

ゴボウアザミ花粉の走査電顕的観察

上條明雄*・白戸一士**・高橋文次郎***

Scanning Electron Microscopic Study on *Cirsium dipsacolepis* Pollen.

Akio KAMIZYÔ*, Kazushi SHIRATO**, and Bunjiro TAKAHASHI***

* *Department of Botany and Microbiology, School of Medicine, Teikyo University, Otsuka, Hatioji, Tokyo 192-03.*** *Biological Laboratory, College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon University, Kameino, Fujisawa, Kanagawa 252.**** *Laboratory of Pomology and Vegetable Crop Science, College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon University, Kameino, Fujisawa, Kanagawa 252.*

Dry pollen grains of *Cirsium dipsacolepis* Matsumura collected just after anthesis and humidified pollen grains obtained by soaking the same pollen grains in 95 % ethanol were observed with a scanning electron microscope. The plant used here had mixed pollen grains of two types which are well developed large size pollen grains (ca. 45 – 50 μm in diameter), and prematured small size pollen grains (ca. 25 – 30 μm in diameter). In both types of pollen grains the grain shape was subspheroidal, and spinae and subreticula were distributed on the surface of the pollen wall. In the small size pollen grains clear difference in the size of spina was not observed between the dry and the humidified pollen grains. In the large size pollen grains, however, the size of the humidified pollen grains was larger than that of the dry pollen grains. It is assumed that the size and the shape of spina are determined by the inner pressure against the pollen wall, and that this pressure is increased by the maturation of pollen protoplasm and decreased by the partial swell-out of protoplasm from the apertures opened after water feeding.

緒 論

花粉の形態を光学顕微鏡で観察する際には、目的によって乾燥花粉を観察する場合と、吸水花粉（膨潤花粉）を観察する場合、あるいはそれら両者を比較観察する場合とがある。乾燥花粉は裂開直後の花粉、あるいはそれを乾燥剤と共に保存した花粉であり、吸水のための処理をおこなっていないものである。一方、吸水花粉は乾燥花粉を95%エタノールなどの処理によって吸水させた花粉である⁽¹⁾。従って、乾燥花粉は授粉

前の花粉の形を示すものであり、吸水花粉は授粉の後に柱頭上で吸水した状態、あるいはそれに近い形を示す花粉と言える。吸水花粉では花粉が膨潤しているため、花粉表面の模様（彫紋）や発芽溝・発芽孔などの様子が観察し易い。そのため花粉形態の光顕的な観察には吸水花粉を材料にすることが多い。それに対して、走査電顕による花粉形態の観察には乾燥花粉を材料に供することが多く、吸水花粉の観察はあまり行われていない。その理由の一つは、走査電顕によれば彫紋が

* 〒192-03 東京都八王子市大塚 359 帝京大学医学部植物学・微生物学教室
 ** 〒252 神奈川県藤沢市亀井野 1866 日本大学農獣医学部生物学研究室
 *** 〒252 神奈川県藤沢市亀井野 1866 日本大学農獣医学部果樹蔬菜園芸学研究室

極めて明瞭に、しかも立体的に観察されるため花粉形態の観察、特に分類学的な目的には、乾燥花粉の観察のみでかなりの程度に満足されることにあると思われる。そのことはまた、走査電顕による花粉形態の研究は歴史が浅く、乾燥花粉と吸水花粉とを比較検討するほどには成熟していないとも言えよう。また、空中花粉の調査や地質学的な花粉分析では通常は乾燥花粉のみが研究対象になり、吸水花粉の観察の必要性は必ずしも高くない。しかしながら、農学的分野では単に乾燥花粉を用いたいわば静的な外部形態の観察のみではなく、花粉稔性の指標の一つとなる吸水の有無などを含めて、授粉後の花粉の状態を知ることは有用であろう。そのためにも吸水花粉の観察は意義が深いと思われる。本研究は、キク科のゴボウアザミ（別名：ヤマゴボウ、モリアザミ、*Cirsium dipsacolepis* Matsumura、2n = 32）の乾燥花粉と吸水花粉とを走査電顕的に比較観察したものである。

材 料 と 方 法

観察に供したゴボウアザミは群馬県沼田市で栽培されていたものを譲り受け、日本大学農獣医学部生物学研究室の研究圃場で肥培管理したものである。観察に当たって、裂開直後に得た花粉を両面接着テープに散布したものを乾燥花粉とし、また、95%エタノールで固定した後、酢酸アルコール（1：3）混液で3回遠心洗浄し、次に少量の酢酸アルコールに懸濁してカバーガラスに滴下、風乾したものを吸水花粉とした。いずれの試料も材料の付着した両面接着テープ、またはカバーガラスを走査電顕用の試料台に接着した後に、金蒸着して日立 S 430 型走査電顕で観察した。

結 果

1) 乾燥花粉

ゴボウアザミの乾燥花粉を低倍率で観察したものを図 1 に示した。大型の花粉と小型の花粉とが混在していた。図 2 はそれらの一部をやや強拡大で観察したものである。いずれの花粉もほぼ球形で大型花粉は約

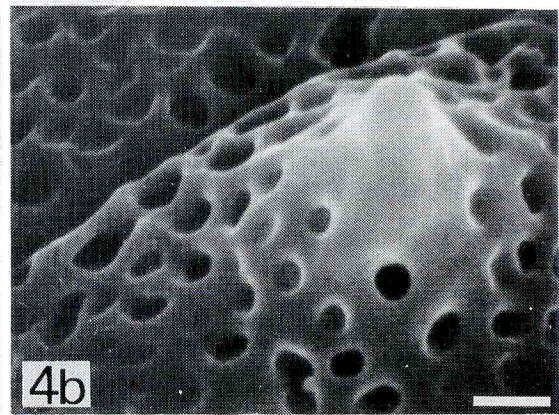
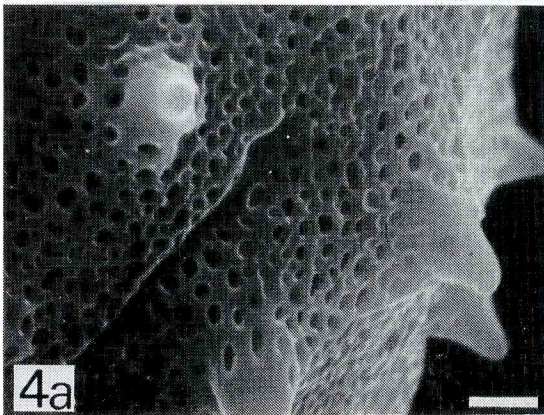
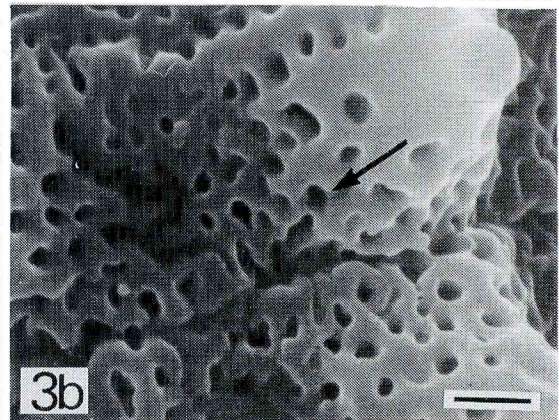
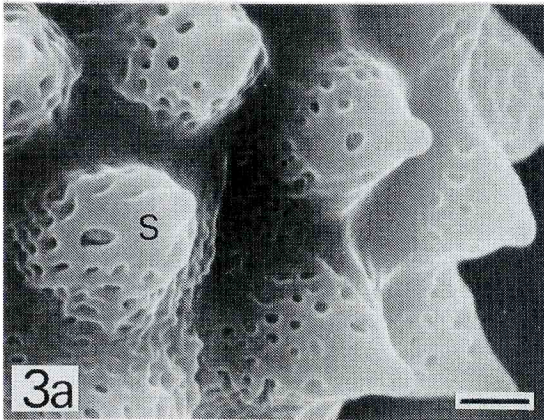
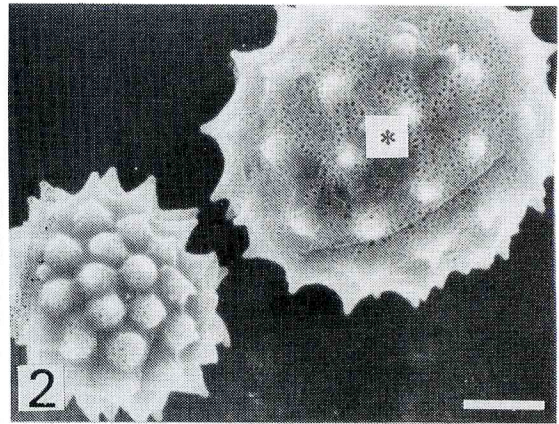
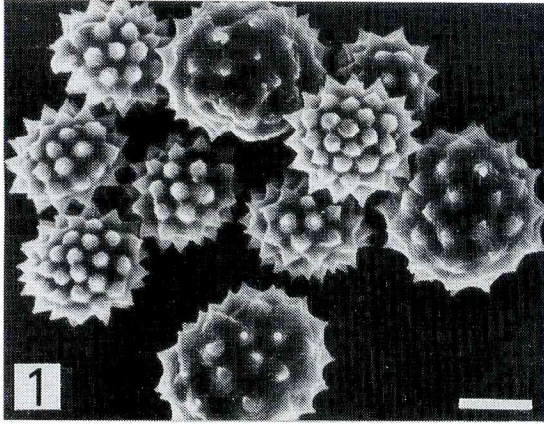
45–50 ミクロン、小型花粉は約 25–30 ミクロンの直径を持っていた。表面には多数の刺状突起と、網目状の彫紋とがある。大型花粉と小型花粉との間で刺状突起の数には差が認められないが、突起の大きさには明らかな差があり、小型花粉の方が大きな突起を持っていた（図 2）。大型花粉と小型花粉の刺状突起の分布状態を比較すると（図 3 a、b）、小型花粉では網目状の彫紋をつくる穴が刺状突起の中程より上の部分にまで分布しており（図 3 a、b）、大型花粉では刺状突起の裾野の部分にわずかに存在するのみであった（図 4 a b）。発芽溝は多くの花粉で不明瞭であり、明瞭な発芽溝が見られる花粉（図 2、5）は極めて少ない。また、溝中孔を確認できる花粉は見られなかった。図 6 a は発芽溝が裂けていた花粉の例である。図 6 b はその発芽溝の部分拡大したものであり、網目状の彫紋の様子がよく分かる。発芽溝が明瞭な大型花粉の観察によれば、赤道径に比べて極径がやや大きい外形を呈していた。小型花粉では発芽溝が明らかな花粉はまったく見られなかった。

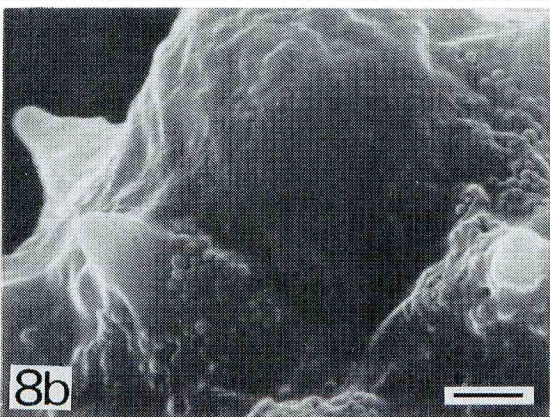
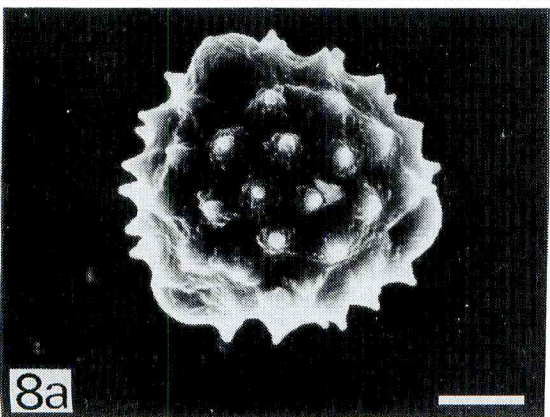
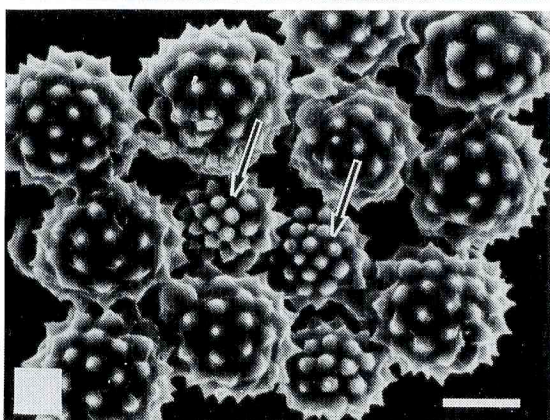
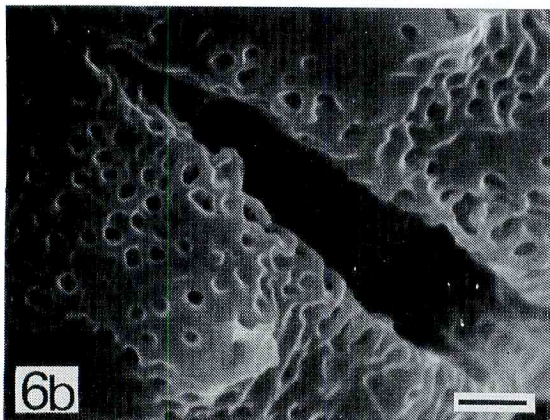
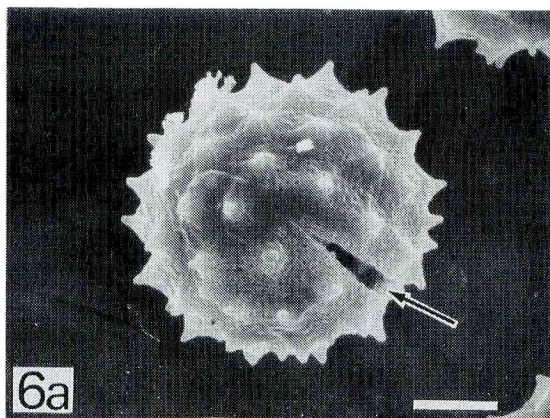
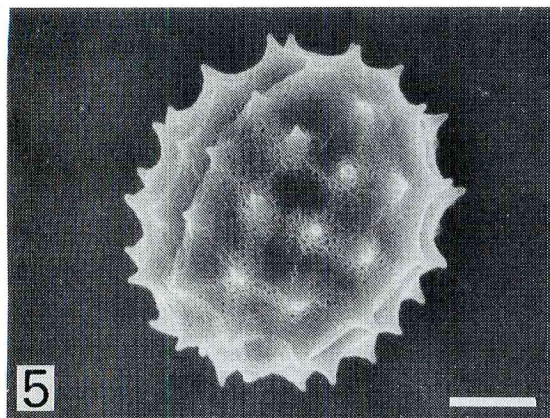
2) 吸水花粉

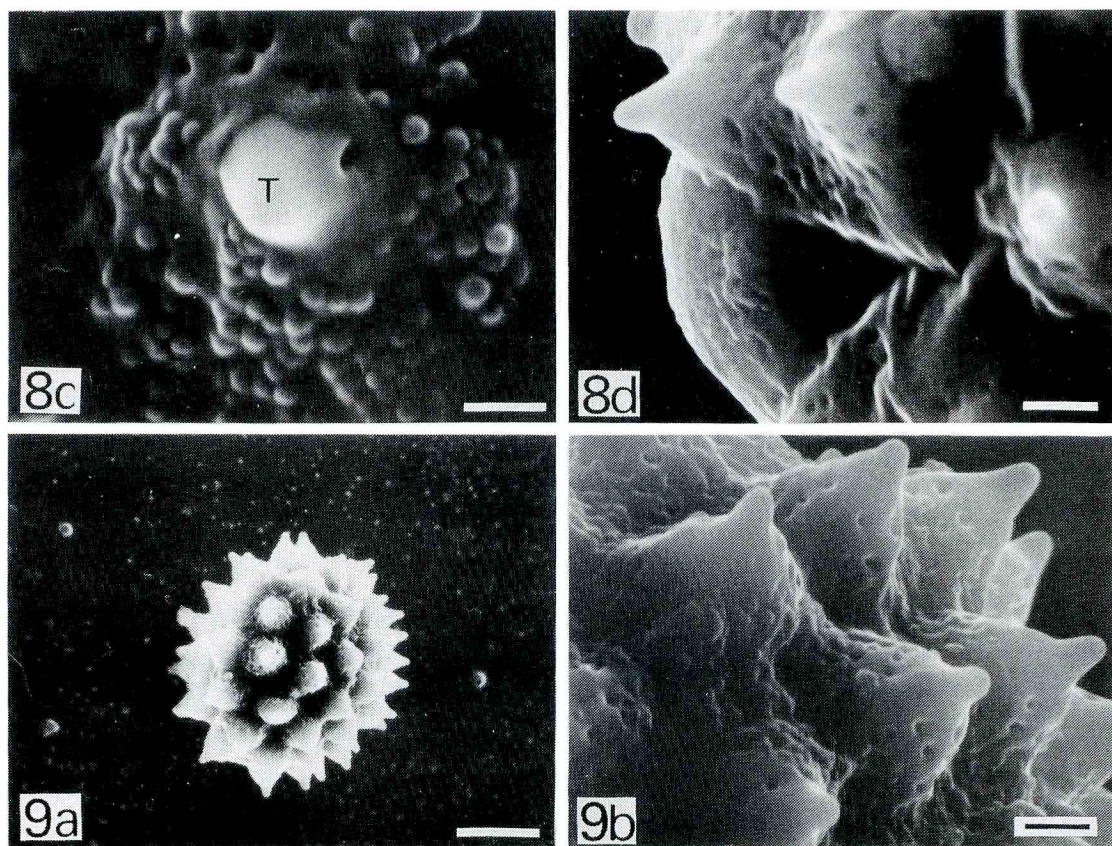
図 7 は吸水花粉を低倍率で観察したものである。大型花粉では吸水が十分に行われたため、花粉内容物が発芽溝を押し開いており、3本の発芽溝が明瞭に識別される（図 8 a）。これに対して、小型花粉では吸水を示唆するような変化は明らかではなかった（図 7、10 a）。花粉表面に多数の小顆粒が見られることがある（図 8 b、c、10 b）。この小顆粒は大型花粉（図 8 b、c）と小型花粉（図 10 b）の両者で見られるが、小顆粒の数が極めて少ない大型花粉もあった（図 9）、大型花粉（図 8 b、c、9）の刺状突起の形が変わり、小型花粉（図 10 b）の刺状突起に似た大きさと形、すなわち、網目状の彫紋のある部分を多く持った大型の突起に変わっていた。

考 察

アザミ属植物の花粉は一般に 45–50 ミクロンの極長がやや長い球形・中粒花粉で、赤道上に 3 溝孔を持ち







Figs.1-6 Dry pollen grains.

Fig.1 Mixed pollen grains of *Cirsium dipsacolepis*. Bar, 20 μm .

Fig.2 A large(*) and a small size pollen grains. Bar, 10 μm .

Fig.3 Surface view of a small size pollen grains. a; S shows a spina. Bar, 2 μm .
a; An arrow shows subreticula Bar, 1 μm .

Fig.4 Surface pattern of a large size pollen grains. a; Bar, 2 μm . b; Bar, 1 μm .

Fig.5 Equatorial view of a large size pollen grain. Bar, 10 μm .

Fig.6 Polar view of a large size pollen grain with an opened aperture (arrow). a; Bar, 10 μm . b; Large magnification of 6a. Bar, 2 μm .

Figs. 7-9 Humidified pollen grains.

Fig.7 Mixed large and small(arrows) size pollen grains. Bar, 20 μm .

Fig.8 Large size pollen grains. a; Polar view of a large size pollen grain. Bar, 10 μm

b-c; Surface pattern of the pollen grain with a great number of minute granules.

b; Bar, 2 μm . c; T shows the top of a spina. Bar, 1 μm . d; Surface pattern of a large size pollen grain with less number of minute granules. Bar, 2 μm .

Fig.9 A small size pollen grain. a; Polar view of the pollen. Bar, 10 μm b; Surface pattern of the pollen grain. Bar, 2 μm .

表面には刺状紋がある⁽²⁾。本研究に供したゴボウアザミでは、大きさに不連続的な変異が見られ、約45–50ミクロンの大型の花粉と約25–30ミクロンの小型の花粉が混在していた。いずれもアザミ属共通の形態的特徴を持つが、大型花粉では溝中孔が確認できず、小型花粉では発芽溝も明かでなかった。

光顕による著者らの予備観察では、全花粉に占める大型花粉の割合は約55.7%、小型花粉の割合は約44.3%であった。また、大型花粉はすべて酢酸カーミン染色法や銀染色法で染色されたが、小型花粉では約8.2%の花粉が染色されたに過ぎず、残りの約91.8%の花粉ではいずれの染色法でも染色されず花粉内容物を欠いていることが示された(白戸・上條・高橋、論文準備中)。

走査電顕による吸水花粉の観察によれば、大型花粉で吸水による花粉内容物の膨潤が見られた。一方、小型花粉ではこのような吸水は確認できなかった。また、光顕で観察された小型花粉における酢酸カーミンや銀染色法での染色性の違いを走査電顕的な違いとして確認することはできなかった。大型花粉と小型花粉の違いは花粉粒の大きさの違いのみでなく、刺状突起の大きさと構造の違いにも示された。すなわち、大型の乾燥花粉はより小さな刺状突起を持ち、小型花粉はより大きな刺状突起を持っていた。これは大型花粉でも花粉成熟の初期には大型の刺状突起を持っていたが、花粉の成熟過程で花粉内容物の充実に伴って花粉の内圧が増し突起の裾野部分を押し開きながら花粉容積を増加させたため、結果的に刺状突起の大きさが小さくなったものと推定される。一方、小型花粉では花粉形成のある時期に花粉内容物を失ったため、あるいは花粉内容物の充実が不十分であったため花粉外壁を押し開くほどの内圧が生じず、大型の刺状突起として残ったものと推定される。大型花粉の刺状突起の大きさと形が花粉を吸水処理することによって変化したが、これは吸水によって膨潤した花粉内容物が発芽溝を押し開いて外部に隆起したため花粉外壁に対する圧力が減少したことによると思われる。これらのことは花粉外壁が花粉の内圧の違いによって変形する程度の、機械的な

柔軟性を持っていることをも示唆する。吸水花粉の一部に多数の小顆粒が見られたが、大型花粉のみでなく小型花粉にも見られたこと、また、小顆粒の数が極めて少ない大型花粉も観察されることから、花粉の分泌物と断定することは出来なかった。エタノール処理によって花粉粒からエタノール中に出た物質が、その後の処理の過程で花粉表面に吸着したものかも知れない。

著者らはすでにマタビ属のキウイ⁽³⁾とヒレハリソウ属植物数種⁽⁴⁾の乾燥花粉と吸水花粉の走査型電顕的観察を行い、その外部形態の違いについて日本花粉学会第27回大会で報告した(論文準備中)。本研究では同じ方法を用いて、大型花粉と小型花粉との花粉外壁の形態形成の違い、あるいは花粉外壁の柔軟性についても推定できるような情報を得ることが出来た。このように、花粉を走査電顕で観察する際、乾燥花粉と吸水花粉とを比較観察することは、成熟花粉の外形に関する情報を得るだけでなく、花粉の稔性や形態形成に関する情報を含めてより多くの総合的な情報を得ることが出来る点で有用であると思われる。しかしながら、上で論じた推定は大型花粉が花粉内容物の充実した稔性花粉であり、小型花粉が花粉内容物を欠いた、あるいは花粉内容物の充実が不完全な不稔花粉であるという前提条件に基づくものであり、この前提に関して著者らは酢酸カーミンと銀染色法を用いた光顕的な予備観察をしたに過ぎず、発芽試験も未実施である。光顕的には少なくとも発芽試験を行うことが必要であり、電顕的には透過電顕による観察も必要であろう。大型花粉のすべてと小型花粉のごく一部が酢酸カーミンと銀で染色された。これらの染色法で染色される大型花粉と小型花粉のオルガネラの違いや発芽能の違いをまず明らかにする必要がある。また、走査電顕的観察においては、特に吸水花粉の固定法についての検討が必要であろう。ここでは光顕的観察法に準じて95%アルコールで固定したが、走査電顕では材料を真空中に入れるため花粉が収縮し易い^(1, 5)。固定法^(6, 7)や無蒸着による観察法⁽⁸⁾などの技術的な改良がさらに進み、柱頭上での吸水花粉の状態を十分に反映する観察

像が得られるようになることが望まれる。

謝 辞

著者らがこれまでの研究を進めるに当たって暖かい支援と示唆に富んだ助言を賜った東京都立大学名誉教授、故小野記彦博士に心から感謝申し上げます。また、懇切なる指導を頂いた帝京大学教授田中信徳先生に、技術的な援助を下さいました日本大学農獣医学部生物学研究室内の池美紀さん、当麻人司君に感謝の意を表します。

要 約

ゴボウアザミ (*Cirsium dipsacolepis* Matsumura) の乾燥花粉、および吸水花粉の走査電顕による観察を行った。本研究に供した材料では大型花粉と小型花粉とが混在していた。いずれもほぼ球形の花粉であり、刺状突起および網目状の彫紋を持っていた。刺状突起の数には大型花粉と小型花粉との間で差がみられなかったが、刺状突起の大きさは小型花粉では乾燥花粉、吸水花粉のいずれも大きく、大型花粉においては乾燥花粉では小さいが、吸水花粉では大きかった。花粉外壁に加わる内圧は花粉内容物の有無とその吸水の有無によって変化し、花粉粒の大きさのみでなく刺状突起の大きさや形を特徴づけることが推定された。

引 用 文 献

- (1) 岩波洋造：花粉学大要、風間書房（1971）
- (2) 幾瀬マサ：日本植物の花粉、広川書店（1956）
- (3) 上條明雄：白戸一士、高橋文次郎：日本花粉学会第27回大会要旨集、11（1986）
- (4) 上條明雄、白戸一士、田中信徳：日本花粉学会第27回大会要旨集、11（1986）
- (5) 山崎 太：花粉誌、27、55（1981）
- (6) 瀧 和子、山崎 太、水野端夫、久保道徳：生薬、30、118（1977）
- (7) Miyosi, Norio : Jap. J. Palyn. 27、45（1981）
- (8) 佐藤紀男：花粉誌、32、35（1986）

（受理日 1987年3月31日）

