

‘富有’における胚のうおよび種子の発育異常について

福井博一・水野泰孝・若山善秋・中村三夫

岐阜大学農学部 501-11 岐阜市柳戸 1-1

Development of Abnormal Embryo Sac and Seed in Japanese Persimmon
(*Diospyros kaki*) cv. Fuyu

Hirokazu Fukui, Yasutaka Mizuno, Yoshiaki Wakayama and Mitsuo Nakamura

Faculty of Agriculture, Gifu University, Gifu 501-11

Summary

Embryo sacs and seeds were histologically observed to clarify the cause of seed abortion in Japanese persimmon cv. Fuyu. The embryo sac mother cell (EMC) was differentiated 24 days before anthesis, but the abnormal ones degenerated about 4 days later. Sixteen days prior to anthesis the average percentage of degenerated EMC was about 23%. Tetrasporangia or the 4-celled embryo sac was observed 12 to 14 days before anthesis but 2.5% of them immediately degenerated. Among the multiple embryo sacs observed in an ovule, at least one had the ability to become fertilized. Therefore, this abnormality does not significantly affect seed abortion.

During seed development, two types of abnormal seeds were observed: 1) In 23% of ovules, the endosperm either did not undergo free nuclear division or the process was delayed. This is attributed to a male gamete not uniting with the polar nuclei; and 2) the 3n endosperm is aborted in about 21% of the ovules; the frequency of this anomaly increases about 15 days after anthesis.

緒 言

‘富有’は種子形成力が強いが単為結果性が弱い、種子数が少ないと年によって早期落果の発生が著しいことがあり、栽培上問題となっている。

正常な種子の形成数を減少させる内的要因としては、開花時までに生ずる胚のうの発育異常や受精後から早期落果までの期間中に生ずる種子の発育不全などが考えられる。‘西村早生’を用いた研究(福井ら, 1989)から、胚のうの発育異常には胚のう母細胞や胚のう細胞の退化、1胚珠内における複数胚のうの形成、胚のう細胞の異常核分裂のほか、開花時での胚のうの未完成(傍島ら, 1975)などが知られている。また種子の発育不全についても、胚乳遊離核分裂の異常や胚乳組織の退化などのあることが明らかにされている(福井ら, 1991)。しかし、カキの種子形成力には品種間差異がある(山田ら, 1987)ことから、‘西村早生’で観察された

胚のうあるいは種子の発育異常が‘富有’においても同様に発生しているとは限らず、これらの発育異常の発生にも品種間差異があるものと推察される。‘富有’の胚のうの発育異常は傍島ら(1975)や山村・大崎(1982)が観察しているが、その詳細については明らかにされておらず、さらに種子の発育異常についてはほとんど検討されていない。

そこで本研究では、‘富有’の胚のう形成から種子形成までの過程をつうじて発育異常の発生を観察し、‘富有’の早期落果を誘引すると考えられる種子形成数の少ない場合の原因を明らかにしようとした。

材料および方法

胚のうの観察

供試樹は、岐阜市洞の松井諄氏果樹園に栽植されている19年生‘富有’25本を用いた。雌花の採取は、1988年5月3日(開花28日前)から開花日の5月31日まで、1日おきに30蕾ずつ行った。雌花は採取後、子房径を測定し、ホルマリン・酢酸・70%エタノール混液

(5 : 5 : 90, v/v) で固定し、脱水後、常法に従いパラフィン包埋した後、15 μ m の連続切片を作成し、マイヤーの酸性ヘマラウンで染色した。胚のうの形態は光学顕微鏡下で観察し、それには1子房から4胚珠を無作為に取り出して供試した。

種子の観察

供試樹は、岐阜市洞の松井諄氏果樹園に栽植されている22年生‘富有’を用いた。不受精による種子の不形成を防止するために、雌花を3花以上着生している結果枝を選び、1989年5月28日に開花した基部から第2および第3番目の花について、人工受粉を午前中に行った。人工受粉には‘禪寺丸’の花粉を用い、受粉した花にはラベルを付し、開花0、5、10、15、20、30日後の6回、それぞれ30果ずつを無作為に採取した。採取した果実は、1果当たり4種子を無作為に摘出し、ホルマリン・酢酸・70%エタノール混液(5 : 5 : 90, v/v) で固定した。組織は脱水後、パラフィンに包埋して15 μ m の連続切片を作成し、マイヤーの酸性ヘマラウンで染色後、種子形成過程における種子内組織の発育形態を光学顕微鏡下で観察した。

結 果

発育異常胚のうの発生経過

胚のうの発育を組織形態学的にみるために、胚のう母細胞、2大胞子期、4大胞子期、胚のう細胞、胚のう細胞2核期、胚のう細胞4核期、胚のう細胞8核期

の7段階に区分し、各々の調査日における割合を第1表に示した。

開花24日前にはすべての胚珠で胚のう母細胞が分化し、胚のう母細胞の減数分裂は開花16日前に開始した。2大胞子期は開花14日前、4大胞子期から胚のう細胞期は開花12~14日前、胚のう細胞2核期は開花12日前、胚のう細胞4核期は開花10日前、胚のう完成期は開花2日前であった。

胚のうを観察する過程で、正常な発育を示すものとは明らかに異なる異常な胚のうが観察され、それらは胚のう母細胞が退化消失したもの(胚のう母細胞の退化)、4大胞子期から胚のう細胞形成期に胚のう細胞が退化消失したもの(胚のう細胞の退化)、1胚珠内に複数の胚のうが形成されるもの(複数胚のうの形成)に大別でき、これら以外の胚のうの発育異常は極めて少なかった。

これらの異常胚のうの発生の推移をみたものが第2表である。胚のう母細胞の退化の発生は開花22日前まではまったく認められなかったが、その後急激に増加し始め、開花18日前には20.5%に達し、その後開花日まで14~29%の範囲で推移し、23.4%で一定した。これに対し、胚のう細胞の退化は開花14日前から認められたが、その発生割合は極めて少なく、最も発生が多かった時期でも2.5%に過ぎなかった。複数胚のうの形成の発生は極めて少なく、最大でも1.7%であった。

Table 1. Development of embryo sac in Japanese persimmon cv. Fuyu to anthesis (1988).

Days before anthesis	Stage of embryo sac development						
	Embryo sac mother cell	Two macro-spores	Tetra-sporangia	Embryo sac cell	Embryo sac with two nuclei	Embryo sac with four nuclei	Mature embryo sac
28	93.3 ²	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
26	97.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
24	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
22	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
20	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
18	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
16	74.7	10.0	14.3	0.0	0.0	0.0	0.0
14	37.3	16.9	24.1	20.5	1.2	0.0	0.0
12	8.8	1.1	11.0	21.9	29.7	23.1	4.4
10	3.3	0.0	2.2	6.5	17.6	35.2	35.2
8	0.0	0.0	0.0	2.4	14.3	14.3	69.0
6	0.0	0.0	0.0	0.0	8.8	8.8	82.4
4	0.0	0.0	0.0	0.0	2.1	1.0	96.9
2	1.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0

² The value indicate the percentage of ovules with several stage of embryo sac development.

Table 2. Distribution percentage of several abnormal embryo sacs in Japanese persimmon cv. Fuyu (1988).

Types of embryo sac	Days before anthesis														
	28	26	24	22	20	18	16	14	12	10	8	6	4	2	0
Degenerated embryo sac mother cell	0.0%	0.0	0.0	0.0	5.0	20.5	24.2	28.6	20.8	20.8	27.5	20.8	13.6	28.3	26.1
Degenerated embryo sac cell	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.7	0.8	2.5	0.0	1.7	0.8	2.5	0.0
Ovule with multiple embryo sacs	0.0	0.0	0.8	0.0	0.8	0.0	0.0	0.0	1.7	0.0	1.7	0.8	1.7	0.0	0.0
Embryos with other abnormalities	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.8	0.8	0.8	0.8	2.5	5.8	0.8
Total number of embryo sacs observed	120	119	119	120	119	117	120	119	120	120	120	120	118	120	119

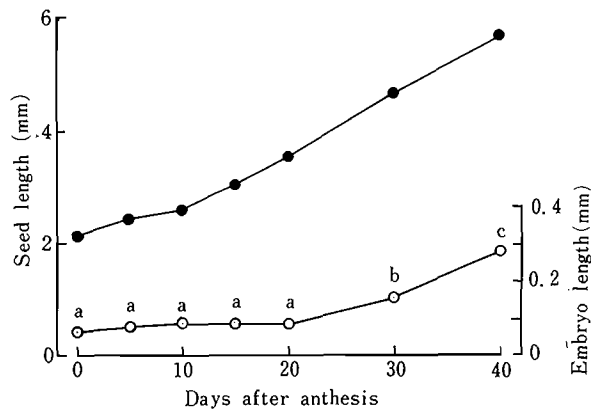


Fig. 1. Growth curve of normal seed (●) and normal embryo (○) of Japanese persimmon 'Fuyu'. a: Egg cell. b: Pro-embryo. c: Globular embryo.

主な発育異常は胚のう母細胞退化、胚のう細胞退化および複数胚のう形成であり、これら以外の胚のうの発育異常の発生率は、極めて少なかった。

発育異常種子の発生経過

人工受粉によって生じた正常種子は、第1図に示すように、開花当日に種子縦径が2.2 mmであったものが開花10日後には2.6 mm、開花20日後には3.6 mm、開花40日後には5.8 mmに達した。胚の発育は、開花20日後までほとんどみられず卵細胞のままであったが、開花30日後には前胚、開花40日後には球状胚に発育した。

供試したすべての種子を観察するなかで、正常に発育している種子とは明らかに異なった形態をした数種の異常種子が観察され、それらは胚のう形成期で生じ

たものと種子形成期で生じたものに大別できた。胚のう形成期で生じたものには、胚のうが退化消失したもの(胚のう退化種子)と1胚珠内に複数の胚のうが形成されたもの(複数胚のう種子)が観察された。種子形成期で生じたものは、不受精あるいは受精直後の何らかの影響によって胚のう内の胚乳核分裂が認められず、その後に珠心組織由来の小細胞で胚のうが覆われ退化消失したもの(胚乳遊離核分裂異常種子)と胚乳の遊離核分裂開始後の胚乳細胞形成期において胚乳組織が発育不全を起し、その後にそれらが珠心組織によって覆われたもの(胚乳退化種子)にわけられた。

これらの異常種子の発生率の推移をみたものが第3表である。胚のう退化種子は開花日から開花40日後までその発生率がほぼ一定で、平均21.7%であった。複

Table 3. Percentage of abnormal embryo sacs and seeds observed in Japanese persimmon cv. Fuyu (1989).

Types of embryo sac or seed	Days after anthesis						
	0	5	10	15	20	30	40
Embryo sac degenerated	21.4%	25.0	24.6	22.8	18.7	20.9	18.0
Ovule with multiple ^z embryo sacs	3.2	5.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Lack of or delayed ^y free nuclear division	0.0	21.6	21.3	27.2	24.6	16.3	24.6
Endosperm aborted	0.0	0.0	0.0	6.6	16.4	21.7	19.7
Fertilized and normally developing seeds	78.6	53.4	54.1	43.4	40.3	41.1	37.7
Total number of embryo sacs or seeds observed	126	116	122	136	134	129	122

^z We decided that the ovules (seeds) with multiple embryo sacs were normal seeds, because an embryo sac within multiple embryo sacs was fertilizable.

^y Lack of or delayed free nuclear division was caused by unfertilization (Fukui et al. 1991), and then the embryo sac of these seeds degenerated.

数胚のう種子は、開花5日後まで3.2および5.2%の発生率であったものの、その後いずれか一方の胚のうの胚乳組織が旺盛に生育し始め、その過程で残りの胚のうが退化していた。したがって、複数胚のう種子のほとんどはいずれか一方の胚のうが正常な種子形成能力を備えており、正常種子として取り扱うことが望ましいと考えた。胚乳遊離核分裂異常種子は、開花5日後から40日後までほぼ一定の割合で認められ、その発生率は平均22.6%であった。この胚乳遊離核分裂異常の原因は、無受粉処理の結果から不受精に基づくものであることが明らかとなっており(福井ら, 1991)、本実験では人工受粉したにもかかわらず約23%の種子が不受精であったことが明らかとなった。胚乳退化種子は開花10日後までまったく認められず、開花15日後に6.6%、開花20日後には16.4%と発生率が増加し、その後は21%前後で推移した。

考 察

‘富有’は早期落果が年によって多発するため、生産者によっては摘らいおよび摘果が必ずしも適切に実施されず、栽培管理上問題となっている。‘富有’の早期落果は生理的な側面から種々検討されているが、必ずしも原因が明らかになっているとはいえない。一般に早期落果の発生は種子数の多少と密接な関係があるといわれていることから、本研究では胚のう形成および種子形成の初期過程で発生するそれらの発生異常について調査した。

‘富有’の生理落果の波相は2波相存在し(永沢ら, 1968)、第1波相は開花10日後までに、第2波相は開

花20~30日後の間にみられることが報告されている。この生理落果の波相と種子の発生不全の発生との関係をみると、第3表の異常種子の発生率の推移から、第1波相の発生時期は不受精による胚のう部の退化(胚乳遊離核分裂異常)の発生時期と一致し、さらに第2波相の発生時期は胚乳退化種子の発生時期と一致した。したがって‘富有’の生理落果は、不受精の他に、胚乳組織が発生不全を起こすことによっても発生するものと推察した。

不受精種子の発生原因の一つとして、胚のう形成期での胚のうの発生異常(傍島ら, 1975; 山村・大崎, 1982)が考えられる。‘西村早生’を用いて検討された胚のう形成期における胚のうの発生異常には(福井ら, 1989, 1990, 1993)、胚のう母細胞や胚のう細胞の退化、複数胚のうの形成、ならびに開花時での胚のうの未完成などがあり、それらの中でも胚のう母細胞の退化の発生は環境要因によって強く影響され(福井ら, 1990)、年次変動も大きい(福井ら, 1993)。

本研究結果から、‘富有’での胚のうの発生異常は胚のう母細胞の退化によるものが主であり、‘西村早生’(福井ら, 1993)ではそれは主に胚のう細胞の退化によることから、胚のうの発生異常の発生時期が両品種間で異なることが明らかとなった。

したがって‘富有’における胚のうの発生異常の発生は、環境要因によって強く影響を受けやすい胚のう母細胞の退化に起因することから、その発生率の高い年には種子数が少なくなり、単為結果性の低い‘富有’の特性と相まって生理落果が多くなるものと考えられる。

1胚珠内に複数の胚のう母細胞あるいは胚のう細胞に由来して複数の胚のうが形成される異常(複数胚のうの形成)の発生率は、1988年の最大が1.7%(第2表)、1989年のそれが5.2%(第3表)であり、兩年とも少なかった。'西村早生'ではこの複数胚のうの発生率が8.0~18.0%であることから(福井ら、1993)、'富有'と'西村早生'の間にはその発生率に品種間差のあることが明らかとなった。しかし、1胚珠内に形成された複数の胚のうは、種子形成過程での観察によれば、その中の一つが受精して、種子を形成することから、この複数胚のうの形成は種子形成率の低下に関与していないものと考えられる。

一方、種子形成過程における發育異常についてみると、'西村早生'での結果(福井ら、1991)と同様に、4種類の發育異常が観察されたが、そのうちの一つである胚乳遊離核分裂の異常は不受精によるものであることが明らかとなった。さらに1胚珠内に形成された複数胚のうも正常な種子形成能力を有していることから、種子形成過程で生じる發育異常は、胚乳の遊離核分裂開始後の胚乳細胞形成期において胚乳組織が發育不全を起こし、その後珠心組織によってそれらが覆われる胚乳退化にのみ起因していた。

種子の發育不全は'平核無'で詳細に観察されているが(石田ら、1990)、'平核無'は染色体数が $2n=135$ の3倍性品種であることから(庄ら、1991)、 $2n=90$ の2倍性品種である'富有'(庄ら、1990)の種子の發育不全とは様相が異なると考えられる。前述のように、胚乳退化の發生時期は早期落果の第2波相の時期と一致していることから、この胚乳退化の發生が早期落果の原因と密接に関係しているものと推察されるが、種子の發育不全に関する研究は'平核無'以外では'西村早生'に関する報告(福井ら、1991)があるに過ぎず、今後早期落果との関連からの研究が望まれる。

開花時における異常な胚のうの発生率は、'平核無'で50%(傍島ら、1975)、'富有'で20%(傍島ら、1975)、'西村早生'で12~22%(福井ら、1992)と品種間差異が大きく、さらに發生した異常胚のうの種類も品種間で異なっていた。また種子の發育過程における胚乳退化についても、'富有'での発生率は約20%であったのに対し'西村早生'では11%(福井ら、1991)と両品種間に差異がみられた。以上に述べたことから、胚のうや種子の發育異常の発生率には品種間差異があり、それは種子形成力の品種間差異と関連があるものと推察されるので、今後は種子形成力と胚のうあるいは種

子の發育異常の發生との関係を検討する必要があると考える。

摘 要

'富有'における胚のう形成から種子形成までの過程をつうじて胚のうおよび種子の發育異常の發生を観察した。

胚のう母細胞は開花24日前に分化が完了したが、開花20日前から胚のう母細胞が退化消失する發育異常が急激に増加し、開花18日前にはその発生率が20.5%に達した。その後は開花日まで14~29%の範囲で推移した。4大胞子期から胚のう細胞期の胚のうは開花12~14日前に観察されたが、この直後から胚のう細胞が退化消失する發育異常が認められた。しかしその發生割合は極めて少なく、最も發生が多かった時期でも2.5%に過ぎなかった。1胚珠内に複数の胚のう母細胞あるいは胚のう細胞から由来して形成された複数胚のうの発生率は2%程度であったが、このうちの一つの胚のうは正常な種子形成能力を持っていたので、この複数胚のうの發生は形成される種子数の低下に関与しないことが明らかとなった。これら以外の胚のうの發育異常の發生は極めて少なかった。

人工受粉('禪寺丸'花粉)によって生じた種子の發育過程で、胚のう内の胚乳遊離核分裂が認められず、その後珠心組織に由来する小細胞で胚のうが覆われて退化消失する發育異常(胚乳遊離核分裂異常)と、胚乳の遊離核分裂開始後の胚乳細胞形成期において胚乳組織が發育不全を起こし、その後に珠心組織によってそれが覆われる發育異常(胚乳退化)が観察された。胚乳遊離核分裂異常の発生率は平均22.6%であったが、これは不受精に基づくものであることが明らかとなった。胚乳退化種子は開花15日後から増加し、その発生率は約21%であった。

引用文献

- 福井博一・西元和男・中村三夫、1989. カキ'西村早生'の胚囊の發育に関する研究. 園学雑, 57: 615-619.
 福井博一・若山善秋・中村三夫、1990. カキ'西村早生'の異常胚囊發生に及ぼす夜間温度の影響. 園学雑, 59: 59-63.
 福井博一・若山善秋・中村三夫、1991. カキ'西村早生'の種子の發育不全について. 園学雑・60: 301-307.
 福井博一・原田智子・中村三夫、1991. カキ'西村早生'の種子の遊離核胚乳期の發育不全について. 園学雑, 60別2: 140-141.
 福井博一・若山善秋・中村三夫、1993. カキ'西村早生'の異常胚のう發生の年次変動. 園学雑. (印刷中).
 石田雅士・小西昌美・北島 宣・傍島善次、1990. '平核

- 無'未熟種子の發育不全について, 園学雑, 59: 65-73.
- 永沢勝雄・高橋栄吉・野崎 勝, 1968. カキの落果に関する生理学的研究, 1. 平核無および富有の落果防止にたいするジベレリン散布の影響. 千葉大園学術報告, 16: 9-16.
- 庄 東紅・北島 宣・石田雅士・傍島善次, 1990. 栽培カキの染色体数について, 園学雑, 59: 289-297.
- 庄 東紅・北島 宣・石田雅士, 1991. カキ品種'平核無'の原木および後代の染色体について, 園学雑, 59: 479-485.
- 傍島善次・石田雅士・稲葉昭次, 1975. カキ果実の發育に関する研究, (第2報), 平核無の種子の發育不全について, 園学雑, 44: 1-6.
- 山田昌彦・栗原昭夫・角 利明, 1987. カキの結実性の品種間差異とその年次変動, 園学雑, 56: 293-299.
- 山村 宏・大崎康弘, 1982. カキ西条における胚珠の發育と受精能力について, 島根大農研報, 16: 14-19.