

ナシ花粉の効率的な生産に
関する研究

2023 年 1 月

千葉大学園芸学研究科
環境園芸学専攻園芸科学コース
柴崎 茜

(千葉大学学位申請論文)

ナシ花粉の効率的な生産に
関する研究

2023年1月

千葉大学園芸学研究科
環境園芸学専攻園芸科学コース
柴崎 茜

目次

序	1
謝辞	5
第1章 花粉採取効率を高めるための栽培法	
1 緒言	6
2 材料および方法	10
3 結果	13
4 考察	21
第2章 植物成長調節剤処理が花芽着生および花蕾採取時期に及ぼす影響	
1 緒言	25
2 材料および方法	26
3 結果	32
4 考察	52
第3章 開花前の低温がナシ花粉の発育に及ぼす影響	
1 緒言	59
2 材料および方法	60
3 結果	72
4 考察	85

第 4 章 凍霜害抑制剤による花粉の低温障害抑制効果
の検討

1 緒言 90

2 材料および方法 90

3 結果 93

4 考察 96

総合考察 99

摘要 106

Summary 112

引用文献 120

序

多くのナシ (*Pyrus* spp.) 品種は自家不和合性を持つ。ナシ産地では、結実安定と高品質果実生産のために人工受粉が行われている。ナシ生産者は、人工受粉に用いる花粉を調達するために、自らの圃場で花粉を採取しているが、自家採取には多くの労力がかかる（前島ら，2018b）ため、花粉を購入し人工受粉に利用している生産者も多い。前島ら（2018a）の調査によると、ニホンナシ (*P. pyrifolia* Nakai) 生産者の半数以上が購入した花粉を人工受粉に使用している。購入花粉について、国産花粉は一部地域を除きほとんど流通しておらず（中央果実協会，2016）、海外からの輸入花粉に頼らざるを得ないのが現状である。

一方で、輸入花粉の供給量は国際情勢の変化により、供給が不安定になることがある。2010年には、中国がナシ花粉の輸出を制限したため、ナシ産地では供給不安による混乱が生じた（中央果実協会，2016）。加えて、輸入花粉を媒介した国内への病害侵入リスクが高まっている。キウイフルーツでは、輸入花粉から侵入したとされるキウイフルーツかいよう病 (*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*) の強毒性株 (Psa3) が国内で発生し、樹の枯死などにより産地に大きな打撃を与えた（澤田ら，2015）。また、2015年にニホンナシ等に対する伝染病である火傷病 (*Erwinia amylovora*) の発生が韓国国内で確認されたことに伴い、韓国からの花粉の輸入が即時停止された（横浜植物防疫所，2015）。ナ

シ花粉の最大輸入先である中国においても、同様の火傷病が発生することで、輸入が停止する可能性がある。これらのことから、国産果実の安定生産のためには、輸入花粉に依存しない国産花粉の安定供給体制を構築する必要がある。ナシ花粉について、精選法や貯蔵法（稲富ら，1996）、切り枝を用いた花粉採取法（加藤ら，1996；加藤ら，1999）の検討は一部行われてきたものの、詳細な生産法については検討されていない。全国のニホンナシの結果樹面積のうち15%～29%が輸入花粉に依存しており（中央果実協会，2016）、それをまかなう量のナシ花粉を国内で生産するためには、花粉の効率的な生産法について、より詳細に検討する必要がある。

産地における花粉を採取するためのナシ樹（以下受粉樹）は、粗放的で高木化している。こうした樹形では、花粉採取作業に脚立や踏み台を使用する必要があるが、採取効率が悪く作業中の危険も伴う。また、花粉採取の際には、一般的に樹上の開花前の風船状花蕾のみを選択する方法が用いられるが、多くの時間を要する。花粉採取効率を高めるためには、適切な受粉樹の栽培法や花蕾採取法の開発が必要である。

植物成長調節剤の処理により、受粉樹の花芽着生を促進したり、花蕾採取時期を調節したりすることで、より効率的に花粉生産を行うことができると考えられる。ニホンナシにおいて、植物成長調節剤の処理により花芽着生が促進される（伴野ら，1982；伴野ら，1985；伴野ら，1986；Itoら，2000）ことが報告されているが、

これらの植物成長調節剤が花粉に及ぼす影響についての調査は行われていない。また、植物成長調節剤の一種であるシアナミドの処理は、ニホンナシの開花期を早める（大野・三井（2008）；大谷，2010；黒木ら，2013；吉川ら，2014）ことから、花蕾採取時期の調節も可能であると考えられるが、詳しくは明らかになっていない。

様々な植物において、花粉の発育過程には低温感受性が高いステージが存在する（Satake, 1991；Yamamoriら，2021；Bartonら，2014；Tranelら，2009；Ohnishiら，2010；Clarke・Siddique, 2004；Woodら，2006；Shakedら，2004）。ナシにおいても、低温感受性が高い花粉の発育ステージが存在すると考えられるが、詳しいことは明らかになっていない。また、ナシについては、低温感受性が高い花粉の発育ステージや低温感受性の品種間差異について、ほとんど調査されていない。低温感受性の高い花粉発育ステージや、低温に強い品種が明らかになることで、花粉の低温障害のリスク回避が可能となる。

果樹の凍霜害対策の中でも、費用を抑えることのできる凍霜害対策の一つの方法として、化学物質の散布がある（Smith, 2019）。凍霜害抑制剤の一種であるコーヒー粕抽出物は、食品加工廃棄物から抽出されるため安価に製造でき、主要な成分であるカフェインは、植物体の凍結を阻害する（Kawaharaら，2017）。コーヒー粕抽出物の処理により、凍結による障害を軽減できる可能性があるが、ナシ花粉に対する影響は明らか

になっていない。

本研究では、ナシ花粉の効率的な生産技術の確立を目的に、花粉採取効率を高めるための受粉樹の栽培法および花蕾採取法、植物成長調節剤処理が花芽着生および花蕾採取時期に及ぼす影響、開花前の低温がナシ花粉の発育に及ぼす影響、凍霜害抑制剤による花粉の低温障害抑制効果の4点について検討し、国産花粉安定供給体制の構築に資する技術について考察した。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり，終始ご懇切なご教示を賜りました千葉大学園芸学研究科果樹園芸学研究グループの近藤悟教授，小原均教授，ならびに大川克哉講師，論文審査でご指導を賜りました高垣美智子教授，三吉一光教授，ならびに浄閑正史准教授に謹んで感謝申し上げます．

試験の実施および論文の作成にあたり，多くのご援助とご協力を賜った埼玉県農業技術研究センター果樹担当島田智人専門研究員を始め，同担当歴代職員の皆様に厚く御礼申し上げます．また，実験を行うにあたり，多くのご助言をいただいた農研機構果樹研究部門の杉浦俊彦博士，試験の実施や供試材料の提供において多くのご協力をいただいた同部門の皆様に深く感謝申し上げます．

本研究の一部は，生研支援センターイノベーション創出強化研究推進事業（JPJ007097）の一環として実施しました．研究統括者の鳥取大学竹村圭弘准教授を始め，コンソーシアム関係者の皆様に厚く御礼申し上げます．

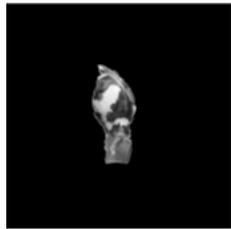
第 1 章 花粉採取効率を高めるための栽培法

1 緒言

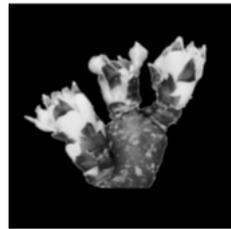
受粉樹は、樹高が高く粗放的な樹形であることが多いため、高所などでの過重労働が問題となっている（島田ら，2018；前島ら，2018b）。また、脚立を用いた高所での作業は、昇降によって労働負荷が高まると同時に、転落などの農作業事故を引き起こす危険性を有している（日本農村医学会，2012）。高所での作業を減らすための受粉樹の樹形として、低樹高ジョイント仕立てが挙げられるが、花蕾の採取効率や花芽着生程度について十分な調査は行われていない。

現在、受粉樹からナシの花粉を採取するにあたり、開花直前の風船状期の花蕾（第 1 図）のみを選択して採取している。ニホンナシ‘長十郎’では、開花 4～2 日前に花粉中の糖がデンプンに変化しはじめ、成熟花粉となり開花を迎える（林・田辺，2016）、開花期の花を採取することで花粉発芽率の高い成熟花粉を得ることができるが、開花とともに葯の裂開が始まり花粉が放出されるため、花粉の回収は困難になる。こうしたことから、成熟直前の花粉や成熟花粉を含み、かつ葯がまだ裂開していない開花直前の風船状期の花蕾の採取が行われてきたが、花蕾の選択採取には多くの時間を要する。樹上の様々な発育ステージの花蕾を一斉に採取することで採取効率を高めることができると考えられるが、花粉発芽率を低下させずに多くの花粉を回収できる適切な一斉採取時期は明らかになっていない。

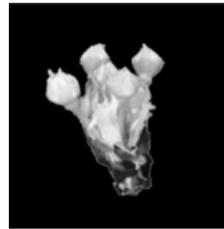
本章においては，樹高 2 m 程度の低樹高ジョイント仕立てと高所での作業を伴う 3 m 以上の樹高になることもある慣行の立木仕立てや棚仕立て（第 2 図）について，花粉採取効率を比較した．また，樹高を 2 m 程度に抑えた低樹高ジョイント仕立て，低樹高一本主枝仕立ておよび株仕立て（第 2 図）の 3 樹形について，花芽着生量を調査し，花粉採取に適切な樹形を検討した．加えて，3 分咲き，5 分咲きおよび 7 分咲き（樹全体の花のうち 3 割，5 割および 7 割が開花）でそれぞれ花蕾を一斉採取し，花粉採取量や花粉発芽率を比較することで，適切な花蕾採取時期を明らかにしようとした．



催芽～発芽期
ステージⅠ



出蕾期
ステージⅡ



花弁露出期前
ステージⅢ

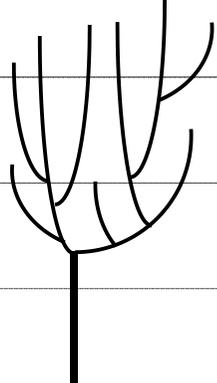
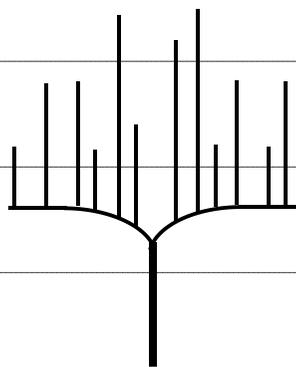
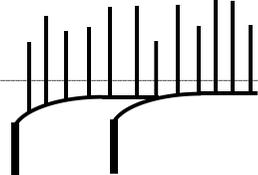
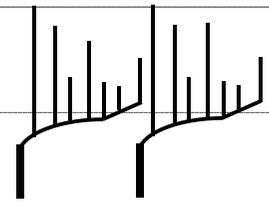
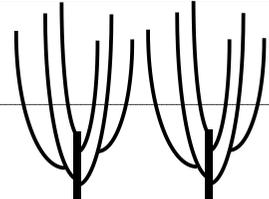


花弁露出期
ステージⅣ



風船状期
ステージⅤ

第 1 図 ニホンナシ ‘幸水’ における花芽の発育ステージ

	立木仕立て	棚仕立て	低樹高ジョイント仕立て	低樹高1本主枝仕立て	株仕立て
高さ4m					
高さ3m					
高さ2m					
高さ1m					

第 2 図 ナシ受粉樹における主な樹形

2 材料および方法

1) 花粉採取に適切な樹形の検討

(1) 樹形の違いが花粉採取作業効率に及ぼす影響

試験は 2018 年に実施した。埼玉県白岡市生産者圃場植栽の立木仕立て（立木仕立て区）25 年生ニホンナシ‘松島’，埼玉県農業技術研究センター久喜試験場（以下所内）植栽棚仕立て 51 年生（棚仕立て区）および 15 年生低樹高ジョイント仕立て（低樹高ジョイント仕立て区）‘松島’を供試した。被験者 2 名（A：初心者・身長 150 cm，B：経験者・身長 170 cm）により，5 分咲き時に花蕾を一斉採取した。花蕾採取作業は，それぞれの被験者において，3 分間で 3 反復行った。採取した花蕾重を計測し，花蕾重に 0.004338 を乗ずることによって花粉重を算出し（島田ら，2019），樹形別の花粉 1 g 相当の花蕾採取時間を求めた。なお，立木仕立て区では両被験者，平棚仕立て区では被験者 A が脚立を使用した作業となった。

(2) 樹形の違いが花芽着生に及ぼす影響

試験は 2019～2021 年にかけて実施した。2019 年 2 月に 1 年生ニホンナシ‘長十郎’を所内に定植し，低樹高ジョイント仕立てと株仕立ての樹形になるよう育成した。すなわち，低樹高ジョイント仕立てでは株間 1 m で 5 樹を定植し，地上 90 cm 位置で水平誘引し，同年 4 月に苗木の先端部を隣接樹の水平部にジョイント接ぎ木した（低樹高ジョイント仕立て区）。一方，株仕立てでは，50 cm（株仕立て 50 cm 区），75 cm（株仕

立て 75 cm 区), および 1 m (株仕立て 1 m 区) の株間それぞれ 5 樹を定植後, 地上 90 cm で切り返した. 2019 ~ 2021 年の落葉後に, 各区 5 樹の両端を除いた 3 樹について, 樹ごとに頂花芽と腋花芽を合わせた花芽数を調査し, 株間 1 m あたりの花芽数を求めた. 各年の調査後, 主幹上から発生した新梢は基部から 20 ~ 30 cm の位置で切り返しせん定した.

(3) ジョイント接ぎ木の有無が樹体生育および花芽着生に及ぼす影響

試験は 2016 年から 2018 年にかけて実施した. 2016 年 2 月に 1 年生 '松島' を所内に植栽間隔 1.3 ~ 1.7 m で定植し, 地上 70 cm の位置で水平誘引し, 主枝とした. 3 樹は同年 5 月に苗木先端部を隣接樹の水平部にジョイント接ぎ木して低樹高ジョイント仕立て区とし, 別の 3 樹は苗木先端部をジョイントせず数節切り返して紙紐で軽く誘引し, 低樹高一本主枝仕立て区とした. 2016 ~ 2018 年の落葉後, 樹ごとに総新梢長, 強勢枝 (60 cm 以上の新梢) 発生数, 主枝 10 cm あたり花芽数 (樹ごとの頂花芽と腋花芽を合わせた花芽数 / 主枝長 (cm) * 10) および花芽着生率 (樹ごとの頂花芽と腋花芽を合わせた花芽数 / 樹ごとの全芽数 * 100) を調査した. 結果は, 樹を樹基部, 中央, 先端に 3 分割して, 処理区ごとに示した. また, 総新梢長, 強勢枝本数および花芽数については, 主枝 10 cm あたりの値を示した. 各年の調査後, (2) と同様にせん定を行った.

2) 適切な花蕾採取時期の検討

試験は 2021 年に実施した。所内植栽棚仕立て 37 年生ニホンナシ‘新興’を供試し、3 分咲き（樹全体の花のうち 3 割が開花）、5 分咲き（樹全体の花のうち 5 割が開花）および 7 分咲き（樹全体の花のうち 7 割が開花）の開花ステージにおいて、それぞれ花蕾を一斉採取した。対照として、それぞれのステージにおいて風船状期の花蕾のみを選択して採取する選択採取区を設けた。各処理区において 5 分間 3 反復の採取作業を行った。採取した花蕾の重量を測定した後、採葯機（POPP, (株) ミツワ）で葯を採取し、葯精選機（KBS-6, (株) ミツワ）で葯を精選した。精選した葯は開葯機（M-160, (株) ミツワ）に入れ、25℃で 1 日程度静置して開葯した。開葯後、粗花粉を -20℃で凍結保存した。

得られた粗花粉を用い、花粉重と花粉発芽率を測定した。凍結保存した粗花粉を室温で 2 時間静置し、ガーゼに包んだ後、アセトン中でガーゼを振るい、葯殻と花粉を分離した。花粉とアセトンの混合液から、アセトンを完全に乾燥させた後、花粉重を測定した。また、得られた純花粉から綿棒で花粉粒を採取し、培地（10%スクロース、1%寒天）の上に広げ、25℃で 2 時間静置した。実体顕微鏡（LZ-LED-T, ケニス（株））を用い、1 サンプルあたり 30 倍で無作為に 3 視野を選び、計 100 粒を観察した。花粉本体よりも花粉管が長く伸長している花粉を発芽花粉とし、発芽花粉数を調査花粉数で除し、100 を乗ずることで花粉発芽率を算出した。これらの調査は、処理区ごとに 3 反復行った。

花蕾採取量と花粉採取量については，花蕾採取に要した作業時間 1 時間あたりの値を結果に示した．

3 結果

1) 花粉採取に適切な樹形の検討

(1) 樹形の違いが花粉採取作業効率に及ぼす影響

花粉 1 g 相当の花蕾採取時間は，低樹高ジョイント仕立て区で，立木仕立て区および平棚仕立て区より有意に短くなった．作業者による違いは見られなかった（第 1 表）．

(2) 樹形の違いが花芽着生に及ぼす影響

株間 1 m あたり花芽数は，定植 1 年目，2 年目および 3 年間の合計において，低樹高ジョイント仕立て区で株仕立て 50 cm，70 cm および 100 cm 区より有意に多くなった．株仕立てにおいては，株間を狭くしても株間 1 m あたりの花芽数は増加しなかった（第 2 表）．

(3) ジョイント接ぎ木の有無が樹体生育および花芽着生に及ぼす影響

定植 1 年目には，主枝先端部の総新梢長が，低樹高一本主枝仕立て区で有意に長くなった．定植 2 年目には，主枝中央部の花芽着生率が，低樹高ジョイント仕立て区で有意に高くなった．定植 3 年目には，低樹高ジョイント仕立て区で，主幹および主枝基部由来の強勢枝本数が有意に少なくなり，主枝中央部および樹全体の花芽数や花芽着生率が高くなった（第 3 表）．

第 1 表 樹形および作業者の違いが花粉採取時間に及ぼす影響（2018年）

樹形	作業者	花粉1 g相当の花蕾採取時間(分)
立木仕立て	初心者	8.8
	経験者	7.7
棚仕立て	初心者	8.8
	経験者	6.3
低樹高ジョイント仕立て	初心者	4.3
	経験者	4.0
二元配置分散分析 ^{z)}		
仕立て	立木仕立て	a ^{y)}
	棚仕立て	a
	低樹高ジョイント仕立て	b
**		
作業者		NS
交互作用		NS

^{z)} 二元配置分散分析で**は1%で有意差あり，NSは有意差なし

^{y)} Tukey-HSD検定で同縦列の異符号間に5%水準で有意差あり（n=3）

第 2 表 受粉樹の樹形の違いが花芽数におよぼす影響
(2019～2021年)

樹形	株間1 mあたり花芽着生数			
	2019年 (定植1年目)	2020年 (定植2年目)	2021年 (定植3年目)	3年間 合計
低樹高ジョイント仕立て	59.4 a ^{z)}	195.0 a	328.0	582.4 a
株間50 cm	16.0 b	38.0 b	124.0	178.0 b
株仕立て 株間75 cm	11.7 b	61.8 b	211.6	285.0 b
株間100 cm	28.6 b	82.7 b	159.7	270.9 b
一元配置分散分析 ^{y)}	**	**	NS	**

^{z)} Tukey-HSD 検定で同縦列の異符号間に 5%水準で有意差あり (n=3)

^{y)} 一元配置分散分析で**は 1%水準で有意差あり, NSは有意差なし (n=3)

第 3 表 ジョイント接ぎ木の有無が樹体生育および花芽着生に及ぼす影響（2016～2018年）

年度 (樹齢)	樹形	主幹+主枝 基部側	主枝 中央部	主枝 先端部	樹全体	主幹+主枝 基部側	主枝 中央部	主枝 先端部	樹全体
		総新梢長(cm/主枝10 cm)				強勢枝本数(本/主枝10 cm)			
2016 (定植1年目)	低樹高1本主枝	95.6	29.7	45.3	56.8	0.5	0.1	0.0	0.2
	低樹高ジョイント	69.1	15.7	28.5	37.8	0.5	0.0	0.0	0.2
	t 検定 ^{z)}	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS
2017 (定植2年目)	低樹高1本主枝	296.9	65.7	72.5	145.0	1.9	0.4	0.3	2.5
	低樹高ジョイント	191.1	43.3	75.8	103.4	1.2	0.3	0.1	1.6
	t 検定	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
2018 (定植3年目)	低樹高1本主枝	334.4	213.5	209.0	252.3	3.0	1.9	1.2	2.0
	低樹高ジョイント	222.0	139.7	236.0	199.2	1.8	0.8	1.2	1.3
	t 検定	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS
		花芽数(個/主枝10 cm)				花芽着生率(%)			
2016 (定植1年目)	低樹高1本主枝	5.5	2.8	7.6	5.3	19.8	18.7	36.5	23.4
	低樹高ジョイント	2.2	2.6	6.6	3.8	9.7	21.3	37.5	18.0
	t 検定	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
2017 (定植2年目)	低樹高1本主枝	13.4	20.5	24.9	19.6	14.7	46.2	63.0	35.9
	低樹高ジョイント	14.6	15.2	27.0	18.9	20.4	56.0	73.0	46.0
	t 検定	NS	NS	NS	NS	NS	**	NS	NS
2018 (定植3年目)	低樹高1本主枝	8.2	9.6	18.5	12.1	11.5	19.9	29.4	19.9
	低樹高ジョイント	15.3	21.9	44.9	27.4	23.7	54.5	68.4	49.1
	t 検定	NS	*	NS	*	NS	*	NS	*

^{z)} t 検定で**は 1%，*は 5%水準で有意差あり，NSは有意差なし

割合における統計処理は，角変換後実施（n=3）

2) 適切な花蕾採取時期の検討

時間あたり花蕾採取重について、採取時期間に有意差は見られなかったものの、採取方法については有意差が見られた。一斉採取は、選択採取と比較して3分咲きで約6倍、5分咲きで約8倍、7分咲きで約4倍有意に多くなった(第4表)。

時間あたりの花粉採取量は、採取時期について採取方法ごとにみると、選択採取では有意差はなかったものの、一斉採取においては3分咲きで7分咲きより有意に増加した。採取方法について採取時期ごとにみると、3分および5分咲きでは一斉採取が選択採取より有意に多くなり、7分咲きでは採取方法による差は見られなかった(第5表)。

花粉発芽率について、採取時期について採取方法ごとにみると、選択採取では採取時期による有意差はなかったものの、一斉採取においては3分咲きで5分および7分咲きより有意に低くなった。採取方法について採取時期ごとにみると、5分咲きにおいて、一斉採取で選択採取よりも有意に高くなった。ただし、この主効果は有意な交互作用によって限定される(第6表)。

第 4 表 花 蕾 採 取 時 期 お よ び 採 取 方 法 の 違 い が 花 蕾 採 取 量 に 及 ぼ す 影 響 (2 0 2 1 年)

採取時期	採取方法	花蕾採取量(g/h)
3分咲き	選択	314.0
	一斉	1824.3
5分咲き	選択	344.3
	一斉	2945.4
7分咲き	選択	601.8
	一斉	2229.5
二元配置分散分析 ^{z)}		
採取時期		NS
採取方法		**
交互作用		NS

^{z)} 二 元 配 置 分 散 分 析 で ** は 1 % 水 準 で 有 意 差 あり , NS は 有 意 差 な し (n = 3)

第 5 表 花蕾採取時期および採取方法の違いが花粉採取量に及ぼす影響（2021年）

採取時期	採取方法	花粉採取量(g/h)
3分咲き	選択	1.784
	一斉	6.062
5分咲き	選択	1.404
	一斉	5.348
7分咲き	選択	1.668
	一斉	1.868
二元配置分散分析 ^{z)}		
採取時期		NS
採取時期（選択）		NS
採取時期（一斉）	3分咲き	a ^{y)}
	5分咲き	ab
	7分咲き	b
		*
採取方法		NS
採取方法（3分咲き）		**
採取方法（5分咲き）		*
採取方法（7分咲き）		NS
交互作用		NS

^{z)} 二元配置分散分析で**は1%、*は5%水準で有意差あり、NSは有意差なし

^{y)} Tukey-HSD検定で同縦列の異符号間に5%水準で有意差あり（n=3）

第 6 表 花蕾採取時期および採取方法の違いが花粉発芽率に及ぼす影響（2021年）

採取時期	採取方法	花粉発芽率 (%)
3分咲き	選択	72.3
	一斉	60.6
5分咲き	選択	57.0
	一斉	73.4
7分咲き	選択	66.6
	一斉	80.4
二元配置分散分析 ^{z)}		
採取時期		NS
採取時期(選択)		NS
採取時期(一斉)	3分咲き	b ^{y)}
	5分咲き	a
	7分咲き	a
		*
採取方法		NS
採取方法 (3分咲き)		NS
採取方法 (5分咲き)		*
採取方法 (7分咲き)		NS
交互作用		*

^{z)} 二元配置分散分析で*は5%水準で有意差あり，NSは有意差なし

^{y)} Tukey-HSD検定で同縦列の異符号間に有意差あり (n=3)

4 考察

1) 花粉採取に適切な樹形

花粉 1 g 相当の花蕾採取時間について，作業者の熟練度の違いにかかわらず，低樹高ジョイント仕立ては立木仕立てや棚仕立てよりも減少した．また，低樹高ジョイント仕立ては，同程度の樹高である株仕立てや低樹高一本主枝仕立てよりも，花芽数や花芽着生率が増加した．以上のことから，低樹高ジョイント仕立ては，花粉採取に適した樹形であると考えられる．

低樹高ジョイント仕立ては，脚立利用を要しない樹高で，直線的な樹形となっている．一方，立木仕立ておよび平棚仕立ては，脚立の昇降が必要な樹高で，樹形も複雑である．こうした違いが，低樹高ジョイント仕立てで花蕾採取時間が減少した要因の一つであると考えられる．

ニホンスモモ (*Prunus salicina* Lindl.) ‘貴陽’において，主幹が直立した樹では，主幹を地面と並行に曲げた樹よりも花芽が減少した (Chutinanthakuna ら，2015)．これは，主幹を曲げることでジベレリン生合成遺伝子である *Ps1GA3ox* の発現量が減少し，ジベレリン活性が低下することで，花芽着生が促進されたためである (Chutinanthakuna ら，2015)．したがって，本研究において低樹高ジョイント仕立てで株仕立てよりも花芽数が増加したのは，低樹高ジョイント樹で主幹を曲げたことでジベレリン活性が低下したことが要因の一つであると考えられる．

本研究では，低樹高ジョイント仕立てはジョイント

を行っていない低樹高一本主枝仕立てよりも，樹基部で強勢枝本数が減少し，花芽数や花芽着生率が増加した．ニホンナシのジョイント仕立て樹では，主枝基部周辺の旺盛な新梢伸長は認められず，新梢は主枝基部から先端部まで揃った生育を示す（柴田・関，2021）．モモにおいても，ジョイント仕立て樹では一本主枝仕立て樹よりも徒長枝本数が減少する（浜名ら，2016）ことが報告されている．ニホンナシにおいて，新梢伸長が遅くまで続くと，腋芽の発達が遅れ，花芽分化が抑制される（伴野ら，1985）．したがって，ジョイント接ぎ木により徒長枝数が減少し，新梢伸長が遅くまで続く枝が減少することで，結果的に樹の花芽数が増加したのかもしれない．今後，ジョイント接ぎ木が新梢伸長停止期に及ぼす影響について，調査する必要がある．

2) 適切な花蕾採取時期

時間当たりの花粉採取量は，3分および5分咲きの一斉採取で選択採取よりも高くなり，7分咲きでは採取方法による差はなかった．また，一斉採取における花粉発芽率は，3分咲きで5分および7分咲きよりも低くなった．以上より，5分咲き時の一斉採取が最も花蕾採取に適切であると考えられる．

時間当たりの花粉採取量が7分咲きでのみ採花方法による差が見られなかったのは，7分咲きでは多くの葯が樹上ですでに開葯しており，花粉を回収できなかったためであると考えられる．また，一斉採取におい

て、3分咲きで5分および7分咲きよりも花粉発芽率が低下したのは、3分咲き時に採取した花粉には多くの未熟花粉が含まれていたためであると考えられる。

‘長十郎’において、開花1か月前に花粉母細胞期である花粉が徐々に発育をしていき、開花時に成熟花粉となる（林・田辺，2016）。したがって、3分咲き時においては、成熟花粉になる前ステージの花粉の比率が5分咲きや7分咲きよりも多かった可能性がある。

本研究において、5分咲き選択採取の花粉発芽率は、同時期の一斉採取よりも低下したが、要因は不明である。また、花蕾採取時期と採取方法が花粉発芽率に及ぼす影響について、採取時期と採取方法に交互作用も見られたことから、主効果は限定的である。今後さらに検討する必要がある。

3) 花粉生産における成果の活用と今後の展望

低樹高ジョイントは単純な樹形で、脚立の使用が必要ないことから、省力的で安全性が高い受粉樹管理方法として、普及することが期待される。加藤（1999）は、ニホンナシの切り枝採取に要する時間は、一本主枝整枝の方が自然開心形より三割程度短くなるとしている。本研究で用いた低樹高ジョイント仕立ても主枝が一本で樹形が単純であることから、せん定などの花粉採取以外の管理作業についても省力化が図れると考えられる。また、脚立の利用が必要なく作業の安全性が高まることから、障がい者や高齢者などの就労機会を提供でき、花粉生産における農福連携の推進に寄与

できる。

本研究では、栽植3年目までの低樹高ジョイントの花芽着生を確認した。‘松島’および‘新興’では定植6年目までは直線的に増加する結果も得られている（未発表）が、樹齢進行に伴う強樹勢化によって、将来的に花粉収量が減少していく可能性もある。また、せん定等の栽培管理時間や費用についても、樹齢進行とともに増加するかもしれない。花粉収量の経年変化や、樹齢が進んだ場合の適切な栽培管理方法について、今後も検討していく必要がある。

第 2 章 植物成長調節剤処理が花芽着生および 花蕾採取時期に及ぼす影響

1 緒言

受粉樹における花芽着生促進は、効率的な花粉生産において重要な技術の一つである。ニホンナシにおいて、植物成長調節剤の処理により花芽着生が促進されるとの報告がある（伴野ら，1982；伴野ら，1985；伴野ら，1986；Itoら，2000）が、これら植物成長調節剤が受粉樹に用いられるニホンナシ‘新興’に花芽着生における効果や、花粉発芽率に対する影響については明らかになっていない。

一般的に受粉樹に用いられる‘新興’，‘松島’，‘長十郎’等の品種は、埼玉県久喜市における花蕾採取期が3月下旬～4月上旬（埼玉県農業技術研究センター，2022）の短期に集中する。品種ごとの花蕾採取期間を見ると、選択採取で3～7日程度、一斉採取で1日と短い（データ略）ことから、数日でも花蕾採取期を分散できれば、作業分散が可能となり、花蕾採取の効率化が期待できる。植物成長調節剤の一種であるシアナミド処理により、ニホンナシの開花期が1～5日程度早まることが報告されている（大野・三井，2008；黒木ら，2013；吉川ら，2014）。シアナミド処理により、花蕾採取時期の調節が可能であると考えられるが、これまでの研究は果実生産に焦点を当てたものであり、花粉に関する詳しい調査は行われていない。

本章においては、ジベレリン生合成阻害剤，オーキ

シン様活性剤，サイトカイニン様活性剤およびエチレン様活性剤処理がニホンナシ‘新興’の花芽着生および花粉発芽率に及ぼす影響と，シアナミド処理が花蕾採取時期および花粉発芽率に及ぼす影響を明らかにしようとした。

2 材料および方法

1) 植物成長調節剤処理がニホンナシ‘新興’の花芽着生および花粉発芽率に及ぼす影響

(1) ジベレリン生合成阻害剤処理が花芽着生および花粉発芽率に及ぼす影響

試験は 2016 年および 2017 年に実施した。所内植栽‘新興’を供試し、パクロブトラゾール（以降 PBZ）（バウンティフロアブル, シンジェンタジャパン(株)）およびダミノジッド（ビーナイン顆粒水溶剤, 日本曹達(株)）を散布した。PBZ およびダミノジッドは、第 7 表に示した樹形、時期および濃度で樹全体に処理した。処理濃度については、PBZ はモモおよびオウトウの農薬登録内容、ダミノジッドは、果樹での農薬登録がないため、しゃくなげ等の花き類の内容を参考に決定した。それぞれの処理区に対し、両剤を処理しない無処理区を設けた。

落葉後、処理区ごとに新梢 20 本を無作為に抽出し、新梢長および新梢花芽着生率（新梢 1 本あたりの花芽数 / 新梢 1 本あたりの全芽数 × 100）を調査した。なお、これらを 3 反復行った。

薬剤処理翌年の春に、風船状期の花蕾を採取し、第 1 章 2.2) と同様に葯を採取、精選、開葯した。開葯後、粗花粉を -20℃ で凍結保存した。凍結した粗花粉を室温で 2 時間静置した後、第 1 章 2.2) と同様に花粉発芽率を調査した。

第 7 表 ニホンナシ ‘新興’ における植物成長調節剤処理の概要

剤の効果	処理区	処理年	満開日	供試樹 (樹齢)	処理日 (満開後日数)	濃度(ppm)
ジベレリン 生合成阻害	PBZ	2016	3/31	低樹高ジョイント(10年生)	61、103	108
	PBZ1回	2017	4/14	低樹高ジョイント(11年生)	66	215
	PBZ2回				35、66	
	ダミノジッド	2016	3/31	平棚(31年生)	71、103	8000
	ダミノジッド	2017	4/14	平棚(32年生)	66	2667
オーキシン様 活性	NAA	2016	3/31	低樹高ジョイント(12年生)	69、111	44
	NAA1回	2017	4/14	低樹高ジョイント(13年生)	66	44
	NAA2回				35、66	
	NAA	2019	4/7	低樹高ジョイント(13年生)	80	44
サイトカイニン様 活性	BA前期 (低樹高J)	2018	4/7	低樹高ジョイント(12年生)	81	1000
	BA後期 (低樹高J)				102	
	BA前期 (立木)	2018	4/7	立木(2年生)	81	1000
	BA後期 (立木)				102	
エチレン様 活性	ETH前期 (25 ppm)	2017	4/14	平棚(32年生)	66	25
	ETH後期 (50 ppm)				101	50
	ETH後期 (100 ppm)				101	100
	ETH前期 (50 ppm)	2018	4/7	平棚(33年生)	61	50
	ETH後期 (100 ppm)				95	100
	ETH前期 (50 ppm)	2019	4/8	平棚(34年生)	72	50
	ETH後期 (100 ppm)				100	100
	ETH前期 (50 ppm)	2020	3/27	平棚(35年生)	70	50
ETH後期 (100 ppm)	110				100	

(2) オーキシン様活性剤処理が花芽着生および花粉発芽率に及ぼす影響

試験は2016年、2017年および2019年に実施した。所内植栽‘新興’を供試し、1-ナフタレン酢酸ナトリウム（以降NAA）（ヒオモン水溶剤、アグロカネショウ（株））を散布した。NAAは、第7表に示した樹形、時期および濃度で樹全体に処理した。処理濃度は、ニホンナシにおける農薬登録内容を参考に決定した。それぞれの処理区に対し、本剤を処理しない無処理区を設けた。

落葉後、(1)と同様の調査規模や方法で新梢長と新梢花芽着生率を調査した。処理翌年に、(1)と同様に花蕾および葯を採取し、花粉発芽率を調査した。

(3) サイトカイニン様活性剤処理が花芽着生および花粉発芽率に及ぼす影響

試験は2018年に実施した。所内植栽‘新興’を供試し、ベンジルアミノプリン（以降BA）（プレリユード液剤、アグロカネショウ（株））を散布した。BAは、第7表に示した樹形、時期および濃度で樹全体に処理した。処理濃度は、ニホンナシにおける農薬登録内容を参考に決定した。それぞれの処理区に対し、本剤を処理しない無処理区を設けた。

落葉後、新梢長と新梢花芽着生率を調査した。低樹高ジョイント仕立て樹においては(1)と同様の調査規模で調査した。立木仕立て樹においては樹すべての新梢（各区64～68枝）について調査し、5樹5反復とし、

調査を行った。ここでは、副梢発生率（上述調査枝のうち副梢が発生している枝の割合）についても、調査を行った。処理翌年に、（1）と同様に花蕾および葯を採取し、花粉発芽率を調査した。

（4）エチレン様活性剤処理が花芽着生および花粉発芽率に及ぼす影響

試験は2017年から2020年にかけて実施した。所内植栽‘新興’を供試し、エテホン（以降ETH）（エスレル10，日産化学（株））を散布した。ETHは、第7表に示した樹形、時期および濃度で樹全体に処理した。処理濃度は、ニホンナシにおける農薬登録内容を参考に決定した。それぞれの処理区に対し、本剤を処理しない無処理区を設けた。

落葉後、（1）と同様の調査規模や方法で新梢長と新梢花芽着生率を調査した。処理翌年に、（1）と同様に花蕾および葯を採取し、花粉発芽率を調査した。

2) シアナミド処理がニホンナシの花蕾採取時期および花粉発芽率に及ぼす影響

試験は2017年、2018年、2019年、2020年、2022年において、棚仕立て樹と低樹高ジョイント仕立て樹を用いて実施した。第8表に示す時期に、ニホンナシにおける農薬登録に基づき、1%シアナミド（CX-10，日本カーバイト工業（株））を供試樹全体に散布した。ここでは、杉浦・本條（1997）および大谷（2006）に準じ、埼玉県久喜市のアメダスデータを用いて休眠期の

第 8 表 ニホンナシにおけるシアナミド処理の概要

DVI	処理年	棚仕立て 供試樹 (樹齢)	低樹高ジョイント仕立て 供試樹 (樹齢)	処理日
2.5 2.7	2017 ^{z)}	‘新興’ (32年生)	-	2/19 2/28
2.3	2018	‘新興’ (33年生)	-	2/9
1.5 2.1	2019 ^{z)}	‘新興’ (34年生)	‘新興’ ‘松島’ ‘新生’ (4年生)	1/21 2/13
1.7	2020	‘新興’ (35年生)	-	1/25
1.7	2022	-	‘新興’ ‘松島’ ‘新生’ (7年生)	1/25

^{z)} 2017年および2019年は、各々の処理日においてそれぞれ別の樹にシアナミドを1回ずつ散布した

發育ステージ指数（以下 DVI）を算出し，処理時期を決定した．それぞれの処理区に，本剤を処理しない無処理区を設けた．

薬剤処理当年の春に，棚仕立て樹では 3 主枝 3 反復，低樹高ジョイント樹では 3 樹 3 反復について，風船状になった花蕾を随時採取し，採取日ごとに花蕾重を測定した．樹上のすべての花蕾を採取した後，各採取日における累計花蕾採取割合（%）を求めた．累計花蕾採取割合は，採取開始日から各採取日までの累計花蕾採取重を，採取開始日から終了日までの合計花蕾採取重で除し，100 を乗ずることで算出した．ここでは，シアナミド処理が花蕾採取量に及ぼす影響を明らかにするために，低樹高ジョイント‘新興’において樹ごとの花蕾採取量について調査した．花蕾採取後，1) (1) と同様に葯を採取し，採取量が最も多い日における花粉発芽率を 1) (1) と同様に調査した．

3 結果

1) 植物成長調節剤処理がニホンナシ‘新興’の花芽着生および花粉発芽率に及ぼす影響

(1) ジベレリン生合成阻害剤処理が花芽着生および花粉発芽率に及ぼす影響

2016 年の PBZ 区および 2017 年のダミノジッド区において，新梢花芽着生率が有意に増加した．新梢長および花粉発芽率については，処理区間に有意な差は見られなかった（第 9 表）．

第 9 表 ニホンナシ ‘新興’ におけるジベレリン生合成阻害剤処理が新梢長，腋花芽着生量および花粉発芽率に及ぼす影響（2016～2017年）

年度	処理区	新梢長 (cm)	新梢花芽 着生率(%)	花粉 発芽率(%)
2016	PBZ	50.7	44.3	57.1
	無処理	56.1	28.0	59.3
	t検定 ^{z)}	NS	*	NS
2017	PBZ1回	86.1	37.5	51.2
	PBZ2回	83.9	40.3	48.0
	無処理	75.0	39.6	48.5
	一元配置分散分析 ^{y)}	NS	NS	NS
2016	ダミノジッド	48.7	64.1	77.0
	無処理	56.1	45.8	73.9
	t検定	NS	NS	NS
2017	ダミノジッド	63.0	59.4	46.7
	無処理	77.5	33.8	50.4
	t検定	NS	**	NS

^{z)} t検定で**は1%，*は5%水準で有意差あり，NSは有意差なし

^{y)} 一元配置分散分析でNSは有意差なし（ $p \geq 0.05$ ）

割合における統計処理は，角変換後実施（ $n=3$ ）

(2) オーキシン様活性剤処理が花芽着生および花粉発芽率に及ぼす影響

2016年のNAA処理区で新梢長が有意に減少したものの、新梢花芽着生率および花粉発芽率については、3か年いずれも有意差は見られなかった(第10表)。

(3) サイトカイニン様活性剤処理が花芽着生および花粉発芽率に及ぼす影響

新梢花芽着生率について、低樹高ジョイント仕立て樹のBA後期区で前期区より有意に高くなったものの、他の処理区間に有意差はなかった。副梢発生率は、低樹高ジョイント仕立て樹では後期区で、立木仕立て樹では前期区で無処理区よりも有意に増加した。新梢長および花粉発芽率については、処理区間に有意な差は見られなかった(第11表)。

(4) エチレン様活性剤処理が花芽着生および花粉発芽率に及ぼす影響

2017年ETH後期区50および100ppm区および2020年のETH前期50ppm区で、無処理区よりも新梢花芽着生率が有意に増加した。新梢長および花粉発芽率については、処理区間に有意な差は見られなかった(第12表)。

第 10 表 ニホンナシ‘新興’におけるオーキシンの様活性剤処理が新梢長，腋花芽着生量および花粉発芽率に及ぼす影響（2016，2017 および 2019 年）

年度	処理区	新梢長 (cm)	新梢花芽 着生率(%)	花粉 発芽率(%)
2016	NAA	58.1	56.6	62.6
	無処理	72.4	47.4	64.0
	t検定 ^{z)}	*	NS	NS
2017	NAA1回	76.5	35.4	51.4
	NAA2回	49.9	38.4	49.0
	無処理	73.2	48.8	41.5
	一元配置分散分析 ^{y)}	NS	NS	NS
2019	NAA	62.0	18.4	34.2
	無処理	62.9	15.1	35.3
	t検定	NS	NS	NS

^{z)} t 検定で*は 5%水準で有意差あり，NSは有意差なし

^{y)} 一元配置分散分析で NSは有意差なし（ $p \geq 0.05$ ）

割合における統計処理は，角変換後実施（ $n=3$ ）

第 11 表 ニホンナシ‘新興’におけるサイトカイニン様活性剤処理が新梢長，腋花芽着生量，副梢発生率および花粉発芽率に及ぼす影響（2018年）

年度	処理区	新梢長 (cm)	新梢花芽 着生率(%)		副梢 発生率(%)		花粉 発芽率(%)
2018	BA前期（低樹高J）	60.6	34.1	a ^{z)}	30.0	ab	52.9
	BA後期（低樹高J）	78.0	14.3	b	51.7	a	63.9
	無処理（低樹高J）	71.7	28.0	ab	23.3	b	51.6
	一元配置分散分析 ^{y)}	NS	*		*		NS
	BA前期（立木）	45.4	35.7		29.7	a	-
	BA後期（立木）	46.6	30.1		11.6	ab	-
	無処理（立木）	36.3	27.8		1.5	b	-
	一元配置分散分析	NS	NS		**		-

^{z)} Tukey-HSD 検定で同縦列の異符号間に 5%水準で有意差あり

^{y)} 一元配置分散分析で**は 1%，*は 5%水準で有意差あり，NSは有意差なし

割合における統計処理は，角変換後実施（n=3）

第 12 表 ニホンナシ‘新興’におけるエチレン様活性化剤処理が新梢長，腋花芽着生量および花粉発芽率に及ぼす影響（2017～2020年）

年度	処理区	新梢長 (cm)	新梢花芽 着生率(%)	花粉 発芽率(%)
2017	ETH前期 (25 ppm)	70.8	38.4 ab ^{z)}	47.8
	ETH後期 (50 ppm)	71.9	48.0 a	54.9
	ETH後期 (100 ppm)	84.5	45.2 a	49.6
	無処理	77.5	33.8 b	50.6
	一元配置分散分析 ^{y)}	NS	*	NS
2018	ETH前期 (50 ppm)	60.8	40.8	62.4
	ETH後期 (100 ppm)	69.1	41.8	61.2
	無処理	83.5	30.5	66.7
	一元配置分散分析	NS	NS	NS
2019	ETH前期 (50 ppm)	54.2	23.0	67.8
	ETH後期 (100 ppm)	57.5	23.9	61.8
	無処理	62.3	22.6	63.6
	一元配置分散分析	NS	NS	NS
2020	ETH前期 (50 ppm)	82.6	41.2 a	67.8
	ETH後期 (100 ppm)	65.4	32.8 ab	61.8
	無処理	67.6	23.5 b	63.6
	一元配置分散分析	NS	*	NS

^{z)} Tukey-HSD 検定で同縦列の異符号間に 5%水準で有意差あり

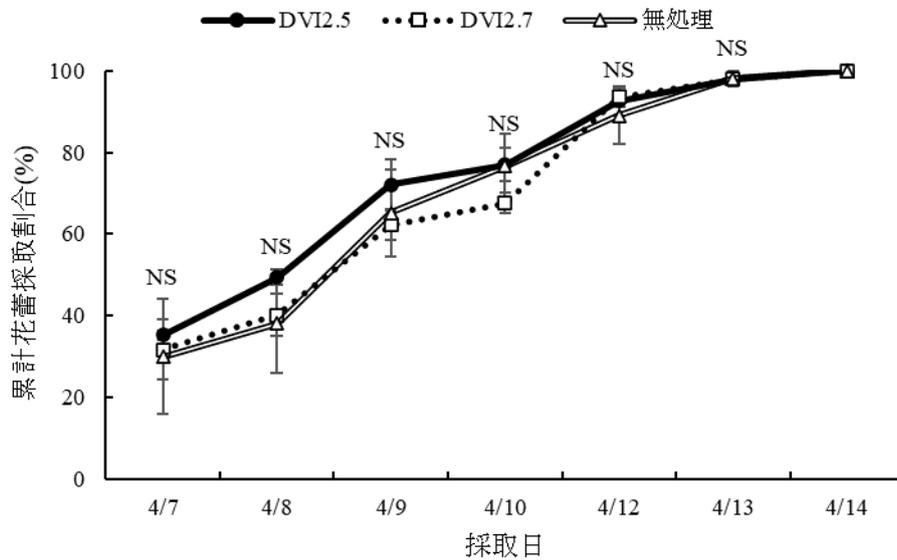
^{y)} 一元配置分散分析で*は 5%水準で有意差あり，NSは有意差なし

割合における統計処理は，角変換後実施（n=3）

2) シアナミド処理がニホンナシの花蕾採取時期および花粉発芽率に及ぼす影響

棚仕立て‘新興’における累計花蕾採取割合について、2017年は処理区間に有意差は見られなかった(第3図)。2018年は、3/29から4/1にかけてDVI 2.3区で無処理区よりも有意に高くなった(第4図)。2019年は、4/3にDVI 1.5区およびDVI 2.1区で、4/5にDVI 1.5区で、無処理区よりも有意に高くなった(第5図)。2020年は、3/23から3/30にかけて、DVI 1.7区で無処理区よりも有意に高くなった(第6図)。

低樹高ジョイント仕立て樹における累計採取花蕾率について、2019年の‘新興’においては、4/6から4/9にかけて、DVI 1.5区およびDVI 2.1区は無処理区よりも、DVI 1.5区はDVI 2.1区よりも有意に高くなった(第7図)。2019年の‘松島’では、4/5および4/6にはDVI 2.1区で、4/7にはDVI 1.5および2.1区で、無処理区よりも有意に高くなった(第8図)。2019年の‘新生’では、4/3において、DVI 1.5区で無処理区よりも有意に高くなった(第9図)。2022年の‘新興’では、4/2、4/3および4/6において、DVI 1.7区は無処理区よりも有意に高くなった(第10図)。2022年の‘松島’では、4/1から4/3にかけて、DVI 1.7区は無処理区よりも有意に高くなった(第11図)。2022年の‘新生’では、4/1および4/2において、DVI 1.7区は無処理区よりも有意に高くなった(第12図)。

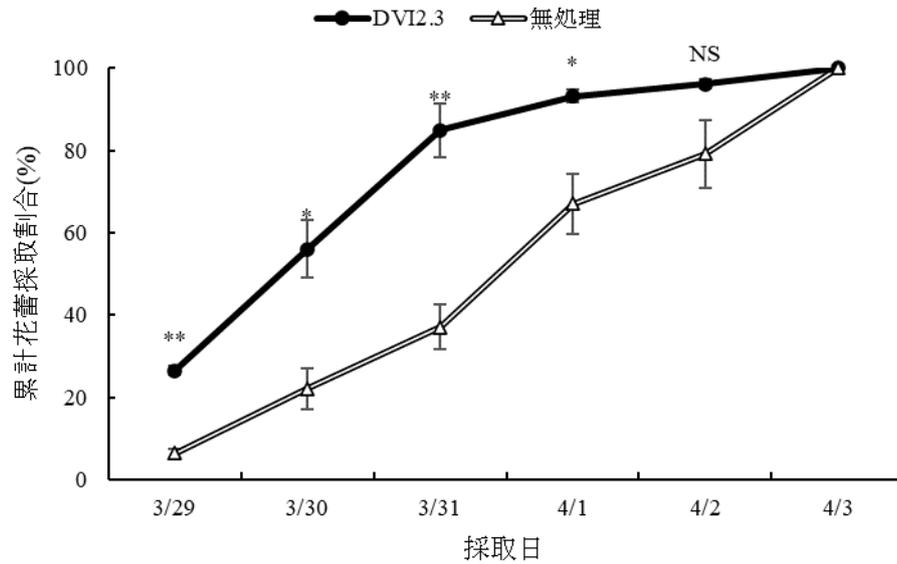


第 3 図 棚仕立て ‘新興’ におけるシアナミド処理が
 累計花蕾採取割合に及ぼす影響 (2017)

同採取日における一元配置分散分析で, NS は処理区間
 に有意差なし ($p \geq 0.05$)

図中の縦線は SE を示す

割合における統計処理は, 角変換後実施 ($n=3$)

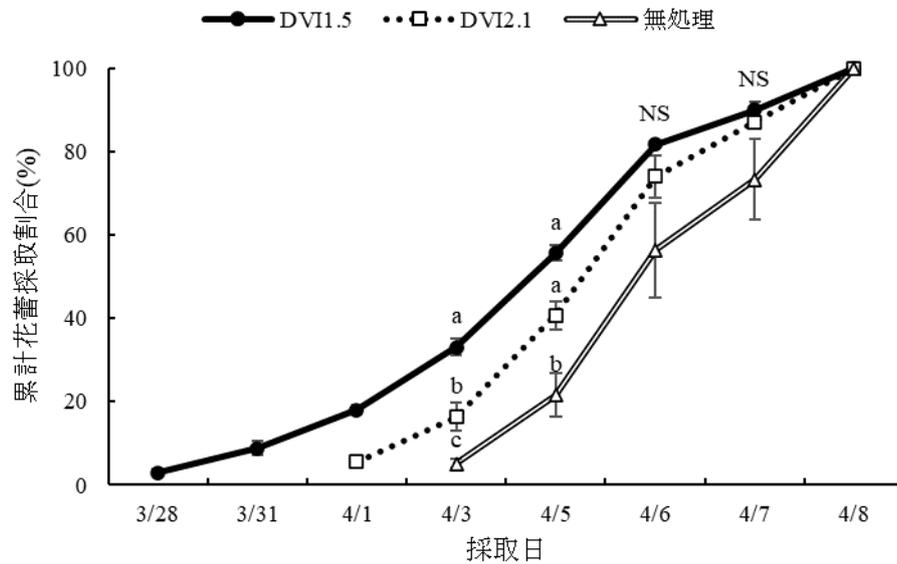


第 4 図 棚仕立て‘新興’におけるシアナミド処理が累計花蕾採取割合に及ぼす影響（2018）

同採取日における t 検定で，**は 1%，*は 5%水準で処理区間に有意差あり，NS は有意差なし

図中の縦線は SE を示す

割合における統計処理は，角変換後実施（n=3）

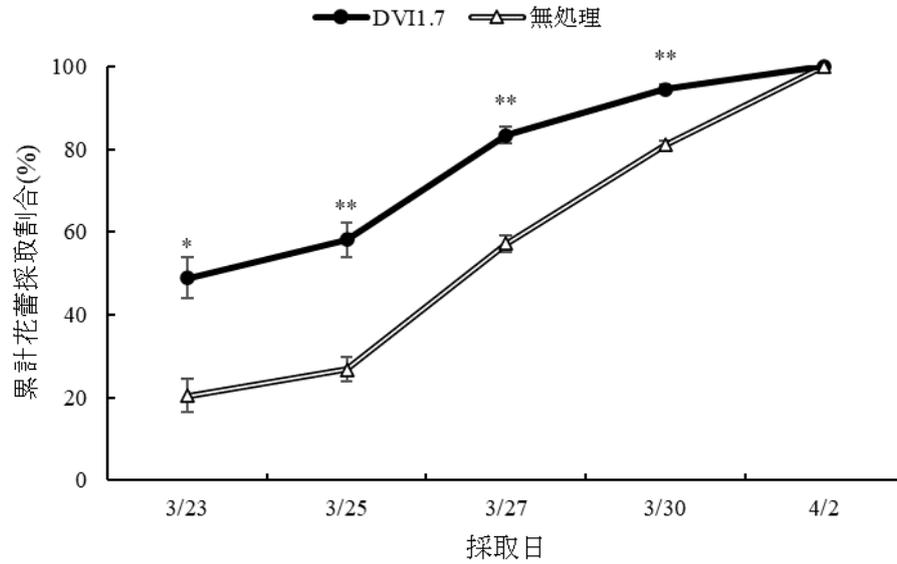


第 5 図 棚仕立て‘新興’におけるシアナミド処理が累計花蕾採取割合に及ぼす影響（2019）

Tukey-HSD 検定で，同縦列の異符号間に 5 %水準で有意差あり，NS は一元配置分散分析で有意差なし（ $p \geq 0.05$ ）

図中の縦線は SE を示す

割合における統計処理は，角変換後実施（ $n=3$ ）

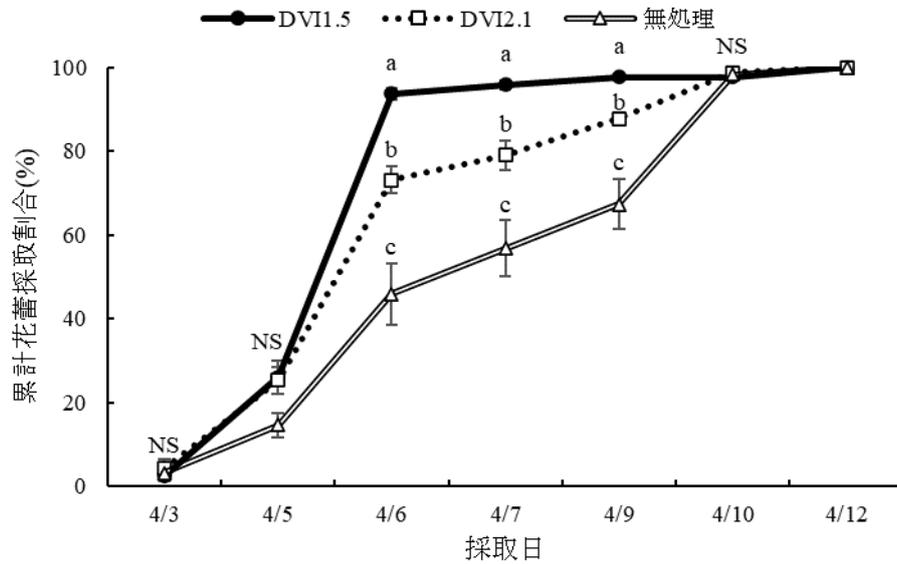


第 6 図 棚仕立て‘新興’におけるシアナミド処理が
累計花蕾採取割合に及ぼす影響（2020）

同採取日における t 検定で，**は 1%，*は 5%水準で
処理区間に有意差あり，NS は有意差なし

図中の縦線は SE を示す

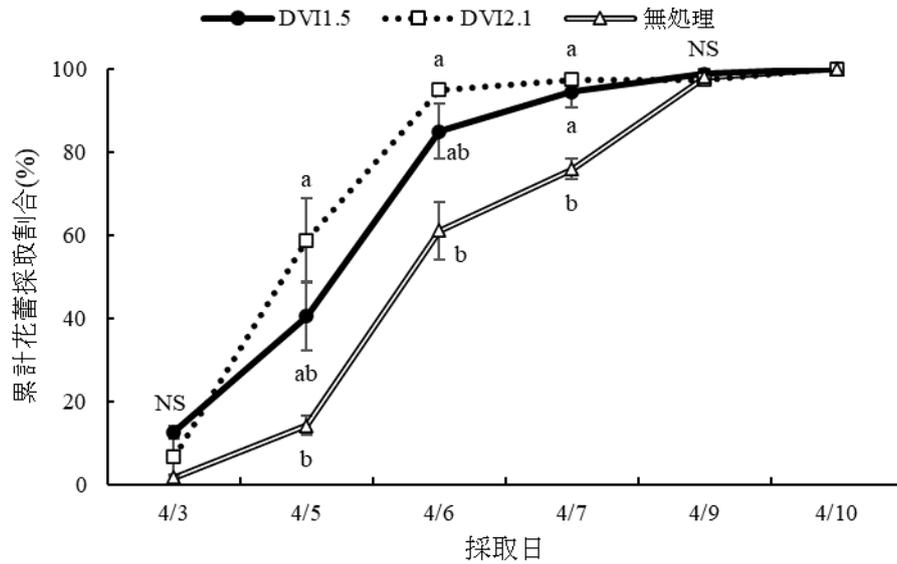
割合における統計処理は，角変換後実施（n=3）



第 7 図 低樹高ジョイント仕立て‘新興’におけるシアナミド処理が累計花蕾採取割合に及ぼす影響(2019) Tukey-HSD 検定で，同縦列の異符号間に 5 %水準で有意差あり，NS は一元配置分散分析で有意差なし ($p \geq 0.05$)

図中の縦線は SE を示す

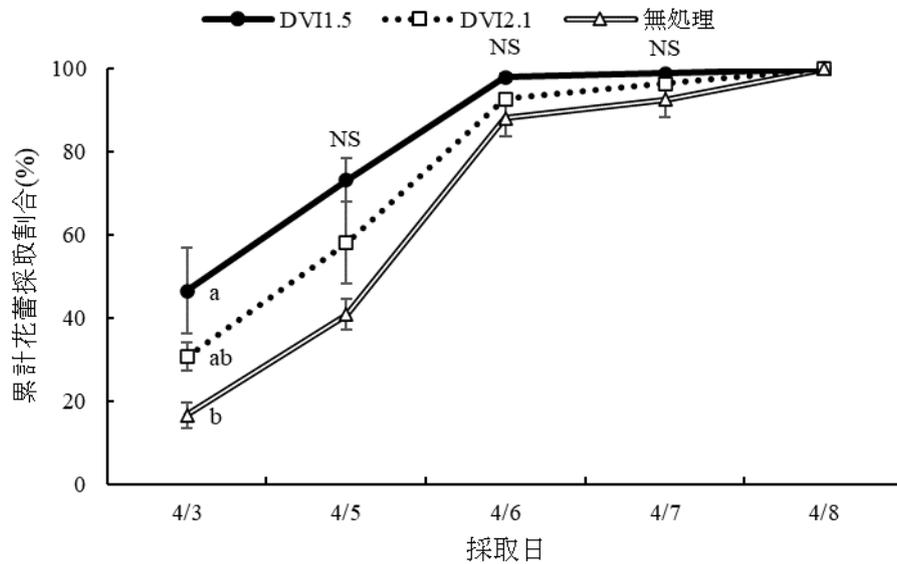
割合における統計処理は，角変換後実施 ($n=3$)



第 8 図 低樹高ジョイント仕立て‘松島’におけるシアナミド処理が累計花蕾採取割合に及ぼす影響(2019) Tukey-HSD 検定で，同縦列の異符号間に 5 %水準で有意差あり，NS は一元配置分散分析で有意差なし ($p \geq 0.05$)

図中の縦線は SE を示す

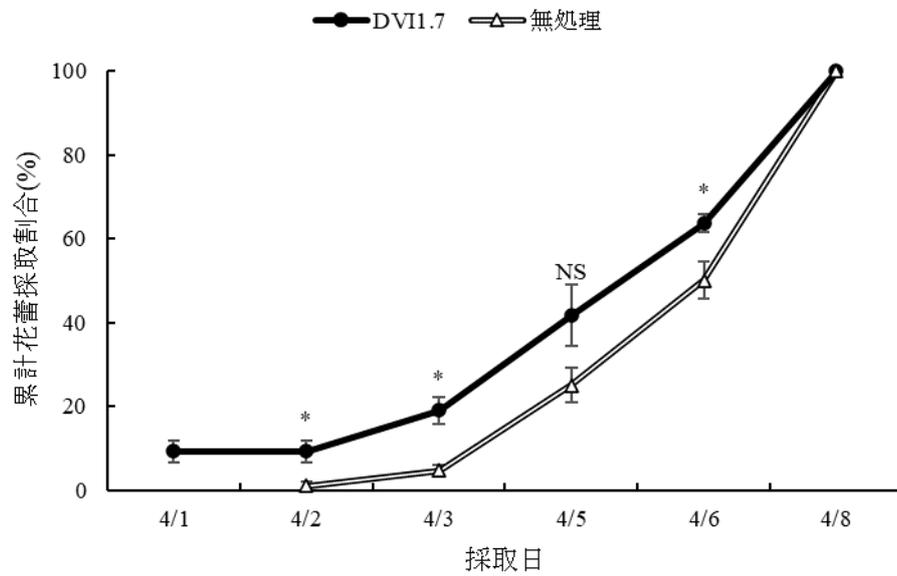
割合における統計処理は，角変換後実施 ($n=3$)



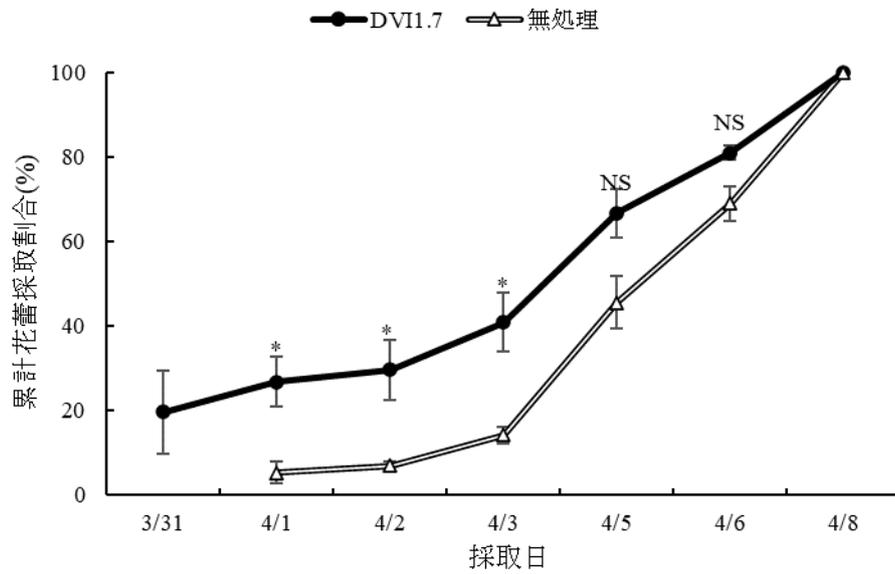
第 9 図 低樹高ジョイント仕立て‘新生’におけるシアナミド処理が累計花蕾採取割合に及ぼす影響(2019) Tukey-HSD 検定で，同縦列の異符号間に 5%水準で有意差あり，NS は一元配置分散分析で有意差なし ($p \geq 0.05$)

図中の縦線は SE を示す

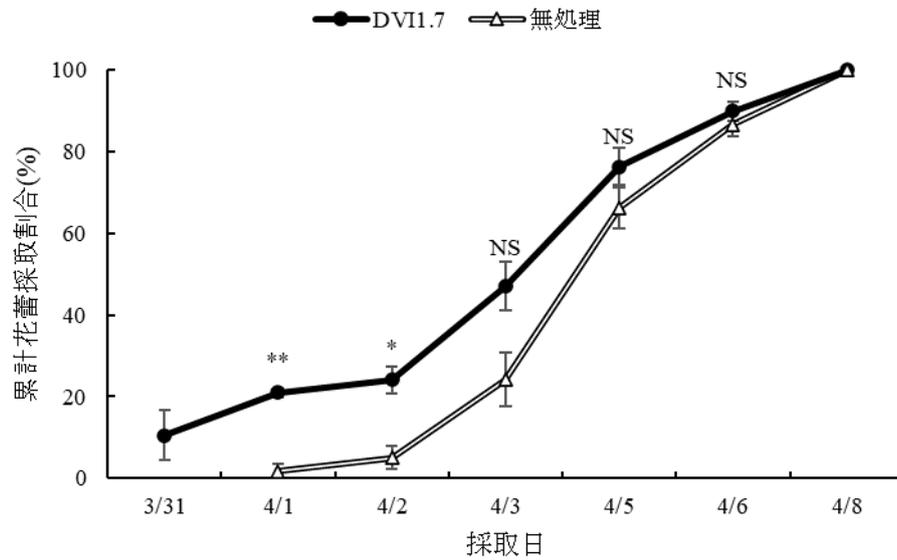
割合における統計処理は，角変換後実施 ($n=3$)



第 10 図 低樹高ジョイント仕立て‘新興’におけるシアナミド処理が累計花蕾採取割合に及ぼす影響(2022)
 同採取日における t 検定で，*は 5%水準で処理区間に有意差あり，NS は有意差なし
 図中の縦線は SE を示す
 割合における統計処理は，角変換後実施 (n=3)



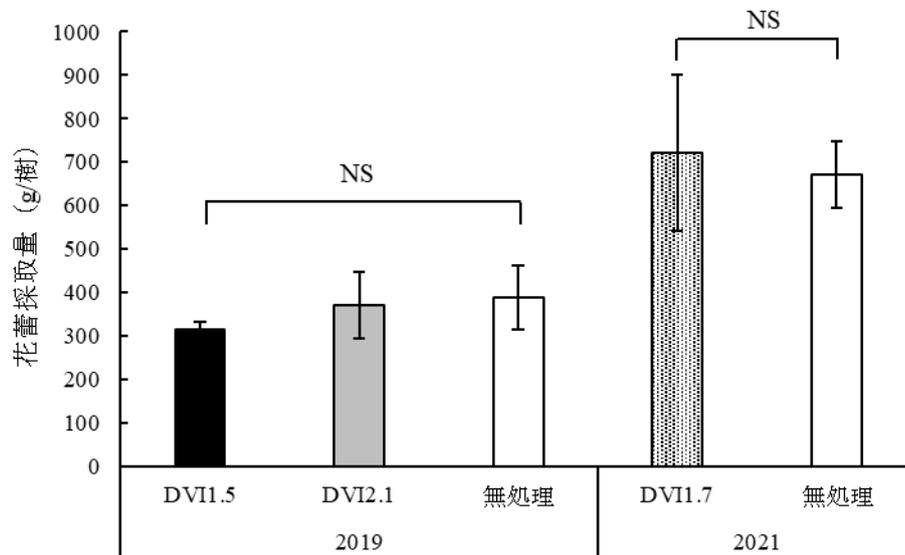
第 11 図 低樹高ジョイント仕立て‘松島’におけるシアナミド処理が累計花蕾採取割合に及ぼす影響(2022)
 同採取日における t 検定で，*は 5%水準で処理区間に有意差あり，NS は有意差なし
 図中の縦線は SE を示す
 割合における統計処理は，角変換後実施 (n=3)



第 12 図 低樹高ジョイント仕立て‘新生’におけるシアナミド処理が累計花蕾採取割合に及ぼす影響(2022)
 同採取日における t 検定で，**は 1%水準，*は 5%水準で処理区間に有意差あり，NS は有意差なし
 図中の縦線は SE を示す
 割合における統計処理は，角変換後実施 (n=3)

低樹高ジョイント仕立て‘新興’における樹ごとの花蕾採取量について，2019年および2022年ともに処理区間に有意差は見られなかった（第13図）。

花粉発芽率については，すべての年，樹形および品種において処理区間に有意差は見られなかった（第13表）。



第 13 図 低樹高ジョイント仕立て‘新興’におけるシアナミド処理が樹ごとの花蕾採取量に及ぼす影響（2019，2022）

2019 年は一元配置分散分析で，2022 年は t 検定で有意差なし（ $p \geq 0.05$ ）

図中の縦線は SE を示す

割合における統計処理は，角変換後実施（ $n=3$ ）

第 13 表 シアナミド処理が花粉発芽率に及ぼす影響
(2017～2020年, 2022年)

処理年	DVI	棚仕立て ‘新興’	低樹高ジョイント仕立て		
			‘新興’	‘松島’	‘新生’
2017	2.5	71.4	-	-	-
	2.7	74.8	-	-	-
	無処理	78.4	-	-	-
一元配置分散分析 ^{z)}		NS	-	-	-
2018	2.3	65.4	-	-	-
	無処理	54.3	-	-	-
	t検定 ^{y)}	NS	-	-	-
2019	1.5	71.3	68.1	44.5	63.2
	2.1	70.4	67.8	54.9	66.0
	無処理	66.7	69.3	40.8	59.1
	一元配置分散分析	NS	NS	NS	NS
2020	1.7	37.5	-	-	-
	無処理	40.7	-	-	-
	t検定	NS	-	-	-
2022	1.7	-	78.3	72.0	80.0
	無処理	-	77.3	62.7	84.7
	t検定	-	NS	NS	NS

^{z)} 一元配置分散分析で NS は有意差なし ($p \geq 0.05$)

^{y)} t 検定で NS は有意差なし ($p \geq 0.05$) ($n=3$)

割合における統計処理は, 角変換後実施

4. 考察

1) 植物成長調節剤処理がニホンナシ‘新興’の花芽着生および花粉発芽率に及ぼす影響

(1) ジベレリン生合成阻害剤

ジベレリン生合成阻害剤について‘新興’に処理を行ったところ、2016年の満開後61および103日後における108 ppmのPBZ処理や、2017年の満開66日後における2667 ppmのダミノジッド処理により、新梢の花芽着生が促進された。また、両剤の処理は‘新興’の花粉発芽率に影響を及ぼさなかった。

ニホンナシにおいて、花芽形成を促進させるために枝を傾けると、芽のGA₄含量が減少する(Itoら, 1999)ことから、ジベレリンと花芽形成の間には負の相関が示唆される(伊東, 2001)。リンゴにおいて、PBZ処理により芽における花成誘導を制御する遺伝子*MdSPL*の発現や、ゼアチン/ジベレリン比が増加することで、着花が増加する(Zhangら, 2016; Fanら, 2018)。ナシにおいても、様々な要因がジベレリン生合成阻害剤処理による花芽着生促進に関与していると考えられ、今後検討する必要がある。

ジベレリン生合成阻害剤の花芽着生効果について、年度により差が見られた。ダミノジッドは、2016年の処理では効果が見られなかったものの、2017年の処理では効果が見られた。2016年における処理濃度は8000 ppmと2017年よりも高濃度で、2回処理を行ったところ、葉の黒変や落葉などの薬害も観察された(データ略)。2016年においてダミノジッドの花芽着生促進効

果が見られなかったのは，高濃度処理による薬害発生が影響している可能性がある．PBZについて，2016年の満開後61および103日後における108 ppm処理では花芽着生促進効果が見られたものの，2017年の満開35日後および満開66日後における215 ppm処理では効果が見られなかった．ニホンナシへのジベレリン生合成阻害剤処理は，新梢伸長を抑制することで花芽着生を促進する（伴野ら，1985；Itoら，2000）．2017年の処理では，有意差はないものの，PBZ処理区で無処理区よりも新梢長が増加する傾向が見られた．これらのことから，PBZの処理時期や濃度により新梢伸長の制御に及ぼす影響が異なり，2017年のPBZ処理において，新梢長が増加する傾向が見られたことと，花芽着生が促進されなかったことは関係しているかもしれない．今後，新梢伸長と花芽着生との関連性や，適切な処理濃度および時期について調査する必要がある．

（2）オーキシン様活性剤

オーキシン様活性剤について‘新興’に処理を行ったところ，満開35～111日後における44 ppmのNAA処理は，新梢花芽着生率に影響を及ぼさなかった．したがって，本研究で設定した処理条件では，NAAの花芽着生促進効果は低く，花粉生産において活用するのは難しいと思われる．ニホンナシの新梢において，内生オーキシン含量と腋花芽着生量には負の相関がある（Itoら，2001）ことから，NAAの処理は花芽着生を促進しなかったと考えられる．オーキシン生合成阻害剤であるマレイン酸ヒドラジド処理により，ニホンナシ

の花芽着生が促進される（Itoら，2000）と報告されているが，農薬登録は失効している．今後，他のオーキシン生合成阻害剤について，ニホンナシにおける花芽着生効果を検討する必要がある．

（3）サイトカイニン様活性剤

サイトカイニン様活性剤について‘新興’に処理を行ったところ，満開 81 または 102 日後における 1000 ppm の BA 処理は，無処理区と比較した新梢花芽着生率には影響を及ぼさなかった．したがって，本研究で設定した処理条件では，BA の花芽着生促進効果は低いと思われる．

本研究では，ニホンナシの農薬登録内容に従い，BA を 1000 ppm の濃度で処理を行ったが，過去の研究では 300 ppm の BA 処理による花芽着生促進が確認されている（伴野ら，1985；伴野ら，1986；Itoら，2000）．ニホンナシにおいて，BA は新梢の腋芽の休眠を打破することで花芽着生を促進するが，休眠打破効果が強すぎると新梢の腋芽は萌芽伸長する（伴野ら，1985）．本研究において BA を 1000 ppm の濃度で処理したところ，副梢発生率が増加した．したがって，本研究においては，BA を過去の研究よりも高濃度で処理したことで BA の新梢の腋芽に対する休眠打破効果が高くなり，副梢発生を促進した可能性がある．

（4）エチレン様活性剤

エチレン様活性剤について‘新興’に処理を行ったところ，2017 年の満開 101 日後における 50 および 100 ppm の ETH 処理，2020 年の満開 70 日後における 50

ppm の ETH 処理で，無処理区よりも新梢花芽着生率が有意に増加した．本剤の処理は花粉発芽率に影響を及ぼさなかったことから，花粉生産において活用できる可能性がある．

ニホンナシ‘新水’，‘豊水’，‘長十郎’において，50～100 ppm の ETH 処理により花芽が増加する（伴野ら，1985；伴野ら，1986）．リンゴにおいても，ETH 処理が着花を促進する例が報告されている（Bukovac ら，2006；Duyvelshoff・Cline，2013）．リンゴにおいて，エチレンはオーキシン極性移動を制限することで花芽着生を増加させる（Sanyal・Bangerth，1998）．したがって，ニホンナシにおいても，エチレンと花芽の多少には関連があり，ETH 処理により花芽着生が増加したのは，オーキシンの極性移動が関連しているかもしれない．

ニホンナシ‘長十郎’における 50～100 ppm の ETH 処理の花芽着生効果について，新梢生育中や新梢停止直後（6月15日以前）には低いですが，新梢伸長停止後の腋芽の休眠が浅い時期（6月30日～8月20日）に高くなり，特に7月20日～8月20日に高くなる（伴野ら，1986）．その後腋芽の休眠が進むと（8月20日以降），ETH 処理による花芽着生効果は低くなる（伴野ら，1986）．本研究において，年度により ETH の効果の高い時期が異なったのは，腋芽の休眠開始期が年度により異なった可能性がある．今後，新梢の生育や腋芽の休眠ステージに合わせた適切な処理時期について，検討する必要がある．

2) シアナミド処理がニホンナシの花蕾採取時期および花粉発芽率に及ぼす影響

棚仕立て‘新興’に対する DVI1.5～2.3 におけるシアナミド処理は，花蕾採取時期を早め，花粉発芽率に影響を及ぼさなかった．また，シアナミド処理は低樹高ジョイント仕立て‘新興’の花蕾採取量に影響を及ぼさなかったことから，花蕾採取時期の調節に利用できると考えられる．

大野・三井（2008）は‘幸水’で DVI1.0～1.5，吉川ら（2014）は‘幸水’および‘豊水’で DVI0.87～0.99 で最もシアナミドの開花促進効果が高まるとしている．今後，DVI1.5 以前のシアナミド処理についても検討する必要がある．一方，黒木ら（2013）は，シアナミド処理による開花促進に伴い，花粉四分子到達期も早まると指摘している．花粉発育ステージが前進するほど，花粉が低温による障害を受けるリスクも高まる．シアナミドの効果进行评估する際には，花粉発育ステージの前進化や，低温遭遇リスクについても考慮する必要がある．

低樹高ジョイント仕立て‘新興’，‘松島’および‘新生’においても，DVI1.5 および 1.7 におけるシアナミド処理は花蕾採取時期を早めたことから，様々な樹形や品種での花蕾採取時期促進効果が期待できる．黒木ら（2013）は，‘幸水’および‘ゴールド二十世紀’，‘豊水’，‘新高’ではそれぞれシアナミドの開花期促進に効果的な処理時期が異なると報告している．今後，

受粉樹として用いる品種においても，品種ごとにシアナミドの花蕾採取期促進に適切な処理時期を調査する必要がある．

3) 花粉生産における成果の活用と今後の展望

本研究において，受粉樹として用いる二ホンナシ品種においても，ジベレリン生合成阻害剤（ダミノジッドおよび PBZ）とエチレン様活性剤（ETH）の花芽着生効果があることが明らかとなった．これらの剤のうち，「なし」において使用可能なのは ETH のみである（農薬登録情報提供システム <https://pesticide.maff.go.jp/>，2022年12月17日確認）．本研究では，ETH の効果には年次間差が見られたが，経営安定化のためには，今後効果が安定的に出る処理時期について詳細に検討する必要がある．なお，ETH の使用目的は果実の熟期促進であるため，実際の散布にあたっては目的外の使用にならないよう留意する．

本研究において，1000 ppm の BA 処理の花芽着生促進効果は低いものの，副梢発生効果は高くなった．花粉収量を高めるためには，新梢の花芽着生を増加させるだけではなく，枝を十分量発生させることも重要であることから，1000 ppm の BA 処理の活用が期待される．低樹高ジョイント樹では，主枝からの側枝発生本数が十分でないと，樹全体の花芽着生量や花粉収量が低下する．BA は，「なし（栽培育成時の非収穫年樹）」において農薬登録がある（農薬登録情報提供システム <https://pesticide.maff.go.jp/>，2022年12月17日確認）

ことから、実際のナシ花粉生産においても使用可能である。低樹高ジョイント仕立ての受粉樹を育成するにあたり、主枝に 1000 ppm の BA を処理し、側枝を十分量発生させることで、花粉収量の増加につながると考えられる。

本研究において、「新興」への DVI1.5～2.3 におけるシアナミド処理は、選択採取における花蕾採取時期を促進し、花粉発芽率に影響を及ぼさなかったことから、花蕾採取時期の調節に有効であると考えられる。シアナミドは、「なし」において農薬登録がある（農薬登録情報提供システム <https://pesticide.maff.go.jp/>, 2022 年 12 月 17 日確認）ことから、実際のナシ花粉生産においても活用できる。今回の試験では、選択採取におけるシアナミドの花蕾採取時期促進効果について検討したが、より省力的に花粉採取が可能な一斉採取での効果は調査していない。今後、一斉採取を想定したシアナミドの効果についても検討する必要がある。

第 3 章 開花前の低温がナシ花粉の発育に及ぼす影響

1. 緒言

開花前の低温により，花粉稔性の低下や花粉粒の減少が発生することが，イネ (*Oryza sativa* L.) (Satake, 1991; Yamamori ら, 2021), コムギ (*Triticum aestivum* L.) (Barton ら, 2014), トウモロコシ (*Zea mays* L.) (Tranel ら, 2009), ダイズ (*Glycine max* L.) (Ohnishi ら, 2010), ヒヨコマメ (*Cicer arietinum* L.) (Clarke・Siddique, 2004), ソルガム (*Sorghum bicolor* Moench) (Wood ら, 2006) およびトウガラシ (*Capsicum annuum* L.) (Shaked ら, 2004) で報告されている．したがって，ナシにおいても，開花前における低温が花粉形成に影響を及ぼすことで，花粉生産の効率を低下させる可能性がある．花粉の発育過程には，低温感受性が高いステージが存在することが，様々な植物で明らかになっている．イネでは小孢子初期（花粉四分子期～小孢子前期）(Satake・Hayase, 1970; Satake, 1976; Satake, 1991), コムギでは小孢子形成期のうち特に花粉二分子期 (Barton ら, 2014), ダイズでは花粉四分子期か四分子を形成する前 (Ohnishi ら, 2010), ヒヨコマメでは減数分裂期から花粉四分子期付近 (Clarke・Siddique, 2004) と報告されている．特にイネでは，低温が花粉の発育に及ぼす影響について多くの研究が行われており，低温による花粉不稔はタペートの形成異常や葯室の構造異常と関連している (Nishiyama, 1970; Oda ら, 2010; Yamamori ら, 2021) ことや，花粉の低温に対す

る強さは品種により異なる（Yamamoriら，2021）ことが明らかになっている。

ニホンナシでは，開花期前後の低温が雌ずいや胚珠等の雌性器官に障害を引き起こすことから多くの研究が行われてきた（Sekozawaら，2003；瀬古澤，2004；大谷，2012；佐久間ら2013）ものの，花粉に焦点を当てた研究は少ない。ニホンナシでは花粉四分子期から空胞期の花粉発育ステージが最も低温に弱いことが報告されているが（平田，2000），詳しい試験方法や結果，低温感受性の品種間差，障害が発生する温度条件等は不明である。また，イネで観察された低温による葯の形成異常について，ナシでは調査が行われていない。

本章では，‘幸水’の花粉における開花前の低温感受性の高いステージを明らかにし，このステージの低温が葯の発達に及ぼす影響について形態学的に観察した。また，冬季の圃場の温度変化に基づいた低温処理を行い，ナシ7品種の花粉の低温感受性の品種間差を明らかにしようとした。

2. 材料および方法

1) ニホンナシ‘幸水’における花芽の各発育ステージにおける花粉の発育ステージの観察

2020年1月に，所内植栽29年生‘幸水’の1年生枝を採取した。枝は15cm程度に切断し，枝先端の花芽を残しその他の芽は取り除いた。コンテナに給水スポンジを入れ，1%スクロース，10ppmグルタミン酸および0.03%硫酸アルミニウムの混合液を注ぎ，給水

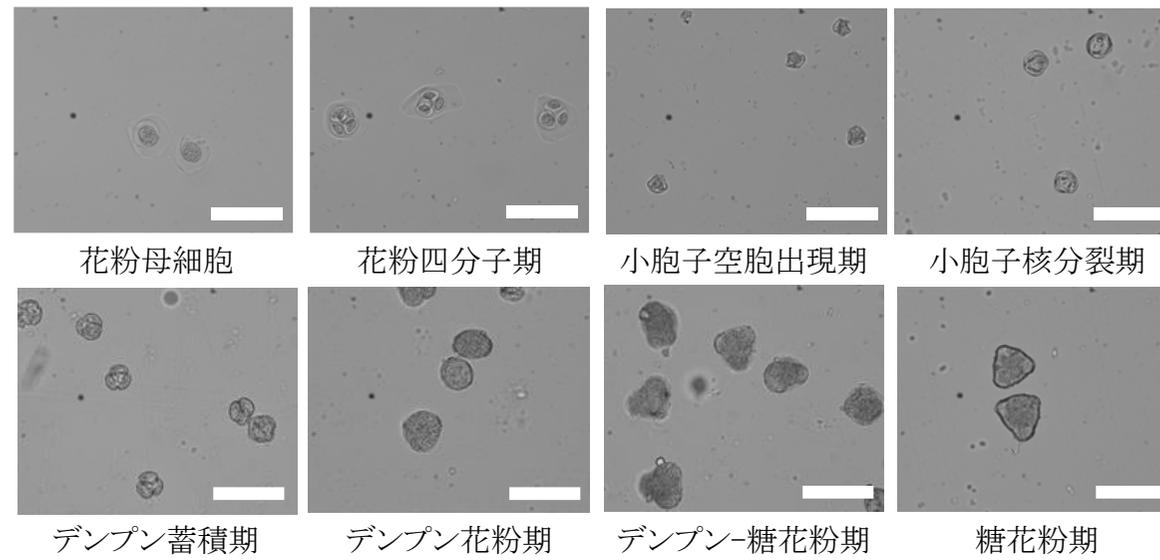
スポンジを混合液で満たした。給水スポンジに調整した枝を挿し、15℃の室内で静置した。花芽の発育ステージ I~V (第 1 図) に到達した花芽をそれぞれ 3 芽採取し、FAA 液 (70 %エタノール : ホルムアルデヒド : 酢酸 = 90 : 5 : 5) で固定した。それぞれの花芽の発育ステージあたり 3 芽ずつ用い、花粉発育ステージの観察を行った (3 反復)。

1 つの花芽の中で、標準的な発達段階にある 1 つの花を選び、その中から 1 つの葯を取り出した。スライドグラスに滴下した水滴の中で、葯から花粉を取り出し、カバーグラスで封入した。光学顕微鏡 (BX53, オリンパス (株)) を用いて、100 倍で 1 花につき無作為に 5 視野を選び、視野内のすべての花粉について、発育ステージを調査した。各花芽の発育ステージあたり、300 粒以上の花粉を観察した。花粉の発育ステージは林・田辺 (2016) の方法を参考に、第 14 図に示したように 8 段階に分けた。

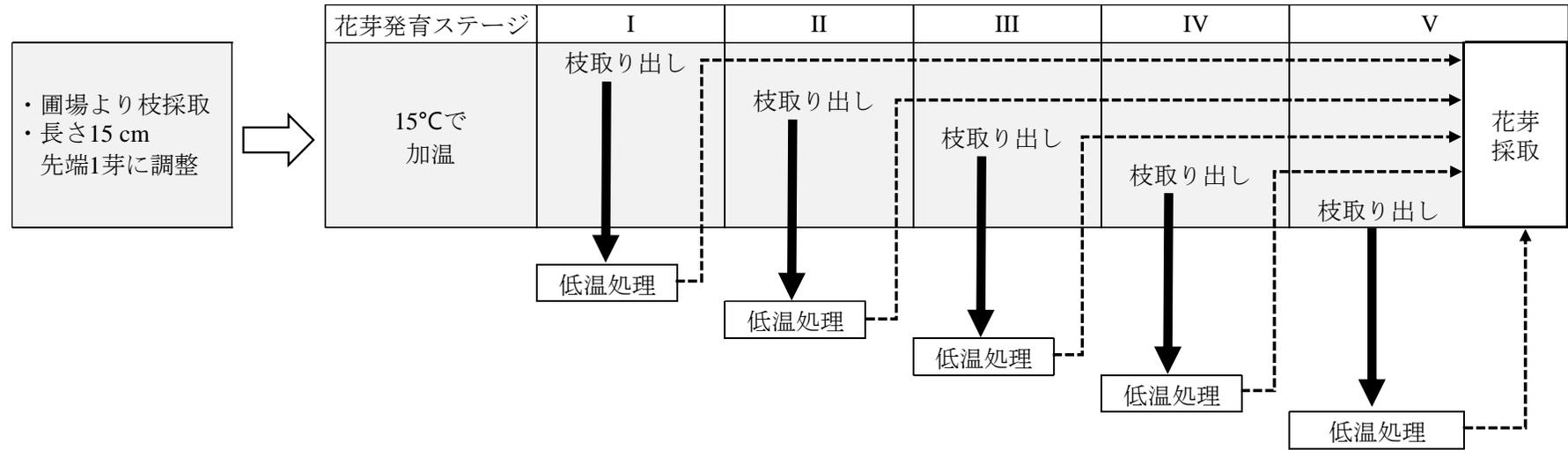
2) ニホンナシ ‘幸水’ における低温処理が葯内の花粉密度、花粉発芽率および葯の発達に及ぼす影響

(1) 異なる花芽の発育ステージにおける低温処理が花粉密度に及ぼす影響

試験は 2020 年に実施し、1) と同様に採取・調整した所内植栽 29 年生 ‘幸水’ の 1 年生枝を用いた。試験は第 15 図の流れで実施した。すなわち、採取・調整した枝を 15℃の室内で静置し、花芽が発育ステージ I~V に達した枝をそれぞれ取り出し、枝および表面にハ



第 14 図 ニホンナシ '幸水' における花粉発育ステージ
スケールバー = 50 μ m



第 15 図 ニホンナシ‘幸水’における低温処理および花芽採取の流れ

ンドスプレーで水を噴霧した後，枝全体をビニール袋で包み，新聞紙で覆った．その後，インキュベーター（LTE-510，東京理化学器械（株））を用い，花芽に低温処理を行った．低温処理は，15℃を5分間保持した後，6時間かけて0℃または-3℃まで冷却し，10時間保持した後，4時間かけて10℃に昇温した．低温処理した花芽の発育ステージI～IVの枝は，再び低温処理前と同様の環境で静置し，花芽がステージVに達した段階で採取した．低温処理した花芽の発育ステージVの枝については，低温処理後ただちに花芽を採取した．1処理区あたり3花芽を採取し，FAA溶液で固定した．

FAA液に浸漬したサンプルを用いて，パラフィン切片法で切片を作製した．一つの花芽のうち，標準的な発達段階にある一つの花を選び，3つの葯を取り出した（3反復）．葯の切片は，三浦ら（2011）を参考に以下の通りに作成した．

① FAA液のエタノールへの置換

FAA液で固定した試料を以下の手順で浸漬し，試料中の固定液をエタノール（EtOH）に置換した．

- | | |
|----------------|------|
| （1） 50 %EtOH | 2 時間 |
| （2） 70 %EtOH | 2 時間 |
| （3） 85 %EtOH | 2 時間 |
| （4） 95 %EtOH | 2 時間 |
| （5） 99.5 %EtOH | 2 時間 |

② 脱水・透徹，パラフィン誘導

以下の(1)～(4)に示した EtOH-n-ブタノール(BuOH) シリーズで脱水・透徹した後，(5)～(8)の手順でパラフィン誘導した。

脱水・透析

- | | |
|--------------------------------------|------|
| (1) 100 %EtOH : 100 % n-BuOH = 3 : 1 | 2 時間 |
| (2) 100 %EtOH : 100 % n-BuOH = 2 : 2 | 2 時間 |
| (3) 100 %EtOH : 100 % n-BuOH = 1 : 3 | 2 時間 |
| (4) 100 %EtOH : 100 % n-BuOH = 0 : 4 | 2 時間 |

パラフィン誘導

- | | |
|-----------------------------|------|
| (5) n-BuOH : パラフィン液 = 1 : 3 | 2 時間 |
| (6) 100 %パラフィン | 2 時間 |
| (7) 100 %パラフィン | 2 時間 |
| (8) 100 %パラフィン | 2 時間 |

なお，100 %EtOH は 99.5 % EtOH に無水硫酸銅(CuSO₄)を加えて脱水させたものを濾過して用いた。また，パラフィン誘導の(5)～(8)は融点 56～57℃のパラフィンを用いて，57～59℃の恒温器内で行った。

③ 包埋

包埋型に溶解させた 100 %パラフィンを 0.5 cm 程度の深さまで流し込んだ。その包埋型を水に浮かべ，底の部分のパラフィンが固化した後，水から取り出し，ピンセットでパラフィン誘導した試料を包埋型に並べ，冷やし固めた。

④ 切片の作製

パラフィン塊を包埋型からはずし，熱したメスで試

料ごとに切り分けた。切り分けた試料はプラスチック製の台にスパーテルで溶かし付けた。それを回転式ミクロトーム（PR-50-A，大和光機工業（株））に取り付け，厚さ 20 μm の切片を作製した。作製した切片は，Haupt の貼付液，4 %ホルマリン水溶液の順に塗布したカバーガラス上に並べ，37°C に設定したパラフィン伸展器上に約 12 時間置き，伸展・乾燥させた。

⑤ 脱パラフィン，染色

以下の手順で，脱パラフィンおよび染色した。

脱パラフィン

- | | |
|---------------|------|
| (1) 100 %キシレン | 10 分 |
| (2) 100 %キシレン | 10 分 |
| (3) 100 %キシレン | 10 分 |

脱キシレン

- | | |
|----------------|-----|
| (4) 100 %エタノール | 5 分 |
| (5) 100 %エタノール | 5 分 |
| (6) 100 %エタノール | 5 分 |

浸水

- | | |
|---------------|-----|
| (7) 95 %エタノール | 5 分 |
| (8) 70 %エタノール | 5 分 |

流水洗

- | | |
|-----------|------|
| (9) 水道水流水 | 10 分 |
|-----------|------|

水洗

- | | |
|----------|-----|
| (10) 蒸留水 | 5 秒 |
|----------|-----|

染色

- | | |
|---------------------|-----|
| (11) デラフィールドヘマトキシリン | 1 分 |
|---------------------|-----|

色 出

(12) 水道水流水 15分

脱 色

(13) 70%EtOH, 0.2%塩酸 30秒

染 色

(14) 0.1%エオシン 10秒

分 別

(15) 70%EtOH 液内でサンプルを10回上下

脱 水

(16) 95%EtOH 5秒

(17) 100%EtOH 5分

(18) 100%EtOH 5分

(19) 100%EtOH 5分

透 徹

(20) キシレン 10分

(21) キシレン 10分

(22) キシレン 10分

なお、デラフィールドヘマトキシリンによる染色には、グリセリン16%、メタノール16%、硫酸アルミニウムアンモニウム6.7%およびヘマトキシリン0.7%の組成のデラフィールドヘマトキシリン染色液（武藤化学（株））を用いた。

⑥ 封入

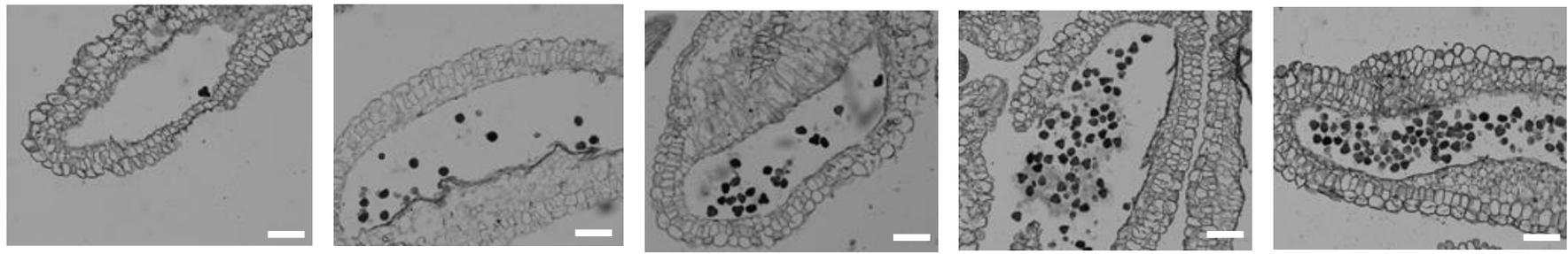
オイキッド液をスライドグラスに滴下し、カバーグラスで封入した。

作成した切片は、1)と同様の光学顕微鏡を用い、100倍でそれぞれの葯の代表的な断面について観察した。葯の断面のうち、100 μm 四方の領域を無作為に3か所を選び、花粉粒数を調査した。3か所の領域における平均花粉粒数に応じ、1:1粒未満、2:1粒以上2粒未満、3:2粒以上4粒未満、4:4粒以上7粒未満、5:7粒以上の5段階に分け(第16図)、花粉密度指数(PDI)を決定した。

(2)異なる花芽の発育ステージにおける低温処理が花粉発芽率に及ぼす影響

試験は2021年および2022年に実施し、1)と同様に採取・調整した所内植栽30年生(2021年)および31年生(2022)‘幸水’の1年生枝を用いた。花芽の発育ステージI~Vに到達した枝を用いて、2)(1)と同様にインキュベーターを用いてそれぞれ低温処理を行った。低温処理を行った枝のうち、ステージI~IVについては再び低温処理前と同様の環境で静置し、花芽がステージVに達した段階で採取した。低温処理した花芽の発育ステージVの枝については、低温処理後ただちに花芽を採取した。ここでは、低温処理を行わない無処理区を設けた。1処理区あたり5芽から1番花をそれぞれ採取し(5反復)、花から外した葯を薬包紙の上に広げた。採取した葯は第1章2.2)と同様に開葯機に入れ、25℃で1日程度静置して開葯した。開葯後、粗花粉を-20℃で凍結保存した。

凍結した粗花粉を室温で2時間静置した後、花粉発芽率の測定に使用した。第1章2.2)と同様に粗花粉



1

2

3

4

5

第 16 図 花粉密度指数

スケールバー = 100 μ m

から花粉粒を採取し，培地に広げ，25℃で2時間静置した．第1章2.2)と同様の実体顕微鏡を用い，30倍で1花につき無作為に5視野を選び，計150粒を観察した．花粉本体よりも花粉管が長く伸長している花粉を発芽花粉とし，発芽花粉数を150で除すことで花粉発芽率を算出した．

(3)花芽の発育ステージIにおける低温処理が葯の発育に及ぼす影響

試験は2020年に実施し，1)と同様に調整した所内植栽29年生‘幸水’の1年生枝を用いた．花芽の発育ステージIに到達した枝に，2)(1)と同様にインキュベーターを用いて低温処理を行った．低温処理後，再び低温処理前と同様の環境で枝を静置し，発育ステージがII，III，IVおよびVに到達した花芽を1処理区あたり3芽ずつそれぞれ採取し(3反復)，FAA液で固定した．2)(1)と同様に葯を取り出し，パラフィン切片法で切片を作製し，同様の光学顕微鏡を用いて200倍で葯の発育過程について観察した．

3)低温処理がナシ7品種の花粉発芽率および花粉粒数に及ぼす影響

(1)花粉発芽率の測定

試験は2021年および2022年に実施した．両年の1月に，所内植栽の19年生(2021年)および20年生(2022年)‘あきづき’，50年生(2021年)および51年生(2022年)‘豊水’，30年生(2021年)および31年生(2022年)‘幸水’，55年生(2021年)および56

年生（2022年）‘松島’，18年生（2021年）および19年生（2022年）‘彩玉’，10年生（2021年）および11年生（2022年）‘八里’の1年生枝を採取した。加えて，農研機構果樹茶業研究部門植栽20年生（2021年）および21年生（2022年）‘横山梨’についても，同様に採取した。これらを1)と同様に調整，15℃下で静置し，花芽の発育ステージIの枝を得た。

花芽の発育ステージIの枝を用いて，低温処理を行った。ここでは佐久間ら（2013）が行った低温処理の方法を参考に，埼玉県久喜市の気温の変動を加味し，気温変化モデルを作成した。埼玉県久喜市における2020年2月1日～3月20日の時間ごとの気温を平均すると，15時に最高気温を迎え，15時間かけて気温が低下した後，翌日6時に最低気温となった。そこで，佐久間ら（2013）の試験のうち，最高気温から最低気温に12時間かけて下降するという点を，ここでは15時間とした。すなわち，本研究における低温処理は，15℃を5分保持した後，15時間かけて，0，-1，-2，-3，-4，-5および-6℃に冷却し，1時間保持した後，4時間かけて10℃に昇温した。この試験では，低温処理を行わない無処理区を設けた。

低温処理後，枝を再び15℃下で静置した。発育ステージVに達した花芽から2)（2）と同様に葯を採取および開葯し，得られた粗花粉を凍結保存した。凍結保存した粗花粉を常温下に2時間静置した後，2 mL マイクロチューブの中で500 μ Lのアセトンとともに30秒間攪拌した。アセトンを乾燥させた後綿棒で花粉を採

取し，2)(2)と同様に花粉発芽率を調査した．また，各品種の無処理区の花 pollen 発芽率を 100 として，それぞれの温度における値を算出した．

(2) 花粉粒数の計測

試験は 2021 年に行った．3)(1)と同様の品種について供試し，アセトンと攪拌するまで同様の手順を経た．攪拌後，ただちに 100 μ L のアセトンと花粉の混合液を取り出し，別の 2 mL マイクロチューブに移した．100 μ L の混合液のアセトンを乾燥させた後，10 μ L のラクトフェノールコットンブルー液を入れ，30 秒攪拌した後 1 時間静置した．静置後，チューブ内のラクトフェノールコットンブルー液と花粉の混合液をなるべく取り残しがないようマイクロピペットで回収し，スライドガラス上に得られたすべての混合液を 20 滴に分けて滴下した．2)(1)と同様の実体顕微鏡を用いて，滴下した混合液ごとに 20 倍ですべての液が画角に入るように写真を撮影し，SmartGrain(Tanabata ら，2012)で，ラクトフェノールコットンブルー液で着色された花粉粒数をカウントした．

3 結果

1) ニホンナシ‘幸水’における花芽の各発育ステージにおける花粉の発育ステージの観察

花芽の発育ステージ I は，花粉母細胞～小孢子空胞出現期の花 pollen が存在し，花粉母細胞期の花 pollen が 71.0%，次いで花粉四分子期が 22.4%を占めた．花芽の発育ステージ II は小孢子空胞出現期～デンプン蓄積期の花

粉が存在し，小孢子空胞出現期の花粉が 38.6%，小孢子核分裂期の花粉が 56.4%となり，これらの花粉で全体の 95.0%を占めた．花芽の発育ステージ III は小孢子空胞出現期～デンプン花粉期の花粉が存在し，小孢子核分裂期とデンプン蓄積期の花粉が全体の 96.2%を占め，これらのステージの花粉は同程度の割合で含まれた．花芽の発育ステージ IV は小孢子核分裂期～糖花粉期の花粉が存在し，デンプン花粉期の花粉が 60.2%を占めた．花芽の発育ステージ V はデンプン蓄積期～糖花粉期の花粉が存在し，花芽の発育ステージ IV と同様にデンプン花粉期の花粉が 48.8%と最も多くなかったが，デンプン-糖花粉期や糖花粉期の花粉は花芽の発育ステージ IV よりも高い割合を占めた（第 14 表）．

2) ニホンナシ‘幸水’における低温処理が葯内の花粉密度，花粉発芽率および葯の発達に及ぼす影響

(1)異なる花芽の発育ステージにおける低温処理が花粉密度に及ぼす影響

花芽の発育ステージ I における -3°C 処理により，葯内の花粉密度は他の処理区よりも有意に減少した．他の処理区では，有意差な差は見られなかった（第 15 表）．

(2)異なる花芽の発育ステージにおける低温処理が花粉発芽率に及ぼす影響

2021 年および 2022 年ともに，花芽の発育ステージ I における 10 時間の -3°C 処理により，花粉発芽率は無処理区よりも有意に減少した．他の処理区では，無処

理区との間に有意差な差は見られなかった（第 17 図
および第 18 図）。

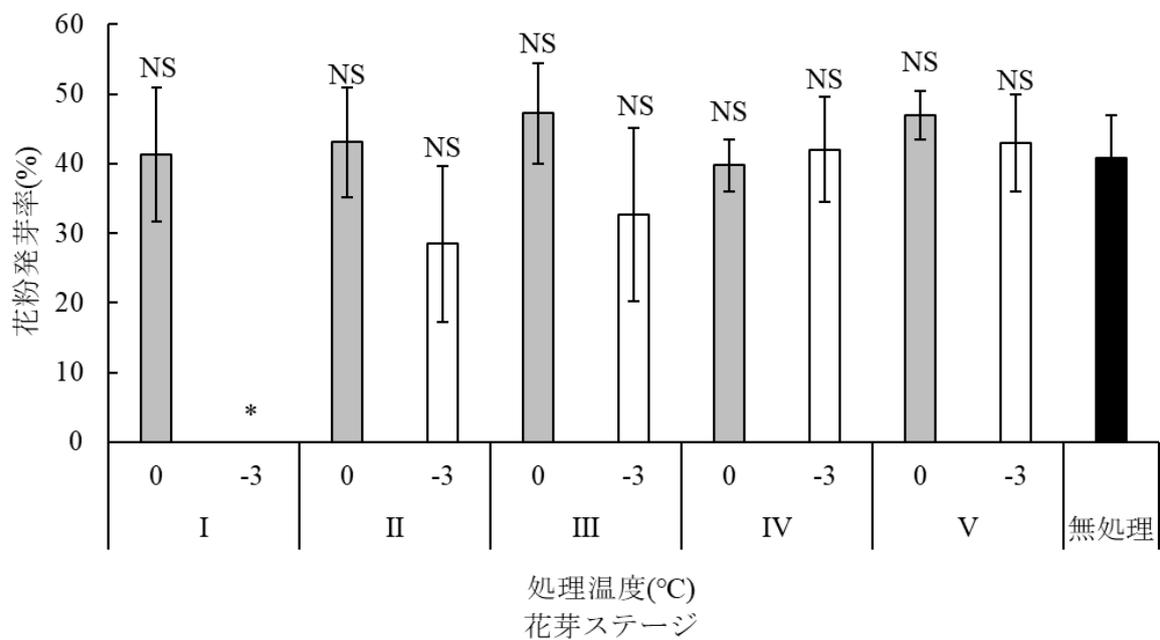
第 14 表 ニホンナシ ‘幸水’ における花芽の発育ステージごとの花粉の発育ステージ (2020 年)

花芽 ステージ	花粉の発育ステージ (%)								
	花粉 母細胞期	花粉 四分子期	小孢子		デンプン 蓄積期	デンプン 花粉期	デンプン-糖 花粉期	糖花粉期	
			空胞出現期	核分裂期					
I	71.0	22.4	6.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
II	0.0	0.0	38.6	56.4	5.0	0.0	0.0	0.0	
III	0.0	0.0	0.2	48.3	47.8	3.7	0.0	0.0	
VI	0.0	0.0	0.0	2.2	8.5	60.2	23.6	5.5	
V	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	48.8	33.5	15.7	

第 15 表 ニホンナシ‘幸水’における異なる花芽の発育ステージでの低温処理が花粉密度指数 (PDI) に及ぼす影響 (2020 年)

花芽 ステージ	処理温度	PDI
I	0°C	3.8 a ²⁾
	-3°C	1.2 b
II	0°C	3.5 a
	-3°C	3.7 a
III	0°C	3.8 a
	-3°C	3.7 a
IV	0°C	3.5 a
	-3°C	3.2 a
V	0°C	3.1 a
	-3°C	3.2 a

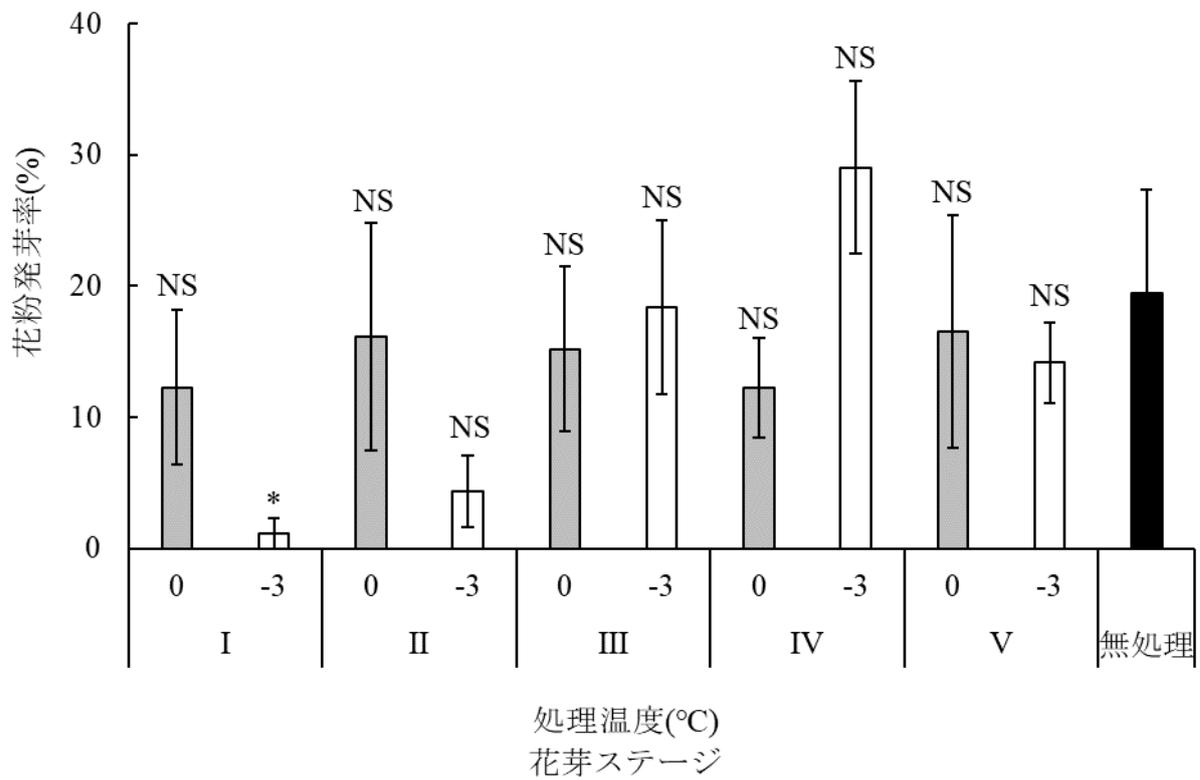
²⁾ Tukey-HSD 検定で, 同縦列の異符号間に 5%水準で有意差あり (n=3)



第 17 図 ニホンナシ‘幸水’における異なる花芽の発育ステージでの低温処理が花粉発芽率に及ぼす影響（2021年）

Steel の検定により，*は 5 %水準で無処理よりも有意に低い値を示す，NS は有意差なし

図中の縦線は SE を示す（n=5）



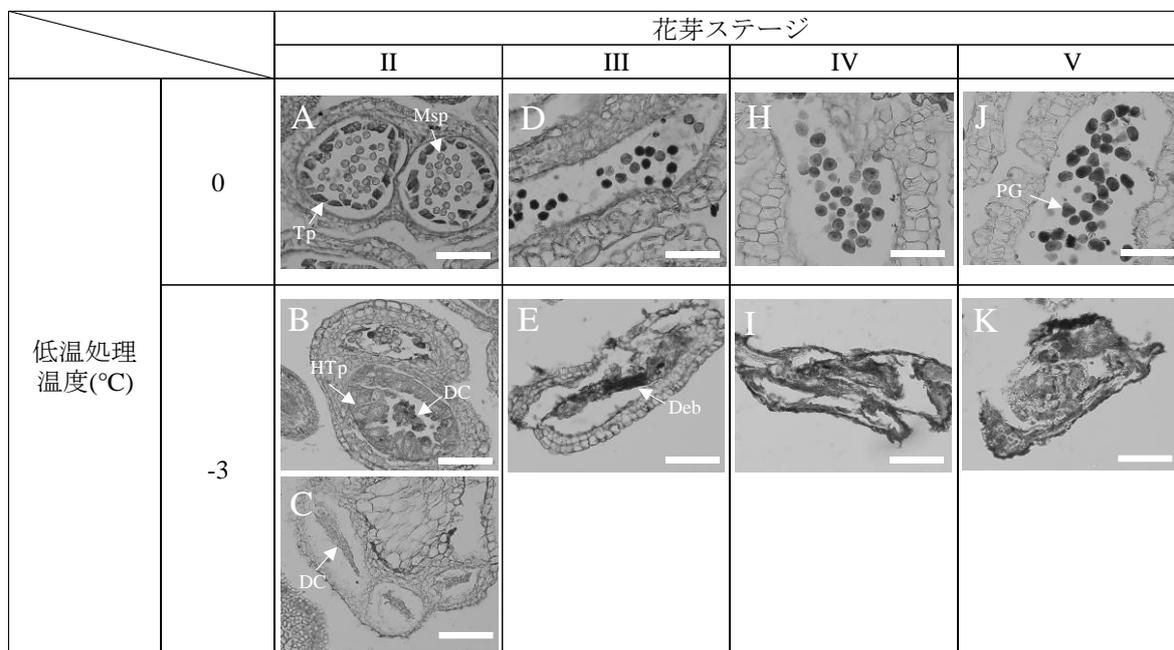
第 18 図 ニホンナシ‘幸水’における異なる花芽の発育ステージでの低温処理が花粉発芽率に及ぼす影響（2022年）

Steel の検定により，*は 5%水準で無処理よりも有意に低い値を示す，NS は有意差なし

図中の縦線は SE を示す（n=5）

(3) 花芽の発育ステージ I における低温処理が葯の発育に及ぼす影響

葯の発達について、 0°C 処理区では葯は正常に発育した（第 19 図 A, D, H, J）。花芽の発育ステージ II では、タペート細胞と小胞子が見られ（第 19 図 A）、その後タペート細胞は薄くなり（第 19 図 D）、花芽の発育ステージ V では正常な花粉粒が形成された（第 19 図 J）。一方、 -3°C 処理区では、花芽の発育ステージ II において、タペート細胞の肥大や、劣化した細胞が見られた（第 19 図 B, C）。花芽の発育ステージ III では、細胞の残骸が見られた（第 19 図 E）。花芽の発育ステージ IV および V では、葯室は収縮し小さくなった（第 19 図 I, K）。



第 19 図 花芽の発育ステージIでの 0°Cおよび-3°Cの処理がニホンナシ‘幸水’の葯の発育に及ぼす影響 (2020年)

Msp, 小孢子; Tp, タペート細胞; HTp, 肥大したタペート細胞; DC, 劣化した細胞; Deb, 細胞の残骸; PG, 花粉粒 (n=3)

スケールバー = 100 μm

3) 低温処理がナシ 7 品種の花粉発芽率および花粉粒数に及ぼす影響

(1) 花粉発芽率

それぞれの品種において、花粉発芽率を処理区間で比較すると、‘あきづき’の花粉発芽率は、2021年には-3、-4、-5および-6℃、2022年には-4および-6℃で無処理区よりも有意に低下した。‘幸水’の花粉発芽率は、2021年には-4、-5および-6℃、2022年には-6℃で無処理区よりも有意に低下した。‘松島’の花粉発芽率は、2021年および2022年ともに-4、-5および-6℃で無処理区よりも有意に低下した。‘彩玉’の花粉発芽率は、2021年には-5℃および-6℃、2022年には-4および-6℃で無処理区よりも有意に低下した。‘横山梨’の花粉発芽率は、2021年には-6℃で無処理区よりも有意に低下した。‘豊水’および‘八里’の花粉発芽率は、2021年、2022年ともにすべての低温処理区と無処理区との間に有意差は見られなかった。それぞれの処理区において、花粉発芽率を品種間で比較すると、2021年の-1℃において、‘あきづき’、‘松島’および‘横山梨’で‘幸水’よりも有意に高い値を示した(第16表)。各品種における無処理区での花粉発芽率にやや違いが見られたことから、無処理区の花粉発芽率を100とした値について品種間で比較すると、2021年の-1℃において、‘豊水’は‘幸水’よりも有意に高くなった。2021年の-5℃において、‘豊水’は‘あきづき’、‘松島’および‘幸水’よりも有意に高くなった。2021年の-6℃において、‘豊水’は‘あきづき’および‘幸水’よ

りも有意に高くなった（第 16 表）。

（2）花粉粒数

‘あきづき’の花粉粒数は， -5 および -6°C で無処理区よりも有意に減少した。‘幸水’の花粉粒数は， -1 ， -4 ， -5 および -6°C で無処理区よりも有意に減少した。‘松島’の花粉粒数は， -2 ， -5 および -6°C で無処理区よりも有意に減少した。‘彩玉’の花粉粒数は， -6°C で無処理区よりも有意に減少した。‘豊水’，‘八里’および‘横山梨’の花粉粒数は，各低温処理区と無処理区との間に有意な差は見られなかった（第 17 表）。

第 16 表 低温処理がナシ 7 品種における花粉発芽率に及ぼす影響 (2021~2022 年)

品種	花粉発芽率 (%)															
	2021								2022							
	0°C	-1°C	-2°C	-3°C	-4°C	-5°C	-6°C	無処理	0°C	-1°C	-2°C	-3°C	-4°C	-5°C	-6°C	無処理
‘あきづき’	46.7 (80.6) ^x	58.8 a ^z (101.6) AB ^z	36.6 (63.2)	26.3 ^{zy} (45.4)	22.1 * (38.2)	18.5 * (32.0) B	2.3 * (3.9) B	57.9 (100.0)	21.1 (46.6)	27.3 (60.2)	30.5 (67.4)	31.6 (69.9)	18.2 * (40.1)	23.8 (52.6)	13.1 * (28.8)	45.3 (100.0)
‘豊水’	34.7 (98.1)	48.6 ab (137.4) A	25.2 (71.3)	32.4 (91.7)	34.7 (98.2)	46.2 (130.9) A	35.9 (101.6) A	35.3 (100.0)	33.9 (96.3)	29.9 (85.0)	33.4 (95.0)	23.7 (67.4)	23.1 (65.5)	29.2 (82.9)	18.0 (51.1)	35.2 (100.0)
‘幸水’	38.3 (94.1)	28.0 b (68.8) B	31.5 (77.3)	25.9 (63.5)	10.7 * (26.2)	14.3 * (35.0) B	0.5 * (1.1) B	40.7 (100.0)	10.8 (55.3)	22.4 (115.1)	11.4 (58.4)	12.4 (63.7)	12.6 (64.9)	17.3 (89.0)	0.4 * (2.1)	19.5 (100.0)
‘松島’	37.5 (62.5)	63.5 a (106.0) AB	49.0 (81.7)	64.5 (107.5)	27.9 * (46.5)	12.4 * (20.7) B	16.0 * (26.6) AB	60.0 (100.0)	33.7 (100.3)	42.5 (126.5)	32.8 (97.6)	35.8 (106.5)	5.8 * (17.3)	8.1 * (24.2)	4.9 * (14.7)	33.6 (100.0)
‘彩玉’	55.3 (100.7)	54.3 ab (98.9) AB	33.3 (60.8)	37.9 (69.2)	29.4 (53.7)	22.0 * (40.0) AB	3.1 * (5.7) AB	54.9 (100.0)	29.2 (97.1)	27.1 (90.1)	25.3 (84.3)	31.2 (103.9)	7.8 * (25.9)	21.6 (71.9)	8.5 * (28.3)	30.1 (100.0)
‘八里’	48.2 (81.8)	52.8 ab (89.6) AB	60.2 (102.0)	49.9 (84.7)	50.2 (85.0)	32.7 (55.5) AB	32.0 (54.2) AB	59.0 (100.0)	32.1 (104.9)	37.6 (122.8)	34.9 (113.9)	26.4 (86.1)	27.9 (91.0)	26.8 (87.5)	15.6 (50.9)	30.6 (100.0)
‘横山梨’	59.1 (109.9)	58.2 a (108.2) AB	52.4 (97.4)	61.2 (113.7)	28.7 (53.3)	53.8 (100.1) AB	22.5 * (41.8) AB	53.8 (100.0)	28.9 (79.7)	28.9 (79.7)	31.1 (85.6)	21.7 (59.8)	34.0 (93.6)	37.3 (102.8)	30.3 (66.8)	36.3 (100.0)
一元配置分散分析																
花粉発芽率	NS ^w	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
(無処理を100とした値)	NS	*	NS	NS	NS	**	*	-	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	-

z) Tukey-HSD 検定で同縦列の大文字および小文字それぞれの異符号間に 5 %水準で有意差あり。大文字は花粉発芽率，小文字は無処理区の花発芽率を 100 とした値について示す (n=5)。

y) Dunnett の検定により，各品種において*は 5 %水準で無処理区よりも有意に低い値を示す，NS は有意差なし (n=5)。

x) 括弧内の値は，各品種における無処理区の花発芽率を 100 とした値を示す。

w) 一元配置分散分析で NS は有意差なし (p ≥ 0.05) (n=5)

第 17 表 低温処理がナシ 7 品種の 1 花あたりの花粉粒数に及ぼす影響 (2021 年)

品種	1花あたりの花粉粒数							
	0°C	-1°C	-2°C	-3°C	-4°C	-5°C	-6°C	無処理
‘あきづき’	45389.5 NS ^{z)}	50072.2 NS	42295.7 NS	33409.4 NS	20798.8 NS	16234.8 *	1538.8 *	45801.2
‘豊水’	25433.6 NS	23465.2 NS	15003.2 NS	18149.3 NS	12220.4 NS	31210.7 NS	16426.5 NS	17220.4
‘幸水’	10305.6 NS	13080.0 *	31852.2 NS	22286.4 NS	6756.2 *	14029.6 *	411.6 *	43496.8
‘松島’	17453.4 NS	43005.7 NS	13815.3 *	36066.3 NS	21645.0 NS	3136.3 *	9549.4 *	39006.9
‘彩玉’	33286.4 NS	23257.8 NS	25339.9 NS	21470.7 NS	13423.0 NS	20039.8 NS	3852.9 *	25804.9
‘八里’	45181.2 NS	52750.1 NS	45320.9 NS	50617.8 NS	63966.8 NS	39739.8 NS	36380.2 NS	61949.9
‘横山梨’	46236.8 NS	56200.6 NS	44696.9 NS	49466.5 NS	23369.9 NS	34882.8 NS	23403.7 NS	40283.2

^{z)} Dunnett の検定により，各品種において*は 5%水準で無処理よりも有意に低い値を示す，NS は有意差なし (n=5)

4 考察

1) 低温感受性が高い花粉発育ステージとその要因

ニホンナシ‘幸水’において、花芽の発育ステージ I における 10 時間 -3°C の低温処理でのみ、葯内の花粉密度や花粉発芽率が低下した。したがって、花芽の発育ステージ I が花粉の形成や発達において最も低温感受性が高い時期であると考えられる。

そこで、花芽の発育ステージ I における花粉の発育ステージについて調査したところ、花粉母細胞～小孢子空胞出現期の花粉が存在したが、多くを花粉母細胞～花粉四分子期の花粉が占めた。したがって、ニホンナシ‘幸水’において、花粉の形成や発達に対する低温の影響は花粉の発育ステージにより異なり、低温感受性が高い花粉の発育ステージは花粉母細胞～花粉四分子期であると考えられる。花粉の低温感受性が高まる時期について、ダイズでは花粉四分子期か四分子を形成する前 (Ohnishi ら, 2010)、ヒヨコマメでは減数分裂期から花粉四分子期付近 (Clarke・Siddique, 2004) と報告されており、本研究ではこれらに近い時期となった。一方、平田 (2000) はニホンナシ花粉の低温感受性の高い時期は花粉四分子期から空胞期であるとしており、本研究の結果よりも花粉の発育ステージがやや遅い。この要因については不明であるが、品種や低温処理条件の違いが影響しているのかもしれない。一方、雌性器官では花芽の発育ステージが進むほど低温感受性が高くなり (大谷, 2012; 佐久間ら, 2013)、本研究で得られた花粉における結果と異なる。ニホンナ

シの花において、糖の蓄積は細胞内の凍結を防ぐことで凍害を防ぐ（Sekozawa ら，2003）。ニホンナシの花芽の糖含量は冬季から春季にかけて減少する（瀬古澤，2004）が、花粉においては成熟花粉に近づくにつれ花粉粒中のデンプンが糖に変化することで、糖が蓄積する（林・田辺，1991）。ナシの花において、遊離糖含量の高まりは低温による障害を防ぐ（Lee ら，2023）。したがって、雄性器官と雌性器官の低温感受性の高くなる時期の違いは、糖含量に関連している可能性がある。

‘幸水’の花芽の発育ステージ I に -3°C 10 時間の低温処理を行い、花芽の発育ステージ II～V までの花粉の発育について形態学的に観察すると、花芽の発育ステージ II でタペートの肥大が見られた。また、花芽の発育ステージ II および III では、葯は収縮していないものの、劣化した細胞や細胞の残骸が見られ、花芽の発育ステージ IV 以降では、葯室は収縮して小さくなった。低温によるタペート肥大やタペートの形成異常と花粉不稔の関連性は、イネの‘農林 20 号’（Nishiyama, 1970）や‘ササニシキ’（Oda ら，2010）で指摘されている。ナシにおいても、イネと似た葯の形成異常が見られたことから、低温による葯の形成異常が花粉密度や花粉発芽率の低下の要因の一つであると考えられる。一方、花芽の発育ステージ I 以降の時期に -3°C の低温が 10 時間続くことは、日本国内においてナシの栽培が行われている地域ではほとんどない。実際の花粉生産においては、 -3°C で 10 時間の低温処理で生じた重度の異常が必ずしも見られるとは限らないと考えられ

る。

2) 低温感受性の品種間差

ナシ 7 品種の花芽の発育ステージ I において，圃場の気温条件に近い気温変化モデルにおける低温処理を行ったところ，品種により低温による花粉発芽率の低下程度が異なった。このことは，花粉の発達に対する低温の影響は品種により異なることを示唆している。

‘豊水’では，花粉発芽率は 2021 年および 2022 年の 2 年間を通して，花粉粒数は 2021 年において，低温処理による影響を受けなかった。また，無処理の花粉発芽率を 100 とした値について，‘豊水’では他の品種よりも高くなった。したがって，供試した 7 品種のナシの中で，花芽の発育ステージ I における花粉の低温耐性は‘豊水’が最も高いと考えられる。

花粉の低温感受性に品種間差が見られる要因として，植物ホルモンが挙げられる。アブシシン酸（ABA）含量について，花粉の低温感受性が高い品種では，耐寒性品種よりも低温処理によって増加することが，イネの蒴（Oliver ら，2007；Ji ら，2011）やコムギの小穂（Zhang ら，2019）で報告されている。ABA は，蒴における細胞壁インベルターゼ遺伝子の発現を負に制御する（Ji ら，2011）。蒴におけるインベルターゼ活性が低下すると，ヘキソース生産が妨げられ，花粉のデンプン蓄積量が減少することで，花粉稔性が低下する（Oliver ら，2005）。また，ジベレリン（GA）含量について，花粉の低温感受性が高い品種では，耐寒性品種

よりも低温処理によって減少することが、コムギの小穂において報告されている (Zhang ら, 2019). イネの蒴において、低温処理による GA 含量の低下は、DELLA タンパク質の蓄積を通して、タペート細胞の異常な肥大を引き起こす (Sakata ら, 2014). したがって、花粉の低温感受性に品種間差が生じるのは、低温処理が ABA や GA に及ぼす影響が品種によって異なることが要因の一つであると考えられる. 今後、ナシにおいても、低温がこれらの植物ホルモンに及ぼす影響について、検討する必要がある.

3) 花粉生産における成果の活用と今後の展望

本研究では、それぞれの花芽の発育ステージにおいて、一度のみ低温処理を行うことで、低温感受性が高い時期を検討した. 一方、圃場では低温が複数回訪れる可能性もある. 今後、複数回の低温に遭遇した場合の花芽への影響も調査する必要がある.

本研究で用いた 7 品種について、‘幸水’で低温の影響が最も強く現れた花芽の発育ステージ I で低温処理を行い、低温感受性の評価を行った. しかし、品種によって花芽の発育ステージ I でも、花粉発育ステージが‘幸水’とは異なっている可能性がある. 今後、‘幸水’以外の品種においても、花粉の発育ステージの違いと低温の影響について確認する必要がある.

圃場では、花芽が発育ステージ I を早く迎える品種ほど、花粉は低温による被害を受けやすい. ‘横山梨’は埼玉県久喜市で 2 月中旬には発育ステージ I となり、

3月上中旬には開花する（データ略）。花粉生産のための品種を選定する際は、品種そのものの花粉の低温感受性の高低だけではなく、その品種が圃場で発育ステージⅠを迎える時期についても注意が必要である。

本研究においては、‘あきづき’、‘豊水’、‘幸水’、‘松島’、‘彩玉’、‘八里’および‘横山梨’の7品種について、花粉の低温感受性を評価した。しかし、上記以外の品種も、ナシ生産者は受粉樹として使用している（前島ら，2018a）。また、花粉の低温発芽性に優れたナシ品種も選抜されており（Takemuraら，2022），受粉樹としての活用が想定される。今後さらに調査の対象品種数を増やすことで、さらなる成果の活用が期待できる。

第 4 章 凍霜害抑制剤による花粉の低温障害 抑制効果の検討

1 緒言

開花前の低温による花粉の障害を抑制することは、効率的な花粉生産にとって重要である。果樹の凍霜害対策として、防霜ファンの使用、燃料の燃焼、樹上散水等が行われているが、これらには高額な費用がかかる (Smith, 2019)。費用を抑えることのできる凍霜害対策法の一つとして、化学物質の散布がある (Smith, 2019)。凍霜害抑制剤の一種であるコーヒー粕抽出物は、氷核形成阻害活性を持ち、食品加工廃棄物から抽出されるため安価に製造できる (Kawahara ら, 2017)。コーヒー粕抽出物の主要な成分であるカフェインは、植物のシュウ酸カルシウムに結合することで氷核形成を抑制し、植物体の過冷却状態を維持することで凍結を阻害する (Kawahara ら, 2017)。凍霜害抑制剤としてコーヒー粕抽出物を用いる事で、凍結による障害を軽減できる可能性があるが、ナシの花粉に対する影響は明らかになっていない。本章では、低温処理前の凍霜害抑制剤 (コーヒー粕抽出物) 処理が、花芽の凍結および花粉発芽率に及ぼす影響を調査し、‘幸水’における花粉の低温障害抑制に効果があるか検討した。

2 材料および方法

1) 凍霜害抑制剤処理が花芽の凍結時間に及ぼす影響

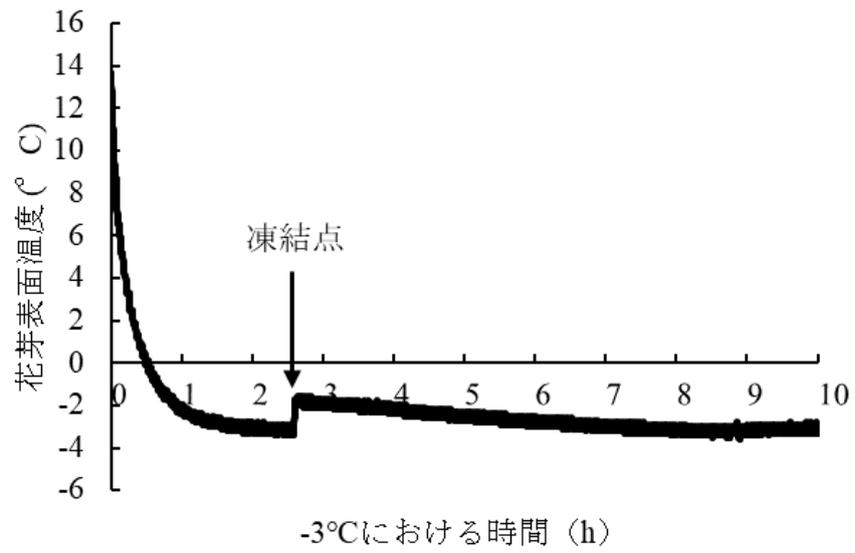
2021年1月に、所内植栽の30年生‘幸水’の1年

生枝を採取し，第3章2.2)(1)と同様の手順で枝を調整し，発育ステージIに到達した花芽を得た．凍霜害抑制剤（コーヒー粕抽出物，フロストバスター，KUREi）2 ppmを，ハンドスプレーで花芽と枝の表面に噴霧した．無処理区では，水を同様に噴霧した．処理後，枝を水差しし，20時間15℃下で枝表面の処理液を乾燥させた．その後，第3章2.2)(1)と同様にインキュベーターを用いて低温処理を行った．ここでは，処理温度を-3℃で10時間とした．

低温処理中に，示差熱分析法（DTA；differential thermal analysis）を用いて，1処理区あたり5つの花芽の凍結点を調査した（5反復）．DTAは，植物の低温耐性の決定に用いられている一般的な方法であり，ナシでも多くの利用例がある（Quamme, 1976; Rajashekarら, 1982; Montanoら, 1987; Kayaら, 2020）．本研究では，温度センサーを花芽表面に張り付けて温度を10秒おきに測定し（RT-31S, ESPEC），Mengら（2007）に基づいて花芽の凍結点を決定し（第20図），凍結点に到達するまでの時間を調査した．

2) 凍霜害抑制剤処理が花粉発芽率に及ぼす影響

試験は，2021年および2022年に実施した．所内植栽の30年生（2021年）および31年生（2022年）の‘幸水’の1年生枝を採取し，1)と同様の手段を経て，凍霜害抑制剤処理区と無処理区を設置した．低温処理は，-3℃で1, 2, 3, 4, 5, 6, 8および10時間行った．低温処理後，枝を低温処理前と同様の環境で静置し，



第 20 図 花芽表面温度の変動曲線

發育ステージ V に達した花芽を得た。1 処理区あたり 5 芽から一番花をそれぞれ採取し、第 3 章 2. 2) (2) と同様に葯を採取および開葯し、凍結した。凍結した粗花粉を常温下に 2 時間静置した後、第 3 章 2. 3) (1) と同様に花粉を採取し、第 3 章 2. 2) (2) と同様に花粉発芽率を調査した。

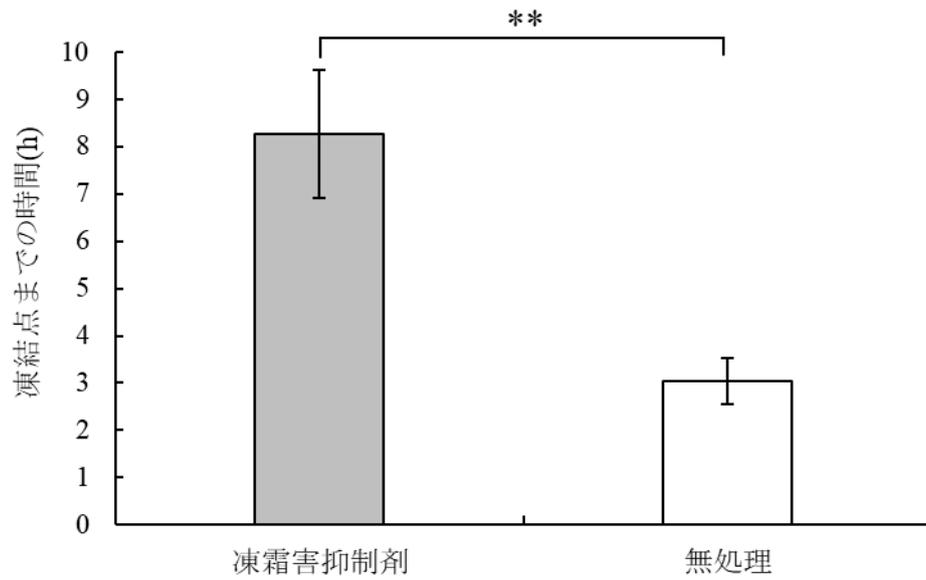
3 結果

1) 凍霜害抑制剤処理が花芽の凍結時間に及ぼす影響

花芽の凍結点に到達するまでの時間は、凍霜害抑制剤処理区で約 8 時間と無処理区の約 3 時間よりも有意に長くなった (第 21 図)。

2) 凍霜害抑制剤処理が花粉発芽率に及ぼす影響

花粉発芽率について、要因別に見ると、2021 年および 2022 年ともに処理の要因でのみ有意差が見られ、凍霜害抑制剤処理区で無処理区よりも花粉発芽率の平均値が高くなった。時間の要因および交互作用には有意差は見られなかった (第 18 表)。



第 21 図 ニホンナシ‘幸水’における凍霜害抑制剤処理が花芽表面の凍結点に及ぼす影響（2021）

**は t 検定により 1%水準で有意差あり（n=5）

第 18 表 ニホンナシ ‘幸水’ における凍霜害抑制剤処理が花粉発芽率に及ぼす影響
(2021～2022)

年度	処理	花粉発芽率(%)									
		1 ^{z)}	2	3	4	5	6	8	10	平均 ^{y)}	
2021	凍霜害抑制剤	37.7	25.4	24.8	28.3	26.7	12.8	4.1	2.3	20.3	
	無処理	42.0	44.9	22.6	13.4	1.1	1.2	9.1	8.6	17.9	
2022	凍霜害抑制剤	19.3	14.5	9.5	20.3	8.7	4.4	4.9	3.8	10.7	
	無処理	7.4	4.9	3.0	5.5	10.2	9.5	2.8	1.9	5.6	
二元配置分散分析 ^{x)}											
2021	処理					**					
	低温遭遇時間					NS					
	交互作用					NS					
2022	処理					*					
	低温遭遇時間					NS					
	交互作用					NS					

z) -3℃ 遭遇時間 y) 横列における平均

x) 二元配置分散分析で **は 1%, *は 5%水準で有意差あり, NSは有意差なし

4 考察

1) 凍霜害抑制剤の花芽発芽率低下の抑制メカニズム

凍霜害抑制剤としてコーヒー粕抽出物を花芽と枝の表面に噴霧したところ，無処理よりも花芽表面が凍結するまでに要した時間が長くなり，花粉発芽率の低下が抑制された．このことから，ナシに対する本剤の処理は，花粉の形成および発育に対する低温の影響を軽減する方法となりうる可能性がある．ナシを含む複数の果樹の花芽凍結について，花芽の休眠が終了し発芽すると木部と鱗片の間に導管による連続性が生まれ，低温遭遇すると花芽表面から急激に花蕾内部に氷核形成が広まる（Kayaら，2020）．凍霜害抑制剤処理により花芽表面の凍結が遅れることで，花蕾内部の葯の凍結も遅れ，花粉発芽率低下が抑制された可能性がある．

本研究で用いた凍霜害抑制剤の主要な成分であるカフェインは，植物のシュウ酸カルシウムに結合することで氷核形成を抑制し，植物体の過冷却状態を維持することで凍結を阻害する（Kawaharaら，2017）．*Cochliostema odoratissimum* L.や *Tinantia anomala* L.では，花粉の成熟に必要なカルシウムは，シュウ酸カルシウムの形でタペート細胞に多く蓄積される（Hardy・Stevenson，2000；Gebura・Winiarczyk，2016）．ペチュニア（*Petunia hybrida* Vilm.）では，葯隔の細胞や口辺細胞の下部の細胞に（Iwanoら，2004），*Helianthus annuus* L.や *H. tuberosus* L.の葯の内被に（Meric・Dane，2004）シュウ酸カルシウムが存在する．ナシにおいて

も凍霜害抑制剤中のカフェインが，葯中のシュウ酸カルシウムに結合することにより凍結が抑制されたのかもしれない．今後，ナシにおけるコーヒー粕抽出物による花粉発芽率低下の抑制メカニズムについて，さらに検討する必要がある．

コーヒー粕抽出物には，カフェイン以外にも，クロロゲン酸，キナ酸，カフェ酸，フェルラ酸，クマル酸などの有機化合物も含まれている（Kawaharaら，2017）．コーヒー粕抽出物に含まれる成分ごとの氷核形成阻害活性について，氷核形成物質としてシュウ酸カルシウムを用いるとカフェインの活性は高くなるが，ヨウ化銀を用いるとフェルラ酸の活性が高くなり，カフェインの活性は低くなる（Kawaharaら，2017）．物質の持つ氷核形成阻害活性程度は，氷核形成物質の種類により異なる（Kuwabaraら，2012；Kuwabaraら，2013）．したがって，植物に含まれる氷核形成物質と，凍霜害抑制剤に含まれる成分との組み合わせにより，氷核形成阻害程度は異なると考えられる．今後，ナシの花芽や花粉に含まれる氷核形成物質と，それに対して高い氷核形成阻害活性を持つ物質について，詳しく調査を行う必要がある．

2) 花粉生産における成果の活用と今後の展望

本研究において凍霜害抑制剤の評価は，あらかじめ -3°C に冷却したインキュベーターに， 15°C に静置してあった花芽を入れ，急速に冷却することで行った．花芽表面の温度が 15°C から -3°C に達する時間は2時間程

度（データ略）と，最高気温から最低気温に達するのに 15 時間程度かかる埼玉県久喜市の温度変化条件よりもかなり早い．冷却速度は遅い方が，過冷却状態が維持されて凍結が遅れることが，モモ（*Prunus persica* Batsch.）の花芽（Ashworth, 1982）やブルーベリー（*Vaccinium corymbosum* L.）の花芽（Flinn・Ashworth, 1994）で報告されている．今後，圃場条件下でも凍霜害抑制剤の効果を検討する必要がある．

第 3 章で明らかになったナシの花粉が最も低温に弱い催芽期～発芽期は，花粉採取期の 1 か月前程度に訪れるため，低温遭遇リスクが高い．低温遭遇が予想される場合，その前日に凍霜害抑制剤を散布することで，花粉における低温障害を軽減できる可能性がある．他の凍霜害抑制法との組み合わせも含め，産地での凍霜害抑制剤の活用法について，検討する必要がある．

5 章 総合考察

ナシ産地では人工受粉が行われている。果実生産者は人工受粉に使用する花粉を自ら採取しているが、自家採取には労力がかかるため、購入した花粉を使用することも多い。購入花粉について、国産花粉は一部地域を除きほとんど流通しておらず（中央果実協会，2016）、輸入花粉に頼らざるを得ないのが現状である。しかし、輸入花粉の供給量や価格は安定せず、花粉を介した病虫害侵入リスクも高まってきている。輸入花粉をまかなう量の国産花粉を供給するためには、新たに大規模な花粉採取園を設置し、十分な量の花粉を生産する必要がある。加えて、現在行われている果実生産者による花粉の自家採取量を増加させることも、輸入花粉への依存割合を低下させるためには肝要である。ここでは、新たに大規模な花粉採取園を設置する場合（ケース 1）と、各果実生産者により花粉を自家採取する場合（ケース 2）について、本研究で検討した花粉の効率的な生産法がどのように活用できるか考察する。

ケース 1 について、大規模な花粉採取園を設置するにあたり、花粉採取効率が良い受粉樹の樹形を選定する必要がある。本研究において、低樹高ジョイント仕立ては、従来の高木化した樹形よりも効率的に花粉を採取できることが明らかになった。加えて、低樹高ジョイント仕立ては高所での作業が必要なく、安全に花粉採取を行うことができるため、障がい者や高齢者な

ど、様々な人材の活用も可能となる。花蕾採取法について、これまで樹上の風船状期の花蕾を選択採取する方法が用いられてきたが、本研究で5分咲き時に花蕾を一斉採取することで、大幅に採取時間を削減できることが明らかとなった。大規模な花粉採取園で花蕾の選択採取を行うと多くの時間が必要となるが、一斉採取を行うことで、花粉採取に関わる労働時間や人件費が削減され、栽培面積の拡大も可能となる。また、花蕾の一斉採取技術は、人手による花蕾採取だけでなく、機械による花蕾採取への応用も可能である。現在、低樹高ジョイント樹列に沿って走行しながら、主幹から伸びた側枝を枝寄せガイドによって機体方向に押し倒し、回転するブラシに接触させて花蕾を採取する「自走式花蕾採取機」(山田ら, 2021; 義積ら, 2021)の開発も進んでおり、大規模な花粉採取園での活用が期待される。

受粉樹における花芽着生促進は、効率的な花粉生産において重要な技術の一つである。本研究において、‘新興’へのエテホン処理は、花粉発芽率に悪影響を及ぼさずに新梢の花芽着生を促進したことから、花粉収量を増加させる手法の一つになりうる。また、「自走式花蕾採取機」の開発においては、主に1年生の側枝(長果枝)からの花蕾を採取することが想定されているため、エテホン処理による新梢の花芽着生促進効果は、機械による花蕾採取効率の向上にも寄与できるかもしれない。

ナシの開花前の低温は、花粉発育に影響を及ぼすこ

とで花粉生産の効率を低下させる可能性がある。本研究において、最も花粉の低温感受性が高まる花芽の発育ステージは、催芽期～発芽期（ステージ I）であることが、‘幸水’において明らかとなり、その花粉の発育ステージは花粉母細胞～花粉四分子期に相当した。受粉樹の品種選定を行う際には、それぞれの品種の花芽が発育ステージ I を迎える時期の圃場の気温を確認する必要がある。また、品種により発育ステージ I における花粉の低温感受性が異なることも明らかとなったことから、それぞれの地域における 2～3 月の気温と各品種の花粉の低温感受性の高低を総合的に判断し、品種を選択する必要がある。大規模花粉採取園では特に、花蕾採取時期を分散させるために、早期に開花する品種から晩期に開花する品種まで、様々な花蕾採取期の品種を栽植する必要がある。埼玉県久喜市においては、開花の早いタイワンナシ‘横山梨’から開花の遅いニホンナシ‘長十郎’まで 11 品種を活用することで、およそ 3 週間にわたり花蕾採取を分散させることができる（埼玉県農業技術研究センター，2021）。一方、圃場では花芽が発育ステージ I を早く迎えるほど、花粉の低温遭遇リスクが高まると考えられる。花粉生産のための品種を選定する際には、圃場で花芽の発育ステージ I を迎える時期についても留意する。

花粉採取時期を分散させるために、シアナミドの活用も考えられる。本研究において、‘新興’への DVI1.5～2.3 におけるシアナミド処理は、花蕾採取期を前進させた。花蕾採取期を分散させるためには、ニホンナ

シより開花の早いタイワンナシやネパールナシの活用も有効であるが，それらの花蕾採取は3月中旬に終了し，ニホンナシの花蕾採取が始まるまでに数日かかる（埼玉県農業技術研究センター，2021）．シアナミドを活用し，ニホンナシの開花を数日早めることができれば，切れ間なく花蕾採取を行うことができるため，花粉採取作業の平準化につながる．

開花前の低温による花粉の障害を抑制することは，効率的な花粉生産にとって重要である．果樹の凍霜害対策として，防霜ファンの使用，燃料の燃焼，樹上散水等が行われているが，これらには高額な費用がかかる（Smith，2019）．凍霜害抑制剤の一種であるコーヒー粕抽出物は食品加工廃棄物から抽出されるため，安価に製造できる（Kawaharaら，2017）．本研究において処理による花芽凍結の遅延や花粉発芽率低下の抑制効果が見られたことから，花粉採取園でも利用できる可能性がある．実際の花粉生産において低温が予想される場合，その前日に凍霜害抑制剤を樹に散布することで，花粉の低温障害を軽減できる可能性がある．特に，花粉の低温感受性が高まる花芽の発育ステージ I の時期においては，低温に注意しながら凍霜害抑制剤の使用を検討する．

ケース 2 において，果実生産者が花粉採取に用いている樹の多くは高木化していると考えられる．こうした樹でもなるべく効率的に花粉を採取するためには，花蕾を一斉採取することが有効である．花粉のための花蕾採取期は，果実用品種の摘蕾や受粉等の時期と重

なるため、果実生産者は受粉樹の花蕾採取まで手が回らないケースも想定される。花蕾の一斉採取を行うことで、限られた時間でより多くの花蕾を採取できるため、花粉採取量の増加効果も期待できる。また、花蕾採取において、機械を利用することでより作業が効率的になる。現在市販されている「手持ち式花蕾採取機」（深井ら，2021）は、伸縮する把持棒の先端にブラシ状に配置したコードを取り付け、小型モータで高速回転させ、花蕾をコードではたき落とす構造となっている。高木化した樹においても、脚立を使用することなく樹上部の花蕾を効率的かつ安全に採取することができる。

花蕾採取機の利用について、果実生産組合等が代表して機械を購入し、組合員が共同利用する場面も想定される。そうした場合、地域内での受粉樹の花蕾採取時期を分散させる必要がある。産地で受粉樹として利用されている品種は限られており、生産組合単位で見ると生産者に関わらず同一の受粉樹の品種を使用していることが多い（私信）。本研究において、シアナミドの処理は花蕾採取時期を前進できることが明らかとなった。花蕾採取機の台数が限られる状況で、シアナミド処理により地域内で花蕾採取時期を分散させることで、より効率的に機械による花蕾採取を行うことができると考えられる。

果実生産を行っているナシ園における凍霜害対策について、晩霜害が発生する地域では対策設備が設置されている（多比良ら，1996；大谷，2016）が、一部に限

られる。凍霜害対策設備を持たない地域においては、凍霜害抑制剤の散布が花粉の低温障害対策の手段の一つとなり、コーヒー粕抽出物を活用できる可能性がある。大谷（2016）は、主要な凍霜害対策法の効果を検討しており、複数の手法の組み合わせることで凍霜害抑制効果が高まると報告している。したがって、それぞれの圃場で元々持つ凍霜害対策設備と組み合わせながら、凍霜害抑制剤を活用していくことで、より有効な花粉の低温障害対策を行うことができる可能性がある。

最後に、ケース1や2における取り組みについて、今後の展望について述べる。ケース1について、現在いくつかの農業生産法人による大規模花粉採取園の設置が始まっており、将来的に果実生産者による自家採取以外の新たな国産花粉供給源となることが期待される。ケース2について、各果実生産者の自家採取効率が向上することで、自身の人工受粉使用量を超える花粉採取が可能になれば、産地内や産地間での花粉の融通が可能となる。先進的な産地では、JAが花粉に余裕のある果実生産者から花粉を買い取り、希望する生産者に販売する取り組み（中央果実協会，2016）も行われている。今後、こうした取り組みが全国に広がることで、輸入花粉への依存割合を低下させることができると考えられる。

2021年ニホンナシの結果樹面積は、10300 haである（農林水産省，2021）。このうち、15～29%が輸入花粉に依存している（中央果実協会，2016）と仮定すると、

1545 ha～2987 haの結果樹面積が輸入花粉によって受粉されたことになる。10 aの受粉に必要な花粉を16 g（中央果実協会，2016，粗花粉精選率を20%として算出）とすると，2022年の輸入花粉使用量は247.2 kg～477.92 kgとなる。使用されている輸入花粉に相当する国産花粉を生産するには，受粉樹10 aあたり花粉収量を391.5 g（鳥取大学・永嶺農園，2022）とすると，63.14 ha～122.1 haの受粉樹が必要となる。今後，さらなる受粉樹面積の拡大や花粉生産増加のため，本研究の成果の活用が期待される。

本研究では，花粉採取効率を高めるための受粉樹の樹形および花蕾採取法，花芽着生促進や花蕾採取時期調節が可能な植物成長調節剤，ニホンナシ花粉の低温に弱い発育ステージや低温感受性の品種間差，凍霜害抑制剤の一種であるコーヒー粕抽出物による花粉の低温障害抑制効果を明らかにした。これらの成果は，国産花粉安定供給体制構築の一助となるであろう。

摘要

産地では，ナシの結実安定や品質向上のために人工受粉が行われている．半数以上のナシ果実生産者は輸入花粉を使用しているが，輸入花粉は国際情勢により価格や供給量が不安定となり，花粉を介した病虫害侵入リスクも高まっている．したがって，国産果実の安定生産のためには，輸入花粉に依存しない国産花粉の安定供給体制を構築する必要がある．本研究では，国内での花粉安定供給体制の構築に資する技術を開発するため，花粉採取効率を高めるための受粉樹の栽培法および花蕾採取法，植物成長調節剤処理が花芽着生および花蕾採取時期に及ぼす影響，開花前の低温がナシ花粉の発育に及ぼす影響，凍霜害抑制剤による花粉の低温障害抑制効果の4点について検討した．

第1章 花粉採取効率を高めるための受粉樹の栽培法

1) 花粉採取に適切な樹形の検討

一般的な受粉樹の仕立てである立木仕立てや棚仕立てでは樹高が3 m以上になることもあり，花粉採取作業は重労働で危険が伴う．本研究では，これらの樹形と，主枝90 cmの一本主枝仕立て樹の先端を隣接樹に接ぎ木し，樹高を2 m程度に抑えた低樹高ジョイント仕立て樹とで，花粉採取効率を比較した．花粉1 g相当の花蕾採取時間は，低樹高ジョイント仕立てで立木仕立てや棚仕立てよりも作業者にかかわらず有意に短くなった．低樹高ジョイント仕立てと，樹高を2 m程度に

抑えた株仕立ての株間 1 m あたりの花芽数を比較したところ、低樹高ジョイント仕立てで有意に多くなった。また、低樹高ジョイント仕立てと、先端を接ぎ木しない低樹高一本主枝仕立ての花芽着生率を比較すると、低樹高ジョイントで有意に高くなった。以上のことから、低樹高ジョイント仕立ては、花粉採取に適した樹形であると考えられた。

2) 適切な花蕾採取時期の検討

花蕾採取を行う際には、一般的に樹上の風船状期の花蕾のみを選択する方法が用いられる。樹上の花蕾を一斉に採取することでより効率的な花粉採取が可能となると考えられるが、適切な採取時期は明らかになっていない。3分、5分および7分咲き時に、花蕾の選択採取ならびに一斉採取を行ったところ、3分および5分咲き時において、1時間あたりの花粉採取量が一斉採取区で選択採取区よりも有意に高くなった。7分咲き時においては、一斉採取区と選択採取区の間には花粉採取量の差は見られなかった。花粉発芽率について、一斉採取区の3分咲きで、一斉採取区の5分および7分咲きよりも有意に低下した。以上のことから、5分咲き時に一斉採取することで、花粉の品質を保ちながら、花粉採取にかかる時間を削減できると思われた。

第2章 植物成長調節剤処理が花芽着生および花蕾採取時期に及ぼす影響

1) 植物成長調節剤処理がニホンナシ‘新興’の花芽着生

および花粉発芽率に及ぼす影響

花粉収量を増加させる技術の一つとして、ニホンナシの花芽着生促進に効果的な植物成長調節剤について検討した。ジベレリン生合成阻害剤（ダミノジッドおよびパクロブトラゾール）と、エチレン様活性剤（エテホン）の処理により、新梢花芽着生率が無処理区よりも有意に増加した。これらの剤の処理は、花粉発芽率に影響を及ぼさなかったことから、花粉収量を増加させる技術として利用できる可能性がある。

2) シアナミド処理がニホンナシの花蕾採取時期および花粉発芽率に及ぼす影響

効率的な花粉生産を行うにあたり、花蕾採取時期を調節することは重要である。シアナミドによる花蕾採取時期の調節効果について検討したところ、‘新興’へのDVI（休眠期の発育ステージ指数）1.5～2.3におけるシアナミド処理は、無処理区よりも選択採取における花蕾採取時期を促進した。また、シアナミド処理は花粉発芽率に影響を及ぼさなかったことから、花蕾採取時期の調節に利用できると考えられた。

第3章 開花前の低温がナシ花粉の発育に及ぼす影響

1) ニホンナシ‘幸水’における花芽の各発育ステージにおける花粉の発育ステージの観察

‘幸水’の花芽の発育ステージごとの花粉発育ステージを確認するため、催芽～発芽期（ステージ I）、出蕾期（ステージ II）、花卉露出期前（ステージ III）、花

弁露出期（ステージ IV）、風船状期（ステージ V）の 5 段階の発育ステージの花芽を得て、それぞれ花粉を観察した。発育ステージ I では花粉母細胞および花粉四分子期、発育ステージ II では小孢子空砲出現期および小孢子核分裂期、発育ステージ III では小孢子核分裂期およびデンプン蓄積期、発育ステージ IV ではデンプン花粉期の花粉が多くを占めた。発育ステージ V では、発育ステージ IV と同様にデンプン花粉期の花粉が多くを占めたが、デンプン-糖花粉期や糖花粉期（成熟期）の花粉は、発育ステージ IV よりも高い割合を占めた。

2) ニホンナシ‘幸水’における低温処理が葯内の花粉密度、花粉発芽率および葯の発達に及ぼす影響

様々な植物で低温感受性が高くなる花粉の発育ステージが報告されているが、ナシでは詳しくは明らかになっていない。本研究では、各ステージにおける低温の影響を確認するため、花芽の発育ステージ I~V の‘幸水’の枝にそれぞれ 0℃または-3℃ 10 時間の低温処理を行い、発育ステージ V に到達した花芽における葯内の花粉密度と花粉発芽率を調査した。花粉密度は、花芽の発育ステージ I の-3℃処理区で他処理区よりも有意に低下した。花粉発芽率については、各々の低温処理区と無処理区とをそれぞれ比較したところ、花芽の発育ステージ I の-3℃処理区でのみ、無処理区よりも有意に低下した。他の処理区では、無処理区との間に有意な差は見られなかった。これらの結果から、催

芽～発芽期に最も低温感受性が高まると考えられた。花芽の発育ステージⅠの花粉の発育ステージは、花粉母細胞期から四分子期に相当したことから、花粉の形成や発達に対する低温の影響は花粉の発育ステージにより異なり、低温感受性が高い花粉の発育ステージは花粉母細胞～花粉四分子期であると考えられた。また、花芽の発育ステージⅠにおける -3°C 10時間の低温処理により、葯の発達過程でタペート細胞の肥大や葯の収縮などの形成異常が観察された。これらの葯の形成異常は、低温による花粉密度や花粉発芽率が低下した要因の一つであると考えられた。

3) 低温処理がナシ 7 品種の花粉発芽率および花粉粒数に及ぼす影響

花芽の発育ステージⅠにおいて、7品種(‘あきづき’, ‘豊水’, ‘幸水’, ‘松島’, ‘彩玉’, ‘八里’および‘横山梨’)のナシを用いて、花粉の低温感受性を比較した。ここでは、埼玉県久喜市の気温条件に近い気温変化モデルを用いて、各品種の花芽の発育ステージⅠの枝に低温処理を行った。モデルの最低温度は、 0°C , -1°C , -2°C , -3°C , -4°C , -5°C および -6°C に設定した。ステージⅤに到達した花芽において花粉発芽率と花粉粒数を調査したところ、供試した7品種のうち、‘豊水’でのみ -6°C までの低温処理の影響を受けなかった。したがって、供試した7品種の中では‘豊水’の花粉の低温耐性が最も高いと考えられた。

第 4 章 凍霜害抑制剤による花粉の低温障害抑制効果の検討

1) 凍霜害抑制剤処理が花芽の凍結時間に及ぼす影響

低温感受性が高い花芽の発育ステージ I は，開花期の 1 か月前程度に訪れるため，低温遭遇リスクが高い．安定的に花粉を生産するためには，低温による花粉の障害を抑制する技術が必要となる．本研究では，凍霜害抑制剤の一種であるコーヒー粕抽出物処理による発育ステージ I における花芽凍結抑制効果について，‘幸水’を用いて検討した．凍霜害抑制剤を花芽と枝の表面に散布し， -3°C の低温処理を行い，低温処理中の花芽表面の温度を測定したところ，本剤の処理により，花芽の凍結までにかかる時間が無処理区よりも遅れることが明らかとなった．

2) 凍霜害抑制剤処理が花粉発芽率に及ぼす影響

花芽の発育ステージ I の‘幸水’において，凍霜害抑制剤を処理した後， -3°C の低温を 1～10 時間処理し，ステージ V に到達した花芽において花粉発芽率を調査した．本剤の処理により，無処理区よりも花粉発芽率の低下が抑制された．以上より，凍霜害抑制剤を低温遭遇前に処理することで，花芽の凍結が遅れ，花粉発芽率が維持されると考えられた．

Summary

In pears (*Pyrus* spp.) that are self-incompatible, artificial pollination has become essential for stable fruit sets and high-quality fruit production. Many Japanese pear producers in Japan use imported pollen for artificial pollination, however, imported pollen may include pathogens and its supply depends on international conditions. Therefore, it is necessary to establish a stable supply system of domestic pollen for stable production of domestic fruit. In this study, first, we established the training system of trees and the pollen harvesting methods to improve pollen production efficiency. Second, we clarified effects of plant growth regulator treatments on flower bud formation and harvesting time of flower bud. Third, we confirmed effects of low temperature treatments before flowering on pear pollen. Finally, we examined the ability of coffee extract treatment of Japanese pear flower bud to inhibit pollen cold injury.

Chapter 1. Training system of trees and the pollen harvesting methods to improve pollen production

1) Suitable tree training for pollen harvesting

Pollen collection is hard work and dangerous because the typical training system of trees for pollen production, such as a free-standing or horizontal trellis

can be more than 3 m in height. In this study, we compared pollen harvesting efficiencies for typical training systems and low-height tree joint training system, in which the main stem of each tree was bent horizontally at 90 cm height, and tips were grafted into the adjacent tree to reduce the tree height to about 2 m. The time required to collect flower buds to obtain 1 g of pollen was significantly shorter in the low-height tree joint training system than in the typical training systems, regardless of the worker. The number of flower buds per 1 m planting distance between the low-height tree joint training system and the bush training with height reduced to 2 m was significantly higher in the former. Comparison between the low-height tree joint training system and the low-height tree training system without joint for flower bud rate was significantly higher in the former. Based on the above, the low-height tree joint training system is suitable for tree training for pollen harvesting.

2) The flower bud harvesting methods for improve pollen production

When collecting flower buds for pollen, we usually select flower buds in the balloon stage on the tree. Collecting all the flower buds on the tree simultaneously would allow for more efficient pollen collection, but the appropriate timing is unclear.

Selective and simultaneous harvest at 30%, 50%, and 70% of full bloom respectively, the amount of pollen collected per hour was significantly higher in the simultaneous harvest than in the selective harvest at 30% and 50% of full bloom. At 70% of full bloom, there were no significant differences by simultaneous or selective harvesting. In the simultaneous harvesting, pollen germination rate was significantly lower in the 30% of full bloom than in the 50% and 70% of full bloom. These results suggest that simultaneous harvest at the 50 % of full bloom would reduce the time required for pollen collection as well as maintain the quality of pollen.

Chapter 2. Effects of plant growth regulator treatments on flower bud formation and harvesting time of flower bud

1) Effect of plant growth regulator treatments on flower bud formation

We investigated plant growth regulators that enhance floral bud formation to improve pollen production in Japanese pear. Treatment with gibberellin biosynthesis inhibitors (daminozide and paclobutrazol) and ethylene-releasing compound (ethephon) significantly increased the 'Shinko' flower bud rate more than the control. These treatments did not affect pollen germination rate, suggesting that these plant growth regulators could be

used to increase pollen yield.

2) Effect of plant growth regulator treatments on harvesting time of flower bud

Disperse of harvest time is important for pollen production in a large area. We examined the effect of cyanamide on the timing of flower buds for pollen. Cyanamide treatment on 'Shinko' at the developmental index (DVI) from 1.5 to 2.3 promoted the timing of selective harvest more than the control. Cyanamide did not affect pollen germination rate, suggesting that it could be used to disperse harvest time.

Chapter 3. Effects of low temperature treatments before flowering on pear pollen development

1) Observation of pollen development stages of each flower bud stage

In order to confirm the pollen development stages of each flower bud stage of Japanese pear 'Kosui', we obtained flower buds in five stages as below and observed pollen in each stage. Namely, scale separating (flower bud stage I), blossom bud exposed (flower bud stage II), before white (flower bud stage III), full white (flower bud stage IV) and balloon (flower bud stage V). The pollen stages of the pollen mother cell and the tetrad stage in flower bud stage I, the early and late microspore stage in flower bud stage II, the late

microspore and the starch accumulation stage in flower bud stage III, and the starch pollen stage in flower bud stage IV were dominated, respectively. At flower bud stage V, the starch-sugar pollen stage and the mature pollen stage were higher, and the starch pollen stage was lower than in flower bud stage IV.

2) Effects of low temperature on pollen density, pollen germination rate, and anther development at different flower bud developmental stages

Pollen stages with increased sensitivity to low temperature have been reported in various plants but not clearly in Japanese pear. In this study, we confirmed the effect of low temperature at each flower bud stage of 'Kosui'. Branches with flower bud stages I to V were treated with 0°C or -3°C for 10 hours, respectively, and pollen density and pollen germination rate in flower buds that reached stage V were investigated. Pollen density was significantly lower in the -3°C treatment at flower bud stage I than in the other treatments. Pollen germination rates were compared between each treatment and the control, respectively. Only the -3°C treatment at flower bud formation stage I was significantly lower than the control. There were no significant differences between the other treatments and the control. Therefore, flower bud stage I is considered the stage most sensitive to low temperature for pollen formation and development.

In flower bud stage I, the pollen stages of pollen mother cell, tetrad and early microspore were observed, with pollen mother cell and tetrad being the main stages. It suggests that the effect of low temperature on pollen formation and development depends on the pollen developmental stage, with the most cold-sensitive stage in 'Kosui' being around the pollen mother cell to tetrad stage. Anther development abnormalities were observed in 'Kosui' flower buds treated with -3°C for 10 hours in flower bud stage I, including tapetum hypertrophy, cell debris, and locule shrink. These suggest that low-temperature-induced anther formation abnormality is one of the factors that reduce pollen density and pollen germination rates.

3) Effect of low temperature on pollen germination rate and number of pollen grain among 7 pear cultivars

Pollen sensitivity of the low temperature at the flower bud stage I was compared among seven cultivars ('Akizuki', 'Hosui', 'Kosui', 'Matsushima', 'Saiyoku', 'Yasato' and 'Yokoyamayanashi'). In this experiment, we created a field model for the low-temperature treatments that closely field conditions at Kuki City, Saitama Prefecture. Minimum temperatures in the field model were established at 0°C , -1°C , -2°C , -3°C , -4°C , -5°C and -6°C , treated for branches of each cultivar with

flower bud stage I. The pollen germination rate and the number of pollen grains in flower buds that reached stage V were investigated. Only 'Hosui' was not affected by the low-temperature treatment until -6°C among the 7 cultivars. Therefore, 'Hosui' is the most tolerant of low temperatures among the tested cultivars.

Chapter 4. Ability of freezing-avoidance product treatment of Japanese pear flower buds to inhibit cold injury

1) Effect of freezing-avoidance product treatment on freezing time of flower buds

Since flower bud stage I comes about one month before the flowering period, there is a high risk of encountering low temperatures in the field. For stable pollen production, it is important to establish methods for inhibiting pollen cold injury. In this study, we examined the effect of freezing-avoidance product (extract from coffee refuse) treatment on the inhibition of flower bud freezing in 'Kosui' flower bud stage I. The freezing-avoidance product was sprayed on the surface of the flower buds and branches at stage I, and the temperature of the surface of the flower buds was measured during the low-temperature treatment at -3°C . The time to reach the freezing point of the flower buds was delayed by the freezing-avoidance product treatment compared to the control.

2) Effect of freezing-avoidance product treatment on pollen germination rate

The freezing-avoidance product was treated on branches with flower bud stage I before cold treatment at -3°C for 1 to 10 hours. After low-temperature treatment, pollen germination rates in flower buds that reached stage V were investigated. Freezing-avoidance product treatment inhibited the decline in pollen germination rate more than the control. These results suggest that the application of freezing-avoidance product before the low temperature delayed the freezing of flower buds and preserved pollen germination.

引用文献

- Ashworth, E. N. 1982. Properties of peach flower buds which facilitate supercooling. *Plant Physiol.* 70: 1475-1479.
- 伴野 潔・林 真二・田辺 賢二. 1985. ニホンナシの花芽形成に及ぼす生長調節物質散布の影響. 鳥取大農研報. 38: 11-15.
- 伴野 潔・林 真二・田辺 賢二. 1986. エセホン及び BA 散布による '長十郎' の花芽形成促進並びに花粉収量の増加. 園学雑. 55: 33-39.
- 伴野 潔・林 真二・田辺 賢二・宮 信正. 1982. 日本ナシの花芽形成に関する生理学的研究. 日本ナシの品種間における花芽形成の難易と生長調節物質との関係. 園学要旨. 昭 57 春: 102-103.
- Barton, D. A., L. C. Cantrill, A. M. K. Law, C. G. Phillips, B. G. Sutton and R. L. Overall. 2014. Chilling to zero degrees disrupts pollen formation but not meiotic microtubule arrays in *Triticum aestivum* L. *Plant Cell Environ.* 37: 2781-2794.
- Bukovac, M. J. and P. Sabbatini. 2006. Modifying alternate bearing of spur-type 'Delicious' apple with ethephon. *HortScience.* 41:1606-1611.
- Chutinanthakuna, T., Y. Sekozawa, S. Sugaya and H. Gemma. 2015. Effect of bending and the joint tree training system on the expression levels of *GA3*- and *GA2-oxidases* during flower bud development

in 'Kiyo' Japanese plum. *Sci. Hortic.* 193: 308–315.

中央果実協会. 2016. 日本なしの花粉不足問題. 安定生産に向けた花粉の利用実態調査報告書. 平成28年度中央果実協会調査資料 No241. https://www.japanfruit.jp/Portals/0/resources/JFF/kokunai/h28chosa_siryo/28nashi.pdf. 2022年10月29日確認.

Clarke, H. J. and K. H. M. Siddique. 2004. Response of chickpea genotypes to low temperature stress during reproductive development. *Field Crops Res.* 90: 323–334.

Duyvelshoff, C. and J. A. Cline. 2013. Ethephon and prohexadione-calcium influence the flowering, early yield, and vegetative growth of young 'Northern Spy' apple trees. *Sci. Hortic.* 151:128–134.

Fan, S., D. Zhang, C. Gao, S. Wan, C. Lei, J. Wang, X. Zuo, F. Dong, Y. Li, K. Shah and M. Han. 2018. Mediation of flower induction by gibberellin and its inhibitor paclobutrazol: mRNA and miRNA integration comprises complex regulatory cross-talk in apple. *Plant Cell Physiol.* 59: 2288–2307.

Flinn, C.L. and E. N. Ashworth. 1994. Blueberry flower-bud hardiness is not estimated by differential thermal analysis. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 119: 295–298.

- 深井智子・大西正洋．2021．果樹花粉採取作業における採花装置の開発（第7報）．第79回農食工学会年次大会講演要旨．190．
- Gebura, J. and K. Winiarczyk. 2016. A study on calcium oxalate crystals in *Tinantia anomala* (Commelinaceae) with special reference to ultrastructural changes during anther development. *J. Plant Res.* 129: 685–695.
- 浜名洋司・須川瞬・平尾晃・中元勝彦・柴田健一郎・実岡寛文．2016．モモの樹体ジョイント仕立てと一文字整枝における定植4年目までの樹体生育，果実生産および栽培管理省力性の比較．園学研，15：153–159．
- Hardy, C. R. and D. W. Stevenson. 2000. Development of the gametophytes, flower, and floral vasculature in *Cochliostema odoratissimum* (Comelinaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 134: 131–157.
- 林真二・田辺賢二．2016．くだものづくりの基礎．全国農業協同組合連合会鳥取県支部，鳥取．
- 平田尚美．2000．各部の形態と生長．P. 35–44．農文協編．果樹園芸大百科4ナシ．農山漁村文化協会，東京．
- 稲富和弘・太田政隆・廣田隆一郎．1996．ナシ花粉の有機溶媒による精選と貯蔵およびその利用．佐賀果試報．13：47–54．
- 伊東明子．2001．落葉果樹の花芽形成と植物ホルモン．果樹試報．35：1–9．

- Ito, A., H. Hayama and H. Yoshioka. 2000. Effects of plant growth regulators and their time of application on flower bud formation of Japanese pear 'Kosui'. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 65: 529–535.
- Ito, A., H. Hayama and H. Yoshioka. 2001. The effect of shoot-bending on the amount of diffusible indole-3-acetic acid and its transport in shoots of Japanese pear. Plant Growth Regl. 34: 151–158.
- Ito, A., H. Yaegaki, H. Hayama, S. Kusaba, I. Yamaguchi, and H. Yoshioka. 1999. Bending shoots stimulates flowering and influences hormone levels in lateral buds of Japanese Pear. HortScience. 34: 1224–1228.
- Iwano, M., T. Entani, H. Shiba, S. Takayama and A. Isogai. 2004. Calcium crystals in the anther of petunia: the existence and biological significance in the pollination process. Plant Cell Physiol. 45: 40–47.
- Ji, X., B. Dong, B. Shiran, M. J. Talbot, J. E. Edlington, T. Hughes, R. G. White, F. Gubler and R. Dolferus. 2011. Control of abscisic acid catabolism and abscisic acid homeostasis is important for reproductive stage stress tolerance in cereals. Plant Physiol. 156: 647–662.
- 加藤修・関本美知・石田時昭. 1996. ニホンナシ人工受粉用花粉の能率的な採取法. 千葉農試験報.

37 : 61-72.

加藤修・北口美代子・石井克文・関本美知・石田時昭.

1999. ニホンナシ花粉採取専用樹の仕立て法. 千葉農試研報. 40 : 9-21.

Kawahara, H., E. Tagawa, C. Watanabe, J. Hamada and S. Hamada. 2017. Characterization of anti-ice nucleation activity of the extract from coffee refuse. *Biocontrol Sci.* 22: 205-211.

Kaya, O., C. Kose, V. Donderalp, T. Gecim and S. Taskin. 2020. Last updates on cell death point, bud death time and exothermic characteristics of flower buds for deciduous fruit species by using differential thermal analysis. *Sci. Hortic.* 270: 109403.

黒木克翁・竹村圭弘・松本和浩・武田誠・富山政之・田村文男. 2013. シアナムイド処理がニホンナシ主要品種の自発休眠打破および開花期に及ぼす影響. *園学研.* 12: 179-185.

Kuwabara, K., D. Wang, J. Kasuga, Y. Fukushi, K. Arakawa, T. Koyama, T. Inada and S. Fujikawa. 2012. Freezing activities of flavonoids in solutions containing different ice nucleators. *Cryobiology* 64: 279-285.

Kuwabara, C., D. Wang, K. Endoh, Y. Fukushi, K. Arakawa and S. Fujikawa. 2013. Analysis of supercooling activity of tannin-related polyphenols. *Cryobiology* 67: 40-49.

- Lee, K., S. Ryu, J. H. Jeong, J. G. Cho, S. K. Lee and J. H. Han. 2023. Effect of carbohydrate levels under autumn defoliation on cold tolerance during the subsequent flowering season in pear. *Sci. Hortic.* 307: 111530.
- 前島 秀明・島田 智人・村上 覚・町田 典之・平井 一幸.
2018a. ニホンナシ, キウイフルーツ, スモモ生産現場における, 受粉用品種に関する調査報告 (第1報). *園学研.* 17 (別1): 70.
- 前島 秀明・島田 智人・村上 覚・町田 典之・平井 一幸.
2018b. ニホンナシ, キウイフルーツ, スモモ生産現場における, 受粉用品種に関する調査報告 (第2報). *園学研.* 17 (別2): 108.
- Meng, Q., Y. Liang, W. Wang, S. Du, Y. Li and J. Yang. 2007. Study on supercooling point and freezing point in floral organs of apricot. *Agr. Sci. China* 6: 1330-1335.
- Meric, C and F. Dane. 2004. Calcium oxalate crystals in floral organs of *Helianthus annuus* L. and *H. tuberosus* L. (*Asteraceae*). *Acta Biol. Szeged.* 48: 19-23.
- 三浦 沙織・行田 正晃・山本 格・五十嵐 正徳・平 英彰.
四分子期に異常が発生するスギ雄性不稔4系統の発現過程. *日林誌.* 93: 1-7.
- Montano, J. M., M. Rebhuhn, K. Hummer and H. B. Lagerstedt. 1987. Differential thermal analysis for large-scale evaluation of pear cold hardiness.

HortScience 22: 1335–1336.

日本農村医学会．2013．こうして起こった農作業事故Ⅲ～農作業事故の対面調査から～．p. 163–170．
https://www.maff.go.jp/j/seisan/sien/sizai/s_kikaika/anzen/pdf/3_019.pdf．2022年10月29日確認．

Nishiyama, I. 1970. Male sterility caused by cooling treatment at the young microspore stage in rice plants. VII. Electron microscopical observations on tapetal cells dilated by the cooling treatment. Jpn. J. Crop Sci. 39: 48–486.

農林水産省．2021．令和3年産都道府県別の結果樹面積・10a当たり収量・収穫量・出荷量 日本なし．
令和3年産果樹生産出荷統計．

Oda, S., F. Kaneko, K. Yano, T. Fujioka, H. Masuko, J. Park, S. Kikuchi, K. Hamada, M. Endo, K. Nagano, Y. Nagamura, M. Kawagishi-Kobayashi, K. Suwabe, G. Suzuki and M. Watanabe. 2010. Morphological and gene expression analysis under cool temperature conditions in rice anther development. Genes Genet. Syst. 85: 107–120.

Ohnishi, S., T. Miyoshi, and S. Shirai. 2010. Low temperature stress at different flower developmental stages affects pollen development, pollination, and pod set in soybean. Environ. Exp. Bot. 69: 56–62.

大野秀一・三井友宏．2008．シアナミド液剤処理が露

地栽培ニホンナシ‘幸水’の開花に及ぼす影響．
園学研． 7（別 1）： 296．

Oliver, S. N., J. T. V. Dongen, S. C. Alfred, E.A. Mamun,
X. Zhao, H. S. Saini, S. F. Fernandes, C. L.
Blanchard, B. G. Sutton, P. Geigenberger, E. S.
Dennis and R. Dolferus. 2005. Cold-induced
repression of the rice anther-specific cell wall
invertase gene *OSINV4* is correlated with sucrose
accumulation and pollen sterility. *Plant Cell
Environ.* 28: 1534–1551.

Oliver, S. N., E. S. Dennis and R. Dolferus. 2007. ABA
regulates apoplastic sugar transport and is a
potential signal for cold-induced pollen sterility
in rice. *Plant Cell Physiol.* 48: 1319–1330.

大谷義夫． 2006． 気象生態反応に基づくニホンナシの
開花予測． 栃木県農試研報． 58： 7–16．

大谷義夫． 2010． ハウスニホンナシ「幸水」における
加温開始時期の選定および発芽促進技術． 平成
22 年度関東東海北陸農業研究成果情報．
[https://www.naro.affrc.go.jp/org/narc/seika/kant
o22/04/22_04_01.html](https://www.naro.affrc.go.jp/org/narc/seika/kant_o22/04/22_04_01.html)． 2022 年 10 月 29 日確認．

大谷義夫． 2012． なしの低温限界温度の解明． 栃木県
農業試験場研究成果集 30： 41–42．

大谷義夫． 2016． ニホンナシ園における防霜ファン，
多目的防災網および燃焼資材の組合せによる防
霜効果． 栃木農試験報． 74： 9–18．

彭抒昂・岩堀修一． 1994． ニホンナシの花芽分化に伴

う茎頂の形態と細胞構造の変化．園学雑．63(2):
313-321.

Quamme, H. A. 1976. Relationship of the low temperature exotherm to apple and pear production in North America. *Can. J. Plant Sci.* 56: 493-500.

Rajashekar, C., M. N. Westwood and M. J. Burke. 1982. Deep supercooling and cold hardiness in genus *Pyrus*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 107: 968-972.

埼玉県農業技術研究センター．2021．ナシにおける花粉採取専用樹形・植調剤利用等による花粉採取作業の効率・軽労化技術の確立と現地実証③．
<http://muses.muses.tottori-u.ac.jp/faculty/y-takemura/pollen-poster.html>. 2022年12月18日確認．

Sakata, T., S. Oda, Y. Tsunaga, H. Shomura, M. Kawagishi-Kobayashi, K. Aya, K. Saeki, T. Endo, K. Nagano, M. Kojima, H. Sakakibara, M. Watanabe, M. Matsuoka and A. Higashitani. 2014. Reduction of gibberellin by low temperature disrupts pollen development in rice. *Plant Physiol.* 164: 2011-2019.

佐久間宣昭・斎藤祐一・永山宏一．2013．落葉果樹4樹種の凍霜害危険度予測モデル．園学研．12: 403-409.

Satake, T. 1976. Determination of the most sensitive stage to sterile-type cool injury in rice plants.

Res. Bull. Hokkaido Natl. Agric. Exp. Sta. 113:
1-44.

Satake, T. 1991. Male sterility caused by cooling treatment at the young microspore stage in rice plants. XXX. Relation between fertilization and the number of engorged pollen grains among spikelets cooled at different pollen developmental stages. Jpn. J. Crop Sci. 6: 523-528.

Satake, T. and H. Hayase. 1970. Male sterility caused by cooling treatment at the young microspore stage in rice plants. V. Estimations of pollen developmental stage and the most sensitive stage to coolness. Jpn. J. Crop Sci. 39: 468-473.

Sanyal, D., F. Bangerth. 1998. Stress induced ethylene evolution and its possible relationship to auxin-transport, cytokinin levels, and flower bud induction in shoots of apple seedlings and bearing apple trees. Plant Growth Regul. 24: 127-134.

澤田宏之・清水伸一・三好孝典・篠崎毅・楠元智子・野口真弓・成富毅詩・菊原賢次・間佐古将則・藤川貴史・中畝良二. 2015. わが国で分離された *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* biovar 3 の特徴. 日植病報. 81: 111-126.

瀬古澤由彦. 2004. ニホンナシの凍霜害発生機構とその防止法に関する研究. 筑大農林学研. 11: 152.

Sekozawa, Y., S. Sugaya, H. Gemma and S. Iwahori. 2003. Cold tolerance in 'Kousui' Japanese pear and

possibility for avoiding frost injury by treatment with n-Propyl Dihydrojasmonate. HortScience 38: 288-292.

Shaked, R., K. Rosenfeld and E. Pressman. 2004. The effect of low night temperatures on carbohydrates metabolism in developing pollen grains of pepper in relation to their number and functioning. Sci. Hortic. 102: 29-36.

柴田健一郎・関達哉．2021．果樹のジョイント栽培開発の意義と可能性．園学研．20：1-16

島田智人・前島秀明・浅野亘・柴崎茜．2018．ニホンナシの受粉樹における品種および樹形の違いが着花量，作業性に及ぼす影響．園学研．17(別1)：69．

島田智人・前島秀明・柴崎茜・浅野亘・大西正洋・深井智子．2019．ニホンナシの受粉樹における品種および樹形の違いが着花量，作業性に及ぼす影響（第2報）．園学研．18（別1）：47．

Smith, E. D. 2019. Cold hardiness and options for the freeze protection of southern highbush blueberry. Agriculture 9 (9) : 1-13.

杉浦俊彦・本條均．1997．ニホンナシの自発休眠覚醒と温度の関係解明およびそのモデル化．農業気象．53：285-290．

多比良和生・佐久間文雄・檜山博也・片桐澄雄．1996．ナシ園の防霜ファンによる温度上昇効果と防霜効果．茨城農総セ園研報．4：1-6．

- Takemura, Y., K. Tochimoto, T. Yoshida, M. Kitamura, S. Wada, S. Takazawa, T. Inamoto and F. Tamura. 2022. Selection and evaluation of characteristics of new *Pyrus* pollinizers with pollen that has higher germination properties at low temperatures. Hort. J. 91: 276–285.
- Tanabata, T., T. Shibaya, K. Hori, K. Ebana and M. Yano. 2012. SmartGrain: High-throughput phenotyping software for measuring seed shape through image analysis. Plant Physiol. 160: 1871–1880.
- Tranel, D., A. Knapp and A. Perdomo. 2009. Chilling effects during maize tassel development and the lack of compensational plasticity. Crop Sci. 49: 1852–1858.
- 鳥取大学，永峰農園．2021．花粉流通体制の検討．
<http://muses.muses.tottori-u.ac.jp/faculty/y-takemura/pollen-poster.html>．2022年10月29日確認．
- Wood, A. W., D. K. Y. Tan, E. A. Mamun and B. G. Sutton. 2006. Sorghum can compensate for chilling-induced grain loss. J. Agron. Crop Sci. 192: 445–451.
- 山田幹・野波和好・義積雄太・竹村圭弘・山口武視・森本英嗣・近藤謙介・辻渉．2021．自走式花蕾採取機の開発－揺動・風選式採蒴部の検討－．関西農食工学会報．130：30．
- Yamamori, K., K. Ogasawara, S. Ishiguro, Y. Koide, I.

- Takamura, K. Fujino, Y. Sato and Y. Kishima. 2021. Revision of the relationship between anther morphology and pollen sterility by cold stress at the booting stage in rice. *Ann. Bot.* 128: 559–575.
- 横浜植物防疫所. 2015. 2014年に輸入検疫で発見された主な重要病害虫. 植物防疫所病害虫情報. 107. https://www.maff.go.jp/pps/j/guidance/pestinfo/pdf/pestinfo_107_8.pdf. 2022年10月29日確認.
- 義積雄太・野波和好・山田幹・竹村圭弘・山口武視・森本英嗣・近藤謙介・辻渉. 2021. 自走式花蕾採取機の開発－花蕾採取部の検討－. 関西農食工学会報. 130: 29.
- 吉川瑛治レオナルド・Robson Ryu Yamamoto・Jose Luiz Petri・Fernando Jose Hawerth・山根健治・本條均. 2014. 休眠期のシアナミド処理がニホンナシ‘幸水’および‘豊水’の発芽・開花に及ぼす影響. 園学研. 13: 143–153.
- Zhang, S., D. Zhang, S. Fan, L. Du, Y. Shen, L. Xing, Y. Li, J. Ma and M. Han. 2016. Effect of exogenous GA3 and its inhibitor paclobutrazol on floral formation, endogenous hormones, and flowering-associated genes in ‘Fuji’ apple (*Malus domestica* Borkh.). *Plant Physiol. Biochem.* 107: 178–186
- Zhang, W., J. Wang, Z. Huang, L. Mi, K. Xu, J. Wu, Y. Fan, S. Ma and D. Jiang. 2019. Effect of low temperature at booting stage on sucrose metabolism and endogenous hormone contents in

winter wheat spikelet. *Front. Plant Sci.* 10: 1–14.