

ウンシュウミカンの早期加温栽培に関する研究

第3報 夏枝内の炭水化物、 α -アミラーゼ及びジベレリン様活性と花芽分化

矢羽田第二郎・大庭義材・桑原 実

早期加温栽培のウンシュウミカンについて、花芽分化期における夏枝結果母枝内の炭水化物含量の変化を調査し、 α -アミラーゼ及びジベレリン様活性との関連性を検討した。切り枝水挿し調査を行った夏枝では、10月下旬からわずかな着花が認められた後、11月下旬に着花数が急増した。夏枝内の炭水化物は、枝ではデンプン及び糖とも9月から11月にかけて直線的に増加したのに対し、葉ではデンプンが10月下旬に最も高くなった後、11月下旬には減少して糖が急増した。また、9月中旬から11月下旬まで、枝、葉ともに全糖中に占める還元糖の比率は低くなった。夏枝内の α -アミラーゼ活性は9月から11月にかけて高くなり、花芽分化期に結果母枝内で糖含量が増加するのに伴ってその活性も増大した。ジベレリン様活性は時期が遅くなるにつれてわずかに高まる傾向にあったが、明確な差は認められなかった。

[キーワード：ウンシュウミカン，早期加温栽培，花芽分化，炭水化物， α -アミラーゼ]

Studies on Growing of Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) in Early Heated Plastic House 3. Carbohydrates, α -amylase and Gibberellin-like Activity in Summer Shoots and Flower-bud Differentiation. YAHATA Daijiro, Yoshiki OBA and Minoru KUWAHARA (Fukuoka Agric. Res. Cent., Chikushino, Fukuoka 818, Japan) *Bull. Fukuoka Agric. Res. Cent.* 14: 129-132 (1995)

The changes in contents of carbohydrates and both α -amylase and gibberellin-like activity in summer shoots of satsuma mandarin trees in early heated plastic house were investigated during flower-bud differentiation period. In late-October a few flowers were observed in cut summer shoots which were dipped into water after defoliation and kept at 28°C for 10 days, then the number of flowers increased in late-November. Starch and sugar contents of stems increased steadily from mid-September to late-November. While starch content of leaves reached highest in late-October, after that starch decomposition and sugar accumulation were accelerated. α -amylase activity in summer shoots increased from September to November with sugar accumulation through flower-bud differentiation period, however, gibberellin-like activity did not increase markedly within the same period.

[Key words : Satsuma mandarin, Culture in early heated plastic house, Flower-bud differentiation, Carbohydrate, α -amylase]

結 言

ウンシュウミカンの早期加温栽培における安定生産には、加温後の発芽及び着花数の確保が重要である。しかし、加温を開始する11月下旬～12月上旬前後は生理的花芽分化期にあたり、花芽の形態的な識別ができないため、加温開始日の決定には結果母枝の着花予測を行うことが必要となる。施設栽培での着花予測や花芽分化については、秋季の低温や結果母枝内の炭水化物に関連して、これまでに多くの報告がなされている^{6,8,9,11,14,20}。

井上⁶⁾は、ウンシュウミカンの生理的な花芽分化が秋季の低温により進行することを明らかにし、早期加温栽培における着花数の確保には、25°C以下の積算温度で750°C以上に達することが必要であるとした。結果母枝内では、低温遭遇とともにデンプンや糖が蓄積されるため^{10,14,20}、炭水化物含量の多少も着花予測に利用でき⁸⁾、最近では近赤外分光法による簡便な分析手法も開発されている¹¹⁾。しかし、枝中の炭水化物含量は年次による差が大きく⁹⁾、前年の着果量などによっても変動し²¹⁾、デンプン、糖の代謝やそれに関与する酵素の働きも明らかにしていない。また、Garcia-Luis¹⁾はカンキツの着花生理について、炭水化物レベルと着花の関係は定量的なものではなく、植物ホル

モンの影響が大きいことを指摘しており、花芽分化の生理的な機構解明のためには、炭水化物、酵素及び植物ホルモンとの関連性を総合的に検討していく必要がある。

本報告では、早期加温栽培のウンシュウミカンについて、花芽分化期における夏枝結果母枝内のデンプンと糖の変化を調査し、 α -アミラーゼ及びジベレリン様活性との関連性についても検討を行ったので、その結果を報告する。

試 験 方 法

1 夏枝の切枝水挿し調査と加温後の着花数

ビニルハウス内に設置した幅2 m、深さ15 cmの根域制限ベッドに植えつけた14年生「宮川早生」(株間4 m、1樹当たりの土量1,800 t)を用い、1992年7月中旬に果実を収穫した直後にせん定を行って夏枝を発生させた。発生した夏枝を9月14日、10月26日及び11月30日に採取し、切り枝水挿しによる着花調査を行った。調査には4樹を供試し、高さ1～1.5 mの樹冠外周部より、長さ15 cm前後の夏枝を1回につき1樹から5枝、合計20枝を採取した。調査枝は摘葉後、先端3芽以外の芽を削り取り、BA剤(3% 6-ベンジルアミノプリン)の150 ppm液に先端部を浸漬した後に発泡スチロールに挿し、水を張ったポリ容器に入

れた。この容器を 28℃、3,000 ルックスの定温器内に置き、10 日後に発芽及び着花数を調査した。その後、12 月 7 日にハウスの加温を開始して BA 剤 75ppm 液を立木に全面散布し、開花期に発芽及び着花数を調査した。

2 夏枝内の炭水化物と α -アミラーゼ及びジベレリン様活性

切り枝水挿し調査と同様に夏枝を採取し、9 月 14 日、10 月 26 日及び 11 月 30 日に炭水化物含量と α -アミラーゼ及びジベレリン様活性の分析を行った。炭水化物の分析は、夏枝を枝と葉に分けて洗浄し、60℃で通風乾燥後に粉碎した試料を用いて行った。糖は 80%エタノールで 3 回抽出してソモギーネルソン法で還元糖を、また全糖は抽出液を 0.7N 塩酸で還元し、1 N 水酸化ナトリウムで中和後にソモギーネルソン法で定量した。デンプンは糖抽出後の残渣を過塩素酸で抽出し、フェノール硫酸法で定量した。 α -アミラーゼ活性の測定は勝見らの blue-value 法により、新鮮試料に 0.3%塩化カルシウム溶液を加えてポリトロンで粉碎抽出し、遠心分離後エタノールを加えて沈澱させ、これを 0.2%のアミロース溶液と 40℃で 30 分間反応させた後、ヨード・ヨードカリ液(ヨウ素 0.2%，ヨウ化カリウム 2%)を加えて 700nm で吸光度を測定した。なお酵素活性は、700nm の吸光度が 40℃で 30 分間に 10%低下した場合のアミロース分解量 (mg) を 1 Unit とした。ジベレリン様活性の分析は常法に従い、新鮮試料 2 g を 80%メタノールで抽出して遠心分離後、酢酸エチル及びリン酸緩衝液で精製して酸性酢酸エチル画分を得た。これを TLC で展開後に 50%アセトンで抽出し、ウニコナゾール処理を行ったイネの「短銀坊主」による生物検定を行った。なお、 α -アミラーゼ及びジベレリン様活性の分析には、採取後から -40℃で保存した試料を用いた。

第 1 表 切り枝水挿しを行った夏枝結果母枝の時期別着花数

処理時期	発芽率 (%)	結果母枝 100 節当たり				有葉花率 (%)
		発育枝	有葉花	直花	花計	
9 月中旬	78.3	81.7	0 a ¹⁾	0	0 a	—
10 月下旬	85.5	86.0	6.3a	0	6.3a	100
11 月下旬	98.3	60.7	85.7b	26.8	112.5b	76.2
有意性	NS	NS	**	NS	**	—

1) Tukey の多重検定により異文字間には 5%レベルで有意差あり

第 3 表 夏枝結果母枝内の時期別の炭水化物含量¹⁾

採取時期	枝				葉			
	デンプン (%)	全糖 (%)	還元糖 (%)	炭水化物計 (%)	デンプン (%)	全糖 (%)	還元糖 (%)	炭水化物計 (%)
9 月中旬	16.2a ²⁾	1.5a	1.4a	17.7a	19.8a	2.3a	1.7a	22.1a
10 月下旬	23.0b	3.1b	2.4b	26.1b	31.6b	1.8a	1.2a	33.4b
11 月下旬	25.7b	4.6c	2.8b	30.3b	24.6a	5.5b	3.1b	30.1b
有意性	**	**	**	**	**	**	**	**

1) 単位は試料の乾物重量%

2) Tukey の多重検定により異文字間には 5%レベルで有意差あり

結 果

1 夏枝の切り枝水挿し調査と加温後の着花数

夏枝結果母枝の切り枝水挿し調査の結果を第 1 表に示した。発芽節率は、9 月中旬が 78.3%，10 月下旬は 85.5%，11 月下旬は 98.3%で各時期とも高く、時期が遅くなるにつれて徐々に増加する傾向にあったが、有意な差ではなかった。9 月中旬の発生はすべて発育枝で、着花は認められなかった。10 月下旬も発育枝の発生が多かったが、有葉花が結果母枝 100 節当たりで 6.3 花と、わずかに着花がみられた。11 月下旬には発育枝が減少傾向となり、有葉花と直花数がそれぞれ 100 節当たりで 85.7、26.8 花、合計で 112.5 花となって着花が急増した。有葉花率は 10 月下旬が 100%，11 月下旬は 76.2%であった。ハウスの加温開始後の発芽及び着花数は第 2 表に示した。発芽節率は 87.3%，着花数は 11 月 30 日の切り枝水挿し調査の結果とほぼ同じ 119.8 花で十分な着花数であったが、ほとんどが直花であり、また発育枝の発生はなかった。

2 夏枝内の炭水化物と α -アミラーゼ及びジベレリン様活性

夏枝結果母枝の炭水化物の分析結果を第 3 表に示した。枝では、9 月中旬はデンプンが 16.2%，全糖が 1.5%で、ともに含量が少なかったが、10 月から 11 月にかけて増加し、11 月下旬にはデンプンが 25.7%，全糖は 4.6%に達した。葉も 9 月中旬はデンプン、全糖ともに少なかったが、10 月下旬にはデンプンが 31.6%と最も高くなり、その後、11 月下旬には 24.6%に減少した。全糖はデンプンとは逆に、10 月下旬が 1.8%で最も低くなり、11 月に入って 5.5%にまで急増した。また、枝、葉とも時期が遅くなるほど全糖中に占める還元糖の割合は低くなった。

夏枝の α -アミラーゼ活性の変化は第 4 表に示した。枝では、9 月から 11 月にかけて徐々に活性が高くなったが、41.0～44.5 の範囲で、変化程度は小さかった。葉内では酵素活性の変化が大きく、9 月中旬は 7.7 と活性がきわめて低かったが、10 月下旬には 2 倍以上の 18.2 に増加し、その後も 11 月下旬まで活性が高まった。しかし、調査期間中、葉よりも枝の方が常に 2～3 倍以上、酵素活性は高かった。GA₃様活性として換算したジベレリン含量は、9

第 2 表 加温後の発芽及び着花数¹⁾

結果母枝長さ (cm)	節数	発芽率 (%)	結果母枝 100 節当たり				有葉花率 (%)
			発育枝	有葉花	直花	花計	
14.3	9.1	87.3	0	6.6	113.2	119.8	5.5

1) 加温開始は 1992 年 12 月 7 日、調査は 1993 年 1 月 5 日

第4表 夏枝結果母枝内の時期別の α -アミラーゼ活性¹⁾

採取時期	枝	葉
9月中旬	41.0a ²⁾	7.7a
10月下旬	42.1b	18.2b
11月下旬	44.5c	21.7b
有意性	**	**

1) 単位は units/gFW

2) Tukey の多重検定により異文字間には5%レベルで有意差あり

月から11月にかけて1.5～1.8ngの範囲内であった。活性は、枝、葉ともに時期が遅くなるにつれてわずかに高まる傾向にあったが、明確な差ではなかった(第5表)。

考 察

カンキツの生理的な花芽分化期において、その分化程度を判定する方法としては、切り枝水挿し法^{5,8)}や摘葉高温処理^{6,14)}などがある。摘葉高温処理は、鉢植えの樹を全葉摘除後に25℃のファイトトロンに搬入する方法で、10日前後で発芽や着花が判定できる⁶⁾。しかし、鉢植え樹の使用が前提となるため、圃場に植えられている立木での調査には不向きであり、その場合は切り枝水挿し法が適している。切り枝水挿し法での問題点は、結果母枝の発芽が不良な場合に調査期間が長くなって枝が衰弱しやすく、発芽の多少が着花数に影響して花芽の分化程度が正確に把握できなくなることにある^{6,8)}。本試験では調査期間を短縮するため、水挿し直前の切り枝をBA剤に浸漬処理した。BA剤は、ウンシュウミカンのえき芽に対する発芽促進効果が高い¹⁸⁾。本試験での切り枝のえき芽の発芽は、9月中旬、10月下旬及び11月下旬の調査とも水挿しから10日後には80～100%前後に達し、着花数は結果母枝100節当たりでそれぞれ0、6.3、112.5花と明らかに有意な差が認められた。ウンシュウミカンのえき芽の花芽分化開始期は10月下旬であり、その後11月中下旬に花芽数が急増することがこれまでに報告されており^{6,20)}、今回の切り枝水挿し調査の結果はこれらの報告と一致した。また、12月上旬からハウスを加温開始した後の着花数が11月下旬の切り枝の着花数とほぼ同じであったことから、本試験では切り枝水挿し調査により夏枝結果母枝の花芽の分化程度を判定することができたと考えられる。BA剤処理による切り枝水挿し法は強制的に発芽を促進するため、えき芽の休眠程度の調査には利用できないが、高い発芽率を前提にすれば、花芽分化の進行を大まかに把握する方法としては有効である。しかし、11月下旬の切り枝の有葉率が76.2%であったのに対して加温後のハウスでは5.5%と低くなったことから、有葉率は正確には把握できず、あくまで総着花数の判定に限定すべきである。

カンキツの花芽誘導には一定値以上のデンプン蓄積が必要とされ¹⁾、樹体内の貯蔵養分が少ない場合には、翌年の着花数が減少する^{2,7,13)}。ウンシュウミカンの早期加温栽培においても、着花数の増加に伴って結果母枝内には炭水化物が蓄積される^{8,20)}。本試験でも、生理的な花芽分化期に結果母枝内の炭水化物が増加し、これまでの報告とほぼ一致した結果が得られた。特に、切り枝水挿し調査で着花

第5表 夏枝結果母枝内の時期別のジベレリン様活性¹⁾

採取時期	枝 (ng)	葉 (ng)
9月中旬	1.51 ²⁾	1.56
10月下旬	1.55	1.69
11月下旬	1.64	1.77

1) 試料新鮮重1g当たり

2) GA₃様活性として換算

数が顕著に多くなった11月下旬には、枝及び葉ともに糖含量が調査期間中で最も多くなり、特に葉内で急増した。宮本ら⁹⁾は、早期加温型のハウスミカンに関する調査で、着花の多かった年には枝中の可溶性糖類が著しく多くなったことを報告しており、また、中島ら¹¹⁾は結果母枝の糖含量と着花数の間に正の相関関係を認めている。今回の試験結果からも、早期加温栽培の加温開始期にあたる11月下旬前後の結果母枝内での糖の増加と本格的な花芽分化の進行には強い関連性が認められ、加温後の着花数確保のためには、全糖含量が枝、葉とも5%前後に達していることが目安になると考えられる。

また本報告では、秋季に結果母枝内で炭水化物が蓄積する際に α -アミラーゼの活性が高くなり、その活性レベルは枝の方が常に高いが、上昇変動の程度は葉内で大きくなることが明らかになった。Niiら¹²⁾は、モモの葉ではアミラーゼ活性の変動がデンプン含量の変化に対応しており、その活性が高い場合には葉のデンプンが減少して糖含量が多くなることを報告している。本試験では、葉内の糖含量は10月下旬に一旦減少した後、11月下旬に再び増加しており、 α -アミラーゼ活性の上昇傾向とは1ヵ月のズレを生じた。カンキツの樹体内の炭水化物の代謝には α -アミラーゼの他にも β -アミラーゼやインベルターゼ、ショ糖合成酵素など様々な酵素類が影響を及ぼしており^{15,16)}、 α -アミラーゼのみが樹体内の糖の変化に関与しているとは考えにくい。しかし、本試験では枝内の糖と α -アミラーゼ活性の増加傾向は一致しており、また枝及び葉ともに糖含量が最も多くなった11月下旬に α -アミラーゼの活性も最大となったことから、生理的な花芽分化期に結果母枝内での糖が増加する際には、 α -アミラーゼの酵素活性が増大してデンプンの分解に関与していると考えられる。

カンキツの花芽分化に対する内生ジベレリンの影響については、これまでに多くの報告がなされている^{4,10,14,17,19)}が、高木ら¹⁹⁾は、ウンシュウミカンの結果枝における翌年の花芽形成阻害はジベレリン様活性の増加に関係があるとし、後藤ら⁴⁾は、秋季の発育枝及び結果枝の茎葉内のジベレリン様活性には差がなかったとするなど、必ずしも一致した結論が得られていない。本試験では、生理的な花芽分化の進行している結果母枝内において、枝及び葉ともにジベレリン様活性の明確な変化は認められなかった。しかし、カンキツに対する秋季のジベレリン処理は、葉のデンプン含量を増加させ³⁾、また、展葉期のジベレリン処理は葉内のアミラーゼ活性を低下させる¹⁵⁾。花芽分化期の結果母枝内でのジベレリンの役割については、今後さらに検討する必要があるが、花芽分化の機構解明には芽の中の生理的変化を明らかにすることが重要であり¹⁾、えき芽及びその周辺における内生植物ホルモンや酵素類の局所的な変動について、明らかにしていく必要がある。

引用文献

- 1) GARCIA-LUIS, A. (1993) [岩堀修一訳, 1994] 柑橘の着花の生理. 農業および園芸 69 : 689-695.
- 2) GOLDSCHMIDT, E. E. (1982) The carbohydrate balance of alternate-bearing citrus trees and significance of reserves for flowering and fruiting. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 107 (2) : 206-208.
- 3) GOLDSCHMIDT, E. E., N. ASCHKENAZI, Y. HERZANO, A. A. SCHAFFER and S. P. MONSELISE (1985) A role for carbohydrate levels in the control of flowering in citrus. Scientia Hort. 26 : 159-166.
- 4) 後藤明彦・岩垣 功 (1992) ウンシュウミカン結果枝及び発育枝の葉, 茎及び果実の発育過程におけるジベレリン (GA) 様活性. 園学雑 61 (別1) : 58-59.
- 5) 細井寅三・大石 惇・岩佐映子 (1986) ウンシュウミカンの芽の活性の季節的変化とそれに影響する要因. 園学雑 55 (1) : 1-7.
- 6) 井上 宏 (1990) ウンシュウミカンの芽の休眠と花芽分化の温度条件. 園学雑 58 (4) : 919-926.
- 7) JONES, W. W., T. W. EMBLETON, E. L. BARNBART and C. B. CREE (1974) Effects of time and amount of fruit thinning on leaf carbohydrates and fruit set in valencia oranges. HILGARDIA 42 (12) : 441-449.
- 8) 川野信寿 (1987) ハウスミカンの生産安定と品質向上 (1). 農業および園芸 62 : 1393-1400.
- 9) 宮本久美・中屋英治 (1990) ハウスミカン夏枝の栄養と着花量の関係. 園学雑 59 (別1) : 20-21.
- 10) NAKAJIMA, Y., S. SUSANT and K. HASEGAWA (1992) Effect of Winter-chilling treatment on flower bud induction in young pumelo trees. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 61 (2) : 287-293.
- 11) 中島貞彦・柴田 萬・末次信行・藤田博行 (1991) カンキツ樹体管理のための近赤外分光法の利用. (第3報) ハウス栽培温州ミカンの新梢中の糖濃度の推定. 園学雑 60 (別2) : 46-47.
- 12) NH, N., M. KATO, Y. HIRANO and T. FUNAGUMA (1993) Starch accumulation and photosynthesis in leaves of young peach trees grown under different levels of nitrogen application. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 62 (3) : 547-554.
- 13) 大垣智昭・藤田克治・伊東秀夫 (1963) 温州ミカンの隔年結果に関する研究. (第4報) 体内成分の季節的変化について. 園学雑 32 (3) : 157-167.
- 14) プルワント, L.・井上 宏 (1989) ウンシュウミカンの生理的変化と開花誘導に及ぼす秋季の気温と地温の影響. 園学雑 58 (別2) : 80-81.
- 15) SANZ, A., C. M. CORTINA, and J. L. GUARDIOLA (1987) The effect of the fruit and exogenous hormones on leaf expansion and composition in citrus. Journal of Experimental Botany 38 : 2033-2042.
- 16) SCHAFFER, A. A., O. SAGEE, E. E. GOLDSCHMIDT and R. GOREN (1987) Invertase and sucrose synthase activity, carbohydrate status and endogenous IAA levels during Citrus leaf development. Physiol. Plantarum 69 : 151-155.
- 17) 朱向 栄・水谷房雄・松本和夫・井上 宏 (1988) 温度処理がウンシュウミカンのジベレリン様物質とABAの含量に及ぼす影響. 園学要旨 63 秋 : 50-51.
- 18) 朱向 栄・松本和夫・白石雅也 (1989) 6-Benzylamino purine (BA) の散布がウンシュウミカン (Citrus unshiu Marc.) のえき芽に及ぼす発芽促進効果. 園学雑 57 (4) : 578-584.
- 19) 高木敏彦・富安章子・松島美登里・鈴木鉄男 (1989) ウンシュウミカンの果実及び枝葉中のジベレリン様物質の経時的変化. 園学雑 58 (3) : 569-573.
- 20) 矢羽田二郎・大庭義材・松本和紀・津田勝男 (1990) 温州ミカンの早期加温栽培に関する研究. (第1報) 休眠・花芽分化に及ぼす低温の影響. 福岡農総試研報 B-10 : 57-60.
- 21) 矢羽田二郎・大庭義材・松本和紀 (1993) 施設栽培で根域制限を行ったワセウンシュウの果実品質と収穫後の生育に及ぼす葉果比の影響. 園学雑 62 (別2) : 84-85.