

# スイートバジルにおける 葉の腺毛分布密度計測方法の簡易化

三宅創平\*・市村匡史・橘 昌司

(平成 20 年 3 月 25 日受付/平成 20 年 7 月 17 日受理)

要約: スイートバジル葉の簡易な腺毛分布密度計測方法を検討するために、葉面積の拡大がみられなくなった完全展開葉を、基部、中部、先端部に分割して、各葉片の腺毛分布密度と葉全体の腺毛分布密度を比較した。その結果、主枝の下位節葉、中位節葉、上位節葉のいずれにおいても、先端部から基部に向かうほど腺毛分布密度が高いことが明らかになった。また、中部葉片の腺毛分布密度と葉全体の腺毛分布密度がほぼ一致した。すなわち、完全展開葉においては、主脈を境に葉を分割した半葉の中部葉片の腺毛分布密度を葉全体の腺毛分布密度とみなすことができる。また、それをもとに中部葉片と葉全体との面積比率および中部葉片の腺毛数から葉全体の腺毛数を推定することができる。

キーワード: スイートバジル, 腺毛

## 緒 言

スイートバジル (*Ocimum basilicum* L.) は、精油を放出することで独特の芳香を呈する。精油は腺毛において生成・蓄積される。そのため、スイートバジルの主な利用器官である葉において、葉面積あたりの腺毛数、つまり腺毛分布密度は、芳香の強さを左右する重要な要素の一つであり、その調査の簡易化が求められる。

スイートバジルをはじめとするシソ科植物の多くは、葉、茎、花といった各器官の表皮上に腺毛を形成する。腺毛は特に葉で多く形成され、向軸面と背軸面の両方にみられるが、その数は背軸面で多い(富高ら, 1990; 鈴木, 1991; TURNER ら, 2000)。腺毛は軸細胞、分泌細胞およびクチクラ膜から成る。1 個の腺毛が持つ分泌細胞の数は植物種および器官によって異なり、スイートバジルの葉では、分泌細胞が 2 個の 2 細胞腺毛と、4 個の 4 細胞腺毛が見られる。精油は分泌細胞で生成され、分泌細胞とクチクラ膜との間の油嚢に蓄積される。

スイートバジルの葉の腺毛分布密度を計測するには、市村 (2008) のように、葉全体の全ての腺毛を計数する方法が最も正確である。しかし、スイートバジルでは、例えば主枝上位節葉についてみると、背軸面の 4 細胞腺毛だけで約 5,000 個も形成される。そのため、腺毛数および腺毛分布密度の調査には膨大な時間と労力を要する。

IOANNIDIS ら (2002) は、スイートバジルの葉を 5 mm 角に切り、葉 1 枚につきこの葉片 10 個の腺毛分布密度を計測して、それらを平均することで簡易に葉全体の分布密度を推定している。しかし、この報告には調査に用いる葉片が葉のどの部位にあたるかは明確に記されていない。そのため、基部や先端部といった葉の部位により腺毛分布密度が異なる場合、選択する葉片の採取部位いかんで推定値が

大きく変動する可能性がある。スイートバジルの葉の生長初期段階における腺毛分布密度は、腺毛の形成が盛んな部位である基部で著しく高い (WERKER ら, 1993)。ペパーミント (*Mentha × piperita* L.) (TURNER ら, 2000) や、ヒメシロネ (*Lycopus maackianus* Makino) (鈴木, 1991) といった他のシソ科植物についても、同様の報告がなされている。これらのことから、葉の腺毛を観察するにあたっては、葉の部位による腺毛分布密度の違いを十分に考慮する必要がある。しかし、実際に葉の部位によりどの程度の腺毛分布密度差が生じているかは明らかにされていない。

そこで本研究では、スイートバジルの個葉内における部位別の腺毛分布を明らかにするとともに、簡易かつ正確な腺毛分布密度計測方法を考案することを目的として調査を行なった。

## 材料および方法

### 植物栽培

スイートバジルの栽培は、東京農業大学厚木キャンパス付属ビニルハウス内で行った。2006 年 4 月 12 日に、赤玉土とパーク堆肥を容積比で 1 : 3 に混合した培養土が充填されたシードパンに播種した。同年 4 月 28 日に、主枝第 1 節葉が展開した時点で、赤玉土とパーク堆肥を容積比で 1 : 1 に混合した培養土が充填された 2.5 号プラスチックポットに鉢上げした。

同年 5 月 6 日に、主枝第 2 節葉が展開した時点で、赤玉土とパーク堆肥を容積比で 3 : 1 に混合した培養土が充填された 1/5,000 a ワグナーポットに定植した。これらの培養土の基肥施与量は、いずれも培養土 10 L あたり硫酸アンモニウム 5 g、過リン酸石灰 20 g、塩化カリウム 2 g とした。また、主枝第 5 節葉が展開した時点で、硫酸アンモニウムを 1 ポットあたり 1 g 追肥した。

\* 東京農業大学農学部農学科

なお、スイートバジルの葉は出葉直後は主脈に沿って折りたたまれているが、葉身長が約 20 mm に達すると、ほぼ水平もしくはやや上向きの角度で展開する。本研究では、この生長段階を葉の展開時とし、生長が完了して葉面積の拡大がみられなくなった生育段階を完全展開時とした。

腺毛分布密度計測方法

WERKER ら (1993) は、スイートバジル葉の腺毛分布密度を、発生初期の葉 (葉身長 0.5 mm) から葉身長 50 mm の葉まで生長段階を追って観察しており、葉身長 50 mm の葉では、先端部から基部に向かうほど腺毛分布密度が高くなると報告している。しかし、スイートバジルの葉は、完全展開時で葉身長 80~100 mm 以上にまで生長するため、葉身長 50 mm の葉は生長の途中段階にある。また、スイートバジルは主に完全展開時に近い生長段階の葉を収穫、利用する。これらのことから、葉面積の拡大が終了するまでの葉の腺毛分布密度の変化を調査する必要がある。そのため、本研究では完全展開時の葉を調査対象とした。

主枝の下位節葉 (第 2 節葉)、中位節葉 (第 4 節葉)、上位節葉 (第 6 節葉) を、それぞれ完全展開時に 5 枚ずつ採取して調査した。採取した葉は、主脈に沿って 2 分するとともに、主脈に対し直角に等間隔に 3 分し、さらに、これらの各葉片を葉の周辺部 (外側) と中心部 (内側) に 2 分し (最大葉幅部で主脈に対し直角な直線を引き、周辺部: 中心部の長さ比が 1:2 となる点を基準とし、周辺部の各葉片の幅がほぼ一定となるようにした)、1 葉あたり計 12 枚の葉片を得た (図 1)。

各葉片の面積を葉面積計で計測した後、スタン IV の 70% メタノール溶液で一昼夜染色し、背軸面の 4 細胞腺毛を計数した。観察は光学顕微鏡下で行い、葉片を 1 mm 目の格子状に線の入ったスライドグラス上に置き、手持数取器によって腺毛を計数した。得られた各葉片の面積と腺毛数から、各葉片の腺毛分布密度と葉全体の腺毛数および腺毛分布密度を算出した。なお、予備的調査において、主脈の両側で腺毛数に差のないことが認められたので、半葉のみを調査に用いた。

結 果

個葉あたりの腺毛数は、上位節葉ほど多くなる傾向がみられ、第 6 節葉で約 6,000 個と最も多く、次いで第 4 節葉であり、第 2 節葉で約 3,000 個と最も少なかった (表 1)。個葉面積は第 4 節葉で 72 cm<sup>2</sup> と最も大きく、次いで第 2

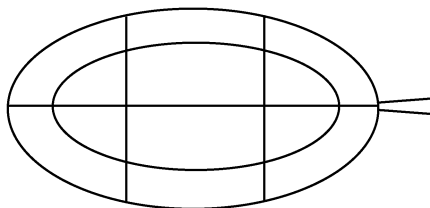


図 1 葉の腺毛観察における葉片分割方法および調査部位  
 ① 先端部・外側 ② 先端部・内側 ③ 中部・外側  
 ④ 中部・内側 ⑤ 基部・外側 ⑥ 基部・内側

節葉であり、第 6 節葉で 33 cm<sup>2</sup> と最も小さかった。腺毛分布密度は、腺毛数と同様に上位節葉ほど高くなる傾向がみられ、第 6 節葉で 170 個/cm<sup>2</sup> と最も高く、次いで第 4 節葉であり、第 2 節葉で 52 個/cm<sup>2</sup> と最も低かった。

葉の部位別腺毛分布密度は、下位節葉、中位節葉、上位節葉のいずれにおいても、先端部で低く、基部で高くなる傾向がみられた (図 2)、葉の中心部 (内側) と周辺部 (外

表 1 各節葉の腺毛数、葉面積および腺毛分布密度 (平均値±標準誤差, n=5)

調査葉	腺毛数 (個/葉)	葉面積 (cm <sup>2</sup> )	腺毛分布密度 (個・cm <sup>-2</sup> )
2節葉	269 ± 392	62.4 ± 2.6	52.4 ± 5.6
4節葉	994 ± 665	71.5 ± 3.8	71.1 ± 11.9
6節葉	790 ± 1194	32.8 ± 2.7	170.0 ± 19.2

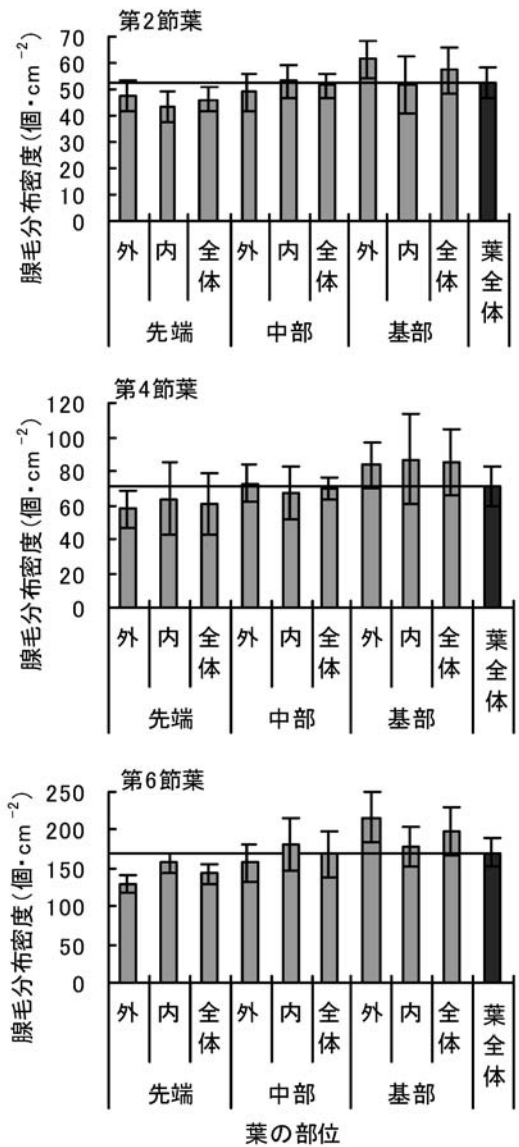


図 2 各節葉の腺毛分布密度 ※ 誤差線は標準誤差 (n=5)

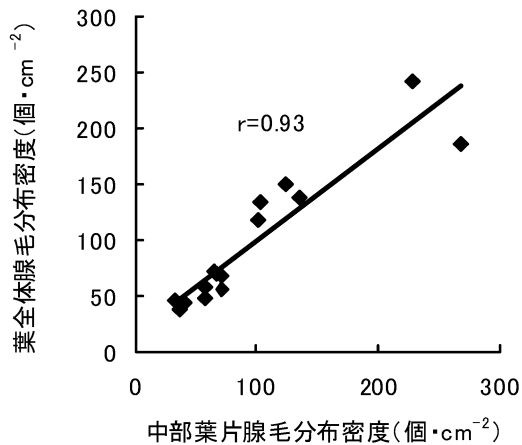


図 3 中部葉片の腺毛分布密度と葉全体の腺毛分布密度との相関関係 (r は 0.1% で有意)

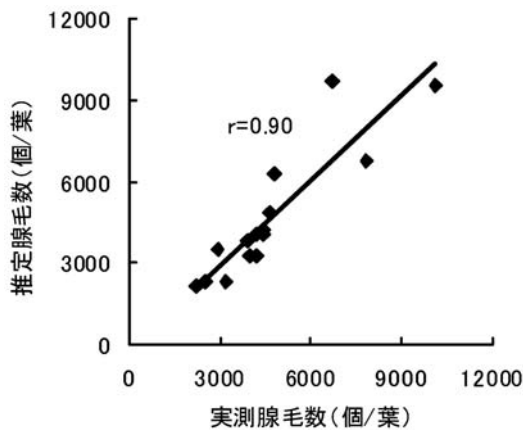


図 4 中部葉片と葉全体の面積比率および中部葉片の腺毛数から推定した葉全体の腺毛数とその実測値との相関関係 (r は 0.1% で有意)

側)の腺毛分布密度の差異には、葉の着生節位および葉の部位いずれにおいても一定の傾向がみられなかった。

葉全体の腺毛分布密度と各部位の腺毛分布密度を比較すると、いずれの調査葉においても中部葉片の腺毛分布密度(以下 x)が葉全体の腺毛分布密度(以下 y)とほぼ一致した。図 2 には調査した各節葉の平均値を示したが、調査した個々の葉についてみても、x と y との間に高い相関関係 (r=0.93) が認められた (図 3)。また、y=x と仮定し、中部葉片の面積と葉全体の面積との面積比率および中部葉片の腺毛数から葉全体の腺毛数を推定したところ、推定値と実測腺毛数との間にも高い相関関係 (r=0.90) が認められた (図 4)。

### 考 察

WERKER ら (1993) によって、葉身長 30~50 mm の葉においては、先端部から腺毛の発生部位である基部に向かうほど腺毛分布密度が高くなることが報告されている。本研究により、完全展開時の葉においても、先端部から基部になるほど腺毛分布密度が高いことが明らかとなった。一

方、葉の内側と外側の腺毛分布密度には一定の傾向はみられなかった。また、光学顕微鏡上で葉片を観察した時、各葉片 (図 1 の ①~⑥) いずれにおいても、観察する箇所によって腺毛分布密度が一見して異なり、さらに、その相違は個々の調査葉によってばらつきがあった。

これらのことから考えると、腺毛計数に用いる葉片を葉全体から無作為に選択する IOANNIDIS ら (2002) の方法では、葉全体の正確な腺毛数および腺毛分布密度が計測できない可能性が高い。TURNER ら (2000) は、ペパーミントの葉の腺毛を計数するにあたり、葉を先端部、中部、基部に分割して各葉部位あたり数箇所を調査対象とし、調査部位と葉全体の面積比率から葉全体の腺毛数を推定している。しかしこの方法も、各葉部位の中でも調査箇所 (主脈付近や葉縁部など) によって腺毛分布密度が異なる可能性があるため、その妥当性は定かではない。

スイートバジル葉の腺毛分布密度を計測するには、市村 (2008) のように、葉全体の腺毛を全て計数する方法が最も正確である。しかし、葉には数千個の腺毛が存在するため、この方法では膨大な時間と労力を要する。上述の報告で用いられた簡易な方法でも、調査する葉片数をさらに増やせば正確なデータを得られる可能性があるが、それでは葉全体を調査対象にするのと労力面で大きな違いがない。本研究により、中部葉片の腺毛分布密度 (x) と葉全体の腺毛分布密度 (y) は近似しており、両者の間に高い相関関係のあることが明らかになった。また、y=x と仮定し、中部葉片と葉全体との面積比率および中部葉片の腺毛数から推定した葉全体の腺毛数と実測値との間にも、高い相関関係が認められた。

以上のことから、スイートバジルの完全展開時の葉に関しては、本研究で採用した方法に従って葉を分割して半葉の中部葉片を調査すれば、比較的高い精度で葉全体の腺毛数および腺毛分布密度を推定することができると思われる。さらに、中部葉片の面積は葉全体の面積のおよそ 45% であり、さらに、調査には半葉を用いるため、この方法で腺毛計数の労力をおよそ 70% 削減することができる。

### 引用文献

- 1) 市村匡史, 2008. スイートバジルの葉の着生位置ならびに葉齢による精油含量と精油成分の差異. 東京農大農学集報. 52 : 173-178.
- 2) IOANNIDIS, D., L. BONNER and C.B. JOHNSON. 2002. UV-B is required for normal development of oil glands in *Ocimum basilicum* L. (sweet basil). *Ann. Bot.*, 90 : 453-460.
- 3) 鈴木憲仁, 1991. ヒメシロネ (シソ科) の葉の腺形成. 植物地理・分類研究. 39 : 21-25.
- 4) 富高弥一平・市村匡史・木村正典, 1990. スイートバジルの腺毛の形態, 発生および分布. 東京農大農学集報. 34 : 225-233.
- 5) TURNER, G.W., J. GERSHENZON and R.B. CROTEAU. 2000. Distribution of peltate glandular trichomes on developing leaves of peppermint. *Plant Physiol.*, 124 : 655-663.
- 6) WERKER, E., E. PUTIEVSKY, U. RAVID, N. DUDAI and I. KATZIR. 1993. Glandular hairs and essential oil in developing leaves of *Ocimum basilicum* L. *Ann. Bot.*, 71 : 43-50.

# A Simple and Timesaving Method of Measuring the Distribution Density of Glandular Trichomes on Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) Leaves

By

Sohei MIYAKE\*, Masashi ICHIMURA and Shoji TACHIBANA

(Received March 25, 2008/Accepted July 17, 2008)

**Summary** : The aim of this study was to devise a simple and timesaving method of estimating the trichome density on sweet basil leaves. Fully expanded leaves, sampled from upper, middle and lower nodes on the main axis, were cut into two halves along the midrib, and both halves were further divided into three leaf parts at the point of equal midrib length perpendicularly to the midrib. The distribution density of glandular trichomes on the abaxial side of these leaf parts of either halves tended to decrease according as the distance from the base increased. The glandular trichome density in the middle leaf part coincided with that measured for the entire leaf. Thus, the glandular trichome density in the middle leaf part can be used as a reliable estimate of that on the entire leaf. This method can save time by about 70% as compared with counting out the glandular trichome density on the entire leaf. In addition, multiplying the glandular trichome density on the middle leaf part by the area of the entire leaf relative to that of the middle leaf part can give a close estimate of the total number of glandular trichomes on the entire leaf.

**Key words** : glandular trichome, sweet basil

---

\* Department of Agriculture, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture