‘川野なつだいだい’の花芽分化と葉及び樹皮中の タンパク質, アミノ酸含量との関連

村井泰広*・湯田英二・松井弘之**・中川昌一***

大阪府立大学農学部 591 堺市百舌鳥梅町

Flower Bud Formation in ‘Kawano Natsudaikai’ in Relation to Protein and Amino Acid Contents in Leaf and Bark Tissues

Yasuhiro MURAI, Eiji YUDA, Hiroyuki MATSUI
and Shoichi NAKAGAWA

*Department of Horticulture,
University of Osaka Prefecture, Sakai, Osaka 591*

Summary

Soluble protein and amino acid contents in leaf and bark tissues of ‘Kawano natsudaikai’ were investigated in relation to flower bud formation. Physiological flower bud formation of ‘Kawano natsudaikai’ was initiated early in November and ended early February. Protein content in leaf and bark tissues of non-bearing shoots was always higher than in both tissues of bearing shoots. Particularly, protein content in non-bearing shoots increased markedly at early stage of flower bud formation. But there were no significant differences in amino acid content in leaf and bark tissues of bearing and non-bearing shoots. When solutions of GA₃ (250 ppm) and BA (300 ppm) were separately sprayed on non-bearing shoots, protein content in leaf and bark tissues, and also amino acid content in bark sharply decreased with the GA₃ application. However, they were not affected by the BA application. Both GA₃ and BA solutions were sprayed on non-bearing shoots, and percentages of flower set in the following season were investigated. Only the GA₃ application drastically inhibited the percentages of flower set, when compared to the control, BA application had little effect on the percentage of flower set.

緒 言

果樹の花芽分化は、従来より枝梢中の C/N 率と密接な関連があるといわれてきた (4, 7). しかし、近年の多くの報告ではむしろ否定的な結果が多く、リンゴなど多くの果樹において窒素施肥を多用し、C/N 率が低くなった場合でも花芽形成を促進することが報告されている (3, 5, 8). すなわち、炭水化物や窒素は花芽形成のための栄養分であり、花芽分化を誘導する物質ではないと考えられているが、樹体内の窒素化合物の中のタンパク質と植物の種々な生理作用との関係が最近注目されてきた (6, 10, 11). 一方、樹体内の植物ホルモンが花芽形成と密接な関係があることが知られており、内生植物ホルモ

ンの種類、含量、それらのバランスが花芽分化の誘導に関与していると考えられている (14, 20). 本研究では葉や樹皮中の可溶性タンパク質及び、アミノ酸含量と生理的花芽分化期との関係を明らかにするため、‘川野なつだいだい’を用いて調査を行った。また、同時にこの品種の新梢に GA₃, BA を処理し、その後の葉や樹皮中の可溶性タンパク質やアミノ酸含量の変化、翌年の着花割合についても調査した。

材料及び方法

実験 1. 生理的花芽分化期

大阪府立大学農学部附属農場に栽植されている 15 年生 ‘川野なつだいだい’ (甘夏) を 10 本供試し、下迫ら (18) の方法により花芽分化期を推定した。すなわち、1985 年の 9 月下旬から翌年の 3 月上旬までよく揃った 20cm 前後の春枝の無着果枝上の葉を 2 週間ずつ経時的にすべて摘除し、翌年の開花期に着花枝数を調査し

1987年12月14日 受理

* 現在 島根大学農学部

** 現在 千葉大学園芸学部

*** 現在 九州東海大学農学部

た。ただし、摘葉処理には、一樹当たり約 30 本の枝を使用し、摘葉処理後、新たに萌芽する葉はすべて摘除した。

実験 2. 葉及び樹皮中のタンパク質、アミノ酸含量の季節的消長

供試樹は実験 1 と同一樹を用い、春枝を無着果枝と着果枝（1 個着果）に分け、9 月から翌年の 2 月まで、約 14 日間隔で、各々の枝を 5 本ずつ採取した。それらは樹皮と葉に分け、直ちに -20°C の冷凍庫で分析するまで凍結貯蔵した。可溶性タンパク質及びアミノ酸の抽出は試料（新鮮重）1 g に 0.4 M 塩化ナトリウム、0.1% トライトン X-100 を含む、0.1 M リン酸クエン酸緩衝液（pH 7.5）20 ml を加え、ポリトロンホモジナイザーで磨砕し、ミラクロスでろ過した。残渣に再び緩衝液を加え再度、磨砕、ろ過を行った。両抽出液を合した後、10,000 g で 30 分間、冷凍遠心分離を行い、上澄液を可溶性タンパク質とアミノ酸の定量に用いた。タンパク質の定量は、Bradford (2) の色素結合法で行った。一方、アミノ酸の定量は上澄液 2.0 ml に 0.3 N $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 、1.0 ml、5% ZnSO_4 1.0 ml を加え、除タンパク後、Moore と Stein (13) のニンヒドリン法で行った。タンパク質の標品として牛血清アルブミンを用い、アミノ酸の標品として L-ロイシンを用いた。

実験 3. GA_3 , BA 処理が葉及び樹皮中の可溶性タンパク質、アミノ酸含量に及ぼす影響

実験 1 の供試樹の無着果枝に GA_3 250 ppm, BA 300 ppm, 水（対照区）を 11 月上旬、11 月中旬の計 2 回新梢全体に散布処理した。ただし、それぞれの処理液には展着剤として Atrox BI 500 ppm を加用した。処理後は経時的に枝を採取し、一旦、 -20°C で凍結後、上述の方法に順じて可溶性タンパク質、アミノ酸含量を測定した。

実験 4. GA_3 , BA 処理が翌年の着花に多ぼす影響

実験 1 と同一樹の無着果枝を用い、 GA_3 250 ppm, BA 300 ppm, 水（対照区）を 11 月上旬、12 月上旬、1 月上旬の計 3 回、新梢全体に散布処理し、翌春の着花枝数を調査した。なお、それぞれの処理液には Atrox BI 500 ppm を加用した。

結 果

実験 1. 生理的花芽分化期

‘川野なつだいたい’の摘葉処理による花芽分化期の推定結果を第 1 図に示す。すなわち、11 月以前に摘葉処理をすると、翌春の着花は全く認められなかった。しかし、11 月に入ってから摘葉処理ではわずかに着花する枝がみられ、12 月以後の摘葉処理では着花枝数は直線的

Fig. 1. Return bloom on defoliated current-year shoots.

Fig. 2. Seasonal changes in protein and amino acid contents in leaf and bark tissues of ‘Kawano natsudaiai’.

* Broken line indicates bark tissues. Solid line indicates leaves.

○ : Bearing shoot

● : Non-bearing shoot

に増加し、2 月中旬頃には対照区と同程度の着花枝数が観察された。

実験 2. 葉及び樹皮中の可溶性タンパク質、アミノ酸含量の季節的消長

着果枝及び無着果枝の葉と樹皮中の可溶性タンパク質

及びアミノ酸含量の9月から翌年の2月まで経時的変化を第2図に示した。すなわち、葉中の可溶性タンパク質含量は調査したいずれの時期においても着果枝より無着果枝の方が高く、全調査期間中の平均では、無着果枝の方が着果枝より約20%可溶性タンパク質含量が多くなっていた。一方、樹皮中の可溶性タンパク質含量は、葉の場合と同様に常に着果枝より無着果枝の方が高く、着果枝では調査した9月から2月にかけてほぼ一定割合で増加する傾向がみられたのに対して、無着果枝では10月中旬に可溶性タンパク質含量が急増し、新鮮重1g当たり約10mgの増加がみられた。ただし、それ以後の含量はほぼ一定であった。他方、アミノ酸含量は葉及び樹皮中含量ともほぼ一定であったが、無着果枝の葉中含量は11月から12月にやや増加する傾向がみられた。しかし、1月には両者間で差異がみられなくなった。しかし、樹皮中のアミノ酸含量は無着果枝で11月から2月にかけて漸次増加し、着果枝では12月頃より増加がみられたが、常に無着果枝の方が着果枝よりアミノ酸含量が高かった。

Fig. 3. Effect of GA₃ and BA applications on protein content in leaf and bark tissues of 'Kawano natsudaikai'.

* Broken line indicates bark tissues. Solid line indicates leaves.

▲: GA₃
△: BA
●: Control

Fig. 4. Effect of GA₃ and BA application on amino acid content in leaf and bark tissues of 'Kawano natsudaikai'.

* Broken line indicates bark tissues. Solid line indicates leaves.

▲: GA₃
△: BA
●: Control

実験 3. GA₃, BA 処理が葉及び樹皮中の可溶性タンパク質、アミノ酸含量に及ぼす影響

GA₃, BA 処理後、3週間までの葉及び樹皮中タンパク質、アミノ酸含量の変化を第3図、第4図に示した。葉中の可溶性タンパク質含量は GA₃ 処理区では、処理後1週間目で処理当日の約50%に急減したが、2週間目以後回復し、3週間目には対照区とほぼ同程度になった。BA 処理区では、GA₃ 処理区のような処理後1週間目の急激な変化は認められなかった。一方、樹皮中では GA₃ 処理区の葉の場合と同様、処理後1週間目に急減し、対照区、BA 処理区の約50%となった。また、2週間目でもその含量に変化はなかったが、3週間目に対照区と同程度に回復した。葉中アミノ酸含量はいずれの処理区においてもほぼ一定であったが、樹皮中では BA 処理区と対照区とは大差がなく、GA₃ 処理区では可溶性タンパク質含量と同様に処理後減少し、2週間目には約50%となった。しかし、3週間目には他の2処理区と同含量まで回復した。

実験 4. GA₃, BA 処理が翌年の着花に及ぼす影響

無着果枝に GA₃, BA をそれぞれ処理し、翌年の着花

Table 1. Effect of GA₃ and BA applications on flower formation of 'Kawano natsudaikai'.

Treatment	Percentage of flower formation (%)
Control	100.0
GA ₃ 250 ppm	4.8
BA 300 ppm	105.0

率を調査した結果は第1表に示す通りである。すなわち、 GA_3 処理の着花率は対照区の4.8%となり、著しい着花抑制効果がみられた。一方、BA 処理区は105.0%と若干、対照区より着花率は促進されたが有意な促進効果は認められなかった。

考 察

ウンシュウミカンの花芽分化は、気温の低下する秋期から冬期に起こることが知られている(16, 17)。下迫ら(18)によると「ナツダイダイ」の生理的花芽分化期は非常に長く、分化開始期は10月以前で分化期の終了は3月上旬と報告している。本実験において「川野なつだいたい」の生理的花芽分化期を調査するため、下迫ら(18)の方法に準じ経時的に摘葉処理する間接的方法で推定したところ、花芽分化は11月上旬から始まり2月上旬に終了することが推定された。下迫らの結果と本実験の結果とは花芽分化期間にいくぶん差異が認められるが、これは品種、栄養状態、調査年度の気候の違いなどによるものと思われる。カンキツ類では特に着果枝と無着果枝で翌年の着花率を比較した場合、着果枝は極めて着花が悪くなることが経験的に知られている。この着花の良否は枝梢中の養分含量の差によると考えられている。そこで、本研究では窒素化合物の中で特に可溶性タンパク質、アミノ酸に注目し、着果枝と無着果枝の葉及び樹皮中のこれらの含量の季節的変遷を調査したところ、無着果枝の葉及び樹皮中の可溶性タンパク質含量は着果枝のそれより常に高くなっていた。松井ら(11)はウンシュウミカンの葉及び樹皮中の可溶性タンパク質含量は秋から冬にかけて増加することを報告しており、「川野なつだいたい」でも同様の傾向がみられた。生理的花芽分化期と可溶性タンパク質含量との関係をみると、樹皮中のタンパク質含量は生理的花芽分化期に入ると翌年着花良好な無着果枝は急増したが、着花不良になりがちな着果枝では極端な増加はみられなかった。また、大垣ら(15)によるとウンシュウミカンの花芽分化に低温が必要であると述べているが、本実験の結果でも気温の低下する時期に葉及び樹皮中の可溶性タンパク質含量が増加することが明らかとなり、樹皮中の可溶性タンパク質の蓄積が気温の低下となんらかの関係があり、それらが「川野なつだいたい」の花芽分化の重要な要因の一つではないかと考えられた。一方、葉及び樹皮中のアミノ酸含量については、着果の有無による差はほとんど見られなかった。ただし、生理的花芽分化期中のアミノ酸含量が着果枝より無着果枝の方がやや高くなっていたが、可溶性タンパク質含量のような顕著な差はみられなかった。このことから、「川野なつだいたい」の花芽分化はア

ミノ酸含量よりも、むしろ、可溶性タンパク質含量との関連が大きいように思われた。一方、植物ホルモンが着花に影響を及ぼすことがニホンナシ、ウンシュウミカンなどの果樹について知られている(1, 19, 20, 21)。すなわち、高木ら(20)によるとウンシュウミカンに GA_3 を処理すると翌年の着花を抑制すると報告している。また、「ワシントンネーブルオレンジ」や他のカンキツに GA_3 を散布すると同様に着花を抑制することが知られている(21)。一方、BA 処理はいくつかの果樹について着花を促進することが報告されている(1, 19)。ウンシュウミカンについても促成栽培でBAを処理すると着花が促進されたという報告がある(19)。そこで、「川野なつだいたい」の無着果枝に GA_3 、BA 処理を行い翌年の着花に及ぼす影響を調べたところ、 GA_3 処理区は対照区に比べて著しい着花抑制効果を示し、ウンシュウミカンや「ワシントンネーブルオレンジ」で報告された結果と一致した(20, 21)。一方、BA 処理区は対照区とはほぼ同程度の着花率となり、期待された着花促進効果はほとんど認められなかった。これは樹種の違い、また、処理濃度、処理時期に問題があったのかもしれない。このように「川野なつだいたい」についても翌年着花良好となる無着果枝に GA_3 を処理すると人為的に着花が抑制されることが明らかになったため、無着果枝を用いて花芽分化期に GA_3 、BA 処理後の可溶性タンパク質、アミノ酸含量を調査した。その結果、BA 処理区では葉及び樹皮中の可溶性タンパク質、アミノ酸含量に差異がなかったが、 GA_3 処理区では対照区に比べると明らかに異なっていた。すなわち、葉及び樹皮中のタンパク質が処理後急減し、アミノ酸含量も樹皮中で急減がみられた。このことは GA_3 処理が葉及び樹皮中の可溶性タンパク質、アミノ酸の代謝に影響し、その結果、着花を抑制したのではないかと考えられた。Luckwill (9) はリンゴについて着果した短果枝は翌年の花芽形成が著しく抑制されるが、これは果実あるいは種子で合成されたGAが短果枝の花芽分化及び発達を抑制するのであろうとしている。「川野なつだいたい」の着果枝の樹皮中の可溶性タンパク質含量が生理的花芽分化期になってもあまり増加しないのは、果実または種子中のGAが原因しているのか、あるいは果実の生長に多量のタンパク質が必要なため、着果枝の樹皮中に蓄積される量が少なくなるためとも考えられる。無着果枝では花芽分化期に可溶性タンパク質含量が急増するが分子量、構造上の質的变化については今回明らかにできなかった。Monselise と Hubermann (12)によると「シャムーティ・オレンジ」の花芽分化期に GA_3 を散布したところ、葉及び芽のタンパク質含量は一

定の傾向を示さなかったが、対照区と比べた場合、可溶性タンパク質の電気泳動パターンが明らかに異なっていたと報告している。‘川野なつだいだい’においてもタンパク質の質的变化や新たなタンパク質の合成が花芽分化期に起こるのではないかと推察される。本実験の結果より‘川野なつだいだい’では花芽分化と可溶性タンパク質含量に密接な関連がみられ、樹皮中の可溶性タンパク質含量が生理的花芽分化期の一つの指標となるかもしれないと思われた。なお、タンパク質の質的变化や内生植物ホルモン含量との関係を詳細に調査することにより、花芽分化のしくみがより一層解明されることが示唆された。

摘 要

15年生‘川野なつだいだい’を用いて葉、樹皮中の可溶性タンパク質、アミノ酸含量を調査し、花芽分化との関連を検討した。‘川野なつだいだい’の生理的花芽分化期は11月上旬に始まり2月上旬に終了した。無着果枝の葉及び樹皮中の可溶性タンパク質含量は着果枝の両器官の含量より常に高かった。特に、無着果枝の樹皮中含量は生理的花芽分化期に入ると急増した。アミノ酸含量は着果の有無による差はほとんどみられなかった。無着果枝にGA₃ 250 ppm, BA 300 ppm を処理したところ、GA₃ 処理区では葉、樹皮中の可溶性タンパク質含量が急減したが、BA 処理区と対照区ではそれが認められなかった。アミノ酸含量も同様、GA₃ 処理区のみ樹皮中の含量が急減した。無着果枝にGA₃ 250 ppm, BA 300 ppm を処理し翌年の着花率を調査した結果、GA₃ 区は対照区に比べ著しい着花抑制効果を示した。一方、BA 処理区は対照区とほぼ同程度の着花率を示した。

引用文献

1. 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’ナシの花芽形成促進並びに花粉収量の増加. 園学雑. 55: 33—39.
2. BRADFORD, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of protein utilizing the principles of protein dye binding. Anal. Biochem. 72: 248—254.
3. DELAP, A.V. 1967. The effect of suppling nitrate at different seasons on the growth, blossoming and nitrogen content of young apple tree in sand culture. J. Hort. Sci. 42: 149—167.
4. GOURLY, J.H. and F.S. HOWLETT. 1949. Modern fruit production. p. 62—69. Macmillan Co., New York.
5. GRASMANLS, V.O. and G.W. LEEPER. 1967. Ammonium nutrition and flowering of apple trees. Aust. J. Biol. 20: 761—767.
6. KANG, S.M. and J.S. TITAS. 1980a. Qualitative and quantitative changes in nitrogenous compounds in senescing leaf and bark tissues of the apple. Physiol Plant 50: 285—290.
7. KRAUS, E.J. and H.R. KRAYBILL. 1918. Vegetative and reproduction with special reference to the tomato. Ore. Agr. Exp. Sta. Bull. 194: 5—90.
8. 細井寅三・遠藤融郎・岩崎一男. 1963. 砂耕における肥料三要素濃度とナシの樹体生長ならびに果実発育との関係. 園学雑. 32: 271—277.
9. LUCKWILL, L.C. 1970. The control of growth and fruitfulness of apple tree. p. 237—254. In: L.C. Luckwill and C.V. Cutting (eds.) Physiology of tree crops. Academic Press, London.
10. GUSTA, L.V. and C.J. WEITER. 1972. Nucleic acid and protein changes in relation to cold acclimation and freezing injury of Korean boxwood leaves. Plant Physiol. 49: 91—96.
11. 松井弘之・足立浩代・湯田英二・中川昌一. 1987. 果樹の葉及び枝梢のタンパク質、アミノ酸含量の季節的消長. 園学要旨. 昭62春: 82—83.
12. MONSELISE, S.P. and M. HUBERMANN. 1973. Comparison of protein fraction of citrus bud during flowering or its inhibition by gibberellin. Scientia Hort. 1: 171—176.
13. MOORE, S.W. and H. STEIN. 1948. Photometric ninhydrin method for use in the chromatography of amino acid. J. Biol. Chem. 176: 367—388.
14. 中川昌一. 1982. 果樹園芸原論: 50—67. 養賢堂.
15. 大垣智昭・伊東秀夫. 1972. 温州ミカンの花芽分化の誘起条件としての冬の低温. 農及園. 47: 1455—1457.
16. 大崎 守・佐宗久雄. 1942. 柑橘の花芽分化期に関する研究 (第1報). 園学雑. 13: 24—29.
17. 大崎 守・佐宗久雄. 1942. 柑橘の花芽分化期に関する研究 (第2報). 園学雑. 14: 103—106.
18. 下迫勇助・田崎市郎. 1959. 夏橙の花芽分化に関する試験成績. 農及園. 34: 1125—1126.
19. 白石雅也・河野勝彦・能田秀樹・河瀬憲次・鈴木邦彦. 1986. 加温ビニルハウス栽培におけるウンシュウミカンの発芽および開花に対するビーエー液剤 (ベンジールアミノプリン) の効果的濃度について. 園学要旨. 昭61秋: 533.
20. 高木敏彦・鈴木鉄男・岡本 茂. 1983. ウンシュウミカンの果実着生ならびに内生ジベレリン様物質の関係. 園学要旨. 昭58春: 26—27.
21. 高原利雄・広瀬和栄・小野祐幸. 1983. 宮内伊予柑及びネーブルオレンジに対する冬期ジベレリン処理が着花に及ぼす影響. 園学要旨. 昭58秋: 26—27.