

薬剤処理によるカンキツの種子混入軽減効果 (第1報) 花粉発芽阻害物質について

林田誠剛

キーワード：カンキツ，種子，発芽阻害，花粉，ギ酸

Effect of Seed Reduction in The Citrus Fruit by Chemical Control
1.Pollen Germination Inhibitor

Seigo HAYASHIDA

目次

1. 緒言

2. 材料および方法

- 1) 果実に含まれる種子数の品種間差異
- 2) 花粉発芽阻害物質の探索
- 3) ギ酸カルシウムを含む製剤の濃度が花粉発芽抑制に及ぼす影響
- 4) 培地の pH が花粉発芽率に及ぼす影響

3. 結果

- 1) 果実に含まれる種子数の品種間差異
- 2) 花粉発芽阻害物質の探索
- 3) ギ酸カルシウムを含む製剤の濃度が花粉発芽抑制に及ぼす影響
- 4) 培地の pH が花粉発芽率に及ぼす影響

4. 考察

5. 摘要

6. 引用文献

Summary

1. 緒言

わが国で生産されるカンキツの中でもウンシュウミカンは単為結果性が強いため、種子はほとんど入らない。このことから生産上あるいは流通上、種子の有無が論じられることは少ない。一方、中晩生カンキツは種子が混入する品種が多い。このことは育種を進めていく上では非常に有利な点であるが、消費者にとって、種子が多く存在するのは食する上でマイナスである。そのため、種子の混入は果実の商品性を低下させる大きな要因となっている。

これまでカンキツの無核あるいは少核の果実を生産する手法としていくつかの方法が検討されてきた。育種的な手法としては放射線の照射

による突然変異⁶⁾、倍数体の利用^{8),15),19)}、蒴退化による雄性不稔性の利用、「無核紀州」由来の雌性不稔性の利用^{13),16),18)}などがある。また、栽培的な手法として四倍体の花粉で二倍体の品種を受粉する方法^{9),14),17)}、植物ホルモンを利用する方法^{3),10),20)}、ハウス栽培で開花期に高温にする方法²⁾などの研究が行われてきた。

本報ではこれまでの方法とはまったく異なった栽培的手法で種子数を減ずる方法を確立するため、花粉の発芽を阻害する物質を探索し、効果が高いと思われる薬剤の発芽阻害に有効な濃度および品種間差異について調査したので、その結果を報告する。

2. 材料および方法

1) 果実に含まれる種子数の品種間差異

部門内に植栽している「不知火」、「はるみ」、「せとか」、「津之輝」、「はるか」、「清見」、「麗紅」および「紅まどか」の8品種について成熟した果実を各品種10果供試し、2009年2月2日に果実に含まれる種子を取り出し、完全種子および不完全種子に分類し、その数を調査した。「紅まどか」は無加温施設栽培でそれ以外の品種は露地栽培である。なお、写真1に示すように胚乳が完全に形成されているものを完全種子と判別し、胚乳の発達が不十分な種子を不完全種子とした。

2) 花粉発芽阻害物質の探索

2008年5月8日、露地栽培の11年生「はるか」の開花直前の花蕾を採取し、葯を取り出して、25℃のインキュベータで開葯した。開葯した花粉はn-ヘキササンで純花粉に精製し、-85℃で保存した。

6月21日に、ショ糖10%、寒天1%にギ酸カルシウム、ギ酸ナトリウム、炭酸カルシウム、塩化カルシウムをそれぞれ1.0%、0.5%、0.2%になるように調整した培地を作成した。また、対照としてショ糖、寒天のみの培地を供試した。

上記培地に「はるか」の花粉を散布し、25℃で16時間静置後、花粉の発芽率を調査した。また、24時間静置後、花粉管長を測定した。

3) ギ酸カルシウムを含む製剤の濃度が花粉発芽抑制に及ぼす影響

2008年4月9日に少加温ハウス栽培の「せとか」および「天草」、5月8日に無加温ハウス栽培の「晩白柚」、露地栽培の「はるか」、「はるみ」のそれぞれ開花直前の花蕾を採取し、葯を取り出して、25℃のインキュベータで開葯した。開葯した花粉はn-ヘキササンで純花粉に精製した。

ショ糖10%、寒天1%にスイカル（晃栄化学工業 ギ酸カルシウム98%、水分等2%）を添加した溶液を直径8cmのシャーレに約20ml流し込んだ培地を作成し、培地上に花粉を25℃で16時間静置後、花粉の発芽率を調査した。「はるか」および「晩白柚」はスイカルの濃度が100倍、200倍、500倍、1000倍、「せとか」、「天草」、「はるみ」は100倍の培地を供試し、ショ糖、寒天のみの培地を対照とした。また、培地のpHを測定した。

4) 培地のpHが花粉発芽率に及ぼす影響

2008年5月15日に露地栽培の「はるか」

から採取し、前項と同様な方法で精製した純花粉を供試し、塩酸と水酸化ナトリウムを用いて pH を調整したショ糖 10%、寒天 1% の

培地に散布し、25℃で 16 時間静置後、花粉の発芽率を調査した。

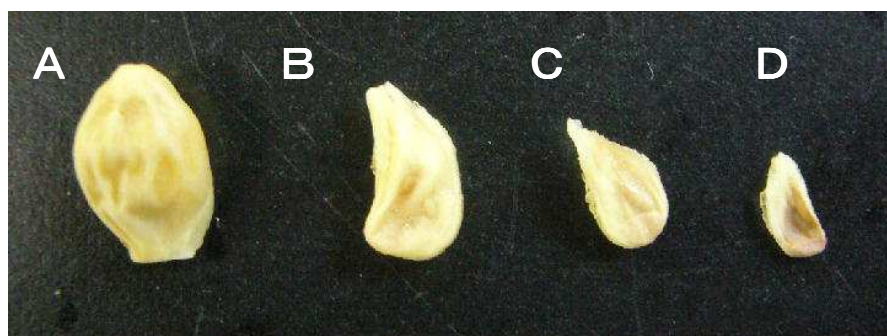


写真 1 完全種子 (A) と不完全種子 (B, C, D)

3. 結果

1) 果実に含まれる種子数の品種間差異

種子数は品種によって大きく異なり、完全種子が最も少ないのは「不知火」で、最も多いのは「紅まどか」であった (表 1)。含まれる種子数が少ない品種ほど標準偏差が低く、多い品種ほど高かった。不完全種子が最も少ないのは「せとか」で、最も多いのは「はるか」であった。含まれる種子数が少ない品種ほど標準偏差が低く、多い品種ほど高い傾向にあった。完全種子数と不完全種子数の関係では、完全種子が比較的少なくても不完全種子が多い品種や完全種子が多くて不完全種子はほとんど含まれない品種も存在した。

表 1 果実に含まれる種子数の品種間差異

品種名	完全種子		不完全種子	
	平均 (個)	標準偏差	平均 (個)	標準偏差
不知火	0.6	1.9	0.3	0.9
はるみ	1.5	0.7	1.0	1.5
せとか	2.4	2.1	0.0	0.1
はるか	6.0	4.2	16.2	4.4
津之輝	4.7	4.4	3.0	3.5
清見	10.2	7.4	0.2	0.6
麗紅	15.1	9.1	0.9	1.0
紅まどか	73.9	28.5	8.5	5.6

2) 花粉発芽阻害物質の探索

花粉の発芽はギ酸カルシウムおよびギ酸ナトリウムを含む培地で強く抑制され、それぞれ 1.0% および 0.5% の濃度ではまったく発芽が認められなかった (表 2)。0.2% では発芽はみられたものの発芽率は低く、花粉管の伸長も短かった (表 3)。炭酸カルシウムは花粉発芽率、花粉管長とも無処理と同程度であり、影響が認められなかった。塩化カルシウムは濃度 1.0% で花粉の発芽や花粉管の伸長を阻害したが、その程度はギ酸を含む塩類よりも軽かった。供試薬剤をそれぞれ 1% 添加した培地での花粉の発芽状況を写真 2 に示した。

表 2 各種薬剤の培地への添加が「はるか」の花粉発芽率に及ぼす影響

薬剤名 \ 濃度	花粉発芽率 (%)		
	1.0%	0.5%	0.2%
ギ酸カルシウム	0.0	0.0	7.6
ギ酸ナトリウム	0.0	0.0	6.0
炭酸カルシウム	69.3	62.6	69.6
塩化カルシウム	19.0	34.1	64.8
無処理	70.6		

表3 各種薬剤の培地への添加が「はるか」の花粉管の伸長に及ぼす影響

薬剤名	濃度	花粉管長 (μm)		
		1.0%	0.5%	0.2%
ギ酸カルシウム		0.0	0.0	98.3
ギ酸ナトリウム		0.0	0.0	88.3
炭酸カルシウム		396.6	432.3	402.6
塩化カルシウム		104.7	254.5	314.0
無処理		340.7		

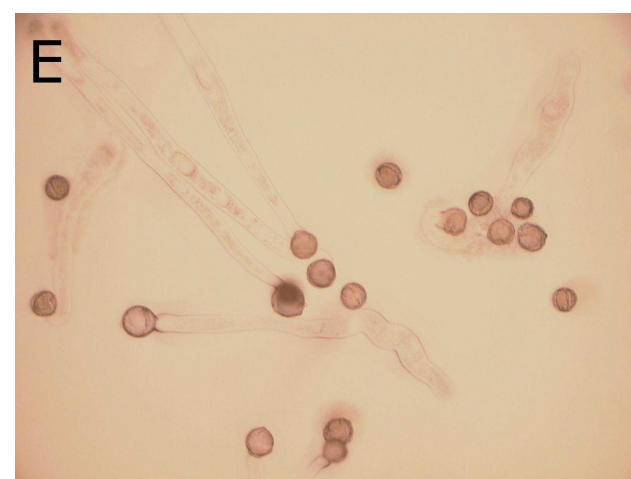
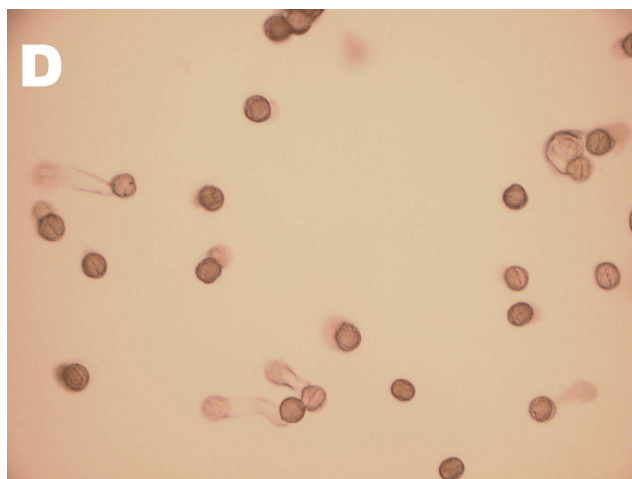
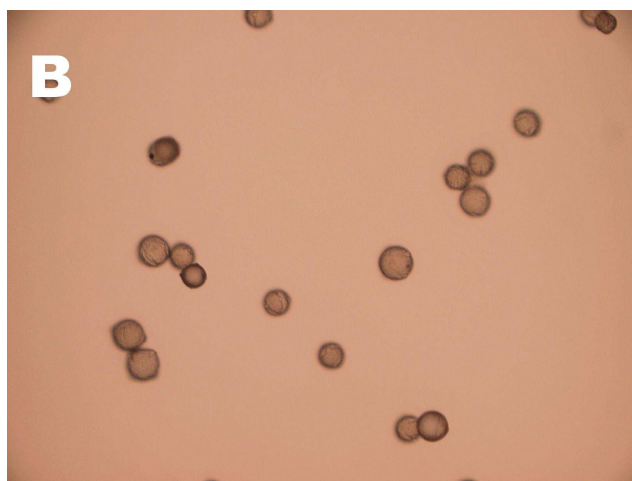
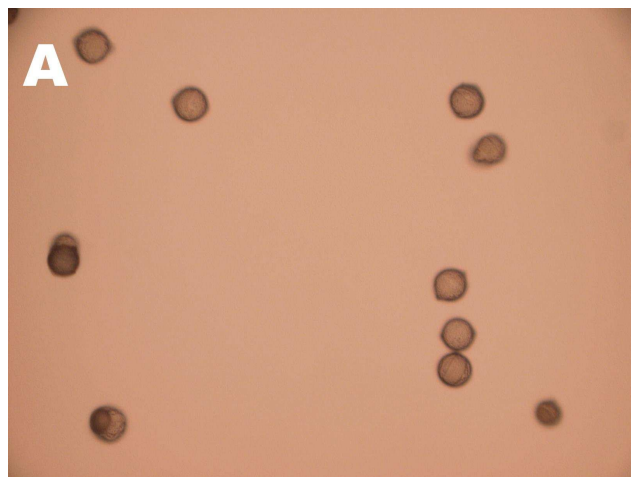


写真2 各種薬剤の培地への添加と「はるか」花粉の発芽（花粉散布 24 時間後）

- A : 1.0%ギ酸カルシウム
- B : 1.0%ギ酸ナトリウム
- C : 1.0%炭酸カルシウム
- D : 1.0%塩化カルシウム
- E : 無処理

3) ギ酸カルシウムを含む製剤の濃度が花粉発芽抑制に及ぼす影響

培地の pH はギ酸カルシウムを含むスイカルの希釈倍率が低くなるにつれて高くなり、中性に近くなった（表 4）。

花粉発芽率はいずれの品種でもスイカルの濃度が 100 倍では花粉の発芽はまったくみられなかった。また、濃度を変えた「はるか」と「晩白柚」では濃度が濃くなるにつれて花粉発芽率が低下した。なお、花粉発芽率は品

種により差が認められ、「はるか」が最も高く、「晩白柚」および「せとか」が低かった。100 倍のスイカルを添加した培地上での「晩白柚」の花粉の発芽状況を写真 3 に示した。

4) 培地の pH が花粉発芽率に及ぼす影響

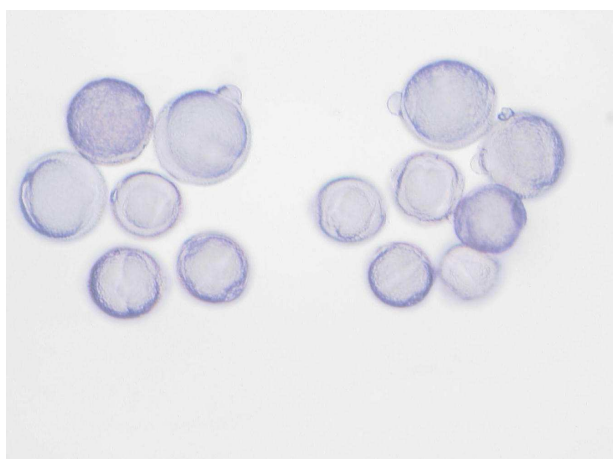
培地の pH が低く酸性が強いほど花粉発芽率が低く、pH が 5.0 以上では発芽率に大きな差は認められなかった（表 5）。

表 4 培地へのスイカルの添加が花粉発芽率に及ぼす影響 (%)

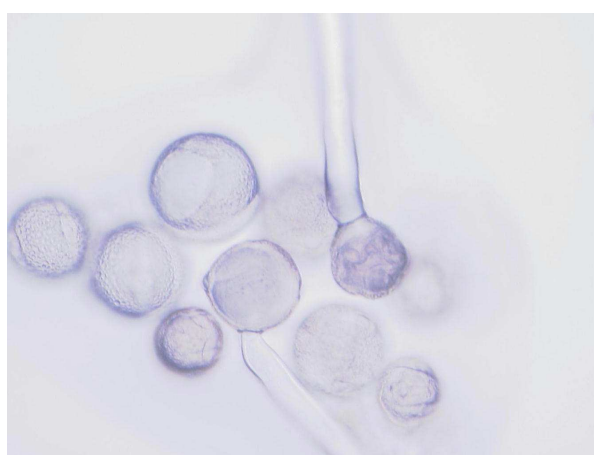
希釈倍率	pH	はるか	晩白柚	せとか	天 草	はるみ
100 倍	6.67	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
200 倍	6.32	0.0	0.9	—	—	—
500 倍	6.27	20.4	7.7	—	—	—
1000 倍	6.15	45.4	11.8	—	—	—
無処理	5.78	59.6	20.8	12.6	29.3	48.3

表 5 培地の pH が「はるか」の花粉発芽率に及ぼす影響

pH	2.47	3.60	5.04	6.17	7.32
花粉発芽率 (%)	0.0	8.8	53.4	60.4	52.1



スイカル 100 倍を添加した培地



スイカル無添加の培地

写真 3 スイカルの培地への添加と花粉の発芽（品種：晩白柚）

4. 考察

荒川ら¹⁾はリンゴを用い、満開後にギ酸カルシウム剤を散布することで結実が阻害され、摘

花効果が得られることを明らかにしており、その作用機作は柱頭に傷害を与え、花粉管の伸長

を阻害するためとしている。また、増田ら¹¹⁾、孟ら¹²⁾、石川ら⁷⁾も同様にギ酸カルシウムがリンゴの摘花に効果があることを認めている。

一方、ニホンナシについて平塚ら^{4),5)}が試験を行っており、リンゴと同様な摘花効果が得られているが、ニホンナシでの摘花機構はギ酸による受精阻害であるとしている。

本試験は *in vitro* での試験であり、柱頭上の受精阻害を確認したわけではないが、ギ酸カルシウムがカンキツ花粉の発芽および花粉管の伸長を阻害しているのは明らかであり、カンキツにおいてもリンゴやニホンナシと同様の作用機作であると考えられる。

花粉の発芽阻害に有効な薬剤を探索するため、ギ酸カルシウム、ギ酸ナトリウム、炭酸カルシウムおよび塩化カルシウムの培地での発芽率および花粉管の伸長を調査した結果、ギ酸を含む培地で明らかな発芽阻害効果があり、ギ酸以外の有機酸を含むカルシウム塩では効果が劣っていた。つまり、発芽阻害にはギ酸が有効であることを裏付けたデータとなった。平塚ら⁴⁾はニホンナシを供試し、ギ酸

カルシウム、乳酸カルシウムおよび酢酸カルシウムの *in vitro* での花粉の発芽阻害効果を調査し、ギ酸カルシウムの阻害効果を確認しており、本試験もその結果と一致した。

ギ酸カルシウムを98%含む製剤を用い、花粉の発芽阻害効果に有効な希釈倍率を求めたところ、100倍（濃度換算でおおむね1%）ではまったく発芽しなかったが、1000倍（同0.1%）では明らかに発芽抑制効果が劣っていた。平塚ら⁴⁾のニホンナシの *in vitro* での試験では0.1%で完全な阻害効果を確認しており、カンキツの花粉はニホンナシよりもギ酸カルシウムに対する感受性が劣ることも考えられる。

表5に示したように培地のpHが5以下の酸性になると花粉の発芽率は低下したが、5以上であれば変わらなかった。表4にギ酸カルシウムの濃度を変えた培地のpHを示しているが、ギ酸カルシウムの濃度が高くなるにつれてpHは高くなっている。このことはギ酸カルシウムによる花粉の発芽阻害がpHによるものではないことを証明している。

5. 摘要

カンキツの種子混入を防止するための手段として、花粉発芽を阻害する物質の探索を行った。その結果、ギ酸を含む塩類が花粉の発芽および花粉管の伸長を阻害することが判明した。寒天培地に含まれるギ酸カルシウムの濃度が高いほど花粉の発芽は抑制され、100倍でまったく発

芽しなかった。また、ギ酸カルシウムの発芽阻害はpHによるものではなく、ギ酸カルシウムの直接的な効果によるものである。

このようなことから、ギ酸カルシウムはカンキツの種子混入を防止する薬剤として利用できる可能性が示された。

6. 引用文献

- 1) 荒川 修・石川勝規・小原 繁・小野田和夫・福田博之：ギ酸カルシウム剤によるリンゴの摘花，園芸学研究，1，259～262(2002)
- 2) 近泉惣次郎，日野 昭，秋好廣明，水谷房雄：開花期の温度が‘アンコール’の種子数に及ぼす影響，愛媛大学農学部農場報告，21，11～17(2000)
- 3) 比嘉照夫：果樹類の無核化に関する研究(第1報)柑橘類の種子発達に及ぼすルチンおよ

- びトマトトーンの影響，園芸学会発表要旨，昭55春，38～39(1980)
- 4) 平塚 伸・渡辺 学・河合義隆・前島 勤・川村啓太郎・加藤尉行：ニホンナシに対するギ酸カルシウムの摘花作用，園芸学会雑誌，71，62～67(2002)
- 5) 平塚 伸・丹羽一江・河合義隆・前島 勤・川村啓太郎：ギ酸カルシウムによるニホンナシの摘花：濃度の影響と花柱による薬剤の

- 吸収, 園芸学会雑誌, 72, 224~229(2003)
- 6)市ノ木山浩道・大野秀一・前 博視:放射線育種によるカンキツ‘早香’の少核系統の作出, 園芸学研究. 8(別)2, 381(2009)
- 7)石川勝規・小野田和夫・小原 繁:リンゴにおける蟻酸カルシウムの摘花効果, 園芸学会東北支部発表要旨, 平 12, 23~24(2000)
- 8)喜多景治・佐川正典・窪田聖一・松本英紀:3倍体利用によるカンキツ類の無核品種育成に関する研究, 園芸学会発表要旨, 昭 62 春, 6~7(1987)
- 9)牧田好高・小中原 実:有核性カンキツの無核果生産に関する研究 第 1 報 4 倍体ナツダイダイ花粉の受粉によるヒュウガナツの無核果生産, 静岡県柑橘試験場研究報告, 17, 1~12(1981)
- 10)牧田好高:有核性カンキツの無核果生産に関する研究 第 2 報 ジベレリンペースト利用によるヒュウガナツと清見の無核果生産, 静岡県柑橘試験場研究報告, 20, 21~29(1984)
- 11)増田哲男・工藤和典・別所英男・猪俣雄司・和田雅人・中元陽一・藤澤弘幸:リンゴ‘ふじ’の摘花に及ぼすギ酸カルシウムの影響, 園芸学研究, 5(3), 283~288(2006)
- 12)孟 玉平・横田 清・村上正伸・田口芳彦:リンゴ‘ふじ’における Ca 化合物の摘花効果とその実用化の可能性, 園芸学会東北支部発表要旨, 平 12, 25~26(2000)
- 13)根角博久・中野睦子・吉田俊雄:無核紀州に由来する受精胚珠発育異常の遺伝様式. 園芸学会雑誌. 70 別 2. 403(2001)
- 14)高原利雄・生山 巖・奥代直巳:カンキツ類の自家不和合性品種に対する受粉樹としての 4 倍体花粉の影響, 果樹試験場研究報告 D, 4, 11~24(1982)
- 15)徳永忠士・新居美香・津村哲宏・山尾正実:スダチにおける四倍体と二倍体との交雑による三倍体雑種の作出および無核品種‘徳島 3X1 号’の育成, 園芸学研究, 4(1), 11~15(2005)
- 16)山崎安津・金好純子・古田貴音・我 藤雄・文室政彦・羽生 剛・北島 宣:無核紀州型の無核性発現を抑制する温度条件, 園芸学研究, 8(別)2, 138(2009)
- 17)Yamashita, K. : Production of seedless fruits in Hyuganatsu, Citrus tamurana Hort, ex Tanaka, and Hassaku, Citrus hassaku Hayata through pollination with pollen grains from the 4 x Natsudaidai, Citrus natsudaidai Hayata, J. Japan. Soc. Hort. Sci, 45, 225~230(1976)
- 18)矢野加奈子・清水徳朗・西川芙美恵・遠藤朋子・島田武彦・藤井 浩・根角博久:‘無核紀州’の無核性発現関連遺伝子の解析, 園芸学研究, 7(別 2), 401(2008)
- 19)吉田俊雄・根角博久・吉岡照高・家城洋之・伊藤祐司・中野睦子・上野 勇・山田彬雄・村瀬昭治・瀧下文孝:キンカン新品種‘ぷちまる’, 果樹研究所研究報告, 2, 9-16(2003)
- 20)湯田英二・松井弘之・中井 功:GA 処理がポンカンの無核化に及ぼす影響, 園芸学会発表要旨, 昭 51 春, 142~143(1976)

Summary

To reduction seed mixture, searched for the material which obstructed pollen germination of citrus. As a result, it was recognized that salts including the formic acid obstructed germination of the pollen and the extension of the pollen tube. The germination of the pollen was restrained so that the density of calcium formate included in an agar nutrient medium was high, and it did not germinate at 100 times (density conversion, about 1%) at all. This germination obstruction depends on the direct effect of the formic acid not a thing by the pH.

From such a thing, the possibility that I could use the calcium formate as the medicine which reduced the seed mixture of the citrus fruit was shown.