

## 論 説

# 花粉の生理学的研究 XXIII

## (温度の異なる有機溶媒における花粉の貯蔵)

岩波 洋造\*・高梨 征雄\*\*

Physiological Research of pollen XX III

(Storage of pollen grain in organic solvent at various temperature)

Yozo IWANAMI\* & Ikou TAKANASHI\*\*

### まえがき

花粉は雄ずいの葯から出てくるときにかなり脱水状態にあり、その状態である期間自己の生命を保持することができる。この性質は花粉が母体から離れ、風や昆虫によって他の花の雌ずいに付着するときに役立っている。花粉の生命力の保存、すなわち花粉の貯蔵については古くから調査、研究が行なわれてきたが、それらの大部分は「花粉を乾燥させ、低温下におく」方法を用いている。乾燥して水分をうばったり、低温の下におかれると、花粉の生理機能が一時休止の状態に保たれるからであろう。<sup>1)2)3)</sup>

最近筆者らの一人岩波<sup>1)</sup>は、花粉をアセトン、エーテル、クロロフォルムなどの有機溶媒の液体中におくと、花粉の生命が保たれるだけでなく、しばしば新鮮な花粉よりも長い花粉管をのばすようになることを見出した。たとえばサザンカの花粉は、有機溶媒中に24時間つけておくと、花からとったばかりの花粉の3倍も長い花粉管をのばす。これらの溶媒につけた花粉は、単に発芽して花粉管をのばすだけでなく、生殖核を2つの精核に分裂させる。さらにこの花粉を雌ずいの注頭につけると種子を作り<sup>4)</sup>、果実をつくる<sup>3)</sup>。しかもこれらの種子は自然のものとまったく同時に発芽して植物体に育つ<sup>4)</sup>。

花粉の生命を保存できる有機溶媒の種類は、上記のもののほかベンゼン、石油ベンジン、石油エーテル、アミル・アルコール、ブチルアルコール、クロロフォルム、酢酸エチル、四塩化炭素、ペンタン、ピリジン、

キシロールなど二十数種類におよび<sup>5)</sup>、花粉以外でも、たとえば動物のブライン・シュリンプの卵がこれらの有機溶媒中でその生命を保持できることがわかってきた<sup>6)</sup>。

有機溶媒中で花粉の生命が保持されることの理由についてはまだ説明することはできないが、花粉の貯蔵、寿命の分断、雄性不稔も自家不和合性の消長、生命体の再成など、いろいろの分野から注目されている。

筆者らは今回、これらの問題の中で花粉の貯蔵に対する有機溶媒の影響について調べたので、予備的な実験ではあるが得られた結果について報告する。

### 1. 材料と方法

今回の調査に用いられた花粉は次の5種類で、いずれも開花時に採取したものをシリカゲルとともにプラスチックの容器に入れ、冷蔵庫中に2日～20日間おいたものを使用した。

ヤブ (ヤマ) ツバキ (*Camellia japonica*)

アメリカデイコ (*Erythrina crista-galli* var. *compacta*)

アカカノコユリ (*Lilium speciosum*-Akakanokoyuri)

花粉の貯蔵に使った有機溶媒は、今までの調査で比較的好結果が得られたアセトン、ベンゼン、エチル・エーテル、石油エーテル、酢酸エチル、石油ベンジン、クロロフォルム、四塩化炭素、アミル・アルコール、ブチル・アルコール、キシロールなどである。これらの溶媒を5 mlずつガラスの小びんにとり、あらかじめ30分間各温度のもとにおいた後、約20 mgの花粉

\*横浜市金沢区横浜市立大学生物学教室

Biological Institute, Yokohama City University, Kanazawa-ku, Yokohama

\*\*横浜市神奈川区翠嵐高等学校

Suiran High school, Kanagawa-ku, Yokohama

を入れて栓をし、ふたたびそれぞれの温度の中に入れておいた。

一定期間ごとにそれぞれの溶媒を濾過して花粉を濾紙上にとり、ベンゼン、ブチル・アルコール、キシロールの場合は 30～40℃の空気を約 3 分間あててから、他のものはそのままアスピレーターで引きながら溶媒を揮発させ、乾燥した花粉を人工培養基にまいて花粉が花粉管をのばすかどうかを調べた。

培養基はツバキの場合は sucrose・10%、agar 1%とし、アメリカデイコとアカカノユリの場合は sucrose・10%、boric acid・100ppm、Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>・300ppm、agar 1%とした。この培養基の表面にそれぞれの花粉を直線状に散布した(別報 参照)。このようにまかれた花粉は、その直線と直角の方向に花粉管をのばすから、管の長さを測りやすいし、密度効果を考える必要がなくなるので、データーを正確にとることができる。

24℃で 24 時間培養した後に、培養基をのせたスライドガラスを透視機(オリンパス sp-150)の台上にあげ、花粉管長を測ってグラフに示した。なおツバキ、アメリカデイコについては岩波が、アカカノユリについては高梨が実験を担当した。

## 2. 実験結果と考察

ヤブツバキの花粉をシリカゲルとともに 5 日間冷凍庫においた後に、4℃と 24℃のアセトン、ベンゼン、石油ベンジン、エチル・エーテル、酢酸エチル、クロロフォルム、四塩化炭素の 7 種類の有機溶媒中に入れ、花粉管の長さの変化をみたものが図 1 に示されている。

グラフにみられるとおり、ヤブツバキの花粉はいずれの溶媒に入れても生命を失うことはなく、むしろ一般に新鮮な花粉より長い花粉管をのばした。また高温の場合は低温にくらべて早く生命力を失い、一ぱん長くまで発芽したエチル・エーテルの中の花粉も、70 日後には完全に発芽しなくなった。これに対して低温の溶媒中の花粉は、クロロフォルム以外は 200 日以上も生命力を保ち、とくにブチルアルコールでは一年間後も花からとったばかりの新鮮な花粉とほとんど同じ長さの花粉管をのばしたし、エチル・エーテル、石油ベンジンなどの中のものも一年間は生命を保持できることはほぼ間ちがない。これらのグラフからヤブツバキの花粉の貯蔵に適当な溶媒は、今回用いたものなかではブチル・アルコール、エチル・エーテル、石油エーテル、石油ベンジン、酢酸エチルなどで、アセト

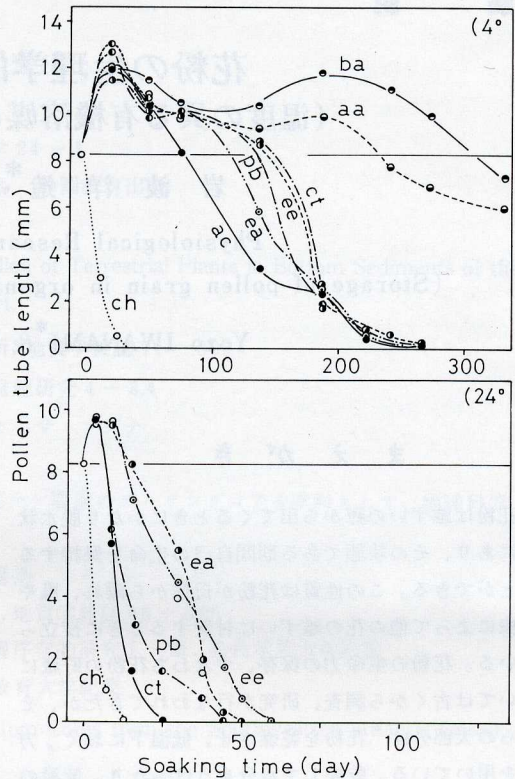


図1 低温(上)と高温(下)の各種溶媒中におけるツバキの花粉の貯蔵。

ba-butyl alcohol, aa-amyl alcohol, ct-carbon tetra chloride, ee-ethyl ether, pb-petroleum benzine, ea-ethyl acetate, ac-acetone, ch-chloroform.

ン、ベンゼン、クロロフォルム、四塩化炭素などは、少くとも花粉の長期保存には適していないようであった。ブチル・アルコールには 30～40℃の空気をあてて揮発させねばならないという難点はあるが、エーテル、ベンジンなどは厳密に密封しなければ長い間に溶媒が揮発してなくなってしまうのに対して、ブチル・アルコールにはその心配がない。なおブチル・アルコールが前の報告で必ずしもよい結果を示さなかったのは、それが揮発しにくいために他の溶媒と同じ時間アスピレーターで引いて揮発させても、完全にぬけ切らなかったためであろう。今回の実験によって 30～40℃の空気をあてて揮発させると、他の溶媒と同等、あるいはそれ以上の効果を上げることがわかったから、アルコール類が今まで概してよくない結果を示したのも、水を溶解する力が大きいことのほかに、揮発しにくいことも原因の一つになっていたと思われる。したがって、とくに大型の花粉の場合ほど、培養前の溶媒

の揮発に十分注意を払うべきである。

アメリカデイコの花粉をシリカゲルとともに冷凍庫中に2日間入れておいた後に、4℃と24℃のアセトン、エチル・エーテル、酢酸エチル、石油ベンジンの中に入れ、花粉管の長さを測った結果が図2に示されている。

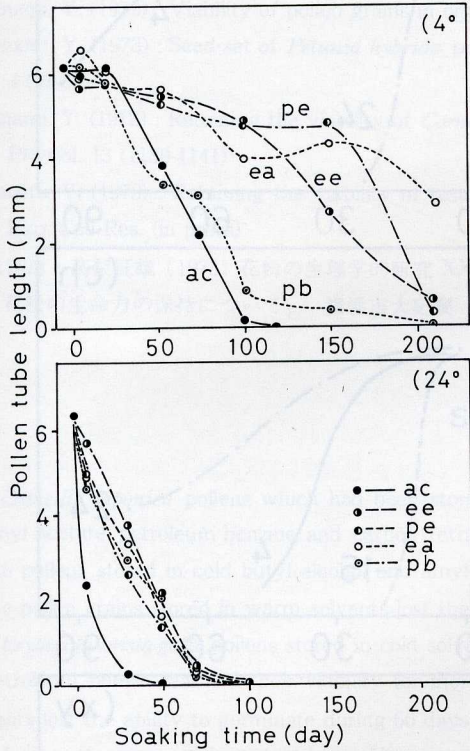


図2 低温(上)と高温(下)の各種溶媒中におけるアメリカデイコの花粉の貯蔵。

pe-petroleum ether, ee-ethyl ether, ea-ethyl acetate, pb-petroleum benzene, ac-acetone.

アメリカデイコの場合もツバキと同時に高温(24℃)の方が低温(4℃)よりもはるかに早く生命力を失った。5種類の溶媒の中では、石油エーテル、酢酸エチル、エチル・エーテル、石油ベンジン、アセトンの順に花粉の生命を長く保つことがわかった。なおアメリカデイコの花粉は、有機溶媒に入れたために花粉管が対照より長くなるという現象はみられなかった。

以上の結果から、有機溶媒中で花粉を貯える時には、高温よりも低温の下におく方が効果があることがわかったので、次にアカノコユリを使って、溶媒の温度と生命力保存との関係を、もう少し詳しく調べてみた。

アカノコユリの花粉をシリカゲルとともに2週間

冷凍庫中においてから、アセトン、エチルエーテル、酢酸エチル、クロロフォルム、石油ベンジン、キシロールの7種類の溶媒に入れ、-15℃、4℃、24℃の各温度で貯えた時の結果が図3に示されている。

ユリの仲間の花粉は一般にあまり長命ではなく、約2月で生命力を失う。アカノコユリもシリカゲルとともに冷凍庫中に貯えた(従来のふつうの貯蔵法)ものは、図に示されているように60日後に完全に発芽しなくなった。ところが有機溶媒に入れて貯えたものは、60日後にはほとんどのものが生命力を失わず、アセトン(-15℃、4℃)、エチル・エーテル(-15℃、4℃、24℃)、石油ベンジン(-15℃)中の花粉は、対照とほとんどかわりなく長い花粉管をのぼすことがわかった。アセトンの場合はツバキやデイコの場合と同様、高温になるほど早く生命力を失い、石油ベンジンにも同様の傾向がみられた。

クロロフォルム、キシロールでは-15℃の花粉がもっとも早く生命力を失い、24℃の中の花粉が対照以上に長く生命力を保持できることがわかった。ただクロロフォルムは比重が大きいため花粉が沈まずに液面に浮いているから、空気にふれている部分がある。このことが影響しているかもしれないが、キシロールの場合は他の溶媒と同様に、花粉は沈んでいる。この点についてはさらに詳しい調査を必要とするが、もし高温の液中で保存できるとしたら、花粉を机の上で貯蔵できることになるし、花粉の輸送の際にも便利になる筈である。

なお以上に関連して補足すると、溶媒に入れる前の前処理としての乾燥(シリカゲルとともに冷凍庫中におく)の時間の長さは、花粉の種類によって異なる(花粉粒の大きさ、蒴からとった時の水分の含有料、花粉の表面についている油性物質の量などによってかわるが、最低24時間は前処理するのがのぞましいようである。とくにアセトンの場合に花粉粒内の水分の多少が、生命保持の期間に影響するところが大きい。

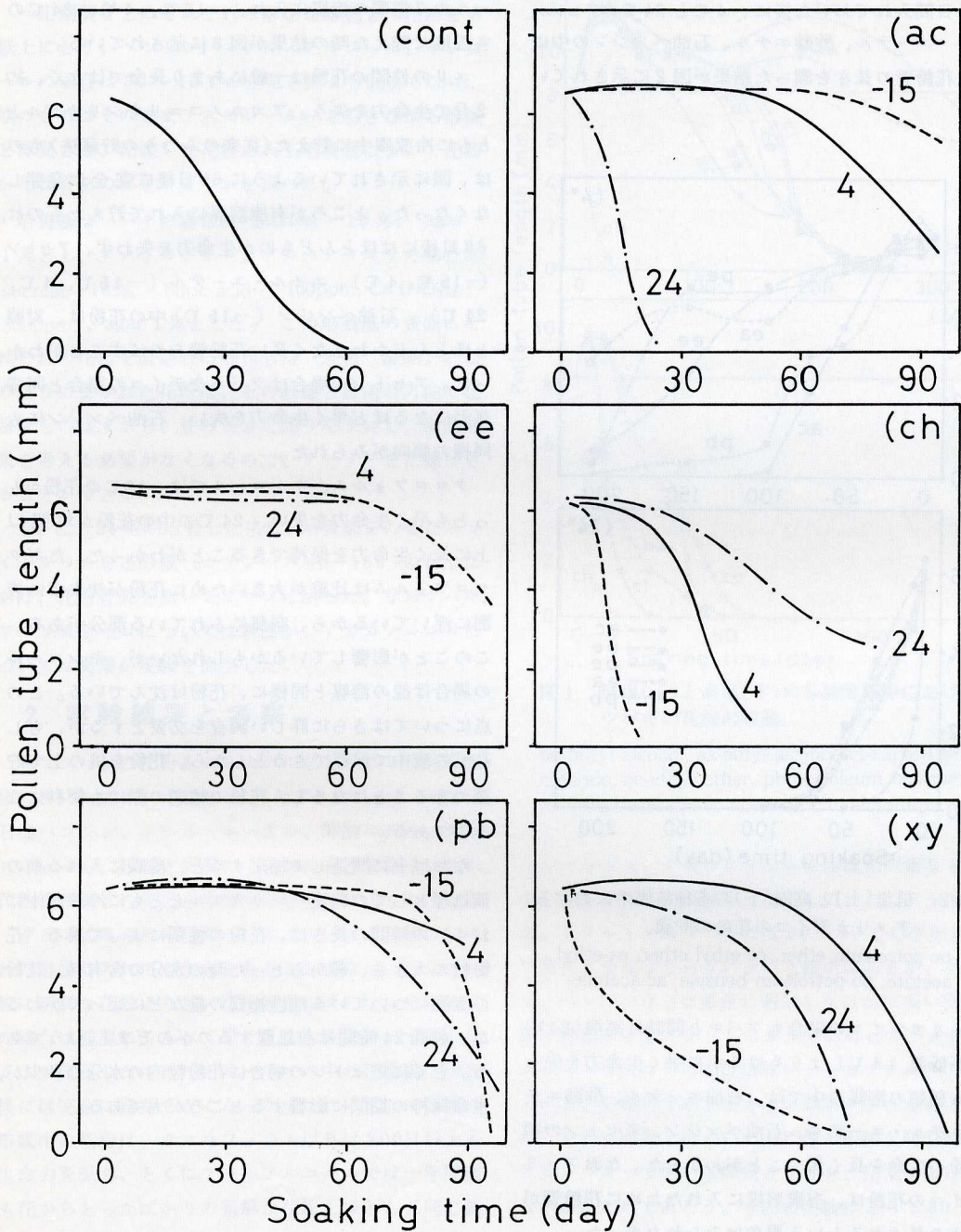


図3 溶媒の温度とアカカノキュリの花粉の貯蔵。

cont-シリカゲルとともに冷凍においたもの、ac-acetone, ee-ethyl ether, ch-chloroform, pb-petroleum benzene, xy-xylene, グラフ中の数字は溶媒の温度を示す。

## 引用文献

- 岩波洋造 (1971) : 花粉を有機溶媒に入れる。花粉誌・8 (39-43)
- Iwanami, Y. and N. Nakamura (1972) : Storage in an organic solvent as a means for preserving viability of pollen grains. *Stain Techn.* 47 (137-139)
- Iwanami, Y. (1972) : Viability of pollen grains in organic solvents. *Botanique* 3 (61-68)
- Iwanami, Y. (1973) : Seed-set of *Petunia hybrida* pollinated by tored pollen grains in organic solvent. *Botanique* 4 (53-56)
- Iwanami, Y. (1972) : Retaining the viability of *Camellia japonica* pollen in various organic solvents. *Plant & Cell Physiol.* 13 (1139-1141)
- Iwanami, Y. (1973) : Retaining the viability of resting egg of brine shrimp (*Artemia salina*) in organic solvent. *Exp. Cell Res.* (in press)
- 岩波洋造・高梨征雄 (1973) 花粉の生理学的研究 XXIII いろいろの温度の有材溶媒中におけるサザンカとチャの花粉の生命力の保持について 横浜市大紀要 (印刷中)

## Summary

- 1) *Camellia japonica* pollens which had been stored in cold acetone, amyl alcohol, butyl alcohol, ethyl ether, ethyl acetate, petroleum benzine and carbon tetrachloride retained their viability for many days, especially, the pollens stored in cold butyl alcohol and amyl alcohol retained the viability for more than 1 year. While, the pollen grains stored in warm solvents lost the ability to germinate during 50 days (Fig. 1).
- 2) *Erythrina crista-galli* pollens stored in cold solvents such as ethyl acetate, ethyl ether, petroleum ether and petroleum benzine retained their viability for more than 200 days, however, the pollens stored in warm solvents lost the ability to germinate during 50 days (Fig. 2).
- 3) *Lilium speciosum* pollens stored in cold acetone and petroleum benzine also retained their viability for longer time than that stored in warm solvents, however, the pollens stored in cold chloroform and xylene did not retain the viability for longer time than that in warm solvents. It is noticeable that *Lilium speciosum* pollens retained the viability for longer time than that stored in refrigerator with silica gel (Fig. 3).

## — 投 稿 の 注 意 —

- (1) 投稿は原則として、国会1年以上の会員とする。ただし、共同執筆者は会員にかぎらない。
- (2) 原稿は他に印刷されていない内容のものにかぎる。
- (3) 原稿は簡潔に書き、図表・写真および摘要をふくめ、すり上り5ページ以内を原則とする（1ページは約2,000字）。制限ページをこえた分は1ページにつき約3,000円程度の著者負担を願います。
- (4) 原稿の体裁
  - a) 和文原稿は、400字づめ原稿用紙に横書きし、できるだけ当用漢字を用い、欧語音訳には片かなを付すこと。すり上り1/2程度の欧文抄録をつけること。
  - b) 表題・著者・勤務先は和欧両文で書くこと。形式は会誌を参照されたい。
  - c) 数字はすべてアラビア数字を用い、数量の単位はメートル法による。学名の下には傍線をつけること。
  - d) 図表は本文とは別の用紙を用い、また図の説明も図とは別に書くこと。本文中に入れる位置を明示すること。凸版の図中には印刷できないので文字は縮少したときの図の大きさを考えて、黒インキで書くか、または印刷した文字をはかること。なお、図の縮少には原則として編集委員に一任されたい。図版はそのまま印刷所に出せるように台紙にはりつけること。
  - e) 英語・ラテン語などはタイプライトすること。
  - f) 別刷希望の方はその部数を原稿表紙に朱書すること。あとからの増し刷はできません。
- (5) 写真・図等の製版代と別刷代は著者負担とする。別刷には表紙はつけない。
- (6) 上記の規定に反する原稿は受理しないことがある。
- (7) 原稿は必ず一部を手もとにおかれたい。
- (8) 校正は初校のみ著者にお願する。校正の時加筆・変更はご遠慮下さい。
- (9) 論説以外に会員の研究余話、通話、メモ、質問などもお寄せ下さい。
- (10) 第12号々切は昭和48年11月末日、第13号々切は昭和49年5月末日です。

## バックナンバー（続）

### 第10号目次（1972.12.30）

- 鈴木幸子：単子葉植物における花粉母細胞の分裂について
- 上野実朗：勢体としての花粉（因果的目的論考）
- 永海修三・秋沢一位・岩波洋造：キク属花粉の人工培養の研究
- 日本花粉学会第13回集会報告（昭和47年）
- 花粉研究会論集・花粉第3号（京都1972年）
- 黄増泉・台湾植物花粉図誌（1972）
- 研究余録・久能山石垣イチゴの異常花粉