リンゴの人工交雑における 2 種類の不結実性*

小森貞男・副島淳一・土屋七郎**・増田哲男・別所英男***・伊藤祐司****

果樹試験場リンゴ支場 020-01 盛岡市下厨川

Two Types of Unfruitfulness Found in Artificial Pollination Experiments of Apple

Sadao Komori, Junichi Soejima, Shichiro Tsuchiya**, Tetsuo Masuda, Hideo Bessho*** and Yuji Ito****

Apple Research Center, National Institute of Fruit Tree Science, Morioka, Iwate 020-01

Summary

Two types of unfruitfulness were found in our apple breeding programs; one was in the reciprocal cross between 'Kizashi' and 'Golden Delicious' and the other in the crosses of HCR6T132, a strain bred in Purdue university, U. S. A., with pollen of other cultivars.

The reciprocal cross between 'Kizashi' and 'Golden Delicious' resulted in very low rates of fruit set. Microscopic examinations revealed that pollen of both cultivars germinated normally on the stigma, but their tubes ceased growth in the upper part of the style; a number of pollen tubes formed swollen tips, indicating that the sterility was controlled by gametophytic incompatibility mechanisms.

HCR6T132 yielded a high rate of fruit set when it was used as a pollen parent, whereas it failed as a seed parent. The unfruitfulness of the strain as a seed parent could not be ascribed to the incompatibility, because there was no difference in pollen tube behavior, compared with the cross compatible combinations.

It was found that the fruit set was reduced when HCR6T132 flowers were emasculated (petals and anthers were removed) just before pollination; the injured flowers evolved much more ethylene than the intact ones. On intact flowers, the strains retains its fruitfulness, as did the treatment with AVG (aminoethoxyvinyl glycine), an ethylene synthesis inhibitor, to the emasculated flowers. These results revealed that the strain is probably very sensitive to ethylene and/or produces much wound ethylene, and that the unfruitfulness is ascribed to ethylene induced by emasculation.

緒 言

リンゴの交雑親和性については、一部の品種・系統間で以前から不和合の例が報告されていたが (Einset, 1930; Knight ら, 1962; 吉田ら, 1963; 山田ら, 1971; Spiegel-Roy・Alston, 1982), 主要品種間での報告は

少ない。しかし近年、日本で育成されたいくつかの新品種で交雑不和合の報告があり (吉田ら, 1985; 鈴木, 1989; 吉田ら, 1991), 育種を効率的に行う上でこの現象を遺伝的に解明する必要がある。

本試験は、これまでの各種試験において結実率の極めて低かった 'きざし' と 'ゴールデン・デリシャス' の正逆交雑、および種子親に用いたときのみ結実率が極めて低かったパデュー大学育成の黒星病抵抗性系統 HCR 6 T 132 について、その不結実の原因を検討した。

なお、'きざし' は果樹試験場リンゴ支場とニュージーランド科学産業研究所との共同研究によって育成された極早生品種である。

1996 年 8 月 5 日 受付. 1996 年 12 月 16 日 受理.
本報告の一部は平成 6 年度園芸学会春季大会で発表した。

果樹試験番号: 1054

* リンゴの交雑不和合性に関する研究 (第 1 報)

** 現在: 生物系特定産業技術研究推進機構

*** 現在: 山梨県果樹試験場

**** 現在: 農業生物資源研究所放射線育種場

材料および方法

1. 'きざし'と'ゴールデン・デリシャス'の正逆交雑およびHCR 6 T 132の交雑における結実率

'きざし'と'ゴールデン・デリシャス'の正逆交雑について1988, 1989年の2年間, 結実率の調査を行った(第1表). HCR 6 T 132を交雑に用いた組合せについては, 1985~87年に'ふじ', 'Democrat', HAR 8 T 130の3品種・系統と正逆交雑を行った(第2表). 交雑にはバルーンステージの花を用い, 1花そう1花に摘花した後, 除雄, 受粉し, 袋かけを行った. 結実率の調査は, 受粉から3週間後に行った.

2. 'きざし'と'ゴールデン・デリシャス'の正逆交雑における花粉管伸長

供試した組合せは, 'きざし'と'ゴールデン・デリシャス'の正逆交雑である. 交雑にはバルーンステージの花を用い, 1花そう1花に摘花した後, 除雄, 受粉し, 袋かけを行った. 受粉は1989年5月15日に行い, 供試花数は各組合せ10花とした. 受粉から217時間後に供試花を採取し, FAA液(ホルマリン: 酢酸: 99.5%エタノール=1:1:8)で固定した. 供試

花から切除した花柱部は60℃の1N塩酸と45%酢酸混合液で100分間軟化処理し, 60分水洗して染色後, 押しつぶし法による顕微鏡観察用の標本を作成した. 子房部の標本は, パラフィン切片法で作成した. 染色方法は, アニリンブルーを用いた蛍光染色法である. アニリンブルー液は, 0.1M三リン酸カリウム水溶液に0.1%の水溶性アニリンブルーを溶解して調整した. 花粉管伸長程度は, 最も伸長している花粉管の先端の位置で表し, 柱頭付近を-6, 子房に接する部分を0, 子房内にまで進入した場合+表示とし, 胚珠に達していれば+1.5とした(第1図).

3. HCR 6 T 132を用いた正逆交雑における花粉管伸長

供試した品種の交雑組合せは次の6とおりである.

HCR 6 T 132×'ふじ'
HCR 6 T 132×'Democrat'
HCR 6 T 132×HAR 8 T 130
'ふじ'×HCR 6 T 132
'Democrat'×HCR 6 T 132
HAR 8 T 130×HCR 6 T 132

さらに対照として以下の2組合せを供試した.

HAR 6 T 132×HCR 6 T 132
'ふじ'×HAR 8 T 130

受粉は1988年5月15, 16日に行い, 1処理区当たりの供試数は5花とし, 交雑花のサンプリングは受粉後24時間, 80時間, 120時間, 217時間の4回行った. 固定方式, 標本の作成方法, 染色方法, および花粉管伸長の評価方法は上記2.と同じである.

4. 花器器官の除去程度, ACCおよびAVG処理が結実率およびエチレン生成に及ぼす影響

供試した交雑組合せはHCR 6 T 132×'ふじ'で, 1花そう4花とし, 受粉, 袋かけは1989年5月10日に行った.

花器器官の除去程度, ACC, AVG処理については, 花卉および葯を除去(花糸はつけたまま)した区を「除去1」, がく, 花卉, 葯, 花糸を除去した場合を「除去2」, 花器器官の除去操作を行わなかった区を「無除去」とし, 花そうに10mM ACC (1-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid), 5mM AVG (aminoethoxyvinyl glycine), または蒸留水を噴霧した. 各区の供試花数は, 「除去1+蒸留水」, 「除去2+蒸留水」, 「無除去+蒸留水」では各10花とし, それ以外の区では20花とした. 結実率の調査は, 受粉から3週間後

Fig. 1. Diagram to express the degree of pollen tube growth.

Pollen tube growth was decided by length of the longest tube and expressed by each number indicating relative position of the pistil in the figure.

-6: stigmatic surface, 0: entrance of the ovary, +1.5: ovule.

に行った。

花器器官からのエチレン生成量の測定については、前述の「除去1」「除去2」「無除去」の3区で、薬剤噴霧は行わず、受粉から24時間後に花器を採取し、30 ml のガラス瓶に一花ずつ24時間密封して、容器内に発生したエチレンの濃度を調査した。エチレンは、ガスクロマトグラフィ（島津 GC-mini）を用いて測定した。実験の反復数は「除去1」が5回、「除去2」が4回、「無除去」が5回であった。

結果および考察

1. 'きざし' と 'ゴールデン・デリシャス' の正逆交雑および HCR 6 T 132 の交雑における結実率

'きざし' と 'ゴールデン・デリシャス' の正逆交雑の2年間の結実率は、0~2.2%と極めて低かった（第1表）。一方、HCR 6 T 132 を種子親に用いた3組合せの結実率は3年間とも極めて低かったが、花粉親として用いた場合は、概して良好な結実率を示した（第2表）。なお1986年の'Democrat' × HCR 6 T 132 の低結実率は前年の結実過多等、1985年および'86年の HAR 8 T 130 × HCR 6 T 132 の低結実率は、花粉の低発芽率、前年の結実過多、気象条件等の影響が考えら

れるが詳細は不明であった。

2. 'きざし' と 'ゴールデン・デリシャス' の正逆交雑における花粉管伸長

'きざし' × 'ゴールデン・デリシャス'、'ゴールデン・デリシャス' × 'きざし' とともに柱頭での花粉の発芽は正常であったが、花粉管が花柱内の上部ですべて伸長停止しており、先端がマッチ棒状に肥大しているのが観察された。このような現象は、ニホンナシ等の配偶体型自家不和合性や交雑不和合性を示す植物で観察されている（牛越・徳安, 1930）。バラ科植物の不和合性は、S 遺伝子によって発現する配偶体型の不和合性と考えられており（日向, 1990）、リンゴにおいても自家受粉では花粉管の花柱内伸長阻害が起きることが多数報告されている（Knight, 1917; Cooper, 1928; Stott, 1972; 羽生田ら, 1985）。また他家受粉でも、Spiegel-Roy・Alston (1982) が 'Suntan' × 'Cox's Orange Pippin' で同様の現象を確認している。

このように'きざし' と 'ゴールデン・デリシャス' の正逆交雑の不結実現象も、配偶体型不和合性の場合に観察される花粉管の挙動を示したことから、この不結実性は不和合性によるものと推察された。

Table 1. Fruit set following the reciprocal cross between 'Kizashi' and 'Golden delicious'.

Cross combination	1988		1989	
	No. of flower pollinated	Fruit set (%)	No. of flower pollinated	Fruit set (%)
'Kizashi' × 'Golden Delicious'	20	0	50	0
'Golden Delicious' × 'Kizashi'	20	0	45	2.2

Table 2. Fruit set following the reciprocal cross between HCR6T132 and several cultivars.

Cross combination	1985		1986		1987	
	No. of flower pollinated	Fruit set (%)	No. of flower pollinated	Fruit set (%)	No. of flower pollinated	Fruit set (%)
HCR6T132 ² × 'Fuji'	36	0	47	0	46	2.2
HCR6T132 × 'Democrat'	42	0	46	0	48	8.3
HCR6T132 × HAR8T130	34	0	49	4.2	40	0
'Fuji' × HCR6T132	57	98.2				
'Democrat' × HCR6T132	51	98.0	50	28.0		
HAR8T130 × HCR6T132	37	21.7	49	14.3	30	43.3

Pollen viability was checked *in vitro* in 1985:

'Fuji' = 80.3 %, 'Democrat' = 72.9 %, HAR8T130 = 71.3 %, HCR6T132 = 17.9 %.

² Scab resistant strain raised in Purdue University, U.S.A..

3. HCR 6 T 132 を用いた正逆交雑における花粉管伸長

HCR 6 T 132 の自家受粉後の花粉管伸長は、受粉後 24 時間までは他家受粉組合せと有意差はなかったが (第 3 表), 受粉後 80 時間では、ほとんどの花粉管の先端が花柱の中央部付近に位置し、いくつかの花粉管の先端がマッチ棒状に肥大しており, 他家受粉組合せより有意に遅れていた。受粉後 120 時間では, HCR 6 T 132 の自家受粉においても 5 花中 1 花で数本の花粉管が子房まで達していたが, その他の大部分は花柱内にとどまっていた。

他家受粉の組合せにおいては, 受粉後 24 時間では, 組合せによる花粉管の伸長に有意差はなく (第 3 表), 受粉後 80 時間になると結実組合せの 'ふじ' × HCR 6 T 132, 'Democrat' × HCR 6 T 132 および対照の 'ふじ' × HAR 8 T 130 で花粉管がすでに花柱を貫通して子房内に進入しており, HAR 8 T 130 × HCR 6 T 132 は花柱の最下部付近を伸長中であった。また第 2 表で不結実を示した HCR 6 T 132 × 'Democrat' は花粉管が子房まで達しており, HCR 6 T 132 × 'ふじ', HCR 6 T 132 × HAR 8 T 130 は花柱内の柱頭側から 4/6 ~ 5/6 付近を伸長中であった。受粉後 120 時間では, すべての他家受粉組合せにおいて胚珠まで花粉管が達していた。

以上の結果から, HCR 6 T 132 を種子親にした場合の不結実と自家不和合性による不結実とは, 花粉管の挙動が異なっており, HCR 6 T 132 を種子親にした交雑でも結実組合せの場合と同様に正常な花粉管伸長が確認されたため, 不結実の原因を花粉管伸長の異常に

求めることはできず, 不和合性とは別の要因が関与しているものと推察された。

なお, 子房肥大については, 受粉後 120 時間で HCR 6 T 132 × 'Democrat' および HCR 6 T 132 × HCR 6 T 132 の 2 組合せで劣る傾向がみられたが, 品種間差によるものか不結実性の影響によるものかは判然としなかった。受粉後 217 時間になると, 不結実性を示す組合せのうち HCR 6 T 132 × 'ふじ' で 5 花中 3 花, HCR 6 T 132 × 'Democrat' で 5 花中 5 花, HCR 6 T 132 × HAR 8 T 130 で 5 花中 1 花, HCR 6 T 132 × HCR 6 T 132 で 5 花中 5 花が既に落花していた (第 4 表)。

HCR 6 T 132 を用いた本実験において, 受粉後 80 時間の花粉管伸長に品種間で差が認められたが, リンゴ花粉の発芽および花粉管の伸長は, 温度と密接な関係にあることが知られている。奥瀬 (1972) は品種によって発芽適温, 花粉管伸長適温, 花粉管の伸長パターンが異なることを明らかにしている。また, 羽生田ら (1985) は, M. 9 の自家受粉において老化受粉の効果に年次間差が認められる原因が受粉期の気温にあるとしている。それによると, 受粉日前後の気温が 19 °C で最も高い結実率が得られ, M. 9 の自家受粉でも速いものは 48 時間で胚珠近くに花粉管が達するのを認めている。一方, Stott (1972) は, 10 °C 以下の条件では交雑品種の花粉管が花柱を通過するのに 4 ~ 5 日, あるいはそれ以上の日数を要することを報告している。本実験における受粉当日の 1988 年 5 月 15, 16 日の日平均気温は, とともに 12.6 °C で花粉発芽温度としてはやや低いものの, その後 6 日間の日平均気温

Table 3. Degree of pollen tube growth 24, 80 and 120 hours after pollination.

Cross combination	Hours after pollination					
	24 hrs.		80 hrs.		120 hrs.	
	No. of flower tested	Mean tube growth	No. of flower tested	Mean tube growth	No. of flower tested	Mean tube growth
HCR6T132 × 'Fuji'	5	-4.28 ^z a ^y	5	-1.06 bc	5	1.50 b
HCR6T132 × 'Democrat'	3	-5.10 a	4	0.75 e	4	1.38 b
HCR6T132 × HAR8T130	5	-4.44 a	5	-1.92 b	5	1.50 b
'Fuji' × HCR6T132	5	-4.42 a	5	0.60 e	5	1.50 b
'Democrat' × HCR6T132	5	-4.36 a	5	0.44 de	5	1.50 b
HAR8T130 × HCR6T132	5	-4.44 a	5	-0.64 cd	4	1.25 b
HCR6T132 × HCR6T132	5	-4.40 a	5	-3.16 a	5	-0.78 a
'Fuji' × HAR8T130	5	-4.00 a	5	0.52 e	5	1.50 b

^z See Fig. 1.

^y Same letters do not show significant differences in Duncan's multiple range test.

Table 4. Ovary growth after pollination.

Cross combination	Hours after pollination			No. of fruit persisted at 217 hrs.
	80 hrs.	120 hrs.	217 hrs.	
HCR6T132 × 'Fuji'	3.00 ^{z,y}	3.64 bc	3.63	2
HCR6T132 × 'Democrat'	3.03 a	3.05 a	(2.98) ^x	0
HCR6T132 × HAR8T130	3.06 a	3.58 bc	4.35	4
'Fuji' × HCR6T132	3.10 a	3.70 c	4.30	5
'Democrat' × HCR6T132	3.06 a	3.74 c	5.58	5
HAR8T130 × HCR6T132	3.56 b	3.38 abc	4.16	5
HCR6T132 × HCR6T132	3.16 a	3.20 ab	(3.02) ^x	0
'Fuji' × HAR8T130	3.00 a	3.52 abc	4.95	5

^z Fruit diameter (mm)^y Same letters do not show significant differences in Duncan's multiple range test.^x Values in parenthesis are diameter of dropped fruits.

は 14.6~19.8℃ の範囲にあり (第 2 図), 花粉管伸長には比較的好適であったと考えられた。その結果, 受粉後 80 時間前後で多くの組合せの花粉管が花柱を通過し, 120 時間以内に胚珠近くまで達したものと考えられる。

4. 花器器官の除去程度, ACC, AVG 処理と結実率ならびにエチレン生成の関係

第 5 表に示したように, 蒸留水噴霧区では無除去の場合, 80% の結実率を示したのに対して, 除去 1, 2 区は全く結実しなかった。一方, 各区のエチレン発生量は, 無除去区が有意に低く, 除去 1, 2 区は無除去区の 3 倍近い発生量が認められた (第 6 表)。

ACC および AVG 処理の影響を見ると (第 5 表), 無除去花にエチレンの生成阻害剤である AVG を噴霧処理した区では, 対照の蒸留水噴霧より高い 100% の結実率を示した。一方, エチレン生成を促進する ACC 噴霧区では 50% の結実率にとどまった。

各器官の除去程度を変えた花の結実率を比較すると, ACC 噴霧区では花器器官を除去した両区が 0~5% の結実率だったのに対して, 無除去区は 50% の結実率を示した。AVG 噴霧区では除去両区の 10% の結実率に対して, 無除去区は 100% の結実率であった。以上のようにいずれの薬剤処理区でも, 除去区より無除去区の結実率が高かった。

これらのことから, 無除去区では ACC, AVG, 蒸留水の各処理効果が結実率に反映していると推定されるが, 除去両区で ACC, AVG, 蒸留水処理間に差が認められないのは, エチレン発生量が除去両区と無除去区との間で有意な差があるのに対し, 除去両区間で

Fig. 2. Fluctuations in the daily mean temperature before and after pollination in May, 1988. Arrows show the dates of artificial pollination.

は差がない (第 6 表) ことと関係していると考えられる。除去両区では付傷によって交雑花を落花させるのに十分なエチレンが発生し, ACC および AVG の効果が顕在化しなかった可能性が考えられる。

エチレンの生成は傷害によって助長されることが知られている (Abeles, 1973)。一方, がく片の付け根からピンセットを入れて花弁, 雄ずいを一括して除く除雄方法が結実率に及ぼす例は, Nebel (1929) が 'Cox's Orange Pippin' 等の品種で報告しており, Einset (1930) も 'デリシャス' でがく片を除去する除雄方法がしばしば不結実の原因になると結論している。HCR 6 T 132 については花弁および葯を除去するだけで傷害エチレンが発生し, それが交雑花の落花と関係していると推察された。

千葉・久保田 (1979) は幼果期の早期生理落果の多少は, 果実からのエチレンの発生と関係していること

Table 5. Influence of elimination of various flower organs, and/or ACC or AVG treatment on fruit set of HCR6T132 × 'Fuji'.

Treatment	Elimination 1		Elimination 2		Non elimination	
	No. of flower treated	Fruit set (%)	No. of flower treated	Fruit set (%)	No. of flower treated	Fruit set (%)
ACC	20	5	20	0	20	50
AVG	20	10	20	10	20	100
D.W.	10	0	10	0	10	80

Elimination 1: Stamens and petals were removed.

Elimination 2: Calyxes, stamens and petals were removed.

ACC: 10 mM

AVG: 5 mM

Table 6. Effect of elimination of various flower organs on the ethylene production in HCR6T132 flower.

	No. of lower treated	Mean of ethylene production per fruit (μ l)
Non elimination	5	0.00375 a ²
Elimination 1	5	0.01020 b
Elimination 2	4	0.01098 b

Elimination 1: Stamens and petals were removed.

Elimination 2: Calyxes, stamens and petals were removed.

² Same letters do not show significant differences in Duncan's multiple range test.

を‘スターキング’、‘紅玉’、‘国光’を用いて明らかにしているが、この傾向はよりステージの早い開花期についてもあてはまると考えられ、傷害エチレン発生の多い品種が落花しやすい可能性がある。一方、エチレンに対する感受性には品種間差があると推察され、HCR 6 T 132 は傷害エチレンに対して感受性の高い品種であるとも考えられる。

以上のことから、リング花器官はエチレンに対して敏感に反応し、また傷害エチレン発生量およびエチレン感受性に大きな品種・系統間差がある可能性が高いので、交雑の際には不和合性ととも傷害エチレンの発生についても考慮する必要がある。未知の品種を交雑に使用する場合は、花卉および葯の除去が結実率を低下させる可能性があるため、花卉を除去せず、葯のみを除く方法が安全と考えられる。

摘 要

リングの各種交雑試験のうち、‘きざし’と‘ゴールドデン・デリシャス’の正逆交雑、およびパデュー大学育成の黒星病抵抗性系統 HCR 6 T 132 を種子親に用いた交雑で不結実性が認められた。その不結実性の原因について検討した。

‘きざし’と‘ゴールドデン・デリシャス’は、正逆交雑

で共に不結実性を示した。花粉管の挙動は、柱頭での発芽は正常であったが、正逆ともに花柱内の上部で全て伸長が停止しており、先端がマッチ棒状に肥大しているのが観察された。このことから、‘きざし’と‘ゴールドデン・デリシャス’の不結実現象は、交雑不和合性によるものと推察された。

HCR 6 T 132 を種子親とした場合、用いたすべての交雑組み合わせにおいて不結実性を示したが、花粉親に用いた場合には良好な結実率を示した。また、HCR 6 T 132 を種子親にした交雑では、自家受粉の場合のような花粉管の伸長停止が起こらなかった。すなわち、交雑和合組合せの花粉管の挙動と異なる所が認められず、不結実の原因を花粉管伸長の異常に求めることはできなかった。このことから、HCR 6 T 132 の不結実性は不和合性によるものではないと推察された。

HCR 6 T 132 の花卉と葯を除去する操作によって結実率が減少し、花器からのエチレン生成量が増大した。また、花器器官の除去を行わなかった無除去区では、結実が認められ、エチレン生成阻害剤である AVG 噴霧で結実率の向上が認められた。このことから、HCR 6 T 132 を種子親に用いた場合の不結実は、除雄の際に生成する傷害エチレンによって引き起こされるもの

と考えられた。

引用文献

- Abeles, F. B. 1973. Ethylene in plant biology. Academic Press, New York.
- 千葉和彦・久保田貞三. 1979. リンゴの早期生理的落果とエチレン発生, およびそれに及ぼす摘果剤デナボンの影響. 果樹試報 C. 6 : 55-64.
- Cooper, J. R. 1928. The behavior of pollen tubes in self and cross pollination. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 25 : 138-140.
- Einset, O. 1930. Cross-unfruitfulness in the apple. Tech. Bull. N. Y. State Agr. Exp. Sta. 159 : 3-24.
- 羽生田忠敬・吉田義雄・真田哲朗. 1985. 数種の台木における自殖実生獲得に及ぼす老化受粉の効果. 果樹試報 C. 12 : 35-42.
- 日向康吉. 1990. 自家不和合性研究の現状. 植物細胞工学 2 : 583-584.
- Knight, L. I. 1917. Physiological aspects of self-sterility of the apple. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 14 : 101-105.
- Knight, R. L., J. B. Briggs, A. M. Massee and H. M. Tydeman. 1962. The inheritance of resistance to woolly aphid, *Eriosoma lanigerum* (Hsmnn.) in the apple. J. Hort. Sci. 37 : 207-218.
- Nebel, B. 1929. Über einige Obstkreuzungen aus dem Jahre 1929 und Zur Cytologie von Malus, II. Züchter 1 : 215-217.
- 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 : 114-126.
- Spiegel-Roy, P. and F. H. Alston. 1982. Pollination requirements of new apple cultivars. J. Hort. Sci. 57 : 145-150.
- Stott, K. G. 1972. Pollen germination and pollen-tube characteristics in a range of apple cultivars. J. Hort. Sci. 47 : 191-198.
- 鈴木長蔵. 1989. リンゴ「北斗」に対する授粉和合性. 今月の農業 33 (10) : 57-59.
- 牛越三男・徳安健太郎. 1930. 梨の授粉及受精に関する研究. 園芸の研究 25 : 135-152.
- 山田三智穂・鈴木長蔵・石山正行・佐藤正・中村喜治・石沢清. 1971. リンゴ品種相互ならびに自家授粉による結実率について. 東北農業研究 12 : 282-285.
- 吉田義雄・土屋七郎・定盛昌助. 1963. リンゴの品種および交配実生間における交配不親和について. 園学雑. 32 : 96-102.
- 吉田義雄・羽生田忠敬・土屋七郎・真田哲朗・増田哲男・別所英男・定盛昌助. 1985. リンゴ新品種「ひめかみ」について. 果樹試報 C. 12 : 1-10.
- 吉田義雄・羽生田忠敬・土屋七郎・増田哲男・別所英男・真田哲朗・小森貞男・故 D. W. McKenzie. 1991. リンゴ新品種「きざし」. 果樹試報. 20 : 25-40.