Shigeyuki KAWAMURA and Fumio IWASAKI : Studies on Pollen Germination. II. Relationship between Pollen Germination and Agar Concentration in Artificial Media. (English summary on p. 296)

花粉発芽に関する研究

II. 花粉発芽と培地の寒天濃度との関係

河村重行*・岩崎文雄**

(*田園調布雙葉高等学校, 東京都)

(**東京教育大学農学部, 東京都)

花粉の人工発芽床の寒天濃度(硬さ)と花粉発芽との関係を検討するために実験を行なった。

実験には *Impatiens*, *Petunia*, *Cosmos*, *Helianthus* 4 属のそれぞれ 1 種と *Brassica* 属 3 種の花粉を主として用いた。

発芽床の寒天濃度は 0.5, 1, 2, 3, 4, 5% として変えた。*Cosmos* 花粉の場合は寒天濃度をさらに 7, 9, 11, 13% に高めたほか、スライドグラス上に花粉を撒布した区を作った。人工発芽床には寒天の他に添加物は加えなかった。

その結果、*Impatiens* は 3%, *Petunia* は 2%, *Helianthus* は 3%, *Brassica oleracea* は 1% の寒天濃度のときに最も良い発芽率がえられ、それより濃度が増しても減っても発芽率は低下した。*Cosmos* の花粉は、寒天濃度が 11% までは濃度が高いほど発芽率が良い傾向がみられた。このようなことから、スライドグラス上に花粉を撒布して湿室状態で発芽実験を行なったところ、寒天培地上より良い発芽率がえられた。*Brassica* 属の 3 種もスライドグラス上での発芽率が寒天培地上の場合より高かった。

以上のことから、花粉発芽に用いられている寒天培地は花粉発芽の際の単なる物質供給の場所としての役割のみではなく、培地の硬さなどの物理的な条件が花粉発芽に影響を及ぼしているものと考えられる。

緒 言

花粉を人工培地上で発芽させようとする試みは古くからいろいろな立場から行われてきた。たとえば佐々木 (1919) および中山 (1934) はイネで、権藤ら (1939) は甘蔗で、Bair ら (1941) はトウモロコシで、早瀬 (1955) はキュウリ、ナスで、井上ら (1959) はソラマメで、VOROBEVA (1963) はワタで、水流 (1967) はミカンでこれらの花粉を人工培地上で発芽させた結果について報告を行っている。

これらの報告を検討してみると、培地は、寒天濃度が 0.5~2% で、これにショ糖を添加したものが多く用いられている。

ところが、このような培地を用いた場合、ハウセンカ、ペチュニアなどの花粉では良い発芽がみられるのに対してコスモス、キクイモ、*Brassica* 属の花粉では発芽がきわめて悪い。

このようなことから前報 (1974) では、発芽に要する糖含量が、植物の種類によって異なるので

注：本論文の 1 部は日本育種学会第 46 回講演会および同第 48 回講演会において発表した。
1975 年 7 月 30 日受領

はないかと考えて花粉粒内の糖含量を調べたが、この点から発芽率の差異を誘起していると思われる要因を解明することができなかった。そのため著者らは、これらの花粉が人工発芽床上で発芽率に差異がみられるのは、花粉発芽の培地が、それぞれの花粉の発芽に適していないのではないかと考えた。

このように発芽床自体に検討を加えようとする場合、培地の条件は大別して次の2つに分けて考えられる。その第1は培地のもつ硬さ、厚さ、水分含量などの物理的条件であり第2には培地に添加された糖を含めた化学物質、pHなどの化学的条件である。そして、この2つの面から追求が行なわれるならばそれぞれの植物に適する発芽培地も発見できるのではなかろうかと考えた。本実験ではまず物理的条件のうちの寒天濃度（培地の硬さ）に着目して実験を行ない、結果をえることができたので報告する。

実験材料

実験材料には発芽の良いものから *Impatiens balsamina* L. (ハウセンカ) と *Petunia hybrida* Hort. (ペチュニア) を、発芽の悪いものから *Cosmos bipinnatus* Cav. (コスモス), *Helianthus tuberosus* L. (キクイモ), *Brassica oleracea* var. *acephala* L. (キチンケール), *Brassica pekinensis* Rupr. (チーフハクサイ), *Brassica cernua* Coss. (キカラシナ) の花粉を主として用いた。これらのうち、ハウセンカとペチュニアは市販の種子より育てたものを、キクイモは東京教育大学農学部構内に生育しているものを、キチンケール、チーフハクサイ、キカラシナは東京教育大学農学部育種学研究室でそれぞれ前記名称で栽培しているものを用いた。

実験方法

発芽床は添加物を何も加えない寒天のみの培地を用いた。寒天濃度は0.5, 1, 2, 3, 4, 5%の6通りとしたが、コスモスの場合はこの他に7, 9, 11, 13%の培地でも行なった。また培地のpHはすべて5.8にした。

寒天培地は硬質スライドガラスの上に厚さが約1.5mmになるようにし、開葯直後の花粉を用いた。発芽床への花粉の撒布は薬包紙上に花粉を集め、それを筆につけて行なった。花粉を撒布した後、スライドガラスを口径12cmのシャーレ中に移した。なお、それぞれのシャーレ中には直径9cmの沓紙を1/4に切ったものに水0.5ccをしみこませていれて湿度を調節した。この湿度調節法は予備実験の結果での最適な条件なのであるが、この他の花粉発芽の条件は同様に予備実験の結果に基づいて、*Brassica* 属は20°C、その他は27°Cとし、発芽の時間はハウセンカは15分、ペチュニアは90分、コスモス、キクイモ、*Brassica* 属は24時間とした。

置床後上記の時間がたったら、直ちにアセトカーミン液を滴下して発芽を停止させ、カバーガラスをかけてから検鏡した。発芽は花粉管の伸長が花粉の1/2に達したものを発芽と認めた。なお、実験は1973, 1974年に実施したが、1回の調査花粉粒数は500~1000粒とし予備実験も含めて8反覆を行なった。

実験結果

ホウセンカ：実験結果は第1表に示したとおりである。すなわちホウセンカの花粉では寒天濃度3%のときに最も良く発芽し、それより濃度が高くて低くても発芽率は低下する。とくに注目すべきことは、花粉管の伸び方で、寒天濃度が3%と4%、5%とはそれほど大差はない伸び方を示すのに対して、0.5%と1%のものは、3%のものより発芽率が悪いのみでなく、花粉管の伸び方も悪い。このことは3%区に比べて0.5%区と1%区はホウセンカの花粉発芽には適した寒天濃度ではないといえる。

Table 1. Germination of pollen grains in accordance with agar concentration of artificial media at 27°C

Species	Agar concentration of artificial media (%)		0.5		1		2		3		4		5	
	Division		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
<i>Impatiens balsamina</i> L.			3160	39.4	3672	39.0	3094	40.0	4706	57.8	4506	54.3	3402	47.9
<i>Petunia hybrida</i> Hort.			2028	16.8	3996	23.7	3282	32.9	2474	28.2	2715	18.6	2652	20.4
<i>Cosmos bipinnatus</i> Cav.			2539	0.4	2595	0.6	2346	0.7	2288	1.2	2760	1.2	2149	2.4
<i>Helianthus tuberosus</i> L.			3096	0.1	3214	0.4	2988	0.7	2650	1.7	2774	1.2	3572	0.8
* <i>Brassica oleracea</i> var. <i>acephala</i> L.			2424	4.3	3240	5.2	3164	2.7	2724	3.2	3524	1.6	2960	0.7

*At 20°C

ANumber of pollen grains

BPercentage of germination

ペチュニア：ペチュニアの花粉では2%の寒天濃度のときに最も良く発芽し、それより濃度が高くて低くても発芽率は低下した。ペチュニアの場合もホウセンカの場合と同様に花粉管の伸び方は2%と3%区では大体同じであったが、0.5%区は花粉の大きさの1倍長、1%区は1.5倍長というように2%区以上の区に比べて伸び方が悪かった（第1表参照）。

コスモス：コスモスの花粉では、寒天濃度が高くなるにつれて発芽率は良くなり5%区で最も良い発芽率がみられた。このためさらに寒天濃度の高い区を作って調査したところ、第2表に示したように寒天濃度が11%と13%のときにそれぞれ7.4%、6%という結果が得られた。

Table 2. Germination of *Cosmos* pollen in accordance with the higher degree of agar concentration of artificial media at 27°C

Division	1		7		9		11		13	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Percentage of germination	2775	0.4	2388	1.9	2571	2.1	2442	7.4	1746	6.0

ANumber of pollen grains

BPercentage of germination

キクイモ：キクイモの花粉では寒天濃度3%のとき発芽率1.7%で最高を示し、それより高くても低くても発芽率は低下した。花粉管の伸び方はきわめて悪く、花粉の1/2倍長～1倍長であった。

キチンケール：キチンケールの場合では寒天濃度 1% のとき発芽率 5.2% で最も高く、濃度が高くなるにつれて発芽率は低下し、寒天濃度 5% では 0.7% の発芽率であった。花粉管の伸び方も非常に悪く、ほとんどが花粉の 1/2 倍長くらいであった（第 1 表参照）。

考 察

発芽床の寒天濃度と硬さについて

本実験に用いた植物の花粉をいろいろの寒天濃度上で発芽させた結果は以上のものであるが、寒天濃度の変化による培地の硬さについて検討を加えてみた。

本実験に用いた寒天濃度による硬さを測定する適当な方法がえられなかったので、別にスライドガラス上に厚さ 2 cm のものを作り画鋏を用いて調査した。その方法は次のようである。各濃度の寒天表面に画鋏を置き、一定時間内に針が寒天の中にはいるかどうかを調べた。針がはいらない場合は分銅を画鋏にのせた。温度は 20°C で行なった。

0.5% の場合には静かに画鋏を置くと、画鋏自身の重さで針の部分がはいった。1% の場合は 1 g の分銅をのせてようやく針がはいった。3% の場合は 2 g の分銅を 5 cm 上から画鋏上に落とすと針はささる。5% の場合は 5 g の分銅を 5 cm 上から落とすと針はささる。9% では 5 g の分銅ではささらぬが、10 g の分銅を 5 cm 上から落とすとささる。13% では 10 g の分銅を 5 cm 上から落としても針は半分しかささらなかった。前述の調査から、寒天培地は低濃度ほどやわらかいが、濃度が高くなるにつれ硬さをまし、コスモスの発芽床に用いた 11%、13% ではかなりの硬さになっているといえよう。

これまでの花粉発芽に関する報告をみると、糖類その他、培地に添加する物質についての研究は数多く認められるが、発芽床を「硬さ」という立場から検討を行なった報告はほとんどない。もちろん発芽床に用いた寒天の濃度は研究者と材料によっていろいろであり、BAIR ら (1941) はトウモロコシで 0.7% の寒天を、LAYNE ら (1964) はエンドウマメで 1% の寒天を用いており、佐々木 (1919) はオオムギとイネで 5%、位田 (1950) はインゲンマメで 5%、また TAYLOR (1972) はワタで 3.5% の寒天を用いたことを報告している。

本実験では添加物を何も加えない寒天のみの培地を用い、その濃度を 0.5, 1, 2, 3, 4, 5% にした結果、培地の硬さも寒天濃度の増加につれて硬くなった。その結果、ハウセンカでは 3%、ペチュニアでは 2%、キクイモでは 3%、キチンケールでは 1% で最高の発芽率がみられ、それより寒天濃度が高くなっても低くなっても花粉の発芽率は低下した。ところがコスモスでは発芽率はきわめて低いが、寒天濃度 5% で最も高い発芽率 (2.4%) が認められた。そこで、コスモスではさらに寒天濃度を高めて実験を行なったところ、11% では 7.4% の発芽率をえることができた (第 2 表)。そして、コスモスの発芽率が 7.4% を示した寒天培地の硬さは、0.5~3% の寒天培地と比べれば著しく硬いもので、花粉管が伸長しても寒天培地中に侵入できるかどうか疑問視されるほどの硬さである。このようなことから、もし花粉管が培地中に侵入できなくとも発芽が起こりうるものであるならば、寒天培地上でなくスライドガラス上でも適当な湿度さえあれば、コスモスの花粉発芽は

可能なのではないかと考えて、スライドガラス上に花粉を撒布して湿した沱紙をいれたシャーレ中に置いて発芽状態を観察したところ、第3表、第1図のような結果がえられた。すなわち、コスモスの花粉は、湿度が全くなければ発芽しないが、スライドガラス上でも湿度さえあればむしろ寒天濃度の低い人工培地上より良好な発芽を示すという事実が明らかになった。更にコスモスと同様に発芽の悪い *Brassica* 属の花粉についてもスライドガラス上で発芽するかどうかを調べたところ、コスモスの場合と同様、寒天培地より良い発芽率を示すことがわかった(第4表・第1図)。そして花粉管の伸長もキッチンケールでは花粉の大きさの1倍長から5倍長、キカラシナでは1倍長から8倍長、チーフハクサイでは1倍長から3倍長というように比較的良好な結果がえられた。

本実験結果から、ハウセンカでは3%, ペチュニアでは2%, コスモスでは11%, キクイモでは

Table 3. Germination of *Cosmos* pollen on the slide glass in the moist chamber at 27°C

Width of round filter paper (r=90 mm)	1/16		1/8		1/4		1/2		1		1.1/2	
Division	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Percentage of germination	2110	0	1905	0	1885	1.3	2335	12.3	3740	15.0	3230	14.9

A.....Number of pollen grains

B.....Percentage of germination

Fig. 1. Pollen germination and pollen tube growth on the slide glass in the moist chamber.

A : *Cosmos bipinnatus* Cav. ×100.

B : *Brassica cernua* Coss. ×100.

A' : *Cosmos bipinnatus* Cav. ×400.

B' : *Brassica pekinensis* Rupr. ×400.

Table 4. Germination of *Brassica* pollen on the slide glass in the moist chamber at 20°C

Varieties Division Width of round filter paper	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>acephala</i> L.		<i>Brassica cernua</i> Coss.		<i>Brassica pekinensis</i> Rupr.	
	A	B	A	B	A	B
1 (r=90 mm)	2178	11	2580	22.3	3108	27.7

A……Number of pollen grains

B……Percentage of germination

3%, キチンケールでは1%の寒天濃度のときが最も良い発芽を示したが, コスモス, キチンケールは寒天培地よりスライドグラス上での発芽率が良いというように, 植物の種類によって最適寒天濃度——硬さ——には差がみられる。BAIRら(1941)はトウモロコシの花粉発芽では柔らかい寒天が良く, 最も良い結果は花粉の2/3が培地に埋蔵し, 残り1/3が空気に触れている場合で, それは0.7%の寒天濃度であると述べている。これらのことは寒天濃度による培地の状態——硬さ, 厚さ——などが花粉発芽に影響を与えているものと考えられる。また一方, コスモス, キチンケール, キカラシナ, チーフハクサイの花粉でみられたスライドグラス上での発芽の事実は, 人工培地が, 花粉発芽の際の単なる物質供給の場所としての役割のみでなく, 本実験で「硬さ」で表現したような物理的な条件が花粉発芽に影響を及ぼしていることも考えられる。

引用文献

- BAIR, R. A. and W. E. LOOMIS 1941. The germination of Maize pollen. *Science* **94**(2433): 168~169.
 権藤安武・高橋 翠 1939. 甘蔗花粉に関する研究 I. 人工発芽床上に於ける花粉の発芽試験1. *遺雜* **15**(4): 194~208.
 早瀬広司 1955. 開花前後の温度と胡瓜, 茄における花粉の発芽力, *園学雑* **24**(2): 143~148.
 位田藤久太郎 1950. 菜豆の結実に関する研究. *育種と農芸* **5**(3): 102~105.
 河村重行・岩崎文雄・細田友雄 1974. 花粉発芽に関する研究 I. 花粉粒内の糖含量について. *育雜* **24**(3): 146~152.
 LAYNE, R. E. C. and D. J. HAGEDORN 1964. Effect of boron and agar on germination of pea pollen in sucrose media. *Crop Science* **4**: 39~42.
 水流 洋 1967. 温州ミカンの含核と花粉の活性. *農技* **22**(9): 429~430.
 中山林三郎 1934. 稲花粉の人工発芽について. *農及園* **9**(9): 23~32.
 佐々木喬 1919. 作物の花粉の発芽床上に於る発芽に就きて. *農学会報* **207**: 921~944.
 TAYLOR, R. M. 1972. Germination of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) pollen on an artificial medium. *Crop Science* **12**(2): 243~244.
 VOROBÉVA, G. A. 1963. Germination of cotton pollen of the variety 108-f under artificial condition. *Biol. Abst.* **46**(6): 26789.

Summary

The experiment was carried out to study the relationship between pollen germination of several cultivars and agar concentration of the media.

In this experiment, pollen of *Impatiens balsamina* L., *Petunia hybrida* Hort., *Cosmos bipinnatus* Cav., *Helianthus tuberosus* L., *Brassica oleracea* var. *acephala* L., *Brassica cernua* Coss. and *Brassica pekinensis* Rupr. were used as materials. The agar concentration of the media was plotted 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0% and other chemicals were

not added in media.

The results were as follows : The most suitable concentration of agar media differed according to pollen of each cultiva. The best germination ratio was observed on 3% agar medium in *Impatiens balsamina* L., on 2% in *Petunia hybrida* Hort., on 5% in *Cosmos bipinnatus* Cav. and on 1% in *Brassica oleracea* var. *acephala* L.

The germination ratio of *Cosmos* pollen was better in the high concentration of agar medium than the low concentration of it. So, in the case of the pollen of *Cosmos*, slide glass was used for pollen germination bed instead of agar medium. The germination ratio was better on slide glass than on the agar medium.

S. KAWAMURA

Denenchofu Futaba High School, Tokyo 158

F. IWASAKI

Faculty of Agriculture, Tokyo University of Education, Tokyo 153