

多様な草本植物を用いた葉と花の柔組織の観察

梶原 裕二

Observations of the Parenchyma in the Leaves and Flowers Using various Glass Plants

Yuji KAJIWARA

Accepted November 29, 2006

抄録：高校生物の教科書では、限られた植物しか組織観察の実習に用いられていない。葉の場合、硬い細胞壁をもったツバキやヒイラギがほとんどである。本研究では、数種の植物の軟らかい葉や花卉が組織実習に使用できるかを検討した。その結果、サンシキスミレ、ヤエムグラといった草本植物の葉でも徒手切片法により組織観察に十分な薄切切片が作成できた。サンシキスミレの場合、柵状組織は二層で、海綿状組織は球形でなく不定形であった。細胞壁はツバキに比べて薄かった。ヤエムグラは柵状組織が一層であった。サンシキスミレの花卉も薄切でき、向軸側の着色した円錐形の表面細胞や、無色の柔組織、維管束が観察できた。また、スイセンの花被片や副花冠の組織も観察できた。このように、多様な柔らかい葉も組織実習に利用でき、今後、葉の発生に伴う組織の変化など広範な組織実習が可能と思われる。

索引語：植物組織，葉，花，柵状組織，海綿状組織

Abstract : A few plants, such as the Camellia, are used to observe the leaf tissues in the science class of the high school. Because the cells in the leaf of the Camellia have thick cell walls, it is easy to prepare thin sections from the leaf with a razor blade by hand. In this report, the leaves and flowers of other herb plants were used to observe the tissue structure. Soft leaves were inserted into the stem of the broccoli, then the leaves were sliced into thin sections. Using both leaves of *Viola Tricolor* and *Galium Spurium*, the sections could be prepared to observe the parenchymal tissues. Basic structures, such as the upper epidermis, the palisade tissue, the spongy tissue and the lower epidermis, were similar to the leaves of the camellia, but the cell shape of both palisade and spongy tissues were different from those of the camellia. Furthermore, the petals of *Viola Tricolor* and *Narcissus Tazetta* could be prepared the thin sections for observations. Thus, the present experiment was good for the histological observations of the soft leaves in the herb plants

Key Words : plant tissue, leaf, flower, palisade tissue, spongy tissue

1. はじめに

多細胞生物の体では、同じ機能や形態をもつ細胞がいくつかの組織集団をつくり、それらの組織が秩序だって組み合わされて器官を形成し、多くの器官が集まって統一のとれた体ができている。それらの規則正しい組織の構造を観察する実習は、複雑な多細胞生物の体のつくりを理解する基礎となる。また、生物を構成する細胞の大きさは数 μm ～数百 μm であり、組織の構造を観察するには顕微鏡用のプレパラートを作成する必要がある。動物の軟らかい組織を観察する場合や植物の組織を詳細に観察する場合は、固定・包埋の後、ミクロトームで薄切し標本作製するが、時間が十分でない簡便な実習では、カミソリの刃で材料を直接薄切する徒手切片法が一般的である。

徒手切片法を用いた組織の観察実習として、中学校の教科書には、茎の維管束組織の観察¹⁾があり、高等学校の教科書には、植物では、葉の組織の構造を観察する実習がある。動物の組織の観察実習として、組織が硬く脱灰後切片をつくりやすい骨や軟骨の観察や、適度な強度をもつ筋肉繊維の観察実習がある^{2),3)}。

植物の葉の組織実習で使われる材料としては、旧課程のそれぞれの高校教科書では、ツバキとヒイラギ⁴⁾、ヤツデ、ツバキとヒイラギ⁵⁾、ツバキ⁶⁾、あるいはツバキとサザンカ⁷⁾ が用いられており、全て木本の硬い細胞壁をもつ植物である。これは、徒手切片にほどよい硬さをもつためと、細胞間隙に気泡が少なく観察しやすいためと思われる。新課程のそれぞれの高校教科書でもほぼ同様に、ツバキ⁸⁾⁻¹⁰⁾、植物の葉（本文にはハウセンカの葉の断面図あり）¹¹⁾、ツバキやヨメナ¹²⁾、ツバキ（結果にはハウセンカの葉の断面図あり）¹³⁾、実習の記述はない（本文にハウセンカの葉の断面図あり）¹⁴⁾ と、多くの教科書で実習にツバキの硬い葉が用いられており、一部、草本植物としてヨメナの葉が材料とされている¹²⁾。数例、ハウセンカの葉の断面図が掲載されている^{13),14)}。このように、材料の調達しやすさ、徒手切片のしやすさ、観察のしやすさから、ほとんどの実習でツバキやヒイラギといった硬い葉が用いられている。

以前の報告¹⁵⁾で、柔らかい葉を用いた植物の組織観察として、カイワレダイコンの子葉の成長と老化の観察を報告した。組織の徒手切片をつくるときに、ブロッコリーの茎を用いることで、柔らかい子葉の切片をつくることができた。この例のように、植物の葉の組織実習をする場合、ツバキという一つの植物に限定せず、また、硬い細胞壁をもった木本植物の葉に限定せず、草本植物など、もっと広範な植物を材料とすれば、より広がりのある実習が考えられる。

また、植物の組織実習として、葉以外に、茎や根の維管束の観察が行われており、教科書にはシュートの断面図も記述されている。花は植物の主要な構成要素であるが、花を材料とした観察実習としては、花を解剖して、ガク、花冠、雄ずい群、雌ずいと子房を理解する実習が一般的である。しかし、花の組織を観察する実習はほとんどないが、これは、葉よりも柔らかい花卉の切片作成が困難なためと思われる。そこで、本報告では、身近に見られる草本植物の数種を材料にして、比較的簡便な徒手切片法で、柔らかい葉や花卉の組織実習が可能かどうか検討した。

2. 材料と方法

葉の組織を観察する材料として、サンシキスミレ (*Viola tricolor*)、ヤエムグラ (*Galium spurium*) を

用い、対照としてツバキ (*Camellia japonica*) の葉を用いた。花の組織を観察する材料として、サンシキスミレ (*Viola tricolor*) の花卉、スイセン (*Narcissus tazetta*) の花被片と副花冠、ウメ (*Prunus mume*) の花卉を用いた。徒手切片をつくる際に市販されているブロッコリーの茎を用いた¹⁵⁾。

薄切切片の作成は以下のように行った。葉や花卉、花被片を約 5mm 角に切断した。ブロッコリーの茎を適当な大きさに切り、安全カミソリの刃で縦方向に切り込みを入れ、葉あるいは花卉をはさみ、安全カミソリの刃 (フェザー両刃カミソリ・ハイステンレス) で薄切切片を作成した。切片は蒸留水に浮かべ、蒸留水で封じて観察した。サンシキスミレやヤエムグラの葉、また、各種花卉の組織中には細胞間隙に気泡が含まれているために、顕微鏡で観察しにくい。この対策として、以下のように脱気した。約 5mm に切断した葉や花卉を、蒸留水を約 1/3 入れたガラス瓶 (バキュームバイアル SVF-3, 日電理科硝子) に入れ、中フタをし、周囲をパラフィルムでシールした。18G の注射針を装着した 1ml 用シリンジ (テルモ社) をシリコンチューブで真空ポンプ (ヤマト真空機器, MINIVAC PS-06) につなぎ、注射針をバイアルに挿入し、組織片から空気の泡の出が収まるまで約 10 分間脱気した。脱気後、水が細胞間隙に浸入した組織片は色が暗くなる。こののち上述したように組織切片を作成した。

組織の観察は光学顕微鏡 (ECLIPSE-E400; ニコン) で観察し、冷却 CCD カメラ (PENGUIN600CL; ピクセラ) で写真撮影を行った。

3. 結果と考察

従来から行われているツバキの葉の組織実習では、葉から 1 cm 四方の小片を切り出し、そのまま安全カミソリを用いて徒手切片を作成し顕微鏡で観察する。あるいは、葉の小片を発泡ポリスチレンに挟んで薄切する方法もある^{8), 11)}。初夏に実習する場合、新葉と旧葉で葉の硬さが異なり、どちらを用いてもよいが、硬い旧葉の方が適度な硬さがあり薄切しやすい。図 1 に徒手切片法で作成したツバキの組織像を示す。葉の上面 (向軸側) から、クチクラに被われた一層の表皮組織、二層の柵状組織と細胞間隙に富む海綿状組織とからなる柔組織、一層の表皮組織の順に背軸側へと配列している。葉脈を切断するように組織切片を作成すると、維管束鞘に囲まれ師管と道管が並列する維管束組織を観察することができる。組織の中には、金平糖の形をした炭酸カルシウムの結晶が散在する。一般的に、成熟した背腹葉の葉身は向軸側と背軸側に表皮があり、それらが、数層の柵状組織と海綿状組織からなる葉肉細胞と維管束を包み込んでいるが¹⁶⁾、ツバキの葉ではこれらの構成要素を観察することができる。この組織標本を観察し、丁寧にスケッチすること (図 2) で、背腹葉の構造や、葉と茎の維管束の連続性を理解し、生物の体が秩序だった構造をしていることを理解する内容が一般的である。

次に、ブロッコリーを用いた徒手切片法で、真空ポンプで脱気した軟らかいサンシキスミレの葉の組織像を図 3 に示す。図 3 から、徒手切片法により、軟らかい葉からでも組織の観察に十分な標本が作製できることがわかる。サンシキスミレの葉も、ツバキ同様、向軸側から表皮、二層の柵状組織、細胞間隙に富んだ海綿状組織、下面表皮へと背腹葉の基本構造をしていることがわかる。ツバキとの違いは、(1) 柵状組織や海綿状組織の葉肉細胞の細胞壁がうすいこと、(2) 柵状組織の葉緑体が細胞表面に敷石のように規則正しく配列していること、(3) 柵状組織内にも細胞間隙が見られること、(4) 二層目の柵状組織の形が円柱状でなく、一部海綿状組織に似た凹凸があること、(5) 海綿状組織の細胞が球形でなく、いくつかの突起をもつショウガの地下茎のような不定形をしていること、(6) 細胞間

隙に気泡がたくさん含まれていること、(7) 表皮細胞が大きいことなどである。このような組織の特徴により、ツバキの組織（図 1）と得られる印象が大きく異なる。

次に、ヤエムグラの葉の横断組織像を図 4 に示す。ヤエムグラの葉もツバキの葉と同様に、上面表皮、柵状組織、海綿状組織、下面表皮の順に配列している。ツバキとの違いは、(1) 細胞壁がうすいこと、(2) 柵状組織が一層であること、(3) 海綿状組織が凹凸のある形をしていること、(4) 表皮細胞が大きいことなどである。柵状組織が一層で、葉身が薄いため、ツバキの組織像と異なって見える。

このように、ツバキ以外の軟らかい葉の組織像を観察すると、特に海綿状組織の構造の違いが多いことに気づく。例えば、ツバキの海綿状組織（図 1）のように、断面図では球形をしているように見える。井上（'98）の植物の実習書¹⁷⁾にも、ツバキの断面図を示し、「柵状組織は長細い細胞が縦にぎっしりとつまっています。それに対して葉の裏側にある海綿状組織では、細胞はより球に近い形をしていて、細胞と細胞の間には広い間隙があります。」と記載がある。本報告のサンシキスミレ（図 3）やヤエムグラ（図 4）の組織で見られるように、海綿状組織がショウガの地下茎のように凹凸のある不定形をしているが、それがはっきりとわかる図を掲載した実習書は少ない。高校の教科書には葉の模式図で不定形をした海綿状組織の細胞を示しているものもあるが、実際の組織写真で示した例はない。走査型電子顕微鏡による葉の組織像で不定形をした海綿状組織を示した例¹⁸⁾や、アカモノの葉の多少いびつな形をした海綿状組織を示した例¹⁹⁾などがいくつかある。また、サンシキスミレの二層目の柵状組織も棒状ではなく、海綿状組織ほどではないが、細胞に凹凸が見られ、ツバキの柵状組織と形態が異なる。このように多様な葉の組織像を見比べることで、それらの相違が何に起因するかを考えると興味深い。

次に、花の組織像を示す。花も葉と同様にシュートから派生したものであるが、違う組織構造をもっているように誤解される可能性がある。図 5AB にサンシキスミレの最も大きな下部花卉、図 5CDE にスイセンの花被片と副花冠、図 5F にウメの花卉の組織像を示す。サンシキスミレの花卉の観察から、向軸側の表皮細胞は葉と異なり、円錐形をしていることがわかる。サンシキスミレの下部花卉基部はビロードのような光沢をもつが、これらの規則正しく配列した円錐形の表皮細胞に由来すると思われる。向軸側の表皮細胞には紫色の色素が満たされていることがわかる。背軸側の表皮細胞にも色素をもつ部分がパッチ状に散在する。内部の柔組織や背軸側表皮細胞（この花色の場合）には色素は存在しない（図 5AB）。柔組織の内部には維管束が存在しているのは、葉と同様である。スイセンの花被片は、向軸側と背軸側の表皮の間に柔組織が存在し、間に維管束が存在する（図 5CD）。おそらく、単子葉植物の葉と同様に、維管束が平行に配列していると思われる。スイセンの副花冠では（図 5E）、細胞全体に色素が存在しているのではなく、細胞の一方の端（葉の中心側）に黄色い色素が局在している。色素は最外層の表皮細胞だけでなく、二層目の細胞にも存在し、内側の柔組織にもかすかであるが、色素が存在しているように見える。このような組織像の観察から、花を構成する花卉や花被片も、葉と同様の組織から構成され、葉と相同であることが理解できる。また、色彩豊かな花卉の色は、少なくともこれらの植物では、表皮細胞の色素に由来することがわかる。ウメの花卉の組織像を図 5F に示す。ウメの花卉は軟らかく、本報告で用いた徒手切片法では観察に十分な切片をつくることは難しい。図 5F は厚い切片ではあるが、ウメの花卉も細胞でできていること、表皮に色素があることなどがおおまかに見ることができる。花卉の組織を観察する面白い実習として、はぎ取った表皮組織の中に含まれる色素を観察する実習が高校の教科書にあるが²⁰⁾、維管束や柔組織を含めた花卉組織を観察する例は少ない。

従来、植物組織を薄切する際には、ニワトコの髄（ピス）や発泡ポリスチレンに対象物を挟み、カミソリの刃で切断する。生材料を用いたものでは、ダイコンやニンジン根の利用した例がある⁹⁾。先の報告で¹⁵⁾、ブロッコリーの茎が水分の多い軟らかい植物組織の薄切に都合がよいことを示した。今回の報告で、脱気と併せて利用すれば、軟らかい草本植物の葉や花でも十分な標本が作成できることがわかった。脱気を行わない観察例を図 6 に示す。特に、軟らかい葉や花卉の場合、細胞間隙に気泡が多数含まれるため観察しにくい。葉の気泡をアスピレーターで脱気、固定・包埋後、切片を作成する観察例は他に報告がある²¹⁾。

ツバキが実習で多用されるのは従来から使われており、徒手切片が作りやすく、気泡が少なく、観察しやすいためであろう。成長後のツバキの葉を理解するだけであれば現状の実習で充分であろう。しかし、身の回りには多種多様な植物があり、生徒が興味をもつ植物も多様であろう。そのような場面で、ツバキなど数種の葉だけでなく、各自好みの様々な植物の葉を材料にすることができればより興味を引くだろうし、また各生徒が観察した多様な植物の葉を比較することも興味づけには有効であろう。また、ツバキを用いた実習例として、旧葉と比べ新葉の海绵状組織には細胞間隙が少ないことを観察する実習があり興味深い²²⁾。このようなツバキの基本実習に加え、本報告の手法により、多様な植物の組織の比較、あるいは内部組織の変化を捉える実習、例えば、発生中の植物の組織変化を検討する実験、カシなどの木本植物が陰陽下で柵状組織に違いが生じる現象⁸⁾⁻¹³⁾などを、より身近な草本植物で調べる実験など、もっと幅広い植物の組織実習が可能と思われる。

本報告のカラー図版は本紀要の H P を参照されたい。

4. 引用文献

- 1) 竹内敬人, 山極隆他 (2005) 中学校理科 2 分野上 (平成 18 年度用) .p.35. 啓林館 .
- 2) 太田次郎, 本川達雄他 (2004) 高等学校生物 I (平成 16 年度用) .pp.50-57. 啓林館
- 3) 吉里勝利 (監修) (2004) 最新図説生物 (2004 年度用) .pp.24-27. 第一学習社 .
- 4) 石原勝敏, 庄野邦彦他 (1999) 新版生物 IB (平成 11 年度用) .p.55. 実況出版 .
- 5) 市村俊英, 根本和成他 (1999) 詳説生物 IB (平成 11 年度用) .p.51. 三省堂 .
- 6) 太田次郎, 丸山工作他 (1999) 高等学校生物 IB (平成 11 年度用) .pp.50-51. 啓林館 .
- 7) 田中隆莊他 (1996) 高等学校生物 IB (平成 8 年度用) .p.55. 第一学習社 .
- 8) 石川 統他 (2005) 生物 I (平成 17 年度用) .pp.58-59. 東京書籍 .
- 9) 石原勝敏, 庄野邦彦他 (2005) 新版生物 I (平成 17 年度用) .pp.42-43. 実況出版 .
- 10) 毛利秀雄他 (2005) 生物 I (平成 17 年度用) .pp.44-45. 三省堂 .
- 11) 太田次郎, 本川達雄他 (2003) 高等学校生物 I (平成 15 年度用) .pp.50-56. 啓林館 .
- 12) 田中隆莊他 (2005) 高等学校生物 I (平成 17 年度用) .p.51. 第一学習社 .
- 13) 川島誠一郎他 (2005) 高等学校生物 I (平成 17 年度用) .p.60. 数研出版 .
- 14) 堀田凱樹他 (2005) 生命の探求生物 I (平成 17 年度用) .p.15. 教育出版 .
- 15) 梶原裕二, 山川さやか, 田中 渚 (2006) 植物組織を観察する教材としてのハツカダイコン . 京都教育大学紀要 :109 号, .pp.1-8.
- 16) P. ルダル (1997) 植物解剖学入門 植物体の構造とその変化, 鈴木三男, 田川裕美訳 .pp. 71-93.

八坂書房 .

17) 井上 勤 監修 (1998) 植物の顕微鏡観察 新版顕微鏡観察シリーズ 2, pp.133-135. 地人書館 .

18) H. Lambers, F.S. ChapinIII, and T.L. Pons (1998) Plant Physiological Ecology, pp.10-11. Speinger-Verlag New York Inc.

19) 原 襄 (1994) 植物形態学 .pp.59-65. 朝倉書店 .

20) 黒岩常祥他 (2005) 新編生物 I - 生命の世界へ - (平成 17 年度用) .pp.40-41. 数研出版 .

21) 福原達人 植物組織の観察 . (パラフィン切片法)

<http://www.fukuoka-edu.ac.jp/~fukuhara/jikken/paraffin.html>.

22) 啓林館 新編生物 I 実験 5 植物組織の組織

http://www.keirinkan.com/kori/kori_biology/kori_biology_n1

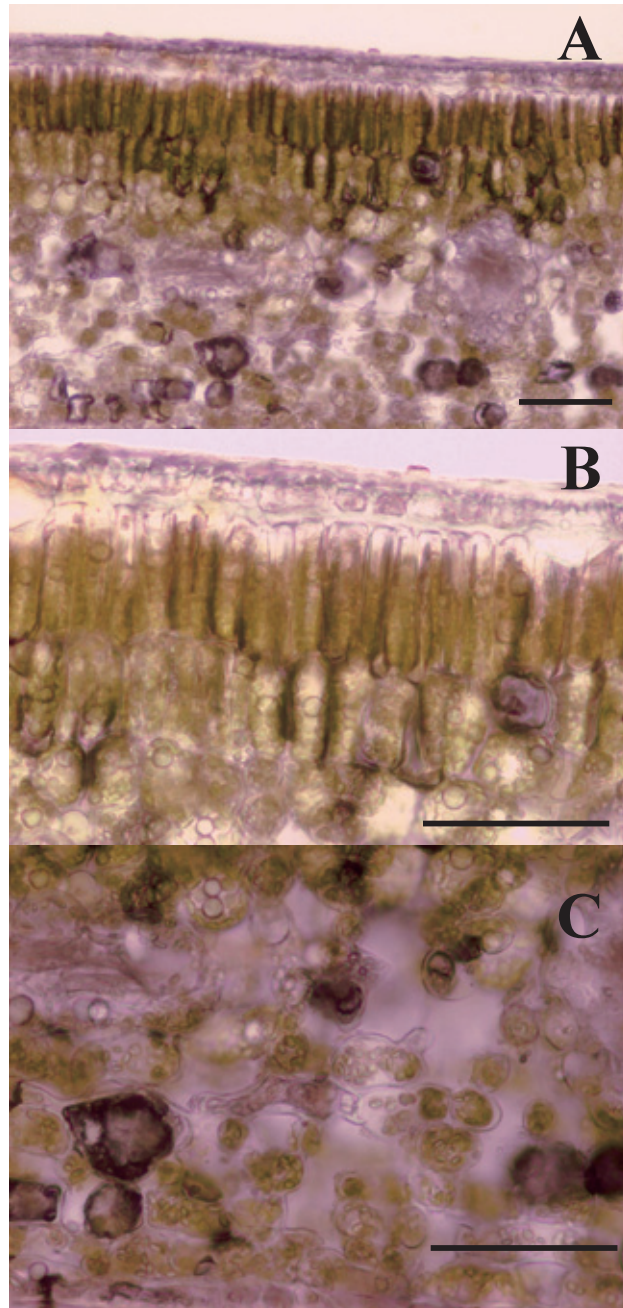


図 1

ツバキの徒手切片による組織像（脱気せず）。全体像（A）から、背腹葉（両面葉）であるツバキの葉には、向軸側（上面）から、クチクラに被われた一層の上面表皮、二層の柵状組織（B）と細胞間隙に富む海綿状組織（C）からなる柔組織、一層の下面表皮細胞の順に背軸側へと配列している。葉脈を切断するように組織切片を作成すると、維管束鞘に囲まれた維管束（A）を観察することができる。スケールバーは 100 μm 。

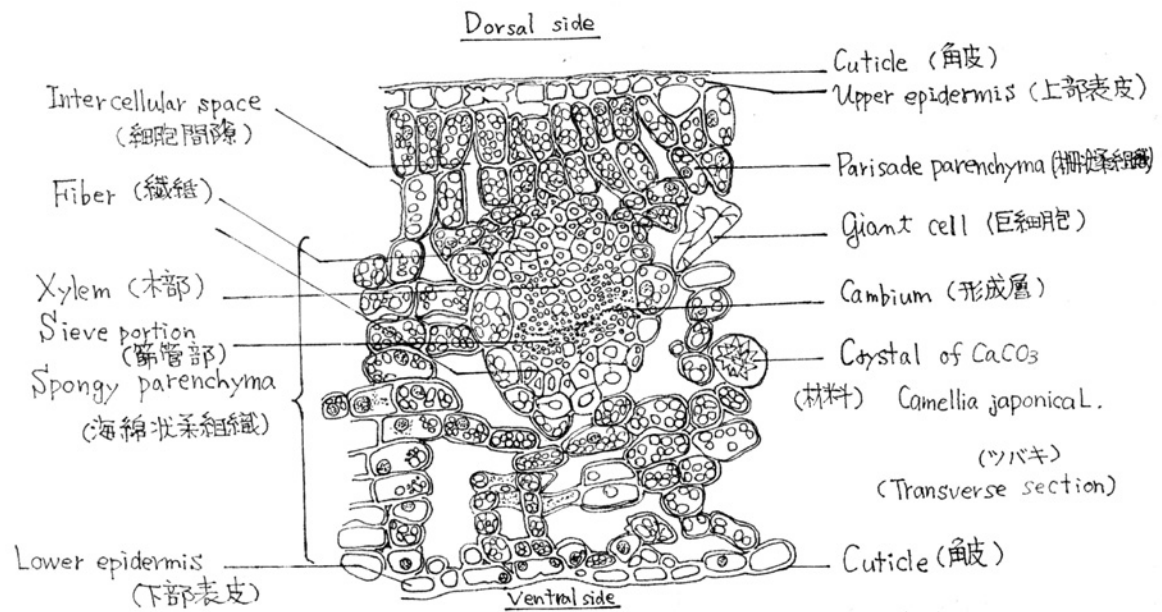


図 2

ツバキの葉断面のスケッチ。

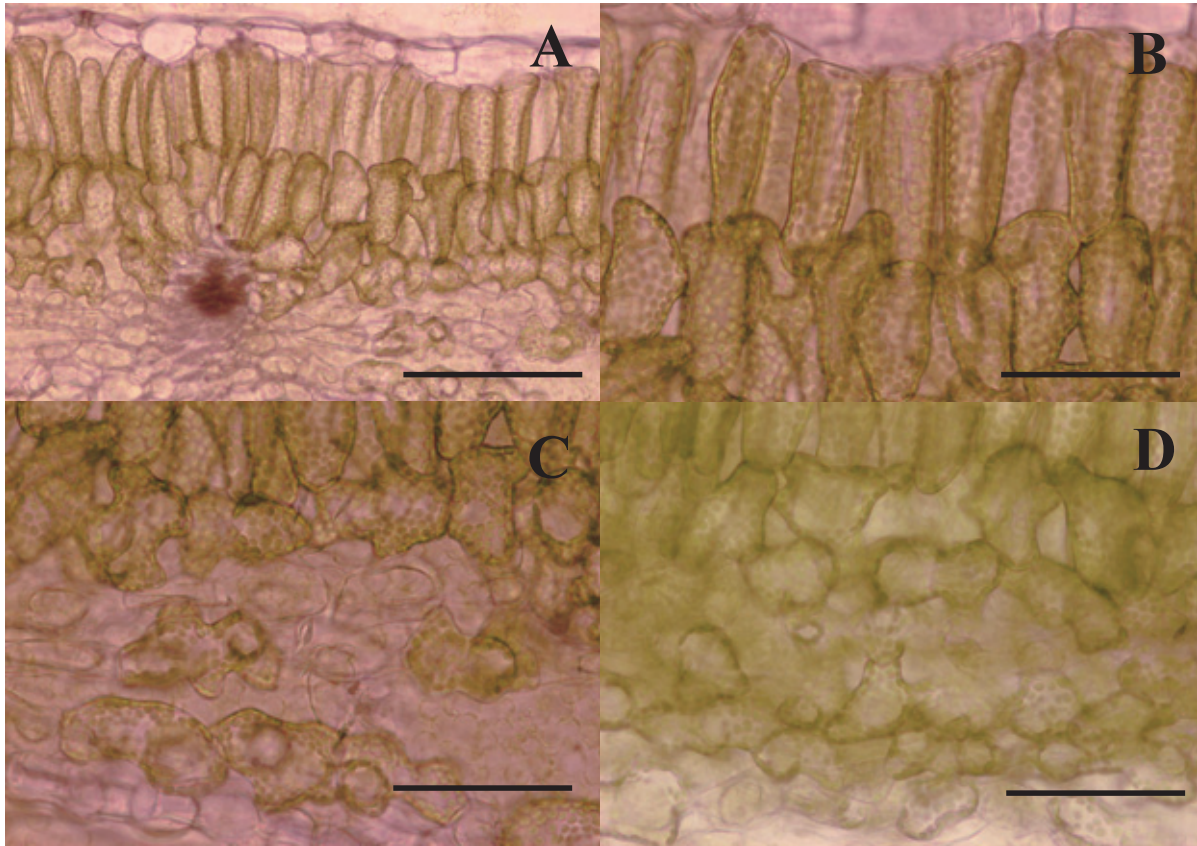


図 3

サンシクスミレの葉の断面像 (A)。軟らかい葉からでも、脱気後の徒手切片法により、組織の観察に十分な顕微鏡標本が得られる。ツバキと同様の基本構造をしていることがわかる。しかし、柵状組織 (B) や海綿状組織 (C, D) の葉肉細胞の細胞壁がうすいこと、柵状組織の葉緑体が細胞表面に敷石のように規則正しく配列していること、柵状組織内にも細胞間隙が見られること、二層目の柵状組織の形が円柱状でなく、一部海綿状組織に似た凹凸があること、海綿状組織の細胞が球形でなく、多くの突起をもつショウガの地下茎のような不定形をしていること、表面細胞が大きいことなどの違いがある。スケールバーは 100 μm (A) と 50 μm (B-D)。

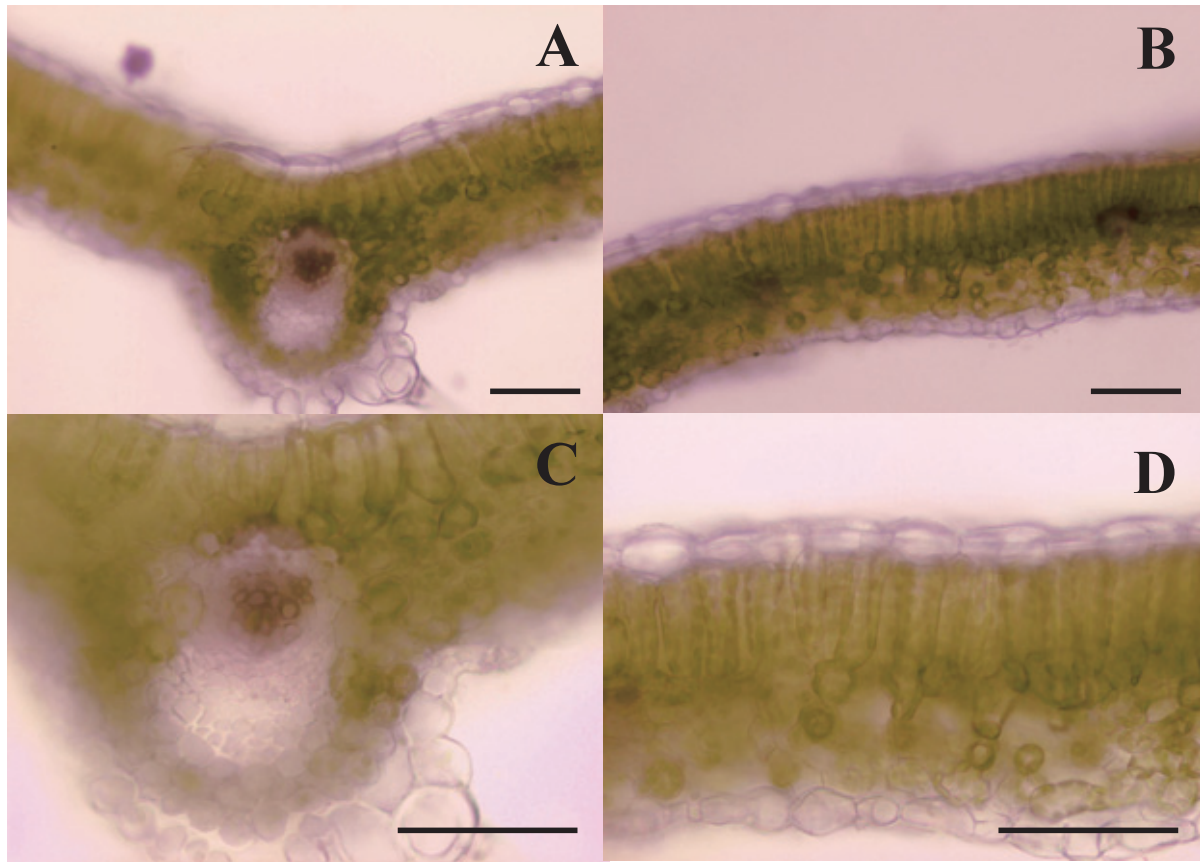


図 4

ヤエムグラの葉の断面像 (A, B; C, D は拡大図)。A 図は葉身中央の中肋部分, B 図は葉肉細胞に富む葉身部分を示す。ヤエムグラの葉もツバキ同様, 表皮組織, 柵状組織, 海綿状組織, 下面表皮の順に配列している。ツバキとの違いは, 細胞壁がうすいこと, 柵状組織が一層であること, 海綿状組織が凹凸のある形をしていること, 表皮細胞が大きいことなどである。A 図では, 中肋部分から背軸側へ表皮細胞の突起が観察できる。スケールバーは 100 μm 。

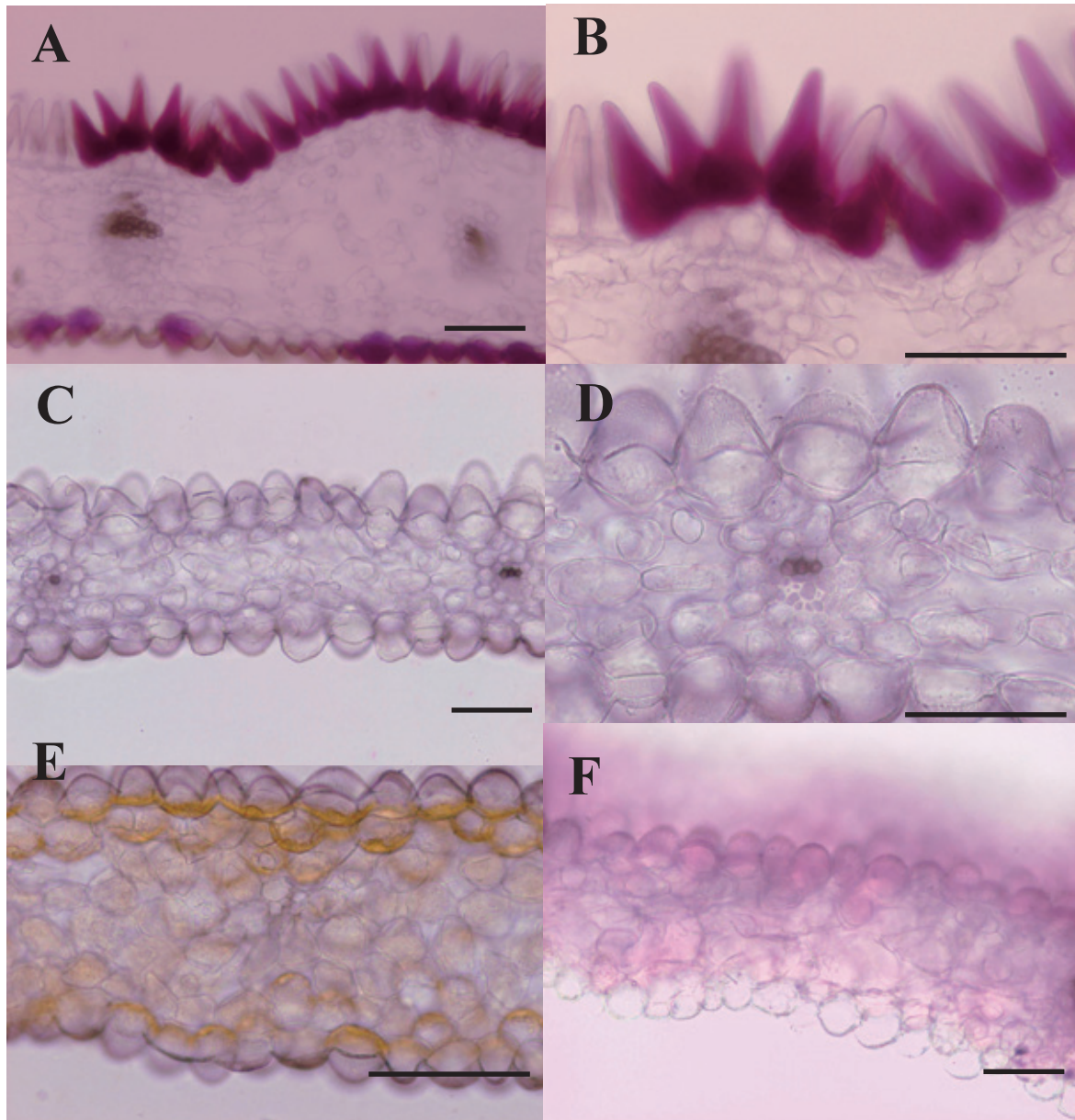


図 5

草本植物の花の組織像。サンシキスミレの花弁の断面像 (A)。表皮細胞全体が色素をもつ円錐形の上面表皮，内部に無着色の柔組織，また，ところどころパッチ状に色素をもつ下面表皮が存在する。柔組織の間に，維管束が存在し，葉と同様な組織であることがわかる。表皮細胞と維管束の拡大 (B)。

スイセンの花被片 (C, D) と副花冠 (E) の断面像。花被片には色素がふくまれておらず，上下の表皮細胞の間に柔組織が存在していることがわかる。柔組織には維管束が存在する。副花冠には表皮の細胞の一端（葉の中心側）のみに色素が存在している。色素をもつ細胞は向軸側では二層あるように見える。下面表皮にも色素が存在している。表皮細胞の形態は花被片と似ている。ウメ（紅梅）の花弁の断面像 (F)。ウメの花弁は大変軟らかく，今回の徒手切片法では薄切は困難である。ぼんやりとであるが，上側の表皮組織に色素が含まれているように見える。スケールバーは 100 μm 。

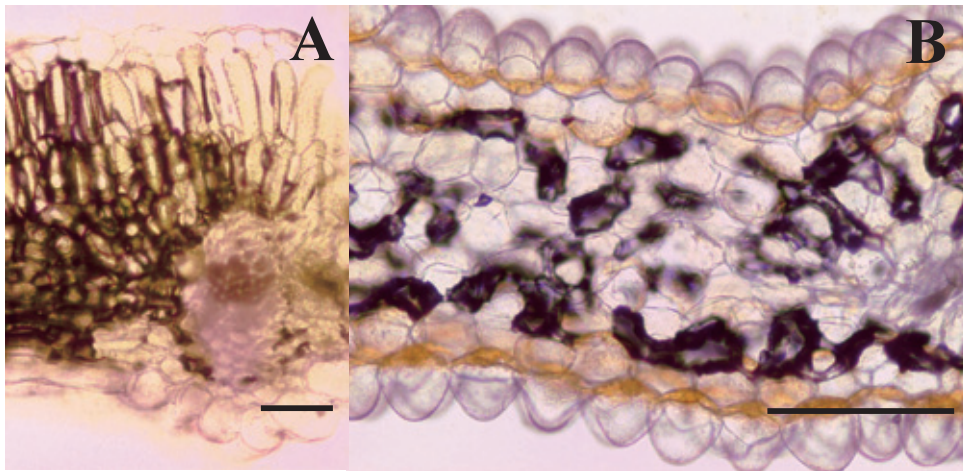


図 6

脱気する前の組織像。サンシキスミレの葉の断面像（A）とスイセンの副花冠の断面像（B）。気泡が細胞間隙に多数存在し、観察しにくい。スケールバーは 100 μm 。