

クロマツ雌球花の受粉の有無と珠孔の閉鎖

齋藤 幹夫⁽¹⁾Mikio SAITO: Differences on the Closure of Micropyle
between Pollinated and Non-pollinated Ovules of
Pinus thunbergii PARL.

要旨: マツ属の受粉機構に関する研究の一環として、クロマツの自然受粉、人工受粉および無受粉のそれぞれの雌球花を用いて、受粉適期から珠孔閉鎖完了までの期間について胚珠の解剖を行い、珠孔の閉じた、受粉適期の終わりから珠孔の閉鎖完了までに要する日数および受粉の有無と閉鎖との関係などを調べた。その結果は次のとおりである。珠孔は珠孔壁を構成する細胞層の内側の1~2層の細胞が珠孔壁に対してほぼ直角方向に伸長し、珠孔内壁が相接することによって閉鎖する。この細胞の伸長は珠孔の対面する2か所〔胚珠の上側(向軸側)と下側〕で起こる。したがって、横断面で見ると、その閉じ口は一文字形の細長い線状となる。受粉適期の終わりから、珠孔の閉鎖完了までに要する日数は自然受粉、無受粉のそれぞれでおよそ9日、18日であった。花粉の粒径を考慮に入れると、受粉適期の終わりから、花粉粒が珠孔を通過できる期間は自然受粉では4日、無受粉では10日であった。無受粉の場合にも珠孔は閉鎖するが、閉鎖完了までの期間が9日も長くなった。なお、受粉(人工受粉)してから珠孔の閉鎖完了までに要する日数および花粉粒が珠孔を通過できる期間はそれぞれ、13日、8日であった。

I はじめに

クロマツ雌球花の花軸上には包鱗と種鱗が一對になった鱗片が、8列のラセン状に配置している⁵⁾。

筆者らは、これらの鱗片が芽鱗(雌球花の柄の鱗片)から露出する程度と鱗片が露出した後の経過日数とを基準にして、クロマツ雌球花の開花ステージを5つに区分した(Table 1)。そして、開花ステージの異なる雌球花ごとに受粉し、開花ステージⅢの期間内での受粉で最も多くの内容の充実したタネ(以下、充実粒)が得られることを明らかにした⁶⁾。先の報告⁶⁾では、自然受粉の雌球花について行った形態および解剖学的観察の結果から、開花ステージⅢの期間内にある雌球花では、受粉のために重要な珠孔の腕は湿潤な状態にあるが、開花ステージⅤの雌球花では、種鱗が肥厚して鱗片の間隔を閉じ、珠孔の腕は乾燥萎縮、褐変し、また、珠孔も閉鎖が完了して、花粉が珠孔を通過することは不可能と判断された。ところが、交配袋で雌球花を隔離した場合には、袋内の雌球花がステージⅢの期間を終了した後6~10日目(自然受粉雌球花であればステージⅤの期間)に受粉したにもかかわらず、わずかではあるが、充実粒が生産された。その理由は、自然受粉の雌球花と交配袋をかけ、花粉から隔離した雌球花(無受粉)とでは、同一個体内のものであっても、鱗片や珠孔の閉鎖速度に多少の差異が生じ、無受粉の雌球花では閉鎖が遅れ、花粉の受容期間が事実上延長されるためであると推定した⁶⁾。

この推定を実証するために、自然受粉、人工受粉および無受粉のそれぞれの雌球花を用いて、受粉適期から珠孔閉鎖完了(閉花状態)までの雌球花をそれぞれ解剖し、珠孔閉鎖の進行状態を観察、測定した。そして、クロマツ雌球花の受粉の有無と珠孔の閉鎖との関係を開花期間と関連させて明らかにすることを試みた。これらの結果について報告する。

Table 1. クロマツ雌球花の開花ステージ区分
Criteria for various stages during the development of
female strobili of *Pinus thunbergii*

Stage	雌球花の外観 External feature of female strobili
I	球花軸先端の鱗片*1のごく一部が芽鱗より露出するか、またはそれ以前のもの Cone scales*1 are covered with bud scales, or a part of the cone scales become just visible at all apical part of the female strobilus.
II	約半数の鱗片 (3~8段*2) が芽鱗より露出する About half of all the cone scales (3~8 stairs of cone scales*2) become visible.
III	ほとんどの鱗片 (10~全段) が露出する Almost all the cone scales (10 or more stairs of cone scales) are exposed.
IV	ほとんどの鱗片が露出した後, 2~4日 2~4 days after stage III.
V	ほとんどの鱗片が露出した後, 6~10日 (閉花) 6~10 days after stage III. (completely closed strobilus)

*1: 鱗片は種鱗と包鱗を1対としたものをいう。

A pair of ovuliferous and bract scales was expressed in terms of a cone scale in this paper.

*2: 鱗片段数はラセン状に配置する1ラセン列の上部鱗片よりの段数とする。

Number of the stairs of cone scales was counted from the top on a given spiral line.

II 材料と方法

供試木は旧林試構内(東京, 目黒)に植栽されていたクロマツ15年生のミシヨウ木, 1個体を使った。解剖には自然受粉, 人工受粉および無受粉の雌球花をそれぞれ用いた。人工受粉の雌球花は, 花粉の飛散前(1974年4月中旬)にかけておいた約半数の交配袋を使って, 袋内の雌球花が開花ステージIII(受粉適期)の期間内にあるとき, 混合花粉(精英樹5クローン, 等量)を受粉したものである。残り, 約半数の袋の受粉しない雌球花を無受粉の雌球花とした。自然受粉の雌球花は, 交配袋をかけず, 自然のままの状態を受粉させたものである。

解剖用試料としての自然受粉, 人工受粉および無受粉のそれぞれの雌球花は, 4月24日(人工受粉をした日)から5月13日まで1~4日間隔で, 数個ずつ採取した。なお, 自然受粉の雌球花については9月1日にも採取した。採取した雌球花はFAA液(アルコール, 氷酢酸, ホルマリン, 容量比, 90:5:5)で固定した後, 雌球花からとりはずした鱗片を用いて, パラフィン切片法によって厚さ10~12 μ の連続切片をつくり, サフラニンとファーストグリーンで二重染色した。

珠孔閉鎖の観察, 測定には, 胚珠の縦断面とこれに直交する横断面の両切片を用いた。そして, 閉鎖の進行状態を知るために, 珠孔横断面の短径を μ 単位で測定した。採取時期別, 処理別の縦断, 横断面の各切片の作成には, 1個の雌球花から取り出したそれぞれ12個の有効鱗片⁵⁾, 都合24個の胚珠を使った。

III 調査結果

クロマツの雌球花は約半数の鱗片が芽鱗から露出した後, ほとんどの鱗片が露出するまでの期間が受粉適期(Table 1-ステージIII, Plate 1-1)である。この時期の鱗片を見ると, 種鱗は包鱗の上側(向軸側)

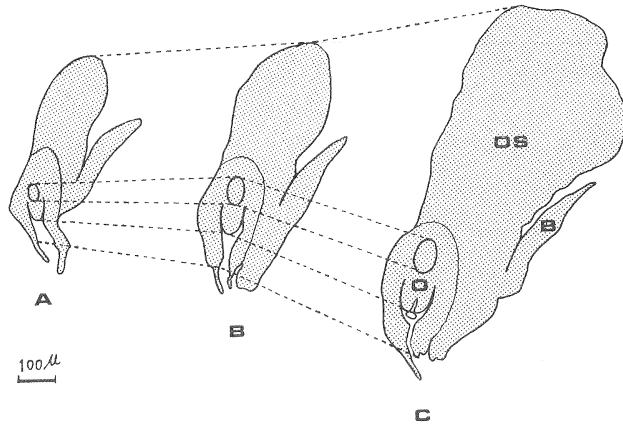


Fig. 1 受粉適期後18日目までの種鱗, 包鱗および胚珠の発達
Development of ovuliferous scales, bract scales and ovules
of female strobili for 18 days after pollination in 1974.

- A : 受粉適期 (4月24日) April 24th (most appropriate time for pollination)
 B : 受粉適期後5日目 (4月29日) April 29th (5 days after A)
 C : 受粉適期後18日目 (5月12日) May 12th (18 days after A)
 B : 包鱗 bract scale OS : 種鱗 ovuliferous scale O : 胚珠 ovule

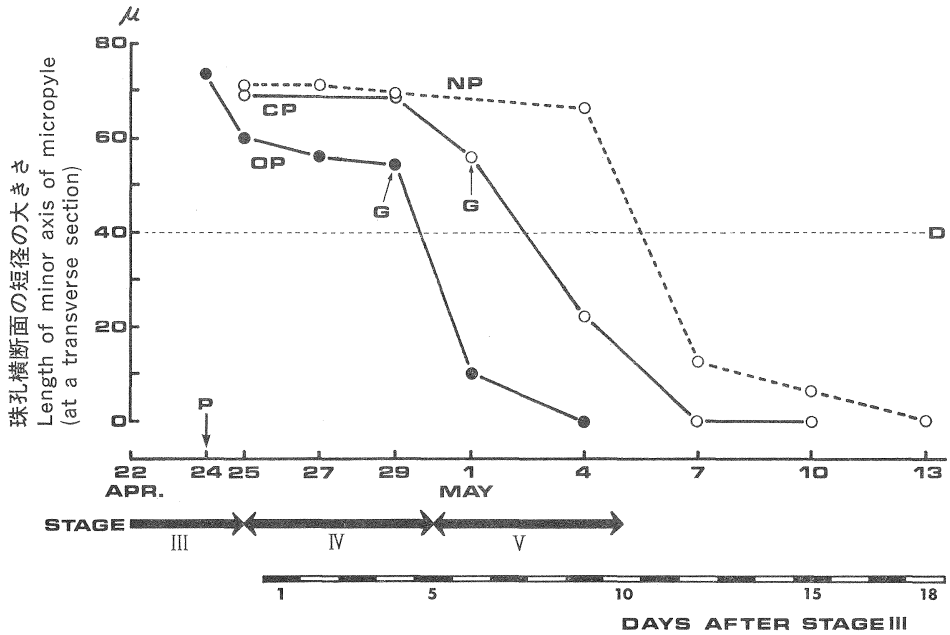


Fig. 2 珠孔の閉鎖状況
Process of the closure of micropyle in non-, controlled
cross- and open-pollination.

- NP : 無 受 粉 Non-pollination
 CP : 人 工 受 粉 Controlled cross-pollination
 OP : 自 然 受 粉 Open-pollination
 P : 人工受粉をした日 Pollination was made
 G : 珠心上で花粉発芽が観察された日
 Germination of pollen on nucellous tissue was observed
 D : 最小花粉粒径 Minimum diameter of pollen grain

に位置する (Plate 1-2)。種鱗は向軸面の基部近くに2個の胚珠を持つ (Plate 1-2, 4)。胚珠には花軸側に向って伸長した珠皮が珠孔を形成する (Plate 1-2, 3, 2-1, 3)。胚珠の上面 (向軸側) と下面にあたる珠孔先端部の2か所では、珠皮の一部が他の部分よりもさらに伸長し、細長い2本の腕を形成する (Plate 1-1, 2, 3, 2-1, 3)。

自然受粉の雌球花における4月24日 (受粉適期の期間内) から5月12日 (受粉適期後18日目) までの鱗片と胚珠の成長を Fig. 1 に示す。この期間にもっとも肥大するのは種鱗である。

自然受粉の雌球花で観察した結果によると、開花ステージIVすなわち、受粉適期後2~4日ごろには、種鱗は急速に肥厚を開始し、鱗片の間げきを埋め始める。また、珠孔の腕は萎縮を始め、珠孔も閉鎖を開始する。開花ステージV、すなわち受粉適期後6~10日ごろには、種鱗はさらに肥厚し、その間げきを埋め閉花する。また、珠孔の腕はさらに萎縮、褐変し、珠孔も完全に閉鎖する (Plate 2-4, 5)。

珠孔壁は3~5層の細胞で形成されており、閉鎖時には、珠孔壁内層の細胞が珠孔壁に対して、ほぼ直角方向に伸長し、珠孔内壁が相接することによって閉鎖する (Plate 2-4, 5)。この場合、珠孔内壁の1層と外壁の1~2層は伸長せず、それらの間の細胞 (1~2層) が伸長する。

伸長する細胞層が伸長前に分裂して、その数を増すかどうかは確認できなかったが、珠孔の閉鎖はおもに細胞の伸長によるものである。閉鎖後、伸長した細胞が分裂し、その数を増すかどうかを見るために、受粉適期から130日目 (9月1日) の自然受粉の胚珠について解剖した。その結果、受粉直後 (受粉適期後9日目・Plate 2-4) の試料と差異がなく、細胞の分裂は認められなかった。

珠孔閉鎖時における珠孔壁内層細胞の伸長は珠孔の全周ではなく、向かい合う2つの面 (胚球の上側 (向軸側) と下側) で起こる。したがって、閉鎖の開始前にはほぼ円形であった珠孔の横断面 (Plate 2-2) は閉鎖時に見ると、その閉じ口が点状ではなく、一文字形の細長い線状となる (Plate 2-5)。

珠孔閉鎖の開始前から終了までの各切片の珠孔横断面の短径を測定した結果に基づいて、自然受粉、人工受粉および無受粉のそれぞれの雌球花の珠孔閉鎖の進行状態を示したのが Fig. 2 である。

無受粉の雌球花でも珠孔は閉鎖する。しかし、受粉したものに比較すると閉鎖の完了は遅れる。すなわち、受粉適期 (開花ステージIII) の終わりから閉鎖完了までに要する日数は、自然受粉でおよそ9日、無受粉ではおよそ18日であって、無受粉の雌球花は閉鎖完了が9日も遅い。なお、受粉 (人工受粉) してから珠孔の閉鎖完了までに要する日数は13日であった。

クロマツ雌球花の受粉適期における珠孔の内径は75 μ 前後である。一方、クロマツの花粉粒の大きさには変異があるが、小形の花粉粒の気のないを含む短径は40 μ 程度であるといわれている⁷⁾。受粉適期後、花粉粒が珠孔を通過することが可能な期間 (珠孔の短径が40 μ より大きい期間) は自然受粉および無受粉でそれぞれ、およそ4日、10日である。したがって、無受粉でのこの期間は自然受粉よりも長く、その日数差は6日である。また、受粉 (人工受粉) してから花粉粒が珠孔を通過できる期間は8日であった。

珠心上での花粉の発芽 (Plate 2-4) は、自然受粉では受粉適期の終わりから4日目 (1つの雌球花の受粉適期の期間はほぼ6日間である)、人工受粉では6日目 (受粉適期の終了1日前に受粉した) に認められた。したがって、珠心上の花粉は受粉後、およそ7日~10日で発芽するようである。なお、花粉管は珠心細胞の2~3層内まで伸長している状態がもっとも多く見られた。

IV 考 察

クロマツ雌球花 (自然受粉) の開花ステージⅣとⅤの形態, 解剖学的特徴と経過日数などについて観察した本実験での結果は, 先の実験結果⁶⁾にも一致した。とくに, 先の実験では, 珠孔縦断面の解剖結果から推定し, 開花ステージⅣで珠孔は閉鎖を開始するが, 花粉はまだ, 珠孔を通過することが可能であると判断したが, 本実験における珠孔横断面の測定結果によって, このステージの期間内は花粉が珠孔を通過することがおおむね可能であることを再確認した。

Pinus elliottii および *P. nigra*⁸⁾, *P. kesiya*⁴⁾ などでは, 花粉が珠心上に到着後, まもなく, 珠孔は珠孔壁内層細胞の急速な伸長と分裂によって閉鎖することが知られているが, クロマツの珠孔では, 本実験でも先の実験⁶⁾と同様, 閉鎖はこの部分の細胞の伸長によるだけで分裂は確認できなかった。

クロマツの珠孔閉鎖時における珠孔内壁の相接する状態は横断面で見ると線状である。これは, *Pinus roxburghii*²⁾ で記載されている閉鎖の状態とも一致する。なお, スギにおけるこの状態は, 点状になることが知られており⁸⁾, マツ属とは異なる。

クロマツでは, 無受粉の場合にも珠孔の閉鎖が起こるが, 閉鎖の完了は受粉した場合に比べて遅れる。これと同様の現象はスギでも観察されている¹⁾。

本実験の無受粉雌球花の珠孔を, 花粉が通過可能な期間は, 受粉適期の終わりから 10 日間である。筆者らは先の実験で, 自然受粉の場合の開花ステージを区分する際, ステージⅢ (受粉適期) 以降のステージは, ステージⅢの終わりからの経過日数で区分している⁶⁾。それによると, この 10 日という日数はステージⅢの終わりからステージⅤの終わり (閉花) までの日数に合致する。すなわち, 交配袋をかけて花粉から隔離した雌球花ではステージⅢの期間を終了した後, 6~10 日目 (自然受粉雌球花のステージⅤ) でも花粉は珠孔を通過することが可能である。したがって, 交配袋をかけた雌球花では自然受粉雌球花のステージⅤに該当する期間の受粉で充実粒が生産されても不思議ではない。このことから, 筆者らが先の実験で, 自然受粉の雌球花と交配袋をかけ, 花粉から隔離した雌球花 (無受粉) とでは, 鱗片や珠孔の閉鎖速度に差異があると推察したことは正しかったといえる。

先の実験⁶⁾のステージⅣやⅤの受粉では, ステージⅢの期間内に受粉したときよりも充実粒の生産が少なかった。これは, 珠孔は開いていても, 珠孔の腕の湿潤状態や受粉液の働きが逐次, 弱まることによるものと思われる。したがって, 受粉は充実粒の生産の多いステージⅢの期間内に実行することが得策であることはいうまでもない。

文 献

- 1) 橋詰隼人: 林木の交配に関する基礎的研究 (V) スギの開花と受粉, 鳥取大農研報, **25**, 81~96, (1973)
- 2) KONAR, R. N.: The morphology and embryology of *Pinus roxburghii* SAR. with a comparison with *Pinus wallichiana* JACK., Phytomorphology, **10**, 305~319, (1960)
- 3) McWILLIAM, J. R.: The role of the microphyle in the pollination of *Pinus*, Bot. Gaz., **120**, 109~117, (1958)
- 4) PATTINSON, J. V. and T. F. GEARY: Development of the ovulate strobilas in *Pinus kesiya* ROYLE EX GORDON (syn. *P. khasya* ROYLE) in relation to controlled pollination in Zambia, Silv.

- Genet., 18, 108~111, (1969)
- 5) 斎藤幹夫・山本千秋：アカマツ・クロマツの球果における有効鱗片の位置とタネの生産，林試研報，293, 89~103, (1977)
 - 6) 斎藤幹夫・山本千秋・萩原 訓・河野耕蔵・下平勝三：クロマツ雌球花の開花と受粉適期，林試研報，302, 79~96, (1979)
 - 7) 渡辺 操・岩川盈夫：マツ類の人工受粉技術ならびに種間交雑について，林試研報，244, 125~146, (1969)
 - 8) 横山敏孝：スギにおける胚の形成と球果の成長，林試研報，277, 1~20, (1975)

図 版 説 明

Explanation of plates

Plate 1

1. クロマツの開花最盛期の雌球花の縦断面の一部。
A part of longitudinal section of female strobili at appropriate period for pollination (stage III) in *Pinus thunbergii*.
 2. 鱗片の側面図
A side view of cone scale.
 3. 包鱗側（背軸側）から見た鱗片図。
Cone scale on the abaxial side.
 4. 種鱗側（向軸側）から見た鱗片図。
Cone scale on the adaxial side.
- B : 包鱗 bract scale, OS : 種鱗 ovuliferous scale, M : 珠孔 micropyle,
MA : 珠孔の腕 micropylar arm, A : 球花軸 floral axis, O : 胚珠 ovule.

Plate 2

- 1, 3, 4 : クロマツ雌球花の胚珠の縦断面。
Longitudinal sections of ovules in *P. thunbergii*.
 - 2, 5 : クロマツ胚珠・珠孔の横断面。
Transverse sections of micropyle.
- 1, 2, 3 : 受粉適期。
Ovules or micropyle at stage III.
- 4, 5 : 閉花時。
Ovule or micropyle at the end of stage V.
- N : 珠心 nucellus, I : 珠皮 integument, EM : 胚のう母細胞 embryo-sac mother cell,
M : 珠孔 micropyle, MA : 珠孔の腕 micropylar arm, P : 花粉粒 pollen grain,
PT : 花粉管 pollen tube, EC : 伸長した細胞 elongated cells.

**Differences on the Closure of Micropyle between
Pollinated and Non-pollinated Ovules of
Pinus thunbergii PARL.**

Mikio SAITO⁽¹⁾

Summary

Pollinated and non-pollinated strobili were collected from a 15-year-old tree of *Pinus thunbergii* PARL. growing at the arboretum of the Government Forest Experiment Station, Meguro, Tokyo in 1974. Strobili collected were directly fixed with FAA and then embedded in paraffin. Longitudinal and transverse sections of ovules were prepared for microscopic observations as a series of sections by rotary microtome at 10 to 12 μ in thickness and with safranin-first green combination for staining.

From anatomical observations, micropyle was closed by the elongation of one or two layers of cells in the inner wall of micropyle in the right direction against walls and by contact between inner walls. The elongation of cells in the inner wall were limited only on the upper and lower side of micropyle.

Nine days in open-pollination, 12 days in controlled cross-pollination and 18 days in non-pollination were required to the complete closure of micropyle after the end of stage III (most appropriate time for pollination). Considering the diameter of pollen grains, pollen could pass through micropyle during the periods of 4 days in open-pollination, 7 days in controlled cross-pollination and 10 days in non-pollination after the end of stage III. The results indicate that micropyle of ovules is closed more quickly after pollination than after non-pollination, so that the pollen receptive period in non-pollinated ovules become longer than in pollinated ones.

