

# ハッカ属の亜属間交雑に関する研究

(第4報) 花粉の発芽生理に関する研究

小野清六・池田長守

Studies on the Inter-subgeneric Hybridization in the Genus *Mentha*

## IV. Physiological Studies on the Germination of Pollen

Seiroku ONO and Nagamori IKEDA

Researches on physiology of pollen germination and development of artificial medium for pollen germination were carried out with japanese mint. The results obtained are as follows.

1) Thirty per cent gelatine solution (not gelatinized by boiling) dissolved in 20 per cent glucose solution and adjusted to pH 5.5—6.0, is presumed to be a good medium for germination of pollen.

2) In the medium above mentioned, with tissue juice of pistil and ovary, pollen germinates better.

3) The tissue juice is effective when it is taken on the day of flowering. The tissue juice taken one day before flowering has a little effect, and that two days before flowering has no effect.

4) In the artificial medium above mentioned, pollen taken on the day of flowering germinates well, especially that taken ten minutes after flowering. A sharp reduction in germination is observed when we use young pollen from a bud which will flower on the next day or pollen from an old flower which flowered on the previous day.

5) The most suitable temperature for germination of pollen and elongation of pollen-tube is presumed to be 27°C. But germination and elongation are also observed at the temperature as high as 35°C.

6) Pistillary and ovarian exudation of other mint species are found to haven't sufficient promoting effect upon the pollen germination. But it is clear that at least those of related species or varieties highly promote the pollen germination of japanese mint.

7) Pollen of other mint species (*M. rotundifolia*, *M. spicata*, *M. japonica*, *M. aquatica*, *M. arvensis*, *M. Pulegium* and *M. Gattefossei*) also well germinate and lengthen its pollen-tube in the medium above mentioned.

8) Percentage of germinated pollen of each mint species in this medium practically agrees with respectively that of fertile pollen determined by acetocarmine staining.

### I 緒 論

ハッカ属植物の雑種育成上、受精過程の追跡は重要な課題である。ハッカ属の両亜属間の交雑は非常にむずかしく、このような場合、その原因が花粉にあるのかあるいは胚珠にあるのかを調べる必要がある、そのためには、雌雄両配偶子の受精生理の研究が必要となる。そのうち、雄性配偶子(花粉)の発芽生理の研究方法としては柱頭上における発芽の研究と人工発芽

床上での発芽の研究との2つの方法がある。柱頭上における花粉の発芽については、小野、堀尾(育雑, 18巻5号)の詳細な追求がある。一方人工発芽床上でのハッカの花粉の発芽については、わずかに茶村(1952)がアラビヤゴムを用いて試み、若干発芽することを報告しているにすぎない。著者らはかかる現状ならびに観点に基づき、本研究において、まず種々の発芽床上における日本ハッカ花粉の発芽状況を観察し、その結果、花粉の発芽に最適の発芽床の発掘に成功した。また、この発芽床で、発芽生理に関する2~3の実験を行ない、さらに、ハッカ属の数種を用いて適用試験を行なって興味ある結論を得たのでここにその結果の概略を報告する。

## II 実験材料および方法

発芽試験には、ハッカ属の代表的な種を含む13系統の花粉を供試した。硬質ホロースライドのくぼみに培養液を発芽床がもりあがる程度に入れて、花粉を毛筆にとり、2~3cmの高さから振り落すことによって花粉をその上に散布した。花粉の散布を終ったスライドを湿度100%に近い大型シャーレーに入れて、置床24時間後に0.1%のcotton blueで染色して検鏡した。特記していない場合は、温度27°C, pH6.0とした。

発芽床には次の各種を用いた。(1)寒天と蔗糖を混合したもの、(2)ブドウ糖液の単独なもの、(3)ゼラチン溶液を煮沸してゲル化したもの(A発芽床)とゲル化しないもの(B発芽床)、(4)アラビヤゴム末と蒸留水を混合したもの、(5)ブドウ糖(20%)液を溶媒としたゼラチン(B)発芽床の5種類を用いた。pHの調節には0.1%の苛性ソーダ溶液と0.1%のクエン酸溶液とを併用し、比色法により発芽床のpHを決定した。さらに、上記各種の発芽床に日本ハッカの雌蕊部および子房部の組織汁(以下これを花汁と呼ぶ)を加えた区を設けた。組織汁は次のようにして採集した。すなわち、雌蕊と子房を含めた部分1gに対し再蒸留水100ccの割合に加えて乳鉢中で充分すり潰して抽出液を作り、その上澄液をとって、ろ過し、これを各発芽床に1ccあて加え、溶質が所定の濃度になるように調節した。

発芽状況を検鏡して、(1)花粉管が花粉の直径以上にのびたものを発芽の第2段階、(2)花粉管が発芽孔の被膜を破っているものを発芽の第1段階、(3)花粉の形態に変化のみられないものを不発芽、(4)内容物が花粉の外に飛散しているものを破裂と名付け、この各段階の置床全花粉に対する割合(%)をもって発芽状況を示した。(1)と(2)、特に(1)の多いものほどよい発芽床、(3)と(4)、特に(4)の多いものほど悪い発芽床ということになる。表示の数値は2回反覆の平均値である。この実験は1962と1963の2カ年おこなったが、略々同一の結果を得た。本報は主として1963年の結果である。

## III 実験結果

### 1 花粉発芽床の探索

ハッカ属植物の花粉の人工発芽に適する発芽床の探索を行なうために、以下の発芽床を使用して、花粉の発芽試験を行なった。用いた花粉および花汁は *M. arvensis* L. var. *piperascens* MAL. (日本ハッカ) のそれらである。

#### (1) 寒天と蔗糖の発芽床を用いた花粉の発芽試験

この発芽床を使用した結果を第1表に示す。本表によれば、2つの異なる濃度のいずれの区においても、発芽花粉は見られず、不発芽と破裂が相半ばしている。ところが、花汁添加区に

Table 1. Germination of pollen on saccharose agar-agar medium

Kind of medium	Germination II	Germination I	Non-germination	Broken by rupture	No. of pollen treated
4% agar-agar + 10% saccharose	0 %	0 %	55.3 %	44.7 %	777
4% agar-agar + 20% saccharose	0	0	49.2	50.8	649
4% agar-agar + 20% saccharose + extract*	21.9	1.2	46.9	30.0	949

Note: \*Tissue extract solution of pistil and ovary of Japanese mint

Germination I (Germination of the 1st grade): Length of pollen-tube is shorter than the diameter of pollen.

Germination II (Germination of the 2nd grade): Pollen-tube elongates longer than the diameter of pollen.

おいては、発芽II，発芽Iがそれぞれ21.9%，1.2%を示した。

(2) ブドウ糖液の発芽床を用いた花粉の発芽試験

使用したブドウ糖液は日本薬局方によるアンプルである。結果は第2表に示した。すなわち、

Table 2. Germination of pollen on glucose medium

Kind of medium	Germination II	Germination I	Non-germination	Broken by rupture	No. of pollen treated
5% glucose	0 %	0 %	97.1 %	2.9 %	377
10% glucose	0	19.1	78.4	2.5	671
20% glucose	14.2	44.3	40.2	2.7	787
20% glucose + extract	89.7	5.3	5.0	0	377

ブドウ糖5%区では発芽I，発芽IIともに零で、全部が不発芽花粉である。10%区では、発芽Iが19%観察されたが、伸長した花粉は見られなかった。20%区では前2区より発芽状況良好となり、発芽IIは14.2%を示している。それに花汁を添加すると、発芽IIがさらに増加し、他の3区でわずかに見られた破裂花粉はこの区においては全く見られなかった。

(3) ゼラチンの発芽床を用いた花粉の発芽試験

(i) ゼラチン溶液を煮沸してゲル化した場合 (A発芽床)。

結果は第3表に示した。それによると、ゼラチン濃度6%と10%の両区においては、発芽、伸長した花粉は見られず、大多数が破裂している。20%区では発芽IIは85.8%まで急増し、花粉の破裂は全く見られない。30%区では発芽IIは20%区よりわずかに減少しているが、反対に発芽Iが増加しているのがめだつ。最も濃度の高い60%区になると発芽IIは著しく低下し、残りはほとんどすべて発芽Iで占めている。

(ii) ゼラチン溶液をゲル化しない場合 (B発芽床)

この発芽床の大きな特徴は、どの区においても、花粉の破裂が抑制されることである。さて、ゼラチン6%、10%の両区においては大多数が不発芽花粉である。20%、30%とゼラチン濃度が増すと、発芽Iおよび発芽IIが急増する、さらにゼラチン濃度の高い60%区では逆に花

Table 3. Germination of pollen on gelatin medium

Kind of medium	Germination II	Germination I	Non-germination	Broken by rupture	No. of pollen treated	
A	6% gelatin	0%	0%	7.4%	92.6%	487
	10% gelatin	0	0	28.0	72.0	375
	20% gelatin	85.8	8.7	5.5	0	639
	30% gelatin	60.7	32.0	5.4	1.9	465
	60% gelatin	13.2	73.4	9.1	4.3	713
B	6% gelatin	0	0	100.0	0	430
	10% gelatin	0	3.7	96.3	0	375
	20% gelatin	79.3	16.7	4.0	0	343
	30% gelatin	69.5	24.8	5.7	0	654
	60% gelatin	0	48.7	51.0	0.3	513
	10% gelatin + extract	48.0	52.0	0	0	284
	30% gelatin + extract	55.9	41.6	2.5	0	329
	60% gelatin + extract	22.3	69.4	7.9	0.4	744

Note: A.....Gelatinized, B.....Non-gelatinized

粉管の伸長は見られず、発芽Ⅰと不発芽が相半ばする。とくにこの区では0.3%と比率は非常に低いが破裂した花粉が見られる。これに花汁を添加した場合、ゼラチン10%区では、無添加の10%区に比べて発芽Ⅰおよび発芽Ⅱは著しく向上したが、30%区では発芽Ⅱが花汁を添加しないゼラチン30%区よりかえって低下するのが観察された。60%区では発芽状況はさらに低下するが、無添加の60%区ほどではない。

#### (4) ブドウ糖液を溶媒としたゼラチンの発芽床による花粉の発芽試験

この試験に用いた発芽床はブドウ糖20%溶液を蒸溜水の代わりに溶媒としたもので、50~60°Cの温度で溶かし、ゲル化しないものである。この発芽床を用いて行なった試験成績は第

Table 4. Germination of pollen on gelatin medium dissolved by 20% glucose solution

Kind of medium	Germination II	Germination I	Non-germination	Broken by rupture	No. of pollen treated	
A	6% gelatin	22.1%	18.4%	57.2%	2.3	603
	10% gelatin	27.3	40.5	31.6	0.6	474
	20% gelatin	73.8	13.0	13.2	0	451
	30% gelatin	81.2	13.8	5.0	0	501
	60% gelatin	46.5	47.2	4.8	1.5	460
B	10% gelatin + extract	43.4	50.5	6.1	0	652
	30% gelatin + extract	96.6	2.5	0.9	0	784
	60% gelatin + extract	71.1	19.0	7.4	2.5	515

4表に示すように、6%、10%、20%および30%と発芽床の濃度が高まるにつれて花粉管の伸長する花粉粒が増加している。かつ、破裂した花粉は減少し、とくに、20%と30%の両区においては零%となっている。ところが60%区になると花粉管の伸長する花粉粒の数がやや抑制され、発芽Ⅰの花粉が増加している。破裂花粉も極くわずかながら観察される。次に花汁を添加した10%区では、大部分の花粉が発芽し、その中で、ⅠとⅡが相半ばする。破裂花粉が見られない。30%区では発芽Ⅱの花粉が急増してほとんど全部を占めている。60%区になると発芽Ⅱの花粉の減少と共に若干の破裂花粉が見られる。この発芽床において特記すべきことは6%区から60%区に至るまでどの区においても、すべて花粉の発芽率（Ⅰ＋Ⅱ）は40%を越え、発芽Ⅱの花粉の花粉管は正常に伸びて曲がりくねったり、先端が肥大するというような畸形を呈することがないことである。

#### (5) アラビヤゴム末の発芽床による花粉の発芽試験

アラビヤゴム末と蒸留水の混合比4：5の区においては、発芽花粉はなく（第5表）、また、等量混合区においては、発芽Ⅱが急増して42.9%の値を占めている。混合比が5：4の区では

Table 5. Germination of pollen on gum arabic medium

Kind of medium	Germination II	Germination I	Non-germination	Broken by rupture	No. of pollen treated
Water (5): Gum arabic (4)	0 %	0 %	92.8 %	7.2 %	597
Water (5): Gum arabic (5)	42.9	16.0	32.9	8.2	438
Water (4): Gum arabic (5)	0	0	96.1	3.9	334
Water (5): Gum arabic (5) + extract	53.3	22.2	24.5	0	396

再び発芽花粉は見られない。また、混合比が等量の発芽床に花汁を添加した場合は、非添加区に比して、発芽はやゝ良好で、かつ破裂は抑制される。

以上の結果から、以下の発芽試験には、20%のブドウ糖液を溶媒とした30%ゼラチン(B)発芽床を用いた。

### 2 花汁を抽出した組織の種類および年令が花粉の発芽に及ぼす影響

本実験においては雌ずい部の組織と子房部の組織とを別々に用いて汁液を作って人工発芽床に加えた。その結果は第6表に示す如くである。本表によれば、子房部汁液も雌ずい部汁液もともに有効であることがわかる。開花当日の組織汁は促進効果が大きいが、前日および前々日の組織汁の促進効果は著しく劣る。開花翌日の花汁液は雌ずい汁液と子房汁液とによって、促進効果に大きな相違が認められる。

### 3 花粉の年令と発芽との関係

つぎに、花粉の年令と発芽との関係を明らかにするために、花汁を加えた人工発芽床を pH 6 に調節して、開花2日前、1日前、開花当日および開花1日後の花の花粉について発芽試験を行なった。第7表はそれらの結果を示したものであるが、本表によると開花当日の花粉では71.8%と良好であるが、開花当日でも開花2時間後の花粉では直後のものの半数に近い42.8%と減少しているのが観察される。開花1日前と2日前の未熟花粉および開花翌日の花粉は全く発芽しないかあるいは、ごくわずかの発芽しか見られない。

Table 6. Influence upon pollen germination of kind and age of tissue juice added to the medium

Tissue juice added		% of pollen germination (4 replications)				
Kind of tissue juice	Age of tissue	I	II	III	IV	mean
Without tissue juice		31.3	33.5	30.6	31.4	31.7
Added with pistillary juice	Two days before flowering	36.5	37.2	34.3	35.6	35.9
	One day before flowering	63.5	62.5	65.5	61.4	63.2
	The day of flowering	86.5	83.2	86.6	80.3	84.2
	One day after flowering	18.5	15.4	19.2	13.3	16.6
Added with ovarian juice	Two days before flowering	33.5	32.5	31.6	30.8	32.1
	One day before flowering	41.5	40.2	37.5	42.3	40.4
	The day of flowering	77.4	75.5	78.3	77.4	77.2
	One day after flowering	83.2	81.6	80.5	84.1	82.4

Note: Germination test was carried out on the medium of 30% gelatin (B) solution (not gelatinized) dissolved by 20% glucose solution at 27°C.

Table 7. Germination and pollen age.

Pollen age	No. of pollen treated	No. of pollen germinated	% of pollen germinated
Two days before flowering	249	0	0
One day before flowering	474	15	3.2
Ten minutes after flowering	586	421	71.8
2 hours after flowering	435	186	42.8
One day after flowering	516	12	2.3

Note: Medium being 30% gelatin (B) solution dissolved by 20% glucose solution added with the extract from pistil and ovary at 27°C.

#### 4 発芽床の pH と発芽との関係

発芽床の最適 pH を明らかにするためには、人工発芽床を、pH 4.0~8.0 まで 9 段階に調節し、各区を 2 分して、一方は置床後 10 時間、他方は置床後 20 時間に固定染色し、発芽率および花粉管長を測定した。これらの結果は第 8 表に示すとおりである。本表によれば、発芽は pH 4.5 から 7.5 の広範囲で見られるが、概して酸性側が良好であって、最適 pH は 5.5~6.0 の範囲と推定される。なお、置床後 10 時間と 20 時間との間に大差がないので、発芽すべき花粉は大体 10 時間目頃には発芽を終えるものと見られる。

#### 5 温度と花粉管伸長速度との関係

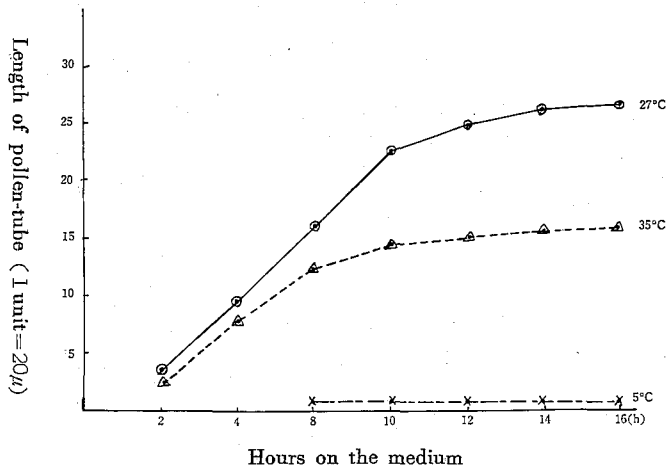
*M. arvensis* L. var. *piperascens* MAL. (日本ハッカ) の花粉を花汁を加えた人工発芽床に置床し、その発芽床をそれぞれ 5°C、27°C および 35°C 下に置いて発芽せしめた。所定の花粉管の追跡を容易にするために、新鮮な花粉をカバーガラスの縁に附着させ、この縁を発芽床に触れさせることによって、花粉を線状にまいた。花粉管の長さの測定は、検鏡し易い位置にある花粉管を各区それぞれ 30 コあて選んで目印をつけ、それらについて置床後 16 時間まで 2 時間おきに測定を行なった。第 1 図は各時間ごとに測定した 30 コの花粉管長の平均値を図示したものである。第 1 図より明らかなように、花粉管の伸長は、27°C 前後の温度で最も早く、そ

Table 8. Relation between germination and pH of medium

pH	10 hours after				20 hours after			
	No. of pollen treated	No. of pollen germinated	% of pollen germinated	mean length of pollen-tube ( $\mu$ )	No. of pollen treated	No. of pollen germinated	% of pollen germinated	mean length of pollen-tube ( $\mu$ )
4.0	189	0	0	—	447	0	0	—
4.5	208	10	4.8	204.6	396	21	5.3	231.0
5.0	324	150	42.6	273.9	467	221	47.3	343.2
5.5	499	296	59.2	303.6	318	212	66.7	448.8
6.0	668	482	72.2	369.6	534	432	80.9	458.7
6.5	261	117	44.8	257.4	287	151	52.6	386.1
7.0	635	68	10.7	250.8	384	50	13.1	346.5
7.5	193	4	2.3	198.0	340	19	5.0	283.8
8.0	462	0	0	—	379	0	0	—

Note: Test was carried out on the 30% gelatin (B) medium dissolved by 20% glucose solution at 27°C.

Fig. 1. Relation between temperature and elongation of pollen-tube.



Note: The medium used is the same as table 7.

の様相は、置床後10時間までは急伸を続け、その後は次第に緩慢となる。ついで、35°Cの高温区では、置床後8時間までは、前者同様の伸長を示すが、その後は著しく伸長が停滞して置床16時間後には、花粉管の長さは前者の約半分にすぎない。一方、5°Cの低温区では花粉の発芽はきわめて緩慢で発芽率も小さく、置床後16時間を経ても花粉管の伸長は見られない。

### 6 異種ハッカの雌ずいおよび子房の発芽促進効果

両親が同種である場合、人工発芽床に花汁（子房、雌ずいの組織汁）を加えると、花粉の発芽が促進されることが前項の実験によって明らかになったが、両親が種を異にする場合はどうか。これを確かめるために次の実験を行なった。異種ハッカの雌ずいおよび子房数個を人工発芽床の中央に置いて、その付近で日本ハッカの花粉を発芽させた。本試験はそれぞれの種の雌ずい、子房からの浸出物質が日本ハッカの花粉の発芽に影響をあたえるかどうかを調べたもので

Table 9. Influences upon pollen germination of pistillary and ovarian exudation of other mint species

Kind of pollen used for germination test	Kind of pistil and ovary added to the medium	% of pollen germinated
<i>M. arvensis</i> L. var. <i>piperascens</i> MAL.	Control	89.6
	<i>M. rotundifolia</i>	88.4
	<i>M. spicata</i>	82.3
	<i>M. arvensis</i>	96.5
	<i>M. japonica</i>	97.1
	<i>M. arvensis</i> L. var. <i>piperascens</i> MAL.	91.5

Note: Test was carried out on the 30% gelatin (B) medium dissolved by 20% glucose solution at 27°C.

Pollen germination = Germination I + germination II

ある。その結果は第9表に示す如くで、用いた種によって、日本ハッカの花粉の発芽率は異なる(1%有意)。概していえば、近縁の *M. arvensis*, *M. japonica* には無処理に対し促進効果があり、比較的遠縁の *M. rotundifolia*, *M. spicata* ではかえって抑制効果が認められる。

### 7 異種ハッカ花粉の発芽試験

ハッカ属の第I亜属と第II亜属を含めた代表種13系統の花粉を用いて日本ハッカ花汁を加えた上記発芽床で発芽試験を行なった結果は第10表に示すとおりで、種によって、花粉の発芽に

Table 10. Germination of pollen and the species of mint

Species of which pollen is used	No. of chromosomes (2n)	Germination II	Germination I	Non-germination	Broken by rupture	No. of pollen treated
<i>M. rotundifolia</i>	24	53.0%	33.6%	13.4%	0%	345
<i>M. spicata</i>	48	74.5	17.8	7.7	0	455
	48	57.7	24.7	17.6	0	364
	54	55.8	29.2	13.2	1.8	301
	54	52.4	33.4	12.5	1.7	311
	48	80.8	13.5	5.7	0	312
<i>M. Gattefossei</i>	48	68.5	24.5	7.0	0	518
<i>M. Pulegium</i>	48	72.8	25.4	1.8	0	342
<i>M. aquatica</i>	60	66.9	25.4	3.6	4.1	371
<i>M. arvensis</i>	72	67.7	23.7	2.3	1.3	350
<i>M. arvensis</i>	96	52.6	25.1	11.5	10.8	435
<i>M. gentilis</i>	120	22.0	18.8	40.1	19.1	312
<i>M. piperita</i>	120	13.5	28.6	37.0	20.7	370

Note: Test was carried out on the 30% gelatin (B) medium dissolved by 20% glucose solution added with the extract of Japanese mint at 27°C.

かなりの差異が見られる。すなわち、第II亜属においては *M. japonica* が高く、*aquatica*, *gentilis*, *piperita* が低い。第I亜属の2種、*M. Pulegium* と *M. Gattefossei* は高い発芽率を示す。

次に種を染色体数別にまとめた結果を示したのが第11表である。これによれば、2n=48の種の花粉の発芽が最も良好であり、2n=24および54, 60, 72, 96, 120と染色体数の増加にとも



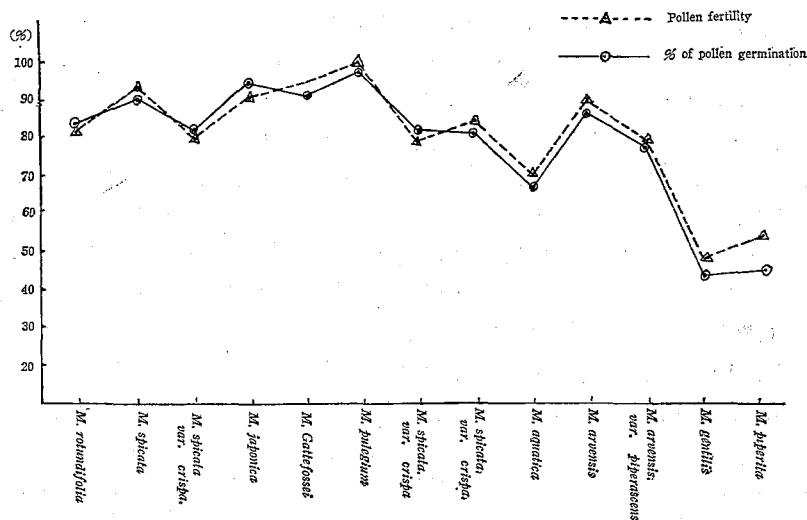
Table 11. Relation between germination of pollen and the species arranged by the number of chromosomes

Species arranged by the number of chromosomes	No. of chromosomes	Germination II	Germination I	Non-germination	Broken by rupture
<i>M. rotundifolia</i>	24	53.0%	33.6%	13.4%	0%
<i>M. spicata</i> , <i>M. japonica</i> , <i>M. Gattefossei</i> , <i>M. Pulegium</i>	48	70.9	21.8	7.3	0
<i>M. spicata</i>	54	54.1	33.3	12.8	1.8
<i>M. aquatica</i>	60	66.9	25.4	3.6	4.1
<i>M. arvensis</i>	72	67.7	23.7	2.3	6.3
<i>M. arvensis</i>	92	52.6	25.1	11.5	10.8
<i>M. gentilis</i> , <i>M. piperita</i>	120	17.8	23.7	38.5	20.0

Note: Data was rearranged from table 10.

ない若干の変動はあるが、概して発芽率は遞減する傾向がある。また、破裂する花粉は染色体数の増加にしたがって著しく増加しているのが観察される。ハッカ属の各種において観察された人工発芽試験の結果とアセトカーミン染色により決定された稔性花粉率とを比較して示したのが第2図である。この結果から *M. piperita* と *M. gentilis* ではアセトカーミンによる稔性花粉率がやゝ高くでているが、その他の種では、両者は大体一致した関係にあることがわかる。

Fig. 2. Relation between % of pollen germination on the artificial medium and their fertility determined by acetocarmine staining



#### IV 考 察

ハッカ属植物の花粉の人工発芽に適した発芽床を探索するために5種類の異った発芽床を用いて実験したが、次の2つの点につき考察を試みたい。(1)基本発芽床の適性の問題 (2)花汁を添加した場合の効果。

使用した5種類の発芽床は、溶質濃度などを適当に調節すれば、とにかく、発芽可能な発芽床である。しかし、詳細に観察すると、適当に調節された溶質濃度において、または、花汁を

加えることによって、発芽はよくなるが、最適条件から少しはずれると、発芽率が著しく悪くなる発芽床と、最適条件からはずれても、発芽がそれほど落ちない発芽床とがある。また、花粉は発芽するが花粉管が伸びなかったり、表には現われていないが花粉管は伸長してもその先端が肥大したり、破裂したり、あるいは花粉や花粉管そのものが異常に変形する(第3図参照)発芽床がある。前にのべた、最適条件からはずれると発芽率の大巾に落ちる発芽床の最適条件において発芽した花粉にこのようなものが多かった。これらの発芽床は、たとえ発芽率が高くても、良好な発芽床とはいえない。これに対して、発芽した花粉も伸長花粉管も正常な形を保つ発芽床は、溶質濃度が最適からはずれても、花粉発芽率の落ちることが少なく、破裂花粉の増加もあまり見られなかった。かかる発芽床こそ最良の発芽床と言い得る。この意味で20%のブドウ糖溶液を溶媒としたゼラチンB(煮沸してゲル化しない)基本培養基は本実験の範囲内では最良の発芽床である。この発芽床はゼラチン濃度が高くなった場合にも、ゲル化が進むことなく、発芽床の表面は最適の物理状態を保つ。この場合ブドウ糖はゲル化を防ぐ緩衝の役割を果すのであろうか。それ故筆者らは、本報のいろいろの実験において、この20%のブドウ糖溶液を溶媒とした30%ゼラチン(B)基本培養基を人工発芽床として用いた。本実験では雌ずい部および子房部を含めて花汁抽出液を人工発芽床の基本培養基に加えて用いたわけであるが、どの発芽床においても花汁の効果は顕著であった。花汁を雌ずい部と子房部に分けた場合、その効果に若干の差異が認められたが、ともに発芽促進に有効であることがわかった。異種ハッカの雌ずいと子房からの浸出物質の花粉発芽促進効果は十分認められなかったが、少なくとも日本ハッカの花粉の発芽には、近縁変種または近縁種のそれらは高い促進効果のあることが推定できた。次に花汁の発芽促進効果は、開花前々日にはほとんどないが、前日、当日と開花が近づくと従って急激に増加してゆく。これは促進物質が開花まぎわに雌ずい部および子房部で作られるか、あるいは子房部で作られて雌ずい部へ浸透してゆくからであろう。開花翌日、両部花汁の促進効果の相異の著しいのはどうした訳であろうか、興味ある研究課題である。花粉稔性の簡単な調査法としてアセトカーミン染色法がある。これは実は、内容が充実しているかどうかの検定であって、よい発芽床が見つかり、煩をいとわなければ、発芽試験を行なうのが最上の方法であることは論をまたない。そこで著者らは、逆に、花汁を加えた上記培養基が完全に近い人工発芽床であるということの証明に、アセトカーミン染色法を用いた。すなわち、両者の一致から、内容の充実した花粉は、この人工発芽床でよく発芽し、発芽しないのは内容のない花粉のみであるという事実を明らかにした。

花粉の発芽の最適温度は、安田(1947)はペチュニアでは30°Cの範囲に、志佐(1932)は種々のそさいで20°C前後にあるとしている。また、佐々木(1919)はウメの花粉が3°Cにおいて24.5%、ビワが6~7°Cで4.4%発芽したことを報じ、正林(1952)はソラマメの花粉は低温性で0°C付近で発芽し、かつ花粉管の伸長も長時間(70時間)後には適温におけると同様の伸長を示すと述べている。これらの植物の開花期は低温であるから、低温で花粉が発芽生育するのは当然であろう。ハッカは盛夏の候に開花結実するから、あるいは発芽適温はもう少し高いのかも知れないが、大体27°C位が最適温度と考えられる。

つぎに、pHの問題であるが、本実験では、花粉発芽に好適なpHは、5.0~6.5と比較的範囲が広く、花粉管はさらに広い範囲で伸長し得ることがわかった。他植物においてもあまり極端な例は報告されていない。すなわち、中山(1935)は稲の花粉で5.8~6.0、Reyes(1934)の稲の花粉に用いた発芽床は米糊という風変りなものであるが、最適はpH 6.5であるという、

また、志佐(1932)はトマト、キュウリの花粉に対し pH 5.5 がよいと報じ、BRINK(1924)は一般に pH 6.0 前後が最適とする。ハッカの場合も他植物のそれとあまりかわらないようである。

日本ハッカで最適の発芽床において、異種ハッカの花粉はすべてよく発芽する。しかも多くの種は日本ハッカ花粉の発芽率よりむしろ高い発芽率を示す。これは、ハッカ属各種間、特に形態的に若干の相違があり、相互間で交雑ができない第 I 亜属と第 II 亜属間においても、花粉の発芽生理に相違のないことを示すものである。なお発芽率の非常に低い2つの例外も別にその原因を求めることができる。すなわち *M. gentilis* は著者らが複 2 倍体と推定する(池田, 清水, 宇渡, 1963) 系統であり、*M. piperita* は *M. spicata* と *M. aquatica* の雑種であると推定する(宇渡, 清水, 池田 1962) 種で、ともに減数分裂の際に I 価染色体を伴ない、アセトカーミン染色による花粉稔性の低い系統だから、たとえ内容が充実して稔性と認められる花粉中にも多くの発芽しない花粉を含むことは当然であろう。この事実は逆に、このような減数分裂に異常のある系統においては、内容が充実していても発芽力のない花粉があって、アセトカーミン染色による花粉稔性の検定値は、実際に発芽し得る花粉の数値よりも高く出がちであることに注意を促すものである。

これを染色体数別にみると発芽率は染色体数48のところモードがあり、染色体数の増加と減少とにしたがって、遞減する。また破裂花粉も  $2n=48$  より染色体数の増加にともない遞増する。この事実は、染色体数の増加、すなわち、ゲノムの累積が花粉の発芽能力に関係することを示すもので、色々原因が考えられるが、「複雑な機械は故障が多い」という言葉は案外事実を語るのではないだろうか。また、現在ハッカ属は  $2n=48$  の種が最も多く、分布も広いという事実とも関連がありそうである。

## V 摘 要

日本ハッカを用いて花粉の発芽生理の研究と人工発芽床の探索を行なった。その結果は次のごとくである。

1. ハッカ花粉の発芽には、20%のブドウ糖を溶媒とする、煮沸によってゲル化せしめないゼラチン30%溶液を pH 5.5~6.0 に調節した発芽床が適当と考えられる。
2. 上記人工発芽床に雌ずいまたは子房組織汁を加えると、花粉の発芽はさらによくなる。
3. 雌ずいと子房の組織汁は、開花当日のものが効果的で、前日のものは効果少なく、前々日のものはほとんど効果がない。
4. 上記人工発芽床を用いると、開花当日、特に採集直後の花粉の発芽率は高いが、開花前日の未熟花粉および開花翌日の老熟花粉の発芽率は著減する。
5. 花粉の発芽および花粉管伸長の適温は、27°C 前後と考えられる。35°C の高温下においてもよく発芽、伸長する。
6. 異種ハッカの雌ずいと子房からの浸出物質の日本ハッカ花粉の発芽を促進する効果は十分認められなかったが、少なくとも近縁種または近縁変種のそれらは、日本ハッカ花粉の発芽に高い促進効果がある。
7. ハッカ属の他種 (*M. rotundifolia*, *M. spicata*, *M. japonica*, *M. aquatica*, *M. gentilis*, *M. piperita*, *M. Pulegium* および *M. Gattiefosseii*) の花粉は、上記人工発芽床でよく発芽し、花粉管を伸長する。
8. この人工発芽床上におけるハッカ各種の花粉発芽率は、醋酸カーミン染色によって検定されたそれぞれの種の稔性花粉率とほぼ一致する。

## VI 文 献

- 1) BRINK, R. A., 1924: The physiology of pollen. Amer. Jour. Bot. 11: 25~30.
- 2) 井上頼数・渋谷正夫, 1954: 菜豆の生殖生理に関する研究. (第2報) 花粉の稔性について. 園芸学雑誌, 23(2): 71~78.
- 3) 岩波洋造, 1957: 花粉の生理学的研究. XIII *Camellia japonica* の花粉管の伸長阻害について. 植物学雑誌, 70: 144~149.
- 4) 池田長守・清水純夫・宇渡清六, 1963: *Mentha gentilis* L. に関する研究. 育種学雑誌, 13: 31~41.
- 5) 小野清六・堀尾英弘, 1968: 異種の花柱における花粉の発芽および花粉管の伸長について. 育種学雑誌, 18(5): 261~266.
- 6) 正林机正, 1952: 低温と蚕豆及び豌豆花粉の発芽発育について. 園芸学雑誌, 21(1): 37~40.
- 7) REYES, G. H., 1934: Germination of the pollen of rice and pollen tube growth. Philip. Jour. Agric. 5.
- 8) 佐々木喬, 1919: 花粉の発芽に対する外界の影響について. 農学会報, 208.
- 9) SISA, M., 1930: The germination test of pollen in some vegetable crops with special reference to the influence of hydrogen ion concentration of the media. Jour. Sci. Agric. Soc. 323.
- 10) 志佐誠, 1932: 南瓜の花粉の年令と発芽力との関係. 遺伝学雑誌, 8: 19~24.
- 11) 茶村修吾, 1957: 薄荷の花粉の人工発芽床に関する2, 3の試み. 新潟大学農学部学術報告, 9: 23~25.
- 12) 宇渡清六・清水純夫・池田長守, 1962: *Mentha piperita* L. の起源に関する研究. 岡山大学農学部学術報告, 20: 1~2.
- 13) 安田貞雄, 1947: 高等植物生殖生理学, 440~460.

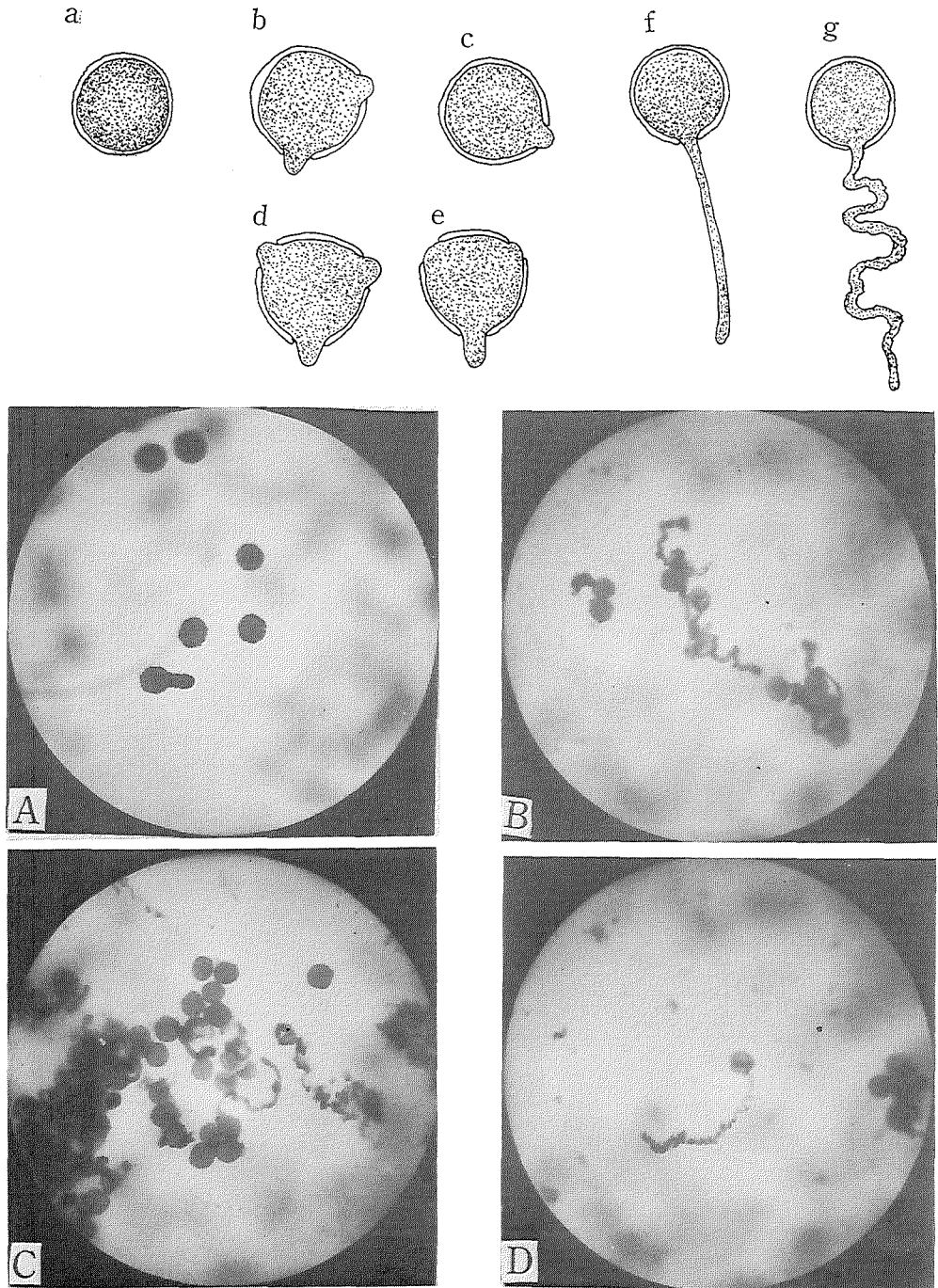


Fig. 3. Pollen showing various germination stage on the medium

a : Pollen non-germinated

b, c, d, e : Pollen germinated in the 1st grade

f, g, A, B, C, D : Pollen germinated in the 2nd grade

f, A : Normal pollen-tube growth

g, B, C, D : Abnormal pollen-tube growth