

## アオイ科の花粉粒外部形態

矢野義治\*

YANO, Yoshiharu\*: Pollen Grain Morphology in the Malvaceae

筑波実験植物園で育成管理しているアオイ科 17 種の花粉粒外部形態を、走査電子顕微鏡 (Scanning Electron Microscope 以下 SEM と略す) で観察した。

アオイ科の花粉粒は、球形で球面全体に刺状の細長い突起が見られること、球の外壁には多数の小孔口が散在するなど特徴ある外部形態を示す。花粉粒の直径は、100 ~ 150  $\mu\text{m}$  と大形のもが多く、光学顕微鏡でもその特徴的形態から他の花粉粒と容易に判別することができる。

幾瀬 (1956) は、日本植物の花粉粒研究においてアオイ科 17 種を観察して、3 つの形状に類別している。すなわち、タチアオイ (*Althaea rosea*) に見られる多数散孔型 (4 C<sup>b</sup>)、フヨウ (*Hibiscus mutabilis*) に見られる螺旋線上孔型 (4 C<sup>c</sup>)、イチビ (*Abutilon theophrastii*) に見られる赤道 3 溝 (6 B<sup>b</sup>) の 3 タイプである。

今回観察した 17 種も幾瀬の 3 タイプを基本形として類別したが、刺状の形状や数および配列などの詳細部分の検討により、細かく類別できるとと思われる形態的特徴が見られた。

花粉粒など水分を含む生物の SEM 検鏡試料の作製は、自然乾燥法や臨界点乾燥法 (田中 1991) などの前処理が必要である。SEM の新しい前処理として炭素化法を試みた結果、花粉粒の外部の微細な形態や外壁の構造および内部の詳細な形態を観察できた。花粉粒の炭素化法は、簡単な処理でありこれによる収縮や変形も小さく、SEM の前処理方法として活用できる。臨界点乾燥法で作製した花粉粒の高倍率像からは、アオイ科花粉粒の外壁の網目模様や突起の形状に関する新しい知見が得られた。

### 材料および方法

花粉粒の外部形態観察に供した植物は、当園で育成管理しているものである。花粉粒の採取は、開葯前の状態で試料管に取り室内で熟成させた。SEM 試料の作製は自然乾燥法、臨界点乾燥法および炭素化法の前処理を試みた。自然乾燥は室温で数日間放置したものである。臨界点乾燥はメタノールによる脱水後酢酸イソアミルで置換し、耐圧容器内で二酸化炭素と置換し続いて二酸化炭素の臨界圧力・臨界温度を越える条件下でガスを排出した。これらの手順は、日立臨界点乾燥装置 (HCP-2 形) を使用した。炭素化法は、古くから茶道で飾り炭に使われる「御花炭」の技法に着目して、花と一緒に花粉粒を炭素化するものである。炭素化は乾燥・形状維持などの処理が、短時間でできることおよび電導性の良好な試料を作ることにも期待した。処理に当っては微細な花粉粒の形状を崩さず、乾燥による収縮や変形を最小限にするように 2, 3 の試行を行った。その結果、次のような簡易な手順で十分であった。雄しべを圧迫しないようにアルミホイールで包み、これを磁製ルツポに入れ、空隙を薫炭で充填し、上蓋をして空気の流通を遮断する。更にルツポ全体を砂皿の砂に埋め込み加熱する。30 分間程度強く加熱して、放冷した後炭素化した雄しべを取り出す。炭素化された試料なので、電導性は良好なはずであるが、種々試みた結果では金属

\* 国立科学博物館 筑波実験植物園. Tsukuba Botanical Garden, National Science Museum, Tsukuba, 305.

コーティングが必要であった。炭素化した試料は、非常に脆く取り扱いには細心の注意を要する。花粉粒の試料台への展着は両面テープを使用した。金属コーティングは Pt-Pb を装着した 1 B-3 型イオンコーダー (エイコー・エンジニアリング) を使用した。SEM は JSM-5300 (日本電子) を使用し、加速電圧 20 KV、傾斜角  $T = 30^\circ$  で観察した。

### 結果および考察

ハイビスカス (*Hibiscus* 'Tangerine Yellow') とタイリンヒメフヨウ (*Malvaviscus arboreus* var. *mexicanus*) の脱水・乾燥処理を炭素化法で行った。これらの SEM 写真を Fig. 1 の 1~8 に示す。ハイビスカスの膨潤形 (1) と乾燥形 (2) は、特徴のある刺状の突起や外壁の模様が明瞭である。これらの像は自然乾燥のものより細部の形態が鮮明に判別できる。この方法で得られた SEM 写真から散孔口内側の形態に種を特徴づける判然とした相違が見られた。散孔口内側の形態を火山の噴火口に喩えるならば、タイリンヒメフヨウ (3, 5, 7) は火山壁が切り立って荒ら荒しいのに比べ、ハイビスカス (4, 6, 8) は噴火口からなだらかな熔岩が流れ出しているようである。花粉壁は外壁と内壁から構成され、外壁は細分されて外層と内層に区別されるが、これらの様子が Fig. 1 の 5 でよく観察できる。外層部の断面 (矢印 A) は短冊状の小塊が一定の空隙を持って規則正しく並び、これが表面模様の形成に関与する層と推測される。これに続く内層部 (矢印 B) は、壁状の均一な厚い層で外層部との違いが明らかである。また刺状の突起部分は、内部まで均一な物質で密に詰まっており (矢印 C)、これらは内層部に連絡結合しているようである。炭素化法で処理した試料は、臨界点乾燥法と同等またはそれ以上の細部の判別も可能であり、加熱処理による変形や収縮も小さい。以上のことから炭素化法は、植物組織の SEM 観察のための前処理法として十分活用できる。

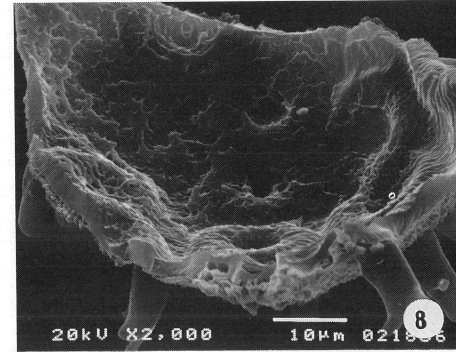
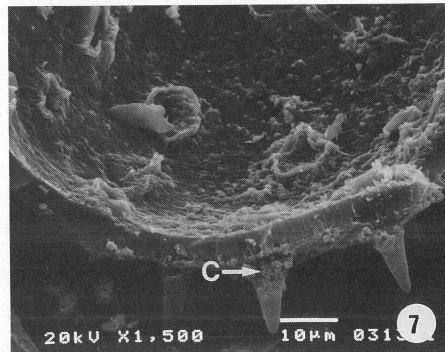
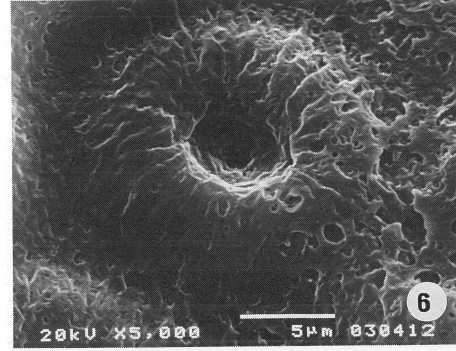
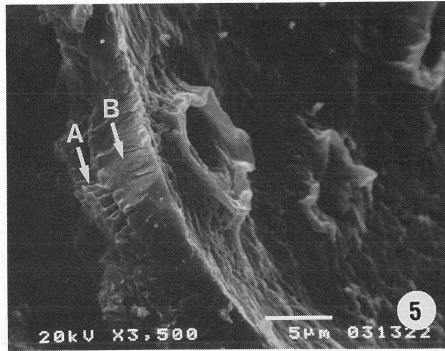
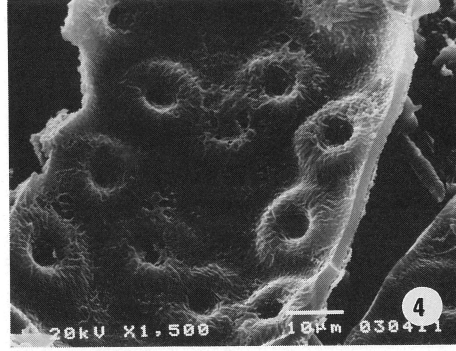
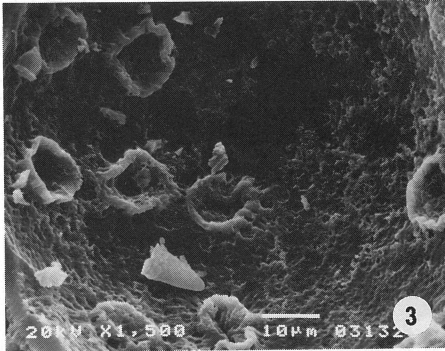
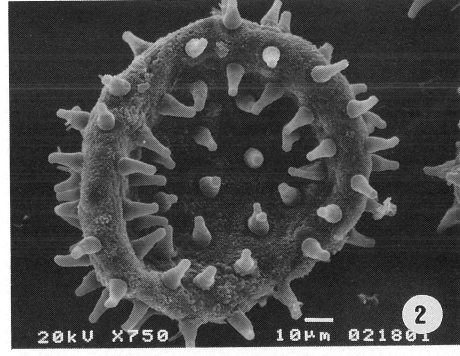
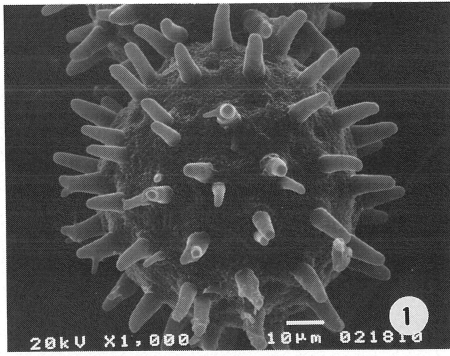
花粉粒の脱水・乾燥に高周波 (調理用電子レンジ) を試みた。ヒメフヨウ (*Malvaviscus arboreus* var. *arboreus*) の高周波による脱水処理の SEM 写真を Fig. 7 の 51, 52 に示す。自然乾燥 (19) や臨界点乾燥 (17) に比べて、刺状の突起が小さくなり、外壁の模様なども判然としなくなっている。高周波利用は短時間で簡単な操作で処理できるが、変形や収縮が大きく利用できない。

#### 刺状の突起の特徴

アオイ科の花粉粒外部形態の最大の特徴は、全体をおおう刺状の突起である。刺状の突起は種によって形状、長さ、本数および並び方などに特徴が見られる。突起の形状を類別するとタチアオイに見られる円錐形 (12)、アメリカフヨウ (*Hibiscus oculiroseus*) に見られる棒状形 (43)、アブティロン・メガポタミクム (*Abutilon megapotamicum*) に見られる短円錐形 (39)、などに大別できる。タチアオイには、円錐形の長いもの間に、短くて小さい卵形の突起 (13, 14) が混在

Fig. 1. Prepare a specimen by carbonization method, SEM photographs.

- 1: *Hibiscus* 'Tangerine Yellow'. Expansion type,  $\times 1000$ .
- 2: *Hibiscus* 'Tangerine Yellow'. Contraction type,  $\times 750$ .
- 3: *Malvaviscus arboreus* var. *mexicanus*. Inside morphological feature of the aperture,  $\times 1500$ .
- 4: *Hibiscus* 'Tangerine Yellow'. Inside morphological feature of the aperture,  $\times 1500$ .
- 5: *Malvaviscus arboreus* var. *mexicanus*. Inside morphological feature of the aperture, arrow A shows a sexine, arrow B shows a nexine,  $\times 3500$ .
- 6: *Hibiscus* 'Tangerine Yellow'. Inside morphological feature of the aperture,  $\times 5000$ .
- 7: *Malvaviscus arboreus* var. *mexicanus*. Inside morphological feature of the aperture, arrow C shows a spines,  $\times 1500$ .
- 8: *Hibiscus* 'Tangerine Yellow'. Inside morphological feature of the aperture,  $\times 2000$ .



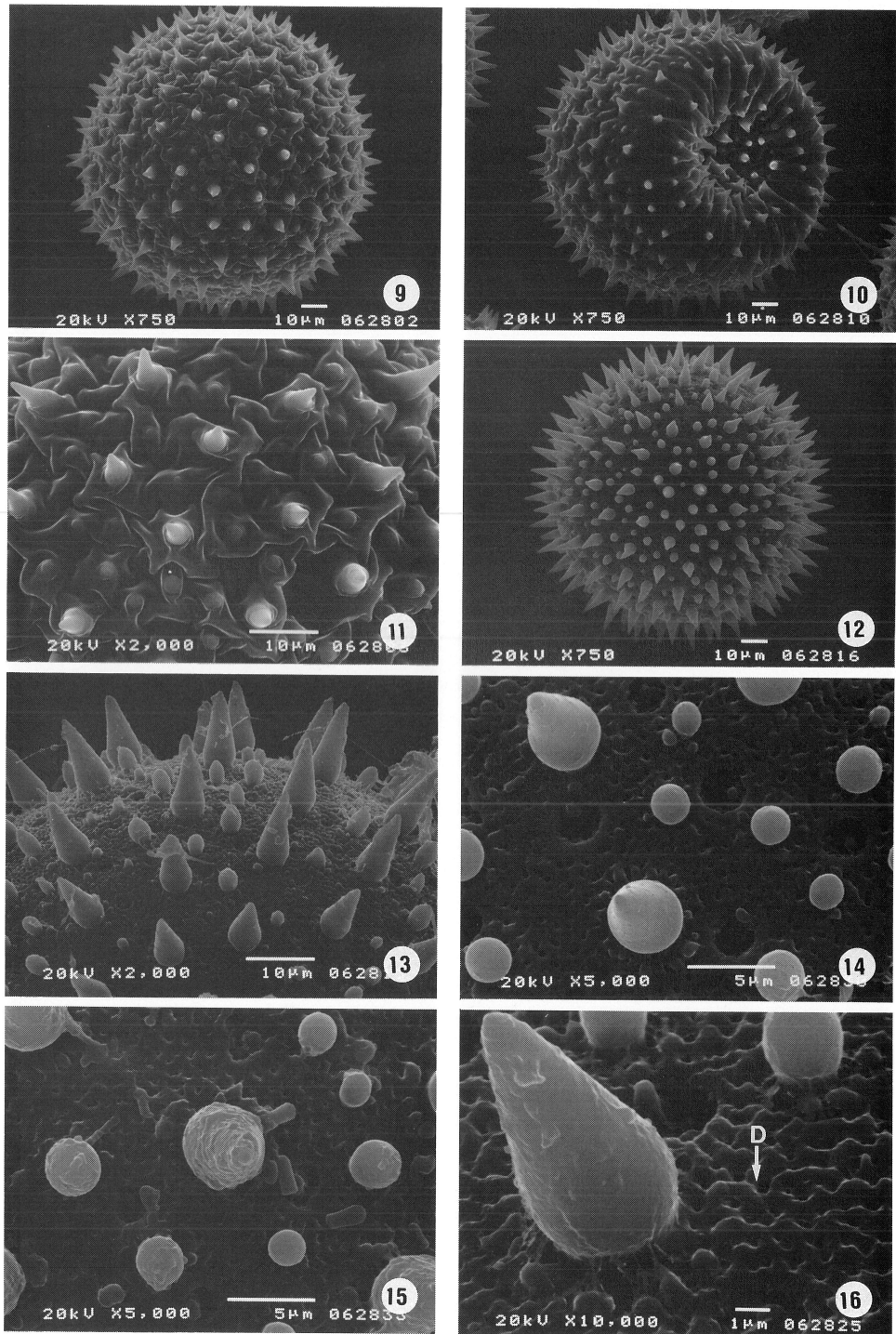


Fig. 2. *Althaea rosea*, SEM photographs.

9 and 10: *A. rosea*. Air drying,  $\times 750$ .  
 11: *A. rosea*. Air drying,  $\times 2000$ .  
 12: *A. rosea*. Critical point drying,  $\times 750$ .  
 13: *A. rosea*. Critical point drying,  $\times 2000$ .

14 and 15: *A. rosea*. Critical point drying,  $\times 5000$ .  
 16: *A. rosea*. Critical point drying, arrow D shows a reticulum patterns of a sexine,  $\times 10000$ .

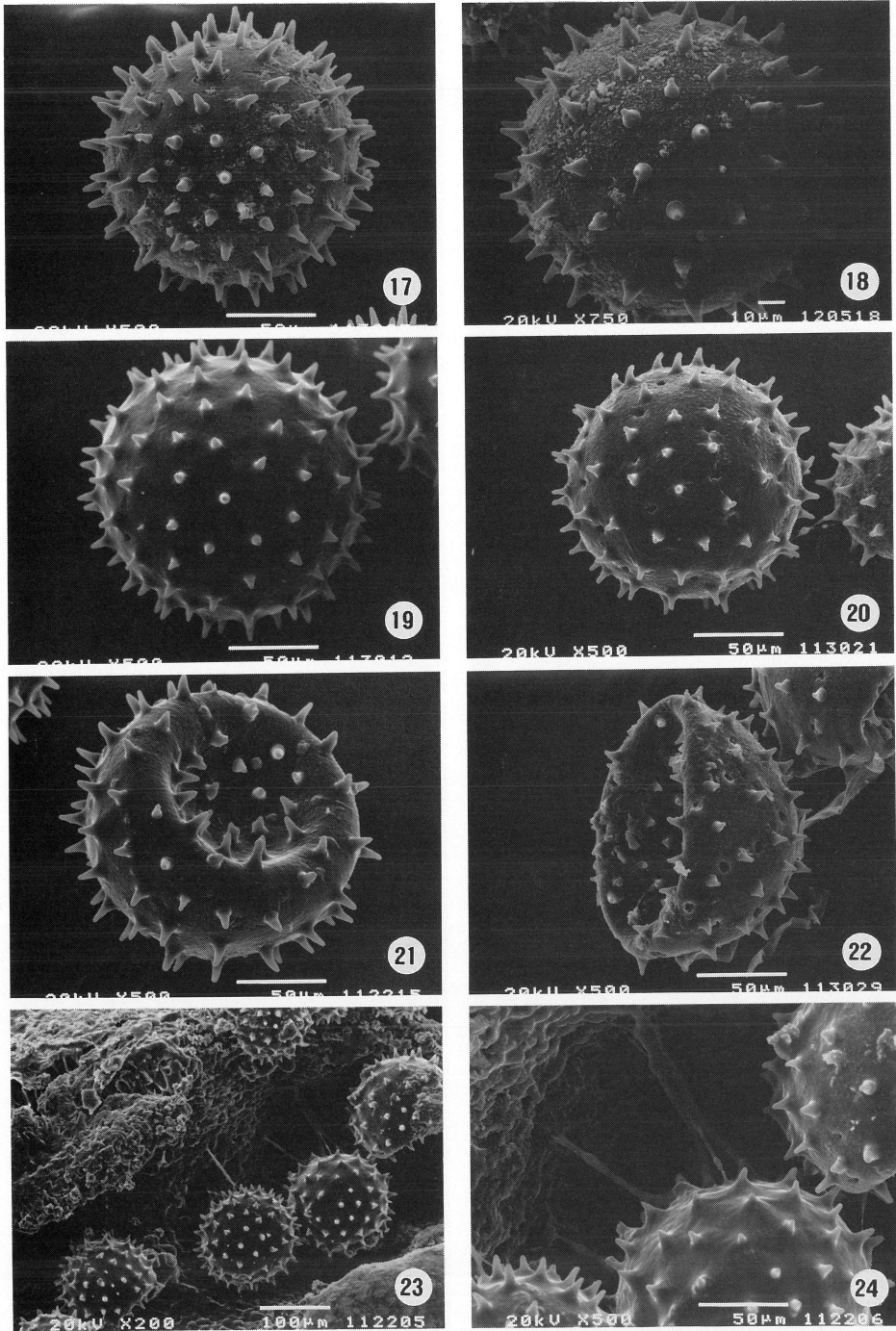


Fig. 3. *Malvaiscus arboreus* var. *arboreus* and var. *mexicanus*, SEM photographs.

- 17: *M. arboreus* var. *mexicanus*. Critical point drying,  $\times 500$ .  
 18: *M. arboreus* var. *arboreus*. Critical point drying,  $\times 750$ .  
 19: *M. arboreus* var. *mexicanus*. Air drying,  $\times 500$ .  
 20: *M. arboreus* var. *arboreus*. Air drying,  $\times 500$ .  
 21: *M. arboreus* var. *mexicanus*. Air drying,  $\times 500$ .  
 22: *M. arboreus* var. *arboreus*. Air drying,  $\times 500$ .  
 23: *M. arboreus* var. *mexicanus*. Air drying,  $\times 200$ .  
 24: *M. arboreus* var. *mexicanus*. Air drying,  $\times 500$ .

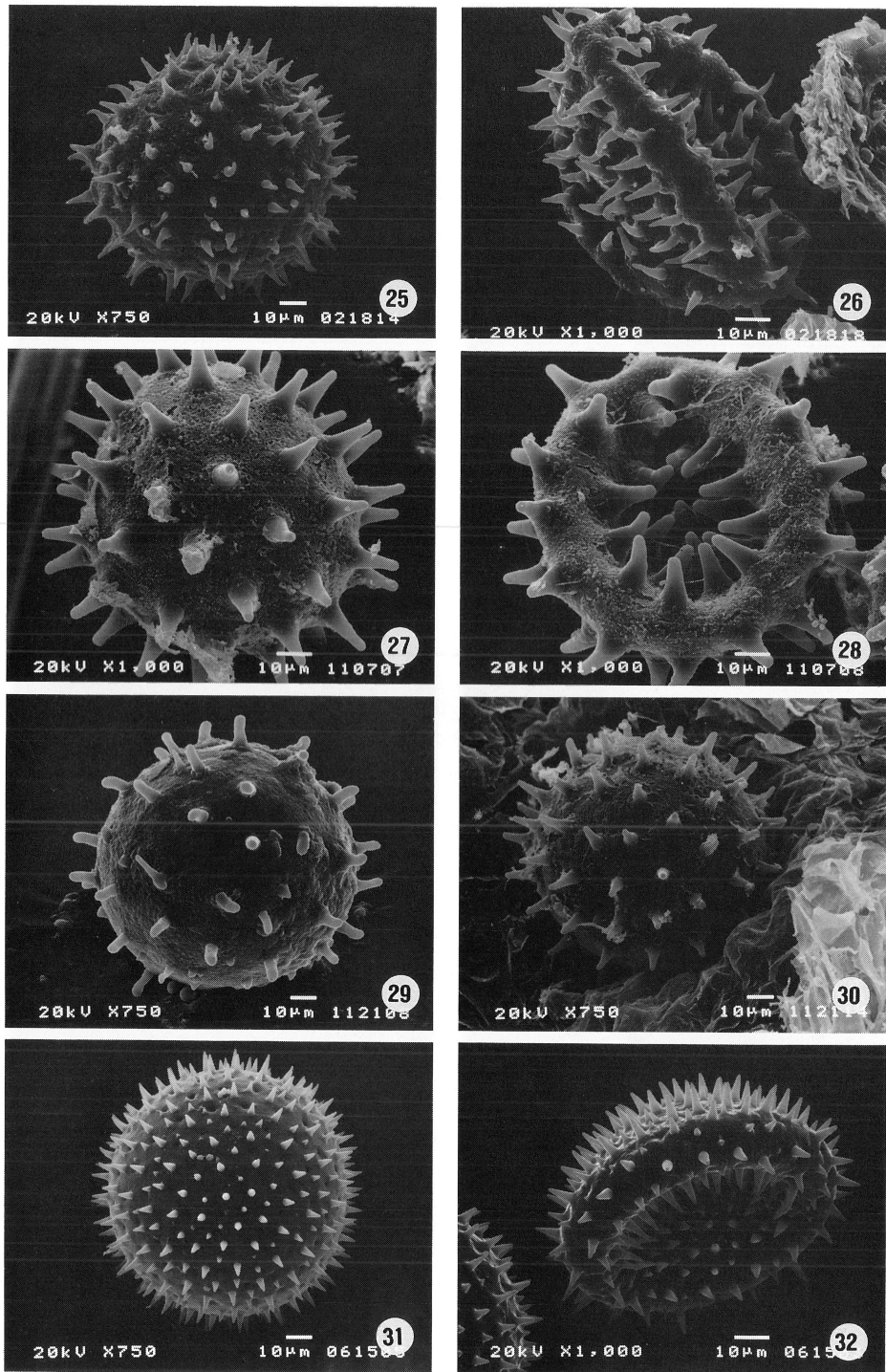


Fig. 4. SEM photographs.

- |  |   |
|--|---|
| 25: <i>Gossypium arboreum</i> . Critical point drying, $\times 750$ .      | 28: <i>H. rosa-sinensis</i> . Air drying, $\times 1000$ .               |
| 26: <i>G. arboreum</i> . Air drying, $\times 1000$ .                       | 29: <i>Hibiscus oculiroseus</i> . Critical point drying, $\times 750$ . |
| 27: <i>Hibiscus rosa-sinensis</i> . Critical point drying, $\times 1000$ . | 30: <i>Hibiscus mutabilis</i> . Critical point drying, $\times 750$ .   |
|  | 31: <i>Malva sylvestris</i> . Critical point drying, $\times 750$ .     |
|  | 32: <i>M. sylvestris</i> . Air drying, $\times 1000$ .                  |

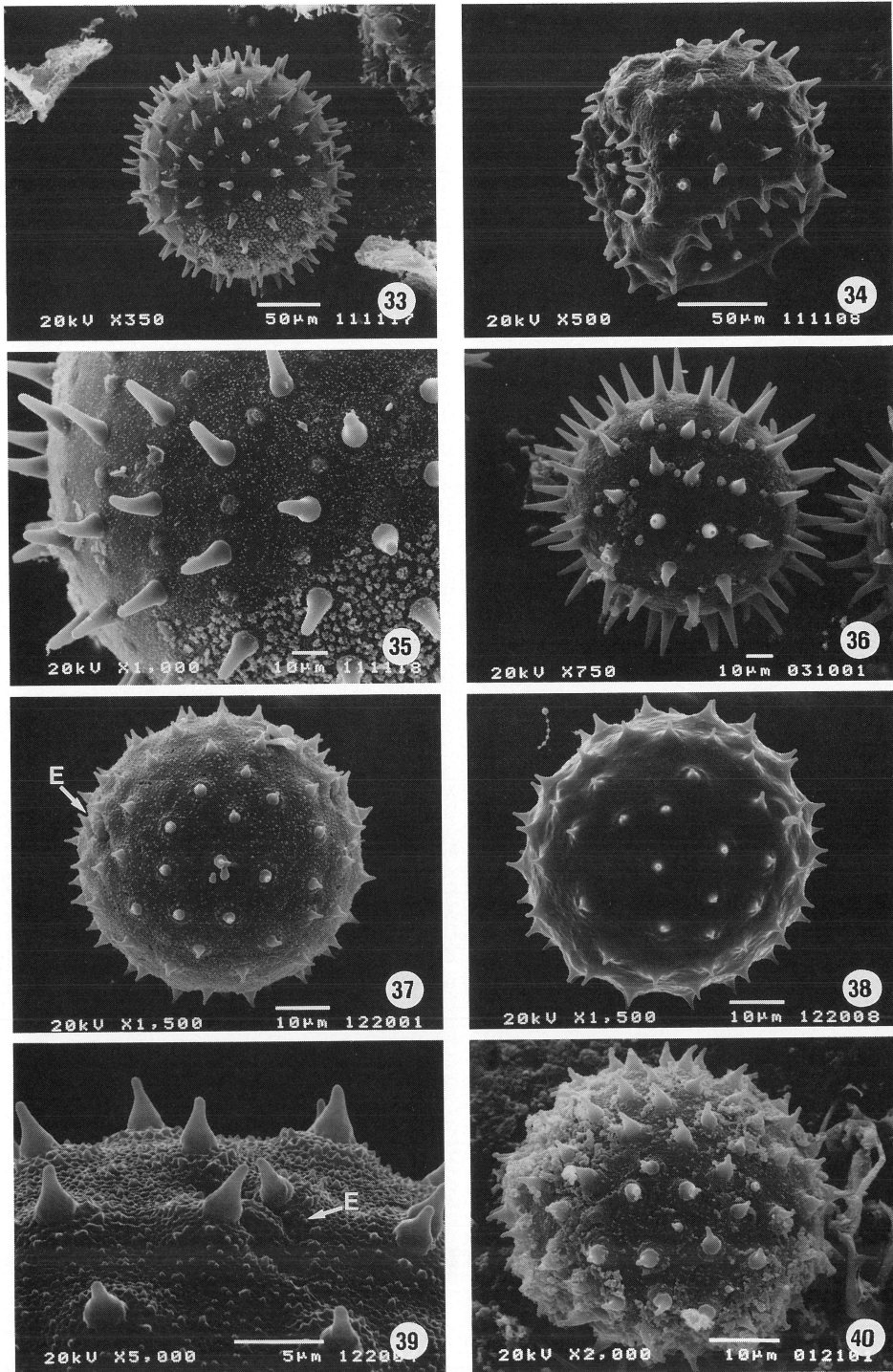


Fig. 5. SEM photographs.

- 33: *Pavonia multiflora*. Critical point drying,  $\times 350$ .  
 34: *P. multiflora*. Air drying,  $\times 500$ .  
 35: *P. multiflora*. Critical point drying,  $\times 1000$ .  
 36: *Pavonia hastata*. Critical point drying,  $\times 750$ .  
 37: *Abutilon*  $\times$  *hybridum* 'Apricot'. Critical point drying,  $\times 1500$ .  
 38: *A.  $\times$  hybridum* 'Apricot'. Air drying,  $\times 1500$ .  
 39: *A.  $\times$  hybridum* 'Apricot'. Critical point drying, arrow E shows a germination aperture,  $\times 5000$ .  
 40: *Abutilon megapotamicum*. Critical point drying,  $\times 2000$ .

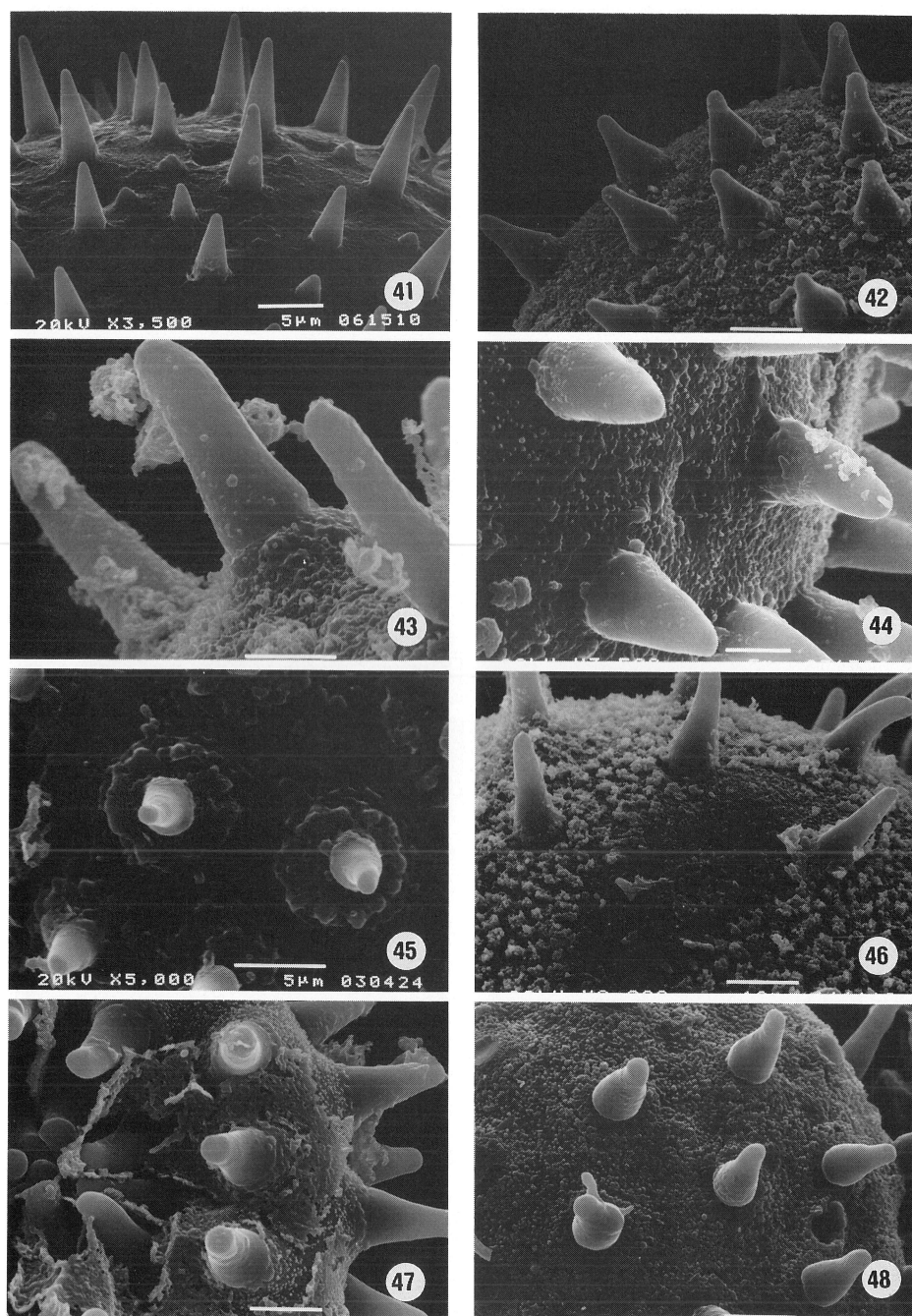


Fig. 6. Pollen grains spines, SEM photographs.

- 41: *Malva sylvestris*. Critical point drying,  $\times 3500$ .  
 42: *Malvaviscus arboreus* var. *arboreus*. Critical point drying,  $\times 2000$ .  
 43: *Hibiscus oculiroseus*. Critical point drying,  $\times 5000$ .  
 44: *Malvaviscus arboreus* var. *mexicanus*. Critical point drying,  $\times 3500$ .  
 45: *Gossypium arboeum*. Critical point drying,  $\times 5000$ .  
 46: *Pavonia multiflora*. Critical point drying,  $\times 2000$ .  
 47: *Hibiscus rosa-sinensis*. Critical point drying,  $\times 2000$ .  
 48: *Hibiscus* 'Tangerine Yellow'. Critical point drying,  $\times 2000$ .



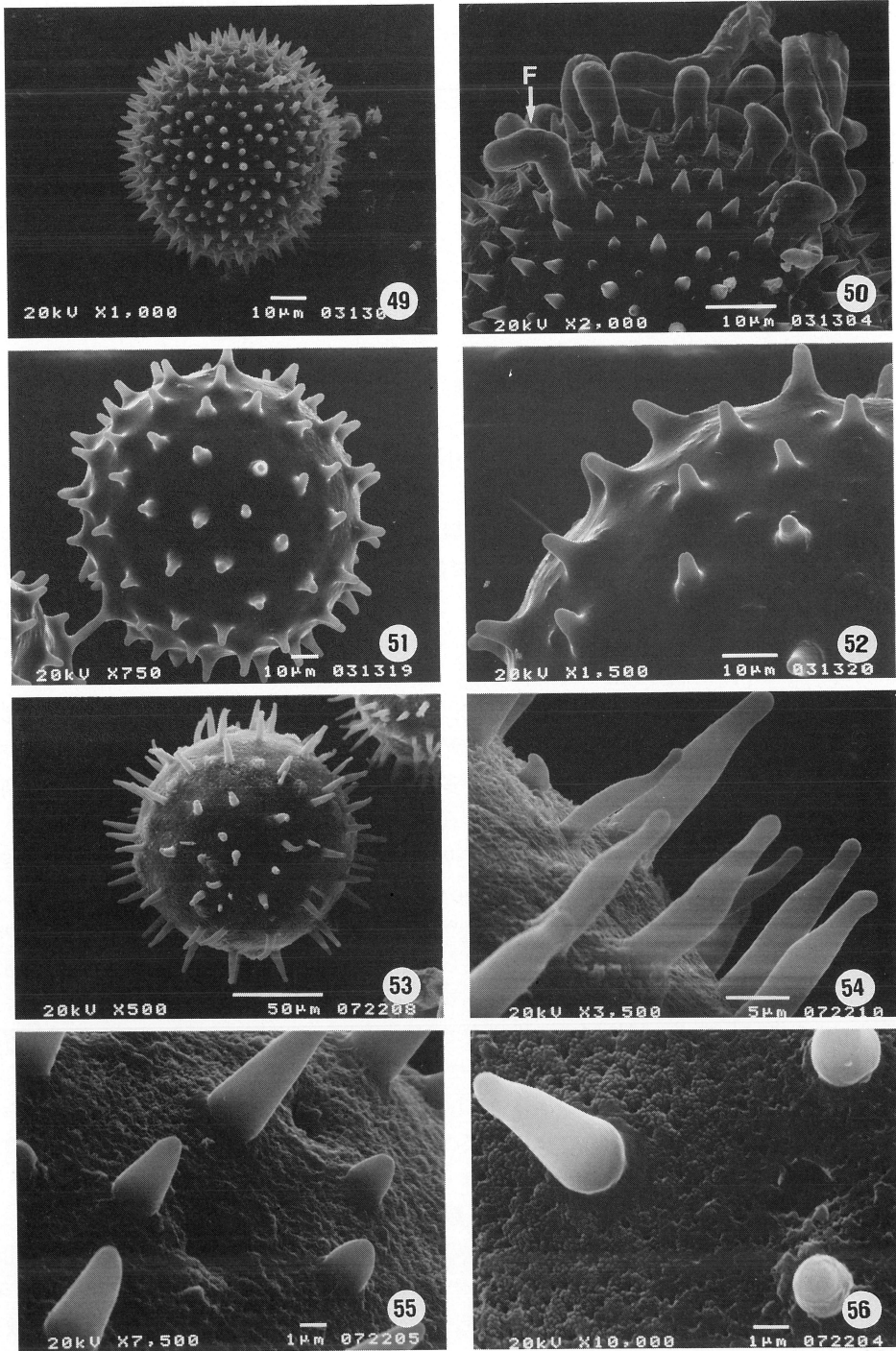


Fig. 7. SEM photographs.

- 49: *Malva verticillata*. Critical point drying,  $\times 1000$ .  
 50: *M. verticillata*. Critical point drying, arrow F shows a exudation of a pollen grain,  $\times 1000$ .  
 51: *Malvaviscus arboreus* var. *arboreus*. A microwave oven drying,  $\times 750$ .  
 52: *M. arboreus* var. *arboreus*. A microwave oven drying,  $\times 1500$ .  
 53: *Abelmoschus esculentus*. Critical point drying,  $\times 500$ .  
 54: *A. esculentus*. Critical point drying, spines,  $\times 3500$ .  
 55: *Malva sylvestris*. Critical point drying, aperture and spines,  $\times 7500$ .  
 56: *M. sylvestris*. Critical point drying, aperture and spines,  $\times 10000$ .

するのが特徴的である。この小さい突起は、ウスベニアオイ (*Althaea officinalis*) では小さい円錐形 (31) でありタチアオイとの違いが明らかである。これらの突起形状の相違は、臨界点乾燥法で処理した試料で確認できるものであり、自然乾燥では判然としない。突起の長さについても種の特徴が見られる。ヒメフヨウ (42) とタイリンヒメフヨウ (44) で突起の長さを計測した結果、前者で  $11\ \mu\text{m}$ 、後者で  $13\ \mu\text{m}$  と  $2\ \mu\text{m}$  の差があった。1 個の花粉粒をおおう刺状突起の数は、タチアオイやゼニアオイ (*Malva sylvestris* var. *muritiana*) (49) で多く、ブッソウゲ (*Hibiscus rosasinensis*) (27) で少なくまばらである。キダチワタ (*Gossypium arboreum*) やフヨウの刺状突起は、等間隔に一定線上に配列している。タチアオイの刺状突起 (15, 16) は、高倍率像においてなめらかな表面でなくて、成長した過程を想像させるような模様がついている。

#### 種による花粉粒の形態的特徴

タチアオイの乾燥形 (9, 10, 11) は、膨潤形 (12) に比べて突起が小さく長さも短くなって、乾燥による変化の様子がうかがえる。乾燥形では外壁表面の収縮によると思われるシワが見られる。突起の数も多く、配列に規則も見られず大小の突起が散在している (12)。散孔口は判然としない。

ヒメフヨウとタイリンヒメフヨウの自然乾燥法と臨界点乾燥法により処理した SEM 写真を Fig. 3. 17 ~ 24 に示す。自然乾燥法処理試料で散孔口が明瞭である。23 と 24 は開葯した葯の中に存在する花粉粒である。岩波 (1980) によると、花粉粒が葯の中で成長する期間は溶液で満たされているが完成されると葯内の溶液は見られなくなる。23 では花粉粒が葯壁に固定されている粘液状の紐があるが、溶液は見られない。

キダチワタは膨潤形 (25) と乾燥形 (26) で、著しく形状を異にしている。アオイ科の多くの種の乾燥形は 21, 22, 28, 32, 34 のように 1 個所の凹部を示すのみであるが、キダチワタは 26 のように 3 溝型の花粉粒に似た凹部を示すものが多く観察された。一方臨界点乾燥法処理試料の形態 (25) は、球形で刺状が顕著であり、溝の存在を示す形状ではない。

ヒビスクス属のブッソウゲ (27, 28) やアメリカフヨウ (29) は、突起の形状が円柱形で先端が鋭く尖らず丸味を持っているのが特徴である。

パウオニア属のパウオニア・ムルティフローラ (*Pavonia multiflora*) (33, 34, 35) とパウオニア・ハスタータ (*P. hastata*) (36) の外壁に見られる多くの孔口には、蓋が付いた状態のものがあつた。ハスタータの突起は、ムルティフローラのものより長い。

アブティロン属は、アオイ科に属する種の中でも、発芽孔が明瞭なので他の種と判別が容易にできる。発芽孔はやや楕円形をした孔口となっている (37, 39 の矢印 E)。突起の長さは短く円錐形で、規則正しく並んでいる。数は少ない方に区分される。突起の付け根部分は、外層からやや隆起して突起を囲み小突起が鎖状につらなっている。外層の拡大像から顆粒状の様子が明瞭であり、タチアオイの網目状 (16 の矢印 D) と異なっている。

外層に散在する孔口は、大きさが一定であり数も多く、アオイ科花粉粒の形態的特徴の一つである。これらの孔口がどのような役割を持つものであるかは、はっきりしない。これらの孔が花粉壁を通して内部まで通じていることは、炭素化処理の試料で確認できた。また、Fig. 7 の 50 のように花粉内容物が、多くの孔口から、あたかも花粉管のように (矢印 F) 出ているものも数多く見られた。

アオイ科の花粉粒は、球形で直径  $100 \sim 150\ \mu\text{m}$  ものが多く大形の部類に属す。外側全体が刺状の突起でおおわれており、他の種と容易に判別できる。外部形態の特徴が顕著で大形粒子のために、低倍率の観察により判別可能なことから、細部にわたる形態的特徴の報告が少なかった。今回 SEM 写真から刺状の突起の形状に注目して類別すると長円錐形、短円錐形および円柱形の

3型が認められた。突起の長さについては、オクラのように18 $\mu\text{m}$ 程度の長いものから、アブティロン・メガポタミクムの数 $\mu\text{m}$ 以下のものまで変化があり、類別の基準を求めることは困難であると思われる。刺状突起の数においてもタチアオイで多く、ブッソウゲなどは少なく類別することは難しい。幾瀬(1956)は突起の並び方を類別判定の基準にしているが、これにも変化が多く基準化するためには、まだ多くの観察事例を要すると思う。報告例の無い花粉壁の外層紋様には、高倍率像から顆粒状、小刺状および網目状などが確認できた。炭素化法による試料から、内部の形態を観察できたことにより、外部形態と同様に種による形態的特徴の存在を知ることができた。

### Summary

Scanning electron microscopic observation was made of the morphology of pollen grains of 17 species of the family Malvaceae.

The pollen grains of the family Malvaceae are globular and large-sized, and they have peculiar spinous process. According to the number, size and shape of the spines, the pollen grains are classified into three types: a type of multi-forate grain such as *Althaea rosea*, a type of multi regular-shaped grain such as *Hibiscus mutabilis*, and tricolpate grain type such as *Abutilon avicennae*. Since the process characteristic of spinous pattern have a specific shape to each type, the shape of process can be used as one of the standard items for the classification of the pollen grains. A characteristic reticular patterns were detected on the pollen surface by highly magnified photomicroscope.

In order to prepare a specimen for scanning electron microscope, a carbonization method was tried on pollen grains. Following gradual heating, carbonization was carried at approximately 650 $^{\circ}\text{C}$ . Thus, a clearer structure of the wall of pollen grain was observed by this method than the conventional section method.

Out of the pores dispersed on the surface; their contents were shooting. These pores seem to turn into germinal pores. The sizes of the spinous patterns were variable. Some of smaller patterns were found to be gradually growing and also, a growing process of the scale-like pattern can be observed.

### 引用文献

- 幾瀬マサ, 1956. 日本植物の花粉, 広川書店・東京.  
岩波洋造, 1980. 花粉学, 講談社・東京.  
田中敬一(編), 1991. 医学・生物学領域の走査電子顕微鏡技術, 講談社・東京.  
矢野義治, 1992. クレマチス属の花粉粒外部形態, 筑波実験植物園研報 11: 9-22.