

レンゲの花柱および胚珠の顕微鏡標本作成のための包埋法

林 喜 三 郎

(農学部育種学研究室)

Paraffin embedding for preparation of the pistil and the ovule in Renge (*Astragalus sinicus* L.)

by

Kisaburo HAYASHI

(Laboratory of Plant Breeding, Faculty of Agriculture)

植物の花柱および胚珠のパラフィン切片標本を作成するにあたって、切断方向が適切でないと、必要な組織が2枚以上の切片にまたがるので、観察が極めて困難である。しかるに、一般に花柱は多少とも彎曲し、胚珠は極めて小さいのが普通であって、適切な切片を得ることは容易でない。筆者は長年同質4倍体作物の不稔機構の解明に関する研究に従事して来たが(林, 1961, '64, '66, '67), レンゲでは幸い包埋法の改良によって、適切な切片を容易に得ることが出来た。この包埋法はレンゲと同様な形態をもつ他のマメ科植物でも、広く適用出来ると思われるので、ここにその方法を簡単に紹介する。

1. 雌蕊の構造にもとづく包埋法の改良

切断方向に精密を要する花柱や胚珠の切片の作製にあたって、慣例の包埋法(田中 1957, 西山 1961)では材料がパラフィン内に埋没するために、その方向を知ることが困難であるばかりか、たとえわかっても切断方向と一致させることはさらに困難である。これらの困難を除去するためには包埋時に材料をパラフィンの表面近く、かつ切断し易い方向に予め配列しておくことと便利である。

レンゲの雌蕊は第1図に示す如く、花柱は彎曲し、胚珠は2室にわかれた子房内に、その外壁とほぼ平行に規則正しく並んでいる。

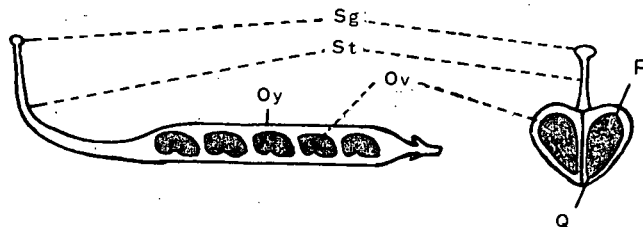


Fig. 1. The pistil of rengen.

Left: Longitudinal section, Right: Cross section. Sg: Stigma, St: Style, Oy: Ovary, Ov: Ovule, P-Q: Developmental direction of embryo or embry sac.

したがって、包埋時に花柱または子房を切り離して、パラフィンとともに暖めた包埋容器に移せば、それぞれ自然に倒れて底面に寝るので、そのまま固まらせて表面より切ればよい。たゞ実際には多数の材料をとり扱うので、1つの容器にそれぞれを規則正しく配列する必要があるが、暖めていた容器を冷水に移す際に、材料の配列が乱れる。そこで、包埋容器を動かさないで、冷やした

めに、第2図に示すような包埋装置を考案して用いた。

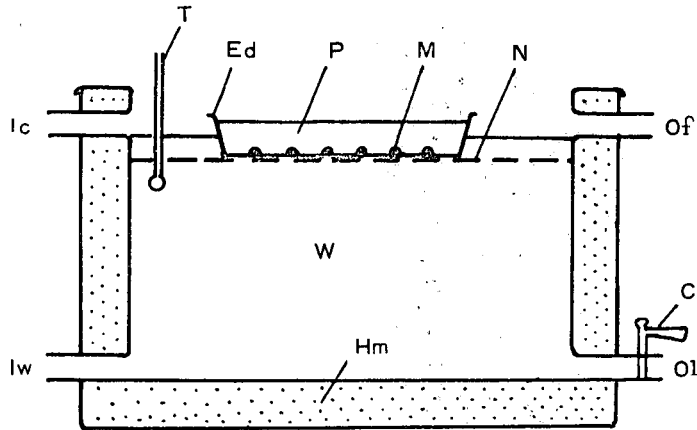


Fig. 2. The apparatus for paraffin embedding.

T : Thermometer, Ed : Embedding dish, P : Paraffin, M : Style or pistil, N : Wire net, Hm : Heat insulating materials, C : Cock, W : Warm or cool water, Ic and Iw : Intake of cool and warm water, respectively, Of and Ol : Overflow and outlet of warm or cool water, respectively.

2. 包埋の実際

この装置による包埋の具体的な方法を記述するとつぎのとおりである。ただし、包埋に到るまでのパラフィン誘導は通常の方法と全く変わらない。

- (1) 包埋装置内にパラフィン融点より約 5°C 高い温湯を、“Iw”より入れて、“Of”より湧出させる。
- (2) 包埋容器内面に液状の石ケンをぬり、これをアミ棚(N)にのせる。
- (3) パラフィンを $7\sim 8\text{ mm}$ 以上の深さに入れ、つづいて材料を移し、横に倒れたまゝ規則正しく配列する。
- (4) 温湯の供給を止め、“Ol”より排水後、“Ic”より冷水を入れる。包埋容器の底面に水がふれると途端に材料は動かなくなるから、別の水槽に移し、慣例と同じように急冷する。
- (5) パラフィンが充分冷えた後、ブロックをとり出し表面の石ケンを充分に水洗してから、個々の材料別に切り離し、マイクロームの台木につける。
- (6) ブロックをトリミングしてから、材料の切断方向を再確認し、その表面にそって切ってゆくと、材料がごく表層にあるから、最初から慎重に行なう。

以上のような方法によって得た開花直前の花柱および胚珠の顕微鏡写真を示すと、第3および4図のとおりである。

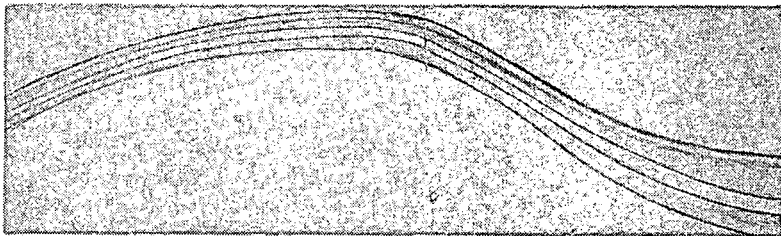


Fig. 3. The style just before flowering.

The whole conducting canal is able to be observed in a section.

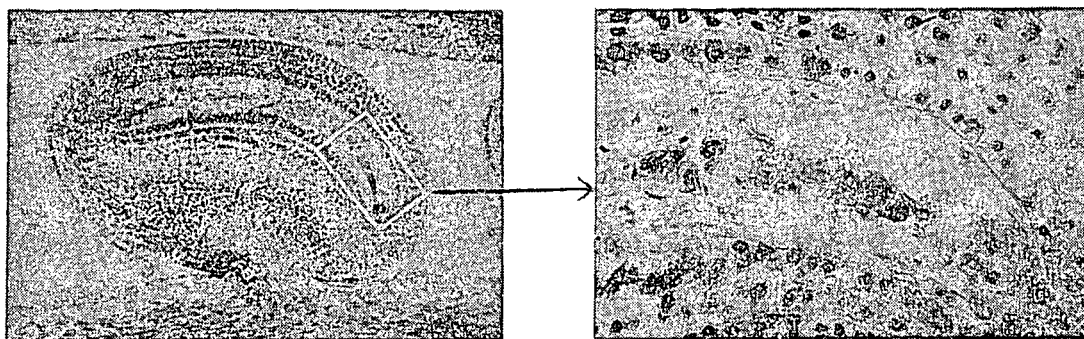


Fig. 4. The embryosac just before flowering.

Three antipodal cells, two polar nuclei, one synergid, and egg nucleus are able to be observed in a section.

すなわち、第3図では花柱の誘導溝が柱頭より基部まで、第4図では反足細胞、極核、助細胞および卵細胞など胚のうの全組織が1枚の切片で観察出来る。ただし、助細胞の1つは焦点が違うために図には表われていない。

引用文献

1. 林 喜三郎 1961: レンゲ4倍体の不稔機構に関する研究I. 高知大学学研 10: 自然科学II第11号.
2. ——— 1964: " " II. 育雉 14: 112—118.
3. ——— 1966: 金魚草4倍体の不稔機構. 育雉 16別冊I: 16—17.
4. ——— 1967: イタリアンライグラス4倍体の胚のうおよび胚の形成. 育雉 17別冊II: 109—110.
5. 西山 市三 1961: 新編細胞遺伝学研究法. 134頁 東京 養賢堂.
6. 田中 克己 1957: 顕微鏡標本の作り方. 63頁 東京 裳華房.

Summary

The procedure of embedding by employing the new designed apparatus (Fig. 2) is given below.

1. Warm water of which temperature is about 5°C higher than melting point of paraffin is put into the basin (W) from the intake (Iw) and run over to the over flow (Of).
2. A embedding dish is smeared with liquid soap to prevent paraffin adhering and placed on the wire net (N).
3. Paraffin and the materials are put into the dish and the materials are arranged underlying the bottom of dish.
4. After the warm water is drained off cool water is put into the basin (W). When the cool water comes in contact with the bottom of dish and a skin is formed on the surface of the paraffin by blowing, the dish is plunged into cool water of the other basin.
5. The cooled block of paraffin is mounted on the holder of the microtome by employing the common process.
6. The cutting carefully is began in parallel with the surface in front of the materials.

(昭和42年9月30日受理)

