

植物の葉にみられる斑紋の解剖学的観察

倉田薫子・後藤良祐*

Anatomical observation of spots on plant leaves.

Kaoruko KURATA, Ryosuke GOTO

要旨

植物の葉に出現する斑紋には、様々な色や形状がある。斑紋の形成要因については過去に「クロロフィル型」「色素型」「細胞空隙型」「表皮型」「付属物型」の5つが示されているが、これらの要因によって形成された斑紋の適応的意義については明らかになっていない。

本研究では斑紋を持つ植物12科15種について、徒手切片による葉の解剖学的観察を行った。それにより、15種のうち14種が色素の多様化に伴う斑紋を、4種が構造の多様化に伴う斑紋を持つことが明らかになった。このうち5種は複合的な要因によるものであった。これまでの報告では、斑紋の形成要因が複合的であることは稀であると報告されているが、実際には2つ、またはそれ以上の要因で斑紋が形成されている可能性を示した。また本研究では、これまで定義されていた斑紋出現要因のうち、「クロロフィル型」については、色素の欠乏であるとされていたが、クロロフィルの集積によるものを含むべきであること、「表皮型」については表皮細胞の厚さの変化であるとされていたが、表皮細胞の形状の変化によるものも含むべきであることを提唱した。斑紋には広く多型性があるため、斑紋形成の複合的要因と斑紋形成機構を明らかにし、その適応的意義を生態学的・生地的要因から明らかにすることが期待される。

緒論

植物の葉は一般に、葉肉細胞内に存在する葉緑体により緑色を呈するが、一部の植物では特異的な要因により異なる色をした斑紋を形成することがある。この斑紋には色や形状に極めて大きな多様性があり、その適応的意義についてはこれまでに様々な仮説が提唱されている。例えば、サトイモ科の *Caladium steudneriifolium* は、葉に虫の幼虫による被食痕を模倣した斑紋を形成することで、ガによる葉への産卵を防止すると推察されている (Soltau *et al.*, 2009)。また、葉の内部に蓄積したアントシアニンなどの赤色色素により形成される斑紋については、ハキリアリを用いた摂食試験で、葉に含まれるアントシアニンの含量が増加するに従ってハキリアリの嗜好性が低下すると報告されている (Goley & Aide, 1989)。このように、斑紋には被食者から葉を守るための役割があると考えられているが、ほとんどの種において斑紋の適応的意義や形成機構は明らかにされていない。

注* 横浜国立大学大学院教育学研究科修士課程

Hara (1957) は、斑入り植物における斑紋の出現パターンを以下の 4 タイプに分類している； I：クロロフィル型，II：色素型，III：細胞空隙型，IV：表皮型。

さらに、この 4 つのタイプは斑紋の出現するメカニズムにより“色素の多様化”と“構造の多様化”の 2 種類に大別されると定義した (表 1, 図 1-I~IV)。

その後、Zhang *et al.*

(2020) は 70 科 117 種の斑入り植物の切片観察により、新たなタイプとして葉の表皮に多細胞で構成された突起により斑が生じる”appendages type (付属物型, 図 1-V)”を定義するとともに、約 56% の種が細胞空隙型であることを報告した。

本研究では、予備的観察において、これまで報告されてこなかった複合的な要因による斑紋形成をしている種が多く見られたことから、葉に形成される斑紋の形成要因について詳細に検討し、斑紋の多型性と形成要因を再検討することを目的とした。

材料と方法

斑紋を持つ植物 12 科 15 種 (表 2) について、徒手切片による葉の解剖学的観察を行った。それぞれの種の葉において、異なる色を呈する部位について剃刀とカッティングマットを用いて切片を作成し、光学顕微鏡 CX31 (OLYMPUS) によって 100 倍及び 400 倍で観察した。また、デジタル顕微鏡システム DM-5000 (SATOTECH) を用いて切片の写真を撮影した。

結果

観察した徒手切片の写真を図 2 に、それぞれの植物の斑紋出現要因を表 2 に示す (以下、カッコ内の番号は図 2 の写真番号を示す)。15 種のうち、クロロフィル型の特徴を持つ種は 8 種、色素型は 8 種、細胞空隙型は 1 種、表皮型は 3 種であった (表 3)。単一の出現要因を持つ種 (以降、単一タイプとする) は 10 種、複数の出現要因を持つ種 (以降、複合タイプとする) は 5 種であった。

表1. 斑紋のタイプとその出現要因 (Hara, 1957) .

	タイプ	斑紋の出現要因
色素の多様化	I: クロロフィル型	クロロフィルの欠乏
	II: 色素型	クロロフィル以外の色素を含有
構造の多様化	III: 細胞空隙型	表皮細胞の下にできた空間による光の乱反射
	IV: 表皮型	表皮細胞の厚みの違いによる反射率の相違

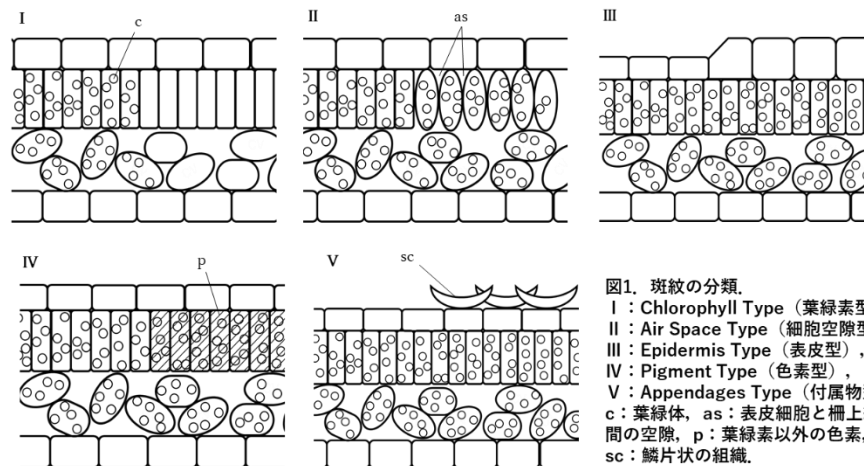


図1. 斑紋の分類。
I : Chlorophyll Type (葉緑素型),
II : Air Space Type (細胞空隙型),
III : Epidermis Type (表皮型),
IV : Pigment Type (色素型),
V : Appendages Type (付属物型),
c : 葉緑体, as : 表皮細胞と柵上組織間の空隙, p : 葉緑素以外の色素,
sc : 鱗片状の組織。

表2. 植物の葉に現れる斑紋の出現要因。該当するタイプを“+”で示した。

種名	色素の多様化		構造の多様化		科名/学名
	クロロフィル型	色素型	細胞空隙型	表皮型	
ポトス	+	-	-	-	サトイモ科 <i>Epipremnum aureum</i>
ツルニチニチソウ	+	-	-	-	キョウチクトウ科 <i>Vinca major L. 'Variegata'</i>
ストロマンテ	+	-	-	-	クズウコン科 <i>Stromanthe sanguinea 'Multicolor'</i>
シクラメン	+	-	-	-	サクラソウ科 <i>Cyclamen persicum</i>
オオイヌタデ	-	+	-	-	タデ科 <i>Persicaria lapathifolia</i>
ゼラニウム	-	+	-	-	フクロソウ科 <i>Pelargonium sp.</i>
トキワマンサク	-	+	-	-	マンサク科 <i>Loropetalum chinense</i>
ヒポエステス	-	+	-	-	キツネノマゴ科 <i>Hypoestes sp.</i>
ヒメツルソバ	-	+	-	-	タデ科 <i>Persicaria capitata</i>
シママラサキツユクサ	-	-	+	-	ツユクサ科 <i>Tradescantia zebrina</i>
ハツユギカズラ	+	+	-	-	キョウチクトウ科 <i>Trachelospermum asiaticum</i>
アイビー	+	+	-	-	ウコギ科 <i>Glechoma hederacea 'Variegata'</i>
ミスズレキ	-	+	-	+	タデ科 <i>Persicaria filiformis</i>
マタタビ	+	-	-	+	マタタビ科 <i>Actinidia polygama</i>
ハンゲショウ	+	-	-	+	ドクダミ科 <i>Saururus chinensis</i>

(1) 単一タイプ

クロロフィル型

クロロフィル型の単一タイプは4種(26.7%)見られた。ポトスおよびツルニチニチソウは、葉に不規則な白い斑紋が出現し(1A, 2A)、その白色部分では葉肉細胞に葉緑体がまったく見られなかった(1B, 1C, 2B, 2C)。ストロマンテの葉の向軸側表皮では緑、緑白色、白の

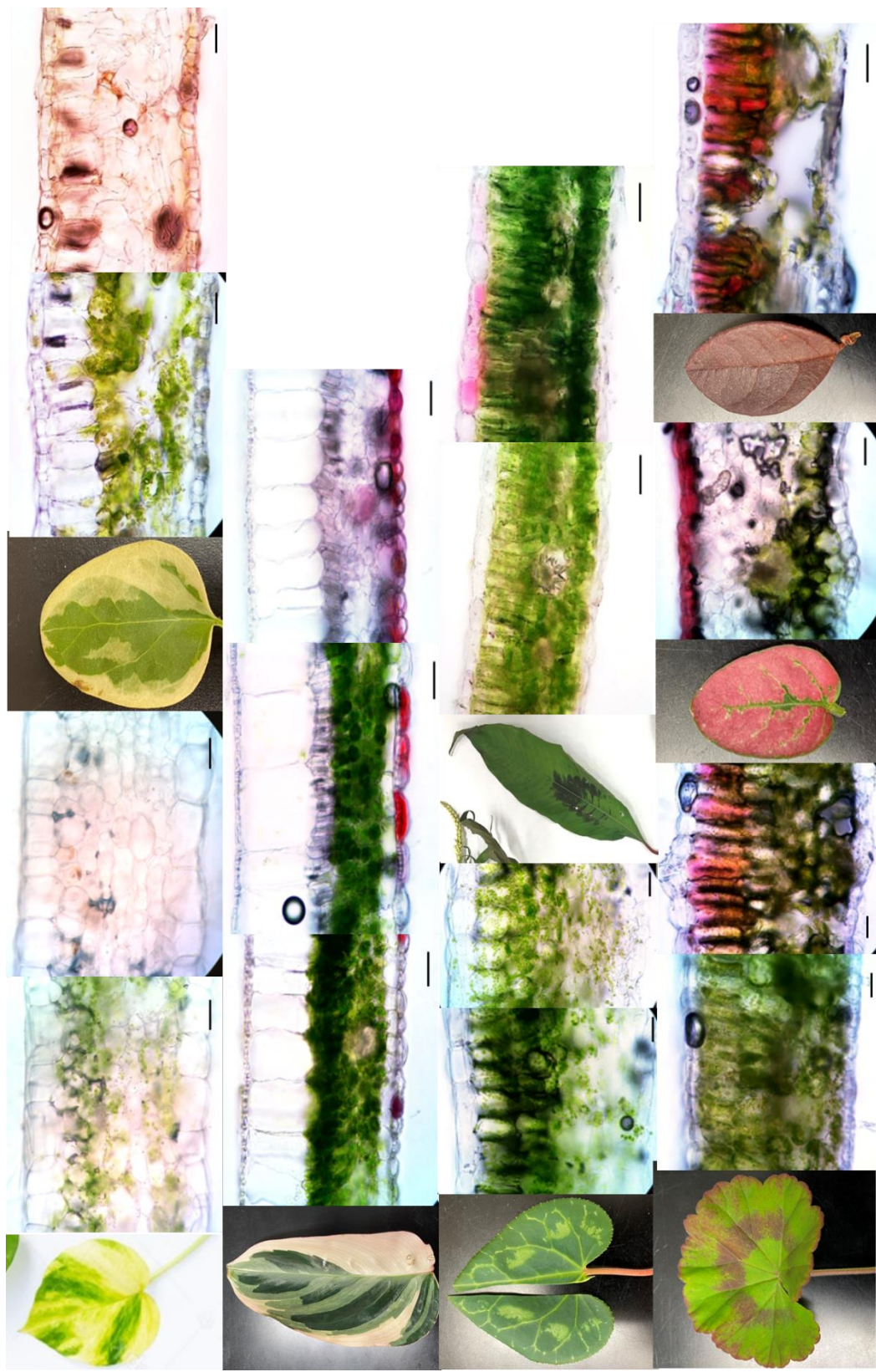


図 2. 植物の葉の横断切片. A にはそれぞれの植物の葉の全体像, B~D にはそれぞれの部位における切片写真をあげた.

- 1A: ポトス, 1B: 緑色部, 1C: 白色部, 1D: ツルニチニチソウ, 2A: 緑色部, 2B: 緑色部, 2C: ストロマンテ, 2D: 緑白色部, 3A: 白色部, 3B: 緑色部, 3C: 緑白色部, 3D: 白色部, 4A: シクラメン, 4B: 緑色部, 4C: 黄緑色部, 4D: オオイヌタデ, 5A: 赤褐色部, 5B: 緑色部, 5C: ゼラニウム, 5D: 褐色部, 6A: トキワマンサク, 6B: 赤褐色部, 6C: 赤褐色部, 6D: ヒポエステス, 7A: 赤褐色部, 7B: 赤褐色部, 7C: ヒポエステス, 7D: 赤褐色部, 8A: 赤褐色部, 8B: 赤褐色部, 8C: ヒポエステス, 8D: 赤褐色部. Scale bar = 50 μm.

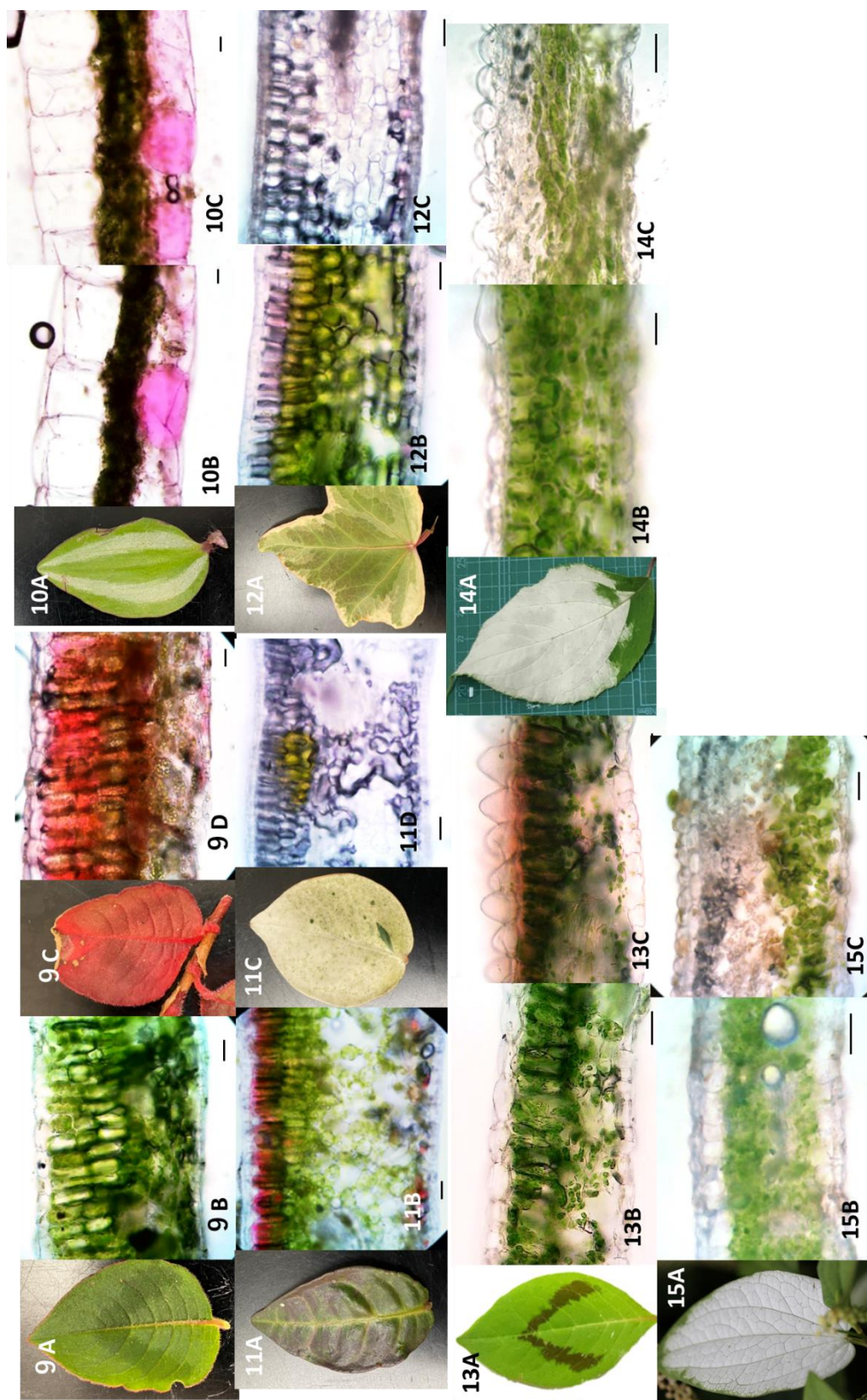


図 2. (続き) .

9A: ヒメツルソバ (緑色葉) , 9B: 緑色部 , 9C: ヒメツルソバ (赤色葉) , 9D: 赤色部 , 10A: シマムラサキユクサ , 10B: 緑色部 , 10C: 白色部 , 11A: ハツキカズラ (褐色葉) , 11B: 褐色部 , 11C: ハツキカズラ (白色葉) , 11D: 白色部 , 12A: アイビー , 12B: 緑色部 , 12C: 白色部 , 13A: ミズヒキ , 13B: 緑色部 , 13C: 赤褐色部 , 14A: マタビ , 14B: 緑色部 , 14C: 白色部 , 15A: ハンゲシヨウ , 15B: 緑色部 , 15C: 白色部 . Scale bar = 50µm.

3色が斑紋として識別されるが(3A), 緑色部分では柵状組織に密に存在する葉緑体が, 緑白色では柵状組織から完全に葉緑体が消失しており, 白色部分では柵状組織と海面状組織のすべての葉緑体が消失していた(3B, 3C, 3D)。また背軸側表皮は赤色であるが, これは裏側表皮細胞に赤色色素が蓄積していたものの, 向軸側表皮の色とは関連がなかった。

シクラメンは深い緑色に黄緑の斑紋が生じるが(4A), 黄緑色部分では濃緑色部分と比較して葉緑体が少なかった(4B, 4C)。

色素型

色素型の単一タイプは, 5種(33.3%)見られた。オオイヌタデおよびゼラニウムは, 葉の一部に褐色~赤色の斑紋が出現する(5A, 6A)。この斑紋部分では, オオイヌタデの場合は表皮細胞に(5C), ゼラニウムでは葉肉細胞に(6C), 赤色色素が蓄積していた。トキワマンサク, ヒポエステス, ヒメツルソバは葉全体が赤色になるが(7A, 8A), トキワマンサクでは主に柵状組織に(7B), ヒポエステスでは表皮に赤色色素が蓄積していた(8B)。ヒメツルソバは気温によって葉の色を変えることが観察から明らかになっており, 緑色の葉では全体に葉緑体を持っているが, 赤色の葉では全体に赤色色素を蓄積し, さらにV字の斑紋部分では葉緑体が多く存在していた(9A~9D)。このように, 赤色を呈する斑紋では, 共通して赤色色素を含有することは確認できたが, 色素が蓄積される場所は種によって異なることが明らかになった。赤色色素はストロマンテの背軸側表皮にも確認されたが, 向軸側表面に生じる色の変化に影響を与えないため, 色素型には含めないこととした(3C, 3D)。

細胞空隙型

細胞空隙型の単一タイプはシمامラサキツユクサのみであった(6.7%, 10A)。細胞空隙は極めて小さく, 判別するのが難しいこと, この細胞空隙によって反射が起こっていることを実証するのは困難である。

表皮型

表皮型の単一タイプは1種も存在しなかった(0%)。表皮型の定義としては, 表皮細胞の厚みの違いによる光の反射率の違いであるとされていたが(Hara, 1957), 今回使用した材料の中ではストロマンテとシمامラサキツユクサの表皮細胞が他の種と比べて極端に大きく角ばっていた(3Bと10B)。しかし, 表皮細胞のサイズ(特にHara, 1957で定義されている細胞の縦の長さ)と斑紋の出現とは関連がなかった。また, 表皮細胞の厚みではなく, 表皮細胞の形状が異なる部分に斑紋が現れる種として, マタタビとハンゲショウ, ミズヒキが挙げられる。マタタビとハンゲショウの白色部分においては表皮細胞がドーム型(14C, 15C), ミズヒキの褐色斑紋部分においてはコーン型であった(13C)。

(2)複合型タイプ

斑紋が複合的な要因で生じている種は5種(33.3%)あった。そのうち, 【クロロフィル型

【色素型】はハツユキカズラとアイビー（11A, 12A），【色素型+表皮型】はミズヒキ（13A），【クロロフィル型+表皮型】はマタタビとハンゲショウ（14A, 15A）であった。

ハツユキカズラでは、1本の枝の先端に向かって褐色から白色へ葉の色が変化する（11A, 11C）。根元に近い褐色の葉では、葉の表皮に赤色色素が蓄積する色素型、枝先の白色葉では葉緑体が消失するクロロフィル型であった。またアイビーでは1枚の葉の中でも斑紋の色によって、柵状組織に色素を蓄積したり、葉緑体を消失したりと要因が混在していた（12B, 12C）。

ミズヒキでは、葉の中央にあるV字の斑紋部分の表皮及び葉肉細胞に赤色色素が蓄積していた。しかしその部分の葉緑体は消失しておらず、葉緑体の密度が高かった。また表皮細胞はコーン状であった（13B, 13C）。

マタタビとハンゲショウは、これまで細胞空隙型単一タイプに分類されていた（Zhang *et al.*, 2020）が、本研究では細胞空隙は見られず、葉緑体の消失と、斑紋部分の表皮細胞がドーム状に変形した特異な構造が確認された（14C, 15C）。

考察

色素の多様化と構造の多様化

Hara（1957）の分類によると、斑紋の出現には「色素の多様化」と「構造の多様化」の2つの形成機構が存在する（表1）。このうち、色素の多様化においては、葉緑素の欠乏や色素の蓄積によって斑紋が形成される。葉緑素や色素の合成・分解は、植物が日常的に行っている生理学的な代謝である。例えば新葉展開時の葉肉細胞の発達に伴って葉緑体は形成され、落葉時には分解・吸収されて緑色が消失する。また新芽展開時の被食防御のために赤色色素であるアントシアニンを新芽に蓄積するカナメモチ（バラ科）や、寒冷な環境下で総苞にアントシアニンを合成するポインセチア（トウダイグサ科）もよく知られている。このような日常的に利用している色素の代謝によって生じる斑紋形成は、比較的容易に起きると考えられる。

一方で構造の多様化については、成長点において、未分化細胞のステージで形態形成発現機構を変化させる必要があると推察される。これは、マタタビにおける予備的観察において、白色の葉は展開時から表皮細胞の形状を変化させていたことから支持される（長田ら、未発表）。すなわち、構造の多様化はボディプランの変更が必要であり、色素の多様化と比較して大きなコストがかかるために、この要因により斑紋が生じている種数が多くないと考えられる。しかし、細胞空隙型は、Hara（1957）で60%、Zhang *et al.*（2020）は56%の種で観察されている。細胞空隙は、表皮と葉肉細胞の成長速度が一致しないことによって生じる（Hara, 1957）とされており、発生初期における形質発現には影響されていないことから、多くの種でみられると考えられる。

複合型タイプの斑紋発現

クロロフィル型のストロマンテの観察結果（3B~3D）をみると、緑色部位では葉緑体が柵

状組織にも海面状組織にも十分に観察できるのに対し、緑白色部位では柵状組織から、白色部位ではすべての葉肉細胞から葉緑体が消失していた。このように、段階的に葉緑素量をコントロールすることで、複数の色を呈することも可能であることが示された。

クロフィル型と表皮型の複合タイプであるマタタビとハンゲショウは、花期に葉を白化させることによって昆虫に対する誘引効果を持ち、花期が終ると緑色に戻ると考えられてきた（奥山，1962）。この2種の切片観察では、白色部位では柵状組織相当の細胞から葉緑体が消失していることと、表皮細胞の形状がドーム型に変化していることが明らかになった（14C, 15C）。柵状組織にある葉緑体を分解・回収するだけでは、ストロマンテと同様に緑白色を呈すると考えられるが、実際にはこの2種の葉は純白を呈する。これは、もう1つの要因である表皮構造の変化によって光の反射が変わり、緑白色を純白に見せる構造色として機能している可能性がある。一方で花期のみ白化することを考えると、表皮構造を緑色部位のような平坦な構造へ変化させることは容易ではないと推察されるため、今後時限的に色を変化させる葉の経時的な切片観察が期待される。

斑紋部位における光合成効率

クロフィル型による白化が起きている葉では、白色部位から葉緑体を完全に失っていることが多い。ハンゲショウやマタタビのように時限的な白化であるなら、より適応的な性質である場合もあるが、ポトス、ツルニチニチソウ、ストロマンテ、ハツユキカズラ、アイビーなどでは、葉のほとんどが白化しているような個体も見られる。葉緑体がないと光合成効率が低下し、生存には不利な条件となるため、自然条件においては白色部位の大きい個体は自然選択されているのかもしれない。一方で、小さな面積の白色斑紋は、蛾の卵に擬態して新たな産卵を防止する効果があったり（Soltau *et al.*, 2009）、鳥の糞や擬態による警告色として機能することもある（Lev-Yadun, 2014）と報告されている。マリアアザミの白斑は、葉の温度を上昇させ、低温下で光合成速度を上昇させる可能性も示唆されており（Shelef *et al.*, 2019）、植物の生態学的、生理学的要因の相互的な効果によって、より有利な生存戦略として機能している可能性がある。

色素型による斑紋では、今回の研究のすべての種でアントシアニンと推察される赤色色素が蓄積されていた。アントシアニンには、動物からの被食防御、紫外線防御、環境ストレスの緩和などの効果が知られており（Goley *et al.*, 1989; Gould, 2004; Campitelli *et al.*, 2008）、低温条件や紫外線照射で合成量が増加することが報告されている（Nozaki *et al.*, 2006; Guo *et al.*, 2008）。アントシアニンは植物にとって一般的な色素であり、これを葉に蓄積して様々な適応戦略に利用することは、新たな代謝系を作り出すより容易である。一方でアントシアニンは紫外線防御にも使われるように、葉に当たる光を阻害するので、その代償として光合成効率を低下させてしまう可能性がある。例えばミズヒキやオオイヌタデでは、斑紋部分により多くの葉緑素を蓄積していた（5B, 13B）。ミズヒキにおいては、葉の成長途上でアントシアニンが消失し、結果的に多く蓄積された葉緑体によって濃緑色の斑紋が現れる（葉緑素量データは示さない）。このことは、光合成効率を低下させないための対応であると考えられる。

色素型の斑紋を持つ 8 種では、赤色色素を表皮細胞か葉肉細胞のどちらかに蓄積していた（表皮細胞 2 種、葉肉細胞 6 種）。両方に蓄積するものはなかった。色素を蓄積する際、表皮細胞の方が局在化させることが可能で他の代謝系に影響を与えないと考えられるが、実際には葉肉細胞に蓄積するものの方が多かった。赤色色素の合成系とその所在については、さらなる研究が必要である。

細胞空隙型切片作成の問題点

Hara (1957)では 24 科 55 種中 33 種 (60%)、Zhang *et al.* (2020) では 55 科 117 種中 79 種 (約 56%) が細胞空隙型であると報告されていたが、本研究では 12 科 15 種中 1 種のみであった。また、これまで細胞空隙型であると考えられてきたマタタビやハンゲショウにおいて、表皮細胞下に空隙は確認されなかった (14C,15C)。細胞空隙はきわめて微細な構造で、徒手切片の作製条件や観察条件によっては容易に構造が変化してしまう可能性があり、本研究では観察することができなかつた可能性がある。細胞空隙を壊さずに切片を作製する技術的な問題解決が望まれる。

斑紋形成要因の再分類

先行研究において、葉の斑紋には大きく分けて 5 つのタイプが存在することが認められている (図 1)。Hara (1957) は 24 科 55 種の植物の観察から、斑紋出現要因としてクロロフィル型、細胞間隙型、色素型、表皮型の 4 つを、Zhang *et al.* (2020) は、55 科 117 種の植物の観察から、これに加えて附属物型の 5 つを提唱している。しかし先行研究においては、クロロフィル型は「葉緑体の欠乏により生じる斑紋」と定義されている。したがってミズヒキのように、斑紋部位に過剰な葉緑素を集積することにより形成される濃緑色の斑紋をクロロフィル型に定義づけることができない。よって、従来のクロロフィル型の定義を見直し、「クロロフィルの欠乏および集積」とすることを提唱する。

同様に「表皮型」では、これまで「表皮細胞の厚みの違いによる反射率の相違」と定義づけられている。しかしながら本研究では、表皮細胞の形状がコーン状やドーム状に変化した種が 3 種 (マタタビ、ハンゲショウおよびミズヒキ) 見出された。この形状の違いが構造色としてどのように機能しているのかについてはさらなる検討が必要であるものの、表皮の構造が緑色部位と異なることは明らかであることから、厚みだけでなく形状の違いについても表皮型に分類されることがふさわしいと考える。よって、従来の表皮型の定義を見直し、「表皮細胞の厚さや形状の変化」とすることを提唱する。

Zhang *et al.* (2020) の報告によると、複合型タイプの斑紋を持つ植物は 117 種中 14 種 (12%) であったと報告されていたが、本研究では 15 種中 5 種 (33.3%) が該当した。本研究ではほとんど見いだせなかつた細胞空隙型を検出することができれば、複合型はさらに増えると予想される。

葉の斑紋には広く多型性があるため、これまでにも野外調査において魅力的な斑紋に出会った多くの研究者の興味を引き付けてきた。今後、より多くの種の斑紋について詳細な観察を行

うことで、様々な複合パターンと斑紋形成機構を明らかにし、その適応的意義を生態学的・生
地学的要因から明らかにすることが期待される。

引用文献

- Campitelli, B.E., Stehlik, I., Stinchcombe, J.R., 2008. Leaf variegation is associated with reduced herbivore damage in *Hydrophyllum virginianum*. *Botany* 86, 306–313.
- Goley P.D, Aide T.M. 1989. Red coloration of tropical young leaves: a possible antifungal defense? *Trop Ecol* 5:293–300.
- Gould K.S. 2004. Nature's Swiss Army Knife: The Diverse Protective Roles of Anthocyanins in Leaves. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2004:5 (2004) 314–320.
- Guo J., Han W., Wang M.H. 2008. Ultraviolet and environmental stresses involved in the induction and regulation of anthocyanin biosynthesis: A review. *African Journal of Biotechnology* Vol. 7 (25), pp. 4966-4972
- Hara N, 1957. Study of the variegated leaves with special reference to those caused by air spaces. *Japanese Journal of Botany* 16: 86–101.
- Lev-Yadun, S. 2014. The Proposed Anti-herbivory Roles of White Leaf Variegation. *Prog. Bot.* 76, 241–269.
- Nozaki K., Muramoto C., Takamura T., Fukai S. 2006. Effects of Growing Season and Temperature on Flower Color in Apricot and Picotee Flower Genotypes of Spray Chrysanthemum. *Hort. Res. (Japan)* 5 (2): 123–128.
- 奥山春季, 1962. 原色日本野外植物図譜. p.101 株式会社誠文堂新光社, 東京.
- Soltau U., Dotterl S., Sigrid L.S. 2009. Leaf variegation in *Caladium steudneriifolium* (Araceae): a case of mimicry? *Evol Ecol* 23:503–512.
- Shelef O., Summerfield L., Lev-Yadun S., Villamarin-Cortez S., Sadeh R., Herrmann I., Rachmilevitch S. 2019. Thermal Benefits From White Variegation of *Silybum marianum* Leaves. *Front. Plant Sci.* 10:688.
- Zhang J.H., Zeng J.C., Wang X.M., Chen S.F., Albach D.C., Li H.Q. 2020. A revised classification of leaf variegation types. *Flora*: 272.