

絶滅危惧種ヒスイカズラ (*Strongylodon macrobotrys* A. Gray) の繁殖と保存に関する研究

小西達夫*

KONISHI, Tatsuo: Studies on the Reproduction and Conservation of Jade Vine
(*Strongylodon macrobotrys* A. Gray), a Threatened Species

目次

緒論	3
第1章 分類・分布ならびに我が国への導入と栽培状況	5
第1節 分類	
第2節 分布	
第3節 形態	
第4節 我が国への導入と栽培状況	
第5節 本研究に用いた供試株	
第6節 自生地ならびに熱帯圏での生育・開花・結実	
第7節 温室内での生育・開花・結実	
第2章 温室内での開花習性と花器の構造	14
第1節 温室内の開花習性	
第2節 花器の構造	
第3章 人工受粉法の開発と種子の発芽率	17
第1節 人工受粉法の開発	
第1項 人工受粉前の柱頭の微細構造	
第2項 人工受粉法の手順	
第3項 人工受粉後の柱頭の微細構造	
第2節 人工受粉と結実	
第3節 人工受粉により得られた完熟莢と種子の形態	
第4節 結実種子の発芽率	
第4章 人工受粉後の落莢現象の把握	29
第1節 受粉後の落莢現象	
第5章 落莢した子房内胚珠の組織学的観察と救済	32
第1節 落莢した子房内胚珠の胚発育段階の組織学的観察	
第2節 落莢した子房内胚珠の救済	
第1項 胚・胚珠培養	
第2項 子葉のスライス培養	
第6章 人工受粉により得られた次代植物の花色の変異	36
第1節 自家受精第1代目の初期生長	

*国立科学博物館 筑波研究資料センター 筑波実験植物園. Tsukuba Botanical Garden, National Science Museum, Tsukuba, 305-0005.

第2節 自家受精第1代目植物の花色の変異	
第3節 自家受精第2代目のアルビノ個体の出現率	
第7章 生態系モデル温室での自然結莢と結実に対する送粉動物の関与	39
第1節 生態系モデル温室での放飼動物と結実	
第8章 種子の保存法に関する検討	42
第1節 無菌種子培養による保存	
第9章 総合考察	44
摘 要	46
Summary	47
謝 辞	49
参考文献	49

緒 論

地球上に現存する維管束植物の種数は、これまでに約25万種ほどが知られている。しかし、まだまだ多くの未記載種が存在し、これらを含めると、実際には、50万種ほどと推定されている(岩槻 1994)。いずれも、35億年もの長い生命の歴史の中で分化、適応してきたものであるが、わずか過去100年の間に、すでに維管束植物のほぼ1,000種が絶滅し、50年後には6万種が絶滅すると予測されている(Raven 1987; プリマック・小堀 1997)。また、Reid (1992)によれば、1990年~2015年の間に、地球上の生物種の2~13%が絶滅するという。

いうまでもなく、生物種の減少は、人類の生活と深い関わり合いがある。地球上の人口は、今世紀始め約16億人といわれたが、この100年間に60億人を越えようとしている。この指数函数的に増え続ける人類のために、自然破壊が地球規模で進行している。中でも、多様な生物種の宝庫である熱帯降雨林の急速な減少は野生生物にとって、また、人類にとって重要な問題である。

絶滅の危機に瀕する野生生物が問題になり、国際的な対策が本格的に取られはじめたのは、1960年代に入ってからである。すなわち、1961年に世界野生生物基金(WWF: World Wide Fund)が設立され、日本委員会は、財団法人世界野生生物基金日本委員会(WWFJ: World Wide Fund Japan)として発足した。また、1962年には世界自然保護連合機構(IUCN: International Union for the Protection of Nature)がスイスに置かれるようになり、野生植物の種の保全についても、いくつかの委員会が編成された。このIUCNが中心となって「絶滅のおそれがある野生生物の種の国際取引に関する条約」(通称ワシントン条約)が立案され(1973年採択)、1975年4月にその効力が発生している。一方、1974年に国際農業研究協議グループ(CIGAR: Consultative Group on International Agricultural Research 1970年設立)の一機関として発足した国際植物遺伝資源理事会(IBMGR: International Board for Plant Genetic Resources; 現在国際植物遺伝資源研究所 IPGRI: International plant Genetic Resources Institute)が、植物遺伝資源の探索、収集と保存の事業を進めてきている。

しかしながら、熱帯降雨林の現状をみると、野生植物(以下野生種と記す)の絶滅速度は、今よりさらに加速するとみられ、深刻な状態にあるという(Heywood and Stuart 1992)。わが国においても、1980年後半の調査によると、シダ植物と種子植物をあわせた約5,300種のうち、895種は、すでに絶滅したり、このままでは近い将来間違いなく絶滅してしまう危急種(vulnerable species)ないし危惧種(endangered species)、と判定された。この数字は、日本の野生種の約17%に当たり、実に6種に1種が絶滅の危機に瀕していることになる(我が国における保護上重要な植物種及び群落に関する研究委員会 種分科会編 1989; 矢原 1991)。

野生種が自然環境下で生き残れるような保護対策がとられること、これが野生種の保存にとって最善の道である。しかし、それがもはや不可能と判断される野生種や絶滅の危機に瀕している野生種、すなわち、絶滅危惧種については、近年、植物園や大学などの諸研究機関で積極的に調査研究が行われようになりつつある。

従来植物園は、植物分類学を中心に、多種多岐にわたる野生種に関する情報を収集、保存し、同時に多くの種の保存を行ってきたが、野生種の遺伝資源としての価値が見直されてくるとともに、その収集と保存は植物園の社会的責務の一つとして期待が高まってきている。実際に、絶滅に瀕している野生種に限って、繁殖様式などの基本的問題についての情報が少なく、また、不明な点が多いことから、専門家による当該種の自生地の環境調査ならびに実験室的手法による解析的研究とその対策的研究が望まれる。

イギリスでは、王立キュー植物園がこれに積極的に当たっている。日本では、国立科学博物館筑波研究資料センター筑波実験植物園のほか数カ所の植物園でこれに取り組んでいるが、ようやく

調査研究が始まったところといえる。事例を挙げれば、ペラルゴニウム (*Pelargonium*) 属植物の稀少種数種の繁殖に関する研究 (小西ら 1997)、ムニンノボタン (*Melastoma tetramerum*), ムニンフトモモ (*Metrosideros boninensis*) およびムニンツツジ (*Rhododendron boninense*) などを繁殖し、自生地への返還に関する研究 (岩槻・下園 1989), サクラソウ (*Primula sieboldii*) の繁殖と送粉昆虫に関する研究 (Washitani *et al.* 1991, 1994) などがある。

ヒスイカズラ *Strongylodon macrobotrys* A. Gray はマメ科の木本性蔓性植物の 1 種である。英名 Jade Vine と呼ばれ、長さ 1.8m 以上の垂れ下る長大な複総状花序 (Fig. 1-1) に、青緑色の花 (長さ約 10cm) を 1 花序当たり 200~300 個も咲かせ豪華で観賞価値の高い植物であることから、自生地のフィリピンを始め熱帯圏の植物園や公園で植栽されている。熱帯圏以外の欧米や日本では人為的に温度コントロールされた温室内に植栽され、開花している (小西・丸橋 1989; Konishi *et al.* 1993)。

本種は、フィリピン諸島の標高 100~1,000m のフタバガキ科 (Dipterocarpaceae) の高木などが生える熱帯降雨林の、湿度の高い渓谷に限り自生している。繁殖は種子によるが、本種の種子の寿命は熱帯圏のマメ科植物のなかで最も短く、完熟後直ちに播かないと発芽力を失ってしまう難貯蔵種子 (recalcitrant seed) である。しかし、一方では発芽には長い時間がかかり、その間に昆虫等の食害により自生地でも生育するものが極めて少ないという (Pancho 1955)。また、受粉にはコウモリや鳥など小動物の関与が欠かせないともいわれている (Pancho 1955; Neal 1965; Polhill 1972; Bailey 1976; Everett 1980; Arroyo 1981; Andrews and Lewis 1984; Huang 1991)。

本種は、かつてはごく普通に自生地でみられたが、熱帯降雨林の開発が進み、自生地の多くが



Fig. 1-1. The raceme of Jade Vine (*Strongylodon macrobotrys* A. Gray).

破壊され、今や生存が脅かされ、その保護が望まれる典型的な絶滅危惧種の1種である (Andrews and Lewis 1984)。しかしながら、植物園などで植栽されているヒスイカズラは、開花はするものの、結莢の報告は皆無に等しく、不結莢の原因はおろか、繁殖と保存を目的とした調査研究はまったく行われていない現況にあるといえる。

このような背景のもとに、著者は1988年に、絶滅が危惧される植物の繁殖保存の研究の一環として、本研究を開始した。ところで、ヒスイカズラは種子繁殖のほかに、挿し木や取り木による繁殖も可能であるが、栄養繁殖のみでは、種の遺伝的多様性の喪失や脆弱性を高めることになる。したがって、緊急避難的ではなく、真の絶滅危惧種の繁殖と保存を考えるならば、種子による繁殖は不可欠である。

そこで、ヒスイカズラの生育特性、開花習性ならびに花器構造等を詳細に調査観察し、不結莢の原因を解析した。これらの結果をもとに、人工受粉法を考案し、稔実種子を得ることに成功した。

さらに、花器構造の解析と人工受粉法の操作過程より、自然環境下での結莢には送粉動物が存在すると推察された。このことから、自然生態系を配慮して熱帯植物を植栽し、小動物やチョウ類などを放し飼いにし、生態を再現する考えで設計された生態系モデル温室内にヒスイカズラを植栽し、観察実験を行った。その結果、送粉動物が介在した自然結莢が起り、発芽能力のある種子を得た。このことにより自然条件下での受粉には、送粉動物の介在が不可欠であることを実証した。一方、人工受粉後の胚の発育段階を詳細に観察し、落莢現象との関係を明らかにするとともに植物組織培養法による落莢内幼胚の救出法の可能性も検討した。更に、裂開前の成熟莢の種子の無菌培養による実生幼苗の育成と保存を可能にし、短命種子の問題を解決した。

本論文は、これら一連の実験的・対策的研究の成果を取り纏めたものである。

第1章 分類・分布ならびに我が国への導入

第1節 分類

ヒスイカズラ (*Strongylodon macrobotrys* A. Gray) は植物分類学上、マメ科 (Leguminosae)、ソラマメ亜科 (Papilionoideae)、ソラマメ族 (Phaseoleae) に分類される *Strongylodon* 属の1種である。本種は、1854年に A. Gray により、フィリピンで採集され、本属2番目の種として記載された。その後、今日まで分類学的研究が進められ、27種が報告された (Huang 1991)。しかしながら、異名同種や不明瞭な記述があり、記載が曖昧であったものが多かったことから Huang (1991) により、12種に整理された (Table 1-1)。

Strongylodon 属は、1836年に Vogel により、単型属として *Erythrina* 属と *Mucuna* 属の間に1属1種の属として設けられた。属名は独特な形をした丸い萼の裂片に因み名づけられている。なお、この基本種 *S. ruber* は、1856年フィジーの植物相を研究をした Seemann により *S. lucidus* の異名同種として改められた (Huang 1991)。

一方、Huang (1991) の総説によれば分類上の *Strongylodon* 属の位置についていくつかの報告はあるが、属以下の関係を取り扱われていない。Huang (1991) は、*Strongylodon* 属内に新しく4節を設け、Craveniae節には *S. craveniae* と *S. madagascariensis* の2種、Macrobotrys節には *S. caeruleus*, *S. elmeri*, *S. loheri*, *S. macrobotrys*, *S. pulcher* および *S. zschokkeri* の6種、Archboldianus節には *S. archboldianus* と *S. decipiens* の2種、*Strongylodon* 節には *S. celebicus* と *S. lucidus* の2種を記載した (Table 1-2)。なお、本属の系統的な位置関係は、Vogel により便宜的に *Erythrina* と *Mucuna* の中間に置かれたが、他の属、すなわち *Apios*, *Butea*, *Cochlianthus* およ

Table 1-1. Chronological account of *Strongylodon* species and treatment by Huang (1991)

Year	Species	Distribution	Treatment (Huang 1991)
1836	<i>S. ruber</i> Vogel	Hawaii	<i>S. lucidus</i> 'ruber'
1854	<i>S. macrobotrys</i> A. Gray	Philippines	<i>S. macrobotrys</i>
1865	<i>S. lucidus</i> Seemann	Society Islands (Tahiti)	<i>S. lucidus</i> 'lucidus'
1881	<i>S. madagascariensis</i> Baker	Madagascar	<i>S. madagascariensis</i>
1883	<i>S. lastellianus</i> Baillon	Madagascar	<i>S. madagascariensis</i>
1891	<i>S. craveniae</i> Baker	Madagascar	<i>S. craveniae</i>
1895	<i>S. siderospermus</i> Cordemoy	Reunion	<i>S. lucidus</i> 'lucidus'
1902	<i>S. camponi</i> Drake	Madagascar	<i>S. craveniae</i>
1902	<i>S. catati</i> Drake	Madagascar	<i>S. madagascariensis</i>
1902	<i>S. lantzianus</i> (Baillon) Drake	Madagascar	<i>S. madagascariensis</i>
1904	<i>S. warburgii</i> Perkins	Philippines	<i>S. macrobotrys</i>
1904	<i>S. crassifolius</i> Perkins	Philippines	Insufficiently known
1905	<i>S. caeruleus</i> Merrill	Philippines	<i>S. caeruleus</i>
1905	<i>S. elmeri</i> Merrill	Philippines	<i>S. elmeri</i>
1907	<i>S. zschokkeri</i> Elmer	Philippines	<i>S. zschokkeri</i>
1908	<i>S. pulcher</i> Robinson	Philippines	<i>S. pulcher</i>
1910	<i>S. mindanaensis</i> Elmer	Philippines	<i>S. pulcher</i>
1913	<i>S. pseudolucidus</i> Craib	origin from Madagascar	<i>S. lucidus</i> 'lucidus'
1915	<i>S. agusanensis</i> Elmer	Philippines	<i>S. pulcher</i>
1915	<i>S. megaphyllus</i> Merrill	Philippines	<i>S. macrobotrys</i>
1915	<i>S. paucinervis</i> Merrill	Philippines	<i>S. caeruleus</i>
1942	<i>S. archboldianus</i>	New Guinea	<i>S. archboldianus</i>
1950	<i>S. perrieri</i> Viguier	Madagascar	Excluded species
1972	<i>S. secundus</i> St. John Merrill & Perry	Solomon Islands	<i>S. lucidus</i> 'lucidus'
1978	<i>S. decipiens</i> Verdc.	New Guinea	<i>S. decipiens</i>
1978	<i>S. decipiens</i> var.	New Guinea	<i>S. decipiens</i>
1990	<i>S. celebicus</i> Huang	Sulawesi	<i>S. celebicus</i>
1990	<i>S. lucidus</i> 'longiflorus'	Samoa	<i>S. lucidus</i> 'longiflorus'
1990	<i>S. loheri</i> Huang	Philippines	<i>S. loheri</i>

び *Rudolphia* は Phaseoleae 族 の Erythrinae 亜族, あるいは Millettieae 族の近縁と考えられ Erythrinae 族 (Huchingson 1964) にまとめられている。また, *S. lantzianus* (= *S. madagascariensis*; Huang 1991) はかつて Baillon により *Chadsia* 属として扱われていた。しかし, *Chadsia* 属は, Taubert により記載された植物で, Millettieae に近縁の形質である灌木的で, 托葉のない羽状葉を有し, 叢生する葉腋から花が咲き, 雌薬基部に平円盤状の密線が存在しないなどの点により, *Strongylodon* 属を Millettieae から区別された。さらに, Millettieae および Phaseoleae の境界になる特徴は, さほど明確ではない。すなわち, *Strongylodon* 属は羽状3小葉で, 側小葉に斜めに走る葉脈, 特に盾状の托葉を持っている。しかし, この特徴は Phaseoleae にあるが, Millettieae にはないことから, *Strongylodon* が Phaseoleae に近縁であると考えられている (以上 Huang 1991の総説を引用)。いずれにしても, 本属の系統については分類学上諸説が報告されていることから, *Strongylodon* 属の真の系統位置関係は現在のところ明らかとはいえない。

さらに, 本属の基本染色体数は Goldblatt and Davidse (1977) によって, *S. macrobotrys* のみ $2n=28$, $n=14$ であると報告されている。この $n=14$ という数は Phaseoleae 族の他の属の $n=10$

Table 1-2. Distribution of *Strongylodon* species (Huang 1991)

Taxa	Area
Section Archboldianus	
<i>S. archboldianus</i>	New Guinea
<i>S. decipiens</i>	New Guinea, Sulawesi (Celebes)
Section Macrobotrys	
<i>S. caeruleus</i>	Philippines
<i>S. elmeri</i>	Philippines
<i>S. loheri</i>	Philippines
<i>S. macrobotrys</i>	Philippines
<i>S. pulcher</i>	Philippines
<i>S. zschokkeri</i>	Philippines
Section Craveniae	
<i>S. craveniae</i>	Madagascar
<i>S. madagascariensis</i>	Madagascar
Section Strongylodon	
<i>S. celebicus</i>	Sulawesi (Celebes),
<i>S. lucidus</i> ^{b)}	Islands of Indian Ocean ^{a)} , Australia, New Guinea, Indonesia ^{c)} , Sulawesi (Celebes), Philippines, Islands of Pacific Ocean ^{d)}

^{a)} Includes Reunion, Christmas Island, Sri Lanka, Andaman Islands.

^{b)} Includes different populations.

^{c)} Includes Seram (Ceram), Kangean, Key (Kai), Moluccas.

^{d)} Includes Caroline Islands, Fiji, Guam, New Britain, New Caledonia, New Ireland, Samoa, Solomon Islands, Tahiti, Tonga, Vanuatu (New Hebrides).

あるいは $n=11$ と異なっていることから, Lackey (1980) および Goldblatt (1981b) は, $n=14$ が $n=10$ あるいは $n=11$ から生じたとする説明ができないと報告している。さらに, Goldblatt (1981a) は, マメ科の原始的群である Mimosoideae, Caesalpiniae および Sophoreae が $n=14$ であることから, *Strongylodon* を孤立した遺存的属であると主張した。一方, Smith (1985) も Phaseoleae 族内での *Strongylodon* 属の関係を明確にする研究も必要であると主張している。いずれにせよ, Phaseoleae 族内の関係を明らかにする研究が必要であると考えられている。しかしながら, すでに絶滅の恐れがあり, 標本数が少ないことなどから, 分類学的研究は進まない状態である。

植物分類学的興味とは別に, ヒスイカズラは, 長く垂れ下がった花序に蛍光色を発する珍しい jade green 色の大きな花を多数つけるので, 熱帯圏で最も美しい鑑賞用価値の高い木本性蔓性植物の一つと考えられている。優雅な花を咲かせる庭木としての潜在的可能性の活用が重要視されている。

自生地の現状に関する調査報告は皆無に等しい。本種は本来, 自生地で多数みかけられた。筆者は, 1978年にルソン島の Cagayan, Batan, Cavita, Laguna において, ヒスイカズラの情報を得ようとした。しかし, 時間的余裕が十分でなかったこともあり, 得られた情報は不十分で, 名前を知っている人は多いが実物のみならず, 自生状態のものを知る人は少なかった。すでにその時

点で著しく開発が進んで自生地が減少し、固体数が激減していることが推察された。Andrews and Lewis (1984) も熱帯雨林の開発が進み、その多くが破壊され減少し固体数が激減していることを報告し、今や生存が脅かされ、その保護が必要であることを訴えている。今日では、さらに現状は悪化していると考えられるので、その保護が緊急に望まれる。また、*Strongylodon* 属の他の種も、同様に自然破壊が進んでいる熱帯降雨林地域に自生していることから、全種が保護を必要とする植物群であると考えられる。

さらに、ヒスイカズラのみならず、*Strongylodon* 属の他種についても詳細な報告が無い。いずれの自生地も熱帯降雨林であることから、それらの生存が危険な状態にあるものと推察され、繁殖と保全に関する研究は急務であると考えられる。

第2節 分 布

本種は、フィリピンのルソン島 (Cagayan, Batan, Cavita, Laguna, Tayanas, Sorsogon) やミンドロ島に分布する (Fig. 1-2)。自生地は、高さ100~1,100m のフタバガキ科 (Dipterocarpaceae) の高木などが生える限られた熱帯降雨林の林縁で、湿度の高い渓谷に生える。

Huang (1991) によると、*Strongylodon* 属は12種を含み、いずれも北回帰線と南回帰線の間分布する真の熱帯分布型の属で、西はマダガスカルとレユニオンから、スリランカ、アンダマン諸島 (Andaman Island)、クリスマス島 (Christmas Island)、Cook Peninsula (オーストラリア) を経て、北方のニューギニアから、スラウェシ島 (Sulawesi)、フィリピンおよび、グアム、クサイ (Kusai)、ハワイ、タヒチ、サモア、フィジー、ニューカレドニア、ニューブリテン島、ニューアイルランド島 (New Ireland) そして、ソロン諸島の太平洋諸島への東方まで分布している

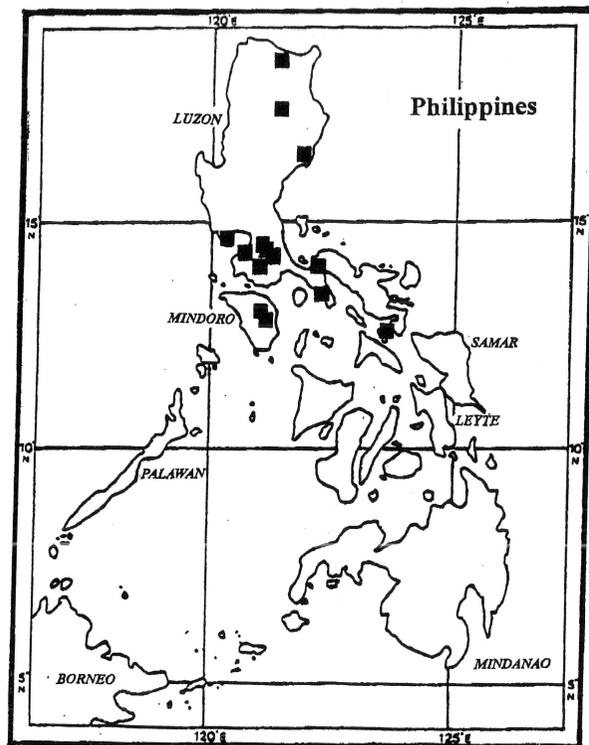


Fig. 1-2. Distribution of *Strongylodon macrobotrys* (Huang 1991).

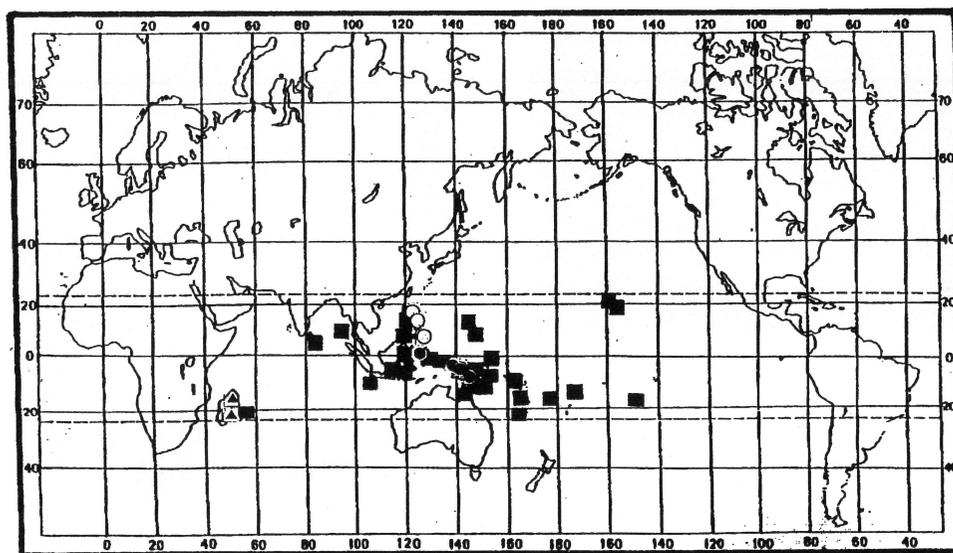


Fig. 1-3. Distribution of the genus *Strongylodon* (Huang 1991).

■ Section *Strongylodon* ● Section *Archboldianus* ▲ Section *Craveniae*
○ Section *Macrobotrys*

(Fig. 1-3)。すなわち、本属の分布の特徴は、*S. lucidus* 1種のみが、海流に乗って遠くまで散布が可能であるため広域分布を示し (Guppy 1912; Ridly 1930; Gunn and Dennis 1976)、残りの種は狭い範囲に制限されている。さらに、フィリピンには本属の1/2にあたる *Macrobotrys* 節の6種を包含し、いずれも固有種である。またスラウェシ島には *Strongylodon* 節の1種と、一部にニューギニアと共通の *Archboldianus* 節の1種、ニューギニアには *Archboldianus* 節の1種の他にスラウェシ島と共通のものが1種、マダガスカルには *Craveniae* 節の2種が分布している。これらの分布は、Huang (1991) が新設した節の分類にほぼ一致しているといえる (Table 1-2)。また、このような地理的分布は、*Strongylodon* 属の進化を論ずる上で一つの主要要因になることを暗示している (Huang 1991)。

すなわち、*Strongylodon* 属は、熱帯に特異的に分布する属で、マレーシアに分布する種の豊かさと多様性が、マダガスカルと比較高いことは、*Strongylodon* 属はマレーシアの起源であることを示唆している。さらに、アジアにおいて、*Strongylodon* 属の分布域は東マレーシアのみに分布し、西部には分布していない (例えばボルネオ島、ジャワ島、スマトラ島、マレー半島) ことから、Neo-Wallace 線 (Dickerson 1928) による境界が明瞭であることを指示している (Fig. 1-3)。

第3節 形態

本種は蔓性で長さ40m以上にもなり、古くなると木化する。1) 若い枝は無毛で、筋があり、木化するにつれて溝ができる。古い枝には、常に皮目が現れる。2) 托葉は卵形～三角形、盾状で、筋があり、早期に脱落する。脱落后基部に葉痕が残る。3) 葉は羽状3小葉、小托葉がある。葉軸は無毛、末端小葉は長楕円形あるいは卵形～長楕円形、3葉脈で先端部は鋭尖形、基部が丸い。側生の小葉は卵形、不均等、基部は丸いか端を切ったような形、托葉には剛毛がある。4) 花序は腋生で単生する。節の多い複総状花序で、下垂し、葉群から離れる。長さ150cm以上

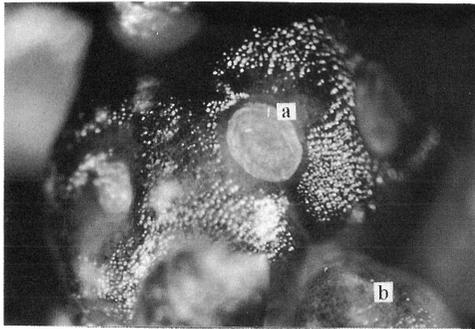


Fig. 1-4

Fig. 1-4. The node of inflorescence.
a: brachyblasts, b: a flower bud

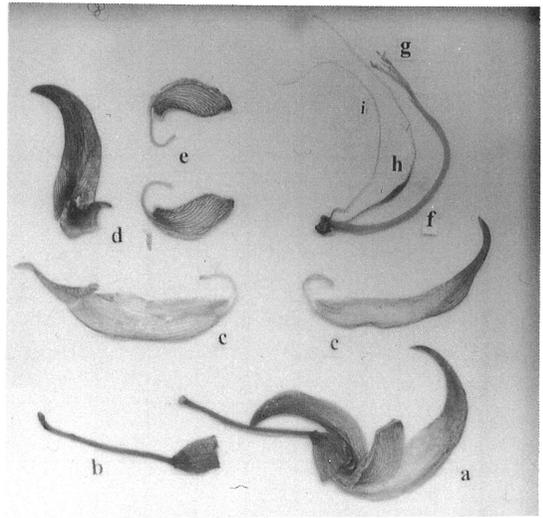


Fig. 1-5

Fig. 1-5. Anatomy of floral organs of *Stroyglodon macrobotrys*.
a: a whole flower, b: calyx and pedicel, c: keel petal, d: standard, e: wing petal, f: filament glabrous, g: anthers, h: pistil, i: stamen.

(約3mになるとの報告もある; Polhill 1972) にもなり、本属中最も長い。本研究に用いた株では、長さは45cmから198cmのものが観察された。また、花序は、腋生で単生するが、まれに2本複生する場合が観察された。さらに、花序の節数は20~89節、花序軸、節、花梗は無毛である。花序の節 (brachyblasts, Fig. 1-4) は多肉質でいぼ状をし、苞は早落性で、小苞には卵形で溝があり、基部の耳翼は基部で固定し、縁に毛がある。5) 花 (Fig. 1-5) は、いぼ状の節に通常5~8個つくが、本研究に用いた株では5~10個が観察された。花色は、bluishgreen, brilliant greenあるいはjade green色の変異が知られているが、本供試株はjade green色である。萼筒は紫色で、釣り鐘状をし、先端部が5裂し、上部の内側に毛があり、外側は無毛である。裂片は分離し、波状。旗弁は卵形で反転し、爪があり、爪の上方に付属物がある。翼弁は旗弁の半分の長さで、長方形~長楕円形、あるいは円錐形で丸みがあり、基部に耳、爪がある。竜骨弁は曲がり、先端は尖る。基部は僅かに耳、爪があり、それらは向軸側に合着し、雄しべと雌しべを抱く。雄しべは10本で、9本は基部で合着して花糸鞘を形成し、一本は完全に離れる。花糸は無毛、薬は背面で花糸につき、長方形である。雌しべの基部に平円盤状の蜜腺がある。柄は無毛か有毛。子房は長楕円形で、毛に覆われている。胚珠は普通10~12個 (Huang 1991) と報告されているが、本供試株では最高16個であった。花柱は扁平で、無毛、柱頭は頂生する。6) 萼は長楕円形で、ふくらみ、皺があると報告されているが、本研究に用いた株に得られた萼は長円筒で、萼の表面は皺は無くなめらかであった。しかし、乾燥すると極端に萎縮し、しわが認められるようになることから、乾燥標本による記載であるため考えた。また、7) 種子は黒、腎臓形で、滑らかであるが、本研究で得られた種子はreddish-blackで、不規則な腎臓型であった。8) 膾は線状、果肉の海綿状組織につく。果実の成熟期に関しては資料が少なく曖昧であったが、本研究では、後述するように開花から成熟するまでの期間は、人工受粉後約120日が必要であることが明らかになった。

第4節 我が国への導入と栽培状況

日本への渡来はごく最近で、記録によると1976年には熱川バナナワニ園に、1974年には新宿御苑にハワイから導入されている。さらに、1984年頃には、京都植物園や名古屋東山植物園などに導入されている。

本研究に用いた株はシンガポールより東京大学理学部附属小石川植物園に導入された株の挿し木苗を1982年に分譲を受けた株である。

海外の植物園への導入状況については、次のような報告がある。Polhill (1972) によると、1937年に H. M. Curran はこの植物の価値を認識し、マニラからさほど遠くはない Makiling 山で採集し、種子を Los Banos で栽培した。この株より得られた種子が、第二次世界大戦後の復興期にインドネシアのボゴール植物園に送られ、1953年に開花した。この株より得られた種子がシンガポール植物園とインドネシアの個人的な植物園ならびにハワイにも送られた。さらに、キュー植物園のヤシ温室にあるヒスイカズラは1963年にハワイから導入され、育ったものであることを報告している。

一方、Andrews and Lewis (1984) によると、キュー植物園のヤシ温室には2株のヒスイカズラが栽培されていて、その内の1株は、前記したハワイから送られた株で、他の1株は1963年に Trinidad から送られた種子から育てた株で、いずれも毎春規則的に開花している。さらに、この株の挿し木がエジンバラ植物園、および1960年代の中頃にノーフォークの Maurice Mason 氏に送られた (Mason 氏の挿し木はその後枯死している)。そのほかの挿し木苗が、Wisley の王立園芸協会および Cambridgeshire の Abbots Ripton Hall に譲られている。また、エジンバラ植物園には西インド諸島の Montserrat から2個体が導入された。フランクフルトのヤシ植物園の株はフィリピンのマニラから導入したものである。一方、ハンブルグ植物園のものは Les Cedres の種子繁殖による株である。Les Cedres の植物園の株はマダガスカルから導入されたと考えられていることを報告している。

第5節 本研究に用いた供試株

本研究に用いたヒスイカズラ (*S. macrobotrys*) の供試株は、1979年、シンガポールから東京大学理学部附属小石川植物園に導入された苗を母株とする挿し木苗 (栄養繁殖株) を、1982年に国立科学博物館筑波実験植物園へ分譲されたもの (TBG acc. no. 33040) である。植栽場所は、一般公開されている同園の熱帯降雨林温室内の東南アジア区である (現在は熱帯低地雨林温室に移植)。温室の高さは17.6m、有効室内高は15m で、冬季最低温度は月平均18℃以上である。

植物体の大きさは、地際の幹の太さが直径約7.5cm で、蔓の長さは20m 以上に生育している。

また、生態系モデル温室として設計された長崎バイオパーク熱帯館内での放飼動物と結莢についての調査に供試した株は、本実験の供試株からの挿し木による栄養繁殖株で1992年に植栽したもので、翌々年の1995年より開花がみられた。

上記の供試株は、自生地から、採集・導入した野生株ではなく、シンガポールより導入された栽培株である。この株が導入先での実生株であるか挿し木苗株であるかが明らかでなかったが、実生の確率が高いと聞いている。また、本供試株が導入された状況は根付き植物であったために植物防疫法上、根付きは導入禁止物であることから、そのさし穂が東京大学理学部附属小石川植物園へ導入された。その挿し木株の1株が筑波実験植物園へ分譲された株である。この株の来歴は、前記した記録によると、1937年、H. M. Curran により Makiling 山で採集した種子が Los Banos で栽培され、その株から得られた子孫である可能性が高いことが推察できる。すなわち、本研究の供試株の導入先をたどると、シンガポールであることが明らかであるが、シンガポール

での栽培地については明らかではない。つまり、シンガポール植物園で栽培されていた株であるか、あるいはその子孫が公園または個人の庭などで栽培されていたかと考えられる。いずれにしても、本供試株はシンガポール市内で入手していることから、シンガポール植物園に導入された株の子孫と考えられ、それらの栽培株の導入先はボゴール植物園である可能性が高い。すなわち、その導入経路をたどると、ボゴール植物園の株は戦後、フィリピンの Los Banos で得られた種子の実生株であり、その母株は1937年に H. M. Curran により、Makiling 山で採集された種子の実生株の子孫であることが Andrews and Lewis (1984) の報告から推察できる。この通りとすれば、本研究の供試株の起源株はルソン島の Makiling 山の自生株ということになる。

第6節 自生地ならびに熱帯圏での生育・開花・結実

開花について Pancho (1955) は、ルソン島の Makiling 山の自生地では一年中開花することを報告している。これに対し、Huang (1991) は5月から9月であると報告している。自生地以外の熱帯圏の栽培下では、フィリピン圃場や庭園では2月から5月と報告している (Pancho 1955)。筆者はハワイ大学附属 Lion 樹木園で1966年7月から8月、シンガポールのシンガポール植物園で1990年2月から3月、インドネシアのボゴール植物園で1978年7月から8月の間に開花を観察している。これらの共通の生育条件は、いずれも熱帯圏であるため温度が十分にあったといえる。さらに、株の生育地は林縁あるいは、日照の十分ある植栽地であったことから、生育ならびに開花には、温度と日照が十分に保たれていたことが重要と考えられた。さらに、花付きについてはハワイ大学附属 Lion 樹木園とボゴール植物園の植栽地は、日当たりのよい湿った林縁に植栽され、旺盛に繁茂し、花付きがよかった。これに対し、シンガポール植物園の植栽場所は日照が強く、極端な乾燥状態になる植栽地であったために生育が悪く、花付きも悪かった。これらを総合してみると、生育および開花には、適当な温度と湿度、日照の3つの条件が必要で、特に多湿条件は生育に影響し、日照は開花に影響を与えたと考えられた。

第7節 温室内での生育・開花・結実

温室内の生育開花状況については2, 3の報告がある。キュー植物園のヤシ温室内ならびにヨーロッパの7カ所の植物園の場合も、定期的に毎春開花している (Polhill 1972)。また、東京大学理学部附属小石川植物園の温室では2月から7月の間で開花を観察している。本研究の供試株は2月上旬より8月中旬に開花している。

すなわち、供試株の生育状況は、初秋から春にかけて葉腋より蔓を生じ、他の物によくからみつき旺盛に伸長した。蔓は、強制的な誘因を好まず、蔓先端部を下垂させると蔓の伸長は急速に停止し、先端部は枯れた。また、7月中旬から8月末にかけては蔓の伸長が停滞した。

本園の熱帯降雨林温室は加温施設により冬季の最低温度を18℃以上に保つことは可能であるが、しかし、夏季の高温に対応する冷却装置が無いことより、高温のコントロールは窓の開閉以外に不可能で、また、湿度を自動的にコントロールする設備もない。よって、前述した夏季期間の蔓伸長の停滞は、ヒスイカズラの自生地が多湿の山地熱帯降雨林であることから、真夏の温室内の極度の高温と乾燥によるものと推察された。

花序は腋生で、花芽を形成する蔓および節位は特定の枝や節位に形成されるのではなく、2年目以上の蔓の節位ならびにいずれの節位にも形成されることが判明した。

花芽形成期は、花芽が肉眼で容易に確認できる大きさ (約5 mm, Fig. 1-6, 1-7) になるのが1月上旬からで、その後、6月下旬まで次々に花芽が形成されるのが観察されたことから、12月から6月と推定される。蕾から開花までの期間は、1月中旬に約5 mmに生長した花芽はその後50~60日を経過して、開花期を向かえた (Fig. 1-8)。したがって、花芽形成から開花までの期

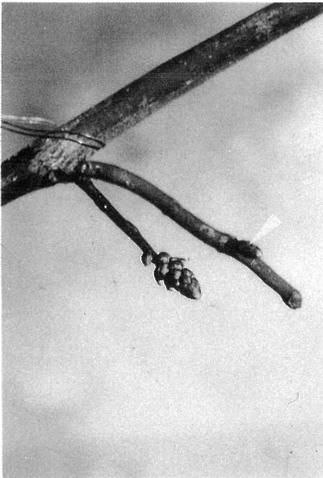


Fig. 1-6

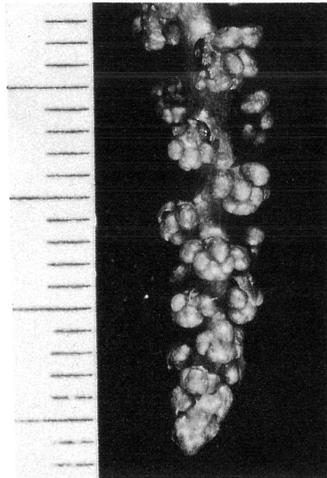


Fig. 1-7

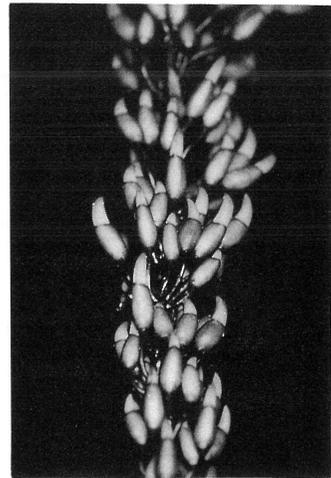


Fig. 1-8

Fig. 1-6. The young raceme. The arrow indicates a floral bud growing up to 5 mm in length.

Fig. 1-7. The flower buds formed on the knots of young raceme.

Fig. 1-8. The flower buds by 1 ~ 2 weeks before flower opening.

間は約2カ月と推定された。また、本温室条件下での開花期は、これまでの調査から、2月上旬から8月上旬の約6カ月の長期間であった。

温室内栽培株の開花に関する報告は皆無に近いが、自然の生育地での開花につき Pancho (1955) は、最初の花序が咲き始めてから最後の花序が咲き終わるまでの開花期間は一年中であるが、圃場や庭園では2月から5月であると報告している。これに対し、本供試株の開花期間は2月下旬から8月上旬で、Pancho (1955) の報告とは異なっている。よって、生育場所、株の年齢、土壌、肥料、光線量、温度や湿度など生育に関係する諸条件が異なるためと考えられる。しかし、フィリピンでも栽培条件下では2月から5月であることから、特に温度と乾燥が密接な関係があると推察された。すなわち、本供試株の植栽場所である筑波実験植物園の熱帯降雨林温室内は真夏に高温乾燥条件になり、蔓の伸長を停止することから、蔓の伸長、開花には熱帯圏で栽培されている株には、高温乾燥条件が生育・開花に適さないものと考えられた。

花芽形成・開花は生育条件に左右されると推察できるので、自生地における詳細な観察記録や詳細な観察が待たれるが、いずれにしろ、人工の栽培温室内の生育開花にとって十分な温度、湿度および日照は欠くことができない条件と考えられる。

結莢に関して、Andrews and Lewis (1984) は、キュー植物園のヤシ温室内に植栽されている2株についての調査から、花粉が柱頭に到達していることが観察されたにもかかわらず結莢が起らないのは、花粉管が子房に到達しないために受精が成立せず、結莢がみられないと報告している。しかし、ヨーロッパでは、地中海気候条件にあるフランスの Cap Ferrat の Les Cedres 植物園では結莢している。その理由として、受粉には鳥やコウモリが関与しているからであると説明している (Andrews and Lewis 1984)。また、温帯性気候にある植物園では結莢しないことから、気候的要因も不結莢の原因とも考えられると報告している。いずれにせよ、詳細な研究は行われていないといえる。他方、ヒスイカズラの受粉に関与する小動物に関しては、Strongylodon 節の一種である *S. lucidus* について Smith (1985) は、コウモリが関与していると報告しているが、

鳥が関与するという報告もある (Polhill 1972; Arroyo 1981)。

散布に関しては、*S. lucidus* について海流によって散布されるという記録がある (Guppy 1912; Ridley 1930; Gunn and Dennis 1976)。この海流散布説は *S. lucidus* だけが広域分布をしている証拠に用いられている。ヒスイカズラに関しては、莢が厚く肉質であることから、コウモリによって食べられ散布されるのであろうと推定されている (Polhill 1972)。

本研究では、供試したヒスイカズラの送粉 (Pollination) には動物が介在していることが報告されていることから、それを明らかにするために動物が放し飼いされている生態系モデル温室内にヒスイカズラを育て、開花を待って研究を進めた。

栽培に関する報告は少なく、僅かに種子の寿命が短命で、採り蒔きが播種の条件であることが知られている (Pancho 1995; Polhill 1972)。また、栽培条件について、Polhill (1972) は、生育の最低温度が15~18℃であること、挿し木には若い枝を用い、霧を噴霧し湿度を保つ方法を用いることにより容易に発根すること、さらに夏季の施肥、旺盛に生育する蔓の剪定などが必要であると報告している。

第2章 温室内での開花習性と花器の構造

第1節 温室内での開花習性

筑波実験植物園熱帯降雨林温室に植栽された株 (TBG acc. no. 33040) について、生育状況の観察を通年随時行い、特に花芽の形成期、開花期には詳細な観察を行った。

供試株の開花期間は、最初の花序が2月下旬に咲き始めてから最後の花序が8月上旬に咲き終わるまで長期間であった。蕾の状態では勾玉状で、細長い竜骨弁と卵状楕円形の翼弁が長く先が細い旗弁に包まれ巴の一片に似た形をしている。開花時には、この旗弁が開いて、反り返り、竜骨弁の先端が筒状に融合し内曲してクチバシ状になり、卵状楕円形の翼弁も側面でわずかに開いている (Fig. 2-1 a, b)。

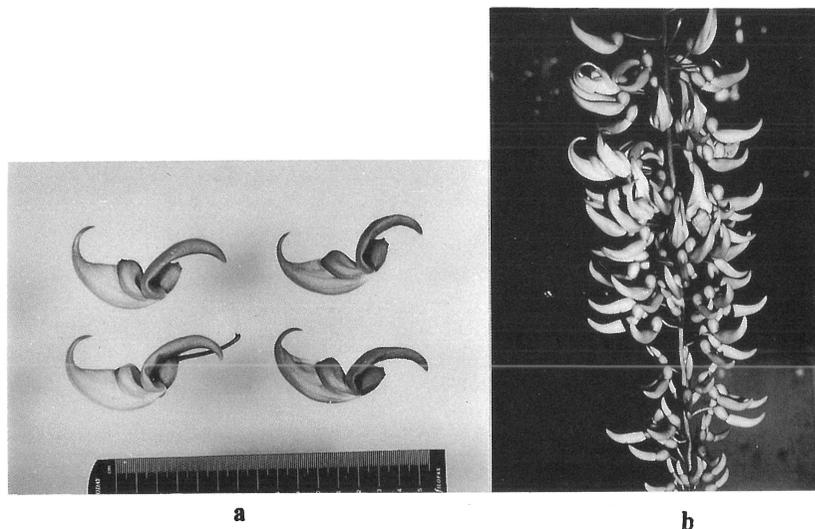


Fig. 2-1. The flowers and raceme of *S. macrobotrys*.

a: The flowers just opened in this day.

b: The raceme started flowering.

開花時間は、当日の天候などにより左右されるが、晴天の日は、その日の1番花の開花が午前5時頃より開始し、大部分の花が午前8時頃までに終了した。1つの花の開いている期間は殆どが2~3日で、そのままの状態の花梗又はがく筒の付け根に離層ができ落下した。

1花序当りで見ると、第1花が咲き始めてから最後の花が咲き終るまでの期間は、平均10日間前後であったが、最も短いもので7日、最も長いもので18日間であった。本供試株の花序数は植栽後の年数が経過すると共に花序数が増加し、1989年には約200、1990年には約300の花序を数えた。

1花序当りに形成される花の数は、花序のいぼ状の節 (brachyblasts, Fig. 1-3) 数と節につく花の数の積になる。しかし、蕾は開花前に落下するものがあるので、蕾の数と開花する花の数に差異が生ずる。そのため、花が咲き終わった花序について、花序の節数と節の花梗の落下痕数を調査したところ、花序の主軸の節数は最低16~最高48であった。1節当たりの花梗の落下痕数は12~16個であった。したがって、1花序あたりの開花可能花数は192~768花であると推察された。しかし実際には、花序の先端部に未分化の蕾があり、蕾が分化する途中で発育を中止するものや開花までに落下したりするので、1花序当たり10~42節しか開花しない。さらに、こぶ状の節につく開花花数が5~16個であることから、1花序当りの開花数は200~300個の花序が多かった。また、満開の状態の花序には、ほとんどのいぼ状の節に5~12個の花が咲き、1花序当たり50~115個の花が同時に咲き豪華であった。開花時までの蕾の落下の要因は、栄養供給が極度に不足することにより生理的なバランスが崩れ、それを修正するための自己コントロールではないかと考えられる。

第2節 花器の構造

温室内での自然結莢は皆無であったことから、雄しべ、雌しべについての調査を行った。雄しべについては、成熟花粉の稔性を、開花当日に花の内部からピンセットで葯を取り出し、酢酸カーミン3とグリセリン1の割合で混合液を用い、なすりつけ法でプレパラートを作成し、光学顕微鏡下で観察した。稔性についての判定は、細胞質と花粉核の染まったものを稔性のあるものとし、その百分率で花粉稔性を示した (Fig. 2-2)。稔性は95.2%であった。また、花粉粒の直径は20 μ m前後であった。

雌しべの胚珠の形態は、実体顕微鏡の観察によると、長楕円形で、1子房当たり最高12~16個まで認められた。いずれも、異常は認められず正常に発達していた。

この結果は、生理的落花は起こるものの花粉稔性は95.2%と高く、胚珠も外見上異常を認められないことから、これらが何ら不結莢の原因とは考えられないことを示唆する。むしろ受粉過程に問題があると考えられたので、蕾あるいは花内の葯と柱頭の位置関係を、開花20日前の蕾の状態から開花当日までのものについて観察した (Fig. 2-3, -4)。開花20日前の蕾 (Fig. 2-3a) は、ほとんど色づいていないが、葯と柱頭はほぼ萼筒内にあって、すでに葯は黄色く色づき、その後花糸が伸長し、開花3日前には柱頭はすでにクチバシ状の竜骨弁の先端に位置し、葯はやや下方にある (Fig. 2-3e)。しかし、開花当日は葯は柱頭と同じ位置まで生長し、葯が裂開し花粉がすでに柱頭先端近傍や表面に到達していた (Fig. 2-3f)。Fig. 2-4は Fig. 2-3fのクチバシ状の竜骨弁の先端部を拡大した像で、明らかに花粉が柱頭先端部へ到達している。また、花粉と柱頭の熟度については、花粉稔性ならびに外部形態に何ら異常は認められなかったことから、正常であると考えた。

ヒスイカズラの花は、ソラマメ亜科に分類されることから、マメ科に特有な蝶形花をし、送粉についても独特な方法をとっている。すなわち、5枚の花弁が蝶形花を構成し、向軸側の旗弁が隣接する翼弁の外側につき、もっとも内側に位置する竜骨弁は下側で合着し、中に雄しべと雌し

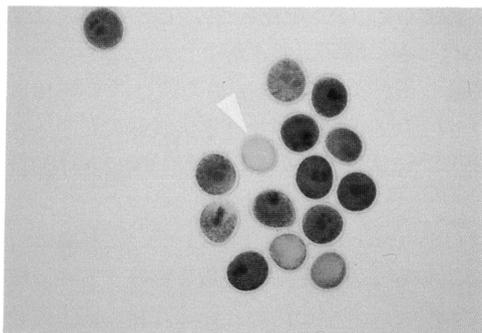


Fig. 2-2

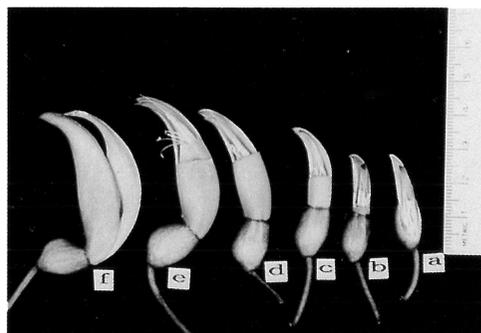


Fig. 2-3

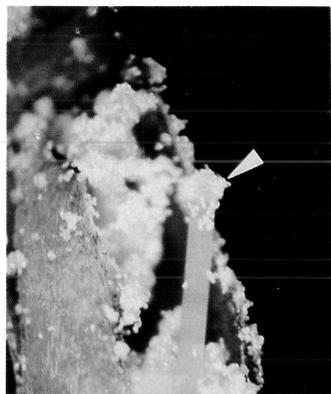


Fig. 2-4

Fig. 2-2. The pollens stained with 45% acetocarmine. The arrow indicates a pollen grain without a nucleus. The stained nuclei are observed in other pollen grains.

Fig. 2-3. Physical relationship of stigmas and pollen grains in flowers and buds on the day in which flowers just opened. a: a bud by 20 days, b: 18 days, c: 14 days, d: 10 days, and e: 3 days before the flowering, and f: a flower on the day of the flowering.

Fig. 2-4. Physical relationship of stigma and pollen grains in a flower on a day before the flowering. The anthers have already dehisced and pollen grains have been accumulated on the front edge of stigma in the flower. The arrow denotes the stigma.

べを包んでいる。雄しべは10個で、9個は雌しべを取り囲んで合着し筒状の花糸鞘になり、向軸側の1個は完全に他から離生している。雌しべは1個で、子房基部周縁にリング状の蜜腺があり、蜜を分泌し、萼筒内部の子房基部周縁に蜜を溜めている。この蜜を溜めている蜜壺の口に当たる旗弁と竜骨弁、翼弁の基部は、旗弁の基部が竜骨弁の基部の両側に凹凸状に入れ込み、蜜壺の口を閉じている状態が保たれている。訪花小動物や鳥などが、蜜を求め訪れ、蜜壺の口から蜜吸いの行動に入ると、この凹凸の入れ込みの部分動き、開口部が開くしくみになっている (Fig. 1-5)。すなわち、花を訪れたコウモリや鳥などの送粉動物=媒介者 (pollinator) が翼弁と竜骨弁の上に止まって、蜜を吸うために蜜壺の口に当たる旗弁と竜骨弁の付け根に舌や嘴を押し込むと、開口部が大きく開き竜骨弁が下方に押されて下がる。そのために花器内部の雄しべと雌しべが圧せられ、花糸鞘の中で押さえられていた雌しべの張力と花糸鞘の支持力との均衡が破れ、雄しべと雌しべの先端が竜骨弁の先端の穴から外にでる。次に、筒状になった竜骨弁の先端から飛び出た葯にある花粉と柱頭が送粉動物の体に触れ、その受粉が行われると推察される。

ヒスイカズラが結莢しない原因について Andrews and Lewis (1984) は、花粉管が子房に到達しないために受精が成立せず、結莢しないと推察している。また、ヨーロッパの7カ所の植物園で温室栽培されているヒスイカズラが結莢しないことも同じ原因であると報告しているが、詳細な花粉管の発芽過程の明らかな観察の報告は行っていない。また、ヨーロッパで唯一の自然結莢の例として、フランスの地中海気候条件にある Cap Ferrat の Les Cedres 植物園では毎年数個が結莢し、この受粉には鳥やコウモリが関与していると説明している (Andrews and Lewis 1984)

が、確かな観測の記録はない。

以上の如く、Andrews and Lewis (1984) の報告では不結莢の原因を証明する証拠は不十分であるといえる。また、ヒスイカズラの受粉には密吸い行動をするコウモリや鳥類が深く関与していることにより受粉が成立する説を実証する実験的証拠は得られていない。いずれにせよ、ヒスイカズラの結莢は送粉動物が受粉に関与すれば結莢し、種子が得られているので、不結莢の原因が花粉管の胚珠への不到達説とは考え難い。すなわち、本研究の花器器官の調査結果より、花器器官は形態上何ら異常が認められなかったことから、密吸い行動をするコウモリや鳥類の行動を考慮した人工授粉の開発を考えた。

第3章 人工受粉法の開発と種子の発芽率

第1節 人工受粉法の開発

人工受粉法の開発を目的として、前述した花器構造ならびに送粉動物の媒介行動から想定した受粉様式を解明するために、人工受粉前と人工受粉後の柱頭の微細構造を詳細に観察した。すなわち、人工受粉による柱頭の微細構造の変化を比較観察することにより、受粉様式の解明を試みた。まず、開花当日の花の柱頭先端部の微細構造を観察した。人工受粉後の柱頭の観察には、開花当日の花を供試し、後述する人工受粉の方法に従い、人工受粉を行い、受粉直後および人工受粉翌日の柱頭をピンセットで取り出し観察した。いずれの観察も供試材料の乾燥を防ぐためにスライドグラスにグリセリンを1滴たらしたプレパラートを作成し、解剖顕微鏡あるいは生物顕微鏡で観察を行なった。さらに、必要に応じて微分干渉顕微鏡、または蛍光顕微鏡で観察を行った。なお、蛍光顕微鏡の観察は自家蛍光の状態で行った。

第1項 人工受粉前の柱頭の微細構造

開花当日の柱頭と葯は、2枚の竜骨弁の先端部が合着したクチバン状をした中に存在する。柱頭先端部には花粉が堆積していた (Fig. 2-4)。そこで、まず柱頭の微細構造を詳細に観察した。

その結果、柱頭先端部は Fig. 3-1 に示すような頭状をしており、頭部の直径は250~300 μm で、それを支える首に当たる柱頭部位は150~200 μm であった。先端部は周囲からカラー (袖) 状に生えた毛で囲まれ、中央部にパピラ (papillae, 乳頭突起) より浸出したと思われるクチクラ様物質からなるドーム状構造層 (Fig. 3-2 の矢印の部分) が認められた。花粉は、この柱頭先端部の周囲にカラー状に存在する腺毛に妨げられることなくドーム構造層の表面に到達していた (Fig. 3-3, 4)。ドーム構造層内の構造層を微分干渉顕微鏡で詳細に観察したところ、中央部にパピラが存在することが確認された (Fig. 3-3 の矢印の部分)。このドーム構造層は、花粉がパピラに到達するのを妨げていると推察された (Fig. 3-4)。柱頭先端が毛で囲まれている構造層は、同じマメ科のキングサリ *Cytisus laburnum* (Davis 1908) やルピナス *Lupinus nanus* (Juncosa and Webster 1989) でも報告されているが、本種のような構造をしたパピラを覆うドーム状構造層が観察されず、直接パピラが露出している。よって、これらの種は花粉が容易にパピラに到達すると考えられる。ヒスイカズラの花粉は、開花時に柱頭先端部の周囲にカラー状に存在する腺毛に妨げられることなく、ドーム状構造層の表面に到達しているが (Fig. 3-2, 3, 4)、この状態では花粉がパピラに到達することができず、受精が起こらないことが明らかとなった。この結果から、ドーム構造層を破壊しない限り、花粉はパピラには到達しないと推定された。

次いで、パピラが正常であるかどうかを、柱頭を正中線に沿って半分に切り、ドーム断面を観察したところ、クチクラ様物質が存在しない裸のパピラが観察され、特に形態的な異常はないこ

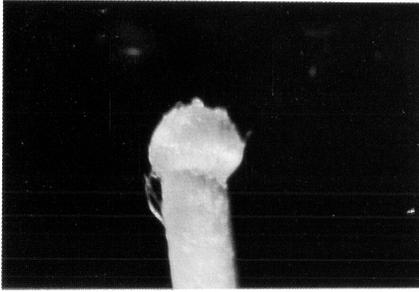


Fig. 3-1

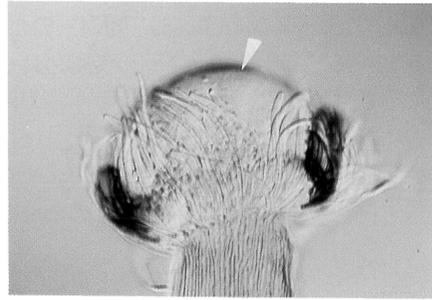


Fig. 3-2



Fig. 3-3

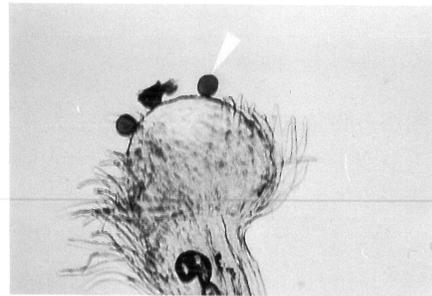


Fig. 3-4



Fig. 3-5

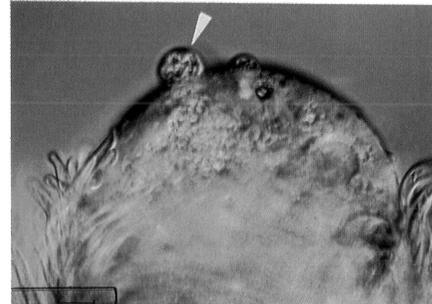


Fig. 3-6

- Fig. 3-1. A stigma at the flowering (by stereomicroscope). The periphery of the front edge of stigma is covered with granular hairs disposing like a stand collar.
- Fig. 3-2. The front edge of stigma on the day of anthesis (by differential interference microscope). The arrow indicates the layers with dome-shaped structure. The front edge of stigma includes the layers of cuticular like substances with dome-shaped structure.
- Fig. 3-3. The front edge of stigma on the day of anthesis (by differential interference microscope). The arrow indicates papillae in the dome-shaped structures. The papillae are located in center of stigma and covered with the dome-shaped layers which consist of cuticular like substances. The pollen grains are interfered to contact with the papillae by the dome-shaped layers, and are standing still on the surfaces of the layers.
- Fig. 3-4. The front edge of stigma stained with 45% aceto-carmin on the day of anthesis (by biological microscope). The arrow indicates pollen grains. The pollen grains are interfered to reach papillae and are standing still on the surface of the layers with dome-shaped structure.
- Fig. 3-5. The cross-section of papilla (a differential interference micrograph of a bisected stigma).
- Fig. 3-6. The layers of dome-shaped structure initiated to seep the cuticular like substances (a differential interference micrograph). The arrow denotes the seeped cuticular like substances.

とが明らかになった (Fig. 3-5)。

受粉には、このドーム構造層を破壊し、しかもパピラが損傷することなく行うことが不可欠と考えられることから、柱頭先端部をプレパラートにのせ、カバーガラスを乗せ、カバーガラスの上よりピンセットの先で圧すると、ドーム内のクチクラ様物質が外部に放出し始め、やがてドーム構造が破壊され、パピラを損傷することなく容易にパピラが漏出し、花粉をパピラに到達させることに成功した (Fig. 3-6, 7, 8)。

この結果から、花粉がパピラに到達するには、何らかの方法で柱頭先端部を圧することにより、先端部のドーム構造層を破壊し、パピラを露出させることが必須の条件であると推察された。人工受粉は、パピラを覆うドーム構造層を破壊し、花粉をパピラに到達させなければならないと考えたことから、ドーム構造層を破壊し、パピラを露出させることが必要条件であると結論した。

第2項 人工受粉の手順

柱頭構造の観察結果をもとに立てた仮説から、訪花小動物、あるいは鳥が蜜を吸う行為を想定し、開花当日の花ないし前日開花した花の柱頭先端部のドーム構造を破壊し、花粉をパピラに確実に到達させる人工受粉法を考案した。

人工受粉を成功させるためには、パピラを覆うドーム構造層を破壊し、パピラを露出させる操作は不可欠である。このパピラを覆うドーム層の破壊は、柱頭先端部を圧する操作で、パピラを傷つけることなく容易に破壊できることから、下記の手順に従って、柱頭先端部に存在するドーム構造層を破壊する人工受粉を行なった。

手順は以下の如くである。

1. 蜜を求めて旗弁と竜骨弁の付け根から舌や嘴、口を押し込む行動により、翼弁と竜骨弁と一緒に下方に押されて下げられ、雄しべと雌しべがクチバシ状の竜骨弁の先端の穴から外に出る。この行動に代わる人工的方法として、竜骨弁基部近くを翼弁とともに、親指と人差指の間で挟み、竜骨弁の先端部の穴から柱頭と葯を同時に突き出す (Fig. 3-9)。
2. 葯と柱頭がコウモリあるいは鳥の体の下面に触れ、ドーム構造層が破壊される行動に代わる人工的方法として、もう一方の手の人差し指の側面に花粉をつけて置き、そこに柱頭の先端を突き刺すように押しつける操作 (tapping) を繰り返す。
3. この操作の終了後、竜骨弁の基部と翼弁を押さえつけていた指を離し、雄しべと雌しべを竜骨弁内部に戻す。なお、受粉は1花序内の同花受粉、隣花受粉および他花序間受粉などが考えられるが、本実験では、原則として同一花序、他花序間など同花、他花花粉による混合受粉とし、ラベルをつけ記録をした (Fig. 3-10)。以上の方法により、当日開花した花について人工受粉を行った。

第3項 人工受粉後の柱頭の微細構造

前述の人工受粉の手順に従い受粉を行い、その直後の柱頭先端を観察したところ、Fig. 3-11, 12に示す通りパピラを覆っていたドーム状構造層は破壊され、花粉がパピラに到達していることが確認できた。Fig. 3-11は微分干渉顕微鏡像で、花粉は腺毛に妨げられることなくパピラに到達しているのが明らかである。また、Fig. 3-12は同一像を蛍光顕微鏡下で、蛍光染色を行わない自家蛍光の状態を観察した像であるが、同様に花粉がパピラに到達していることが確認できた。

次に、人工受粉3日目の柱頭先端部を観察した。Fig. 3-13は、45%酢酸カーミン液で染色した柱頭先端部の生物顕微鏡像である。花粉はすでに花粉管を発芽させ、パピラ内に伸長しているのが観察できた。しかし、この像からは花粉管の発芽している状態が不明瞭であったが、微分干渉顕微鏡像 (Fig. 3-14) および自家蛍光による蛍光顕微鏡像 (Fig. 3-15) で明瞭に確認された。

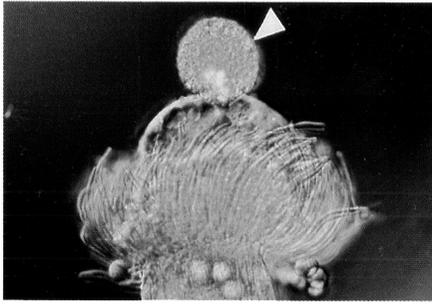


Fig. 3-7

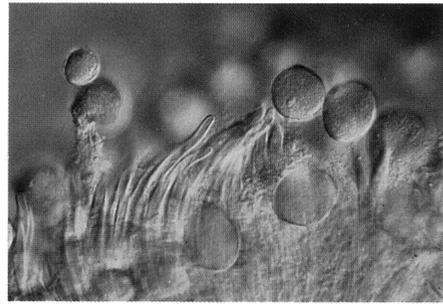


Fig. 3-8

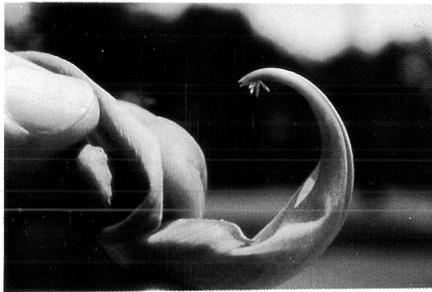


Fig. 3-9

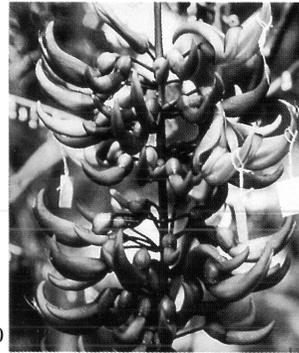


Fig. 3-10



Fig. 3-11

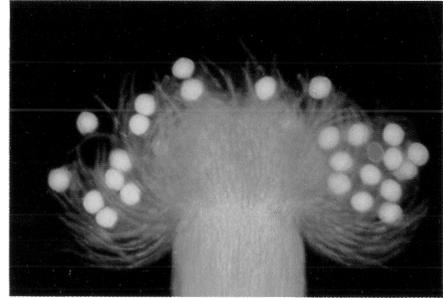


Fig. 3-12

- Fig. 3-7. The cuticular like substances are actively seeped from the layers of dome-shaped structure (a differential interference micrograph). The arrow denotes the seeped cuticular like substances.
- Fig. 3-8. The pollens approaching to the papillae after seepage of the cuticular like substances (a differential interference micrograph). The arrow denotes a pollen.
- Fig. 3-9. Both the stigma and anther simultaneously protruded from the front edge hole of the keel petal for artificial self-pollination. The proximal base of keel petal with alae is tucked and pushed with a thumb and forefinger to open the basal finestra of the standard and keel petal. This weights down the base of stamens and pistils, resulting in simultaneous protrusion of the stigma and anther from the front edge hole of the keel petal.
- Fig. 3-10. The status of inflorescence after artificial self-pollination. The flowers after artificial self-pollination were labeled.
- Fig. 3-11. The stigma just after artificial self-pollination (a differential interference micrograph). The layers of dome-shaped structure are broken down and the pollens have reached papillae.
- Fig. 3-12. The stigma just after artificial self-pollination (a fluorescent micrograph by auto-fluorescence). The layers of dome-shaped structure are broken down and the pollens have reached papillae.

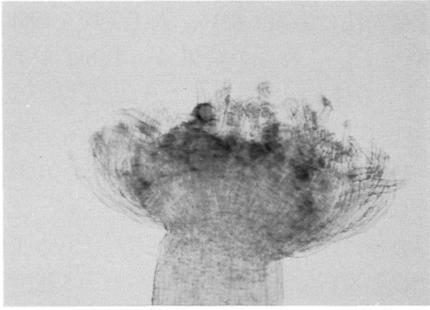


Fig. 3-13. The stigma stained with 45% acetocarmine on the 3rd day after artificial self-pollination (a biological micrograph). The layers of dome-shaped structure are broken down and the pollens have reached papillae.

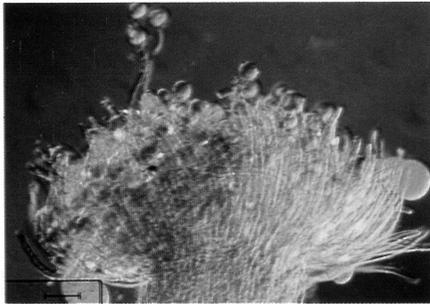


Fig. 3-14. The stigma on the 3rd day after artificial self-pollination and the pollens extending the pollen tubes a differential interference microscope.

The layers of dome-shaped structure at the front edge of stigma are broken down, and the pollens have reached papillae. It is confirmed that the pollens sprout and extend the pollen tubes.



Fig. 3-15. The proximal stigma and sprouted pollens on the 3rd day after artificial self-pollination (a fluorescent micrograph by auto-fluorescence). The layers of dome-shaped structure at the front edge of stigma are broken down, and the pollens have reached papillae. It is confirmed that the pollen tubes are extending into the papillae.

これらの一連の観察結果より、ヒスイカズラの受粉には柱頭先端部のドーム状構造層の破壊が不可欠であることが実証された。

このことは、江原 (1950) によるマメ科のアルファルファ (*Medicago sativa*) に見られるトリッピング (tripping) 現象に類似した現象と考えられる。すなわち、アルファルファのトリッピングは、子房、花柱およびこれを包む花糸鞘が竜骨弁と翼弁により押さえられているが、この張力と支持力との力の均衡が破れると花糸鞘および花柱が旗弁に向かって跳ね上がりドーム構造層が破壊され、花粉がパピラへ到達する現象である (江原 1950)。さらに、江原 (1950) は、Armstrong and White (1935) がアルファルファで柱頭の表面を構成するクチクラ膜を破壊することについてもふれている。さらに、Yost (1907) は同じマメ科のルピナス (*Lupinus nanus*) や キングサリ (*Cytisus laburnum*) で柱頭の表面に存在する制限膜の破壊が花粉発芽の促進に深く関係すると報告している。

本ヒスイカズラの人工受粉法は、柱頭先端部の乳頭突起より浸出したと思われるクチクラ様物質からなるドーム構造層を破壊し、花粉をパピラへ到達させる操作であることから、上記の場合と酷似した現象を人工的に再現した操作過程と考えられる。

第2節 人工受粉と結莢

自然条件下での受粉過程を想定して開発した人工受粉法の手順に従い、人工受粉を1988年4～8月までの期間に26花序、総花数 1,389花について行った。これらの結果は、Table 3-1の如くであった。なお、人工受粉に当たっては、Table 3-1中の備考欄に記したように、花序の条件を3種類に分けて行った。すなわち、1) は、満開期の2～3日間に開花した花のみの人工受粉である。供試花序は花序番号1～8と15～20、そして、26番の計15花序である。2) は、人工受粉が可能であった全花について開花した順に14～21日間にわたり人工受粉を行った。

供試花序は花序番号9～14の6花序である。残りの3) は、開花期の末期近くに、人工受粉当日に未開花であった蕾をすべて摘花してから、人工受粉を行った花序番号21～25の5花序である。その結果、結莢をみた総花序数は、全26花序のうち11花序で、花序当たりの結莢率は42.3%であった。花序当たりの結莢数は、花序番号6, 7および9で、それぞれ2個 (Fig. 3-18) が結莢したほかは、すべて1個であった。なお、総人工受粉花に対する結莢率は、0.95% (14/1,389) であった。

人工受粉を行う花序の条件別にみると、条件1の満開期では、15花序のうち結莢は6花序8個 (花序当たりの結莢率は53.3%)、人工受粉花数574花に対する結莢率は1.39%であった。同様に、条件2では、6花序のうち4花序5個 (85.3%)、受粉花数760花に対する結莢率は0.66%であった。また、条件3では、5花序のうち1花序1個 (20.0%) で、受粉花数55花に対する結莢率は1.8%であった。すなわち、人工受粉花数に対する結莢率は、条件2の0.66%が最も低く、次いで条件1の1.39%、3条件の1.80%の順で、いずれにおいても低率であった。しかしながら、花序当たりの結莢率は、いずれの条件においても高く、最も高かったのは条件2の85.3%で、次いで条件1の53.3%、条件3の20%の順であった。また、1莢当たりの平均種子数は条件2が最も高く10.2個で、次いで条件1の9.5個、条件3の7個であった。この結果、受粉の操作時間を除外して考えれば条件2の状態の花序を用いることが最も効率がよいと考えらる。しかし、作業時間の短縮を考慮に入れば条件3の花序を用いることが最も効果的であることから、条件1と3の組み合わせを検討し、さらに高い結莢率を得られることが考えられた。

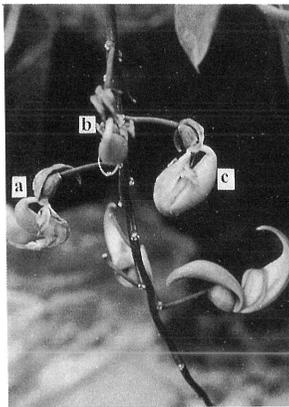


Fig. 3-16



Fig. 3-17



Fig. 3-18

Fig. 3-16. Pods after artificial self-pollination.

a: the pod on the 10th day after artificial self-pollination, b: 12th day and c: 18th day.

Fig. 3-17. The pod on the 60th day after artificial self-pollination. The pod is a somewhat slender tubular type.

Fig. 3-18. The pods just before full maturity on the 100th day after artificial self-pollination.

Table 3-1. Pod formation by artificial self-pollination in 1998

Raceme	No. of flowers (a)	No. of pods (b)	No. of seeds per pod	(%) (b/a) × 100	Remarks
1	30	0	—	—	1) artificial self-pollination using the flower just opening at the full bloom period
2	70	1	6	1.43	
3	10	1	9	10.00	
4	30	0	—	—	
5	25	0	—	—	
6	52	2	11, 11	3.85	
7	60	2	9, 11	3.34	
8	60	0	—	—	
15	20	0	—	—	
16	22	1	11	0.81	
17	34	0	—	—	2) artificial self-pollination using all flower opened
18	22	0	—	—	
19	60	0	—	—	
20	25	0	—	—	
26	54	1	10	1.85	
Subtotal	574	8	78	1.39	
9	143	2	10, 11	1.40	
10	135	1	10	0.80	
11	107	0	—	—	
12	119	1	11	0.84	
13	110	0	—	—	
14	146	1	10	0.62	
Subtotal	760	5	52	0.66	
21	4	0	—	—	3) artificial self-pollination using flower opened at the end of the flowering time
22	7	0	—	—	
23	13	0	—	—	
24	11	0	—	—	
25	20	1	7	5.00	
Subtotal	55	1	7	1.80	
Total	1,389	14	137	0.95	

第3節 人工受粉により得られた完熟莢と種子の形態

人工受粉により結莢した14莢のうち、受粉後75日目に種子の発達状態を調査するために収穫した花序番号2の1莢を除く13莢について、それぞれの受粉日と莢の自然裂開日を取りまとめたのがTable 3-2である。なお、莢の完熟までの日数は、莢が自然裂開した日を完熟日として、人工受粉日から完熟日までの日数を成熟日数として示した。

その結果、莢の完熟に要した成熟日数は、最短で113日、最長は131日で、平均は120.6日であった。人工受粉の時期には5月下旬から7月上旬と約1カ月以上の差があったが、1)の満開期受粉のうち、5月受粉の成熟日数がやや短かったほかは、成熟日数にさほど差がなかった。

上記の完熟莢および種子の大きさと重量はTable 3-3の如くであった。

すなわち、莢の長さは、平均17.1cm（最低15.1～最高19.2cm）、幅は平均9.8cm（最低8.8～最高11.2cm）、厚さは平均9.1cm（最低8.1～最高10.3cm）であった。莢の全重量は平均857.8gで、最低が花序番号62の673.6gであったのに対し、最高が花序番号10の1,216.9gと約2倍の値を示し、大きな差が認められた。種子を除いた莢肉重についても同様で、最低は花序番号62の425.3gに対し、最高は花序番号10の846.1gと差が大きかった。なお、平均莢肉重は588.4gで、平均莢重の68.6%にあたる。

ところで、莢の完熟までの経過をみると、人工受粉後の約10日間にほとんどの莢が落莢する（第4章参照）が、この期間を過ぎた莢は旺盛に発育した（Fig. 3-16）。莢の色は、若い時期から完熟するまで緑色であった。莢の形は、人工受粉後60日目はやや細長い円筒型（Fig. 3-17）であるが、その後約3カ月間発育し続け、熟期が近くなるにつれて、ずんぐりし、先の尖った円筒型となり、熟期を迎えた時点で裂開した莢（Fig. 3-19）は完熟期になると、莢の先端（Fig. 3-20）あるいは果柄の部分（Fig. 3-21）の縫合線と胞背線の両方から裂開を始め、種子の重さで徐々に開き、種子はすべて落下した。その後莢はすぐに落下するか、そのまま樹上に宿存した。莢の裂開は良く晴れた日、温室内の温度が上がり湿度が下がる午前中に起こることから、莢の裂開は温室内の湿度が下がり、適度に乾燥した時に起こると考えられる。このことは、莢の果肉が多肉質で水分を多く含み、裂開後の乾燥が著しいことからもうかがわれた。また、莢は乾燥が進むにつれて著しく縮小し、硬質化した。種子は莢が裂開するまでは、莢の中にしっかりと押し込まれるように閉じ込められていた。形は変形肝臓型で、種皮は茶褐色であった（Fig. 3-22）。収穫した総種子数は13莢137粒であった（Table 3-3）。莢当りの種子数は平均10粒で最高で11粒、最低は7粒であった。この値は人工受粉後早期に落莢した莢中の胚珠の発達状態を調査した時の胚の数とはほぼ同じ値であった。

人工受粉時期は5月上旬から7月上旬であったが、莢当りの種子数は6月上旬までのものが7莢66粒、6月中旬以後のものが7莢71粒であることから、人工受粉の時期の違いによる影響は少

Table 3-2. The days for maturation of pods by artificial self-pollination

Raceme and/or pod number	Date of artificial self-pollination	Date of natural dehiscence	Days for maturation	Remarks
3	20, May	14, Sep.	118	1) Pollination at the full bloom period
6-1	25, May	14, Sep.	113	
6-2	25, May	17, Sep.	116	
7-1	25, May	17, Sep.	116	
7-2	25, May	17, Sep.	116	
16	1, July	29, Oct.	121	
26	26, June	29, Oct.	126	
9-1	16, June	15, Oct.	122	2) Pollination of all flowers capable of pollinating
9-2	7, June	15, Oct.	131	
10	12, June	15, Oct.	126	
12	1, July	29, Oct.	121	
14	1, July	29, Oct.	121	
25	1, July	29, Oct.	121	3) Pollination at the end of flowering time. Culling of unopened buds
Average 120, 6				

Table 3-3. The yields of full matured pods obtained by the artificial self-pollination

Raceme number	Size of pod (mm)			Weight of pod (g)		No. of seeds per a pod	Whole weight of seeds per a pod (g)	Average weight of a seed (g)	Remarks
	Length	Width	Thickness	Whole	Pulp				
3	173.0	101.3	82.5	802.6	600.8	9	201.8 (35.11 - 21.74)	28.8	1) Pollination in the full bloom period
6- 1	162.0	88.0	81.3	673.6	435.1	11	238.5 (32.02 - 14.06)	21.7	
6- 2	167.5	88.3	83.8	673.2	424.3	11	149.5 (28.59 - 17.15)	22.7	
7- 1	178.5	91.9	91.0	857.2	575.0	9	282.2 (38.65 - 25.93)	31.4	
7- 2	186.7	99.1	96.9	932.5	647.0	10	285.5 (37.16 - 20.96)	28.6	
16	161.0	96.3	92.1	710.7	454.1	11	256.6 (34.14 - 5.24)	23.3	
26	151.1	92.8	87.5	725.6	487.5	7	232.0 (43.78 - 15.59)	33.3	
9-11	189.2	109.3	98.7	1155.7	838.9	11	311.1 (35.33 - 22.74)	28.7	2) Pollination of all flowers capable of pollinating
9- 2	192.3	112.0	98.1	1116.7	805.6	10	370.8 (50.15 - 32.51)	37.1	
10	185.2	109.1	102.5	1216.9	846.1	10	316.8 (41.68 - 16.93)	31.7	
12	160.0	99.7	95.9	698.2	476.2	11	274.1 (30.85 - 12.61)	24.9	
14	160.1	90.0	85.2	823.5	549.4	10	252.1 (32.19 - 17.60)	25.2	
25	159.8	96.3	92.0	765.4	508.8	10	238.1 (34.33 - 4.69)	23.8	3) Pollination in the end of flowering time (Culling of unopened buds)
Average	171.3	98.0	91.3	857.8	588.4	10	269.9	27.8	

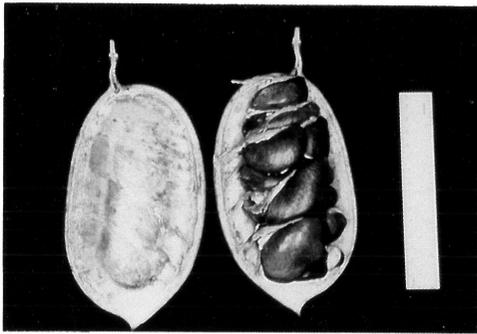


Fig. 3-19

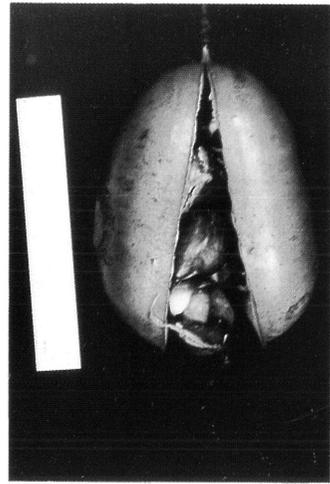


Fig. 3-20

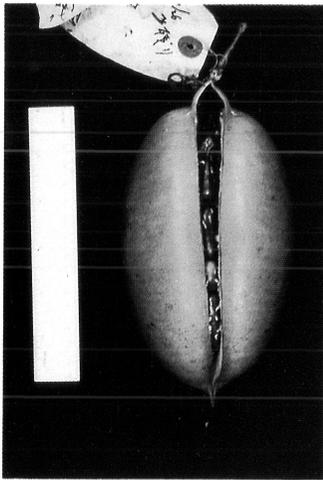


Fig. 3-21

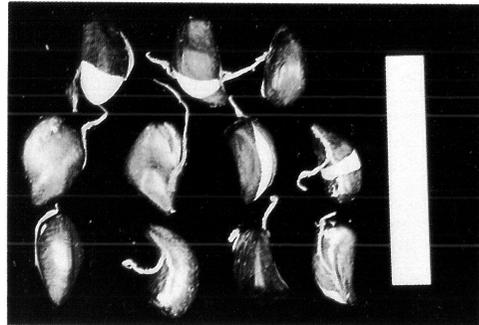


Fig. 3-22

- Fig. 3-19. Inner appearance of a pod which dehisced on the 121st day after artificial self-pollination.
- Fig. 3-20. The pod which dehisced on the 126th day after artificial self-pollination. The septicidal dehiscence is initiated at the top of pod.
- Fig. 3-21. The pod which dehisced on the 122nd day after artificial self-pollination. The septicidal dehiscence is initiated at the fruit peduncle.
- Fig. 3-22. The shapes of seeds as deformed liver. The seed coats are thin, soft and liver color.

ないと考えられた。1 莢当りの総種子重 (Table 3-3) は、花序番号92が最高370.8 g, 花序番号3が最低の201.8 g, 平均269.9 g であった。種子の平均重量は27.8 gであるが、1粒の最高種子重は花序番号92の50.15 g, 最低は花序番号20の4.49 gで、約11倍のひらきがあった。なお、裂開について、Pancho (1955) は莢が裂開しないと報告しているが、今回の人工受粉により得られた全ての莢は、樹上で裂開することが認められた。すなわち、莢は種子の完熟期を迎えると自然裂開し、種子を地上に落下散布することが観察された。よって、野生状態で、莢が裂開しないタイプが存在するならば興味もたれる。また、このような人工受粉から莢の成熟、種子の完熟、散布までの詳細な報告は著者ら (小西・丸橋 1989) の報告が始めてである。

第4節 結実種子の発芽率

ヒスイカズラの種子は採取後、できるだけ早く播かないと発芽能力を失うことが知られている (Pancho 1955; Polhill 1972; Andrew and Lewis 1984)。発芽試験はこれらの報告を配慮し、種子の採取から播種までの期間の貯蔵は、採取後直ちにポリエチレンの袋に湿らしたミズゴケあるいはパーミキュライトを入れ、その中に種子を埋め込み播種まで保存した。貯蔵期間は3日あるいは7日間であった。播種はパーミキュライトまたは赤玉土を用いて直径18cmのビニールポット播きをした。

供試種子は、1989年に人工受粉により結莢し、完熟裂開して得られた4莢32粒を用いた。発芽は播種後約1週間目から始まり、3週間後には32粒すべてが発芽した。発芽した種子の重量は4.7~50.2gの幅があったが、いずれの種子も発芽し、すべてが稔実種子であった。なお、現在までに得られた中で最も軽かった種子は、この1989年に得られたこの4.7gであった。この発芽苗は現在生育中である。

発芽試験を行った実生32個体のうち23個体は緑色の正常個体であったが、残りの9個体はアルビノで、その出現率は28.1%あった (Table 3-4)。その後、正常個体はいずれも順調に生育をした。しかし、アルビノ個体 (Fig. 3-23) は蔓が1~2m伸びると蔓の先から枯れ込み、再び根元近くより新しい蔓を伸ばしては枯れた。アルビノ個体のいずれもがこの現象を2~3回繰り返えし、約1年後には枯死した。なお、いずれの個体も伸長中の蔓を垂れ下がるように仕向けたり、誘引すると、生長を停止する性質が認められた。

アルビノ個体が分離したことから、追試試験を1996年に30莢322粒、1997年に1莢10粒の合計332粒について行った (Table 3-5)。その結果、332粒すべてが発芽し、実生個体を得た。このうち231個体が正常で、91個体がアルビノ個体で、その出現頻度は1989年度試験の28.1%に近似の28.3%であった。1莢当たりのアルビノ出現率をみると莢番号31が最高の60% (10個体中6個体、Fig. 3-24) で、莢番号1が最低の12.5% (16個体中2個体) であった。

Table 3-4. The results of seed germination obtained by artificial self-pollination

Raceme no.	No. of seeds	No. of sowings	No. of germinated seeds	No. of normal individuals	No. of albino individuals	No. of albino occurrences (%)
9-2	10	10	10	7	3	30.0
12	11	6*	6	4	2	33.3
16	11	6*	6	5	1	16.7
20	10	10	10	7	3	30.0
Total	42	32	32	23	9	28.1**

* The remaining seeds were used for the specimens and investigation.

**The number represents an average percentage of albino occurrences.



Fig. 3-23



Fig. 3-24

Fig. 3-23. The vines of albino individuals.

a: The top of young vine. The leaf cushions and young leaves take slightly on pale green color. b: The vine on the 2 months after germination. The leaf cushions take on pale green.

Fig. 3-24. The normal and albino individuals observed in ten ones appeared from a pod. Starting from the left, the first, third, fourth and fifth are normal, and others are albino.

Table 3-5. The rate of albino occurrence in the subsequent generation obtained by artificial self-pollination in 1996(1~30) and 1997(31).

Pod number	No. of sowings	No. of germinated seeds	No. of normal individuals	No. of albino individuals	Rate of albino occurrences (%)
1	16	16	14	2	12.5
2	7	7	6	1	14.3
3	12	12	9	3	25.0
4	11	11	8	3	27.3
5	10	10	7	3	30.0
6	12	12	9	3	25.0
7	11	11	8	3	27.3
8	14	14	11	3	21.4
9	13	13	10	3	23.1
10	13	13	10	3	23.1
11	9	9	6	3	33.3
12	10	10	5	5	50.0
13	8	8	6	2	25.0
14	12	12	10	2	16.7
15	11	11	7	4	36.4
16	10	10	8	2	20.0
17	12	12	8	4	33.3
18	11	11	8	3	27.3
19	14	14	11	3	21.4
20	7	7	5	2	28.6
21	9	9	6	3	33.3
22	8	8	5	3	37.5
23	10	10	8	2	20.0
24	7	7	5	2	28.6
25	11	11	8	3	27.3
26	8	8	6	2	25.0
27	8	8	6	2	25.0
28	8	8	6	2	25.0
29	8	8	4	4	50.0
30	12	12	7	5	41.7
31	10	10	4	6	60.0
Total	332	332	231	91	28.3*

*The number represents an average percentage of albino occurrence.

第4章 人工受粉後の落莢現象の把握

第1節 受粉後の落莢現象

人工受粉を行ったにもかかわらず、おびただしい落花・落莢がみられた。そこで5花序614花について、人工受粉後の落花・落莢数の調査を経時的に行った。その結果をとりまとめたものがTable 4である。5花序とも明らかに著しい落莢が認められた。特に人工受粉後の初期落莢が著しかった。すなわち、5花序の総数で見ると、人工受粉翌日にすでに総受粉花数の28.2%が、6日目までに91.5%が、そして、13日目には99.2%もの幼莢が落下した。その後は、花序番号13で22日目に1個の落莢がみられたほかは落莢はなかった。人工受粉後に落下した莢は、いずれも各発育段階においても特に形態的な異常が認められず、正常な形状であった (Fig. 4 a-g)。なお、

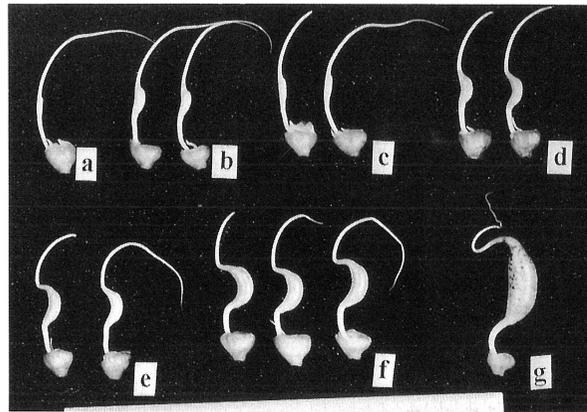


Fig. 4. The ovaries of which pods were abscised after artificial self-pollination. a: The first day after artificial self-pollination, b and c: The second day, d: The third day, e: The fifth day, f: The 6th day, and g: The 14th day.

13日目を経過しても着莢していたものは、上記した花序番号13の1莢を除き、後日すべて成熟莢となり、それぞれ稔実種子を結実した。すなわち、ヒスイカズラは人工受粉を行っても初期落莢が著しいといえる。なお、上記、花序番号13の22日目の落莢は生理的というよりは、何らかの物理的原因によるものと思われる。

このヒスイカズラの初期落莢現象については下園（1989）も観察し、その原因は温度によると説明している。著者は、落莢の原因として外的要因である温度はもとより、日照不足や乾燥にも原因があると考ええる。すなわち、温室内の日照の少ない場所にある花序は、日照が十分ある花序に比べて生育が悪く、蕾の状態での落下が著しいために開花数が少ないばかりか、幼莢の落下も著しかった。また、温室内の湿度の低下は蕾や花の落下の原因になると同時に幼莢の落下にも影響した。さらに、温室内での風通しのよい場所にある花序には乾燥した外気が当たるため、落花・落莢の著しいことが観察された。すなわち、外的要因である光、温度、湿度は、花序の生育に影響するばかりか、特に急激な外的要因の変化が落花・落莢に著しい影響を与えると推定される。しかしながら、著者は同じマメ科の庭園樹として知られるフジ (*Wisteria floribunda*) において、開花後、2週間から3週間前後に多くの莢が落下する初期落莢現象を観察している（小西、未発表）。このことを考え合わせると、ヒスイカズラの初期落莢は、上記の外的要因の極端な変化を除けば、内的要因が重要であると推察できる。すなわち、ヒスイカズラの初期落莢現象の原因は、母株の栄養供給の過不足などの生理的な自己コントロールが働いた結果と考えたい。

Table 4. Pattern of pod falling after artificial self-pollination

Raceme no.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	Total	
The days of after artificial self-pollination																									
No. of fallen pods																									
9	43	6	19	17	13	16	5	5	11	6	1	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	141(2)
10	21	22	13	19	31	14	9	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	134(1)
11	48	22	21	2	7	2	0	0	1	3	0	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	107(0)
12	41	36	25	9	2	0	2	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	118(1)
13	20	12	20	16	4	21	4	4	9	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	110(0)
Total	173	98	98	63	57	53	20	20	23	11	6	1	4	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	610(4)*

*Total 614 flowers were self-pollinated on the five racemes on the 9th to the 13th, and only four pods were maturated.

第5章 落莢した子房内胚珠の組織学的観察と救済

第1節 落莢した子房内胚珠の胚発育段階の組織学的観察

人工受粉後の初期落莢現象を把握するために、落莢内胚珠の胚発育段階の組織学的観察を行った。人工受粉後に落莢した胚珠の胚発育過程の観察は、受粉後7日目から23日目までに落莢した胚珠、あるいは未落莢の胚珠を経時的に取り出し、ファーマー液（エチルアルコール3：酢酸1）で、24～48時間固定したのち、常法のパラフィン法により標本を作製した。なお、標本は正中線に対し平行に切ったものと垂直に切ったものの2種類を作製した。切片の厚さはいずれも13 μ mとした。なお、染色はデラフィールドのヘマトキシリン法を使用した。

受粉後の子房の落莢が不受精によるものか否か、また、落莢内の胚の発育状況を明らかにする目的で3花序について調査を行った。

受粉翌日から6日目（Fig. 4-1）までに観察した結果では、受粉翌日の落莢内胚珠では未受精の状態の落莢か、受精成立後の落莢であるかは判定できなかった。しかし、2日目になると僅かながら子房ならびに胚珠に変化が認められ、6日目（Fig. 5-1）には明瞭に胚珠に変化が認められた。よって、少なくとも人工受粉3日目には受精が完了しているものと推察された。

次に、受粉後3日～14日目の間に落下した45幼莢について、莢内の胚珠と胚の発育状態を観察した。その結果、1莢当たり平均9.85（範囲5～15）個の胚珠の肥大発育が認められた。

これらの結果をふまえ、人工受粉後の胚発育過程を詳細に調査するために、人工受粉後7日目～21日目までに落莢した莢あるいは、着莢している莢内の胚珠55個について、パラフィン切片を作製し、胚の発育期について観察を行った。その結果、受精初期の接合子期から球状期、心臓型

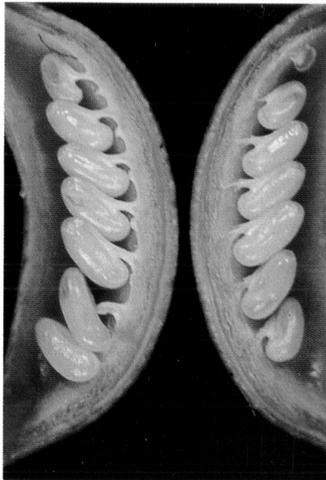


Fig. 5-1

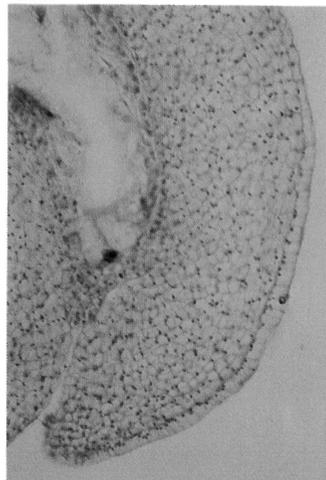


Fig. 5-2

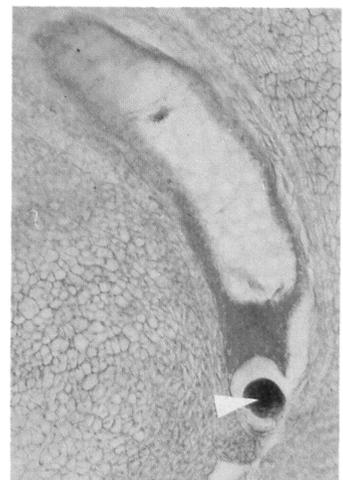


Fig. 5-3

Fig. 5-1. The growing status of intra-ovary ovules on the 6th day after artificial self-pollination. Fourteen ovules are observed, and their thirteen show thickening growth.

Fig. 5-2. A histological feature of vertical section of ovule on the 7th day after artificial self-pollination. The embryo which has grown at the stage of zygote is observed in the ovule.

Fig. 5-3. A histological feature of vertical section of ovule on the 14th day after artificial self-pollination. The embryo which has grown at the globular stage is observed in the ovule.

Table 5-1. The days after artificial self-pollination and stages of embryonic development

Days after artificial self-pollination	No. of ovules examined	Stage of embryonic development				
		Zygotic stage	Orbicular stage	Heart-shape stage	Torpedo-shape stage	Unknown
7	2	1	1	0	0	0
8	4	0	0	0	0	4
9	4	0	3	0	0	1
10	2	0	2	0	0	0
11	6	0	3	0	0	3
12	4	0	3	0	0	1
13	4	0	3	0	0	1
14	2	0	2	0	0	0
15	3	0	2	0	0	1
16	4	0	2	0	0	2
17	4	0	1	1	0	2
18	4	0	0	2	1	1
19	2	0	0	1	1	0
20	6	0	2	2	1	1
21	4	0	2	2	0	0
Total	55	1	26	8	3	17

期および魚雷型期までのさまざまな発育ステージの胚が認められた。これらの結果をとりまとめたのが Table 5-1 である。

人工受粉後 7 日目の供試胚 2 個のうち 1 個は、接合期 (Fig. 5-2) で、他の 1 個は球状期胚であった。8 日から 16 日目までの供試胚、33 個のうち、発育段階を確認できた 20 個は、すべて球状期 (Fig. 5-3) であった。さらに、17 日目の胚では 4 個のうち発育期が確認できた 1 個は球状期、他の 1 個は心臓型期であった。18 日目の胚では、発育期の確認ができた 3 個のうち 2 個は心臓型期で、他の 1 個は魚雷型期であった。19 日目の胚では、2 個のうち 1 個は心臓型期、1 個は魚雷型期であった。20 日目の胚では 6 個のうち球状期が 2 個、心臓型期が 2 個、魚雷型期胚が 1 個で、残りの 1 個は発育期を確認できなかった。21 日目の胚では球状期と心臓型期がそれぞれ 2 個であった。

以上の結果より、人工受粉後 7 日目までに胚の発育段階はすでに接合期から球状期初期に至ると判定された。また、17 日目には球状期終期から心臓型期に発育していることがわかった。前述 (第 4 章, Table 4-1) したように、落莢は人工受粉後の 14 日目から殆ど止まっていることから、受精胚の発育は球状期を経過する頃から安定すると推定され、この時期を経過すると完熟莢として生育する確率も高くなり、心臓型期以降は、外的要因である極端な物理的なショックや急激な変化がない限り落莢しない確率が高いといえよう。

第 2 節 落莢した子房内胚珠胚の救済

第 1 項 胚・胚珠培養

人工受粉後の落莢した子房内の胚珠の胚発生発育段階の組織学的調査を行ったところ、人工受粉の翌日より 14 日目までに 99.2% が落莢し (Table 4-1)、胚の発育段階が初期の接合期胚から球状期後期の胚であることがみられた。これらの落莢胚の持つ遺伝子を確保し、遺伝変異の拡大をは

かるために、胚および胚珠培養によるこれらの胚の救済の可能性について検討を行った。

供試材料は人工受粉後7日目(球状胚初期)から21日目(子葉期初期)の未熟な状態で落下した(一部は母本から採取した)幼莢240個から、無菌的に取り出した胚珠2,487個である(Table 5-2)。

培養方法は落下した花より雌ずい器官を取り出し、中性洗剤で洗い、良く水洗し、アルコールを噴霧後、クリーンベンチ内に移した。以後の胚珠の摘出操作は、クリーンベンチ内で無菌的に行った。胚珠の摘出は、70%アルコールに浸してから、火を付け炎熱滅菌し、子房の縫合線に沿ってナイフを入れ、2つに開き分け、子房内からピンセットで胚珠を取り出し、置床を行った。なお、このうち、胚の生長が認められた幼胚を胚珠より摘出し、胚培養に移したものは9個体であった。培地は、Murashige and Skoog (1962)の無機塩類およびビタミン類に蔗糖5% (w/v)、寒天10% (v/v) ココナッツ水および2 mg/ℓあるいは4 mg/ℓの2, 4-Dを加え、いずれもpH5.8に調整し、直径6 cmのシャーレに10 mlづつ分注し、120°C、15分間滅菌処理し、斜面培地を用いた。培養は28±2°C、3,000 luxの蛍光灯連続照明下で行った。胚珠は置床後、1週間目を経過したところからゆっくりと肥大し、1ヶ月後には珠皮が赤褐色を呈し、その後生育を停止し、殆どのが褐変して枯死した。一部に珠皮の内部に胚が認められ(Fig. 5-4)、同時に緑に色付き始めたものが認められた。さらに、Fig. 5-5や5-6にみられるように珠皮の破れた部分から内部に形成されたカルス様体が噴出し、中には胚様体を形成するものも認められた。しかし、いずれの場合も幼苗まで生育するものはなかった。結果はTable 5-2にとりまとめたように、人工受粉後7日目から15日目までに落下した2,336個の落莢した胚珠の培養を行っても、胚珠内の胚を生育させて幼苗を得ることはできなかった。すなわち、胚珠培養による落莢胚珠胚を救済することは非常に困難であると考えられた。そこで、落莢胚珠内の胚を培養胚珠によりある程度まで発育させておき、幼苗に発育させるために胚を切り出し、胚培養を行った。

Table 5-2. The results of the ovule and embryo cultures obtained by the ovule cultures

Days after pollination	Dissected ovaries	Cultured ovules (1)	Embryonic cultures transferred from the cultured ovules (2)	Potting individuals	(2)/(1)×100
7	40	480	0	0	0
8	40	505	0	0	0
9	25	294	0	0	0
10	39	377	0	0	0
11	28	293	0	0	0
12	28	227	0	0	0
13	11	79	0	0	0
14	8	73	0	0	0
15	1	8	0	0	0
16	5	37	1	0	0
17	3	27	1	0	0
18	3	22	1	0	0
19	1	10	1	0	0
20	6	44	3	1	2.3
21	2	11	2	0	0
Total	240	2,487	9	1	2.3

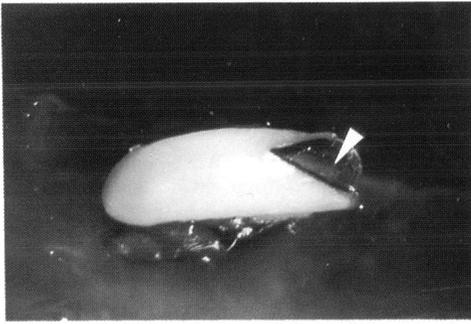


Fig. 5-4



Fig. 5-5

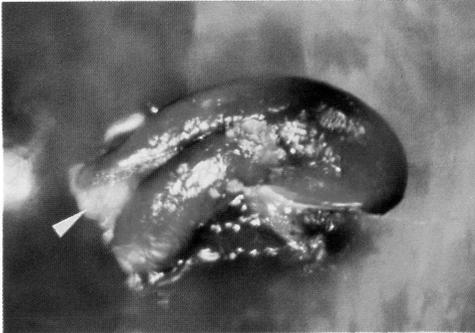


Fig. 5-6

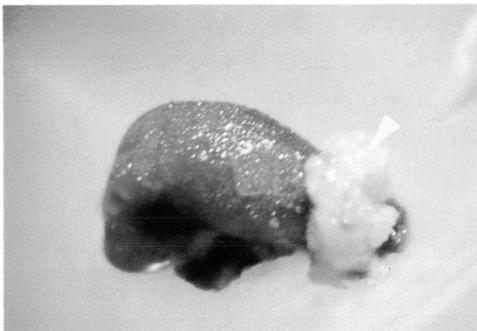


Fig. 5-7



Fig. 5-8

- Fig. 5-4. The ovule in culture on the 7th day after artificial self-pollination (on the 13th day after the inoculation). The embryo like body (arrow) is observed with collapsed integument.
- Fig. 5-5. The ovule in culture on the 8th day after artificial self-pollination (on the 21st day after the inoculation). It was observed from the cleavage of integument that cotyledon like body (arrow) was formed and then it was blighted.
- Fig. 5-6. The ovule in culture on the 8th day after artificial self-pollination (on the 25th day after the inoculation). The formation of callus like body is observed from the cleavage of integument.
- Fig. 5-7. The ovule in culture on the 20th day after artificial self-pollination (on the 18th day after the inoculation). The embryo with thickening young cotyledon (arrow) is observed from the cleavage of integument.
- Fig. 5-8. The growing young embryo separated from the ovule in culture (on the 14th day after the transfer to the embryonic culture). The radicles growing from young cotyledon are observed.

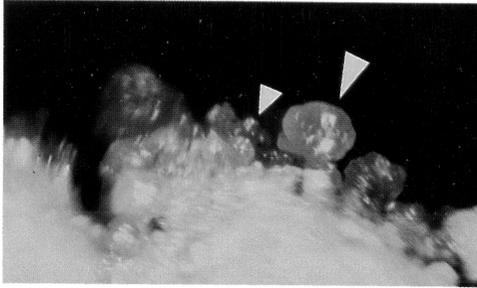


Fig. 5-9. The globular embryo like body (arrow) formed from cotyledon slice *S. macrobotrys* cultured for 25 days on MS medium containing 1 mg/l BA and 0.1 mg/l 2, 4-D.

人工受粉後7日目から15日目までの胚珠培養から胚培養へ移植できる胚は得られなかったため、人工受粉後16日目から21日目の落下胚珠胚151個（一部は母本から採取した）を胚珠培養し、中から胚の生育がよかった胚珠9個について胚を切り出し胚培養を行ったが、鉢出し可能な幼苗が得られたのは受粉後20日目の胚（Fig. 5-7）からの1個体のみ（Fig. 5-8）であった。また、この個体を鉢出ししたが、その後、枯死した。

一方、胚珠培養により落莢内の胚珠の発育状態について胚珠培養後2週間及び4週間目に当る胚珠のパラフィン切片を作製し観察した。培養後2週間を経過したものの中には胚が観察されたものもあったが、胚の発育は認められなかった。さらに培養後4週間を経過したものでは胚を確認できなかった。一方、培養後2週間及び4週間を経過したものには胚珠表面、胚珠内にカルス組織が観察されるもの他に、珠心組織に胚（球状期）様の構造をもつ胚珠が認められた。この胚様体がみられた培養胚珠は人工受粉後7～16日までの間に落下した莢中の胚珠で著しかった。

さらに、添加物として2, 4-Dを選び、培地に添加することにより、幼胚珠からの不定胚誘導及び幼胚からの不定胚誘導も同時に検討した。その結果、培養後2週間目の胚珠をパラフィン切片とし、その内部を観察したところ、2, 4-Dをそれぞれ2 mg/lと4 mg/l添加した培地で培養した珠心組織に多くの胚様体の形成が確認され、2, 4-Dがココナツ水の代替となることが示された。しかしながら、不定胚を発育させて幼苗を得ることはできなかった。

第2項 子葉のスライス培養

人工受粉100日目の種子を無菌的に莢から取り出し、子葉を厚さ1～2 mmに切り出し、MS培地にBAを1 mg/l、2, 4-Dを0.1 mg/lを添加した培地に、50のスライス片を置床した。置床後、平均10日目よりスライス片は肥大し、表皮部分のカルス化（26/50個体）が認められた（Fig. 5-9）。置床後25日目には緑色をした球形の胚様体を認めたが、その後褐変して枯死した。継代培養をしたものも同様に褐変枯死した。

以上のことから、幼胚の救済について、著者ら（尾辻ら 1990, 1991; 上野ら 1994）は幼胚珠および幼胚からの不定胚の誘導、未熟胚切片からのシュート形成、embryonic axesからのマルチプルシュート形成の検討を進め、幼植物体の大量増殖法の可能性を明らかにしているが、培地条件、順化を含めた検討を今後行う必要があると思われる。

第6章 人工受粉により得られた次代植物と花色の変異

第1節 自家受精第1代目の初期生長

実生苗の初期生育について、1990年7月2日に完熟裂開した1莢11粒をその日に播種し、9月12日まで蔓の伸長を測定した。これらの種子重量は平均33.4 g（25.65～43.45 g）で、発芽までの

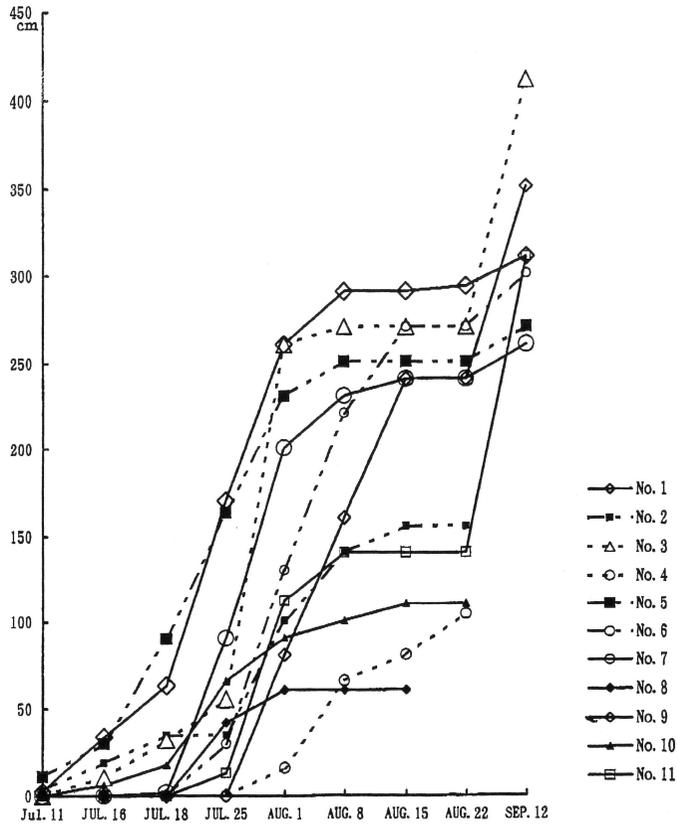


Fig. 6-1. The early growth pattern of Jade Vine in the subsequent generation (Nos. 2, 4, 8 and 10 are albino).

Table 6-1. The flower colors of subsequent Jade Vine obtained by artificial self-pollination

Individual number	Flower colors			
	Darker than parents (dark jade green)	Similar to parents (jade green)	Fainter than parents (brilliant jade green)	
1-1			○	
1-2	○			
1-3		○		
1-4	○			
1-5		○		
2-1			○	
2-2		○		
3-1		○		
4-1	○			
5-1			○	
5-2		○		
6-1		○		
6-2		○		
6-3		○		
6-4			○	
Total	15	3	8	4

Table 6-2. The rate of albino occurrence in second generation of self-fertilization by artificial self-pollination

Pod number	No. of sowings	No. of germinations	No. of normal individuals	No. of albino individuals	Rate of albino occurrence(%)
1-1	12	12	9	3	25.0
1-2	11	11	10	1	9.1
2	7	7	5	2	28.6
Total	30	30	24	6	20.0

日数は、早いものでは、播種後7日目、最も遅いものは播種後25日目であった。発芽率は100%、アルビノ個体の出現率は36.4% (4/11個体) であった。計測結果をFig. 6-1 に示した。正常個体はNo. 1, 3, 5, 6, 7, 9および11の7個体で、最も長く伸長したのはNo. 3の4.1 mで、最も短く伸長を示したのはNo. 7の2.6 mで、平均3.1 mであった。生長速度は、発芽後3週間の生長が著しく、その後の3週間は緩やかで、再び著しく生長するパターンを示した。このような特徴を示したのは、調査期が真夏に当たり、親株も真夏の高温乾燥期に生長を休むので、実生苗も高温と乾燥の影響を受け、生長を休んだと推察された。なお、最も速い速度で生長したのはNo. 3で7月25日から8月1日までの伸長量は2.1 mで、この間の1日当たり平均生長は約30cmであった。

残りのNo. 2, 4, 8および10の4個体はアルビノ個体で、いずれも蔓が枯れ、株の基部より新しい蔓を萌芽させた。最も早く枯れたのは発芽後3週間後に約60cm伸長したNo. 8で、最も遅かったのは発芽後7週間で約160 cmに伸長したNo. 2であった。

第2節 自家受精第1代目植物の花色の変異

人工受粉により得られた次代植物のうち、アルビノ以外の緑色正常個体を10号のプラスチックポット (直径30cm) に植え、行燈仕立てにして栽培した (Fig. 6-2)。播種後開花に至るまで4年を要したが、これまでに6莢より得られた15株が開花した。この開花株の花色について調査したところ、親と同色のほか、親の花色と異なるものが出現した (Table 6-1)。すなわち、親の花色と比べて、同じもの (Fig. 6-3)、濃いもの (Fig. 6-4)、淡いもの (Fig. 6-5) の3色が出現した。開花株数が少ないので、莢当たりの分離比を論ずることはできないが、全体としてまとめると、親より濃い株が3、親と同色の株が8、親より淡い株が4であった。この分離比は、1遺伝子性雑種のF2分離比、1:2:1に極めて近い。現在、濃い花色の個体より次代植物 (自家受精2代目) を得ているので、花色の変異に富んだ園芸価値の高い株の選抜・育種が期待される。

第3節 自家受精2代目のアルビノ個体の出現率

自家受精第一代の生育個体の2個体より、それぞれ自家受精第二代の3莢30粒が得られたので、これらについても発芽試験を行った (Table 6-2)。その結果、3莢30粒のすべてが発芽し、実生苗30個体を得られた。このアルビノ出現率は、それぞれ最高28.5%、最低9.1%で、その平均出現頻度は20.0%であった。

アルビノ個体が高率で出現したことは、自家受精の結果劣性のホモ型が遺伝的に分離したことは明らかである。このことは、ヒスイカズラが自生地ではヘテロの状態で存在していることを示唆する。したがって、その保存にあたって送粉動物による他家受精によりヘテロ個体の頻度を高め、集団全体の多様性を維持する必要性が強く示唆される。このことはまた、送粉動物を含む自然環境の保全の重要性をもあらためて認識させるに充分である。



Fig. 6-2



Fig. 6-3



Fig. 6-4



Fig. 6-5

Fig. 6-2. The Jade Vine in subsequent generation growing in No. 10 sized plastic pots (A diameter is 30 cm).

Fig. 6-3. The inflorescence with similar color (jade green) as its parents.

Fig. 6-4. The inflorescence with darker color (dark jade green) than its parents.

Fig. 6-5. The inflorescence with fainter color (brilliant jade green) than its parents.

第7章 生態系モデル温室内での自然結実と結実に対する送粉動物の関与

第1節 生態系モデル温室内の放飼動物と結実

第3章の結果より、ヒスイカズラの受粉にはコウモリあるいは鳥などの送粉動物の関与が不可欠であると考えられた。そこで、小動物や蝶類などが放し飼いされている長崎県西衣町の(株)長崎

バイオパークの熱帯館 (Fig. 7-1, 7-2, 高さ17m, 直径40m, 面積1,250m²) が、熱帯圏の植生を再現した植栽であるばかりか、動物の放飼が行われ、生態系モデル温室 (東京農業大学名誉教授故近藤典生博士の指導による施設) としての諸条件を備えていることから、同社の協力を得て、ヒスイカズラを植栽し観察を行った。

供試株は、筑波実験植物園の母株より挿し木により増やした4年生株を1993年に植栽した。植栽2年後の1995年に着蕾をみたので、開花を待って訪花動物について、また結莢の可否について調査した。

同施設内に放飼されている哺乳類、鳥類および昆虫類は、次のとおりである。

哺乳類：フタユビナマケモノ (*Chobepus didactylus*) 1頭

インドコウモリ (*Pteropus iganteus*) 4頭

オリイオコウモリ (*Pteropus dasyinallusinopinatus*) 1頭

鳥類：ヒインコ (*Eos bornea*) 3羽

ゴシキセイガインコ (*Trichoglossus haematodus*) 5羽

サンショクキムネオオハシ (*Ramphastos sulfuratus*) 2羽

ムジエボシドリ (*Corythaixides concolor*) 2羽

ニシムラサキエボシドリ (*Musophaga violacea*) 1羽

蝶類：オオゴマダラ (*Idea leuconoel iukiensis*) 500匹

リュウキュウアサギマダラ (*Radena similis*) 30匹

アサギマダラ (*Parantica sitaniphonica*) 20匹

スジグロカバマダラ (*Salatura genutia*) 50匹

以上の動物のうち、どの種類が訪花するか、また、自然結莢がみられるか否かを観察した。

その結果、オオゴマダラ (*Idea leuconoe*, Fig. 7-3a) とヒインコ (*Eos bornea*, Fig. 7-3b) の訪花、飛来が確認され、自然結莢が確認された。Table 7-1 に示したように、7莢が結莢した。このうちの4莢について種子数を調査したところ、1莢当たりの種子数は、8粒が1莢、7粒が2莢、そして、6粒が1莢で、平均7粒、合計28粒の種子が得られた (Table 7)。このうち1莢7粒について1粒づつビニールポットに播種し、発芽試験をした結果、播種後最も早いものでは7日目に発芽し、最も遅いものでも21日目までにすべて発芽した。このうち5個体が正常で、2個体がアルビノ (40%) であった。その後、1996年に2個、1997年には1個の自然結莢を得た。初年に比べ結莢数が少なかったのは、剪定による開花花序の数が減少したのが原因であると考えた。

この自然結莢に関与した送粉動物は訪花が観察されたオオゴマダラとヒインコの両者あるいはいずれかであると推定されたが、著者はヒインコが関与した可能性が高いと推察した。その理由は以下による。

すなわち、受粉過程の第一段階として、訪花した送粉動物が竜骨弁と旗弁の付け根の開口部の間から子房基部の蜜腺から分泌され、溜まっている蜜を吸う行動をすることにより、開口部を開かせ、先端が融合し、筒状をした竜骨弁の内部にある雄しべと雌しべの基部に力を加え、葯と柱頭をこの竜骨弁の先端部の穴から出させる必要がある。この一連の行動にオオゴマダラが関与する可能性は少ない。なぜならば、オオゴマダラが訪花し、蜜吸い行動を行ったとしても、長い口吻をただ開口部から花器基部内に挿入し蜜を吸うので、開口部を開かせる必要が無い。よって、雄しべと雌しべの基部に力が加わらず、竜骨弁内部より外部に押し出すことが不可能である。また、たとえ竜骨弁上に止まったとしても、重量が軽いので雄しべと雌しべを押し出す力が加わらないと考えられることより、トリッピングが起こらないと推察した。

これに対し、ヒインコは花序に止まり舌を竜骨弁と旗弁の基部の開口部をこじ開け、花器基部に入れ、蜜を吸うので竜骨弁の基部を圧する。その結果として、雄しべと雌しべに力が加わり、

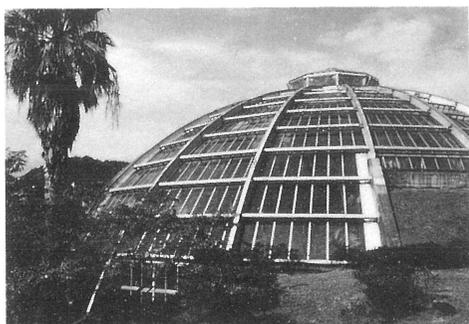


Fig. 7-1



Fig. 7-2



a



b

Fig. 7-3



Fig. 7-4

Fig. 7-1. Tropical house in Nagasaki Bio-Park.

Fig. 7-2. The inflorescence of Jade Vine in the early phase of flowering in the tropical house in Nagasaki Bio-Park.

Fig. 7-3. The animal and insect confirmed to fly to the inflorescence of Jade Vine.
a: *Idea leuconoe* (The Okinawa tree nymph) b: *Eos bornea* (scarlet parrot)

Fig. 7-4. The maturing pods obtained from the pollination by a scarlet parrot (*Eos bornea*) as a pollinator in tropical house of Nagasaki Bio-Park.

葯と柱頭を竜骨弁の先端部の穴から同時に突き出させることができる。第2段階としてトリッピングを起こさせる行動が必要であるが、ヒインコの場合、羽ばたきをしながら飛来し、花序に止まり蜜を吸うことから、柱頭先端部がヒインコの体の一部に強く圧せられる可能性が高い。この行動によりトリッピングが起こり、柱頭先端部のドーム構造層が壊れ、花粉をパピラに到達させ

Table 7. Naturally formed pods in the miniature model of greenhouse mimic for ecosystem. The numbers of seeds per a pod and the results of germination study in 1995.

Pod number	No. of seeds	No. of sowings	No. of germinations	Remarks
1	7	7	7	* *
2	6	0	—	
3	—*	—	—	
4	7	0	—	
5	—*	—	—	
6	8	0	—	
7	—*	—	—	
Total	28	7	7	

* Uninvestigated.

**The number of normal individuals were five and those of albinos were two.

たと推察した。

ヒスイカズラの送粉動物について、Polhill (1972) はコウモリによる受粉を報告しているが、実際に現地での観察記録はない。しかし、ヒスイカズラの花序は葉群から離れ、長く下垂し、大きくて蛍光色の青味がかった花を多数つけ、突き出していることから、典型的なコウモリ受粉型 (Faegri and van der Pijl 1979) と推察されている。また、Arroyo (1981) も同様な見解をとっている。さらに、別種の *S. celebicus* は、胚珠数が1個で莢の肉質が薄い *S. lucidus* に似ているが、花は白色で、しかもヒスイカズラと同じように胚珠数が多く、肉質の莢をつけることから、Polhill の仮定を支持すると考えている。もしも、その仮定が正しいならば、コウモリ型受粉種はより進化した植物であると考えられる (Polhill 1972; Ridley 1930; Gunn and Dennis 1976)。さらに、ヒインコが送粉動物として関与することが明らかになったことから、コウモリ型受粉種でありながら二次的送粉動物として、ヒインコの様な蜜吸い鳥の存在が示唆された。

以上、本生態系モデル温室内の実験結果は、あらためてヒスイカズラの受粉にあたり生態系の重要性を示唆するとともに二次的送粉動物としてのヒインコの役割も明らかである。

第8章 種子の保存法に関する検討

第1節 無菌種子培養による保存

ヒスイカズラの種子は短命で、recalcitrant seed (難貯蔵性種子) として知られていることから、無菌種子培養による実生苗の保存を考えた。

無菌種子培養に供試した種子は、完熟期を迎えた人工受粉100日目の裂開直前の莢内から無菌的に取り出した種子を用いた。方法は、採集した莢を中性洗剤で洗い、良く水洗し、アルコールを噴霧後にクリーンベンチ内に移した。種子の摘出は、莢を70%アルコールに浸してから、火を付け炎熱滅菌し、子房の縫合線に沿ってナイフを入れ、2つに開き分け、種子をピンセットで取り出し、1粒ずつ置床を行った。培地は、純水を1,000ml のコニカルビーカーに50ml 分注し、120℃、15分間滅菌処理した液体培地を用いた。培養条件は、28±1℃、3,000lux の蛍光灯連続16時間照明による日長条件で行った。

前記(第5章参照)した如く、人工受粉後に落莢した莢中の胚の發育段階は、接合期から球状期後期胚であったことから、胚珠培養による落莢胚珠内の胚の救済を試みた。しかしながら、胚珠の肥大と珠皮の裂開は認められたが、胚発生を続け、胚幼体を形成するものは認められなかった。また、胚を切り出し継代培養をしない限り幼苗は得られなかった。よって人工受粉後の落莢胚の救済は難しいと判断せざるを得ないと考えた。次に、子葉切片培養による大量培養を試みたが、これについても胚様体様組織の誘導には成功したが、茎葉の発達までには至らなかった。

そこで、裂開前の莢(人工受粉後100日目)を用いて、2莢を無菌条件下で開き、18粒の種子を得て無菌水のみで培養したところ、すべて発芽した。無菌培養下で播種された種子は、播種後3日目より、多肉化した子葉が吸水し肥大を始め、播種後1週間~2週間の間に子葉の容積は2倍以上に肥大し、播種直後白色であった子葉は徐々に淡い緑色に色づいた。これと前後して幼芽と幼根の伸長が観察された。その後、徐々にではあるが順調に生長し、幼苗を得た。Fig. 8-1は発芽後16日目の正常苗で、Fig. 8-2は20日目のアルビノ苗である。正常苗は子葉、蔓共に緑色であるのに対し、アルビノ苗の子葉と蔓は共に僅かに緑色を呈しているが、葉緑素をほとんど欠失し



Fig. 8-1



Fig. 8-3

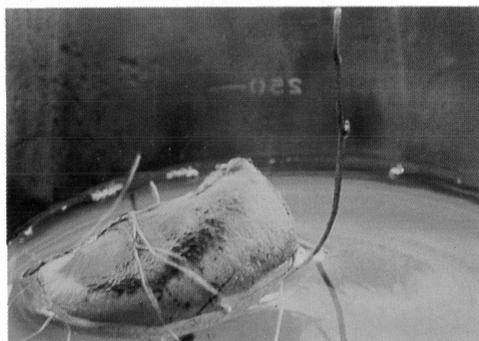


Fig. 8-2

Fig. 8-1. A seedling on the 16th day after seed germination in sterile condition. It is thickening the volume of its cotyledon more than two times, green color, and just extending its budlets and radicles.

Fig. 8-2. An albino of young seedling on the 20th day after seed germination in sterile condition. The young seedling thickened the cotyledons more than two times in volume. The white cotyledons were turning to be slightly green color. The subsequently developed leaves showed very light pink color.

Fig. 8-3. An actively growing seedling on the 60th day after germination in sterile condition.

ている。Fig. 8-2のアルビノ苗は無菌播種後約50日目を境に、子葉の伸長を停止し、子葉は徐々に萎縮し、播種後約1年を経過した状態でほぼ壊死状態になった。一方、Fig. 8-1の緑色の正常な幼苗はその後、継代培養を行わなくても子葉をやや肥大成長させ、蔓を著しく伸長させた(Fig. 8-3)。やがて、蔓先端の生長が停止するが、分枝を出して伸長を続け、2年間以上も生存した。このように正常な幼苗は、蔓によって培養器のアルミニウム栓を押し上げ、雑菌が混入しない限り、継代培養を繰り返さなくても、長期保存が可能であることが確かめられた。

以上のことから、裂開前の完熟種子を無菌的に取り出し、無菌水のみで播種し、幼苗を無菌状態で長期間育苗を可能にする無菌培養は、短命な難貯蔵種子であるヒスイカズラの種子の延命維持・保存問題を解決するために、極めて重要な技術的手法であると考えられる。

第9章 総合考察

最近、野生植物の生存が脅かされ、その繁殖と保存を図ることが望まれている。しかしながら、現状は絶滅危惧種の繁殖維持にとって重要な生殖様式など基本的な問題すら不明なものが多く、その解明や保存法の確立が急務である。ヒスイカズラ *Strongylodon macrobotrys* A. Gray ($2n=28$) はその一例と言える。本種はフィリピン諸島の限られた熱帯降雨林にしか自生しないマメ科の蔓性木本植物で、自生地では環境の悪化により絶滅が危惧されている。我が国には1964年頃より植物園などに導入されている。しかし、温室内での自然結莢は皆無であったことから、絶滅危惧植物の繁殖と保護の一環としてヒスイカズラの生殖様式を解明し、人工受粉ならびに組織培養手法による繁殖と保存法を研究した。すなわち、本研究は、絶滅危惧種ヒスイカズラの繁殖・保存法の確立を目的として、一連の研究を行ったものである。

著者らが温室内で管理・維持を行っているヒスイカズラは、これまで自然結莢報告は皆無であった。この不結莢の現象を把握するため、ヒスイカズラの生育特性、花器構造ならびに花粉稔性などの調査を実施した結果、生殖器官は何らの奇形も認められず正常であり、花粉稔性も平均95.2%以上と高い値であることが明らかになった。一方、胚珠には最高16の胚座があり、形状は正常で、不稔の原因となるような奇形は認められなかった。

そこで、開花当日の柱頭先端頭部を詳細に観察したところ、すでに葯は裂開し、柱頭の周辺に花粉が集積しているにもかかわらず、自然受粉が起こらない構造であることが明らかになった。すなわち、ヒスイカズラの柱頭先端部は、パピラ間より浸出したと思われる脂質様物質からなるドーム状構造層で覆われ、これが花粉のパピラへの接触を妨げているものと推察された。このドーム状構造層は、同じマメ科植物のキングサリやルピナスの柱頭表面を覆う制限膜やアルファルファの柱頭を覆うクチクラ膜に相似した構造と考えられた。これらの植物では、送粉動物などによって受粉を制限している膜を破壊する操作、すなわちトリッピング (tripping) が受粉にとって必要であることが報告されている。

よって、ヒスイカズラにおいても花粉の接触を妨げているドーム状構造層の破壊操作が不可欠であると考え、人工受粉法を検討した。その結果、柱頭先端部のドーム状構造層は、圧することにより、パピラを破損することなく破壊されることを顕微鏡下で確認し、この結果に基づいて有効な人工受粉法を考案した。

本研究で考案した人工受粉法は次のような操作である。まず、2枚の竜骨弁の先端部が筒状に合着したクチバシ状の竜骨弁基部近くを、翼弁と共に親指と人差し指の間で挟み、竜骨弁内にある柱頭と葯を竜骨弁の先端部の穴から突き出し、花粉を付けたもう一方の手の人差し指の先端で柱頭の先端部を突いて、柱頭先端部のドーム状構造層に圧力をかけ、この構造を破壊し、花粉をパピラに到達させるという方法である。

この人工受粉法により26花序の1,389花について受粉を行った結果、11花序で合計14個が結莢した。さらに、自然環境下においてはクチバシ状をした筒状の竜骨弁内にある柱頭と葯を竜骨弁の先端の穴から突き出させ、柱頭先端のドーム構造の破壊操作を行う送粉昆虫やその他の動物、すなわち送粉動物が本種の受粉、受精を成立させることに深く関与しているものと推察された。

生態系に比較的近い形態で設計された長崎バイオパーク園内の熱帯館に、同社の協力を得て実験株を植栽し、送粉動物による自然結莢の有無を調査したところ、6莢が結莢し、合計42粒の種子が得られた。このうち1莢7粒について発芽試験を行った結果、すべて発芽した。この自然結莢には、同施設内に放飼されている小動物・昆虫ならびに鳥類のうち、オオゴマダラとヒインコの訪花・飛来が観察されたが、大きさや体重と蜜吸い行動などから柱頭先端部のパピラを覆うドーム状構造層の破壊操作を考えるとヒインコが関与した可能性が高いと推察された。このことから、二次的送粉動物としてヒインコなどの蜜吸い鳥が関与することが明らかになった。さらに、熱帯館内には大形のコウモリで果実を食べる fruit-eating bats の仲間として知られているインドコウモリ (*Pteropus giganteus*) 4頭とオリオオコウモリ (*Pteropus dasyinallusinopinatus*) 1頭が放し飼いされているが、今回の観察では開花時および完熟までの間に飛来が確認されなかった。すなわち、Polhill (1972) らの報告にある Fruit-eating bats による食害や種子の散布は確認されなかった。また、ヒスイカズラの送粉動物については、単にコウモリ媒介型 (chiropterphily) の送粉行動が知られているが、受粉には大形の種ではなく小型の種である蜜吸いコウモリの関与が推察された。これらの動物を加えた生態系モデル温室内での実験結果は、あらためて生態系の重要性を示唆するものである。

次に、ヒスイカズラは人工受粉を行ったにもかかわらず、落莢が著しいことから、人工受粉後日数と落莢数の関係を調査した。その結果、総調査花数614花のうち、人工受粉の翌日から14日目までに、599個 (99.2%) が落莢したが、その後は、21日目までに1個が落莢するにとどまった。この受粉後14日目までに落莢した莢内の胚珠を、落莢順にパラフィン切片を作製し、胚の観察を行ったところ、受精直後の接合子から球状期後期までのさまざまな段階の胚が観察された。よって、ヒスイカズラの早期落莢は受精によるものではないことが判明した。

人工受粉で得られた種子は、採り播きですべて発芽したが、実生123個体のうち41個体 (33.3%) がアルビノであった。このアルビノ個体の高い出現率は、自家受精による遺伝的分離の結果と推察された。このことは、本研究のヒスイカズラがヘテロ個体であったことを示す。この点においても他家受精を可能とする自然環境下での送粉動物の必要性が強く示唆される。

発芽試験の結果、得られた個体はアルビノを除き、鉢植えですべて順調に生育した。開花には播種後4年を要したが、これまで15株が開花した。花色は、親より濃い個体が3、親と同色の個体が8、親より薄い個体が4であった。この分離比は、1遺伝子性雑種の F_2 分離比、1:2:1、に極めて近い。現在、濃い花色の個体より次代植物 (自家受粉第2代目) を得ている。このように、本実験に供した個体が遺伝的変異を生ずるヘテロ性を有していることは明白である。いずれにせよ、本研究により種子繁殖が可能になったことから、交雑育種によって園芸的にも価値のある品種改良の可能性が期待される。

ところで、人工受粉により種子が得られたとはいえ、その数はまだまだ僅かであった。そこで、落莢内胚珠2,487個について培養を試みたところ、胚珠の肥大と珠皮裂開は認められたが、胚発生を続け、胚様体を形成するものは認められなかった。また、胚を切り出し継代培養を行い、幼苗を得る可能性を見いだしたが、現段階では人工受粉後の落莢の救済は難しいと判断せざるを得なかったが、今後さらに研究を行う必要がある。また、子葉切片培養による大量増殖を試みたところ、胚様体様組織の誘導には成功したが、茎葉の発達までには至らなかった。しかし、この方法が確立されれば、大量生産の可能性はある。

次に、裂開前の莢を開き、2つの莢より得た18粒を無菌水のみで培養したところ、種子はすべて発芽し、幼苗を得た。この幼苗は継代培養せずとも子葉が肥大成長し、蔓も著しく伸長し、2年間以上生存し続けた。また、継代培養を行うことによって、さらに長期保存が可能であることを確かめた。この方法は、ヒスイカズラの短命種子の問題を解決するとともに幼苗育成とその保存にとって、極めて有効な技術的手法であると考えられる。また、この幼苗育成法は自生地への復元作業を行う上で、極めて有効であると考えられる。

一方、ヒスイカズラに関する生育、形態調査に関する情報は標本が少なく、曖昧な記述が多かったが、本研究により開花・結莢に関する正確な記録が得られ、植物分類学的情報に貢献した。

以上、本研究により早急に繁殖とその保存が望まれる絶滅危惧種ヒスイカズラについて、その生育特性、開花特性を明らかにするとともに、花器構造を解析し、それに基づき人工受粉法を開発し、種子生産を可能とし、さらに裂開前の莢内種子の無菌水での培養により、短命種子からの幼苗育成と保存を可能にした。また、ミニ生態系モデル温室内での自然結莢の成功により、送粉動物の重要性を明らかにするとともに、自家受精後代におけるアルビノの出現から考えて、他家受精を可能とする送粉動物の存在がヒスイカズラの種保存にとって、極めて重要であると考察した。

幼胚の救出について、著者ら（尾辻ら 1990, 1991; 上野ら 1994）は幼胚珠および幼胚からの不定胚の誘導、未熟胚切片からのシュート形成、embryonic axesからのマルチプルシュート形成の検討を進め、幼植物体の大量増殖法の可能性を明らかにする研究を進めている。

以上のことから、本研究におけるこれらの手法および結果は、自生地での絶滅が危惧されているヒスイカズラの繁殖と保存みならず、他の絶滅危惧植物の保全にとっても多くの技術的情報を与えるものと思われる。

摘 要

最近、野生植物の生存が脅かされ、その繁殖と保存が望まれている。しかしながら、現状は生殖様式など基本的な問題すら不明なものが多く、その解明や保存法の確立が急務である。ヒスイカズラ *Strongylodon macrobotrys* A. Gray ($2n=28$) はフィリピン諸島の限られた熱帯降雨林にしか自生しないマメ科の蔓性木本植物で、自生地では環境の悪化により絶滅が危惧されている。わが国には1964年頃より植物園などに導入されている。しかし、温室内での自然結莢は皆無であったことから、生殖様式を解明し、人工受粉ならびに組織培養技術による繁殖と保存法を進めた。主な結果は下記の通りである。

1. 本研究に供試したヒスイカズラは、シンガポールから東京大学理学部附属小石川植物園に導入された苗を母本とする挿し木苗の分譲を受け、筑波実験植物園熱帯降雨林温室内に植栽された株 (TGB. acc. no. 33040) である。これまで、毎年開花するが、全く不結莢であった。
2. 花器構造ならびに花粉稔性などについて詳細に観察した結果、不結莢の原因は生殖器官の形態的異常によるものではないことを明らかにした。
3. 人工受粉を行って、受粉前と後の柱頭について詳細な組織・形態学的調査を行い、その結果結莢に成功した。特筆する点は、(a)開花時の柱頭周辺部には花粉が到達しているが、(b)柱頭先端部にはパピラ間より浸出したと思われるドーム状構造をしたクチクラ層が存在し、花粉のパピラへの接触を妨げている。この観察結果より、(c)柱頭先端部を指で突くことによりドーム状構造のクチクラ層を破壊し、花粉をパピラに到達させたことである。
4. 受粉が成立するためには、柱頭先端部のドーム状構造の破壊が不可欠であると考え、パピラに損傷を与えずにドーム状構造層を破壊し、花粉をパピラに到達させるトリッピングによ

る人工受粉法を考案した。この人工受粉法により結莢を得た。

5. 以上の結果、ヒスイカズラの自然条件下での結莢には、送粉動物が深く関与していると推察された。そこで、比較的 naturally 近い生態系を再現したミニ生態系モデル施設である長崎バイオパーク園内の熱帯館に、ヒスイカズラを植栽したところ、送粉動物による自然結莢が起こり、莢内の種子は発芽し次代植物が得られた。送粉動物として、同施設内に放飼されているヒインコが関与した可能性が高いと推察された。このことはヒスイカズラの種子繁殖にとって生態系を維持することの重要性を示唆する。さらに、これらの事実は、ヒスイカズラの受粉生態学に貢献するものと考えた。
6. ヒスイカズラの早期落莢は、胚珠内の胚の発育過程が正常に進んでいたことから不受精による結果ではないことが判明した。
7. 人工受粉で得られた種子は、採り播きですべて発芽したが、実生個体には約28%の高頻度でアルビノ個体が出現した。このことから、ヒスイカズラが自然にあってヘテロ個体として適応性を高めていたと推察された。したがって、ヘテロ性を維持させるために他家受精を可能とする自然環境下での送粉動物の必要性が強く示唆された。
8. 人工受粉により得られた個体は播種後4年目に開花し、これまで15株が開花した。花色を調査したところ、親より濃い個体が3、親と同色の個体が8、親より淡い個体が4に分離した。この結果、本実験に供したヒスイカズラが次代で遺伝的変異を生じ得るヘテロ個体であることを示した。このことから、種子繁殖により、園芸的にも価値のある個体の選抜育成が可能であることが示された。
9. 組織培養はヒスイカズラの苗の生産にとって有効な手段であることを明らかにした。胚珠・胚培養では、落莢胚珠内の接合期、球状胚および若い子葉胚を含む胚珠の培養をMS培地(Murashige and Skoog 1962)で培養し、胚珠の発育には成功したものの発芽種子を得るには至らなかったが、落莢胚の救済の可能性を見出した。
10. 裂開前の莢より得た種子を無菌水のみで培養したところ、すべて発芽し、幼苗を得た。この幼苗は継代培養をしないで子葉が肥大成長し、蔓も著しく伸長し、2年間以上生存し続けた。このことから継代培養を繰り返すことにより、さらに長期保存が可能であることを示した。以上の方法は短命種子であるヒスイカズラの繁殖と保存にとって、極めて有効であると考えた。また、種子からの幼苗育成法は自生地への復元作業を行う上で、極めて効率的であると考察した。

以上、本研究におけるこれらの結果は、ヒスイカズラのみならず、他の絶滅危惧植物の繁殖と保存にとっても多くの情報を与えるものと確信した。

Summary

Considerable numbers of wild plant species have been threatened with the extinction in late years, and their breeding and conservation have become the issues to be addressed. However, their basic information such as the modes of reproduction is not still in our hands at this moment. Thus, the modes of their reproduction and the methods of their conservation should be established as soon as possible. Jade Vine (*Strongylodon macrobotrys* A. Gray, Leguminosae, $2n=28$), which naturally grows only in the tropical rain forests in Philippines, has been feared to be on the verge of extinction in their native living areas due to its deteriorated environments. Although the species was introduced to botanical gardens in Japan around 1964, it was not recorded that the pods were naturally formed in greenhouses. Therefore, we have studied to elucidate its modes of reproduction and to establish the

methods for its breeding and conservation using the artificial fertilization and tissue culture techniques. The results are summarized as follows;

1. Jade Vine used in this study were provided from the cuttings which were derived from the seedlings introduced from Singapore to Koishikawa Botanical Garden, the University of Tokyo. They were planted in the tropical rain forest greenhouse of Tsukuba Botanical Garden, National Science Museum and were referred as TGB acc. no. 33040. They annually bloomed, but never produced any pods.

2. In the examination of floral organs and pollen fertility, no malformation was observed, suggesting that the infertility may not be caused by the malformation of reproductive organs.

3. Thus, the histological experiments in detail were performed on stigma before and after artificial self-pollination. As the results, it could be beared the pods. The important points are as follows; (a) It was observed that the pollen grains were deposited around the stigmas at flowering time. (b) The pollen grains appeared to be disturbed the approach to the papillae by dome-shaped cuticular layers which seemed to penetrate from papillae on the front edge of stigmas. (c) Breakdown of dome-shaped cuticular layers by finger-tapping helped the reach to papillae of the pollens.

4. A novel method of artificial pollination using the tripping allowed the reach to papillae of pollen grains by breakdown of dome-shaped cuticular layers without any damages of papillae. The pod formation was induced by this method.

5. In order to research the pollinators which are naturally fruited Jade Vine, the plants were planted in the tropical house of Nagasaki Bio-Park in which natural ecosystem is reproduced and maintained. Natural fruiting of Jade Vine was observed, the seeds pullulated and consequently produced their next generation. The scarlet parrot (*Eos bornea*) free-ranged in the greenhouse was assumed to be a pollinator for Jade Vine. These results suggested that the maintenance of natural ecosystem may be crucial for breeding of Jade Vine.

6. However, the pods started to abscise on first day after the pollination, most of them (99.2%) fallen on the 14th day, and finally, slight ones (0.05%) were remained without falling. It seems that the early dropping of Jade Vine fruits do not caused by the incomplete fertilization, because the development of ovules and embryos is normal.

The histological examination was conducted at the developmental stages of embryos in the pods which fallen 7th day through 23rd day after the artificial self-pollination. The results showed that the juvenile pods generally abscised at the zygote or early globular stages of embryo development. Thus, the process of fertilization was considered to be normal. In order to retain these gene pools of the embryos in fallen pods and to amplify their genetic variation, the ovules in fallen pods, which were obtained on the 16th day through 21st day after artificial self-pollination, were cultured. And then, the culture of the embryos in growing ovules (ovule-embryonic culture) gave the seedlings which were able to pot, suggesting the possibility that the embryos may be rescued from the fallen pods.

7. All seeds obtained by artificial self-pollination were potential to germinate. However, the occurrences of albinos were observed at high frequency (about 28%). It is likely that a heterozygous advantage has been maintained in wild populations of Jade Vine. Therefore, it was strongly suggested that natural pollinators are required for cross-fertilization to maintain their heterozygosity.

8. The Jade Vine grown from the seeds by artificial self-pollination bloomed by 4 years after the sowing. The florescent colors among 15 flowered individuals were divided into three types i. e., three darker, eight similar, and four fainter than their parents. The segregation indicated that the Jade Vine

are heterozygous and produces genetic variation in a subsequent generation, suggesting the possibility of selective breeding as a garden plant.

9. The tissue culture method was demonstrated to be useful for production of Jade Vine plantlets. Ovules harboring the zygotes, globular or young divot embryos were cultured in MS medium (Murashige and Skoog 1962). Although the early development was successful, its germination failed to be achieved. The possibility was found to rescue the embryos in fallen pods.

10. The young seeds obtained from the legumes before the dehiscence were cultured in sterile water. All of them germinated and their plantlets were obtained. They were growing with swelling of the cotyledons and remarkable elongation of the vines for more than two years without sub-culture. This indicates the possibility that Jade Vines may be preserved for a long time by repeated sub-cultures. It seemed that this method is exceedingly effective for breeding and conservation of Jade Vine, of which seed life is short. Also, this culture of plantlets from seeds was considered to be extremely useful for reintroduction of the plants to their natural habitats.

From the results described above, it was shown that this study provides the precious findings and information for breeding and conservation of other endangered plants as well as that of Jade Vine.

謝 辞

本報告をまとめるに当たり、原稿校閲の労をとっていただきました東京農業大学農学部教授平井八十一博士、同菊池文雄博士、同中田和男博士、同助教授天野実博士、財団法人進化生物学研究所所長故西田 誠博士ならびに国立科学博物館筑波実験植物園橋本 保元園長の諸先生方に対し、深く感謝申し上げます。

また、この研究を行うに当たり終始あらゆる面で御指導いただきました東京農業大学名誉教授・財団法人進化生物学研究所理事長故近藤典生博士、ならびに国立科学博物館筑波実験植物園元園長黒川 道博士、元東京農業大学農学部山本三夫教授、茨城大学農学部教授丸橋 巨博士、財団法人進化生物学研究所吉田 彰研究員、東京農業大学農学部本橋 強講師らからは有意義な御意見をいただき、厚くお礼申し上げます。

本実験の遂行に当たっては国立科学博物館筑波研究資料センター前畑安宏元所長、筑波実験植物園手塚映男元園長、同矢野義治元園長、同園組織培養施設の石川千代子、足立美知子さん、ならびに同園の職員の皆様、および茨城大学農学部植物資源研究室の尾辻幸枝、上野 修修士の皆様に多大なるご協力をいただき深く感謝いたします。

さらに、ミニ生態系のモデル温室における自然結莢に関する実験では、長崎バイオパークの熱帯館の使用許可を下された津村信行社長、および多大なるご協力をいただいた長崎バイオパーク園長小竹 隆氏および職員の皆様に、ここに記して心より深謝をいたします。

参 考 文 献

- Andrews, S. and G. Lewis, 1984. Plant in Peril, 3. The Kew Magazine 1: 188-190.
Armstrong, J. M. and W. J. Whites, 1935. Factors influencing seed-setting in alfalfa. J. Agr. Sci. 25: 161-179.
Arroyo, M. T. K., 1981. Breeding systems and pollination biology in Leguminosae. In Polhill, R. M. and P. H. Raven (eds), Advances in Legume Systematics 2: 723-769. Royal Botanic Gardens, Kew.
Bailey, H. G., 1976. Hortus Third. Macmoran Publishing Co., Inc.: p.1082. New York.
Baillon, M. H., 1870. *Strongylodon*. In Histoire des Plantes 2: 247.

- , 1883. *Chadsia*. Bull. Mons. Sov. Linn. Paris 1: 391.
- Bentham, G. and J. D. Hooker, 1865. *Strongylodon*. In *Genera Plantarum* 1: 532.
- Dickerson, R. E., 1928. Distribution of Life in the Philippines. Bureau of Printing, Manila.
- Davis, J. R. A., 1908. Handbook of Pollination 2: 269-273. The Clarendon Press, Oxford.
- 江原 薫, 1950. 飼料作物学. 養賢堂・東京, pp. 275-282.
- Everett, T. H., 1980. The New York Botanical Garden Illustrated Encyclopedia of Horticulture 10. Garden Publishing, Inc. p.3252-3254.
- Faegri, K. and L. van der Pijl, 1979. The Principles of Pollination Ecology. 3rd revised ed., Pergamon Press, Oxford.
- Goldblatt, P. and G. Davidse, 1977. Chromosome number in legumes. Ann. Missouri Bot. Gard. 64: 121-128.
- , 1981a. Cytology and the Phylogeny of Leguminosae. In Polhill, R. M. and P. H. Raven (eds.), Advances in Legume Systematics 2: 427-463. Royal Botanic Gardens, Kew.
- , 1981b. Chromosome numbers in Legumes II, including documentation for several first reports for genera as cited in advances in legume systematics. Ann. Missouri Bot. Gard. 68: 551-557.
- Gunn, C. R. and J. W. Dennis, 1976. World Guide to Tropical Drift Seeds and Fruits. A Demeter Press, Quadrangle, New York.
- Guppy, H. B., 1912. Studies in Seeds and Fruits. An Investigation with the Balance. Williams and Norgate, London.
- Heywood, V. H. and S. N. Stuart, 1992. Species Extinction in Tropical Forests. In Whitmore, T. C. and J. A. Sayer (eds.), Tropical Deforestation and Species Extinction. pp. 91-117, Chapman & Hall, London.
- Huang, S. F., 1991. *Strongylodon* (Leguminosae-Erythrinae), a Revision of the Genus. Wageningen Agricultural University Press, Wageningen.
- Hutchinson, J., 1964. Leguminosales. In *Genera of Flowering Plants*. p. 221-489.
- 岩槻邦男, 1994. 生物の種多様性. 裳華房・東京.
- ・下園文雄, 1989. 滅びゆく植物を救う科学—ムニンノボタンを小笠原に復元する試み—. 研成社・東京.
- Jost, L., 1907. Über die Selbststerilität einiger Blüten. Bot. Zeit. 65: 77-117.
- Juncosa, A. M. and B. D. Webster, 1989. Pollination in *Lupinus nanus* ssp. *latifolius* (Leguminosae). Amer. J. Bot. 76: 59-66.
- 小西達夫・丸橋 巨, 1989. ヒスイカズラ (*Strongylodon macrobotrys* A. Gray) の繁殖. 育種学雑誌39 (別冊 1): 214-215.
- , 1990. ヒスイカズラ (*Strongylodon macrobotrys* A. Gray) の人工受粉による種子形成. 日本植物園協会誌24: 36-46.
- , 1991. ヒスイカズラの増殖. 日本植物園協会誌25: 10-13.
- ・本橋 強・天野 実・平井八十一, 1997. *Pelargonium* 属 (フウロソウ科) 植物の稀産種数種の葉片培養. 育種学雑誌42 (別冊 2): 120.
- Konishi, T., W. Marubashi and Y. Otuji, 1993. Reproductive system of Jade Vine and its propagation through embryo rescue. XV International Botanical Congress Abstracts. p. 321.
- Knuth, P., 1908. Handbook of Flower Pollination. The Clarendon Press, Oxford.
- Lackey, J. A., 1980. Chromosome numbers in Phaseoleae (Fabaceae: Faboideae) and their relation to taxonomy. Amer. J. Bot. 67: 595-602.
- , 1981. Systematic significance of the epiphillum in Phaseoleae (Fabaceae, Faboideae). Bot. Gaz. 142: 160-164.
- 宮脇 昭, 1988. 緑と人間の文化. 東京書籍・東京.
- Murashige, T. and F. Skoog, 1962. A received medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.
- Neal, M. C., 1965. In Garden of Hawaii. Bishop Museum Press, Honolulu. p. 461.
- 尾辻幸枝・丸橋 巨・小西達夫, 1990. ヒスイカズラ (*Strongylodon macrobotrys* A. Gray) の繁殖. 胚珠及び幼胚からの不定胚誘導. 育種学雑誌40 (別冊 2): 66-67.
- ・———, 1991. ヒスイカズラの未熟胚切片からの茎葉と根の分化. 育種学雑誌41 (別冊 2): 318-319.
- Pancho, J. V., 1955. Jade-Vine from the Philippines. Baileyana 3: 68-69.
- Polhill, R. M., 1972. *Strongylodon macrobotrys*. Curtis's Bot. Mag. 179: t. 627.
- プリマック, R. B.・小堀洋美, 1997. 保全生物学のすすめ. 文一総合出版・東京. p. 13-99.
- Raven, P. H., 1987. The scope of the plant conservation problem worldwide. In Bramwell, D., O. Hamann, V. Heywood and H. Synge (eds.), Botanic Gardens and the World Conservation Strategy. Academic Press, London. p. 12-29.
- Reid, W. V., 1992. How many species will there be? In Whitmore, T. C. and J. A. Sayer (eds.), Tropical Deforestation and Species Extinction. Chapman & Hall, London. p. 55-73.
- Ridley, H. N., 1930. The Dispersal of Plants Throughout the World. L. Raevé and Co., Ltd., Ashtord, Ken.
- 下園文雄, 1989. ヒスイカズラに温室で実を稔らせた. プランタ 1: 25-29.
- 総務庁行政監察局 (編), 1993. 絶滅のおそれのある野生動植物の保護対策の現状と展望. 大蔵省印刷局・東

- 京. pp. 1-229.
- Smith, A. C., 1985. *Strongylodon*. In *Flora Vitiensis Nova* 3: 205-209.
- Taubert, P., 1894. Leguminosae. In Engler, A. and K. Prantl (eds.), *Naturliche Pflanzenfamilien* III (3): 70-385.
- 上野 修・丸橋 亘・小西達夫, 1994. ヒスイカズラの embryonic axes からのマルチプルシュートの形成. 育種学雑誌41 (別冊 2): 63.
- Verdcourt, B., 1979. A Manual of New Guinea Legumes. Office of Forest Division of Botany Lae. Papua New Guinea. p. 429-432.
- 我が国における保護上重要な植物種および植物群落の研究委員会種分科会(編), 1989. 我が国における保護上重要な植物種の現状. 日本自然保護協会・東京.
- Washitani, I., H. Namai, R. Osawa and M. Niwa, 1991. Species biology of *Primula sieboldii* for the conservation of its lowland habitat population I. Interclonal variation in the flowering phenology, pollen load and female fertility components. *Plant Species Biology* 6: 27-37.
- , R. Osawa, H. Namai and M. Niwa, 1994. Patterns of female in heterostylous *Primula sieboldii* under severe pollination. *J. Ecol.* 82: 571-579.
- 矢原徹一, 1991. わが国における野生植物の現状. 日本植物園協会誌25: 3-5.