

瞬間接着剤を用いた気孔の型取り観察法*

広瀬 竜郎・伊豆田 猛・三宅 博**・戸塚 績

(東京農工大学農学部)

A Stomatal Impression Method Using a Fast-Sticking Adhesive

Tatsuro HIROSE, Takeshi IZUTA, Hiroshi MIYAKE, and Tsumugu TOTSUKA

(Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Fucyu, Tokyo 183, Japan)

1991年7月22日受理

Key words: *Arachis hypogaea*, Peanut, Stomatal aperture, Stomatal impression.

キーワード: 気孔開度, 型取り法, ラッカセイ.

気孔の密度や開度を測定するための観察法の一つとして型取り法がある。わが国において広く用いられているスンプ法やシリコンラバー法¹⁾はその代表例である。スンプ法はセルロイド板の表面を溶剤で溶かし、葉面に密着させて2~3分後にはぎ取り、樹脂面に残った気孔の型を観察するものである。しかし、このときのセルロイド板の溶かし具合と葉面の状態によって型の良否が異なり、さらに溶剤によって葉面が激しい傷害を受けることなどの欠点がある^{1,2)}。シリコンラバー法は葉面に与える傷害は少ないが、樹脂が不透明なため、観察時にはコロジオンなどで再度型取りして透明な型を得る必要がある。また、簡便法としてマニキュアやセメダインを直接葉面に塗付して、10~20分後にそれらの薄膜をはぎ取って検鏡する方法も知られているが²⁾、薄膜が収縮するため正確な測定は困難である。さらに、これらの従来法は樹脂の硬化に最短でも2~3分を要するが、急速に開閉している気孔では型取り中に気孔開度に変化し、実際の気孔開度を正確に反映した気孔の型が得られない可能性もある。今回著者らは瞬間接着剤を用いて、従来法に比べて簡便で、しかも非常に迅速な気孔の型取り法を考案したので報告する。

材料と方法

植物材料としては、気孔開度がしばしば短時間のうちに激しく周期的に変化する性質をもつ、ラッカセイ (*Arachis hypogaea* L. 品種: 千葉半立)³⁾を用

いた。植物を本学農場の畑土壌をつめた1/10000 aプラスチックポットに栽植し、日中25°C、夜間18°Cの自然光型ファイトトロン内で育成した。

実験には栽植後3~5週間の個体(主茎葉数5~7枚)を用い、恒温室内(26±1°C、相対湿度43±3%)の人工光下(東芝: 陽光ランプ DR 400)で実験を行なった。葉面における光量子密度は約800 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ であった。実験には、主茎最上位および2枚めの完全展開葉を用いた。スーパーポロメーター(ライカー社: LI-1600)によって小葉の背軸面の拡散コンダクタンスを6分間隔で測定し、ただちに測定部位の気孔の型取りを瞬間接着剤を用いて行なった。なお、一回型取りした部位を再び測定に用いることを避けるため、複葉の中で適宜測定部位を変えた。

気孔の型取り観察は、硬化促進剤付きの瞬間接着剤(東亜合成化学: ボンドアロンアルファ・スーパーセット)を用いて、以下の様な手順で行なった(第1図)。まず、カバーガラス(No. 2, 18×18 mm)に硬化促進剤を塗付し、約20分間、室内に放置し乾燥させた。次に、これに瞬間接着剤(主剤)を1滴載せ、直ちに葉面に密着させた。約20秒後、葉から剝がし、カバーガラス上に残された気孔の型を裏側から光学顕微鏡で倍率200倍で写真撮影した(第2図)。このような顕微鏡写真を適宜引き伸ばして、気孔の開孔幅(写真で見られる開孔部の内側の緑の幅)と開孔部分の長さ(長径)をノギスで測定

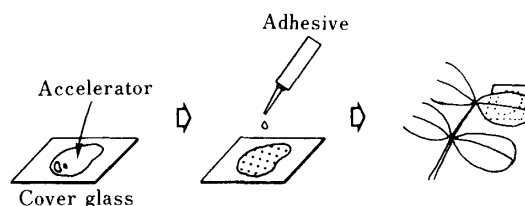


Fig. 1. Schematic figure showing the procedure of stomatal impression method using a fast-sticking adhesive.

* 大要は第191回講演会(1991年4月)において発表。

** 現在、名古屋大学農学部。

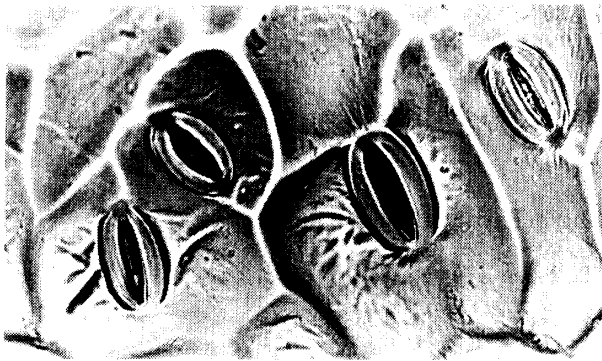


Fig. 2. Light micrograph of a stomatal impression of a peanut leaf. ($\times 450$).

した。以後、この型取り法を瞬間接着剤法と呼ぶ。

気孔開孔幅および長さの測定は1枚のカバーガラス当り最低30個以上の気孔について行ない、その平均値を求めた。こうして得られた気孔の開孔幅および長さとの関係を検討した。また、実験は3個体について行なったが、いずれも同様の結果が得られたので、以下にはそのうちの1個体の結果を示す。

結果と考察

ラッカセイ個葉の拡散コンダクタンスは、約50分間隔で激しく周期的な変化を示した(第3図)。また、このとき気孔の開孔幅も拡散コンダクタンスの変化と同調した周期的変化を示した(第3図)。なお、このとき気孔の開孔部分の長さ(長径)はほぼ一定であった(データは示さず)。また、拡散コンダクタンスと気孔開孔幅との間には高い正の相関($r=0.95$)がみられた(第4図)。したがって、瞬間接着剤法は、ラッカセイにみられるような短時間に生じる、激しい気孔開度の変化にも対応し得ることが示された。さらに、本法ではスンプ法のように葉にネクロシスが発生せず、型取り後2週間以上経過しても葉面に外見上の変化は殆ど観察されなかった。

以上のように、瞬間接着剤法は従来法に比べて非常に迅速(約20秒)であり、葉の表皮に与える傷害も少ないので、実際の気孔開度を反映した、正確な気孔の型を採取できると考えられる。ただし、一部の植物では、気孔前腔の外縁部が気孔開度とは無関係に開閉運動するという報告があり⁵⁾、この部位と今回測定した気孔開孔幅との関係は不明で、今後検討してゆく必要がある。しかし、瞬間接着剤法では気孔の型がカバーガラス上に得られ、スンプ法

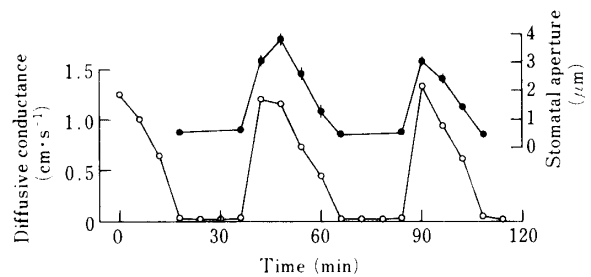


Fig. 3. Cyclic changes in diffusive conductance and stomatal aperture of a peanut leaf. Standard error is given by vertical bars where larger than the symbol (●). ●: stomatal aperture ○: diffusive conductance.

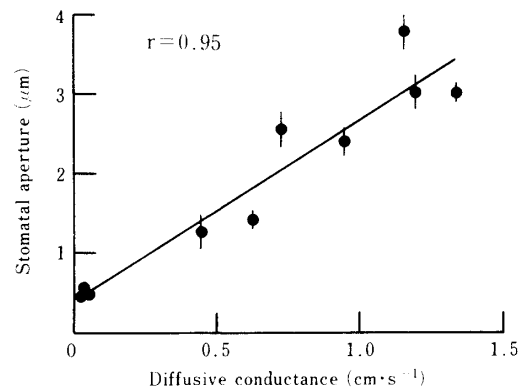


Fig. 4. Relationship between diffusive conductance and stomatal aperture during cyclic changes in diffusive conductance. Standard error is given by vertical bars where larger than the symbol (●).

のようにセルロイド板が反り返って顕微鏡観察の支障になることがない。さらに、硬化促進剤を塗付したカバーガラスは少なくとも数日間は安定であり、事前に必要な枚数を作っておけば、野外でも迅速に、簡便な気孔の型取りが可能であると思われる。くわえて、入手が容易な材料のみで型取りを行なうことができることも考慮すると、瞬間接着剤法は今後、従来法に代わる新しい気孔の型取り法として高い利用価値を有すると考えられる。

引用文献

1. 石原 邦ら 1971. 日作紀 40: 491-496.
2. 石原 邦 1981. 光合成研究法, 加藤 栄ら編, 共立出版, 東京. 74-78.
3. 星周 次ら 1987. 日作紀 56 (別 2): 237-238.
4. Sampson, J. 1961. Nature 191: 932-933.
5. Shiraiishi, M. et al. 1978. Plant Cell Physiol. 637-645.