

ニホンナシ「幸水」のボルドー液による単為結果誘起と栽培への利用の可能性

三重大学大学院
生物資源学研究所
平塚 伸

ニホンナシ栽培においては、人工受粉と摘果が必須の作業となっている。人工受粉は、ニホンナシが自家不和合性を有しているために行われるものであり、和合品種の花粉を筆や受粉機を使って約1週間の開花期間中に行っている。さらに、ほとんどの場合は人工受粉により着果過多となるため、果肉細胞分裂が終了する5月中旬頃までに葉果比25となるよう余分な幼果を摘果している。これら作業は季節的制約を伴ううえ熟練を要し、また、一日中柵面に向って行う重労働である。この人工受粉と摘果に必要な労力は全労働時間の約30%にも及び(熊代2000)、ニホンナシ栽培面積減少の主原因となっている。近年、自家和合性の突然変異品種である「おさ二十世紀」を交配親とした自家和合性品種が育成されているが、まだ全国的に普及しているメジャーな品種はなく、さらに、これらの品種では摘果に多大な労力が

かかる。これまでに我々は、ナシの受粉や摘果などの着果管理労力の削減を目的として、摘果剤や自家不和合性についての基礎的研究を行ってきた。その中で近年、大幅に労力削減できる可能性を秘めた「ボルドー液による無受粉・無摘果栽培法」に関する研究を行い、実際栽培への利用の可能性が示されたので、ここに紹介する。

ニホンナシの自家不和合性は不和合性遺伝子(S遺伝子)が支配する遺伝的形質であり、雌ずい側のS遺伝子産物はRNA分解酵素(S-RNase)である(Sassa *et al.* 1992; Hiratsuka *et al.* 1995)。S-RNaseの活性がなくなると和合となることから、Kim *et al.* (2001)はZnSO₄やCuSO₄などの重金属塩が野生トマトのS-RNase活性を抑制することを見だし、これら金属を含む“apple⁺”を自家不和合性打破剤として開発し、特許登録した(Chung *et al.* 2005)。この剤は適宜

希釈して散布することにより、10~20%の着果が可能となり、人工受粉が不要で摘果労力を大幅に削減できる可能性があると考えられた。ちなみに、ナシ栽培で最終的に必要な果実は咲いた花の約5%である。そこで我々は、この剤のニホンナシ栽培への利用を試みたが、ある程度の着果効果は示すものの実用性には乏しかった(平塚ら2009)。そこで、ニホンナシに適した剤の開発を目的に研究を行った。

重金属類の調査

まず、ニホンナシ「幸水」の花柱RNase活性を抑制する重金属塩の調査を行った。この際、S-RNaseを精製・単離して実験するのは煩雑だったため、花柱から抽出したタンパク質分画を用いた。図-1に示すように、1 mMの重金属塩の添加により、CuSO₄やZnSO₄で著しい活性抑制が、

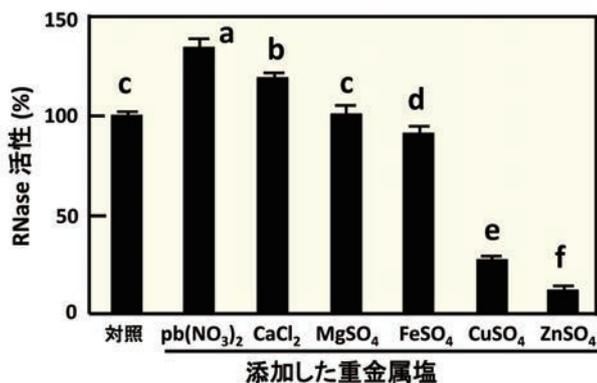


図-1 重金属塩が「幸水」花柱のRNase活性に及ぼす影響
花柱タンパク質は50 μgを用い、塩濃度はそれぞれ1 mM。
図中の値は対照の%として表示。
異なる記号間には、Duncanの多重検定により5%レベルで有意差有り。

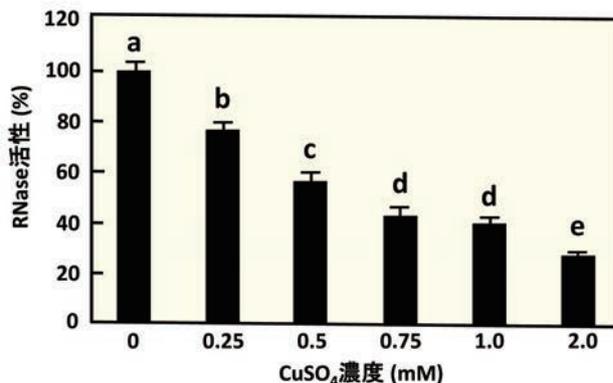


図-2 CuSO₄濃度と「幸水」花柱のRNase活性抑制との関係
花柱タンパク質は50 μgを用いた。
図中の値は対照の%として表示。
異なる記号間には、Duncanの多重検定により5%レベルで有意差有り。

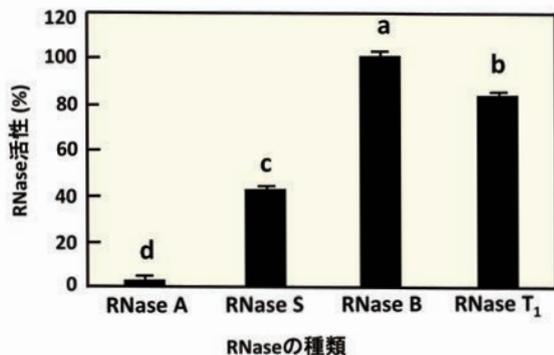


図-3 CuSO₄が各種RNase活性に及ぼす影響
CuSO₄は1 mM, RNaseはそれぞれ20Uを用いた。
図中の値は対照の%として表示。
異なる記号間には, Duncanの多重検定により5%レベル
で有意差有り。

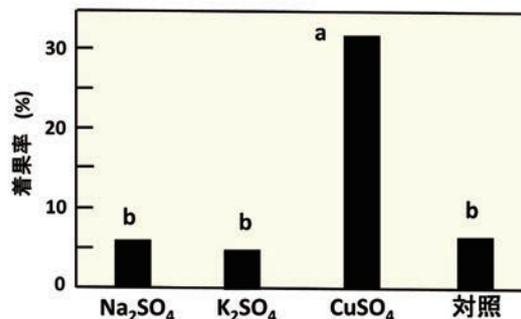


図-4 数種の塩処理が自家受粉した「幸水」の着果に及ぼす影響
各塩は, 0.1%のTween-20を含む2 mM溶液を噴霧。
異なる記号間には, Duncanの多重検定により5%レベルで有意差
有り。

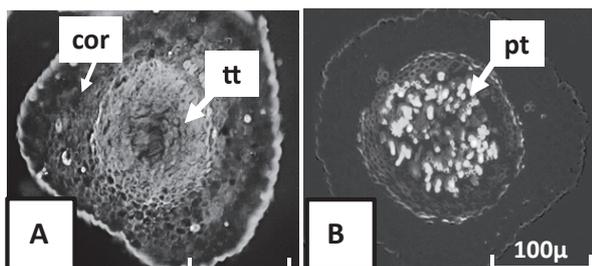


図-5 受粉72時間後の「幸水」花柱基部の花粉管の様子
CuSO₄を開花8日前に噴霧し, 開花日に受粉。
パラフィン切片をアニリンブルー染色し, 蛍光顕微鏡下で観察。
cor=皮層, tt=花柱誘導組織, pt=花粉管。
A=自家受粉(2 mM CuSO₄溶液を処理し, 「幸水」花粉を受粉)
B=他家受粉(0.1% Tween-20を処理し, 「長十郎」花粉を受粉)

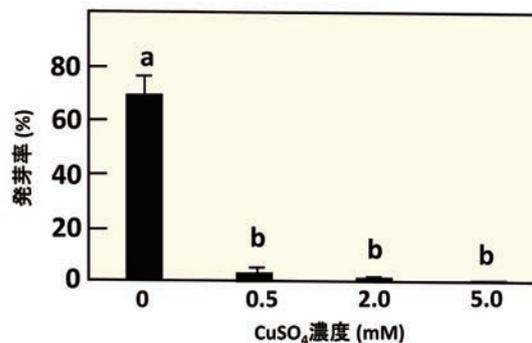


図-6 CuSO₄が*in vitro*の「幸水」花粉の発芽に及ぼす影響
寒天培地にCuSO₄を加え, 24時間後に発芽率を測定。
異なる記号間には, Tukey-Kramerの多重検定により5%レベル
で有意差有り。

また, FeSO₄により若干の抑制効果が確認された。この抑制効果は濃度依存的であり, 0.5 mMのCuSO₄添加によりその活性は約半分となり, 2 mMでは1/3以下に抑制された(図-2)。市販の純粋な標品RNaseを用いた実験では, CuSO₄はRNase AやRNase Sに抑制効果を示したが, RNase BやRNase T₁は殆ど抑制されなかった(図-3)。このように, CuSO₄やZnSO₄には「幸水」の花柱RNaseや特定のRNaseを不活化する作用のあることが解った。

そこでCuSO₄に注目し, 圃場で着果に及ぼす影響を検討した。2 mMの溶液を開花10日前の「幸水」に噴霧し, 開花日に自家受粉して1ヶ月後の着果率を見ると, 明らかにCuSO₄溶液による着果誘起作用が認められた(図

-4)。なお, 同時に処理したNa₂SO₄やK₂SO₄溶液による着果促進効果はなかったことより, 着果を誘起するのは銅イオン(Cu⁺⁺)であることが明らかとなった。また, CuSO₄処理は萌芽期から着果効果を示し, 開花当日でも有効であった(データ省略)。しかし, 着果させて成熟期までおいた果実は人工受粉果の70%程度の果実サイズであり, また, 人工受粉果は完全種子を3個以上含むのに対し, Cu⁺⁺により着果した果実内には殆ど完全種子が認められなかった(データ省略)。従って, Cu⁺⁺による着果は自家不和合性打破によるものではない可能性が考えられた。そこで, Cu⁺⁺処理後に自家受粉した花柱内の花粉管を調査した結果, 花柱基部に花粉管は認められず(図-5), Cu⁺⁺による自家花粉管の伸長促

進効果はなかった。さらに, CuSO₄は*in vitro*で著しい花粉発芽抑制作用をもつことが示された(図-6)。このように, Cu⁺⁺による「幸水」の着果誘発は不和合性打破ではなく, 単為結果誘起であることが確認された。

次に, なぜ花柱RNase活性を抑制するのに不和合性が打破されないのかを調べた。図-1で用いた花柱タンパク質をMono-S陽イオンおよびMono-Q陰イオン交換カラムでそれぞれ分離したところ, このタンパク質中には少なくとも9種類のRNaseが含まれており(図-7), S₄-およびS₅-RNase以外に7種類のnon-S-RNaseが存在した。これらのRNaseのうち銅イオンで活性抑制されるのは, 強い活性をもち量的にも豊富なnon-S-1とnon-S-2であり, non-S-4, non-S-5

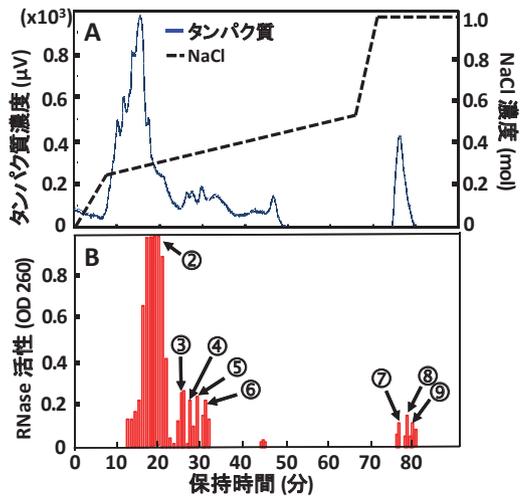


図-7 Mono-S 陽イオン交換カラムによる花柱タンパク質の分離 (A) と分離分画中の RNase 活性 (B)。
①は、Mono-Q 陰イオンカラムで分離された強い活性をもつ RNase (データ省略)。

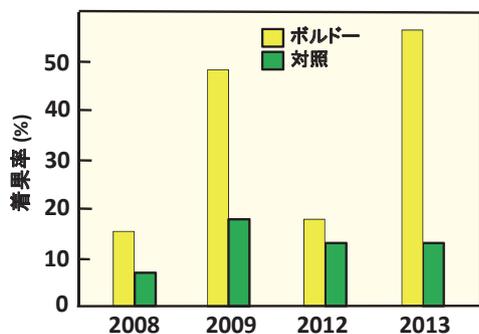


図-9 ボルドー液処理による「幸水」着果誘起の年次変化
ボルドー液は開花 8 日前に処理。
対照は 0.1% Tween-20 処理。

および non-S-7 にも若干の抑制効果があったが、S-RNase は殆ど抑制されなかった (図-8)。すなわち、S-RNase が不活性化されないため、不和合性打破ができないことが判明した。このように、CuSO₄ は non-S-RNase を抑制して単為結果を誘発するが、この活性抑制と単為結果誘起との間に関係があるのかについては不明であり、今後の研究結果を待ちたい。

ボルドー液の利用

銅イオンが単為結果を誘起するのであれば、Cu⁺⁺ を含むボルドー殺菌剤が利用できる可能性がある。すなわち、

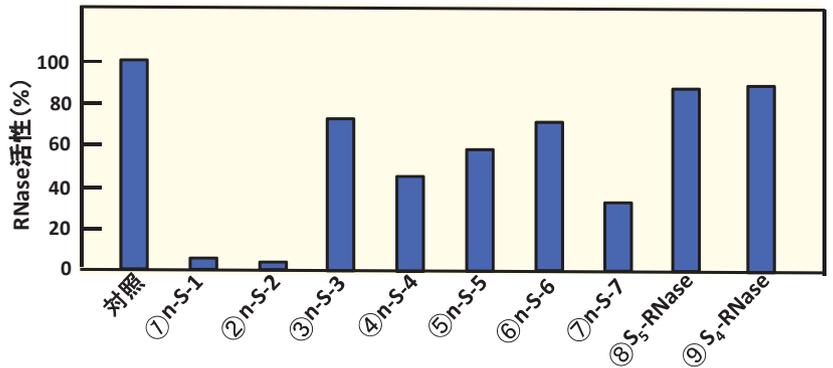


図-8 「幸水」花柱に含まれる各 RNase 活性に及ぼす CuSO₄ の影響
CuSO₄ は 1 mM。
n-S-1 ~ n-S-7 は、non-S-RNase を示す。
① n-S-1 は、Mono-Q 陰イオン交換カラムで分離される non-S-RNase。
S₅-RNase と S₄-RNase は、それぞれ S₄-RNase 抗体により同定。

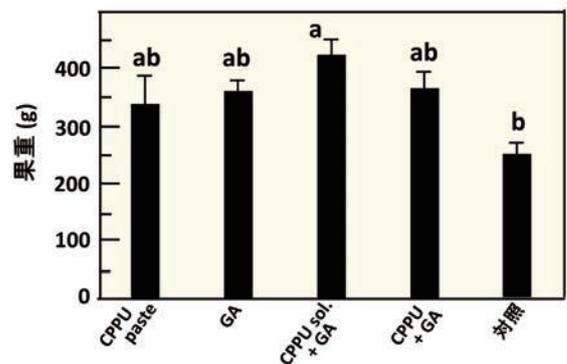


図-10 GA ベースと CPPU 処理がボルドー誘起果の成長に及ぼす影響
CPPU paste= ラノリンに 15ppm の CPPU を混ぜ、開花 20 日後に果梗塗布。
GA=GA ベースを開花 30 日後に果梗塗布。
CPPU sol. + GA=15 ppm CPPU 溶液を開花 20 日後に噴霧し、30 日後に GA ベースを果梗塗布。
CPPU + GA=15 ppm の CPPU を GA ベースに混合し、開花 30 日後に果梗塗布。

慣行栽培で行っている開花前の黒星病や黒斑病防除の化学農薬散布の代わりにボルドー液を用いれば、労力の大幅な削減に繋がる。そこで、市販のボルドー液の着果誘発効果を検討した。なお、実地試験には温暖地の福岡県、寒冷地である新潟県の試験場の方々にも参加して頂いた。図-9 に三重大で行った試験結果を示す。年次差はあるものの、ボルドー液による着果誘起効果が確認され、また、ボルドー液散布は和合花粉による着果を阻害しないことも確認され (データ省略)、実用化できる可能性が示された。但し、ボルドー誘起果は成熟期になっても小さめで、このままでは実用化はできない

め、ボルドーで誘起した果実への植物ホルモ処理を検討した。果実肥大効果が期待できる剤としてジベレリンとサイトカイニンが考えられ、ここでは市販のジベレリンペースト (GA ベース、協和発酵 K.K.) と尿素系サイトカイニンであるフルメット (CPPU、協和発酵 K.K.) を用いて検討した。開花 20 日後に 15 ppm の CPPU 溶液を噴霧し、さらに 30 日後に GA ベースを果梗に処理すると 400g 以上の果実となって最も効果があったが (図-10)、CPPU 処理は、①熟期を送らせる傾向があったこと、②処理の手間とコストがかかること、および、③ GA ベース処理のみでも 350g 程度の可

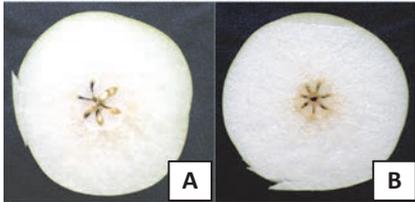


図-11 人工受粉果 (A) と GA 処理したボルドー誘起果の果実内部構造の比較
ボルドー誘起果は種無しで、果心部が小さくなる。

販果が得られたことより、GA ペーストを利用することとした。なお、ボルドー処理と GA ペーストによって得られた果実は無核果で果心部は小さくなり (図-11)、糖度は人工受粉果と同程度以上あり収量も人工受粉栽培と変わらなかった (表-1)。なお、収穫期が1~2週間早まるというメリットもあり、半数近くが盆前に収穫できた (図-12)。ボルドー栽培法による省力効果を圃場で調査した結果、着果管理に要する時間は約1/4となり、大幅な労力削減効果が確認された (図-13)。

おわりに

以上のように、ボルドー液による「幸水」の単為結果誘起のメカニズムには不明な点も多いが、①開花前の農薬散布が不要、②人工受粉が不要、③着果率が20~30%であることから摘果作業の大幅軽減化が可能、④ジベレリンペースト処理 (GA 処理) が必要であるが、この処理により収穫期が早まる、⑤「幸水」の単一品種栽培が可能、などの利点をもった優れた技術となる可能性がある。しかし、実験を通じて以下に示す幾つかの問題点が出てきた。第1に、寒冷地においてボルドーの着果効果が出難い点である。特に、ボルドー処理後に降雨・降雪があったり寒波に見舞われた場合、結実率が極めて低いとの結果を得ている。第2に、

表-1 GA ペースト処理したボルドー誘発果と人工受粉果の成熟期における品質・収量の比較

処理区	果重 (g)	糖度 (° Brix)	1㎡当たりの収量 (kg)
ボルドー	363	12.9	1.3
慣行	330	11.8	1.2

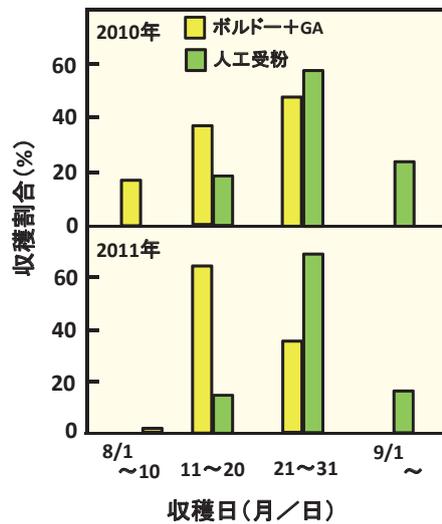


図-12 人工受粉果と GA 処理したボルドー誘発果の収穫日の分布

ボルドーによる着果が樹内で均一に生じないことが多いという点である。つまり、着果する花そうには3~4果が結実し、ならない花そうには0という現象がしばしば起きる。第3に、ボルドー液による単為結果誘起には品種間差が存在することである。「幸水」や「秀玉」ではよく着果するが、「豊水」や「二十世紀」などではほとんど着果が認められなかった。これについて、各品種における銅イオンの花そう・花台への吸収量、自家不和合性の強さ、および、銅イオンによる花柱 RNase の抑制程度などを検討したが、明確なデータは得られなかった。今のところ、「各品種のもつ単為結果性の強さが原因」という以外の説明はつけられない。

幾つかの問題点や今後検証すべき事柄はあるものの、本技術が確立されれば大幅な省力栽培が可能となり、「幸水」の栽培革命ともいえる栽培体系が

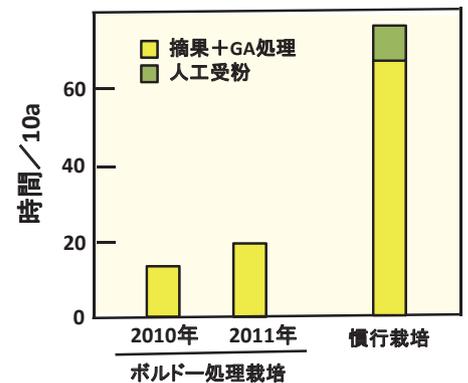


図-13 ボルドー処理栽培と慣行栽培の着果管理作業時間の比較

慣行栽培データは、築取 (1991) および多比良ら (1999) を引用 (この作業時間には GA 処理は含まれない)。ボルドー散布は開花前の殺菌剤であるため、作業時間は0とした。

できるものと期待している。

引用文献

- Chung I, K. *et al.* 2005. Korean Patent No. 10-0467936.
- Hiratsuka, S. *et al.* 1995. Sty lar basic proteins corresponding to 5 self-incompatibility alleles of Japanese pears. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 64: 471-478.
- 平塚伸ら 2009. リンゴの自家不和合性打破剤のニホンナシに対する効果の検証. *園学研*. 8, 469-473.
- Kim, M. H. *et al.* 2001. *In vitro* functions of S-RNases in *Lycopersicon peruvianum*. *Mol. Cells* 12,329-335.
- 熊代克巳 2000. 果樹栽培の基礎. 農文協, 東京, p226.
- Sassa, H. *et al.* 1992. Self-incompatibility related RNases in styles of Japanese pear (*Pyrus serotina* Rehd.). *Plant Cell Physiol.* 33, 811-814.
- 多比良和生ら 1999. ナシ摘らいが摘果時間と果実肥大に及ぼす影響. *茨城農総園研報* 7, 11-15.
- 築取作次 1991. 果樹園芸大事典. 養賢堂, 東京, p531.