

# 走査型電子顕微鏡によるアカマツ,クロマツ,ハイマツ花粉の 発芽についての観察

|       |                                                   |
|-------|---------------------------------------------------|
| 誌名    | 日本林學會誌 = Journal of the Japanese Forestry Society |
| ISSN  | 0021485X                                          |
| 著者名   | 斎藤,幹夫                                             |
| 発行元   | 日本林學會                                             |
| 巻/号   | 65巻5号                                             |
| 巻号補足  |                                                   |
| 掲載ページ | p. 187-191                                        |
| 発行年月  | 1983年5月                                           |

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## 短 報

走査型電子顕微鏡によるアカマツ、クロマツ、  
ハイマツ花粉の発芽についての観察

斎 藤 幹 夫\*

SAITO, Mikio: Observations of pollen germination in three species of *Pinus* by scanning electron-microscope J. Jap. For. Soc. 65: 187~191, 1983 Pollen germination and pollen tube elongation in *Pinus densiflora* SIEB. et ZUCC., *P. thunbergii* PARL., and *P. pumila* REGEL on agar gel were observed with a scanning electron-microscope. Pollen tubes protruded from the boundary line between the germinal furrow and the marginal ridge of the cap, but not from the center of the germinal furrow. Pollen tubes elongated at a right angle with the polar axis immediately after germination. The frequency rate of pollen grains having two pollen tubes was about 78 percent, both in *Pinus densiflora* and *P. thunbergii*.

## I. は じ め に

花粉の形態学的観察は、古くから光学顕微鏡を用い、また、最近では、走査型電子顕微鏡を用いて進められ、多くの記載例が見られる(1,3)。しかし、実際に花粉管が花粉のどこから出て、どの方向に伸びるのかについては、走査型電子顕微鏡を用いての観察例は見あたらない。光学顕微鏡を用いて観察し、いろいろと推測(2~4)されているが、光学顕微鏡では焦点深度が浅いこともあって決定的な判定が困難である。

筆者は人工発芽床で発芽させたアカマツ、クロマツおよびハイマツの花粉粒を走査型電子顕微鏡で観察した。その結果、マツ属3樹種の花粉粒で、花粉管が出てくる明確な位置と伸長の方向を知ることができたので報告する。

## II. 材 料 と 方 法

供試花粉は林業試験場構内樹木園のアカマツ、クロマ

ツおよびハイマツから採集した。採集年月日、花粉の貯蔵条件、発芽率などは表-1に示す。

この観察に用いたアカマツ、クロマツおよびハイマツ花粉の発芽率はそれぞれ 95, 96, 84% という高い値を示し、活力おう盛な花粉であった。

花粉を発芽させるための人工発芽床はつぎのように作った。再蒸留水 (pH 5.3) に寒天 1% としょ糖 10% を加え、寒天が十分に溶解するまで加熱した。寒天溶液は洗浄したシャーレの中に厚さ 1~2 mm になるように流し、固まった後、およそ 1 cm<sup>2</sup> の大きさに切断した。切断した寒天片 (人工発芽床) はよく洗浄したスライドガラスの上にのせた。

この寒天片上に花粉を置床 (1981 年 11 月 10 日) した後、大型シャーレを用いた二重湿室中に納め、30°C の暗黒恒温器内においた。48 時間後に取り出し、発芽率を調査した。その後、発芽床は走査型電顕用試料台にのせるのに便利な大きさとするため、4~6 個に切断し、試料とした。

表-1. 供試花粉の記録  
Materials used for observations

| 種 名<br>Species                  | 採集年月日<br>Collection date | 貯 蔵<br>Storage of pollen |                         | 発 芽 率<br>(11月10日)<br>Germination percentage<br>on Nov. 10 (%) |
|---------------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------|
|                                 |                          | 期 間<br>Storage period    | 温 度<br>Temperature (°C) |                                                               |
| アカマツ<br><i>Pinus densiflora</i> | May 6, 1981              | May 9~Nov. 10, 1981      | -20                     | 95.4                                                          |
| クロマツ<br><i>Pinus thunbergii</i> | May 1, 1981              | May 3~Nov. 10, 1981      | -20                     | 96.1                                                          |
| ハイマツ<br><i>Pinus pumila</i>     | May 1, 1981              | May 3~Nov. 10, 1981      | -20                     | 84.3                                                          |

各樹種の供試花粉は2~3母樹の等量混合花粉である。

The pollen used for observations in each species were mixtures of pollen collected from two or three trees.

\* 林業試験場 For. & For. Prod. Res. Inst., P. O. Box 16, Tsukuba Nōrinkenkyū-danchi, Ibaraki 305

試料は1% オスミウム酸 (ダルトン固定液) で 0°C, 1時間 30 分の固定を行った。固定後, アルコール系列を通して脱水し, ついで試料中のアルコールを酢酸イソアミル, 液化炭酸ガスで置換し, 臨界点乾燥装置を用い

て乾燥した。

乾燥した試料は両面テープで試料台に貼付し, 金蒸着後, 加速電圧 20 kV で, 走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察を行った。

### III. 結果と考察

マツ属花粉の模式図を図-1 に示す。

花粉母細胞内の中心部から4個の花粉粒 (小孢子) のそれぞれを通る4本の線を放射状に引き, これを極軸とし, 極軸と花粉が交わる内側の点を向心極, 外側の点を遠心極とよぶ。遠心極側の面を遠心極面 (腹面), また, 向心極側の面を向心極面 (背面), さらに, 遠心極面と向心極面の境界線を赤道とよぶ。マツ属花粉の遠心極面 (図-1 の1) は反対側の向心極面 (図-1 の3) よりも膜がうすく, 発芽溝 (図-1の1のG) とよばれている。また, 向心極面の肥原部 (背部) を帽部 (図-1の2のCといい, いわゆる縁辺隆起 (帽部や発芽溝をとりまいて, ややはり出している縁) に囲まれている。

人工発芽床で発芽させたアカマツ, クロマツおよびハイマツ花粉の走査型電子顕微鏡写真は図-2 および3に示す。

アカマツ花粉の花粉管の出る位置は, 帽部の縁辺隆起から発芽溝に移行する境目 (図-1 の1, 2, 図-2 の1) である。この位置に, まず赤道と平行の方向に両気のように達する一文字状のきれつ (図-2 の1) が生じ, ここから1本の花粉管が伸長する (図-2 の3)。また, 花粉粒の反対側の同じ位置にきれつが生じ, さらにもう1本の花粉管を伸ばすことも, しばしば観察された (図-2 の2)。しかし, 発芽溝の中央部あるいは向心極面から

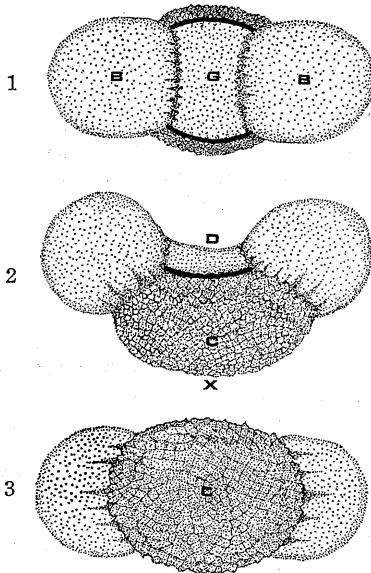


図-1. マツ属花粉の模式図  
Diagrammatic representation of *Pinus* pollen grains

1. 遠心極面 Distal face, B: 気う Bladder, G: 発芽溝 Germinal furrow
  2. 赤道観 Equatorial view, D: 遠心極 Distal pole, X: 向心極 Proximal pole, C: 帽部 Cap
  3. 向心極面 Proximal face, C: 帽部 Cap
- : この部分から花粉管が出る。Pollen tubes protrude from these lines.

表-2. アカマツ, クロマツ花粉の花粉管の伸長型別の割合  
Elongation types of pollen tubes in *Pinus densiflora* and *P. thunbergii*

| 花粉管の伸長型<br>Elongation types of pollen tubes                                    | アカマツ<br><i>P. densiflora</i>  |                                  |                                      | クロマツ<br><i>P. thunbergii</i>  |                                  |                                      |
|--------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|
|                                                                                | 粒数<br>Number of pollen grains | 割合<br>Percentage of total number | 花粉管の長さ<br>Length of pollen tube (μm) | 粒数<br>Number of pollen grains | 割合<br>Percentage of total number | 花粉管の長さ<br>Length of pollen tube (μm) |
| 1本の花粉管を伸ばす<br>A pollen grain elongates into one pollen tube.                   | (A type) 14                   | 22.2                             | 25~180                               | 13                            | 21.3                             | 60~155                               |
| 長い2本の花粉管を伸ばす<br>A pollen grain elongates into two long* pollen tubes.          | (B type) 6                    | 9.5                              | 25~110                               | 7                             | 11.5                             | 25~95                                |
| 長, 短2本の花粉管を伸ばす<br>A pollen grain elongates into long and short** pollen tubes. | (C type) 43                   | 68.3                             | 短 3~15<br>長 6~210                    | 41                            | 67.2                             | 短 2~19<br>長 30~165                   |
| 計<br>Total                                                                     | 63                            | 100                              |                                      | 61                            | 100                              |                                      |

\*: 花粉管の長さは 25 μm 以上  
Length of the pollen tube was longer than 25 μm.

\*\* : 花粉管の長さは 19 μm 以下  
Length of the pollen tube was shorter than 19 μm.

花粉管を伸ばす花粉粒は認められなかった。したがって、アカマツ花粉の花粉管の出る位置は、帽部の縁辺隆起から発芽溝に移行する境目（花粉粒の両側に2か所ある）のみである。

クロマツおよびハイマツ花粉の花粉管の出る位置もアカマツ花粉とまったく同じで、前述の2か所である（図-3の1, 4）。また、アカマツ花粉と同様、発芽溝の中央部あるいは向心極面から花粉管を伸ばした花粉粒は見られなかった。

アカマツ、クロマツおよびハイマツの花粉管は前述の2か所のきれつから、花粉粒の極軸に対してほぼ直角の方向に伸長する（図-2の2, 3, 図-3の6）。もちろん、極軸に直角の方向に伸長し始めた花粉管は間もなく、自由に方向を変えて伸長しうる（図-3の5, 6）。人工発芽床上的花粉管は発芽床に接触しながら伸長し、その先端が発芽床に侵入したものは見られなかった。

花粉管の伸長状態は3型に分類することができる。花粉管は2か所のきれつのどちらか1か所から1本だけ伸長する場合（A型：図-2の3）と、2か所のきれつからそれぞれ1本ずつ、計2本が伸長する場合（図-2の2, 図-3の3, 5, 6）とがある。花粉管が2本伸長する場合は、2本とも伸長がよいもの（B型：図-3の6）とそのうちの1本はあまり伸長しないもの（C型：図-2の2, 図-3の3, 5）とが見られた。

花粉管の伸長の有無と伸長量を正確に観察、測定できた花粉粒がアカマツ、クロマツでは、それぞれ60粒以上あった。この2樹種の花粉管の伸長型別の割合を表-2に示す。長、短2本の花粉管を伸ばした花粉粒（C型）は約70%で最も多く、ついで1本の花粉管を伸ばした花粉粒（A型）が約20%あり、長い2本の花粉管を伸ばした花粉粒（B型）は最も少なく、約10%であった。

光学顕微鏡下で観察されたマツ属花粉の花粉管は一般に発芽溝の中央部から極軸方向に伸長する（マツ属花粉を含む2気のうち花粉、図-4の1）と考えられている（3）。しかし、「一部の花粉では腹部両側の両気の間からも花粉管を伸ばす（マツ属）。」という報告（4）や花粉管は「二つの気のうちが着生する部位と直角な方向に伸長する（アカマツ）。」という報告（2）も見られる。後者の報告に示された図から判断すると花粉管は極軸に対して直角の方向に伸長することを観察しているのであろう。

筆者の観察結果では、供試したマツ属3樹種の花粉は帽部の縁辺隆起から発芽溝に移行する境目に生じたきれつから花粉管を伸ばし、発芽溝の中央部あるいは向心極面から花粉管を伸ばす花粉粒は認められなかった。したがって、花粉管は発芽溝の中央部から伸長するという考

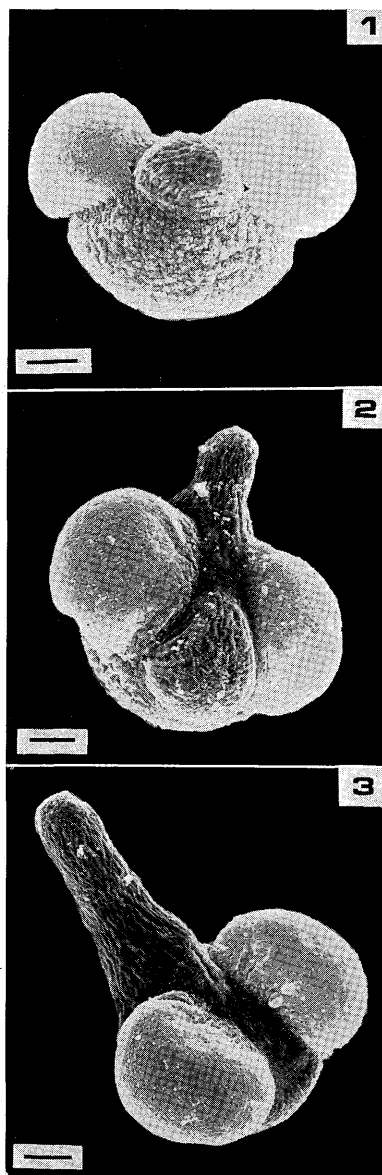


図-2 アカマツ花粉の走査型電子顕微鏡写真  
Scanning electron micrographs of pollen grains of *Pinus densiflora*

1. 花粉管の伸び始め（赤道観）  
Pollen tube is beginning to develop (equatorial view)
  2. 長、短2本の花粉管が伸長する（やや遠心極面）  
Pollen grain with short and long pollen tubes (approximately distal face)
  3. 1本の花粉管が伸長する（遠心極面）  
Pollen grain with one pollen tube (distal face)
- : 長さ10  $\mu\text{m}$  である。Bar in photographs is 10  $\mu\text{m}$  long.

えは否定されなければならない。

走査型電子顕微鏡による観察では、すべての花粉粒が先に確認した2か所のきれつから花粉管を極軸にほぼ直

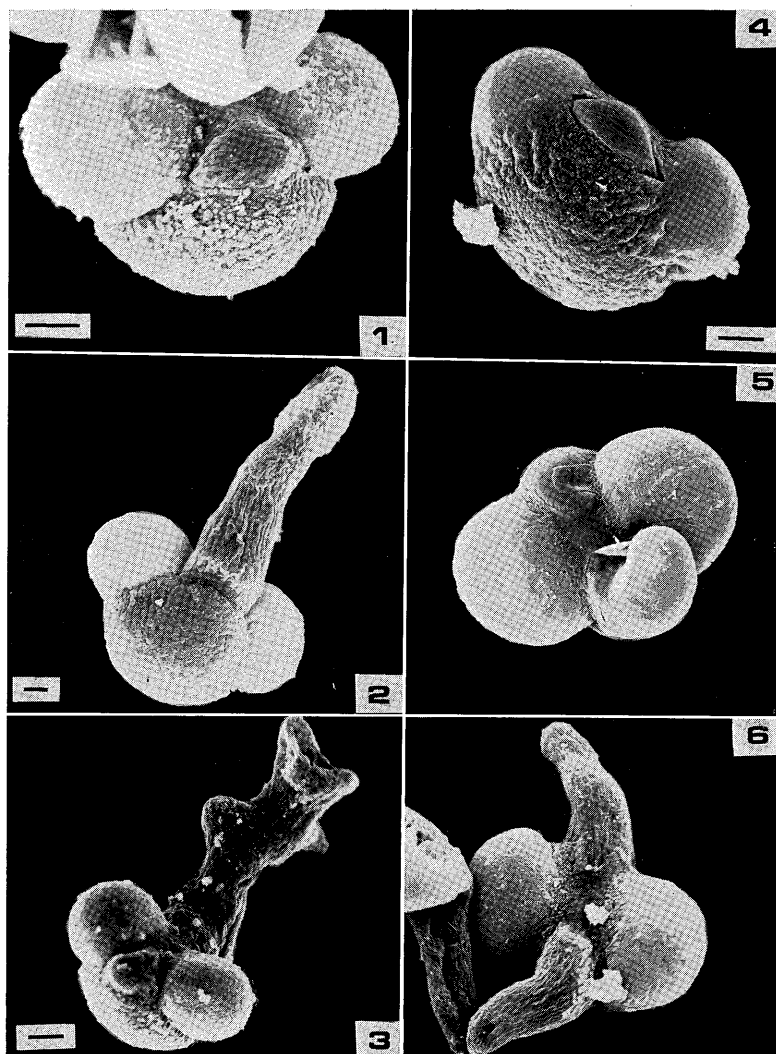


図-3. クロマツ (1~3), ハイマツ (4~6) 花粉の走査型電子顕微鏡写真  
Scanning electron micrographs of pollen grains of *Pinus thunbergii* (1~3)  
and *P. pumila* (4~6)

1. 花粉管の伸び始め (赤道観)  
Pollen tube is beginning to develop (equatorial view).
2. やや向心極面から見た花粉管  
Pollen tube on the approximately proximal face
3. 長, 短 (手前) 2本の花粉管が伸長する (やや遠心極面)  
Pollen grain with short and long pollen tubes (approximately distal face)
4. 花粉管の伸び始め, きれつ状態がよくわかる (やや赤道観)  
Pollen tube is beginning to develop (approximately equatorial view).
5. 長, 短 2本の花粉管が伸びる (遠心極面)  
Pollen grain with short and long pollen tubes (distal face)
6. 長い2本の花粉管が伸長する (遠心極面)  
Pollen grain with two long pollen tubes (distal face)

—: 長さは 10  $\mu$ m である。Bar in photographs is 10  $\mu$ m long.

注: 4~6; 同倍率。

Note: 4~6 are the same magnification.

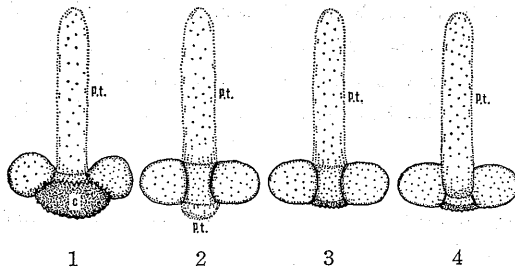


図-4 マツ花粉管のいろいろな伸び方を想定したときの模式図

Schematic representation of pollen tube elongation in *Pinus*

1. 発芽溝の中央部から極軸方向に花粉管が伸長する(赤道観)。従来考えられていた発芽の状態。この型の発芽は観察されなかった。  
One pollen tube elongates parallel with the polar axis after germination from the center of the germinal furrow (equatorial view). This type was not observed in this experiment.
  2. 長、短2本の花粉管が極軸に直角の方向に伸長する(遠心極面)。今回観察した発芽の型(C型)。  
Long and short pollen tubes elongate at right angles with the polar axis after germination from the boundary line between the germinal furrow and the marginal ridge of the cap (distal face). C type in this experiment.
  3. 1本の花粉管が極軸に直角の方向に伸長する(遠心極面)。今回観察した発芽の型(A型)。  
One pollen tube elongates at a right angle with the polar axis after germination from the boundary line between the germinal furrow and the marginal ridge of the cap (distal face). A type in this experiment.
  4. 花粉管は発芽溝の中央部から極軸方向に発芽後、極軸に直角の方向に進路を変更する(遠心極面)。このような発芽は観察できない。  
Pollen tube protrudes from the center of the germinal furrow and then elongates at a right angle with the polar axis (distal face). This type was not observed in this experiment.
- C: 帽部 Cap, p.t.: 花粉管 Pollen tube

角の方向に伸ばすのに、光学顕微鏡による観察結果では、発芽溝の中央部から極軸方向に花粉管を伸ばすと考

えられたのは、なぜであろうか。このことについて考えてみたい。

発芽溝の中央部から極軸方向に花粉管が伸長した状態(従来考えられていた発芽の状態)を模式的に示すと図-4の1のとおりである。筆者の確認した2か所のきれつから、それぞれ1本、計2本の花粉管が伸長し、そのうちの1本がわずかしき(図-1の1の短径よりも小; 19  $\mu\text{m}$  以下)伸びない状態(C型)のものが図-4の2である。これを見ると、ごくわずかしき伸びていない花粉管は図-4の1の帽部のふくらみとよく似ている。また、本調査の結果では、この型の発芽をした花粉粒(C型)が最も多かった(約70%)。そのため、花粉管は帽部の反対側、つまり発芽溝の中央部から伸長すると誤認されたのではないと思われる。さらに2か所のきれつのうち、どちらかの一方からのみ花粉管を伸ばしたのが、図-4の3である。この型の花粉粒(A型)は、その数が少ないので(約20%)、花粉粒が傾いて帽部が見えないか、または、図-4の4に示したように花粉管が発芽溝の中央部から出た後に、極軸に直角の方向に進路を変更したものと考えられたのではないと思われる。

本調査をすすめるにあたって、走査型電子顕微鏡の操作技術と試料の処理方法などについて懇切な指導をいただいた林業試験場保護部天敵微生物研究室長片桐一正博士、同樹病研究室楠木 学博士に厚くお礼申しあげる。

#### 引用文献

- (1) 幾瀬マサ: 日本植物の花粉. 303 pp, 広川書房, 東京, 1956
- (2) 斎藤雄一: 赤松の花粉発芽に就て. 日林誌 32: 217~219, 1950
- (3) 上野実郎: 花粉学研究. 210 pp, 風間書房, 東京, 1978
- (4) 渡辺光太郎・市河三次: 花粉の発芽に関する一二の知見. 花粉誌 6: 3~8, 1970

(1982年9月17日受理)