リンゴ果実及び種子の発育に及ぼす果実 発育初期の温度の影響

田村 勉・福井博一・今河 茂・三野義雄

(北海道大学農学部)

Effect of Temperature at Early Stage of Fruit Development on the Development of Fruit and Seed in Apple.

Tsutomu TAMURA, Hirokazu FUKUI, Shigeru IMAKAWA, Yoshio MINO

Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060

Summary

The purpose of our investigation is to clarify the development of apple fruit in the early stages of its growth. Tukey (22,23) observed that early fruit development was stimulated by high night temperatures. This observation suggested that night heating treatment would be a useful means for our purpose. Therefore, the effect of heating on fruit development, elongation and division of cells and development of seed and embryo were investigated. Eight-year-old 'Spartan' trees were covered with plastic films and heated with oil heaters for 30 days beginning on the 7th day after full bloom. Night temperatures in night-heating treatment and day- and night-heating treatment were regulated at 23°C, and the day temperature in day- and night-heating treatment was kept 4°C higher than outdoor temperature. Under these conditions, the developments of fruit and seed were histologically investigated.

1. Little difference between night-heating and day- and night-heating treatments was recognized in the development of fruit.

2. Increase of diameter and weight of fruit was enhanced by heating, and the differences between control and heating were seen at their maxima 19 days after full bloom. However, no difference was recognized 35 days after full bloom and the size of fruit in heating was almost the same as in control.

3. Changes of cell diameter of fruit flesh in heating were similar to those in diameter and weight of fruit. In other words, the difference of these values between heating and control was at its maximum 19 days after full bloom but it became smaller with time and finally disappeared.

4. Cell division of fruit flesh was stimulated by heating. It ceased 40 days after full bloom in control while 10 days earlier in heating.

5. The development of seeds in fruit in heating showed a tendency to correspond to the increase in number of cell layers of fruit flesh. The seed in heating developed rapidly until the 30th day after full bloom, and ceased to develop thereafter. The seed development in control, however, continued until the 40th day after full bloom.

6. The development of embryos was stimulated by heating. The embryo in heating reached the spindle type stage ten days earlier than in control. However, the difference in embryo development between heating and control reached its maximum on the 30th to 40th days after full bloom.

As described above, the development of fruit was stimulated by heating, and that was due to the enhanced cell enlargement and division of fruit flesh. In

addition, a close relation was observed between the developments of fruit and seeds. However, it seems that the embryo has hardly any effect on the development of fruit. Therefore, it is surmised that the endosperm may be related to the development of fruit.

緒 言

リンゴ果実の発育初期には細胞分裂や細胞肥大などの急激な組織的变化が見られ(17, 19, 20), 顕著な果径の増大が観察されている。また, Smith (18) は細胞数や細胞径が果実の大きさと密接に関係し, とくに総細胞数は発育初期に決定されることを報告している。したがって, 果実の初期発育の過程を明らかにすることは, 生理学的にはもとより実際栽培の上からも重要であると考えられる。

Tukey (22, 23) は幼果の着生しているリンゴの枝を夜間に加温し, 果実の発育が促進されることを観察しており, 同様の現象は他の果樹についても報告されている(2, 21, 24)。しかし, その組織学的及び生理学的な研究はほとんど行われておらず(3), この夜間の加温による発育促進の作用機構は明らかになっていない。Denne (7) は異なる栽培地域での果実発育の差がそれぞれの地域の最低気温に起因していると述べており, 夜間加温処理の影響を明らかにすることによって, この栽培地域による果実発育の差を明らかにすることが可能であると考えられる。

果実の初期の発育は種子の発育に影響されるところが大であると言われている(15)。そこで, 筆者らは発育初期の加温と果実の組織形態及び種子の発育との関係について検討した。

材料及び方法

材料 北海道大学農学部附属農場に栽植されている8年生‘スパータン’を使用した。

加温処理方法 ビニルハウスで樹体全体を覆い, 夜間の加温はハウス内にポット式石油ストーブを設置して

行った。昼間の加温はビニルハウスによる無加温保温を利用した。夜間及び昼間の処理温度の制御方法はいずれの場合にも設定温度以上でサーモスタットが作動し, ファンにより外気を取り込み, 温度を自動的に制御する方法を用いた。ビニル被覆により受光量が25%程度減少するため, 遮光の影響を考慮し, 対照区としてハウスフレームの上半分のみをビニル被覆した被覆対照区と無被覆の対照区の2区を設けた。処理の温度と時間は第1表に示すように設定し, 処理は開花後7日目から30日間行った。

調査方法 果実と種子の発育測定は, 発育初期の重要と思われる期間には3日ごと, それ以後は10日ごとに行った。

(1) 果実の発育

果径 各区20個の果実にラベルを付し, 最大横径を継続的に調査した。

果重 各区5果を採取し, 測定した。

組織学的観察 果重を測定した5個の果実をホルマリン・酢酸・アルコール混液で固定後, 常法によりn-ブタノールで脱水し, パラフィンに包埋後, 滑走型ミクロトームで切片を作製し, マイヤーの酸性ヘマラウンで染色を行い検鏡した。細胞層数はがく片維管束から表皮組織までの果たぐの皮層部の細胞層数を1果につき2か所, 計10か所測定した。細胞径は果たぐの皮層組織の放射方向の細胞径を1果につき10か所, 計50か所測定した。

(2) 種子の発育

種子長 果重を測定した5個の果実から種子10粒を採取し, ノギスを用いて測定した。

胚の発育 果実と同様の方法で脱水, パラフィン包埋後回転式ミクロトームを用いてパラフィン切片を作製し, マイヤーの酸性ヘマラウンで染色後, 胚の形態を観察し, その縦径を測定した。

結 果

1. 加温処理期間の温度条件

ビニルハウス内に設置した百葉箱内の温度計によって測定した処理期間の夜温と昼温の変化は第1図と第2図に示すとおりである。夜温はIとIIの処理区がC₁とC₂の両区より常に高く, 約23°Cを保持していた。昼温はC₁, C₂及びIの各区の間でほとんど差がみられず, ま

Table 1. Types of heating treatment.

Symbols	Treatments	Temperature conditions
C ₁	Control	—
C ₂	Plastic film covered	—
I	Night-heating	23°C±1°C (17:00—07:00)
II	Day-and night-heating	Outdoor temperature +4°C±1°C (07:00—17:00) 23°C±1°C (17:00:07:00)

Fig.1. Night temperatures.

Fig.2. Daytime temperatures.

たⅡ区は他の区より約 4°C 高くなっていた。

2. 果実の発育

果径と果重に及ぼす加温の影響を第3図と第4図に示した。C₁区の果実の発育は果径・果重とも初期に緩慢で、その後急速に肥大する典型的なシグモイド曲線を示した。C₂区の果実は発育の全期間を通じてC₁区に対する果径比と果重比がほぼ1.0でC₁区とほとんど差のない生長を示した。これに対し、Ⅰ及びⅡ区の果径比と

果重比は開花後19日目まで増加し、加温処理の発育促進効果が認められたが、その後両者ともに1.0に近づき、加温処理の発育促進効果は減少し、40日目以後は対照区とほぼ同じ大きさとなった。特にⅡ区では発育後期の肥大はむしろ対照区に及ばなかった。これらの比が最大となった開花後19日目の各処理区の果実の外観を第5図に示した。

果実の細胞径と細胞層数を測定した結果が第6図と第

Fig. 3. Effect of heating for 30 days from the 7th day to the 37th day after full bloom on fruit diameter.

* Vertical lines show the standard deviations.

7図である。C₁区の細胞径は開花直後には増加が見られなかったが、その後肥大し始め、果径・果重と同様にシグモイド曲線を示した。C₂区の細胞径比はほぼ1.0に近くC₁区との差が認められなかったが、I区とII区では開花後19日目まで細胞径比が増加し、細胞の肥大が加温処理によって促進されていることが認められた。しかし、この促進効果も果径・果重と同様にそれ以後減少し細胞径の最終値はC₁区とほぼ同じであった。

C₁区の細胞層数は開花直後から急激に増加し始め、40日目ころまで続きそれ以後はほとんど変化しなかった。したがって、細胞分裂停止期は40日前後と推定される。C₂区は細胞層数比が初期にいくらかばらつきはあるもののほぼ1.0で、C₁区と同様に細胞分裂停止期は開花後40日目ころと考えられる。しかし、I及びII区では開花後10日目から20日目にかけて細胞層数比が大きな値を示し、細胞層数の増加がC₁区を上回っていたが、その後細胞層数比はほぼ1.0を示し、C₁区と同じになっていることから、細胞分裂が促進され、細胞分裂停止期がC₁区より早くなっていると推定される。したがって、加温処理によるこの差を更に明確に把

Fig. 4. Effect of heating for 30 days from the 7th day to the 37th day after full bloom on fruit diameter.

* Vertical lines show the standard deviations.

Fig. 5. Difference in fruit development between heating treatment and control on the 19th day from full bloom.

Table 2. Effect of heating for 30 days from the 7th day to the 37th day after full bloom on the time of cessation of cell division.

Treatment	the time of cessation of cell division (days after anthesis)
C ₁	37
C ₂	41
I	28
II	32

Fig.6. Effect of heating for 30 days from the 7th day to the 37th day after full bloom on cell diameter.

* Vertical lines show the standard deviations.

握するために相対生長式 (8, 16) を用いて検討した。各区の果径と細胞径を対数値に変換してグラフにプロットし、得られる2本の直線の回帰式の交点より求めた反曲点から細胞分裂停止期を推定したものが第2表である。

Fig.7. Effect of heating for 30 day from the 7th day to the 37th day after full bloom on the number of layers of cells.

* From sepal bundle to epidermal cell.

** Vertical lines show the standard deviations.

C₁ 区と C₂ 区の細胞分裂停止期は細胞層数の変化から推定した開花後 40 日目の前後の値に近く、それぞれ 37 及び 41 日目であった。これに対し I 区と II 区ではそれぞれ 28 及び 32 日目と 30 日目前後の値を示し、細胞分裂停止が C₁ 及び C₂ 区より約 10 日早いことが認め

Fig.8. Effect of heating for 30 days from the 7th day to the 37th day after bloom on seed length.

られた。

3. 種子の発育

種子長に及ばず発育初期の加温の影響は第8図のとおりである。C₁区とC₂区の種子は開花後40日目ころまで急激に発育したが、それ以後発育は停止し、最終的に7.8mmに達した。これに対し、I区とII区の種子の発育は加温処理によって促進され、種子の発育停止の時期は開花後30日目ころであった。

4. 胚の発育

発育に伴い胚の形態は前胚、球状胚、移行型胚、心臓型胚、紡錘型胚と変化する(第9図)。この5種類の形態を指標として加温の影響を見たものが第3表である。

開花後13日目ではすべての胚が前胚の形態を示しているが、16日目にはI及びII区で球状胚に発育しているものが観察され、C₁及びC₂区より発育が進んでいるのが認められた。この発育の差は紡錘型に達する時期には一層大きくなり、I及びII区では28日目にすべての胚が紡錘型胚となったのに対し、C₁及びC₂区では37日目に紡錘型胚に達し10日間の差が見られた。紡錘型胚に達した後の胚の発育の差を胚長について見たものが第10図である。どの区においても紡錘型胚に達した後に急激な発育が見られた。I区とII区の胚は開花後45日目に発育が止まり、成熟胚となったのに対し、C₁区とC₂区では55日目でI区及びII区の胚と同じ長さに

Fig.9. Morphological change on development of embryo.

a : Proembryo b : Spherical embryo c : Trans-shaped embryo
d : Heart-shaped embryo e : Spindle-shaped embryo

Table 3. Effect of heating for 30 days from the 7th day to the 37th day after full bloom on development of embryo.

Days after full bloom	Proembryo				Spherical embryo				Trans-shaped embryo				Heart-shaped embryo				Spindle-shaped embryo			
	C ₁		C ₂		I	C ₂	C ₁	II	I	C ₂	C ₁	II	I	C ₂	C ₁	II	I	C ₂	C ₁	II
10	100 (8/8)	100 (5/5)	100 (5/5)	100* (3/3)**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	100 (2/2)	100 (6/6)	100 (5/5)	100 (3/3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	100 (6/6)	100 (4/4)	33 (2/6)	40 (2/5)	0	0	67 (4/6)	60 (3/5)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19	60 (3/5)	100 (7/7)	100 (4/4)	0	40 (2/5)	0	100 (5/5)	100 (4/4)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22	0	33 (1/3)	0	0	100 (4/4)	67 (2/3)	60 (3/5)	100 (7/7)	0	0	0	0	20 (1/5)	0	0	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	88 (7/8)	100 (5/5)	33 (2/6)	0	0	0	12 (1/8)	12 (1/8)	50 (3/6)	0	0	75 (6/8)	17 (1/6)	0	0	13 (1/8)
28	0	0	0	0	40 (2/5)	25 (1/4)	0	0	0	75 (3/4)	60 (3/5)	0	0	0	0	0	100 (7/7)	0	100 (6/6)	0
31	0	0	0	0	14 (1/7)	0	0	0	0	80 (4/5)	29 (2/7)	0	0	20 (1/5)	43 (3/7)	0	14 (1/7)	0	100 (6/6)	0
34	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14 (1/7)	50 (3/6)	0	0	47 (4/7)	33 (2/6)	0	17 (1/6)	29 (2/7)	100 (9/9)	100 (7/7)
37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100 (7/7)	100 (5/5)	100 (2/2)	100 (1/1)

* Per cent

** Number of seeds

Fig.10. Effect of heating for 30 days from the 7th day to the 37th day after full bloom on spindle-shaped embryo length.

達し、その差は 30～40 日目にかけて最大であった。

考 察

Blampied ら(3)は果肉組織細胞に関する研究の中で、遮光処理によって細胞分裂が抑制されることを報告し、これは受光量の減少に起因するものではなく、遮光処理によって生ずる果実温度の低下によるものであると述べている。本実験においても、ビニル被覆によって受光量が 25% 程度減少したにもかかわらず、C₁ 区と C₂ 区との間の果実の発育には差が見られなかったが、これは C₁ 区と C₂ 区の処理温度間に差がなかったためと推測され、Blampied ら(3)の結果と一致した。

Tukey (22, 23) はリンゴ果実の発育初期の夜間に加温処理を行い、開花直後からの発育初期における 22～28℃ の温度は果実の生理機能の活発化を促し、果実の発育を促進すると述べ、Badran (1) も同様の現象を認めており、本実験でも加温処理区の果径、果重が対照区のそれを上回り、発育初期加温の果実の発育促進効果が観察された。しかし、その促進効果は開花後 19 日目(加温処理後 12 日目)まで増大したが、それ以後は減少し開花後 40 日目以後では認められなくなることから、加温処理は開花後 20 日目以前の果実の発育に大きな影響を及ぼし、それ以後の発育には余り影響を及ぼさないものと推定される。

この加温処理による果径・果重の変化は細胞径の変化とほとんど一致し、果実の外部生長と細胞肥大との密接な関連がうかがわれた。

加温処理区の果実の細胞層数は 10～20 日目にかけて対照区のものより増加し、細胞分裂が促進されており Blampied らの報告(3)と一致したが、細胞分裂停止期が早くなったため、最終的には対照区と同じとなった。したがって、果実生育初期の加温処理は果肉細胞の分裂を促進し、果実発育の進行を早める作用を持っているが、果実固有の細胞数を増加させることはないと考えられる。

果実の発育は種子の発育と密接な関連があると言われており(9, 15)、本実験においても種子の発育停止期と細胞分裂停止期の一致が見られ、両者の間の密接な関係が推測された。

Mostafawi ら(13)は、種子内の胚の発育停止が果実の発育の低下をもたらし、生理落果の原因となることを報告し、果実の発育には胚が重要な役割を持つと述べている。しかし、加温処理により胚の発育は促進されたが、対照区との差は開花後 30～40 日目までであったのに対し、果実の発育での差は 20 日目前後が最大で 30～40 日目には差が認められず、処理区の果実は対照区と同じ大きさであったことから、胚の発育が促進された結果として果実の発育が促されたとは考えられない。したがって、従来の報告とは異なり、胚が果実の初期の発育に直接的に関与すると言うものではなく、別の役割をも持つものと思われる。今後、胚と果実の関係をさらに詳しく調査し、果実発育の初期における胚の役割を明らかにしたい。

未熟種子はオーキシン、サイトカイニン、ジベレリン等の生長調節物質の合成の場であると言われており(6)、とくに発育初期の種子はサイトカイニンを多量に含んでいる。サイトカイニンは果肉組織の細胞分裂を促進し(10)、果実の発育を促していると言われていた(5)ので、加温処理による果実の発育促進現象にもサイトカイニンが関与していることが推測され、内生生長調節物質の活性について検討する必要がある。また Luckwill (12) はサイトカイニンが胚乳で合成されると述べているので、今後加温処理と胚乳組織の発育との関係について検討する予定である。

加温処理を行う過程で、処理開始後 20 日目後に異常な生理落果が観察された。このことは Tukey (22)、ト蔵 (4)、Lu ら(11) が観察しており、高温が生理落果を誘発するとされている(11)。さらに生理落果には胚や胚乳の発育が関与している(13, 14) と言われていることから、今後この方面の検討が必要と思われる。

摘 要

リンゴ果実の初期の発育過程を明らかにすることを目的として、開花後 7 日目から 30 日間ビニルハウスを用いて樹体全体の加温処理を行い、果実の肥大と種子の発育について組織形態学的な調査を行った。

1. 夜間加温区と昼夜間加温区は、夜温がいずれも 23°C、昼間は後者のみ外気温 +4°C の温度に設定した。
2. 夜間加温区と昼夜間加温区の間では、果実の発育にほとんど差がなかった。
3. 加温処理によって果径と果重の増加が促進され、対照区との差は開花後 19 日目まで最大であった。しかし、35 日目以後ではその差が見られなくなり対照区と同じ大きさとなった。
4. 加温処理を行った果実の細胞径は果径及び果重の場合と同じ傾向を示し、開花後 19 日目に対照区との差が最大となったが、その後差は小さくなり、最終的には対照区と同じになった。
5. 加温処理によって細胞分裂が促進された。また細胞分裂停止期は対照区の開花後 40 日目に対し、加温処理区では 30 日目と加温処理によって 10 日早くなった。
6. 加温処理を行った果実の種子の発育は細胞層数の変化と同じ傾向が見られ、加温処理区の種子は開花後 30 日目で最大長となり発育が停止したのに対し、対照区の種子は 40 日目まで発育を続けていた。
7. 種子内の胚の発育は加温処理によって促進され、成熟胚に達した時期は加温処理区のものが対照区のものより 10 日間早かった。しかし、対照区との差が最大となった時期は開花後 30~40 日目で果実の発育の場合よ

り遅れていた。

以上のことから、加温処理によって果実の発育が促進され、それは細胞分裂と細胞肥大に基づいており、またそれらは種子の発育と密接な関係のあることが明らかとなった。しかし、胚が果実の発育に及ぼす影響は小さいものと考えられ、胚乳が関与しているものと推測される。

謝 辞 本研究を行うに当たり御協力を願った末田隆司、吉田恭子並びに増田哲男氏に謝意を表す。なお本研究は昭和 54 年文部省科学研究費補助金(一般研究(b))の助成を受けて行ったものである。

引用文献

1. BADRAN, A. M. 1963. Environmental studies of maturation of the McIntosh apple. Doctoral Thesis, Michigan Univ.
2. BATJER, L. P. and G. C. MARTIN 1965. The influence of night temperature on growth and development of Early Redhaven Peaches. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 87: 139-144.
3. BLAMPIED, G. D. and M. H. WILDE 1968. A study of the cells in the outer flesh of developing McIntosh apple fruits. Bot. Gaz. 129: 173-183.
4. ト蔵建治・浅田武典. 1980. 人工環境下におけるリンゴ幼木の栽培試験. 生物環境調節. 18: 79-83.
5. BRUINSMA, J. 1977. Rolle der Cytokine bei Blüten- und Fruchteentwicklung. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 140: 15-23.
6. CRANE, J. C. 1964. Growth substances in fruit setting and development. Ann. Rev. Plant Physiol. 15: 303-326.
7. DENNE, M. P. 1963. A comparison between fruits of Cox's Orange Pippin from Kent, England and Auckland, New Zealand. N. Z. J. Bot. 1: 295-300.
8. HUXLEY, J. S. and G. TEISSIER 1936. Terminology of relative growth. Nature 137: 780-781.
9. 加藤幸雄・志佐 誠. 1975. 新植物生殖生理学. pp. 273-295. 誠文堂新光社. 東京
10. LETHAM, D. S. 1963. Regulators of cell division in plant tissues I. Inhibitors and stimulants of cell division in developing fruits: Their properties and activity in relation to the cell division period. N. Z. J. Bot. 1: 336-350.
11. LU, C. S. and R. H. ROBERTS 1952. Effect of temperature upon the setting of Delicious apples. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 59: 177-183.
12. LUCKWILL, L. C. 1948. The hormone content

- of the seed in relation to endosperm development and fruit drop in the apple. J. Hort. Sci. 24 : 32-44.
13. MOSTAFAWI, M., R. STOSSER and G. BUCHLOH 1970. Über Beziehungen zwischen Embryoentwicklung und Junifall bei Apfelfrüchten. Gartenbauwissenschaft 35 : 175-184.
 14. MURNEEK, A. E. 1954. The embryo and endosperm in relation to fruit development, with special reference to the apple, *Malus sylvestris*. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 64 : 573-582.
 15. 大川勝徳. 1974. 果樹における結実と植物ホルモン. 植物の化学調節. 9 : 87-94.
 16. SINNOT, E. W. 1939. A developmental analysis of the relation between cell size and fruit size in cucumbers. Amer. J. Bot. 26 : 179-189.
 17. SKENE, D. S. 1966. The distribution of growth and cell division in the fruit of Cox's Orange Pippin. Ann. Bot. 30 : 493-512.
 18. SMITH, W. H. 1940. The histological structure of the flesh of the apple in relation to growth and senescence. J. Pomol. Hort. Sci. 18 : 249-260.
 19. TETLEY, U. 1931. The morphology and cytology of the apple fruit, with special reference to the Bramley's Seedling variety. J. Pomol. Hort. Sci. 9 : 278-297.
 20. TUKEY, H. B. and J. O. YOUNG 1942. Gross morphological and histology of developing fruit of the apple. Bot. Gaz. 104 : 3-25.
 21. TUKEY, L. D. 1952. Effect of night temperature on growth of the fruit of the sour cherry. Bot. Gaz. 114 : 155-165.
 22. TUKEY, L. D. 1956. Some effects of night temperatures on the growth of McIntosh apples, I. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 68 : 32-43.
 23. TUKEY, L. D. 1960. Some effects of night temperatures on the growth of McIntosh apples, II. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 75 : 39-46.
 24. 中条利明・片岡正治・山内 勲・葦沢正義. 1972. カキ果実の生長, 品質に及ぼす温度の影響 (第1報) 果実の肥大期における温度処理. 園学雑. 41 : 339-343.