ニホンナシに対するギ酸カルシウムの摘花作用

平塚 伸¹・渡辺 学¹・河合義隆¹・前島 勤²・川村啓太郎³・加藤尉行³

¹ 三重大学生物資源学部 514-8507 三重県津市上浜町

² 長野県南信農業試験場 399-3103 長野県下伊那郡高森町下市田

³ 晃栄化学工業 460-0003 名古屋市中区錦

Action Mode of Calcium Formate as a Chemical Thinner on Japanese Pear Flower

Shin Hiratsuka¹, Manabu Watanabe¹, Yoshitaka Kawai¹, Tsutomu Maejima²,
Keitaro Kawamura³ and Yasuyuki Katoh³

¹ Faculty of Bioresources, Mie University, Tsu, Mie 514-8507

² Nansin Agricultural Research Center, Shimoichida, Ina-gun, Nagano 399-3103

³ Koei Kagaku Kogyo K.K., Nishiki, Naka-ku, Nagoya, Aichi 460-0003

Summary

The mechanism of flower thinning by calcium formate was investigated in the Japanese pear cv. Kosui (*Pyrus pyrifolia* Nakai). Calcium formate thinned 30-40% flowers when a 1% solution was applied to the pistils just before or 24 hours after pollination, whereas 1% calcium acetate and calcium lactate were ineffective. Both adhesion of pollen grains to stigmatic surface and tube elongation in the style were reduced by calcium formate application. Calcium formate at 0.05% or higher concentrations was a much stronger inhibitor on pollen germination *in vitro* compared to calcium acetate or calcium lactate. When the inhibitory effect of formic acid, acetic acid, and lactic acid *in vitro* on pollen germination was compared, formic acid was the strongest inhibitor, suggesting that the compound induces floral abscission by preventing fertilization through the action of formate.

At harvest, there was little or no difference in size and sugar content between the treated and control fruits. Thus, calcium formate may be a promising chemical thinner for Japanese pear flowers by reducing the cost of hand thinning.

Key Words: calcium formate, flower thinner, inhibition of fertilization, Japanese pear.

緒 言

多くの果樹では、着生した花のほとんどを結実させた場合、果実の肥大が抑制されるだけでなく、翌年の花芽形成が不良になることも多い。このため、花や果実を摘除し着果数を制限する摘果(花)が重要な作業になっている。特に、リンゴやナシなどの仁果類では1花そうに5個以上の花が着生するが、最終的に残す果実は一般に3~4花そうに1果であり、着果数が着生した花の10%以下となるよう花や幼果を除去する必要がある。現在、この作業は一部の果樹を除いてほとんど人手によって行われている。

一般に、花や幼果を摘除する薬剤は、開花期に散布する摘花剤と、結実後に散布する摘果剤に大別でき(福田,

1989), 両薬剤に関してウンシュウミカンやリンゴで精力的に開発・応用試験が行われ、その一部は実用化されている(禿, 1995)。摘花剤としては石灰硫黄合剤、機械油乳剤、レシチンなどが古くから知られ、そのメカニズムは花粉の発芽抑制や雌ずいの柱頭部の壊死を引き起こすことによる受精阻害と考えられている(福田, 1989)。この種の薬剤は、着果に種子形成が必要な単為結果性の弱いリンゴ、ナシ、モモなどを中心に研究されてきた。一方、摘果剤にはナフタレン酢酸(NAA)などのオーキシン活性のある薬剤、ベンジルアデニン(BA)などのサイトカイニン活性のあるもの、エチホンなどのエチレン発生剤ならびに光合成阻害剤などがあり、幼果の発育に必要な生理活性物質や糖類の合成・転流の抑制、エチレンによる離層形成の促進などがこれら薬剤による摘果メカニズムとして考えられる(福田, 1989; 近藤・水野, 1989; Yuan and Green, 2000)。このため、摘果剤は単為結果性の強いカンキツ類やカキなどにも利用可能と考えられる。

2001年1月11日 受付。2001年5月18日 受理。

本報告の一部は、園芸学会平成12年度春季大会において発表した。

近年ニホンナシでは、自家和合性の‘おさ二十世紀’を親とした自家和合性品種の育成が進められており、これらの品種が普及すれば、摘果(花)は今以上に労力がかかり、また、果実品質の維持・向上のためにますます重要な技術となることが予想される。ニホンナシの摘花剤開発に関しては、三木ら(1981)がナフトキノン誘導体であるベンドロキノン 10 ppm を満開後に散布すると、効果的に摘花できることを報告した。なお、花梗に1%のラノリンペーストにしたベンドロキノンを処理しても摘花されることから、そのメカニズムは石灰硫黄合剤のような柱頭部の壊死によるものではないとしている。一方、山崎ら(1987)は、受精阻害剤として0.4%レシチン溶液を受粉前後に散布し、摘花効果を確かしている。但し、この薬剤は受粉後12時間以降の処理では効果が低下するとした。このように、いくつかの薬剤について摘花効果が報告されているが、現在ニホンナシ栽培で利用可能な摘花剤はない。

近年、カルシウムの葉面散布剤として利用されているギ酸カルシウムを開花期に散布することにより、ニホンナシで摘花効果が認められた。そこで本実験では、ニホンナシの摘花に及ぼすギ酸カルシウムの影響を詳しく調査し、そのメカニズムを検討した。

材料および方法

1. 植物材料

三重大学生物資源学部附属農場栽植の28年生(1998年)および29年生(1999年)のニホンナシ‘幸水’を、それぞれ3樹ずつ供試した。また、受粉用の花粉は‘長十郎’とし、受粉数日前に開花直前の花からやくを採集し、シリカゲルを含んだ密閉箱中で開やく・乾燥して用いた。

2. ギ酸カルシウムの処理時期が結実に及ぼす影響

実験は1998年に行った。1花そうを发育ステージの揃ったおよそ3花に調整し、開花1日前、受粉直前、受粉1日後および4日後に、0.01% Tween-20を展着剤として含む1%ギ酸カルシウム水溶液を散布した。散布は、ハンドスプレーを用いて液が滴り落ちる程度まで行い、受粉後およそ2および3週間目の着果率を調査した。なお、開花1日前処理は開花1~2日前のつぼみに直接ギ酸カルシウムを散布し、翌日除雄、受粉して他花粉の混入を防ぐために袋掛けを行った。受粉直前処理は、開花直前の花の花弁・雄ずいを除去して雌ずいを露出させ、雌ずいにギ酸カルシウム溶液を散布した。花柱が十分乾燥したことを確認後、受粉して袋掛けを行った。受粉1日後および4日後処理は、開花直前の花を除雄して受粉後袋掛けを行い、翌日および4日後にギ酸カルシウムを散布して再び袋掛けを行った。なお各処理区は、3樹からの垂主枝を無作為に2~3本選び、処理に適した发育ステージの花そうを

選別して構成した。また、同じ垂主枝上にそれぞれの処理の対照区を設けた。対照区の処理は、0.01% Tween-20を含む蒸留水散布とした。全ての処理区およびその対照区において、それぞれ10花そう(30花)以上を用いた。

3. 数種の有機酸カルシウム処理間における摘花効果の比較

1999年に、ギ酸カルシウム、酢酸カルシウムおよび乳酸カルシウムの1%溶液を調整し、0.01%のTween-20を添加した。これらの溶液を、前年のギ酸カルシウム処理で最も効果の認められた受粉直前処理に準じて除雄した雌ずいに散布し、花柱の乾燥後、受粉・袋掛けを行った。落果率は、受粉後およそ2および3週間目に調査した。なお、クエン酸カルシウムや炭酸カルシウムなどは溶解度が低く、目的の濃度の溶液が得られなかったため、本実験では供試できなかった。各処理区の構成は、上記2の実験に準じた。

4. ギ酸カルシウム処理が柱頭への花粉の付着および花柱内の花粉管伸長に及ぼす影響

上記2の処理のうち、受粉後4日目処理区以外のものについて、受粉後24および48時間目に雌ずいを5個ずつ採集し、FAA液(70%エタノール:酢酸:ホルマリン=90:5:5)で固定した。流水で1時間洗浄して固定液を除去後、花柱を切り取って2M NaOH中で2時間加水分解した。その後、NaOH液を捨て、アニリンブルー溶液(0.1%アニリンブルー/0.1N K_3PO_4)中で花柱を2時間、暗黒下で蛍光染色した。染色した花柱はスライドガラスとカバーガラスの間に軽く押しつぶし、柱頭への花粉粒の付着および花柱内の花粉管伸長程度を蛍光顕微鏡下で観察した。付着は、全く認められないものを0、1~20個程度認められるものを1、20個以上のものを2とし(第1図)、それらの平均値で示した。また、花粉管長は、対照区を100とした時の比率で示した。

5. 数種の有機酸カルシウムおよび有機酸が *in vitro* の花粉発芽に及ぼす影響

ギ酸、酢酸および乳酸とそれらのカルシウム塩を液体花粉発芽培地に溶解し、それら薬剤の花粉発芽に及ぼす影響を調査した。なお液体培地は、以前ニホンナシ花粉の発芽に適する培地を検討し、最適と判断されたもので

Fig. 1. Profiles of stigmatic surface of Japanese pear ‘Kosui’ with no (A), 1~20 (B), or more than 20 pollen grains (C).

ある (Hiratsuka ら, 2001). すなわち, 50 mM MES/NaOH 緩衝液 (pH 6.5) に 10% スクロース, 15% ポリエチレングリコール 4000 (PEG), 0.07% $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.02% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.01% KNO_3 および 0.01% H_3BO_3 を溶解したものである. この液体培地に上記の有機酸, またはそれらのカルシウム塩を 0.01%~5% になるように溶解し (但し, 乳酸カルシウムの溶解度は低く, 5% 溶液は調整できなかったため 1% までとした), エタノール洗浄したろ紙にしみ込ませ, その上に花粉を播いた. 花粉が十分湿潤したのを確認後, 25 °C, 湿室, 暗黒条件下で 24 時間培養した. 培養後花粉をスライドガラス上に移し, コットンブルー溶液 (0.2% コットンブルー/乳酸:フェノール:グリセリン: H_2O =1:1:1:1) で染色後, 顕微鏡下で発芽率と花粉管長を測定した. なお, 発芽試験は各区で 3 反復行い, それぞれの反復で 100 個以上の花粉を調査した.

6. ギ酸カルシウムが果実の発育および品質に及ぼす影響

上記 2 の各処理区において, 受粉後 3 週間目の落果率を調査後 1 果そうあたり 1 果に調整し, その後の果実肥大および成熟期における果汁の糖度と完全種子率を調査した. 糖度は, 屈折糖度計による Brix 値として求めた.

結果および考察

開花 1 日前のつぼみと受粉 4 日後の雌ずいのギ酸カルシウム処理は効果がなかったが, 受粉直前と受粉 1 日後の雌ずい処理では 30~40% の摘花効果を示した (第 1 表). 受粉から 36 時間目頃までは花粉管が花柱内を伸長中であり, その後子房内に侵入し, 受粉後 4 日目はほぼ受精が完

Table 1. Timing effects of calcium formate application on flower thinning in the Japanese pear 'Kosui'.

Treatment time	No. of flowers tested	% of fruit set	
		14 days after pollination	21 days after pollination
1 day before anthesis			
Treatment	41	97.6	97.6
Control	33	97.0	97.0
Just before pollination			
Treatment	32	62.5	59.4
Control	35	91.4	91.4
1 day after pollination			
Treatment	39	79.5	66.7
Control	35	100.0	100.0
4 days after pollination			
Treatment	32	96.9	96.9
Control	32	93.7	93.7

Treatment=One percent solution of calcium formate with 0.01% Tween-20 was applied.

Control=Distilled water with 0.01% Tween-20 was applied.

了する時期である (Hiratsuka・Tezuka, 1980). 従って, ギ酸カルシウムは雌ずい内の花粉管伸長を抑制して受精阻害し, その結果摘花効果を示すものと推察された. また, 受粉直前処理によっても同様な効果があることから, 柱頭への花粉の付着や, 柱頭上における花粉発芽抑制による受精阻害作用もあると考えられた. なお, つぼみに処理した開花 1 日前処理では効果がなかったことから, つぼみに付着したギ酸カルシウムの花柱への移行は, あまりないと考えられる. 但し, 本実験では 1% 水溶液を使用しており, 実際栽培では効率的な摘花をする必要があるので, 散布濃度を高めることでより高い摘花率が得られるかどうかについて検討する必要がある. 本薬剤による摘花率について, 我々は予備摘果作業を省くことのできる 60~70% 程度を目標としており, 摘果作業の有無 (川嶋ら, 1994) や着生している花数 (川瀬・石田, 1999) によっても異なるが, これが達成されれば摘果作業労力は無散布にくらべて半分以下に軽減できる可能性がある.

ニホンナシに対する摘花効果について, ギ酸カルシウムと同じ一価の有機酸カルシウム塩である酢酸カルシウムおよび乳酸カルシウムの影響を調査した. 処理は, ギ酸カルシウム処理で最も効果のあった受粉直前の 1% 水溶液散布とし, 受粉後の落果率を調べたが, 酢酸カルシウムと乳酸カルシウムによる摘花効果は全く認められなかった (第 2 図). このことから, ギ酸カルシウムのギ酸部が摘花剤として働いていることが示唆された.

柱頭への花粉の付着と花柱内の花粉管伸長に及ぼすギ酸カルシウム処理の影響を調査した (第 2 表). 花粉の付着は受粉直前処理によって対照区の約半分に減少し, 花粉管伸長も半減した. 受粉後 24 時間目処理でも花粉管伸長は明らかに抑制され, 花粉の付着も減少した. しかし, 受粉後 24 時間目は花粉管が既に花柱内に侵入しており, この時期の処理が花粉の付着に影響するとは考え難い. これは, ギ酸カルシウムが花柱内を伸長している花粉管に作用して殺傷し, その結果花粉粒が花粉管から離れや

Fig. 2. Effect of calcium formate, calcium acetate, or calcium lactate treatment on flower thinning of Japanese pear 'Kosui'. One percent solution of each chemical with 0.01% Tween-20 was applied to the pistils just before pollination.

Table 2. Effect of calcium formate application on attachment of pollen grains to stigma and pollen tube growth in the style of the Japanese pear ‘Kosui’.

Treatment time	Sampling time (hrs after pollination)	No. of styles examined	Attachment of pollen grain ^z	Pollen tube growth ^y
1 day before pollination	24	6	1.17 ± 0.40	125.2 ± 26.4
	48	13	1.54 ± 0.14	91.4 ± 10.5
Just before pollination	24	10	0.80 ± 0.20	53.2 ± 7.5
	48	12	0.92 ± 0.23	50.5 ± 6.7
1 day after pollination	48	9	1.00 ± 0.23	56.6 ± 7.5
Control	24	12	1.75 ± 0.13	100
	48	14	1.79 ± 0.11	100

^z 2=more than 20, 1=1~20, 0=no (see Fig.1).^y The ratio as tube growth in control is 100.

Treatment=one percent solution of calcium formate with 0.01% Tween-20 was applied.

Control=Distilled water with 0.01% Tween-20 was applied just before pollination.

Each data value represents mean ± SE.

Fig. 3. Effect of calcium formate, calcium acetate, or calcium lactate on pollen germination of the Japanese pear *in vitro*. Each data point represents mean ± SE. **Fig. 4.** Effect of formic acid, acetic acid, or lactic acid on pollen germination of the Japanese pear *in vitro*. Each data point represents mean ± SE.

ギ酸カルシウムが花粉発芽に及ぼす影響を, *in vitro* で乳酸カルシウムおよび酢酸カルシウムと比較した (第3図). 炭酸カルシウムやクエン酸カルシウム等については殆ど培地に溶解しなかったため, 供試することができなかった. ギ酸カルシウムは, 0.05%で他のカルシウム塩より明らかに花粉発芽を阻害し, 0.1%では完全な発芽抑制を示した. このように, ギ酸カルシウムはニホンナシ花粉に対する強い発芽抑制剤であることが明らかとなった. 次に, ギ酸, 酢酸および乳酸が花粉発芽に及ぼす影響を調査したところ, ギ酸の発芽抑制力是他の酸より際立って強かった (第4図). 但し, 1%以上の酸を含む培地では培地の pHが低下するため, これら高濃度区での発芽抑制が有機酸の影響とは断定できなかった. しかし, 0.05%の有機酸を含む培地の pHは, ギ酸 =5.80, 酢酸 =5.85, 乳酸 =5.95であり, 0.05%以下の有機酸は培地の pHに殆ど影響しなかった. すなわち, この濃度以下における発芽抑制は, 有機酸によるものである. このように, ギ酸カルシウムによるニホンナシの摘花機構は, 花柱や柱頭に侵入したギ酸カルシウムのギ酸部, および一部遊離したギ酸が花粉発芽および花粉管伸長抑制を引き起こし, その結果受精阻害が生じるためと考えられた.

ニホンナシにおいて, 開花期に処理する摘花剤の作用機構はあまり研究されていないが, おおまかに2種類に分類が可能と考えられる. 一つは, 石灰硫黄合剤や機械油乳剤などが引き起こす柱頭や花柱のダメージによる受精阻害剤であり, 今一つは花粉の発芽や管伸長抑制による受精阻害剤である. 山崎ら (1987)が報告したレシチンは, 受粉後 12時間以降は効果がないことから, 柱頭部のダメージによる受精阻害が主なメカニズムと考えられるが, 彼等が考察しているようにレシチンによる直接的な花粉発芽阻害効果もあるのであろう. 一方, 三木ら (1981)が報告したベンドロキノン, は花梗に処理しても摘花されることから, 花粉発芽・花粉管伸長阻害剤に属すると考えられるが, 詳細は不明である. 本実験で用いたギ酸カ

すくなり, 花柱の固定・洗浄中に離脱したためかもしれない. しかし, この原因については不明であり, 今後の検討が必要である. なお, 受粉1日前のつぼみ処理では花粉管伸長にほとんど影響がなかったが, 花粉の付着は若干抑制される傾向があった.

Table 3. Effect of calcium formate application on fruit growth in the Japanese pear 'Kosui'.

Treatment time	Fruit diameter (cm)			
	30 DAP	60 DAP	90 DAP	120 DAP
1 day before anthesis				
Treatment	2.2 ± 0.05	3.6 ± 0.11	5.4 ± 0.16	7.5 ± 0.28
Control	2.1 ± 0.07	3.6 ± 0.11	5.2 ± 0.14	8.0 ± 0.23
Just before pollination				
Treatment	1.9 ± 0.11	3.6 ± 0.06	5.2 ± 0.11	6.8 ± 0.20
Control	2.1 ± 0.04	3.6 ± 0.07	5.4 ± 0.09	7.0 ± 0.12
1 day after pollination				
Treatment	1.8 ± 0.08	3.3 ± 0.18	4.8 ± 0.23	7.6 ± 0.34
Control	2.0 ± 0.09	3.7 ± 0.09	5.5 ± 0.19	8.0 ± 0.09
4 days after pollination				
Treatment	2.3 ± 0.06	4.1 ± 0.11	5.8 ± 0.14	7.6 ± 0.28
Control	2.3 ± 0.04	3.8 ± 0.08	5.9 ± 0.15	7.6 ± 0.13

Treatment=One percent solution of calcium formate with 0.01% Tween-20 was applied.

Control=Distilled water with 0.01% Tween-20 was applied.

DAP=Days after pollination.

Each data value represents mean ± SE.

Table 4. Effect of calcium formate application on sugar concentration in the juice of the Japanese pear 'Kosui' fruit at harvest.

Treatment time	Sugar concentration (Brix)
1 day before anthesis	
Treatment	11.8 ± 0.47
Control	12.9 ± 0.24
Just before pollination	
Treatment	14.3 ± 0.26
Control	13.4 ± 0.27
1 day after pollination	
Treatment	11.2 ± 0.42
Control	12.6 ± 0.17
4 days after pollination	
Treatment	12.9 ± 0.26
Control	12.0 ± 0.52

Treatment=one percent solution of calcium formate with 0.01% Tween-20 was applied.

Control=Distilled water with 0.01% Tween-20 was applied.

Each data value represents mean ± SE.

ルシウムは、柱頭への花粉の付着抑制とともに花柱内の花粉管伸長を強く抑制しており、また、*in vitro*での花粉発芽抑制力も際立っていたことから、花粉発芽・花粉管伸長阻害が主要なメカニズムと考えられる。

ギ酸カルシウムを処理した花に着生した果実の生長は、全体的にやや劣る傾向を示した(第3表)。これは、処理した果実内の完全種子数が若干減少することが原因と考えられた(データ省略)。但し、果実生長に関して統計的に有意な差は認められなかった。処理により奇形果や發育不良果の発生が認められたが、1花そう全てが奇形果と

なることはまれで、果そう内の良果を残すように仕上げ摘果を行うことにより、問題はないものと考えられた。また、成熟時に収穫した果実の果汁糖度にも影響は認められなかった(第4表)。現在、新梢生長に及ぼす影響を調査中である。

以上の結果より、ギ酸カルシウムは受精前の花に散布することにより、ニホンナシの摘花剤として利用可能と考えられた。特に、受精阻害による摘花のため、幼果間の養分競合を最小限に防ぐことができ、実際栽培には有利な摘花剤となる可能性がある。なお、今後、処理濃度や処理回数、開花期に散布する農薬との混用の可否など、実際栽培における合理的な利用法を検討する必要がある。

摘 要

ギ酸カルシウムによるニホンナシの摘花効果と、その機構について検討した。1%のギ酸カルシウム溶液を受精前の雌ずいに散布すると、柱頭への花粉の付着と花柱内の花粉管伸長が明確に抑制され、30~40%の果実が落果した。一方、同濃度の酢酸カルシウムや乳酸カルシウム溶液による摘花効果は認められなかった。有機酸カルシウムが花粉発芽に及ぼす影響を*in vitro*で比較すると、ギ酸カルシウムは他の塩より明らかに強い抑制力を示した。有機酸について同様に調査した結果、ギ酸の発芽抑制作用は際立っていた。以上の結果より、ギ酸カルシウムによるニホンナシの摘花機構は、ギ酸による受精阻害と考えられた。摘花されなかった果実の生長や成熟期の果汁糖度は、対照区と殆ど差が認められなかった。このように、ギ酸カルシウムはニホンナシの摘花剤として利用できる可能性が示された。

引用文献

- 福田博之. 1989. 結実の制御. p.35-54. 山崎利彦・福田博之・広瀬和栄・野間 豊編著. 果樹の生育調節. 博友社. 東京.
- Hiratsuka, S. and T. Tezuka. 1980. Changes in proteins in pistils after self- and cross-pollination in Japanese pear. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 49: 57-64.
- 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 Reprod. 13: 209-215.
- 禿 泰雄. 1995. 植物成長調整剤総覧. 植物の化学調節. 30: 197-216.
- 川瀬信三・石田時昭. 1999. ニホンナシの受粉, 摘果作業等に及ぼす花数の影響. 千葉農試研報. 40: 23-28.
- 川嶋 徹・新山敏昭・松田 亨・平野門司. 1994. ニホンナシ「幸水」の摘果方法に関する研究. 富山農技セ 研報. 14: 37-48.
- 近藤 悟・水野昇. 1989. リンゴの早期落果と内生生長調節物質の消長との関係, ならびに MCPB, GA₃+GA₄及び BAの散布が早期落果に及ぼす影響. 園学雑. 58: 9-16.
- 三木信夫・行永寿二郎・林 真二・田辺賢二. 1981. ナフトキノン誘導体, 2-benzimidoyl-3-hydroxy-1,4-naphthoquinone が二十世紀ナシの摘花に及ぼす影響. 園学雑. 50: 21-30.
- 山崎利彦・鈴木勝征・加藤作美. 1987. 落葉果樹の摘花剤の開発に関する研究. (第1報) レシチンの摘花効果. 果樹試報 A. 14: 57-68.
- Yuan, R. and D.W. Green. 2000. Benzyladenine as a chemical thinner for 'McIntosh' apples. I. Fruit thinning effects and associated relationships with photosynthesis, and nonstructural carbohydrates. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 125: 169-176.