貯蔵花粉の順化条件が甘果オウトウ (*Prunus. avium* L.) の花粉活性と結実率に及ぼす影響

萩原栄揮・富田 晃*・山下（土橋）路子^a・新谷勝広

山梨県果樹試験場 405-0043 山梨市江曾原

Effects of Acclimated Conditions of Stored Pollen on the Pollen Activity and Fruit Bearing Rate of the Sweet Cherry (*Prunus. avium* L.)

Eiki Hagihara, Akira Tomita*, Michiko Dobashi-Yamashita^a and Katsuhiro Shinya

Yamanashi Fruit Tree Experiment Station, Ezohara, Yamanashi 405-0043

Abstract

To improve the fruit set of sweet cherries, we investigated the effects of an acclimation method of pollen storage on the fruit bearing rate and pollen activity. Pollen stored at a low temperature, -30°C , led to a 14.0% germination rate immediately after being transferred from the freezer. When acclimated for 2 hours at relative humidity 90%, the germination rate rose significantly to 42.4%. By increasing the acclimation period to 4 hours, the germination rate did not change significantly at 45.9%. Under dry conditions of relative humidity 30% and an acclimation period within 4 hours, there was no significant difference in the pollen germination rate. Examination of the effect of the acclimation temperature on the pollen germination rate under relative humidity 90% for 2 hours showed little difference in the germination rates (43.0% at 4°C , 45.4% at 20°C). However, when pollen was acclimated for 12 hours at 25°C , the germination rate was significantly reduced to 7.9%. Artificial pollination using stored pollen that had been acclimated with the conventional method led to a fruit bearing rate of 2.5%. The fruit bearing rate was 17.2% with artificial pollination when stored pollen was acclimated for 2 hours at a high humidity (90%RH). Furthermore, the fruit bearing rate on artificial pollination with pollen acclimated under high humidity conditions was higher than when using pollen acclimated under dry conditions or using conventional methods.

Key Words : artificial pollination, fruit bearing, pollinizer

キーワード : 人工受粉, 受粉樹, 結実

緒 言

落葉果樹類の多くは自家不和合性（浅見, 1937; 森, 1937; 永澤, 1942）で、甘果オウトウもほとんどの品種が自家不和合性を示す。また、受粉樹との品種組み合わせが交配不和合では受粉しても結実しない（深井, 1999; 佐竹・矢野, 1993; 渡部, 1990）。従って、甘果オウトウを経済栽培するには、交配親和性のある品種の花粉を用いた人工受粉あるいはミツバチ、マメコバチ、マルハナバチなどの花粉媒介昆虫を活用した受粉技術が不可欠である（長野県・全国農業協同組合連合会長野県本部, 2006; 新谷ら, 2011）。しかし、虫媒による受粉は、風や気温の影響を受けやすく、受粉効果が不安定になりやすい。このことから、より安定し

た結実が得られる人工受粉が広く選択されている（中川, 1978）。人工受粉には当年に採取した新鮮な花粉、または前年の貯蔵花粉が使われる。貯蔵花粉は天候不良などで当年の新鮮花粉が不足する場合や、山梨県のように受粉樹である‘ナポレオン’の開花が、‘佐藤錦’、‘高砂’、‘紅秀峰’などの主要品種より遅くなる地域で‘ナポレオン’を利用する場合、あるいは花の採取と受粉時期が異なる加温栽培などで有効に活用される（遠藤, 1991; 今川ら, 1990）。但し、貯蔵花粉は低温貯蔵庫の中に乾燥した状態で保存されているため（林・脇坂, 1966; 佐竹・矢野, 1993）、人工受粉に使用する前に予め花粉を常温に慣らし吸湿させる順化の作業が必要となる。甘果オウトウの花粉は、一般的に -20°C 以下の低温で貯蔵（佐竹・矢野, 1993）される。花粉の順化は使用の前日から準備するので、当日の急な天候変化には対応できないなどの問題がある。しかし、これまで貯蔵花粉の順化条件については、チュウゴクナシ‘雪花梨’の輸入花粉で順化方法が示されている（加藤, 2008）のみで、詳細な検討については報告がなかった。本研究で

2014年2月13日 受付. 2014年10月1日 受理.

本報告の概要は園芸学会平成23年度秋季大会で発表した.

* Corresponding author. E-mail: tomita-udk@pref.yamanashi.lg.jp

^a 現在：山梨県峡南農務事務所

は、より高い発芽率が安定して得られる順化条件について検討し、いくつかの新しい知見を得たので報告する。

材料および方法

1. 貯蔵花粉の順化条件が発芽率に及ぼす影響 (試験 1)

試験には山梨県果樹試験場 (山梨市江曾原) に植栽されている‘ナポレオン’ (12 年生) から 2009 年に採取した花粉を供試した。供試樹から風船状になった蕾と開花直後のまだ開花していない花を採取した。採花機 (SX2, (株) ミツワ) を使って蕾と花から採花し、20°C に設定した開花器 (M-600, (株) ミツワ) の中で開花させた。開花後の粗花粉は、ヘキサソで精製して純花粉に調整した。純花粉は薬包紙に包み、シリカゲルとともに、-30°C の恒温で約 180 日間低温貯蔵した後、順化の湿度条件と温度条件の試験に供試した。

湿度については、温度を 20°C に保ち、30%RH、60%RH および 90%RH の異なる湿度条件でそれぞれ 2、4、12 時間静置して花粉の順化を行った。また、温度については、相対湿度を 90% に保ち 4°C、20°C、25°C および 30°C の異なる温度条件でそれぞれ 2、4、12 時間静置して花粉を順化した。順化は、人工気象器 (EZ-022S, (株) 日本医化器機製作所) を用い、温度と湿度を制御した。順化後の花粉は、シャーレに入れたシヨ糖寒天培地 (1%寒天, 10%シヨ糖) に置床し、20°C に設定したインキュベータ (FLI-301N, 東京理化器機 (株)) で 3 時間培養した後、顕微鏡 (BX51, オリンパス (株)) で各区 2~3 枚の培地から培地上の 5 か所を無作為に抽出し、一視野当たり 50~100 粒の花粉を拡大倍率 100 倍で観察し、合計約 300 粒の花粉の発芽率を測定した。花粉管が花粉粒直径の概ね 2 倍以上となる 50 μ m 以上伸長したものを発芽花粉と見なした。

2. 貯蔵花粉の順化条件が結実に及ぼす影響 (試験 2)

甘果アウトウ‘佐藤錦’ (13 年生) を 2 樹供試し、1 樹当たり中庸な側枝を 1 本選び、各試験区計 2 本の側枝から合計で 150~200 花を抽出した。順化方法が異なる‘ナポレオン’の貯蔵花粉 (試験 1 に供試した 2009 年採取の花粉) を受粉して結実率を調査した。多湿区は 90%RH・20°C・2 時間、乾燥区は 30%RH・20°C・2 時間の条件で花粉を順化した。慣行区は、花粉を受粉前日から室内で約 16 時間順化した。順化時の室内の温湿度条件は成り行きとし、平均相対湿度 52%・平均温度 21°C であった。花粉は、試験 1 と同様にシヨ糖寒天培地 (1%寒天, 10%シヨ糖) に置床し、20°C に設定したインキュベータで 3 時間培養した後、約 300 粒の花粉の発芽率を測定した。

2010 年 4 月 15 日に開花が 8 分咲きに達した時点で、前日もしくは当日開花した花に交配用の羽毛棒で順化条件の異なる花粉をそれぞれ 1 回受粉した。試験区の枝は訪花昆虫による虫媒受粉の影響を排除するため、開花直前から落花までの間、目合 1.0 mm の防虫網で枝全体を落花期まで覆った。結実率の調査は、生理落果が終わった後の満開

50 日後に実施し、短果枝および花束状短果枝の総花数に対して結実した果実数の割合で示した。

結 果

1. 貯蔵花粉の順化条件が発芽率に及ぼす影響 (試験 1)

貯蔵花粉を順化する湿度と順化時間の条件が花粉発芽率に及ぼす影響を第 1 図に、また、それぞれの発芽状態を第 2 図に示した。出庫直後 14.0% であった貯蔵花粉の発芽率は、90%RH で 2 時間順化すると大幅に上昇し 42.4% になった。2 時間の順化と比較すると 90%RH で順化した場合の発芽率は、60%RH および 30%RH で 2 時間順化した場合の発芽率より有意に上昇した。90%RH で 4 時間順化しても同じ傾向が認められた。しかし、12 時間順化すると 90%RH の花粉発芽率は 31.5% となり、4 時間順化した場合の発芽率より有意に低下した (第 1 図)。

60%RH でも 2 時間順化すると花粉の発芽率は 27.2% に上昇し、出庫直後の発芽率に対して有意な差が認められた。また 4 時間以上順化すると、発芽率は、2 時間の順化より、さらに向上した。一方、30%RH の乾燥した条件では順化しても出庫直後の発芽率に比べて有意な上昇は認められなかった。逆に 12 時間の順化では出庫直後の発芽率より有意に低下した (第 1 図)。

このように、貯蔵花粉を短時間で順化するには、90%RH の多湿条件が最も優れる結果となった。そこで、次に相対湿度は 90% で一定に保ち、順化温度と順化時間が花粉発芽率に及ぼす影響の結果を第 3 図に示した。2 時間および 4 時間の順化では順化温度による有意な差は認められなかった。しかし、12 時間の順化では、4°C の発芽率が

Fig. 1. Effect of the relative humidity on acclimatization on the pollen germination rate with stored pollen. Stored pollen of the sweet cherry ‘Napoleon’ was acclimated at 20°C. Vertical bars indicate SE (n = 5). Statistical analyses were conducted after angular transformation of the data. Different letters indicate significant differences among means according to Tukey-Kramer’s multiple range test ($p < 0.05$).

Fig. 2. Comparison of pollen tube growth with stored pollen of the sweet cherry acclimated under different relative humidities. The acclimation conditions (temperature, relative humidity, duration): (A) humid (temperature: 20°C, humidity: 90%RH, duration: 2 hours); (B) dry (temperature: 20°C, humidity: 30%RH, duration: 2 hours); (C) order of the conventional method (average temperature: 21°C, average humidity: 52%RH, duration: 16 hours). Bar = 100 µm.

Fig. 3. Effect of the acclimatization temperature on the pollen germination rate with stored pollen. Stored pollen of the sweet cherry ‘Napoleon’ was acclimated at relative humidity 90%. Vertical bars indicate SE (n = 5). Statistical analyses were conducted after angular transformation of the data. Different letters indicate significant differences among means according to Tukey-Kramer’s multiple range test ($p < 0.05$)

47.1%で最も高い値を示したのに対して、20°Cの発芽率は31.5%で4°Cの発芽率より有意に低下した。さらに25°Cの発芽率は7.9%、30°Cの発芽率は0.0%となり、ともに20°Cの発芽率に対して有意な差が認められた。

このように、甘果オウトウの貯蔵花粉は90%RH・2時間の順化であれば温度条件に関係なく花粉の発芽率は有意に上昇した。2時間の順化では温度条件による有意な差は認められなかった。一方、90%RH・12時間の順化では、順化温度が高いほど花粉の発芽率は低下した。12時間の順化は4°Cが最も優れ、順化温度による有意な差が認められた。

2. 貯蔵花粉の順化条件が結実に及ぼす影響（試験2）

順化条件が異なる貯蔵花粉を受粉して、結実率に及ぼす影響を調査した。出庫直後の花粉の発芽率は6.1%であったが、慣行の方法（温度と相対湿度は成り行き（平均温度21°C・平均相対湿度52%・16時間）で順化すると15.1%に上昇した。90%RHの多湿条件で2時間順化すると54.1%に上昇したが、30%RHの乾燥した条件の順化では13.5%に留まった。それぞれの条件で順化した貯蔵花粉を使って人工受粉した結実率は、慣行区が2.5%、多湿区は17.2%、乾燥区が6.1%であった。多湿条件で順化した場合の結実率は、慣行法による順化や乾燥条件で順化した場合より高かった（第1表）。

Table 1. Effects of the acclimation conditions of stored pollen on the fruit bearing rate of sweet cherries.

Treatment	Acclimatization conditions (Temperature, Relative humidity, Duration)	Germination rate (%)	Fruit bearing rate (%) ^z	
			No. 1	No. 2 ^y
High humidity	(20°C, 90%RH, 2 h)	54.1 ± 1.3 ^w a ^v	23.8 ^u	10.6
Dry	(20°C, 30%RH, 2 h)	13.5 ± 1.9 b	5.9	6.2
Conventional method	(21°C, 52%RH, 16 h) ^x	15.1 ± 1.5 b	2.1	2.8

^z Single pollination using hand-pollinator equipment in the full bloom stage.

^y Fruit bearing rate indicates results from two trees.

^x Temperature and relative humidity during acclimation were not artificially controlled.

^w Mean ± SE (n = 5).

^v Statistical analyses were conducted after angular transformation of the data. Values with different letters in the columns indicate significant differences ($P < 0.01$) using Tukey-Kramer’s multiple range test.

^u Since our experiment regarding the fruit bearing rate of sweet cherries was performed only on two trees, statistical analysis was not carried out.

考 察

一般に、貯蔵花粉はシリカゲルなどの乾燥剤とともに乾燥した状態が保たれ、 -30°C 以下の低温で保存される。これにより花粉の生理活性はほとんど休止すると考えられている。しかし、出庫後の貯蔵花粉を発芽培地に置床しても発芽率は低いため、花粉の発芽能力を上昇させる目的で順化作業が行われている（加藤, 2001）。細木（2012）も、テッポウユリの花粉を用いた実験で、相対湿度 0%の乾燥条件で貯蔵した花粉を直ちに液体発芽培地に置床しても全く発芽しないが、徐々に吸湿させると発芽率が上昇することを報告している。これは、極度に乾燥した花粉が発芽培地上で急激に吸水することで物理的に障害を受けたり、花粉内の原形質流動が乱されたりして、発芽能力が失われるためと考えられている（岩波, 1980）。本研究で試験した甘果オウトウにおいても、貯蔵花粉の発芽率は、一定の条件で順化すると出庫直後よりも上昇することを確認した。これは、吸湿によって前述のような障害が回避されるためと考えられる。

石渡ら（1966）は、ニホンナシの花粉貯蔵法について調査し、貯蔵花粉の発芽率は出庫後の吸湿状態により変化することを報告している。一般的に順化は時間をかけて徐々に吸湿させることが望ましいとされ、石渡ら（1966）も貯蔵花粉の吸湿法として、使用前日の夕刻とり出して室温で吸湿させ、翌日使用する方法が良いとしている。本研究では多湿条件下で短時間に吸湿を行ったが、それによる発芽率の低下は認められなかった。また過剰な吸湿によって花粉が団粒化するような不具合も観察されなかった（データ略）。

一方、乾燥した条件となる 30%RH の 2～4 時間の順化では、出庫直後の発芽率と有意な差は認められなかった。このことから、石渡ら（1966）が、発芽率の向上には好適含水量に近づけることが必要であると示しているように、順化の効果が発現するには一定以上の湿度が必要で、30%RH では発芽率の向上効果は得られないと考えられた。また、90%RH で 12 時間順化すると、2 時間、4 時間の順化に比べて発芽率の低下が認められ、順化温度が高いほど発芽率は低下した。このことから、順化すると花粉の生理活動が活発になり、長時間順化することで呼吸などの代謝により花粉の養分が消耗し、発芽が阻害された可能性が示唆された。

本試験によって得られた甘果オウトウの貯蔵花粉を多湿条件下で順化すると花粉発芽率が上昇するという結果は、萩原（2013）がニホンスモモで同じように試験した結果と一致するが、いずれの試験とも花粉発芽率の検定は発芽培地上で行われているため、実際に受粉した場合の発芽率とは異なる可能性がある。そこで、貯蔵花粉の順化方法の違いが結実率に及ぼす影響を調査したところ、貯蔵花粉を多湿条件下で 2 時間順化して人工受粉すると、慣行の方法（温度成り行き（平気温度 21°C ）、湿度成り行き（平均相対湿度

52%）、16 時間）や乾燥した条件（30%RH）で順化した花粉を使って受粉した場合に比べて結実率は向上した。萩原（2013）も貯蔵花粉の順化方法の違いが結実率に及ぼす影響についてニホンスモモと比較し、甘果オウトウと同様に多湿条件下で順化した花粉で受粉すると結実率が優れることを確認している。このことから、貯蔵花粉を受粉前に多湿条件下で順化させることは、結実率の向上に有効な方法であることが示唆された。

慣行の順化方法では、受粉前日に貯蔵花粉を低温庫から出庫し、室内で一晩吸湿させる方法がとられている（山梨県果樹園芸会, 1988）。しかし、この方法は相対湿度や温度などの順化条件が一定でなく、花粉の発芽率に差が生じやすい。また、前日から花粉を準備するため、受粉当日に天候が不良になった場合、順化した花粉が劣化するなどの問題があった。本研究で試験したように多湿条件下で順化を行えば、毎回一定の条件で順化することが可能となる。90%RH の多湿条件下では 2 時間程の短時間で順化が完了するので、受粉当日の気象条件を確認してから人工受粉に使う花粉を準備することができ、貴重な貯蔵花粉を有効に利用できる。

以上のことから、甘果オウトウの貯蔵花粉は 90%RH の多湿条件下に置いて 2 時間順化すれば、短時間で発芽率が上昇する。また、多湿条件下で順化した花粉を受粉に用いると結実率が向上することが明らかとなり、甘果オウトウの生産安定に資する有益な技術であると考えられた。

摘 要

甘果オウトウの結実向上を目的に、貯蔵花粉の順化方法が花粉活性と結実率に及ぼす影響について試験した。 -30°C の低温で保存された貯蔵花粉の発芽率は、出庫直後 14.0%であった。90%RH の条件で 2 時間順化すると、発芽率は大幅に上昇し 42.4%になった。順化時間 4 時間までは発芽率に差がなく 45.9%になった。90%RH の多湿な条件下で順化すると、短時間で高い発芽率の向上が得られた。一方、30%RH の乾燥した条件において、4 時間までの順化では、花粉発芽率に順化時間による有意な差はなかった。本試験で最も発芽率の上昇が認められた 90%RH の条件で、順化温度が花粉発芽率に及ぼす影響を調査したところ、2 時間の順化において、 4°C では 41.0%、 20°C は 42.4%、 25°C は 43.8%で、同程度の発芽率となった。順化時間が 12 時間になると 25°C では発芽率が急激に低下し 7.9%になった。順化方法の違いによる結実率への影響について見ると、慣行の方法で順化した貯蔵花粉を使った人工受粉の結実率は 2.5%であった。90%RH の多湿な条件下で 2 時間順化した貯蔵花粉を使って人工受粉すると、結実率は 17.2%であった。以上のことから、貯蔵花粉を 90%RH の条件で 2 時間順化すると高い発芽率が得られた。また、その花粉を使って人工受粉すると結実率も向上することが明らかとなった。

引用文献

- 浅見与七. 1937. 不親和に依る不結實性. p. 97–153. 果樹栽培汎論. 結實編. 養賢堂. 東京.
- 遠藤 久. 1991. オウトウ栽培の現状と問題点. オウトウの施設栽培. 園芸学会平成3年度秋季大会シンポジウム講演要旨 : 39–48.
- 深井尚也. 1999. 結実の確保. p. 74–81. 深井尚也編著. オウトウ・西洋ナシ栽培技術. 養賢堂. 東京.
- 萩原栄揮. 2013. スモモの貯蔵花粉の順化方法と受粉時間帯の影響. 68: 63–67. 果実日本.
- 林 真二・脇坂幸雄. 1966. ナシ貯蔵花粉の実用化に関する研究. 園学要旨. 昭41秋 : 7–8.
- 細木高志. 2012. 花粉発芽の研究. テッポウユリ花粉の貯蔵花粉による発芽低下と吸湿による上昇およびボタン・シャクヤク花粉の低い発芽適温. 農業および園芸. 87: 1044–1052.
- 今川昌平・山西久夫・柴 寿・西沢秀治・天野良彦. 1990. オウトウの施設栽培に関する研究 (第1報) 貯蔵花粉による結実確保. 園学雑. 59 (別2) : 114–115.
- 石渡英夫・大野敏朗・安間貞夫・大野武男. 1966. ナシ花粉の長短期貯蔵法について. 園学要旨. 昭41秋 : 5–6.
- 岩波洋造. 1980. 花粉の採取と貯蔵. p. 155–162. 花粉学. 講談社サイエンティフィク. 東京.
- 加藤 恵. 2008. 溶液授粉技術を利用したナシの着果管理の効率化. 63: 34–37. 果実日本.
- 加藤 修. 2001. ナシ・西洋ナシ. 人工受粉. 技 p. 27–30 の4. 農業技術大系果樹編3. 農文協. 東京.
- 森 英男. 1937. 日本李の自家並に交配授粉に関する研究. (第1報) 特にソルダムの授粉について. 園学雑. 8: 311–326.
- 長野県・全国農業協同組合連合会長野県本部. 2006. 花粉媒介虫の保護利用. 果樹指導指針. p. 60–62. 長野県・全国農業協同組合連合会長野県本部. 長野.
- 永澤勝雄. 1942. 果樹の受精作用. p. 286–316. 果樹園藝汎論. 明文堂. 東京.
- 中川昌一. 1978. 昆虫授粉・人工授粉. p. 90–99. 果樹園芸原論. 養賢堂. 東京.
- 佐竹正行・矢野和男. 1993. 休眠期から開花結実期の作業. p. 46–64. オウトウの作業便利帳. 農文協. 東京.
- 新谷勝広・富田 晃・池田二三高・萩原栄揮・渡辺晃樹・猪股雅人・光畑雅宏. 2011. 核果類の加温栽培における受粉作業へのマルハナバチの利用. 山梨果試研報. 12: 67–76.
- 渡部俊三. 1990. さくらんぼの栽培技術 (6) 結実管理. p. 101–112. 山形のさくらんぼ・西洋なし. 自費出版.
- 山梨県果樹園芸会. 1988. 結実の確保. p. 34–41. スモモ栽培の手引き. 山梨県果樹園芸会. 山梨.