

ニホンナシの自発休眠制御並びに
結実安定技術開発に関する研究

(The studies on the control of endodormancy and
development of stable fruit set method in Japanese pear)

黒 木 克 翁

2 0 1 6

目次

緒論	1
第1章 シアナミド処理がニホンナシ主要品種の自発休眠打破および 開花期に及ぼす影響	6
第1節 緒言	6
第2節 シアナミドおよび過酸化水素溶液の浸漬処理がニホンナの 腋花芽の自発休眠打破に及ぼす影響	7
第3節 シアナミドの散布時期および濃度の違いがニホンナシの 自発休眠打破に及ぼす影響	12
第4節 シアナミドの散布時期および濃度の違いがニホンナシの 花芽の発育および開花日に及ぼす影響	19
第5節 考察	23
第6節 摘要	26
第2章 シアナミド処理がナシ受粉樹の開花期および 花粉発芽に及ぼす影響	27
第1節 緒言	27
第2節 シアナミド処理が受粉樹の春季の生育に及ぼす影響	28
第3節 シアナミド処理が花粉の発芽特性に及ぼす影	33
第4節 シアナミド処理が花粉の発育に及ぼす影響	37
第5節 考察	40
第6節 摘要	43
第3章 低温条件下でのニホンナシの結実性向上技術の開発	44
第1節 緒言	44
第2節 ナシ属植物の花粉の発芽特性	45
第3節 セイヨウナシ花粉を用いた低温条件下での受粉が 結実率に及ぼす影響	48
第4節 セイヨウナシ花粉を用いた受粉がニホンナシ品種の 果実品質に及ぼす影響	52
第5節 ナシ属植物の花粉の低温発芽能とその機構	57
第6節 考察	66

第7節	摘要	69
第4章 自家和合性ニホンナシ品種間の自家結実性の差異と		
	花柱組織との関係	70
第1節	緒言	70
第2節	自家和合性ニホンナシ品種の自家結実性評価	71
第3節	自家結実性の品種間差異における原因解明	85
第4節	考察	97
第5節	摘要	99
第5章 総括		
	総合考察	101
	謝辞	108
	引用文献	109
	摘要	121
	Summary	124
	本研究の基礎となる論文リスト	128

緒論

ニホンナシ (*Pyrus pyrifolia* (Burm.f.) Nakai) は中国揚子江流域原産の砂梨 (Sa-Li) を基に改良されたものであり、我が国をはじめ東アジアで栽培が行われてきた (菊池, 1948; 梶浦, 1983; Bell, 1991). 日本においては、すでに紀元後 700 年代に栽培記録がある (梶浦, 2008; 田村, 2009) ことから、古来より重要な果樹の一つであったといえる. 近年では、ニホンナシが有する歯切れが良く極めて多くの果汁を含む (梶浦, 1994) といった特性が好まれ、ブラジル (Faoro, 2002), オーストラリア, ニュージーランド (White, 2002) 等, アジア以外の諸地域でも栽培が盛んになっている (Bell, 1991; 中央果実基金, 1994). しかし、栽培地域の拡大に伴い、生産地での栽培上の問題が多発している. その代表例として、低緯度地域における芽の自発休眠打破に必要な低温量の不足 (Westwood, 1978; Saure, 1985; Faoro, 2002), 並びに温暖化の影響による開花期の有意な前進 (本條ら, 2002) があげられる.

これらの中で、低緯度地域での自発休眠打破に必要な低温量の不足 (Westwood, 1978; Saure, 1985; Faoro, 2002) は、厳しい発芽の遅延や生長途中に新梢や花器が枯死するなどの現象を引き起こす (Chandler ら, 1937). 実際に、ニュージーランドやブラジルでは低温要求量の不足による‘豊水’の発芽不良が報告されており (Kingston ら, 1990; Klinac・Geddes, 1995; Petri・Herter, 2002; Yamamoto ら, 2010), 日本でも温暖化による落葉果樹の休眠問題が生じつつある.

これらの根本的な対策としては、低温要求性の低い品種・系統の

選抜や栽培技術の確立が求められる。しかし、果樹の交雑育種では、重要な形質の多くが量的形質で環境変動を受けやすいため、特性を見極めるのに年月を要し、一般に 10 年以上の年月がかかる（山田，2011）。そのため現在，生じている低緯度地域での発芽不良問題は育種では，迅速な解決には至らず，人為的な自発休眠打破技術の確立が急務といえる。

これまでに，人為的な自発休眠打破に関する知見はある程度蓄積しており，休眠打破剤処理，高温処理（堀内・中川，1971；田村ら，1993），無気処理（堀川・中川，1971；田村ら，1993）およびりん片除去（Iwasaki，1980）などが有効であると報告されている。それらの中で休眠打破剤は，もっとも実用性が高いと思われ，石灰窒素浸出液，シアナミド（黒井ら，1963；Iwasaki and Weaver，1977；森元・熊代，1978；Shulman ら，1983），ニンニク精油（Kubota and Miyamuki，1992）および過酸化水素（Kuroda ら，2005）などの有効性が示されている。中でも石灰窒素，シアナミドおよびニンニク精油処理はすでにブドウ等で実用化されている。しかしながら，ニホンナシにおいてはシアナミドの利用法は確立されておらず効果も不明な点が多い。

石灰窒素およびシアナミドの有効成分はシアン化物イオン（ CN^- ）であり（黒井，1985），ニンニク精油の有効成分はアリル基（ CH_2CHCH_2 ）を持った揮発性イオウ化合物，特に 2 硫化ジアリルが有効であることが明らかになっている（Kubota ら，1999）。しかし，その有効成分がなぜ休眠打破を誘導するのかは不明である。

休眠打破のメカニズムに関しては，呼吸（Hatch and Walker，1969），

エチレン生成 (Wang ら, 1985), ジベレリン (Erez ら, 1979), サイトカイニン (Broome and Zimmerman, 1976 ; Sterrett and Hipkins, 1980) および ABA (Corgan and Peyton, 1970 ; Emmerson and Powell, 1978 ; Seeley and Powell, 1981 ; 堀内ら, 1981 ; 田村ら, 1992) との深い関連が示唆されている. ブドウにおいて低温とシアナミド処理に伴う休眠打破のメカニズムの 1 つに, 過酸化水素含量が増加する (Francisco and Waldo, 2005) という報告がある, さらに, 過酸化水素には打破作用があるとともに (Kuroda ら, 2005), 自発休眠打破期には芽の過酸化水素含量が増加し, 打破後には減少するという結果も示されている (Kuroda ら, 2002). 従って, ニホンナシにおいてもこれらの点がシアナミド処理による休眠打破の一因と予測されるが, 前述の様にいまだ利用法は確立されておらず効果も不明のままである.

次に, 温暖化の影響による開花期の有意な前進 (本條ら, 2002) は, ニホンナシの結実不良の原因となりつつある. ニホンナシは他のナシ属植物と同様に自家不和合性であり, しかも一部のセイヨウナシにみられるような単為結果性は低く (安田・田村, 2015), さらに訪花昆虫が少ない (林, 1959) ため, 結実安定には人工受粉が必須の作業となっている. また, ニホンナシの雌蕊の受精能力保持期間は短く, 受粉作業は開花後 3 日以内に行わなければならない. ‘幸水’を例にみると, 開花 1 日目での受粉では 100% の着果率を示すが, 開花後 3 日目の受粉では約 50% に低下する (平田ら, 1993). また, ニホンナシの主要な受粉樹用品種として用いられている‘長十郎’花粉の発芽率が 50% 以上の値を示す温度は 17.5~27.5°C の範囲であり,

15.0℃以下の低温条件下では発芽率は著しく低下する(黒木ら, 2012). 以上のように, ニホンナシの結実を安定させるためには, 限られた受粉期間に気温が 15.0℃以上ある日に人工受粉をする必要がある. しかし, 前述したように近年, 開花期の前進により気温の低い時期に受粉期を迎える可能性が高まっており, 2010 年は開花期の天候不順に伴う結実不良等により, 国内におけるニホンナシの収穫量は 25 万 8700t と, 前年と比較し 5 万 9200t (19%) 減少した(農林水産省, 2011). そのため, 栽培現場から今後の気象条件に適した着果安定技術の確立が求められている.

近年このような問題を解決する対策の一つとして, 人工受粉を必要としない自家和合性品種の導入が進められている. 農林水産省大臣官房統計部経営・構造統計課(2008)の調査によると, ニホンナシの栽培にかかる 10 a 当たりの労働時間は 366.6 時間であるが, 受粉・摘果はその約 20% を占める 74.1 時間である. このように, 人工受粉には短期間で多くの労働力が必要となり, 規模拡大と生産安定を阻害する大きな原因となっている. そのため, 労力削減を目的として‘おさ二十世紀’を育種親とした自家和合性の品種が育成され普及しつつある(安田・田村, 2015). しかし, 松本ら(2007)および田村ら(2012)は, S_4^{sm} 遺伝子を有する自家和合性の品種および系統間には, 自家結実性の差異が認められることを報告しており, 着果安定技術を確立するためには, これら品種の自家和合性品種の結実特性等を明らかにする必要がある.

以上のように, 低温積算量の不足が懸念される地域において, 今後より安定したニホンナシの栽培を行うための知見を得ることを目

的として本研究では、第 1 章として、ニホンナシ主要品種に対して、休眠のステージごとにシアナミド溶液を浸漬法あるいは噴霧法で処理し自発休眠の推移、花芽の成長および開花時期に及ぼす影響の調査を行い、シアナミドの適切な処理時期および処理方法をみいだした。また、第 2 章では、受粉樹の開花促進を目的としてシアナミド処理を行い、春季の生育に及ぼす影響並びに花粉の発芽率に及ぼす影響を調査した。次に、第 3 章では、受粉時の低温による結実不良を解決するために、ナシ属植物の中から低温条件においても高い発芽能を有する種・品種の選抜を試みた。さらに、それらの花粉を用いて受粉試験を行い、結実率および果実品質に及ぼす影響の調査を行い受粉樹としての利用可能性についても検討を行った。そして第 4 章では、自家和合性ニホンナシ品種の自家結実性の品種間差異並びにその原因を明らかにするために、自家結実性の強弱の要因を雌蕊側および花粉側の両面から検討を行った。

第1章 シアナミド処理がニホンナシ主要品種 の自発休眠打破および開花期に及ぼす影響

第1節 緒言

落葉果樹の芽の休眠打破に必要な低温要求量は、樹種あるいは品種に固有のものであり、低温要求量が満たされない場合、萌芽の遅延や不揃いが生じる (Saure, 1985 ; Westwood, 1978). このような低温の不足によって生じる自発休眠打破不全を解決する手立てとしては、低温要求量の少ない品種を用いること、あるいは自発休眠打破剤の処理により低温の一部を補償する (黒井ら, 1963) ことが必要となる. ニホンナシ主要品種の休眠打破に必要な低温要求量は Tamura ら (2001) の報告により明らかとなっており、最も少ない品種で Chill Unit (CU.) 約 800 程度である. つまり、ニホンナシにおいてはリンゴ (*Malus domestica* Borkh), モモ (*Prunus persica* (L.) Batsch) など他の樹種にみられる CU. 300~400 という極めて低温要求量の少ない品種は存在しない (Labuschagne ら, 2002; Rodriguez ら, 1994). 従って、今後さらに進行する温暖化に対応するために、特に九州や西日本のニホンナシ産地では、自発休眠打破剤の効果的な使用技術の開発が望まれている.

果樹の自発休眠打破に有効な技術としては、石灰窒素の上澄み液処理 (黒井ら, 1963 ; 森元・熊代, 1978 ; ポジャナピモンら, 2008 ; 田村ら, 1993), シアナミド処理 (Nir・Lavee, 1993 ; 大野・三井, 2008 ; ポジャナピモンら, 2008 ; Shulman ら, 1983), ニンニクなど

に含まれる硫化物処理（Kubota・Miyamuki, 1992；ポジャナピモンら, 2008）、短時間の高温処理（堀内・中川, 1971；田村ら, 1993）、および過酸化水素溶液処理（Kurodaら, 2005）があげられている。ポジャナピモンら, (2008) は、シアナミド処理は他の剤と比較して高い休眠打破効果を示したとしており、ニホンナシに対しても同様に効果が期待される。しかし、シアナミドのニホンナシに対する休眠打破効果を検証した例は大野・三井（2008）および田村（1999）の2例であり、いずれも明確な技術確立には至っていない。さらに、ニホンナシの場合、シアナミド処理の効果は処理時期によって大きく異なる（田村, 1999）ことに加え、前述の様に品種により低温要求量が異なることから、品種ごとに適切な処理時期を明らかにする必要もある。

そこで本研究では、現在の主要品種のうち、Tamuraら（2001）により低温要求量の少ないとされた品種‘幸水’と‘豊水’（CU.800～1,000）および、低温要求量が多いとされた品種‘ゴールド二十世紀’と‘新高’（CU. 1,400～1,500）の計4品種を用い、休眠のステージごとにシアナミド溶液を浸漬法あるいは噴霧法で処理し自発休眠の推移、花芽の成長および開花時期に及ぼす影響を調査した。

第2節 シアナミドおよび過酸化水素溶液の浸漬処理がニホンナシの腋花芽の自発休眠打破に及ぼす影響

これまでに、果樹の自発休眠打破に有効な技術としては、石灰窒

素の上澄み液処理（黒井ら，1963；森元・熊代，1978；ポジャナピモンら，2008；田村ら，1993），シアナミド処理（Nir・Lavee，1993；大野・三井，2008；ポジャナピモンら，2008；Shulmanら，1983），ニンニクなどに含まれる硫化物処理（Kubota・Miyamuki，1992；ポジャナピモンら，2008），短時間の高温処理（堀内・中川，1971；田村ら，1993），および過酸化水素溶液処理（Kurodaら，2005）があげられている．

本節では，これらの中から，休眠打破剤であるシアナミドと過酸化水素処理を行いニホンナシの芽の休眠打破に及ぼす影響を処理濃度および処理時期を変え調査した．

材料および方法

実験には，鳥取大学農学部附属大塚農場に栽植されている‘幸水’（33年生）および‘ゴールド二十世紀’（12年生）それぞれ5樹より採取した1年生発育枝を用いた．採取は2007～2008年の休眠期に行った．発育枝は，12月20日（CU. 600），1月5日（CU. 900），1月15日（CU. 1,200），1月28日（CU. 1,500）に圃場より採取し，腋花芽が連続して8節着生するように調整後，シアナミド（CX-10，日本カーバイド工業）0.5%あるいは1.0%水溶液，過酸化水素2.5%あるいは10%水溶液に2秒間浸漬した．処理後の枝は，腐敗防止のため0.03%硫酸アルミニウムおよび0.3%8-ヒドロキシキノリンを添加した水溶液中においた吸水性スポンジに水挿し，腋花芽の萌芽率を調査した．また，水挿した発育枝は， $23 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ，相対湿度75%，照度6,000 lx，16時間日長に制御した恒温室内で育成し，水挿し後28日目の萌芽

率を調査した。調査中，発育枝基部が黒変したものについては，正常な部分まで切り戻しを行い，その都度，水溶液および吸水性スポンジは新しいものに取り換えた。

本実験では，花芽の発育程度を第 1.1 図にそれぞれ示すように 7 段階に分けて記録した。本実験では発育段階 3 以上に達した芽を萌芽したとみなし，上位 5 節の萌芽の有無から 5 本の平均値を萌芽率として算出した。また，Chill Unit は，実験圃場内に設置した百葉箱内に置いた自動記録温度計により計測したデータを用い，Tamura ら（1997）の Chill Unit モデルを用いて算出した。

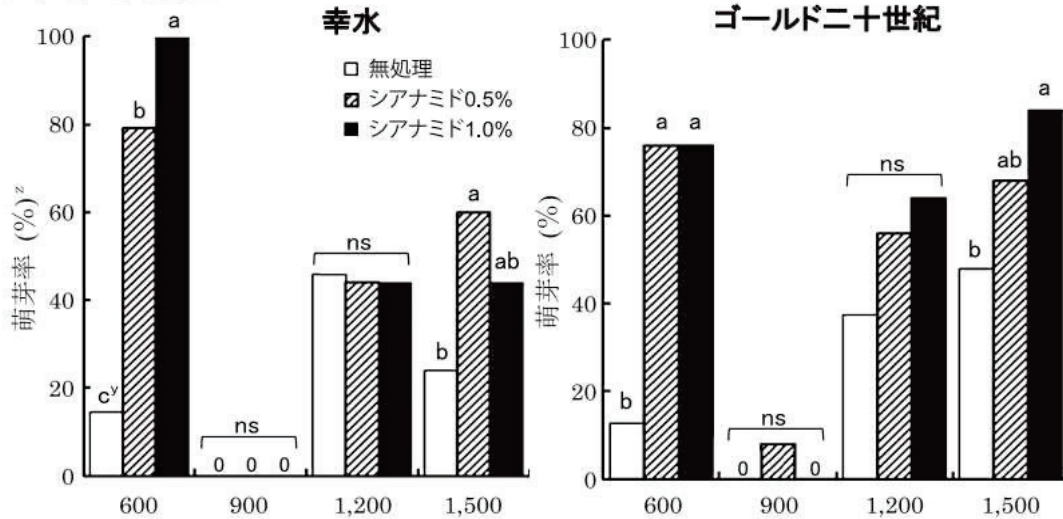


第 1.1 図 花芽の発育段階

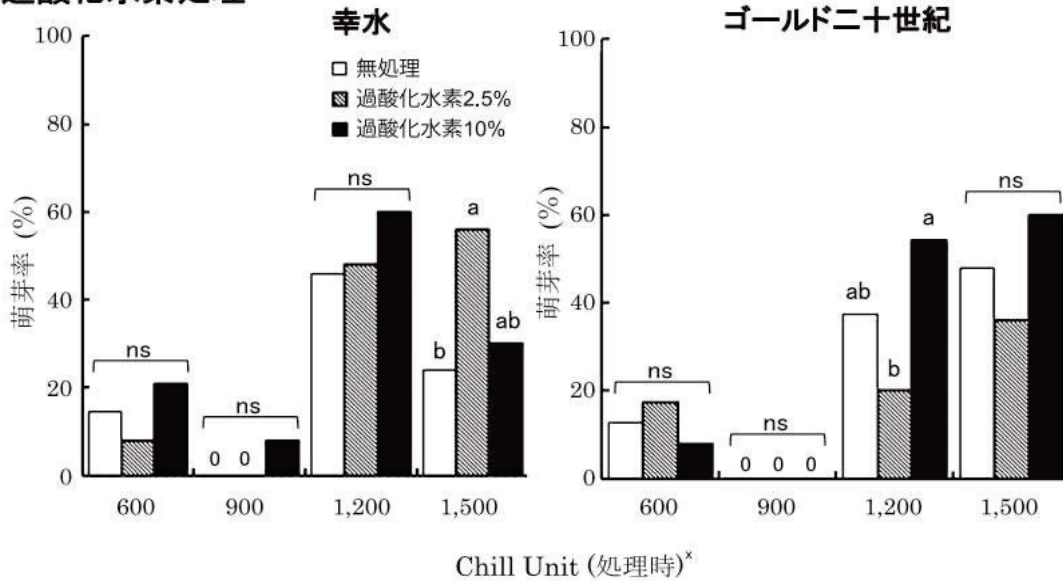
結果

シアナミド処理区の萌芽率は、CU. 600 および CU. 1,500 での処理で、無処理区よりも有意に高い値を示し（第 1.2 図）、特に、‘幸水’の CU. 600 におけるシアナミド 1.0%処理が有意であった。しかし、無処理区の発芽が全く認められなかった CU. 900 でのシアナミド処理において萌芽はほとんど促進されなかった。一方、過酸化水素処理区の萌芽率は、‘幸水’の CU. 1,500 における過酸化水素 2.5%処理区で無処理区よりも有意に高い値を示したが、それ以外の処理区では無処理区との間に有意な差は認められなかった。

シアナミド処理



過酸化水素処理



第 1.2 図 シアナミドならびに過酸化水素浸漬処理が‘ゴールド二十世紀’および‘幸水’の腋花芽の休眠打破に及ぼす影響

^z23°Cで水挿し加温処理後 28 日目に調査

^y同一処理日において異なる英文字は χ^2 検定において 5%水準で有意差があることを示す, ns:有意差なし (n=5)

^x11月15日を起算日とした

第3節 シアナミドの散布時期および濃度の違いが ニホンナシの自発休眠打破に及ぼす影響

前節において、シアナミドが自発休眠打破剤として有効であることを明らかにした。しかし、浸漬による処理であるために、実際現場で想定される散布処理による効果は検討されていない。また、処理直後の萌芽率のデータしか得られていないため、自発休眠の推移に及ぼす影響は明らかになっていない。

そこで、本節では処理効果の高かったシアナミドを用い、露地での散布試験を行い、芽の自発休眠の推移に及ぼす影響を調査した。

材料および方法

鳥取大学農学部附属大塚農場に栽植されている‘幸水’（34年生）、‘豊水’（34年生）、‘ゴールド二十世紀’（13年生）および‘新高’（34年生）をそれぞれ8樹ずつ用いた。2008～2009年にかけての休眠期に処理時期および処理濃度を変化させたシアナミド散布処理を行った。

処理日は、12月2日（CU.300）、12月20日（CU.600）、1月4日（CU.900）および1月30日（CU.1,500）の計4日で、シアナミド0.5%および1.0%水溶液を樹全体に対して噴霧器を用い150 mL・m⁻²程度散布した。

また、シアナミド処理が萌芽率の推移に及ぼす影響を調査するために、処理直後以降定期的に発育枝を採取し第2節と同様の方法で萌芽率を調査した。

結果

各処理時期における萌芽率の推移は、品種間で異なった。‘幸水’の無処理区の萌芽率は、CU. 600 および 900 で低く推移し CU. 1,200 では 60%以上を示した（第 1.1 表）。一方、シアナミド処理区の処理直後の萌芽率は、CU. 1,500 を除いて全処理時期ともシアナミド 0.5% と比べ 1.0%処理区が有意に高かった。また、CU. 300 におけるシアナミド処理区の萌芽率は処理後高い値を示し、CU. 600 には一時的に低下するものの CU. 900 には無処理区よりも高い値を示した。また、CU. 600 および CU. 900 における処理においても無処理区と比べ有意に高く、特にシアナミド 1.0%処理区で顕著であった。また、その後 CU. 1,500 における処理では無処理区の萌芽率が高くなり、ほとんどの処理区で有意な差はみられなかった。

‘豊水’の無処理区の萌芽率は、すべて 70%以上の値で推移した。同様に、処理直後の萌芽率は、無処理区と同程度であった（第 1.2 表）。しかし、‘幸水’同様 CU. 300 時のシアナミド 1.0%処理区では、CU. 600 に一度萌芽率が減少した。

‘ゴールド二十世紀’の無処理区の萌芽率は、CU.300 では 70%と高いものの、CU. 600 では減少し、さらに CU. 900 には 0%となり、その後 CU. 1,500 には 88%となった。シアナミド処理区の萌芽率は‘幸水’同様、CU. 600 および 900 における処理で高く、無処理区と有意な差を示し、特に 1.0%処理で有意であった（第 1.3 表）。それ以降 CU. 1,500 における萌芽率は無処理区と処理区間で有意な差はなかった。また、CU. 300 におけるシアナミド処理では 0.5%処理区の萌芽率が無処理区と比べ有意に低かった。これと同様に、1.0%処理区で

は CU. 600 において萌芽率が著しく低下するものの CU. 900 には高くなるという‘幸水’，‘豊水’と類似した推移を示した。

‘新高’の無処理区の萌芽率は，CU. 300，600，900 および 1,200 で低く推移し CU. 1,500 では 100%となった。これに対し，シアナミド処理区の萌芽率は，‘ゴールド二十世紀’と同様に CU. 900 時の処理において無処理区と比べ有意に高い値を示した(第 1.4 表)。その後，CU. 1,500 における萌芽率に有意差はなかったが CU. 300 および CU. 600 に処理を行った区では無処理区よりも低い傾向にあった。

第 1.1 表 シアナミド処理が‘幸水’の腋花芽の自発休眠の推移に
及ぼす影響

Chill Unit ^z (処理時)	処理 濃度 (%)	Chill Unit (水挿し加温開始日)				
		300	600	900	1,200	1,500
		萌芽率(%) ^x				
無処理		50 b ^y	0 c	12 c	64 bc	100 a
300	0.5	36 b	33 b	70 ab	32 c	100 a
	1.0	91 a	41 b	86 a	100 a	100 a
600	0.5	-	30 b	36 c	29 c	76 bc
	1.0	-	90 a	47 b	86 ab	95 ab
900	0.5	-	-	38 c	100 a	78 bc
	1.0	-	-	88 a	91 a	95 ab
1,500	0.5	-	-	-	-	69 c
	1.0	-	-	-	-	86 abc

^z11月15日を起算日とし, CU. 300 (12月2日), CU. 600 (12月20日), CU. 900 (1月4日), CU. 1,500 (1月30日) に 0.5% または 1.0% シアナミド処理を行った

^y同一の品種における同列内の異なる英文字は χ^2 検定において 5% 水準で有意差があることを示す

^x23°C で水挿し加温処理後 28 日目に調査

第 1.2 表 シアナミド処理が‘豊水’の腋花芽の自発休眠の推移に
及ぼす影響

Chill Unit ^z (処理時)	処理 濃度 (%)	Chill Unit (水挿し加温開始日)				
		300	600	900	1,200	1,500
		萌芽率(%) ^x				
無処理		78 ab	71 a	100 a	95 a	100 a
300	0.5	64 b	56 ab	78 b	71 b	90 a
	1.0	100 a	28 b	73 b	65 b	100 a
600	0.5	-	63 a	86 ab	91 ab	100 a
	1.0	-	75 a	72 b	100 a	100 a
900	0.5	-	-	100 a	100 a	100 a
	1.0	-	-	100 a	100 a	100 a
1,500	0.5	-	-	-	-	100 a
	1.0	-	-	-	-	86 a

^z11月15日を起算日とし，CU. 300（12月2日），CU. 600（12月20日），CU. 900（1月4日），CU. 1,500（1月30日）に0.5%または1.0%シアナミド処理を行った

^y同一の品種における同列内の異なる英文字は χ^2 検定において5%水準で有意差があることを示す

^x23℃で水挿し加温処理後28日目に調査

第 1.3 表 シアナミド処理が，‘ゴールド二十世紀’の腋花芽の自発
休眠の推移に及ぼす影響

Chill Unit ^z (処理時)	処理 濃度 (%)	Chill Unit (水挿し加温開始日)				
		300	600	900	1,200	1,500
		萌芽率(%) ^x				
無処理		70 a	40 bc	0 c	33 c	88 a
300	0.5	4 b	13 c	72 b	96 ab	100 a
	1.0	88 a	29 c	72 b	100 a	100 a
600	0.5	-	63 ab	76 b	81 b	80 b
	1.0	-	76 a	92 a	77 b	100 a
900	0.5	-	-	96 a	96 ab	96 a
	1.0	-	-	100 a	92 ab	100 a
1,500	0.5	-	-	-	-	32 c
	1.0	-	-	-	-	63 b

^z11月15日を起算日とし，CU. 300（12月2日），CU. 600（12月20日），CU. 900（1月4日），CU. 1,500（1月30日）に0.5%または1.0%シアナミド処理を行った

^y同一の品種における同列内の異なる英文字は χ^2 検定において5%水準で有意差があることを示す

^x23℃で水挿し加温処理後28日目に調査

第 1.4 表 シアナミド処理が‘新高’の腋花芽の自発休眠の推移に
及ぼす影響

Chill Unit ^z (処理時)	処理 濃度 (%)	Chill Unit (水挿し加温開始日)				
		300	600	900	1,200	1,500
		萌芽率(%) ^x				
無処理		0 b	25 ab	0 d	20 c	100 a
300	0.5	12 ab	4 b	16 c	44 bc	50 c
	1.0	32 a	25 ab	38 bc	55 b	70 bc
600	0.5	-	35 a	55 ab	42 bc	79 bc
	1.0	-	39 a	25 c	41 bc	87 ab
900	0.5	-	-	48 ab	88 a	88 ab
	1.0	-	-	75 a	87 a	75 bc
1,500	0.5	-	-	-	-	71 bc
	1.0	-	-	-	-	68 bc

^z11月15日を起算日とし，CU. 300（12月2日），CU. 600（12月20日），CU. 900（1月4日），CU. 1,500（1月30日）に0.5%または1.0%シアナミド処理を行った

^y同一の品種における同列内の異なる英文字は χ^2 検定において5%水準で有意差があることを示す

^x23℃で水挿し加温処理後28日目に調査

第4節 シアナミドの散布時期および濃度の違いがニホンナシの花芽の発育および開花日に及ぼす影響

前節においてシアナミドは自発休眠打破剤として高い効果を示すが、品種により最も効果的な処理時期は異なることが明らかになった。すなわち、効果的な時期は‘ゴールド二十世紀’および‘新高’では CU.600~900, ‘幸水’および‘豊水’では CU.100~600 であった。しかし、ニホンナシに関して、シアナミド処理を行った後の開花や果実発育等についての知見はきわめて少ない。そこで、第4節では第3節で処理を行った樹の春季の花芽の発育並びに開花日に及ぼす影響を調査した。

材料および方法

調査には、2009年3月6~20日にかけて経時的に短果枝を各処理区3芽採取し、直ちに FAA 液（70%エタノール：酢酸：ホルマリン=90：5：5，v/v/v）で固定した。花芽の発達状態を花粉の成熟度から評価するために親花の4番花（混合芽の中の花芽で花序軸の下位から4番目の小花）の原基を取出し、水洗後、葯をスライドガラス上に滴下した少量の蒸留水中に置いた。これをピンセットで軽く揉みほぐし花粉を取り出した。その後、直ちにカバーガラスをかけ、顕微鏡下で無作為に抽出した3視野、各100粒の花粉の発育状態を観察し、80%以上の花粉が四分子期に達した日を記録した。

開花日の調査は圃場において目視で行った。親花の1および2番花の開花をもって「開花」とし、同一処理区の側枝上の短果枝のう

ち 80%以上が開花に達した日を「開花日」とした。

結果

2009年における無処理区の花粉の四分子期到達日は、‘幸水’、‘豊水’および‘ゴールド二十世紀’では3月16日、‘新高’では3月12日であった（第1.5表）。一方、シアナミド処理区では四分子期到達日は最大で‘幸水’で6日、‘豊水’では10日、‘ゴールド二十世紀’では6日、‘新高’では6日早まった。

2009年における無処理区の開花日は‘豊水’および‘新高’が4月12日、‘ゴールド二十世紀’では4月14日、‘幸水’では4月16日であった（第1.6表）。これに対し、いずれの品種とも、すべてのシアナミド処理区の開花日は、それぞれ無処理区より早くなった。‘新高’のシアナミド処理区の中ではCU. 600時に行った1.0%処理区の開花が最も早く、無処理区より5日早い4月7日であった。さらに、‘豊水’でもCU. 600時に行ったシアナミド1.0%処理区の開花が最も早く、無処理区より7日早い4月5日であった。‘幸水’でも同様に、CU. 600時に行ったシアナミド1.0%処理区の開花が最も早くなり、‘ゴールド二十世紀’ではCU. 300時に行ったシアナミド1.0%処理区の開花が最も早くなった。

第 1.5 表 シアナムド処理が‘幸水’, ‘豊水’, ‘ゴールド二十世紀’
および‘新高’の花粉の四分子期到達日に及ぼす影響

処理日 ^z (Chill Unit)	処理 濃度 (%)	四分子期到達日 ^x (月/日)			
		幸水	豊水	ゴールド 二十世紀	新高
無処理		3/16	3/16	3/16	3/12
300	0.5	3/10 (-6) ^y	3/14 (-2)	3/14 (-2)	3/6 (-6)
	1.0	3/14 (-2)	3/14 (-2)	3/10 (-6)	3/10 (-2)
600	0.5	3/14 (-2)	3/10 (-6)	3/14 (-2)	3/10 (-2)
	1.0	3/14 (-2)	3/6 (-10)	3/14 (-2)	3/6 (-6)
900	0.5	3/14 (-2)	3/14 (-2)	3/14 (-2)	3/12 (0)
	1.0	3/14 (-2)	3/14 (-2)	3/10 (-6)	3/10 (-2)
1,500	0.5	3/14 (-2)	3/10 (-6)	3/14 (-2)	3/10 (-2)
	1.0	3/10 (-6)	3/10 (-6)	3/14 (-2)	3/12 (0)

^z Chill Unit モデル (Tamura ら, 1997) を使用

^y 括弧内は無処理区と比べ四分子期到達日が前進した日数

^x 80%の花粉が四分子期に達した日 (n=9)

第 1.6 表 シアナムド処理が‘幸水’，‘豊水’，‘ゴールド二十世紀’
および‘新高’の開花日に及ぼす影響

処理日 ^z (Chill Unit)	処理 濃度 (%)	開花日 ^x (月/日)			
		幸水	豊水	ゴールド 二十世紀	新高
無処理		4/16	4/12	4/14	4/12
300	0.5	4/13 (-3) ^y	4/9 (-3)	4/10 (-4)	4/9 (-3)
	1.0	4/13 (-3)	4/7 (-5)	4/9 (-5)	4/9 (-3)
600	0.5	4/11 (-5)	4/6 (-6)	4/10 (-4)	4/9 (-3)
	1.0	4/10 (-6)	4/5 (-7)	4/10 (-4)	4/7 (-5)
900	0.5	4/12 (-4)	4/10 (-2)	4/10 (-4)	4/9 (-3)
	1.0	4/12 (-4)	4/9 (-3)	4/10 (-4)	4/8 (-4)
1,500	0.5	4/12 (-4)	4/8 (-4)	4/13 (-1)	4/9 (-3)
	1.0	4/13 (-3)	4/9 (-3)	4/10 (-4)	4/8 (-4)

^z Chill Unit モデル (Tamura ら, 1997) を使用

^y 括弧内は無処理区と比べ開花日が前進した日数

^x 開花率が 80%に達した日

第5節 考察

温暖な地域では，落葉果樹の芽の自発休眠打破に必要な低温が不足するため，シアナミドのような人工的に休眠を打破させる薬剤などの処理が必要である．本研究は，ニホンナシ主要品種の自発休眠打破技術の開発のための知見を得るため，他の樹種において有効であるシアナミド処理を行い，芽の自発休眠打破ならびに春季の芽の生育に及ぼす影響について明らかにしようとしたものである．まず，シアナミド処理と過酸化水素処理の効果の比較を行った結果，シアナミド処理が過酸化水素処理より萌芽を促進させることを明らかにした（第 1.2 図）．しかし，田村（1999）が示したように，シアナミド処理の効果は処理時期によって大きく異なった．‘幸水’および‘ゴールド二十世紀’は CU. 600 時におけるシアナミド 1.0% 浸漬処理が最も効果的であった．しかし，対照区の萌芽率が最も低い CU. 900 での浸漬処理では，効果がみられなかった．以上のことより，浸漬処理区においては，CU. 600 に処理をすることで高い自発休眠打破効果を得られることが明らかといえる．

次に，本研究では，シアナミド処理後の萌芽率の推移を調査したが，その推移は，品種間で異なった．無処理区の CU. 300 の萌芽率は，‘新高’以外の 3 品種で高い値を示し，品種間で異なることから，導入に有効な温度に品種間差異があるものと予測された．また，‘幸水’は‘二十世紀’に比べ自発休眠への導入が早いことが示されており（Tamura ら，2001）これらの差異が品種間の反応の違いに関連しているのかもしれない．

その後，自発休眠は，‘幸水’の次に低温要求量の多い‘ゴールド二

十世紀’および‘新高’の順で破れ Tamura ら（2001）の報告と一致した（第 1.1, 1.2, 1.3, 1.4 表）。しかし、理由は不明であるが‘豊水’の無処理区の萌芽率は、調査期間中 70%以上で推移し、自発休眠導入を確認することができなかった。Tamura ら（2001）は、‘豊水’の葉芽は他の品種と比較して自発休眠期中にも 20～30%と高い萌芽率を示すことを認めている。さらに、腋花芽は葉芽よりも休眠が浅い（田村ら、1995）ことから、‘豊水’の腋花芽の休眠の深さを本研究で行った水挿法で評価することは困難と思われる。

‘幸水’および‘ゴールド二十世紀’の CU. 900 時の萌芽率は、CU. 300, 600 時に処理した区で高く、これらの時期でのシアナミド処理が自発休眠打破を促進させた。また、CU. 900 でのシアナミド処理も萌芽を促進し、特に 1.0%区で高い萌芽率を示した。一方、4 品種の中で最も低温要求量の多い‘新高’（Tamura ら、2001）の萌芽率は、‘幸水’および‘ゴールド二十世紀’の 2 品種において処理効果のあった CU. 300, 600 時では、無処理区と大きな差はなかった。CU. 900 での処理では無処理区よりも有意に高い萌芽率を示し、他の品種同様シアナミド 1.0%処理で顕著であった。その後、CU. 1,500 における萌芽率は、CU. 300, 600 および 1,500 に処理を行った区では、いずれも無処理区よりも低い傾向にあった。その原因はシアナミド処理による薬害であるかは明確ではないが、これまでに、‘巨峰’（黒井、1985）でシアナミドによる薬害が報告されているので、この点に関しては今後検討する必要がある。次に、‘幸水’および‘ゴールド二十世紀’の CU. 900 における処理では、浸漬処理および噴霧処理で結果が異なった。その理由については不明であるが、実際に露地でのシアナミド

処理を想定して行った噴霧処理で高い自発休眠打破効果が得られた。従って、シアナミド処理は低温要求量の最も少ない‘豊水’では CU. 600～900 において、低温要求量の多い‘新高’では CU. 900 において高い自発休眠打破効果を有するといえる。また、‘幸水’および‘ゴールド二十世紀’は、浸漬処理および噴霧処理の CU. 900 での処理で結果が異なったため、CU. 900 より CU. 600 に処理を行うことで安定的に自発休眠を打破でき、処理を行う上で有効な時期であると考えられた。

本研究では、CU. 300 といった早い時期にシアナミド処理を行うと、処理直後の萌芽率は高まるが、その後、低温が蓄積され CU. 600 程度になると、萌芽率が一旦低下し、さらに CU. 900 以降になると再度無処理区以上の萌芽率を示すといった興味深い結果が得られた。この現象、すなわち CU. 600 での萌芽率の低下は、竹村ら（2011）が示したように、ニホンナシの芽の休眠は低温により導入されるため、この間の低温により再び休眠が深まったからではないかと推察される。また、処理濃度に注目すると、4 品種とも今回処理した 1.0% と 0.5% では、1.0% 処理の効果が高かった。

次に以上の処理区の春季における生育についてみると、休眠打破効果においては品種ごとに有効な処理時に差異があったものの、すべてのシアナミド処理区で生育促進がみられた。すなわち、シアナミド処理区の花粉の四分子期到達日は、ほぼすべての区で 2 日以上早まった（第 1.5 表）。また、開花に関しては‘幸水’ではすべての処理区において無処理区よりも 3～6 日、‘豊水’では 3～7 日、‘ゴールド二十世紀’では 4～5 日、‘新高’では 3～5 日開花が促進された（第

1.6 表). このような 全品種共通した春期の花器の発達促進は, 低温条件でも高い呼吸速度を維持するシアン耐性呼吸鎖 (Cole ら, 1982) を発達させるからではないかと推測された.

以上のように, 春季の生育を促進するうえでは CU. 600 に達した時点で 1.0%程度のシアナミドを処理する方法が最も効果的であるといえた.

第 6 節 摘要

ニホンナシ‘幸水’および‘ゴールド二十世紀’の休眠期の枝に 0.5 および 1.0%シアナミド並びに 2.5 および 10.0%過酸化水素水溶液を浸漬処理し, 腋花芽の萌芽に及ぼす影響を調査した. 萌芽の促進に対する両処理の影響は, それぞれの濃度および処理時期に依存したが, シアナミドが過酸化水素よりも萌芽を促進した. 特に, Chill Unit (CU.) 600 での 1.0%シアナミド処理が, 全処理区内で最も休眠打破効果が高かった. 次に, シアナミドの処理時期および濃度の違いが自発休眠打破ならびに春季の発育に及ぼす影響を調査するために‘幸水’, ‘豊水’, ‘ゴールド二十世紀’および‘新高’の成木に CU. 300, 600, 900 および 1,500 時に 0.5 および 1.0%シアナミドを処理し, その後の萌芽率, 花粉発育および開花期を観察した. 腋花芽における休眠打破の反応は, 品種ごとに異なり, ‘幸水’および‘ゴールド二十世紀’では CU. 600, ‘豊水’では CU. 600~900, ‘新高’では CU. 900 に行った処理が効果的であった. また, 処理濃度は 1.0%が効果的であることが明らかとなった. 一方, いずれの時期および濃度であってもシアナミド処理を行った樹体の花粉発育, 萌芽および開花は無処理区より早くなった.

第2章 シアナミド処理がナシ受粉樹の開花期 および花粉発芽に及ぼす影響

第1節 緒言

すでに述べた様に，ニホンナシを安定栽培するには，人工受粉をする必要がある．人工受粉には，当年に採取した新鮮花粉，ないしは前年以前の貯蔵花粉が使われる（安田・田村，2015）．貯蔵花粉は，栽培品種の中でも受粉樹品種よりも開花の早い栽培品種への使用や，天候不良により当年の新鮮花粉が不足する場合に用いられる．しかしながら，人工受粉をより確実なものとするためには新鮮花粉が必要である（林・田辺，1991）．そのため，受粉樹用品種は開花の早い品種が適しているが，現在受粉樹として多く利用されている‘長十郎’の開花期は‘二十世紀’とほぼ同等の時期である．よって，受粉用の新鮮花粉を採取するためには，蕾の付いた開花前の花芽の着生した枝を切り，水挿して保温し，開花を促進させて採取する方法が一般的である．そのため，生産者の大きな負担になると同時に，生産農家の規模拡大を阻んでいる要因の一つとなっている．従って，受粉樹の開花を栽培品種より大幅に前進させることができれば，大幅な労力削減が可能になる．

第1章において，ニホンナシ主要品種である，‘幸水’，‘豊水’，‘ゴールド二十世紀’および‘新高’に対する，シアナミド処理の有効性を検討した結果，自発休眠打破に有効なシアナミドの処理時期は品種により異なるものの，開花促進効果の高い処理時期は，4品種ともに

低温積算量約 CU.600 であることが明らかとなった。また、吉川ら（2014）も‘幸水’および‘豊水’へのシアナミド処理による発芽率および開花率に最も有効な時期は CU.681～890 であると報告している。

そこで本研究では、受粉樹として多く用いられている、‘今村秋’、‘鴨梨’、‘長十郎’および‘新興’の 4 品種に対して、他の品種において開花促進効果の高い CU.600 にシアナミド処理を行い、その後の春季の生育並びに花粉の発芽率に及ぼす影響を調査し、受粉樹へのシアナミド処理の有効性を検討した。

第 2 節 シアナミド処理が受粉樹の春季の 生育に及ぼす影響

ニホンナシは多くの品種が自家不和合性であり、安定した結実を確保するための人工受粉が必要不可欠である。そのため、受粉樹用品種は開花の早い品種が適しているが、現在受粉樹として多く利用されている‘長十郎’の開花期は‘二十世紀’とほぼ同等の時期である。よって、ビニールハウスや水稻育苗器を利用した切り枝の開花促進、貯蔵花粉の利用法等が開発され（加藤ら，2002）実用化されてきた。従って、受粉樹の開花を栽培品種より大幅に前進させることができれば、大幅な労力削減が可能になる。

第 1 章の結果から、CU. 600 時のシアナミド処理には開花促進効果があることが明らかとなった。また、吉川ら（2014）も‘幸水’および‘豊水’へのシアナミド処理による発芽率および開花率に最も有効な時期は CU.681～890 であると報告している。そこで、ニホンナシ

の受粉樹として多く用いられている，‘今村秋’，‘鴨梨’，‘長十郎’および‘新興’の 4 品種に，開花促進効果のあるシアナミドを処理し，その後の春季の生育に及ぼす影響を調査した．

材料および方法

鳥取大学農学部附属大塚農場に栽植されている‘今村秋’，‘鴨梨’，‘長十郎’および‘新興’を用いた．2013，2014 年の 2 年にかけて CU.600（2013 年 12 月 20 日，2014 年 12 月 24 日）にシアナミド（CX-10，日本カーバイド工業）1.0%水溶液を各品種樹全体に対して噴霧器を用い 150 mL・m⁻² 程度散布した．その後，萌芽期および開花日の調査は 2014，2015 年の 2 年間行った．

1) 萌芽期

萌芽期の調査は圃場において目視で行った．花芽のりん片が緩み，明瞭な緑色を呈した状態を「萌芽」とし，同一処理区の側枝上の短果枝のうち 80%以上が「萌芽」に達した日を「萌芽期」とした．

2) 開花日

開花日の調査は圃場において目視で行った．親花の 1 および 2 番花の開花をもって「開花」とし，同一処理区の側枝上の短果枝のうち 80%以上が開花に達した日を「開花日」とした．

結果

1) 萌芽期

2014 年における無処理区の萌芽期は，‘鴨梨’，‘新興’の順で早く，次いで‘今村秋’および‘長十郎’は同時期であった．一方，シアナミド

処理区では、萌芽期は最大で‘今村秋’では7日、‘鴨梨’および‘長十郎’では3～4日早くなった（第2.1表）。しかし、‘新興’はシアナミド処理区が無処理区に比べ2日遅くなった。2015年における萌芽期は、全品種シアナミド処理により1～4日早くなった。

2) 開花日

2014年における無処理区の開花日は、‘鴨梨’が最も早く、次いで‘今村秋’、‘新興’、‘長十郎’の順であった。一方、シアナミド処理区では、無処理区の開花が最も早かった‘鴨梨’が最も処理効果が高く、6日開花日が前進した（第2.2表）。‘長十郎’および‘新興’では3日、‘今村秋’では1日開花日が前進した。

2015年における開花日は、2014年同様全ての品種においてシアナミド処理により早まった。特に、開花の早い‘鴨梨’は8日早まり、シアナミド処理による開花促進効果が4品種の中で最も顕著であった。また、‘新興’では3日、‘長十郎’および‘今村秋’では1日開花が早まった。

第 2.1 表 シアナミド処理が‘今村秋’，‘鴨梨’，‘長十郎’および
 ‘新興’の萌芽期に及ぼす影響

調査年	処理区	萌芽期(月/日) ^z			
		‘今村秋’	‘鴨梨’	‘長十郎’	‘新興’
2014	無処理区	3/24	3/16	3/24	3/17
	シアナミド処理区	3/17(-7) ^y	3/13(-3)	3/20(-4)	3/19(+2)
2015	無処理区	3/21	3/13	3/20	3/14
	シアナミド処理区	3/17(-4)	3/11(-2)	3/17(-3)	3/13(-1)

^z りん片が緩み，明瞭な緑色を呈した状態を萌芽とみなし、80%以上の芽が萌芽した日

^y 括弧内の数字は無処理区と比べ萌芽日の前後した日数

第 2.2 表 シアナミド処理が‘今村秋’，‘鴨梨’，‘長十郎’および
 ‘新興’の開花日に及ぼす影響

調査年	処理区	開花日(月/日) ^z			
		‘今村秋’	‘鴨梨’	‘長十郎’	‘新興’
2014	無処理区	4/10	4/7	4/13	4/11
	シアナミド処理区	4/9(-1) ^y	4/1(-6)	4/10(-3)	4/8(-3)
2015	無処理区	4/6	4/4	4/9	4/7
	シアナミド処理区	4/5(-1)	3/27(-8)	4/8(-1)	4/4(-3)

^z 開花率が 80%に達した日

^y 括弧内の数字は無処理区と比べ開花日が前後した日数

第3節 シアナミド処理が花粉の 発芽特性に及ぼす影響

前節の結果から‘今村秋’，‘鴨梨’，‘長十郎’および‘新興’の4品種へのシアナミド処理は開花促進効果を示した。また，第1章において，シアナミド処理には花粉の発育を早める効果があることを明らかにしているが，この花粉の発育の前進が花粉の発芽率に及ぼす影響については不明確である。そこで，本節では，花粉の発芽実験を異なる温度条件下で行い冬季のシアナミド処理が花粉の発芽率に及ぼす影響を調査した。

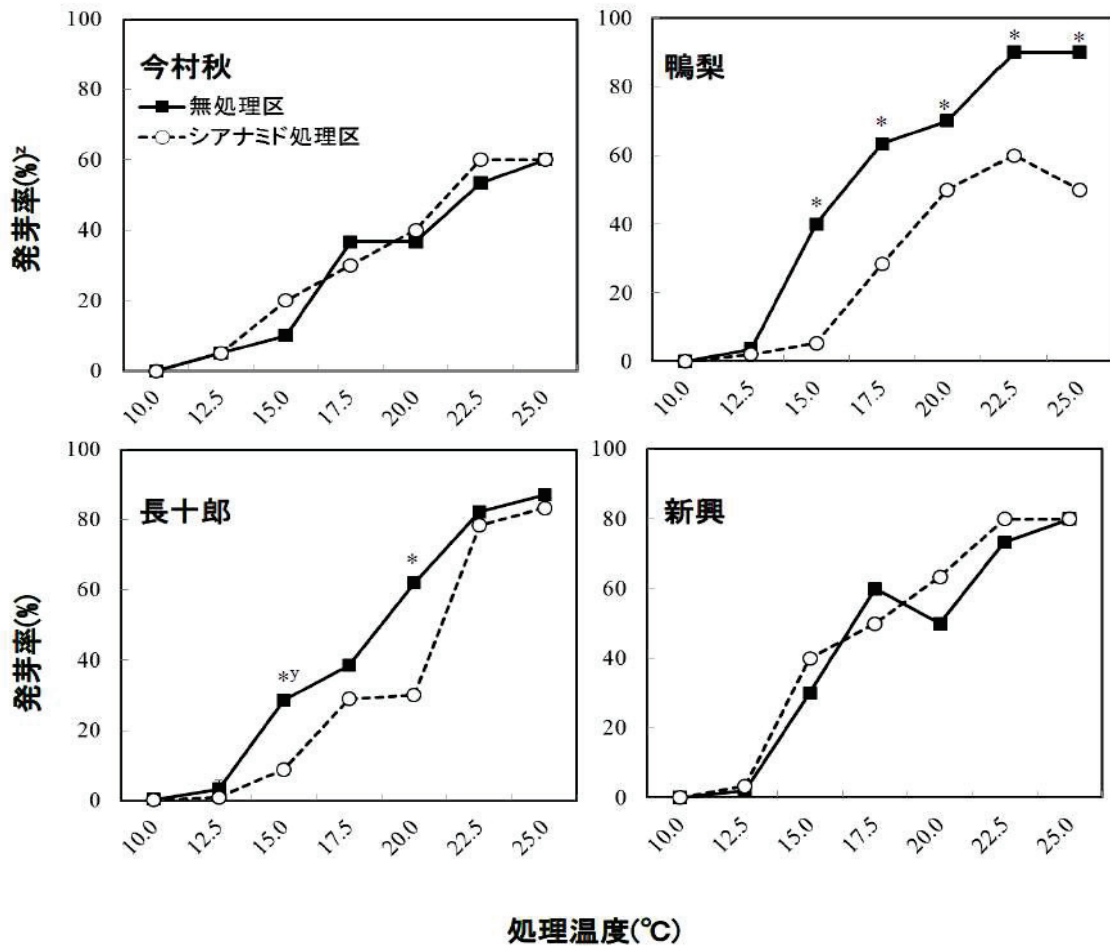
材料および方法

前節の供試樹から開花直前のバルーン期の花を採取した。採薬機を使って蕾から採薬し，20.0℃に設定した恒温器の中で開薬させた。開薬後の粗花粉は，アセトンで精製して純花粉に調整した。純花粉は薬包紙に包み，シリカゲルを入れた密閉した容器内に入れ，実験に用いるまで-30℃で保存した。

花粉は，シャーレに入れたショ糖寒天培地（1%寒天，1mMホウ酸，10%ショ糖）に置床し，10℃，12.5℃，15.0℃，17.5℃，20.0℃，22.5℃および25.0℃の計7処理温度に設定したインキュベータで5時間培養した後，光学顕微鏡で各3枚のシャーレから培地上の9か所を無作為に抽出し，一視野当たり80~100粒の花粉を拡大倍率100倍で観察し，合計約900粒の花粉の発芽率を調査した。花粉管が花粉粒直径以上に伸長したものを発芽花粉とみなした。

結果

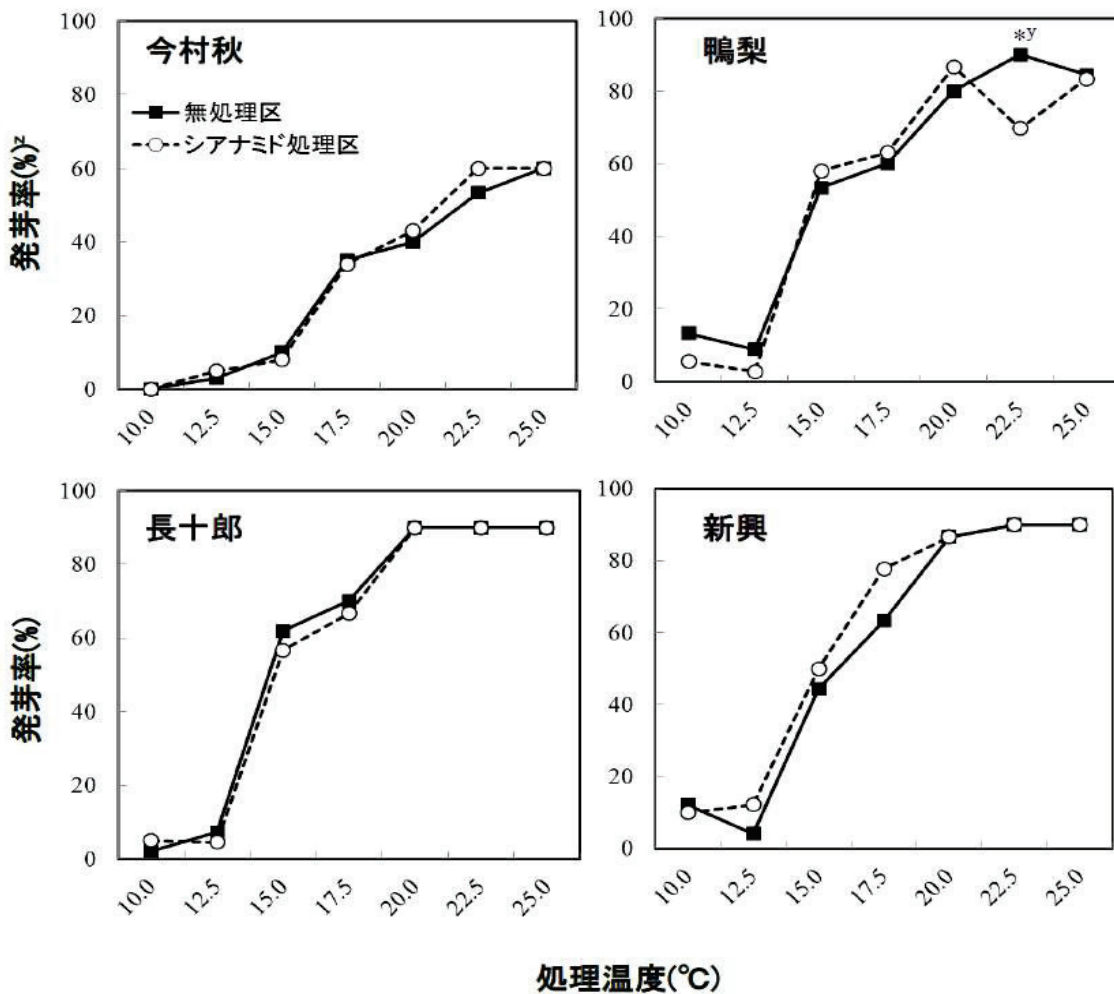
シアナミド処理が花粉発芽の温度感応性に及ぼす影響を調査年度毎に第 2.1 図（2014 年）、第 2.2 図（2015 年）に示した。2014 年の無処理区では、全品種 15.0℃以下の処理温度でほとんど発芽せず、処理温度が上がるにつれて発芽率は上昇した。一方、2014 年におけるシアナミド処理区の発芽率を無処理区と比較すると、‘今村秋’および‘新興’においてはほぼ各温度とも同程度であった。これらに対し‘長十郎’のシアナミド処理区の発芽率は、15.0℃、20.0℃条件で無処理区より低い値を示した。また、‘鴨梨’のシアナミド処理区の発芽率は、発芽率の低い 10.0℃および 12.5℃以外の温度域で無処理区よりも著しく低い値であった。2015 年の無処理区の花粉の発芽率は、いずれの温度とも 2014 年と同じかやや高い値を示した。2015 年におけるシアナミド処理区の発芽率は、無処理区と差がなかった。



第 2.1 図 シアナミド処理が‘今村秋’，‘鴨梨’，‘長十郎’および
‘新興’の花粉の発芽率に及ぼす影響（2014）

^z 寒天培地上で 5 時間後の発芽率を調査

^{y*}は χ^2 検定において 5%水準で有意差があることを示す



第 2.2 図 シアナミド処理が‘今村秋’, ‘鴨梨’, ‘長十郎’および
‘新興’の花粉の発芽率に及ぼす影響 (2015)

² 寒天培地上で 5 時間後の発芽率を調査

⁴*は χ^2 検定において 5%水準で有意差があることを示す

第4節 シアナミド処理が花粉の発育に及ぼす影響

前節において，‘鴨梨’のシアナミド処理区の発芽率は，15℃以上の温度域で無処理区よりも低い値を示し，シアナミド処理により花粉の発芽率の低下を招いた可能性がある．これまでに，開花の早い‘鴨梨’は四分子期に到達するのが早いために低温の害を受けやすく，花粉の発芽率が著しく低下する（林・田辺，1991）ことが報告されている．そこで，本節では，この発芽率の低下の理由を明らかにするために，花粉の発育に及ぼす影響を第1章と同様の方法で調査した．

材料および方法

花粉の発育は，第1章と同様の方法で調査した．調査は，2015年3月1~20日にかけて経時的に短果枝を各処理区3芽採取し，直ちにFAA液（70%エタノール：酢酸：ホルマリン=90：5：5，v/v）で固定した．花粉の成熟度を評価するために親花の4番花（混合芽の中の花芽で花序軸の下位から4番目の小花）の原基を取出し，水洗後，葯をスライドガラス上に滴下した少量の蒸留水中に置いた．これをピンセットで軽く揉みほぐし花粉を取り出した．その後，直ちにカバーガラスをかけ，顕微鏡下で無作為に抽出した3視野，各100粒の花粉の発育状態を観察し，80%以上の花粉が四分子期に達した日を記録した．また，気温は，3月1日~3月10日の間，実験圃場内に設置した百葉箱内に置いた自動記録温度計により計測した．

結果

2015年における花粉の四分子期到達日は、無処理区と比較してシアナミド処理区で全品種1～5日早まった(第2.3表)。特に、萌芽および開花の早い‘鴨梨’の四分子期到達日は、無処理区、シアナミド区とも4品種の中で最も早かった。さらに、‘鴨梨’のシアナミド処理区は、無処理区より5日早い3月1日に四分子期到達日を迎えた。

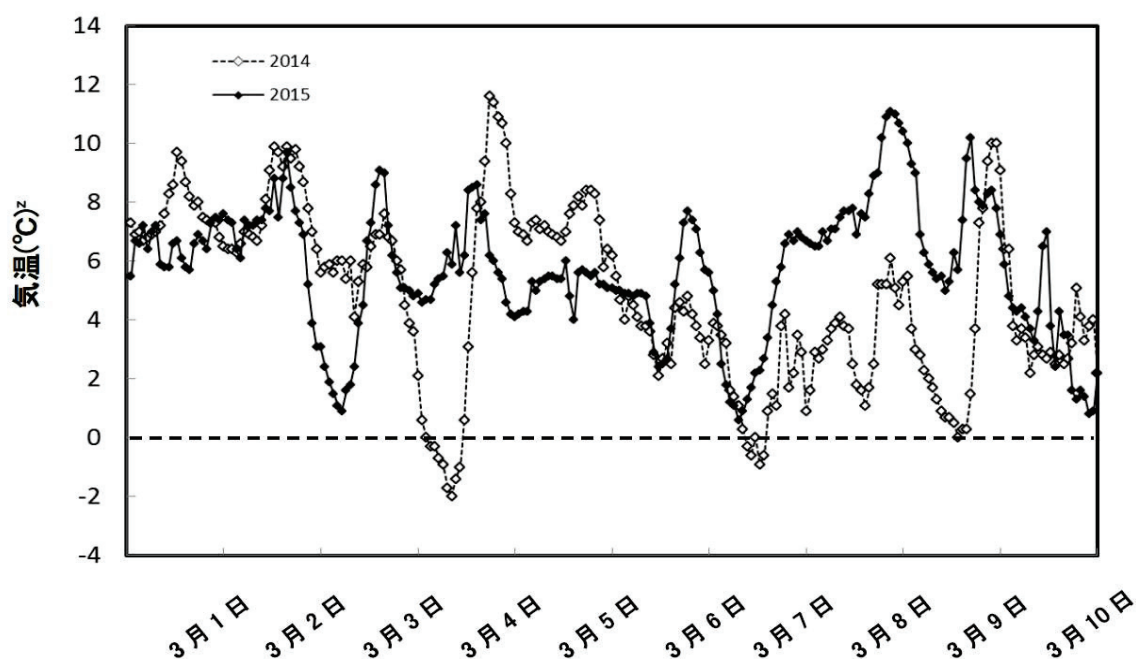
3月上旬の最低気温は、2014年3月4日に -2.2°C と調査期間中もっとも低い気温を示し、その後も 0.0°C を切る日があった(第2.3図)。一方、2015年3月上旬の最低気温は、 0.0°C を下回る日はなかった。

第 2.3 表 シアナミド処理が‘今村秋’，‘鴨梨’，‘長十郎’および
 ‘新興’の花粉の四分子期到達日に及ぼす影響

調査年	処理区	四分子期到達日(月/日) ^z			
		‘今村秋’	‘鴨梨’	‘長十郎’	‘新興’
2015	無処理区	3/9	3/6	3/9	3/8
	シアナミド処理区	3/8(-1)	3/1(-5)	3/5(-4)	3/4(-4)

^z 80%の花粉が四分子期に達した日 (n=9)

^y 括弧内の数字は無処理区と比べ四分子期到達日が前進した日数



第 2.3 図 3月上旬の気温 (2014, 2015年)

^z 実験圃場内に設置した百葉箱内に置いた自動記録温度計により計測した

第5節 考察

ニホンナシはほとんどの品種が自家不和合性を示す。従ってニホンシを経済栽培するには人工受粉が必要不可欠である。しかし、人工受粉用花粉の採取にあたっては、花採り、開葯、精製などの作業に多大な労力を要する。本研究は、これらの労力削減を目的とし、ニホンナシの受粉樹へのシアナミド処理が春先の生育および花粉の発芽率に及ぼす影響を調査し、受粉樹へのシアナミド処理の有効性について検討を行った。まず、受粉樹として利用されている‘今村秋’、‘鴨梨’、‘長十郎’および‘新興’の春季の生育に及ぼすシアナミド処理の影響について2014年および2015年の2年にわたり調査を行った。その結果、萌芽期は両年ともに、‘今村秋’、‘鴨梨’および‘長十郎’はシアナミド処理により早くなったが、2014年の‘新興’は萌芽期が遅延した。この遅延の理由は不明であるが、これまでに、休眠期中のシアナミド処理には、休眠打破および萌芽、開花促進効果（黒木ら、2013；大野・三井2008；田村、1999）が示されてきたが、萌芽期の遅延に関しての報告はなく、興味深い知見といえよう。

‘鴨梨’の萌芽期は6～8日早まり、調査品種の中で最も萌芽促進効果が高かった（第2.1表）。さらに、萌芽の促進のみにとどまらず、シアナミド処理は全調査品種の開花期を促進させた。

本研究で使用した受粉樹用品種も第1章の報告同様CU.600でのシアナミド処理は開花期を促進することは明らかであった。しかしながら、シアナミドの開花促進効果は、品種によって大きく異なった。萌芽期および開花日が最も早い‘鴨梨’は両年ともに開花期は6～8日早まり生育促進効果が顕著であった（第2.2表）。これに対し、

無処理区の開花が‘鴨梨’の次に早い‘今村秋’では1日，‘新興’では3日，‘長十郎’では1～3日シアナミド処理によって開花が早まった．シアナミド処理は，低温条件でも高い呼吸速度を維持するシアン耐性呼吸鎖（Coleら，1982）を発達させ，春季の花器の発達を促進させるからではないかと推測された．また，それらの反応性には品種間差異があるものと考えられるが，本研究では明確にすることは困難であった．また，ニホンナシの場合，品種により低温要求量が異なる（Takemuraら，2013）ことから，シアナミド処理の効果は処理時期によって大きく異なる（田村，1999）ことも一つの要因であると考えられる．これらの点に関しては，今後検討する必要がある．次に，以上の処理区の花粉の発芽率について見てみると，シアナミド処理区の花粉の発芽率は，‘今村秋’および‘新興’においては無処理区と同様の傾向を示し，シアナミド処理による発芽率の低下は観察されなかった．しかし，‘長十郎’のシアナミド処理区の花粉の発芽率は，20.0℃で無処理区と比べ著しく低い値を示した．また，‘鴨梨’のシアナミド処理区の花粉の発芽率は，広い温度域で無処理区と比べ著しく低く，シアナミド処理による花粉の発芽率の低下が確認された（第2.1図，第2.2図）．シアナミド処理による発芽率の低下の原因解明のため，2015年は花粉の四分子期到達日に及ぼすシアナミド処理の影響を調査した．四分子期到達日は，開花期と同様，品種間でシアナミド処理の反応性は異なった．供試品種の開花の早い順は‘鴨梨’，‘今村秋’，‘新興’，‘長十郎’であるが無処理区の花粉の四分子期到達日を比較すると，‘鴨梨’が最も早く，他の品種は‘鴨梨’より2～3日遅れて四分子期をむかえた．また，これら4品種の花粉の四分子期到達日は，シアナミド処理に

よっていずれとも、1~5日促進された。この結果は他のニホンナシ品種を用いた第1章の報告と同様であった。前述したように、四分子期到達日は、全品種で早まり、特に林・田辺（1991）の報告と同様、‘鴨梨’が最も早かった。

開花の早い‘鴨梨’は四分子期に到達するのが早いために低温の害を受けやすく、花粉の発芽率が著しく低下する（林・田辺，1991）ことが報告されている。そこで、四分子期を迎える3月上旬の最低気温を調査したところ、2014年は3月4日に -2.2°C と調査期間中もっとも低い気温を示し、その後も 0.0°C を下回る日があった（第2.3図）。一方、2015年3月上旬の最低気温 0.0°C 以上の日は2014年と比べ少なかった。以上の事から、2014年に関して四分子期到達日の調査を行ってはいないが、2015年の調査において最も早く四分子期を迎えた‘鴨梨’のシアナミド処理区は、最低気温の最も低かった2014年3月4日に花粉中の養分が最も少なく、低温に弱い状態にある花粉の発育過程が四分子期から空胞期（岩波，1980）を迎えたと推測される。したがって、この時期に低温に遭遇すると、発芽能力のない不稔花粉が多く出現する。一方、シアナミド処理区と無処理区の間で発芽率に有意な差がなかった、2015年3月の最低気温は、2014年3月に比べ高く、2014年および2015年の発芽率の違いに大きく関係していると考えられた。

以上のように、‘今村秋’、‘新興’および‘長十郎’への処理は、CU.600に達した時点で1.0%シアナミドを処理することで春季の生育を促進し、開花期を早めることが示された。加えて、萌芽期の早い‘鴨梨’の様な品種に対してのシアナミド処理は、四分子期を著

しく早め、花粉の若干の発芽率の低下を招く可能性がある。一方、‘鴨梨’は今回の調査品種の中で最も開花促進効果が高かったことから大幅な労力削減が可能になるものと考えられた。

第6節 摘要

シアナミド処理がナシ受粉樹の開花期および花粉発芽に及ぼす影響を調査した。CU. 600でのシアナミド処理は、‘鴨梨’、‘新興’、‘長十郎’および‘今村秋’の開花日を1～8日早めることができた。特に、開花期の最も早い‘鴨梨’では、6～8日と他の品種と比べ著しく促進することができた。また、花粉の発芽率は、年次により差があり、‘鴨梨’はシアナミド処理により殆どの温度処理区で発芽率が低下する年があった。その理由として、シアナミド処理により四分子期到達日が早まったことが考えられた。しかし、‘鴨梨’は調査品種の中で最も開花促進効果が高く、大幅な労力削減が可能になるものと考えられた。

第3章 低温条件下でのニホンナシの 結実性向上技術の開発

第1節 緒言

前章において、2014年および2015年の2年にわたり受粉樹の‘今村秋’、‘鴨梨’および‘長十郎’の花粉の発芽率を調査した。そのなかで、これらの品種の花粉の発芽率は、発芽時の温度により変動し、特に、15.0℃以下では著しく低下することが分かった。このため、受粉期の低温遭遇は結実率を低下させ、収穫量の減少を誘発する可能性を高める。

近年、ニホンナシ栽培において温暖化の影響による開花期の有意な前進が報告されており（本條ら，2002）、今後低温条件下でも安定した結実率を得るための対策を検討する必要がある。

そこで、本研究では低温条件下におけるニホンナシの結実性向上を目的として、ナシ属植物の中から低温条件においても高い発芽能を有する種・品種の花粉の選抜を試みた。さらに、それらの花粉を用いて受粉試験を行い、結実率および果実品質に及ぼす影響を調査した。また、花粉の発芽可能温度の品種間差異の原因を明らかにするために以下の実験を行った。

第2節 ナシ属植物の花粉の発芽特性

現在，ニホンナシ栽培において，人工受粉には主として‘長十郎’の花粉が用いられている．しかし，‘長十郎’花粉は 15.0℃以下では発芽率が著しく低下するため（黒木ら，2012），受粉期が低温であると結実不良が発生する可能性が高まる．この問題の対策として，低温条件下でも発芽・伸長可能な花粉を用いることが有効ではないかと考えられる．アーモンド,モモ（Weinbaum ら，1984）およびバラ科果樹であるリンゴ（奥瀬，1972）などでは，品種間で花粉発芽に適した温度に大きな差異があると報告されている．このことから，ナシについても種・品種間で発芽に適した温度は異なり，低温条件下でも発芽・伸長可能なものが存在するのではないかと推察される．そこで本節では，ナシ属植物の花粉の中から低温条件下においても高い発芽率を示す種・品種の選抜を行った．

材料および方法

供試品種

鳥取大学農学部附属大塚農場に栽植されている *P. betulaefolia*, *P. communis* L., *P. dimorphophylla*, *P. serotina*, ‘鴨梨’, ‘苹果梨’, ‘北海早生’, ‘太原紅’, ‘咸興甲’, ‘咸興乙’, ‘今村秋’, ‘長十郎’, ‘幸水’, ‘豊水’, ‘二十世紀’, ‘秋栄’, ‘新生’, ‘新興’, ‘巾着’, ‘衣通姫’, ‘太平洋’, ‘岩手無核’, ‘アオナシ’, ‘越のさやか’, ‘ゼネラル・レクラーク’, ‘バートレット’, 鳥取県東伯郡琴浦町にある農園に栽植されている‘ラ・フランス’, ‘ル・レクチェ’および青森県産業技術センターりんご研究所から提供

して頂いた‘スタークリームソン・ペア’，‘ドワイエネ・デュ・コムス’の開花直前のバルーン期の花を供試した．

花粉発芽試験

花粉発芽試験には前節の実験で，ナシ属植物の花粉発芽率が良好であった寒天培地〔スクロース 10% (W/V)，ホウ酸 60ppm (W/V)，寒天 1% (W/V)，pH5.5〕を用いた．花粉の培養方法は前節と同様であるが，本実験では 7.5℃，10.0℃，12.5℃，15.0℃，17.5℃，20.0℃，22.5℃，25.0℃，27.5℃，30.0℃,32.5℃および 35.0℃に設定した恒温器内でそれぞれ培養した．発芽率は前節と同様の方法で求めた．

結果

ナシ属植物の花粉の温度感応性は，種・品種により異なっていたが，そのほとんどが 15.0℃以下では著しく発芽率が低下した（第 3.1 表）．それらの中で，現在ニホンナシの主要な受粉樹用品種として用いられている‘長十郎’花粉の 15.0℃での発芽率は 46.5%であった．一方 15.0℃で‘長十郎’よりも高い発芽率を示したのは *P.communis* L.，大原紅，‘ラ・フランス’および‘ル・レクチェ’の 4 品種であった．また，12.5℃での‘長十郎’花粉の発芽率は 13.1%であった．一方，*P.communis* L.，‘鴨梨’，‘苹果梨’，‘大原紅’，‘新興’，‘太平洋’，‘スタークリームソン・ペア’，‘ゼネラル・レクラーク’，‘ドワイエネ・デュ・コムス’，‘バートレット’，‘ラ・フランス’および‘ル・レクチェ’の 12 品種が 12.5℃で‘長十郎’よりも高い発芽率を示した．さらに，7.5℃での *P.communis* L. の発芽率は 43.3%と，他品種と比較して有意に高い値であった．

第 3.1 表 ナシ属植物の花粉の温度感応性

品種	温度処理(°C)											
	7.5	10.0	12.5	15.0	17.5	20.0	22.5	25.0	27.5	30.0	32.5	35.0
	発芽率(%)											
<i>P. betulaefolia</i> N	0.0 c ^z	12.9 bc	12.6 bc	27.6 b	48.1 a	62.9 a	53.0 a	57.8 a	56.4 a	63.7 a	60.9 a	58.0 a
<i>P. communis</i> L	43.3 b	59.9 b	75.2 ab	78.1 ab	89.3 a	83.2 a	73.3 ab	83.7 a	85.3 a	76.9 ab	89.2 a	-
<i>P. dimorphophylla</i>	0.0 c	1.5 c	2.6 c	22.4 b	27.1 b	40.4 b	51.0 b	74.1 a	37.8 b	48.6 b	4.1 c	13.9 c
<i>P. serotina</i>	0.0 c	0.8 c	1.1 c	36.4 b	37.3 b	68.5 b	68.6 b	75.6 a	46.0 b	54.8 b	50.9 b	49.7 b
‘鴨梨’	0.0 c	0.0 c	17.1 c	18.6 c	45.5 bc	73.3 ab	82.1 a	84.8 a	76.1 ab	67.9 ab	49.4 bc	52.6 bc
‘苹果梨’	0.0 d	26.3 c	17.7 cd	35.8 ab	71.1 ab	77.1 ab	91.6 a	85.6 a	82.0 ab	46.2 cb	62.7 cb	55.3 cb
‘北海早生’	0.0 d	6.6 d	6.7 d	33.5 bc	62.7 b	73.5 b	78.7 b	95.3 a	66.0 b	34.1 bc	28.9 c	48.8 b
‘大原紅’	0.0 d	3.3 d	34.9 c	58.8 bc	84.0 ab	88.8 ab	94.7 a	95.9 a	72.0 bc	85.1 ab	85.1 ab	68.2 bc
‘威興甲’	0.0 c	0.1 c	0.0 c	7.5 c	57.1 b	83.2 a	84.2 a	90.3 a	46.9 b	63.7 a	63.8 a	52.2 b
‘威興乙’	0.0 d	0.2 d	0.0 d	17.1 cd	46.2 bc	66.4 ab	77.9 ab	81.9 a	34.5 c	55.4 ab	61.1 ab	49.3 cb
‘今村秋’	0.0 c	3.3 bc	3.6 bc	22.1 c	18.3 cb	54.2 a	42.2 a	70.0 a	33.5 ab	23.0 bc	4.2 bc	8.7 bc
‘長十郎’	0.0 c	9.8 c	13.1 c	46.5 b	59.8 a	73.4 a	85.6 a	89.0 a	90.9 a	47.0 b	43.0 b	10.1 c
‘幸水’	0.0 d	0.0 d	2.1 cd	4.0 d	39.4 b	34.1 b	32.4 bc	93.1 a	51.1 b	59.7 b	59.5 b	50.5 b
‘豊水’	0.0 c	1.3 c	2.0 c	8.6 c	41.6 b	52.4 ab	83.9 a	71.0 ab	60.6 ab	73.6 ab	66.5 ab	54.1 ab
‘二十世紀’	0.0 d	11.0 cd	1.9 d	43.3 ab	32.4 bc	75.7 a	77.8 a	78.3 a	62.8 a	71.5 a	68.0 a	64.0 a
‘秋栄’	0.0 c	1.4 c	3.4 c	5.9 c	44.2 b	38.2 b	62.5 ab	84.9 a	53.5 ab	68.1 ab	67.8 ab	71.4 ab
‘新生’	0.0 d	0.5 d	6.1 d	29.6 cd	45.0 c	48.7 c	62.0 bc	53.4 bc	60.1 bc	75.5 ab	75.0 ab	81.6 a
‘新興’	0.0 c	0.0 c	20.5 bc	33.3 b	51.6 ab	72.5 a	65.3 a	75.2 a	67.7 a	70.3 a	32.4 b	31.7 b
‘巾着’	0.0 c	1.1 c	0.6 c	13.3 bc	31.8 ab	42.1 a	54.4 a	45.3 a	61.1 a	45.0 a	6.3 bc	7.5 cb
‘衣通姫’	0.0 c	2.2 c	11.2 c	50.1 b	59.2 b	74.1 ab	78.3 ab	79.1 ab	81.3 a	65.2 ab	51.5 b	49.0 b
‘太平洋’	0.0 d	16.1 cd	24.5 bc	36.8 bc	82.5 a	85.9 a	67.1 ab	90.1 a	61.6 ab	96.7 a	58.4 b	47.0 c
‘岩手無核’	0.0 c	6.2 c	0.0 c	9.7 bc	6.9 bc	59.1 ab	72.1 a	76.5 a	24.8 b	58.5 ab	13.1 c	0.0 c
‘アオナシ’	0.0 d	8.0 cd	2.5 cd	23.8 bc	26.8 b	61.0 ab	60.7 ab	77.6 a	66.2 a	63.7 a	50.6 b	29.2 b
‘越のさやか’	0.0 d	3.8 d	11.3 cd	42.8 cb	69.5 b	75.1 ab	91.7 a	87.7 a	75.2 ab	55.9 b	41.9 c	30.3 c
‘スタークリムソン・ペア’	0.0 e	4.2 de	23.7 cd	43.8 cb	76.4 b	62.5 b	57.7 cb	88.9 a	86.1 a	77.6 a	60.1 bc	60.8 bc
‘ゼネラルレクラーク’	0.0 d	16.4 cd	14.6 cd	28.3 cd	35.7 c	52.8 b	53.6 b	77.1 a	50.2 bc	46.7 cb	43.0 c	10.1 d
‘ドワイエネドゥコミス’	0.0 d	3.1 d	36.5 c	39.9 bc	78.5 ab	66.1 bc	77.3 ab	95.0 a	86.3 a	84.2 a	62.9 bc	45.4 bc
‘パートレット’	0.0 c	8.6 c	31.6 b	41.0 b	86.7 a	81.2 a	92.3 a	81.6 a	77.3 a	83.7 a	20.1 bc	19.7 bc
‘ラ・フランス’	0.0 c	11.7 bc	73.8 a	73.6 a	82.1 a	85.8 a	88.9 a	85.9 a	84.4 a	81.9 a	56.0 a	45.9 ab
‘ル・レクチェ’	1.4 c	58.6 b	67.1 ab	71.1 a	91.2 a	83.5 a	88.6 a	88.7 a	69.1 ab	76.9 a	84.8 a	71.2 ab

^z 品種内の異なる英文字は χ^2 検定において 5% 水準で有意差あり

第3節 セイヨウナシ花粉を用いた低温条件下での 受粉が結実率に及ぼす影響

前節において、主にセイヨウナシ品種の花粉が低温条件下においても高い発芽率を示すことが明らかになった。しかし、ニホンナシへのセイヨウナシ花粉の受粉が結実率、果実生育並びに果実品質にどのような影響を及ぼすのかは明らかになっていない。

そこで本節では、セイヨウナシ‘ラ・フランス’および *P. communis* L. の花粉を用いたニホンナシへの受粉が、結実率、果実生育並びに果実品質に及ぼす影響を調査することを目的とし、受粉試験を行った。

材料および方法

前節の実験で低温条件下でも高い発芽率を示した‘ラ・フランス’、*P. communis* L. 純花粉および対照区として‘長十郎’純花粉を供試した。両品種の花粉は事前に発芽試験を行い、25℃条件下で80%以上の発芽率であることを確認した。

鳥取大学農学部附属フィールドサイエンスセンターに栽植されているマメナシを台木として用い、同圃場に栽植されている‘豊水’および‘ゴールド二十世紀’樹の1年枝から作製した穂木を接ぎ木し、ポット樹を作製した（第3.1図）。穂木は前年に採取した1年枝を2節ずつに調製し、乾燥防止のため加熱により液化したパラフィンを全体に塗布した後、接ぎ木に用いるまでポリエチレン袋内、1℃条件下で保存しておいたものを使用した。

ポット樹は開花直前に10.0℃に設定した人工気象室に搬入し、1果

そうに4花を残し除雄した。その後、綿棒を用いて‘ラ・フランス’,
P. communis L.および‘長十郎’純花粉をそれぞれ受粉した。受粉後4日
目にポット樹を人工気象室から搬出し、受粉後3週間目に結実率お
よび1果そうあたりの結実数を調査した。



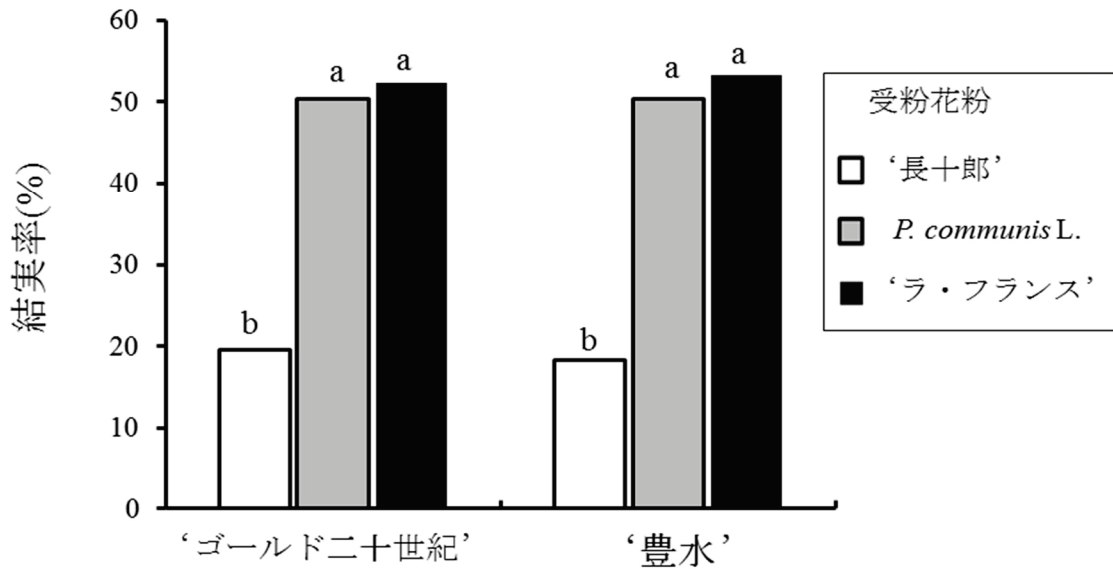
第3.1図 実験風景（ポット樹）

結果

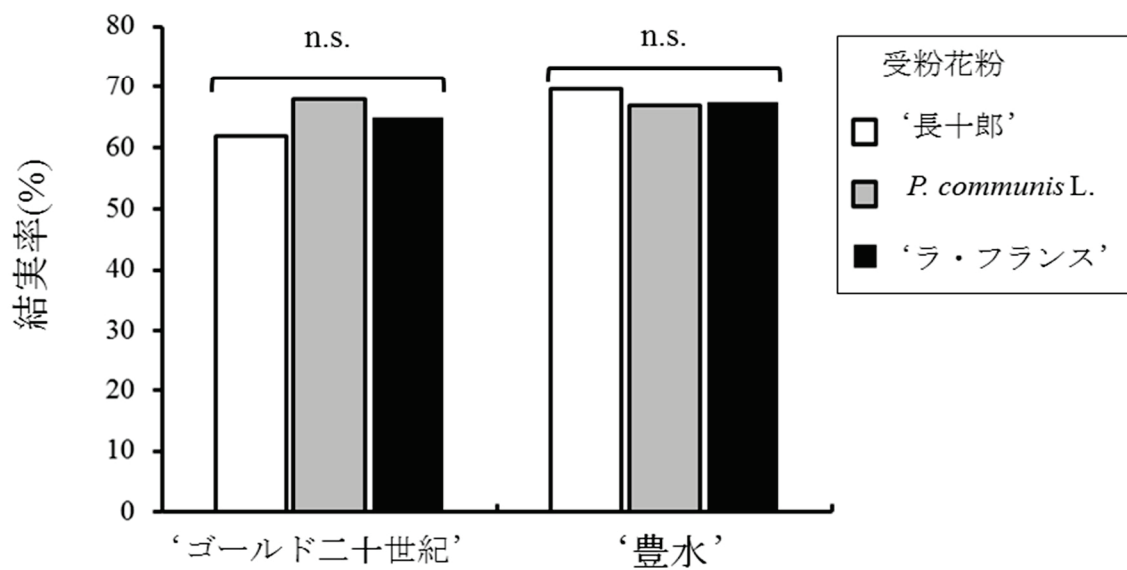
‘ゴールド二十世紀’ および‘豊水’の各温度処理における受粉試験の結果を第 3.2 図に示した。

20.0°C 条件下での受粉試験の結果，受粉後 4 週目の‘ゴールド二十世紀’および‘豊水’の結実率には，受粉花粉による有意な差はなかった。しかし，10.0°C 条件下での受粉試験においては，受粉花粉による有意な差が生じた。特に，‘長十郎’受粉区では，結実率が，両品種 20% 以下と低く，明らかに受粉時の低温によるとも思われる結実不良が生じた。一方，‘ラ・フランス’および *P.communis* L. 受粉区では，50% 以上の結実率を示し，受粉時の低温遭遇による結実率の著しい低下を防ぐことが可能であることが明らかとなった。

(10.0°C)



(20.0°C)



第 3.2 図 低温条件下（10°C）での受粉において花粉の違いが，
'ゴールド二十世紀'および'豊水'の結実率に及ぼす影響
² 同列内の異なる小文字は Tukey の多重検定（5%水準）で有意差あり（n=30）

第4節 セイヨウナシ花粉を用いた受粉がニホンナシ品種の果実品質に及ぼす影響

前節の低温条件下(10.0℃)での受粉試験において、‘ラ・フランス’および *P.communis* L. 花粉を用いた場合、‘長十郎’と比較して大幅に高い結実率を示した。しかし、‘ラ・フランス’および *P.communis* L. 花粉を受粉に用いた場合、果実生育および果実品質にどのような影響を及ぼすのかは不明である。これまでに、ナツメヤシ(Nasser, 2006)やレタス(上月ら, 2006)などでは、果肉や果皮、種子等に花粉親が影響を及ぼすメタキセニア現象が報告されており、ニホンナシにおいても同現象の発生が推察される。

そこで本節では、ニホンナシ3品種への‘ラ・フランス’および *P.communis* L.の花粉を用いた受粉が結実率、果実生育および果実品質に及ぼす影響を調査した。

材料および方法

鳥取大学農学部附属フィールドサイエンスセンターに栽植されている、‘ゴールド二十世紀’樹および鳥取大学農学部附属フィールドサイエンスセンター大塚農場に栽植されている‘幸水’および‘豊水’樹を供試した。受粉には‘ラ・フランス’および *P.communis* L.純花粉、‘長十郎’純花粉および無染色石松子(ミツワ社)を用いた。

受粉を行う前に1果そう4花になるように調整した。その後、筆を用いて各品種に各処理区の花粉をそれぞれ30果そう受粉した。受粉は‘幸水’2012年4月21日、‘豊水’2012年4月18日、‘ゴールド二

十世紀’2012年4月17日にそれぞれ行った。そして、各品種とも受粉3週間後に摘果を行い、収穫適期の果実調査項目は果実重、果実径、果色、糖度、酸度（pH）、心室数、完全種子数、不完全種子数、果芯径、果梗の長さ・太さ、蒂窪部・梗窪部の幅・深さとした。果実径、果芯径、蒂窪部・梗窪部の幅・深さはデジタルノギスを用いて測定した。硬度、糖度、酸度は、果実を赤道面で切断し、調査した。それぞれ硬度計、デジタル糖度計（APAL-1, AS ONE）、pHメーター（B-212, HORIBA）を用いて測定した。心室数、完全種子数および不完全種子数は目視により調査した。

結果

‘幸水’：*P. communis* L.受粉区では、‘ラ・フランス’および‘長十郎’受粉区に比べ、果重、縦径、横径、梗窪・蒂窪の広さ・深さの項目で有意に低い値を示した（第3.2表、第3.3表）。果色、糖度、酸度および硬度に関しては受粉花粉の違いによる有意差は認められなかった。一方、‘豊水’および‘ゴールド二十世紀’の果実発育並びに果実品質に受粉花粉の違いによる差はみられなかった（第3.4表、第3.5表、第3.6表、第3.7表）。

以上の結果から、‘豊水’および‘ゴールド二十世紀’に関してはセイヨウナシ花粉の受粉による果実品質への影響は確認されず、技術として十分に使用できることが明らかになった。一方で、‘幸水’に*P. communis* L.花粉を受粉した場合、‘長十郎’および‘ラ・フランス’花粉と比べて果実が小型化する傾向がみられた。この原因については今後検討していく必要がある。

第 3.2 表 セイヨウナシ花粉が‘幸水’の成熟期の果形に及ぼす影響

受粉花粉	果重 (mg)	縦径 (mm)	横径 (mm)	こうあ部		ていあ部	
				広さ (mm)	深さ (mm)	広さ (mm)	深さ (mm)
長十郎	230.3 a	62.6 ab	76.0 ab	28.3 a	7.2 a	33.7 a	9.6 ab
ラ・フランス	236.1 a	64.5 a	77.4 a	26.2 a	7.0 a	32.5 a	10.4 a
<i>P. communis</i>	195.5 b	61.2 b	72.5 b	20.7 b	5.3 b	29.2 b	8.4 b

² 同列内の異なる小文字は Tukey の多重検定 (5%水準) で有意差あり (n=50)

第 3.3 表 セイヨウナシ花粉が‘幸水’の成熟期の果実品質および種子数に及ぼす影響

受粉花粉	果色	糖度 (%)	酸度 (ph)	硬度 (kg)	心室数	種子数	
						完全種子	不完全種子
長十郎	1.3 a	12.2 a	5.3 a	2.8 a	7.0 a	11.0 a	2.1 a
ラ・フランス	1.2 a	12.2 a	5.3 a	2.8 a	7.0 a	8.5 a	4.2 a
<i>P. communis</i>	1.1 a	12.1 a	5.3 a	2.5 a	7.2 a	10.8 a	2.5 a

² 同列内の異なる小文字は Tukey の多重検定 (5%水準) で有意差あり (n=50)

第 3.4 表セイヨウナシ花粉が‘豊水’の成熟期の果形に及ぼす影響

受粉花粉	果重 (mg)	縦径 (mm)	横径 (mm)	こうあ部		ていあ部	
				広さ (mm)	深さ (mm)	広さ (mm)	深さ (mm)
長十郎	396.3 a	81.4 a	89.3 a	31.9 a	10.2 a	31.8 a	10.2 a
ラ・フランス	444.4 a	83.7 a	94.5 a	34.5 a	11.8 a	33.3 a	11.1 a
<i>P. communis</i>	424.0 a	81.4 a	92.9 a	33.5 a	11.5 a	32.5 a	11.0 a

² 同列内の異なる小文字は Tukey の多重検定 (5%水準) で有意差あり (n=50)

第 3.5 表セイヨウナシ花粉が‘豊水’の成熟期の果実品質および種子数に及ぼす影響

受粉花粉	果色	糖度 (%)	酸度 (ph)	硬度 (kg)	心室数	種子数	
						完全種子	不完全種子
長十郎	1.6 a	12.4 a	4.8 a	2.3 a	5.1 a	9.5 a	0.6 a
ラ・フランス	1.6 a	12.0 a	4.9 a	2.4 a	4.8 a	9.4 a	0.2 a
<i>P. communis</i>	1.7 a	12.4 a	4.8 a	2.5 a	5.1 a	10.0 a	0.0 a

² 同列内の異なる小文字は Tukey の多重検定 (5%水準) で有意差あり (n=50)

第 3.6 表セイヨウナシ花粉が‘ゴールド二十世紀’の成熟期の果形に
及ぼす影響

受粉花粉	果重 (mg)	縦径 (mm)	横径 (mm)	こうあ部		ていあ部	
				広さ (mm)	深さ (mm)	広さ (mm)	深さ (mm)
長十郎	270.1 a ^z	69.5 a	79.4 a	25.5 a	7.0 a	29.9 a	8.3 a
ラ・フランス	276.9 a	70.9 a	79.8 a	25.3 a	7.2 a	28.3 a	6.5 b
<i>P. communis</i>	269.4 a	70.5 a	79.3 a	27.0 a	6.1 a	30.0 a	7.4 ab

^z 同列内の異なる小文字は Tukey の多重検定 (5%水準) で有意差

あり (n=50)

第 3.7 表セイヨウナシ花粉が‘ゴールド二十世紀’の成熟期の果実品質
および種子数に及ぼす影響

受粉花粉	果色	糖度 (%)	酸度 (ph)	硬度 (kg)	心室数	種子数	
						完全種子	不完全種子
長十郎	3.3 a	10.4 a	4.8 a	2.8 a	4.75 a	6.2 a	3.5 a
ラ・フランス	3.7 a	10.5 a	4.8 a	3.0 a	5.02 a	6.1 a	4.3 a
<i>P. communis</i>	3.5 a	10.5 a	4.9 a	3.0 a	5.04 a	6.4 a	3.6 a

^z 同列内の異なる小文字は Tukey の多重検定 (5%水準) で有意差

あり (n=50)

第5節 ナシ属植物の花粉の低温発芽能とその機構

前節において、セイヨウナシ *P. communis* L. は低温条件下においても高い発芽能を有することを明らかにした。しかし、どのようなメカニズムで、低温下での高い発芽能を示すのかは不明である。

これまでに、様々な植物の、花粉についての研究は古くからされており、花粉内の化学成分、花粉発芽および花粉管伸長に及ぼす温度の影響(安谷屋・比嘉, 1988; 渡辺・高橋, 1989)などに関する報告があり、また、生理的機構についての研究もされている。ユリ花粉について、花粉の呼吸が酸化的リン酸化反応に強く依存しており、観察された呼吸特性が ATP の利用と再合成に密に関連すると示唆している(Dickinson, 1965)。また、花粉管の伸長には、先端で起こる原形質膜と花粉管壁の形成、そして、花粉管基部での液胞の発達が原動力になっており、単に吸水して体積を増すのではなく、脂質粒や小胞体が関与していることが明らかになっている(野口, 2006)。

以上のように、花粉の発芽および花粉管伸長には、呼吸や原形質流動、液胞の発達やカロース栓の形成など、様々な要素が関連していることが、これまでの研究で明らかになっている。しかし一方で、呼吸等の生理的機構が、温度から受ける影響についての研究例は少ない(Karapanos ら, 2010)。

そこで、本節では、低温発芽能を有するナシ品種花粉の、生理的機構に関する基礎的知見を得るため、花粉発芽の温度依存性と、呼吸および細胞膜の脂肪酸組成に注目をし以下の実験を行った。

材料および方法

供試材料

呼吸量測定：*P. betulaefolia*, *P. dimorphophylla*, *P. communis* L., *P. serotina*, TH-3, ‘鴨梨’, ‘苹果梨’, ‘北海早生’, ‘咸興甲’, ‘咸興乙’, ‘今村秋’, ‘大原紅’, ‘横山’, ‘長十郎’, ‘幸水’, ‘豊水’, ‘二十世紀’, ‘おさ二十世紀’, ‘早優利’, ‘爽甘’, ‘秋栄’, ‘新生’, ‘新興’, ‘巾着’, ‘時田’, ‘友坂’, ‘越のさやか’, ‘ゼネラル・レクラーク’, ‘バートレット’, ‘ラ・フランス’, ‘ドウワイエネ・デュ・コムス’, ‘スタークリムソンペア’, ‘ル・レクチェ’の花粉を供試した.

花粉の吸水量および花粉細胞膜の脂肪酸組成：*P. communis* L. および‘長十郎’の花粉を供試した.

1. 呼吸量測定

呼吸量測定には, 10%スクロース, 1mM ホウ酸, 1%寒天, pH5.8 の試験管培地で培養した花粉を用いた. 花粉は, 12.5°C, 25.0°C 条件下で 5 時間培養し, 呼吸量の測定および発芽率を調査した. また, 呼吸量の測定には酸素電極装置 (OXYG1, Hansatech Instruments Ltd) を用い, 温度を一定に保つため, 装置ごと人工気象室 (FMU-053I, 福島工業株式会社) に入れ, 実験を行った.

2. 花粉の発芽時の吸水量に及ぼす温度の影響

液体培地上に花粉を静置し, 25.0°C および 12.5°C で培養後, 花粉の吸水量を調査した.

3. 花粉細胞膜の脂肪酸組成

Bligh・Dyer (1959) の方法に従い花粉から脂質を抽出し，総脂質および各脂質の脂肪酸組成をガスクロマトグラフ（島津製作所，GC2014，検出器：FID，カラム：Omegawax 30m × 0.25mm，）で分析した．調査を行った脂質はリン脂質としてフォスファチジルコリン（PC）およびフォスファチジルエタノールアミン（PE）の 2 種とした．また，分析を行った脂肪酸はパルミチン酸（C16:0），マルガリン酸（C17:0），ステアリン酸（C18:0），リノール酸（C18:2）およびリノレン酸（C18:3），アラキジン酸（C20:0），ベヘン酸（C22:0），リグノセリン酸（C24:0）の計 8 種とした．脂肪酸の不飽和度は， $\{(\text{mol\% C18:1}) + (2 \times \text{mol\% C18:2}) + (3 \times \text{mol\% C18:3})\}/100$ により算出した．

結果

1. 呼吸量測定

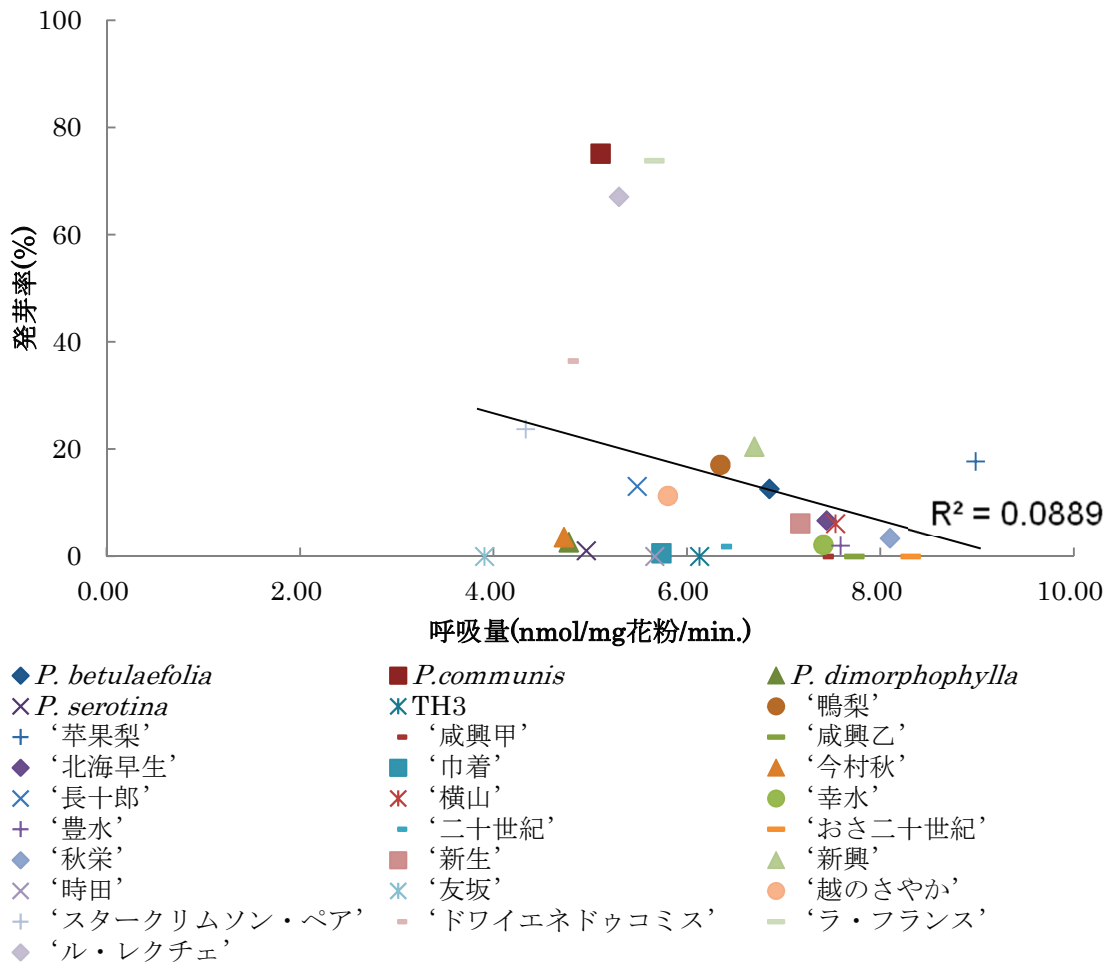
12.5°Cおよび25.0°C条件下での発芽率および呼吸量を第3.3図、第3.4図に示した。12.5°C処理区において、特に高い発芽率を示した *P.communis* L., ‘ラ・フランス’, ‘ル・レクチェ’の3品種と他の品種の呼吸量を比較した結果、一定の傾向はなかった。また、同様に25.0°C処理区においても、総呼吸量と発芽率との間に一定の傾向はなかった。

2. 花粉の発芽時の吸水量に及ぼす温度の影響

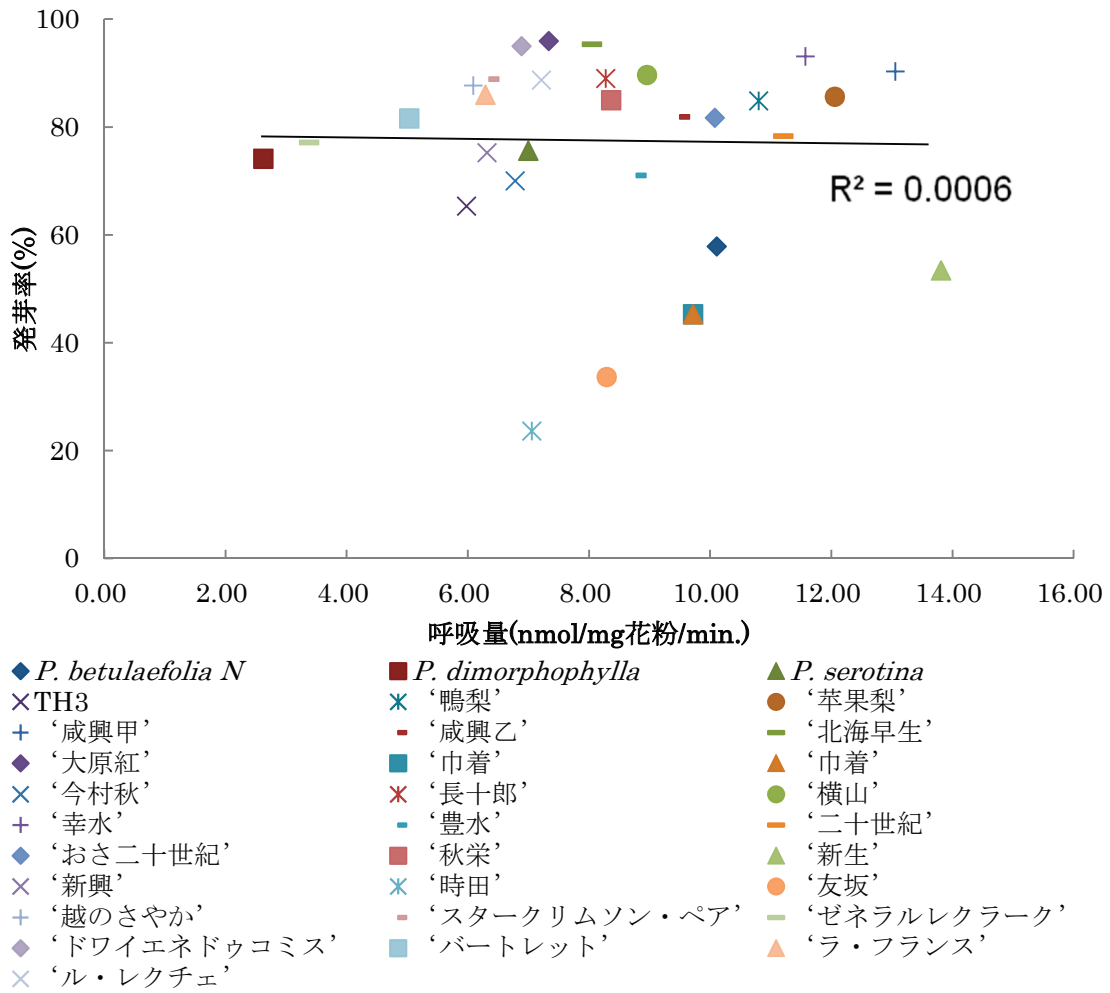
花粉の発芽時の吸水量に及ぼす温度の影響を第3.5図に示した。花粉の発芽時の吸水量は、‘長十郎’花粉では、処理温度によって異なり、25.0°C区と比較して、12.5°C区で有意に少なかった。一方、*P.communis* L.花粉の吸水量は、温度処理区間で差はなかった。

3. 花粉細胞膜の脂肪酸組成

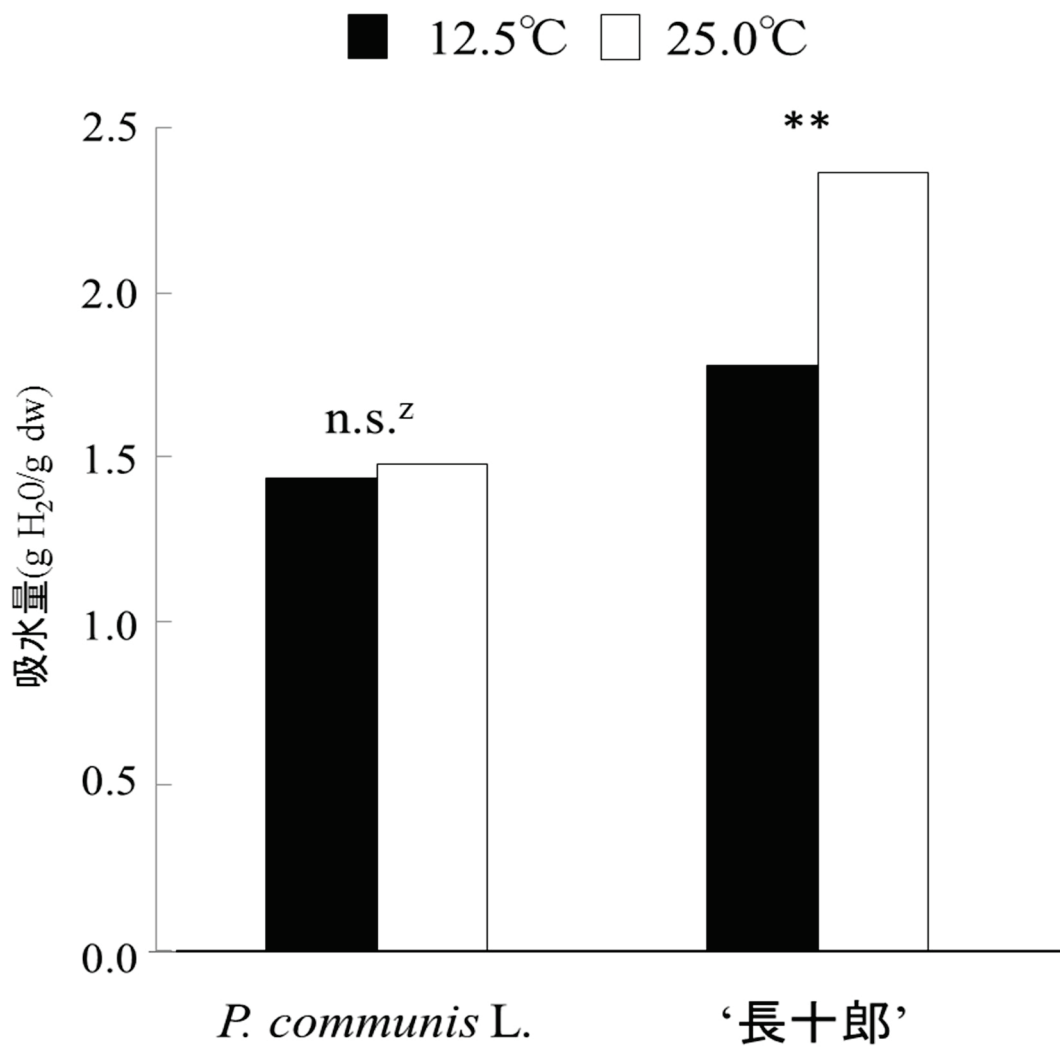
花粉の細胞膜の脂肪酸組成を調査した結果、*P.communis* L.が‘長十郎’に比べ α -リノレン酸(18:3 n=3)の割合が高く(第3.6図)、高い不飽和度を示した。主要リン脂質のフォスファチジルコリン(PC)およびフォスファチジルエタノールアミン(PE)の脂肪酸組成を第3.7図に示した。PC画分では、脂肪酸組成に品種間差はなかった。しかし、PE画分では *P.communis* L.の α -リノレン酸含有率が‘長十郎’と比べ著しく高かった。



第 3.3 図 ナシ品種花粉の総呼吸量と発芽率との関係 (12.5°C)

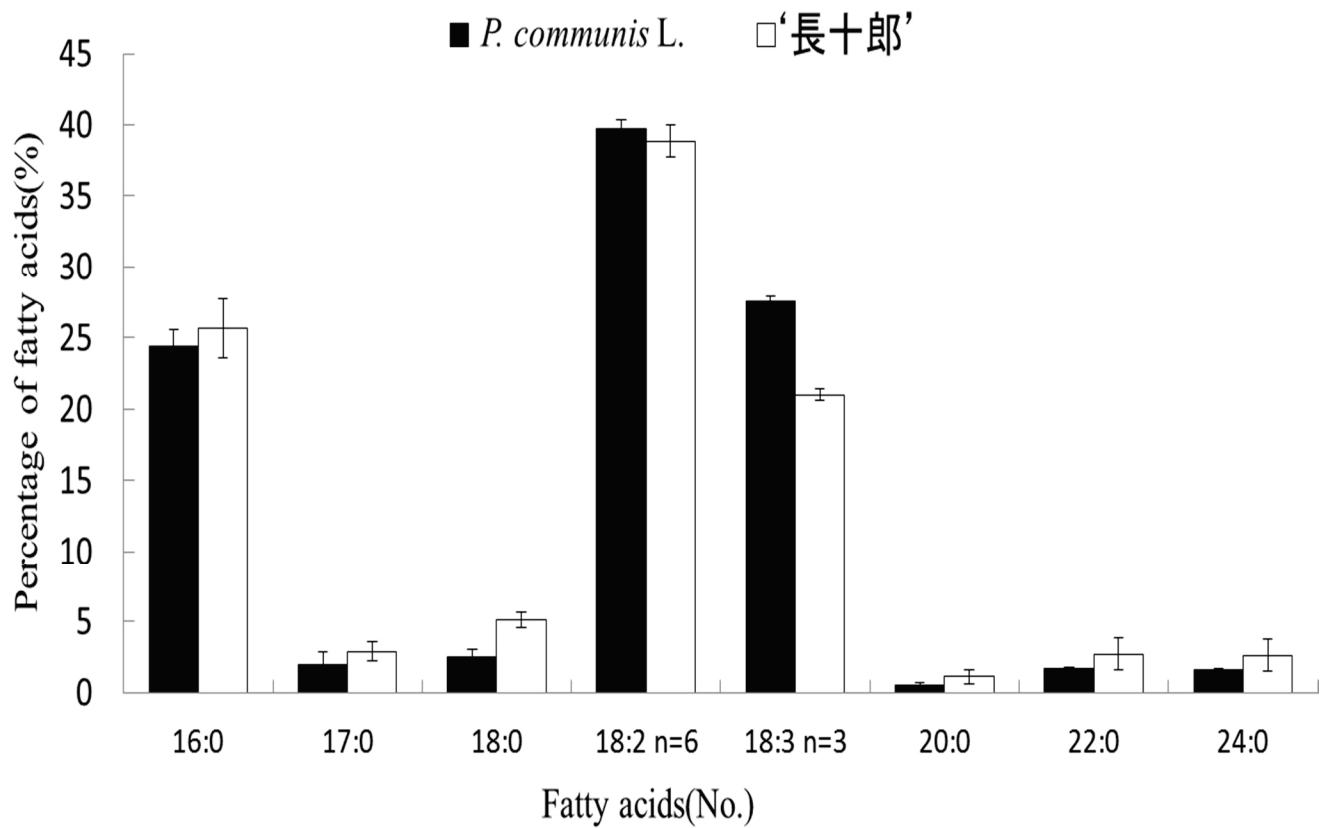


第 3.4 図 ナシ品種花粉の総呼吸量と発芽率との関係 (25.0°C)



第 3.5 図 *P. communis* L.および‘長十郎’花粉の吸水量

^z t -検定において，**は 5%水準で有意差あり，n.s.は有意差なし



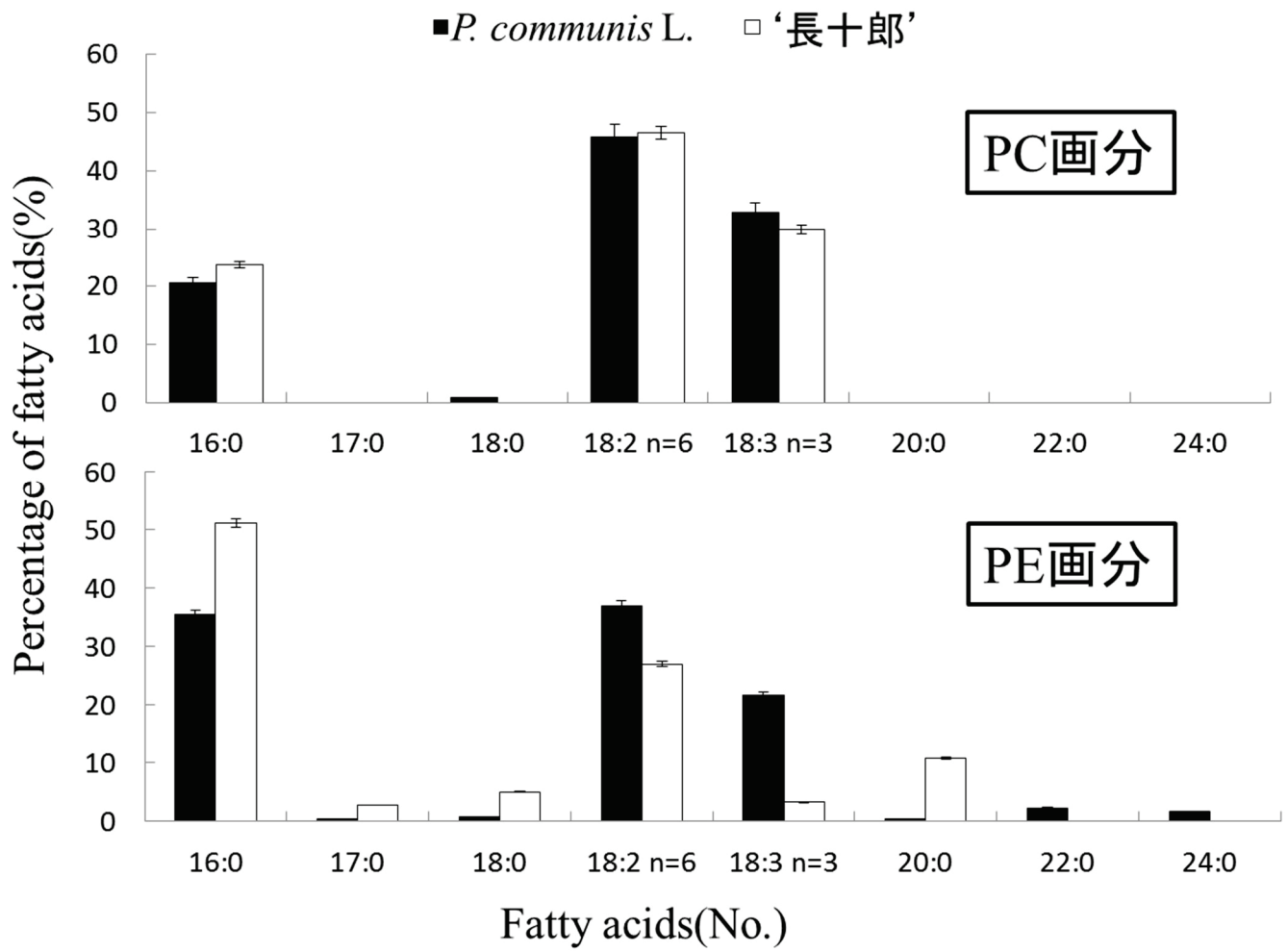
第 3.6 図 *P. communis* L. および'長十郎'の全リン脂質の脂肪酸組成

第 3.8 表. 総脂質含量, P 含量および不飽和度

系統・品種	脂質総含量 (mg/gDW)	P 含量 (μ g/gDW)	不飽和度
<i>P. communis</i> L.	60.3	8.5	7.0
'長十郎'	65.4	9.1	5.0
t-test ^z	n.s.	n.s.	**

^z t-検定において, **は 5% 水準で有意差あり,

ns は有意差なし



第 3.7 図 *P. communis* L. と'長十郎'花粉の PC (フォスファチジルコリン)

および PE (フォスファチジルエタノールアミン) における脂肪酸組成

第5節 考察

ニホンナシ品種の多くは自家不和合性を有しているため、春季の人工受粉が必須の作業である。しかし近年、ニホンナシ栽培において、温暖化の影響による開花期の有意な前進が報告されており（本條ら、2002）、開花期の低温による受精不良が問題となっている。

ニホンナシ栽培においては、主に‘長十郎’の花粉が人工受粉に用いられている。この‘長十郎’の花粉の発芽率が50%以上の値を示すのは17.5～27.5℃の範囲であり、15℃以下の低温条件下では発芽率は著しく低下する。そのため、受粉期が15℃以下の低温に遭遇すると花粉の発芽率の低下が生じ、その結果、結実不良が発生する。

そこで、本章では、低温条件下においても高い発芽能を有する花粉の選抜を試みた。その結果、ナシ属植物の花粉の温度感応性は種・品種により大きく異なることが明らかとなった。

その中でも、セイヨウナシの *P. communis* L., ‘ラ・フランス’および‘ル・レクチュエ’は、12.5℃以下の温度であっても発芽を確認できた。特に、*P. communis* L.は、他種・品種が発芽しない7.5℃においても、発芽率が43.3%と高い値を示し、調査品種の中で最も低温で発芽する個体であった（第3.1表）。これまでに、‘スタークリムソン・ペア’および‘ドワイエネ・デュ・コムス’の低温下での高い発芽性について報告されているが、本調査においては、*P. communis* L.のほうが優れた低温発芽性を示した。また、これらのことより、15.0℃以下の低温条件下では、セイヨウナシ品種の花粉の発芽率がニホンナシおよびチュウゴクナシ品種の花粉と比較して高い傾向にあることが明らかになった。

次に、セイヨウナシ花粉の中から、*P. communis* L.と花芽の着生が多く、‘バ

ートレット’等の受粉に用いられていた ‘ラ・フランス’の花粉を用い、対照品種として‘長十郎’を用いて受粉試験を行った。また、この受粉試験は、自然条件下での受粉時の低温遭遇を想定して、10.0℃に設定した人工気象室に‘ゴールド二十世紀’および‘豊水’のポット樹を搬入し行った。その結果、‘長十郎’受粉区の結実率は、処理温度により大きく異なり、10.0℃処理区では、結実率が20%以下となった。しかし、*P. communis* L. および‘ラ・フランス’受粉区では、両品種ともに50%以上の結実率を示し、10.0℃条件下での結実が可能であった(第3.2図)。以上のことから、*P. communis* L. および‘ラ・フランス’花粉の受粉により受粉時の低温遭遇による結実不良を軽減させることが可能であると考えられた。

さらに、*P. communis* L. および‘ラ・フランス’は、受粉樹として利用可能なのかを調査するために、ニホンナシ主要品種の‘幸水’、‘豊水’および‘ゴールド二十世紀’に受粉を行い、その後の果実品質に及ぼす影響を‘長十郎’受粉区と比較した(第3.2図、第3.3図、第3.4図、第3.5図、第3.6図、第3.7図、)。「豊水」および「ゴールド二十世紀」の果実品質は、受粉花粉による差はなく、両品種が受粉樹として利用できることを明らかにした。しかし、「幸水」の果実品質は、*P. communis* L. 受粉区において‘長十郎’区と比べ優位に小さくなった。その理由として、ナツメヤシ(Nasser ら, 2006)やレタス(上月ら, 2006)などで報告されている、果肉や果皮、種子等に花粉親が影響を及ぼすメタキセニア現象が、ニホンナシにおいても発生した可能性も考えられるが、本実験においては、明確にすることはできなかった。この点については追加実験を行い調査する必要がある。

以上のように、*P. communis* L. および‘ラ・フランス’を用いた受粉によって、受粉時の低温による結実不良の軽減は可能である。しかし、なぜ種・品種

間で花粉の発芽可能温度が異なるのかは不明のままである。そこで、本研究において最も低温で発芽可能な *P. communis* L. と‘長十郎’を用いて、それらの品種間差異が何に起因しているのかを明らかにするために、まず発芽時の呼吸量に注目した実験を行った。これまでに、花粉の呼吸が酸化リソリン酸化反応に強く依存しており、ATP の利用と再合成に密に関連する (Dickinson, 1965) ことが報告されている。しかし、本研究では、花粉の発芽と呼吸量との間には一定の傾向なく、低温発芽性の品種間差異を説明するには至らなかった(第 3.3 図, 第 3.4 図)。次に、花粉細胞膜の脂肪酸組成に注目した。花粉の脂肪酸組成には、‘長十郎’および *P. communis* L. で大きく異なり、*P. communis* L. が‘長十郎’に比べ α -リノレン酸(18 : 3 n=3) の割合が高く (第 3.6 図)、高い不飽和度を示した(第 3.8 表)。植物は、低温順化の過程で糖、アミノ酸、タンパク質、なかでも生体膜を変化させ高い耐寒性を獲得している (Palta, 1990; Pike・Berry, 1980; 酒井, 1982; Wang ら, 1982)。特に、膜脂質の組成や構成脂肪酸を変動させ、低温下での膜の流動性を保持し、膜機能を維持していることが知られており、アルファアルファやコムギでは、冬季に膜の構成脂肪酸の不飽和度が上昇することが報告されている (Gerloff ら, 1966; Willemot, 1977)。以上のことから、‘長十郎’および *P. communis* L. の低温下での発芽率の違いは、花粉細胞膜の脂肪酸組成と関連性が高いものと考えられた。そこで、花粉の発芽時の吸水量に及ぼす温度の影響を調査したところ、‘長十郎’花粉では、処理温度によって異なり、25.0°C 区と比較して、発芽不良を起こす 12.5°C 区では有意に少なかった(第 3.5 図)。一方、*P. communis* L. 花粉の吸水量は、温度処理区間で差はなく、*P. communis* L. は、低温下での膜の流動性を保持していることを裏付ける結果が得られた。

本研究により、受粉時の低温遭遇時は、*P. communis* L.ないしは‘ラ・フランス’を受粉することにより結実不良の軽減が可能となった。しかし、受粉花粉の違いによる果実品質の差が生じる品種もあり、本調査以外の品種への受粉花粉として利用する際にはさらなる検討が必要である。

第6節 摘要

本研究では低温条件下での結実性向上を目的として、30種・品種のナシ属植物の花粉の中から、低温条件下においても発芽・伸長可能なものを選抜した。また、低温発芽性を有するセイヨウナシ花粉を用いて受粉試験を行い、結実率、果実生育および果実品質に及ぼす影響を調査した。ナシ属植物の花粉の温度感応性は、種・品種により大きく異なっていた。15.0℃以下の低温条件下での発芽率は、‘ラ・フランス’、‘ル・レクチェ’、*P. communis* L.等のセイヨウナシの花粉が優れていた。10.0℃の低温条件下での受粉試験において、*P. communis* L. および‘ラ・フランス’花粉を受粉した処理区の結実率は、‘長十郎’花粉を受粉した処理区を大きく上回った。‘幸水’、‘豊水’および‘ゴールド二十世紀’の成木を用いた受粉試験を行った。3品種共に‘ラ・フランス’および‘長十郎’花粉を受粉した処理区間に、果実の初期生育および果実品質の差はなかった。しかし、‘幸水’の*P. communis* L.受粉区において、‘長十郎’受粉区の果径より小さくなった。また、‘長十郎’および*P. communis* L.の低温下での発芽率の違いは、花粉細胞膜の脂肪酸組成と関連性が高いものと考えられた。

第4章 自家和合性ニホンナシ品種間の 自家結実性の差異と花柱組織との関係

第1節 緒言

‘おさ二十世紀’は、鳥取県で発見された‘二十世紀’の自家和合性突然変異体であり、自家受粉のみで安定した結実量が得られる（古田ら、1980）。近年、不和合性のメカニズム解明が進み、花粉管伸長阻害は雌蕊のRNA分解酵素（*S-RNase*）によるものであることが示された（Kowayamaら、1994; Leeら、1994; Murfettら、1994; Royoら、1994）。

さらに、‘おさ二十世紀’は、花柱部突然変異であり、 S_4 遺伝子に変異が生じたために $S_4-RNase$ の活性が非常に低いことにより自家和合性となったことも明らかにされている（Hiratsukaら、1987, 2001）。また、その形質は後代にも遺伝し、遺伝子型は S_4^{sm} （*sm*: stylar-part mutant）として表現され（町田ら、1985）、後代は $S_4^{sm}S_x$ の遺伝子型となり、 S_x 花粉以外を受け入れ、自家結実が可能となる。

先に述べたように、‘おさ二十世紀’の持つ S_4^{sm} 遺伝子を引き継いだ自家和合性の品種として‘秋栄’、‘秋甘泉’、‘夏そよか’、‘瑞秋’、‘新王’および‘新美月’などの品種や系統が育成されてきた。松本ら（2007）および田村ら（2012）は、 S_4^{sm} 遺伝子を有する自家和合性の品種および系統間には、自家結実性の差異が認められることを報告している。しかしながら、その原因については未だ明確になっていない。

これまでに、ウメやブドウを用いた研究（岡本ら、1989；八重垣

ら, 2002) では, 花粉の稔性や花柱内における花粉管伸長の良否などが結実に影響を及ぼすと指摘されている. さらに, 受精・結実に, 柱頭および花柱の老化といったことも関係(林・田辺, 1991; Herrero, 1992) していることが報告されている.

以上の知見を踏まえ, 本研究では, 自家和合性ニホンナシ品種の自家結実性の品種間差異ならびにその原因を明らかにするために, 自家結実性の強弱の要因を雌蕊側および花粉側の両面から検討を行い, いくつかの新しい知見が得られたので報告する.

第2節 自家和合性ニホンナシ品種の 自家結実性評価

ニホンナシの自家和合性に関与する S 遺伝子は多くの品種で明らかにされており, ‘二十世紀’の S 遺伝子型は S_2S_4 であることが示されている (Terami ら, 1946). また‘おさ二十世紀’は‘二十世紀’の雌ずい側の自家不和合性遺伝子 S_2S_4 のうち S_4 遺伝子に突然変異が生じ, S 遺伝子型が $S_2S_4^{sm}$ となった花柱部突然変異体 (stylar-part mutant) であり (Hiratsuka ら, 1987), 自家和合性を有する. そして近年この‘おさ二十世紀’を育種親として, 種々のニホンナシ自家和合性品種および系統が育成されてきている. また, それらの自家結実率は品種間および系統間で大きな差異が認められる (松本ら, 2007) ことが報告されている.

本節ではこの‘おさ二十世紀’を育種親として育成された‘秋栄’, ‘秋甘泉’, ‘夏そよか’ および‘新美月’の自家和合性品種の結実特性を明

らかにするため、人工受粉試験を行い、上記品種の自家結実性および単為結果性を調査した。

材料および方法

供試品種

鳥取大学農学部附属大塚農場に栽植されている‘秋栄’（交配親：‘おさ二十世紀’×‘幸水’）、鳥取県農林総合研究所園芸試験場に栽植されている‘秋甘泉’（交配親：‘おさ二十世紀’×‘豊水’）および‘夏そよか’（交配親：‘おさ二十世紀’×‘秀玉’）、新潟県農業総合研究所園芸研究センターに栽植されている‘新美月’（交配親：‘おさ二十世紀’×‘豊水’）を用いた（第 4.1 図）。

1. 自家結実性の品種間差異

供試品種間の自家結実性の差異を明らかにするために、2011、2012 および 2013 年に以下のようにして人工受粉ならびに花粉の遮断試験を行い、自家結実率を調査した。人工受粉後の気温は、鳥取県倉吉市および新潟県新潟市のアメダスデータを入手し記録した。

1) S 遺伝子型の同定

供試品種の幼葉を採取し、それぞれの葉からゲノム DNA を抽出した。DNA の抽出は Wagner ら、(1987) の方法を簡略化し、Bousquet ら、(1990) の方法を組み合わせて行った（第 4.2 図）。S 遺伝子型の同定は以下に示す 2 通りの方法で行った。

S_4^m 遺伝子の有無を確認するため、Okada ら (2008) の報告を基に

SM-F (5'-TCGTCTTAGGGAATTTCCAATGC-3') プライマーおよび SM-R(5'-GCCTTAAGGGTTCATTGGGC-3') プライマーを用いて PCR 反応を行った。PCR 反応は第 4.1 表, 第 4.2 表に示した条件で行った。PCR 反応後, 2% アガロースゲルを用いて電気泳動を行った。

次に, 各品種のゲノム DNA を用いて Ishimizu ら (1999) の方法により S-RNase 特異的プライマー FTQQYQ

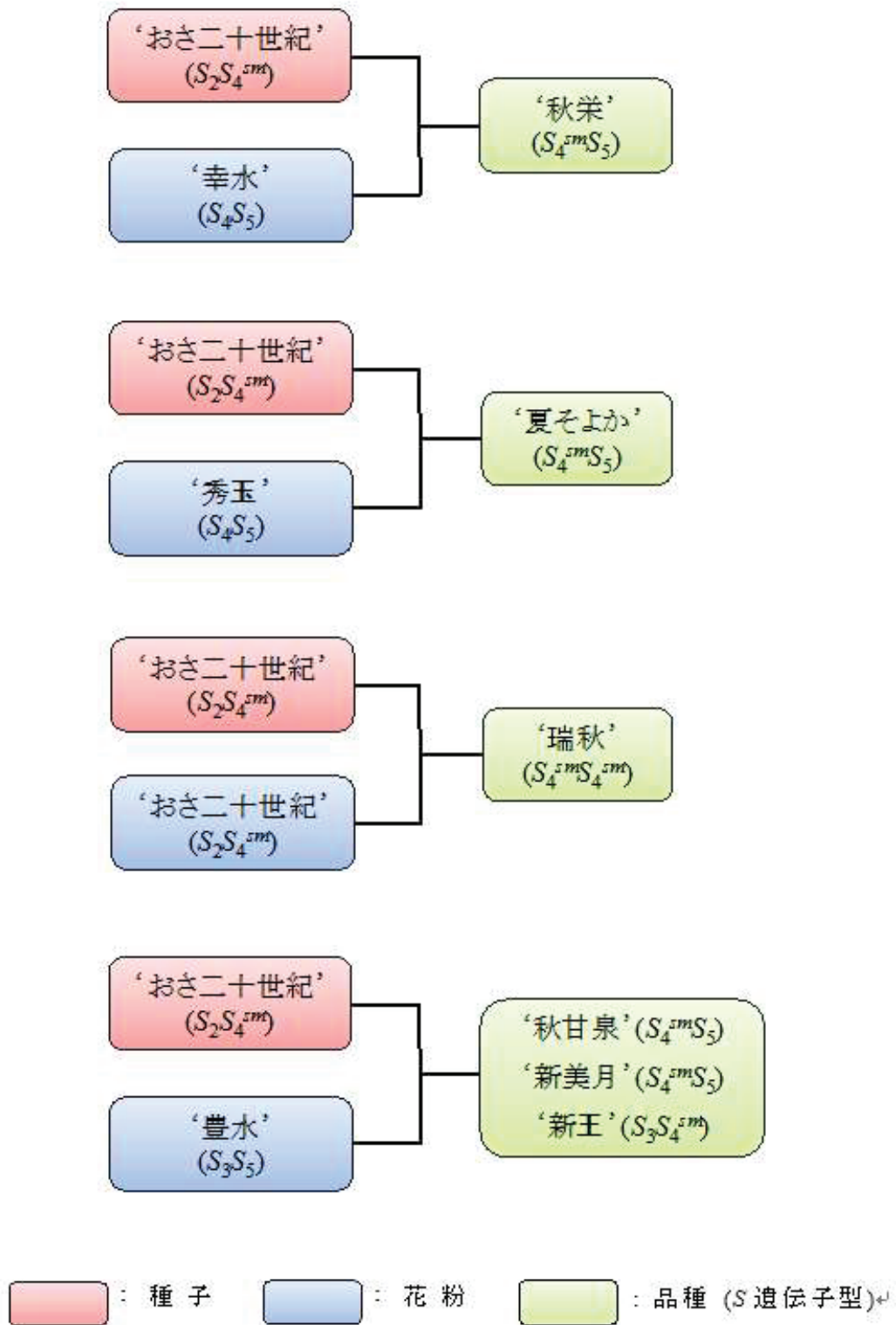
(5'-TTTACGCAGCAATATCAG-3') (Ishimizu ら, 1998), anti-IIWPNV (5'-ACA (G) TTCGGCCAAATAATT-3') (Norioka ら, 1998) を用いて PCR を行った。PCR 反応は第 4.3 表, 第 4.4 表, 第 4.5 表に示した条件で行った。次に PCR 反応液を第 4.6 表に示す制限酵素で 37°C で 2 時間処理した後, 2% アガロースゲルを用いて電気泳動を行った。

2) 自家結実性の調査 (2011, 2012 年)

2011 年には '秋栄' を除く 3 品種。2012 年には全供試品種を用い実験を行った。処理は, 開花期直前に果そうに果実袋 (白ふじ赤二重袋, 小林製袋産業 (株)) をかけ非自己花粉を遮断した花粉遮断区および果実袋をかけない自然交配区を設け, 処理 1 か月後の結実数を調査した。また, 処理開始日は, 2011 年: '秋栄' および '夏そよか' は 2011 年 4 月 13 日, '秋甘泉' は 2011 年 4 月 14 日, '新美月' は 2011 年 4 月 22 日, 2012 年: '秋栄' および '夏そよか' は 2012 年 4 月 9 日, '秋甘泉' は 2012 年 4 月 10 日, '新美月' は 2012 年 4 月 24 日とした。

3) 自家人工受粉による結実率の品種間比較 (2013 年)

試験区として自家純花粉を直接受粉する 1 倍区，石松子（(株) ミツワ）を用いて 10 倍希釈（体積比）した 10 倍区および石松子のみを受粉する石松子区を設け，各処理区 60 花そうを供試した．開花直前の短果枝を選んで 1 花そうに 4 小花を残して他の小花をピンセットで取り除き，残った小花を除雄した．直ちに上記の花粉を綿棒によって人工受粉し，非自己花粉の受粉を防ぐため速やかに果実袋を掛けた．人工受粉 1 週間後にこの果実袋を取り除き，結実率を受粉後 4 週目および 16 週目に調査した．受粉は‘秋栄’および‘夏そよか’は 2013 年 4 月 5 日，‘秋甘泉’は 2013 年 4 月 6 日，‘新美月’は 2013 年 4 月 23 日に行った．また，花粉の調節は，開花直前のバルーン期の花からピンセットで葯を採取してバット内に敷いた硫酸紙上に置き，直ちに内部の温度を 20.0°C ，湿度を約 35%に調整した恒温器に入れて開葯させた．開葯後は粗花粉を直ちにポリプロピレン製試験管に入れ，これに冷アセトンを加えて浮遊する葯などの花粉以外の組織をデカンテーションによって取り除いた．この操作を数回繰り返した後，アセトンを減圧下で揮発させ，得られた花粉を純花粉とした．純花粉は薬包紙に包み，シリカゲルを入れた密閉した容器内に入れ，実験に用いるまで-30°Cで保存した．



第 4.1 図 S 遺伝子型

- ① 試料（50mg）を液体窒素中で粉末化する。
- ② 50ml チューブに試料の 10 倍量の氷冷した IB を入れ，液体窒素で破砕した試料を加える。
- ③ 攪拌後，遠心分離（11,000rpm，10 分，4℃）を行い，上清を除く。（この操作により試料中の多糖類を排除する。）
- ④ 沈殿に，試料の 5 倍量の LB を加え，十分に攪拌した後，液量の 1/10 倍量の 10% sarcosine を加え，室温に 10 分間放置する。
- ⑤ 等量の 2×CTAB 液を加え，65℃で 10 分間インキュベートする。
- ⑥ 等量のクロロホルム液を加え，ゆっくり攪拌する。
- ⑦ 遠心分離（11,000rpm，10 分，室温）を行う。
- ⑧ 水層を取り，等量のイソプロパノールを加え，核酸を沈殿させる。
- ⑨ 遠心分離（6,000rpm，5 分，4℃）を行い，沈殿を回収する。
- ⑩ 沈殿を軽く風乾させた後，500μl の TE に溶解させる。
- ⑪ 等量の TE 飽和フェノール（pH 8.0）を加えて攪拌する。
- ⑫ 遠心分離（11,000rpm，10 分，室温）を行う。
- ⑬ 水層を取り，フェノール／クロロホルム（1:1）を加えて攪拌し，⑫の操作を繰り返す。
- ⑭ ⑧，⑨の操作を再度行い，70%エタノールを加えて洗浄し，11,000rpm,5 分間の遠心により回収する。
- ⑮ 沈殿を真空乾燥させた後，TE に溶解させる。
- ⑯ RNase（10mg/ml）を 3μl 加えて，37℃で 30 分間処理し，4℃で保存した。

第 4.2 図 DNA の抽出方法

第 4.1 表 DNA の抽出方法

・ Isolation buffer (IB)

10%	polyethylene glycol (分子量:6000)
0.35M	sorbitol
0.1M	Tris-HCL (pH8.0)
0.5%	spermidine
0.5%	spermine
0.5%	β -mercaptoethanol

・ Lysis buffer (LB)

0.35M	sorbitol
0.1M	Tris-HCL (pH8.0)
0.5%	spermidine
0.5%	spermine
0.5%	β -mercaptoethanol

・ 10%L-sarcosine

・ 2×CTAB solution

2%	cetyltrimethylammonium bromide (CTAB)
0.1M	Tris-HCL (pH9.5)
20mM	EDTA
1.4M	NaCl
0.5%	β -mercaptoethanol

・ TEバッファー

10mM	Tris-HCL (pH9.5)
1mM	EDTA

・ クロロホルム液 (クロロホルム:イソアミルアルコール=24:1)

第 4.2 表 PCR 反応液の組成

試薬等	量(μl)
滅菌水	13.5
10×PCR Buffer	2
dNTP Mix	1.6
TaKaRa Taq™ (5units/μl)	0.1
Primer (SM-F)	0.4
Primer (SM-R)	0.4
template (> 500ng)	2
total	20

第 4.3 表 PCR 条件

温度	時間	
94°C	2分	
94°C	30秒	
55°C	30秒	} ×35
72°C	1分	
72°C	10分	

第 4.4 表 PCR 反応液の組成

試薬等	量(μl)
滅菌水	13.5
10×PCR Buffer	2
dNTP Mix	1.6
TaKaRa Taq™ (5units/μl)	0.1
Primer 50mM (FTQQYQ)	0.4
Primer 50mM (anti-IIWPNV)	0.4
template (> 500ng)	2
total	20

第 4.5 表 PCR 条件

温度	時間	
94°C	2分	
94°C	15秒	} ×10
48°C	30秒	
70°C	2分	
94°C	15秒	} ×30
48°C	30秒	
70°C	2分30秒	
70°C	7分	

第 4.6 表 使用した制限酵素

制限酵素	特徴
<i>Ppu</i> MI	: S_3 , S_5 -Rnase を特異的に切断する
<i>Nde</i> I	: S_4 -Rnase を特異的に切断する
<i>Alw</i> NI	: S_5 -Rnase を特異的に切断する

結果

1. 自家結実性の品種間差異

1) 受粉後の日最高気温および日最低気温 (2011, 2012, 2013 年)

受粉後 3 日間の日最高気温は、いずれの年も処理や受粉時には 16°C を超えていた。(第 4.7 表)

2) S 遺伝子型の同定

遺伝子分析によって全供試品種の S 遺伝子型は $S_4^{sm}S_5$ と同定された。

3) 自家結実性の調査 (2011, 2012 年)

花粉遮断区の結実率は、品種間で異なり 2011 年には‘秋甘泉’および‘新美月’が明らかに高く、‘夏そよか’では低かった(第 4.8 表)。2012 年には、‘秋栄’、‘秋甘泉’および‘新美月’が高い値を示したのに対し、‘夏そよか’の結実率は有意に低く 3.2% であった。また、自然交配区の結実率は、花粉遮断区の結果同様、‘夏そよか’が両年ともに最も低い結実率を示した。

4) 自家人工受粉による結実率の品種間比較 (2013 年)

受粉後 4 週目の結実率は、品種間で大きく異なった。1 倍区の自家結実率は‘秋甘泉’は 62.5%、‘新美月’は 60.2%、‘秋栄’は 46%と高い値を示した (第 4.9 表)。一方、‘夏そよか’の結実率は有意に低く 11.6%であった。次に、花粉希釈倍率 10 倍区についてみると‘秋甘泉’および‘新美月’の自家結実率は‘秋栄’、‘夏そよか’に比べ有意に高かった。人工受粉 16 週後の結実率は、全品種とも 4 週目に比べ低下したが、1 倍区の結実率は‘秋甘泉’で 52.1%、‘新美月’では、60.2%と高い値を保っていた。これらと比べ、‘秋栄’および‘夏そよか’は著しく結実率が低下した。

第 4.7 表 開花期の最高，最低および平均気温（2011，2012，
2013 年）

調査地	2011 ^z				2012 ^y				2013 ^x			
	月/日	最高	最低	平均	月/日	最高	最低	平均	月/日	最高	最低	平均
鳥取	4/13	16.4	5.3	11.2	4/9	20.6	9.1	15.0	4/5	18.3	4.3	12.4
	4/14	17.8	4.8	11.9	4/10	23.0	10.2	16.7	4/6	18.9	11.9	15.6
	4/15	20.0	7.0	14.3	4/11	18.1	12.3	14.8	4/7	15.2	5.6	8.1
	4/16	18.7	3.1	10.7	4/12	15.4	9.1	12.3	4/8	14.2	4.8	9.6
新潟	4/22	17.9	9.2	14.1	4/24	17.7	10.5	13.5	4/23	16.0	3.7	10.5
	4/23	17.7	9.0	13.9	4/25	19.3	9.8	14.1	4/24	17.5	10.2	13.8
	4/24	15.3	7.7	11.0	4/26	24.1	13.3	18.3	4/25	17.9	9.9	13.7

^z2011 年の花粉遮断開始日は‘秋栄’および‘夏そよか’は 4/13，‘秋甘泉’は 4/14，‘新美月’は 4/22

^y2012 年の花粉遮断開始日は‘秋栄’および‘夏そよか’は 4/9，‘秋甘泉’は 4/10，‘新美月’は 4/24

^x2013 年の受粉日は‘秋栄’および‘夏そよか’は 4/5，‘秋甘泉’は 4/6，‘新美月’は 4/23

^w鳥取県倉吉市のアメダスデータを用いた

^v新潟県新潟市のアメダスデータを用いた

第 4.8 表 自家和合性の品種の花粉遮断および自然交配による受粉
4 週後の結実率の品種間差異

調査年	処理区	結実率 (%)			
		秋栄	秋甘泉	夏そよか	新美月
2011	花粉遮断 ^z	-	41.9 a ^y	0.0 b	64.4 a
	自然交配	-	75.6 a	42.2 b	61.0 a
	t 検定 ^x	-	**	**	n.s.
2012	花粉遮断	40.2 a	48.2 a	3.2 b	62.1 a
	自然交配	69.5 a	79.8 a	38.5 b	65.1 a
	t 検定	**	**	**	n.s.

^z 花粉遮断：開花前に果実袋をかけ，他家花粉を遮断した。

自然交配：無処理区

^y 同行内の異なる小文字は χ^2 検定において 5% 水準で有意差あり

^x t 検定により，**は 5% 水準で有意差あり，n.s は有意差なしを示す

第 4.9 表 自家花粉の人工受粉による結実率の品種間差異(2013 年)

調査日	花粉希釈 倍率 ^z	結実率 (%)			
		秋栄	秋甘泉	夏そよか	新美月
受粉後 4週目	1倍	46.0 a ^y	62.5 a	11.6 b	60.2 a
	10倍	20.8 b	41.1 ab	1.0 c	64.3 a
	t 検定 ^x	**	n.s.	n.s.	n.s.
受粉後 16週目	1倍	13.7 b	52.1 a	0.0 b	50.0 a
	10倍	0.2 b	29.2 a	0.0 b	36.7 a
	t 検定	n.s.	**	n.s.	n.s.

^z1 倍；純花粉を受粉，10 倍；純花粉を 10 倍希釈（体積比）したものを受粉

^y同列内の異なる小文字は χ^2 検定において 5%水準で有意差あり

^xt 検定により，**は 5%水準で有意差あり，n.s は有意差なしを示す

第3節 自家結実性の品種間差異の原因解明

前節において，‘おさ二十世紀’の持つ S_4^{sm} 遺伝子を引き継いだ自家和合性の品種として‘秋栄’，‘秋甘泉’，‘夏そよか’および‘新美月’の自家結実性を明らかにした．松本ら（2007）および田村ら（2012）は， S_4^{sm} 遺伝子を有する自家和合性の品種および系統間には，自家結実性の差異が認められることを報告しており，同様の傾向が得られた．

これまでに，ウメやブドウを用いた研究（岡本ら，1989；八重垣ら，2002）では，花粉の稔性や花柱内における花粉管伸長の良否などが結実に影響を及ぼすと指摘されている．さらに，受精・結実に，柱頭および花柱の老化といったことも関係（林・田辺，1991；Herrero，1992）していることが報告されている．

そこで本節では，自家和合性ニホンナシ品種の自家結実性の品種間差異の原因を明らかにするために，自家結実性の強弱の要因を雌蕊側および花粉側の両面から検討を行い，いくつかの新しい知見が得られたので報告する．

材料および方法

1) 柱頭の花粉付着量

柱頭の花粉付着量に品種間差異があるのかどうかを調べるため，2012年に開花期直前に花そうに果実袋をかける花粉遮断区および果実袋を掛けない自然交配区を設けて調査を行った．調査は小花単位で行い，それぞれの小花が開花した翌日の正午頃雌しべを採取した．柱頭をコットンブルーで染色した後，直ちにデジタルマイクロスコ

ープ（VH-5500，（株）キーエンス）を用いて柱頭をほぼ真上から撮影した（第 4.3 図）。得られた画像を用いて柱頭に付着している花粉粒数を調査した。

2) 花粉発芽の温度感応性

2013 年の開花直前に各品種のバルーン期の花を採取し，1 と同様の方法により純花粉を調整，保存し，以下の様にして発芽率を調査した．花粉を，シャーレに入れたショ糖寒天培地（1%寒天，1 mM ホウ酸，10%ショ糖）に均等に置床してふたを閉め，内部を 10℃，12.5℃，15.0℃，17.5℃，20.0℃，22.5℃，25.0℃，27.5℃，30.0℃，32.5℃および 35.0℃に設定したインキュベータ（FLI-301N，（株）東京理化工機）に入れて 5 時間培養した後，コットンブルーで染色した．光学顕微鏡（OPTIPHOTO，（株）ニコン）で各温度区 3 枚のシャーレを用いて，それぞれから培地上の 9 か所を無作為に選んで，一視野当たり 80～100 粒の花粉を観察し，合計約 900 粒の花粉の発芽率を調査した．発芽花粉は，花粉管が花粉粒直径以上に伸長したものとした．

3) 相互受粉試験

自家結実率の品種間差異が，花粉側にあるのか，雌蕊側にあるのかを明らかにするため，以下のようにして供試品種の相互人工受粉を行ない，結実率を調査した（第 4.4 図）。

実験には，‘秋栄’，‘秋甘泉’および‘夏そよか’の 3 品種を雌蕊品種として用いた 2013 年の開花直前の短果枝を選び，除雄した．これら

にあらかじめ調整した‘秋栄’，‘秋甘泉’，‘夏そよか’および‘新美月’の純花粉をそれぞれ人工受粉し，直ちに果実袋を掛けた．人工受粉後 1 週目に除袋し，結実率を各品種の受粉後 4 週目および 16 週目に調査した．

4) 花柱内の花粉管の伸長ならびに花柱誘導組織の形態的变化

2013 年に，除雄した開花期直前の花に，調整した自己花粉を人工受粉して果実袋を掛けた．受粉 0，72 時間後に雌蕊を採取し，直ちに FAA 液（70%エタノール：酢酸：ホルマリン= 90：5：5，v/v）で固定した．花柱誘導組織の形態的観察を行うために，固定した雌蕊をエタノールシリーズで脱水後，Technovit7100 樹脂に包埋し，ミクロトームを用いて花柱の上部，中部，基部からそれぞれ厚さ 2 μm の切片を作製した．

（1）花柱内の花粉管数測定

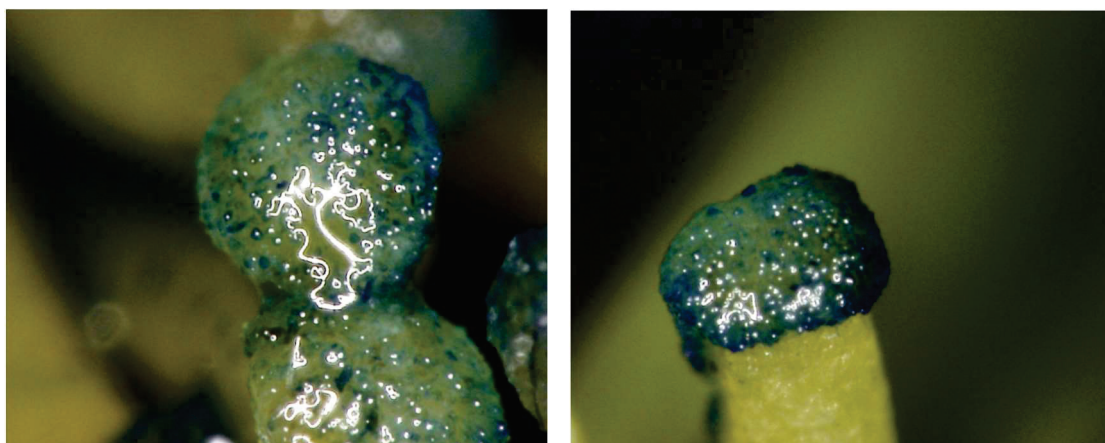
2% K_3PO_4 溶液および 0.1% アニリンブルー（溶媒：2% K_3PO_4 ）で約 1 時間染色し，プレパラートを作製した．

その後，蛍光顕微鏡（BZ-9000，（株）キーエンス）下で観察し，花柱の上部，中部，基部に到達した花粉管数をそれぞれ測定した．

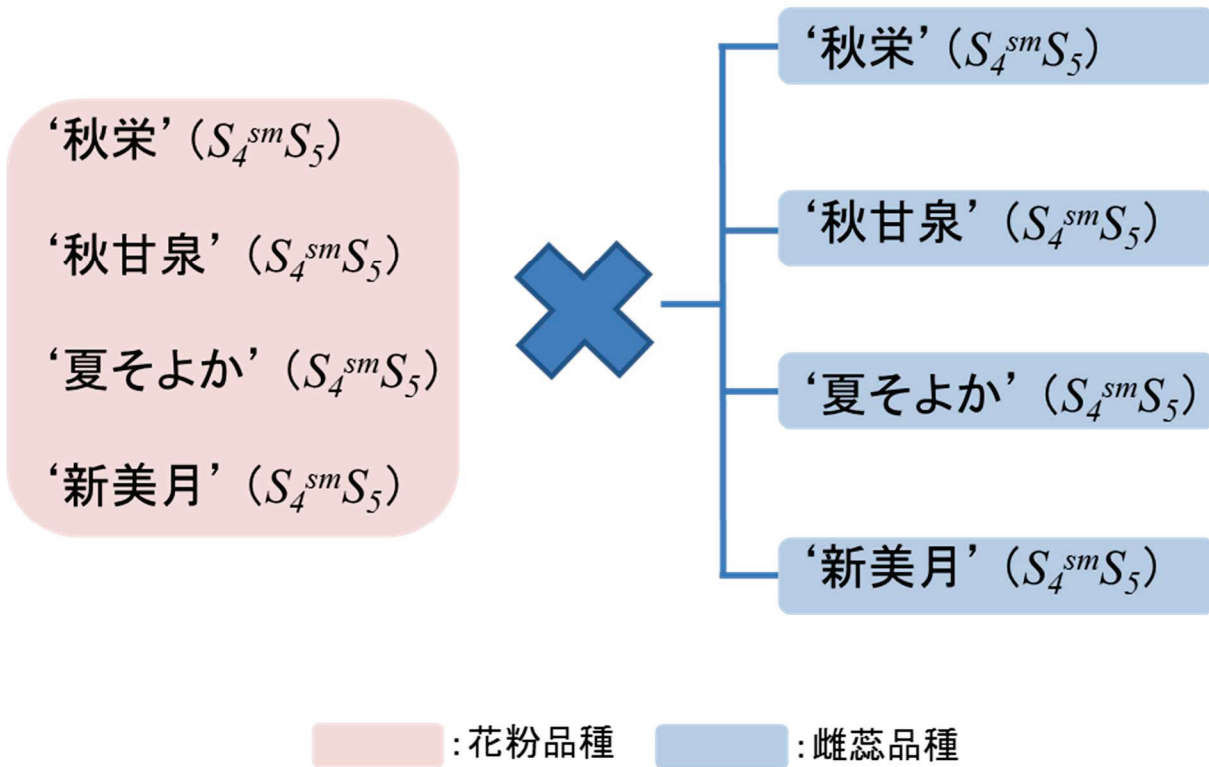
（2）花柱誘導組織の形態的变化

花柱組織の観察は 0.03% トルイジンブルーで約 10 秒間染色した後，蒸留水を流しかけ洗浄し，十分に乾燥させ，オイキット液で封入した．作製したプレパラートは，光学顕微鏡下で花柱の上部，中部および基部の花柱誘導組織形態を観察した．花柱誘導組織の崩壊度合を数値化するために，4 段階の基準を設けた（第 1 図）．組織の崩壊

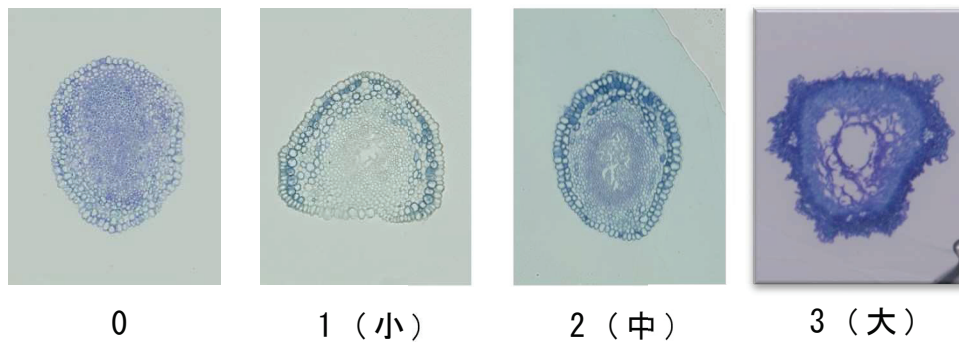
が認められない状態の花柱を 0 として, 1 (崩壊の程度: 小), 2 (崩壊の程度: 中), 3 (崩壊の程度: 大) とし, 崩壊度合を決定した. 各処理区それぞれ 9 本の花柱を調査し崩壊度合の平均を求めた.



第 4.3 図 ‘新美月’の柱頭 (左: 花粉遮断区, 右: 自然交配区)



第 4.4 図 相互受粉の交配組み合わせ



崩壊度合^z

第 4.5 図 花柱組織の崩壊度合の基準

^z崩壊度合：組織の崩壊が認められない状態の花柱を 0 として，1（崩壊の程度：小），2（崩壊の程度：中），3（崩壊の程度：大）とした。

結果

1) 柱頭の花粉粒付着量

いずれの品種とも，花粉遮断区と自然交配区との間には柱頭への花粉付着粒数の有意な差はみられなかった（第 4.10 表）．しかし，花粉遮断区および自然交配区とも，品種間には差がみられ，いずれも‘新美月’が，他の 3 品種より有意に高い値を示した．一方，両区とも‘秋甘泉’，‘夏そよか’ならびに‘秋栄’の間には花粉付着粒数の差はみられなかった．

2) 花粉発芽の温度感応性

10.0～15.0℃処理区における発芽率は全供試品種とも低く，処理温度が高くなるにつれ発芽率は上昇した（第 4.6 図）．これらの中で‘秋甘泉’および‘夏そよか’はいずれの温度区ともほぼ同程度の発芽率であり，‘新美月’は 17.5℃以下の温度域でやや他品種より発芽率が高く，‘秋栄’は概ね全温度域で若干発芽率が低かった．

3) 相互受粉試験

人工受粉 4 週間後の結実率は，雌蕊側品種間に差が認められ，いずれの品種を受粉した場合とも‘夏そよか’は‘秋甘泉’および‘秋栄’より低い結実率であった（第 4.11 表）．‘秋甘泉’および‘秋栄’においては，受粉した花粉品種間には有意な差はなく，前者は 53.4～75.9%の，後者は 46.0～63.5%の結実率であった．これらに対して‘夏そよか’は花粉品種間に結実率の差があったものの，7.0～30.6%と他品種より低い値を示した．次に，人工受粉 16 週後の結実率は，全品種 4 週目に

比べ低下し，特に，‘秋栄’の結実率は，8.2～13.7%，‘夏そよか’は，0.0～0.1%と著しく低下した．

4) 受粉に伴う花柱内の花粉管の伸長ならびに花柱誘導組織の形態的变化

(1) 花柱内の花粉管数

自家受粉 72 時間後の柱頭各部位における花粉管到達本数は，全品種とも花柱の上部，中部，基部の順に少なくなった（第 4.12 表）．また，高い結実率を示した‘秋甘泉’および‘新美月’の花粉到達本数は，‘秋栄’および‘夏そよか’より有意に多かった．

(2) 花柱誘導組織の形態的变化

自家受粉 0 時間後の花柱の横断切片を観察したところ，形態的な品種間差異は観察されなかった（データ省略）．一方，72 時間後についてみると，‘秋栄’および‘夏そよか’は，花柱の上部および中部において，花柱中心部の細胞の配列が崩壊し，空洞化していることが観察され，特に‘夏そよか’では，崩壊程度 3 を示す個体がほとんどであった（第 4.7 図，第 4.8 図）．一方，‘秋甘泉’および‘新美月’に関しては，いずれも崩壊程度 0 であり，花柱各部位ともに花柱中心部まで細胞が密に配列しており細胞の崩壊は確認できなかった．

第 4.10 表 自家和合性の品種の開花翌日正午の柱頭への花粉粒付着数

処理区	花粉付着数(粒)			
	秋栄	秋甘泉	夏そよか	新美月
花粉遮断 ^z	48 b ^w	34 b	53 b	139 a
自然交配 ^y	39 b	42 b	42 b	107 a
t 検定 ^x	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

^z 開花前に果実袋を掛け，他家花粉を遮断する

^y 自然交配が可能な状態

^x t 検定により，n.s は有意差なしを示す

^w Tukey の多重検定により同行の異文字間に 5% 水準で有意差あり

第 4.11 表 自家和合性の品種を用いた相互人工受粉が結実率に及ぼす影響

調査日	花粉側品種	雌蕊側品種		
		結実率(%)		
		秋栄	秋甘泉	夏そよか
受粉後 4週目	秋栄	46.0 a ^z B ^y	75.9 a A	16.7 ab C
	秋甘泉	63.5 a A	62.5 a A	30.6 a B
	夏そよか	48.4 a A	53.4 a A	11.6 ab B
	新美月	52.9 a A	53.8 a A	7.0 bc B
受粉後 16週目	秋栄	13.7 a B	57.2 a A	0.0 a B
	秋甘泉	12.4 a B	52.1 a A	0.1 a B
	夏そよか	8.2 a B	39.0 a A	0.0 a B
	新美月	12.3 a B	42.2 a A	0.0 a B

^z 同一調査日における異なる小文字は同列内で χ^2 検定において 5% 水準で有意差あり

^y 同行内で異なる大文字は χ^2 検定において 5% 水準で有意差あり

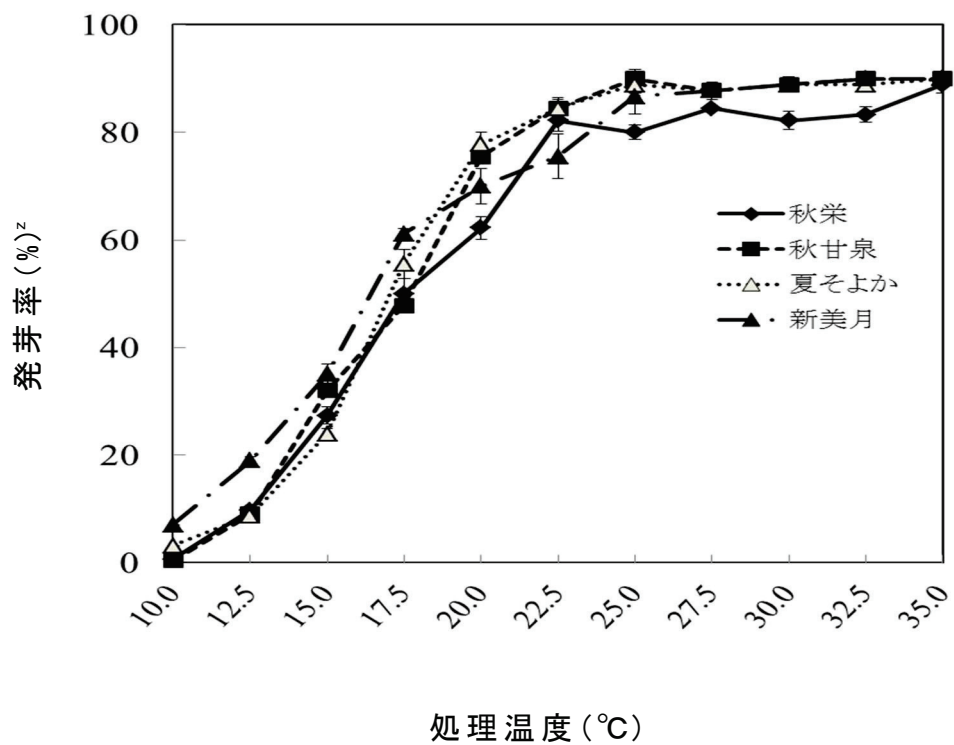
第 4.12 表 自家受粉による花柱各部位における受粉 72 時間後の
花粉管到達本数の品種間差異

花粉希釈 倍率 ^z	花柱	花粉管数(本)			
		秋栄	秋甘泉	夏そよか	新美月
1倍	上部	5.8 b ^y A ^x	12.3 aA	1.8 cA	10.2 aA
	中部	3.5 bAB	6.2 aB	2.1 bA	8.2 aA
	基部	1.9 bB	5.5 aB	1.1 bA	8.8 aA
10倍	上部	0.2 bA	3.8 aA	0.0 bA	6.4 aA
	中部	0.1 bA	3.5 aA	0.0 bA	4.5 aAB
	基部	0.0 bA	4.5 aA	0.0 bA	4.2 aB

^z1 倍；純花粉を受粉，10 倍；純花粉を 10 倍希釈（体積比）したものを受粉

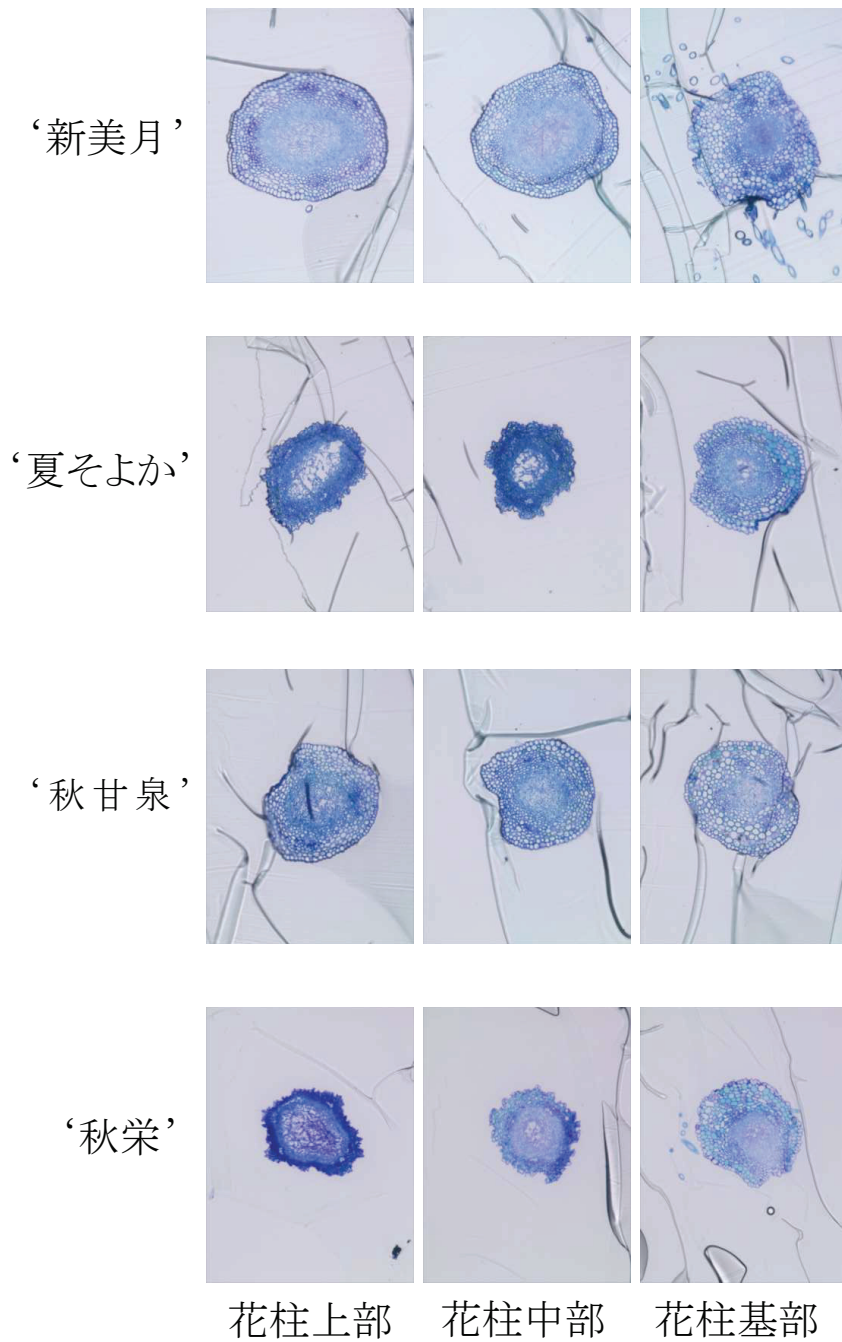
^y異なる小文字は同行内で Tukey の多重検定により 5%水準で有意差あり

^x同一希釈倍率における異なる大文字は同列内で Tukey の多重検定により 5%水準で有意差あり

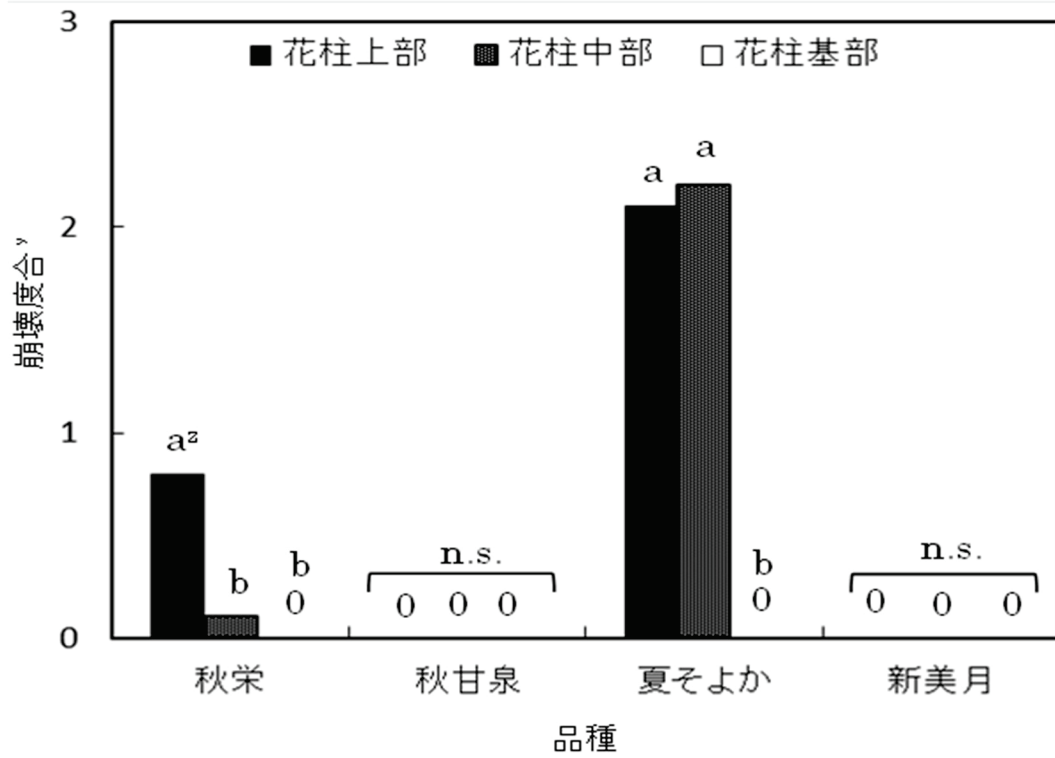


第 4.6 図 ニホンナシ‘秋栄’, ‘秋甘泉’, ‘夏そよか’および
 ‘新美月’の花粉発芽の温度感応性

²発芽率は、寒天培地置床 5 時間後に調査



第 4.7 図 自家受粉 72 時間後の花柱誘導組織の形態



第 4.8 図 受粉 72 時間後の花柱誘導組織の崩壊度合

^z 異なる小文字は Tukey 法で 5%水準で有意差あり,
n.s.は有意差無し

^y 第 1 図花柱組織の崩壊度合の基準を参照

第 4 節 考 察

本章では，自家和合性ニホンナシ品種の自家結実性の品種間差異ならびにその原因を明らかにすることを目的とし，同一の S 遺伝子型 ($S_4^m S_5$) を持つ ‘秋栄’，‘秋甘泉’，‘夏そよか’および‘新美月’を用いて実験を行った．まず，花粉遮断区の結実率から 4 品種の自家結実性を明らかにした．花粉遮断区の結実率は，松本ら (2007)，田村ら (2012) の報告と同様， S_4^m 遺伝子を有する 4 品種間で自家結実性の差異が認められた．加えて，その自家結実性の品種間差異は同一 S 遺伝子型 ($S_4^m S_5$) の品種であっても生じることが示された (第 4.8 表)．また，本研究の調査品種の中でも‘夏そよか’は，自家結実性の低い品種であることが明らかとなった．そこで，自家結実性のより詳細な調査を行うために，自己花粉を人工受粉し，受粉後 4 週目および 16 週目の結実率を調査した．受粉後 4 週目の結実率から，各品種の自家結実性は，品種間で大きく異なり，‘夏そよか’が弱く，‘新美月’および‘秋甘泉’が強く，‘秋栄’がその中間であることが示された (第 4.9 表)．以上のように，自家和合性の有無は， S_4^m 遺伝子を有する自家和合性ニホンナシ品種においても，著しく自家結実性の低い品種があることが明らかとなった．

これまでに，松本ら (2007) は自家和合性ニホンナシ品種および系統を用いた自家結実性の調査の結果から，自家和合性品種においても結実確保のためには柱頭への十分な花粉の付着が必要であると推察しているが，本研究では自家和合性ニホンナシ品種の自家結実性の強弱と柱頭への花粉付着量との間に関係はみられなかった (第

4.10 表). また, 全品種, 花粉の温度感応性はほぼ同程度であり (第 4.6 図), 全調査年度の受粉後の日中の気温を調べたところ, 日最高気温が 16℃以上ある日が大半であり (第 4.7 表), 花粉発芽が可能な温度であった. さらに, 自家結実性と花粉との関係を明確にするために, これらの品種の相互受粉を行ったところ, 若干ではあるが‘夏そよか’花粉の受粉による結実率の低下ならびに‘秋甘泉’花粉の受粉による結実率の上昇が観察され, 花粉の稔性に何らかの違いがあるかもしれない. しかし, 受粉花粉の違いによる差以上に, 雌蕊側品種間の結実率の差が大きく, また, 自家結実特性と類似した傾向を示したことから, 自家結実性の品種間差異の要因は雌蕊側に存在することが示唆された (第 4.11 表).

そこで, 受粉に伴う花柱内の花粉管数を測定した結果, 自家結実性の強い‘秋甘泉’および‘新美月’には, 花柱基部で 5 本以上の花粉管が観察でき, 自家結実性の弱い‘秋栄’および‘夏そよか’では花柱基部に到達した花粉管の本数が他の 2 品種より有意に少なかった (第 4.12 表). これまでに, ウメ (八重垣ら, 2002) やブドウ (岡本ら, 1989) など多くの果樹で花粉の稔性, 花柱内における花粉管伸長の良否などが結実に影響を及ぼすことが指摘されており, 自家和合性の品種においても, 花粉管の差により結実率の差が生じることが明らかといえる. また, 受精・結実に, 柱頭および花柱の老化といったことも関係していることが報告されている (林・田辺, 1991; Herrero, 1992). 本研究でも, 品種間で大きな花柱誘導組織の形態的差異が認められた (第 4.7 図, 第 4.8 図). このことから, ‘秋栄’および‘夏そよか’に関しては花柱誘導組織の崩壊の速さに起因する受精能力保持期間の

短さが自家結実率の低さの一因となっているのではないかと考えられた。しかし、本研究では、受粉後 4 週目から 16 週目までの結実率の著しい低下の原因を明らかにすることはできなかったが、林・田辺（1991）は、受精して発育する種子数と果実成長との関係性を示しており、受精後の種子成長が自家和合性品種の自家結実特性と何らかの関係性があるのかもしれない。この点に関しては今後検討する必要がある。

以上のことをまとめると、自家和合性ニホンナシ品種の結実性は品種ごとに異なっており、自家結実性の強い品種は‘秋甘泉’および‘新美月’であり、弱い品種は‘秋栄’、最も弱い品種は‘夏そよか’であるといえる。自家結実率の低い‘秋栄’および‘夏そよか’の受粉後 4 週目までの結実率の低下は、雌蕊側に原因が存在しており、とくに花柱誘導組織の崩壊が生じやすいことが関係していると推察された。

第 5 節 摘要

‘おさ二十世紀’の後代である自家和合性ニホンナシ品種‘秋栄’，‘秋甘泉’，‘夏そよか’および‘新美月’の自家結実性を 3 年間にわたり受粉 4 週後および 16 週後に調査した。その結果、受粉 4 週後の自家結実率は品種間で大きく異なり、‘秋栄’と‘夏そよか’で低かった。特に、‘夏そよか’は著しく低かった。また、受粉 4 週後から 16 週後まで‘秋栄’および‘夏そよか’の結実率はさらに低下した。品種間の相互受粉による結実率は雌蕊側品種の自家結実性と同様の傾向をしめした。自家結実性の差の原因を明らかにする

ために、受粉 72 時間後の花柱組織の形態観察を行った。‘秋栄’および‘夏そよか’の花柱中心部の細胞の配列が崩壊し、空洞化が観察され崩壊程度 3 であった。このことから、‘秋栄’および‘夏そよか’に関しては花柱誘導組織の崩壊の速さに起因する受精能力保持期間の短さが自家結実率の低さの一因となっているのではないかと考えられた。

第5章 総括

総合考察

地球温暖化は人類の生活を脅かすとともに、その対策が急務となっている重大な環境問題である。気候変動に関する政府間パネル（IPCC）の第3次評価報告書（IPCC, 2001）は、大気中の温室効果ガス濃度の上昇によって年平均地上温度が1990年と比較して2100年には1.4℃～5.8℃上昇すると予測している。それに伴い、わが国の農業生産も顕著な影響を受ける可能性があるが、とくに果樹生産については、今世紀半ばまでにリンゴおよびウンシュウミカンの大規模な産地移動が指摘されるなど（杉浦・横沢, 2004）、甚大な影響が予測される。また、全国の果樹関係公立試験研究機関に対して調査を行ったところ、すべての都道府県が、温暖化の影響について何らかの指摘をし、ほとんどの樹種に及んでいた（杉浦ら, 2007）。ニホンナシにおいても開花期や収穫期の有意な前進が報告されている（本條ら, 2002；伊藤・市ノ木山, 2005）ほか、温暖化に伴う気温上昇によって自発休眠完了時期の遅延や開花日の前進がおこり、さらに進行すれば芽の枯死、発芽不良など樹体の生育障害が顕著になり栽培が困難になると考えられる。

また、九州や四国の南部に位置する西南暖地では、自発休眠打破に必要な低温積算量の不足による発芽不良が既に発生しており、人工的に休眠を打破させる薬剤などの処理が必須となっている。そこで、ニホンナシ主要品種の自発休眠打破技術の開発のため、他の樹

種において有効であるシアナミド処理を行い、芽の自発休眠打破ならびに春季の芽の生育に及ぼす影響について調査した。その結果、主要品種へのシアナミド処理は、自発休眠を打破することが可能であるが、田村ら（1999）が示したように、効果的な処理時期は低温要求量の異なる4品種で大きく異なった。また、開花期に関しては、CU.600程度の時期に処理をすることで、どの調査品種においても開花を促進させた。

しかし、シアナミド処理による開花期の前進は、受粉時の低温に遭遇するリスクも伴い、結実の不良も懸念されている。また、一般に受粉樹の開花期は主要品種よりやや早い方が有利であるとされているが（山根，1972）、シアナミド処理により栽培品種の開花が早まることで花粉の調達が困難になる。そのため、シアナミドを用いた自発休眠打破技術を確立するには、以下の2つの問題を解決する必要がある。その1つ目は、『花粉を早期調達する技術』であり、2つ目は、『早期に開花した場合であっても結実を安定させる技術』といえる。

1つ目として取り上げた『花粉を早期調達する技術』を確立するため、本研究では受粉樹へのシアナミド処理を行い、栽培品種同様春先の生育に及ぼす影響を調査した。また、受粉樹への利用を目的として、花粉の発芽率も調査した。栽培品種へ行った処理時期および処理方法を参考として、CU.600に1.0%シアナミド溶液を散布処理した結果、受粉樹用品種においても開花期を促進することは明らかであった。また、シアナミド処理区の花粉末発芽率は、‘新興’、‘今村秋’では無処理区と差はなかったが、特に開花期の早い‘鴨梨’へ

の処理では，無処理区と比べ発芽率が低下する傾向にあった．これまでに，‘鴨梨’に関しては，開花が早く，四分子期に到達するのも早いために低温の害を受けやすく，花粉の発芽率が著しく低下する（林・田辺，1991）ことが報告されている．そこで，花粉の発芽率の低下の理由を明らかにするために，花粉の四分子期に及ぼすシアナミド処理の影響を調査したところ，やはり，花粉の四分子期が大幅に前進しており，林・田辺（1991）の報告と似た結果が得られた．以上のことから，受粉樹へのシアナミド処理は，開花期を促進することは可能であるが，‘鴨梨’のような四分子期の早い品種への処理は，花粉の発芽率を低下させる可能性があるため使用方法についてはさらに検討する必要がある．これまでに，‘ゴールド二十世紀’への2月下旬のシアナミド処理の効果として，1～2日の開花促進効果が報告されている（黒木ら，2009）ことから，この時期の受粉樹への処理を検討する必要があると考えられる．さらに，この時期の処理であれば，3月上旬に四分子期を迎える鳥取県においては，前述したような大幅な四分子期の前進を防ぐことも可能であると推察される．また，花粉の発芽時の温度感応性は興味深く，‘長十郎’，‘鴨梨’，‘新興’，‘今村秋’の花粉の発芽率は，15.0℃以下で著しく発芽率が低下することが明らかとなった．そのため，受粉期が15.0℃以下の低温に遭遇すると花粉の発芽率が低下し，結果として結実不良の可能性が高まると予測される．

そこで，2つ目の『早期に開花した場合であっても結実を安定させる技術』を確立するため，15.0℃以下においても発芽可能な種・品種の探索を行った．その結果，セイヨウナシの *P. communis* L., ‘ラ・フ

ランス’ および ‘ル・レクチェ’ は、12.5℃以下の温度であっても発芽が可能であり、優良な種・品種の選抜に成功した。

これに加え、本研究では低温発芽性の機構解明を目的とし、最も低温で発芽可能な *P. communis* L. と ‘長十郎’ を用いて、低温条件下での発芽率の差が何に起因しているのかを明らかにするために実験を行った。これまでに、花粉の呼吸が酸化的リン酸化反応に強く依存しており、ATPの利用と再合成に密に関連する (Dickinson, 1965) ことが報告されているが、本研究においては、花粉の発芽と呼吸量との間には一定の傾向なく、低温発芽性の品種間差異を説明するには至らなかった。

一方、植物においては、生体膜を変化させ高い耐寒性を獲得している (Palta, 1990; Pike・Berry, 1980; 酒井, 1982; Wang ら, 1982) ことが報告されている。また、膜脂質の組成や構成脂肪酸を変動させ、低温下での膜の流動性を保持し、膜機能を維持していることが知られている (Murata ら, 1992)。そこで、花粉細胞の細胞膜に着目し、*P. communis* L. においても同様の現象が起こると推察し、花粉の細胞膜の脂肪酸組成を分析した。その結果、*P. communis* L. が ‘長十郎’ に比べ α -リノレン酸 (18:3 n=3) の割合が高く、高い不飽和度を示した。

以上のことから、‘長十郎’ および *P. communis* L. の低温下での発芽率の違いは、花粉細胞膜の脂肪酸組成と関連性が高いものと考えられた。また、*P. communis* L. 花粉の吸水量は、温度処理区間で差はなく、*P. communis* L. は、細胞膜の低温下での優位性を保持しているため、低温においても膜の流動性を保持し発芽を可能にするものと考え

えられた。

細胞膜の脂肪酸組成の違いが、*P. communis* L.の低温下で有意性を示した結果を踏まえ、*P. communis* L.および‘ラ・フランス’を低温条件下での受粉試験に用い、受粉樹としての利用可能性を検討した。その結果、10.0℃での‘長十郎’受粉区の結実率は、花粉の発芽率同様低くなった。しかし、10.0℃での発芽率の良い、*P. communis* L. および‘ラ・フランス’受粉区では、両品種ともに50%以上の結実率を示し、10.0℃条件下での結実が可能であった。

このことから、*P. communis* L. および‘ラ・フランス’の花粉は、受粉期の低温による結実不良を解決する技術になると推察された。これまでに、受粉花粉の違いが、果肉や果皮、種子等に影響を及ぼすメタキセニア現象が報告されている(Nasserら, 2006; 上月ら, 2006)。本研究において、受粉花粉が果実品質に及ぼす影響を検討したところ、‘ラ・フランス’花粉を受粉した‘ゴールド二十世紀’、‘幸水’および‘豊水’の果実品質は、‘長十郎’受粉区と差はなく、受粉樹としての利用が可能である。

次に、*P. communis* L.を受粉した‘幸水’は、‘長十郎’受粉区と比べ小果になる傾向にあったが、‘ゴールド二十世紀’および‘豊水’の果実品質には差がなく、品種間での差が確認された。この理由としては、前述したように、ナツメヤシ(Nasserら, 2006)やレタス(上月ら, 2006)などで報告されている、メタキセニア現象が、ニホンナシにおいても発生した可能性も考えられるが、本実験においては、明確にすることはできなかった。

以上のように、*P. communis* L.および‘ラ・フランス’を用いた受

粉によって受粉時の低温による結実不良は軽減され、シアナミド処理により開花が早くなった際にも着果を安定させることが可能となった。

さらに本研究では、着果安定技術の一つとして、自家和合性品種の利用についての基礎的知見を得るため、同一 S 遺伝子型を有する自家和合性品種の自家結実率を評価した。調査の結果、‘秋甘泉’と‘新美月’の自家結実率は高く、‘秋栄’は中程度、‘夏そよか’は低いという結果が示され、同一 S 遺伝子型の品種においても自家結実率が大きく異なるという知見が得られた。これらの結果は、松本ら（2007）の報告と同様であったが、自家結実性の品種間差異が生じる原因に関しては知見が乏しいため、本研究ではこの要因が花粉側、雌蕊側の何れにあるのかを検討するために相互受粉を行った。

結実率の調査を行った結果、受粉花粉の違いに比べ雌蕊側品種間の結実率の差は大きく、自家結実特性と類似した傾向を示したことから、自家結実性の品種間差異の要因は雌蕊側に存在することが示唆された。さらに、柱頭内の花粉管伸長に着目してみると、花粉管の差により結実率の差が生じることが明らかとなった。

これまでにウメ（八重垣ら，2002）やブドウ（岡本ら，1989）など多くの果樹で花粉の稔性、花柱内における花粉管伸長の良否などが結実に影響を及ぼすことが指摘されており、ニホンナシの自家和合性品種においても同様の要因が考えられる。さらに、花粉伸長の品種間差異が生じる原因として、花柱誘導組織の形態的差異が関係していることが明らかとなった。加えて、林・田辺（1991）；Herrero（1992）は受精・結実に、柱頭および花柱の老化の関与も指摘して

おり，‘秋栄’および‘夏そよか’に関しては花柱誘導組織の崩壊の速さに起因する受精能力保持期間の短さが自家結実率の低さの一因となっているのではないかと考えられた．

以上のように自家和合性品種の自家結実特性並びにその品種間差異の要因を明らかにしたものの，これら品種の花粉の温度感応性に着目してみると，‘長十郎’同様，低温での発芽能力は有していなかった．従って，自家和合性品種ではあるが，開花時に低温に遭遇する際は，*P. communi* L.や‘ラ・フランス’などの花粉を用い補助受粉を行う必要があることが指摘できる．

以上に示した，本研究の成果を複合的に使用することで，今後の不安定な気象条件下においても安定したニホンナシ栽培が可能といえる．

謝辞

本研究の実施にあたり，終始貴重なご指導を賜りました鳥取大学農学部園芸学研究室教授，田村文男博士に深甚な感謝の意を申し上げます．また，多岐に渡りご指導，ご助言を賜りました鳥取大学農学部フィールドサイエンスセンター教授，中田昇博士，島根大学生物資源科学部教授，板村裕之博士，弘前大学農学生命科学部助教，松本和浩博士に厚く御礼申し上げます．新潟県農業総合研究所園芸研究センター専門研究員，松本辰也博士，関西大学 化学生命工学部助教，細見亮太博士には実験実施にあたり適切なご示唆を頂きました．心より御礼申し上げます．最後に，鳥取大学園芸学研究室の皆様には，多岐に渡りご協力，ご支援して頂きました．私を支えて下さった多くの方々に心から感謝の意を表します．

引用文献

- Bell, R. L. 1991. Pears (*Pyrus*). Acta Hort. 290:657-697.
- Bousquet, J., L. Simon and M. Lalonde. 1990. DNA amplification from vegetative and sexual tissues of trees using polymerase chain reaction. Can. J. For. Res. 20: 254-257.
- Broome, O. C. and R. H. Zimmerman. 1976. Breaking bud dormancy in tea crabapple (*Malus hupehensis* (Pamp.) Rehd.) with cytokinins. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 101:28-30.
- Chandler, W. H., D. S. Brown, M. H. Kimball, G. L. Philip, W. P. Tufts and G. P. Weldon. 1937. Chilling requirements for opening of buds on deciduous orchard trees and some other plants in California. Calif. Agr. Expt. Sta. 63.
- Cole, M. E., T. Solomos and M. Faust. 1982. Growth and respiration of dormant flower buds of *Pyrus communis* and *Pyrus calleryana*. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 107:226-231.
- Corgan, J. N. and C. Peyton. 1970. Absciscic acid levels in dormant peach flower buds. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 95:770-774.
- Dickinson, D. B. 1965. Germination of lily pollen: Respiration and tube growth. Science. 150:1818-1819.
- Emmerson, J. G. and L. E. Powell. 1978. Endogenous absciscic acid in relation to rest and bud burst in three *Vitis* species. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 103:677-680.
- Erez, A., G. A. Couvillon and C. H. Hendershott. 1979. Quantitative chilling enhancement and negation in peach buds by high temperatures

- in daily cycle. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 104:536-540.
- Faoro, I. D. 2002. Japanese pear growing in Brazil. Acta Hort. 587:97-105.
- Francisco J. and W. Lirra. 2005. Possible role of catalase in post-dormancy bud break in grapevines. Journal of Plant Physiology 162:301-308
- Hatch, A. H. and D. R. Walker. 1969. Rest intensity of dormant peach and apricot leaf buds as influenced by temperature, cold hardiness, and respiration. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 94:304-307.
- 林真二. 1959. 果樹栽培生理新書「梨」. 朝倉書店. p.32-36. 東京.
- 林真二・田辺賢二. 1991. くだものつくりの基礎. 鳥取県果実農業協同組合連合会. p.65-73. 鳥取.
- Herrero, M. 1992. From pollination to fertilization in fruit trees. Plant Growth Regulation. 11-1:27-32.
- Hiratsuka. S., E. Takahashi and N. Hirata. 1987. Crossability of self-compatible mutant 'Osa-Nijisseiki' (*Pyrus serotina* Rehd). J. Japan. Soc. Hort. Sci. 56: 166-172.
- Hiratsuka. S., S. L. Zhang, E. Nakagawa and Y. Kawai. 2001. Selective inhibition of the growth of incompatible pollen tubes by S-protein in the Japanese pear. Sex Plant Reproduction. 13: 209-215.
- 本條 均・島田裕一・金原啓一・鈴木信男・福井 糧・杉浦俊彦. 2002. 冬季の温暖化が落葉果樹に及ぼす影響 (2) ニホンナシ '幸水' 開花日の年次変動. 園学雑. 71(別) 2: 288.
- 堀内昭作・中川昌一. 1971. 果樹の休眠に関する研究. (第2報)休眠打

- 破について(ブドウ). 園学要旨. 昭 46 春:132-133.
- 堀内昭作・中川昌一・加藤彰宏. 1981. ブドウの芽の休眠の一般的特徴. 園学雑. 50:176-184.
- 古田 収 ・ 今井敏彦 ・ 三好武満 ・ 矢積延雄 ・ 植木昭一 ・ 林真二 ・ 平木志都夫. 1980. 日本ナシ ‘おさ二十世紀’ の特性. 園学要旨.49 (別 2) : 70-71.
- IPCC. 2001. Climate Change 2001. The Science Basis. Cambridge University Press. 101-181,572-582.
- Ishimizu, T., K. Inoue, M. Shimonaka, T. Saito, O. Terai and S. Norioka. 1999. PCR-based method for identifying the S-genotypes of Japanese pear cultivars. Theor. Appl. Genet. 98: 961-967.
- 伊藤 寿・市ノ木山造道. 2005. ニホンナシ ‘幸水’ の生育相および果実品質の年次変動と気象要因. 園学雑. 4: 329-333.
- 岩波洋造. 1980. 花粉学. 講談社. p.92-106. 東京.
- Iwasaki, K. 1980. Effects of bud scale removal, calcium cyanamide, GA3, and ethephon on bud break of 'Muscat of Alexandria' grape (*Vitis vinifera* L.). J. Japan. Soc. Hort. Sci. 48: 395-398.
- Iwasaki, K. and R. J. Weaver. 1977. Effect of chilling, calcium cyanamide, and bud scale removal on bud break, rooting, and inhibitor content of buds of 'Zinfandel' grape (*Vitis vinifera* L.). J. Amer.Soc. Hort. Sci. 102: 584-587.
- 梶浦一郎. 1983. ニホンナシの起源と品種の地理的文化. 育種学最近の進歩. 25:3-13.
- 梶浦一郎. 1994. ナシ. 園芸学会監修. 日本の園芸. 朝倉書店. 東京.

43-52.

梶浦一郎. 2008. 日本果物史年表養賢堂. 東京.

Karapanos L.C., K.A.Akoumianakis, C.M.Olympios, H.C.Passam. Tomato pollen respiration in relation to in vitro germination and pollen tube under favorite and stress-inducing temperatures. Sex Plant report 23:219-224

加藤修. 2002. ナシの人工受粉の忙しさ解決! 水稻育苗器を使った花粉採取法. 現代農業. 81(4): 208-211.

吉川瑛治レオナルド・Robson Ryu Yamamoto・José Luiz Petri・Fernando José Hawerroth・山根健治・本條均. 2014. 休眠期のシアナミド処理がニホンナシ‘幸水’および‘豊水’の発芽・開花に及ぼす影響. 園学雑. 13 (2) : 143-153.

菊池秋雄. 1948. 果樹園芸学. 上巻. p.64-121. 養賢堂. 東京.

Kingston, C. M., D. J. Klinac and C. W. Epenhuijsen. 1990. Floral disorders of nashi (*Pyrus serotina*) grown in New Zealand. New Zeal. J. Crop Hort. 18:157-159.

Klinac, D. J. and B. Geddes. 1995. Incidence and severity of the floral bud disorder “budjump” on nashi (*Pyrus serotina*) grown in the Waikato region of New Zealand. New Zeal. J. Crop Hort. 23:185-190.

Kowyama, Y. , C. Kunz, I. Lewis, E. Newbigin, A. E. Clarke and M. A. Anderson. 1994. Self-compatibility in a *Lycopersicon peruvianum* variant(LA2157) is associated with a lack of style S-RNase activity. Theor. Appl. Genet. 88: 859-864.

Kubota, N. and M, Miyamuki. 1992. Breaking bud dormancy in

- grapevines with garlic paste. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 177: 898-901.
- Kubota, N., Y. Yamane, K. Toriu, K. Kawazu, T. Higuchi and S. Nishimura. 1999. Identification of active substances in garlic responsible for breaking bud dormancy in grapevines. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 68:1111-1117.
- Kuroda, H., T. Sugiura and D. Ito. 2002. Changes in hydrogen peroxide content in flower buds of Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) in relation to breaking endodormancy. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 71(5):610-616.
- Kuroda, H., T. Sugiura and H. Sugiura. 2005. Effect of hydrogen peroxide on breaking endodormancy in flower buds of Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). J. Japan. Soc. Hort. Sci. 74:255-257.
- 黒井伊作. 1985. カルシウム・シアナミド及びシアナミドがブドウ‘巨峰’の芽の休眠打破に及ぼす効果. 園学雑. 54: 301-306.
- 黒井伊作・白石義行・今野 茂. 1963. ブドウの休眠打破に関する研究 (第1報). ガラス室栽培樹の自発休眠短縮に及ぼす石灰窒素処理の効果. 園学雑. 32: 176-180.
- 黒木克翁・秋吉大貴・竹村圭弘・須藤幸子・武田誠・富山政之・田村文男. 2009. ニホンナシ主要品種の芽の自発休眠打破に及ぼすシアナミド処理の影響. 園学研 8(別)2: 149
- 黒木克翁・竹村圭弘・松本和浩・武田誠・富山政之・田村文男. 2013. シアナミド処理がニホンナシ主要品種の自発休眠打破および開花期に及ぼす影響. 園学雑. 12 (2): 179-185.
- 黒木克翁・寺谷直子・丸森啓紀・竹村圭弘・松本和弘・松本辰也・

- 田村文 男.2012.セイヨウナシ花粉を用いた低温条件下でのニホンナシの結実性向上.園学雑.11(別)2:89.
- Labuschagne, I. F., J. H. Louw, Karin Schmidt and Annalene Sadie. 2002. Genetic variation in chilling requirement in apple progeny. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 127:663-672
- Lee, H. S., S. Huang and T. H. Kao. 1994. S proteins control rejection of incompatible pollen in *petunia inflata*. Nature 367: 560-563.
- 町田 裕 ・ 梶浦一郎 ・ 佐藤義彦 ・ 壽 和夫. 1985. おさ二十世紀を利用した自家和合性品種の育成 自家和合性個体の出現頻度 (予報). 園学研. 54 (別 2) : 98-99.
- 松本辰也 ・ 根津 潔 ・ 本永尚彦 ・ 澤村 豊 ・ 児島清秀. 2007. 自家和合性ニホンナシにおける結実性の品種, 系統間差. 園学研. 6 (別 2) : 451.
- 森元福雄・熊代克己. 1978. 薬剤処理による落葉果樹の休眠打破に関する研究. 信州大農紀要. 15: 1-17.
- Murata, N., Ishizaki-Nishizawa, O., Higashi, S., Hayashi, H., Tasaka, Y., & Nishida, I. 1992. Genetically engineered alteration in the chilling sensitivity of plants. Nature, 356(6371), 710-713.
- Murfett, J., T. L. Atherton, B. Mou, C. S. Gasser and B. A. McClure. 1994. S-RNase expressed in transgenic *Nicotiana* causes S-allele-specific pollen rejection. 367: 563-566.
- Nasser S.Al-Khalifha.2006.Metaxenia:influence of pollen on the maternal tissue of fruits of two cultivars of date palm. BangladeshJ.Bot.35:151 - 161.

Nir, G. and S. Lavee. 1993. Metabolic changes during cyanamide induced dormancy release in grapevines. *Acta Hort.* 329: 271–274.

野口哲子. 2006. 花粉の形成・成熟過程と花粉管の伸長過程におけるオルガネラの分化. *Plant Morphology*.18:19-28

農林水産省大臣官房統計部経営・構造統計課. 2008. 農業経営統計調査平成 19 年.

農林水産省大臣官房統計部. 2011. 平成 22 年産日本なし, ぶどうの結果樹面積, 収穫量および出荷量.

Norioka. N., S. Norioka, Y. Ohnishi, T. Ishimizu, C. Oneyama, T.

Nakanishi and F.Sakiyama.1998.Molecular Cloning and Nucleotide Sequences of cDNAs Encoding S-Allele Specific Stylar RNases in a Self-Incompatible Cultivar and Its Self-compatible Mutant of Japanese Pear, *Pyrus pyrifolia* Nakai. *J. Biochem.* 120: 335-345.

岡本五郎・井上真奈美・島村和夫. 1989. 他家受粉及び 2, 3 の自家不和合性打破処理がブドウ'ピオーネ'の雌ずい中での花粉管伸長に及ぼす影響. *園学雑.* 58 (別 2) : 311-317.

Okada, K., N. Tonaka, Y. Moriya, N. Norioka, Y. Sawamura, T.Matsumoto, T. Nakanishi and T. Takasaki-Yasuda. 2008. Deletion of a 236 kb region around S4-RNase in stylar-part mutant S4sm-haplotype of Japanese pear. *Plant Mol. Biol.* 66: 389-400.

奥瀬一郎.1972.リンゴ花粉の発芽と花粉管の伸長に関する研究(第 1 報)発芽温度について.弘大農報.18:114 - 127.

大野秀一・三井友宏. 2008. シアナミド液剤処理が露地栽培ニホンナシ'幸水'の開花に及ぼす影響. *園学研.* 7 (別 1) : 296.

- Palta, J. P. 1990. Stress interactions at the cellular and membrane levels. HortScience 25: 1377–1381.
- Petri, J. L. and F. Herter. 2002. Nashi pear (*Pyrus pyrifolia*) dormancy under mild temperate climate conditions. Acta Hort. 587:353-361.
- Pike, C. S. and J. A. Berry. 1980. Membrane phospholipid phase separation in plants adapted to or acclimated to different thermal regimes. Plant Physiol. 66: 238–241.
- ポジャナピモン チャイワット・福田文夫・久保田尚浩. 2008. 四倍体ブドウ 7 品種の芽の休眠打破に及ぼす低温遭遇量と化学物質の影響. 園学研. 7:261-268.
- Rodriguez, J., W. B. Sherman, R. Scorza, M. Wisniewski and W. R. Okie. 1994. ‘Evergreen’ peach, its inheritance and dormant behavior. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 119: 789–792.
- Royo, J., C. Kunz, Y. Kowiyama, M. A. Anderson, A. E. Clarke and E. Newbigin. 1994. Loss of a histidine residue at the active site of the S locus ribonuclease is associated with self-compatibility in *Lycopersicon peruvianum*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 91: 6511-6514.
- 酒井 昭. 1982. 植物の耐凍性と寒冷適応—冬の生理・生態学. 学会出版センター. 東京.
- Saure, M. C. 1985. Dormancy release in delicious fruit trees. Hort. Rev. 7:239-300.
- Seeley, S. D. and L. E. Powell. 1981. Seasonal changes of free and hydrolyzable abscisic acid in vegetative apple buds. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 106:405-409.

- Shulman, Y., G. Nil, L. Fanberstein and S. Lavee. 1983. The effect of cyanamide on release from dormancy of grape vine buds. *Scientia Hort.* 19: 97-104."
- Sterrett, J. P. and P. H. Hipkins. 1980. Response of apple buds to pressure injection of abscisic acid and cytokinin. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 105:917-920.
- 杉浦俊彦・横沢正幸.2004.平均気温の変動から推定したリンゴおよびウンシュウミカンの栽培環境に対する地球温暖化の影響. *園学雑* 73(1):72-78
- 杉浦俊彦. 2007. 温暖化がわが国の果樹生育に及ぼしている影響の現状. *園学雑*. 6: 257-263.
- 竹村圭弘・須藤幸子・池田隆政・松本和浩・田村文男. 2011. ニホンナシ‘ゴールド二十世紀’の芽の自発休眠は低温によって誘導される. *園学研*. 10:87-92.
- Takemura, Y., Kuroki, K., Matsumoto, K., and Tamura, F. 2013. Cultivar and areal differences in the breaking period of bud endodormancy in pear plants. *Scientia Horticulturae*. 154: 20-24.
- 田村文男. 1999. 落葉果樹の芽の休眠. *植物の化学調節*. 34:264-272.
- 田村文男. 2009. 身近な野菜・果物～その起源から生産・消費まで(10) ニホンナシ (I) . *日本食品保蔵科学会誌*. 35:315-321.
- 田村文男.2012. 生育段階と生理・生態. p193-210.農山漁村文化協会編. 最新農業技術果樹 vol.5.農山漁村文化協会.東京.
- 田村文男・黒木克翁・寺谷直子・丸森啓紀・竹村圭弘・角脇利彦・松本辰也. 2012. ニホンナシの自家和合性品種の自家結実特性の品

- 種 間差異. 園学研. 11 (別 2) :90.
- 田村文男・田辺賢二・池田隆政. 1993. ニホンナシ ‘二十世紀’ の芽の休眠の深さと ABA との関係. 園学雑. 62:75-81.
- 田村文男・田辺賢二・伴野 潔. 1992. 低温処理がニホンナシ ‘二十世紀’ の芽の休眠の深さ, 呼吸及び内生成長調節物質に及ぼす影響. 園学雑. 60:763-769.
- 田村文男・田辺賢二・伴野 潔・池田隆政. 1993. ニホンナシ ‘二十世紀’ の芽の休眠打破に及ぼす高温処理の影響. 園学雑. 62: 41-47.
- 田村文男・田辺賢二・板井章浩. 1995. ニホンナシ数品種の芽の自発休眠の特徴. 園学雑 64(別 1): 162-163.
- Tamura, F., K. Tanabe and A. Itai. 1997. A model for estimating rest completion for ‘Nijisseiki’ pear. Environ. Control Biol. 35:185-189.
- Tamura, F., K. Tanabe, A. Itai and M. Morimoto. 2001. Variations in the chilling requirements for breaking leaf bud endodormancy in wild pear species and pear cultivars. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 70: 596-598.
- Terami, H., H. Torikawa and Y. Shimazu. 1946. Analysis of the sterility factors existing in varieties of the Japanese pear(*Pyrus serotina* Rehd. Var. *culta* Rehd. Studies Hort. Inst. Kyoto Imp. Univ. 3: 267-271.
- 中央果実基金. 1994. 米国における梨の生産・流通事情調査.
- 上月亜梨紗・水谷高幸・田中孝幸. 2006. レタス *Lactuca sativa* と *L. saligna* 間の種間交雑におけるメタキセニア. 園学雑. 75(別)2:189.
- Wagner, D. B, G. R Furnier, M. A. Saghai-Marooof, S. M. Williams, B. P. Dancik and R. W. Allard. 1987. Chloroplast DNA polymorphisms in lodgepole and jack pines and their hybrids. Proc. Sci. USA 84:

2097-2100.

- Wang, S. Y., M. Faust and G. L. Steffens. 1985. Metabolic changes in cherry flower bud associated with breaking of dormancy in early and late blooming cultivars. *Physiol. Plant.* 65:89-94.
- 渡辺慶一・高橋文次郎. 1989. キウイフルーツ花粉の発芽, 花粉管伸長に関する温度と培地条件並びに貯蔵花粉の発芽試験. *園学雑.* 57:591
- Weinbaum, D. E., Palfitt and V. S. Polito. 1984. Differential sensitivity of pollen grain germination in two prunus species. *Euphytica.* 33:419-426
- Westwood, M. N. 1978. *Temperate-Zone Pomology.* W. H. Freeman and Company. p. 199-303. New York.
- White, A. 2002. Asian pear production and research trends in New Zealand and Australia. *Acta Hort.* 587:107-111.
- Willemot, C. 1977. Simultaneous inhibition of linolenic acid synthesis in winter wheat roots and frost hardening by BASF 13-338, a derivative of pyridazinone. *Plant Physiol.* 60: 1-4.
- 安田（高崎）剛志・田村文男. 2015. 第5章ナシ. 金浜耕基編. 果樹園芸学. 文永堂出版. p.125-158. 東京.
- 八重垣英明・土師岳・山口正己. 2002. ウメにおける花粉の量, 染色率および発芽率の品種間差異. *果樹試報.* 1: 47-53.
- 山田昌彦. 2011. 果樹の交雑育種法. 養賢堂.
- Yamamoto, R. R., A. H. Katsumi, M. Yoshida, Y. Sekozawa, S. Sugaya and H. Gemma. 2010. "Floral primordia necrosis" incidence in mixed buds of Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* (Burm.) Nakai var. *culta*) 'Housui'

grown under mild winter conditions and the possible relation with water dynamics. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 79:246-257.

山根弘康・佐藤公一・森英男・松井修・北島博，1972．結実管理．
果樹園芸大事典，養賢堂，p157-161，東京．

安谷屋信一・比嘉照夫．1988．ミョウガの花粉発芽および花柱内花粉管伸長に及ぼす温度および相対湿度の影響．園学雑． 57:43-51

摘要

1. シアナミド処理がニホンナシ主要品種の自発休眠打破および開花期に及ぼす影響

ニホンナシ‘幸水’および‘ゴールド二十世紀’の休眠期の枝に 0.5 および 1.0%シアナミドならびに 2.5 および 10.0%過酸化水素水溶液を浸漬処理し、腋花芽の萌芽に及ぼす影響を調べた。萌芽の促進に対する両処理の影響は、それぞれの濃度および処理時期に依存したが、シアナミドが過酸化水素よりも萌芽を促進した。特に、Chill Unit(CU.) 600 での 1.0%シアナミド処理が、全処理区内で最も休眠打破効果が高かった。次に、シアナミドの処理時期および濃度の違いが自発休眠打破ならびに春季の発育に及ぼす影響を調査するために‘幸水’、‘豊水’、‘ゴールド二十世紀’および‘新高’の成木に CU. 300, 600, 900 および 1,500 時に 0.5 および 1.0%シアナミドを処理し、その後の萌芽率、花粉発育および開花期を観察した。腋花芽における休眠打破の反応は、品種ごとに異なり、‘幸水’および‘ゴールド二十世紀’では CU. 600, ‘豊水’では CU. 600~900, ‘新高’では CU. 900 に行った処理が効果的であった。また、処理濃度は 1.0%が効果的であることが明らかとなった。一方、いずれの時期および濃度であってもシアナミド処理を行った樹体の花粉発育、萌芽および開花は無処理区より早くなった。

2. シアナミド処理がナシ受粉樹の開花期および花粉発芽に及ぼす影響

シアナミド処理がナシ受粉樹の開花期および花粉発芽に及ぼす影

響を調査した。CU. 600 でのシアナミド処理は，‘鴨梨’，‘新興’，‘長十郎’および‘今村秋’の開花日を 1～8 日早めることができた。特に，開花期の最も早い‘鴨梨’では，6～8 日と他の品種と比べ著しく促進することができた。また，花粉の発芽率は，年次により差があり，‘鴨梨’はシアナミド処理により殆どの温度処理区で発芽率が低下する年があった。その理由として，シアナミド処理により四分子期到達日が早まったことが考えられた。しかし，‘鴨梨’は調査品種の中で最も開花促進効果が高く，大幅な労力削減が可能になるものと考えられた。

3.低温条件下でのニホンナシの結実性向上技術の開発

本研究では低温条件下での結実性向上を目的として，30 種・品種のナシ属植物の花粉の中から，低温条件下においても発芽・伸長可能なものを選抜した。また，低温発芽性を有するセイヨウナシ花粉を用いて受粉試験を行い，結実率，果実生育および果実品質に及ぼす影響を調査した。ナシ属植物の花粉の温度感応性は，種・品種により大きく異なっていた。15.0℃以下の低温条件下での発芽率は，‘ラ・フランス’，‘ル・レクチェ’，*P.communis* L.等のセイヨウナシの花粉が優れていた。10.0℃の低温条件下での受粉試験において，*P.communis* L. および‘ラ・フランス’花粉を受粉した処理区の結実率は，‘長十郎’花粉を受粉した処理区を大きく上回った。‘幸水’，‘豊水’および‘ゴールド二十世紀’の成木を用いた受粉試験を行った。3 品種共に‘ラ・フランス’および‘長十郎’花粉を受粉した処理区間に，果実の初期生育および果実品質の差はなかった。しかし，‘幸水’の

P. communis L.受粉区において, ‘長十郎’受粉区の果径より小さくなった.
また, ‘長十郎’および *P. communis* L.の低温下での発芽率の違いは, 花粉細胞膜の脂肪酸組成と関連性が高いものと考えられた.

4. 自家和合性ニホンナシ品種間の自家結実性の差異と花柱組織との関係

‘おさ二十世紀’の後代である自家和合性ニホンナシ品種‘秋栄’, ‘秋甘泉’, ‘夏そよか’および‘新美月’の自家結実性を3年間にわたり受粉4週後および16週後に調査した. その結果, 受粉4週後の自家結実率は品種間で大きく異なり, 秋栄と夏そよかで低かった. 特に, ‘夏そよか’は著しく低かった. また, 受粉4週後から16週後まで‘秋栄’および‘夏そよか’の結実率は低下した. 次に, 相互受粉を行ったところ, 結実率は, 雌蕊側品種の自家結実性と同様の傾向をしめした. 次に, 自家結実性の差の原因を明らかにするために, 受粉72時間後の花柱組織の形態観察を行った. 受粉後の花柱組織を観察したところ, ‘秋栄’および‘夏そよか’の花柱中心部の細胞の配列が崩壊し, 空洞化が観察された. このことから, ‘秋栄’および‘夏そよか’に関しては花柱誘導組織の崩壊の速さ, すなわち雌ずいの老化の速さに起因する受精能力保持期間の短さが自家結実率の低さの一因となっているのではないかと考えられた.

Summary

1. Effect of Hydrogen Cyanamide on Breaking Flower Bud Endodormancy and Flowering Period of Major Japanese Pear Cultivars

In experiment 1, 'Kosui' and 'Gold Nijisseiki' pear cuttings that had accumulated various amounts of chilling were treated with 0.5 and 1.0% hydrogen cyanamide or 2.5 and 10.0% hydrogen peroxide. Although the effect of both reagents on promoting budbreak depended on their concentration and chilling accumulation, hydrogen cyanamide was more effective than hydrogen peroxide in most chilling values. One point zero percent hydrogen cyanamide applied at Chill Unit (CU) 600 was the most effective for breaking bud dormancy among the treatments. In experiment 2, 0.5 and 1.0% hydrogen cyanamide were used to treat adult 'Kosui', 'Hosui', 'Gold Nijisseiki', and 'Niitaka' trees at CU300, 600, 900, and 1,500, and thereafter the percentage of budbreak, pollen development, and the flowering period were observed. The response of budbreak in flower buds to hydrogen cyanamide varies with chilling accumulation and the cultivar. The effective period for 'Kosui' and 'Gold Nijisseiki' was during CU300 to 900, that of 'Hosui' was CU600 to 900, and that of 'Niitaka' was CU900.

Clear differences in the breaking of bud dormancy were observed among these hydrogen cyanamide treatments. However, pollen growth and flowering were over 2 days earlier than in the untreated control due to the treatment irrespective of broken / unbroken dormancy.

2. Effect of Hydrogen Cyanamide on Flowering Period and Pollen Germination of Pear Pollinizer

We investigated the effect of hydrogen cyanamide on the flowering period and pollen germination of pear pollenizer cultivars. Four cultivars of adult 'Yali', 'Imamurakai', 'Chojuro' and 'Shinko' trees were treated with 1.0% hydrogen cyanamide at 600 CU, and pollen development was observed using a microscope. In addition, we observed the flowering period. The date of flowering was forced in all four cultivars following hydrogen cyanamide treatment; however, the level of the effect varied among the cultivars used. In particular, the flowering period of 'Yali' an early-flowering cultivar, was significantly faster than that of other cultivars. The germination rate of 'Yali' pollen was also significantly lower in one year. Pollen germination of other cultivars was free of any untoward effect of hydrogen cyanamide.

3. Effect of European pear pollen pollination on fruit set and fruit quality of Japanese pear cultivars under the low temperature condition

In vitro pollen germination was studied in 7 wild pear species and 16 pear cultivars at six temperatures (7.5°C, 10.0°C, 12.5°C, 15.0°C, 17.5°C, and 20.0°C) in during a period of 2 years. The extent of pollen germination was affected by the incubation temperature. Most cultivars could not germinate at a temperatures below 12.5°C, ; but however, the cultivar *Pyrus communis* L. showed a higher rate of germination compared to than the the others other cultivars at 7.5°C. Additionally, tThe rates of germination for La France and Le Lectier pears were was more greater than 50% at 10.0°C. We investigated the effects of cross-pollination between the cultivars *P. communis* L. and 'Chojuro' and the Japanese pear cultivars 'Gold-Nijisseiki' and 'Hosui' cultivars with regard to pertaining to

fruit set and fruit quality in at a the low- temperature condition (10.0°C). The bearing rate of the the cultivars ‘Gold-Nijisseiki’ and ‘Hosui’ cultivars depended on the type of pollen that was used for pollination. Pollination with European pear pollen resulted in a higher bearing rate of (50%) in ‘Gold-Nijisseiki’ and ‘Hosui’these cultivars. In contrast, the bearing rate of the cultivar ‘Chojuro’ was lower than 20%. The fFruit quality and the number of seeds per fruit (seed yield) in the cultivars ‘Gold-Nijisseiki’ and ‘Hosui’ cultivars were not affected by the type of cultivar used for pollination.

4. Relationship between Varietal Difference in Fruit Set and Morphological Difference in Styles among the Self-Compatible Japanese Pears

We studied the self-pollination fruition rate of subvars of the original Japanese pear ‘Osa-nijisseiki’ (‘Akibae’, ‘Akikansen’, ‘Natusoyoka’ and ‘Shinmizuki’) by examining plants at 4 and 16 weeks after pollination in over three years. Findings showed that after 4 weeks of pollination, the fruition rate among the cultivars differed significantly. Among four cultivars, the fruition rates of ‘Akibae’ and ‘Natusoyoka’ were low. And fruition rates of these cultivars was further declined from 4 to 16 weeks after pollination.

Next, we found that there were similar trends with the self-pollination test in mutual pollination tests. In order to determine the reason for the difference in self-pollination fruition, we examined pollen tube growth 72 hours after pollination. We found that

in 'Akibae' and 'Natsusoyoka', the cells of transmitting tissue had been destroyed, resulting in a hollow tube. Thus, it appears that the destruction of pollen tubes contributes to accelerating the rate of pistil aging in 'Akibae' and 'Natsusoyoka', thereby, leading to a shorter pollination period and low fruition rate for self-pollination.

本研究の基礎となる論文リスト

1) 黒木克翁・竹村圭弘・松本和浩・武田 誠・富山政之・田村文男.
2013. シアナミド処理がニホンナシ主要品種の自発休眠打破および
開花期に及ぼす影響. 園芸学研究. 12 (2) : 179-185

第 1 章を構成

2) 黒木克翁・竹村圭弘・武田 誠・富山政之・田村文男. 2016. シ
アナミド処理がナシ受粉樹の開花期および花粉発芽に及ぼす影響.
農業生産技術管理学会誌. 22 (4) : 121-126

第 2 章を構成

3) 黒木克翁・竹村圭弘・丸森啓紀・寺谷直子・松本辰也・田村文男.
2016. 自家和合性ニホンナシ品種間の自家結実性の差異と花柱組織
との関係. 園芸学研究. 15 巻 4 号

第 4 章を構成