***Adiantum* 属植物の生薬学的研究 (第5報¹⁾) 胞子の形態及び小葉における
ケイ素及びカルシウムの分布様式に基づく分類²⁾**

小松かつ子,^a 飯田浩一,^a 蔡 少青,^b 御影雅幸,^c
吉沢健史,^a 難波恒雄*,^a

富山医科薬科大学和漢薬研究所,^a 北京医科大学薬学系,^b
金沢大学薬学部^c

**Pharmacognostical Studies on *Adiantum* Plants. V.¹⁾ Classification
Based on Spore Morphology and Distributional Patterns of
Silicon and Calcium in the Ultimate Pinnules²⁾**

Katsuko KOMATSU,^a Koichi IIDA,^a Shao-Qing CAI,^b
Masayuki MIKAGE,^c Takefumi YOSHIZAWA,^a
and Tsuneo NAMBA*,^a

Research Institute for Wakan-Yaku, Toyama Medical and Pharmaceutical
University,^a 2630, Sugitani, Toyama 930-01, Japan, School of Pharmacy,
Beijing Medical University,^b Beijing 100083, China and Faculty of
Pharmaceutical Sciences, Kanazawa University,^c
13-1, Takaramachi, Kanazawa 920, Japan

(Received July 10, 1995)

Crude drugs derived from *Adiantum* species are used as febrifuge, antidote, diuretic, tonic, etc. Some commercial samples of these drugs are composed of finely cut ultimate pinnules only, which have false indusia and spores. In this paper, in order to establish a classification method based on the characteristics of the ultimate pinnules and their attachments, the morphological study using stereoscope and scanning electron microscope, and X-ray microanalysis using an electron probe microanalyzer were carried out on the false indusia and spores, and the ultimate pinnules, respectively, of 19 *Adiantum* species. The results showed that examined all species could be distinguished from each other by the following characteristics: in the false indusium, the shape and the presence or absence of hairs; in the spore, the shape, the ornamentation, the ratio of the laesura, and the equatorial diameter; in the X-ray images of the ultimate pinnule, the distributional patterns of silicon and calcium. The distributional patterns of silicon were due to the presence of spicular cells, hairs and papillae, and calcium was present as crystals of calcium oxalate. The average content of silicon in the ultimate pinnules of *Adiantum* species was 1.99%.

Key words—*Adiantum*; electron probe microanalyzer; classification; spore; ultimate pinnule; silicon

Adiantum 属植物はアジアに約 50 種分布し、その内約 17 種の全草、葉、地下部などが各地で清熱、解毒、利尿、去痰、強壯、収斂薬などとして、^{1a)} また胞子のうがハンセン病や丹毒などに応用されている。³⁾ これまでアジア産の本属植物 25 種の小葉、葉柄、根について比較組織学的

研究を行い、それらの内部形態による分類法を確立し、中国市場の「猪鬃草」, 「鉄線草」, バングラデシュ市場の「Persia Oshan」などの生薬の原植物として7種を明らかにして報告した。¹⁾ アジア産の生薬は全草品として出回るものの他、小葉の細切品のみからなるものもあり、その場合にはこれまでの手法では原植物の確証が困難であった。各地の市場品の大部分は偽包膜及び孢子を有する小葉を含んでいることから、本研究では本属植物各種の偽包膜及び孢子を実体顕微鏡及び走査顕微鏡で観察し、種間差を検討した。また、本属植物の小葉の表皮には *spicular cell* と称される特異的にケイ酸を含む厚壁細胞が存在する。^{1a)} また、表皮細胞中にシュウ酸カルシウムの結晶をもつ種もある。^{1a)} これらの分布様式も種に特徴的であると考えられたので、分析走査顕微鏡により各種の小葉のケイ素及びカルシウムの分布様式を観察した。その結果、偽包膜の形態、孢子の形態、小葉のケイ素及びカルシウムの分布様式を総合することにより、本属植物の分類が可能であったので報告する。

実 験 の 部

I. 実験材料 1. 植物材料——アジア産 *Adiantum* 属植物 19 種 (Table 1).

2. 生薬材料——生薬の名称、入手地等(入手年、富山医科薬科大学和漢薬研究所民族薬物資料館の生薬標本番号 TMPW No.) は次のとおり。i) 猪毛七: 中国四川省江津県(1987年, No. 5289) 及び万源県(1987年, No. 7969);^{1a)} ii) 猪鬃草: 中国四川省彭県(1987年, No. 6856),^{1a)} 成都市(1987年, No. 6857),^{1a)} 峨眉県(1987年, No. 6859)^{1a)} 及び重慶市(1987年, No. 7551);^{1a)} iii) 猪宗草: 中国雲南省昆明市(1985年, No. 3113)^{1a)} 及び1980年, No. 3473);^{1a)} iv) 鞭葉鉄線蕨: 台湾高雄県(1987年, No. 7983);^{1a)} v) 鉄線蕨: 台湾高雄県(1987年, No. 7984);^{1a)} vi) 石長生: 日本名古屋市(1967年, No. 5290);^{1b)} vii) *Persia Oshan* (*Kali jhaut*): バングラデシュ, ダッカ市(1964年, No. 7715).^{1a)}

II. 装置 分析走査顕微鏡: 日本電子製 JSM-6100, パーソナルスペック波長分散形 X 線分光器コントロールシステム付; 低温灰化装置: 柳本製 ミニアッシュアー LTA-ミニ (圧力 2 Torr, 出力 100 mA, 酸素流量 100 ml/min, 周波数 13.56 MHz で使用); 原子吸光分析装置: 島津製原子吸光/フレイム分光光度計 AA-640-1; 電子レンジ用試料分解容器: 三愛化学製 P-25.

III. 試料の作製, 観察, 測定方法及び分析条件 1. 偽包膜——実体顕微鏡で観察した。

2. 孢子——試料台上に自然乾燥した孢子を載せ、金を 200 Å の厚さにスパッタ・コーティングし、走査顕微鏡 (SEM) により加速電圧 15 kV (作動距離 10 mm) で観察した。1 標本当たり 100 個以上の孢子を、通常全形については 1500 倍で、表面模様 (オーナメンテーション) については 10000 倍で観察した。また、成熟して表面が薄膜 (周皮外層) に覆われた孢子は、前処理として 10% 塩素系漂白剤に 10 分間浸して薄膜を除去した。⁴⁾ 測定項目は孢子の赤道部直径及び条溝比で、条溝のある面 (極観の向心極面) が試料台の面と平行になっている孢子について、25 µm のメッシュ付試料台との対比により算出した。測定は 1 種につき平均 15—20 個、多いもので 100 個以上の孢子について行った。なお、SEM による観察にあたり光学顕微鏡でも観察した。

3. 小葉のケイ素及びカルシウムの X 線分析——試料の作製: 水に十分浸した小葉を超音波洗浄器で洗浄後アルコール系列で脱水、100% 酢酸イソアミルで置換して、臨界点乾燥した。乾燥試料を孢子と同様に処理し、SEM による観察及び X 線分析 (面分析) に供した。

分析走査顕微鏡の分析条件の設定: 試料に損傷がなくかつ良好な X 線像を得ることを目的に条件を設定した。ケイ素については X 線発生領域を *spicular cell* の存在する表面領域 (深さ

Table 1. Plant Materials

Series	Species	Locality
Caudata	<i>A. capillus-junonis</i>	China: Beijing, S. Q. Cai et al. X. Wang 86062 [TMPW] [KYO] [BMU] ^{*,} ; Pingwu Co., Sichuan, S. Q. Cai et al. X. Wang 86051 [TMPW] [BMU] ^{*,} ; Jiangyou Co., Sichuan, S. Q. Cai et al. X. Wang 86053 [TMPW] [BMU] ^{*,}
	<i>A. caudatum</i>	Taiwan: Pingtung Co., T. Namba et al. [TMPW]
	<i>A. zollingeri</i>	Thailand: SW. Prov. Kanchaburi, T. Shimizu et al. T-21811 [KYO] ^{*,} ; N. Tak, G. Murata et al. T-16656 [KYO]
	<i>A. malesianum</i>	Taiwan: Hualien Co., A. Takano, TMPW 206 [TMPW]
	<i>A. edgeworthii</i>	China, Sichuan: Tianquan Co., S. Q. Cai et al. X. Wang 86030 [TMPW] [BMU] ^{*,} ; Pingwu Co., S. Q. Cai et al. X. Wang 86052 [TMPW] [KYO] [BMU] ^{*,}
Pedata	<i>A. philippense</i>	Taiwan: Pingtung Co., T. Namba et al. [TMPW] ^{*,} ; Taichung, M. Mikage 76079 [TMPW], Sri Lanka: T. Namba et al. N-8333 [TMPW] ^{*,}
	<i>A. myriosorum</i>	China: TMPW 224 [TMPW]
	<i>A. pedatum</i>	China: Nanping Co., Sichuan, S. Q. Cai et al. X. Wang 86049 [TMPW] ^{*,} ; Japan: Fuchu-machi, Toyama, K. Iida KI-1—4, 28—34 [TMPW]; Ohiwa, Toyama, K. Iida KI-5—7 [TMPW]; Sapporo, Hokkaido, K. Nakaïke 39 [TMPW] ^{*,}
Flabellulata	<i>A. flabellulatum</i>	Taiwan: Nantou Co., TMPW 225 [TMPW] ^{*,} ; Japan: Kadena-cho, Okinawa, K. Iida KI-25 [TMPW]; Onna-mura, Okinawa, K. Iida KI-26, 27 [TMPW]
	<i>A. hispidulum</i>	Japan: The Kyoto Botanical Garden, TMPW 231 [TMPW]
	<i>A. venustum</i>	Nepal: Marshandi River, Marchin Camp and Tonje, S. Nakao, LOAN KYO No. 3 42-3 [KYO]
Venusta	<i>A. bonatianum</i>	China: Tianquan Co., Sichuan, S. Q. Cai et al. X. Wang 86031 [TMPW] [KYO] [BMU]
	<i>A. davidii</i>	China: Maerkang Co., Sichuan, S. Q. Cai et al. X. Wang 86035 [TMPW] [KYO] [BMU]
	<i>A. monochlamys</i>	Japan: Yoshino-gun, Nara, A. Takano, TMPW 238 [TMPW] ^{*,} ; Ohshima, Kanagawa, K. Komatsu 91114 [TMPW] ^{*,} ; Tama-gun, Tokyo, S. Yamaji 2 [TMPW] ^{*,}
Veneri- Capilliformia	<i>A. fimbriatum</i>	China, Sichuan: Daocheng Co., S. Q. Cai et al. X. Wang 86024 [TMPW] [KYO] [BMU] ^{*,} ; Hongyuan Co., S. Q. Cai et al. X. Wang 86034 [TMPW] [KYO] [BMU] ^{*,} ; Songpan Co., S. Q. Cai et al. X. Wang 86024 [TMPW] [KYO] [BMU] ^{*,}
	<i>A. edentulum</i>	China: Nanping Co., Sichuan, S. Q. Cai et al. X. Wang 86048 [TMPW]
	<i>A. capillus-veneris</i>	China, Sichuan: Luding Co., S. Q. Cai et al. X. Wang 86028 [TMPW] [BMU] ^{*,} ; Lushan Co., G. Y. Zhong 87038 [TMPW] ^{*,}
		Nepal: Dhaulagiri Zone, T. Namba et al. N-5395 [TMPW] ^{*,} ; Japan: Yokohama, Kanagawa, S. Yamaji 28 [TMPW] ^{*,}
	<i>A. aethiopicum</i>	Unknown: LOAN KYO No. 342-15, 342-16 [KYO]
	<i>A. cuneatum</i>	Japan: Toyama (Cultivated), TMPW 252, 334, 335 [TMPW]

Plant specimens are stored in the Museum of Materia Medica, Research Institute for Wakan-Yaku, Toyama Medical and Pharmaceutical University [TMPW]; or Department of Botany, Kyoto University [KYO]; or Department of Pharmacognosy, Beijing Medical University [BMU]. The numerals show the specimen reference numbers. The used parts for observation and analysis are as follows: *, spores for morphological study; #, ultimate pinnules for X-ray microanalysis of silicon(*) and calcium([®]); no marks, spores and ultimate pinnules; false indusia are observed on all specimens.

10—20 μm) に限定するために加速電圧を 15kV に設定, 照射電流 $1 \times 10^{-8} \text{mA}$, 分光結晶 TAP, スリット幅 300 μm の条件下, パーソナルスペックの低倍 X 線撮影法⁵⁾により 200 倍で X 線像を撮影した. この倍率では小葉の約 1/400 の領域が撮影でき, 各種のケイ素の分布様式の比較には最適であった. カルシウムの X 線像については, 分析領域を葉肉部まで広げるため, 加速電圧を 20kV にした (X 線発生領域: 25 μm). 分光結晶 PET, スリット幅 300 μm /マイラ付きに変え, 観察倍率を 400 倍にした以外はケイ素の場合と同様.

ケイ素及びカルシウムの局在部位の解明: ケイ素及びカルシウムの X 線像と, それを撮影した同位置での 2 次電子像及び反射電子像 (組成像) とを比較して, 起因した細胞又は物質を確認した. さらに spicular cell 及びシュウ酸カルシウムの結晶と推定されるものの形状を確かめるため, 乾燥した小葉を低温プラズマ灰化法⁶⁾で灰化させ, その試料について孢子の場合に準じて SEM で観察した.

4. 原子吸光分析法による小葉中のケイ素の定量——試薬: ケイ素標準液 (和光純薬製): ケイ素 1000 ppm を含むメタケイ酸ナトリウムの 0.4N 炭酸ナトリウム水溶液を調製し, 用時超純水で希釈した; フッ化水素酸: 原子吸光測定用 (関東化学製); 硝酸: 特級 (和光純薬製).

試料の調製⁷⁾: 小葉を 0.2 cm^2 程度に細断し, 85°C で 24 時間乾燥後重量を測定する.⁸⁾ その試料 20 mg をテフロン小容器に取り, 濃硝酸 2.0 ml を加え一晩放置する. テフロン小容器のフタを締め水 1.5 ml とともにテフロン外容器に入れる. テフロン外容器をポリプロピレン製外筒に入れ密封し, 50 ml の水を入れたビーカーとともに電子レンジに入れる. 200 W で 1 分間加熱し 10 分間放置するという操作を 5 回繰り返した後, 水の入ったビーカーを取りだし, さらに 5 回加熱と放置を繰り返す. 室内で放冷後, テフロン小容器を取りだし開栓し, ドラフト内のホットプレート上で加熱, 内容物を蒸発乾固させる. これにフッ化水素酸 5.0 ml を加え完全に溶解して試料溶液とした.

測定条件: 吸収線の波長は 2516 Å, ランプ電流を 9 mA とし, アセチレンの圧力 1.1 kg/cm^2 , 流量 1.5 l/min, 一酸化二窒素の圧力 2.5 kg/cm^2 , 流量 1.5 l/min で測定した.

定量法: ケイ素標準液を超純水で 20, 40, 60, 80, 100 ppm に希釈調整し, 吸光度を測定, 検量線を作製した. 絶対検量線法により試料溶液のケイ素を定量した.

結 果

I. 偽包膜の形態 (Fig. 1)

Adiantum 属植物の包膜は, 小葉の上端が膜質化し裏側に折れ返って孢子のう群を包み込むようにしてできたもので, 偽包膜と称される.⁹⁾ 各種の偽包膜は円形, 腎臓状円形, 楕円形, 半円形, 広線形, 腎臓形などを呈し, 種間差があった. 本属 19 種は偽包膜が円形又は腎臓状円形を呈する種 (*Venusta* 列と *Veneri-Capilliformia* 列の多くの種, *A. hispidulum*) と呈さない種に分けられ, 後者はさらに広線形を呈するものも認められる種 (*Caudata* 列, *Pedata* 列) と認められない種 (*A. flabellulatum*, *A. fimbriatum*, *A. edentulum*) に分けられた. また, *A. caudatum*, *A. malesianum* 及び *A. hispidulum* には偽包膜の表面に剛毛が認められた (Table 2).

II. 孢子の形態

1. 成熟孢子の一般的形態 (Fig. 2) *Adiantum* 属の孢子は 4 面体型孢子で, 3 条に分かれた条溝をもつ. 形状は, 全体に丸みを帯びた round triangle 型 (RT 型) と, これより辺縁が直線的な subtriangle 型 (ST 型) の 2 型がある. ただし未熟な孢子は triquete 型 (TQ 型) を呈す.^{10, 11)} 赤道部直径は 25—58 μm の範囲内に入るが, 各種の値に差がある. 条溝は多くの種で

Fig. 1. Stereoscopic Micrographs of the False Indusia of *Adiantum* Species

1, The false indusium is orbicular in shape, and pilose (*A. hispidulum*); 2, orbicular-reniform (*A. venustum*); 3, semicircular (*A. flabellulatum*); 4, elliptical (*A. fimbriatum*); 5, broad linear (*A. capillus-junonis*); 6, reniform (*A. davidii*). Lines are 0.5 mm.

Fig. 2. Secondary Electron Images of Spores

A, whole views of the spores: 1, subtriangle in shape, and the ratio of the laesura less than 1.00 (*A. pedatum*); 2, round triangle in shape, and the ratio of the laesura nearly 1.00 (*A. aethiopicum*).

B, ornamentation of the spores, showing four types: 1, type SCA, scabrate [a, minute granules grow closely (*A. bonatianum*); b, several minute granules aggregate to form one granule (*A. pedatum*)]; 2, type TUB, tuberosity (*A. caudatum*); 3, type EXV, extervermiculate (*A. malesianum*); 4, type COV, convolute (*A. edentulum*).

頂部まで達せず、条溝比（条溝の長さ／孢子の中心から頂部までの距離；3本の条溝の平均値で示す）は0.60—0.80を示すものが多い。条溝比に特徴のある種がある。孢子壁は外膜とそれを覆う周皮からなり、周皮はさらに2層に分かれる。^{4,11)} 周皮の外層は薄膜性で漂白剤処理により容易に剥がれる。⁴⁾ 本属の孢子は周皮の内層が特有のオーナメンテーション¹¹⁾を形成していたことから、漂白剤処理後の内層表面、主に向心極面を観察した。なお、オーナメンテーションは向心極面、遠心極面ともに同様であった。19種は1500倍の観察では表面が粗く突起がないものと大型の突起があるものに分けられたが、さらに10000倍に拡大すると、前者には径約0.4 μm 以下の半球形の微細突起が密に存在するか又はそれらの集合体が幅1 μm 以下の小突起を形成していた（SCA型：それぞれa, b型とする）。後者の突起は幅が1 μm 以上あり、半円球状の突起が単独一連続して認められるもの（TUB型）、上面がやや扁平なうねを形成するもの（EXV型）、堤防状の突起が不規則又はリング状に連なるもの（COV型）の3型があった。¹²⁾ これら3型のオーナメンテーションにさらに2次オーナメンテーション¹¹⁾として半球形の微細突起が認められた。

2. 孢子の成熟に伴う形態変化¹³⁾ (Fig. 3) 富山県で採集した *A. pedatum* を材料にして、乾燥させた小葉をはじくと孢子が飛散する段階 stage 1 のものから観察を始めた（光顕による油体の観察結果をカッコ内に示す）。この段階の孢子は未熟なため自然乾燥により各条溝間の表面に凹みが生じて孢子はTQ型を呈し、また10000倍で電子線を照射すると亀裂が生じて変形する（大型の粒状の油体が数個観察される）。乾燥による凹みはstage 1から2週間後にもわずかに見られるが、電子線照射による損傷は全くなくなる。この時期に周皮内層のSCA・b型のオーナメンテーションの形成が完了する（油体は数個の巨粒になる）。3週間後孢子はST型を呈し、これ以降赤道部直径及び条溝の長さが一定になる（油体は孢子全体に広がり巨粒の境が不明瞭になる。又は薄く延ばしたような性状になる）。また孢子は薄膜に覆われ始め、その後の2週間で完全に覆われて周皮外層の形成が完了する。この結果から、条溝間の表面に凹みがな

Fig. 3. Morphological Changes of the Spores of *A. pedatum* during Maturation

A, drawing of oil body in optical image; B, whole view in secondary electron image; C, ornamentation in secondary electron image.

1, spore obtained in June 19 (stage 1); 2, two weeks later from stage 1; 3, three weeks later from stage 1; 4, five weeks later from stage 1.

く、薄膜に覆われた孢子を成熟した孢子とみなして、形状、赤道部直径、条溝比及びオーナメンテーションの4形質について各種を比較した。

3. 各種の孢子の形態 (Table 2) 19種の孢子の形状、オーナメンテーション、条溝比及び赤道部直径 (Fig. 4) の観察及び測定結果は Table 2 のようであった。各種とも形状の均一性や赤道部直径の度数分布¹⁴⁾から、植物材料のすべてが有性生殖個体で、同種内では同じ倍数性のものと考えられた。^{11, 15)} 形状では、Caudata 列の *A. capillus-junonis*, *Veneri-Capilliformia* 列の *A. capillus-veneris*,¹⁶⁾ *A. aethiopicum* 及び *A. cuneatum* の4種が RT 型で、他種は ST 型であった。オーナメンテーションは 15 種で SCA 型 (微小突起型) であり、やや不明瞭ではあるが a 型と b 型が認められた。Caudata 列の *A. caudatum* と *A. zollingeri* は TUB 型 (半円球突起型)、同列の *A. malesianum* は EXV 型 (凸蠕虫型)、*Veneri-Capilliformia* 列の *A. edentulum* は COV 型 (回旋型) であった。条溝比は *Veneri-Capilliformia* 列の *A. capillus-veneris* と *A. aethiopicum* が 1.00 を示す条溝が頂部まで達するものがあり、他種と区別された。反対に *Venusta* 列の *A. monochlamys* は 0.19—0.46, *A. fimbriatum* は 0.23—0.62 で小さい値を示した。赤道部直径では *A. myriosorum* の平均値が 28.5 μm で最も小さく、Caudata 列の *A. caudatum*, *A. zollingeri*, *A. malesianum* 及び *A. edgeworthii* と、*A. aethiopicum* が平均値 30.8—34.5 μm で小さい値を示した。一方、*A. edentulum* と *A. monochlamys* はそれぞれ 50.4 μm と 48.5 μm で、大きな値を示した。類縁性の強いグループでは倍数性と孢子の大きさに正の相関があるとされる¹¹⁾ことから、染色体数の報告がある数種¹⁵⁾について検討したところ、*A. edgeworthii* (2 倍体) と *A. monochlamys* (4 倍体) の間には正の相関がありそうであったが、*A. pedatum* (2 倍体) と *A. flabellulatum* (4 倍体) では逆転しており、本属植物では不明瞭であった。このように孢子の4形質か

Fig. 4. Equatorial Diameter of the Spores of *Adiantum* Species

The mean (vertical line), range (horizontal line) and standard deviation (thick line) are indicated. More than 15 spores were measured in each species except asterisk marked species.

Table 2. Morphological Characteristics of False Indusia and Spores, and Distributional Patterns of Silicon and Calcium on Ultimate Pinnules of *Adiantum* Species

Series	Species	False indusium		Spore			Ultimate pinnule	
		Shape	Hair	Shape	Ornamentation	The ratio of the laesura	Equatorial diameter (μm)	G* Distribution of Si Distribution of Ca
Caudata	<i>A. capillus-junonis</i>	s,e,b	—	RT	SCA a	0.71—0.77—0.84	41.6—44.5—48.2	① A γ
	<i>A. caudatum</i>	s,e,b	+	ST	TUB	0.61—0.73—0.82	28.0—30.8—33.2	② D γ
	<i>A. zollingeri</i>	s,e,b	—			0.54—0.63—0.68	30.1—32.1—33.7	A(D) β
	<i>A. malesianum</i>	s,e,b	+		EXV	0.69—0.81—0.96	32.2—34.5—36.4	③ D γ
	<i>A. edgeworthii</i>	s,e,b	—		a	0.59—0.71—0.81	31.4—32.9—36.8	④ A γ
Pedata	<i>A. philippense</i>	s,e,b	—		b	0.70—0.78—0.86	34.2—39.5—43.5	A α
	<i>A. myriosorum</i>	e,b,r	—		b	0.65—0.68—0.74	26.4—28.5—29.7	B β
	<i>A. pedatum</i>	s,e,b,r	—		b	0.46—0.65—0.79	35.0—41.5—47.8	B β,γ
Flabellulata	<i>A. flabellulatum</i>	s,e	—		b	0.58—0.67—0.75	38.1—40.7—44.2	A γ
	<i>A. hispidulum</i>	o	+		b	0.68—0.76—0.84	37.5—38.4—39.5	D γ
Venusta	<i>A. venustum</i>	o-r	—		a	0.63—0.74—0.81	35.9—38.8—42.1	B γ
	<i>A. bonatianum</i>	o	—		a	0.49—0.60—0.70	36.1—38.8—41.0	C γ
	<i>A. davidii</i>	o-r,r	—		a,b	0.51—0.61—0.71	35.8—37.8—39.9	B γ
	<i>A. monochlamys</i>	o,o-r	—		a	0.19—0.29—0.46	43.9—48.5—51.8	E γ
Veneri-	<i>A. fimbriatum</i>	s,e	—		a	0.23—0.36—0.62	37.3—41.9—46.0	⑦ A β,γ
	<i>A. edentulum</i>	e	—		COV	0.68—0.75—0.86	46.5—50.4—57.1	⑧ B γ
Capilliformia	<i>A. capillus-veneris</i>	s,e,r,o-r	—	RT	b	0.73—0.94—1.00	34.0—39.8—45.9	⑨ A γ
	<i>A. aethiopicum</i>	o-r,r	—		SCA b	0.90—0.96—1.00	31.5—33.0—34.6	⑩ A β
	<i>A. cuneatum</i>	o,o-r	—		b	0.57—0.67—0.80	36.2—39.2—42.3	① B γ

False indusium—Shape: s, semicircular; e, elliptical; b, broad linear; r, reniform; o, orbicular; o-r, orbicular-reniform. Spore—Shape: RT, round triangle; ST, subtriangle. Ornamentation: SCA, scabrate (a, minute granules grow closely; b, several minute granules aggregate to form one granule); TUB, tuberos; EXV, extervermiculate; COV, convolute. The ratio of the laesura and equatorial diameter: Minimum, mean and maximum values are shown. * G ①—⑩: Nineteen species were divided into 10 groups according to characteristics of spores. Ultimate pinnule—Distribution of Si: A, greater amount of silicon is detected on veins than on intercostal areas of upper and lower sides; B, the lower side is similar to A in distributional pattern and the upper side shows uniform distribution of silicon; C, great amount of silicon is detected on intercostal areas of both sides in linear form, besides the veins; D, much silicon is observed along the locations of hairs, besides the veins; E, much silicon is observed on the top of papillae in lower side, besides the veins. Distribution of Ca: α , calcium is present in linear form; β , spots of calcium are observed; γ , no typical mass is observed.

ら 19 種は 10 グループに分類することができ (Table 2), *A. malesianum*, *A. myriosorum*, *A. monochlamys*, *A. fimbriatum*, *A. edentulum*, *A. capillus-veneris* 及び *A. aethiopicum* の 7 種が同定可能であった。

III. 小葉のケイ素及びカルシウムの分布様式

1. ケイ素及びカルシウムの分布様式の変化 *A. cuneatum* の小葉について, 成長に伴うケイ素量の変化を X 線量子のカウント数で調べたところ, 成長するに従い上下面の葉脈部及び脈間部のすべての領域でケイ素量が多くなり, 葉の長さが 8—11 cm に成長した葉の偽包膜を有する小葉で本種固有の分布様式が認められた。さらに, *A. pedatum* の一植物体の各部位の, 偽包膜の形成されている小葉でケイ素の分布様式を調べたところ, どの部位の小葉も同じパターンを示し, この分布様式は採集地の異なる個体でも同様であった。カルシウムの分布様式の結果もケイ素の場合と同様であったことから, 各種においては偽包膜の付いている小葉を分析試料とした。

2. 各種のケイ素の分布様式 (Fig. 5, Table 2) 19 種の小葉におけるケイ素の分布様式には 5 型があった。8 種では小葉の上下面において脈間部より葉脈部に特に多くのケイ素が検出され (A 型), 6 種では小葉の下面は A 型と同様であるが上面は全面にほぼ均一に分布していた (B 型)。 *A. bonatianum* では上下面の葉脈部のほかに両面の脈間部にも脈と平行する線状のケイ素の局在部位が多数観察され (C 型), 4 種では上下面の葉脈部のほかに脈の方向とは無関係な線状の局在部位が両面に存在した (D 型)。 *A. monochlamys* では上面にはほぼ均一にケイ素が分布し下面には葉脈部のほかに円形のやや不明瞭な局在部位が認められた (E 型)。

3. ケイ素の局在部位 (Fig. 6) 分布様式が A, B 及び C 型であった各種について, 線状のケイ素の局在部位を組成像で観察すると, 元素組成及び形状が他の表皮細胞と異なる細胞が認められた。低温灰化後の 2 次電子像でこの細胞は繊維状の形状を留めており, さらに X 線像で多量のケイ素の存在が確認されたことから, spicular cell であると判断した。次に D 型及び E 型の種について, それぞれ A 型及び B 型に見られないケイ素の局在部位を 2 次電子像と対応させたところ, D 型ではすべて毛の位置に, また E 型では乳頭状突起の先端部の位置にそれぞれ一致した。D 型の種では, 1—2(3) 細胞性の小型の毛に多くのケイ素が含まれていた。

4. 各種のカルシウムの分布様式 (Fig. 7, Table 2) *A. philippense* でのみ小葉の上下面に線状を呈するカルシウムの局在部位が認められた。また 5 種で点状の局在部位が上面又は両面に認められたが, その他の 13 種には特に局在する部位が見られなかった。低温灰化後の 2 次電子像から線状の局在部位は束針晶に, また点状のものは単晶に由来することが判明した。組織化学的検討から両結晶はシュウ酸カルシウムからなるもので, 前者は両面の表皮細胞, 後者は葉肉部に含まれるものであった。

IV. ケイ素の含量

小葉におけるケイ素の分布様式とケイ素含量との関連性を調べる目的で, 分布様式が A 型の *A. flabellulatum* (K. Iida KI-27) と *A. capillus-veneris* (S. Q. Cai et X. Wang 86028), B 型の *A. pedatum* (K. Iida KI-33), E 型の *A. monochlamys* (K. Komatsu 91114) についてケイ素を定量した結果, 含量はそれぞれ 1.50%, 1.94%, 2.75%, 1.76% であった。 *A. pedatum* は下面の葉脈部のみに spicular cell が存在するが, 1 葉脈部当りの spicular cell の数は (1)2—6(8) 個,^{1b)} 一方 A 型の 2 種は上下面の葉脈部に通常 1—2 個ずつが存在する。^{1b, d)} この 2 種では, *A. flabellulatum* で 1 葉脈部あたりの数が 0 の場合もあり, また本種は葉身が厚い。^{1b)} *A. monochlamys* の spicular cell の数は下面の葉脈部に 0—1(2) 個で少ないが, 本種には多数の乳頭状突起が存在する。^{1c)}

Fig. 5. Five Patterns of Silicon Distribution in the Ultimate Pinnules of *Adiantum* (A—E)

A, greater amount of silicon is detected on veins than on intercostal areas of upper and lower sides (*A. capillus-veneris*); B, the lower side is similar to A in distributional pattern and the upper side shows uniform distribution of silicon (*A. davidii*); C, greater amount of silicon is detected on intercostal areas of both sides in linear form, besides the veins (*A. bonatianum*); D, much silicon is observed along the locations of hairs, besides the veins (*A. caudatum*); E, much silicon is observed on the top of papillae in lower side, besides the veins (*A. monochlamys*).

1,3, secondary electron images on the upper (1) and lower (3) surfaces; 2,4, X-ray microanalyzer images of silicon on the same upper (2) and lower (4) portions as 1 and 3, respectively.

epl, lower epidermis; epu, upper epidermis; h, hair; hpp, papilla; spc, spicular cell; ve, vein.

このようにケイ素含量は単位重量当りの spicular cell の数及び毛又は乳頭状突起の有無と量に影響された。

V. *Adiantum* 属植物に由来する生薬の原植物

本報で確立した方法すなわち偽包膜及び胞子の形態、小葉のケイ素及びカルシウムの分布様

Fig. 6. Analysis of Spicular Cell Region in Ultimate Pinnule of *A. bonatianum*

1, backscattered electron image (composition image) of spicular cell; 2, secondary electron image of spicular cell after plasma incineration; 3, X-ray microanalyzer image of silicon on the same portion as 2.

epu, upper epidermis; spc, spicular cell; sto, stoma.

Fig. 7. Distribution of Calcium in the Ultimate Pinnules of *Adiantum* Species and Crystals of Calcium Oxalate Appeared after Plasma Incineration

A_{1,2}, secondary electron images on the upper surfaces; B_{1,2}, X-ray microanalyzer images of calcium on the same portions as A_{1,2}, respectively; calcium present in linear form (1) and a spot (2); C, secondary electron images of a raphide (1, *A. philippense*) and a solitary crystal (2, *A. zollingeri*).

式を総合することで種を鑑別する方法を, *Adiantum* 属由来の市場品に適用した結果, 次の6種が原植物として同定でき, これまでの組織形態学的研究の結果¹⁾と一致した. *A. capillus-junonis* は偽包膜が円形—腎臓状円形を呈さず広線形になるものがあり, 胞子はRT型であることにより (TMPW No. 6856, 6857, 6859^{1a)}), *A. caudatum* は偽包膜に毛があり胞子のオーナメンテーションはTUB型, 小葉のケイ素の分布様式はD型で毛が多いことにより (No. 7983^{1a)}) それぞれ同定した. *A. philippense* は小葉のカルシウムが線状に局在することで胞子の付いていない市場品でも同定し得た (No. 7984, 7715^{1a)}). *A. pedatum* は偽包膜が広線形になるものがあり, 胞子のオーナメンテーションはSCA・b型, 赤道部直径は35.0 μm以上, 小葉のケイ素の分布様式は

B型であることで同定した (No. 5290^{b)}). *A. bonatianum* は小葉のケイ素の分布様式がC型であることにより (No. 3113), *A. capillus-veneris* は孢子の形状がRT型, 条溝比が1.00になるものがあり, 赤道部直径は通常 $35.0\mu\text{m}$ 以上, 小葉にカルシウムが局在しないことにより (No. 5289, 7969, 7551, 3473^{d)}) 同定した.

結 論 及 び 考 察

1. *Adiantum* 属植物 19 種は偽胞膜の形状により 3 グループに分けられた. 孢子については, 成熟孢子の形状 (2 型), オーナメンテーション (4 型), 条溝比及び赤道部直径の 4 形質から 10 グループに分類することができ, 7 種が同定可能であった.

2. 分析走査顕微鏡による分析では, 小葉におけるケイ素の分布に 5 型の様式が見られ, それらは *spicular cell* の分布様式, 毛や乳頭状突起の存在に起因するものであった. カルシウムの分布においても局在部位が観察され, それらはシュウ酸カルシウムの束針晶及び単晶によるものであった. ケイ素の分布様式では *A. bonatianum* と *A. monochlamys*, カルシウムの分布様式では *A. philippense* が固有なパターンを示し, 分析走査顕微鏡による分析だけで同定可能であった.

3. 小葉のケイ素含量はケイ素の分布様式だけでなく, 小葉の厚さと葉脈の数, 1 葉脈部当りの *spicular cell* の数を含めた, 単位重量当りの *spicular cell* の数及び毛又は乳頭状突起の有無と量に関係していると考えられた. 検討した 4 種の小葉の平均ケイ素含量は 1.99% であった.

4. アジア産の本属植物 19 種は偽胞膜の形態, 孢子の形態上の 4 形質, 小葉におけるケイ素の分布様式, カルシウムの分布様式を検討し, それらの結果を総合することによりそれぞれ区別することが可能であった. これにより, 小葉の細切品であっても, 偽胞膜及び孢子が付いた小葉片があれば同定は可能である.

5. 本研究で確立した方法は, 本属に由来する生薬の各地市場品の同定にも応用できた. これまで *A. pedatum* と *A. myriosorum* は内部形態的に区別し得なかった^{b)} が, 今回孢子の赤道部直径に差異があることが明らかになり, この結果から日本市場の「石長生」(TMPW No. 5290) は *A. pedatum* であることを確証した. 本法による同定は孢子のない市場品では難しく, 組織形態による検討をも必要とする.

謝辞 実験材料の蒐集にご協力下された京都大学理学部植物学教室の諸先生方に深謝いたします. また, 本研究の一部は文部省科学研究費補助金 No. 03771681 により行われたもので, ここに記して感謝の意を表します.

引 用 文 献 及 び 注

- 1) a) 第 1 報: 難波恒雄, 御影雅幸, 蔡 少青, 薬誌, **108**, 1154 (1988); b) 第 2 報: *Idem*, *ibid.*, **108**, 1168 (1988); c) 第 3 報: *Idem*, *ibid.*, **108**, 1179 (1988); d) 第 4 報: Cai S. Q., Mikage M., Lou Z. C., Namba T., *Shoyakugaku Zasshi*, **43**, 177 (1989).
- 2) 日本薬学会第 109 年会 (名古屋, 1989 年 3 月, 講演要旨集 III, p. 228) 及び第 112 年会 (福岡, 1992 年 3 月, 講演要旨集 2, p. 187) で発表.
- 3) Nadkarni A. K. (revised ed.), "Indian Materia Medica," Vol. 1, Popular Book Depot, Bombay, 1908, pp. 43—44.
- 4) Mitsui K., *Bull. Nippon Dental Univ.*, **7**, 211 (1978).

- 5) パーソナルスペックで自動的に分光結晶の位置を移動させることにより, 電子プローブ照射位置をローランド円からはずすことなく, 低倍率でも一様な X 線写真が撮影できる.
- 6) 野呂征男, 久田陽一, 奥田和代, 川村智子, 生薬, **46**, 115 (1992); 梅本光一郎, 穂積啓一郎, 薬誌, **91**, 828, 850 (1971).
- 7) Isoyama H., Chida T., Oguchi K., Iida C., Nakagawa G., *Anal. Sci.*, **6**, 385 (1990).
- 8) 吉村悦郎, 戸田昭三, ぶんせき, **12**, 936 (1990).
- 9) 伊藤 洋, “シダ学入門,” ニュー・サイエンス社, 東京, 1972, p. 69 (偽包膜), 171 (染色体数).
- 10) 川崎次男, “孢子と人間, パリノロジーの世界,” 三省堂, 東京, 1971, 資料 pp. 1—21.
- 11) 三井邦男, “シダ植物の孢子,” 豊饒書館, 東京, 1982, pp. 30—43 (孢子の形質), 97—100 (オーナメンテーション), 15, 69, 76, 87, 89, 150 (*A. pedatum*), 36 (*A. philippense*).
- 12) オーナメンテーションの名称及び略号はノレム・川崎の型式によった.¹⁰⁾
- 13) 伊藤 洋監修, 倉本嗣王著, “シダの孢子—その誕生から成熟まで—,” 廣川書店, 東京, 1978, pp. 38—43.
- 14) Kanamori K., *J. Jpn. Bot.*, **44**, 207 (1969).
- 15) 岩槻邦男編, “日本の野生植物シダ,” 平凡社, 東京, 1992, pp. 124—126.
- 16) *A. capillus-veneris* の孢子の形状については, 検体のほとんどが未熟孢子の場合, RT 型と ST 型の中間型を示すものも認められる.