

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 8月13日現在

機関番号：82111

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21780031

研究課題名（和文）バラ科果樹における休眠の維持機構

－ソルビトールは芽の生育開始を抑制しているのか？

研究課題名（英文）The mechanism how endodormancy is maintained in *Rosaceae* fruit trees
- possible roles of sorbitol in inhibiting the resumption of bud growth

研究代表者

伊東 明子（ITO AKIKO）

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・果樹研究所栽培・流通利用研究領域・主任
研究員

研究者番号：30355383

研究成果の概要（和文）：

バラ科果樹のニホンナシを材料に、糖アルコールであるソルビトールが自発休眠の維持にどのような役割を果たしているかを解明するため、休眠期間中の花芽および枝を供試して、糖含量、およびソルビトールとスクロース代謝酵素の活性の変化を調査した。その結果、ニホンナシの花芽および枝では、休眠期間中に非常にドラスティックな糖の動態変化が起こっており、休眠ステージに応じてソルビトールおよびスクロースの代謝が調節されていることが明らかとなった。また、糖の投与実験により、ソルビトールには花芽の発育を抑制する働きがある可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

In order to elucidate the possible roles of carbohydrate in Japanese pear (*Pyrus pyrifolia*, 'Kosui') during endodormancy, seasonal changes of carbohydrate concentrations and the activities of sorbitol- and sucrose- metabolizing enzymes were investigated in the lateral flower buds and current shoots. We found that sorbitol and sucrose metabolisms in these tissues changed drastically during endodormancy phase, and thus assume that pear flower buds regulate endodormancy by modulating the systems for sorbitol- and sucrose-catabolism depending on the dormancy stage. We also discuss the possible inhibitory effect of sorbitol on flower bud growth during endodormancy.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：

科研費の分科・細目：農学 園芸学・造園学

キーワード：果樹

1. 研究開始当初の背景

植物は、冬のような生育に適していない環境を、発育を停止し呼吸などの代謝活性を極

端に抑えた「自発休眠」と呼ばれる状態です。休眠は低温に一定時間さらされると解除され、温度や水などが必要なだけ十分供給されると、植物は再び生育を開始する。

植物では糖をスクロースの形態で転流させるのが一般的であるが、リンゴ、ニホンナシ、セイヨウナシ、核果類などのバラ科果樹においては、ソルビトールが転流糖の主たる形態である。ソルビトールには、(1) 糖アルコールは糖に比較してより還元されており還元力の輸送・保持形態として優れている、(2) ソルビトールは、合成のため消費される熱量に対する分解(異化)時に得られる熱量の割合がスクロースより高く熱力学的に有利である、の転流糖としての2つのメリットが明らかになっているが、さらに(3) ホウ素と結合して植物のリグニン化を抑え、フェノール合成を適切に制御する、(4) 適合溶質として浸透圧を調節するとともに膜やタンパク質を安定化させ凍結から守る、等の生理作用も認められている (Lewis, 1984)。特に、ソルビトールを転流糖とする植物は、ソルビトールを転流糖として利用しない植物に比較し、より高緯度(寒冷)地帯への環境適応力が認められる (Loescher, 1987) ことから、これら植物の生存において、ソルビトールによる耐凍性の付与・強化が重要な役割を担っていることが考えられる。しかしながら、休眠期間中のソルビトールの役割についてはほとんど明らかになっていない。

2. 研究の目的

バラ科果樹の一つであるニホンナシを対象に、休眠導入期から覚醒期にかけての糖の動態を明らかにする。また、糖の投与が休眠導入期から覚醒期の花芽の萌芽に及ぼす影響を検討することにより、休眠期間中のソルビトールの生理的役割を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) ニホンナシ「幸水」および「豊水」の休眠状態の測定と、花芽および枝における糖の動態解析

果樹研究所圃場植栽のニホンナシ「幸水」および「豊水」の新梢を10月から3月にかけて継時的に採取し、水挿しして25°C (12hr light/12hr dark) 条件で21日間インキュベートし、花芽の萌芽状態を調査した。また、「幸水」の温度反応から自発休眠ステージを評価するDVI (Developmental Index, Sugiura and Honjo, 1997) について、サンプル採取時点での値をつくば市のアメダスデータに基づいて算出した。

また同時に、新梢腋花芽、枝および枝のアポプラスト液を採取し、花芽からはリン片を除去した後に、すべての組織を別々に凍結した。凍結した花芽および枝は糖含量、糖代謝

酵素活性の測定、およびソルビトールトランスポーター遺伝子の発現解析に供した。また、アポプラスト液は糖含量の分析に供した。

(2) 「幸水」切り枝に対する糖の処理が花芽の萌芽に及ぼす影響の解析

「幸水」切り枝を9月から3月にかけて採取し、花芽をつけた2芽の切片に調整した後、①蒸留水、②18%ソルビトール、③18%スクロース、④18%グルコース、⑤13%マンニトールのいずれかに基部を浸して25°C (12hr light/12hr dark) で24時間吸水させた。その後、蒸留水を与えたロックウールに枝切片を移し、25°C (12hr light/12hr dark) 条件で28日間インキュベートして花芽の萌芽状態を調査した。萌芽ステージはTamura et al. (1993)の方法に従って分類した。

4. 研究成果

(1) ニホンナシ「幸水」および「豊水」の休眠状態の測定と、花芽および枝における糖の動態解析

萌芽率は、「幸水」においては11月下旬頃から、「豊水」においては11月上旬頃から高まりはじめた。両品種とも、「幸水」で自発休眠覚醒期を示すDVI=1.0となる12/24には90%以上の腋花芽で萌芽が認められた(表1)。一方、両品種とも、12月下旬から1月中旬にかけて約30%の花芽の枯死が認められた(データ略)。

表1 「幸水」および「豊水」の腋花芽萌芽率の推移

	'09				'10
	11/4	11/26	12/10	12/24	1/15
幸水	0.19	0.64	0.91	0.92	1.00
豊水	0.63	0.70	0.88	0.94	1.00

またソルビトール代謝の鍵酵素であるNAD依存型ソルビトール脱水素酵素の活性が、両品種の花芽および枝で1月上旬に一時的に急激に上昇した(図1)。しかし、その他の酵素の季節変動については、両品種で共通の傾向は認められなかった。

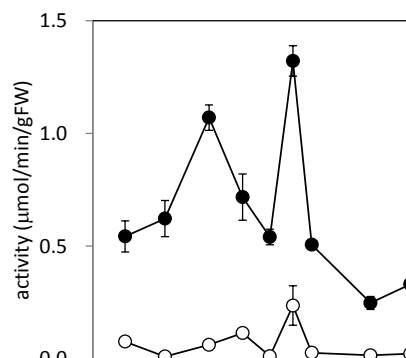


図1 「豊水」の腋花芽(●)および枝(○)におけるNAD依存型ソルビトール脱水素酵素の活性

一方、両品種ともに、12月上旬頃から、枝におけるデンプン含量の減少と、花芽と枝における可溶性糖含量の増加が認められた。また、アポプラスト液の糖含量は、「幸水」でDVI=1.0になる12/24頃から両品種で大きく上昇した(図2)。

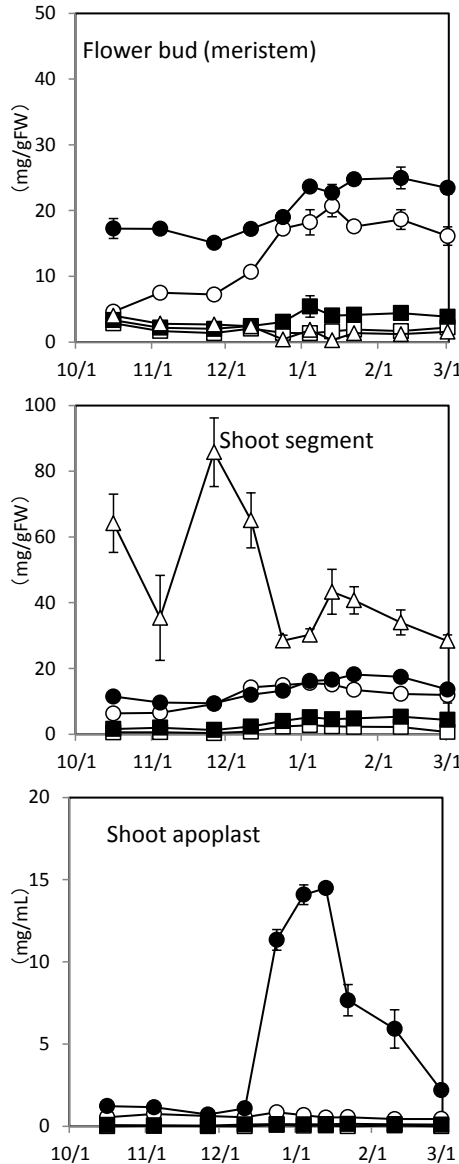


図2 「豊水」の腋花芽、枝および枝のアポプラスト液におけるソルビトール(●)、スクロース(○)、フラクトース(■)、グルコース(□)およびデンプン(△)含量の推移。

「幸水」よりソルビトールトランスポーター一遺伝子(部分長)を2種(*PpSOT2*: AB719045 および *PpSOT3*: AB719046) 単離し、「幸水」の花芽および枝における発現を解析した。花芽においては、*PpSOT2* は自発休眠覚醒期に発現の増加が認められたが、*PpSOT3* については1月下旬に発現のピークが認められた。枝においては、*PpSOT2* は

花芽と同様休眠覚醒期に発現のピークが認められたが、*PpSOT3* については自発休眠覚醒前の11月に発現が高くなり自発休眠覚醒期から覚醒後にかけては低くなった(データ略)。これらの結果から、*PpSOT2* は組織から導管液へのソルビトールの loading に、*PpSOT3* は導管液から組織へのソルビトールの unloading にそれぞれ関与しているものと考えられた。

以上の結果から、ニホンナシの休眠期間の糖代謝については、①枝のデンプンが分解されて可溶性糖となり枝および花芽に蓄積される自発休眠覚醒前(11月~12月中旬頃)、②導管液のソルビトール含量が急激に増加する自発休眠覚醒期(12月下旬頃)、③花芽において導管液のソルビトールの取り込みと利用が増加する自発休眠覚醒後(1月中旬頃)の、3つの特徴的なステージに分けられるものと考えられた。

(2) 「幸水」切り枝に対する糖の処理が花芽の萌芽に及ぼす影響の解析

投与する糖の種類により、加温後の花芽の萌芽は異なる影響を受けた(表2)。ソルビトールの投与は、12月14日から1月28日にかけて採取した花芽に対し加温後の萌芽を抑制する効果が認められた。ソルビトールと同様に糖アルコールの1種であるマニトールも同様の抑制効果を示したが、抑制の度合いはソルビトールよりも大きかった。スクロースおよびグルコースの投与は花芽の萌芽にほとんど影響を与えなかった。

表2 「幸水」の腋花芽に投与した糖の種類が加温後の花芽萌芽ステージの進行に及ぼす影響

	'10		'11		
	12/14	12/24	1/13	1/28	2/21
Control ^{2,y)}	5.8 a	6.7 a	5.9 a	4.8 a	6.0 ab
Sucrose	5.8 a	6.8 a	6.6 a	5.1 a	6.5 a
Sorbitol	4.0 b	5.3 b	4.9 b	4.2 b	5.8 b
Glucose	5.5 a	6.1 a	5.9 a	5.0 a	6.5 a
Mannitol	4.4 b	4.9 b	4.5 b	4.0 c	5.1 c

²⁾ 花芽の萌芽ステージは、ステージ1(萌芽の兆候無し)からステージ7(開花)の7ステージに分類して調査。萌芽は12月14日、24日および1月13日採取のサンプルについては21日間、1月28日および2月21日採取のサンプルについては14日間加温して調査した。

^{y)} 同一列中のデータはTukey法により統計解析を行った。

以上の結果より、ソルビトールはバラ科植物における重要な転流糖であると同時に、自発休眠覚醒後の花芽の発達を抑制する働きがあることが明らかとなった。切り枝を採取して加温し、萌芽を誘導した場合、12月下旬から1月中旬に採取した枝では花芽の約30%が枯死する現象が認められたが、この時期は導管液のソルビトール含量は高いが花芽のソルビトール分解活性(NAD依存型ソ

ルビトール脱水素酵素活性)はまだ低い時期に相当する。一方、ニホンナシのハウス栽培現場では、花芽の萌芽・開花の揃いのためには、ハウスの被覆・加温はDVI=1.0よりも遅いDVI=1.3頃以降まで遅らせる方がよいとの観察も得られている。このことから、自発休眠覚醒後の花芽の正常な発達には、導管液のソルビトールに見られるような十分な糖の供給だけではなく、NAD依存型ソルビトール脱水素酵素活性の増加のような糖が十分利用できる状態になっている必要がある可能性が示唆されるものと考えられた。

5. 主な発表論文等〔雑誌論文〕(計1件)

①Akiko Ito, Daisuke Sakamoto, Takaya Moriguchi, Carbohydrate metabolism and its possible roles in endodormancy transition in Japanese pear, *Scientia Horticulturae*, 査読有, 144, 2012, 187-194,
[DOI:10.1016/j.scienta.2012.07.009](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.07.009)

〔産業財産権〕

○出願状況(計2件)

名称：低温要求性バラ科落葉樹の自発休眠覚醒期判定方法

発明者：伊東明子

権利者：独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構

種類：特許

番号：特願 2011-256938

出願年月日：23年11月25日

国内外の別：国内

名称：低温要求性落葉樹の自発休眠覚醒期判定方法

発明者：伊東明子

権利者：独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構

種類：特許

番号：特願 2012-174792

出願年月日：24年8月7日

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊東 明子 (ITO AKIKO)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構果樹研究所栽培・流通利用研究領域・主任研究員

研究者番号：30355383

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者