

(総説)

異常花粉 — 懐古録と最新の研究成果 (I) —

藤下 典之

〒589-0022 大阪府大阪狭山市西山台 2-18-7
(2000年10月31日 受理)Abnormal Pollen
Reminiscences and the Latest Results (I)

Noriyuki FUJISHITA

2-18-7 Nishiyamadai, Osakasayama, Osaka, 589-0022 JAPAN

はじめに

戦後まもなく出版された高等植物生殖生理学(安田貞雄・1947 養賢堂)と遺伝学(田中義麿・1951 裳華房), 褐色のしみがめだってきた黄ばんだ酸性紙, 頁をめくると端々がパラパラ欠けおちる。それでいて筆者のアジトの書棚に今日も納まっている。遺伝学など1086頁もあり難解の箇所もあったが, 一応2冊読破した。それが花粉にひかれる発端となり, 生涯学習の「花粉退化の研究」と「栽培植物の系統発生的研究」へと進展した。1992年の定年後は, カリキュラムも卒論指導も学生の就職も諸々の会議からも開放され, 好きな花粉に没頭, *Camellia*のシーズンともなれば, 一日4時間近く顕微鏡をのぞきこむ昨今である。

ここでは, 異常花粉について既往の専門書や教科書からもれていた, 筆者の体験から得た方法と知見, それに20世紀最後の年に得た未発表の成果も紹介する。I(前編)では異常花粉の定義と観察方法を, II(後編)では異常花粉の出現様相, 形成機構及び活用を述べる。花粉研究の奥深さ, 面白さをくみとって頂いたり, 実験実習の手引きの一助ともなればこんな有り難いことはない。

現生花粉をのぞいていると, 一本の葯の中にも必ず異常花粉が混在し, 異常の種類や出現頻度は遺伝的背景や受けた環境ストレスの影響の跡を暗示している。野生植物の中には正常花粉率(正常花粉数/検鏡花

粉数×100%)50%以下のものが多数ある(表1)。一方最近, 市場に出まわっている, 種間雑種や培養で育成された花卉の新品種には, 正常花粉率が0%に近い, ほとんど稔性のないものがいくらかもある。葉・茎・根・花弁などの栄養器官の細胞が全数世代(2n)であるのに対し, 花粉は半数世代であり, 劣性形質もそのまま現われる。例えばイネのウルチとモチの品種間雑種(F₁)の葯の中には, ウルチに由来するデンブン花粉(優性)とモチに由来する非デンブン花粉(劣性)とが同率に混在する。また, 母本が複雑なヘテロ(雑種性)個体であっても, 葯培養で誘導育成された花粉起原の半数性植物は, 染色体を倍加すればそのままホモ個体や優用劣性形質を具備した2倍性の個体ができるのも良い例であろう。3倍性の種子なしスイカ(2n=33)にできる花粉の中で, 11と22の染色体を持つ授精機能のある花粉は, わずか1/2¹¹, 1/2048粒に過ぎず, 他の花粉は染色体数が12~21の正常な染色体のセットを持たない花粉である。また1葯中には形態的には正常な花粉であっても, 発芽テストをすると, 容易に発芽し花粉管を伸ばすもの, 内容吐出すもの, 全く発芽しないものなどが混在し, 生理的発芽能に対しても多様性がみられる。花粉は1粒ごとに違う特性・表情(情報)をもっているものという認識がこれからの記述の基本である(P1. II・2)。

表 1. 正常花粉率が 50% 以下を示した野生植物

(2000. 11. 15 現在)

草 木			木 本		
植物名	正常花粉率 %	備 考	植物名	正常花粉率 %	備 考
セイヨウタンポポ	*33.0	3 X 婦	ノウゼンカズラ	45.0	2 X
カンサイタンポポ	98.3	2 X	キョウチクトウ	13.3	
フキ	0	3 X	フジウツギ	38.7	2 X
キキョウソウ	14.5	婦	オウバイ	4.0	
アレチウリ	50.2	2 X 婦	キンモクセイ	47.6	2 X
クサギ	6.4		キンシバイ	8.9	4 X 婦
ヒルザキツキミソウ	44.7	婦	カラタチ	22.4	2 X
カツラギスミレ	0	雑種	ヒガンザクラ	11.6	2 X
イチビ	24.5	婦	ビワ	48.9	2 X
ヤブガラシ	54.1	3 X	シモツケ	3.4	2 X
トウゴマ	31.5	婦	オオヤマレンゲ	15.6	
ヘビイチゴ	0.4				
ジンジソウ	27.0		モチツツジ 10 / 14 '00	0	狂い咲き
ヤマブキソウ	37.2	2 X	フジ 4 / 29 '96	83.7	開花最盛期
シュウメイギク	1.0	婦	〃 8 / 10 '96	34.4	狂い咲き
カナムグラ	41.3			
ドクダミ	*0	2n=96	ヤブツバキ		
ヒオウギ	37.0	4 X	‘紅妙蓮寺’ 10 / 23 '97	5.6	開花初期
ヒガンバナ	38.7	3 X	〃 2 / 27 '98	97.4	開花最盛期
ホトトギス	20.3				
トキワツユクサ	30.3	2n=60 婦	‘初嵐’ 11 / 8 '99	23.0	第一香花
ジュズダマ	45.0	4 X 婦	〃 3 / 27 '00	97.5	開花終期
タガラシ	31.6	4 X			

* : apomixis 婦 : 帰化植物

開花最盛期の花を供試, 1花当たり 500 ~ 600 粒を反復観察

I. 異常花粉とは (その定義)

この総説では顕微鏡下 (*in vitro*) の形態と花粉発芽実験観察からみた異常花粉について述べ、雌蕊内 (*in vivo*) の生理的な行動については触れない。母本 (花粉採取親) 個有の花粉の特性 (形, 大きさ, 発芽口数, デンプン反応) を持ち、内容 (細胞質) がすみずみまで均一に充満しているものを正常花粉とした。 (Pl. I. 1, Pl. III. 2. 8)

1. 形態的異常花粉

(1) 空虚花粉 (Pl. I. 6, III. 3. 5. 6. 9, 図 1)

細胞質が欠如して内容が全く染まらず、薄っぺらな外壁だけに見える花粉。ほとんどの場合、光学顕微鏡では外壁の様子は観察できないが、発芽口の確認でき

るものがある。強酸性の硫酸やメタンスルホン酸に浸して一昼夜おいた程度では溶解しない。

(2) 不均質染色花粉 (Pl. I. 5)

細胞質が充実していないため、均一に染まらない。

(3) 巨大花粉と小粒花粉 (Pl. I. 3. 4)

固有花粉の粒径の 1.5 倍以上のものを巨大花粉としているが、時には 4 倍にも及ぶものもあり、粒径が 2 倍になれば顕微鏡下での大きさはほぼ 4 倍に見える。内容の充実しているものや不均質に染まるものが多い。巨大花粉は成熟分裂が正常に進まず、その中には非減数の染色体をもつものもあると考えられる。

固有花粉の粒形の変異幅より小さいものを小粒花粉としている。時には粒径が正常の 1/4 程度のものもある。巨大花粉と違って空虚のものも多く、成熟分裂時に遅滞や迷走行動をとった染色体が、異常な多分子

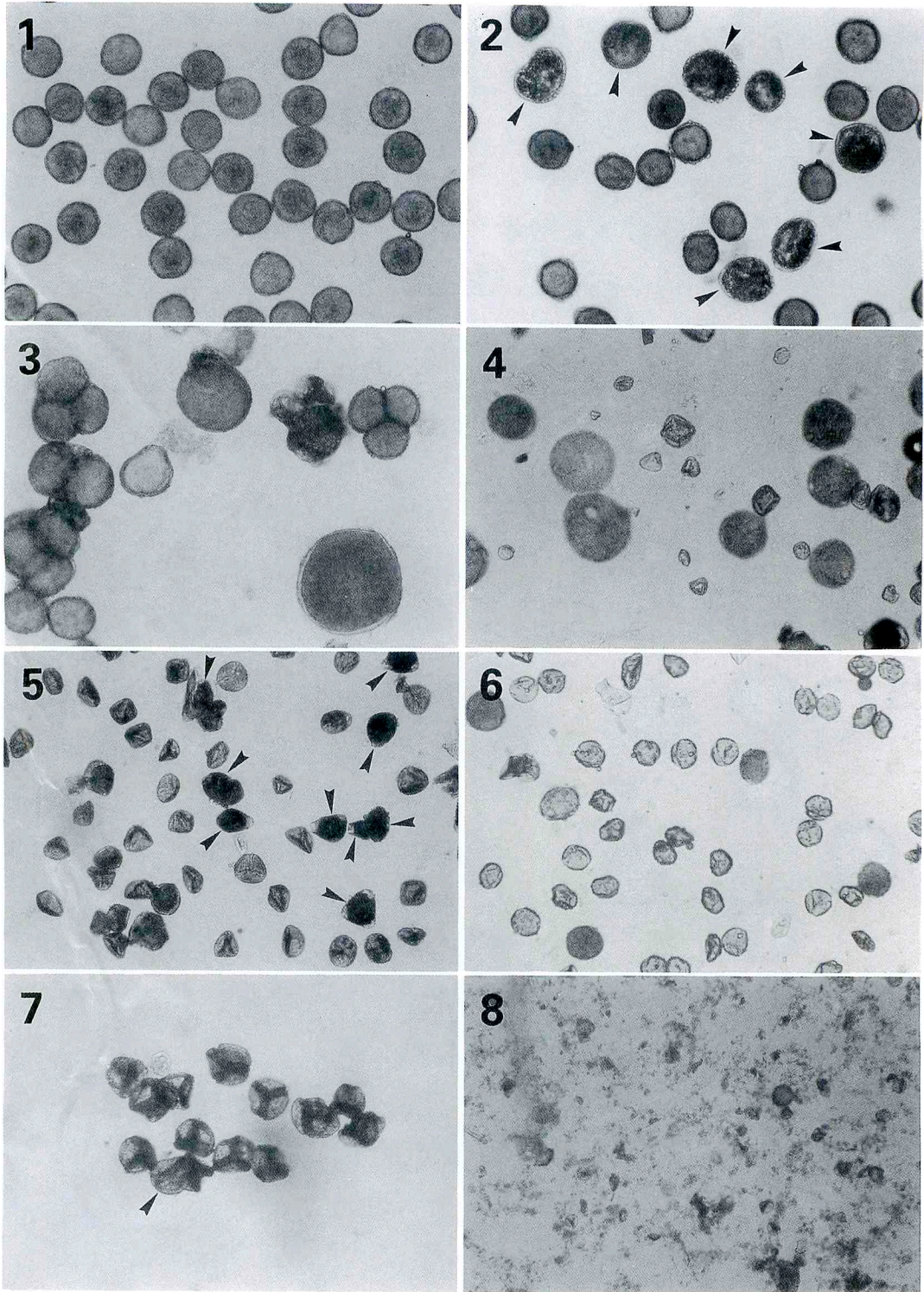


Plate I

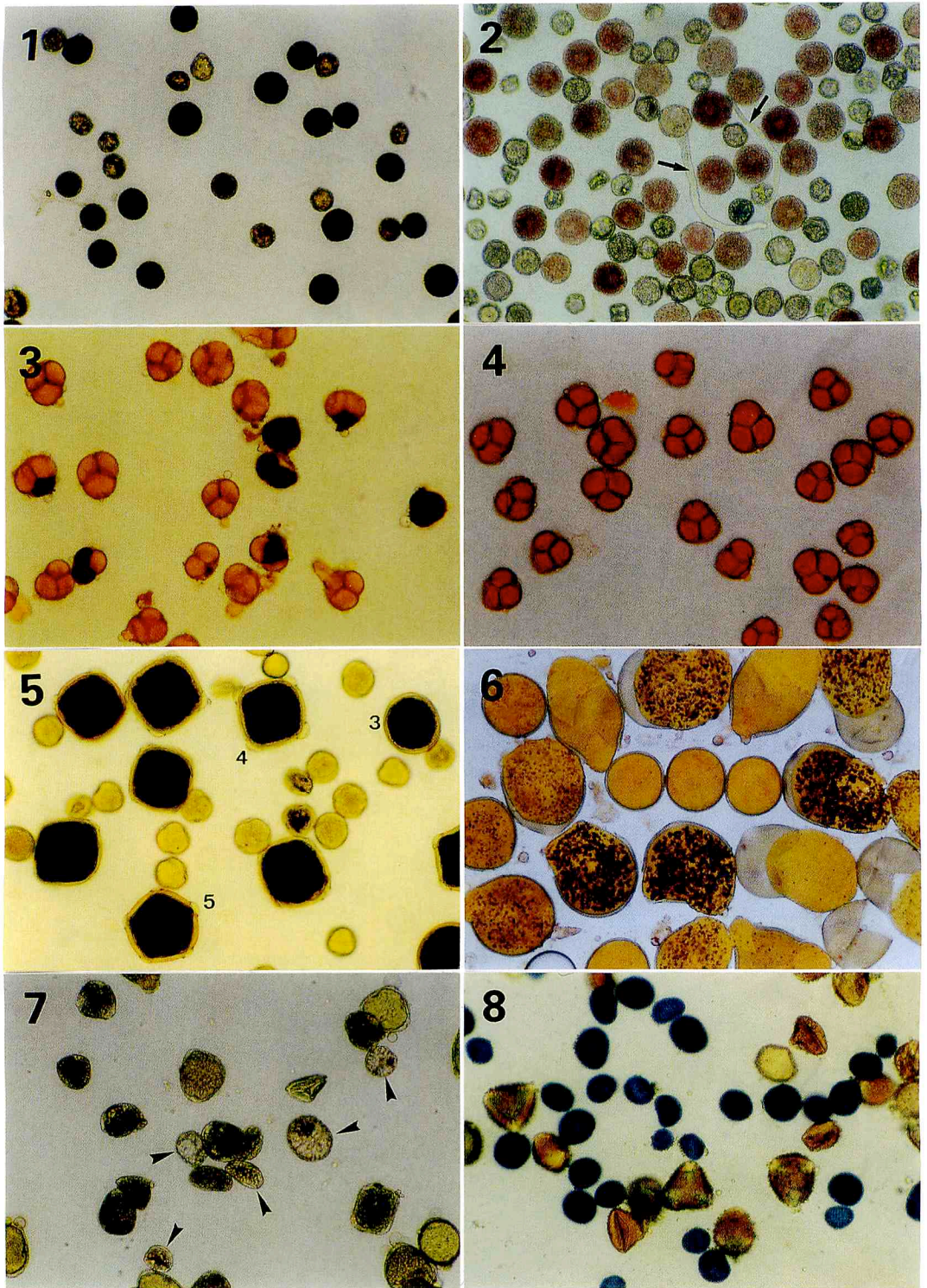


Plate II

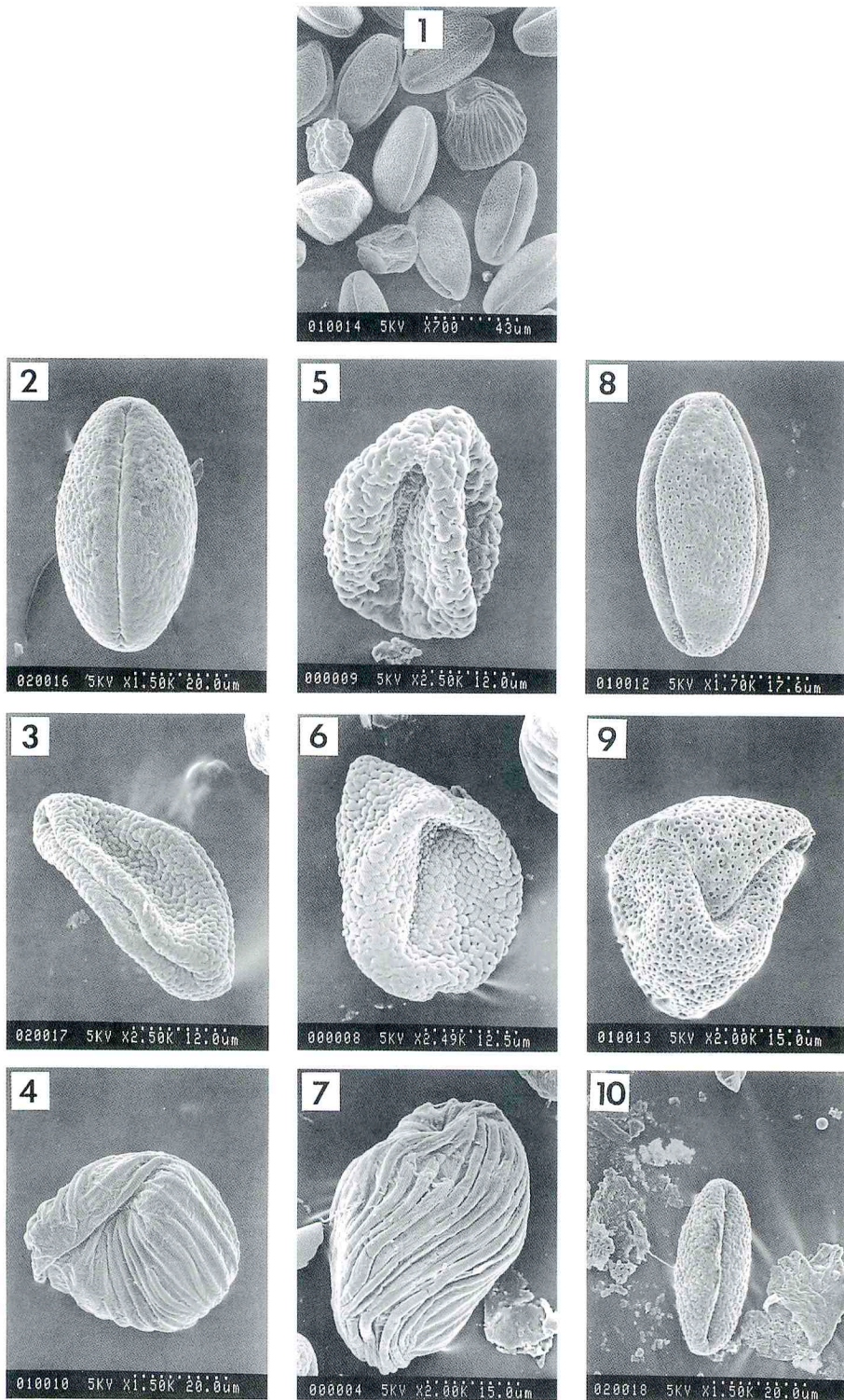


Plate III

Plate I. ツバキ *Camellia* 属の異常花粉

1. 正常花粉, ヤブツバキ '天津乙女' 98. 3. 17,
2. 正常花粉と擬似花粉粒 (矢印), 'タチカンツバキ' 98. 1. 27
3. 巨大花粉と結合の弱い4集粒花粉, ヤブツバキ '絞ろう月' 98. 12. 18.
4. 小 (微) 粒花粉 13 粒他, ヤブツバキ '窓の月' 98. 1. 26
5. デンブン花粉 (矢印・黒染) 9 粒, 不均質染色花粉 22 粒,
ヤブツバキ '黄覆輪弁天' 00. 3. 28
6. 空虚花粉多数と正常花粉 4 粒, ヤブツバキ '初嵐' 99. 11. 10
7. 4集粒花粉 13 組と不均質染色花粉 (矢印) 1 粒,
ハルサザンカ '梅の風' 3x 00. 1. 24
8. 小胞子壊死組織片と小粒花粉, ヤブツバキ '弁天椿' 斑入り葉. 99. 3. 08

ヤブツバキ *C. japonica*, カンツバキ *C. × hiemalis*, ハルサザンカ *C. × vernalis*

Plate II. 染色 (滴下) 液と花粉の色調

Ⓢ: 水道水, ㊟: ヨード・ヨード加里, ㊦: アセト・カーミン

1. ラナンキュラス㊟
2. ラナンキュラスⓈ, 大きさ, 色調, 発芽力に個性が出る, 1, 2とも 00. 5. 07
3. クチナシ㊟, 4集粒中のデンブンの糖化異常花粉が明確になる.
4. クチナシ㊦, デンブンの異常消長不明, 3. 4とも 96. 7. 06
5. スミレ属㊟, 大粒黒色はパンジー 'Baby yellow', 小粒黄色はニオイスマレ, 両種
の花粉を混合して撮影 98. 2. 10
6. エンジュ㊟, 同一花内の花粉によるデンブン (粒) 含有程度の差 97. 5. 18
7. トウツバキ '酔嬌紅' ㊟花粉と識別困難な擬似花粉粒 (矢印)
8. トウツバキ '酔嬌紅' ㊟の直後, メタンスルホン酸滴下で濃青色に急変した擬似花
粉粒, このあと溶解消失する, 7. 8とも 00. 4. 23

Plate III. 走査型電子顕微鏡でみたツバキ *Camellia* 属の花粉と擬似花粉粒

1. サザンカ *C. sasanqua* 6x '千代鶴'
 - 2~4. '千代鶴' 上から正常, 空虚, 擬似 97. 11. 02
 - 5~7. ユチャ *C. oleifera* 6x, 野生, 上から空虚, 空虚, 擬似 97. 11. 02
 - 8~10. ヤブツバキ *C. japonica*, 擬似花粉粒非形成種, 2x '絞初嵐' 上から正常, 空
虚, 小粒 97. 11. 15
- 撮影: 望岡亮介 (香川大)

期を経て個々に小型の小胞子へと進み, 開花期に至ったものであろう。(後編)

(4) デンブン反応 (消長) 異常花粉 (Pl. I. 5, II. 3, 図9)

既往の専門書では開花時の成熟花粉のデンブン反応から, デンブン花粉と非デンブン花粉に類別して記述している例が多い。しかし, 自然状態にある多くの植物の新鮮 (存命中) 花粉を観察すると, 一本の葯の中で両者が混在し, 其の割合も様々なことが多く, また

花粉ごとのデンブン含有量にも差がある。これは本来遺伝的にデンブンまたは非デンブン花粉になるはずのものが, 花粉形成期の不適当な条件によってデンブンが完全に糖化できなかったり, その反対の生理現象によるものと思われる。また, デンブン花粉植物と非デンブン花粉植物の間 (多くは同一種内) にできた雑種性に由来する分離の場合もあろう。1粒ごとに花粉内のデンブン含有量の多少を, I ~ IVの段階に分けて記録表示するとともに, 検鏡花粉数に対するデンブン

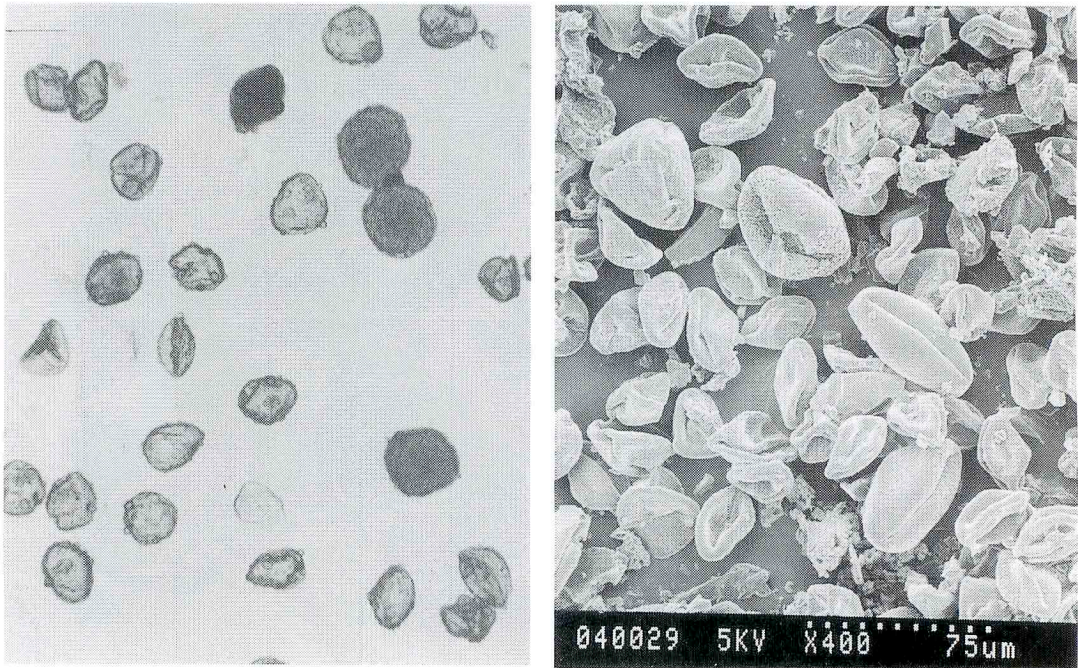


図1. 早咲きヤブツバキ '初日' の開花シーズン初期にみられる空虚花粉

左: 光顕, 右: SEM 正常花粉は各2, 3粒 97. 10. 23

含有花粉率を求めて併記するとよい。本来、非デンプン花粉になる植物では、開花時にデンプンを含有している花粉が異常花粉となる。

(5) 4集粒花粉 (Pl. I. 7)

ほとんどの植物の花粉は単粒であるが、ツツジ科の多くの植物やガマ、クチナシは4粒の花粉が結合した4集粒で、マメ科ではネムノキのような12集粒もある。しかし、環境条件が不適當な場合(ツバキの高温、ナスの低温)や雑種あるいは染色体倍加植物では、4分子が分離できないまま4集粒花粉を形成することがしばしばある。

(6) 発芽口数の異常花粉 (Pl. II. 5)

花粉分析の際、発芽口数は同定上重要な特性である。しかし、同一種内というより同一葯内でも口数にばらつきのあることが多い。生育や栽培環境によっても増減するが、倍数性が高くなる(自然界でもかなり頻繁にある)と口数の増加する(形も大きさも変わる)傾向が強い。ウリ科では2倍体はほとんど3口であるが、3・4倍体になると4発芽口花粉が急増する(粒径も大きくなる)ので、低倍率の顕微鏡で花粉をみただけで染色体の倍加が推定でき、育種家仲間では活用されている(後編)。スマレ属では、日本の野生スマレは

ほとんどが3発芽口であるが、園芸用のパンジー、ヴィオラやヨーロッパ産の野生スマレのそれは4・5発芽口の花粉が高い率で混在し、種分化の一面が伺える。

(7) 小孢子壊死 (Pl. I. 8, 図2)

極度に強い環境ストレスを受けた花や、雄性不稔個体の花、強いウィルス罹病植物の花では、葯内に花粉も小孢子も存在せず、小孢子的壊死様組織しか認められない場合がある。この壊死様組織には消化・吸収されなかったタペト細胞も含まれていると考えられる。切片標本を作って観察するのが一番よいが、スライドグラス上で葯を強く押しつぶしてもみられる。

(8) 擬似花粉粒 (pseudopollen grain 略号PPG)

(Pl. I. 2, II. 7. 8, III. 1. 4. 7, 図6, 15)

筆者が1997年、タチカンツバキ *Camellia × hiemalis* でみつけたもので、ツバキ科植物の花粉とは形態があまりにも違っていたことから、最初は他の植物の花粉の混入を疑った。しかし、コンタミを絶無にしても常に存在し、外壁模様(構造)が二枚貝の貝ガラの條肋に似ていたことから、貝ガラ型花粉として1997年当学会で発表した。その後、SEM観察や *Camellia* 属の46種にわたる調査から、花粉に似て非なるものとして擬似花粉粒と命名した(1998)。

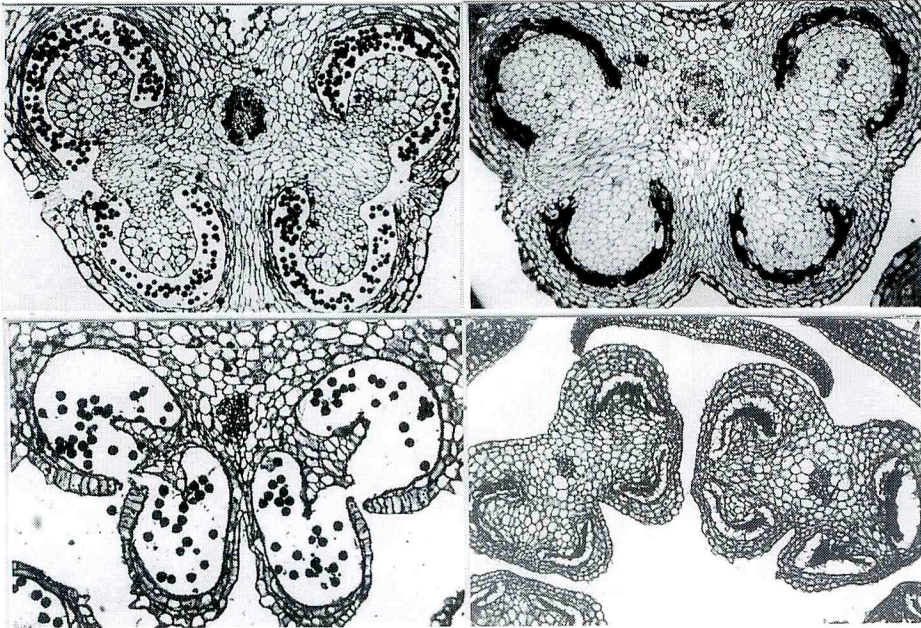


図2. 葯胞内での小孢子壊死

上段：低温処理，ナス，63.1.15

下段：暗黒処理，トマト 65.6.05

それが *Camellia* 属の系統発生的研究の分野で大きな鍵を握る事実をつきとめ、筆者の目下の最重要研究課題となっている。基本的に重要な形成機構やその役割はまだ明らかではないが、現在までの知見は：発芽口は見あたらぬ、細胞質や核様の内容物(図15)がある、花粉より比重が重い(図7)、多種類の酸と有機溶媒のうち硫酸とメタンスルホン酸には数秒から数分内で溶解する、ヨード・ヨード加里染色の後にメタンスルホン酸を添加すると、鮮やかに青変(Pl. II, 8)しながら溶解する、1年以上保蔵した葯からも確認できる、4分子期以降の発育段階の葯内で認められる…などである。目下は、4分子期以降の小孢子・花粉形成期の段階で、何らかの原因により花粉壁形成(スポロポレニン形成)が妨げられたまま、開花を迎えたものと推定している。‘擬似異常花粉粒’というべきかもしれない。葯内に正常花粉を1粒も含まず、100%擬似花粉粒というような品種までトウツバキ *C. reticulata* (図15)やハルサザンカ *C. × vernalis* でみつけたが、いままで誰も気付いていなかったのが筆者にとっては不思議でならない。このような品種でも弱いながらも開蒴し、肉眼では擬似花粉粒と花粉とが区別できなかったからであろう。他の多種多様な植

物について見なおしてみるのはどうであろうか。

2. 生理的異常花粉

顕微鏡下の花粉発芽テストで、花粉管が粒径(長径)の2倍以上に達し、花粉管内で原形質流動のみられる花粉を生理的異常花粉とみる。in vitro (生体外)のテストで発芽できなかった花粉の中には、in vivo (雌蕊内)とは違う培地その他の条件が当の花粉にとって不適切であったためのものが多い。植物ごとの発芽テスト用の最適培地を求める予備実験にしても、固形培地か液体か、寒かジェルンガムかまたはたまたゼラチンか(試薬特級より精製不十分な一級の方が良いこともある)。ショ糖かブドウ糖か果糖か、その濃度はpHは…。それぞれの最適培地材料や濃度の総組合せが決して最適になるとは限らないから皮肉である。花粉の採取前後や置床までの間の温度や湿度条件など考えると頭がおかしくなる。このようなことから形態的正常花粉 = 生理的正常花粉 = 受精能保有花粉とはならないのである。いずれにせよ発芽テストでは前後の条件も含めて、方法を明細・確実に記述しておくことが後継者のために肝要である。

筆者は花粉の発芽培地に水道水をそのまま使う研究に夢中であるが、生理面で面白い事実が見つかった。

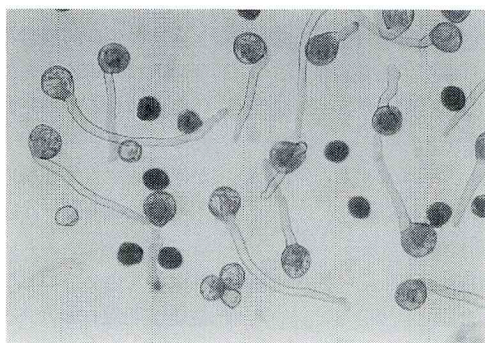


図3. 水道水培養（発芽試験）による花粉の大きさ・色調の変化と発芽
培養7時間。ヤマトウツバキ、透明に近い5粒は擬似花粉粒 00. 4. 19

水培地では黄色をおびた大きめの花粉と褐色をおびた小さめの花粉に分かれ、前者の方がよりよく発芽する傾向（図3）が、ツバキや他の植物で認められたことである。水培地（培養）法は花粉一粒ごとの生理的特性の違いを垣間見せてくれそうである。

II. 異常花粉の観察（識別）方法

1. 形態観察

（1）目的外的花粉の混入阻止

観察目的以外の花粉の混入はあってはならない。観察や交配に多数の材料（種類・花）を扱う時、個々の花や穂への袋かけは、時間がかかり不完全なこともあるので、開花1・2日前の蕾、蕾のついた枝・ツル・穂を採取して室内に持ち込む。それを薄手の封筒やシャーレに入れたり、水にさし、自然開花を待って供試する。開花と開花が同調するもの、開花しないで開綻状のもの、花弁を閉じたままの植物がある。イネ科やヤツリグサ科や花器の小さい植物では、植物体から花や穂を切り取ってしまうと開花しないことが多い。このような植物では、生えている状態で硫酸紙の袋をかけ開花を待つ。

（2）供試花粉の条件設定

花粉に対する温度、湿度、光、CO₂などの影響などをみる必要のない時は、なるべく開花時期の自然に近い条件下におく。花粉の発芽寿命の長短や開花時間の早晚に差があるので、できるだけ開花直後の花粉供試と決めておく。特に発芽能力が数時間～1日で失われるイネ科やウリ科ではそれを厳守する。貯蔵花粉を供試する時は、花粉の採取日、貯蔵条件を記述する。

（3）顕微鏡の倍率

異常花粉の種類や出現（形成）の多少を調べるには、光顕では接眼レンズは×10、対物レンズは×4～40で充分仕事になる。勿論、成熟分裂像や染色体をみるためには総合倍率1000倍以上が必要である。何を観察したいのか、何を観察すればよいのか、必ず低倍率から始めることが必須である。始めから高倍率で見ると大切なものを見落とししたり、かえって能率を悪くする。発芽口の数・位置、原形質流動、デンプン粒の大きさや形も400～600倍で間に合う。高い倍率になるほど焦点深度は浅くなる。

（4）染色

花粉をおいたスライドガラス上に染色液を1～2滴おとすが、染色液が少ないと花粉の周囲に気泡がつき易いし、検鏡に時間をかけていると、カバーガラスとスライドとの境目からみるみる内に空気が入り込む。一方、多すぎるとカバーガラスを静かにかけても、その外側に花粉がはみ出したり、花粉が平面に広がらず、レンズの下の花粉全体にピントが合わなくなる（図7）。大きさの違う花粉が混ざっている時もピントが合わせにくいので、焦点を変えて撮影し、後で組写真にする。

生きている花粉を観察する場合、染色液には核・細胞質ともよく染まるアセトカーミン液が万能であるが、酢酸臭が強く鼻カゼ気味の時は厄介である。ヨード・ヨード加里液はデンプンを黒染するので、異常花粉をカーミンより詳しく類別できる（Pl. II. 3. 6）。最初に観察した時と時間をおいた後とで、同じ花粉かと疑ってしまうほど細胞質の染まり加減や形が変わっている（萎縮）ことがある。ヨードの場合、長時間おくとデンプン反応は退色してしまう。以上のようなこと

から、生きている花粉の観察はなるべく手っ取り早くする。染色液滴下後、急速に細胞質の萎縮、吐出、脱皮、instant pollen tube 形成などを起こす花粉では、滴下直後から数分おきに、少なくとも1時間くらいの間、観察や撮影を続けないと実像がつかめない。時間をかけて観察したい時には、融点の低いパラフィンとバルサムを予め溶かして混ぜておいたもので封入し、冷蔵庫へ入れておくと2～3日間は観察できる。染色も含む検鏡前の処理方法で花粉の特性は大きく変わることを忘れてはならない (Pl. II. 1. 2, 3, 4,

6, 図4)。

先述の生理的異常花粉の末尾に紹介した、筆者が昨今愛用している水処理は、安価で簡単で応用分野も広いと思われるので紹介する。花粉の水道水培養から得たヒントをいかしたものである。染色液で花粉の外壁が濃染しすぎ、花粉内容の細胞質、外壁の模様や色が不鮮明になることが多いが、それが水処理で解消できる。たとえばキンポウゲ科のラナンキュラスの花粉は、外壁が着色しているのに、一葯内での花粉の個々の色調差が明確にわかる (Pl. II. 2)。予期しなかった

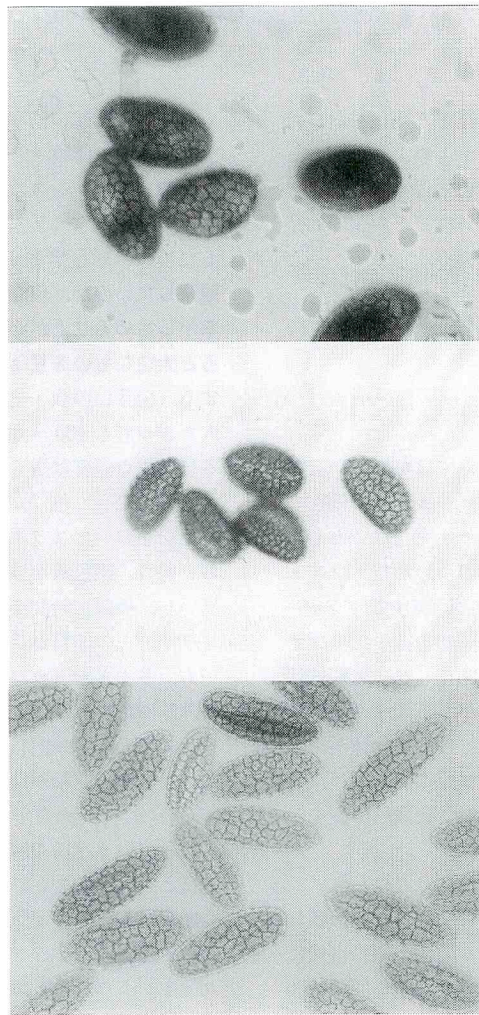


図4. スライドガラスへの滴下液に対する花粉の反応

上から水道水、濃硫酸、キシレン、同倍率で撮影 水道水では花粉から鮮黄色の油滴(?)が溶出、栽培ユリ‘カサブランカ’ 00. 7. 19

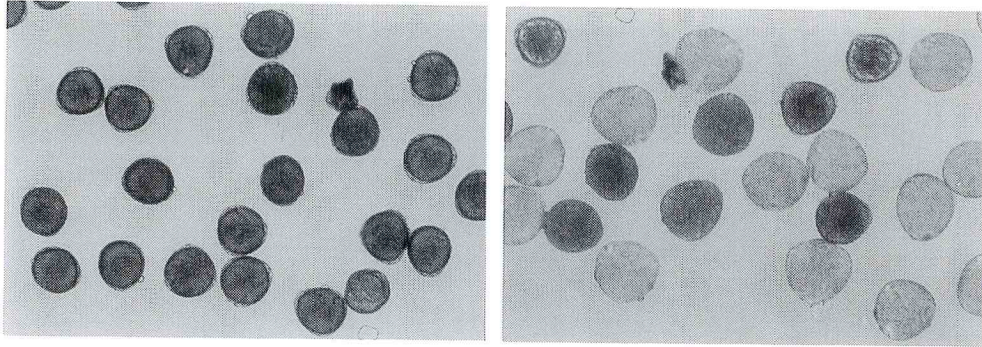


図5. 滴下（染色）液による花粉の大きさと色調の変化

開花後14日間室内保蔵した花粉，左：ヨード・ヨード加里液，右：水道水，吸水による膨大粒ごとの色調変化，ヤブツバキ‘初嵐’00.4.10

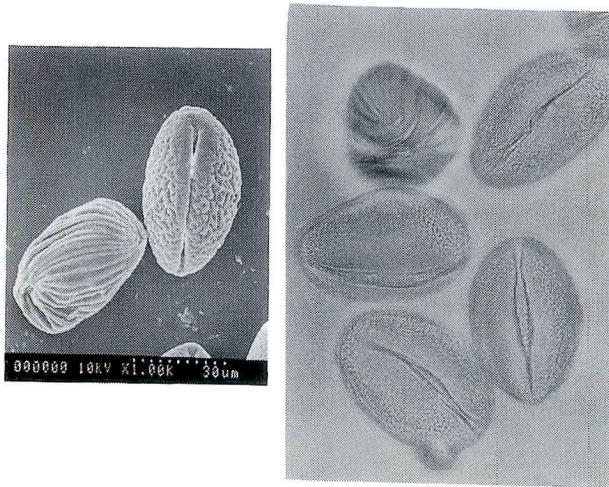


図6. SEM像に似たベンジン（第一石油類）滴下花粉

ユチヤ *Camellia oleifera*, 擬似花粉粒各1

ことではあるが，水処理で大部分の植物の新鮮花粉は淡黄色を示すが，保蔵期間が長くなるほどそれが淡黒褐色に変わっていき（図5），それと連動するように花粉の発芽率や花粉管伸長の程度が悪くなっていく事実が明らかになった．花粉粒内の糖質の変化を伺わせるが，花粉の生理・機能の異常の指標に活用できそうである．

第1石油類のベンジンやキシレン，トルエンをスライドガラス上の花粉に滴下すると，乾燥状態の花粉が観察できる．SEMに比べると焦点深度は浅いが，それに近い像が見られる（図6）．引火性があることと急速に蒸発するのが難点ではあるがためしてみる価値

がある．

（5）擬似花粉粒（PPG）の観察

Camellia 属内の種によって大きさ（20～70 μ ）に差はあるが，花粉と同じ光顕の倍率（100～600倍）で観察できる．ヨード・ヨード加里染色では直後はPPGの表面が濃く染まって見分け易く，漸次うすくなって内容がはっきりみえてくるので適している．アセトカーミンは表面や内容の透明化が進むので見落とすことがある．何度か紹介した水道水添加は，表面，内容ともよく見え観察に都合が良い（図15）．PPGが小さいため識別に困るような時は，ヨード・ヨード加里染色に続いてメタンスルホン酸を添加すると，す

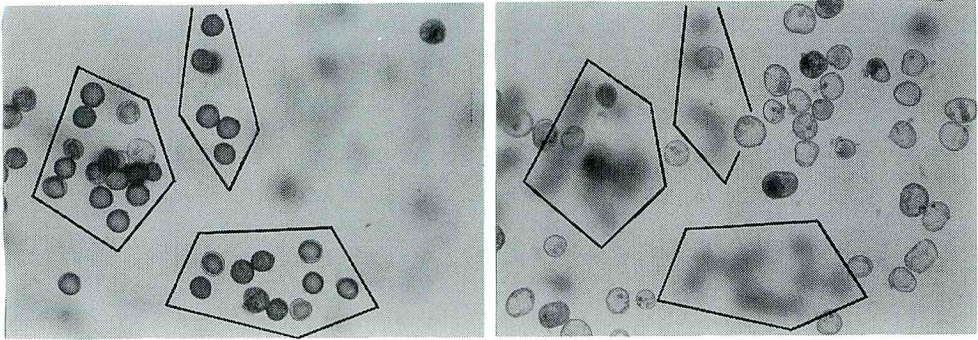


図7. 水道水培地の同一視野内での表層と底層の花粉
左：表層，擬似花粉粒1，以外は正常花粉，右：底層，すべて擬似花粉粒

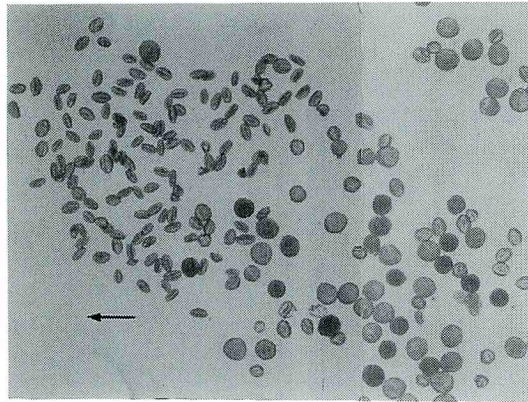


図8. 同一視野内での空虚花粉の偏在（水道水培地での周縁部）
シャクヤク，矢印が周縁側 00.5.27

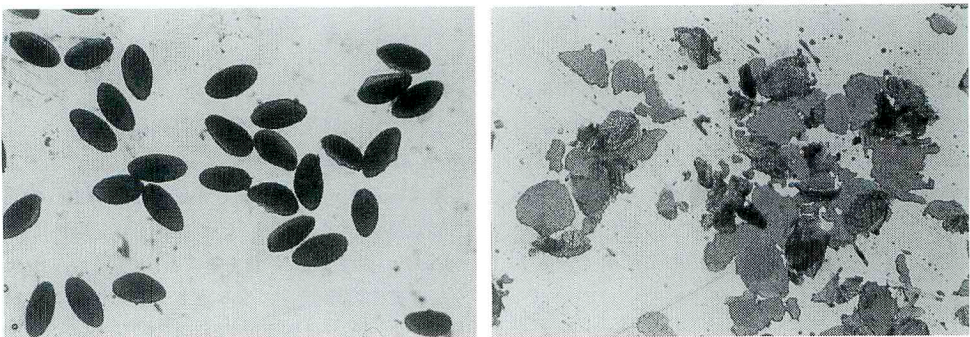


図9. 外壁が農染した花粉のデンプン確認
左：ヨード・ヨード加里染色，右：カバーガラス上から指圧して内容を押しひろげる
ユウスゲの非デンプン花粉 00.7.15

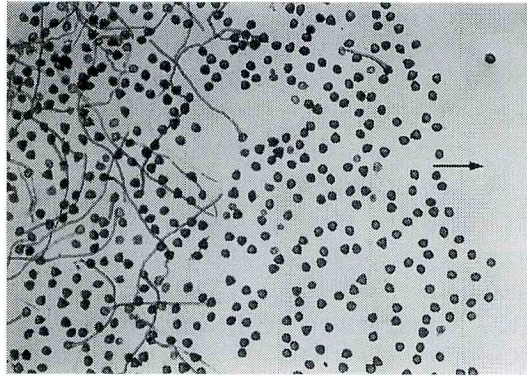


図 13. 同一視野内での発芽・不発芽花粉の偏在
 水道水培地の中央部は発芽良好, 周縁部は発芽不能 (反対傾向を示す植物の方が多い)
 矢印側が周縁部 ヤブツバキ ‘初嵐’ 00. 4. 07

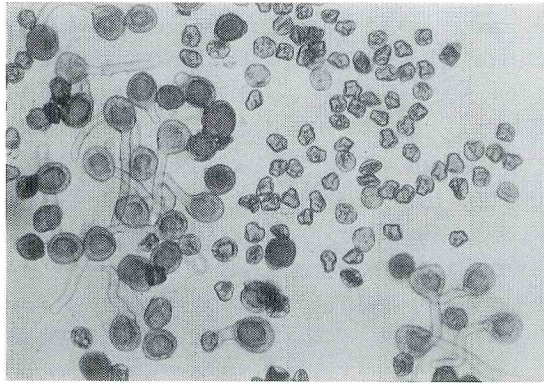


図 14. 花粉発芽率の求め方? 発芽花粉数 15 粒
 $15 / ?$ 分母は正常花粉数, 正常花粉数 + 空虚花粉数, 検鏡総花粉数…

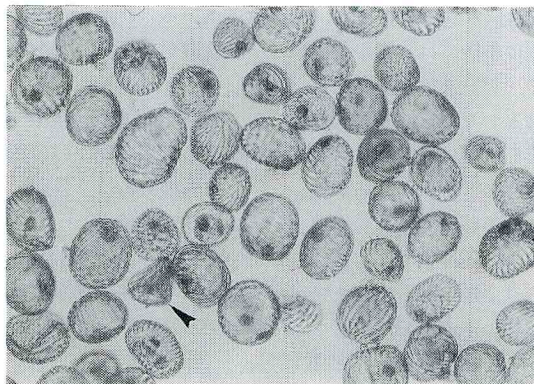


図 15. 空虚花粉 1 粒 (矢印) 以外はすべて擬似花粉粒
 正常 0, 不均質染色 4, 空虚花粉 49 粒と擬似花粉粒 726 の花の一部分
 トウツバキ *C. reticulata* Dr. Brian Doak' 00. 5. 02

ら軽くおさえて花粉内容を押し出し、デンプンの有無を確認する(図9)。こうすることでデンプン粒の大きさ、形の差もわかる(図10, Pl. II. 6)。

(8) 花粉の粒径測定

現生花粉では遺伝的要因や環境的要因によって、同一葯内の花粉でありながら、同一種とは思えないほど粒径が多様を示すことがしばしばある(図11)。忘れてならないのは雌雄異株植物では性によって、異型花柱花では花柱の長短によって、花粉の大きさ、形態、色調に差が出ることである(後編)。その他、検鏡前の処理(固定、貯蔵、染色、封入)の影響も強く受ける(図4, 5)。以上の事を念頭において計測するが、球形花粉では直径を、細長い花粉では長径と短径を計測し、時間と手間のかかる仕事ではあるが、最低50粒、大小差の大きい材料では100~200粒以上を調べたい。

(9) 発芽口数の調査

複数の発芽口は一平面に並ばないので焦点を上下して確認する必要がある。最低50粒、できるのなら100粒をみたいが、眼には負担が大きい。筆者は、カバーガラスの上から軽くおさえて、発芽口から花粉内容を押し出して確認している(図12)。ただし、花粉(植物)によって指圧によるつぶれ具合が違うので、それぞれについて手加減を体得する。なお、一般に発芽口数が個々の植物本来のものより増減した花粉は正常に発芽しないことが多い。

2. 生理実験

花粉の発芽試験

能力検定であるから活力旺盛な開葯直後の新鮮な花粉を供試するのが基本である。極く短命なイネ科植物(イネ、オオムギ、トウモロコシ)は勿論であるが、一日花の植物にはウリ科のように午後には能力が急下降するものが多いから注意する。データの再現性を求めるためには、教科書や専門書どおり、水、寒天、糖類さらには使用ガラス器具までその質に注意しなければならないが、試薬特級では発芽しなかったものが食用糸寒天やゼラチンあるいは台所の砂糖でうまく発芽する例もある。供試培地の材料中の不純物(?)がガラス効果をもたらしたものであろう。蛇口から出たままの、何も加えない、何も操作しない水道水で、ヤブツバキやクチナシやインパチェンスの花粉は簡単に発芽し、花粉管は数時間もの間、原形質流動をみせながら

伸長を続ける(1999)。ときには既得の情報に囚われすぎないで、大胆に手法をかえてみるのも面白い。筆者は今、水道水培地での発芽能の差が、種分化と密接な関わりのあることをみつけ、その解析に夢中である(2000)。

培地にまかれた花粉の粗密の度合いによって発芽率の著しく違うこと(密集効果)は良く知られているが、同じような密度で花粉をまくことは不可能に近い。風媒花粉はまだ比較的やり易いが、虫媒花粉は難しく、特に、粘着性のあるアオイ科やショウガ科、連絡糸のあるツツジ科は手におえない。この粗密問題よりさらに対処の仕方、名案の浮かばないのが発芽率の求め方である。一枚のカバーガラス下でも周縁と中央部や気泡の多少で発芽率や花粉管伸長は違っている(図13)。これは観察花粉数を増やすことである程度すくえる。厄介なのが発芽率を求めるさいの分母に何を当てるかである。分子には花粉管の長さが花粉粒径の2倍以上に達した花粉数を当てれば良いが、分母に当てるのは形態的正常花粉数のみか、不均質や空虚花粉も含めるのか、巨大花粉や微小花粉、さらにデンプンの有無はどう扱うのか、花粉のよしあしに関わらず検鏡総花粉数にする(他の研究者による既報例のほとんど)のか…。いずれにするのかで発芽率は大きく違ってくる(図14)。ちなみに種子の発芽率の場合、テストの前にしいな(枇)と、充実不全や奇形種子(夾雑物扱いとする)は除いて、正常充実種子数に対する発芽数で求めている。筆者のように異常花粉に焦点を合わせて仕事をしてきた者からすれば、花粉の発芽率を数値で示す勇氣は出てこない。カバーガラス下で平均的な花粉管伸長を示している部分の顕微鏡写真の呈示で切り抜けてはいるのだが、花粉学会の生理や遺伝育種部門で一度論議がなされても思っている。

各図(写真)、plateとも染色・撮影などの方法にかかわらず、同一種の花粉はいずれも同一花から採取したものである。各図の説明末尾の数字は、供試材料の開花日を示す。

この(I)前編脱稿から21世紀あけの春にかけては、ツバキ属のほかに針葉樹の花粉にのめり込む予定でいる。

[前編完]

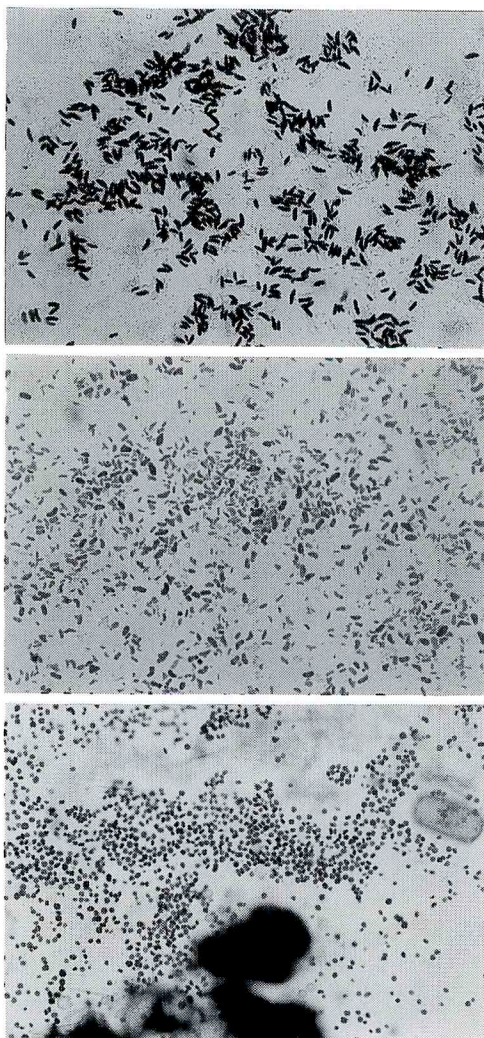


図 10. ヨード・ヨード加里染色と指圧 (強い) による花粉内デンプンの粒形観察
上から, コマツヨイグサ 96. 5. 11, ブッソウゲ 96. 10. 02,
アフリカハウセンカ 96. 12. 03

ぐに青変し (Pl. II. 7. 8) 確認が容易になるが、溶解消失が急に進むので注意する。PPG は花粉より比重が重いので、染色液や水の添加量が多いと底層に沈み (図 7) 見落とすことがある。SEM 用にアセトリシス処理すると、PPG も空虚花粉も溶解するともいうが、筆者らはアセトリシスをしないう方法で、鮮明な外壁構造のみえる映像を得ている (Pl. III. 1. 4. 7, 図 6)。それは自然乾燥させた花粉を、両面テープを貼ったアルミ試料台に塗布し、イオンスパッター (日立 E-102) で表面に Pt-Pd を蒸着させた後、

SEM で観察する方法である (1998, 2000)。

(6) 観察花粉数

一花当たりの観察花粉数を筆者は 500 ~ 600 粒と決めている。その理由は単純で、一昔前の話になるが、一人の学生に一枚のスライド標本で異常花粉の割合を数回反復して出してもらったところ、300 粒では観察ごとに値がばらつくが、500 粒以上になると安定した。検鏡花粉数を学生と合わせるのが習性となったのである。以上の他に大切なことがある。異常花粉率 (異常花粉数 / 観察総花粉数の百分率) が 90% 以上

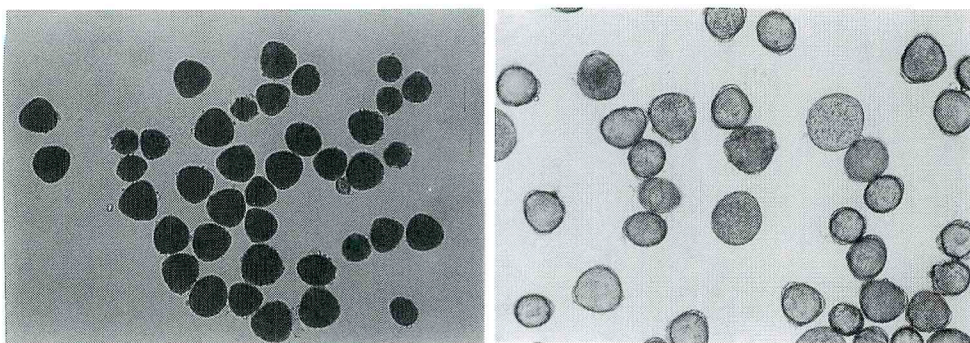


図 11. 同一花内での花粉の大きさの多様例

左：サンザシ，アセトカーミン染色 96. 4. 30

右：ヤブツバキ ‘高嶺の雪’ ヨード・ヨード加里染色 98. 1. 28

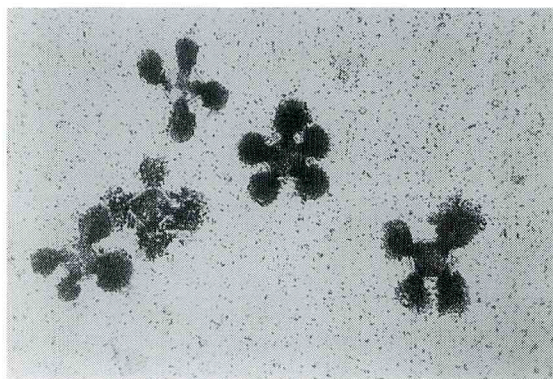


図 12. 花粉発芽口数の確認

カバーガラス上から軽く指押し，発芽口から内容を出す．4口4粒，5口1粒，ヴィオラの園芸種，周辺の粒子はデンプン粒

かまたは10%以下のような稔性がごく高いかごく低い材料では，200～300粒でも観察反復ごとの間に差は余り出ない，しかし異常花粉率が上記の間にある材料では，カバーガラス下の観察場所（図8）によって，価がずい分と違ってくる．カバーガラス下に異常花粉を同じような比率にまくことは不可能に近い．以上はあくまでも素性のはっきりした個体（株）について，他植物の花粉の混入を完全に阻止した材料での話である．話のついでに化石花粉や空中花粉の観察数にもふれておきたい，花粉組成を正確に推定するための基数計算法や，絶対花粉分析量による表示などが考えられている．守田ら（1996）は森林植生の変遷の比較には最低300個，できれば600～700個，出現の有無が重要な場合には2000～3000個程度が必要としている．

しかし，化石や空中花粉では多種多様な不知の植物の花粉が混ぜ合わさっていること，現生花粉では一葯内でも形，大きさ，発芽口数に大きな変異のみられる場合があること，などを念頭におくと，正確な花粉組成を求めるには600～700個は少なすぎるのではと不安がよぎる．多くの報文で観察花粉総数，同定不能花粉数，異常花粉数の記述が不明確なもの気になる．

（7）デンプンの検出

ヨード・ヨード加里液（ヨードカリ3gを100ccの水に溶かし，これにヨード1gを加える）で染色するが，この原液を2倍くらいに水でうすめたものが使い易い．それは花粉の外壁が濃く染まりすぎて，デンプンの含有程度が分かりにくくなる場合があるから．うすめ液でも濃く染まった花粉は，カバーガラスの上か