

論文

花粉の発芽と花粉管の伸長 IV

マツバボタンの花粉の生長に

およぼすホウ酸ナトリウムの影響*

THE GERMINATION OF POLLEN AND THE ELONGATION OF POLLEN TUBE IV

Effects of Borax on the Growth of Pollen of *Portulaca Grandiflora*

会沢 正義**

緒言

花粉の培養にホウ素が有効であるということは、1920年頃よりいろいろの花粉について調べられている¹⁾。KWACK^{2),3)}らは、花粉の標準的な培地として、10%のショ糖にホウ酸を100 ppm加えて、Ca, Mg, Kの花粉への影響を調べ、VASIL⁴⁾も花粉の生長にホウ素の有効なことを認めている。最近、岩波⁵⁾は主にユリの花粉を用いてホウ酸が花粉管の伸長に大変有益であること、いろいろのホウ素を含む化合物の中でホウ酸がもっとも良く花粉管を伸したと報告している。しかし、これらの報告はいずれも比較的人工培養しやすい花粉について調べられている。

筆者は、ここ2,3年、人工培養の行ないにくいマツバボタンの花粉(これまでこの花粉の人工培養は岩波⁶⁾によっては成功されず、岩佐⁷⁾の実験でわずかに発芽したが、余り成績が良くなかったといっている)の発芽や花粉管の伸長について調べ、すでにホウ砂(ホウ酸ナトリウム)がマツバボタンの花粉の生長に有効であることについては予報⁸⁾した。しかし、詳しく調べたところホウ砂はマツバボタンの花粉の人工培養に必須の物質であることに確信を得たので、これらの結果について報告する。

材料と方法

実験に用いたマツバボタンの花粉は、7月20日から9月1日までに開花したものから採集した。朝、実験の度に新鮮な花粉を採集し、30℃の部屋で培地に置床した。培地は純水にショ糖、寒天、ホウ砂をいろいろの濃度に加えて作り、この培地を水を含んだ沓紙の入れてあるシャーレ(温室と呼ぶ)に入れて30℃の恒温槽内で培養した。30分間の培養後、カルノア液で固定し発芽率や花粉管の長さを測定した。発芽率は10花、3000個以上、花粉管の伸長は10花、500個以上の花粉を用いてその平均をとった。

実験結果

1. 予備実験

(1) 培地のpHは当然花粉の生長に影響を与えると考えられるので、まずいろいろな培地のpHの値を測定した。その結果は、pH 6.1~9.3で多くはpH 7.5~8.3のあたりにあり、ホウ砂を含まない培地ではpHの値それ自体は花粉の生長にはそれほど影響を与えていない。即ち、この花粉は水分を与えただけでは発芽せず、寒天を加えて培地を固形化したpH 7.7~7.9の培地でも、ショ糖液のpH 6.9~7.2の培地でも発芽を認めなかった。しかし、ショ糖寒天板のpH 7.5~7.8の培地で発芽した。

(2) ショ糖寒天培地を作る溶媒は主として純水を用いたが、比較のために再蒸留水、水道水

** Masayoshi AIZAWA : Biology, Science 1 Section, Dept. of Arts and Sci, Kanagawa Pref. Youth Center. YOKOHAMA

* 本研究の一部は、文部省科学研究費補助金(課題番号25108)を用いた。

** 神奈川県立青少年センター 学芸部 科学第1課 生物。

も用いて調べた。その理由は、純水や水道水は手軽に使用でき、特に水道水はそれに含まれる微量元素があるいは花粉の生長に促進的にはたらくこともあるかもしれぬと考えたからである。その結果、純水と再蒸留水とではシヨ糖寒天培地での花粉の生長においてほとんどその差が認められず発芽率は13%、花粉管の伸長は90 μ となった。しかし、水道水をそのまま使用した場合は予想に反して花粉管長はやや悪い結果がでて76.9 μ となった。

(3) 湿室と乾室(乾燥したシャーレ)内での培養の結果の比較は、花粉管の伸長において乾室の方がやや良い結果が出たが、余り差がないので本実験では従来通りの湿室で培養した。

(4) 培地の厚さが2mmのもの、0.02mmのものを作り花粉の生長の比較をした。この結果、2mmの方が発芽率および花粉管伸長でやや良い結果が出た。しかし、以上の結果は花粉の培養時間が30分間なので培養条件の変化がまだ花粉に十分影響を与えていないとも考えられる。

2. ホウ砂の促進効果

予報⁸⁾によって、マツバボタンの花粉に与えるホウ砂の効果がすでにわかっているの、最適人工培地を見出すために詳しい調査を行なった。

まず、いろいろのホウ砂水溶液とホウ砂寒天板とで培養したが、pHの影響によるのか発芽を認めなかった。

次にホウ砂シヨ糖水溶液で培養した結果、ホウ砂1000ppm、シヨ糖20%を含む培地で良好な結果を認め、発芽率39%、花粉管長26.2 μ が求められ、予備実験で行なった結果と比較して発芽率において大巾な伸びをみせた。しかし、花粉管伸長は逆に抑制された。純水の代わりに水道水を使った場合、水道水中の物質が発芽には抑制的に、伸長には促進的にはたらくよう、発芽率は低く花粉管長は33.6 μ と良くなった。

更に、その培地に寒天を2%加えた場合は発芽率59%、管長74.6 μ となり、上記の結果と比較し発芽率はなお伸び、花粉管長の結果も回復した。この培地でも水道水中の物質が発芽率には抑制的に、花粉管伸長には促進的にはたらく97.3 μ の長さまで達した。

以上の実験結果、ホウ砂はマツバボタンの花粉の生長、特に発芽に必須の物質であることがわかり、培地に寒天を加えることによって促進作用が増大し、その上水道水中の物質も花粉管伸長には促進的にはたらくことがわかった。以上のおもな結果をまとめて図1に示した。

3. ホウ砂濃度とシヨ糖濃度との関係

上の実験結果からホウ砂シヨ糖寒天培地がマツバボタンの花粉の生長にもっとも有効なので、

ホウ砂とシヨ糖の濃度を種々変えて培養した。その結果は図2および図3に示すごとく、発芽率はホウ砂1000ppm、シヨ糖20%、花粉管伸長もだいたい同じ培地で良く生長することがわかった。

4. ホウ砂シヨ糖寒天培地での生長過程

上の結果からホウ砂1000ppm、シヨ糖20%を含む培地を用いて、花粉を置床してからの生長過程を調べた。その結果は図4である。これからわかるように発芽率は培地に花粉を置床後60分でほぼ極大に達してしましたが、花粉管はなお伸長しつつあった。

5. 培養温度が与える影響

予備実験で約20℃以下の室温での培養は発芽率がかなり低下したことを認めたので、培養温度が花粉の生長にどのような影響を与えるかを調べた。図5はその結果で、発芽率は30℃の温度での培養がもっとも良いが、花粉管伸長は40℃での結果がもっとも良かった。これから考え花粉が発芽する場合と発芽した花粉管が伸長する場合とでその最適温度が異なることがわかる。なお調査した日で昭和42年7月26日は快晴で、午前10時頃日陰で30℃、日向の花弁の所で35℃の温度があったので、日中はもっと高い温度になったはずである。それと共に、雌ずいも温度が高くなり、受粉して発芽した花粉はその適する温度で花粉管をますます速く伸長させたと考えられる。

6. pHの影響

予備実験で花粉が発芽することができた培地は、シヨ糖寒天培地がpH7.5~7.8で、それにホウ砂を加えるとpH8.1~8.3になった。そこで、NaOHやHClを使用してpH値を6.2~8.9に変えた培地で花粉の生長を調べた。結果は図6に示す如く、発芽率はpH8前後で良い結果が出て中性から酸性やアルカリ性に傾くほど悪くなった。しかし、花粉管の伸長はそれほど差がないことがわかる。即ち花粉の発芽は培地のpHに左右されるが、一旦発芽した花粉管はpH値に影響されずに伸長するようである。

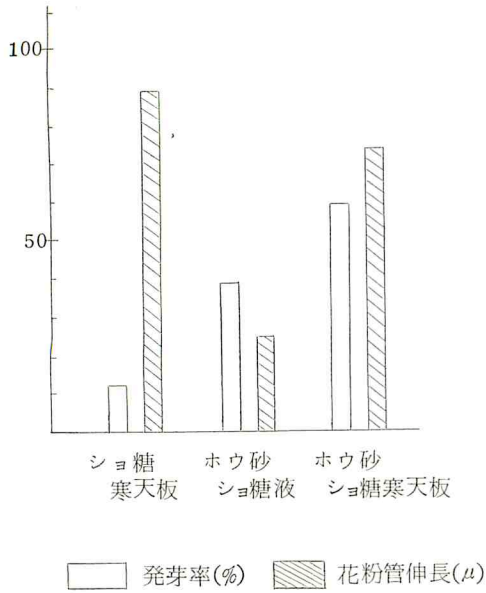


図1 培地のちがいと花粉の生長

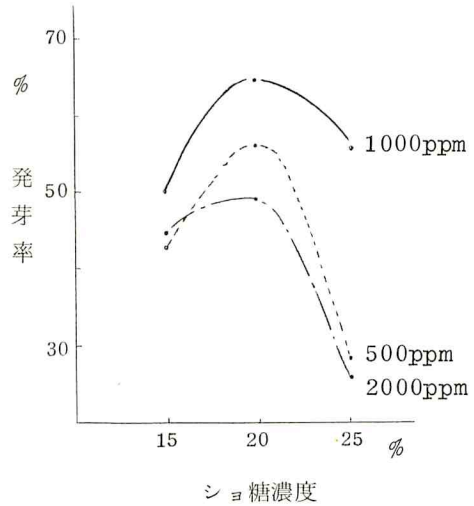


図3 ホウ砂濃度とショ糖濃度のちがいによる花粉管伸長

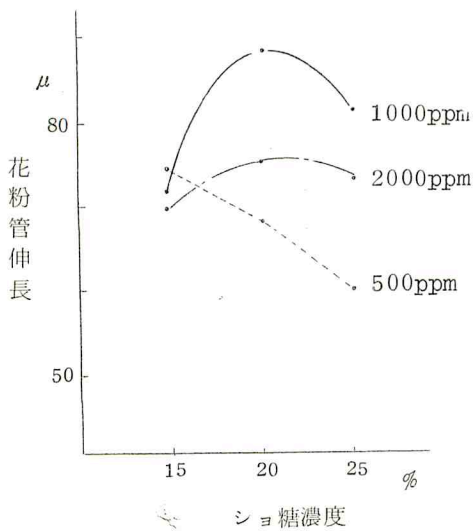


図2 ホウ砂濃度とショ糖濃度のちがいによる発芽率

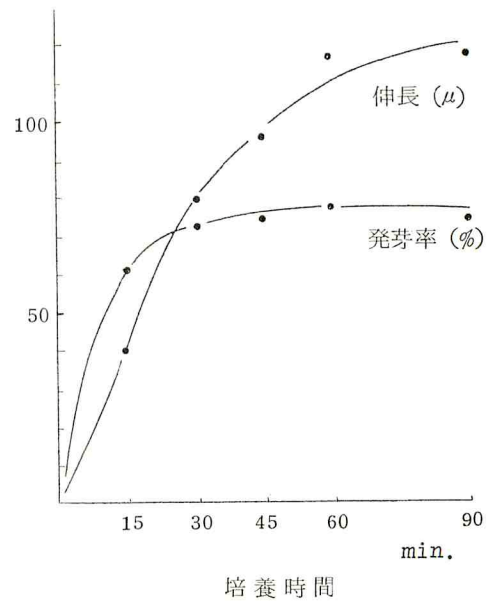


図4 ホウ砂 ショ糖寒天板での花粉の生長

考 察

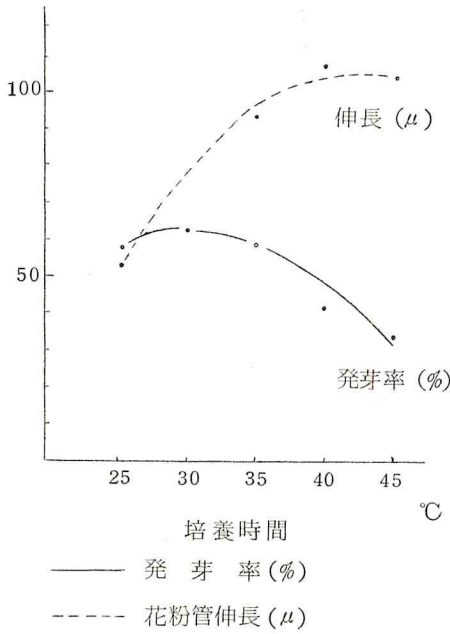


図5 培養温度と花粉の成長

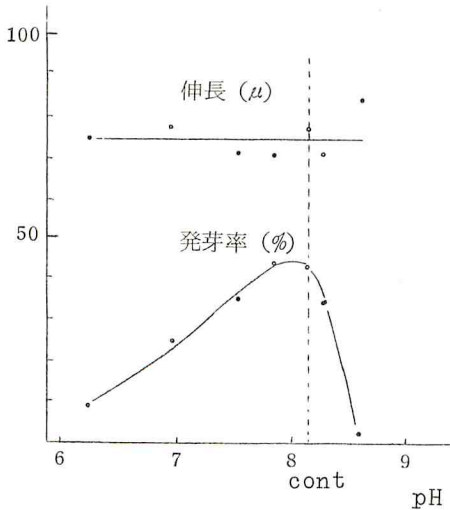


図6 pHが異なる培地での花粉の生長

人工培養しにくいマツバボタンの花粉^{6),7)}も、普通多く使用されているショ糖寒天板で平均13%の発芽率と90μの花粉管の伸長を記録した。この花粉が発芽しにくい最大の原因は、花粉自体が原形質吐出をおこしてしまうことであつたが、ホウ砂を加えるとかなりそれを防止することができて良く発芽し59%の花粉が発芽した。しかし、花粉管の伸長はやや抑制され74.6μとなった。これは培地を作るのに純水を溶媒として使用した場合であるが、水道水をじかに使用した場合はホウ砂の花粉管伸長への抑制を打消すように促進的な結果が現われ97.3μまでに伸長した。この花粉管伸長を促進するという効果はホウ砂が培地に含まれている場合にのみ有効で、ホウ砂を含まないショ糖寒天板では逆に抑制されたので、その成分であるBその他と水道水中のある物質とが促進したと考えられる。すでに培地に含まれる微量元素が花粉の生長に促進的にはたらくことは、KWACK^{2),3)}らのB, Caなど、高見⁹⁾のB, Zn, 山田¹⁰⁾のCo⁺などによって認められている。

マツバボタンの花粉の最適人工培地としてホウ砂1000ppm, ショ糖20%を含む培地が良いという結果が出たが、今回の実験でこの花粉の培養に有効なホウ砂ショ糖寒天培地でも発芽率は最高約80%で花粉管の伸長速度も柱頭上で生長する花粉^{11),12)}のそれに比較してまだだいぶ遅い。

培養温度は、一般に夏の花の花粉は高温を、冬の花では低温が良く、大体20°C~30°Cが適当であるといわれている^{13),14)}しかし、一日の気温は特に直射日光下では変化が激しく、冬10°Cで開花した花の花粉が受粉後その温度で発芽し花粉管をもっとも良く伸長させるとは限らず、日が昇り気温が上昇した時にはじめて活発に生長することもありうるであろう。このマツバボタンも20°Cの温度でも開花し受粉した花粉は発芽するが、培地でもっとも良く発芽したのは30°Cであり、花粉管の伸長は40°Cがもっとも良く置床後30分で107.1μも伸長した。これは原産がブラジルといわれる熱帯性の多肉植物なのでこの結果もうなずける。

SMITH および COCHRAN がトマトの花の培養で述べており¹³⁾、志佐はビワの花でも報告している¹⁾ように、花粉の発芽最適温度と花粉管の伸長最適温度とは異なり、マツバボタンの花粉では発芽よりも花粉管の伸長の方により高い温度が必要であつた。

一般に花粉の発芽には弱酸性が良いといわれている¹³⁾が、この花粉ではpH8前後にもっとも良い結果が出た。この場合、pHを調整するのにHClを用いたので、その影響が現われたことも考えられるが、発芽した花粉管長にはほ

とんど差がないので発芽時だけに影響を与えることがわかる。しかし、寒天板 (pH 7.6 ~ 7.9) やシヨ糖水溶液 (pH 6.9 ~ 7.3) で花粉が発芽しなかったということは単に pH だけの問題ではないと考えられる。

本研究に関して示唆を受けた横浜市立大学助教授岩波洋造博士、水質検査のデーターを見せ

ていただいた横浜市水道局水質試験所の近藤純三郎氏、その他の方に深謝する。

文 献

- 1) 志佐誠・加藤幸雄 植物生殖生理学 誠文堂新光社 東京 1962.
- 2) KWACK, B. H., Bot. Mag. Tokyo Vol.77 No.915 P.327 1964.
- 3) KWACK, B. H., & MACDONALD, T., Bot. Mag. Tokyo Vol.78 No.923 P.164 1965.
- 4) VASIL, I. K., Pollen Physiol. & Fertilization Amsterdam 1964.
- 5) 岩波洋造・中村澄雄 横浜市立大学論叢 Vol.19 No.2 1968.
- 6) 岩波洋造 花と花粉の実験 岩崎書店 東京 1959.
- 7) 岩佐亮二・本間忠・高野史郎 千葉大学園芸学部学術報告 No.10 1962.
- 8) 会沢正義 採集と飼育 Vol.28 No.8 P.274 1966.
- 9) 高見亘 植雑 Vol.74 No.973 P.142 1961.
- 10) 山田義男 植雑 Vol.71 No.844 P.319 1958.
- 11) 会沢正義 採集と飼育 Vol.24 No.9 P.39 1962.
- 12) 会沢正義 遺伝 Vol.22 No.76 1968.
- 13) 安田貞雄 高等植物生殖生理学 養賢堂 東京 1948.
- 14) 岩波洋造 花粉学大要 風間書房 東京 1964.

摘 要

人工培養が困難なマツバボタンの花粉をホウ砂を含む培地に置床して、その生長を調べた。

1. 水分、寒天板、シヨ糖水溶液、ホウ砂水溶液、ホウ砂寒天板では発芽を認めなかった。
2. シヨ糖寒天板でわずかに発芽し、それにホウ砂を加えると発芽率も増大しホウ砂シヨ糖水溶液、ホウ砂シヨ糖寒天板の順に大となるが、花粉管の伸長はホウ砂の存在でやや抑制された。
3. 花粉管の伸長は、培地の溶媒として水道水を使う方が純水を使う場合に比較して良い結果が出た。これは培地に含まれるBなどと水道水中の微量元素の影響によると考えられる。
4. 培養は、ホウ砂濃度 1000 ppm、シヨ糖濃度 20% を含む寒天培地が適当であった。
5. 培養温度は、発芽に 30°C、花粉管伸長には 40°C が最適であった。
6. 培地の pH は、8前後が発芽に最適であったが、花粉管伸長にはほとんど pH の影響が見られなかった。
7. 以上のように、マツバボタンの花粉は発芽するための最適条件と発芽した花粉管が伸長するための最適条件とは異なることが認められた。

THE GERMINATION OF POLLEN AND
THE ELONGATION OF POLLEN TUBE IV

Effects of Borax on the Growth of Pollen
of *Portulaca Grandiflora*

Masayoshi AIZAWA

Summary

1. This pollen, slightly germinating on the sucrose-agar block, had its rate of germination raised with the addition of borax to the culture medium. The effect was greater with the aqueous solution of borax-sucrose and the borax-sucrose-agar block in ascending order. But the lengthening of the pollen tube was, on the contrary, inhibited.
2. The best result was obtained as to the growth of the pollen when the culture medium contained 1000 ppm of borax and 20 percent of sucrose.
3. Concerning the choice of the solvent, service water was found more propitious for the lengthening of the pollen tube than pure water. For this reason, it is assumed that the lengthening of the pollen tube is affected by boron and other constituents of the medium as well as microelements in city water.
4. The optimum culture temperature was found to be 30°C for germination and 40°C for the lengthening of the pollen tube.
5. Germination was most favored when the pH value of the medium was around 8, while the lengthening of the pollen tube remained constant with pH 6.2 to 8.9.
6. From the above findings, it was perceived that the optimum condition for germination of the pollen was different from that for the growth of the pollen tube after pollinic sprouting.