水稻の葉の形態形成に関する研究

VI. 葉の形態形成を解明する二、三の実験*

山 崎 耕 宇

(東京大学農学部)

緒 言

すでに著者^{7,8)}は、葉位や環境条件によつて、水稻の成熟葉の外形および内部構造に変化の起こることを観察し、これらの変化が、生長点の大きさと一定の関連を有しながら、しかし、それのみによつて規定されるものではないことを明らかにしてきた。これら成熟葉の形態変化を、発生学的に観察する場合には、葉の発育に際して働く種々の分裂組織に着目することが必要であつて、前報^{7,8)}においても、この点に着目して、若干の考察を加えてきたが、本報告では、さらに、成熟葉の外形および内部構造が形成される場合、1) 生長点はどうような役割を果たしているか；2) 葉原基ないし幼葉の発育の相違は、どのような意味をもっているか；3) 成熟葉の外形（葉身長、葉鞘長、葉身幅）が最終的に決まるのは、葉の発育のいかなる段階においてであるか；等の諸点を、実験的に明らかにしようと試みた。

本研究は、東京大学農学部において、野口弥吉教授（現名誉教授）のご指導のもとに始められ、引続き、川田信一郎教授のご指導のもとに完成したものである。ここに記して、両先生に厚く御礼申し上げる。なお、実験中、生長点培養法の技術面については、石原愛也助教授のご教示を受けた。併せて感謝の意を表する次第である。

実験材料および方法

実験材料には、水稻品種千本旭を用い、2,000 分の 1a のワグナー・ポットあるいはコンクリート製枠(100 cm×150 cm) に栽培し、必要に応じて実験に供した。実験方法は、つぎの 3 種類に分けて行なつた。すなわち、1) 生長点培養法による実験、2) 遮光による実験、3) 断根による実験、である。

生長点培養は、ガラス管（高さ 10 cm、直径 2.5 cm）内の寒天培地に生長点を含むその近傍部分（以下、生長点近傍と呼ぶ）を移植して行なつた。培地の組成は、White⁵⁾ の無機塩類処方 に 2% の蔗糖を加え、さらに、発根を促がすために、0.1 mg/l の NAA を加えたものである。その他、培養に際しての種々の注意すべき点は、すべて、川田等^{1,2,3)}に従っている。材料は、コンクリート製枠に生育させたもので、前報⁷⁾と同様、窒素施用量と播種密度とを変えて生育させたものを用

第 1 表 遮光実験の実験区

	第 5 葉抽出開始前		第 5 葉抽出開始後	
1	遮	光	遮	光
2	遮	光	自 然	光
3	自 然	光	遮	光
4	自 然	光	自 然	光

いた^{註 1)}。

遮光実験には、2,000 分の 1a のポットに生育させた植物を用い、遮光はすだれ 1 枚をかけて行なつたが、この場合、光の透過率は 20~30% であつた。遮光は第 5 葉抽出開始時を規準として、4 組の実験区（第 1 表）を作つて行ない、発育する成熟葉の外形を葉位別に観察した。

断根実験は、植物体をコンクリート製枠に生育させ、第 8 葉抽出開始時に、根の一部（根数にして、ほぼ 4 分の 1）を基部から切断し、その後の葉の発生を葉位別に観察した。なお、観察の対象は、主稈に発育する葉に限つた。

実 験 結 果

1. 生長点培養法による実験

生長点培養を行なう場合、生長点（最も若い葉原基より上の円錐体部分⁶⁾）のみを取出して培養することは、技術的に困難であつたので、本実験では、P₃ の段階^{註 2)}にある葉原基までを含む生長点近傍を解剖顕微鏡のもとで取出し、これを培養片とした。また別に、P₄ の段階にある幼葉までを含む培養片をも同様に培養し、その後の葉の発育を観察した。

ガラス管内の寒天培地上に移植した培養片は、移植後、数日で発育を開始する。この場合、まず出根が始まり、莖葉の発育がこれに続くが、一番古い葉原基（移植の際、P₃ の発育段階にあつたもの）は、ほとんど発育せず、鱗片状の構造として基部に残り、つぎの葉原基（P₂ の発育段階にあつたもの）は、ある程度発育するが、完全な葉の形態を持つに到らない。完全な葉（葉身、葉鞘の区分が明瞭に認められる）に発育す

註 1) 窒素施用量については、10 a 当り要素換算量 3 kg を与えた +N 区と全く与えない -N 区；播種密度については、30 cm×30 cm の疎区と 5 cm×5 cm の密区とを設け、両条件を組合わせて、4 つの実験区——+N・疎区、+N・密区、-N・疎区、-N・密区——を設けた⁸⁾参照。

* 昭和 38 年 11 月 4 日受理

第1図 培養個体の葉身長

横軸の葉位は、移植時の培養片に存在する最も古い葉原基を1として示したものである。第1、第2葉は完全な葉に發育しない（本文参照）から、第3葉から上の葉位の葉身長を示した。各曲線の末端の数字は、培養片が母植物体上にあると仮定した場合の、それぞれの葉の葉位を示した。

るのは、第3番目の葉（すなわち、移植の際、生長点基部に生じたばかりの、 P_1 の段階にあつた葉原基）からである。

環境条件を異にして生育させた植物から培養片を採取して培養した場合について、成熟葉の外形を観察してみる（第1図）と、 $+N$ ・疎区の植物から採取した培養片は、 $-N$ ・疎区のそれよりも、移植後の發育は良好で、成熟葉（葉の發育が P_6 の段階^{註2}）より進ん

註2）水稻においては、任意の1枚の葉が抽出を開始する時、莖葉の内部には、つねに4個のそれぞれ發育段階を異にする葉原基ないし幼葉が形成されている。最も若い葉原基から順に、 P_1 、 P_2 、 P_3 、 P_4 と名づける。抽出を開始する葉は、 P_5 に相当し、それより1枚下のほぼ展開を完了した葉は、 P_6 に相当する（参照）。

だものを示す。以下同様）の葉身長は、いずれの葉位の葉についても、長くなる傾向を示す。また、同じ $+N$ ・疎区でも、發育の進んだ植物体から採取した培養片（生長点は大きく⁷、葉原基の葉位は高い）は、それより若い時期に採取した培養片（前者と比較して、生長点は小さく⁷、葉原基の葉位は低い）よりも、葉身長の長い成熟葉を形成する。一方、播種密度を異にして生育させた植物の場合を比較してみると、 $+N$ ・密区の植物から採取した培養片（生長点は小さい⁸）は、 $+N$ ・疎区のそれ（生長点は、前者に比べると大きい⁸）より發育が劣り、成熟葉の葉身長は小さい。これらの実験結果は、生長点近傍を取出した場合に、生長点の大きさと、それから生ずる成熟葉の外形の大きさとの間に、比例的な対応関係の存在していることを示している。

つぎに、 P_4 の段階にある幼葉までを含む培養片を培養した場合、葉の内部構造、とくに維管束の構成（維管束数およびその大小の割合）が、どのように変化するかについて、観察を進めてみた。この場合、移植時に P_2 の段階にあつた葉原基より若い葉原基（移植後に生ずる葉原基をも含めて）のみが、完全な形態をもつた成熟葉に發育する。移植時に P_2 の段階にあつた葉原基（主程の第13葉に相当する）と、 P_1 の段階にあつた葉原基（同じく第14葉に相当する）について、發育後の成熟葉の維管束構成を、圃場で生育させた同じ葉位のそれと比較してみる（第2表）と、培養個体の葉の維管束数は、圃場で生育させた正常個体のそれに比べて、明らかに少なくなっており、とくに、小維管束数の減少が著るしい。培養個体の第13葉と第14葉とを比較してみると、第13葉においては、小維管束数の減少が著るしく、第14葉においては、大維管束数が第13葉より減少している点が注目に値する（正常個体においては、葉位が上がるにつれて、維管束数は増加する）。

2. 遮光による実験

遮光によつて、成熟葉の葉身長および葉鞘長が、どのように変化するかを観察してみる（第2、3図）と、遮光によつて、葉身、葉鞘ともにその長さを増すことは明らかであつて、發育途上で光条件を変えた場合、遅かれ、早かれ、その影響が葉身長、葉鞘長の変化となつて現われるのが認められる。すなわち、自然光の状態に生育させた植物体を、第5葉抽出開始と同時に遮光し、その後に發育した成熟葉の外形を、自然光の

第2表 培養による葉の維管束数の変化

葉位	培養個体		正常個体	
	大維管束	小維管束	大維管束	小維管束
第13葉 (P_2^*)	8	11	10	32
第14葉 (P_1^*)	7	18	12	34

* それぞれの葉の培養開始時における發育段階を示す。

みで生育させた植物体のそれと比較してみる(第2図)と、遮光によつて、葉身長および葉鞘長はともに長くなるが、この現象は、葉身長の場合には第6葉から、葉鞘長の場合には第5葉から起こるのが認められ、両者の間に1葉のずれのあることがわかる。

逆の処置、すなわち、遮光条件のもとで生育させた植物体を、第5葉抽出開始と同時に自然光のもとに移し、その後發育した成熟葉の外形を、引続き遮光条件のもとで生育させた植物体のそれと比較してみる(第3図)と、自然光のもとに移すことによつて、葉身長、葉鞘長はともに短くなる。その影響の現われ方は、自然光から遮光に移した場合(第2図)と全く同様で、第6葉の葉身長、第5葉の葉鞘長に最初の変化が認められるのである。いずれの場合も、光条件の相違が葉身長、葉鞘長におよぼす影響は、さらに上の葉位で著しくなる。

3. 断根による実験

第8葉抽出開始時に行なつた断根による成熟葉の外形の変化を観察する(第4図)と、断根によつて、葉身長、葉鞘長、葉身幅のいずれも減少するが、その影響の現われ方は異なっている。すなわち、葉鞘長は第7葉、葉身長は第8葉、葉身幅は第9葉より、それぞれ影響が現われ始めるのである。いいかえれば、葉位別に観察する場合、断根の影響の現われ方は、葉鞘長→葉身長→葉身幅の順に起こり、しかも、おのおのの間には、1葉ずつの葉位のずれが認められるということである。しかも、一旦生じたこのような外形の大きさの相違は、さらに上の葉位にも、引続き観察されるのである。

考 察

以上の諸実験は、各段階の葉原基の發育および生長点の大きさと、成熟葉の形態との間に、いかなる関係があるかということを確認するため、二、三の方法を用いて行なつたものであるが、得られた結果について、若干の考察を加えてみたい。

まず、生長点培養法を用いて行なつた実験結果についてみると、生長点の大きさと、成熟葉の外形との間には、一定の対応関係があり、生長点の大きい場合には、それから形成される成熟葉の外形は大きくなることが明らかになった。この点については、すでに前報^{7,8)}で推察していたところであるが、とくに注目すべき点は、+N・疎区と +N・密区とを比較した場合の、生長点の大きさと成熟葉の外形との対応関係である。すでに報告したように⁹⁾、圃場で生育させた場合に、+N・疎区の生長点は、+N・密区のそれより、基部直径および高さのいず

第2図 遮光による葉の外形の変化(1)

実線：自然光で生育させたもの。点線：第5葉抽出開始と同時に遮光したもの。

第3図 遮光による葉の外形の変化(2)

実線：第5葉抽出開始と同時に自然光の条件下に移したもの。点線：遮光条件下で生育させたもの。

第4図 断根による葉の外形の変化

実線：無処理のもの。点線：第8葉抽出開始と同時に断根したもの。

れについても大きい。發育する成熟葉の外形は、逆に、+N・密区において大型となる。しかし、両者の生長点を取り出して培養した本研究の結果によれば、+N・密区の、すなわち、小型の生長点より發育する成熟葉の外形は、+N・疎区のそれより小さい。このことから、正常個体の場合に、+N・密区の成熟葉の外形が、+N・疎区のそれより大きくなるという現象は、すでに、前報⁸⁾で考察を加えたように、幼葉の發育後期における分裂組織(主として、intercalary meristem)の環境条件に対する反応の相違に帰せらるべきであることは、明らかである。

つぎに、成熟葉の内部構造の変化について、生長点培養法による実験結果をもとにして、若干の考察を加えてみたい。すでに明らかにしたように⁶⁾、 P_2 の段階にある葉原基は、内部に大維管束の分化を開始しているのが観察され、生理的な分化は、さらに進んでいるものと考えられる。小維管束の分化は、大維管束の分化より、1段階おくれて起こる(P_3 の段階以後)。このような葉原基における組織分化に関する規則性に着目して、培養実験の結果(第2表)を検討してみると、

つぎのようなことがいえると思う。すなわち、まず、培養個体の成熟葉において、維管束数が、正常個体のそれより著しく少なくなる点については、培養に伴う切断等の処置が、分化中あるいは引続き分化する維管束組織に、直接、間接に影響を与えて、その数を減少させるものと考えられる。また、移植時に P_2 の段階にあつた葉の小維管束と、 P_1 の段階にあつた葉の大維管束とが、とくに強い影響を受けてその数を減少するのは、すでに述べたように、 P_2 の段階は小維管束を、また、 P_1 の段階は大維管束を、それぞれ分化する段階に先立っており、培養に伴う急激な処置が、引続いて起こる維管束の分化に影響し、その数を制限したものと考えられる。いいかえれば、大維管束と小維管束とでは、分化の時期が異なり(前者が1段階早く起こる)、したがって、外因の影響を受ける時期も、それぞれ異なっているといえることができる。

つぎに、遮光による成熟葉の外形の変化に着目してみる(第2, 3図)と、遮光によつて、葉身長、葉鞘長が、自然光のもとで生育したものより大となることは、播種密度を高くした場合⁹⁾にみられる現象と類似するものと考えられる。光の条件を変化させた場合に、成熟葉の外形に現われる変化の様相をみると、第1に、光の条件を変化させた時期に抽出を開始した葉から、その影響が現われはじめて、葉鞘長が変化すること；第2に、葉身長の変化は、葉鞘長の場合より1枚上の葉位の葉から現われること、が注目される。すでに明らかにしたように⁶⁾、葉身の伸長が $P_4 \sim$

P_5 の段階で起こるのに対し、葉鞘の伸長は、 $P_3 \sim P_6$ の段階で起こる。したがって、光の条件を変化させた時に抽出を開始した葉(この場合は第5葉で P_3 の段階にある)は、すでに、葉身の伸長をほとんど完了しているから、葉身長には影響は現われず、intercalary meristemの働きによつて、さかんに伸長を行なっている同じ葉の葉鞘と、1枚上の葉(この場合は第6葉で P_4 の段階にある)の葉身とに、影響が現われるのである。このように、環境条件の影響の現われ方が、葉身と葉鞘とで異なる現象は、松島等の最近の報告⁴⁾にもみられる^{註3)}が、結局は、環境条件が分裂組織を通して、形態の発現に関与していることを示すものである。

断根の影響の現われ方も、基本的には、上述した遮

註3) 環境条件の影響の現われる葉位が、本研究とは若干異なっているが、これは、与えた環境条件の種類が異なっていること(松島等は、窒素施肥の影響を観察している)、および、環境条件を変化させる時期が、著者の場合と若干異なっていることに起因するものであろう。

光の場合と同様に考えられる。ただし、断根の影響の現われ方は、遮光の場合に比べて、より早く、その現われ始める葉位は、遮光の場合より1葉下位になっている。すなわち、断根を行なった際、抽出を開始した葉の葉身、および、それより1葉下位の葉の葉鞘に最初の影響が現われるのである。すでに明らかにしたように⁶⁾、これら葉身および葉鞘は、ほとんど伸長を完了しているとはいえず、基部には、若干の intercalary meristem を残しているの

で、この部分が断根の影響を受けるものと理解され、その影響の現われ方は、遮光の場合に比べて、より速やかであるといえることができる。また、断根による実験結果中、注目すべき点は、葉身幅への影響の現われ方で、葉身長への影響の現われより、さらに1葉上位の葉に起こることである。すでに明らかにしたように⁶⁾、葉身の横方向への拡大は、主として、 $P_3 \sim P_4$ の段階（葉身の伸長より1段階早い）に、基本分裂組織の働きによつて起こるものであり、この段階が、断根の影響を著しく受けたものと考えられる。

以上の諸実験を検討し、さらに、前報までの観察結果^{6,7,8)}を併せ考察してみると、水稻の1枚の葉の形態形成には、多数の過程が含まれており、それぞれの過程が、葉の形態を形成して行く上で、重要な役割を果たしていることがわかるのである。これらの各過程の形態形成上の役割を、葉の発育段階を規準にとつて図式化してみると、第3表のようになる。もちろん、これら各過程は、相互に重複している場合も少なくないし、また、葉の形態形成には、これ以外の多数の過程が含まれていることも疑いを入れないが、本研究の結果明らかになった大筋をここに記した次第である。本研究の結果は、環境条件あるいは実験的処置が、これらの分裂組織に働きかけて、葉の形態のある特定部分を変化させたことを示しているのであつて、このこと

第3表 葉の形態形成の経過とこれに関与する分裂組織。

※ それぞれの組織分化ないし器官の大きさが決まる場合に、主導的な役割を果たす分裂組織を太い矢印で示した。各分裂組織の消長については、前報⁶⁾を参照されたい。

は、葉の発育の適当な時期に、適当な方法によつて、これら分裂組織に働きかけることによつて、葉の形態を自由に調節しうることの可能性を提示していると考えるのである。

引用文献

1. KAWATA, S. 1957. Appearance of ear and flowering in the aseptic culture of excised stem tips in rice and wheat plants. Proc. Japan Acad. **33**: 474.
2. 川田信一郎 1957. 作物の生長点 (stem tips) 培養について. 日作紀 **25**: 173.
3. 川田信一郎・石原愛也 1957. 培養瓶内での花の形成——高等植物における生長点培養について——科学 **27**: 343.
4. 松島省三・田中孝幸 1963. 水稻収量の成立原理とその応用に関する作物学的研究. 第66報, 稲の姿勢を任意に調節する方法の研究. 日作紀 **32**: 44.
5. WHITE, P.R. 1943. A handbook of plant tissue culture. Ronald Press, New York.
6. 山崎耕宇 1963. 水稻の葉の形態形成に関する研究. I. 葉の発育経過に関する一般的観察. 日作紀 **31**: 371.
7. 山崎耕宇 1963. 水稻の葉の形態形成に関する研

究. II. 葉位を異にした場合の葉の発育の相違について. 日作紀 32:81.

究. III. 一, 二の環境条件が葉の形態形成におよぼす影響. 日作紀 32:145.

8. 山崎耕宇 1963. 水稻の葉の形態形成に関する研

Studies on Leaf Formation in Rice Plants

IV. Some experiments revealing the role of processes in leaf formation.

KOOU YAMAZAKI

(Faculty of Agriculture, University of Tokyo)

Summary

Stem tip culture in vitro, shading and root cutting were adopted to detect the role of processes involved in leaf formation of rice plants.

When cultured in vitro, the larger shoot apices taken from older plants made longer leaf blades than those developed from smaller shoot apices of younger ones. The same phenomena were observed when length of leaf blade developed from larger shoot apices of sparsely-grown or of nitrogen fertilized plants (see previous paper⁸⁾) were compared with those developed from smaller ones of densely-grown or non-nitrogen fertilized plants. These results show that size of shoot apices primarily determines size of leaves.

The leaf primordium which had just appeared at the foot of a shoot apex at the time of transplanting the stem tip into culture medium, grew into a leaf with less number of larger and more of smaller vascular bundles as compared to the next older one just below it. This shows that the surgical treatment at the time of transplanting affects the differentiation of each bundles of different primordia, as the stage of differentiation of both types of vascular bundles are different (see previous paper⁶⁾).

Shading at the time of emergence of a given leaf increases sheath length of the leaf and blade length of the adjacent younger leaf. This is attributed to the activity of intercalary meristem occurring at the sheath base of the emerging leaf and blade base of the adjacent younger leaf respectively.

Root cutting at the time of emergence of a given leaf decreases sheath length of the adjacent older leaf, which had almost fully expanded, blade length of the emerging leaf, and blade width of the adjacent younger leaf. The effects on length of sheath and blade are explained in the same way as in the case of shading. The effect of root cutting on the blade width is attributed to the activity of ground meristem working before a leaf begins to emerge, and this meristem was affected by the treatment.

From these observations and from the results of previous papers^{6,7,8)}, it is concluded that the processes of leaf formation in rice plants can be demonstrated as follows:

Shoot apex: Size and structure of a leaf is primarily determined.

P₁-P₂: Number of larger vascular bundles of the leaf is determined.

P₂-P₃: Number of smaller vascular bundles of it is determined.

P₃-P₄: Blade width of it is determined.

P₄-P₅: Blade length of it is determined.

P₅-P₆: Sheath length of it is determined.

where the successive stages of leaf development are designated as P₁, P₂, P₃, P₄, P₅ and P₆ respectively, showing P₁ the youngest leaf primordium and P₆ the oldest almost fully expanded leaf (see previous paper⁶⁾).