ネクタリン幼果の気孔の発達と分布密度

石田雅士・平田 元・北島 宣・傍島善次

京都府立大学農学部 606 京都市左京区

Development and Density of Stomata on Fruit Surfaces during Fruit Growth in Nectarine

Masashi ISHIDA, Hajime HIRATA, Akira KITAJIMA
and Yoshitsugu SOBAJIMA

Faculty of Agriculture, Kyoto Prefectural University, Kyoto 606

Summary

This work was undertaken to clarify the development and density of stomata on fruit surfaces and diurnal changes in opening and closing of stomata during the growing of nectarine fruit, by using a scanning electron microscope.

1. It was observed that the stomata on the fruit surfaces had not yet been differentiated at full bloom. During stage 1 of fruit growth, stomata development was rapid. Well-developed stomata on fruit surfaces were found abundantly in the equatorial areas of the fruit when fruitlet grew rapidly.

2. The density of the stomata on the fruit surfaces was highest on equatorial areas, intermediate in distal areas and lowest in proximal areas. There were no stomata in the suture zone.

3. The size of stomata was larger and they were well developed in proximal areas. The size of stomata seemed to be only slightly influenced by the surface expansion rate per unit area of fruit.

4. Diurnal changes in opening and closing of stomata in exposed and shaded fruitlets of nectarine indicated two peaks, one of which was in the day (10: 00) and the other at midnight (22: 00). The stomata were also open at both 14: 00 and 22: 00 in the dark-treated fruit. The stomatal aperture increased slightly in the evening and attained its maximum at midnight in the dark treatment. The degree of opening of stomata appeared to be related to changes in diurnal fruit growth. These results indicated that the stomata were open at midnight and in the case of the dark treatment, gases were exchanged through the opened stomata.

The existence of starch grains in guard cells on fruit surfaces suggested direct fixation CO_2 into organic acids and resynthesis of starch from the translocation of assimilation matter out of leaves to fruit during darkness.

緒 言

気孔は大気とのガス交換の主な出入口で、その開度や大きさ及び分布密度は、植物の光合成や蒸散などの生理機構に大きな影響を及ぼすことが数多く報告されている(1, 7, 11, 12, 13, 14, 22)。

果樹では、柑橘類、ブドウ、リンゴ及び核果類などで、葉以外の果面にも、気孔の存在することが指摘されている(2, 3, 17, 18, 19)。

しかし、果面の気孔が果実の発育にどのような役割を

果たしているのかについては不明な点が多く、ほとんど解明されていない。以前わずかに沢田(19)がサクランボの裂果と気孔の分布との関係を調べ、裂果の発生に気孔の分布密度は余り影響を及ぼさなかったとの報告がみられるのみで、果面の気孔そのものの機能や果実発育とのかわりなどを調べた研究は極めて少ない。

著者ら(8)は、モモ幼果では果面の気孔の孔辺細胞周辺の果肉細胞中で、デンプン果粒の集積が認められること、並びに果実の葉緑体は葉の葉緑体とは異なった形態を呈することを指摘した。また、果実自身が CO_2 暗固

1988年7月20日 受理

定をして、直接有機酸を生成しているとの指摘もある(8, 15)。したがって、果面に存在する気孔は、葉の気孔とは生理的にも異なる側面があるのではないかと考えられる。そこで、走査型電顕 (SEM) を用いて、ネクタリン果実の幼果から成熟果までの気孔の発達及びその分布密度並びに気孔開閉の日変化を調べ、果実の発育生理とのかかわりを解明する基礎的資料を得るために本実験を行った。

材料及び方法

1. 果実表面における気孔の発達

京都府立大学農学部附属農場に栽植のネクタリン ‘興津’ 14 年生 2 樹を供試して、1980～1985 年、4 月 12 日（開花時）から 8 月 9 日（収穫時）まで、1 週間間隔で果実 10 個を無作為に採取した。気孔は環境の変化に対して鋭敏に反応するため、果実採取後、直ちに FAA で固定を行った。固定後、ネクタリン果実は縦に 2 等分して、各部位ごとに果皮切片 ($5 \times 5 \text{ mm}^2$) を作成した。各切片はアルコール・アセトンシリーズで脱水を行い、最終的に酢酸イソアミルに置換した。その後、臨界点乾燥、金蒸着を行い、走査型電子顕微鏡で各試料ごとに気孔を観察したが、主に逢合線反対側の赤道部付近の部位を中心に調べた。気孔の発達は、その大きさを孔辺細胞の外径と内径を指標として調べた。

2. 果面の気孔の分布と密度

上記と同様に ‘興津’ を用い、5 月初旬の幼果を無作為に採取後、直ちにその場で FAA に固定した。上記と同様に脱水、金蒸着の操作を経て、SEM で観察した。なお、試料の果皮は曲面をしており、かつ大き過ぎたので、適宜分割して果面を出来るだけ平面にして観察した。

気孔の分布は、果面を 500 倍で観察して、1 視野中の

気孔の数と位置を方眼紙上に記録した。視野をずらして、全果面について調査した。

ここで得られた気孔分布の模式図から、果実の気孔密度を算出した。すなわち、各部位の気孔密度を代表していると思われる 5 ヶ所を選んで、その平均値を求めた。なお、比較するために葉身裏面中央部を同様に固定して SEM で観察し、その気孔密度もあわせて調べた。

気孔の大きさは、無作為に選んだ 100 個の気孔について、その縦径と横径を測定し平均値で示した。

3. 果面の気孔開閉の日変化

2. で得た結果を参考にして、気孔開閉の調査を赤道部の最過密部分について行った。調査果実は自然状態と開花期から継続して暗条件で発育させた果実について、それぞれ 1980 年 5 月 4～5 日にかけて経時的に採取した。暗黒処理は、発泡スチロール薄板をアルミホイルで覆って光を遮断した箱を準備して、同年 4 月 12 日に亜主枝を箱の中へ入れて密封した。その際、細いビニール管を用いてコンプレッサーで通気を行った。

所定時刻に採取した果実の切片各 3 個は 1. と同様の手順を経て SEM で観察し、1 個体につき 200 個の気孔について、その開閉度を最も開いているのを 5 とし、5 段階に相対評価した。また、暗黒下の幼果を 22 時に採取して、その果実表面の気孔を含む近辺の表皮層を切り取り、常法によりスプールの樹脂に包埋して、その切片を透過型電子顕微鏡で観察した。なお、自然状態の葉の気孔についても果実と同様の方法を用いて日変化を調べた。

結 果

1. 果実表面の気孔の発達

ネクタリン果実の気孔の発達と果実発育との関係を第

Fig. 1. Relations between development of stomata and fruit growth in nectarine.

Fig. 2. Scanning electron micrograph of development of stoma on fruit surfaces in nectarine. A: Base of style, B: Surface on fruit at full bloom, C: Stomata 1 week after full bloom, D, E and F: Well developed stomata on fruit surfaces 3 weeks after full bloom, G and H: Cuticular development around a stoma and small cracking of a stoma at stage II of fruit growth. Bv line/ μm .

Table 1. The density and size of stomata on fruit surface in nectarine.

	Density No. of stoma/cm ²	Size of stoma (μm)		Ratio Length/Width
		Length	Width	
Proximal area	1.1×10 ³	42.2±1.237 ^z	38.0±1.163	1.1
Equatorial area	1.2×10 ⁴	30.1±1.027	28.0±1.081	1.1
Distal area	2.8×10 ³	25.2±0.809	26.0±0.793	1.0
Suture zone	—	—	—	—
Whole fruit	3.7×10 ³	—	—	—
Leaves	2.0×10 ⁴	32.7±0.882	24.5±0.684	1.3

^z Confidence limit (95%)

1 図及び第 2 図に示した。すなわち、開花時には花柱の基部に数多くの気孔が認められるが、子房の表面には気孔が全く存在しなかった (第 2 図 A, B)。しかし、開花後 3 週間目になると、まず果頂部に気孔が現れ始め、その後漸次、赤道部から果底部にかけて現れた。外部形態的には、いまだ孔辺細胞が未分化の状態のものが多く、円形の盛り上がり呈していた (第 2 図 C, D)。5 月上旬になると、赤道部付近の気孔は非常に発達して、孔辺細胞が盛り上がりてセントラルポアが明らかに認められるようになった (第 2 図 E, F)。この時期は果実の発育も大変に盛んな時で、気孔の数も一段と多くなった。

5 月中旬以降、果面の気孔数の変化はなく、果実の肥大に伴って、その密度が低下した。6 月下旬ころになると、孔辺細胞やその周辺部に亀裂が認められ (第 2 図 G, H)、気孔にワックスの付着が見られ、外部形態的には単なる穴としてのみ存在するように見えた。さらに、その後は完全にワックスで埋もれた気孔が多数認められた。

2. 果面の気孔の分布と密度

果実表面の気孔の分布及び密度を第 3、4 図及び第 1 表に示した。すなわち、果実 1 個当たり、ほぼ 5,800～6,200 個の気孔を有し、それらは果実のほぼ全面に分布している。しかし、その分布は不均等なものであり、部位別の分布密度でみると、赤道部が最も高く、次いで果底部、果頂部の順であった。なお、赤道部の気孔密度は、他の部分と比較して、極めて高かった。しかし、葉身中央部の気孔密度には及ばなかった。また、縫合線の部分には気孔は全く認められなかった (第 4 図)。

気孔の大きさについて、その縦径及び横径を調べてみると、葉の気孔に比べて果頂部の気孔は大きく、果底部で小さかったが、赤道部では大小の気孔が混在していた。したがって、果実の気孔は果頂部で大きく、よく発達し、果底部へ行くにしたがって小さくなり、未発達の気孔も多く認められた。

Fig. 3. The density of stomata on fruits surfaces in back side of fruit. (A+B) **Fig. 4.** The density of stomata on fruit surfaces in ventral side of fruit. (C+D) a: suture.

3. 果面の気孔開閉の日変化

果実表面の気孔開度の日変化を第 5 図に示した。すなわち、自然状態の果実は、日中と深夜に 2 つのピークを示した。気孔は 10 時より閉じ始め、14 時に開度が最小となり、以後再び開きだして、24 時に最大の開度を示し

Fig. 5. Diurnal changes in opening and closing of stomata on fruit surfaces and leaves in nectarine.

Fig. 6. Diurnal changes in temperature and humidity.

Fig. 7. Transmission electron micrograph of some starch grains or guard cells and chloroplasts on fruit surfaces of nectarine in dark treatment. S: Starch grain, A, B and C: Guard cells, D and E: Chloroplasts

た。その後急に閉じ、2時に開度は再び最小となり、以後ゆるやかに開き始めた。暗黒処理をした果実でも気孔は開き、自然状態と同様に昼夜に2つのピークを示した。ただし、暗黒処理した場合には、自然状態の果実より概して大きな開度を示した。また、気孔開度のピークは、自然状態の場合よりも、やや遅れる傾向が認められ、14時及び22時から翌日2時にかけてであった。自然状態、暗黒処理果ともに、夜間に開度が最大になったことは注目すべき日変化であった。一方、葉の気孔は実験期間中余り変化を示さず、わずかに開いている状態であった。これは葉の気孔が発達過程のものであったと思われる。なお、温度及び湿度の日変化(第6図)と気孔開閉との関係を見ると、気孔開閉との間には関連性が認められなかった。

次に、暗黒条件下での果実の気孔の孔辺細胞とその周辺の果肉細胞を透過電子顕微鏡で調べたところ、孔辺細胞及びその周辺の果肉細胞の葉緑体には、非常に多くのデンプン顆粒の存在が認められた(第7図A~E)。

考 察

ネクタリン果実表面の気孔の外部形態をSEMによって観察し、気孔の発達とその分布密度を果実発育との関連に注目して調べた。その結果、まず気孔の発達過程についてみると、開花時には、花柱の基部近辺に気孔が認められるが、子房表面には全く存在しなかった。しかしながら、4月下旬より5月中旬ごろにかけて、果実発育第1期の果実肥大の盛んな時期に、幼果の果面全体に気孔が出現して漸次その大きさ及び数が増大することが認められた。次いで、果実発育第2期が始まる6月ころより、果実の発育に伴って、個々の気孔自体は大きくなっていくものの、気孔の開口部の盛り上がりが消滅し、亀裂を生じる気孔が認められ、本来の機能を失い単なる穴としてのみ存在しているようにみられた。この点に関しては、沢田(19)のサクランボの裂果と気孔分布の関係を調べた報告と極めて類似しており、核果類の果樹の果面の気孔の発達には共通した点がある。縫合線部には全く気孔が見られなかった。縫合線は、発生学的に果実を葉の器官の変形したものと考えた場合、葉の裏面の周縁が巻いて癒合した部分に相当する。ネクタリン果実が葉の裏面を外側にして癒合していると考えれば、一般に葉の気孔数は、先端及び周辺部で少なく、中央部に多いといわれているので(18)、縫合線部に気孔が無く、その他の果面に気孔が多く存在することもよく理解される。

果実の気孔に関する報告(17, 19, 21)は非常に少ないが、果実の気孔についても葉の気孔と同様に温度や湿度など環境条件により気孔が開閉する(1, 7, 11, 13, 14, 20,

22)ことが予測された。しかし、第5, 6図の結果に示すとおり、果実の気孔については温度や光条件と気孔開度の間に関連は認められなかった。

気孔開閉の日変化については、葉では昼間に開き、夜間に閉じるといわれており、例えば、水稻(11, 12)などの作物で、いずれも日中に気孔開度の大きいことなど報告されている。しかし、ネクタリン幼果の気孔は、夜間にも開き、かつ、その開度は最大になった。このことは、果実発育の生理から考えて、非常に興味あり、果面の気孔は葉の気孔とは別の生理的な機能をもつことが推察される。

果実の気孔が果実発育にどのように関わっているかについて、中条・葦沢(4)はカキ果実の表面微細構造をSEMで観察した結果、幼果時の花盤に気孔の存在がみられたものの、果面には全く認められなかったと報告しており、ChambersとPossingham(3)はブドウの果実表面に気孔が存在しなかったことを観察している。したがって、果実発育のために気孔は必ずしも必須な器官ではないとも考えられるが、果実類にはガクを備えているものもあり、ガクには多数の気孔の存在が認められている。中村(16)はカキについてガク片を初期に除去すると、幼果の発育が停止すると述べており、形態的にガク片をもたないブドウでも、小果梗には多数の気孔のあることが認められている(15)。中川ら(17)は数種のブドウ品種では、その果粒表面の気孔が存在していることを報告し、果面の気孔は、ただ単に発生の過程の遺物ではなく、果粒肥大の上で重要な意味をもつものであらうと述べている。最近、Geelenら(6)はトマトの*in vitro*の培養で、果実そのものを無菌的に培養瓶外に出して培養すると、培養瓶中で培養した果実に比べて、非常に大きな果実に発育することを明らかにし、その原因として、果実面からのガスの蒸散が果実発育に影響していると考えている。したがって、果実肥大のために、果面の気孔も光合成を始めガス交換の場として重要な役割を演じているのかもしれない。著者ら(10)の調査でも、モモの幼果は明らかに光合成を行っており、果実発育の盛んな果実発育第1期の後半は、呼吸速度も極めて高く、同化物質の果実への転流も多く、同化物質を再合成する代謝も非常に盛んな時期である。本調査の結果にみられるように、この時期に果面の気孔が多数出現し発達するが、これは果実への同化物質を再合成する代謝を円滑にして、果実肥大に寄与する機能を有すると考えられる。

次に幼果果面の気孔の開閉の日変化を調べたところ、第5図に示したとおり自然状態、暗黒処理共に夜間に気孔開度が最大になり、規則性のある内生リズムが存在す

と思われる。遠藤(5) はナシ果実肥大の日変化を詳細に調べ、著者らもモモ果実で同様のことを調べた結果(9)、果実の発育は収縮と膨潤を繰り返して肥大しており、とくに夜間にはネクタリン幼果は膨潤する。この膨潤することが果面の気孔開度にも密接に関連していると思われる。果面の気孔は、葉の気孔とは異なり環境条件によって孔辺細胞の開閉活動が必ずしも活発でないと考えられる。他方、暗黒条件下の夜間の孔辺細胞やその付近の果肉細胞でデンプンの形成が認められたことから、果面の孔辺細胞や果肉細胞内の葉緑体は、光照射がなくてもデンプン粒を形成することが明らかになった。このことは、果実自身光条件下でデンプン粒を形成することはいうまでもなく、夜間において、果面の気孔と葉緑体は転流同化物質を果実中において再合成する際に、非常に重要な働きをしているものと考えられる。また、果実は CO_2 暗固定して、直接有機酸を生成する能力があることについて、松井ら(15) はブドウで、著者ら(8) はモモで指摘している。ネクタリン果面の気孔の孔辺細胞も、暗黒条件下でデンプン粒が認められることから、CAM 植物と同様に、夜間に気孔が開いて、直接 CO_2 から有機酸を生成するための機能を有する可能性が考えられる。今後、さらに果実の気孔が果実の発育にどのようにかかわっているのかについて、その生理的機作を詳細に調べる必要があろう。

摘 要

果実の気孔が果実発育にどのようにかかわっているのかの基礎資料を得るために、ネクタリン果実を用い、果実表面の気孔の発達、密度及び気孔開度の日変化について調べた。

1. 果実発育第1期の5月初旬、果実の発育が最も盛んな時期に、気孔は急速に発達した。
2. 気孔の密度は、赤道部が最も高く (1.2×10^4 個/ cm^2)、他の部分は低かった。また、縫合線部には気孔は存在しなかった。
3. 気孔は果頂部で大きく、よく発達していたが、果底部へ行くにしたがって小さくなり、未発達の気孔が多く認められた。
4. 気孔開度の日変化は、日中と深夜に2つのピークを示した。また、暗処理した果実でも夜間に気孔は開いていた。

これらの結果から、果実の気孔は夜間や暗処理した場合も開いて、ガス交換を行っていることが示唆された。したがって、果実の気孔は明らかに葉とは別の生理的機作をもつことが推察された。

引用文献

1. AYLOR, D. E., J. Y. PARLANGE and A. D. KRIKORIAN. 1973. Stomatal mechanics. *Amer. J. Bot.* 60: 163-171.
2. BLANPIED, G. D. and M. H. WILDE. 1963. A study of the cell in the outer flesh of developing McIntosh apple fruits. *Bot. Gaz.* 129: 173-183.
3. CHAMBERS, T. C. and J. V. POSSINGHAM. 1963. Studies of the fine structure of the wax layer of sultana grapes. *Aust. J. Biol. Sci.* 16: 818-825.
4. 中条利明・葦沢正義. 1978. カキ果実の微細構造に関する研究. 園学要旨. 昭和53春: 120-121.
5. 遠藤聡郎. 1972. 和梨果実の日肥大周期に関する研究. 京都大学学位論文.
6. GELEN, T. A. M., A. VARGA and J. BRUNSMAN. 1987. Cell division and elongation in the exocarp of tomato fruit grown in systems *in vitro* and on the vine. *J. Plant Physiol.* 130: 343-349.
7. 今村駿一郎. 1979. 気孔孔辺細胞の膨圧調節機構. 京都大学農学部応用植物学研究室出版.
8. 石田雅士・赤浦和之・弦間 洋・傍島善次. 1979. 果実の組織構造と CO_2 の取り込みの関係. 園学要旨. 昭54秋: 86-87.
9. 石田雅士・稲葉昭次・傍島善次. 1973. モモ果実の発育に関する生理学的研究 I. 京府大学報. 農学. 25: 1-7.
10. 石田雅士・稲葉昭次・傍島善次. 1982. モモ果実の光合成による $^{14}\text{CO}_2$ の取り込みについて. 京府大学報. 農学. 34: 6-10.
11. 石原 邦・佐合隆一・小倉忠治. 1978. 水稻葉における気孔の開閉と環境条件との関係. 第5報. 根群の一部を切除した場合の気孔開度の日変化. 日作紀. 47: 499-505.
12. 石原 邦・佐合隆一・小倉忠治. 1978. 水稻葉における気孔の開閉と環境条件との関係. 第6報. 水田の最周辺と内部に生育した水稻の気孔開度の日変体の比較. 日作紀. 47: 515-528.
13. 石原 邦・江原宏昭・平沢 正・小倉忠治. 1978. 水稻葉における気孔の開閉と環境条件との関係. 第7報. 葉身のチッソ濃度と気孔開度の関係. 日作紀. 47: 664-673.
14. JARVIS, P. G. and T. A. MANSFIELD. 1981. Stomatal physiology. p. 71-86. Cambridge University Press. Cambridge.
15. 松井弘之・湯田英二・中川昌一・米森敬三. 1980. ブドウ「デラウェア」果実の成熟生理に関する研究. (第2報) 果実に対する光度が糖・有機酸含量に及ぼす影響並びに果実での炭酸ガス固定. 園学雑. 48: 405-412.
16. 中村三夫. 1967. カキのヘタの生理生態学的研究. 岐阜大農研報. 23: 1-62.
17. NAKAGAWA, S., H. KOMATSU and E. YUDA. 1980. A study of micro-morphology

- of grape berry surface during their development with special reference to stoma. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 49: 1-7.
18. REED, H. S. 1931. The density of stomata in citrus leaves. J. Agr. Res: 43: 209-222.
19. 沢田英吉. 1935. 桜桃の果面における気孔の分布状態. 農及園. 10: 485-502.
20. TAKEUCHI, Y. and N. KONDO. 1988. Effect of abscisic acid on cell wall metabolism in guard cell of *Vicia faba* L. Plant Cell Physiol. 29: 573-580.
21. TURRELL, F. M. and L. J. KLOTZ. 1940. Density of stomata and oil glands and incidence of water spot in the rind of washington navel orange. Bot. Gaz. 101: 862-871.
22. 吉田智彦・小野敏忠. 1978. 二, 三の環境条件が稲葉身気孔密度に及ぼす影響. 日作紀. 47: 506-514.