

《資料》

## ホウレンソウ葉における気孔密度の変動要因

太田友代\*

### Composition of Stomatal Density on Spinach Leaf

Tomoyo OTA

著者らは、2010年度～2012年度（平成22～24年度）に実施した「光化学オキシダント被害の被害軽減技術確立試験」の中で、ホウレンソウの葉の表皮の気孔密度（1mm<sup>2</sup>当たりの気孔数）は、葉位や光強度および施肥量によって変動することを明らかにした（埼玉農総研，2013）。そこで、それらの要因によって引き起こされる気孔密度の変動が、表皮細胞の気孔細胞への分化能力（表皮細胞数に対する気孔数の比率の変化）によるものか、表皮に存在する細胞の細胞伸長（表皮細胞面積の増減）によるものかについて調査した。

本調査を実施するに当たり、環境科学国際センター三輪誠氏の御協力をいただいた。ここに記して深謝します。

#### 材料および方法

##### 1 葉位の違いと気孔細胞密度

ホウレンソウは、2012年4月2日に「パスワード7」を鶴ヶ島市にある園芸研究所鶴ヶ島試験地（表層腐植質黒ボク土）の鉄骨ハウス（無加温、硬質プラスチックフィルム展張）内に播種した。栽培にはポリマルチ（5条、条間15cm×穴間15cm）を用い、1穴当たり4粒播種した。施肥は、1a当たりN・P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>・K<sub>2</sub>Oともに1.5kg、苦土石灰8kgを施用した。5月8日に、任意に選んだ1株について、葉位別に葉身の表側の先端近くおよび基部近くの各1か所から約1cm<sup>2</sup>をマニキュア液を用いて型取りし、倍率100倍の顕微鏡でそれぞれ5

視野を撮影した画像を印刷して気孔数および気孔以外の表皮細胞数を計数し、1mm<sup>2</sup>当たりの値を求めた。

##### 2 遮光程度の違いが気孔細胞密度に与える影響

2012年2月6日に、鶴ヶ島試験地の雨よけパイプハウス（無加温、農PO展張）内に、「ハンター」を播種した。栽培にはポリマルチ（5条、条間15cm×穴間15cm）を用い、1穴当たり4粒播種した。施肥は、1a当たりN・P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>・K<sub>2</sub>Oともに1.8kg、苦土石灰10kgを施用した。播種直後から、調査までの全期間、長繊維不織布資材でトンネル被覆することにより遮光率30%（タフベル3000S）および遮光率45%（タフベル3800S）の2水準を設けた。4月12日に、任意の中庸な株4株を抽出し、最大葉葉身の表側の先端近くおよび基部近くの各1か所から約1cm<sup>2</sup>をマニキュア液により型取りし、倍率100倍の顕微鏡でそれぞれ5視野を撮影した画像を印刷して気孔数および気孔以外の表皮細胞数を計数し、1mm<sup>2</sup>当たりの値を求めた。

##### 3 施肥量の違いが気孔細胞密度に与える影響

ホウレンソウは、2013年3月5日に鶴ヶ島試験地のガラス室（無加温）内に播種した。品種は「ハンター」、栽培にはポリマルチ（6条、条間15cm×穴間15cm）を用い、1穴当たり4粒播種した。施肥量は、N・P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>・K<sub>2</sub>Oともに1.25kg/a（少肥区）とN・P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>・K<sub>2</sub>Oともに2.5kg/a（多肥区）の2水準を設けた。設定量を全量元肥とし、

\*園芸研究所

苦土石灰 10kg/a とともに施用した。

4月24日に、任意の中庸な株4株を抽出し、最大葉葉身の表側の先端近くおよび基部近くの各1か所から約1cm<sup>2</sup>をマニキュア液により型取りし、倍率100倍の顕微鏡でそれぞれ5視野を撮影した画像を印刷して気孔数および気孔以外の表皮細胞数を計数し、1mm<sup>2</sup>当たりの値を求めた。

## 結果

### 1 葉位の違いと気孔細胞密度

気孔密度 (1mm<sup>2</sup> 当たりの気孔数, 以下同じ) は、葉位が進むにつれて高くなった。気孔以外の表皮細胞数 (1mm<sup>2</sup> 当たり, 以下同じ) は、最大葉である第6葉まで増加し、展開中である第7葉～第9葉では、葉位が進むにつれ増加傾向にあるものの有意差はなく、展開初期の第10葉では有意に多かった。表皮細胞数に対する気孔数の比率

は、第1葉～第2葉と第3葉～第10葉との間に有意差が認められた (表1)。

### 2 遮光程度の違いが気孔細胞密度に与える影響

遮光率を2水準に設定したところ、気孔密度、気孔以外の表皮細胞数および全細胞数 (1mm<sup>2</sup> 当たりの気孔数と気孔以外の表皮細胞数の合計数, 以下同じ) には、遮光率30%区と45%区の間には有意差はなかった。表皮細胞数に対する気孔数の比率は、遮光率が高い45%区で有意に高かった (表2)。

### 3 施肥量の違いが気孔細胞密度に与える影響

窒素施用量を2倍量異なる区を設定したところ、気孔密度、気孔以外の表皮細胞数および全細胞数には、少肥区と多肥区の間には有意差はなかった。表皮細胞数に対する気孔数の比率は、多肥区で有意に低かった (表3)。

表1 葉位別調査結果

葉位	第1葉	第2葉	第3葉	第4葉	第5葉	第6葉	第7葉	第8葉	第9葉	第10葉
気孔数 (個/mm <sup>2</sup> ) A	4.6a	6.0ab	7.5abc	9.4bc	11.4cd	10.4cd	15.6de	18.0ef	20.3f	33.0g
気孔以外の表皮細胞数 (個/mm <sup>2</sup> ) B	17.8a	23.6ab	43.0abc	58.7bc	77.9c	64.7c	117.7d	141.7d	155.7d	241.8e
細胞比率 A/B	0.26a	0.25a	0.18b	0.16b	0.15b	0.16b	0.13b	0.13b	0.14b	0.14b

異なる英文字間には、5%水準で有意差がある (Tukeyの方法による検定結果)

表2 ハウレンソウの気孔数に及ぼす遮光程度の影響

遮光程度	気孔数 A (個/mm <sup>2</sup> )	気孔以外の表皮細胞数 B (個/mm <sup>2</sup> )	全細胞数 A+B (個/mm <sup>2</sup> )	A/B
遮光率30%	13.2	98.0	111.2	0.14
遮光率45%	11.5	71.0	82.5	0.16
有意性 <sup>1)</sup>	NS	NS	NS	*

1) \*: Studentのt検定により5%水準で有意差があることを示す NS: 有意差がないことを示す

表3 ハウレンソウの気孔数に及ぼす施肥量の影響

施肥量	気孔数 A (個/mm <sup>2</sup> )	気孔以外の表皮細胞数 B (個/mm <sup>2</sup> )	全細胞数 A+B (個/mm <sup>2</sup> )	A/B
少	13.2	64.0	77.2	0.21
多	10.8	62.6	73.4	0.17
有意性 <sup>1)</sup>	NS	NS	NS	*

1) \*: Studentのt検定により5%水準で有意差があることを示す NS: 有意差がないことを示す

## 考 察

山本ら (1984) は、気孔密度 ( $1\text{mm}^2$  当たりの気孔数) の変動を表皮細胞の気孔分化能力 (気孔以外の表皮細胞数に対する気孔数の比率) と表皮細胞の伸長能力 (平均面積) の 2 要素に分割して検討することを提唱し、ダイズを材料に検討した結果を報告している。本調査では山本らに倣い、ホウレンソウの気孔密度の変動を 2 要素に分割して、各要素が気孔密度に与える影響について検討した。

ホウレンソウの気孔密度は葉位が進むにつれて高くなり、山本らの結果と合致した。一方、表皮細胞の気孔分化能力は、生育のごく初期を除いて葉位に関わらずほぼ一定であり、変異の方向性は不安定であるとする山本らの結果とは合致しなかった。植物の種類により、気孔分化の特性が異なる可能性が示唆された。

山本ら (1985) および三輪ら (2013) は、ホウレンソウにおいて光強度の抑制 (もしくは遮光の強化) や多肥により気孔密度が減少するとの試験結果を得ている。本調査の結果では、遮光程度および施肥量の違いによる気孔密度に統計的有意差は認められなかったが、平均値では遮光の強化により 87% に、多肥により 82% に減少し、同様の結果がみられた。

平均値で同様の調査結果が得られたことから、「ホウレンソウにおいて遮光の強化や多肥により気孔密度が減少する」現象について、表皮細胞の気孔分化能力と表皮細胞の伸長能力 (平均面積) の 2 要素に分割して、各要素が気孔密度に与える影響について検討を試みた。表皮細胞の伸長能力 (平均面積) は、 $1\text{mm}^2$  を表皮細胞数で除した値であることから、本報では、表皮細胞数で読み替えた。すなわち、 $1\text{mm}^2$  当たりの気孔以外の表皮細胞数が多ければ、細胞面積が小さいと解することができる。

気孔分化能力は、遮光の強化により有意に増加した。「遮光の強化により気孔密度が減少する」なら、気孔分化能力の増加率を上回る表皮細胞の伸長 (す

なわち表皮細胞数の減少) が起こる必要がある。本調査では、遮光の強化により表皮細胞数が平均 28% 減少した。遮光によって徒長 (細胞伸長) が起こる程度は、光強度や品種により異なると考えられることから、遮光程度による気孔密度の変動は 2 要素の総合的な結果であると推察された。施肥量については、多肥により気孔分化能力が有意に減少し、表皮細胞数には差がみられなかったことから、「多肥により気孔密度が減少する」現象の主たる要因は、気孔分化能力の低下であると考えられた。

なお、気孔密度への遮光程度および施肥量の影響に統計的有意差が認められなかった原因としては、調査に最大葉を用いたことによる葉位の不一致や少サンプルでの型取り位置による機会浮動などが考えられ、今後このような試験を実施する際には、サンプリングの位置や数について十分検討する必要がある。

## 引用文献

- 三輪誠・印南ゆかり (2013) : ホウレンソウの施肥量増加によるオゾン被害軽減効果の検討. 第 54 回大気環境学会年会要旨 (新潟市)
- 埼玉県農林総合研究センター・埼玉県環境科学国際センター (2013) : ホウレンソウ・コマツナの光化学オキシダント (オゾン) 被害の軽減. 「光化学オキシダントによる軟弱野菜の被害軽減技術確立試験」報告書
- 山本昭夫・武田元吉・中島哲夫・山崎耕宇 (1984) : 大豆品種における気孔密度の変動性に関する研究 第 1 報 葉の裏表および葉位が品種間差異におよぼす影響. 日作紀 53(4), 463-471
- 山本昭夫・武田元吉・中島哲夫・山崎耕宇 (1985) : 大豆品種における気孔密度の変動性に関する研究 第 2 報 土壌水分および光強度の抑制が気孔密度におよぼす影響. 日作紀 54(2), 127-133