

実験 9 植物の多様性と生殖(Ⅲ)

テッポウユリの花粉管伸長

目的 花粉管伸長のしくみを調べることによって、被子植物の生殖様式を理解する

材料 テッポウユリ (*Lilium longiflorum*)

実験 A 花粉管伸長の観察

器具、試薬

光学顕微鏡、スライドガラス、カバーガラス、湿室用のタッパー、割りばし、キムワイプ、シャーレ、マイクロピペット、チップ、カミソリ、ピンセット

培地の組成

- A. 1% 寒天
- B. 1% 寒天、7% ショ糖、
- C. 1% 寒天、7% ショ糖、0.25 mM GDL
- D. 1% 寒天、7% ショ糖、0.5 mM GDL
- E. 1% 寒天、7% ショ糖、1.0 mM GDL

(GDL = グルコノラクトン D(+)-glucono-1,5-lactone)

実験手順

① 寒天培地の準備

- TAが電子レンジで溶解済み（やけどに注意！）。
- 約50°Cに冷めるまで待つ（手で触れられる程度）。

②プレパラートの作製（班ごとに作成、下表を参照）

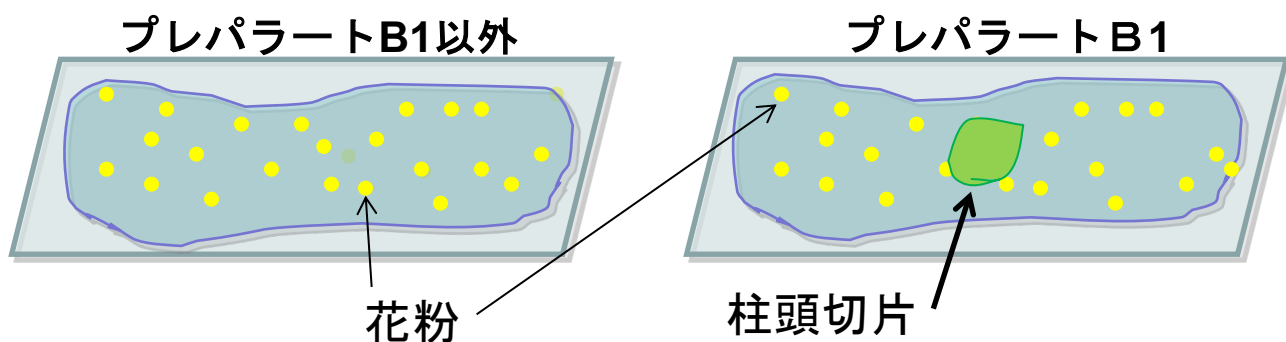
- スライドガラスを6枚並べ、サンプル名を記入。
- 培地 0.75 mL をマイクロピペットで取り、滴下。
- 培地が固まるまでの待ち時間に湿室をつくる。

プレパレート (試料名)	枚数	培地	柱頭
プレパレートA	1枚	A	-
プレパレートB-1	1枚	B	あり
プレパレートB-2	1枚	B	-
プレパレートC	1枚	C	-
プレパレートD	1枚	D	-
プレパレートE	1枚	E	-

③湿室の作製

- タッパーの底全体に、キムワイプを敷き十分湿らす。その上に、割り箸を並べる。

④花粉の散布



- ピンセットで花から葯を花糸（柄の部分）ごと摘みとる。
- 培地表面に葯を何回かつけ、花粉を薄く均一に付着させる。
- 花粉が均一でない、または付けすぎた場合は、キムワイプを用いて軽く撫でるようにして散らばらせる。

⑤柱頭切片の設置

- ピンセットで、花から柱頭を（花柱を含め）摘みとる。
- カミソリで、厚さ約1 mmの柱頭の切片を2班分切り出す。
- 柱頭切片1枚を、プレパラートB1の培地の中央に置く。

⑥発芽処理（30℃）

- プレパラートを湿室内の割り箸の上に並べる。割り箸は割って2本並べる。
- 湿室の蓋を閉め、タッパーごと30℃恒温装置に入れ、培養を開始する。

観察方法

- プレパラートの作成は班ごとに協力して行うが、観察は各自で行う。
- 1時間30分後の花粉の発芽率と花粉管の長さを記録する。複数観察（10-20個程度）して平均値を求める。

観察のポイント① → 「結果」へ

- ショ糖、柱頭、GDL は、花粉管の発芽、花粉管の長さ、原形質吐出にどのような影響を与えるのか。
- 柱頭については伸長方向に与える影響についても答えよ。
- それぞれについて結論に至った根拠も書くこと。

実験B 染色による花粉管中の核の観察

器具、試薬

光学顕微鏡
スライドガラス、カバーガラス
酢酸オルセイン溶液
シャーレ
スポイト

実験手順

- ① 三角フラスコ（Dickinson培地）に入った培養花粉（前日から培養）を、シャーレに移す。
- ② 花粉管が絡み合っているため、ピンセットで引っかけてすくい取り、スライドガラスの中央に載せ、ほぐす。
- ③ サンプルの上に酢酸オルセイン溶液を数滴加え、5分以上静置する。
- ④ カバーガラスをかけ、余分な染色液をキムワイプで吸い取ってから観察する。

観察のポイント② → 「結果」へ

- 花粉管中に核はいくつ存在しているのか。
- 核は花粉管中のどのあたりに位置するか。

レポートについて

【タイトル】

【目的】

【材料と方法】

- ・ 実験AとBそれぞれについて簡潔にまとめる

【結果】

実験Aについて

- ・ 発芽率と花粉管の長さについて結果をまとめる
- ・ 結果を比較して、観察のポイント①に答える

実験Bについて

- ・ 染色後の核をスケッチする
 - ・ 観察のポイント②に答える
- ※学名、和名、スケールバーを忘れずに！

【考察】

- ① 「GDLがハチミツに存在すること」と「今回観察されたGDLの花粉管への影響」の間に生物学的な意義があると仮定した場合、その意義を考察せよ。
- ② 被子植物とコケ・シダ植物の受精方法の違いに着目して花粉を介した受精方法が持つ生物学的意義について、自分なりの考えや解釈を述べよ。

【後片付け】

スライドガラスは寒天培地などをキムワイプで拭き、マジックの字が消えるまで洗い、蒸留水ですすいだから、70%エタノールで拭いてケースに戻す

カバーガラス、カミソリはそれぞれ専用の回収容器に捨てる