軟 X 線照射花粉の受粉がカキの種子形成, 結実, および果実品質に及ぼす影響

尾形凡生^{1*}・大森健太郎¹・加島麻衣子¹・草島裕也¹・濱田和俊¹・
長谷川耕二郎¹・山根信三¹・廣瀬拓也^{2,3}・杉山慶太⁴

¹ 高知大学農学部 783-8502 高知県南国市物部乙

² 高知県農業技術センター果樹試験場 780-8064 高知市朝倉丁

³ 愛媛大学大学院連合農学研究科 790-8566 愛媛県松山市樽味

⁴ 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 北海道農業研究センター 062-8555 札幌市豊平区羊ヶ丘

Influences of Pollination with Soft-X-Irradiated Pollen on Seed Formation, Fruit Set, and Fruit Quality in Persimmon

Tsuneo Ogata^{1*}, Kentaro Ohmori¹, Maiko Kashima¹, Yuya Kusajima¹, Kazutoshi Hamada¹,
Kojiro Hasegawa¹, Shinzo Yamane¹, Takuya Hirose^{2,3} and Keita Sugiyama⁴

¹ Faculty of Agriculture, Kochi University, Monobe-B, Nankoku, Kochi 783-8502

² Kochi Prefectural Agriculture Research Center Fruit Tree Experiment Station, Asakura-D, Kochi, 780-8064

³ The United Graduate School of Agricultural Sciences, Ehime University, Tarumi, Matsuyama, Ehime 790-8566

⁴ NARO Hokkaido Agricultural Research Center, Toyohira, Sapporo, Hokkaido 062-8555

Abstract

Pollination with soft-X-irradiated pollen caused the disappearance of almost all complete seeds in harvested fruit, resulting in the transformation into empty seeds, in 7 persimmon cultivars: ‘Fuyu’, ‘Matsumoto-Wase-Fuyu’, ‘Izu’, ‘Taishuu’, ‘Maekawa-jiro’, ‘Saijo’, and ‘Zenjimarū’. Although the ovules that formed by pollination with irradiated pollen normally developed just as non-irradiated ones until 2 weeks after pollination, severe abnormality in endosperm tissue and the cessation of embryo development were observed at 4 weeks after pollination. Setting rates of fruit formed by pollination with irradiated pollen were not different from ones with non-irradiated pollen in ‘Saijo’, ‘Zenjimarū’, or ‘Matsumoto-Wase-Fuyu’; a significant decline in the fruit setting rate occurred in ‘Taishuu’ pollinated with 1,000 Gy-irradiated pollen grains, and in ‘Fuyu’, ‘Maekawa-jiro’ and ‘Izu’ pollinated with 500 and 1,000 Gy-irradiated pollen grains. Pollination with irradiated pollen decreased the harvested fruit weight, width, and length in ‘Saijo’ and the length in ‘Fuyu’; in other cultivars, the fruit weight and size were not influenced on pollination with irradiated pollen. Regarding the juice Brix, flesh firmness, and rind color of harvested fruits, there were no significant differences between irradiated and non-irradiated pollination in any of the cultivars. Pollination with irradiated pollen reduced stylar-end cracking in ‘Maekawa-Jiro’ fruits, possibly resulting in the disappearance of large complete seeds. These results indicate that pollination with soft-X-irradiated pollen would be available for practical seedless or few seeded fruit production in persimmon.

Key Words : complete seed, empty seed, fruit setting rate, ovule abortion, stylar-end cracking

キーワード : 着果率, 胚珠の発達停止, 果頂裂果, 完全種子, しいな

緒 言

果実の無核性は消費者に強く求められる形質であり、大きすぎたり堅かったりして飲み込めない種子や、噛んだときに渋味で食感を損ねるような種子は、あらかじめ除去するか、あるいは、食べる際に種子だけ吐き出さなければなら

ず、その手間が嫌われる。また、調理や加工時に、果実が無核であれば、カットがしやすく、種子由来の夾雑物を取り除くプロセスが不要となる。そのため、これまで数多くの園芸作物種で、無核系統の探索・育成や植物ホルモン処理などによる人為的無核果誘導技術の開発研究がなされてきた。

Sugiyama・Morishita (2000a,b) は、スイカにおいて、軟 X 線照射花粉を二倍体品種の雌蕊に人工受粉したとき、完全種子が退化して小型のしいな状種子となり、実用上の無核果実が作出できることを示した。この方法は、完全種子数以外の果実品質をほとんど損なうことなく慣行の二倍体

2015 年 7 月 13 日 受付. 2015 年 10 月 30 日 受理.
本報告の一部は、園芸学会平成 20 年度春季大会で発表した。
本研究の一部は、平成 17～19 年度生物系特定産業技術支援センター異分野融合研究事業により実施した。

* Corresponding author. E-mail: fsogata@kochi-u.ac.jp

品種を無核化できることに最大の特徴があり、三倍体品種への二倍体花粉の受粉による種子形成不全の性質を利用した種なしスイカ果実の生産に比べて、品種育成に要していた期間や三倍体種子生産にかかる作業を不要にする。この軟X線照射花粉による無核化は‘土佐文旦’、ヒュウガナツなどのカンキツ類でも成功しており（Ogata ら, 2008; 尾形ら, 2010; 小原ら, 2008）、広範の作物へ展開できる可能性が示されている。

カキは‘平核無’などの無核品種が存在し、ある程度の単為結果性を備えた品種も多い。しかし、単為結果性の高い品種であっても、受粉を行うと生理落果が減少して結実が安定する効果があるため（傍島, 1979; 傍島ら, 1975）、多くの経済品種で、受粉樹の混植、あるいは媒介昆虫の導入や人工受粉の実施など、確実に受粉を行わせる方策がとられており、受粉を徹底することは種子数を増加させることにつながる。栽培カキは通常8子室で、すべての子室に種子が形成されるとは限らないから、特段に種子の多い果樹とはいえないが、大きな種子が可食部の中ほどに位置するので、食べる際に果実を切り分けて種子を取り出すか、あるいは、食べながら種子を吐き出さねばならない。従って、結実を損なうことなく安定して有核品種果実を無核化できるならば、その意義は大きいといえる。

本研究は、花粉への軟X線照射による無核化技術がカキに対しても有効であることを明らかにするため、種子形成力や単為結果力の異なる7品種のカキを用い、軟X線照射花粉の受粉が着果率、種子数、およびその他の果実品質に及ぼす影響を調査した。また、受粉後の胚珠の発達過程について、光学顕微鏡で観察した。

加えて、‘前川次郎’では、軟X線照射花粉の受粉により果頂裂果が付带的に抑制されたので、このことも併せて記載した。

材料および方法

種子形成力や単為結果力の異なるカキ品種を用いて試験するために、高知大学農学部および高知県果樹試験場で栽培しているカキ品種の中から、広島県果樹試験場（1979）や山田（2000）の品種特性の記載を参考に、種子形成力と単為結果力の異なる代表的品種として、‘富有’、‘松本早生富有’、‘伊豆’、‘太秋’、‘西条’、‘前川次郎’および‘禅寺丸’の7品種を選んで供試した。

2007年に高知大学農学部栽植の27年生‘松本早生富有’5樹、27年生‘前川次郎’5樹、および高知県果樹試験場栽植の19年生‘太秋’3樹を、2008年には高知大学農学部栽植の28年生‘富有’3樹、22年生‘伊豆’3樹、27年生‘西条’5樹を、2013年には高知大学農学部栽植の31年生‘禅寺丸’5樹を用いて軟X線照射花粉の受粉試験を行った。記載した樹齢はそれぞれ受粉試験当年のものである。

花粉は各年とも‘禅寺丸’の開花前の雄花花蕾から採取した。採取直後の花粉に対して、農業用軟X線照射装置

（Unit OM-B205,（株）オーミック、照射線量15 Gy／分）により、500 Gy および 1000 Gy の軟X線照射処理を行った。照射線量は照射時間により設定した（500 Gy 照射区：33分20秒照射、1000 Gy 照射区：66分40秒照射）。照射処理後、一部の花粉を取り分けて、スライドガラス上の寒天培地（15%ショ糖、0.01%ホウ酸、1%寒天含有、pH 5.5）に撒き、25°Cの湿室内で12時間および24時間培養した。花粉の直径以上に花粉管が伸長したものを発芽したとみなし、500粒以上の花粉について発芽率を調査した。調査は3回反復した。残りの照射花粉は、人工受粉時まで-20°Cの冷凍庫内で保存した。

各供試樹を開花1週間前に摘蕾して、5葉以下の枝は全摘蕾し、それ以外の結果枝には1花蕾を着生させた。摘蕾後に3～6個の花蕾が着生している結果母枝を1樹当たり無作為に16本選び、4結果母枝を1区として、各樹に無照射花粉受粉区、500 Gy 照射花粉受粉区、1000 Gy 照射花粉受粉区、および花粉遮断区の4処理区を設定した。開花前に、結果母枝に着生している全部の雌花に半透明の7×6 cm パラフィン紙製小袋を被せ、開花が視認でき次第、水彩画用絵筆を用いて人工受粉を行った。人工受粉した花には再び小袋をかけ直し自然受粉を防止した。花粉遮断区の花蕾は、開花期間中被袋させたまま無受粉とした。袋は開花終了後に除去した。なお、2013年の‘禅寺丸’への軟X線照射花粉処理は500 Gy 照射区のみとした。

処理果実は、受粉11週間後まで毎週着生果実数を調査し（‘禅寺丸’のみ、受粉14週目まで2週間ごと調査）、着果率を算出した。

胚珠の発達状況の観察は、‘禅寺丸’を除く6品種を用いて、無照射花粉、500 Gy および 1000 Gy 照射花粉の受粉果各20果、および花粉遮断した果実20果を用意し、受粉処理2、4および8週間後に5果ずつ採取して顕微鏡による胚珠の観察を行った。採取した果実はFAAで固定し、胎座付近を摘出して種子の10 μm 厚パラフィン切片を作成した。切片は1%酸性フクシンと0.1%ファストグリーンで2重染色し、光学顕微鏡（BX-50, オリンパス（株））で観察した。

収穫は、品種ごとに果実外観より収穫適期とみなせる日に4処理区一斉に行い、収穫果は、果実重、果実径、果皮色（果実カラーチャートカキ全般用、富士平工業（株））、果汁糖度（デジタル糖度計PR-101,（株）アタゴ）、果肉硬度（果実硬度計KM-5,（株）藤原製作所）および種子数を調査した。種子の計数は、外観の正常な完全種子としない状の不完全種子に区分して行い、不完全種子はさらに、縦径10 mm 以上、5～10 mm、および5 mm 以下の3つに区分した。これらの調査以外に、‘前川次郎’については果頂裂果の発生程度についても併せて調べた。

数値データは、発芽率以外、樹ごとに平均して樹数を反復数とするTukeyの多重検定（JSTAT ver.16.1）で解析した。なお、花粉発芽率と着果率については角変換した

第1図 軟X線照射花粉の受粉および花粉遮断処理がカキ7品種の着果率に及ぼす影響

縦棒は標準誤差 (n=5, 富有, 太秋, 伊豆は n=3)

右端のアルファベットの異なる文字間には, 受粉11週間後(禅寺丸は14週間後)の着果率に, Tukeyの多重検定による有意差あり(5%)

値を解析に用いた。

結 果

花粉発芽試験においては、軟 X 線照射処理花粉と無照射花粉の間に発芽率の差は認められなかった（第 1 表）。

各品種の着果率は、仕上げ摘果実施前の調査終了時点（受粉 11 週間後 [7 月末～8 月初旬]，‘禪寺丸’のみ受粉 14 週間後 [8 月下旬]）まで第 1 図のように推移した。最終調査日の着果率について処理区間の有意差検定を行ったところ，‘松本早生富有’，‘西条’および‘禪寺丸’は、軟 X 線照射区と無照射区との間に有意な差はなかった。

一方，‘太秋’では，500 Gy 照射区の着果率は無照射区と差がないものの 1000 Gy 照射区は無照射区に比べて有意に

第 1 表 ‘禪寺丸’ 花粉への軟 X 線照射処理が花粉発芽率に及ぼす影響

処理区	12 時間後発芽率 (%)	24 時間後発芽率 (%)
無照射	41.4 ± 2.8 ^z ns ^y	66.1 ± 4.8 ns
500 Gy 照射	54.9 ± 8.2 ns	73.8 ± 4.2 ns
1000 Gy 照射	43.1 ± 4.8 ns	65.1 ± 3.8 ns

^z 標準誤差 (n = 3)

^y ns : Tukey の多重検定で処理区間に有意差なし (5%)

第 2 図 軟 X 線照射花粉を受粉した‘前川次郎’果実における種子形成
左から無照射区，500 Gy 照射区，1000 Gy 照射区，花粉遮断区
各果実の右側の種子は，同じ処理区の他の果実から取りだしたもの

第 2 表 軟 X 線照射花粉の受粉および花粉遮断処理がカキ 7 品種の収穫果中の種子数に及ぼす影響

品種	処理区	完全種子数 (個)	不完全種子数 (個)		
			縦径 10 mm 以上	縦径 5 ～ 10 mm	縦径 5 mm 以下
富有	無照射	5.8 ± 0.2 ^z	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.1	1.5 ± 0.2
	500 Gy 照射	0.8 ± 0.2	1.8 ± 0.2	2.9 ± 0.3	2.0 ± 0.8
	1000 Gy 照射	0	0.9 ± 0.1	3.2 ± 1.5	2.7 ± 2.5
	花粉遮断	0	0	0	0
松本早生富有	無照射	4.3 ± 2.1	0	1.8 ± 1.0	1.0 ± 0.5
	500 Gy 照射	0	4.5 ± 2.3	3.0 ± 1.7	0.3 ± 1.7
	1000 Gy 照射	0	4.7 ± 3.3	1.3 ± 0.9	1.0 ± 0.5
	花粉遮断	0	0	0	0
伊豆	無照射	3.3 ± 0.3	0	0.3 ± 0.1	3.1 ± 0.3
	500 Gy 照射	0	0.4 ± 0.2	1.8 ± 0.6	3.5 ± 0.8
	1000 Gy 照射	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	1.3 ± 0.5	5.4 ± 0.8
	花粉遮断	0	0	0	0
太秋	無照射	2.6 ± 0.6	0	0.5 ± 0.6	3.2 ± 1.3
	500 Gy 照射	0	0	3.4 ± 0.5	3.4 ± 1.7
	1000 Gy 照射	0	0.2 ± 0.2	3.8 ± 1.2	2.8 ± 1.2
	花粉遮断	0	0	0	0
前川次郎	無照射	4.1 ± 1.6	0.9 ± 0.2	1.1 ± 0.4	1.0 ± 0.4
	500 Gy 照射	0	0	3.4 ± 1.4	3.6 ± 1.0
	1000 Gy 照射	0	0	2.0 ± 0.9	4.5 ± 1.3
	花粉遮断	0	0	0	0
西条	無照射	3.3 ± 0.3	0.1 ± 0.1	0.4 ± 0.1	2.9 ± 0.3
	500 Gy 照射	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	1.5 ± 0.3	5.2 ± 0.4
	1000 Gy 照射	0.6 ± 0.2	0.1 ± 0.0	1.2 ± 0.2	4.9 ± 0.4
	花粉遮断	0	0	0	0
禪寺丸	無照射	5.5 ± 0.4	0	0	0.8 ± 0.1
	500 Gy 照射	0	1.0 ± 0.4	1.5 ± 0.4	2.8 ± 0.9
	花粉遮断	0	0	0	0

^z 標準誤差 (n = 5, 富有, 太秋, 伊豆は n = 3)

第3図 軟X線照射花粉を受粉処理した‘富有’果実における種子形成
左から無照射区, 500 Gy 照射区, 1000 Gy 照射区

着果率が低くなり, さらに‘富有’, ‘前川次郎’, および‘伊豆’の3品種では500 Gy, 1000 Gy 照射区とも着果率は無照射区に比べて低下した.

収穫果実中の種子は, いずれの品種でも, 軟X線照射

区では完全種子がほぼ消失していた(第2, 3図, 第2表). その一方で, 軟X線照射区では中身が空洞で扁平な種皮のみの不完全種子が多くなる傾向があり, ‘松本早生富有’と‘富有’では, 縦径10 mmを超えるしいな状種子が残存した.

胚珠の組織観察においては, 受粉1週間後には軟X線照射区, 無照射区ともに遊離型細胞分裂期にある胚乳組織が(第4図A, B), また, 受粉2週間後には造壁型胚乳細胞が観察され(第4図C, D), この時期までの胚珠の発達には軟X線照射区と無照射区に差は認められなかった. しかし, 受粉4週間後においては, 無照射区では胚乳は健全で胚の発達成長が認められるのに対して(第4図E), 軟X線照射区では, 健全な胚乳組織が消滅して, 胚乳が存在していた部分には細胞の小さな胚乳とは別形状の組織が占める異常が発生するとともに, 胚はまだ存在するものの明らかに成長が停滞していた(第4図F, G). 軟X線照射区における受粉4週間後の胚珠の発達不全は, 観察したいずれの品種にも共通して認められた. 無照射区では, 受粉8週間後には健全な魚雷型胚が観察された(第4図H).

第3表 軟X線照射花粉の受粉および花粉遮断処理がカキ7品種の収穫果実の果実重と果実径に及ぼす影響

品種	処理区	果実重 (g)	果実横径 (長径) (mm)	果実横径 (短径) (mm)	果実縦径 (mm)
富有	無照射	177.4 ± 5.1 ^z ns ^y	75.5 ± 0.7 ns	72.4 ± 0.7 ns	53.8 ± 0.5 a
	500 Gy 照射	167.4 ± 5.8 ns	74.5 ± 0.7 ns	71.7 ± 0.6 ns	51.5 ± 0.6 b
	1000 Gy 照射	179.2 ± 10.7 ns	77.1 ± 1.4 ns	73.0 ± 1.6 ns	51.5 ± 1.0 ab
	花粉遮断 ^x	—	—	—	—
松本早生富有	無照射	215.1 ± 17.3 ns	81.2 ± 2.1 ns	77.5 ± 2.0 ns	57.0 ± 2.6 ns
	500 Gy 照射	166.7 ± 23.8 ns	74.6 ± 3.4 ns	71.8 ± 4.0 ns	50.0 ± 2.1 ns
	1000 Gy 照射	180.7 ± 23.7 ns	77.8 ± 4.9 ns	72.8 ± 4.3 ns	52.1 ± 2.9 ns
	花粉遮断 ^x	—	—	—	—
伊豆	無照射	164.6 ± 5.3 ns	76.2 ± 0.9 ns	73.3 ± 0.9 ns	47.0 ± 0.6 ns
	500 Gy 照射	171.4 ± 9.4 ns	77.1 ± 1.6 ns	74.8 ± 1.6 ns	47.0 ± 1.1 ns
	1000 Gy 照射	166.0 ± 3.5 ns	78.0 ± 2.0 ns	73.3 ± 2.1 ns	46.8 ± 1.1 ns
	花粉遮断	196.4 ± 22.3 ns	81.9 ± 3.2 ns	78.3 ± 2.6 ns	48.5 ± 3.6 ns
太秋	無照射	321.1 ± 18.6 ns	91.4 ± 2.0 ns	89.0 ± 1.8 ns	64.5 ± 1.2 ns
	500 Gy 照射	291.4 ± 11.6 ns	88.2 ± 1.1 ns	86.7 ± 1.0 ns	61.6 ± 1.0 ns
	1000 Gy 照射	306.0 ± 15.4 ns	90.2 ± 1.9 ns	88.0 ± 1.8 ns	62.2 ± 0.9 ns
	花粉遮断	333.2 ± 40.4 ns	92.6 ± 3.8 ns	90.9 ± 4.0 ns	64.5 ± 2.7 ns
前川次郎	無照射	229.5 ± 10.9 ns	84.0 ± 1.4 ns	80.9 ± 1.4 ns	54.9 ± 0.8 a
	500 Gy 照射	202.7 ± 13.5 ns	81.0 ± 1.6 ns	77.0 ± 1.8 ns	51.9 ± 1.3 ab
	1000 Gy 照射	210.1 ± 12.5 ns	81.6 ± 1.5 ns	77.3 ± 1.3 ns	53.1 ± 1.1 ab
	花粉遮断	204.0 ± 9.3 ns	81.7 ± 1.0 ns	76.7 ± 1.9 ns	50.8 ± 0.8 b
西条	無照射	160.5 ± 3.9 a	62.2 ± 0.7 ns	59.8 ± 0.6 a	71.9 ± 0.6 ns
	500 Gy 照射	136.7 ± 4.4 b	59.4 ± 1.1 ns	56.1 ± 0.7 b	71.0 ± 0.7 ns
	1000 Gy 照射	144.0 ± 4.2 b	59.5 ± 0.8 ns	57.4 ± 0.8 b	71.1 ± 0.8 ns
	花粉遮断	140.3 ± 3.5 b	59.8 ± 0.6 ns	57.0 ± 0.6 b	70.1 ± 0.8 ns
禅寺丸	無照射	153.3 ± 19.7 ns	71.6 ± 4.5 ns	69.4 ± 4.0 ns	51.5 ± 3.6 ns
	500 Gy 照射	141.7 ± 12.6 ns	67.8 ± 2.5 ns	64.7 ± 2.3 ns	53.2 ± 2.8 ns
	花粉遮断	178.8 ± 21.2 ns	74.3 ± 3.9 ns	57.9 ± 3.4 ns	55.7 ± 2.1 ns

^z 標準誤差 (n=5, 富有, 太秋, 伊豆は n=3)

^y 各品種の処理区間において異なる文字間には Tukey の多重検定による 5% の有意差あり ns は有意差なし

^x 生理落果による果実数不足のため測定せず

第4図 無照射花粉および軟X線照射花粉を受粉した‘富有’の胚珠の発達

A: 受粉1週間後の無照射区胚珠, B: 受粉1週間後の1000 Gy照射区胚珠, C: 受粉2週間後の500 Gy照射区胚珠, D: 受粉2週間後の1000 Gy照射区胚珠, E: 受粉4週間後の無照射区胚珠における胚の発達, F: 受粉4週間後の500 Gy照射区胚珠における胚と胚乳の発達不全, G: 受粉4週間後の1000 Gy照射区胚珠における胚と胚乳の発達不全, H: 受粉8週間後の無照射区胚珠における胚の発達 em: 胚 es: 胚乳 abt: 異常組織

果実重, 果実径, 糖度, 果肉硬度, 果皮色については, ‘西条’で軟X線照射区は無照射区より果実重および果実横径が小さくなり, また, ‘富有’で500 Gy照射区の果実縦径が小さくなったが, それ以外の調査項目には軟X線照射区と無照射区との間に有意な差は認められなかった(第3表, 第4表)。

‘前川次郎’では収穫果に果頂裂果が発生したが, 軟X線照射区は無照射区に比べて裂果の程度が著しく軽減された(第5図, 第5表)。

考 察

スイカ(Sugiyama・Morishita, 2000a,b)やカンキツ(Ogataら, 2008; 尾形ら, 2010; 小原ら, 2008)と同様に, カキにおいても, 軟X線照射花粉の受粉によって, 収穫果実中の完全種子数を著しく減少させることができた。

Sugiyama・Morishita(2000b)は花粉への軟X線照射がスイカの種子形成阻害をもたらす主要因は, 軟X線照射によって花粉生殖核の染色体に損傷や配列変化が生じることであろうとしている。生殖核のダメージの有無については今のところそれを直接解析することはできないが, そこ

第4表 軟X線照射花粉の受粉および花粉遮断処理がカキ7品種の収穫果実の果汁糖度、果肉硬度および果皮色に及ぼす影響

品種	処理区	果汁糖度 (°Brix)	果肉硬度 (kg・cm ⁻²)	果皮色 (カラーチャート値)
富有	無照射	15.0 ± 0.1 ^z ns ^y	1.4 ± 0.1 ns	4.8 ± 0.1 ns
	500 Gy 照射	15.4 ± 0.2 ns	1.0 ± 0.1 ns	4.7 ± 0.1 ns
	1000 Gy 照射	15.7 ± 0.4 ns	1.4 ± 0.1 ns	4.8 ± 0.1 ns
	花粉遮断 ^x	—	—	—
松本早生富有	無照射	14.5 ± 0.2 ns	1.7 ± 0.2 ns	4.6 ± 0.4 ns
	500 Gy 照射	14.4 ± 0.4 ns	0.9 ± 0.4 ns	4.3 ± 0.6 ns
	1000 Gy 照射	15.2 ± 0.1 ns	1.2 ± 0.2 ns	4.1 ± 0.4 ns
	花粉遮断 ^x	—	—	—
伊豆	無照射	16.1 ± 0.1 ns	1.6 ± 0.1 ns	4.1 ± 0.1 ns
	500 Gy 照射	16.7 ± 0.5 ns	1.5 ± 0.5 ns	4.2 ± 0.1 ns
	1000 Gy 照射	16.4 ± 0.5 ns	1.7 ± 0.8 ns	3.9 ± 0.3 ns
	花粉遮断	16.7 ± 1.3 ns	1.4 ± 0.5 ns	4.3 ± 0.5 ns
太秋	無照射	17.2 ± 0.5 ns	0.9 ± 0.0 ns	3.8 ± 0.2 ns
	500 Gy 照射	16.4 ± 0.3 ns	1.3 ± 0.1 ns	3.4 ± 0.3 ns
	1000 Gy 照射	16.3 ± 0.7 ns	1.2 ± 0.1 ns	4.0 ± 0.2 ns
	花粉遮断	16.0 ± 0.6 ns	0.9 ± 0.3 ns	4.3 ± 0.6 ns
前川次郎	無照射	14.5 ± 0.4 ns	2.1 ± 0.1 ns	5.0 ± 0.3 ns
	500 Gy 照射	15.5 ± 0.8 ns	1.8 ± 0.2 ns	5.3 ± 0.3 ns
	1000 Gy 照射	15.3 ± 0.4 ns	1.6 ± 0.2 ns	5.4 ± 0.3 ns
	花粉遮断	15.0 ± 0.5 ns	1.5 ± 0.2 ns	5.2 ± 0.3 ns
西条	無照射	16.5 ± 0.1 ns	0.7 ± 0.1 ns	3.0 ± 0.1 ns
	500 Gy 照射	16.9 ± 0.2 ns	1.1 ± 0.1 ns	2.8 ± 0.1 ns
	1000 Gy 照射	16.6 ± 0.2 ns	0.5 ± 0.1 ns	2.5 ± 0.1 ns
	花粉遮断	17.1 ± 0.2 ns	0.7 ± 0.1 ns	2.7 ± 0.1 ns
禅寺丸	無照射	13.4 ± 1.4 ns	1.3 ± 0.4 ns	5.1 ± 0.2 ns
	500 Gy 照射	16.2 ± 0.3 ns	1.0 ± 0.3 ns	4.5 ± 0.6 ns
	花粉遮断	13.8 ± 0.4 ns	1.2 ± 0.2 ns	5.3 ± 0.4 ns

^z 標準誤差 (n=5, 富有, 太秋, 伊豆は n=3)^y ns : 各品種の処理区間に Tukey の多重検定による有意差なし (5%)^x 生理落果による果実数不足のため測定せず 第5図 軟X線照射花粉を受粉処理した‘前川次郎’果実における果頂裂果の状況
左：1000 Gy 照射区 右：無照射区

から派生して種子形成に影響を及ぼす二次的因子のうち、まず、花粉の発芽能力について、Sugiyama・Morishita (2000b) は 1000 Gy, および 2000 Gy の軟X線照射はスイカの花粉発芽を阻害しないとし、小原ら (2008) はヒュウガナツ花

第5表 軟X線照射花粉の受粉が‘前川次郎’の果頂裂果の発生に及ぼす影響

処理区	裂果溝の長さ (mm)
無照射	14.6 ± 3.4 ^z a ^y
500 Gy 照射	2.4 ± 0.7 b
1000 Gy 照射	1.4 ± 1.9 b
花粉遮断	0.4 ± 0.4 b

^z 標準誤差 (n=5)^y 異なる文字間に Tukey の多重検定による有意差あり (5%)

粉に 300 ~ 1000 Gy の軟X線を照射したとき、照射量が大きくなるに従って花粉の発芽率が低下する傾向が見られたとしている。本研究では、500 Gy および 1000 Gy 照射区の花粉発芽率は無照射区と変わらず (第1表)、従って、少なくともこの範囲の線量であれば軟X線照射はカキの花粉発芽を阻害しないものと思われる。

次に、受精について、Sugiyama・Morishita (2002) は、軟X線照射花粉を受粉した場合でも精細胞が卵および極核と接触して胚乳遊離核細胞の形成に至っていることから受精は成立しているとした。また、‘土佐文旦’ (Ogata ら, 2008) やヒュウガナツ (尾形ら, 2010) でも、軟X線照

射花粉を受粉した子房内には、胚乳遊離核分裂を伴う胚乳組織の発達が観察されている。さらに、これらスイカとカンキツの報告のいずれにおいても、完全種子と不完全種子を合わせた総種子数は、軟 X 線照射花粉と無照射花粉のどちらを受粉した場合でもほぼ同じであり、軟 X 線照射処理はスイカやカンキツの受精の成立には影響していないと推察されている。本研究においても、スイカやカンキツの例と同じく、軟 X 線照射花粉を受粉した子房内でも、胚および胚乳組織の初期発達は観察されており、また、形成された総種子数には軟 X 線照射区と無照射区の間に明確な差は認められなかったことから、軟 X 線照射処理は受精の成立自体は阻害していないものと思われる。

受精後の胚珠の発達について、Sugiyama・Morishita (2002) は、スイカでは、無照射花粉を受粉した場合には、受粉 8 ～ 10 日後の胚の発達開始に伴い胚乳組織は徐々に消失し始めるのに、軟 X 線照射花粉を受粉したスイカ果実では胚乳の消失が遅れ 16 日後にも残存していたことから、この時期の胚珠に何らかの不全が生じているものと推測した。‘土佐文旦’ (Ogata ら, 2008) およびヒュウガナツ (尾形ら, 2010) では、受粉 2 週間後の胚乳組織の遊離核分裂期までは軟 X 線照射花粉を受粉した果実でも無照射区と同様に胚珠が発達しているが、受粉 3 ～ 4 週間後の胚乳の造壁型細胞分裂移行期に、軟 X 線照射花粉を処理した果実では造壁型胚乳細胞の出現に至ることなく胚乳組織が消失し、同時期に胚も退化して種皮内が空洞化した。本研究では、第 4 図に示すように、受粉 1 週間後には遊離型胚乳細胞が、また、受粉 2 週間後には造壁型胚乳細胞が軟 X 線照射区と無照射区のいずれの胚珠でも観察されたが、受粉 4 週間後の軟 X 線照射区の胚珠では、受粉 2 週間後に胚珠内の大部分を占めていた胚乳細胞が消滅し、胚乳があった部分には、胚乳とは別の小さな細胞で構成される組織が増殖していた。このような本来あるべき胚乳とは別の組織の形成について、石田ら (1990) は、カキでは無受精あるいは胚の退化した果実では、胚や胚乳が存在しないにもかかわらず珠皮や珠心はある程度発達し、その際、珠心由来と思われる棒状の特異な組織が胚嚢の位置に形成されることを報告している。本研究で観察された胚乳消失後の異常組織も石田ら (1990) の報告した特異組織と類似のものである可能性があり、胚乳の消失に伴って生じていることから癒傷反応的に形成される柔組織であるとも考えられる。受粉 4 週間後の軟 X 線照射区には、胚は依然存在するものの上記の異常組織に囲まれて孤立しており、無照射区の胚と比較して、明らかに発達が遅延、停滞していた。以上のように、スイカやカンキツとは胚珠が退化する発達段階に違いはあるものの、カキでは、およそ受粉 4 週間目頃に起こる胚珠の発達不全により、軟 X 線照射区の種子がしいな化するものと考えられた。受精成立後に受精胚が発育を停止して種子退化を起こしているため、この現象は偽単為結果 (田尾, 2015) に当たるものである。

カキの胚珠の発育不全について、傍島ら (1975) は、種子形成能の低い‘平核無’の胚珠は、受粉 6 ～ 8 日後には胚乳遊離核分裂が観察されるが、胚乳細胞の分裂異常や不規則な細胞膜形成が生じ、受粉 3 ～ 4 週間後より成長が衰えて、その後、萎縮、退化することを報告している。一般的なカキ栽培品種の染色体数は $2n = 90$ であるが、‘平核無’は庄ら (1990) によって $2n = 135$ であることがわかっており、従って‘平核無’の胚珠は異数配偶子の接合によって生じたものと考えられる。本研究の軟 X 線照射区の胚珠の発達不全も、傍島ら (1975) の報告と同じステージに、類似の兆候を見せながら起こっており、胚珠の発達阻害をもたらすメカニズムには共通するところがあるかもしれない。

結実性は、本技術が栽培に活用できるかどうかを判断するための重要な要素となる。第 1 図に示すように、‘禅寺丸’は、果実成長期間を通して軟 X 線照射区と無照射区の間に着果率に差がなく、また、花粉遮断区も無照射区と差のない高い着果率を示した。‘禅寺丸’以外の 6 品種では、花粉遮断区に着果率が無照射区に比べて有意に低く、特に、‘富有’と‘伊豆’の花粉遮断区はほとんどの果実が落果した。‘西条’と‘松本早生富有’では、花粉遮断区に着果率はそれぞれ無照射区の 60% と 30% ほどに低下するが、軟 X 線照射区は無照射区の間に着果率の差はなかった。‘太秋’では、500 Gy 照射区には無照射区と着果率に差がないものの、1000 Gy 照射区は生理落果が多く、着果率は花粉遮断区と同程度であった。‘前川次郎’、‘富有’、および‘伊豆’の 3 品種では、1000 Gy 照射区に加えて 500 Gy 照射区でも無照射区に比べて着果率が有意に低下した。このうち‘前川次郎’の軟 X 線照射による着果率の低下は無照射区の 20 ～ 30% 程度にとどまったが、‘富有’では、無照射区、500 Gy 照射区、1000 Gy 照射区の受粉 11 週間後の着果率がそれぞれ 83%、53%、25% と照射線量が高くなるとともに著しく低下し、また、‘伊豆’では無照射区の受粉 11 週間後の着果率 59% に対して、500 Gy 照射区と 1000 Gy 照射区の着果率はそれぞれ 20% と 12% であった。Kitajima ら (1992) は、‘富有’において、同一樹に受粉果と花粉遮断果とが混在するとき、有核果の平均種子数と無核果の着果率との間に高い負の相関が認められることから、有核果の種子との競合によって無核果の生理落果が促進されているとした。本研究は、1 樹内に軟 X 線照射区と無照射区および実験に用いていない自然受粉による有核果が混在した状態での結実調査であるため、軟 X 線照射花粉受粉果以外が着生しない状況が作れば、ある程度の着果率の向上は可能かもしれない。

収穫果の果実品質のうち、種子数に関しては、先述のとおり、いずれの品種でも、軟 X 線照射によって完全種子がほぼ消失するとともに、軟 X 線照射区には、中身が空洞で扁平な不完全種子が増加した (第 2 表)。これらしいな状不完全種子は概して軟柔で、縦径 5 mm 以下であれば

そのまま食べても食味・食感を損なうことはまずないと思われるが、大きな不完全種子は、完全種子と同じく、消費者からは、食べる際に取り除かなくてはならない異物として認識される可能性が高い。縦径 10 mm を超える不完全種子の残存数は、‘松本早生富有’で特に多く、‘富有’がそれに次いだ。花粉への軟 X 線照射線量を高めると、大型のしいな形成数が減少することがスイカ (Sugiyama・Morishita, 2000a) や ‘土佐文旦’ (小原ら, 2008) で確認されている。‘松本早生富有’において無核化や少核化を目指す場合は、ある程度高い照射線量が必要となろう。また、‘富有’は照射線量を高めると着果率が著しく低下することから、大型のしいな状種子が残存することを許容したうえで、本品種に適用する場合は低線量照射にとどめることが妥当かもしれない。

種子数以外の品質要素については、‘西条’で軟 X 線照射区は無照射区より果実重と果実横径 (短径) が小さくなり、また、‘富有’で 500 Gy 照射区の果実縦径が小さくなった (第 3 表)。カンキツでは、軟 X 線照射処理によって無照射区よりも果実が明らかに小型化するが (Ogata ら, 2008; 尾形ら, 2010; 小原ら, 2008), 一方、スイカにはそのような小型化は生じない (Sugiyama・Morishita, 2000a,b)。カキでは、長谷川・中島 (1990) が ‘前川次郎’ の無種子果は有種子果に比べて小型かつ扁平で種子数が増えるにつれて果重が増加することを報告しているが、北島ら (1993) や牛島ら (2012) は、‘富有’の花粉遮断した無核果と人工受粉した有核果の間に果実重の差はなかったとしており、本研究でも、供試品種のうち、軟 X 線照射花粉の受粉によって有意に果実重が減少したのは ‘西条’のみであった (第 3 表) ことから、少なくともカンキツのように無核化が果実肥大を強く抑制することはないと考えられる。‘西条’は、供試品種中で唯一、花粉遮断区果実が無照射区果実より有意に小果化しており、無核果の肥大が劣るのは当品種の特性といえるかもしれない。果汁糖度、果肉硬度、果皮色の項目については、いずれの品種でも、軟 X 線照射区と無照射区の間で有意な差は検出されず、これら品質要素に照射処理は影響しないものと思われる (第 4 表)。

なお、‘前川次郎’では、収穫果に果頂裂果が発生したが、軟 X 線照射区は無照射区に比べて裂果の程度が著しく軽減された (第 5 表, 第 5 図)。完全甘カキ品種において、有種子果は無種子果に比べて果頂裂果の発生が多く、種子数の増加とともにその程度が著しくなることがわかっており (長谷川・中島, 1990; 山田ら, 1991), 本研究の ‘前川次郎’でも、完全種子の減少が裂果の発生を副次的に抑制したものと考えられる。

以上、本研究により、軟 X 線照射花粉の受粉がカキ果実中の種子形成を抑制し、その結果、完全種子数が著しく減少することが明らかになった。また、品種によって軟 X 線の照射強度に対する反応が大きく異なった。本研究はいずれも単年度試験であるが、カキは結実の年次変動が大き

く (山田ら, 1987), また、結実が日照不足などの環境因子の影響を受けやすいため (梶浦, 1942), 適正な照射線量や摘果量の最適値を求めるためには、連年試験を含む品種ごとのさらなる検討が必要であろう。本法は受粉に当たり、意図しない自然受粉を避けなければならない、受粉樹の除去や、雄花着生品種においては花蕾への袋掛けが必要となる。効率を考えるならば、雄花非着生品種を用いて、大型ネットによる開花期の樹全体の被覆や、訪花昆虫を遮断できる施設栽培での実施が検討されるべきかもしれない。

摘 要

軟 X 線照射花粉の受粉により、供試した ‘富有’, ‘松本早生富有’, ‘伊豆’, ‘太秋’, ‘前川次郎’, ‘西条’および ‘禅寺丸’ のカキ 7 品種すべてにおいて、収穫果実の完全種子がほぼ消失して空洞のしいな状種子となった。軟 X 線照射花粉を受粉したカキの受精胚珠は、受粉 2 週間後までは無照射花粉を受粉した胚珠と同様に発達したが、受粉 4 週間後に著しい胚乳組織の異常と胚の発達停滞が観察された。‘西条’, ‘禅寺丸’, ‘松本早生富有’では、軟 X 線照射花粉受粉果と無照射花粉受粉果との間に着果率の差はなかったが、‘太秋’は 1000 Gy 照射区で着果率が低下し、‘富有’, ‘前川次郎’, ‘伊豆’では 500 Gy 照射区, 1000 Gy 照射区とも無照射花粉受粉区に比べて着果率が低くなった。収穫果の品質では、‘西条’において軟 X 線照射花粉受粉果は無照射花粉受粉果に比べて果実重、果実径が小さくなり、‘富有’では果実縦径が低下したが、他の品種では果実の大きさに対する軟 X 線照射の影響は認められず、また、果実糖度、果肉硬度、果皮色に関しては、いずれの品種でも軟 X 線照射と無照射との間に有意な差はなかった。軟 X 線照射花粉を受粉した ‘前川次郎’では、おそらくは完全種子消失の影響により、果頂裂果の発生が有意に抑制された。以上、本研究の結果より、軟 X 線照射花粉の人工受粉が、カキ無核・少核化技術として利用できる可能性が示された。

引用文献

- 長谷川耕二郎・中島芳和. 1990. カキ ‘前川次郎’ の果実品質に及ぼす種子の影響. 園学雑. 59: 255–262.
- 広島県果樹試験場. 1979. 昭和 53 年度種苗特性分類調査報告書 (カキ). 広島県果樹試験場. 広島.
- 石田雅士・小西昌美・北島 宣・傍島善次. 1990. ‘平核無’未熟種子の発育不全について. 園学雑. 59: 65–73.
- 梶浦 実. 1942. 柿の生理的落果に関する研究, III 降雨及び乾燥と落果との関係. 園学雑. 13: 1–14.
- Kitajima, A., H. Akuta, T. Yoshioka, T. Entani, M. Nakano and M. Ishida. 1992. Influence of seeded fruit set in Japanese persimmon cv. Fuyu (*Diospyros kaki* L. f.). J. Japan. Soc. Hort. Sci. 61: 499–506.
- 北島 宣・大下義武・中野幹夫. 1993. カキ ‘富有’ の結

- 果母枝，主枝および樹体における単為結果性と果実品質，園学雑，62: 505–512.
- 尾形凡生・松本正明・美藤勝経・國廣武志・浜田和俊. 2010. 軟 X 線照射花粉および‘口之津 41 号’花粉を受粉したヒュウガナツ胚珠の退化過程. 園学研. 9(別 1): 46.
- Ogata, T., T. Takeichi, K. Matsunaga, K. Hasegawa, S. Yamane and K. Sugiyama. 2008. Seed abortion of ‘Tosa-Buntan’ pummelo pollinated with soft-X-irradiated pollens. Sci. Hortic. 116: 180–185.
- 小原敬弘・田中満稔・又川浩司・矢野臣祐. 2008. 軟 X 線照射花粉を利用した‘トサブンタン’の無核果実生産. 高知農技セ研報. 17: 81–87.
- 傍島善次. 1979. カキ. p. 146. p. 159–160. 小林 章・苦名 孝編. 果樹園芸各論. 養賢堂. 東京.
- 傍島善次・石田雅士・稲葉昭次. 1975. カキ果実の發育に関する研究（第 2 報）平核無の種子の發育不全について. 園学雑. 44: 1–6.
- Sugiyama, K. and M. Morishita. 2000a. Production of seedless watermelon using soft-X-irradiated pollen. Sci. Hortic. 84: 255–264.
- Sugiyama, K. and M. Morishita. 2000b. Fruit and seed characteristics of diploid seedless watermelon (*Citrullus lanatas*) cultivars produced by soft-X-irradiated pollen. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 69: 684–689.
- Sugiyama, K. and M. Morishita. 2002. Seedless watermelons produced via soft-X-irradiated pollen. HortScience 37: 292–295.
- 田尾龍太郎. 2015. 受精と結実. p. 115. 米森敬三編集. 果樹園芸学. 朝倉書店. 東京.
- 牛島孝策・藤島宏之・松田和也. 2012. 福岡県におけるカキ「富有」の花粉遮断による無核化が早期落果および果実品質に及ぼす影響（短報）. 福岡農総試研報. 31: 54–56.
- 山田昌彦. 2000. 品種の特性. p. 115–119; 主要品種の特性. p. 121–137. カキ. 果樹園芸大百科 6. 社団法人農山漁村文化協会. 東京.
- 山田昌彦・角谷真奈美・山根弘康. 1991. カキの果頂裂果の発生に及ぼす種子形成の影響. 果樹試報. 20: 1–11.
- 山田昌彦・栗原昭夫・角 利昭. 1987. カキの結実性の品種間差異とその年次変動. 園学雑. 56: 293–299.
- 庄 東紅・北島 宣・石田雅士・傍島善次. 1990. 栽培カキの染色体数について. 園学雑. 59: 289–297.