

走査電顕による葯室中の花粉

山田 義男*

Pollen Grains in the Anther Locule by Scanning Electron Microscopy

Yoshio YAMADA

**Department of Biology, Faculty of Education, Gunma University, 4-2
Aramaki-cho, Maebashi, Gunma, 371*

1. はじめに

種子植物では花粉は葯室の中で発育するので、花粉の発育段階と葯の最内層であるタペータム(tapetum, じゅうたん)組織の発達過程との間には生理的にも形態的にも密接な関係があることは周知の通りである。もともと花粉母細胞とタペータ細胞(tapetal cell, タペータム組織をつくる一層の細胞)はともに葯原基の胞原組織(archesporial tissue)から分化したもので、その起原は同一である。したがって両者の代謝物質間にはきわめて親和性があり、花粉が母細胞から成熟花粉へと発育する一連の過程で必要とする諸物質は、すべてタペータム組織を通して供給されている。

両者間の関係を、スポロポレニン(sporopollenin)顆粒生産の道筋に焦点をあわせ、形態的に追求した多くの研究は主として透過電顕(TEMと略す)によるものである。しかし、ひとくちに種子植物といっても、裸子植物と被子植物、さらには扱う植物の種によってもその道筋は異なり、必ずしも一致した見解が出されていないのが現状である。このような研究の成果は、Heslop-Harrison(1968), Esau(1977), Echlin(1968, 1971 a), Dickinson(1971), 三木(1980), Dunber & Rowley(1984), および中沢(1985)などによる優れた総説・単行本があるので参照して頂きたい。

ところで、近年、花粉の形態的研究には TEMに劣らず走査電顕(SEMと略す)が多用されるようになった。

光顕に比べて、焦点深度の深さと分解能が高い特性を持ったSEMが導入されてから、花粉壁表面の鮮明な微細立体構造が浮き彫りにされ、新しい知見が得られるようになった。例えば、キク科の花粉の複雑な外壁構造を解明するのに、SEMはその空間的配置を示すことができ、TEMでは解らなかった優れた分類学的特徴を提供している(Horner & Pearson, 1978; Blackmore, 1982)。現在では、SEMによる花粉の形態研究の主流はもっぱら表面微細構造(外壁の彫紋と発芽口)に集中されているように思われる。このような面での研究は種や属の類縁関係を調べるのの一つの指針を与えるものとして、今後とも重要な課題であろう。これとは別に、最近、発育過程の葯中の花粉の形態、とくにタペータム組織との関連をSEMで解明しようとする研究も目につくようになってきた¹⁷⁾。わが国ではこの視点からの研究はまだ少ないが、花粉発生学や受粉生理学の成果をとり入れた花粉形態学を進展させ、実用面に役立つ知見を提供することも今後は必要とされよう。本報では上述の観点より、以下の各項目について自験例を挙げながら解説を試みた。このような研究をいくらかでも理解し発展させるための刺激になれば幸いである。

2. タペータム(Tapetum)

図1に示したように、種子植物の葯壁は一般に3ないし数層の組織(表皮細胞系、内被の細胞系およびタ

*〒371 前橋市荒牧町4-2 群馬大学教育学部生物学教室

ペート細胞系) からなり、花粉群をとり囲む最内層の組織がタペータムである。この魅力的な組織の形態的研究は、古くはMaheshwari(1950)の被子植物を用いて行った光顕による観察から始まり、タペータムを4つのタイプに類型化している。*Sagittaria* (オモダカ) type, *Butomus* (ハナイ) type, *Sparganium* (ミクリ) type および *Triglochin* (シバナ) type がそれである。しかし、タペート細胞の機能的差異に基づき、これらを改めて分泌型 (secretory or glandular) とアメーバ型 (amoeboid or plasmodial) の2つに分けている。この語は現在でも用いられている。彼は、両型のタペータムの役割はともに发育中の花

粉に必要な栄養物質の供給に寄与するものと考え、さらに花粉外壁の構築に貢献するものと推測している。

(A) 分泌型タペータム (Secretory tapetum)

ごく若い葯中で、花粉母細胞が減数分裂を行って4分子が形成される頃 (図1 A, B)、この型に属するタペート細胞は葯室に面した細胞壁が自己分解して崩壊し、退化した細胞質は葯室内へ放出される。しかし、それ以降も細胞の外廓は元の位置に残っていて、その表面に無数の大小の顆粒がつくられるタイプである。これらの顆粒をオービクル (orbicle or orbiculus) という。したがって、分泌型のタペート細胞はごく若い葯の時代に崩壊するので短命である。マツ科、スギ科、

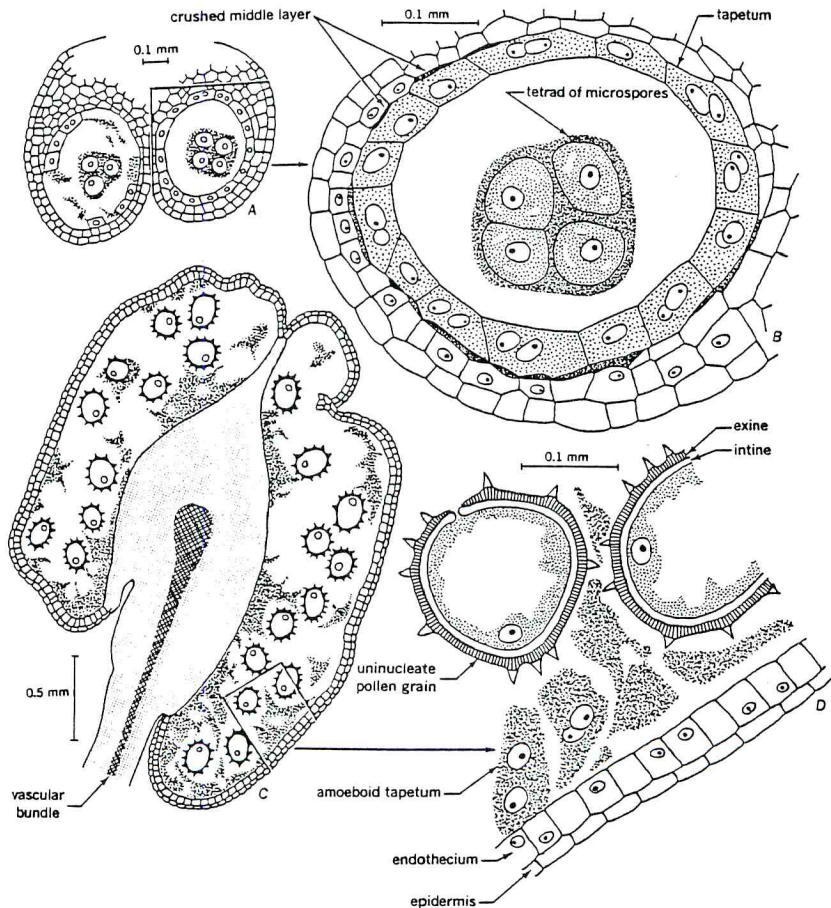


Fig. 1 Pollen development in cotton (*Gossypium arboreum*). Partial cross (A, B) and oblique longitudinal (C, D) sections of microsporangia. A, B, tetrads in callose wall at beginning of exine formation. C, D, uninucleate pollen grains with exine and intine; tapetum in plasmodial stage. (From K. Esau, 1977.)

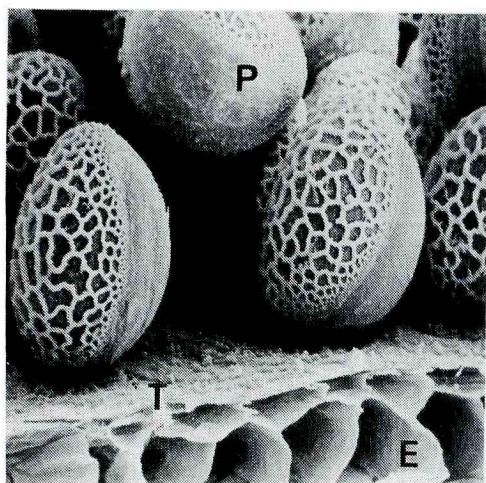


Fig. 2 SEM micrograph of Easter lily (*Lilium longiflorum*) anther. Cross section of the anther locule one day before anthesis. Note endothecium (E), tapetum (T) and locule with pollen grains (P). $\times 350$

ヒノキ科をはじめカバノキ科、ケシ科、バラ科、シュウカイドウ科、ナス科、ユリ科およびイネ科など、種子植物の多くの科で見られる。図2は、テッポウユリ (*Lilium longiflorum*)の開葯前日の葯の横断面を示したものである。退化して圧縮されたようにみえるタペータム表層には無数のオービクルが、ちょうど“じゅうたん”を敷いたように付着している。このように、オービクルが付着したタペータム表層をタペータム膜系(tapetal membrane system)と総称することがあり、アセトリーシス(acetolysis)抵抗性を持つことが特徴である。一般に、オービクルは径約1～数 μm の球体として分布することが多いが、ときには多くの裸子植物やユリ科の植物のように、数個から数10個の単体が相互に融合して複合体を形成することがある(図3)。また、これらのオービクルは網目状に発達した微繊維を通してタペータム表層と連結していることがある。このような微繊維の存在は、まだTEMの観察からは報告されていない。その役割については不明である。

成熟花粉の外壁やオービクル壁(orbicular wall)の化学的性質はスポロポレニンと脂質が主成分となっ

ている。スポロポレニンの語源は“sporonin”と“pollenin”に由来し、それぞれシダ植物の孢子と種子植物の花粉の外壁物質の総称であり、試葉類や菌類に対して強い抵抗性を持っている。この物質はカロテノイド(carotenoid)やカロテノイドエステル(carotenoid-esters)から誘導されたもので、自然界に見出せる最も高分子のポリマー(polymer)として知られている(Shaw, 1971)。タペート細胞が崩壊する頃、この細胞は無数の極く微小な顆粒—スポロポレニン前駆体(protosporopollenin)—を葯室内へ放出し、外壁の構築に寄与する。その道筋は、前述のように主としてTEMを用いて研究されている。このような研究が進むにつれ、幾つかの新しい問題点が引き出されてきた。

- (1) 小孢子の一次外膜である primexin (cellulose) 上に、如何にしてスポロポレニン前駆体が沈着し重合して、支柱状のバキラ前駆体(probaculum; lipoprotein と protosporopollenin) をへてmuri(網目状や指紋状彫紋の壁を意味する)が形成されるのか。
- (2) 可溶性のスポロポレニン前駆体の沈着を特異的に受容する場(receptor or pre-existing sites)は何か。
- (3) スポロポレニンの重合は酵素系を経て行われるのか。それとも oxidativeで aerobic な環境で促進さ

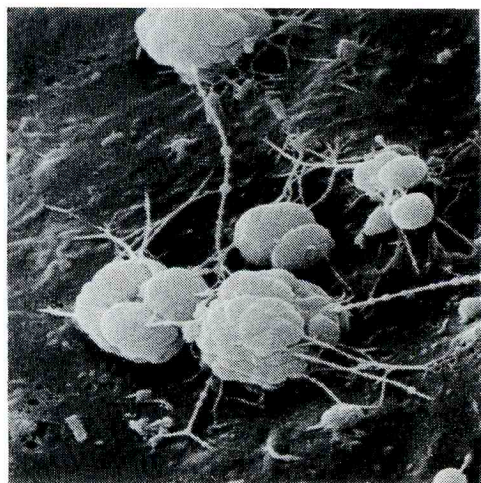


Fig. 3 Orbicules at high magnification. The orbicules are linked by fibrils. $\times 7000$.

れるのか。

- (4) 植物の種により、スプロポレニン重合の持続する期間に差異があれば、添加されたスプロポレニンは期間の長短に応じて異なる形態をとるのではないか。例えば、短期間のときには平滑 (psilate) に、長期間の場合には外壁表面に沿って非常に小さな刺状突起 (spinules) が形成されないか。
- (5) このような形態形成能は花粉母細胞 ($2n$ 世代) あるいは小孢子 (n 世代)、いずれの遺伝的制御下にあるのか。
- (6) 遺伝子が、いつ外壁の型の写しに関与するのか。それが転写される情報は、如何にして行われるのか。

以上の問題点を解明するためには、葯室中で发育する花粉の生理・形態を的確に把握しなければならない。同時に、花粉外壁形成過程とタペータム発達過程の正常な道筋が外部の要因によってどのように変化するか、という問題も大切である。例えば、罹病植物 (Cousin, 1980) や低温処理した植物 (Nishiyama, 1970; Sauvré et al., 1984 b) における花粉-タペータム相互関係の研究である。Van Campo (1976), Melville (1981) および Rowley (1981) らは花粉形態学において葯室内の環境の重要性を強調している。

このような諸問題を形態面から扱うには、TEMの知見とともに SEM による新知見の蓄積が望まれる。

(B) アメーバ型タペータム (Amoeboid tapetum)

分泌型タペータムに比べて、この型に属するタペータムを持つ科は少なく、僅かにキク科 (*Compositae*) に代表されている (図 1C, D)。しかし、ときにはウリ科のヘチマ (*Luffa cylindrica*)⁽³⁰⁾ およびツクサ科のムラサキオモト (*Rhoeo discolor*)⁽³²⁾ やムラサキツクサ (*Tradescantia*)⁽²¹⁾ で見出されている。したがって、この型のタペータムに関する知見は、まだ十分とはいえない。上記の植物を用いて行われた研究を集約すると、タペータムは2つの重要な機能を有することが示唆されている。第1に、スプロポレニン顆粒の生産で、直接あるいは間接的に花粉壁形成に寄

与する。第2は、タペータ細胞の代謝産物が栄養源として发育中の vacuolate pollen 期の小孢子に供給されることである。

Mepham & Lane (1969) はムラサキツクサを用いて詳細な研究を行っている。彼らは、花粉母細胞が減数分裂を行う頃、タペータ細胞中にはゴルジ由来の小胞 (Golgi-vesicle) が見られ、これらの小胞には自身の細胞壁 (pectic: ?) を溶解する酵素が含まれていることを示唆している。細胞壁の崩壊は比較的速やかに行われるようで、崩壊の波動は葯室を通して一斉に広がっていく。その結果、まだ活性化している原形質体 (protoplast) は小孢子間に流出したり、あるいは葯室の周辺部 (periphery) で原形質体同士が融合して塊状に発達する。この原形質体の状態が変形体やアメーバに似ているので periplasmodium または amoeboid という名称が与えられている。

葯室内へ流出した原形質体は、それ以降も活性を保持し、原形質体由来する callase の働きにより4分子を包むカロース外被 (callose tetrad coat) を漸次分解して、各小孢子は葯室内へ遊離される。また、これらの原形質体は多くの多糖類を合成して、小孢子から花粉粒へと发育する過程で花粉に栄養を補給する、と考えられている。したがって、この型のタペータムは原形質体の活性からみて長命である。図 4a に、キク科のヒヨドリバナ (*Eupatorium japonicum*) の開花時における葯室内の一部を示した。アメーバ型タペータムの特徴は、この例のように、その表層にオービクルの形成が見られないことである。この時期、原形質体は成熟花粉の周囲には見られず、僅かにその残渣が花粉とタペータム表層を連結している (図 4b)。その結果、タペータム壁はゲラチン様の表層へと変貌する。

(C) オービクルとタペータ膜系

分泌型タペータムの特徴は、その表層に無数の顆粒を生産することである。これらの顆粒は Ubisch bodies, plaques, sporopollenin bodies あるいは orbicles と呼ばれている。しかし、最近では orbicle の語が慣用

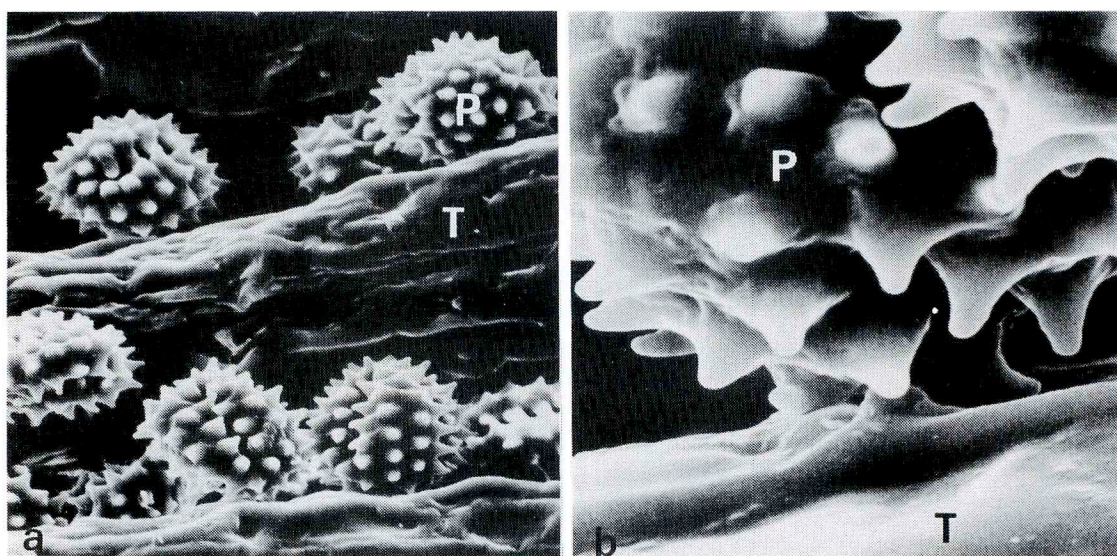


Fig. 4 SEM micrographs of amoeboid tapetum of thoroughwort (*Eupatorium japonica*). a). Inner tangential surface of tapetum after anther dehiscence. $\times 750$. b). In this species, tapetum is completely plasmodial. Pollen grain is closely attached to the wall of tapetum. $\times 3500$. T : tapetum, P : pollen grain.

化されている。オービクルの形成過程とその機能は古くから光顕および TEM を用いて研究されているが、まだ不明なことが多い (Echlin & Godwin, 1968; Echlin, 1971a; Echlin, 1971b)。個々のオービクルの形態は不斉楕円形ないしは球形が多いが、種により様々である。その中心部は中空であるが、壁は著しく肥厚している。前述のように、壁の肥厚はスポロポレニンの沈着によって行われ、その過程は花粉外壁の形成とほぼ同調して進行する。

近年、数種の植物において、成熟したオービクル壁の様子は花粉外壁の彫紋と同様な装飾 (ornamentation) を示すことが注目されている。Rowley et al. (1959) は TEM を用いて、*Poa* および *Phragmites* では両者の壁がともに短刺状突起で覆われており、*Degeneria* では両者とも全く紋様を欠いていることを観察している。Banerjee & Barghoorn (1971) はイネ科植物で行ったレプリカ法による TEM 観察から、両者の壁の装飾が短刺状突起を有することから、その相似性を指摘している。Yamada et al. (1980 a) は、スギを用いて行った SEM による観察から、

両者ともその装飾は径約 120 nm、高さ約 80 nm の円錐状の短刺状突起から構成されていることを報告している。同様な短刺状突起の彫紋はスズメノテッポウでも認められる (Yamada, 1980b)。このような装飾の表面構造の観察には、レプリカ法や TEM を用いるよりも SEM の方がはるかに優れた威力を発揮する。図 5 は、ムシトリナデシコ (*Silene armeria*) の場合を例示したもので、両者の装飾は疣状突起 (verrucate) である。この例のように、ある種の植物では花粉外壁とオービクル外壁の装飾間には著しい相似性が認められるので、装飾形成の道筋は同様であると推測される。したがって、彫紋形成の機構を解明するには、複雑な構造をもつ花粉を扱うよりも、むしろ単純なオービクルを対象とする方が得策かと思われる。

一方、Taylor 一派は、SEM を用いて、古生代の *Schopfipollenites* (Taylor, 1976) および中生代の *Classopollis* (Taylor & Alvin, 1984) について、化石中に含まれる花粉、タペータムおよびオービクルの表面構造を観察し、現生植物との対比から、系統的研究を行っている。

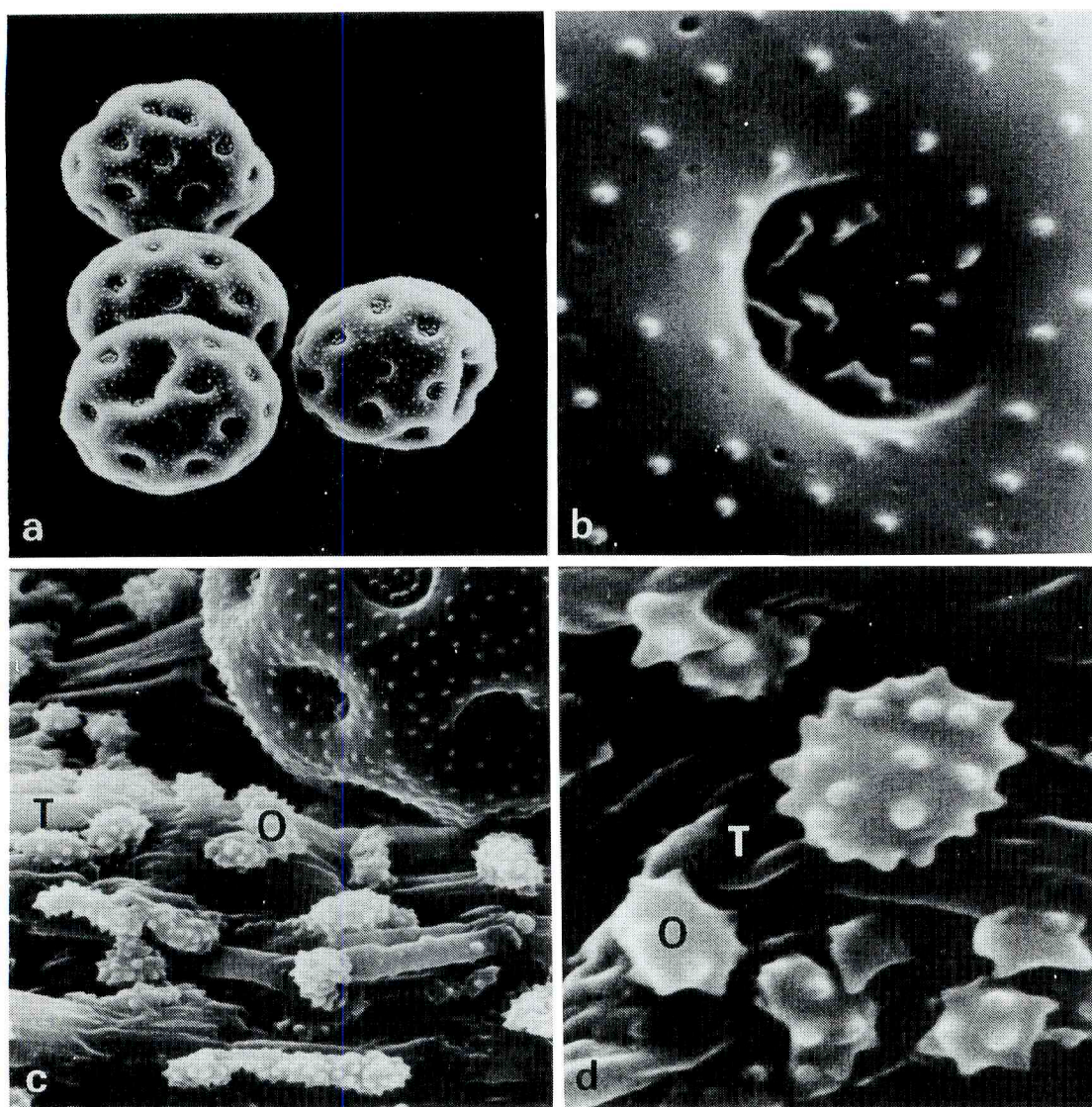


Fig. 5 SEM micrographs of secretory tapetum of catch-fly (*Silene armeria*). a). Group of pollen grains. $\times 700$. b). SEM micrograph of mature pollen grain, showing surface topography and germination pore (aperture). Ornamentation of exine showing blunt spinules in profile. $\times 7000$. c). Face view of tapetal membranes, oriented towards anther locules, covered with orbicules. $\times 2100$. d). A part of the enlargement of the same tapetum as in Fig. c. Each orbicule is somewhat irregular in size and shape. Note that pattern of surface of orbicules is identical to exine surface. $\times 7000$. T : tapetum, O : orbicule.

タペータム膜系の役割については Echlin (1971 a) の論説に詳述されているが、いずれも明確な証拠を欠き、まだ不明な点が多い。古く光顕時代には、しばしば花粉粒の表面にオービクルが付着していることから、花粉はオービクルを介して葯からの栄養物を摂取する、

と考えられていた。しかし、現在では殆どどの研究者がこの説に関心を示さない。同様に、スポロポレニン前駆体がオービクルを介してタペータムから花粉に移送される、という推測も実証性を欠いている。タペータム膜系の機能について、Heslop-Harrison (1968)

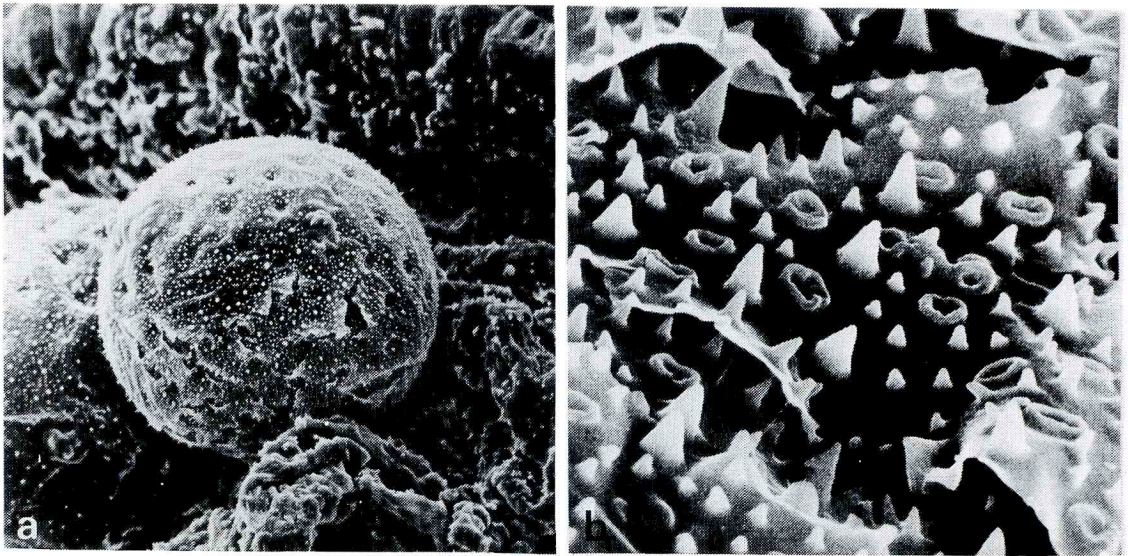


Fig. 6 Four-o'clock (*Mirabilis jalapa*) pollen grain is magnified 350 times (a); it displays the external appearance of a perinous pollen grain within the anther locule. Detail of perine surface, magnified 3500 times (b). Note that an outer layer of the exine peels in thin flakes.

は、アセトリース抵抗性を有するこの強固な膜系を、発育中の小孢子や花粉を包む一種の保護膜と考えている。さらに、Dickinson(1971)はこの説に加えて、開葯期になると、タペタム膜系は急速に乾燥して堅固になり、その結果遊離した成熟花粉を葯外に飛散させるのに役立つと推測した。彼の推測は以下に述べるSEM観察の結果からも支持することができ、興味ある仮説と思われる。

3. 周被 (Perine)

花粉形態学では、perine と perispore という語はまだ厳密な意味で定義されていない。

Erdtman(1943)は、exine を花粉(または孢子)の外側の壁で強度のアセトリース抵抗性を有するものとし、perine または perispore はある種の孢子において、exine を被う更に外側の膜である、と定義している。その後、孢子の形態研究が進むにつれ、perine は periplasmodium の活性にともない二次的に形成されたものとされている。一方、perispore は孢子外壁の外側に付着した plasmodial deposit を指している。孢子の形態観察において、perine と

exine との区別がつきにくい場合には、sculptine を用いている。いずれにせよ、これらの膜層の物理化学的性状は多くの点で外壁とは異なっている。ここでは両者の訳語を総称して周被としておく。

Gastony(1974)は孢子の周被を除去するのに熱アルカリで処理する方法を提唱している。すなわち、孢子を 90 ~ 100 °C の湯せん中で、熱 1N-NaOH で数分間処理すると、周被は容易に除去されて、外壁が露呈するようになる。彼は、SEM による孢子の表面構造(彫紋)の比較から、perine の有無を分類学上の大きな特徴の 1 つとして挙げている。Perine を有する孢子(例: *Nepheles*, *Cyathea*)ではかなり複雑な彫紋が見られるが、熱アルカリ処理によって露呈した exine の彫紋はむしろ単純であり、一般に平滑型(psilate)を示している。したがって未処理の孢子の複雑な彫紋は perine に因ることを明らかにした。シダ植物の類縁関係を検討するには、perine と exine の彫紋を同時に調べる必要性を強調している。

花粉試料の作成を行うときに、ある種の花の外壁の外側は薄膜で覆われていることがある。この薄膜には、ときにはひび割れが入っていたり、フレーク状にめく

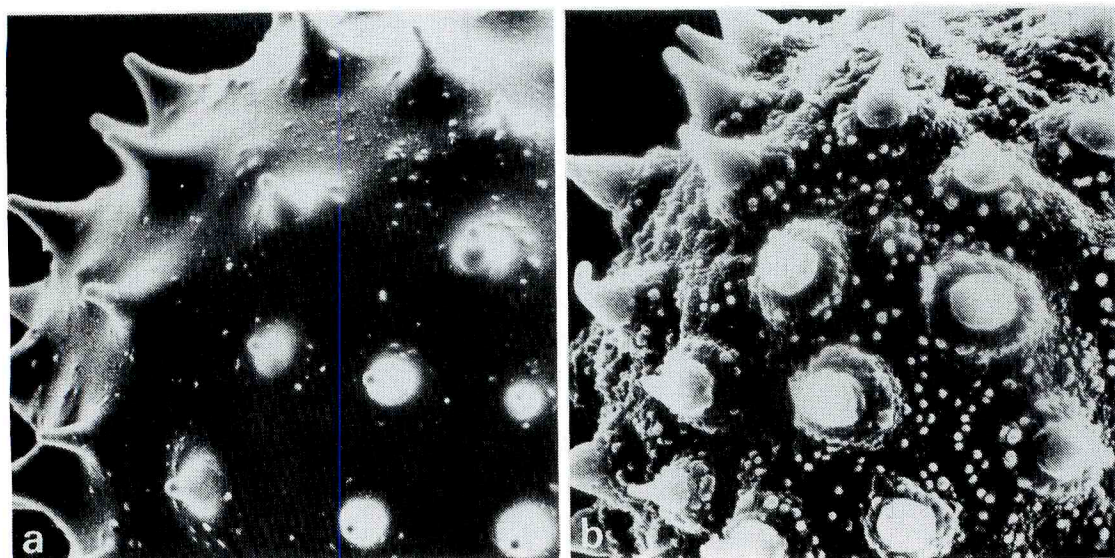


Fig. 7 Mature pollen grain of brazilian abutilon (*Abutilon megapotamicum*) is magnified 2100 times (a); it is covered with long spines. Note relatively smooth surface of exine. Granular surface of the exine, after removal of the perine layer by hot alkali treatment (b). $\times 2100$.

れ上がった細片が見られることがある。この現象は花粉粒の周被の形態を表現するのに、よく適合していると思われる。このような例はオシロイバナ (*Mirabilis jalapa*) の花粉でよく観察できる。図6 a に、開葯2日前の葯中の成熟花粉を示した。この時期は、すでに外壁の構築は完成した後であるが、外壁の外側には亀裂の入った周被が認められる。周被の下には、真の花粉外壁の彫紋—長短の刺状突起と散在している小孔—が見られる。周被は、ちょうど外壁の彫紋が鋳型となって打ち出されたようにめくれ上がっている。しかし、開葯後、飛散した花粉の中には、このような周被で覆われたものは僅かであった。以上のことから、葯中では周被は外壁と強固に粘着しているが、開葯時の僅かな期間に乾燥が急速に進み、周被は剥脱するものと推測される。同様に、チョウセンアサガオ (*Datura metal*) やペチュニア (*Petunia hybrida*) の花粉にも周被の存在が認められる。これらの周被は、熱アルカリ処理により容易に除去される。中村澄夫 (神奈川歯大) と筆者は、ペチュニアを用いて、周被の存在をTEMで調べたが、確認できなかった。おそらく、TEM試料作成中に周被は除去されたものと思われる。

一方、アオイ科 (*Malvaceae*) の花粉は、たとえ属が異なっても、その大きさが等しいと、殆んど種の識別することが困難である。これらの花粉外壁の彫紋は長短の刺状突起と僅かに散在する細粒突起で代表されるが、一般にその礎質は粘性に富む物質で均一に覆われているので平坦にみえる。図7 a に、ウキツリボク (*Abutilon megapotamicum*) の未処理の成熟花粉の一部を示した。この花粉を、熱 1N NaOH で20分間処理したものを図7 b に示した。両図を比較すると、アルカリ処理後の花粉の彫紋には著しい構造変化がみられる。長短の刺状突起の基部には、いずれも特徴のある台座がみられ、多数の細粒突起も明確に認められる。したがって、花粉表面を覆っていた粘性に富む物質は周被と思われる。本例の場合、開葯前後をとわず、成熟花粉は周被で覆われている。一般に、アオイ科の花粉を採取後、直ちに検鏡すると、周被に覆われた彫紋を観察することになる。それ故、アオイ科の属や種間の花粉形態を比較するときには、アルカリ処理を行って周被を除去し、真の外壁の彫紋の特徴を把握しなければならない。

以上の植物の花粉でみられた周被の起原はタペータ

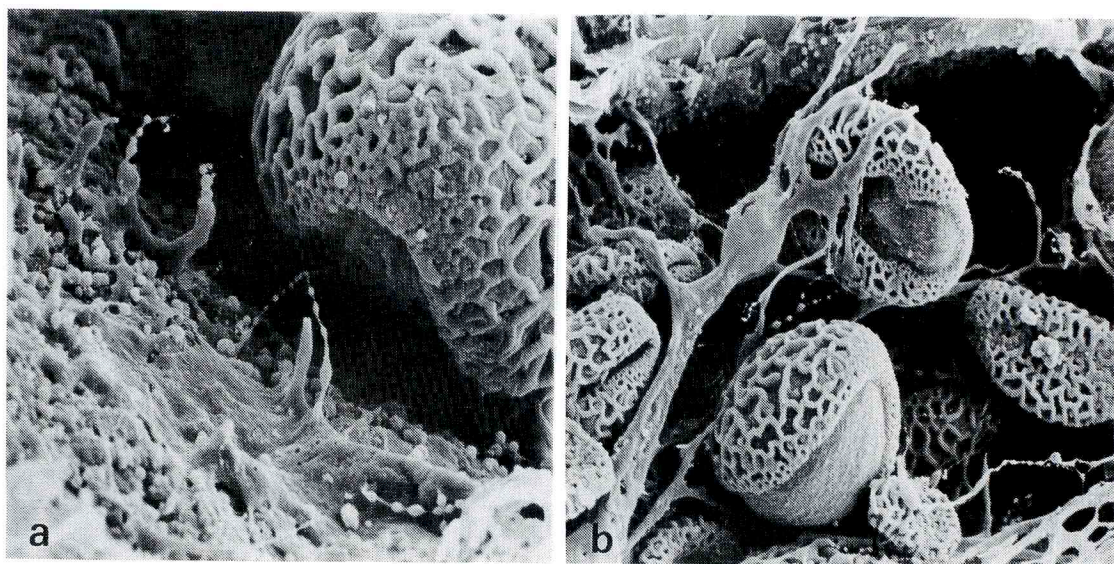


Fig. 8 Cross section of anther locule of Easter lily two days before anthesis, showing structural relationships between pollen grain and tapetum. a). The orbicules and ropelike structures are seen on the locular face of the tapetum. Note that the pollenkit formation is clearly visible on the surface of the enclosure. $\times 700$. b). Pollenkit is present and adhered with the pollen grains. $\times 350$.

ム由来と思われるが、葯中でいつ形成されるのかを決めることは今後の課題である。また、いずれも光顕的にはトルイジン青染色液（カロースの特異的染色法）で淡く染色されるが、その化学的性質はまだ確認されていない。

4. Pollenkit

タペート細胞の機能はスポロポレニンを生産するばかりではない。それ以外にも重要な機能を持っているが、その1つが pollenkit をつくることである。

Dickinson & Bell (1972) と Mascarenhas (1975) によれば、タペート細胞が崩壊する頃、細胞質の色素体 (plastid) 中には油小体やデンプン粒を含んだものが目立ってくる。タペート細胞の壁が最終的に破壊されると、細胞質は葯室内へ放出される。遂には、その中の一部が、花粉の網目状彫紋のパキラ間の空所 (interbacular space or foot layer) を満たすようになる。細胞質の流出に由来する脂質に富んだこの粘性性産物が pollenkit または tryphine である、と説明している。

Pollenkit は基本的には成熟した葯の全内容物を意味しているが、一般には虫媒花の花粉外壁に付着する oily layer を指すようである。一方、tryphine は風や動物によって受粉される植物の花粉壁に多くみられ、タペート細胞の崩壊により葯室内へ放出された諸物質の複雑な混合物を意味している。その中には ER の糸やオービクル前駆体のような細胞質の要素が認められるという (Echlin, 1971a)。しかし、化学的にはまだ両者の違いは調べられていない。また、形態的にも、その中に含まれる多くの構造は、その起原が未確認なものも多いので、厳密に両者を区別することは困難と思われる。

Pollenkit が付着している花粉はテッポウユリのように彫りの深い装飾を持った虫媒花で多く見られる。図8に、テッポウユリの開葯前の葯室内の一部を示した。タペータム膜系の上には多量の粘性性物質がみられる (図8a)。花粉の foot layer 上にも pollenkit が付着している。葯室内に放出された pollenkit の量はかなり多く、花粉間を不規則に這うように分布している (図8b)。

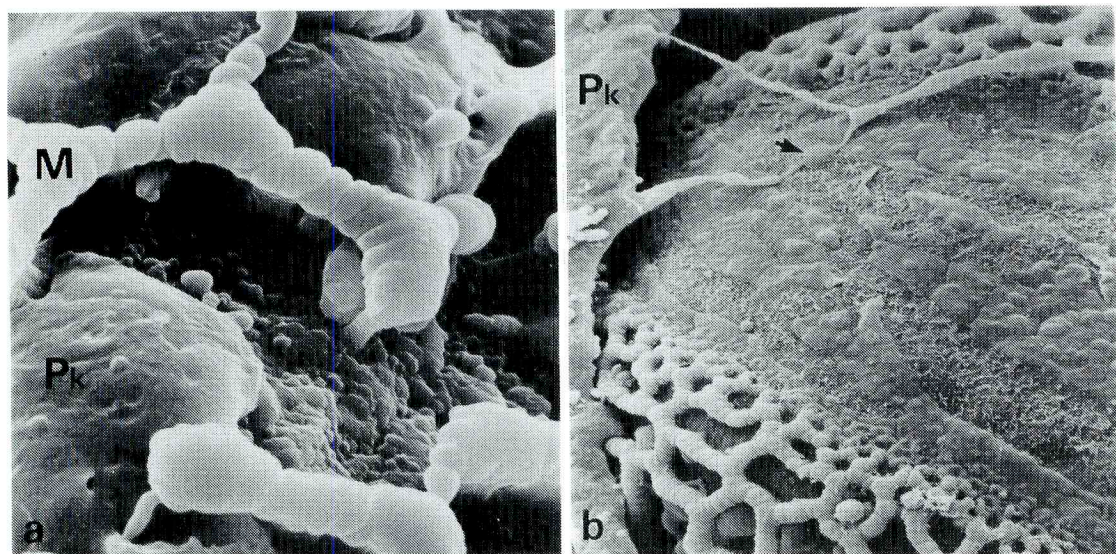


Fig. 9 Easter lily, mature pollen with pollenitt. a). Pollenitt is attaching to the outer portion of exine. Numerous granules are present on the surface of the enclosures. $\times 3500$. b). Pollenitt is seen in the left. Pollenitt is attaching to the outer portion of colpus. Note the connection between pollenitt and colpus by the oily droplet (arrow). $\times 1400$. Pk: pollenitt, M: muri.

Pollenitt の生物学的役割については、まだ定説がない。Heslop-Harrison (1971)は、この物質は虫媒花の花粉にとって必須の付属物であると指摘している。すなわち、昆虫を誘引する目印となったり、嗅覚を刺激するばかりではなく、虫体に粘着するための機能を持っている。さらに花粉を紫外線障害から防御する働きを有するもの、と考察している。

以上とは別の観点から、Heslop-Harrison(1968)は、花粉の水分代謝において pollenitt は積極的な調整機能を演じていることを主張している。テッポウユリの成熟花粉の発芽溝 (colpus) 上には、pollenitt が小さな球体となって付着している。葯室内では、花粉は最も水の透過性が高い発芽溝部位から水分を消失することにより、収縮する。このさい、発芽溝部位が pollenitt の脂質性薄膜で覆われると、収縮状態はそのまま維持される。開葯時の花粉が、たとえば柱頭上に着床したときのように、水と接触する機会にあうと、直ちに pollenitt は分散する。おそらく、この現象は表面タンパク質と脂質が結合することにより表面張力が低下するためと思われる。水の吸収が始

まると、発芽溝は拡張する。その結果、内壁 (intine) のセルロース表面はさらに吸水が活発になる、という。筆者は彼の説に賛同したいと思うが、これを支持する SEM 像を図 9 に示した。テッポウユリの開葯前の葯中にある花粉の一部を拡大してみると、網目状彫紋の 1 区画内の foot layer 上には多量の pollenitt が付着している (図 9 a)。Foot layer の礎質には顆粒状の pollenitt も認められる。また、同一葯内にある花粉の発芽溝部位の拡大を図 9 b に示した。図の左側縦方向には帯状の pollenitt がみられ、その一部が糸状に伸長して発芽溝を横切っている。詳細に観察すると、糸状の pollenitt の中程に、径約 $25 \mu\text{m}$ の円盤状の小体が認められるが、pollenitt はこの小体を介して発芽溝表面に粘着している。同様な小体は発芽溝上に多数認められるが、薄膜の中に埋まるように分布している。これらの小体の形態は、Heslop-Harrison が観察した小さな球体とよく一致する。図 9 a, b を比較すると、foot layer と発芽溝では、pollenitt の粘着のしかたに明らかな差異があると思われる。

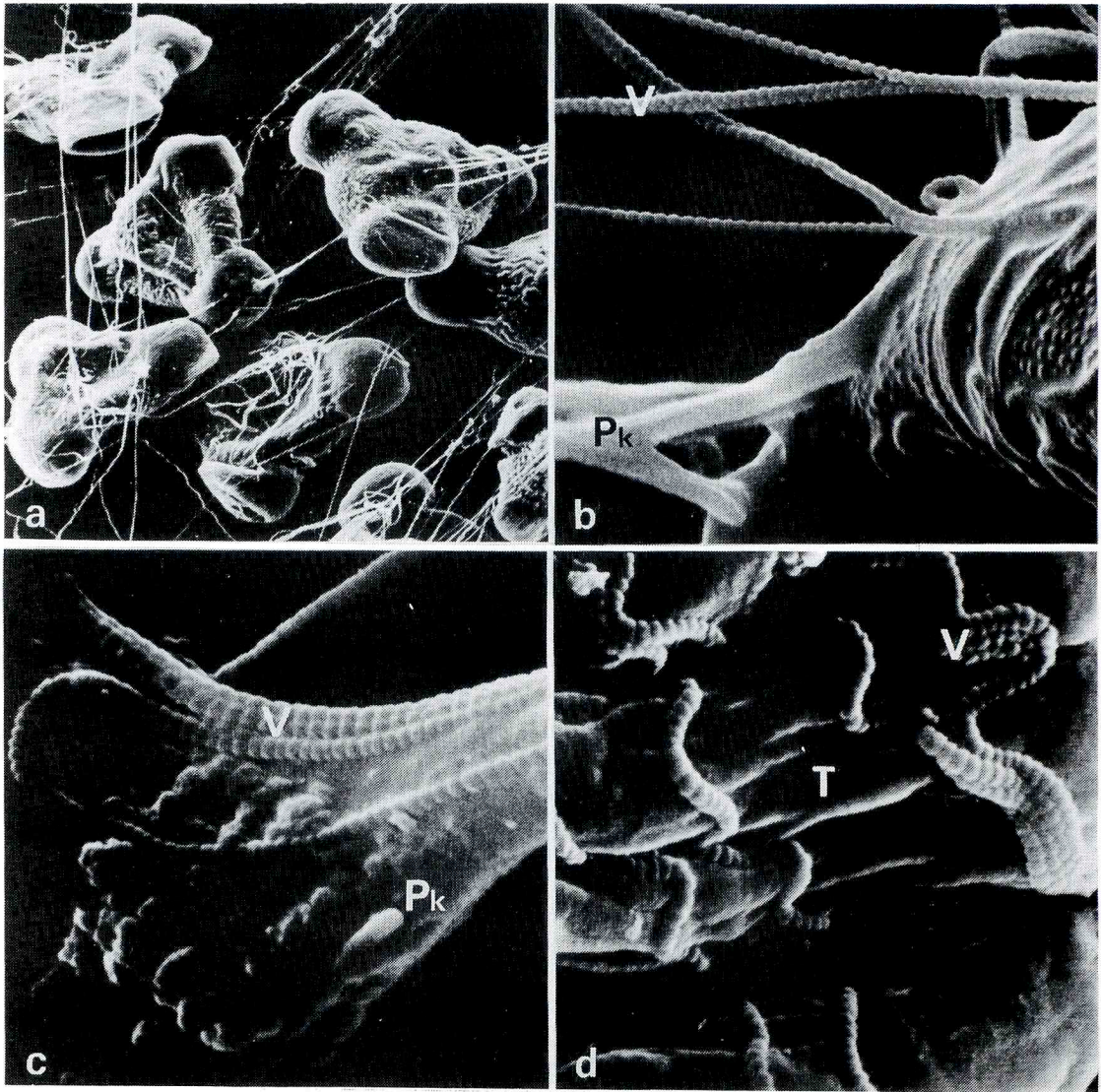


Fig. 10 SEM micrographs of evening-primrose (*Oenothera parviflora*) pollen. a). Group of pollen with viscin threads. $\times 700$. b). SEM micrograph showing threads on proximal polar face. Note attachment of thread bases to exine surface. $\times 5200$. c). SEM micrograph showing both lightly segmented viscin threads and a portion of viscin attached to the pollenkitt. $\times 7000$. d). Groups of segmented threads over a surface of tapetum. $\times 7000$. T: tapetum, V: viscin, Pk: pollenkitt.

5. 粘糸 (Viscin thread)

アカバナ科 (*Onagraceae*) や ツツジ科 (*Ericaceae*) に属する多くの植物の花粉では、その表面に長く発達した粘糸が多数付着している。葯室から放出された一群の花粉は相互に粘糸により連結され集塊となっている。また、粘糸を有する植物は、一般に花粉の大きさと比べて、表面積が広い柱頭を持っている。それ故、

粘糸の役割は、訪花昆虫の体表に付着した花粉集塊を能率よく柱頭表面に運び、受粉効果をたかめるためと推測されている。Skvarla et al. (1978) は、粘糸の形態と訪花昆虫との間には相関関係があり、両者は相互に影響を受けながら進化してきたのであろう、という仮説を出している。

図10にアレチマツヨイグサ (*Oenothera parviflora*)

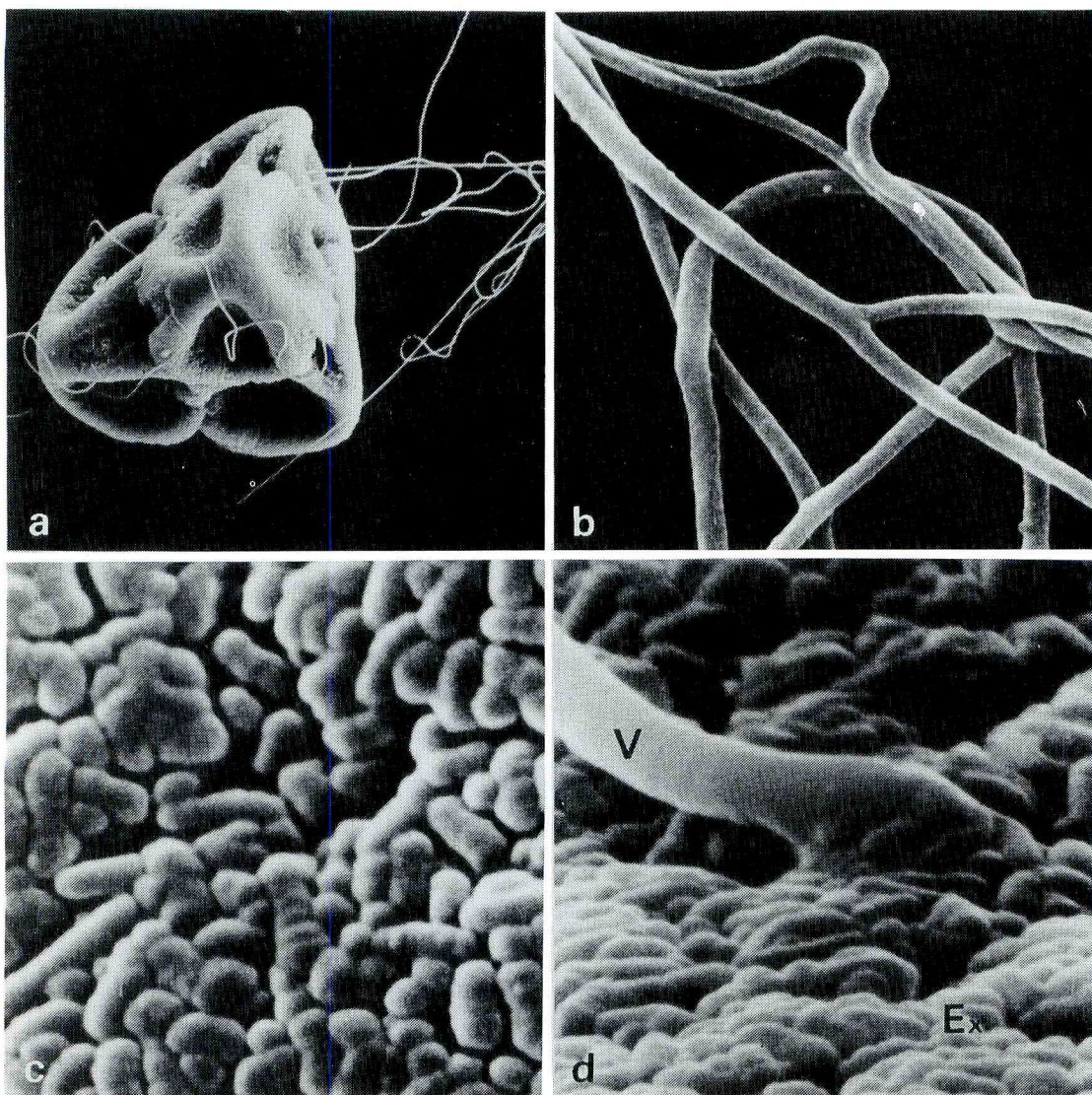


Fig. 11 SEM micrographs of rose-bay (*Rhododendron metternichii*) pollen. a). Ropelike structures are viscin threads. $\times 700$. b). SEM micrograph showing smooth, branched viscin threads. $\times 7000$. c). Exine surface of the pollen grain showing randomly oriented rods of sporopollenin. $\times 21000$. d). SEM micrograph showing a portion of attachment of viscin thread base to exine surface. $\times 21000$. Ex: exine. V: viscin thread.

fora) の粘糸を示した。図10 a は、葯室から放出された直後の花粉集塊を示したものである。粘糸が花粉外壁に付着している部分を拡大すると、外壁表面には太い糸状のpollenkitt (矢印) とともに数本の細い数珠状の粘糸がみられる (図10 b)。さらに、このようなpollenkittの表面にはしばしば多数の粘糸が並行して付着していることがある (図10 c)。粘糸の構造は比較

的単純で径約 200nm の小球状の単位体が数珠状に連らなっている。粘糸は途中でループ状に巻き込んだり、振れたりするが、元来は1本ずつ遊離して存在することが多い。しかし、ときには2~3本の粘糸が縦方向に融合して複合体を形成する。成熟した葯のタペータムを観察すると、無数の粘糸がタペータム膜系上にまといつくように見られる (図10 d)。この事実は、

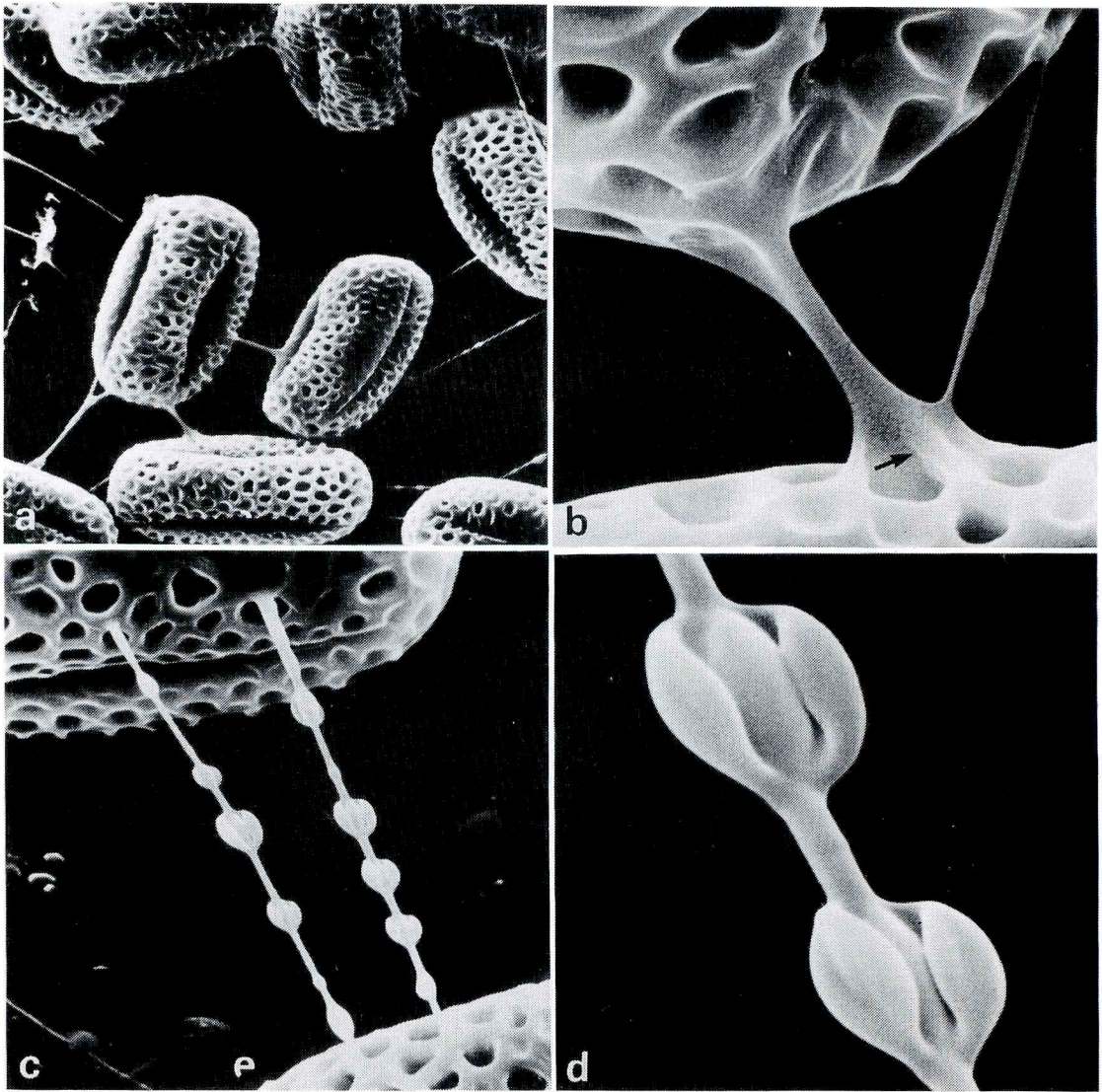


Fig. 12 Mature pollen of spindle-tree (*Euonymus alata*). a). Pollen grains joined by exinal connections. $\times 750$. b and c). Pollen grains showing continuity of exine and connections (arrow) b: $\times 5200$. c: $\times 2100$. d). A higher magnification of exinal connection of the same pollen grain as in c showing its beautiful design. $\times 10500$.

粘糸がタペート細胞によって生産されることを示している。

ところで、粘糸は形態的に2型あることが知られている。1つは、アカバナ科でみられる数珠状の粘糸である。他は、次に例示するツツジ科にみられる平滑型の粘糸である。

図11に、ツクシシャクナゲ (*Rhododendron*

metternichii) の粘糸を示した。この花粉は4集粒であるが、これらの花粉表面を取り囲むように多数の粘糸が付着している(図11a)。粘糸の一部を拡大してみると、2叉状に分岐したり、何体かの粘糸が互いに絡み合ったりしているが、個々の粘糸の表面構造は全く平滑である(図11c)。花粉外壁の装飾は不規則に並んだ桿状体で形成されているが(図11c)、粘糸の

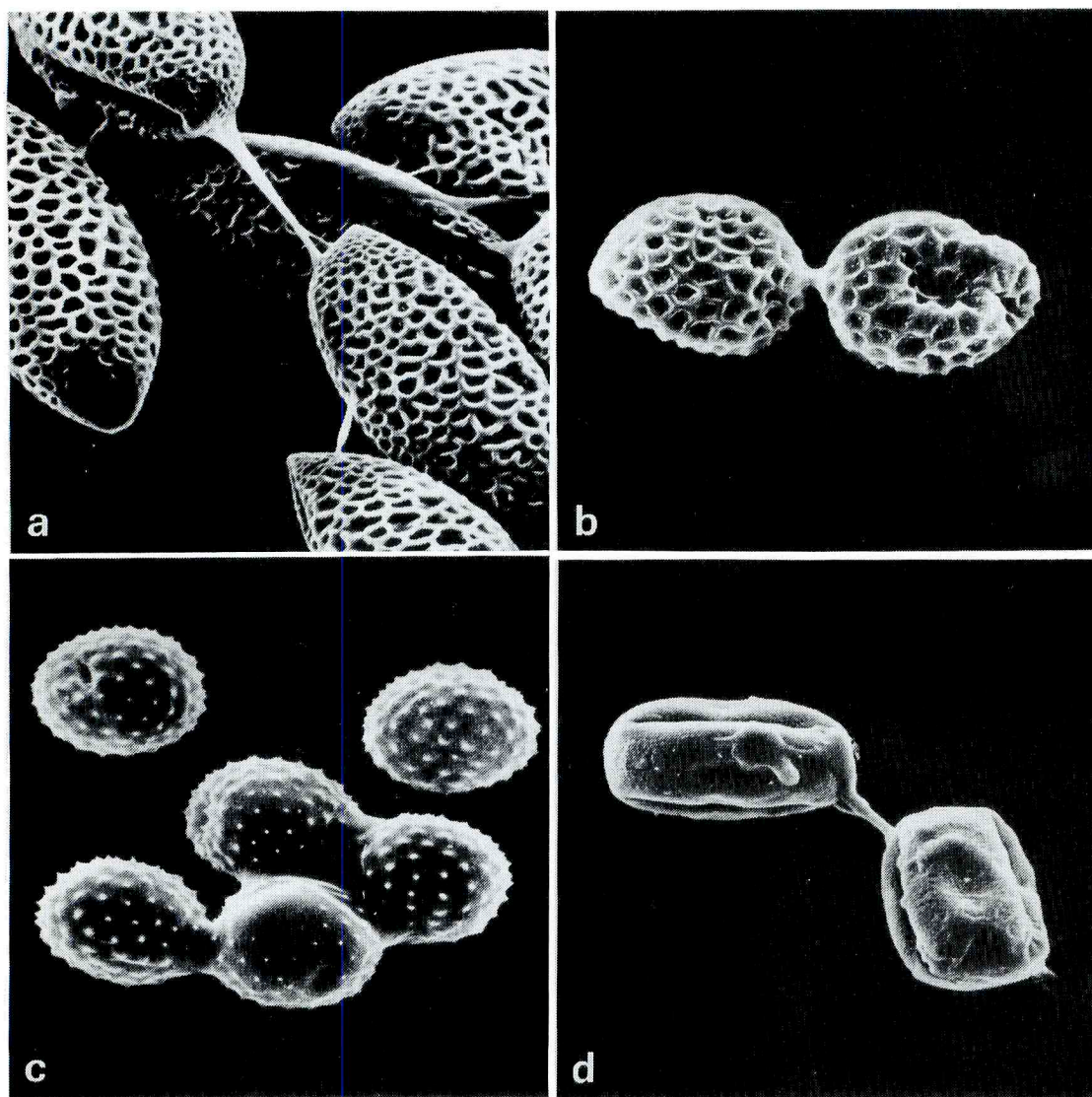


Fig. 13 SEM micrographs showing four types of mature pollen with exinal connections. a). *Lilium longiflorum*, $\times 350$. b). *Polygonum perfoliatum*, $\times 520$. c). *Ambrosia elatior*, $\times 840$. d). *Lochnera rosea*, $\times 350$.

末端は密接に桿状体と融合している(図11 d)。

粘糸はタペータム由来の明確な形態を持った花粉の付着物である。粘糸の特徴はその一端が花粉外壁と融合しているが、他端は遊離していることである。また、その化学的性質はアセトリーシス抵抗性を有することから、スポロポレニンを主成分としている(Skvarla et al., 1978)。

6. 外壁間連結系(Exinal connection)

Cruden & Jensen (1979) により提唱された exinal connection の適当な訳語はまだ見あたらない。ここでは、一応外壁間連結系(連結系と略す)としておく。連結系は隣接する花粉同士の外壁間に生ずる糸状の構造で、その両端は必ず2つの花粉の外壁に付着していることが特徴である。連結系は、形態と機能面では、粘糸とよく似ている。異なる点は、粘糸より短

かく、花粉間にみられる数も、普通1～3本程度、多くて数本である。

図12に、ニシキギ(*Euonymus alata*)の連結糸を示した。連結糸で連なった花粉は4～5個で一群をなしている(図12a)。花粉間の連結糸の付着点を拡大してみると、網目状彫紋を作るmuri(壁)とよく融合している(図12b)。このことは、連結糸は外壁物質と高い親和性を有することを示唆している。連結糸の途中には、しばしば数個のビーズ状の球体が形成されている(図12c)。これらの球体を拡大してみると、大層美麗な造形を示している(図12d)。

Cruden & Jensen(1979)は、マメ科に属する*Caesalpinia*(ジャケツイバラ属)、*Bauhinia*(ハカマカズラ属)など数種の植物の花粉の連結糸をSEMで調べ、受粉におけるその役割を強調している。すなわち、これらの植物の柱頭は一般に小さいので、受粉のさいに少数の花粉を確実に着床させる必要がある。そのためには、短い連結糸により3～5個の花粉を小塊として、チョウなどの翅に付着させ散布する方が、より効果的に受粉の目的を達成できると推測している。事実、マメ科の植物において、これらの植物は、連結糸を持たない花粉を有する植物よりも、結実率が高いことを報告している。その後、Petel et al.(1985)は*Jacqueshuberia*属の数種を用いて、これらの花粉に付着している糸状構造について、粘糸や連結糸の構造と比較検討している。その結果、この糸状構造は形態的には連結糸に近く、機能的には粘糸に近いことを報告している。上述の植物では、糸状構造により小塊となった花粉は、チョウやガおよびコウモリなどの受粉媒介者に付着して、受粉の目的を果たしている。

彼らは、連結糸の化学的性質はアセトリーシス抵抗性からみてスποロポレニンが主成分であると示唆している。筆者は、連結糸とよく似た糸状構造で連なった花粉をニシキギ以外にもよく観察することがある。テッポウユリ、ニッコウキスゲ、アオイ科の多くの植物、オキナグサ、ヤブツバキ、オモダカ、フキ、ブタクサ、ニッコウアザミ、ニチニチカ、イシミカワなど

である。このような例のいくつかを図13に示した。筆者の観察結果から、連結糸の起原はタペータムによって生産されることには賛同できる。しかし、図13dに例示したニチニチカ(*Lochnera rosea*)のように、隣接する花粉間にはpollenkittが付着している。この場合、葯外に放出された花粉が乾燥にさらされると、pollenkittが次第に収縮して糸状構造をとり連結糸が形成される、とも考えられる。pollenkittにスποロポレニン前駆体が含まれている可能性は否定することができない。pollenkittは、まさに“花粉壁のパテ”として多様な形態を示すものと思われる。いずれにせよ、pollenkittの本性を解明することは今後の重要な課題と思われる。

7. おわりに

1970年以降、花粉壁形成過程(花粉発生学)に関する研究は葯内におけるスποロポレニン生産を中心として、種々な立場から実りある多くの成果を挙げてきた。特に、1970年ロンドンで開催された“Sporopollenin”に関するシンポジウムでは、植物学、化学、地質学および農学など各分野の著名な研究者が集まり、この物質の物理化学的性状や生物学的意義に多大の関心が寄せられた。ここで提起された諸問題は、それ以降の研究の指針となった。このシンポジウムで、花蕾の発育過程における花粉壁形成とタペート細胞の形態的变化を扱った研究の主流はTEMによるものであったが、この時すでにSEMによる研究が登場している。ところで、わが国で初めてSEMが市販され、大学の研究室でその恩恵に浴せるようになったのは、ちょうどその頃である。当初、TEMの輝くような成果の蔭にかすんで過小評価されたSEMも、その後、性能の向上や試料作成法の改良³⁹⁾と相俟って、現在では広範な分野で活用されている。花粉形態学においてもその例外ではなく、新しい分類学的特徴を提供している。また、花粉の機能面からは、とくに発芽口(aperture)の構造が注目される。被子植物では、なぜ1溝粒と3溝粒および多孔粒が多くの科に分布するのか。花粉管は1つの出口を

必要とするのに、花粉はなぜ幾つもの発芽口を持つのか。発芽口は、花粉管にとって可能な出口を提供する以外に、加水分解酵素や他のタンパク質（例えば、抗体やアレルギー抗原、和合性—不和合性反応に関与する自他を識別する物質など）も放出するのか。無口粒ではどのようにになっているのか。アオイ科のように発

芽孔に口蓋(operculum)を欠くもの、あるいはイネ科のように口蓋を有するものなど、口蓋の役割は何か。このような問題を解明するには、いずれも発育中の葯室内の花粉を用いて、発芽口の立体構造や表面微細構造の変化を詳細に調べることが必要であり、今後の重要な課題の1つと思われる。

引 用 文 献

- (1) Banerjee, U. C. & Barghoorn, E. S. (1971) *In*: Pollen: development and physiology. Butterworth and Co., London. 126-127.
- (2) Blackmore, S. (1982) *Grana* **21**, 149-160.
- (3) Cousin, M.-Th. (1980) *ibid.* **19**, 99-125.
- (4) Cruden, R. W. & Jensen, K. G. (1979) *Amer. J. Bot.* **66**, 875-879.
- (5) Dickinson, H. G. (1971) *In*: Sporopollenin Academic Press, London & New York. 31-67.
- (6) Dickinson, H. G. & Bell, P. R. (1972) *Planta* **107**, 205-215.
- (7) Dunbar, A. & Rowley, J. R. (1984) *Pollen et Spores* **24**, 299-338.
- (8) Echlin, P. (1968) *Scientific American* **218**, 81-90.
- (9) _____ & Godwin, H. (1968) *J. Cell Sci.* **3**, 161-174.
- (10) _____ (1971a) *In*: Sporopollenin Academic Press, London & New York. 220-247.
- (11) _____ (1971b) *In*: Pollen: development and physiology. Butterworth & Co., London. 41-61.
- (12) Erdtman, G. (1943) *An introduction to pollen analysis*. Chronica Botanica Co., Waltham, Mass. 50-52.
- (13) Esau, K. (1977) *Anatomy of seed plants* (2nd. Ed.). J. Wiley & Sons, Inc., New York.
- (14) Gastony, G. J. (1974) *Amer. J. Bot.*, **61**, 672-680.
- (15) Heslop-Harrison, J. (1968) *Science* **161**, 230-237.
- (16) _____ (1971) *In*: Sporopollenin Academic Press, London & New York. 1-30.
- (17) Horner, H. T. Jr. & Pearson, C. B. (1978) *Amer. J. Bot.*, **65**: 293-309.
- (18) Maheshwari, P. (1950) *An introduction to the embryology of angiosperms*. McGraw-Hill, New York.
- (19) Mascarenhas, J. P. (1975) *Bot. Rev.*, **41**, 259-314.
- (20) Melville, R. (1981) *Pollen et Spores* **23**, 179-203.
- (21) Mepharm, R. H. & Lane, G. R. (1969) *Protoplasma* **68**, 175-192.

- (22) 三木寿子 (1980) 生物科学 **32**, 57 - 68. 岩波.
- (23) 中沢 潤 (1985) 花粉 その生いたち—ミクロの世界— やまと印刷K.K.
- (24) Nishiyama, I. (1970) Proc. Crop Sci., Japan **34**, 474 - 479.
- (25) Patel, V., Skvarla, J. J., Ferguson, I. K., Graham, A. and Raven, P. H. (1985) Amer. J. Bot., **72**, 407 - 413.
- (26) Reznickova, S. A., Van Aelst, A. C. and Willemse, M. T. M. (1980) Acta Bot. Neerl. **29**, 157 - 164.
- (27) Rowley, J. R., Mühlethaler, K. and Frey-Wyssling, A. (1959) J. Biophys. Biochem. Cytol., **6**, 537 - 538.
- (28) _____ (1981) Nordic J. Bot. **1**, 357 - 380.
- (29) Shaw, G. (1971) *In*: Sporopollenin Academic Press, London & New York. 305 - 350.
- (30) Shridhar & Singh, D. (1984) *In*: Sexual reproduction in seed plants, ferns and mosses. Pudoc Wageningen. 21 - 23.
- (31) Skvarla, J. J., Raven, P. H., Chissoe, W. F. and Sharp, M. (1978) Pollen et Spores **20**, 1 - 143.
- (32) Souvré, A., Albertini, L., Dhar, A. C. and Petitprez, M. (1984a) *In*: Sexual reproduction in seed plants, ferns and mosses. Pudoc Wageningen p. 24.
- (33) _____, _____ and Dhar, A. C. (1984b) *ibid.* 28 - 31.
- (34) Taylor, T. N. (1976) Amer. J. Bot., **63**, 857 - 862.
- (35) _____ & Alvin, K. L. (1984) *ibid.* **71**, 575 - 587.
- (36) Van Campo, M. (1976) *In*: The evolutionary significance of the exine. Academic Press, London & New York. 125 - 138.
- (37) 山田義男・長島久和子・樺沢 誠 (1980a) 日本花粉学会会誌 **25**, 21 - 31.
- (38) Yamada, Y. (1980b) *ibid.* **26**, 27 - 31.
- (39) _____ (1982) 実験生物学講座第2巻 光学・電子顕微鏡実験法 丸善. p. 215 ~ 228, 246 ~ 262.

(受理日 1987年5月9日)

