

原 著

花粉の発芽と花粉管の伸長 XIV

気化した薬品によって花粉管内の 原形質流動を停止させるのに必要な時間

會 沢 正 義*

The germination of pollen and the elongation of pollen tube XIV

The time required to stop protoplasmic streaming within pollen tubes
by using evaporated chemicals

Masayoshi AIZAWA*

(受付：1982年4月7日)

寒天発芽床に散布した花粉の生長を調査する時は培養後にそれらを固定して測定するが、その時、固定液をスポイトで花粉に滴下すると、未発芽の花粉などは滴下した固定液に浮遊して散布された位置から他に移動することが多い。それを防止するために筆者は固定液の滴下によらない方法を開発しようとして、薬品の気体成分での固定法を用いて、二三の

知見を得たので報告する。

材 料 と 方 法

Table 1 に示したツバキ科などに属する 57 種の新鮮な花粉を使用した。ヤマツバキの花粉は、2月に採集した開花直前のつぼみから取り出した薬を 2～3日間机上で乾燥した。薬から出た花粉を約 120 μm の

* 神奈川県立青少年センター 〒220 横浜市西区紅葉ヶ丘 9

* Kanagawa Prefectural Youth Center Nishi-ku, Yokohama 220, Japan

*¹ イオン交換樹脂純水製造装置製

*² Difco Bacto Agar

*³ 日本理化学薬品株式会社

*⁴ 96 V%以上 小宗化学薬品株式会社

*⁵ 99.5 V% 小宗

*⁶ 99.0 %以上 和光純薬工業株式会社

*⁷ 99～100 % 小宗

*⁸ 37 %水溶液 小宗

*⁹ 99～100 % 和光

*¹⁰ 小宗

メッシュの網で振るい分け、紙の小袋に入れシリカゲルとともにプラスチックのびんに収納し、 -25°C の冷凍庫に保存して6カ月以内に使用した。この花粉は上記の保存法で長期間保存可能で、筆者の研究室では6年前に貯蔵した花粉が、新鮮な花粉とほぼ同様に寒天発芽床で生長することを確認している。

発芽床に使用した寒天板は、純水* 18.4 ml に寒天* 0.1 g 、ショ糖* 1.5 g を添加し湯せんで溶解後、2枚のスライドガラスに厚さ約 2 mm に流して固化させた。

直径 90 mm 、深さ 20 mm 、容積約 130 ml のペトリ皿を湿室として、それに吸水したろ紙と2本のガラス管を入れて、その上に寒天板を作ったスライドガラスを置くようにした。

気体処理用の薬品は、固定液の成分のアセトン* 4 、エチルアルコール* 5 、クロロホルム* 6 、酢酸* 7 、ホルマリン* 8 、メチルアルコール* 9 、ヨード* 10 を使用した。

湿室と同様のペトリ皿を気体処理室として、使用する $5\sim 24$ 時間前に約 10 ml の各薬品(ヨードは 1 g)を入れて、使用時には薬品が気体の状態で充満するようにした。さらに寒天板のスライドガラスを入れた時に、気化せずに残った薬品の液体が花粉粒などに触れないようにガラス管を2本入れた。

寒天板に花粉を散布してスライドガラスとともに湿室に入れ、それを 30°C に調節した定温器に $3\sim 5$ 時間収納し花粉を発芽させた。次にこの花粉をスライドガラスとともに処理室に入れ一定時間(1分間、2分間、……)気体処理した。スライドガラスを取り出して、 $5\sim 10$ 分後に 600 倍で検鏡した。ハウセンカの花粉は生長が速いので培養時間を $1\sim 2$ 時間にした。このようにして、花粉の種類ごとに約 20 本の花粉管の原形質流動が全て停止するまでの処理時間を調査した。

結 果

花粉管の原形質流動が完全に停止するまでの処理時間を花粉ごとにTable 1に示した。

酢酸、アセトン、クロロホルム、ホルマリン、ヨ

ードでは、花粉を処理室に入れて1分後に原形質流動が完全に停止した。しかし、アルコール類はその作用が弱く、エチルアルコールの場合はハナゾノツクパネウツギとリンドウで7分、アブラナ、ウメでは6分も必要であった。1分間のエチルアルコール処理で停止した花粉は57種のうち 33.3% の少数であった。メチルアルコールで最も長い処理時間を要したものは、エチルアルコールの場合と同様のハナゾノツクパネウツギで6分であった。リンドウ、アブラナなどは、両方の薬品ともに長時間処理が必要であった。逆に、レンギョウ、ボケなどは全ての薬品の1分間処理で停止した。

寒天板を必要以上に長く処理室内に置くとその表面に薬品が凝集し、特にアセトンでそれが顕著に認められた。

考 察

花粉を寒天板に散布すると、花粉粒内に含有されている物質 $2)$ が寒天板に流入し、近くの花粒の生長に影響を与え $3)$ 密度効果 $4)$ が生じる。従って花粉の生理学的研究では、花粉粒の散布状況を考慮して発芽率や伸長度を測定しないと、その数値に大きな誤差を生ずる。

寒天板上の未発芽の花粒や花粉管が短い花粉粒では、多量の液体が接触すると、花粉粒は寒天板から遊離し移動するので花粉粒間の距離が変化する。そのため従来の固定液を滴下する方法を使用すると、この現象が起こりやすいので、花粉粒の密集状態を考慮することができなくなる。

今回試みた方法は、気化した薬品が充満している処理室内に花粉粒をスライドガラスとともに入れて固定する方法である。それ故、花粉粒などに液体の薬品が接触しないので、花粉粒が浮遊せず、散布した時の状態が保存されるから、花粉の発芽率や花粉管伸長度を正確に測定できる。ただ、この方法での必要以上の長時間処理では、気化した薬品が寒天板に凝集し、特にアセトンでその傾向が観察されたので、処理時間は短い方がよい。

原形質流動を停止するには、アセトン、クロロホルム、酢酸、ホルマリン、ヨードを使用する時には、約1分間。アルコール類では平均2分間以上の処理が必要である。

クロロホルムやホルマリンの発がん性、その他を考慮して、99~100%の酢酸を使用して1~2分間の処理が適当と考えられる。

要 旨

寒天発芽床で発芽した57種の花粉を気化した薬品で処理した時に、花粉管の原形質流動が停止するま

での平均時間は、次のとおりであった。酢酸：1.02分、アセトン：1.05分、クロロホルム：1.00分、エチルアルコール：2.79分、ホルマリン：1.00分、ヨード：1.00分、メチルアルコール：2.36分。

気体処理薬品としては、99~100%の酢酸を使用するのが適当で、処理時間は1~2分間で十分と考えられる。

本研究について、資料の提供と示唆を賜った恩師横浜市立大学教授岩波洋造博士に深謝する。

なお、本研究の一部は昭和53年度文部省科学研究費奨励研究B（課題番号391615）によった。

参 考 文 献

- 1) 會沢正義 1979 第20回日本花粉学会大会で講演.
- 2) N.Nakamura 1978 Physiological Studies on the Pollen Growth of *Camellia japonica* L. in vitro . Yokohama City Univ. Biol. Ser. 5(1): 1-100.
- 3) 岩波洋造 1968 花粉管の伸長に対するアミノ酸の影響 横浜市大紀要 179 (C-57 Biol. 23): 1-16.
- 4) 岩波洋造 1970 花粉の生理学的研究XX 花粉の人工培養における密度効果と混合効果について 植雑 83: 363-372.

Summary

Owing to fixation of pollen on sucrose agar plate medium, the conventional way of dripping fixative solution onto pollen makes the pollen often float and change its location.

Accordingly, measurement taking its density effect into consideration will hardly be practicable and will tend to create error in the germination rate of pollen and pollen tube length.

Thus, by using evaporated chemicals I looked into the way to stop protoplasmic streaming within pollen tubes.

The time required to stop protoplasmic streaming within pollen tubes was as follow :
Acetic acid : 1.02 min Acetone : 1.05 min Chloroform : 1.00 min Ethyl alcohol : 2.79 min
Formalin : 1.00 min Methyl alcohol : 2.36 min Iodine : 1.00 min

It is considered that use of acetic acid of 99-100 per cent. as the chemical in vapor treatment is appropriate and the time of such treatment of one-two minutes is sufficient.

Table 1 The time required to stop protoplasmic streaming within pollen tubes (min).

		A.a.	Ac.	C.	E.	F.	I.	M.
<i>Camellia japonica</i>	ヤマツバキ	1	1	1	4	1	1	4
<i>Portulaca grandiflora</i>	マツバボタン	1	1	1	2	1	1	1
<i>Portulaca grandiflora</i> (Jewel)	ジュエル	1	1	1	2	1	1	3
<i>Portulaca pilosa</i>	ヒメマツバボタン	2	1	1	2	1	1	2
<i>Abelia grandiflora</i>	ハナゾノツクバネウツギ	1	1	1	7	1	1	6
<i>Gladiolus gandavensis</i>	グラジオラス	1	1	1	4	1	1	3
<i>Gentiana scabra</i> var. <i>Buergeri</i>	リンドウ	1	1	1	7	1	1	4
<i>Zephyranthes candida</i>	タマスダレ	1	1	1	4	1	1	4
<i>Impatiens Balsamina</i>	ホウセンカ	1	1	1	4	1	1	4
<i>Lilium longiflorum</i>	テッポウユリ	1	1	1	5	1	1	4
<i>Euphorbia Millii</i>	ハナキリン	1	1	1	3	1	1	4
<i>Salix babylonica</i>	シダレヤナギ	1	2	1	3	1	1	3
<i>Acacia Baileyana</i>	ギンヨウアカシア	1	1	1	4	1	1	4
<i>Phaseolus cocoineus</i>	ベニバナインゲン	1	1	1	3	1	1	3
<i>Phaseolus cocoineus</i> var. <i>albus</i>	シロバナインゲン	1	1	1	2	1	1	3
<i>Vicia Faba</i> forma <i>anacarpis</i>	ソラマメ	1	1	1	3	1	1	3
<i>Matthiola incana</i>	アラセイトウ	1	1	1	3	1	1	3
<i>Platycodon grandiflorum</i>	キキョウ	1	1	1	5	1	1	4
<i>Eustoma Russelianum</i>	トルコギキョウ	1	1	1	3	1	1	3
<i>Cucumis sativus</i>	キュウリ	1	1	1	5	1	1	5
<i>Oenothera odorata</i>	マツヨイグサ	1	2	1	5	1	1	4
<i>Lilium lancifolium</i>	オニユリ	1	1	1	4	1	1	3
<i>Antirrhinum majus</i>	キンギョソウ	1	1	1	4	1	1	3
<i>Papaver Rhoeas</i>	ヒナゲシ	1	1	1	4	1	1	3
<i>Brassica campestris</i> subsp. <i>Napus</i> var. <i>nippo-oleifera</i>	アブラナ	1	1	1	6	1	1	4
<i>Cyclamen persicum</i>	シクラメン	1	1	1	2	1	1	2
<i>Matthiola incana</i>	ストック	1	1	1	2	1	1	1
<i>Forsythia suspensa</i>	レンギョウ	1	1	1	1	1	1	1
<i>Prunus Mume</i> (Red flower)	ウメ	1	1	1	6	1	1	4
<i>Camellia Sasanqua</i>	サザンカ	1	1	1	4	1	1	2
<i>Chaenomeles lagenaria</i>	ボケ	1	1	1	1	1	1	1
<i>Tulipa Gesneriana</i>	チュウリップ	1	1	1	3	1	1	2

The rest is omitted

A.a. : Acetic acid Ac. : Acetone C. Chloroform
E. : Ethyl alcohol F. : Formalin I. : Iodine M. : Methyl alcohol