

## 蛍光顕微鏡による花粉管観察実験法の改良

誌名	農業技術
ISSN	03888479
著者	岩崎, 文雄 林, 武彦
巻/号	34巻8号
掲載ページ	p. 363-364
発行年月	1979年8月

## 研究 通 報

## 螢光顕微鏡による花粉管観察実験法の改良

岩崎文雄\* 林 武彦\*\*

螢光顕微鏡による花粉管の柱頭への進入状態の観察方法は、生殖生理学の分野に著しい貢献をしている1つの実験方法である。しかしながら、この方法によって花粉管の伸長状態を観察しようとする場合、実験開始から終了までに76時間も要するという短所がある。実験終了までにこのように長時間を要すると、開花期間の短い植物では、螢光顕微鏡による研究成果をその植物の開花期間中に十分反映させることができない場合がある。このようなことから、本実験では、螢光顕微鏡による花粉管観察方法の時間短縮を目的として各種実験を行ない、成果がえられたので報告する。

## 材料および方法

実験にはマツバボタン(*Portulaca grandiflora* Hook)を使用した。種子は6月8日に直径20cmの素焼鉢に圃場の表土を入れて播種し、施肥は特に行なわなかった。開花期中の8月25日より実験を開始した。まず、実験前日に自然交雑を避けるために、個体を無風状態で昆虫の侵入を防いだガラス室内に移し、翌朝9時に受粉を行なった。受粉は株間交配で実施した。受粉後、1時間を経てからその雌ずいを探って固定し、各種実験に供した。なお、雌ずいの採集は各実験区とも20本とした。

螢光顕微鏡による花粉管の雌ずいへの進入状態の観察方法は、徳増ら(1974)によると、材料をFAA(ホルマリン1:80%アルコール8:酢酸1)で48時間固定し、1時間水洗した後、8N、NaOH水溶液に2時間浸し、さらに1時間水洗した後、0.1Nの磷酸三カルウム

第1表 各種処理とその結果

(表中の数値は処理時間を示す)

資料番号	*														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
実験操作	固定	48	24	8	6	3	1	0	48	48	48	48	48	48	1
	水洗	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	8N NaOH	2	2	2	2	2	2	2	1	0.5	0	2	2	2	1
	水洗	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	染色	24	24	24	24	24	24	24	24	24	1.5	1	1.5	1	1
封入	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	
螢光発色による花粉管観察の可否		可	可	可	可	可	可	可	可	可	可	可	可	可	可

注) Gはグリセリンをさす。\* 1は対照区(従来の方法)。

に0.1%になるようにアニリンブルーを溶かした染色液で24時間染色し、スライド上でおしつぶし、グリセリンで封入して螢光顕微鏡で観察している。

本実験では時間短縮の目的から、徳増らの実験操作中の(1)固定時間、(2)NaOH処理時間、(3)染色液での処理時間などの短縮を考慮し、(1)固定時間のみを48、24、8、6、3、1、0時間とした区。(2)NaOH処理時間のみを2、1、0.5、0時間とした区。(3)染色時間のみを24、20、1、0.5時間とした区、およびこれらの結果から考えて短縮可能と思われた新実験法を設定して実験を行なった(第1表参照)。

なお、螢光顕微鏡はオリンパス製BHF型(透過型)に励起フィルターBG12(2枚)と接眼フィルター0530を使用して操作した。

## 結果および考察

1) 固定時間 徳増ら(1974)はFAAで48時間固定を行なっているが、本実験では第1表の資料番号1~7に示したように、実験操作中、固定時間のみを48、24、8、6、3、1、0時間とし、他の処理時間を変えないで行なった結果、何れの処理区においても花粉管の侵入状態が観察された(第1図参照)。このことは、固定時間は48時間にもおよぶ長時間を要しないことを示している。特に本実験で用いたマツバボタンでは固定しなくとも観察が可能であったが、このことは、固定の目的が螢光発色を誘起させるための処理ではなく、生の状態で観察できず、材料を保存するための処理のように考えられる。

一方、材料を保存するための固定であるならば、その固定時間は材料の大きさによって長・短があってよいと思われ、マツバボタンの雌ずいでは30分で十分と思われる。

2) NaOH処理時間 第1表の資料番号1、8、9、10に示したように、NaOH処理時間を2、1、0.5、0時間(0時間は蒸留水で2時間処理)として実験を行なった結果、何れの処理区でも花粉管の螢光発色による観察が可能であった(第1図参照)。

本実験でNaOH処理なしでも観察がで

きたことから考えると、この実験操作過程におけるNaOH処理の役割は、組織を軟化させ、押しつぶしやすくするためのみと考えられる。もし、これが当をえた推論であるならば、NaOH処理時間は材料の大きさによって異なり、雌ずいの組織内にNaOHが滲透を完了するまでの時間でよいことであり、マツバポタンのような細い雌ずいでは30分処理で十分であるといえる。

3) 染色時間 本実験では染色液の雌ずい組織内への侵入時間を考慮して、24, 20, 15, 1, 0.5時間染色を行なった(第1表, 資料番号1, 11, 12, 13)。その結果、何れの処理区においても蛍光発色による花粉管の侵入状態が観察された(第1図参照)。この事実は30分の染色でも、材料の大きさによっては染色液が雌ずいの組織内に侵入し、観察が可能になることを示している。

4) 新実験操作法の試行 第1表の資料番号14は前述

の1, 2, 3項の実験結果に基づいて、時間短縮を行なった実験操作による結果である。すなわち、これまでの実験結果に基づいて、固定、NaOH処理および染色をそれぞれ1時間とした。この実験法によっても花粉管の蛍光発色による観察が可能であった(第1図参照)。この試行で定めた各処理時間1時間は蛍光染色実験以外の実験との関係から1時間としたものであり、本実験結果から考えれば、まだ短縮することが可能である。

以上のように、本実験では従来76時間(4日)を要した実験操作を5時間でいど(1日の工程)短縮しうることを立証した。本実験ではマツバポタンの雌ずいを用いて行なったものであるが、植物の種類によって処理時間に多少の変動は考えられるが、他の植物でも1日以内で観察することが可能であると思われる。

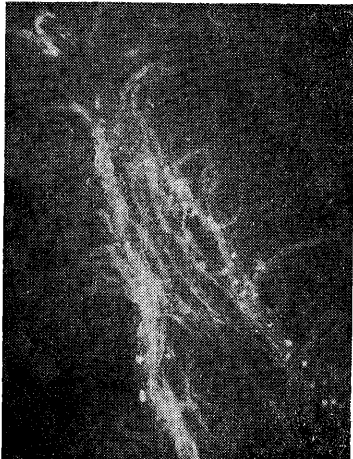
摘 要

蛍光顕微鏡を用いて花粉管の雌ずい組織内への侵入状態を観察する実験操作の時間短縮を目的として、マツバポタンの雌ずいを用いて実験を行なった。

その結果、従来76時間を要した実験操作が5時間でいどに短縮できることを見出した。(筑波大学農林学系 \*\*オリンパス光学展示室)

引用文献

徳増 智・加藤正弘・矢野文香 1974  
 蛍光顕微鏡による *pelargonium* 属植物の花粉管行動の観察とその交雑親和関係の推定 青雑 24(6): 269~276.



対照区 (1)



固定時間の変更 (6)



NaOH処理時間の変更 (9)



染色時間の変更 (13)



新実験法 (14)

第1図 各種処理とその結果(カッコ内は資料番号を示す)