

花柱組織内のユリ花粉管の観察法

新美 芳 二

新潟大学農学部 〒950-21 新潟市五十嵐2の町8050
(1991年7月12日受理)

An Attempt at Improving a Technique of Observing
Pollen Tubes in the Style of *Lilium* spp.

Yoshiji NIIMI

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

はじめに

受粉後の花粉管の動きを出来るかぎり正確に把握することは作物の育種をすすめるときの障害を明らかにするうえで重要である。著者らもユリを種々の組合せで交配した雌ずいを FAA で固定して1規定の NaOH で軟化したあと、コットンブルーやアニリンブルーなどで染色して花粉管の伸長状態を光学顕微鏡や蛍光顕微鏡で調査することを試みてきた。しかしながらユリの花柱組織はかなり厚いことから、軟化した花柱組織をそのまま押しつぶしたり、花柱を縦に割って内壁が見えるように切開したあと押しつぶした場合でも、花粉管が花柱組織に隠れたり、花柱組織と花粉管の区別が出来なかったりして満足な結果が得られなかった(写真1)。そこでユリの花柱内の花粉管を観察するための種々の方法を試みた結果、従来の押しつぶし法を改良することによりユリの花粉管の伸長を観察する上で適していると思われる方法が得られたので報告する。

材料及び方法

タモトユリの自家受粉及びタモトユリ×ヒメサユリの雌ずいを一定時間後に採集し、花柱基部で切断したのち FAA (ホルマリン: 酢酸: 70%エチルアルコー

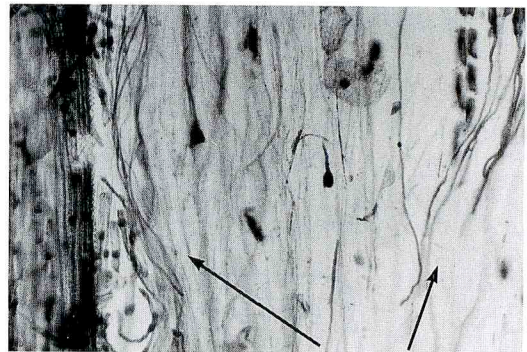


写真1 花柱組織中のユリ花粉管

軟化した花柱組織を切開して内壁を露出させ、コットンブルー溶液を数滴落して染色したあとそのまま押しつぶして観察した。矢印は花粉管を示す。

ル = 5 : 5 : 90 v/v) で固定した。

本報告で用いた押しつぶし法による花柱の処理方法や花粉管の観察は次のように行なった。

〔1〕 花柱の固定及び染色法

- (1) 受粉した雌ずいを一定時間後に子房の基部より採集し、柱頭を含む花柱部分を FAA (ホルマリン: 酢酸: 70%エチルアルコール = 5 : 5 : 90 v/v) で固定。

- (2) 固定した花柱は花粉管を観察するための処理に入る前に水道水で1時間水洗。
- (3) 60°Cの1規定 NaOH で40~50分間軟化。
- (4) 温湯で水洗。
- (5) 60°Cの0.1%コットンブルー液（乳酸：石炭酸：グリセリン：蒸留水=1：1：1：1 v/v の溶液にコットンブルーを0.1%濃度で溶解した液）で40分間染色。

〔2〕 花柱内の花粉管の観察

- (1) 染色した花柱を10×10×0.5cm のガラス板上にのせ、柱頭組織の真下の付近で図1に示すように花柱溝の1側面の内壁付近まで届くようにナイフの先端を入れ、そのあと基部側に向かって切り込みを入れて内壁が露出するように切開。
- (2) 柱頭組織と花柱組織を切り離すために、解剖顕微鏡下でナイフとピンセットを用いて柱頭直下の部分で花柱組織の内壁に届く程度に円周状にナイフで切り込みを入れる（図2）。
- (3) このように準備した花柱組織の上に50%のグリセリンを数滴落とし、花柱組織をピンセットで押えながら、もう一方のピンセットで柱頭組織をゆっくりと引き、一部の組織とともに花粉管束を花柱組織から分離。
- (4) 柱頭部とともに分離された花粉管束をスライドガラスにのせ、50%のグリセリンを数滴落したあとカバーガラスをかけ検鏡（写真2、3）。

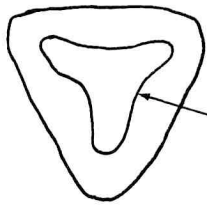


図1 軟化した花柱を切開するとき入れるナイフの先端の位置（矢印）

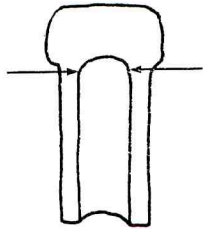


図2 柱頭組織と花柱組織を分離するさいに円周状に入れるナイフの先端の位置（矢印）

パラフィン切片による花柱内の花粉管の観察は次のように行なった。FAA で固定した花柱のうちの一部のものを n-ブチルアルコールシリーズで脱水したあと、パラフィンに包埋して10 μ m の横断切片を作成してデラフィールドヘマトキシリンで染色した。

観察結果および考察

花柱内の花粉管観察のための簡単なものとして、花柱を切開するなどの前処理を行なったあと花柱組織とともに押しつぶす方法がある。しかしながら、ユリの花柱組織は写真5-1から明らかなように組織が厚く中空になっているために、従来の方法のようにコットンブルーで染色後そのまま押しつぶして花粉管を観察しようとしても花粉管と花柱組織が混在して花粉管の伸長状態を良好に観察できず（写真1）、また、結果は示さなかったがアニリンブルーで染色した花柱組織を押しつぶして蛍光顕微鏡で調べた場合も花粉管の観察は困難であった。一方、本報告で示した方法は一部の組織とともに花粉管束を花柱組織から分離したあと観察するために、花粉管の伸長状況や花粉管の先端などの観察が容易となった（写真3）。

花粉管束とともに引き出される組織が何であるか不明であったため、花柱の横断パラフィン切片を作成して調べた。柱頭組織と花柱組織の境目付近にある溝に入り込んだ花粉管（写真4）は中空の花粉管誘導組織に入り込んだあと、その表皮上にわずかに発達している繊維状の組織の中を伸長していくことがわかった（写真5、6）。岩波（1964）によれば、柱頭内の誘導組織を通過したユリの花粉管はそれらを誘導する穴に出たあとは内壁表皮の表面を這うように伸長すると述べている。今回の観察では花柱のすべての部位を調査しなかったため写真5、6に示したような繊維状の組織が花柱内壁の全域に発達しているかどうかは不明であるが、中空の花柱組織内に入ったユリの花粉管はしばらくの間は誘導組織の表皮上に発達した繊維状の組織の中を伸長していくことが明らかとなった。したがって、花粉管束と一緒に分離してくるのはこの繊維状の組織の一部と思われた。

ここに示した改良押しつぶし法は花粉管がほとんど伸びないで柱頭組織に止まっているような場合には適用できないと思われるが、ユリと同じタイプの中空の花柱をもつ植物で且つ花粉管が花柱溝に侵入している場合には、一部の花粉管が花柱組織内に残る可能性も多少あると思われるが、花粉管の長さや先端の様子も

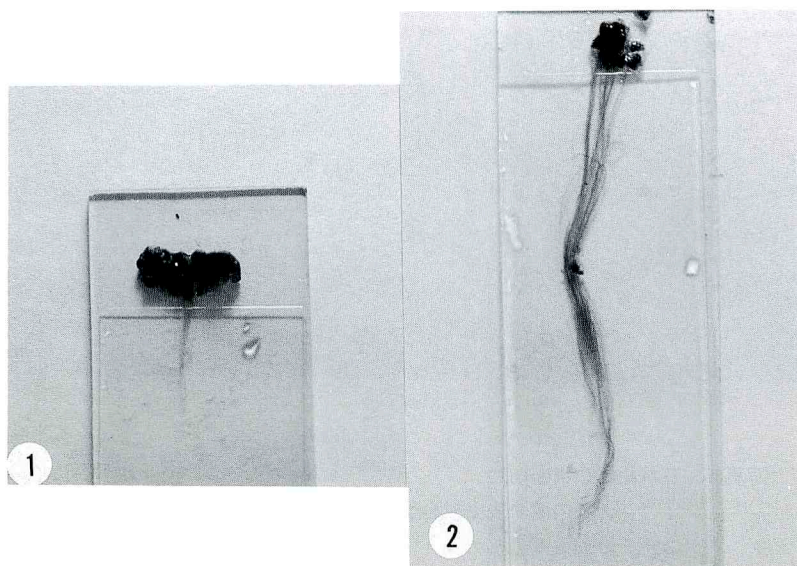


写真2 花柱組織から切り離した柱頭組織，花粉管束と繊維状組織
1，タモトユリ×ヒメサユリの受粉24時間後；
2，タモトユリの自家受粉120時間後。



写真3 写真2-2の試料の花粉管の顕微鏡観察

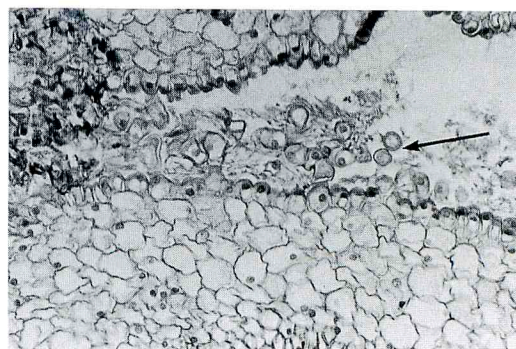


写真4 柱頭組織と花柱溝の境界付近に見られる組織と花粉管（矢印）

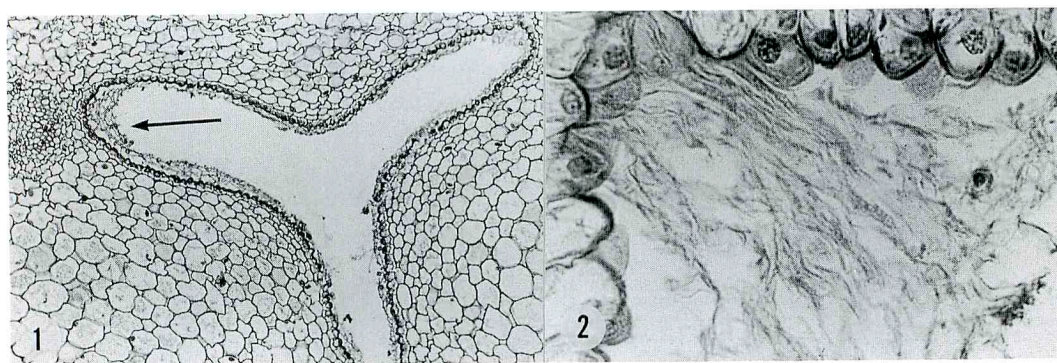


写真5 花柱組織の横断切片

- 1, 花柱溝内壁の表皮細胞から発達している繊維状組織 (矢印);
- 2, その拡大写真.

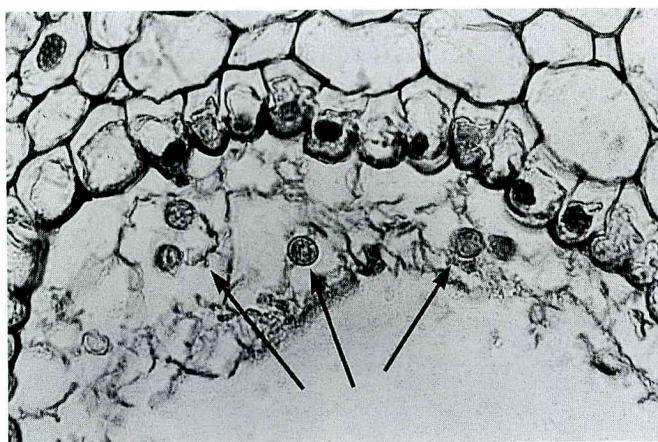


写真6 花柱溝内壁の表皮に発達している繊維状組織内の花粉管の横断切片 (矢印)

観察することが可能であり、これらをより正確に測定する方法として従来の押しつぶし法よりすぐれていると思われる。

参 考 文 献

- (1) 岩波洋造：花粉学大要 pp. 111-114, 風間書房, 東京 (1964).