

論 説

キク属植物花粉の人工培養の研究

永海秋三*・秋沢一位**・岩波洋造***

Studies on the Artificial Culture of Chrysanthemum Pollen

Shuzo NAGAMI,* Kazunori AKIZAWA** and Yozo IWANAMI***

まえがき

高等植物の生殖細胞である花粉は、成熟すると母体から離れて雌ずいに移り、発芽し、花粉管をのばして雄性の核を卵細胞に送り込む。雌ずい以外の場所で花粉を育てること、すなわち花粉の人工培養は、植物の種類によって容易な場合と困難な場合とがある。たとえばハウセンカの花粉は水に浮べておくだけで2、3分もすると発芽を始めるが、他の多くの花粉は水だけでは発芽せず、sucrose の液(約10%)を寒天でかため、さらにその中に種々の物質 (boric acid, calcium nitrate, amino acid, malonic acid など) を溶かし込んだ培地に散布することによって培養が可能になる。

キク属植物の花粉は、古くから人工培養の困難な花粉の代表的なものとして知られている。今日までに、キクの花粉の人工培養に成功した例は KUBO (1955)、TSUKAMOTO and MATSUBARA (1968)、

秋沢 (1972) など、それぞれ1種の花粉について最高12.86%、11.7%、30%の発芽率をみている。

筆者らの一人永海は日本列島産野生菊21種類と園芸菊数種類を国立遺伝学研究所(三島)で栽培し、その生態遺伝学的研究を行なっているが、花粉の発芽力の比較調査がこの研究の中で重要な意味をもっていると考え、花粉の人工培養に経験のある秋沢と岩波に、これらのキクの花粉の発芽試験を委嘱した。1972年11月に開花した16種類の野生菊の発芽試験の結果について、筆者ら3人で検討を加えることができたので、その大要を報告する。

材料と方法

この研究に使われた材料は Table 1 に示されている通りである。本表は KITAMURA (1940) の分類方式にもとづいて作製された。

- Table 1. Material plants (wild *Chrysanthemum* found in Japan), transplanted in the garden of National Institute of Genetics (○—coast type, ●—inland type).

species name	Japanese name	chromosome number (2n)	locality
Section Pyrethrum			
Subsection 1. Nipponicae			
1 [○] <i>Chrysanthemum nipponicum</i> MATSUMURA	Hamagiku	18	Hitachi (Ibaragi prefecture)
Subsection 2. Leucanthemum			
2 [○] <i>Chr. arcticum</i> subsp. <i>Maekawanum</i> KITAMURA	Kohamagiku	90	
3 [○] <i>Chr. Weyrichii</i> MIYABE	Pireogiku	72	Ishikari (Hokkaido)
4 [○] <i>Chr. Shiwogiku</i> KITAMURA	Shiogiku	"	Awashima (Tokushima pref.)
5 [○] "	"	"	Tsubakidomari (")

* 横浜国立大学 生物学教室 (国立遺伝学研究所・流動研究員) Yokohama University

** 横浜市長 金沢高等学校

*** 横浜市長 生物学教室 Yokohama City University

6 [○] <i>Chr. Shiwogiku</i> var. <i>kinokuniense</i> SHIMOTOMAI et KITAMURA	Kinokunishiogiku	90	Shirahama (Wakayama pref.)
7 [○] <i>Chr. pacificum</i> NAKAI	Isogiku	90	Kamakura (Kanagawa pref.)
8 [○] " "	"	"	Manazuru (")
9 [●] <i>Chr. Makinoi</i> MATSUMURA et NAKAI	Ryunogiku	18	Mishima (Shizuoka pref.)
10 [○] <i>Chr. japonense</i> NAKAI	Nojigiku	54	Saka (Hiroshima pref.)
11 [○] <i>Chr. japonense</i> var. <i>octoploid</i>	Nojigiku-hachibaitai	72	Suzukawa (Kagoshima pref.)
12 [○] <i>Chr. japonense</i> var. <i>crassum</i> KITAMURA	Ooshimanojigiku	90	Tokunoshima (")
13 [●] <i>Chr. boreale</i> MAKINO	Awakoganegiku	18	Yokohama (Kanagawa pref.)
14 [●] <i>Chr. indicum</i> L.	Shimakangiku	36	Taishakukyo (Hiroshima pref.)
15 [○] <i>Chr. indicum</i> var. <i>hexaploid</i>	Hamakangiku	54	Hagi (Yamaguchi pref.)
16 [○] " "	"	"	Yuhara (Okayama pref.)

人工培養基はふつうに使われているショ糖寒天板と、boric acid と malonic acid を含むショ糖寒天板の2種類が使用された。それぞれの物質の濃度は Table 2 に示された通りである。

Table 2. Culture media used in this experiment of the germination test of wild *Chrysanthemum* pollens.

culture medium A		culture medium B	
sucrose	25%	sucrose	25%
agar	1.5%	agar	1.5%
		boric acid	250ppm
		malonic acid	10ppm

11月初旬に開いた16種のキクの花から開花直後に細いガラス棒で花粉をとり、ガラス棒をはじくようにして花粉を人工培養基の表面に一様に散布した。培養温度は22~24°C、培養時間を24時間として、同じプレートの中での300粒の花粉について発芽花粉の数をかぞえて発芽率を算出し、同じ実験を3回くり返して、その平均値をグラフに示した。

なお、比較的発芽の高かったイソギク(真鶴)について花粉の寿命を調べたが、その方法は多数の細いガラス棒の先に新鮮な花粉をつけ、半数を室内に放置し、他の半数を silica gel の入ったシャーレの中に密封して冷凍庫におき、1時間ごとに boric acid と malonic acid を含む培養基Bに散布して発芽率を調べた。

実験結果と考察

16種類の野生菊の花粉は Fig.1 に示されるとおり、一般に発芽率がひくく、最高35.0%であった。キクの種類によって発芽力が異なること、および同じ種類でも産地によって発芽率に差があることが明らかになった。一般に boric acid, malonic acid を含むBの培養基の方が発芽率が高かったが、イソギク(鎌倉)とリュウノウギクの2種類の花粉は、これらの添加物を含めぬAの培養基の方が高い発芽率を示した。

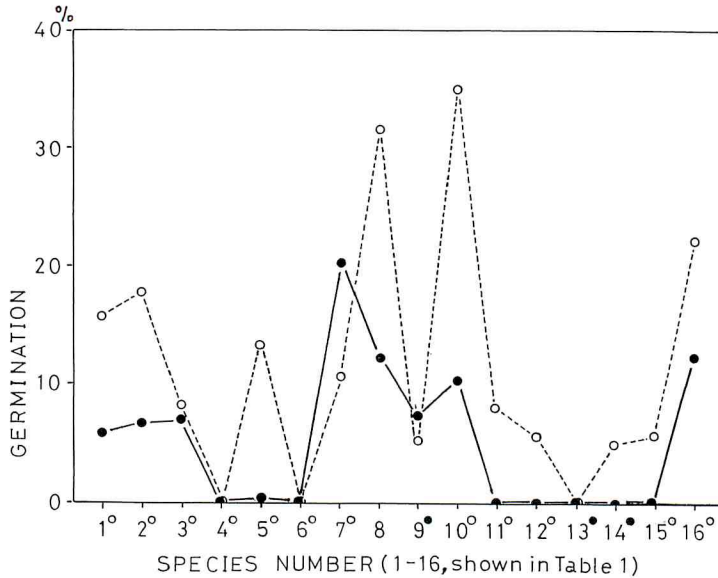


Fig. 1. Pollen germination rate of wild *Chrysanthemum* found in Japan (○—coast type, ●—inland type, — culture medium A, ----- culture medium B)

boric acid が花粉の生長に有効であることは多くの花粉に共通にみられることであるが、その原因についてはまだよくわかっていない。malonic acid は呼吸阻害剤としてクレブス回路に関係している物質である。秋沢はショ糖寒天板の培養基上でほとんど発芽しないキク（栽培菊）とアメリカセンダングサの花粉を、これらの物質を添加することによってそれぞれ約30%、20%発芽させることに成功しているが、その理由については不明である。なお malonic acid の濃度が 10 ppm をこすと阻害的に働き、100ppm の濃度では花粉はまったく発芽しない。

KUBO が *Chrysanthemum Ramat. var. sinense* MAKINO の花粉を発育させた培養基は sucrose 25%、gelatin 30% で、その培養基を厚さ 10 μ にした時に 12.86% の発芽率をみている。同氏は寒天板の場合も薄くするほど花粉の発芽がよくないと述べている。これは花粉が除々に水を吸うことと関連があるらしい。一方 TSUKAMOTO and MATSUBARA は sucrose 25%、boric acid 10ppm の培養基で *Chr. morifolium* cs. *Oniflamme* の花粉を 11.7% 発芽させている。なお培養基にキクの柱頭切片をおくと、その近くの花粉が 37.4% 発芽することを見て、キクの柱頭切片中にキクの花の発芽に有効な物質が含まれていると結論している。したがって今回使われた野生菊の花粉

の場合も、生長に必要な物質を見出し、それを培養基に加えることによって、さらに発芽率を高めることができると考えられる。

今回の結果に生態遺伝学的な検討を加えると、使用された材料はすべて Section *Pyrethrum* のキク属植物で、Subsection *Nipponicae* はハマギク一種で、他のものは Subsection *Leucanthemum* に属している。分類学上は Subsection の間に明白な一線が画されているが、花粉の発芽率についてみると *Nipponicae* は中間的、*Leucanthemum* には高・中・低の3種に大別できる。したがって花粉の発芽率に関するかぎり、2 subsection の間に特定の差はないことになる。なお分布の上からみると日本列島の北方産のもの (Table 1 の1~3) の花粉は中間的、中央部のキク(8~10)の花粉は発芽率が高くなっている。その他のものは高・中・低のいろいろの値を示している。生育上からは野生菊に高山型、内陸型、海岸型の3種類がある。今回の材料の中には高山型のキクの花粉はなく、内陸型が少ないが、海岸型のキクの花粉の方が、内陸型の花粉よりも発芽率が高い傾向がみられる。

イソギクには NAGAMI (1961) が指摘したように三浦型と伊豆型がある。イソギクの鎌倉産(三浦型)と真鶴産(伊豆型)はともに花粉の発芽率がかなり高いが、両者の間には差があること、イソギクの近縁種

のシオギクとキノクニシオギクの発芽率がとくに低いことは、キク属植物の種の適応、隔離、分化などの生態遺伝学上での考察にとって重要であり、さらに、*Chr. indicum* の系統の3種類(14~16)の花粉において、海岸型の発芽率が中間的であるのに対して内陸型の発芽率が最低であることも注目し値する。

開花からの時間的経過と発芽率との関係(花粉の寿命)については Fig.2 に示される通りである。キクの花粉の寿命は意外に短いことが判明した。ツバキ、チャなどの花粉は1年以上発芽力を保っているし、樹木の花粉の中には何年も発芽力をもつものが多いが、キクの花粉の寿命は室内で約6時間、開花後すぐに乾燥・冷蔵すると72時間であった。

キクの花粉は開花後かなり長い間薬に残っているが、時間が経過すると発芽力が急に低下する。したがって開花しているキクの花から花粉を採取したとしても、発芽力を失ったあとの花粉を使っている可能性があることに十分注意する必要がある。採種を目的とした受粉にはできるだけ開花直後の花粉を使うのが望ましいが、それが不可能な時には開花直後に採取して乾燥・冷蔵しておくことが必要である。イソギクの寿命に関する以上の知見は、キク属植物の生態遺伝学的研究を進める上に、寄与するところが少なくないと考えられる。

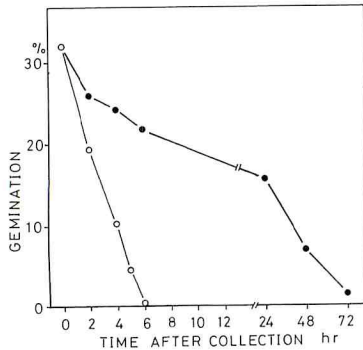


Fig. 2. Pollen longevity of *Chrysanthemum pacificum* (Manazuru)

(○—put on a desk at room temperature, ●—stored with silica gel at -15°C).

Summary

1. The plants described in this paper were 16 wild species of *Chrysanthemum* in Japan. *Chr. nipponicum* belongs to the Subsection Nipponicae and the other 15 species to the Subsection Leucanthemum (KITAMURA, 1940). The results were tabulated in Table 1.

2. The ability of pollen germination in these 16 species was tested on the artificial culture medium A (sucrose 25%, agar 1.5%) and medium B (sucrose 25%, agar 1.5%, boric acid 250ppm, malonic acid 10ppm) respectively. The results were obtained as follows (see Fig. 1):

a. The highest germination ability (35.0% of germination) was observed in the pollens of *Chr. japonense*. Low ability was found in the following 6 species: *Chr. Weyrichii*, *Chr. Makinoi*, *Chr. japonense* var. *octoploid*, *Chr. japonense* var. *crassum*, *Chr. indicum* and *Chr. indicum* var. *hexaploid*. No ability was seen in the pollens of the following three chrysanthemums: *Chr. Shiwogiku*, *Chr. Shiwogiku* var. *kinokuniense* and *Chr. boreale*.

b. No remarkable difference of the ability was found between the two subsections.

c. The ability of three inland species (*Chr. Makinoi*, *Chr. boreale*, and *Chr. indicum*) was generally lower than that of coast ones (13 remaining species).

d. *Chrysanthemum* pollens were more easily germinated on the medium B than on the medium A. However, in the case of *Chr. pacificum* (Kamakura) and *Chr. Makinoi* the results were reversed as shown in Fig. 1.

3. The pollen longevity of *Chr. pacificum* (Manazuru) was investigated as follows (see Fig. 2):

a. The germination ability of pollens put on a desk (room temperature) was remained for 6 hours after the pollens were collected from the freshly opened anthers of the plant.

b. The ability was remained for more than 72 hours in pollens which were stored with silica gel at -15°C .

引用文献

- 1) KUBO, A. (1955) Successful artificial method of germination of Compositae pollen. Jour. Sci. Hiroshima Univ. Ser. B. Div. 2. 7. 23-44.
- 2) TSUKAMOTO, Y. and S. MATSUBARA (1968) Studies on germination of *Chrysanthemum* pollen I. Effect of sugars on germination. Plant and Cell Physiol. 9. 227-235.
- 3) 秋沢一位 (1972) 花粉の生長におよぼすビタミン剤その他の添加物の影響、遺伝 26. 43-45.
- 4) KITAMURA, S. (1940) Compositae Japonicae II. Memoirs of the College of Science, Kyoto Imp. Univ. Ser. B, Vol. XV, 341-374.
- 5) NAGAMI, S. (1961) Genecological and horticultural studies on some species of *Chrysanthemum* in east Japan. Sci. Rep. of Yokohama Nat. Univ. Sec. II. 81-28.

