の4日前頃では、管ピン法による方が採集量は多い。
9. 雄花の採取は花粉飛散約1週間前でも80%近い発芽を示すので、飛散前に採取できる。

はじめに

シラベの育種をすすめる上でもっとも急がれている問題は、種子生産技術である。しかし、それらの問題解決の基礎となる生殖機構に関しては、研究も少なく、不明の点も多い。

本報告では雄花、とくに花粉をとりあげ、形成、発達段階を細胞学的にまた育種学的に調べた。さらに実用的な観点から、雄花の採取適期、花粉の採集方法について検討を加えたので報告する。

なお、本報告の一部は第23回日本林学会関東支部大会、第8回日本生態学会中部甲信越大会で発表した。

材料と方法

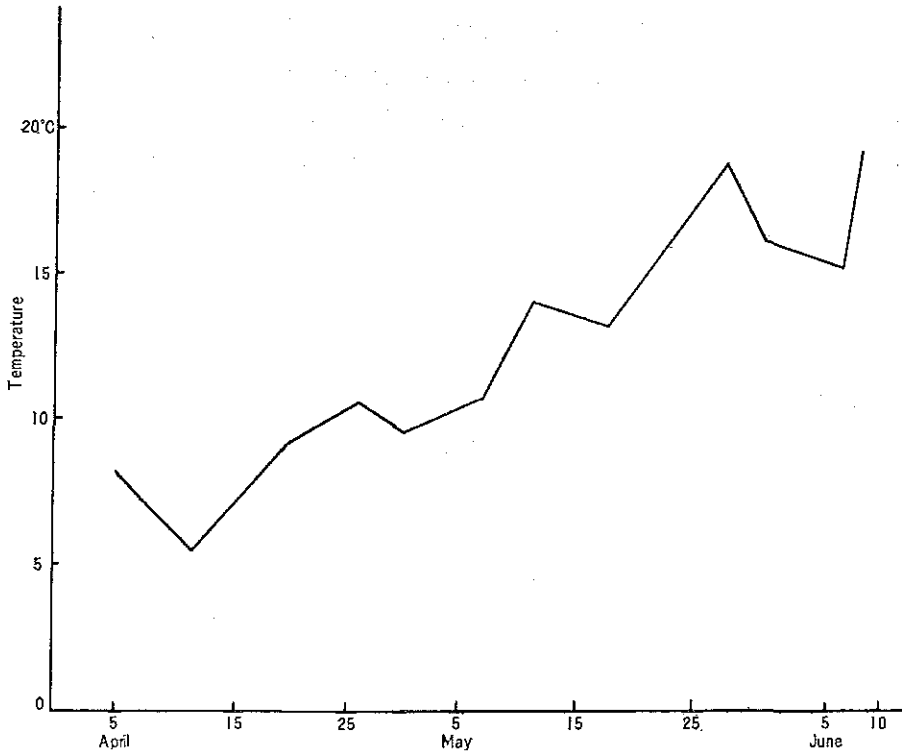
富士山の北斜面、標高2250m付近で6本の母樹を選んだ。これらの内3本を花粉の形成と発育調査に用い、他は花粉採集方法の母樹とした。花粉の形成と発育の調査は、母樹別に1970年10月31日より一部冬期間を除き5～10日おきに1971年6月9日まで雄花を採取し、それらの試料はファーナー液（無水アルコール：氷醋酸＝3：1）で一昼夜固定、後70%アルコールに貯蔵した。花粉の形成発育経過をしらべるため、貯蔵した試験について葯内細胞を酢酸カーミンで染色し、顕微鏡で観察した。花粉の大きさの測定は気のうをふくまない長径を測定した。花粉の発芽試験は、寒天濃度1%、蔗糖濃度10%の寒天培地にうすくまき、27°Cで、72時間暗黒恒温器に入れ、発芽率を求めた。一方、花粉の採集方法を検討するため、飛散13日前から飛散まで雄花着生枝を水さしし、自然落下させて採集する方法と、雄花だけをもぎとり管瓶に入れて自然放出させる2方法をおこなった。花粉量は、雄花1個あたりの花粉重量を自動化学天秤で測定し、また発芽試験は上述の方法でおこなった。

なお、4月から6月までの採取日の気温に関しては、一番近い測候所の平均気温を図—1に示す。

結 果

1 花粉の形成と発育

花粉の形成と発育過程を写真2～9に示した。また、花粉の発育状況を表—1、図—2にとりまとめて示した。



図—1 1971年 採取日の平均気温 (860m)

Fig. 1 Average temperature of collection dates for 1971. (860m Alt.)

表—1 シラベ花粉の発育状況

Table 1 Pollen development in *Abies Veitchii*.

No.	Formation of pollen gains	Mitotic division of pollen gains			Pollen dispersion
		Beginning	End	Period	
1	May 7	May 18	May 31	13	June 7
2	May 11	May 18	May 31	13	June 7
3	May 11	May 18	May 31	13	June 9

シラベの雄花は前年の7月から8月下旬に分化する。着生位置は、上部の枝の頂芽と当年枝の間に群生してつく。雄花の外部は樹脂でおおわれ、暗赤色を呈している(写真1)。10月下旬採取の雄花群の長さは9~25mmの範囲で、平均15mm、一雄花の直径は2~25mmであった。葯内の細胞を観察すると、写真2に示したように、角ばった細胞が相互に密接しており、個々の細胞内には仁が認められる。仁の数は1~8個みられ、平均3個持った細胞が多かった。これらは花粉母細胞になる前の胞原細胞と思われる。

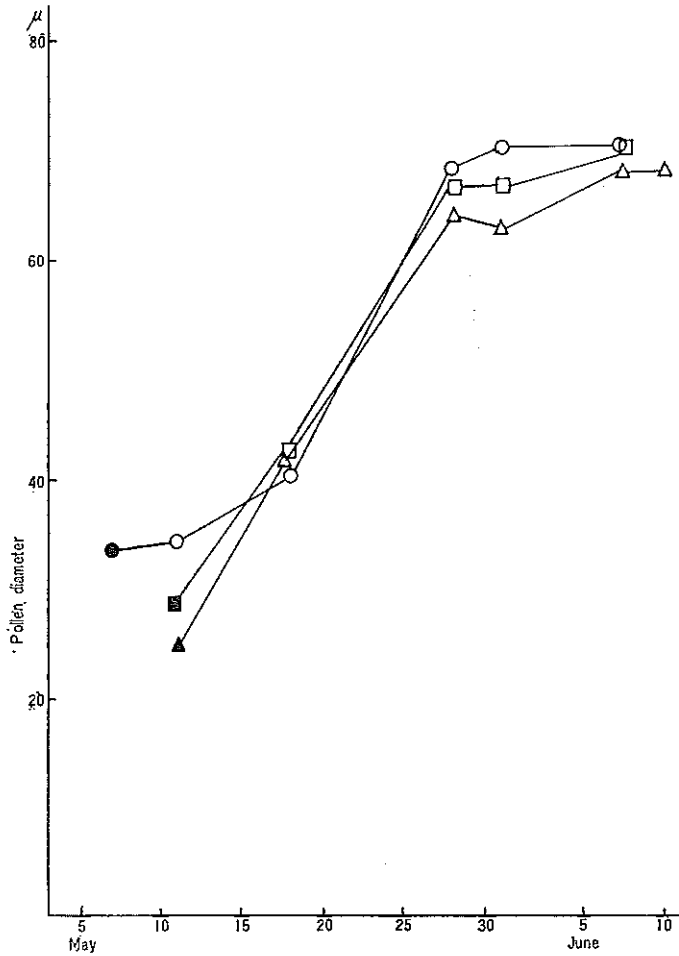


図-2 シラベ花粉の生長

Fig. 2 Change in length of pollen scale.

- — No. 1
 - — 2
 - △ — 3
 - } 花粉粒形成期
 - } Formation of pollen gains
 - ▲ }
- } 気のうをふくまない長さ
} Length excluding air sac.

3月上旬に入って採取した雄花は外形的に目立った変化は認められない。葯内の細胞を観察してみると写真3にみられるように、角ばった外形から、丸味をおびた細胞に変化しており、ほとんどの細胞はデンプン粒でおおわれているため内部は観察できない。時期的には花粉母細胞となっていることを示している。

花粉母細胞は4月上旬に還元分裂を開始する。4月5日の採取資料の観察では、写真4、5にみられるように第1分裂前期のあみ状の染色糸、粒状色染粒がみとめられた。このようにして分裂の終りには1個の花粉母細胞から4つの細胞が出来あがる(写真6)。この第2分裂終期の4分子の形成は5月7日から11日の間に観察された。すなわち還元分裂が始まって約1カ月で4分子に達する。出来あがった4分子の細胞は1つ1つ分離し(写真7)、外被に2個の気のを備えた未熟花粉となり(写真8)急速に生長、分裂後、生殖細胞と花粉管細胞を所有した成熟花粉となる(写真9)。4分子から分離直後の未熟花粉について飛散までの花粉の生長を図-2に示す。分離直後の花粉は、気のを含まない長径で平均 28μ で、分裂期間中は直線的に急速に生長し、5月下旬頃から緩慢になる。飛散期の成熟花粉の大きさは 70μ に達し、分離直後の未熟花粉に較べると2.5倍である。

花粉粒の細胞分裂についてまとめると、表-1に示したとおりで、5日から11日、平均1週間ぐらいで分裂を開始する観察結果では5月18日から31日までにみられた。花粉粒形成から分裂終止期までは約3週間、分裂期間は約2週間であった。花粉の発芽能力獲得から飛散までは約8日、また花粉粒形成から飛散までは平均29日であった。

2 花粉の発芽

花粉の発芽状況を写真10に示す。各採取日における成熟花粉割合と、発芽率の比較をおこなった結果を図-3に示す。4分子から分離直後の5月7日、12日の花粉粒では発芽がみとめられなかった。しかし、分裂開始の18日にはNo.1で、30%、No.2で10%の発芽が認められた。この時期の花粉は、前葉体形成がみとめられるのみで、成熟花粉は認められなかった。5月28では、No.1 85%、No.2 58%、No.3 37%の発芽がみられ、一方、成熟花粉率は、80、40、20%であり、発芽率と成熟花粉率は一致しなかった。飛散約1週間前5月31日の発芽率は、90、85、50%、平均75%の発芽率が得られ、花粉採取に十分な発芽率が得られた。

3 花粉の採取時期と採集方法

採取した雄花着生枝を各採取日ごとに水さしし、雄花のりん片がやぶれ葯から花粉の飛出す開花日数と、それらの花粉の発芽率を調べた。結果を表-2、図-4に示す。切枝水さしによれば4月12日のものでも18日目には花粉採取は可能となる。しかし、発芽の面からみると、4月26日までは発芽床に採取した花粉をまいても死滅してしまう。発芽がみられたのは4月30日で、15%程度の発芽率であった。個体によって差はあるが、5月18日では7日後に採取でき、No.1は75%、No.2は40%の発芽がえられた。5月28日には5日後、発芽率は平均65%である。31日には3日~4日で採取でき、発芽は約80%の

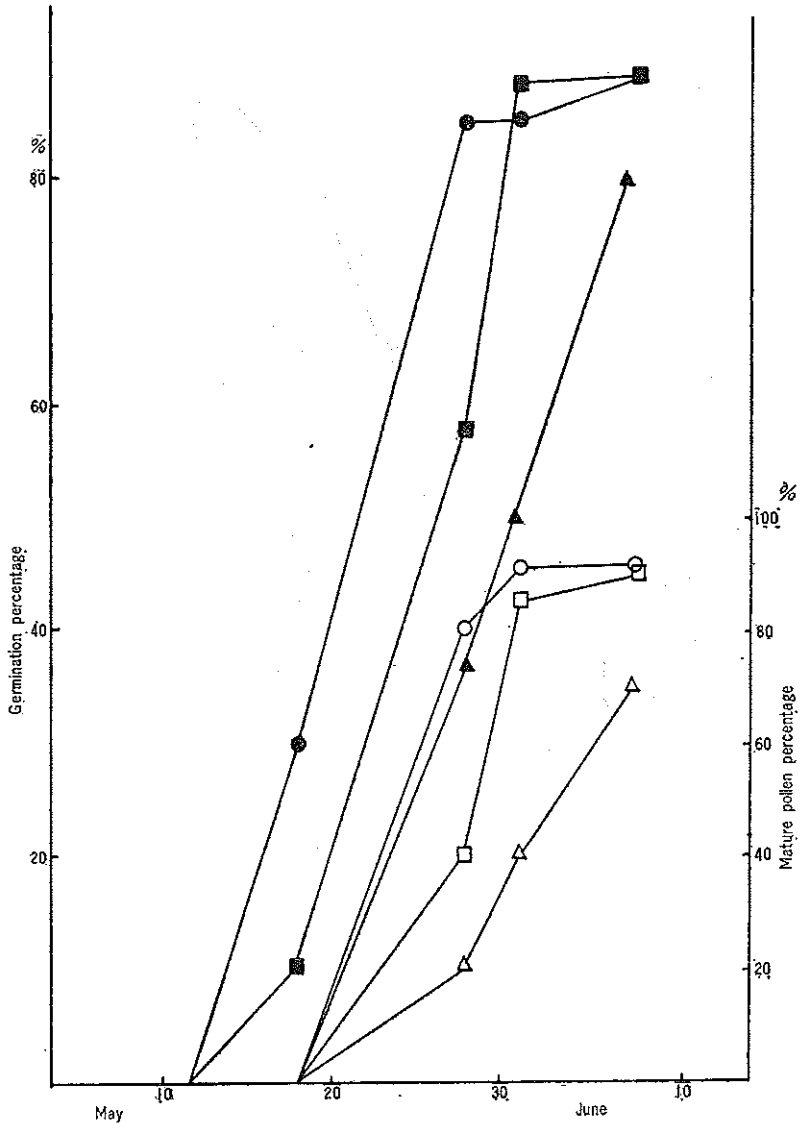
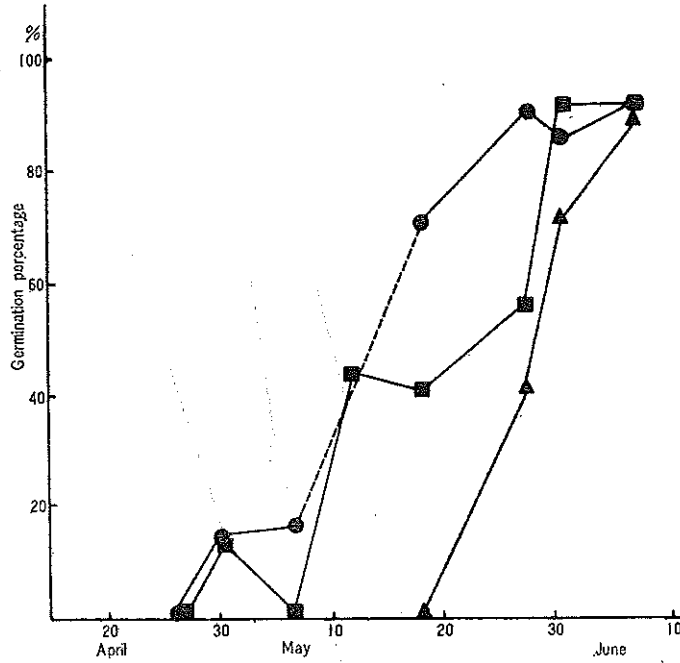


図-3 シラベ花粉の発芽と成熟花粉率

Fig. 3 Pollen germination and mature pollen percentage.

- | | | |
|----------------------------|-------|---------|
| ● | No. 1 | } 発芽率 |
| ■ | 2 | |
| ▲ | 3 | |
| } Pollen germination | | |
| ○ | No. 1 | } 成熟花粉率 |
| □ | 2 | |
| △ | 3 | |
| } Mature pollen percentage | | |



図—4 切枝水さしして採集した花粉の発芽

Fig. 4 Germination of pollen collected by soaking base of twigs with male catkins into water.

● No. 1 } 発芽率
 ■ No. 2 }
 ▲ No. 3 } Germination percentage

表—2 切枝水さし後の開花日数

Table 2 Days of pollen shedding after soaking base of twigs with male catkins into water.

No.	Collection date									
	Apr. 12	Apr. 20	Apr. 26	Apr. 30	May 7	May 11	May 18	May 28	May 31	June 7
1	18	25	15	13	10	—	7	5	3	—
2	18	—	17	11	8	10	7	5	4	—
3	18	22	14	15	10	9	7	5	4	1

発芽率が得られた。

次に花粉の採集方法を検討するため雄花のみを採取し、管瓶に入れ室内で放出する方法と雄花着生枝を水さしして室内で自然落下させて集める2方法を用い、飛散前の13日から飛散日まで花粉量と発芽率を調べた。結果は表-3のとおりで、管瓶に入れて採集する場合、花粉量は飛散4日前がよく、10日前では半分以下となる。水さしの場合は10日前が最もよいが4日前の管瓶法にくらべると、量は半分以下である。発芽率を比較すると、ほとんど差はないが、多少管瓶法の方がよい。管瓶法と水さし法で最も採集量の多い時期の発芽率をくらべると、飛散日に近いこともあろうが管瓶法が高い。1雄花からとれる採集量では個体によるちがいはあるが、飛散4日前が最もよい。採集方法は早い時期であれば切枝水さし法、直前では管瓶法がよい。

表-3 花粉の採集方法と採集量および発芽
Table 3 Quantities and germination of pollen collected by 2 methods.

Collection date*	Method	Pollen quantities of 100 male catkins			Average pollen germination
		1	2	3	
-13	A	0.8 g	0 g	0 g	0%
	B	4.35	0.6	0	53
-10	A	2.0	0	2.0	64
	B	2.4	1.6	1.9	66
-4	A	4.6	3.5	7.0	81
	B	1.4	1.4	1.2	79
0	A	—	2.8	0	90
	B	—	0	2.5	88

A: 管瓶内で自然乾燥
Drying male catkins naturally in glass tube

B: 切枝水さし
Soaking base of twigs with male catkins into water

※ 0は飛散日、-は採集日から飛散までの日数

0: Pollen dispersion day - : Number of days till pollen dispersion day

考 察

モミ属の花粉形成、発育に関しては、細胞学的な立場から MERGEN ら⁷⁾ が4樹種について詳細に観察し報告している。またわが国では工藤⁵⁾ ⁶⁾ が、トドマツについて実用面から花粉の形態変化、採取適期を明らかにしている。他の樹種では、スギ¹⁾、ヒノキ²⁾、ヒノキアスナロ³⁾、アカマツおよびクロマツ⁴⁾などで明らかにされている。これらの報告と比較すると、トドマツ以外は、形成、発育の時期にちがいがみられる。MERGEN ら⁷⁾ は分裂期についてトドマツ (*A. sachalinensis*) で約1カ月、レッドファー (*A. nobilis*) で約2週間続いたと報告しているが、筆者のしらべたシラベでは、約1カ月で、トドマツと一致した。花粉母細胞の分裂期間はトドマツでは4月13日から5月1日頃⁵⁾ と報告されているが、シ

ラベの場合4月の上旬から5月上旬の約1カ月にわたり、トドマツより長い。

花粉の発芽を成熟花粉率との関係からしらべた結果、花粉発芽率は成熟花粉率より高い値を示した。このことは、4分子から分離した直後の未熟花粉を除けば生殖細胞と花粉管細胞をもつ成熟花粉とならなくても、前葉体細胞が形成すれば発芽するようである。橋詰⁴⁾はクロマツおよびアカマツの花粉について成熟花粉とならなくても第1回分裂後に発芽能力をもつことを確認し、生殖細胞および花粉管細胞が未形成の段階で発芽した場合、前葉体細胞が退化しないことを観察している。シラベも同様のことが言えるようであり、モミ属を含むマツ科で、このような現象がみられるのではないかと推測される。

花粉の採取は、飛散期で十分な発芽能力を獲得するが、約1週間前でも約80%の平均発芽率が得られることから、この頃から採取可能である。渡辺⁶⁾がアカマツで採集方法を検討した結果によれば、開花8日前より花粉採集可能となり、発芽率は6日前を除き80%以上の結果がえられる。花粉採集量は2日前から開花日にかけて最も多く、また採集方法では、ガラス管>封筒>切枝水さしの順でよいことをあきらかにした。今回の結果から考え、花粉量よりも早い時期に重点をおいて花粉採集するのであれば1週間前頃に切枝水さし法によるのがよく逆に花粉量を重視するのであれば4日前頃に管瓶法によって採集するのが適当であろうと思われる。

引用文献

- 1) 橋詰隼人, 岡田泰久: 材木の交配に関する基礎的研究(Ⅲ) スギの花粉の發育と発芽, 日林誌 52: 112~119, 1970
- 2) 橋詰隼人, 岡田泰久: 材木の交配に関する基礎的研究(Ⅰ) ヒノキの花粉の形成, 發育ならびに採取時期, 日林誌 50, 304~309, 1968
- 3) 橋詰隼人: 材木の交配に関する基礎的研究(Ⅱ) ヒノキアスナロの花粉の形成, 發育ならびに採取適期, 日林誌 50, 365~372, 1968
- 4) 橋詰隼人: 材木の交配に関する基礎的研究(Ⅳ) クロマツおよびアカマツの花粉の發育と発芽, 鳥取大演習林報 No.5, 17~28, 1971
- 5) 工藤 弘: トドマツ花粉の採取時期と発芽率について, 日林講北海道支部第18号, 09~111, 1969
- 6) 工藤 弘: トドマツ雄花の發達と花粉の形態変化, 第81回日林講 157~159, 1970
- 7) Mergen & Lester: Microsporogenesis in Abies, *Silvae Genetica* 10, 146~156, 1961
- 8) 渡辺 操, 岩川盈夫: マツ類の人工受粉技術ならびに種間交雑について, 林試研報, 224, 125~146, 1969

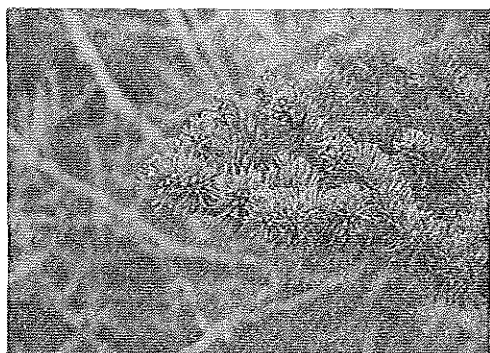


写真 1 雄花芽の着生状態 (前年10月中旬)
Photo.1 Male flower bud insertion,
(Mid. Oct. in the previous year)

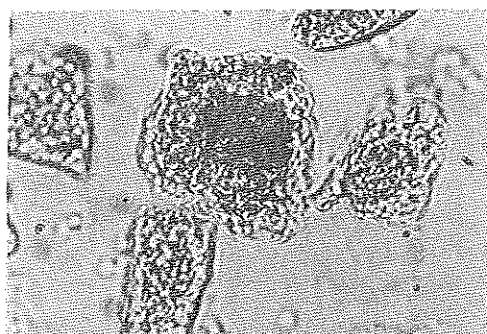


写真 4 第1分裂前期 (4月5日)
Photo.4 Prophase I. (April 5)

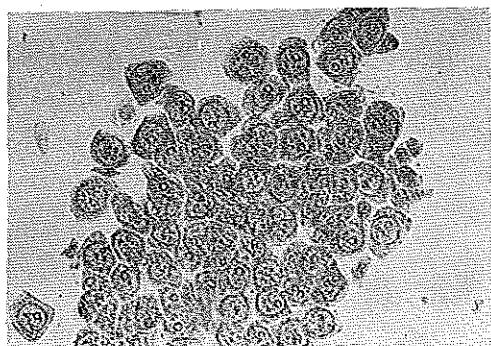


写真 2 胞原細胞 (10月下旬)
Photo.2 Primitive archesporal cell,
(Late Oct.)

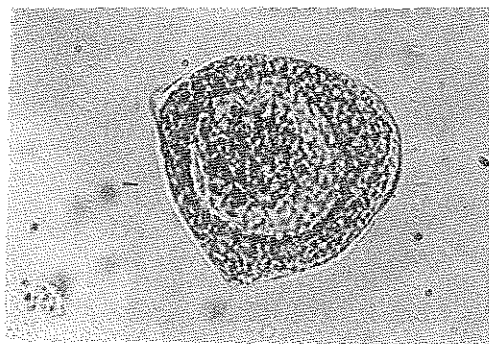


写真 5 第1分裂前期 (4月5日)
Photo.5 Prophase I. (April 5)



写真 3 花粉母細胞 (3月4日)
Photo.3 Pollen mother cell, (March 4)



写真 6 4分子形成 (5月11日)
Photo.6 Formation of pollen tetrad, (May 11)



写真 7 4 分子 (5月18日)
Photo.7 Pollen tetrad. (May 18)

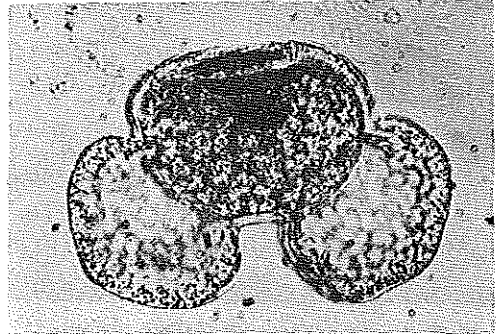


写真 9 成熟花粉 (5月28日)
Photo.9 Mature pollen grain. (May 28)

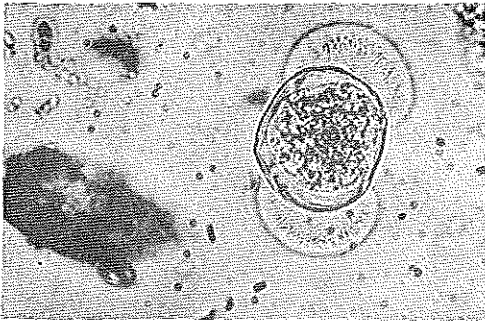


写真 8 4 分子から分離直後の
未熟花粉 (5月18日)
Photo. 8 Immature pollen grain just after
separation from tetrad. (May 18)

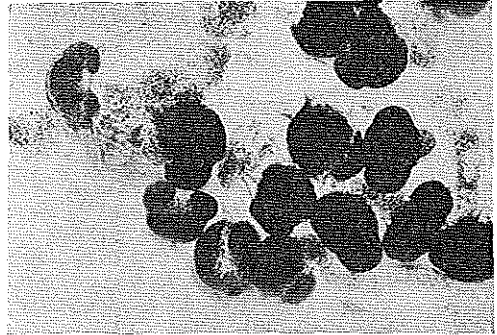


写真 10 花粉発芽 (5月28日)
Photo. 10 Pollen germination. (May 28)