

第1章 緒言

果樹栽培において開花期や果実肥大初期における春先の低温は、果実生産に深刻な被害を与える。霜害とは、夜間から早朝にかけて急激に温度が下がることによって生ずる農作物の被害のことであり、植物生理学的には低温による細胞の凍死によるものである。春季に起きる霜害を晩霜害といい、秋季のものを初霜害または早霜害という。果樹栽培の適地を選定する際の措置として、その土地の年平均気温が適当であり、また果実が成熟するのに必要な積算温度が十分に恵まれていても、発芽期または開花期前後に襲う異常低温、すなわち晩霜の発生の有無が重要な点になる。霜害による作物の被害は、わずかな地形、建造物などの地物の影響で著しい差がでる場合が多い。放射冷却により地面が冷却すると、地面付近の気温が上層の気温より低い逆転型の温度分布になり、重たい冷気は滞留しやすく、くぼ地などでは被害が著しくなる(内島、1986)。したがって、栽培適地の選定は十分吟味する必要がある。茨城県においても過去、晩霜害がたびたび発生し、ニホンナシの生産に大打撃を与えている。1987年の幸水では56.7%の花器が傷害を受け、1989年には20%のくず果が発生した(関東農政局茨城統計事務所、1990)。花が被害を受けると落花し、着果したものでも奇形果の発生や品質低下により商品性が無くなってしまう。

植物は季節やその生育段階によって低温耐性(hardiness)が変化するとされており、ニホンナシを含む果樹では花蕾期や開花期、そしてその後の幼果結実期が低温に

対して感受性が強い(小林、1985)。したがって、降霜時における傷害発生の有無は、果樹の生長周期と深い関係があるといえる。そのため、霜害を受けやすい果樹の種類や品種は固定されたものではなく、また栽培地によっても左右される。一般的に発芽や開花の早いものほど霜害を受ける確率が高い。農家における実際の生産現場においては、低温による開花期の花、および果実肥大初期の被害が晩霜害の主たるものである。その被害時期を回避することやその軽減対策は、果樹園芸において重要な課題である。

植物は自然条件下では、秋から冬にかけて低温にさらされることにより低温耐性を高めていき(ハードニング、hardening)、反対に温度の上昇とともに獲得した低温耐性を失っていく(デハードニング、dehardening)。植物の低温耐性を理解する上で、その過程における代謝の変化やその制御機構、また環境要因との関係などを明らかにすることが重要である。そこで本研究では、まず自然条件下でニホンナシ'幸水'の低温耐性に関係すると考えられる、内生物質の消長について検討を行った。次に低温耐性と植物内の水分状態との関係を解明するために、季節の変化に伴う低温耐性と水分含量の変化を測定した。

凍結障害の要因として、細胞外の氷晶形成による水分ストレス(第1図)が挙げられる。氷晶形成は細胞外の水ポテンシャルを下げ、細胞は脱水ストレスをうける。細胞外凍結による脱水の程度は、凍結温度と細胞内の浸透濃度に依存し、温度が低いほど細胞はより大きな脱水ストレスを受ける(吉田、1999)。一方、細胞外凍結

(extracellular freezing)による脱水があまり進まないうちに細胞が急速に冷却されると、細胞内が凍結する。この現象を細胞内凍結(intracellular freezing)といい、細胞内凍結を起こした細胞は生存できない。ハードニング中の低温耐性の増大と対応して細胞の浸透濃度が高まるといわれている(酒井、1982)。浸透圧を調節する溶質としては糖やアミノ酸、またそれらの関連物質が考えられ、本研究では溶質の種類およびその量について調査した。

糖はハードニング過程に蓄積し、それに平行して細胞の浸透濃度が増加する。細胞は凍結する際、まず原形質分離した後、次第に凍結脱水されるが、これらの物質は細胞内の濃度を高めるので凍結脱水の程度が緩和される。このように糖や糖アルコールは高い凍結防御効果を示す一方、プロリンを含む遊離アミノ酸も糖とともに凍結防止剤としての機能がある(Withers・King、1979)。また植物細胞は水分の急激な減少などのストレスに対して、大量の糖(Sasakiら、1998)やプロリンなどのアミノ酸を合成する(Bohnertら、1995)ことも知られており、アミノ酸プールをつくることにより浸透圧調節を行っているものと考えられる。黒田ら(1991)は、低温耐性と過酸化代謝とが密接に関係していることを報告している。活性酸素消去物質としてトコフェロールやアスコルビン酸などが機能するが、またポリアミンも活性酸素を消去する可能性があると考えられている(Larcher、1999 ;佐治、1999)。ポリアミンはアミノ基を2つ以上持つ直鎖の炭化水素で、生体内に普遍的に存在し、核酸の安定化、タンパク質合成の活性化、物質の膜透過性の促進などの多彩な生理機能を持つ

とされており、さまざまなストレス条件下において増加し、植物のストレス耐性にも関与していると考えられている。しかしストレス耐性におけるポリアミンの作用機構についてはまだよくわかっていない。

一方、これまでストレスに関与する植物ホルモンとしては、アブシシン酸(ABA)が広く研究されている。ABAはワタの実の離層形成や樹木の芽の休眠を促進する物質として発見され、蒸散の抑制、老化促進など生長抑制ホルモンとしての作用が解明されてきた。またABAは、水ストレスや低温ストレスなどの環境ストレスに対する植物の耐性に関わっていると報告されている(近藤、1994)。しかしそのようなストレス耐性に対するメカニズムには現在においても不明な点が多い。植物が低温にさらされることにより、低温耐性を獲得するハードニングについては、以前から数多く報告されており、ABAの関与が示唆されている。例えばシロイヌナズナのハードニングとABA含量には相関がみられ、内生ABA含量を増加させることが知られている乾燥処理によっても低温耐性が高まった(Langら、1994)。さらに低温処理の代わりにABA処理によって低温耐性を獲得することが、シロイヌナズナやbromgrass(チャヒキ)で知られている(Taninoら、1990; Ishikawaら、1995; Mantylaら、1995)。しかし、植物の低温耐性獲得および消失の機構や植物の凍結機構、また凍結障害の機構については解明されていない部分が多い。

晩霜害による凍結傷害の詳細を知るためには、シミュレーションをしてその発現様式を明確にする必要がある。植物の凍結を計測する方法には、熱電対などを用い

た示差熱分析法(Ashworthら、1985a, b ; Kangら、1998; Quammeら、1972、1995)や顕微鏡による観察(Quamme、1978 ; Ashworthら、1989)が以前から行われており、最近になって赤外線サーモグラフィ(infrared video thermography)やNMR sepectrometry(核磁気共鳴分光法) を使った観察(Priceら、1997a、 b ;Ishikawaら、1997、2000)などが行われてきている。これまでの研究報告では、植物の凍結機構、また凍結傷害の機構についてシミュレーションする際、凍結試験後の傷害の様子からその傷害過程の全体像を推論してきた。しかし、赤外線サーモグラフィは凍結時の潜熱の放出を計測でき、植物表面の温度のみであるが非接触で測定できるため、機器計測としては有効であると考えられる。これまで本機を用いてモモ、リンゴ、セイヨウナシ(Wisniewskiら、1997)やクランベリー(Workmasterら、1999)、クロフサスグリ(Carterら、1999、2001)における報告はあったが、ニホンナシについての知見は全く無かった。本研究では赤外線サーモグラフィを使用して、ニホンナシの花器における凍結の過程を観察した。

氷核活性(ice nucleation activity)を持つ物質に関する研究の歴史は長く、初めに氷核活性を持つことが報告されたヨウ化銀(Vonnegut、1947)は人工降雨のための氷核として用いられている。その後様々な氷核活性物質が報告され、自然界における氷核活性についても明らかになってきた。霜害に氷核活性細菌が関わっていることが明らかになったのは、比較的最近のことである(Schnell・Vali、1972)。その後ハンノキの落ち葉から単離された*Pseudomonas syringae*が、-1.8~-3.8°Cで氷核活

性を示す氷核細菌であることが確認され、氷核細菌が霜害に大きく関わっていることが明らかにされてきた(Ashworth、1992；荒田、1998)。氷晶の形成は凍結傷害の前提条件であり、植物が氷点下での生存するために避けることができない過程であり、低温耐性において重要な機構である(Rodrigo、2000)。低温耐性がある植物は、細胞や組織にとって致命的な細胞内凍結を避けるために、その種や器官、組織ごとに特徴的な凍結様式を持っている(Ishikawa・Sakai、1981)。この凍結様式を制御することは植物における低温耐性の重要な機構である。植物において氷晶を形成する要因の一つは氷核活性細菌であるが、最近になって低温耐性のある植物は細胞壁や細胞内に氷核形成物質を持っている可能性が示唆されてきた。非細菌性の氷核活性がモモの枝(Ashworth、1985a；Grossら、1988)、ツツジの鱗片(Ishikawaら、1992；Ishikawaら、2000)、冬コムギの葉(Brushら、1994)の組織において報告されている。氷核形成の要因としては植物の内生的要因および表面に着生している細菌などの外生的要因の両方が考えられており、越冬する植物において観察された氷核活性はそれらを合計した氷核の形成しやすさとして表されている(Brushら、1994)。しかし、植物組織における氷核活性には未解明な部分が多く、またニホンナシの凍霜害と氷核活性との関連を報告した例は無いため、ニホンナシの花芽および花器における氷核活性を調査する必要がある。

一方、晩霜による被害を回避するためには、発生の可能性がある危険地帯での栽培を避けることや、低温耐性が強く、開花期が降霜時期と重ならず晩霜の被害にあい

にくい果樹や品種を栽培するなどの栽培的対策がまず挙げられる。また最近では気象予報技術の進歩や局地的冷却現象の解析法の発達(高山ら、1999)により、数日前から霜害発生の予報をもとに気象的防除技術として寒冷紗による被覆、ファンによる送風やスプリンクラーによる散水(氷結法)、また燃料を燃焼させることなどの微気象の調節による防止法が一般的に行われている。被覆法は作物体を被覆することにより、被覆内気温の低下を防ぐとともに、被覆内作物の放射冷却を防止することを目的とした方法である。経営面積の大きい諸外国に比べ、被覆労力に難点はあるが、我が国の果樹栽培において非常に有効である。

凍霜害の発生時には一般的に放射冷却が強まり、気温は急速に低下していく。このような条件下では気温の逆転層が形成され、樹冠付近と地上10m付近では3~4°Cの温度差ができる。そして花器や葉温はその周囲の気温よりもさらに1~2°C低くなりやすい(小中原、1988)。送風法は上層の暖気を攪拌混合し、樹冠付近の温度を暖める方法である。しかし、ファンによる送風は著しい低温の際に周囲の空気の温度以上には植物の温度を上げることはできない。散水氷結法は水が結氷する際に1gにつき80calの潜熱を放出するのを利用して、スプリンクラーにより連続的に散水する方法である。理論的にはきわめて優れているがスプリンクラーの設置はコストが非常にかかり、また散水する水の量も莫大となり実用例はあまり多くない(Nesbittら、2000)。燃焼法は、(1)燃料を燃焼させて気温を暖め、また(2)熱源から発生する放射エネルギーを直接植物体に吸収させて体温を暖める、2つの面を期待して行わ

れる方法である。しかし、一般的に行われていた古タイヤの燃焼は、経済性や環境面から今後は難しいとされる。

このように以前から凍霜害の防止には数々の施策が為されてきたが、晩霜の発生は自然現象であるために完全に防ぐことは困難な場合が多い。そこで植物成長調節物質による被害の軽減を目的とした研究も行われている。例えば、晩霜害発生後、ジベレリン処理によって単為結果できることも明らかになっている(猪俣ら、1992)が、生産される果実は品質が悪く、一部には生理障害も発生してしまう。

一方、植物成長調節物質の一つであるジャスモン酸(jasmonic acid)は、植物界に広く分布し、低濃度でABAと似た作用を持ち最近注目を集めている(Sembdner・Parthier、1993; Creelman・Mullet、1997a, b; 竹内・禿、1997)。ジャスモン酸はニガヨモギの莖葉部よりジャスモン酸メチルエステルが単離、同定され芳香成分

として親しまれ、その後植物におけるジャスモン酸、およびその関連化合物の生理作用が明らかにされてきた。ジャガイモ塊茎における細胞伸長作用(Takahashiら、1994)やソラマメ種子の生長抑制(Datheら、1981)、オートムギ第一葉におけるクロフィル分解(Uedaら、1981)、ゴガツササゲにおける離層形成の促進(上田、1995)、トマト果実のエチレン生成の促進(Saniewskiら、1987ab)などが挙げられる。また傷害刺激の伝達シグナル物質として役割も報告されており(Seoら、1997、1999)、植物の生理現象に深く関わっていることも明らかにされつつある。このように植物ホルモンなどの植物成長調節物質は、農業分野において生産性および品質の向上の目的

で、近年広く利用されるようになってきており、果樹生産の発展にも大いに役立っている。

ジャスモン酸は上述したようにABAと似た生理作用を示し、また傷害ストレスに対する応答にも関わっているため、低温によるストレスに対しても有効に働く可能性がある。ズッキーニへのジャスモン酸のメチルエステル体であるジャスモン酸メチル処理は低温障害を緩和し(Wang・Buta、1994; Gonzalez-Aguilarら、2000; Dingら、2001、2002)、*n*-Propyl dihydrojasmonate(PDJ)処理したカンキツでも低温による落葉や果実の落下が緩和されている(Fujisawaら、1997)。ジャスモン酸の処理により内生ABA含量が増加することもズッキーニ、カキ、モモ、ブドウなど果実で認められている(Wang・Buta、1994; Gemmaら、1998; 小橋、1998; 東川、1998)。このようにジャスモン酸がABAを介して低温ストレスに対し関与している可能性があり、低温耐性獲得の機構にも関与する可能性が考えられた。そこで本研究はジャスモン酸処理による晩霜害回避が可能であるかどうかについても検討した。

以上のように第2章ではハードニング・デハードニング過程における低温耐性の変化と物質変化を検討し、第3章ではニホンナシ‘幸水’の花器および幼果の低温耐性に言及して、第4章ではニホンナシ‘幸水’花芽、花器の凍結様式を調査した。これらは植物のストレス耐性について重要な知見を提供し、植物の低温耐性の獲得機構における研究の進展に対しても寄与し得ると考える。さらに第5章では晩霜害防止法の一つとして、ニホンナシの低温耐性におけるジャスモン酸の作用機構を

解明しようとした。そして果樹栽培の現場において重要な課題である晩霜の回避についてもジャスモン酸が有効な手段になり得ると思われる。また、ジャスモン酸-ABA-低温耐性の関係を検討することは、植物のストレスに対する反応機構を解明する上での一助になり得ると考えられるので、この点についても検討した。

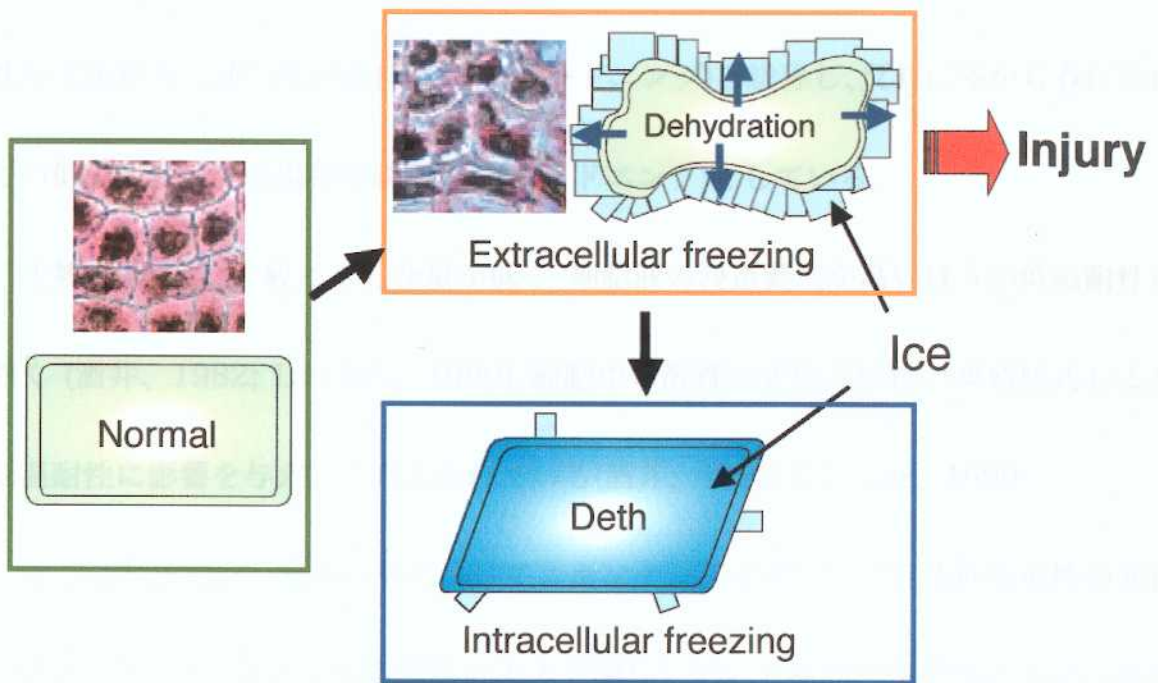


Fig. 1. Freezing events in plant cells.