

林木の交配に関する基礎的研究 (X)

針葉樹花粉の長期貯蔵試験

橋詰隼人*

昭和58年7月30日受付

Fundamental Studies on Mating in Forest Trees (X)

An Experiment on the Long-term Storage of Some Conifer Pollens

Hayato HASHIZUME

An experiment on the long-term storage of pollen was carried out using pollens of four *Pinus* species, *Cryptomeria japonica*, *Chamaecyparis obtusa* and *Podocarpus macrophyllus*. These pollens were put in phials 3cm in diameter, sealed in jars 500ml in volume with desiccants, and refrigerated at 0~3°C and -20°C.

The addition of adsol of 30~100g per 500ml jar was effective for the long-term storage of *Pinus* pollen. After 11 years' storage, the pollen viability was above 90% in *Pinus thunbergii* and *P. taeda*, and above 80% in *P. densiflora*. For the storage of pollen of *Cryptomeria japonica* and *Chamaecyparis obtusa*, the addition of adsol or potassium sulfide was effective, and their pollens showed viabilities of from 50% to 60% after being stored for 2 years.

It seemed that storage at -20°C was better than storage at 0~3°C in the long-term storage of *Pinus*, *Cryptomeria* and *Chamaecyparis* pollens.

結 言

林木の花粉は一般に短命で、室内に放置すると数カ月で生命を失う。それ故人工交配に際しては、交配の直前に花粉を採取して直ちに使用するが、林木の開花期は多くの場合短い期間に集中するので、短期間に花粉の採集から人工交配までの作業を行わなければならない。また樹種、品種によって開花期に差があり、開花期の早いものに開花期の遅いものを交配しようとする場

合には、人工的に開花を促進して早く花粉を取るか、あるいは前年に採取した花粉を貯蔵して使用する必要がある。林木育種事業は選抜育種から交雑育種へと発展しており、精英樹間の人工交配や種間雑種の育成利用も積極的に取り上げられるようになってきた。特に昭和58年度からはマツノザイセンチュウ抵抗性育種事業の一環として、日本産クロマツと中国産タイワンアカマツ(バビショウ)の人工交配が始まり、中国で採集した花粉がわが国に送られてきている。このようなことから、花粉を長期

* 鳥取大学農学部造林学研究室
Department of Forestry, Faculty of Agriculture, Tottori University

間貯蔵して生存させることは、林木の交雑育種を進めてゆく上に大変重要な問題である。林木の花粉の貯蔵についてはかなり多くの研究があるが、¹⁾ 長期間貯蔵試験を行った研究は見当たらない。筆者は林木の交配に関する基礎研究を行っており、今回長期間貯蔵した花粉の発芽試験を行ったので、その結果を報告する。

材 料 と 方 法

実験に用いた花粉はマツ属4種、スギ、ヒノキ及びイヌマキで、鳥取大学農学部樹木園内の10~20年生の試験木から採取した。花粉の採取方法は、自然飛散の直前に雄花の着生した枝を切りとり、室内で水挿しするかあるいは枝を風乾して花粉を採取した。採取した花粉は径0.1~0.25mmのふるいを通してきょう雑物を除き、室内で1日乾燥させてから直径3cmの管瓶に入れ、綿でゆるくせんをし、乾燥剤の入った500mlの広口瓶に収め、口の部分にワセリンを塗って密封した。

乾燥剤としては、アドソール、塩化カルシウム(CaCl₂)及び硫化カリウム(K₂S)を使用し、アドソールと塩化カルシウムは500ml瓶当たり30g、50g及び100gの3区を、

硫化カリウムは5gと10gの2区を、更に両者の併用区(アドソール50g + K₂S 5g, CaCl₂50g + K₂S 5g)及び乾燥剤無添加区を設けた。また濃硫酸による湿度の調節も一部の試験で行い、相対湿度30%区と40%区を設けて試験した。

花粉の貯蔵は家庭用冷蔵庫を使用し、0~3°Cと-20°C(フリーザーの部分)の二つの条件の下で保存した。

花粉の発芽試験は、寒天濃度1%、蔗糖濃度5%で蒸留水を使用して発芽床をつくり、小型管瓶(直径2cm, 高さ4cm)に2mlずつ流し込み、固化してから花粉をまき付けた。管瓶はコルクせんでふたをし、25°Cの恒温器に入れて5日培養した。1回の発芽試験に3発芽床用いたが、その中で最も良く発芽したものについて発芽率と花粉管長を顕微鏡を用いて測定した。発芽率は200~300粒について、花粉管長は20粒について調べた。

結 果 と 考 察

1. 花粉の生存期間

長期間低温貯蔵した花粉の発芽試験の結果を第1表~第2表及び第1図~第2図に示す。

第1表 長期間低温貯蔵した針葉樹花粉の発芽力

樹 種	貯 蔵 条 件	貯 蔵 開 始 年 月 日	貯蔵年数 (年)	貯蔵開始時 発芽率(%)	調 査 時 (1983年)	
					発芽率 (%)	花粉管長 (μ)
<i>Pinus thunbergii</i>	0~3°C, 湿度40%, 密封	'71, 5/1	12	96	84	126
	0~3°C, アドソール添加, 密封	"	12	96	50~64	92~100
	"	'72, 4/25~27	11	96	54~77	69~153
	"	'73, 4/27	10	96	82	107
	"	'74, 4/24~5/1	9	95	87~93	126~236
	0~3°C, 乾燥剤なし, 密封	'74, 4/29	9	95	45	48
	0~3°C, アドソール添加, 密封	'75, 4/26~5/6	8	98	76~90	74~150
	"	'77, 4/30	6	95	85	208
	0~3°C, 乾燥剤なし, 密封	'78, 5/6	5	96	89	196
<i>Pinus densiflora</i>	0~3°C, 湿度40%, 密封	'71, 5/7	12	96	79	258
	0~3°C, アドソール添加, 密封	'72, 5/6~8	11	97	59~85	56~211
	"	'73, 5/6~8	10	97	63~82	48~107
	0~3°C, K ₂ S添加, 密封	'74, 5/7	9	96	24~52	41~120
	0~3°C, アドソール添加, 密封	'75, 5/7	8	95	51	96
	"	'78, 5/8	5	96	74	232
<i>Pinus taeda</i>	0~3°C, アドソール添加, 密封	'72, 4/25~26	11	97	64~87	167~170
	"	'73, 4/25	10	98	99	244
	"	'74, 5/2	9	98	89	210
	0~3°C, 湿度30%, 密封	"	9	98	63	192
	0~3°C, アドソール添加, 密封	'77, 5/7	6	99	97	215

あ
あ
て
垂
度
し
ヨ
国
期
一

第1表の続き

ハクシヨウ <i>Pinus bungeana</i>	0~3°C, アドソール添加, 密封	'80, 5/23	3	88	85	100
スギ <i>Cryptomeria japonica</i>	0~3°C, アドソール添加, 密封	'72, 3/30~4/1	11	90~94	0	0
	-20°C, アドソール添加, 密封	"	11	"	0	0
	0~3°C, アドソール添加, 密封	'73, 2/10	10	87	9	54
	"	'76, 3/5	7	90	0	0
ヒノキ <i>Chamaecyparis obtusa</i>	"	'77, 3/7~10	6	90~92	10~43	41~71
	0~3°C, アドソール添加, 密封	'71, 4/2~6	12	89~97	0	0
	"	'72, 3/30~4/1	11	90~93	0	0
	0~3°C, K ₂ S添加, 密封	"	"	"	0	0
	-20°C, アドソール添加, 密封	"	"	"	4~7	25~27
	-20°C, K ₂ S添加, 密封	"	"	"	11~27	26~37
イヌマキ <i>Podocarpus macrophyllus</i>	0~3°C, アドソール添加, 密封	'74, 4/5~9	9	86~94	0	0
	"	'77, 3/31	6	90	0	0

マツ属の花粉は比較的生存期間が長く、乾燥剤を添加して密封し、低温で貯蔵すれば、10年以上経過しても発芽率は著しく低下せず、人工発芽床で50%以上の高い発芽率を示し、また花粉管の伸長も良好であった。最も成績の良かったのはアドソールを添加して密封し-20°Cで貯蔵した場合で、11年間貯蔵したクロマツ、アカマツ及びテーグマツの花粉の発芽率は90%以上で、非常に高かった。これに対して、スギ、ヒノキの花粉は生存期間が短く、スギではアドソール添加密封低温貯蔵で2年後に発芽率は37~61%に、6年後に10~43%に低下し、7年後には0となった。しかし、10年間貯蔵した花粉で9%発芽がみられ、条件が良ければ10年ぐらい生存可能のよう

である。ヒノキでは、0~3°Cで乾燥剤添加密封貯蔵した場合、2年後に発芽率は50~55%に低下し、6年後には0になった。しかし、-20°Cで貯蔵した場合11年後の発芽率はアドソール添加区で4~7%、K₂S添加区で11~27%であり、貯蔵条件が良ければ10年以上生存可能なことがわかった。イヌマキの花粉は、0~3°C、アドソール添加密封貯蔵で10年後に発芽率は2%であった。花粉の生存期間はマツよりも短く、スギ、ヒノキ程度と思われる。

2. 花粉の生存に及ぼす貯蔵温度及び乾燥剤の種類の影響

11年間低温貯蔵したマツの花粉の発芽は、0~3°C貯

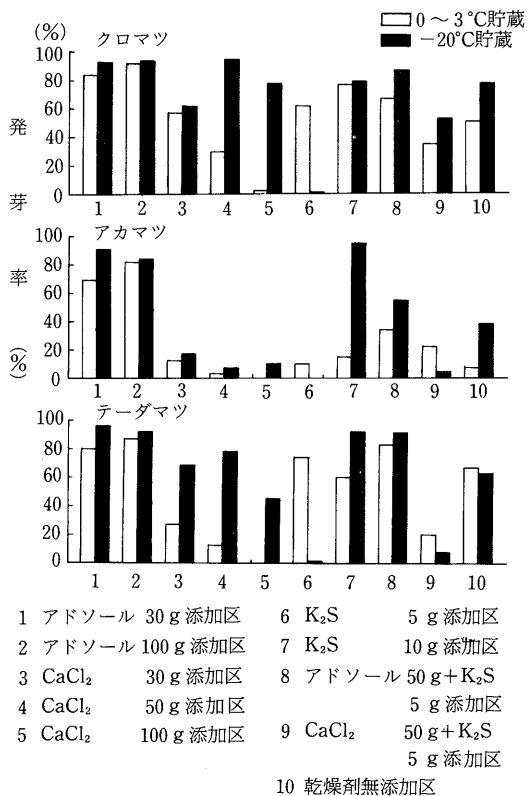
第2表 11年間低温貯蔵したクロマツ、アカマツ及びテーグマツの花粉の発芽力

樹種	貯蔵条件	開始時 (1972年)		調査時 (1983年)	
		発芽率 (%)	花粉管長 (μ)	発芽率 (%)	花粉管長 (μ)
クロマツ	0~3°C, アドソール添加, 密封	96	159	84~91	163~174
	0~3°C, CaCl ₂ 添加, 密封	"	"	2~57	53~136
	0~3°C, K ₂ S添加, 密封	"	"	62~77	97~132
	0~3°C, 乾燥剤無添加, 密封	"	"	51	88
<i>Pinus thunbergii</i>	-20°C, アドソール添加, 密封	"	"	93~94	165~168
	-20°C, CaCl ₂ 添加, 密封	"	"	62~95	151~189
	-20°C, K ₂ S添加, 密封	"	"	1~79	34~55
	-20°C, 乾燥剤無添加, 密封	"	"	78	142

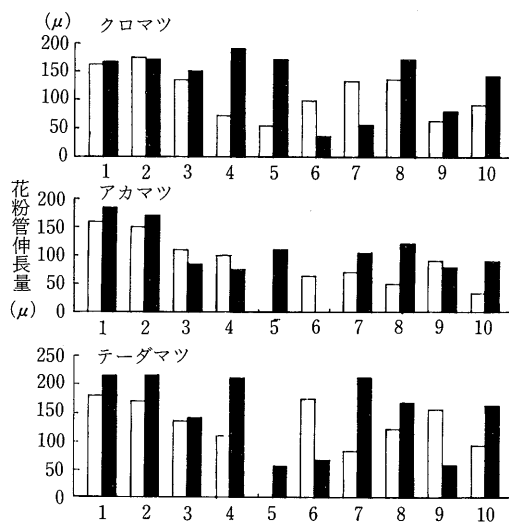
第2表の続き

アカマツ <i>Pinus densiflora</i>	0~3°C, アドソール添加, 密封	98	161	69~81	151~160
	0~3°C, CaCl ₂ 添加, 密封	//	//	0~12	0~110
	0~3°C, K ₂ S添加, 密封	//	//	10~15	63~69
	0~3°C, 乾燥剤無添加, 密封	//	//	7	33
	-20°C, アドソール添加, 密封	//	//	84~91	169~183
	-20°C, CaCl ₂ 添加, 密封	//	//	7~17	74~108
	-20°C, K ₂ S添加, 密封	//	//	0~95	0~103
テーダマツ <i>Pinus taeda</i>	0~3°C, アドソール添加, 密封	97	166	79~87	170~178
	0~3°C, CaCl ₂ 添加, 密封	//	//	0~27	0~134
	0~3°C, K ₂ S添加, 密封	//	//	60~74	81~173
	0~3°C, 乾燥剤無添加, 密封	//	//	67	89
	-20°C, アドソール添加, 密封	//	//	92~96	214~215
	-20°C, CaCl ₂ 添加, 密封	//	//	45~78	55~208
	-20°C, K ₂ S添加, 密封	//	//	1~92	65~210
-20°C, 乾燥剤無添加, 密封	//	//	63	158	

備考：クロマツは1972年4月25日、アカマツは同年5月8日に、テーダマツは同年4月26日に貯蔵を開始する。



第1図 11年間低温貯蔵したクロマツ、アカマツ及びテーダマツの花粉の人工発芽床における発芽率貯蔵開始：1972年4月，調査：1983年4月。



第2図 11年間低温貯蔵したクロマツ、アカマツ及びテーダマツの花粉の人工発芽床における花粉管の伸長
図の説明は第1図と同様である。

蔵よりも-20°Cで貯蔵したとき発芽率が高く、花粉管の伸長も良好であった(第2表, 第1図~第2図, 写真1)。乾燥剤については、アドソール添加区が最も成績が良く、塩化カルシウムの添加区は成績が良くなかった。硫化カリウムの添加は10g区で発芽率が高かったが、花粉管の

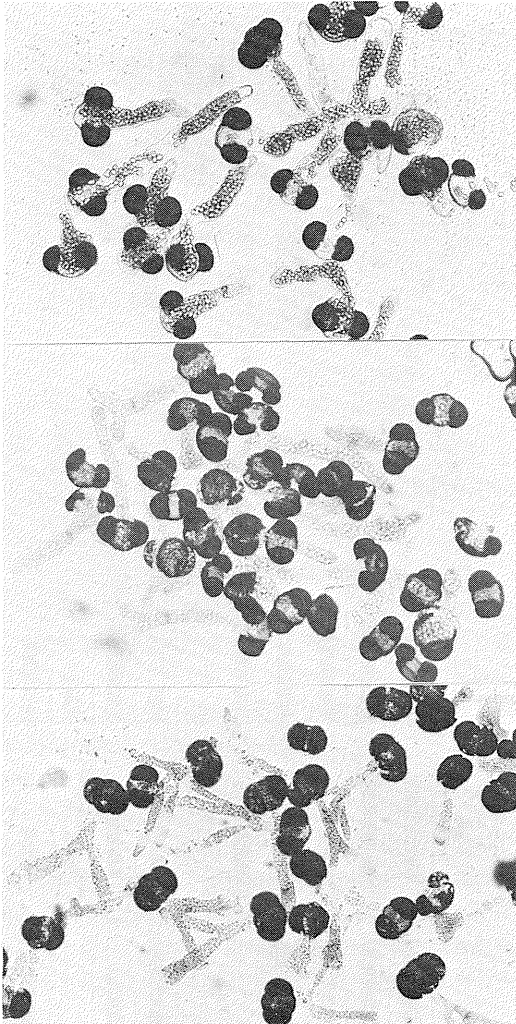


写真1 11年間 -20°C 、アドソール添加密閉貯蔵したマツの花粉の人工発芽床における発芽上、クロマツ (*Pinus thunbergii*)；中、アカマツ (*P. densiflora*)；下、テーダマツ (*P. taeda*)

伸長はやや劣った。アドソールと硫化カリウム、塩化カルシウムと硫化カリウムの併用区では、前者で成績が良かったが、アドソール単用区に比べてやや劣るようであった。乾燥剤無添加区は、 -20°C 貯蔵で成績が良かったが、アドソール添加区に比べるとやや劣り、また $0\sim 3^{\circ}\text{C}$ 貯蔵ではさらに成績が悪かった。以上の実験の外に濃硫酸を用いて相対湿度を30%と40%に調節して試験した。第

1表によると、 $0\sim 3^{\circ}\text{C}$ 、湿度40%で貯蔵したとき、12年後のクロマツ花粉の発芽率は84%、アカマツ花粉のそれは79%であった。またテーダマツでは、湿度30%で9年間貯蔵し、発芽率は63%であった。既往の実験では濃硫酸で湿度を調節する方法が多く採用されているが、乾燥剤添加法が簡便で、また成績も良く、針葉樹の花粉の貯蔵に適した方法であると思われる。本実験では、 -20°C 、アドソール添加密閉貯蔵法が成績が最も良く、11年間貯蔵した花粉の発芽率は、クロマツ93~94%、アカマツ84~91%、テーダマツ92~96%であった。

次にスギとヒノキの花粉の貯蔵について試験した(第3表、第4表)。スギについてみると、 $0\sim 3^{\circ}\text{C}$ で貯蔵したとき1年後の花粉の発芽率は硫化カリウム区で最も高く、次いでアドソール区で高かった。塩化カルシウム区は不成績であった。2年後の花粉の発芽率も硫化カリウム区とアドソール区で高く、硫化カリウムとアドソールの添加は花粉の活力を保持する上に有効のようである。貯蔵温度と花粉の活力保持との関係については、 $0\sim 3^{\circ}\text{C}$ 貯蔵と -20°C 貯蔵との間に発芽率について大きな差はなかった。乾燥剤を添加して低温で貯蔵すれば、スギの花粉は1年貯蔵で70~80%、2年貯蔵で50~60%の発芽率

第3表 低温で1年及び2年間貯蔵したスギ花粉の発芽力

	乾燥剤 (g/500ml瓶)	$0\sim 3^{\circ}\text{C}$ 貯蔵			-20°C 貯蔵			
		クモト オシ (%)	24号 (%)	平均 (%)	クモト オシ (%)	24号 (%)	平均 (%)	
1年 貯蔵	アド ソール	30	34	47	40.5	69	80	74.5
		50	24	64	56.0	61	55	58.0
		100	48	79	63.5	36	26	31.0
	CaCl ₂	30	38	10	24.0	34	11	22.5
		50	23	19	21.0	33	11	22.0
	K ₂ S	5	75	83	79.0	54	72	63.0
		10	70	84	77.0	85	54	69.5
無添加	61	56	58.5	58	60	59.0		
2年 貯蔵	アド ソール	30	29	44	36.5	16	30	23.0
		50	45	58	51.5	30	36	33.0
		100	47	75	61.0	35	20	27.5
	CaCl ₂	30	20	25	22.5	20	19	19.5
		50	15	12	13.5	18	10	14.0
	K ₂ S	5	54	44	49.0	46	74	60.0
		10	74	51	62.5	40	44	42.0
無添加	26	21	23.5	26	26	26.0		

備考 実験開始時の発芽率と花粉管伸長量：クモトオシ、94%(113 μ)；24号、94%(117 μ)。

第4表 低温で1年及び2年間貯蔵したヒノキの花粉の発芽力

	乾燥剤 (g/500ml瓶)	0~3°C貯蔵			-20°C貯蔵			
		5号 (%)	15号 (%)	平均 (%)	5号 (%)	15号 (%)	平均 (%)	
1年 貯蔵	アドソール	30	79	82	80.5	—	—	
		50	87	82	84.5	—	—	
		100	86	74	80.0	—	—	
	CaCl ₂	30	59	43	51.0	—	—	
		100	48	28	38.0	—	—	
	K ₂ S	5	83	60	71.5	85	80	
		10	85	76	80.5	69	58	
	無添加	76	69	72.5	—	—	—	
	2年 貯蔵	アドソール	30	56	51	53.5	42	50
			50	59	43	51.0	58	43
100			53	60	55.5	66	62	
CaCl ₂		30	45	35	40.0	34	46	
		50	41	40	40.5	62	55	
100		23	29	26.0	20	20		
K ₂ S		5	58	50	54.0	52	50	
		10	60	53	56.5	63	57	
無添加		40	38	39.0	46	40	43.0	

備考 実験開始時の発芽率と花粉管長量：5号，93% (135μ)；15号，90% (110μ)。

を保持することが可能と思われる。しかし、同じ花粉を11年後に発芽試験したところ、いずれの乾燥剤添加区でも発芽率は0であった(第1表)。

次にヒノキについてみると、スギと同様にアドソール添加区と硫化カリウム添加区で花粉の発芽率が高く、塩化カルシウム添加区で低かった。0~3°Cで1年間貯蔵した花粉の発芽率はアドソール区で80~85%、硫化カリウムで72~81%、2年貯蔵花粉の発芽率は前者で51~56%、後者で54~57%であった。0~3°C貯蔵と-20°C貯蔵の比較では、スギの場合と同様に1、2年間の貯蔵では大きな差はみられなかった。しかし、長期間貯蔵すると差が出るようで、上記の貯蔵花粉を11年後に発芽試験した結果(第1表)、0~3°C貯蔵ではいずれの乾燥剤添加区でも発芽率は0であったが、-20°Cで貯蔵した花粉はアドソール添加区で4~7%、硫化カリウム添加区で11~27%の発芽率を示した。ヒノキの花粉の活力は0~3°C貯蔵よりも-20°C貯蔵で長く保持されるようである。

針葉樹花粉の長期貯蔵に関する研究は比較的少ない。Fechnerら¹⁾は0~4°C、相対湿度25~50%でponderosa pineの花粉を11年間貯蔵し63~71%発芽したことを報告

している。Schoenikeら²⁾Pinus banksiana, Picea glauca, Picea abiesの花粉を4°Cで真空貯蔵し、5年後の発芽率は44~90%であったという。わが国の針葉樹についてみると、岩川らの研究によると、³⁾5°C、相対湿度40%で花粉を貯蔵したとき、アカマツは34カ月、クロマツは96カ月以上活力を維持し、スギは460日後に発芽率48%であった。福原ら⁴⁾によると、ヒノキの花粉は2.3°C、相対湿度30~40%で貯蔵したとき、1年後の発芽率は7.3~10.2%であった。本研究によると、マツの花粉はアドソール等の乾燥剤を添加して-20°Cで貯蔵すると11年後に90%以上の高い発芽率を示し、長期間保存することが可能であることがわかった。しかし、スギ、ヒノキの花粉は乾燥剤を添加して低温で貯蔵しても2年後には発芽率が50~60%に低下し、11年後にはスギでは0%、ヒノキでは4~27%に低下し、長期貯蔵が難しいようであった。

花粉の生存には貯蔵温度と湿度が大きく影響する。花粉は室温で貯蔵すると短期間に発芽力を失うので、普通低温で貯蔵する。既往の研究をみると、⁵⁾0~5°Cの低温で貯蔵した例が多いが、齊藤ら⁷⁾はヒノキの花粉を3°C、-20°C及び-70°Cで貯蔵し、3°Cよりも-20°Cあるいは-70°Cで貯蔵した方が結果が良かったと報告している。しかし、平吉ら⁸⁾の研究によると、アカマツの花粉を0°Cと-20°Cで1年間貯蔵して、両者の間に差がみられなかったという。本研究によると、1、2年の比較的短い期間の貯蔵では0~3°C貯蔵と-20°C貯蔵との間に花粉の活力保持について大きな差はみられなかったが、10年以上の長期間の貯蔵では-20°C貯蔵の方が結果がよいようであった。

貯蔵湿度については、濃硫酸で相対湿度を調節して実験した例が多く、マツの花粉の貯蔵には相対湿度40%が、スギは20%、ヒノキは30~40%が適当とされている。^{2,4,9)}武藤ら¹⁰⁾はモミ属、トウヒ属の花粉を乾燥剤を添加して密封貯蔵し好結果をえている。乾燥剤としては、塩化カルシウムのような吸湿力の強いものはよくなく、アドソールや硫化カリウムなどが良いようである。特に硫化カリウムは花粉の活力を長く保持するのに効果があるという。本研究の結果によると、マツの花粉の貯蔵にはアドソールが良く、スギ、ヒノキにはアドソールと硫化カリウムが良かった。塩化カルシウムはいずれの樹種に対しても良くなかった。濃硫酸で湿度を調節する方法に比べて乾燥剤添加法は作業がやりやすく、また容器を横に寝かせても液がこぼれる等の心配がなく、簡便な方法である。

摘 要

マツ属4種、スギ、ヒノキ及びイヌマキの花粉を使って、花粉の長期貯蔵の試験を行った。花粉は小型管瓶に入れ、綿でゆるくせんをし、500mlの広口瓶に入れ乾燥剤を添加して密封し、0～3℃と-20℃で貯蔵した。乾燥剤として、アドソール(500ml瓶当たり30～100g)、塩化カルシウム(30～100g)及び硫化カリウム(5～10g)を用いた。本研究の結果は次のごとくである。

1. マツ属の花粉の長期貯蔵にはアドソールの添加が最も良く、500ml瓶当たりアドソールを30～100g添加して-20℃で貯蔵したとき、11年後にクロマツ、テーダマツの花粉は90%以上、アカマツの花粉は80%以上の高い発芽率を示した。

2. スギ、ヒノキの花粉の貯蔵にはアドソールと硫化カリウムの添加が良く、2年間貯蔵して50～60%の発芽率を保持することができた。

3. 花粉の長期貯蔵には、0～3℃よりも-20℃で貯蔵した方が良いようであった。

4. スギ、ヒノキの花粉はマツの花粉に比べて短命で、長期間生命を維持することが困難であった。

文 献

- 1) Fechner, G. H. and Funsch, R. W. : Germination of blue spruce and ponderosa pine pollen after eleven years of storage at 0 to 4°C. *Silvae Genet.*, 15 164-166 (1966)
- 2) 福原樹勝ほか：スギ、ヒノキの花粉に関する二、三の実験。日林誌, 53 98-102 (1971)
- 3) 平吉功・熊沢茂則：アカマツ花粉の低温貯蔵(予報)。74回日林講, 237-238 (1963)
- 4) 岩川盈夫：花粉に関する二、三の問題。育林学新説, 朝倉書店, 東京(1955) pp.1-31
- 5) 岩川盈夫・千葉茂・渡辺操：スギ花粉の人工発芽及び貯蔵について。第3回林業試験研究発表会記録, 1-5 (1951)
- 6) 武藤憲由ほか：トウヒ属・モミ属花粉の生存期間。北大演報, 21 353-372 (1962)
- 7) 農林水産技術会議事務局：永年生木本作物の有用生殖質の長期保存と利用に関する研究。研究成果125 68-71 (1980)
- 8) Schoenike, R. E. and Stewart, D. M. : Fifth year results of vacuum-drying storage and additives on the viability of some conifer pollens. *For. Sci.*, 9 96-97 (1963)