

論 説

生長調整物質によるヒマラヤスギ花粉の
発芽所要時間の短縮

中 西 義 浩*

Shortening of time for germination of *Cedrus deodara* pollen
by growth regulating substances.

Yoshihiro NAKANISHI*

ここでいう発芽所要時間とは、培地上の花粉の発芽率が置床後最高になるまでの時間をさすのであって、まかれた花粉中最も早く発芽したものが置床後発芽までに要する時間をいうのではない。

マツ科の花粉は裸子植物が一般にそうであるように、被子植物の花粉に比べて発芽所要時間が長い。事実、アカマツ、クロマツ、ヒマラヤスギなどの花粉はしょ糖寒天培地で発芽率が最高に達するのに、置床後70時間以上を要する。この所要時間の短縮に、カイネチン、ジベレリン、インドール酢酸 (IAA) などの生長調整物質が有効であるかどうかを検討した。

材 料 と 方 法

当初、実験にクロマツ (*Pinus thunbergii*)、アカマツ (*P. densiflora*) およびヒマラヤスギ (*Cedrus deodara*) の花粉を用いるべく、それぞれを採集し、デシケーターに保存した。しかし、クロマツ花粉はアカマツ花粉と異なり、同じ条件下に貯蔵したにもか

かわらず、とくに夏の終り頃から発芽能力が急激に低下していった。そのためクロマツ花粉は除外し、マカマツとヒマラヤスギの花粉のみを用いた。なおクロマツ花粉は貯蔵が長期に渡ると、採取初期には良く発芽していた寒天のみの培地上では発芽しにくくなり、培地に糖を加えると多少とも発芽率が高くなった。アカマツ花粉は採取後6ヶ月経過したもので、無糖培地上でよく発芽し、また糖濃度によって発芽率に差異が認められなかった。一方ヒマラヤスギ花粉は採取初期から発芽に糖を必要とした。

このことは3種の花粉粒内の糖含有量や糖消費量の違い、その他の原因によるものであろうが、本実験ではすべてしょ糖10%を培地に加えることにした。実験に用いたアカマツ花粉は1973年5月2日に京都大学演習林上賀茂試験地で、ヒマラヤスギ花粉は同年11月4日に同学農学部構内で採取し、紙上にひろげて室内で1日乾燥後、シリカゲル入りのデシケーターに貯蔵した。

培養には10%しょ糖含有、1%寒天培地 (厚さ1

* 〒590 堺市浅香山町 愛泉高等学校

Aisen Senior high school, Asakayama-cho, Sakai, Japan

～2 mm) を基本培地として用い、培養温度は 27～28°C とした。花粉を培地に置床する際は、予め花粉を温室に入れ、20 分程吸湿させた後、極細筆につけ、培地の 10 cm 程上より筆を振動させて密に散布した。培地に添加した生長調整物質はジベレリン (GA_3 、和光純薬工業製)、カイネチン (東京化成工業製)、IAA (和光純薬工業製) およびホウ酸 (林純薬工業製、特級) で、それらの濃度は次のようである。 GA_3 : 10、50、100 ppm、カイネチン: 1、5、10 ppm、IAA: 1、10、50 ppm、ホウ酸: 100 ppm、なおホウ酸濃度は検討の結果、最も有効と見られるこの濃度のみを用いた。これらの生長調整物質について、それぞれ単独の場合と相互に組み合わせた場合を検討した。ジベレリンが発芽前のどの時期にはたらくのかを見た移植実験における花粉の移植は、極細筆で培地上の花粉を集め、その花粉を一度ろ紙上に置き、再度別の筆で移植用培地に置床する方法によった。

発芽は各花粉粒極軸長の $\frac{1}{2}$ 以上の花粉管を形成したものを発芽とみなし、発芽率はシャーレーに無作為に印しておいた 5 カ所から 1 カ所につき 40 粒を調べ、計 200 粒における割合として示した。なお各実験は少なくとも 2 回以上くり返した。

結 果

1) カイネチンの作用効果

ヒマラヤスギ花粉でカイネチンの影響をみたが、1 図(A)より明らかなように、置床後 48 時間で対照区の発芽率 10% に対し、カイネチン 5 ppm 区で 71% と発芽所要時間が短縮されることがわかる。さらにこれにホウ酸 100 ppm を加えた場合は、カイネチン単独の場合の 71% に対し 86% で、ホウ酸による発芽促進効果も若干ではあるが認められる。また別の実験では 1 図(B)に見られるように、置床後 48 時間で 10 ppm 区が 79%、5 ppm 区が 85% 発芽しているのに対し、対照区では 20% であり、ヒマラヤスギ花粉の発芽所要時間を短縮させるには 5～10 ppm が最適であった。しかし置床後 30 時間では殆んどカ

イネチンの促進効果は認められない。すなわち作用効果があるのは置床後 30～48 時間の間にある。カイネチンはヒマラヤスギ花粉の発芽を促進するだけでなく、花粉管伸長をも促す効果があり、置床後 90 時間で見ると、平均管長は対照区の 1.5 倍を示した。

2) ジベレリンの作用効果

ヒマラヤスギとアカマツの花粉でジベレリン (GA_3) の影響を見た。ヒマラヤスギ花粉に対する GA_3 の作用効果はカイネチンのそれと非常によく似ており、2 図(B)より、置床後 30 時間では殆んど GA_3 の影響はないが、45 時間で対照区 22% の発芽率に対し、50 ppm 区 63% と明らかに発芽所要時間が短縮されたことがわかる。とくに GA_3 はホウ酸 100 ppm と併用させた時、 GA_3 単独の場合よりその作用効果は顕著で、置床後 35 時間では単独区 21% の発芽率に対し、併用区は 53% と両物質による相乗的な効果が認められる。また 2 図(A)より、ヒマラヤスギ花粉に対する GA_3 は 50 ppm 濃度が最も有効であり、その作用力はカイネチンと同じく、置床後 30～48 時間の間にあることがわかる。そこで花粉の発芽を促進するのに必要な GA_3 量が花粉粒内に吸収されるのに要する時間と、 GA_3 の作用する時点を知る為に、移植実験を行なった。すなわち、ヒマラヤスギ花粉を標準培地 (GA_3 を含まぬ) に散布し、1、5、10、20 時間後に GA_3 培地 (GA_3 50 ppm を含む) に、またその逆に GA_3 培地から標準培地に移植した。結果は 3 図(B)のように、最初 5 時間 GA_3 培地におき、その後標準培地に移植した花粉は、置床後 55 時間で 64% 発芽するのにに対し、標準区は 40% であった。花粉移植をしない GA_3 区と標準区とでは、置床後 35 時間で発芽率に顕著な差が見られるが、 GA_3 培地に置床後 5 時間で標準培地に移植した場合、同じ置床後 35 時間で標準区と発芽に差が見られない。ともあれ発芽所要時間を短縮させるのに、ほぼ最低 5 時間作用が続くことが必要であるように見える。カイネチンとジベレリンの併用では、両物質による促進助長効果は殆んど認められず、それぞれ単独で得

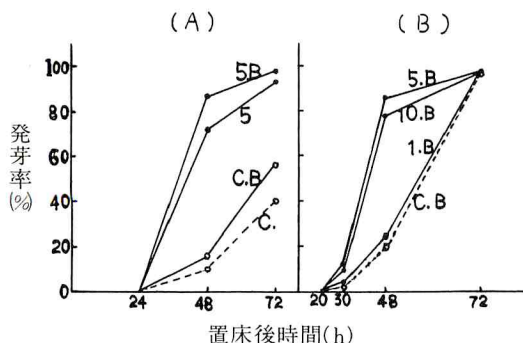
られた結果と同様な傾向を示した。しかし花粉管の伸長促進効果は見られ、対照区が花粉粒径の7倍の花粉管長であったのに対し、カイネチンおよびジベレリン単独の場合はともに10倍、カイネチンとジベレリンの併用では12倍であった。

ところで GA_3 をアカマツ花粉に作用させた場合には、同じマツ科であるヒマラヤスギ花粉で見られたような著しい発芽促進効果は認められなかった(4図)。

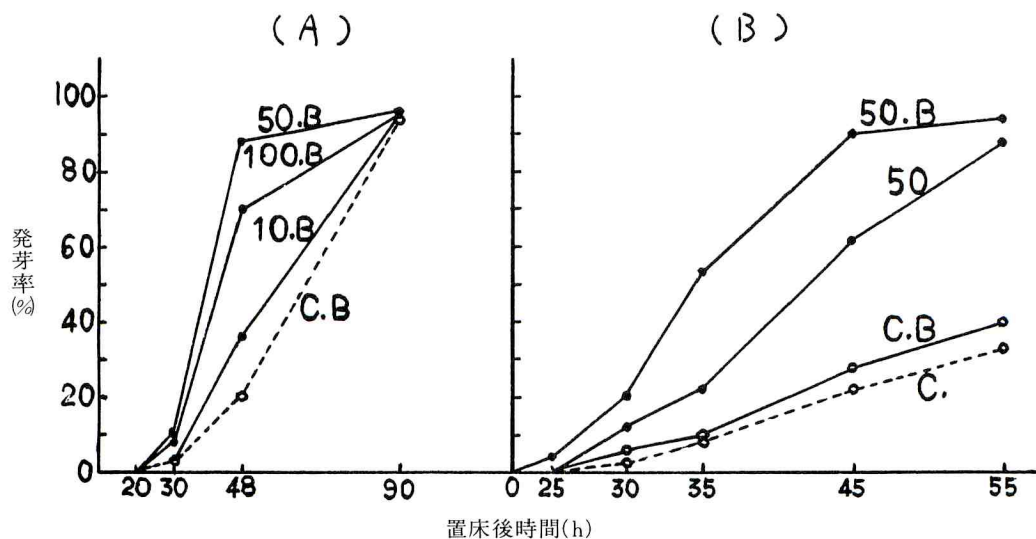
3) IAA の作用効果

ヒマラヤスギ花粉で IAA の影響を見たが、 GA_3 や

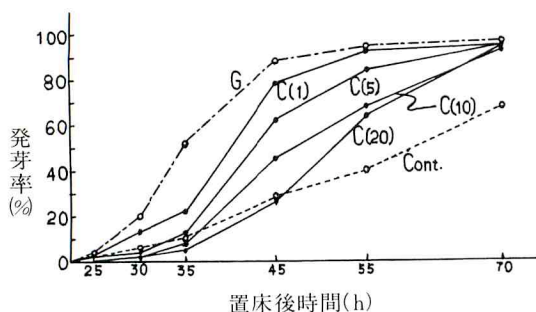
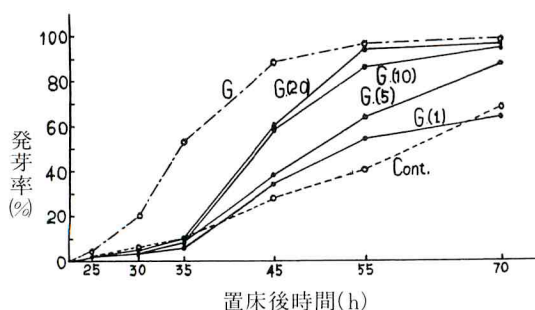
カイネチンで得られた発芽所要時間の短縮効果とは異なり発芽の促進効果は認められるが、その後の花粉管形成や伸長は異常で、抑制的な傾向を示す結果が得られた(5図)。とくに IAA 50 ppm では、発芽そのものは促進されるように見えるが、花粉管は形成されると直ちに先端が球状に膨み、その伸長も花粉粒径の2~3倍で停止し、後には破裂してしまう。また IAA と GA_3 、IAA とカイネチンの組合わせについて見ると、カイネチン、ジベレリンの単独の場合と同じような結果が、IAA 10 ppm 濃度との併用では得られ、IAA の作用力は認められなかったが、IAA 50 ppm との併用では、 GA_3 やカイネチンの作用力が打ち消され、IAA の抑制的な作用が強くあらわれ、最終的には花粉管は破裂し、原形質吐出を示した。



1図 ヒマラヤスギ花粉の発芽に及ぼすカイネチンの影響。



2図 ヒマラヤスギ花粉の発芽に及ぼすジベレリンの影響。

(A) 標準培地よりGA₃培地に移植(B) GA₃培地より標準培地に移植

3 図 ヒマラヤスギ花粉に対するジベレリンの作用時間と発芽の関係。

C : ホウ酸 100ppm を含む標準培地。

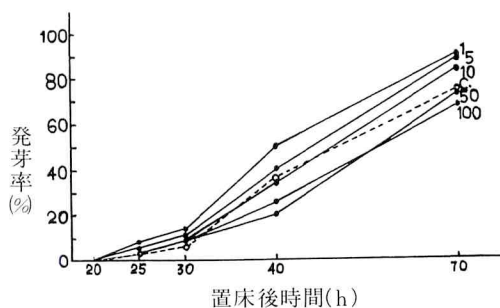
G : 上記C培地に GA₃50ppm を加えた培地。

G(1)…G培地より1時間後に、C培地に移植したことを示す。G(5), G(10), G(20)も同様。

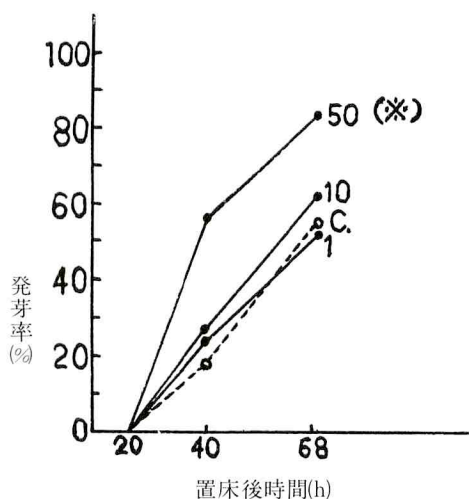
C(1)…C培地より1時間後に、G培地に移植したことを示す。C(5), C(10), C(20)も同様。

考 察

IAA は花粉の発芽、花粉管の伸長を促進する効果があるといわれている。しかし、ヒマラヤスギ花粉では前発芽、すなわち花粉管形成までの形態的变化を伴う発芽過程(渡辺、市河 1970)の促進効果は認められるが、その後の花粉管形成や伸長は正常でなく、IAA 50 ppm で異常な花粉管形成をし、たとえ花粉管長が粒径の2~3倍に達しても破裂してし



4 図 アカマツ花粉の発芽に及ぼすジベレリンの影響。



5 図 ヒマラヤスギ花粉の発芽に及ぼすIAAの影響。

※…原形質吐出のあることを示す。

まう、という抑制的な作用傾向が見られた。このことは IAA が本質的に抑制する傾向に働いたものなのか、それともヒマラヤスギ花粉粒自身がすでに IAA を含有しているために適濃度を越えた結果起ったものなのかは、今後検討を必要とする。ところでジベレリンやカイネチンは、本来作用機能を異にすると考えられるが、ヒマラヤスギ花粉で得られた結果では、非常によく似た働き方をするように見える。すなわち、GA₃50 ppm およびカイネチン 5

ppm では、花粉置床後 30 時間前後までは、それぞれの物質の発芽促進効果は認められないのに、置床後 40 時間程度になると、著しい発芽率の上昇、すなわち発芽所要時間の短縮効果が認められることである。このことはこれら両物質が花粉粒内に吸収されて、それが一定濃度に達してから、一気にその作用を及ぼし始めるのか、あるいは吸収されるに従って徐々にその作用力がでてくるかのいずれかであろう。GA₃についてのヒマラヤスギ花粉での移植実験から次のことが考えられる。GA₃を含まない培地では、置床後 35 時間と 55 時間での発芽率の差は約 30%なのに、GA₃を 5 時間吸収させた後標準培地 (GA₃を含まない) に移植した場合は、同じ時間で発芽率の差は約 50%となっている。標準培地に移植させた場合は、その後の GA₃の吸収はないし、さらに GA₃が花粉粒内より培地に拡散していくことも考えると、仮に 5 時間の GA₃吸収で花粉粒内に GA₃が一定濃度に達し、一気にその作用力があらわれるものであれば、GA₃区と標準区との発芽率の差が、置床後 35 時間で約 40%なのだから、これと同等な差異が置床後 35 時間で認められなければならないはずである。しかしその差異は認められず、その上、置床後 55 時間以後の発芽率上昇が標準区に比例していることから見て、GA₃の作用は発芽 (花粉管形成) までの花粉に起こる諸過程の進行を次々と早めて行くものと考えられる。ただし発芽に至る全過程が終了するまでには 20 時間以上 (約 25 時間) を要する。もしこの途中で作用が打切られると、それ以後の進行速度は標準培地での本来の速度に戻るので、発芽率の上昇はその分だけおくれるのであろう。GA₃とカイネチンの併用による影響は、それぞれ単独の場合と変わらない結果を示し、両物質による相加的あるいは相乗的な作用は認められなかった。

ホウ酸はマツ科花粉の発芽に不要とされており (Vasil, 1964)、ヒマラヤスギ花粉でもホウ酸単独による顕著な発芽促進効果は認められないが、GA₃とホウ酸を併用させると、著しい発芽所要時間の短縮効果があった。これは GA₃と併用することにより、ホ

ウ酸が GA₃の作用力を補足的に助長しているものと考えられる。

以上のように、ヒマラヤスギ花粉では GA₃ 50 ppm、またはカイネチン 5~10 ppm を用いることにより、さらに GA₃はホウ酸 100 ppm を併用させることにより、発芽所要時間をかなり顕著に短縮させることができた。しかし同じマツ科であるアカマツ花粉ではヒマラヤスギ花粉で認められるようなジベレリンやカイネチンの効果が見られなかった。この原因は何によるものなのか、また、マツ科花粉の発芽に不要とされているホウ酸が GA₃と併用することにより、なぜその効果が認められるようになるのかは今後検討を要する問題である。なお、ホウ酸は単独でも 100 ppm で、クロマツ花粉の発芽を促進するという結果がしばしば得られた。これについてもさらに詳しく吟味したい。

摘 要

ジベレリン、カイネチン、IAA、ホウ酸を用い、マツ科花粉の発芽所要時間を短縮させることができかどうかを主としてヒマラヤスギ花粉について検討した。

1) ヒマラヤスギ花粉は 10% しょ糖含有、1% 寒天培地上で発芽率が最大になるのに通常 80~90 時間を要する。しかしカイネチン (5~10 ppm)、または GA₃ (50 ppm) の添加で著しい発芽および花粉管伸長の促進 (発芽については発芽所要時間の短縮) が見られる。とくに GA₃はホウ酸 100 ppm と併用させることにより、その効果は一層顕著で、場合により置床 55 時間後に発芽率が最大に達する。一方、GA₃とカイネチンの併用による相加または相乗効果は認めがたかった。

2) ヒマラヤスギ花粉はジベレリンの作用により花粉管形成までの諸過程を次々と早く経過するが、ジベレリンを除去すると、その時点から本来の速度で残る過程を進むこと、花粉管形成までの全過程を早く経過させるには、最低 25 時間程度、ジベレリンを作用させる必要があることが、GA₃を含む培地と含

まない培地を用いての移植実験の結果から推定される。

3) IAA はヒマラヤスギ花粉の発芽を促進はするが、その後の花粉管形成および伸長は正常に行なわれず、とくに 50 ppm では原形質吐出を生じる傾向が認められた。

4) アカマツ花粉では、ヒマラヤスギ花粉で認められたような、ジベレリンの効果は殆んど認められな

かった。

本実験を遂行するにあたり適切な助言、指導をしてくださいました京都家政短期大学教授、渡辺光太郎先生。それに京都大学農学部演習林の吉川勝好氏には材料花粉の採集にあたり、種々御協力頂いた。ここに深く謝意を表する。本報告を上野実朗教授定年退官記念号に寄せる。

参 考 文 献

- 1) TANAKA, K. (1955) : The pollen germination and pollen tube development in *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc. I. The effects of storage, tempeature and sugars. Sci Rep. Tohoku Univ. (Biol.) 21, 185—198.
- 2) ——— (1955) : ———, VIII, Effects of humidification and sowing temperture. Sci. Rep. Tohoku Univ. (Biol.) 31, 1—6.
- 3) KATO, Y. (1955) : Responses of plant cells to gibberellin. Bot. Gaz. 117 : 16—24
- 4) VASIL, I. K. (1964) : Effect of boron on pollen germination and pollen tube growth. Linskens, H. F. (ed.), Pollen physiol. and Fertilization (Amsterdam) : 107—119.
- 5) 渡辺光太郎：市河三次（1970）：花粉の発芽に関する一、二の知見 花粉誌 6 : 3—8.
- 6) 田中清（1962）：アカマツ花粉の発芽および花粉管伸長における密度効果 科学 32.
- 7) 林喜三郎（1966）：レンゲ 4 倍体の不稔機構に関する研究 IV・ホウ素化合物およびジベレリンなどの花粉発芽に及ぼす影響. 高知大研究報告 15, C—II, 3 : 15—23.

summary

The germination velocity of *Cedrus deodara* pollen was apparently accelerated by addition of kinetin (5 or 10 ppm) or gibberellin (GA_3 , especially 50 ppm) to the basal medium (10% sucrose, 1 % agar). on the medium containing 5 ppm kinetin, for instance, the pollen germinated ca. 70—85%, while only 10—20% in control, 48 hours after setting of the pollen. In both growth regulating substances, the mode of action was very similar on germination of pollen, and further effect was not recognizable by adding both kinetin and GA_3 . Geminaton was more promoted when took 100 ppm boric acid to the medium with kinetin or GA_3 , particularly with 50 ppm GA_3 , boric acid itself was not so offective to germination.

From the results of transplantation of pollen, from GA_3 -medium to the basal medium or from the basal medium to GA_3 -medium, it is to be said that GA_3 accelerates proceeding of each process before germination, and if GA_3 was eliminated, the pollen goes the remaining processes with usual speed.

Discernible effect of GA_3 asstated above was not seen when examined with *Pinus densiflora* pollen.

IAA was almost inactive to germination of *Cedrus* pollen. With 50 ppm IAA the germination processes were more or less promoted, but the pollentube formation was rather inhibited and often plasmoptysis occurred at the tube tip.