

論 説

有機溶媒中における花粉と枯草菌の胞子 の生長力の保存について

岩波洋造・井上重治*・小嶋道男*・福田豊子

Studies on the retaining the viability of pollen grains
and *Bacillus* spores in organic solvents.

Yozo IWANAMI, Shigeharu INOUYE*, Michio KOJIMA*
and Toyoko FUKUDA

まえがき

花粉や種子やある種の動物の卵が、有機溶媒中でその発芽力や孵化力を保持していること⁽¹⁻⁶⁾、およびこれらの有機溶媒中に浸漬した花粉や種子や卵が、溶媒に入れないものよりも長く生長力を保ったり、よく生長するようになること⁽⁷⁻⁹⁾について、すでに多くの研究報告がある。一方種皮の透水性を高める目的で種子をアルコールなどの溶液に入れたり⁽¹⁰⁾、促進・阻害物質をアセトンやジクロロメタンにとかして種子や花粉の中に入れたり⁽¹¹⁻¹⁴⁾、休眠に入っている胞子を短時間アルコール溶液につけて休眠を破ることなどが試みられている。

筆者らは今回、花粉や胞子を有機溶媒の中で長期

間貯蔵する目的をもって、ヤマツバキとディコの花粉、および枯草菌の胞子をいろいろの種類の有機溶媒、および濃度をかえた有機溶媒の溶液の中に入れ、発芽や生長への影響について調べたので、それらの結果について報告する。

I. 実験材料と方法

今回の実験に用いた有機溶媒はすべて市販のもの（小宗化学・特級または一級）で、Table 1 にみられる50種のうち、acetone と ethanol は無水硫酸銅を入れて水分を完全に除去し、その他は新しい溶媒をそのまま使用した。

花粉と胞子の採取、および培養の方法は次の通りである。

横浜市金沢区六浦町 横浜市立大学生物学教室 (Biological Institute, Yokohama City University, Kanazawa-ku, Yokohama, 236 Japan)

* 横浜市港北区師岡町 明治製菓中央研究所 (Central Research Laboratories, Meiji Seika Kaisha, LTD., Morooka-cho, Kohoku-ku, Yokohama, 222 Japan)

〔花粉〕——自然に開花したヤマツバキ (*Camellia japonica L.*) とデイコ (*Erythrina indica L.*) の花から花粉を採取し、シリカゲルの入ったプラスチックの容器の中に入れて、冷所 (-15°C) に貯えた。これらの花粉を採取後 1か月の間に、適宜とり出して実験に使用した。なおこれらの花粉は、このようにして貯えておくと、少くとも 6か月間は採取時と同様に生長することが確かめられている。

コルク栓のついたガラスの管びん（径 1.5 cm 高さ 6 cm）に約 3 ml ずつの有機溶媒をとり、それらの中に約 200 mg の花粉を入れ（ほとんどの場合、花粉はびんの底にしづむ）、密封して 5°C 中に 1週間おいた後、花粉を汎紙上にとり、45°C 中に 15 分間おくことによって乾燥させた。この花粉を培地に散布し、25°C 中で培養した。

使用した培地は、ヤマツバキの花粉では SUCROSE 10% と agar 1%，デイコの花粉の場合は SUCROSE 10%、boric acid 100 ppm, agar 1% の寒天板培地でその表面に花粉をカバーガラスの縁につけて直線状に散布した（別報⁽¹⁷⁾参照）。こうしてまかれた花粉は、その直線とほぼ直角の方向に花粉管をのばす。発芽率については、特別な場合以外は調べなかった。発芽率は花粉の散布のされ方（疎密）によって変化するので、正確なデーターが得にくいと思われたからである。同じ実験を 3 回以上くり返して行ない、平均値をとって、表またはグラフに示した。

〔枯草菌の胞子〕枯草菌の胞子は明治製菓中央研究所に保存されていた枯草菌 (*Bacillus subtilis* ATCC 6633) が作った胞子（約 3 mg）を試験管中で真空乾燥させたものに 5 ml の有機溶媒を入れ、5°C 中において、1週間後に胞子を培養液中に移して生長の状態をみた。

胞子の入っている溶媒を遠心分離器 (5000 rpm. 15 分) にかけて胞子を集め、溶媒を捨てた後に 5 ml の蒸留水を加えて再び遠心分離した。この操作を 3 回くり返すことによって胞子を洗った後、胞子を 5 ml の培養液中に移した。培養液は peptone 1 %, meat extract 0.5%, NaCl 0.3%, glucose 0.1

%, pH 6.4 の液とし、L 型試験管中で 37°C の下で振盪培養を行なった。これらの操作は無菌の状態の下で行なわれたが、それでもなお雑菌が侵入して繁殖することがあるかもしれないと考えられたので、長時間後の結果は記録せず、培養開始後 5 時間までの結果について調べた。

胞子の生長度の調査は、培養中の胞子の入っている L 型試験管中の液の濁度を分光光度計 (480 mμ) を用いて調べ、それぞれの値から培養開始時の値を差し引いた値を求めてグラフに示した。なお胞子の生長度は、480 mμ の O. D. の値の変化と平行して進むことが、顕微鏡観察によって確認された。

II. 実験結果

1) 有機溶媒の種類と花粉の生長

有機溶媒の種類と花粉の発芽、管伸長の関係については、すでにヤマツバキの花粉を 30 種類の溶媒に入れたときの結果が報告されているが、その実験では常温中で減圧することによって有機溶媒を揮発させている⁽⁴⁾。今回はヤマツバキとデイコの花粉を 50 種類の有機溶媒の中に入れた（1 週間）後、45°C 中で有機溶媒を揮発させる方法を用いた。こうして溶媒を揮発させた花粉を前記の方法で培養し、24 時間後の花粉管伸長を調べた。Table 1 にその結果が示されている。

表にみられるように、50 種類の有機溶媒の中で、まったく花粉を発芽させなかつたものは、ヤマツバキの場合は酢酸、エタノール、メタノールの 3 種類、デイコの花粉の場合は酢酸のみであった。その他の有機溶媒においては、溶媒の種類ごとに花粉の生長度に差はみられたが、いずれの花粉も発芽力を保っていた。phenol, *tert*-butyl alcohol, dioxane などは 5°C 中で氷結したが、その中の花粉はほぼ完全に生長力を保存していた。なお phenol の場合は、そのまま揮発しにくいため、acetone におきかえてから（1 日アセトン中においてから）乾燥させて培養した。酢酸の場合は phenol と同じように acetone におきかえてから培養しても、まったく発芽しなかつた。

Organic solvent	<i>Camellia</i>	<i>Erythrina</i>			
control	8.2	4.2	ethyl ether	8.3	4.3
acetic acid	0	0	ethyl alcohol	0	0.2
acetone	8.1	4.2	ethylamine	4.1	3.8
acetonitril	4.9	0.1	ethyl formate	0.3	1.6
acetylacetone	0.3	0.4	n-hexane	8.2	4.4
n-amyl alcohol	8.2	4.1	n-heptane	8.0	4.0
iso- " "	8.3	4.3	lauryl alcohol	4.0	0.3
tert- " "	8.5	4.2	methyl acetate	7.7	4.1
n-amyl ether	8.3	4.2	methyl alcohol	0	0.2
iso- " "	8.5	4.3	methyl formate	0.3	0.2
aniline	0.9	0.5	nitroethane	8.5	4.2
benzene	8.3	4.2	nitromethane	8.1	4.5
benzyl alcohol	4.9	1.7	n-octane	7.0	2.5
bromoform	0.3	1.6	iso- "	8.3	3.7
n-butyl acetate	8.1	4.2	n-octyl alcohol	6.0	2.2
tert- " "	8.2	4.3	paraldehyde	8.4	4.1
n-butyl alcohol	8.4	4.0	n-pentane	8.2	4.1
iso- " "	8.2	3.8	iso- "	7.1	4.0
tert- " "	8.1	3.8	phenol	8.3	4.3
carbon disulfide	4.8	1.2	n-propyl alcohol	8.1	2.5
carbon tetrachloride	6.2	3.0	iso- " "	7.8	1.6
chloroform	7.8	3.8	pyridine	3.2	0.6
cyclohexane	7.9	4.2	tetraline	8.9	3.9
dioxane	8.0	4.3	toluene	8.5	4.2
dichloromethane	7.7	4.4	1,1,1-trichloroethane	7.9	2.7
			xylene	8.5	4.2

Table 1 Growth of *Camellia japonica* and *Erythrina indica* pollen grains which had been soaked in 50 organic solvents for 1 week at 5°C. Numbers in the table show the length of the pollen tubes in millimeter.

これらの実験の結果から、大部分の有機溶媒が花粉の生長力に害を与えないこと、および溶媒の種類によって花粉の生長度が少しづつ異なることがわかつたので、Table 1 の結果をもとにして、溶媒の分子量

の小さいものから大きなものの順にならべて、溶媒の分子量と花粉の生長度との関係をみた。それが Fig.1 であり、また 50 種類の有機溶媒の親水性と花粉の生長度との関係をみたものが Fig.2 である。

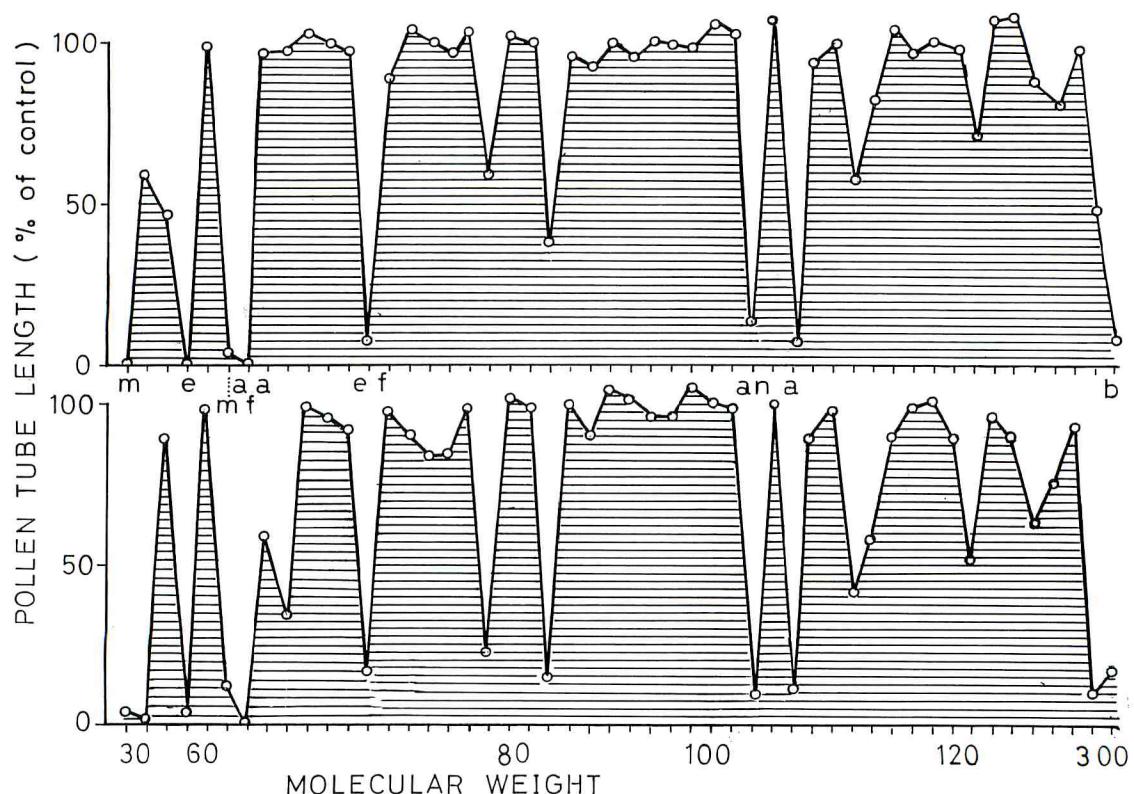


Fig. 1 Relation between molecular weights of 50 organic solvents in which pollen grains had been soaked and the rates of growth of the pollen grains.

Top.....*Camellia japonica*, Bottom.....*Erythrina indica*. m.....methyl alcohol, e.....ethyl alcohol, mf.....methyl formate, aa.....acetic acid, ef.....ethyl formate, an.....aniline, a.....acetylacetone, b.....bromoform

これらのグラフから、有機溶媒の分子量の大きさと花粉の生長との関係は特別な関係はないが、溶媒の親水性（または疎水性）は花粉の生長力の保存とかなり密接な関係をもっていることがわかる。つまり親水性のひくい（疎水性の高い）有機溶媒は、いずれも花粉の生長力を保存するが、親水性の高い（疎水性のひくい）溶媒には、花粉の生長力を保存できないものが多くみられた。しかし親水性の高い溶媒の中にも、花粉の生長力をよく保つもの（例・acetone）もあった。

2) 有機溶媒の濃度と花粉の生長

有機溶媒の親水性が、かなり花粉の生長力の保存

と関係があることがわかったので、次に親水性の有機溶媒に少しづつ水を加えていろいろの濃度の溶液を作り、それらの中にヤマツバキの花粉を入れ、一週間後にとり出して花粉の生長を調べた。この問題については、すでに acetone を用いて、2 %以上水が含まれていると花粉の生長力が保存されなくなることが知られている⁽²⁾ので、今回は *n*-amyl alcohol, *n*-butyl alcohol, *iso*-butyl alcohol, *n*-propyl alcohol, *iso*-propyl alcohol などのアルコール類と dioxane を用いて花粉の発芽率と花粉管伸長への影響をみた。Fig. 3 がその結果を示している。

これらのグラフから、*n*-butyl alcohol, *n*-amyl

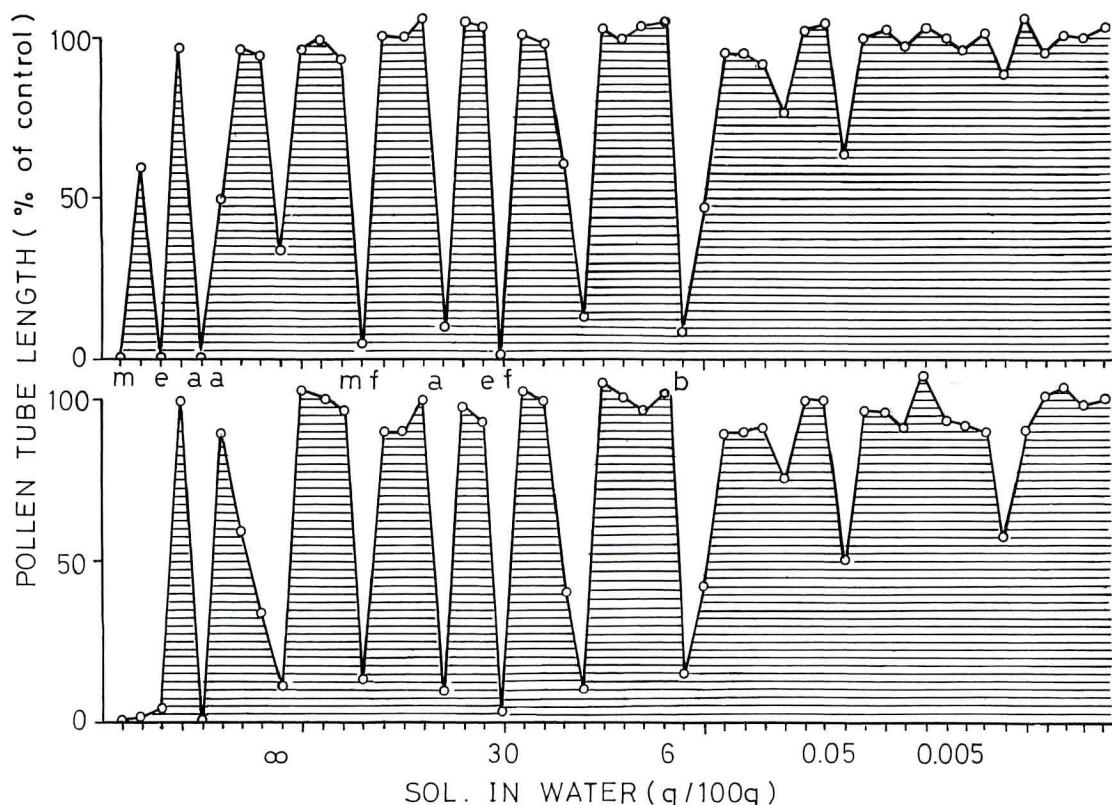


Fig. 2 Relation between solubilities (in water) of organic solvents in which pollen grains had been soaked and the growth of the rates of pollen grains.

Top···*Camellia japonica*, Bottom···*Erythrina indica*. m···methyl alcohol, e···ethyl alcohol, aa···acetic acid, mf···methyl formate, a···acetylacetone, ef···ethyl formate, b···bromoform

alcohol, dioxane などは 98% (水分 2%) までは花粉の発芽や管伸長がみられるが、97%以下 (水分 3%以上) になると花粉の生長力が失われること、および *n*-propyl alcohol, *iso*-propyl alcohol の場合はそれよりもやや低い濃度でも花粉の生長力が保たれ、94%以下 (水分 6%以上) で完全に花粉の生長力を失うことがわかる。なお花粉の発芽に対する影響と管伸長に対する影響とは、ほぼ同じ程度であった。

3) Methyl alcohol の濃度と花粉の生長

Table 1 の結果からわかるように、methyl alcohol は花粉の生長力を失わせる数少ない溶媒の 1

つである。このことは種子の発芽力の保存の場合も同様である。methyl alcohol は有機溶媒の中でもっとも水に近い性質をもっているから、そのことが花粉の生長力を失わせる原因かもしれないと考えられたので、methyl alcohol を蒸留水と *n*-butyl alcohol、および *iso*-propyl alcohol を用いていろいろの濃度に希釈し、それぞれの溶液の中にヤマツバキの花粉を入れて、前記同様の方法で、花粉の生長への影響を調べた。Fig. 4 にその結果が示されている。

グラフにみられるように、水で希釈したときには、どの濃度の中においても、花粉は生長力を保存する

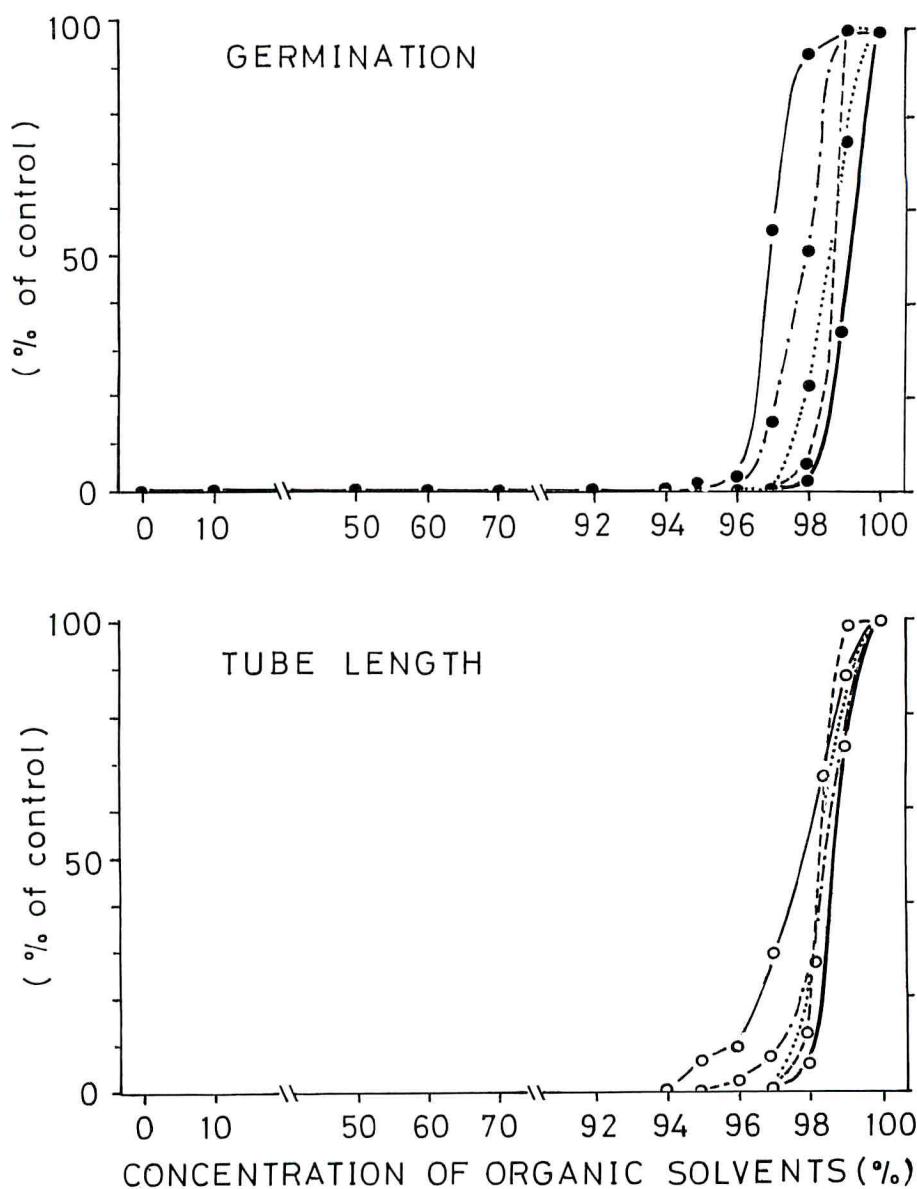


Fig. 3 Effect of water content in 5 organic solvents on germination and pollen tube growth of *Camellia japonica*. The pollen grains were soaked in respective solvents containing water for 1 week at 5°C.

— — — *n*-amyl alcohol, — *n*-butyl alcohol,
 — — — *n*-propyl alcohol, — *iso*-propyl alcohol,
 dioxane

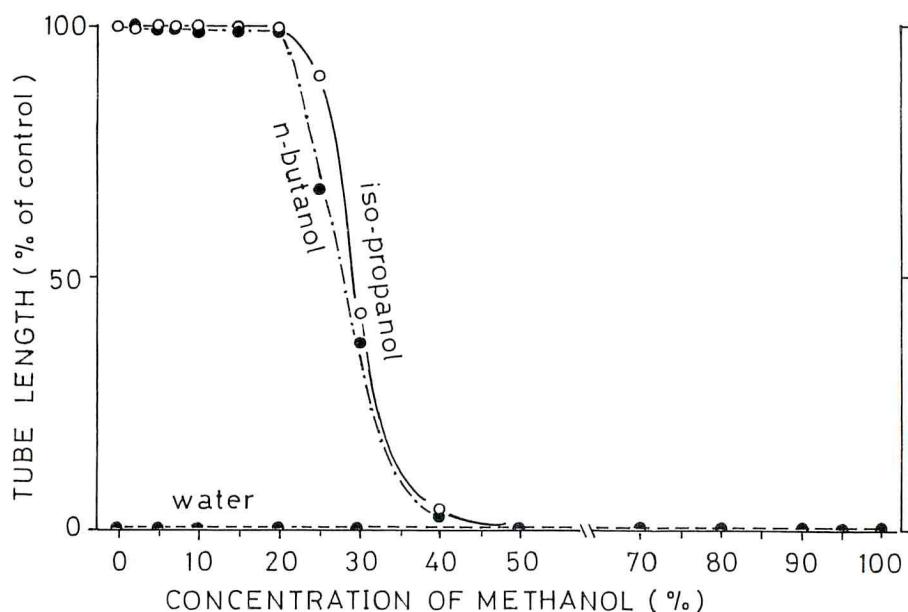


Fig. 4 Comparison of the effects of methyl alcohol dissolved in water, *n*-butyl alcohol and *iso*-propyl alcohol on the growth of pollen tubes of *Camellia japonica*. The pollen grains were soaked in the respective solvents containing methanol for 1 week at 25°C before sowing.

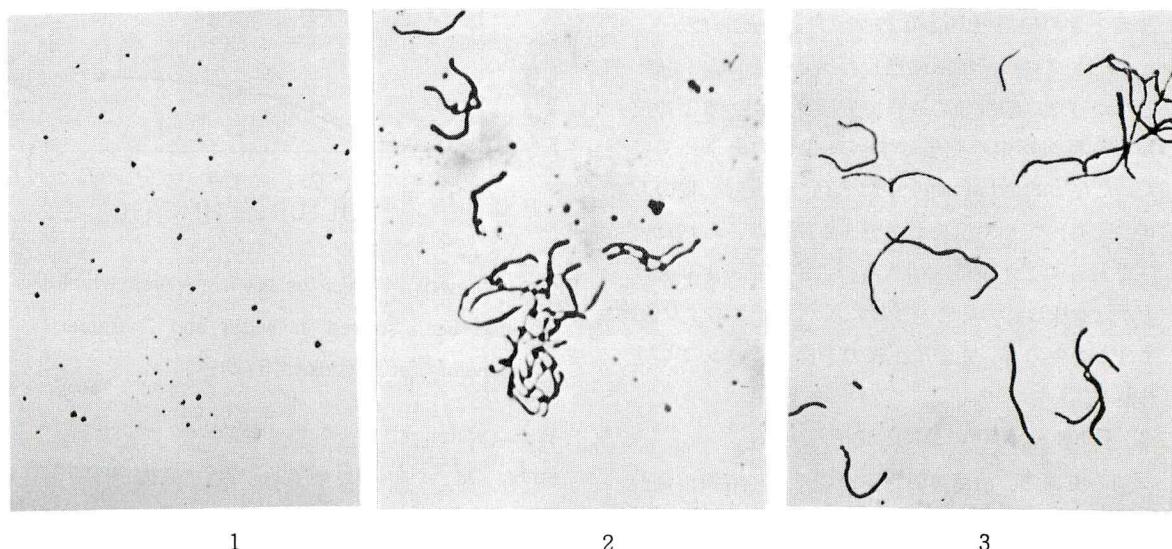


Fig. 5 Photos of various growth stages of *Bacillus* spores at 37°C.

1..... after 5 minutes cultivation, 2..... after 3 hours,
3..... after 5 hours

ことができなかつたが、*n*-butyl alcohol と *iso*-propyl alcohol で希釋した場合は methyl alcohol の濃度が 20%以下の時は、花粉の生長力を完全に保ち、40～45%以上になると花粉の生長力を失わせた。したがつて有機溶媒中に水が含まれている場合の害作用 (Fig. 3 参照) と、methyl alcohol の害作用とは、異質なものであると考えられる。

4) 有機溶媒の種類と枯草菌の胞子の生長

枯草菌の胞子は前記の培養液中でよく発芽し、生長するが、37°C 中での生長の仕方はおよそ Fig. 5 の写真のようである。このように胞子が生長すると、培養液の濁度は高まつてくる。

枯草菌の胞子を benzene, chloroform, ethyl ether, methyl alcohol, *n*-propyl alcohol, phenol, xylene などの有機溶媒、および水(蒸留水)の中に入れ、5°C 中に 1 週間おいた後に前記の方法で培養した時の結果が Fig. 6 に示されている。phenol に入れた場合はさらに 1 日 acetone 中に入れておくことによって、phenol を acetone におきかえてから揮発させ、それを培養した。なお枯草菌の胞子をオートクレーブで 160°C 中に 3 時間保つた後に培養したときの結果を Fig. 6 のグラフに付記した。

オートクレーブで熱処理した場合はまったく発芽しなかつた(顕微鏡の観察でも同様)が、水と 7 種類の有機溶媒中の胞子はすべて生長力を保つていた。ただ methyl alcohol 中に入れた胞子は、他のものにくらべてやや生長力が弱まる傾向がみられた。

これらのことから、枯草菌の胞子は花粉よりもはるかに有機溶媒の影響を受けにくいくこと、および胞子は水の中でも、完全に生長力を保っていることがわかる。

5) Ethyl alcohol の濃度と胞子の生長

前の実験で、枯草菌の胞子がいずれの有機溶媒の中に入れても生長すること、および花粉に対しては生長力を完全に失わせる ethyl alcohol が、胞子の生長には影響を与えないことがわかつたので、次に通常殺菌の目的で使われているアノコール溶液 (70～80%の ethyl alcohol) の中に胞子を入れる実験を

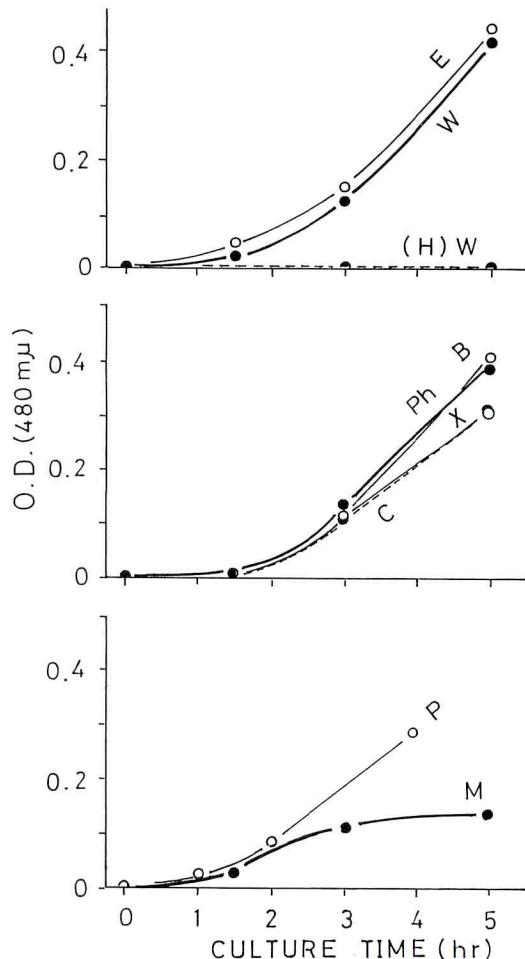


Fig. 6 Growth of *Bacillus subtilis* spores which had been soaked in water and 7 organic solvents for 1 week at 5°C.

W……water, B……benzene, E……ethyl ether, M……methyl alcohol, P……*n*-propyl alcohol, Ph……phenol (pollen grains were washed with acetone before drying), X……xylene, (H)W…… pollen grains were heated for 30 minutes at 160°C.

行なった。0~100%の ethyl alcohol 中に胞子を入れ、5°C 中に1週間おいた後に胞子をとり出して培養した結果が Fig. 7 に示されている。

この実験により枯草菌の胞子はいずれの濃度のアルコール溶液(5°C)でも生長力を保つことがわかった。そこで次に70%の ethyl alcohol 中に胞子を入れ、-15°C、5°C、15°C、28°C の中に1週間おいてから、胞子をとり出して培養してみたが、いずれの温度の下においても、胞子は完全に生長力を保っていた(データー省略)。

III. 考察

花粉や種子がある種の有機溶媒中で生長力を保っていることはすでに知られていたが、今回50種類の有機溶媒に花粉を入れて、それぞれの花粉の生長力

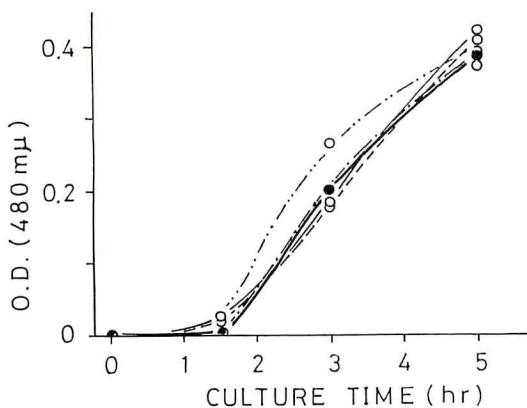


Fig. 7 Effect of ethyl alcohol concentration on the spore germination of *Bacillus subtilis*.

- 100% ethyl alcohol,
- - - 70% ethyl alcohol
- · — 50% ethyl alcohol,
- · · — 10% ethyl alcohol
- · · · — 0% ethyl alcohol,

Spores were soaked in the respective aqueous ethyl alcohols for 1 week at 5°C and then cultured.

を比較した。さらに枯草菌の胞子についても、有機溶媒中浸漬の影響を調査した。

Table 1 にみられるように、酢酸だけは2種の花粉の生長を完全に抑えたが、その他の49種類の溶媒中の花粉は、多かれ少なかれ生長力を保っていた。これらの実験の結果を整理すると次のようになる。

1. 完全に生長しなくなるもの—acetic acid
2. 強く生長力を抑えるもの—acetyl acetone, aniline, ethyl alcohol, methyl alcohol, methyl formate
3. 生長力を抑えるもの—acetonitril, bromoform, carbon disulfide, carbon tetrachloride, ethyl-amine, lauryl alcohol, *n*-octyl alcohol, pyridine
4. 無影響、または生長力を強めるもの—以上のもの以外の36種類の有機溶媒(例・acetone, ethyl ether, dioxane, phenol, xylene)

5°C 中で氷結した dioxane, *tert*-butyl alcohol, benzene, phenol などに入れた花粉は、いずれも対照と同様によく生長したことから、氷結すること自身は花粉の原形質に害作用を与えないことがわかるし、むしろ氷結していることによって花粉の中の物質を溶出することが妨げられるから、これらのものはかえって花粉を長期貯蔵するのに適してあると考えることができる。

Table 1 の花粉についての結果は、種子の発芽に対する有機溶媒の影響⁽⁶⁾とよく似ている。ただ種子の発芽は ethyl alcohol に入れても抑制されないが、花粉は ethyl alcohol によって完全に発芽しなくなる点が注目される。

有機溶媒の分子量と花粉の生長との間には、とくに関係がないが、溶媒の親水性は花粉の生長力の保持とかなり深い関係をもつらしく、疎水性の高い有機溶媒は例外なく花粉の生長力を保持し、親水性の高い溶媒には花粉の生長を害するものが多くみられた。

花粉の生長を害する有機溶媒の中には、溶媒自身の化学構造にあるものと、高沸点のために45

°C 中で揮発せずに花粉の内部や周りに残り、それが吸水後に花粉の生理作用を乱すものとがあると思われる。たとえば aniline, acetylacetone lauryl alcoholなどの高沸点溶媒に入れたとき、phenol の場合と同じように ether か acetone とおきかえてから乾燥させると、さらによく生長するようになる可能性がある。

有機溶媒の化学構造の面から考察すると、50種類の溶媒の中で炭化水素に属するものは芳香族、直鎖、環状構造の如何にかかわらず、 $C_5 \sim C_{10}$ のものは花粉の生長力をよく保っていた。ただ *n*-octane と *iso*-pentane はやや花粉の生長力を弱めた。

ハロゲン化炭化水素の分子量に注目すると、ヤマツバキの花粉では trichloroethane(133) までのものはほとんど花粉の生長に影響を与えないが、carbon tetrachloride(154)になると阻害的な影響を示はじめ、bromoform(353)は強く花粉の生長を阻害した。とくにデイコの花粉に対しては、分子量の多いハロゲン化炭化水素ほど生長に害作用を示すことが明らかである。ただ bromoform がとくに強く花粉の生長を害することについては、溶媒の一部が分解されることによって遊離すると考えられる臭化水素酸の影響も考慮に入れねばならないであろう。

エーテル類はすべて花粉の生長には害を与えず、エステル類では酢酸エステルの方は無害であるが蟻酸エステルが花粉の生長に害作用を与えることがみられた。その理由については、後者が前者にくらべて加水分解されやすいことから、蟻酸が遊離されて働く可能性があると思われる。

ケトン類については、例数は少ないが acetone が親水性が高いにもかかわらずよく花粉の生長力を保つことが注目される。これは acetone が燐脂質をとかしにくい性質をもつことが関係していると思われる。acetylacetone が生長に害作用を与えるのは、高沸点(140°C)のため溶媒が揮発しないことのほかに、金属キレートを形成する性質をもつことも考慮に入れる必要があるであろう。

アルコール類に関しては、直鎖、分枝構造の如何にかかわらず、炭素数と花粉の生長力との間にかなり明瞭な関係がみられた。すなわち、 C_3 以上のアルコール類中で花粉の生長力が保存され、 $C_4 \sim C_6$ のものがもっともよく、それ以上になると炭素数の増大とともに生長は悪くなつた。Fig. 8 がそのことを示している。

このように炭素数がとくに多い高級アルコール中で花粉の生長力が保たれないのは、高沸点で揮発しにくいことのほかに、表面活性が大きいことがその理由として考えられる。

n-butyl alcohol, dioxane などの親水性の溶媒に水を加えて花粉の生長に対する影響をみると、*n*-butyl alcohol, *n*-amyl alcohol, dioxane の場合は 2%以上水があると花粉は発芽しなくなるが、*n*-propyl alcohol と *iso*-propyl alcohol の場合は、水分が 6%になるまで花粉の生長力が保たれた。methyl alcohol の場合は、いずれの濃度においても花粉の生長はみられなかつたが、methyl alcohol を *n*-butyl alcohol, *iso*-propyl alcohol などの有機溶媒で希釈すると、methyl alcohol の濃度が 40%になるまでは花粉の生長がみられ、とくに 20%以下の濃度においては、まったく害作用を示さなかつた。このことは methyl alcohol による害作用が、methyl alcohol が水に近いからではなく、それ自身の中に害作用が示す原因があることを示している。

なお種子の場合に ethyl alcohol が無影響であるに對して、methyl alcohol が完全に発芽を害することは⁽⁶⁾、哺乳動物に対するアルコールの影響と似ている点で注目される。

枯草菌の胞子を有機溶媒に入れる実験においては、いずれの有機溶媒も、胞子の生長力に特別な影響を与えなかつた。たとえば phenol や ethyl alcohol などもまったく胞子の生長を害さず、わずかに methyl alcohol 中に入れたときのみ生長力が少し弱められた。ethyl alcohol をいろいろの濃度に水で希釈した場合も、胞子の生長はとくに害をうけな

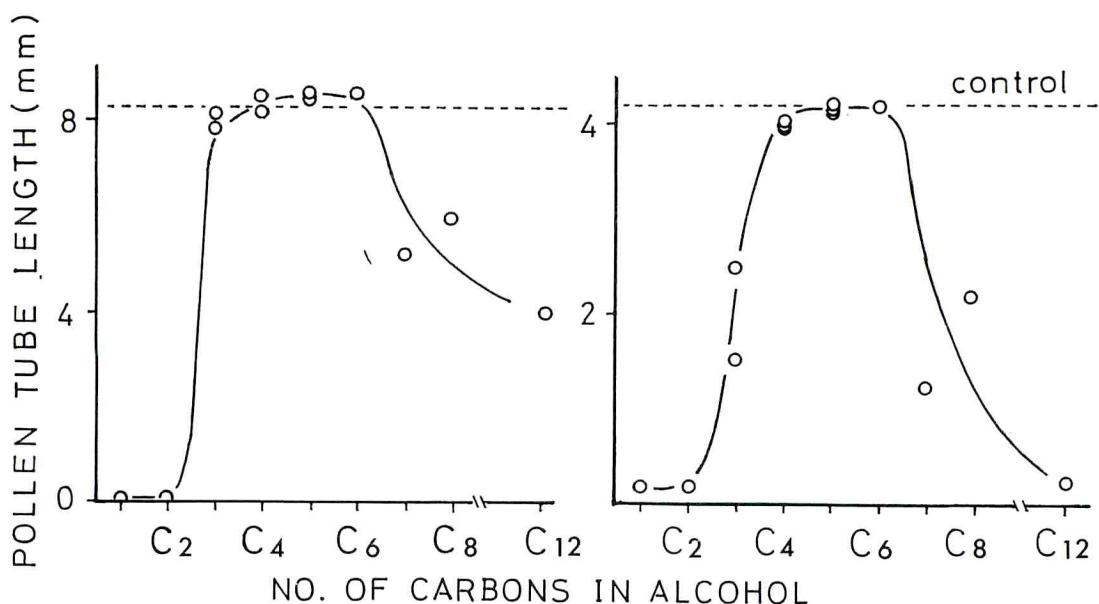


Fig. 8 Effect of C₁~C₁₂ alcohols on the growth of the pollen grains of *Camellia japonica* and *Erythrina indica* which had been soaked in the respective alcohols for 1 week at 5°C. Graphs show that pollen grains soaked in C₄~C₆ gave the best retention of the viability, compared well with that of the unsoaked ones.

Left *Camellia japonica*, Right *Erythrina indica*

control length of pollen tubes of unsoaked pollens.

かった。このことは枯草菌の胞子の異常な強靭性を示し、一般に使われているアルコール殺菌法が、枯草菌の胞子に対してはその効力がないことを示唆している。

枯草菌の胞子については、休眠に落入りっているものを休眠からさめさせるために、水を含んだアルコール溶液 (ethyl alcohol) 中に 5 分間入れてから培養する方法がとられているが⁽¹⁷⁾、この場合、水を含まぬ ethyl alcohol を用いると休眠は打破されないことが知られている⁽¹⁶⁻¹⁷⁾。この事実は、水を含まない有機溶媒は、細胞に変化を与えないことを意味している。したがって花粉や種子や胞子を有機溶媒（水を含まぬ）中に入れた場合に、これらの細胞は有機溶媒によっては何らの影響に入れないものと同様に発芽し、生長を行なうことができるものであろ

う。

なお有機溶媒中に花粉や種子や卵を入れたとき、溶媒はこれらの物の周りに存在するだけではなく、内部にまで浸入することが¹⁴C-acetone を用いた実験で証明されている⁽¹⁹⁾。ただ溶媒が内部に入ったり出たりしながら、なぜ花粉や胞子の原形質、とくに磷脂質を主成分とする細胞膜（原形質膜）が傷つけられないかという問題が残るが、このことについては、まだ十分に説明することができない（別報⁽²⁰⁾参照）。

この研究を進めるにあたって、多大な便宜と、有益な助言をたまわった明治製薬中央研究所所長の仁井田太郎氏に感謝の意を表する。本論文を上野実朗教授定年退官記念号に寄せる。

引 用 文 献

- 1) 岩波洋造 1971 : 花粉誌, 8. 39-43
- 2) Iwanami, Y and N. Nakamura 1972 : Stain Techn. 47. 137-139
- 3) ———. 1972 : Botanique 4. 61-68
- 4) ———. 1972 : Plant & Cell Physiol. 13. 1139-1141
- 5) ———. 1973 : Exp. Cell Res. 78. 470-471
- 6) 岩波洋造・秋沢一位 1974 : 育雑. 24. 59-64
- 7) Iwanami, Y. 1973 : Plant Physiol. 52. 508-509
- 8) 岩波洋造・秋沢一位 1974 : 育雑. 25. 139-144
- 9) 田沢栄五郎・岩波洋造 1974 : 動雑. 25. 267-369
- 10) 中山包 1960 : 発芽生理学 内田老鶴画. 東京
- 11) Iwanami, Y. 1976 : Botanique 投稿中 ?
- 12) Milborrow, B. V. 1963 : Nature 199. 716-717
- 13) Meyer, H. and A. M. Mayer 1971 : Science 179. 94-95
- 14) Khan, H. F. et al. 1973 : Plant Physiol. 52. 79-81
- 15) 岩波洋造・秋沢一位 1975 : 横浜市大論叢(自然) 27. 53-66
- 16) Halmes, P. K. and H. S. Levinson 1967 : Currents Mod. Biol. 1. 256-258
- 17) Hyatt, M. T. and H. S. Levinson 1968 : Jour. Bact. 95. 2090-2101
- 18) Iwanami, Y. 1959 : Jour. Yokohama City Univ. 116. 1-137
- 19) 岩波洋造・新井勇治・中村紀雄 1975 : 農化誌, 49. 561-562
- 20) 岩波洋造 1975 : 花粉誌, 15. 3-14

Summary

Viability of 2 pollen grains and *Bacillus* spores which had been soaked in 50 organic solvents or mixed solvents containing water or methanol was tested. Pollen grains of *Camellia japonica* soaked in acetic acid, ethyl alcohol and methyl alcohol did not germinate at all. However, other pollen grains soaked in the remaining 47 organic solvents retained their viability. Pollen grains soaked in some solvents such as *iso*-amyl alcohol, *iso*-amyl ether, iethyl ether, tetraline and phenol surpassed the unsoaked control with respect to the length of pollen tubes. In *Erythrina indica* pollens, the viability was retained in all of organic solvents except one (Table 2, Fig. 1, 2). *Camellia japonica* pollen grains soaked in hydrophilic solvents containing 2 ~ 4 % or more water lost the ability to elongate pollen tubes (Fig. 3).

Bacillus subtilis spores retained the viability in various organic solvents, even in methyl alcohol or 70% ethyl alcohol by soaking for 1 week at 5°C. (Fig. 6, 7). Relation between the physico-chemical properties of organic solvents and the retention of the viability of pollen grains was discussed. With regard to the aqueous solubility, hydrophobic solvents showed, in general, better retention than hydrophilic solvents. No general relationship between molecular weight and retention was observed throughout 50 solvents, but it did exist in homologues of alcohols (Fig. 8), and halogenohydrocarbons. Alcohols of 4~6 carbon atoms and halogenohydrocarbons of lower molecular weights gave the best retention.