

# 古植物の微細なる世界

徳永重元・島根としえ

ちらかといえば やはり微化石研究の分野に入っているようである。

その他わが国では以前から 藻類 の化石の研究が行なわれている。古生代の石灰岩あるいは第三紀の石灰岩中には多くの「石灰藻」が含まれており 化石としても紅藻類の Lithothamnium (リソタムニウム) などなじみ深いものである。これらの研究においても 体制をみるにはやはり拡大鏡あるいは光学顕微鏡によることが必要である。また すでに幾度かこの誌上で紹介された珪藻なども その美しい形態は顕微鏡なしに見ることはできない。

こうしてみると材の組織・藻類・花粉・胞子などは古植物の微細なる研究対象ということになる。さらに石炭や亜炭の中に含まれている植物体もまた50~70倍の鏡下ではよく観察することができる。

さらに一步すすめて細かい部分をみようという段になると そこにおいて電子顕微鏡の使用を考えねばならない。光学顕微鏡では 接近した2点を識別する能力つ

## 1. 微細な植物化石

今まで幾度かこの講座で取り上げてきたものは 花粉・胞子化石をのぞけば みな肉眼で見えるもの、あるいは手にとってみられるものが主であった。

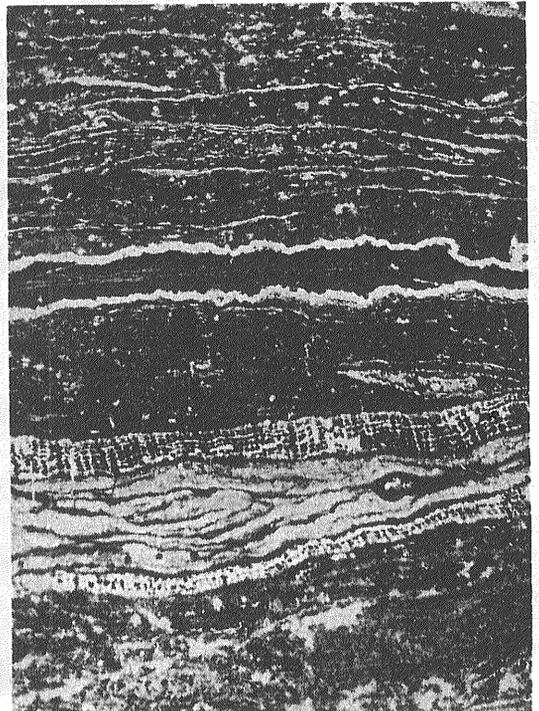
一般にいう 微化石 (microfossil) に入る植物化石は 要するにそれらを研究するために 拡大鏡 光学顕微鏡 などを使わなければならないものを含んでいる。さらに今回ここで述べようとする電子顕微鏡をもってしなければわからないようなものは 超微化石 ともいわれている。

しかし珪化した材化石つまり 珪化木 は 肉眼でみられるのはもちろん 1抱えも 2抱えもあるようなものもある。

一方 外観からそれがスギであるとかタクソディウムであるとか 解る場合は別として それらの種類を決めるといふ段になると やはり光学顕微鏡の力をかりなければならない。珪化木の中心柱を含む断面(柁目)と中心をはずれた断面(板目) 材の横断面の3枚のプレパラートをえてはじめてその組織細胞の配列によって その種類が的確に判定できる。その際の研究の分野はど



① 岩手県久慈炭田産珪化木の断面



② 山形県最上炭田産亜炭の断面(天狗炭鉱)×70 角皮および表皮細胞の配列がみえる

まり分解能は その間およそ  $200\text{m}\mu$ (ミリマイクロン 1マイクロンは1000分の1ミリ)である。ところが電子線を使った場合 その波長にもよるがだいたいオングストローム ( $\text{\AA}$ ) (1オングストロームは10分の1ミリマイクロン)の単位での識別が可能となる。したがって その物体の陰影をとらえ これを判別するという事は 私たちの前にさらに奥行のある深い観察の面を提供してくれることになった。

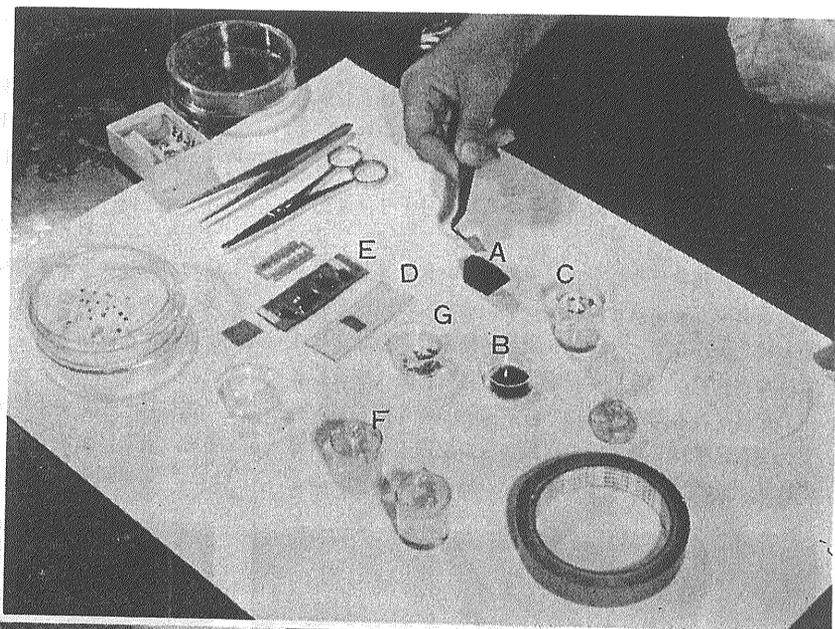
化石を電子顕微鏡で見るということは 以前から行なわれていたことであった。しかし最近研究の内容がす

すむにつれ いろいろの問題を私たちに投げかけてくれるように思われる。

たとえば貝化石の殻の構造における アラゴナイトとカルサイトの互層の生成が その貝の生きていた当時の古環境の推定の材料となったり 象化石の歯の微細構造とくにエナメル質の小柱の形が 化石象の種類によって地史的に変化していることなどが明らかにされた。簡単な観察より 複雑な考察へと電子顕微鏡の古生物学における使用は ますます新しい資料の提供をうながしてゆくことであろう。

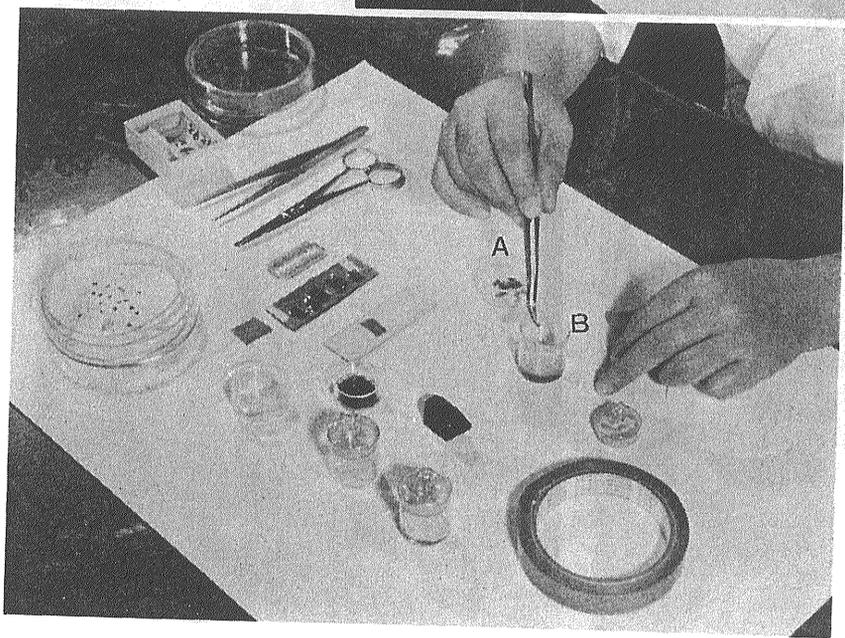
③試料のレプリカの作成(1) (目的の試料面上にアセチルセルロース膜をはるところ)

A: 試料(石炭) B: アセチルセルロース膜入  
C: 酢酸メチル  
D: スライドガラス上にセルロースが貼ってある E: それにクロム・カーボン蒸着させたもの F: アセトン



④試料のレプリカの作成(2) (小金網 [メッシュ] でレプリカをすくうところ)

A: 小金網 (メッシュ) 丸い小さいもの これをそのまま試料桶に入れる  
B: 蒸留水の中に入れるとレプリカは表面張力で広がる これを小金網 (径3~2mm)ですくう



こうした観点から地質調査所で行なっている古植物学の利用の現状を中心として 以下にそのあらずを述べよう。

## 2. 試料のレプリカを作るには

石炭の表面における植物組織をみるには 普通面を酸化アルミニウム粉末その他で磨き その面のレプリカ (replica) をとればよい。レプリカというのは面上にうすい金属膜をはり 表面の凸凹をその膜にうつしとったもので これを電子顕微鏡にかけて観察する レプリカとは replication (模写) ということばかりである。研磨するまでの過程は 『石炭組織学』の項にゆずるが面はあまり平坦になると かねてレプリカのでき具合がよくないというのも面白いことである。

写真3と4にあげたものはその過程を示している

- まずアセチルセルローズ片を酢酸メチルにつけ ついで試料面上にのせる
- やや乾いたのち剝した面を上向にして スライドガラス上にセロテープで固定する
- 蒸着装置に入れ その面上にクロームを斜め上方向から蒸着させ ついで直上からカーボン蒸着させる 蒸着された面に刃で基盤目にすち入れし スライドガラスより切はなす
- 切はなした小片を あらかじめパラフィンぬったガラス小片上に 蒸着面をガラス面と接するようにしてのせる
- 固まってから酢酸メチルに入れる (アセチルセルローズはとけ ここで蒸着した金属薄膜だけになる)
- 暖めてパラフィンをとがす
- 小金網で金属レプリカをすくい アセトンと蒸留水につけ そのまま(メッシュ)金網上に試料のレプリカ(金属薄膜と

なっている)をのせ この小金網(直径3mm)を電子顕微鏡の試料棒に入れ 観察を行なう

以上が石炭面のレプリカの作り方のごくあらましであるが そのでき上ってゆく過程の順序は 図で示したような関係になっている。要するに表面の凸凹模様を写し写してゆくといえるわけで この金属薄膜を貫ぬく電子線が その膜の厚薄によって強弱の差が生じ さらにそれが蛍光板に現われる濃淡の映像となって 私たちの目に達することになる。

したがって石炭の表面のように微細な凸凹 とくに堅い角皮の細胞があれば別だが 普通 vitrite (材組織)の部分における研究では むしろ薬品で腐蝕 (echting) させた方がより効果的であると考えられよう。諸外国における石炭の電子顕微鏡的研究をみると おもにこの vitrite の組成にその重点がおかれている。

この方法は何も石炭片だけに限ったことではない。固体の表面の微細なる組織を見ようとする目的では 2000倍以上数万倍までが この方法で可能となる 一般にいう 2段レプリカ法 である。他方花粉・胞子のような粉末の場合は このレプリカをとる方法がちがっている 粉末レプリカ法 あるいは 振りかけ法 ともいえるもので セルローズ膜の上に試料をおとしレプリカを作らねばならない。その方法を略記すれば次のようである。

- アセチルセルローズ膜を酢酸メチルにつけ スライドガラス上に貼る
- 乾燥後 粉末の試料をふりかける

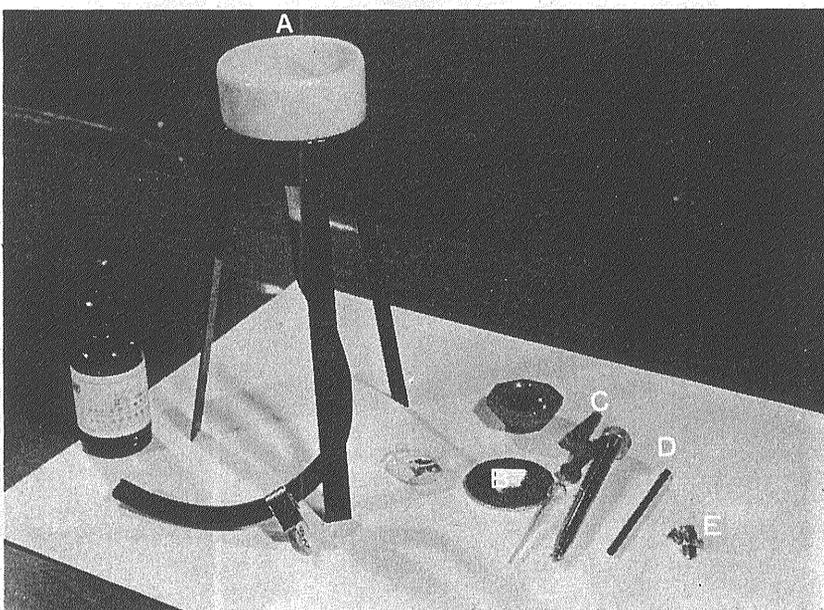
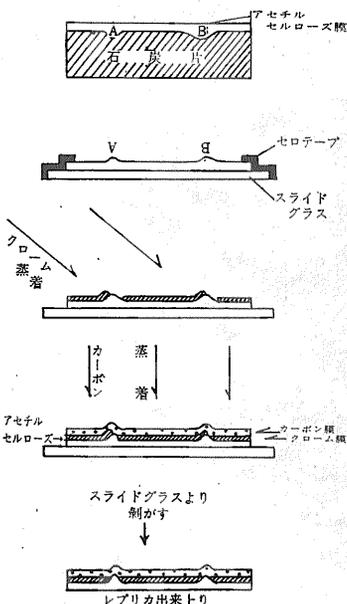


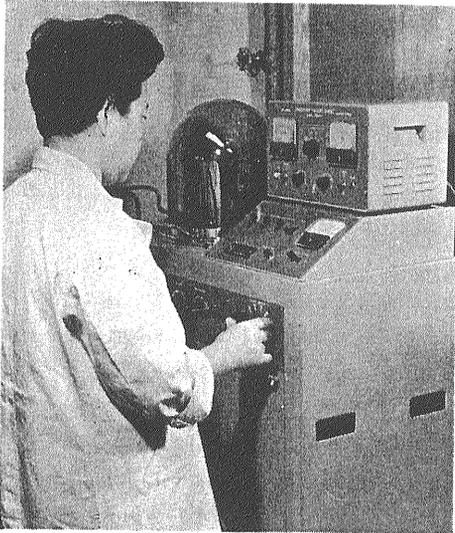
図1 石炭片の表面のレプリカ作成手順

⑤試料のレプリカの作成(3) (コロジオン法) A: コロジオン法使用ロート B: 中に入れるメッシュ台 C: 試料棒 (この先端にレプリカを入れる) D: 蒸着用カーボン E: 蒸着用クローム

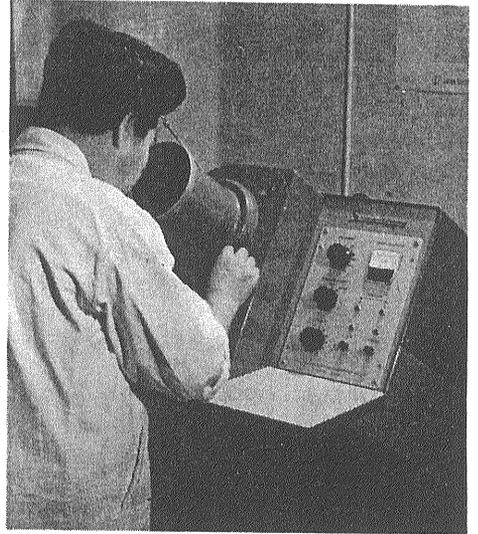
- そのままシャーレに入れ 支持台上にスライドグラスをのせる
- 下に酢酸メチルを入れ暖める(20秒—3分)  
(アセチルセルロース膜がやわらかくなりつけ 上にのった試料末がめりこみ表面のもようがセルロース膜上に印される)
- 取出し放置後 セロテープで膜の上についている試料粉をはぎとる  
(あまり深く入りこんでいると試料がとれず失敗 あまり浅いとレプリカがよくとれない)

- 膜をはがし スライドにセロテープで固定 膜面を上にする
- クロームとカーボンで蒸着
- 以下2段レプリカ法と同じ

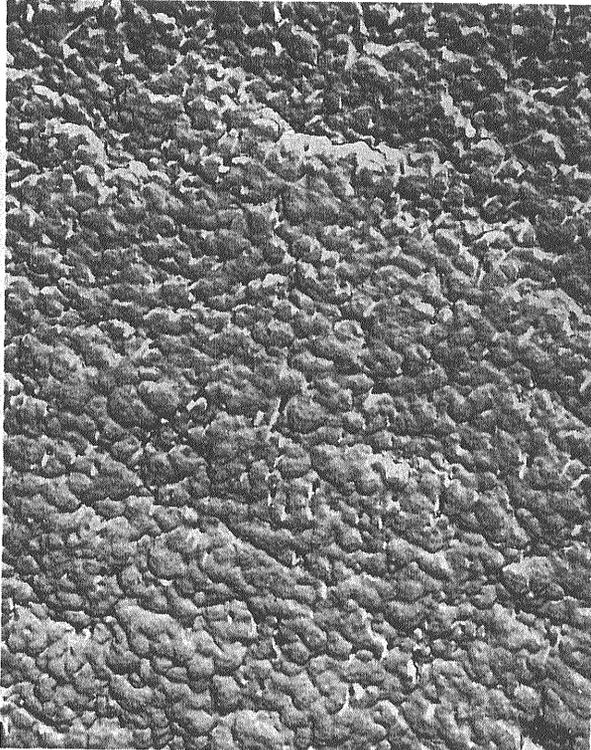
この方法で作成したレプリカの写真をここに示してあるが 試料の大きさすなわち重さや膜をとかす程度などの組み合わせが 相当経験と熟練を要する。とくに花粉や胞子の場合 ちょうど求める要素 たとえば花粉の



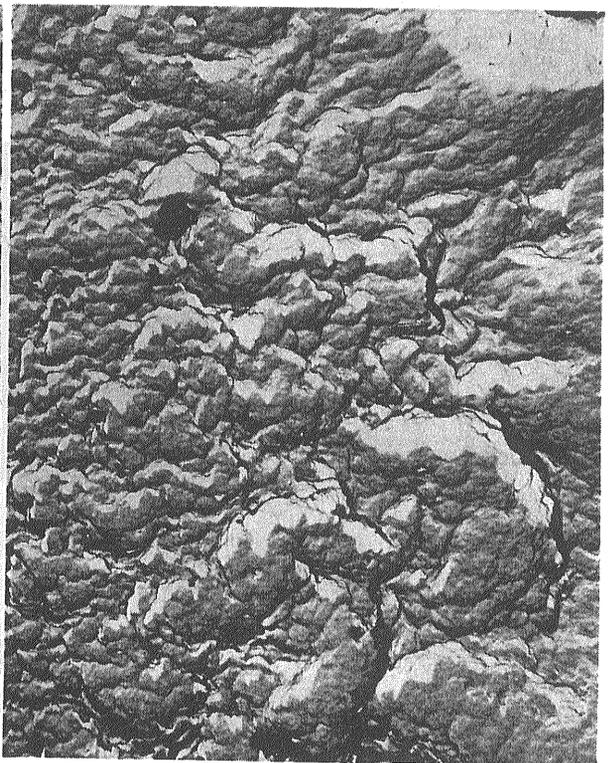
←  
⑥試料のレプリカの作成  
(クロームおよびカーボン  
蒸着中)  
JEE-4B真空蒸着装置



→  
試料のレプリカの観察  
(JEM-SSスーパー Scope)



Pinus (マツ) の翼表面突起のレプリカ ×9,000 (徳永撮影)



Cryptomeria (スギ)花粉の表面のレプリカ ×9,000 (徳永撮影)

管口や溝がこのレプリカとして現われるか否かは 作成し観察してはじめてわかることであるので 相当数多く作る必要があろう。

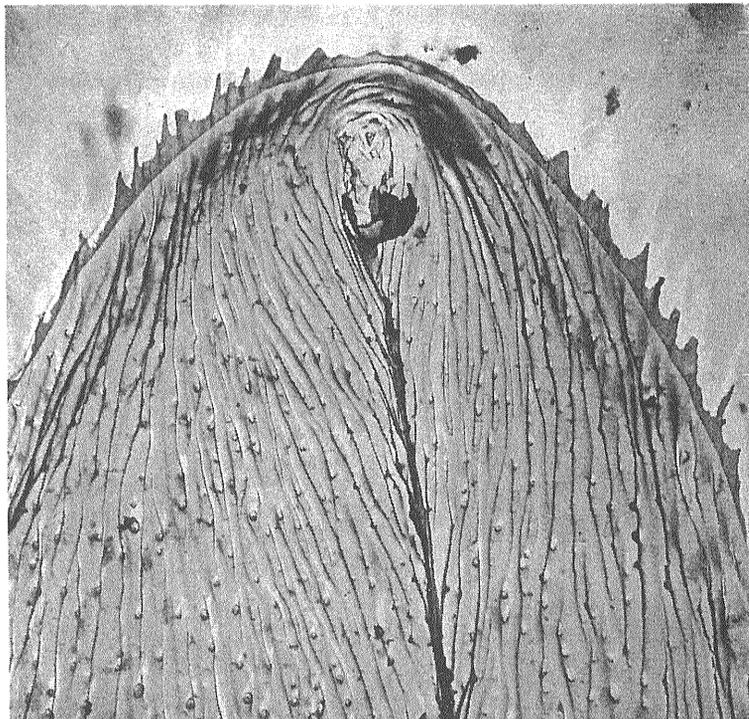
またこのような粉末試料の表面のレプリカを求める場合 コロヂオンを支持膜として作成する方法もある。

コロヂオン法 ともいうべきである。

写真5の中で示したロートの中に水を入れ その中におとしたコロヂオン膜によって作成する方法であるが その要領を次に述べる。

- ・小金網は予めアセトン中に浸しさらに 30°Cの水で数回洗う
- ・ロートに $\frac{2}{3}$ 位 30°Cの水を入れ メッシュ台を沈める
- ・メッシュ台に多くの小金網(メッシュ)を並べる
- ・コロヂオンを水面に1滴おとし 膜を作る
- ・水を下からおとし メッシュ台上に膜を沈める
- ・メッシュ台を乾燥
- ・カーボンを蒸着
- ・粉末試料をその面にふりかけ余分のものを除き
- ・そのまま試料棒中に入れ観察

これら3法に共通する重要なことの1つには 蒸着するとき試料と蒸着する金属との関係はちょうど物体に夕日があたると その影が長く尾を引くと同じになる。蒸着される金属の微粒子が試料の凸凹を示している膜面につくその程度は その後の観察における良否を決定する重要な要素となる。



⑩レプリカの好例 (Prunus) ウメ花粉の表面 ×4,000 石田肇氏提供)

花粒・胞子の場合 表面の凸凹あるいは突起などがあまり顕著であったり 棒状であったりすると蒸着角度を大にして うき出させるようにしなければならない。

その突起が顕著でない場合は 低角度より蒸着させてやらなければならない。このような種々の技術的考察は電子顕微鏡操作前の問題であり またその蒸着の時間も試料によってことになってくるのは当然である。

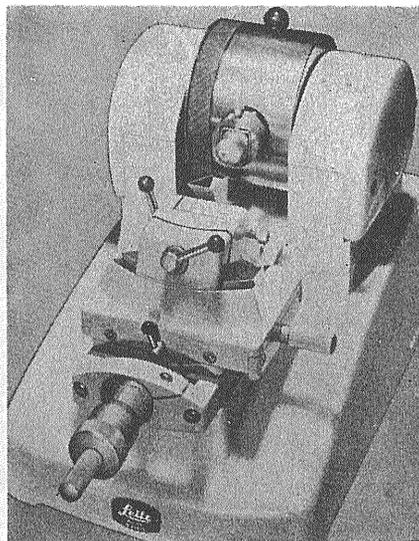
いくつかのこのような考慮をへて でき上がった試料のレプリカは 電子線による観察の段階へと入ってゆく。

### 3. 超薄切片による研究その他

試料について以上のような表面ばかりでなく 内部をもみたいという要求に応じて開発された技法に超薄片を作る方法がある。電子線は厚いものを通さず また普通光学顕微鏡用の薄片は 0.1 $\mu$ 以下のものではできないので内部精査には不適当である。ここで考えられることは高圧にして電子の加速度を増大させ 強力に試料を貫くという方法と 薄片そのものをうすく作るという方法である。

前者のやり方については 最近20万ボルト以上の超高圧電子顕微鏡ができ上っており要求はみたまされているがやはり試料によっては支障を生ずるものがある。後者の方法つまりできるだけ薄いものを作ることについては 100~200Å (オングストローム) の薄さが要求されるようになると そこには特殊のマイクロトームが登場せざるをえない。

マイクロトームといえは刃を徐々に動かし試料を切断してゆく装置だが ここでは特殊金属棒(普通ニッケル鋼)の熱に



⑪超薄切片作成用マイクロトーム (フェルナンデス・モラン式)

よる膨張変化をとらえ その微妙な移動を利用し試料を切断してゆく方法である。この方法では オングストローム単位の薄さの切片を作ることが可能である。

花粉・胞子の研究においても超薄切片を作り これを電子顕微鏡によって観察した例はかなりある。

この装置も近く地質調査所に入る予定なので この方面における新知見がえられるものと期待している。

さらに最近注目されてきたものに 走査電子顕微鏡 (scanning electron microscope) がある。これは倍率はそう高くないが 試料全体の立体的映像をとれるように電子線に工夫がしてあって 花粉粒のような厚みのある物体にとっては非常に有効な方法である。

写真12は花粉学におけるこの方面の一端を紹介したもののだが そのみごとに立体観と詳しい表現は注目をひくこれは非常に集中した細い電子線を試料にあてることのできる装置で 粒の表面の凸凹が 普通の電子顕微鏡のものより明らかに表現できる。

写真にみられるような 花粉の外面上における装飾 (ornamentation) はしばしば種の区別の基準となっている。

したがってその全体をはっきりと見きわめるということが大切なのだが 光学顕微鏡では 1000倍以上のレンズ系を使わねばならないので 焦点深度が浅くなり全体をみるのは一見では全く不可能となる。こうした弱点を補うものとしては正に好適なものである。

#### 4. 観察とその解釈

以上のように技術的に可能となった微細なる組織の観察の目的は何であろうか？

より細かいもの より詳しい部分を見たいという希望から発展して それぞれの問題を解決に取り組むことになる。医学の方面でいえば 病原菌の形態からさらに分子の世界にまで入り 生命現象に関連のあるといわれるDNA分子の形態にまでその分野がのびている。

鉱物学界では今さらいうまでもないが 粘土鉱物の形態・構造から 金属の組成・鉱物結晶の発達など その内容は広い。

古植物学における電子顕微鏡を使つての研究では 材の組織と花粉・胞子・珪藻などが行なわれている。

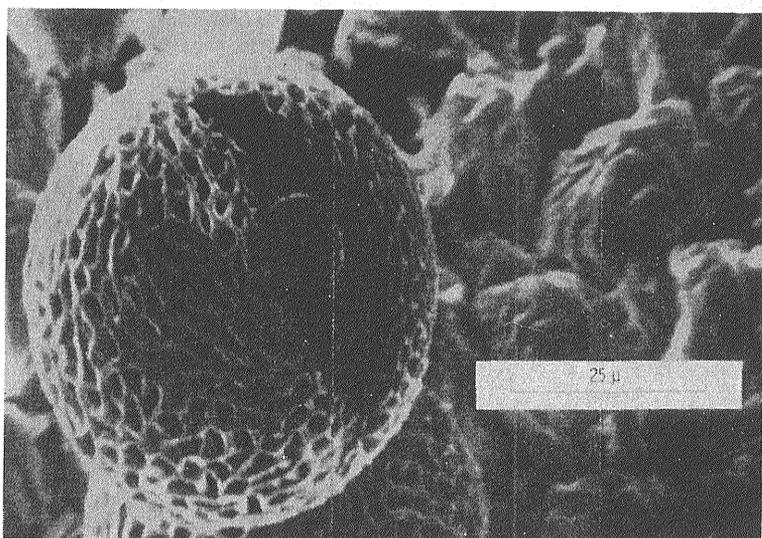
花粉学においては まずその外皮膜の構造が果たしてどうなっているのか 一般に光学顕微鏡の下では 斑点状にみえるものが内部ではどうなっているのか この方面がまず着目された。光学顕微鏡では1500倍の倍率でみられる膜の構造は外皮 (Exine) 内皮 (Intine) に大別けされてさらにこれがこまかく分層されている。

レプリカの方法では表面の突起が明らかになり 超薄切片では内部の成層の状況がわかる。写真13に示したのは1例だがこれはあまり倍率は上げていない。

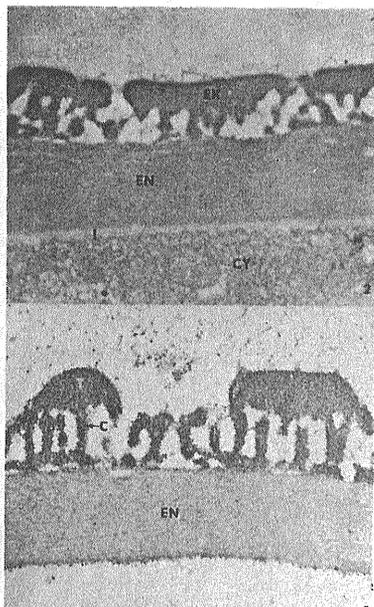
このような膜の微細構造が明らかになるにつれ 花粉分析の場合 使用する薬品によってそれらの膜がどう侵されているか はっきりわかるようになった。

たとえば アセトリススといわれ強い酢酸を作用させたものは 外皮膜はもとより内皮膜の1部まで損傷をうけるものもあることがわかったので ある種類の花粉には この方法をなるべく使用しないという考えも生れてきている。

また微細な構造とくに発芽孔の形態を詳しく電子顕微



②Pelarganium花粉粒 ×1,500 (Erdtman & Dunbar 1966)



③花粉膜の断面 (Larson, Skvaria, Lewis 1962)

鏡により観察し比較してゆくととき 個体発生(ontogeny)に関する問題も提起されている。

花粉・胞子の外膜のレプリカは その微細な凸凹とくに表面の構造をわれわれに示してくれる。すでにわが国でも簡単な電子顕微鏡の発達に加えて 技術的にも優秀なことが買われて海外から花粉写真の撮影が依頼されてくるようになった。しかし現在では未だ現生花粉を材料として研究がすすめられているものが多い。

化石花粉についての研究をみると 第三紀始新世の *Corylus* (ハシバミ) の化石についての研究がある。この方面において当面している問題の最も困難な点は試料の中から1個の化石花粉を取りだし これを電子顕微鏡にかけられるようにすることであろう。

試料中には水分が含まれている場合 直接ふりかけ法においては付着 遊離その他の障害が考えられるし 直接電子顕微鏡内試料棒中に挿入される時に 真空の状態を生成するのに障害ともなる。

したがって化石花粉のこうした観察には いろいろ研究すべき問題がある。しかしいずれにせよ 電子顕微

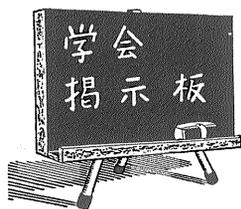
鏡による観察には 将来性のある多くの問題をはらんでいる。古植物の微細なる世界が これによって開けてゆくのである。

しばらくこの古植物学講座は休んでいたが この回からつけて3回掲載し 一応完結することにした

(筆者は石炭課)

参 考 文 献

1. 東 昇：電子顕微鏡の世界 岩波新書 1965
2. Erlich, H.G. & Hall, J. W.: The ultra structure of Eocene pollen, Grana Palynologica v. 2-1, 1959
3. Erdtman, G. & Dunbar A.: Notes on electronmicrographs illustrating the pollen morphology, Grana Paly. v. 6-3, 1966
4. Larson, D. A., Skvarla, J. J. & Lewis, Jr. W.: An electron microscope study on exine stratification and fine structure(1) Pollen et Spore v. 6-2, 1962
5. 上野実朗：On the structure of viscin thread as revealed by electron microscopy 科学(1) No.19 p.327
6. 山崎次男・竹岡政治：Electron-microscope investigation on the fine detailed of the pollen grain surface in Japanese Gymnosperms, Grana Paly. v. 3-2, 1961



・石炭科学国際会議

1. 昭和43年6月10日～14日
2. 石炭作用・熱分解・ガス化・石炭組織に関する講演会
3. Mining Institute of the Czechoslovakia, Academy of Science

4. 石炭科学国際会議
5. Mining Institute of the Czechoslovak Academy of Science, Praha.

・国際写真測量学会

1. 昭和43年7月8日～20日
2. 第11回国際写真測量学会  
撮影および航法 図化理論および機械 航空三角測量 地形測量 地形測量以外への応用 用語・教育および歴史 写真判読の7つの部会ごとに あらかじめ決定された重要な主題について 決められた報告書の報告をもとにして討論を行なう
3. スイス ロザンス
4. 国際写真測量学会・スイス写真測量学会
5. Secretariat du XIe Congress International de photogrametrie : Institute de Photogramme Hrie EPUL 33 Avenue de Dour, 1000 Lausanne, Suisse.

・日本分光学会

- A. 1. 昭和43年3月30日(土)～4月1日(月)
  2. 第15回応用物理学関係連合講演会
  3. 東京工業大学(目黒区大岡山2-12-1)
  4. 日本分光学会
  5. 東京都新宿区百人町4-400  
東京教育大学光学研究所内  
日本分光学会 Tel 東京 (03) 362-7881
  - B. 1. 昭和42年12月8日(金) 9.30
  2. 分光学の最近の進歩に関する講演会
  3. 大阪大学松下会4館(大阪市北区中之島)
  4. 日本分光学会関西支部  
大阪市都島区東野田9丁目  
大阪大学工学部応用物理学教室  
Tel (06) 351-6351 (内312)
  - C. 1. 昭和43年2月23日(金)～24日(土)
  2. 臨床検査と分光分析法
  3. 大阪大学医学部(大阪市北区常安町)
  - 4.5. 日本分光学会  
東京都新宿区百人町4-400  
東京教育大学光学研究所内  
Tel (03) 362-7881
- ・日本地理学会
1. 昭和42年12月9日(土) 13.00
  2. 例会
  3. 東京大学理学部地理学教室
  - 4.5. 日本地理学会  
東京都文京区本郷7-3-1  
東京大学理学部地理学教室内

[注] 1. 開催年月日 2. 会合名 3. 会場  
4. 主催者 5. 連絡先(掲載順位は原稿到着順)