

研究種目：基盤研究（A）
研究期間：2006～2009
課題番号：18208003
研究課題名（和文） 温暖化時代における果樹生活環の安定化-休眠芽のレドックスと水の動態制御の分子機構
研究課題名（英文） Stabilization of the life cycle of temperate fruit trees under irregular climates-elucidation of the molecular mechanism on water movement and redox regulation in the dormant buds
研究代表者
弦間 洋 (GEMMA HIROSHI)
筑波大学・大学院生命環境科学研究科・教授
研究者番号：70094406

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・園芸学・造園学

キーワード：環境、気候変動、温暖化、休眠生理、果樹、MRI、レドックス、水チャネル

1. 研究計画の概要

地球規模での温暖化による負の影響が作物生産にも顕在化しつつある。温帯果樹で開花時期の遅延や生育不良の多発などである。これらは永年性作物の特徴である明確な生活環（生育期と休眠期）が不安定な状態であることに起因する。そこで芽の休眠現象の分子メカニズムを解明するため、細胞内酸化還元状態（レドックス）の変化とシアン耐性呼吸末端酸化酵素（AOX）、水の膜透過を制御する水チャネルなどの休眠期における遺伝子発現と機能解析、さらには休眠芽の水の動態を MRI 画像解析と電子顕微鏡による微細構造の比較観察により精査しようとする。加えて、休眠打破効果が認められているシアナミド処理をした休眠芽における上記パラメータの変化についても検討する。

以上、果樹の安定的な生活環を維持するため、休眠生理機構の解明を生理生化学・分子生物学・形態及び生態学的アプローチで総合的に行うものである。

2. 研究の進捗状況

モモの休眠芽における休眠導入・覚醒メカニズムの解明のために芽内の水分の動態に注目し、MRI 観察と水透過を制御する水チャネル遺伝子発現解析から詳細に検討した。その結果、低温要求性と水の動態がほぼ一致することを見出し、MRI のパラメータである PD、T2 及び ADC のマッピング、またはデータが自発休眠覚醒のパターン反映することを明らかにした。また、水チャネル遺伝子 $\delta TIP1$ 及び $PIP2$ 発現を休眠芽の部位別に精査し、上記パラメータの変化に一致すること、すなわち $\delta TIP1$ 遺伝子発現は芽の基部

でよく見られ、一方、 $PIP2$ 遺伝子の発現は、芽の上部で見られ、PD、T2 両パラメータの変化との関係が示唆された。さらに他発休眠状態の芽に与える温度の影響について水チャネル遺伝子レベルで解析を行い、高温と低温交互に遭遇する今日的な温暖化現象下での発芽異常の要因を示唆した。

ニホンナシ‘幸水’休眠芽はシアナミド処理によって覚醒が早まるが、グルタチオンレベルの変化は自然条件下に置かれた休眠芽では処理の有無にその差異が認められなかった。しかし、低温遭遇をさせずにシアナミド処理をした場合、明らかに処理によってグルタチオンレベルが増加することを認めた。さらに自発休眠打破後、他発休眠段階に入った休眠芽においては、自然条件下の休眠芽でもシアナミド処理によってグルタチオンレベルが高まることを認めた。このように休眠段階によってシアナミド処理の効果が異なることと、グルタチオン生成の違いとの関連が推察された。休眠芽における経時的芽内酸化還元状態（レドックス）を休眠打破剤のシアナミド処理との関連から、グルタチオン合成酵素遺伝子（GS）、グルタチオン還元酵素遺伝子（GR）、シアン耐性呼吸末端酸化酵素遺伝子（AOX）の mRNA 転写物レベルで追跡したところ、シアナミド処理した芽では、明らかに処理 6 時間後にはいずれの酵素遺伝子レベルが上昇していた。対照区も上昇傾向にあるが、その相対的レベルはシアナミド処理で顕著に高く、処理 4 日後までに速やかに減少していた。

3. 現在までの達成度

② おおむね順調に進展している。

当初、計画していたレドックスの分子制御機構を明らかにし、さらに休眠段階によって変化する芽内の水動態について MRI 解析と水チャネル遺伝子発現から一定の休眠生理機構解明の資料を取得できた。現在、休眠打破剤のシアナミド処理におけるこれらのパラメータの変化について調査中である。

4. 今後の研究の推進方策

現在までの手法を継続し、研究推進するとともに花芽異常を誘起する要因解析のための休眠導入・覚醒モデルを構築すべく基礎資料の収集に努める。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

① Yooyongwech, S., A. Horigane, M. Yoshida M. Yamaguchi, Y. Sekozawa, S. Sugaya, and H. Gemma (2008) Changes in aquaporin gene expression and magnetic resonance imaging of water status in peach tree flower buds during dormancy. *Physiol. Plant.* 134 (査読有り)

② Yooyongwech, S., A. Horigane, M. Yoshida Y. Sekozawa, S. Sugaya, and H. Gemma (2008) Effect of oscillating temperature on the expression of two aquaporin genes (Pp- δ *TIP1*, *PIP2*) involved in regulating intercellular water status in flower buds of peach. *J. Hort. Sci. Biotech.* 83 (査読有り)

③ Yamamoto, R. R., Sekozawa, Y., Sugaya, S. and Gemma, H. (2009) Influence of chilling accumulation time on “Flower bud abortion” occurrence in Japanese pear grown under mild winter conditions. *Acta Horticulturae* (In press) (査読有り)

④ Zanol, G. C., Sekozawa, Y., Sugaya, S. and Gemma, H. (2009) The glutathione accumulation on mixed bud tissues during the dormancy of Japanese pear. (In press) (査読有り)

[学会発表] (計5件)

① Yooyongwech, S・堀金明美・吉田充・瀬古澤由彦・菅谷純子・弦間洋 (2008年12月11日) 変温条件下におかれたモモ花芽におけるアクアポリン(水チャネル) 遺伝子の発現. 園芸学会平成20年度秋季大会. 三重大大学生物資源学部.

② Gemma, H. (2008年12月11日)

Elucidation of dormancy on temperate fruit trees with approaches of aquaporin gene Expression and MRI observation in relation to water movement in the dormant bud. The first Asian Horticultural Congress. 韓国・済州島国際会議場

③ Yooyongwech S, Horigane AK, Yoshida M, Sugaya S, Gemma H. (2007年7月14日) Induction of water pump by fluctuating Temperature for flower budburst of peach Observed by aquaporin gene expression and MRI. The 5th International Conference of Aquaporin 奈良先端科学大学院大学

④ Yooyongwech S, Horigane AK, Yoshida M, Yamaguchi M, Sugaya S, Gemma H. (2007年8月22日) Water behavior and water channel gene expression in vegetative and flower dormant buds of peaches having Different chilling-requirement during winter period. The 8th International Conference on Magnetic Resonance Microscopy. 宇都宮大学

⑤ Zanol Geni Carmen・瀬古澤由彦・菅谷純子・弦間洋 (2007年3月25日ニホンナシの休眠芽の自発休眠打破にともなうシアン耐性呼吸末端酸化酵素(AOX)活性とその遺伝子発現の変化. 京都テルサ