

マツ属の交雑育種に関する研究 (II)

クロマツ×アカマツ他数種類の種間交雑における
受精過程について

中井 勇・藤本 博次・稲森 幸雄

Studies on the cross-breeding of Genus Pinus (II)

On the process of fertilization in the interspecific pollination
of *Pinus thunbergii* Parl. with *P. densiflora* Sieb.
et Zucc. and other pine species

Isamu NAKAI, Hirotsugu FUJIMOTO and Yukio INAMORI

目 次

要 旨	31	結果および考察	33
まえがき	31	引用文献	35
材料および方法	32	Résumé	36

要 旨

本報告は *Pinus thunbergii* Parl. を雌性親とし、*Pinus densiflora* Sieb. et Zucc. 他数種類の種間交雑を行ない、それぞれの受精過程を組織学的に調べ検討したものである。

交雑は1968年京都大学農学部附属演習林上賀茂試験地で行なわれ、調査は受粉時から受精時まで、一定期間ごとに球果を採取固定し、永久プレパラートを作成し、胚珠の発達経過が検鏡された。

その結果、*P. thunbergii* の種内、*P. thunbergii* × *P. densiflora*、× *P. massoniana*、× *P. luchuensis* の種間では雌、雄性配偶体とも正常に発達し、種子の成熟時における調査では充実種子が得られた。しかし、× *P. banksiana*、× *P. pinaster*、× *P. rigida*、× *P. taeda* などの4組合せでは、雌性配偶体の発達は正常であったが、雄性配偶体の発達は不正常であり、このことが充実種子の得られない結果となった。

充実種子の得られなかった組合せの不稔現象は、受精過程の中で、もっとも早い時期に起り、花粉の不発芽や花粉管の伸長がまったくみられなかった。この現象については種々考えられるが、とくに、種類それぞれがもつ遺伝的要因、あるいは、化学的物質などのちがいが、花粉の発芽や伸長に対し、制御反応として働くためであろうと考えられる。

ま え が き

マツ属の種間交雑に関する研究は、すでに Duffield,¹⁾ Little²⁾ その他多くの研究者によって行なわれ、比較的交雑が容易に成功する組合せと困難な組合せのあることが報告されている。

先に、筆者ら³⁾が行なった各種マツ属の種間交雑の結果でも交雑の難易性がみとめられた。その中で、*Pinus thunbergii* を雌性親とした *P. densiflora* 他6種の種間交雑の結果では、*P. thunbergii* × *P. densiflora*, × *P. massoniana*, × *P. luchuensis* などの組合せ交雑は比較的少量の充実種子が得られ、交雑が容易であることがわかり、かつ、雑種検定の結果明かに F₁ 雑種であることがみとめられた。しかし、× *P. banksiana*, × *P. pinaster*, × *P. rigida*, × *P. taeda* などの組合せ交雑では、ほとんど充実種子が得られず、交雑が困難な組合せであることがうかがわれた。

このように、マツ属の種間での交雑の難易性の現われについて、Buchholz⁶⁾, McWilliam⁷⁾ その他多くの研究者らは、各種組合せ交雑における受精過程を胚珠の組織学的な面から観察し、不稔現象の起る経過をくわしく調べ、また、Kriebel⁸⁾, 橋詰^{9,10)}, 工藤¹¹⁾らは不稔となる化学的な諸要因を調べている。

本研究では、先に明かになった *P. thunbergii* × *P. densiflora* 他6種類の種間交雑での交雑の難易性を、胚珠の発達過程から究明しようとした。とくに、種間交雑が困難であった組合せにおける不稔現象は胚珠の発達過程の中のどの時点で起るかについて明かにしようとしたものである。

本研究は上賀茂試験地における外国産マツ属の育成に関する調査研究の一環として行なわれたものであり、本稿のとりまとめに際し、渡辺政俊氏のご協力を得、また、常にご協力を得た当該試験地の職員諸氏に感謝いたします。

材料および方法

本研究では、*P. thunbergii* Parl. を雌性親とした各種の組合せ交雑における受精過程を組織的に調査することを目的としているが、胚珠の発達経過は母樹間で異なることが予測された。そのため、胚珠の発達経過のちがいをできる限り少なくすることから、雌性親には特定の1母樹(G. 16号木)を選んだ。また、G. 16号木は非常に多くの雌花を着生する個体であり、本研究における全調査期間を通じての材料を採取するにはもっとも適当な個体であった。

交雑は *P. thunbergii* Parl. × *P. densiflora* Sieb. et Zucc., × *P. massoniana* Lamb., × *P. luchuensis* Mayr., × *P. banksiana* Lamb., × *P. pinaster* Ait., × *P. rigida* Mill., × *P. taeda* Linn. の7種間と、これらを比較するため、*P. thunbergii* の種内の組合せについて行なった。

花粉は *P. thunbergii* の雌花の開花時とほぼ同時期に雄花の開花する *P. massoniana*, *P. banksiana*, *P. pinaster*, *P. taeda* などでは新鮮なものを用いた。一方、雄花の開花が上記の種類より遅れる *P. rigida*, *P. densiflora* については、前年度に採取し、貯蔵(デシケータ内)した花粉を用いた。また、*P. luchuensis* の花粉は、1966年琉球大学から送られたものを同年、当試験地で貯蔵し、実験に供した。用いた各種マツ属の花粉は受粉時に寒天床で発芽試験が行なわれ、その結果、それぞれの花粉とも80%前後の発芽がみられた。

受粉は *P. thunbergii* の受粉適期⁴⁾と思われた1968年4月29日から5月1日までの3日間、1日、3回づつ行ない、雌花の開花の遅速による影響を補った。交配袋の除去は *P. thunbergii* の花粉飛散が終了したと思われる受粉後、1週間目の5月7日に行なった。

受粉から受精時までの胚珠の発達経過についての調査資料は表-1に示すとおり、受粉後一定期間ごとに、それぞれの組合せから10球果づつ採取した。採取した球果から、その中央部の鱗片を1球果当り10鱗片づつ取り出し、ブァン液で固定した。その後、水洗したのち、パラフィン誘導し、マイクロームで15~25 μ の連続切片をつくり、サフラニン、ファストグリーンによって染色し、カナダバルサムで封入、永久プレパラートした。

胚珠の発達経過の観察は受粉後30日目から受精時の428日目まで行なわれた。

Table 1. Program of collecting cones and days after pollination

Date of collected cones	Days after pollination	Date of collected cones	Days after pollination	Date of collected cones	Days after pollination
1968. 1. May	pollination	26. Mar.	328	22. Jun.	416
1. Jun.	30	26. Apr.	359	24. "	418
1. Jul.	60	15. May	378	26. "	420
29. "	88	30. "	393	28. "	422
29. Aug.	119	4. Jun.	398	30. "	424
27. Sep.	148	7. "	401	2. Jul.	426
27. Oct.	178	10. "	404	4. "	428
26. Nov.	208	13. "	407	6. "	430
26. Dec.	238	16. "	410	8. "	432
1969. 25. Jan.	268	18. "	412	11. "	435
24. Feb.	298	20. "	414	14. "	438

結果および考察

各種組合せ交雑における胚珠の発達経過をみるため、まず、*P. thunbergii* の種内交雑、自然交雑での胚珠の発達経過を調べて置く必要がある。*P. thunbergii* の自然交雑における胚珠の発達経過は、本研究で用いた雌性親を材料として、中井が明かにしている。その結果は本研究での種内交雑における結果とほとんど同様であった。そのため、種内交雑（写真-1）での胚珠の発達経過と自然交雑での結果を併せると次のような傾向がみられた。

すなわち、受粉後30日目の6月1日には、胚のう母細胞は胚珠の深部において、その周りには栄養分に富んだ海綿状組織がこれをかこみ、受粉後148日目の9月27日までの期間では、胚のう母細胞は次第に分裂をくりかえし、胚のうの中心部は空胞化が進んでいる。受粉後178日目の10月27日、208日目の11月26日頃には、遊離核が空胞化した胚のうの側壁に一定間隔を保ちながら附着している様子がみられる。受粉後238日目の12月26日および268日目の1月25日頃には隔膜が形成し、核分裂が胚のうの中心部に向って拡大し、398日目の6月4日頃には胚乳体が形成された。その後、珠孔側の1細胞が造卵器細胞として分化する。さらに、受粉後404日目の6月10日頃には造卵器が形成されつつある。その後の胚珠の発達経過は、写真-1でみることは出来ないが、受粉後418日目の6月24日頃までに、中心細胞が分裂し、卵細胞と腹溝細胞に分れ、卵細胞は造卵器の中央部に移動し、成熟卵細胞に発達した。こうした雌性配偶体の発達経過は上田らの報告とほぼ一致している。一方、花粉は、受粉後30日目の6月1日には珠心上部の花粉室で発芽し、わずかに花粉管の伸長がみられるようであった。山本、福原らによれば、花粉は花粉室で発芽し、花粉管細胞は花粉管の先端に移動し、この状態で1年間休眠すると説明している。筆者らの観察では、花粉室で発芽した花粉は、その後休眠しているのか、あるいは緩慢ながら伸長を続けているのかは、明瞭な標本が得られなかったので十分検討出来なかった。花粉管の急激な伸長のみられたのは、受粉後404日目の6月10日頃であり、受粉後418日目の6月24日には花粉管は珠心を貫通し、受粉後418日目の6月24日頃には造卵器内に侵入しているのがみられた。これはおそらく受精直前かと思われた。しかし、本研究ではその後の経過を観察するための十分な標本が得られなかったため、受精時期やその後の発達について、観察出来なかったが、おそらく、受精は6月下旬から7月上旬にかけて完了するものと思われた。

種間交雑では *P. thunbergii* × *P. densiflora* (写真-2)、× *P. massoniana* (写真-3)、× *P. luchuensis* (写真-4) の3組合せは、雌、雄性配偶体とも、その発達経過には多少の遅速がみられるものの、*P. thunbergii* の種内交雑とほぼ同様の経過を辿って発達しているようであった。しかし、× *P. banksiana* (写真-5)、× *P. pinaster* (写真-6)、× *P. rigida* (写真-7)、× *P. taeda* (写真-8) な

どの雌性配偶体は上記の組合せの場合と同様の経過を経て発達したが、雄性配偶体、すなわち、花粉の発芽、花粉管の伸長像がみられなかった。

それぞれの組合せにおける雌性配偶体の発達経過は、多少の遅速をとまなうものの、およそ次のような傾向がみられた。すなわち、遊離核が胚の側の側壁に付着する時期は、受粉年の10月下旬から12月下旬であり、隔膜形成時期は11月下旬から受粉翌年の1月下旬までの期間で、各組合せともかなりの隔たりがみられた。また、胚乳体の形成は受粉翌年の5月下旬から6月上旬頃、造卵器の形成は6月上旬、中心細胞の液胞化は6月中旬にみられ、各組合せによるそれぞれの時期は比較的接近していた。

一方、花粉の発芽や花粉管の伸長のみられた組合せでは、受粉翌年の6月下旬には花粉管は珠心を貫通し、6月の下旬から7月上旬までに造卵器内に侵入するようであり、各組合せごとの発達経過には顕著な差はみられなかった。

本研究では、受粉翌年の6月下旬までの胚珠の発達経過についての観察結果が大部分であり、受精時から種子形成にいたる経過については観察されなかった。そのため、種子の成熟時（10月）に種子形成の有無や種子稔性について調べた。その結果は表-2に示すとおりである。これによってもわかるように、各組合せ交雑中、充実種子の得られた組合せは、*P. thunbergii* の種内交雑と、*P. thunbergii* × *P. densiflora*, × *P. massoniana*, × *P. luchuensis* であり、× *P. banksiana*, × *P. pinaster*, × *P. rigida*, × *P. taeda* ⁴⁾ などの組合せではまったく充実種子は得られず、種間交雑の難易の傾向が明らかに示され、中井らが先に行なった結果と同様の傾向を示した。

Table 2. Result of fertilization in intra and interspecific pollinations among *Pinus thunbergii* with *P. densiflora* and other pine species

Combinations	Items	Collected cones	Obtained total seeds	Produced full seeds	Produced empty seeds	Full seeds per cone	Percentage of full seeds per total seeds (%)	Seed fertility (%)
<i>P. thunbergii</i> × <i>P. thunbergii</i>		17	819	665	154	39.1	81.20	24.00
"	× <i>P. densiflora</i>	21	705	143	562	6.8	20.28	4.18
"	× <i>P. massoniana</i>	29	1289	294	995	10.1	22.81	6.22
"	× <i>P. luchuensis</i>	71	4614	875	3739	12.3	18.96	7.56
"	× <i>P. banksiana</i>	42	666	0	666	—	—	—
"	× <i>P. pinaster</i>	27	1151	0	1151	—	—	—
"	× <i>P. rigida</i>	17	744	0	744	—	—	—
"	× <i>P. taeda</i>	81	180	0	180	—	—	—

充実種子の得られた × *P. densiflora* 他の2種間交雑では *P. thunbergii* の種内交雑や自然交雑での雌、雄性配偶体の発達とほぼ同様の経過を辿った。いいかえれば、これらの種間交雑では完全に受精が行なわれ、その後の発達も順調であったことを裏付けた。しかし、他の4種間交雑のようにまったく充実種子の得られなかったことは、花粉の発芽や花粉管の伸長のみられなかったことにより、明かに受精にいたらなかったことを示した。

こうした種間交雑の不稔現象については多くの研究報告がある。その中で、Buchholz⁶⁾ は受精しないのは花粉の発達が不十分なためであり、たとえ、胚珠が発達しても受精しないためシイナになる場合がある。さらに、受精したのち、初期の胚発生がおこなわれるが、その後の段階で胚が崩壊するとおべている。また、McWilliam⁷⁾ は交雑の不和合性について、*P. resinosa* × *P. nigra*, *P. nigra* × *P. rigida*, *P. resinosa* × *P. rigida* では、花粉管は珠心まで伸長したが、伸長の正常なものほとんどなく、また、*P. nigra* × *P. resinosa* では受粉2~4カ月後から翌春にかけて、胚¹³⁾の周辺の細胞の退化が始まり、珠心の崩壊、珠心の収縮が連続して起ったとおべている。上田らは、

交雑の可能なものと不可能なものとを組合せて交雑した結果、雌性配偶体の発達は両者とも受精前まで正常であったと報告し、Hagman¹⁶⁾らは *P. peuce* の種内、種間交雑を行ない、*P. peuce* × *P. cembra* では、受粉1年後の初期の段階での花粉管の生長は正常であったが、その後、緩慢になり停止するものがみられ、また、*P. peuce* × *P. koraiensis* では、胚は早い段階で崩壊したとのべている。Vidakovic¹⁷⁾らは *P. nigra* × *P. sylvestris* では花粉はまったく発芽しなかったと報告している。さらに、Kriebel⁸⁾は Soft pine で *P. strobus* × *P. cembra*, × *P. flexilis*, × *P. koraiensis* の交雑の結果、胚は生育不能な状態であったことから、明かにこの組合せでは不稔であるとのべている。これらの報告によると、不稔現象は雄性配偶体の初期の生育が不十分なために起る場合と、受精前後の段階で雌、雄性配偶体の崩壊によって起る場合とに大きく分けられる。本研究の結果では不稔であった組合せは雄性配偶体の生育が不十分なために起ったことは、前にものべたように明らかであった。

不稔となる原因については種々考えられているが、Kriebel⁸⁾は交雑の不親和性は花粉の不正常な発達によるものであって、正常に発達している胚の生育を妨げ、胚珠の崩壊をもたらしものだと考え、これは胚珠内の化学的な物質のちがいによるものだとした。その化学的な物質として、アミノ酸の濃度のちがいであろうとし、中でも、アルギン酸の存在が花粉の正常な代謝作用を妨げるようであり、さらに受精のタイミングやパターンは遺伝的な相違によって影響されるであろうことを指摘している。また、Mikkola¹⁸⁾は遺伝的にアンバランスな状態であるからだと考えている。

これらの不稔性についての生理的な解明は困難であるが、福原¹⁵⁾、山本¹⁴⁾、勝田¹⁹⁾らが指摘しているように、珠心の細胞、組織が異種の花粉の発芽、花粉管の生長を制御する機能をもっている可能性が考えられる。したがって、花粉自体の遺伝子によって制御された物質、あるいは、珠心組織の物質との相互作用によって起るのかも知れない。また、種間交雑^{20, 21, 22)}で成功した組合せにあっても、種内交雑にくらべ、種子稔性が極度に低下していたことは、Hyun²⁰⁾らの指摘と同様に、受粉後、間もない時期や受精前後において不稔現象が生じた結果と考えられる。

以上、*P. thunbergii* を雌性親とした数種類の組合せ交雑における受粉から受精までの胚珠の発達経過や種子形成の有無などについて、これまでに発表された多くの研究成果を参考にしながらのべてきた。その結果、交雑の難易性を胚珠の発達経過からみると、交雑が困難な組合せでは、ごく初期に不稔現象の起ることが明かとなった。今後、多くの種間交雑における交雑の難易性について、胚珠の発達経過を組織的に観察し、不稔現象の起る経過を引き続き調査する予定である。

文 献

- 1) DUFFIELD, J. W.: Relationship and species hybridization in the genus pinus. Zeitsch. Forstgen u. Forstflanz. 1, 93~97, 1952
- 2) LITTLE, ERBERT, L., JR. and F. I. RIGHTER: Pine hybrid. U.S. Department of Agriculture Forest Service. No. 1345, 1~47, 1965
- 3) 中井 勇: マツ類の種間交雑について, 林木の育種, 55, 3~5, 1969
- 4) 中井 勇, 藤本博次, 稲葉幸雄, 伊佐義朗, 佐野宗一: マツ類の交雑育種に関する研究(1), クロマツの種内交雑ならびに他のマツ類数種との種間交雑の可能性, 京大演報, 39, 125~143, 1967
- 5) 中井 勇: マツ類の交雑育種に関する研究, クロマツ×アカマツおよびクロマツ×タイワンアカマツ雑種苗木の早期検定の指標について, 京大演集報, 10, 20~34, 1972
- 6) BUCHHOLZ, J. T.: The cause of sterility in cross-pollination between certain species of pines. Am. Jour. Bot. 31(8). Suppl. 2s. 1944
- 7) McWILLIAM, J. R.: Interspecific Incompatibility in Pinus. Am. Jour. Bot. 46, 425~433, 1959
- 8) KRIEBEL, H. B.: The timing of the incompatibility reaction in interspecific crosses of *P. strobus* L. Proc. XIV IUFRO Kongress, München VIII Section 22, 77~87, 1967

- 9) 橋詰隼人, 近藤芳五郎: 林木の受精機構に関する研究(I), アカマツの生殖器官に存在する花粉管生長抑制物質, 日林誌, 44(2), 43~48, 1962
- 10) 橋詰隼人, 近藤芳五郎: 林木の受精機構に関する研究(II), クロマツの生殖器官に存在する花粉管生長抑制物質, 鳥農学報 XIV, 93~97, 1962
- 11) 工藤 弘: 花粉の発芽抑制について(IV), 日林講, 87, 63, 1976
- 12) 中井 勇: クロマツの球果と胚珠の発達について, 日林誌, 57(7), 228~230, 1975
- 13) 上田弘一郎, 吉川勝好, 稲葉幸雄: マツ類の種間交雑における受精について(II), 京大演報, 33, 137~155, 1961
- 14) 山本千秋: 林木の種間交雑における受精の組織的研究, 第2回林木育種研究談話会, 林木の育種, 64, 12~17, 1970
- 15) 福原楯勝: 交雑親和性, 林木の育種, 61, 17~20, 1970
- 16) HAGMAN, M. and L. MIKKOLA: Observation on cross-, Self-, and interspecific pollination in *Pinus peuce* Griseb. Silv. Genet. 12, 73~79, 1963
- 17) VIDA KOVIC, M., and B. JURKOVIC-BEVILACQUA: Observation on the ovule development following cross pollination between Austrian and Scots pines. IUFRO. Section 22, working group and sexual reproduction of forest trees. Varparata, Finland. 1970
- 18) MIKKOLA Lauri: Observation on interspecific sterility in *Picea*. Ann. Bot. Fenn. 6, 285~339, 1969
- 19) 勝田 柁: 林木の種間交雑における不稔性—Knox らの研究を中心として—林木の育種, 85, 11~13, 1974
- 20) HYUN, S. K. and K. B. YIM: On the fertilization in the crossings of *Pinus rigida* with *P. taeda*, *P. rigida* and *P. elliotii*. Proc. World Cons. For. Gen. Tree Impr. FAO/Forgen 63, 26/3, 1~10, 1963
- 21) HYUN, S. K. and K. B. YIM: On the fertilization in the interspecies crossing of *Pinus rigida* × *P. taeda*, *P. rigida* × *P. radiata*, *P. rigida* × *P. elliotii*. Seoul Univ. Jour. (B), 12, Aug., 9~19, 1963
- 22) HYUN, S. K. and B. S. LEE: A study of fertilization in the cross of *P. rigida* with *P. taeda* and *P. radiata*. Res. Rept. Office Rural Develop. 7, 2 (Swan, Korea), 53~61, 1964

Résumé

This paper discusses the results of microscopic examination on the histological process of fertilization by the interspecific cross pollination in the combinations of *Pinus thunbergii* Parl. with *P. densiflora* Sieb. et Zucc. and several pine species.

The work of pollination was carried out in 1968 at Kamigamo Experimental Forest Station of Kyoto University. In order to make clear the process in the development of ovule, the strobili were collected at definite intervals, then they were fixed by bouin's fluid. Ovules were cut to serial sections by rotary microtome and they were fixed as permanent preparation by usual method.

As the results of anatomical examination on the development of ovule, female and male gametophytes were normal to develop in the intraspecific cross pollination of *P. thunbergii* × *P. thunbergii* as the control cross for this examination and in three interspecific pollinations of *P. thunbergii* × *P. densiflora*, × *P. massoniana* Lamb., × *P. luchuensis* Mayr.. Full seeds were obtained by these intra- and interspecific pollinations, when the seeds matured. It, therefore, means that both developments of male and female gametophytes have been normal.

By these pollinations in which male and female gametophytes developed normally, it was possible to grasp principal tendency toward the stage in the development of ovule, but with a little early or late among samples. It was, namely, observed that the endosperm was formed within late May to early June at about 400 days after pollination, then the archegonia was formed. And the egg cell was examined in late June at about 410 days after pollination. On the other hand, the path of the pollen tube through the nucellus was observed in late June at about 415 days after pollination and the pollen tube invaded into the archegonia in late June, so that the fertilization would be seen soon.

Contrary to above-mentioned, other four interspecific pollinations in the combinations of *P. thunbergii* × *P. banksiana* Lamb., × *P. pinaster* Ait., × *P. rigida* Mill. and × *P. taeda* Linn. did not produce any full seed. The failure in such combinations signifies that a development of male gametophyte within the term from pollination to fertilization was abnormal, despite a development of female gametophyte was normal. A sterile phenomenon in these pollinations, neither a pollen could germinate nor a pollen tube could elongate, was observed at very early time at one month after pollination. Although there will be various inferences in a reason of causing this sterile phenomenon, it seems that some genetic factors of specific characters or chemical difference between ovules of these species may be related to a control reaction for the germination of pollen or the elongation of pollen tube.

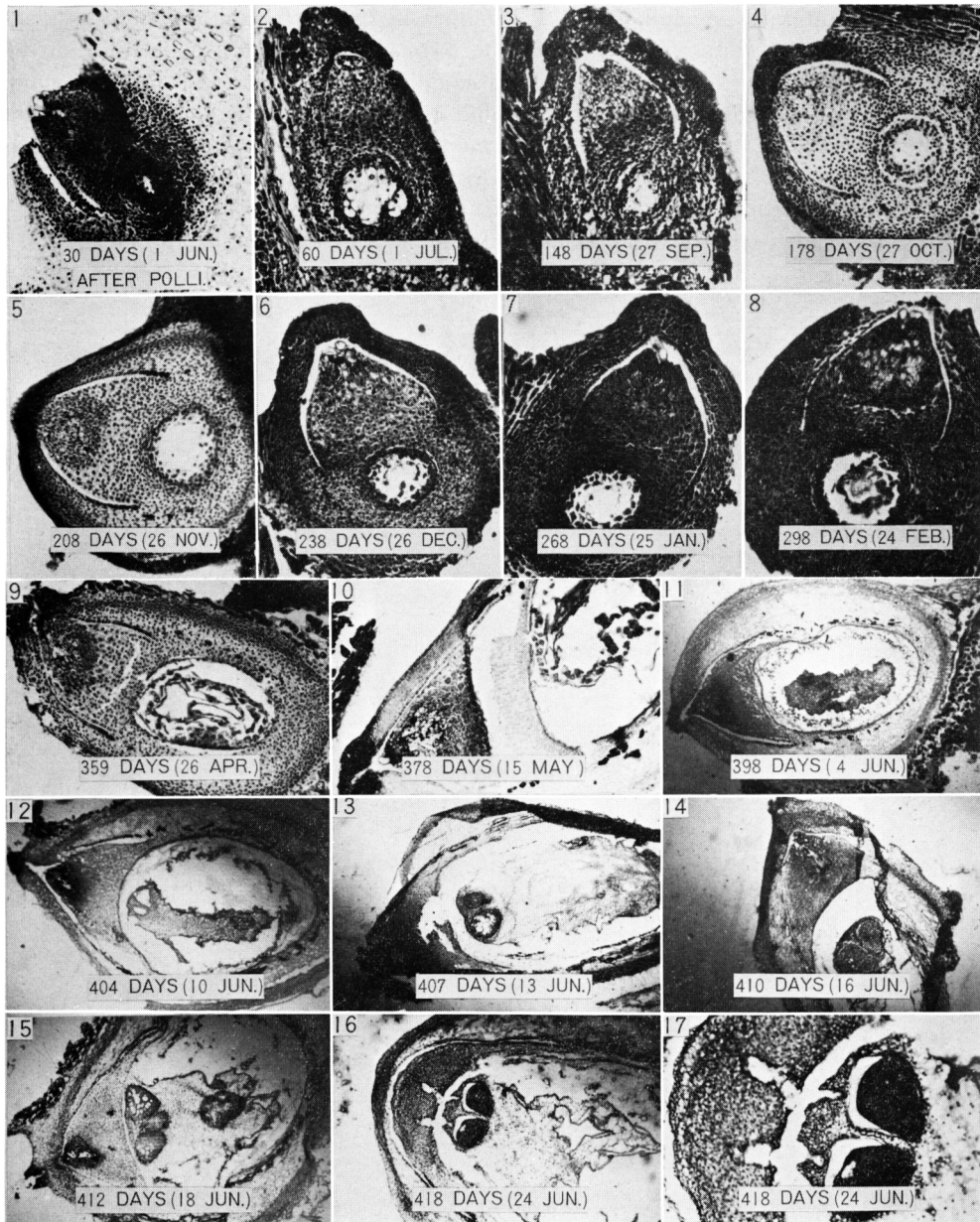


Plate 1 Development of ovules following the cross

Pinus thunbergii × *P. thunbergii*.

(1) Pollen grain germinating in nucellus. (4) A megaspore largely develops and free nuclear mostly adheres to the wall of megaspore. (5) Remarkable enlarging of megaspore more than (4) stage. (6) Slight growing of pollen tube in nucellus and septum forming by the wall. (10) Vigorous pollen tube growing in nucellus. (11) Endosperm forming in megaspore. (12) Forming of archegonium. (13) Development of enlarging archegonium. (16) and (17) Path of pollen tube through nucellus and shortly before the fertilization.

(Magnification; 1~10 and 17: ×50, 11~16: ×20).

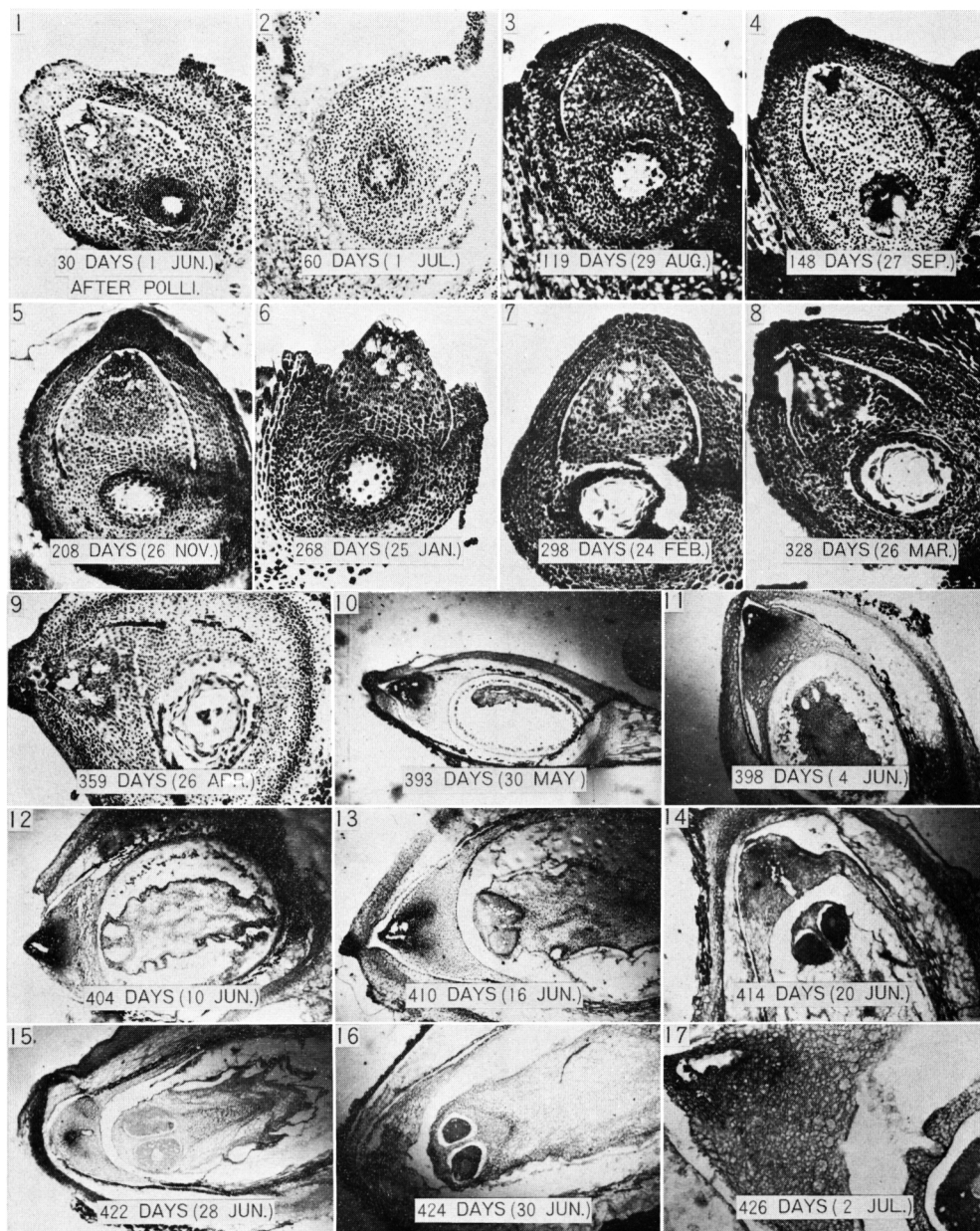


Plate 2 Development of ovules following the cross

P. thunbergii × *P. densiflora*.

(1) Pollen grain germinating in nucellus. (5) Free nuclear mostly adheres to the wall of megaspore. (6) Slight growing of pollen tube in nucellus and septum forming by the wall. (10) Formation of endosperm in megaspore. (11) Forming of archegonium. (13) Enlarging of archegonium. (14) The path of pollen tube through nucellus and the forming of egg cell. (16) Egg cell maturing in archegonia. (17) Shortly before the fertilization. (Magnification; 1~9 and 17: × 50, 10~16: × 20).

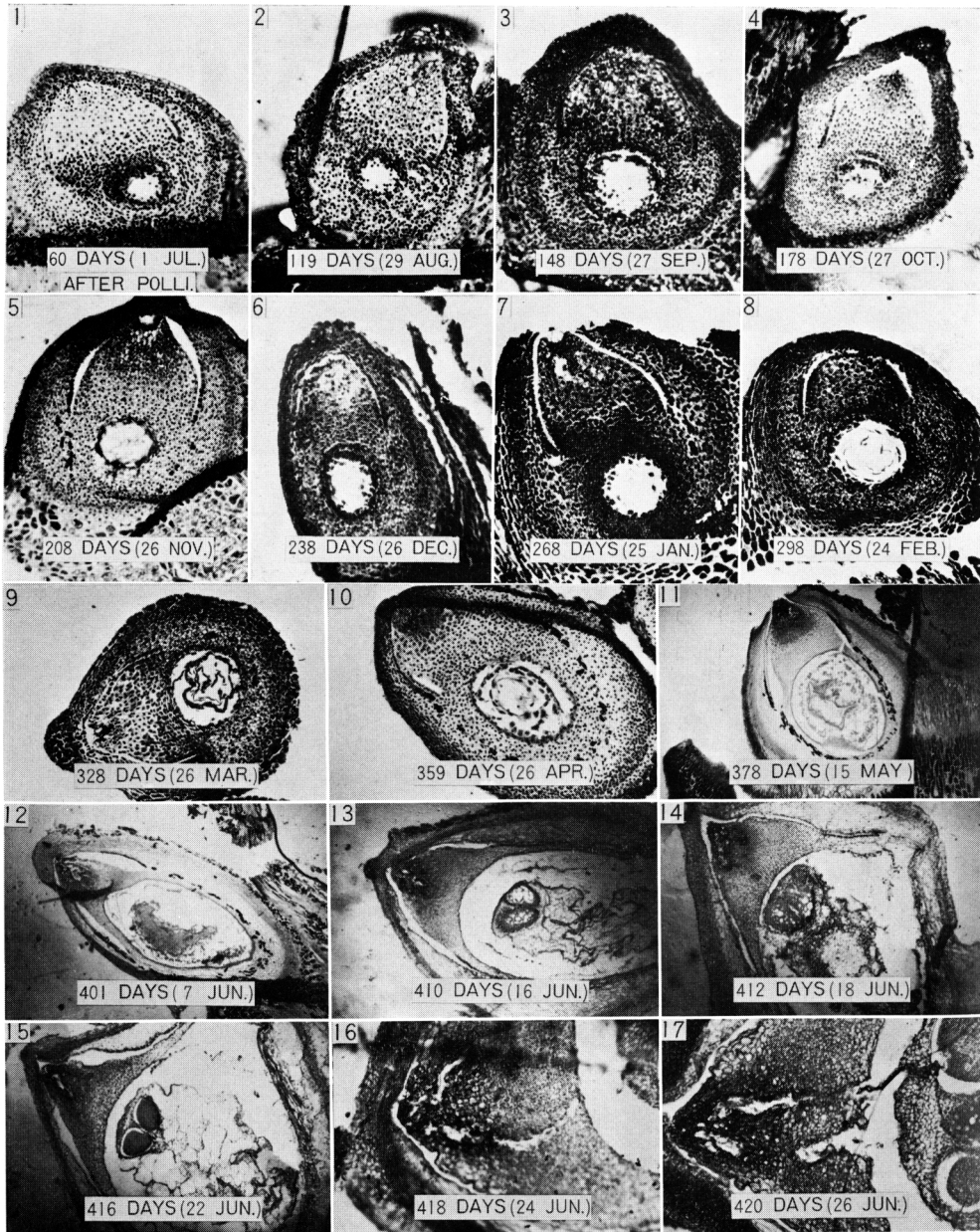


Plate 3 Development of ovules following the cross

P. thunbergii × *P. massoniana*.

(6) Free nuclear mostly adheres to the wall of megaspore. (7) Septum forming by the wall, the germination of pollen grain in nucellus and slight growing of pollen tube. (12) Forming of endosperm in megaspore. (13) Formation of archegonium. (16) Path of pollen tube through nucellus. (17) Shortly before the fertilization.

(Magnification; 1~10, 16 and 17: ×50, 11~15: ×20).

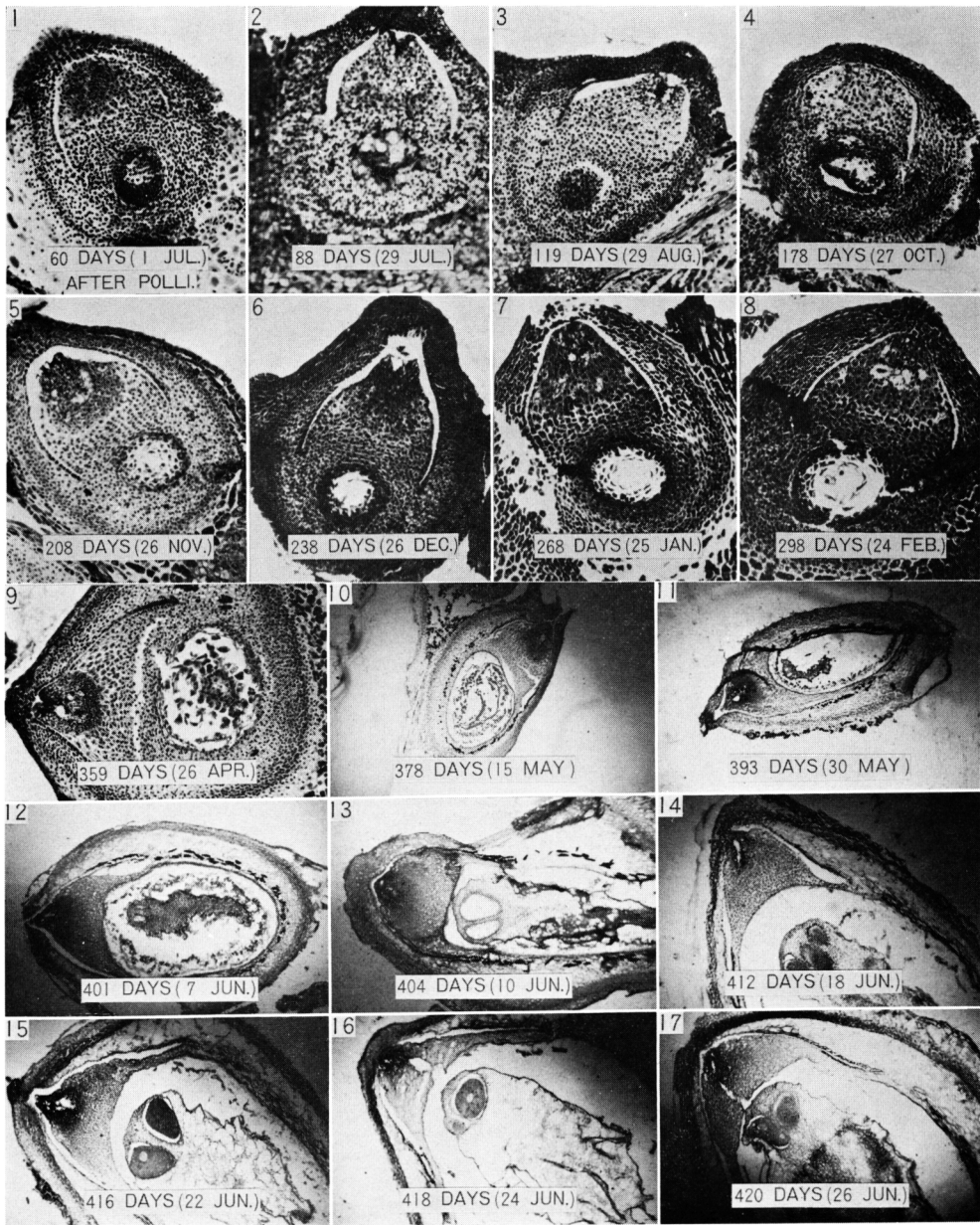


Plate 4 Development of ovules following the cross

P. thumbergii × *P. luchuensis*.

(5) Septum forming by the wall of megaspore. (11) Formation of endosperm in megaspore. (13) Archegonium forming in megaspore. (15) Egg cell forming in archegonia. (16) Path of pollen tube through nucellus. (17) Egg cell maturing in archegonia, shortly before the fertilization. (Magnification; 1~9: ×50, 10~17: ×20).

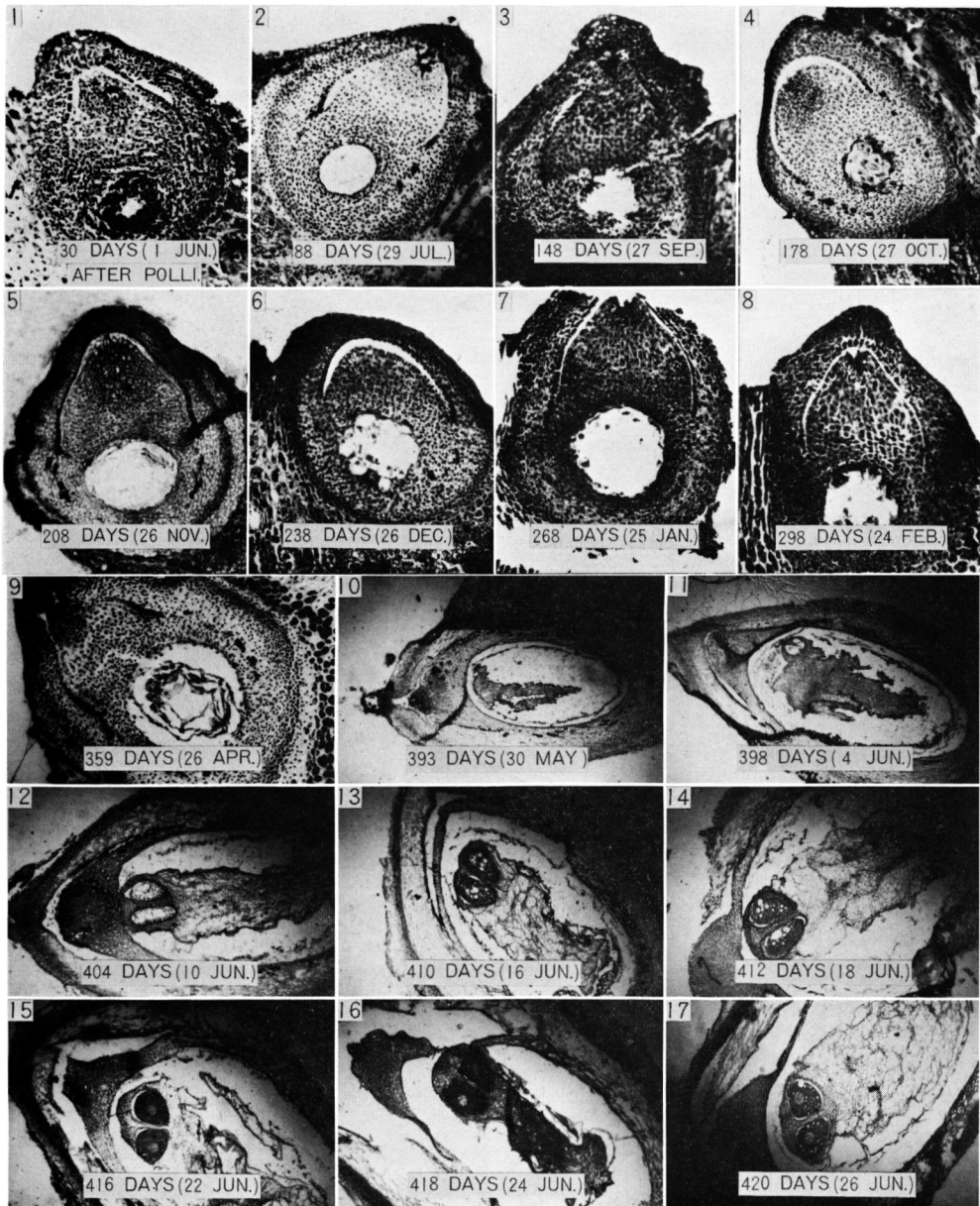


Plate 5 Development of ovules following the cross

P. thunbergii × *P. banksiana*.

(7) Formation of septum in megaspore. (10) Endosperm formed in megaspore. (11) Archegonium forming in megaspore. (15) Egg cells in archegonium. (17) Maturity of egg cells in archegonium, but no pollen tube is seen.

(Magnification; 1~9: × 50, 10~17: × 20).

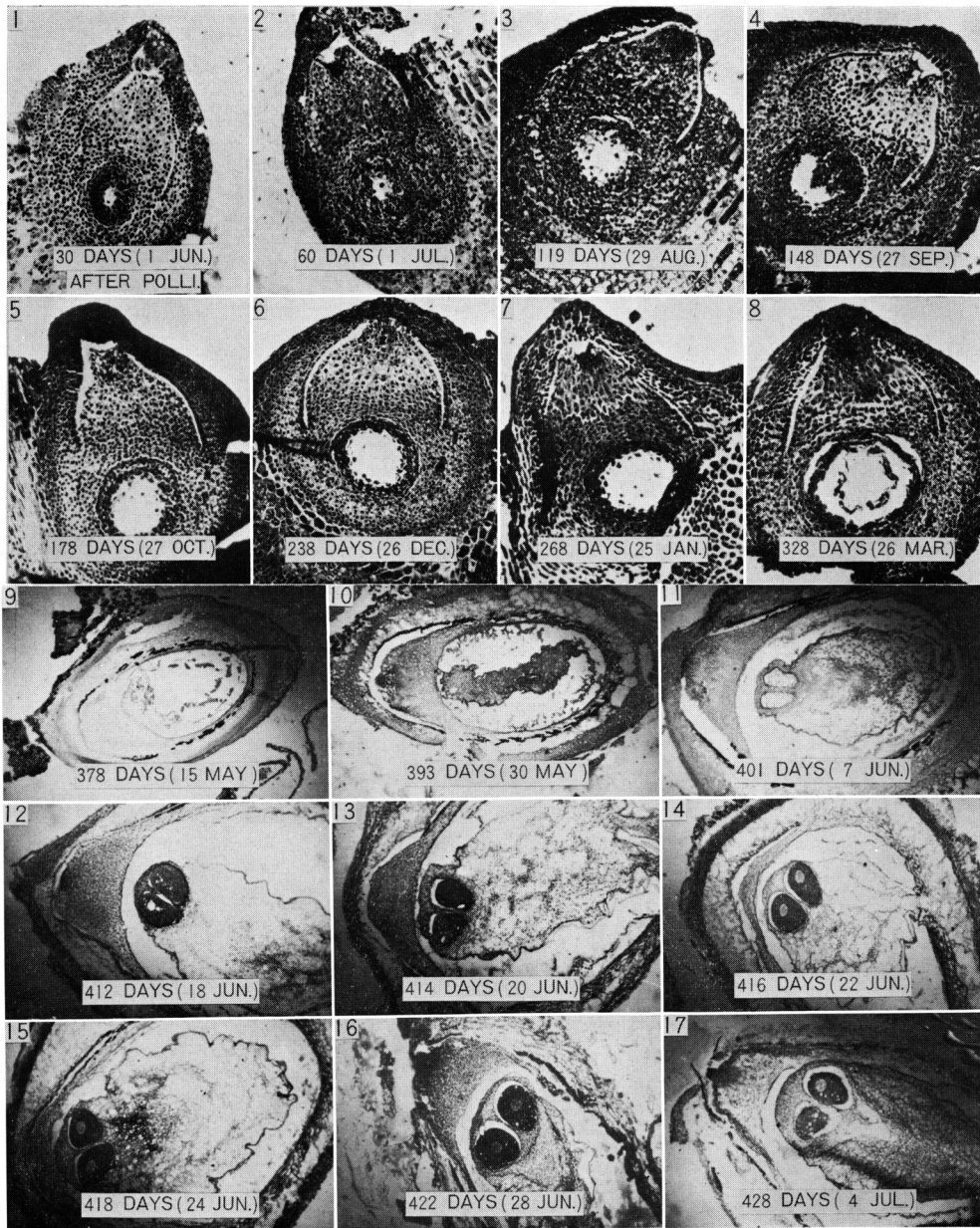


Plate 6 Development of ovules following the cross

P. thunbergii × *P. pinaster*.

(5) Free nuclear adheres to the wall of megaspore. (6) Septum forming by the wall. (10) Formation of endosperm in megaspore. (11) Archegonium forming in megaspore. (14) Egg cells forming archegonium. (16) Maturity of egg cells in archegonium, but no pollen tube is seen. (Magnification; 1~8: × 50, 9~17: × 20).

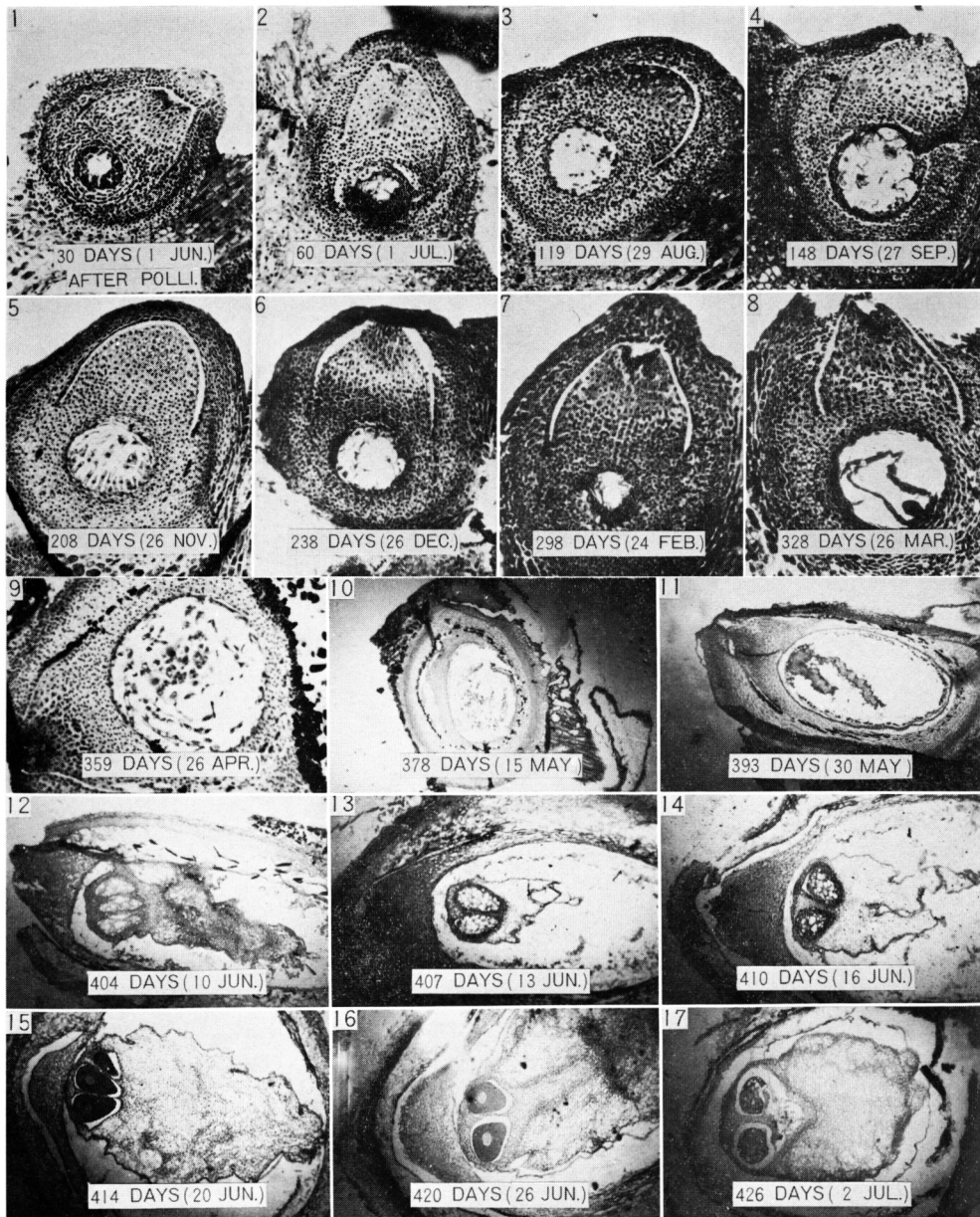


Plate 7 Development of ovules following the cross

P. thunbergii × *P. rigida*.

(5) Free nuclear with septum growing at the central position of megaspore. (11) Formation of endosperm in megaspore. (15) Formation of egg cells in archegonium. (16) Maturity of egg cells in archegonium, but no pollen tube is seen. (Magnification; 1~9: × 50, 10~17: × 20).

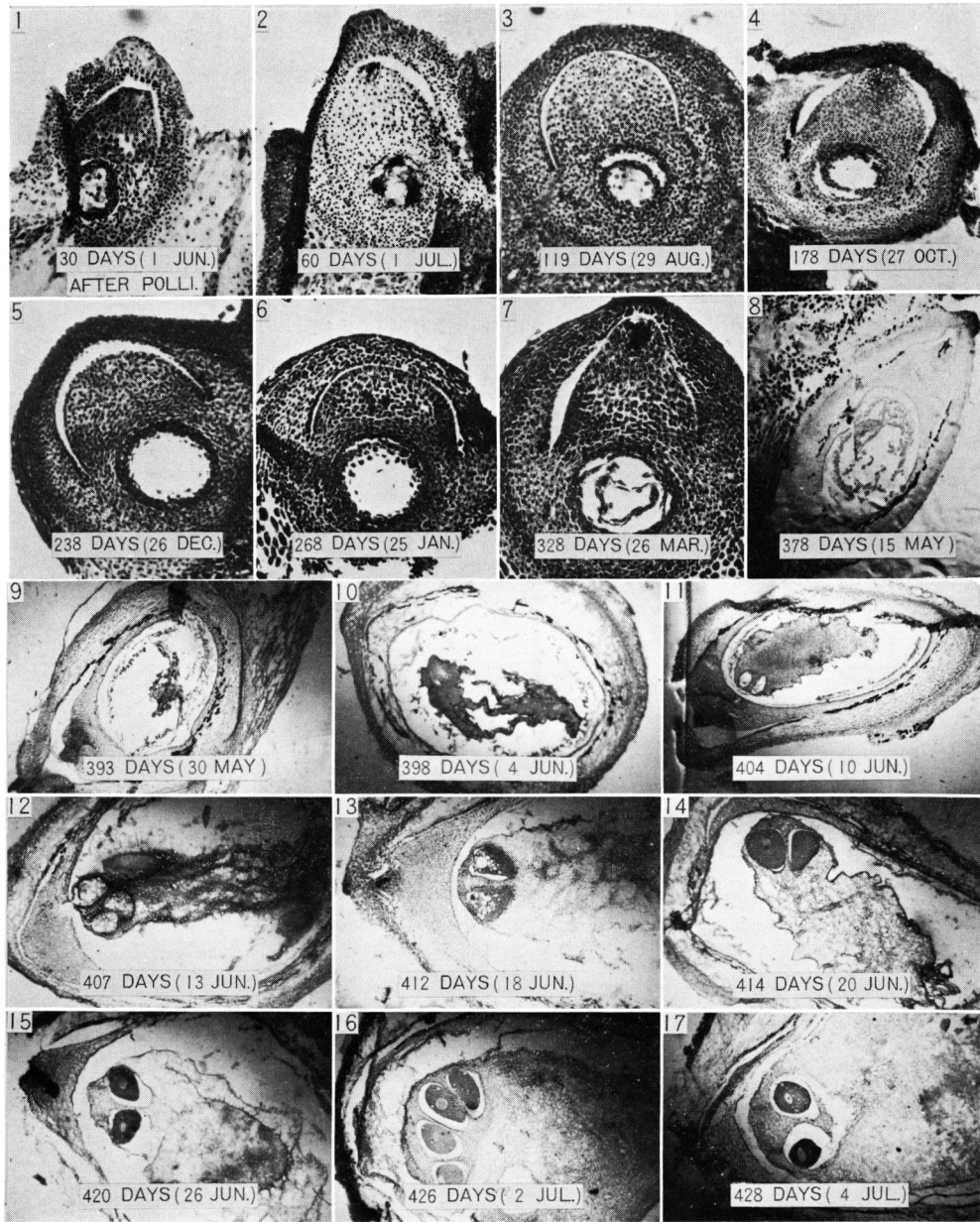


Plate 8 Development of ovules following the cross
P. thunbergii × *P. taeda*.

(5) Free nuclear adheres to the wall of megaspore. (6) Septum forming by the wall. (8) Slight growth of pollen tube in nucellus. (10) Formation of endosperm in megaspore. (11) Archegonium forming in megaspore. (14) Egg cell in archegonia. (16) Maturity of egg cells in archegonium, but no pollen tube is seen.

(Magnification; 1~7: × 50, 8~17: × 20).