

数種の花粉膜における各膜層の表面微細構造

山崎 次男・竹岡 政治

TSUGIO YAMAZAKI and MASAJI TAKEOKA : On the fine surface structure of each membrane in some pollen grains.

摘要 この報告は花粉膜における各膜層の表面微細構造についての電子顕微鏡による研究結果の一端である。供試料は5種であり、実験結果の大要はつぎのとおりである。

1. トガサワラ花粉において、perine, ectosexine 及び endosexine の3層の表面構造を明らかにした。すなわち、perine は粒状物、ectosexine は平かつ、endosexine は刺状物或いはイボ状物である。
2. ツガ花粉において、ectosexine, endosexine 及び nectosexine の3層の表面構造を明らかにした。すなわち、ectosexine は指状物、endosexine は刺状物或いはイボ状物、nectosexine はイボ状物である。
3. *Cupressus goveniana* 花粉においては、5層の表面構造を知りえた。すなわち、perine はコンベイトウ型粒状物、ectosexine は刺状物、endosexine はほとんど平かつ、ectonexine 及び mesonexine も endosexine と同様である。
4. ヒノキ及びカリトリス花粉においては、うゑに述べた *Cupressus goveniana* 花粉と同様の結果が認められた。
5. これまでの実験結果から、この処理法の適用範囲をつぎのように分類した。
 - A) 容易なもの；*Cunninghamia*, *Callitris*, *Thujoopsis*, *Thuja*, *Chamaecyparis*, *Cupressus* 及び *Juniperus*.
 - B) 普通 通；*Taxus*, *Torreya*, *Cephalotaxus*, *Larix*, *Tsuga* 及び *Cryptomeria*.
 - C) 困難なもの；*Picea*, *Abies* 及び *Pinus*.

緒 言

花粉学の分野において、replica 法に着手したのは、SITTE (1953)¹⁵⁾ 及び MÜHLETHALER (1954)¹⁶⁾ であった。その後電子顕微鏡の発達にともない、replica 法の技術的研究も次第に進歩し、数多くの研究結果^{15), 16), 13, 14, 15, 16, 22~29)} が報告せられている。replica 法によれば、花粉粒の最外層 (perine 或いは ectosexine) の表面微細構造が明らかとなるが、一方それよりも下位に配列している endosexine, ectonexine, mesonexine, endonexine 及び Intine などの各花粉膜層の表面構造については、現在までのところ、超薄切片の観察にもとづいて考察せられてきたのが実情である。花粉膜の微細構造を研究する場合、超薄切片法を適用することの必要であることは勿論である。しかし、さらに花粉の各膜面の表面構造を replica 法によって明確にすることができれば、花粉形態学或いは分類学上重要な意義をもつであろう。ところが、この種の研究例は、筆者等がすでに報告した数例^{16), 20)} を見出すにすぎない。

これまで、筆者等は花粉粒の ectosexine の表面微細構造を明らかにするため、1956年以来独自の創案によつて、replica 法を採用し、電子顕微鏡の研究をすすめてきた。その過程において、上述の数例の報告にあるように、供試花粉を調製する際に、多少の処理をほどこし、replica をとれば、ある程度各膜面の構造を確認できることを見出した。勿論この処理法は、まだ完成したものではなく、今後改良しなければならないところもあるが、ここには現段階における成果の一部を報告しようと思う。

この研究において、終始有益な助言を頂いた農林省林業試験場木材部原田浩博士に深く謝意を表するとともに、電子顕微鏡写真撮影に便宜を与えられた農林省林業試験場木材部長小倉武夫博士、島津製作所中央研究部長島津新一博士並びに同製作所電子顕微鏡主任岩永政也工学上に厚く御礼を申し上げる。

供試料及び実験方法

この研究でとりあつた供試料は、球果植物に属する16種(9科・16属)に及ぶが、ここでは代表的な

3種(2科・3属)について主として記述する。

筆者等は、花粉の各膜層の表面構造を研究するため、電子顕微鏡用試料の調製方法¹⁶⁾について考究をつづけているが、この報告における写真の試料調製法を簡記すれば、大要つぎのとおりである。

- 1) 供試花粉採取と同時に、或いはその直後に、新鮮な花粉を、あらかじめ準備してある2枚の樹脂板(methylmethacrylate)上に点下し、すり合わせる。
- 2) つぎに樹脂板上にガラス及びゴム板をのせ、クリップではさむ。
- 3) このようにして、作られた sandwich を、電気定温器(50°C)内に1時間入れ、その後室温に達するまで放冷する。
- 4) 放冷の後、再び電気定温器(80~90°C)内に1時間入れ、それぞれの replica をうる。
- 5) えられた replica を常法²³⁾によつて処理し、電子顕微鏡用試料を完成する。

以上述べた処理は、ある群のものに対してはさきわめて平明であり、しかも有効であるが、実際の場合、かなり技術的訓練を必要とすることがある。第1)項に述べた樹脂板のかわりにスライドガラスを使用しても、ほぼ樹脂板のそれに近い結果がえられる。この処理は、花粉膜の物理的性質によつて、属を異にすれば効果も一樣でないことがある。かような懸念のある場合には、勿論第3)項の操作を終つてから、光学顕微鏡で花粉膜のかい裂の度合を予備観察することが望ましい。なお、うゑに述べた処理の他に、機械的にしよう撃を与える方法及び超音波によつて解体する方法などがあるが、これらについては他日詳述する。

使用した電子顕微鏡及び乾板などは、すべて既報^{16, 22~29)}のものと同様である。

実験結果及び考察

ここに述べようとするトガサワラ及びツガなどについては、すでに国際花粉学雑誌²⁹⁾及び本学学術報告誌上^{16, 24)}で多少述べたが、これまでの様式にしたがつて記述する。

1. トガサワラ (*Pseudotsuga japonica* BEISSN.)
和歌山県産、昭和33年4月10日採集 (Photo. 1~2)

この花粉粒は単口孔粒型花粉に属し、微小な気のうち及び発芽溝を除くほかは、ほぼ球形を呈している。発芽帯には、この花粉粒独特のはつきりした三放射線(triradiate streak)があつて、この花粉を特徴づけており、光学顕微鏡的にもよく判定することができる。花粉粒の直径は、80~85 μ であり、triradiate streakの arm の巾は約 3.4 μ である。

Photo. 1 及び 2 は、腹部観像の一部をそれぞれ示す。Photo. 1 における Trs は三放射線を示し、Af は粒状隆起の実物像(actual figure)を示している。先づ Photo. 1 によれば、花粉粒の表面は粒状物でおおわれ、しかもそれらが集合してハナヤサイ型に近い隆起を示している。ここにみられる直径 0.3~1.0 μ の黒点は、粒状物の実物像であるが、その edge の部分にかすかに微細な刺状物またはイボ状物(長さ約 20~60m μ)のような突起の存在が認められる。これは、実物像以外の表面においても同様に認められる。つぎに Photo. 2 は、すでに述べたとおり腹部観像の一部であるが、表面構造は Photo. 1 のものと全く異なつていゝ。Rs は三放射線の一端を示している。これらによれば、表面は刺状物或いはイボ状物でおおわれており、膜面に不規則にかい裂した跡がみられる。この結果から、Photo. 2 における表面は、Photo. 1 にみられる膜のはく離後の模様であることが認められる。

以上のことから、Photo. 1 における粒状物は、既報²⁹⁾のすぎその他多くのコンペイトウ型粒状物(orbiculus)と同じ性質のものであつて、上野(1958)¹⁰⁾のterminology における perine に相当するものと考えられる。つぎに Photo. 1 にみられる比較的平かつな膜は ectosexine であつて、すなわち perine の下位に存在する膜であり、Photo. 2 における表面構造は endosexine (第3層) のものと考えられる。要するに、トガサワラ花粉の第1層(最外層・perine)はその表面に微小な刺紋或いはイボ状紋を有する粒状物であつて、第2層(ectosexine)は比較的平かつな表面を示し、第3層(endosexine)は刺紋或いはイボ状紋をそなえ、しかも不規則にかい裂する性質をそなえる膜層から成り立つていゝと考えられる。

2. ツガ (*Tsuga sieboldii* CARR.) 京都産、昭和33年4月15日採取 (Photo. 2~3)

ツガの花粉粒は、単口孔粒型に属し、その極観像はほぼ球形であるが、赤道観像は扁球形をなしている。腹部観像(発芽溝の側)の中央部に narbe が認められる。花粉粒の大きさは、60~80 μ の範囲にある。

Photo. 3 は腹部観像の一部であつて、F は指状突起物を示している。Photo. 4 は前者同様腹部観像の一部であるが、Pfp は replica をとる際に押しつぶされた指状突起物、また Ws はイボ状構造をそれぞれ示している。このほか、既報¹⁰⁾の電顕像においてみられたように、marginal ridge と発芽溝膜の連結部の膜は、微小な不規則な突起によつておおわれている。この膜面は上記の両者と全く異なつた模様をそなえており、Pfp 膜面と Ws 膜面の中間にある膜層であることが確認せられている。すなわち、Photo. 4 は 2 つ

の異なつた膜面の構造を示している。筆者等は、この電顕像と既報¹⁶⁾の電顕像によつて、Pfpを第1層(ectosexine)、既報の電顕像を第2層(endosexine)、 W_s を第3層(ectonexine)と解釈したい。もしこれが正しいものとするれば、ツガ花粉粒の第1層の表面(ectosexine)は指状突起、第2層の表面(endosexine)は微細な刺状紋、さらに第3層の表面(ectonexine (ERDTMAN) 或いは basosexine (Tomšovic))はイボ状物によつて特徴づけられている。

3. *Cupressus goveniana* GORD. 北米産、昭和35年3月27日(京大見本園)採取。(Photo. 5~6)

この花粉粒は、既報のヒノキと同じく、単口有心型花粉に属し、外形はほぼ球状を呈している。発芽孔には、著しい特徴が見出されない。しかしながら、replicaをとる際に発芽帯の部分がクボミを生ずることから、容易にその位置を知りうる。花粉粒の直径は、26~30 μ の範囲にある。

Photo. 5は、この花粉の極の近くの側面観像の一部を示し、Afはコンバイトウ型粒状物の実物像を示している。Photo. 6は、腹部観像の一部を示すものである。これらによつてみれば、花粉粒の表面は、直径約0.2~0.8 μ のコンバイトウ型粒状物によつておおわれており、しかもそのものが表面から容易にはく離することが認められる。このような性質は、既報²⁰⁾のイチイ、イスガヤ、トガサワラ、スギ、ランゲイスギ、ヒノキ、ヒバ、コノテガシワ及びビヤクシンとほぼ同様である。

Photo. 5における S_1 はコンバイトウ型粒状物の配列している層であつて、しかも容易にはく離することから、perineと考へた方が妥当であると思ふ。 S_2 は第2層であつて、これはコンバイトウ型粒状物のはく離した後の膜面を示し、微細な刺状物によつて特徴づけられているectosexineである。以下 S_3 は第3層、 S_4 は第4層、 S_5 は第5層をそれぞれ示しているが、表面構造において、著しい特徴が見出されない。またその層厚は約25~30 $m\mu$ 程度であつて、きわめて薄い層によつて構成せられていることが認められる。

以上のことがらを、ERDTMAN (1952)²¹⁾のterminologyに適用すれば、第1層(S_1) perine、第2層(S_2) ectosexine、第3層(S_3) endosexine、第4層(S_4) ectonexine及び第5層(S_5) mesonexineの5層の表面構造を明確になしえたことになる。さらにTomšovic (1960)¹⁷⁾の説にしたがえば、ectosexine以下5層目nexineの表面構造まで確認しえたこととなつて、残るのはintineの2層だけということになるのである。いずれにしても、この研究における処理法が、

少なくともintineより一歩手前或いはそこまでの各膜層の表面構造を明らかにしえたことは特筆に値すると信ずるものである。

なお、Photo. 6に示したのは、同一処理をほどこしても、場合によつてはその膜の表面だけでなく、裏面も観察しえられる一資料として記載したのである。

さらに、Photo. 7においてはヒノキについて、Photo. 8においてはカリトリスについて、同様の結果がえられたことの一例を示したものである。Photo. 7においては、とくにperineのずれた跡及び第2層が完全に裏面を示していることに意義がある。また、Photo. 8においては第4層までが、一枚のようにはく離したことの例を示したものである。

以上を要するに、トガサワラにおいては第1~第3層まで、ツガにおいては第1~第3層まで、*Cupressus goveniana*においては第1~第5層までの各膜面の表面構造を明らかにしえたのである。また、ヒノキ及びカリトリスについても同様のことがらを知りえた。

筆者等は、今日まで球果植物花粉に同一処理法を適用し、その花粉について、この処理法の適用性を検討した。その結果はつぎのようである。

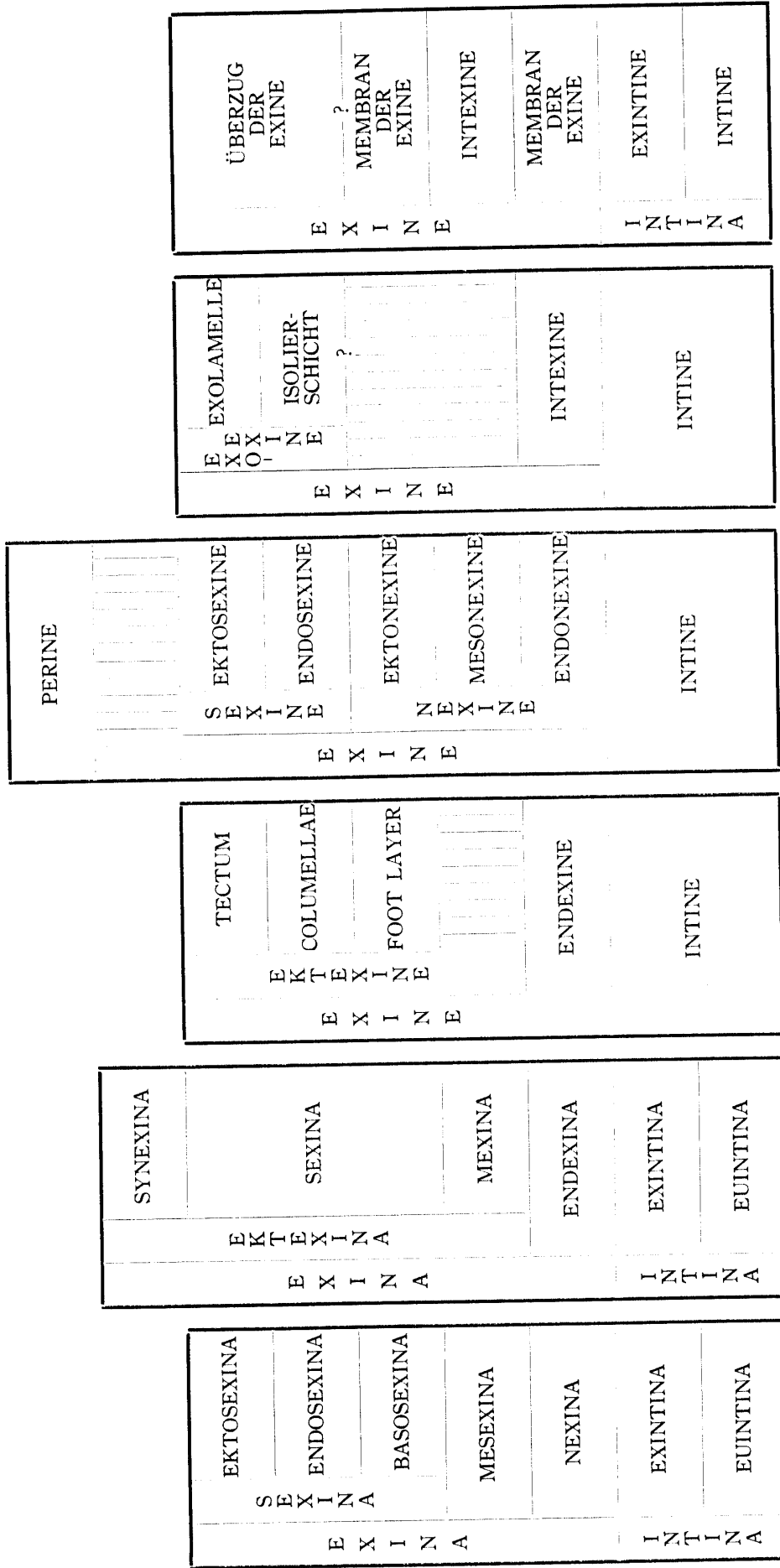
1. 容易なもの ヒバ (*Thujaopsis*), コノテガシワ (*Thuja*), ヒノキ (*Chamaecyparis*), *Cupressus*, *Callitris*, コウヨウサン (*Cunninghamia*) 及びビヤクシン (*Juniperus*).

2. 普通 カラマツ (*Larix*), ツガ (*Tsuga*), スギ (*Cryptomeria*), イチイ (*Taxus*), カヤ (*Torreya*) 及びイスガヤ (*Cephalotaxus*).

3. 困難なもの マツ (*Pinus*), トドマツ (*Abies*) 及びエゾマツ (*Picea*).

かような結果から、現在の段階では、いずれもヒノキ科及びビヤクシン科に属する花粉に有効であることを認めている。しかしながら、これはいずれも表面にコンバイトウ型粒状物をもつているということとは無関係に、処理の際の機械的(とくにマサツに対して)性質に起因するものと考えられる。また筆者等の経験にしたがえば、花粉分析において、ヒノキ科及びビヤクシン科の花粉の出現頻度の少ないことがあげられるが、留意すべき点と思われるのである。

なお、Fig. 1に示したように花粉膜の層状構造に関する用語及びそのとり扱ひ方が、現在までのところ統一せられていない。これは今後このこされた問題点であるが、一部の学者の説によれば、外被層すなわちperineは膜状のものであるとせられており、粒状物で同じように膜面からはく離し難いものは、このはんちゆうに入らないとしている。しかし筆者等は、膜状であつても、粒状であつても、容易に表面からはく離



Fritzsche 1837

Potonié 1934

Erdman 1952

(Z. Tauch 1948)

Faegri 1956

Kuprijanova 1956

Tomšović 1960

Fig. 1. Terminology of sporoderm stratification. (by Tomšović, P.)

する性質をそなえているものは, perine のはんちゆう に入れてもよいとの立場をとつている。したがつて, この報告においてみられた, *Chamaecyparis*, *Cupressus* 及び *Callitris* などのコンペイトウ型粒状物は perine と考へている。もつともこの場合, コンペイトウ型粒状物とつぎの層との付着状態が問題点となるのであるが, 実験の結果から, これらコンペイトウ型粒状物は, 花粉粒の表面と, 粘糸のようなものでつながつてゐるのではないかと考へられるのである。

参 考 文 献

- 1) BRADLEY, D. E. (1956) : J. Appl. Phys., **27**: 1399~1412.
- 2) ERDTMAN, G. (1952) : Pollen morphology and plant taxonomy. (I). Stockholm.
- 3) ——— (1952) : An introduction to pollen analysis. Waltman and Stockholm.
- 4) ——— (1957) : Pollen and spore morphology and plant taxonomy. (II). Stockholm.
- 5) FAEGRI, K. (1956) : Bot. Rev., New York, **22** : 639~664.
- 6) FRITZSCHE, J. (1837) : Mém. Acad. Sci. St. Petersbourg (Sonderabdruck p. 1~112).
- 7) 幾瀬マサ (1956) : 日本植物の花粉, 広川書店.
- 8) KUPRIJANOVA, L. A. (1956) : Bot. Zurnal, Moskva-Leningrad, **41** : 1212~1216.
- 9) MÜHLEHTALER, K. (1954) : Mikroskopie, **8** : 103.
- 10) ——— (1955) : Planta, **46** : 1~13.
- 11) 岡本省吾 (1959) : 原色日本樹木図鑑, 保育社.
- 12) POTONIÉ, R. (1934) : Arb. Inst. Paläobot. Petrogr. Brennst., Berlin, **4** (separ. pag. 1~24).
- 13) ROWLEY, JOHN R. (1959) : Grana palynol., **2** (1) : 1~30.
- 14) ROWLEY, J. R., MÜHLEHTALER, K. and FREY-WYSSLING, A. (1959) : J. Biophys. Biochem. Cytol., **6** : 537~538.
- 15) SITTE, P. (1953) : Mikroskopie, **8** : 290.
- 16) 竹岡政治 (1960) : 京都府立大学報・農, **12**, 83~86.
- 17) TOMŠOVIC, P. (1960) : Preslia, **32** : 163~173.
- 18) 上野実朗 (1957) : 大阪市大学報, **D**, **8** : 191~196.
- 19) ——— (1958) : 大阪市大学報, **D**, **9** : 163~187.
- 20) ——— (1959) : 大阪市大学報, **D**, **10** : 75~87.
- 21) WODEHOUSE, R. P. (1953) - (reprinted 1960) - : New York and London.
- 22) 山崎次男・竹岡政治 (1957) : 日林誌, **39**, 427~434.
- 23) ——— (1958) : 日林誌, **40**, 7~11.
- 24) ——— (1958) : 日林誌, **40**, 154~159.
- 25) ——— (1958) : 西京大学報・農, **10**, 28~32.
- 26) ——— (1959) : 日林誌, **41**, 125~129.
- 27) ——— (1959) : 京都府立大学報・農, **11**, 86~90.
- 28) ——— (1959) : 京都府立大学報・農, **11**, 91~94.
- 29) ——— (1961) : Grana palynol. **3**. (印刷中)
- 30) FRITZSCHE, J. (1837) : Mém. Acad. Sci. St. Petersbourg (Sonderabdruck p. 1~112).

Summary

The present paper deals with the fine surface structure of the stratified membrane in some pollen grains-Gymnosperm.

The materials used in this study are the pollen of 5 species (*Pseudotsuga japonica*, *Tsuga sieboldii*, *Cupressus goveniana*, *Chamaecyparis obtusa* and *Callitris robusta*).

The summary of the results is as follows :

1. In the pollen of *Pseudotsuga japonica*, the writer were able to clarify the fine surface struc-

ture of 3 layers (perine, ectosexine and endosexine). Namely, perine granular, ectosexine smooth and endosexine spinols or verrucoid.

2. In the pollen of *Tsuga sieboldii*, we were able to recognise the fine surface structure of 3 layers (ectosexine, endosexine and nectosexine). Namely, ectosexine finger-like projection, endosexine spinolsoor verrucoid, nectosexine verruciod.

3. In the pollen of *Cupressus goveniana*, we were able to know the fine surface structure of

5 layers. 1st layer (perine orbiculus), 2nd layer (ectosexine spinols), 3rd layer (endosexine almost smooth), 4th and 5th layers (ectonexine and mesonexine are similar to that of endosexine).

4. In the pollen of *Chamaecyparis obtusa* and *Callitris robusta*, we have realised the results as like as that of *Cupressus goveniana*, as the above mentioned.

5. From the experimental results until now,

we classify the range of application of this method as follows :

- A) Good ; *Cunninghamia*, *Callitris*, *Thujopsis*,
Thuja, *Chamaecyparis*, *Cupressus*, and
Juniperus.
- B) Passage ; *Taxus*, *Torreya*, *Cephalotaxus*,
Larix, *Tsuga* and *Cryptomeria*.
- C) Difficult ; *Picea*, *Abies* and *Pinus*.

PLATE II

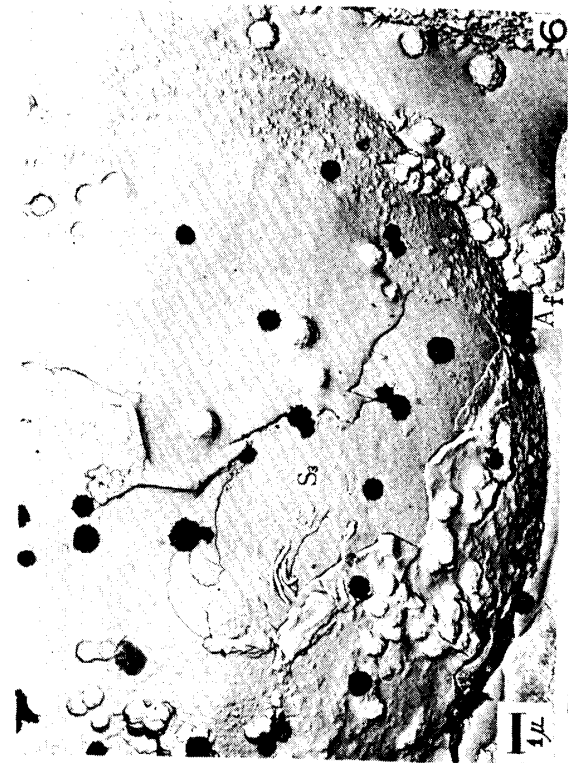


Photo. 6 Showing EMG of distal face in *Cupressus goveniana* pollen.
Af : actual figure, S₃ : endosexine.



Photo. 8 Showing EMG of proximal face in *Callitris robusta* pollen.
Af : actual figure, S₄ : ectonexine.



Photo. 5 Showing EMG of polar-proximal face in *Cupressus goveniana* pollen.
Af : actual figure, S₁ : perine, S₂ : ectosexine, S₃ : endosexine, S₄ : ectonexine, S₅ : mesonexine.

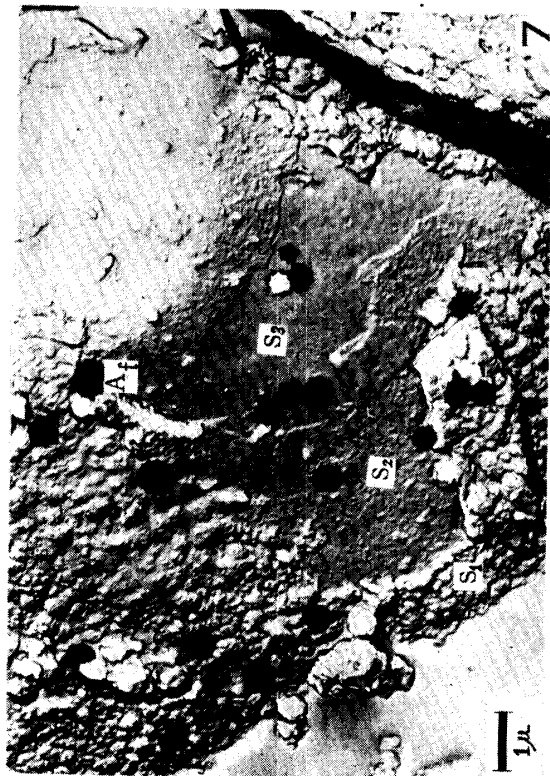


Photo. 7 Showing EMG of distal face in *Chamaecyparis obtusa* pollen.
Af : actual figure, S₁ : perine, S₂ : ectosexine, S₃ : endosexine.

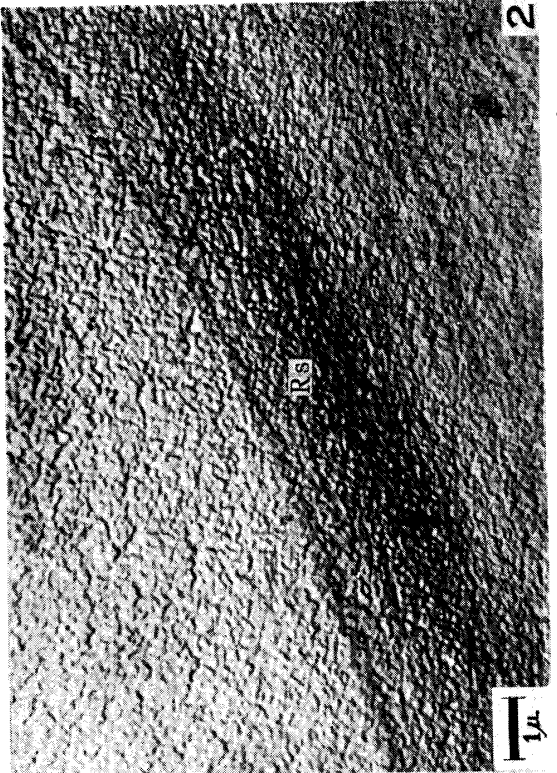


Photo. 2 Showing EMG of distal face in *Pseudotsuga japonica* pollen.
Rs : a part of triradiate streak.



Photo. 1 Showing EMG of distal face in *Pseudotsuga japonica* pollen.
Trs : triradiate streak, Af : actual figure.

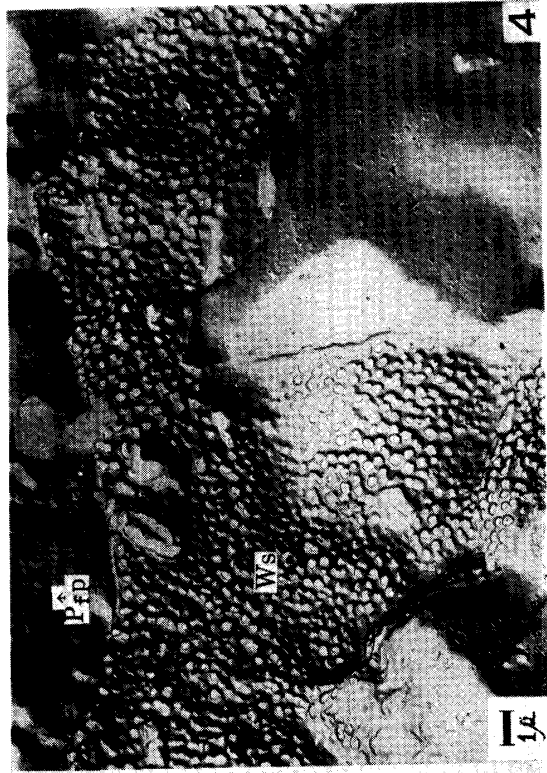


Photo. 4 Showing EMG of distal face in *Tsuga sieboldii* pollen.
Pfp : pushed finger-like projection,
Ws : wartly structure (verruroid).

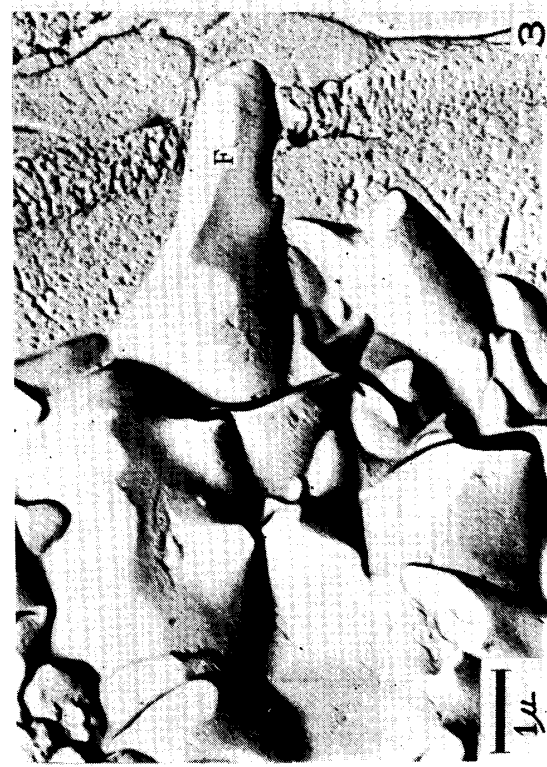


Photo. 3 Showing EMG of distal face in *Tsuga sieboldii* pollen.
F : finger-like projection.