

完熟澱粉種子のパラフィン切片作製法

誌名	日本作物學會紀事
ISSN	00111848
著者	梁取, 昭三
巻/号	55巻3号
掲載ページ	p. 383-384
発行年月	1986年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



完熟澱粉種子のパラフィン切片作製法

梁 取 昭 三

(新潟大学農学部)

Paraffin Sectioning Method for Fully Matured Starch Seed

Shozo YANATORI

(Faculty of Agriculture, Niigata University, Niigata 950-21)

昭和 61 年 1 月 8 日受理

マイクロトームで、パラフィン包埋した米粒やソバ種子の切片を作製する場合、澱粉集積の進んだ登熟中期以後の試料では、切削時に試料は完全に碎け、切片作製が極めて困難になる現象がみられる¹⁾。これは密に集積した澱粉粒の間にパラフィンが浸透し難く、また脱水により組織の硬度が増加するとともに脆くなるためと考えられ、大豆などではみられない現象である。

パラフィン包埋により、完熟米粒および完熟ソバ種子の厚さ 10 μm 以下の全断面切片を作り、永久プレパレートを作製することを目的に、手法改良の試行を重ねてきたが、試料切断法に改良を加えることにより、ほぼ確実に切片を得ることができるようになったので、切片作製法の要点について報告する。

材 料 と 方 法

水稻「コシヒカリ」・「アルポリオ」および、ソバ「信濃 1 号」の完熟期の種子を FAA で固定し、常法²⁾に従いブタノール系列で脱水し、融点 52°~54°C の硬パラフィンで包埋し、スライディングマイクロトームを用い切片を作製した。包埋以後の切片作製法の概要は以下のものである。

1. ホットプレート (電熱器) をマイクロトームの傍に置き、融点 42°~44°C の軟パラフィンを溶融してビーカーに入れ、融点より僅かに高い温度に保温

する。

2. 木片につけた包埋試料の切断面をマイクロトームで切り出した後、スパーテルで溶融軟パラフィンを包埋試料切断面に薄く塗布する。

3. 塗布した軟パラフィンが充分冷却するのをまわって、推進装置で試料を 10 μm 押し上げ、切片を作製する。新しい切断面に再び軟パラフィンを塗布し、次の切片を作製する。この繰返して試料を押し上げる度に、毎回確実に厚さ 10 μm の切片が得られる。ミノット型マイクロトームも使えるが、切断面が上向きになるスライディング型の方が操作し易い。

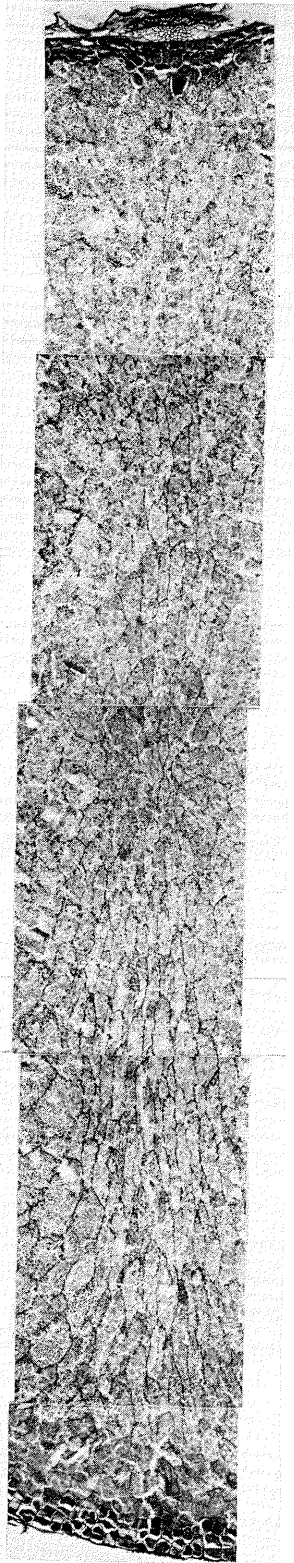
4. 切片は、光沢のない軟パラフィン塗布面を上向きにし、貼付剤を塗り水滴をのせたスライドグラス上に順次並べる。

5. 硬パラフィンの融点よりも低い温度に調節したパラフィン伸展器に、スライドグラスを載せ切片を伸展貼付する。この温度では切片上に塗布した軟パラフィンは溶融し、スライドグラス上の水の蒸発により軟パラフィン中に気泡ができるが、以後の操作の支障とはならない。

6. 貼付の終わったスライドグラスはキシロール I の壺に入れ、この壺を 50°C の恒温器中に 1 時間静置し、パラフィン除去を促進する。これは切片上に軟パラフィンが塗布してあるため、通常の方法²⁾ではパラフィン除去が不完全になり易いためである。保温必要時間はさらに短縮できると思われるが、未検討である。

7. 次いで室温のキシロール II に移し、以後は常

1) 透明剤の種類、パラフィン硬度、切片の厚さ、刃の角度等を変えても、改善されない。



第1図 完熟米粒の横断面 (サフラニン・ファストグリーン FCF 二重染色×70)。

法に従い⁷⁾染色し、バルサムで封じ永久プレパラートを作製する。

結果と考察

完熟期の澱粉種子の良好な切片を作製するためには、胚乳細胞の澱粉粒の間に包埋剤が良く滲透し、澱粉粒を結合することが必要と考えられる。しかし、上述の方法ではパラフィンの滲透性を改善したものではなく、軟パラフィンを接着剤として、切片の表面にあらかじめ塗布し、マイクローム刀の刃先で粉碎される胚乳組織をつなぎとめ、包埋した硬パラフィンとともに接着剤としての軟パラフィンもキシロールで溶解除去したにすぎない。そのため、第1図の米粒の胚乳組織にみられるように切片切断時に、細かいクラックの入るの阻止することができなかったが、完熟澱粉種子の $10\mu\text{m}$ のパラフィン切片が作れるようになったのは、一つの進歩であると考えられる。しかし、塗布した軟パラフィンの冷却に時間を要し、切片作製能率の良くない点は改善の必要がある。完熟米粒組織についての既往の報告をみると、徒手切片のほか、スンプ法¹⁾、凍結マイクロームにより厚さ $30\sim 40\mu\text{m}$ の切片を作り永久プレパラートにする方法^{3,5)}、厚さ $1\sim 2\text{mm}$ の組織片を切り出して固定し樹脂包埋し、ガラスナイフで組織小部分の準超薄切片を作製する方法などがあり、最近では樹脂包埋による報告^{2,4,6)}が多い。

パラフィン切片法は植物組織研究の基礎的方法であり、凍結マイクロームやウルトラームによる方法と比較しても、なおその価値は失われておらず、更に改良の必要があると考える。

引用文献

1. 星川清親 1967. 日作紀 **36**: 221—227.
2. ——— 1984. 日作紀 **53**: 153—162.
3. 河野恭広・大橋建男 1967. 日作紀 **36**: 448—462.
4. 松田智明・川原治之助・長南信雄 1979. 日作紀 **48**: 155—162.
5. 長戸一雄・河野恭広 1963. 日作紀 **32**: 181—189.
6. 和田富吉・前田英三 1979. 日作紀 **48**: 206—213.
7. 亘理俊次 1957. 戸荊義次他編, 作物試験法. 農業技術協会, 東京. 189—211.