

第2章 ニホンナシ ‘幸水’ のハードニング・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

2-1 緒言

植物は季節やその生育段階において低温耐性が変化するとされており、秋から冬にかけて低温耐性を著しく高めていくが、それに対応して代謝系や細胞の構造、および成分が著しく変化する(酒井、1982; Larcher、1999)。秋から冬にかけての低温耐性増大を伴う一連の変化を低温順化(ハードニング)と総称し、反対に冬から春にかけての低温耐性減少の過程を脱順化(デハードニング)としている。

生物の多くは、一般に水分含量が低く、細胞液の浸透濃度が高いほうが低温耐性が強く(酒井、1982; Larcher、1999)、細胞中の溶質の変化が植物の凍結様式および低温耐性に影響を与えると考えられている(酒井、1982; Larcher、1999)。

そこで本研究は、秋から春にかけてニホンナシ ‘幸水’ における低温耐性の変化の調査を行った。さらに低温耐性に大きく関与している植物の凍結様式を調べるために、花芽の水分含量、糖、アミノ酸などの溶質、および低温耐性に関係するといわれる植物ホルモンであるABA(Guyら、1992 ; Langら、1994 ; Mantylaら、1995)の変化について検討した。

2-2 ニホンナシ ‘幸水’ のハードニング・デハードニングにおける低温耐性の変化

2-2-1 材料および方法

ニホンナシ ‘幸水’ の成木を用いて、冬から春にかけて低温耐性の変化と水分含量との関係を調査した。筑波大学農林技術センター栽植の20年生ニホンナシ ‘幸水’ 成木から、1999年2月1日よりほぼ2週間ごとに発育枝を採取した。花芽を切り取った後、節部分を除き1cm長に切りそろえ、枝を縦に4分割し、ジン皮部(bark)と材部(wood)に分離した(第2図)。

試料をアルミホイルで包み、5°C、0°Cでそれぞれ30分ずつ予冷した後、5°C/hの冷却速度で冷却し、1時間ごとに試料を取り出しながら、最終温度の-20°Cまで試験を行った。凍結試験はエタノールを張った水槽に投げ込み式のパイプヒーター(B型投げ込みヒーター、八光電気製作所)、クールパイプ(cool pipe EC-80、TOKYO RIKAKIKIKAI)およびサーモスタット(SR-31、YAMATO)を設置して温度を調節して行った。障害をうけた細胞は、細胞内のイオンやアミノ酸が溶媒中で拡散するので、組織を水で浸出し、その液の電気伝導度を測定して組織の相対的な被害度を知ることができる(Dexterら、1932 ; Lim・Arora、1998; Pellet・Heleba、1998)。そこで凍結試験を終えた試料は氷水中で融解し、その後5°Cで一晩おいた後の電解質漏出率を測定して被害の大きさ、すなわち低温耐性の程度を評価した。電解質漏出率を求めるため、その後5°Cで一晩おいた後の試料に蒸留水20mlを加え、24時間後、電気伝

導度計(CM-30ET、東亜科学)で浸出液の電解質漏出量(C1)を測定し、さらに30分間煮沸して組織を崩壊させてから一晩おき、再び浸出液の電解質漏出量を測定した(C2)。電解質漏出率(ion leakage)は次の式により求めた。

$$\text{電解質漏出率(\%)} = C1/C2 \times 100$$

水分含量は採取した試料の生体重(FW)を測定後、60°Cのオーブンで3日間、乾燥させて乾物重(DW)を測定し両者の比より求めた。

$$\text{水分含量(\%)} = (FW-DW)/FW \times 100$$

電解質漏出率の測定は6芽、水分含量の測定は3芽ずつ行った。

また同様に2000年10月から2001年4月まで花芽(第2図)を採取し、試料とした。5°C、0°Cでそれぞれ30分ずつ予冷した後、2°C/hの冷却速度で-5、-10、-15、-20°Cまで冷却した。設定温度に達した時点で、それぞれ氷水中で30分間、ゆっくりと融解し、5°Cで一晩おいた後、同様に電解質漏出率を測定した。測定はそれぞれ5芽ずつ行った。

2-2-2 結果および考察

1999年の冬季から春季にかけての気温の変化を第3図に、デハードニング中のニホンナシ‘幸水’の発育枝から採取した花芽、ジン皮部、材部における電解質漏出率の経時的変化を第4、5図に示した。花芽においては、本実験の最低温度である-20°Cに遭遇させた区で、気温が上昇し始める3月に入ると電解質漏出率が大きくなり、そ

の後3月中旬に入ると急激に増大した(第4図)。そして比較的0度に近い氷点下の温度区においても、低温の区から順に電解質漏出率が増大する傾向を示した。特に4月21日の満開日以降の花芽では、比較的高い低温である -5°C に遭遇しても漏出率が非常に大きかった。

ジン皮部においては花芽と同様に、3月中旬において最も低い温度である -20°C に遭遇した区が大きくなり、遅れて -15°C に遭遇した区でも増大し始めた(第5図-A)。しかし、それ以下の温度では花芽ほど顕著な増大傾向は無かった。

材部においては測定を開始した2月上旬から、電解質漏出率がわずかに増大する傾向を示した(第5図-B)。その傾向は温度が上昇し始めた3月に入っても変わらず同様の傾向であり、花芽に比べて急激に漏出率が増大するようなことはなかった。

水分含量の経時的変化を第6図に示した。測定開始後、まずジン皮部において2月中旬にやや増加する傾向がみられたが、3月以後はジン皮部はほぼ横這いの傾向であった。花芽においてはジン皮部に遅れて3月上旬より急激な増加がみられ、花の開花する4月の中旬までその増加が続いた。一方、材部においては水分含量は3月中旬まではあまり変化はみられず、その後若干減少する傾向を示した。

以上のように電解質漏出率からみた低温耐性を比較すると、気温が上昇を始める以前である2月においてはジン皮部が最も低温耐性が弱く、材部は2月初めから低温耐性が弱くなる傾向を示した。気温が上昇しデハードニングし始めると、花芽の低温耐性は急激に弱くなり、ジン皮部、材部の低温耐性の消失は花芽に比べると穏やか

であった。そして開花期では花芽が最も低温耐性が弱く、晩霜によって花芽が最も被害を受ける確率が高いことと一致した。

2000年度におけるハードニング～デハードニング間の花芽の低温耐性の変化を第7図に示した。10月中旬においては -5°C の低温でも若干の傷害がみられ、 -10°C 以下では著しく電解質漏出率が高く、低温による傷害をうけた。その後気温が低下するに伴い植物がハードニングするにつれて、凍結試験後の花芽の電解質漏出率は低下していき、12月には -20°C の低温遭遇後も傷害の様子は見られなかった。その後翌年の3月中旬まで高い低温耐性を保った。その後、気温が上昇するに伴いデハードニングが始まり4月になると再び電解質漏出率が上昇し始め、低温耐性の低下が確認された。

花芽の水分含量および生体重、乾物重の経時的变化を第8図に示した。ハードニング中の低温耐性の増大がみられた時期に水分含量が若干減少していた。その後2月より増加の傾向がみられ、花の開花する4月までその急激な増加が続いた。乾物重はハードニング～デハードニングを通して増大した。

一般的に植物は厳冬期よりも気温が上昇し、代謝活性が活発になるにつれて低温に対する耐性が無くなっていく。ニホンナシについては、Liaoら(1996,1997)が‘二十世紀’において花の生長ステージと低温耐性の関係について報告している。これによると花芽の低温耐性は1,2月が最も高く、花芽が膨らみ始める3月ごろから低温耐性が失われはじめ、鱗片が脱離し開花すると急激に低温耐性が失われると報告し

ている。今回のニホンナシ‘幸水’における試験でも同様の傾向がみられ、気温が上昇し始める3月に入り、芽における代謝活性がしだいに活発になると急激に低温耐性が弱まった。特に花が開花した以降では、0℃でも著しい被害を受けた。花芽における電解質漏出率の経時的变化と水分含量の変化を比較すると、その上昇し始める時期がほぼ一致しており、生体内における水分含量が低温耐性と関係していることが今回の実験においても示唆された。カキにおいてKangら(1998)が報告しているように、芽における水分含量は芽(新梢)の伸長量とほぼ対応しており、ニホンナシ‘幸水’においても芽の伸長生長が始まり、水分含量の増加とともにすみやかに低温耐性が失われることが確認された。

しかし、ジン皮部、材部においては花芽に比べ、水分含量と低温耐性の間に明瞭な関係は確認できなかった。今回の実験において、ジン皮部の水分含量の増加は花芽より早い時期に起きたが、低温耐性が失われ始めるのは花芽に遅れて起きており、水分含量の増加と低温耐性の低下の間に時間的なズレが生じている。また、材部においては低温耐性は測定開始時の2月上旬より穏やかに失われつつあるが、水分含量はほぼ一定の傾向であった。クリにおいて枝水分および木部圧と芽の低温耐性の関係(堀本・荒木、1999)が報告されており、枝の水分あるいは導管水の増加が凍害を誘発する要因であることが示唆されている。したがってニホンナシ‘幸水’においても、同様に枝の水分増加が、芽における低温耐性との減少の要因となっているとも考えられ、さらに落葉樹においては、落葉後の水分上昇はもっぱら根圧によるものと予

想される(Sperryら、1987)ので、根の吸水の開始時期を測定することが、低温耐性の減少時期や春季における低温耐性の強さを判定するための有効な指標になり得るかもしれない。

デハードニングにおいて花芽の水分含量が、低温耐性に大きく関わっていることが確認できたが、水分含量の大きな変化はみられず、ハードニングにおいては測定開始から低かった。Ishikawa・Sakai(1985)はチョウセンアザミの塊茎について低温耐性の変化を調査しているが、低温耐性の増大過程において水分含量はあまり変化しなかったことを報告している。そのためデハードニング時とは異なり、通常の露地で栽培においてニホンナシ花芽の水分含量は低温耐性の獲得にそれほど影響しないのかもしれない。

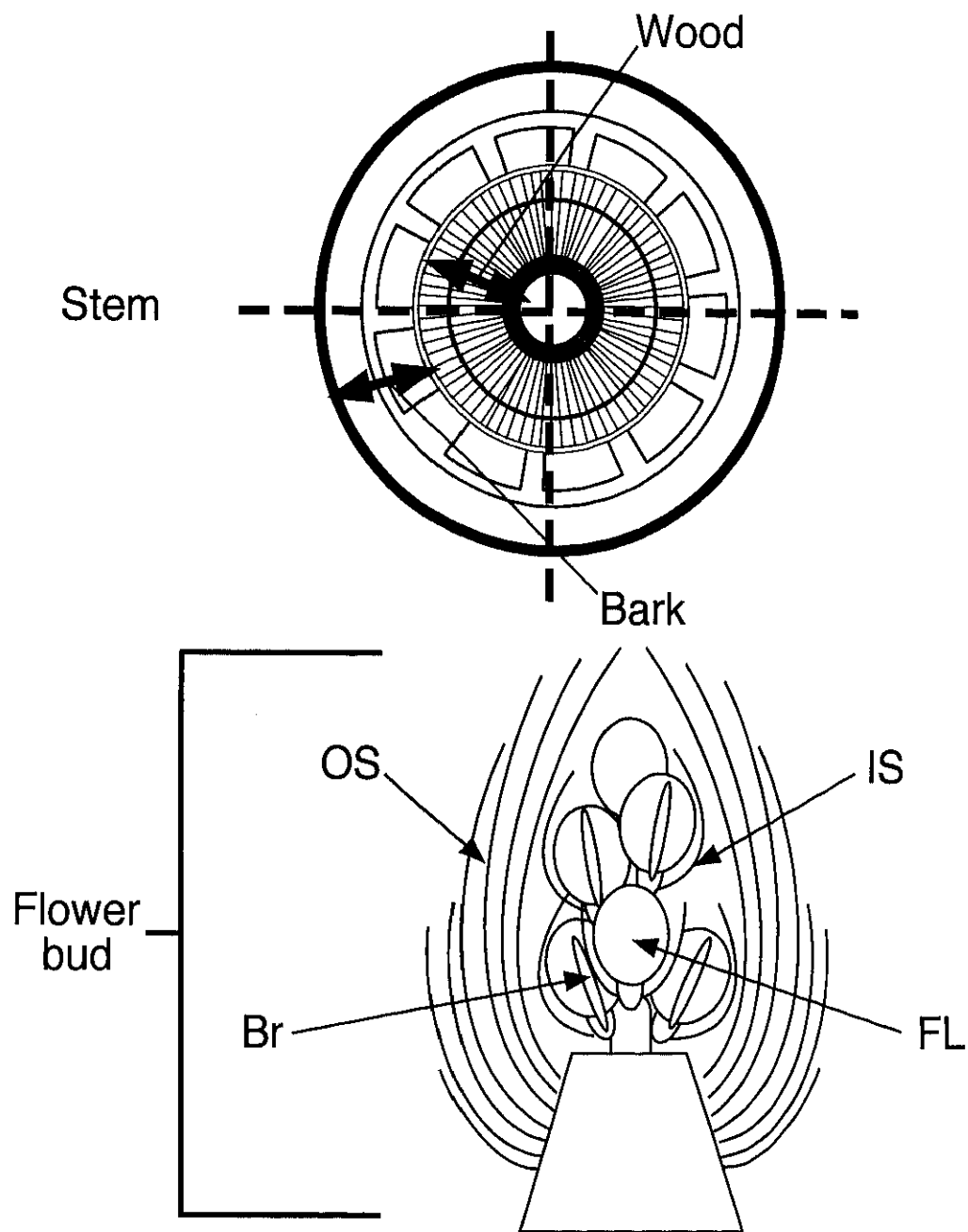


Fig. 2. Diagram of stem(upper); bark and wood tissues, and flower bud component organs(lower); outer scale(OS), inner scale(IS), floret(FL) and bract(Br) of 'Kousui' Japanese pear.

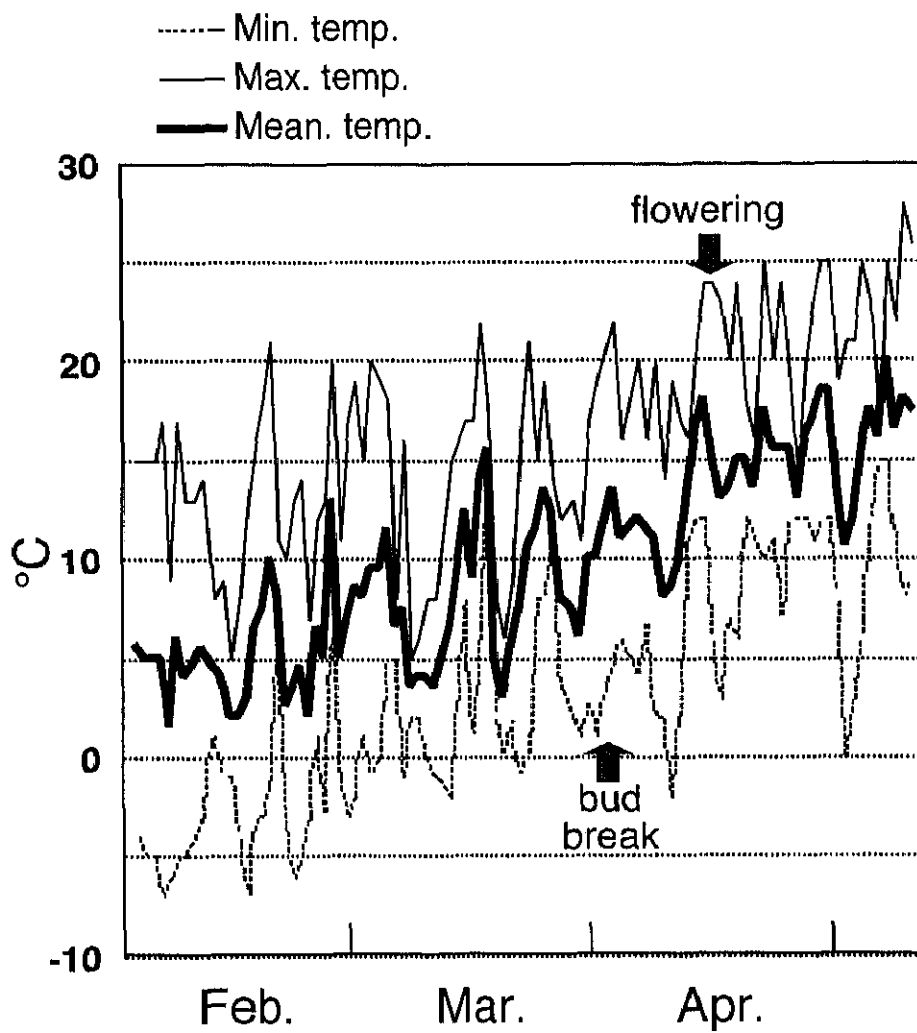


Fig. 3. Change in air temperature during the experiment in 1999.

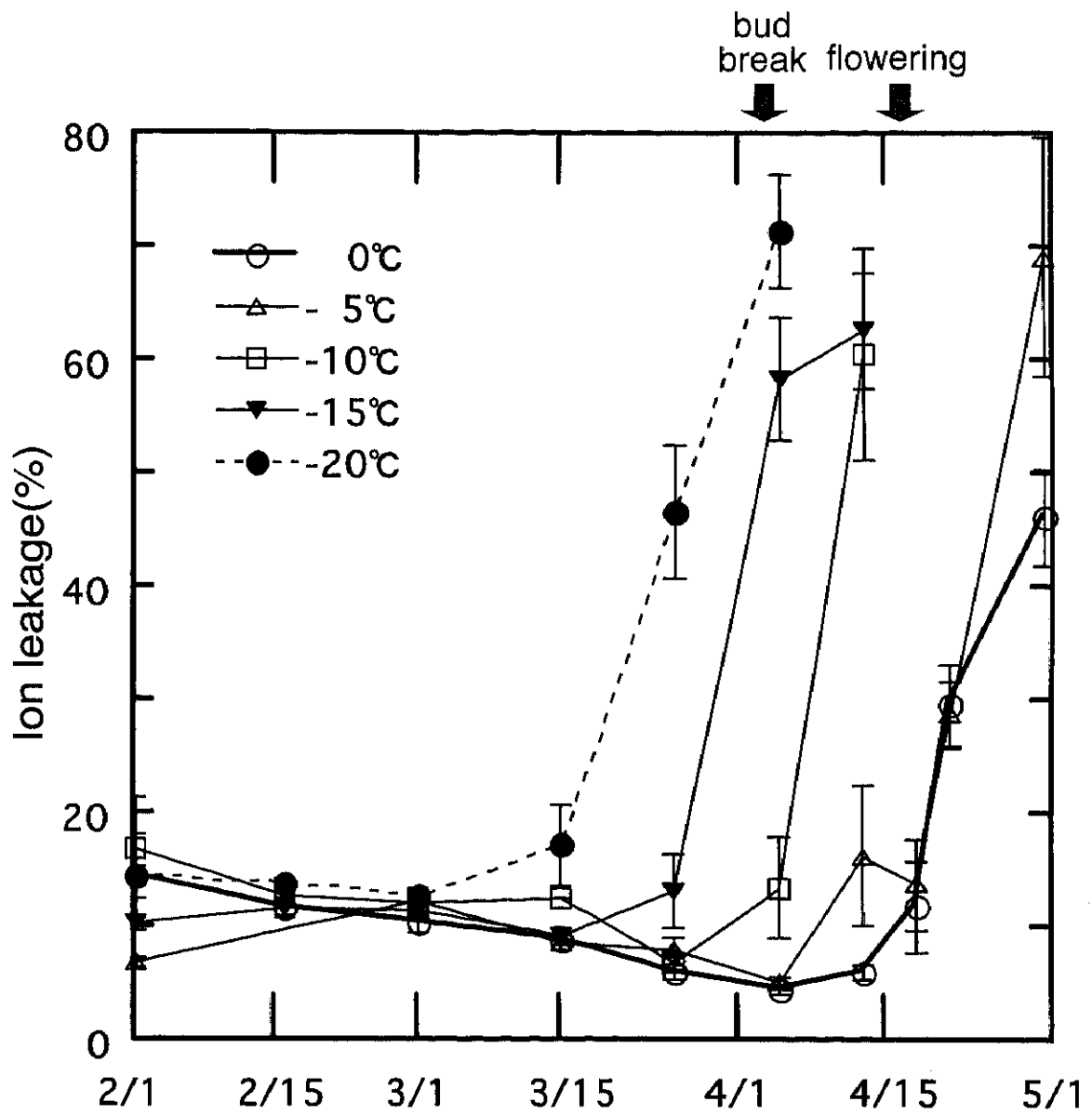


Fig. 4. Change in cold tolerance of flower bud of 'Kousui' Japanese pear during dehardening as expressed by ion leakage in 1999. Vertical bars represent standard error (S.E., n=6)

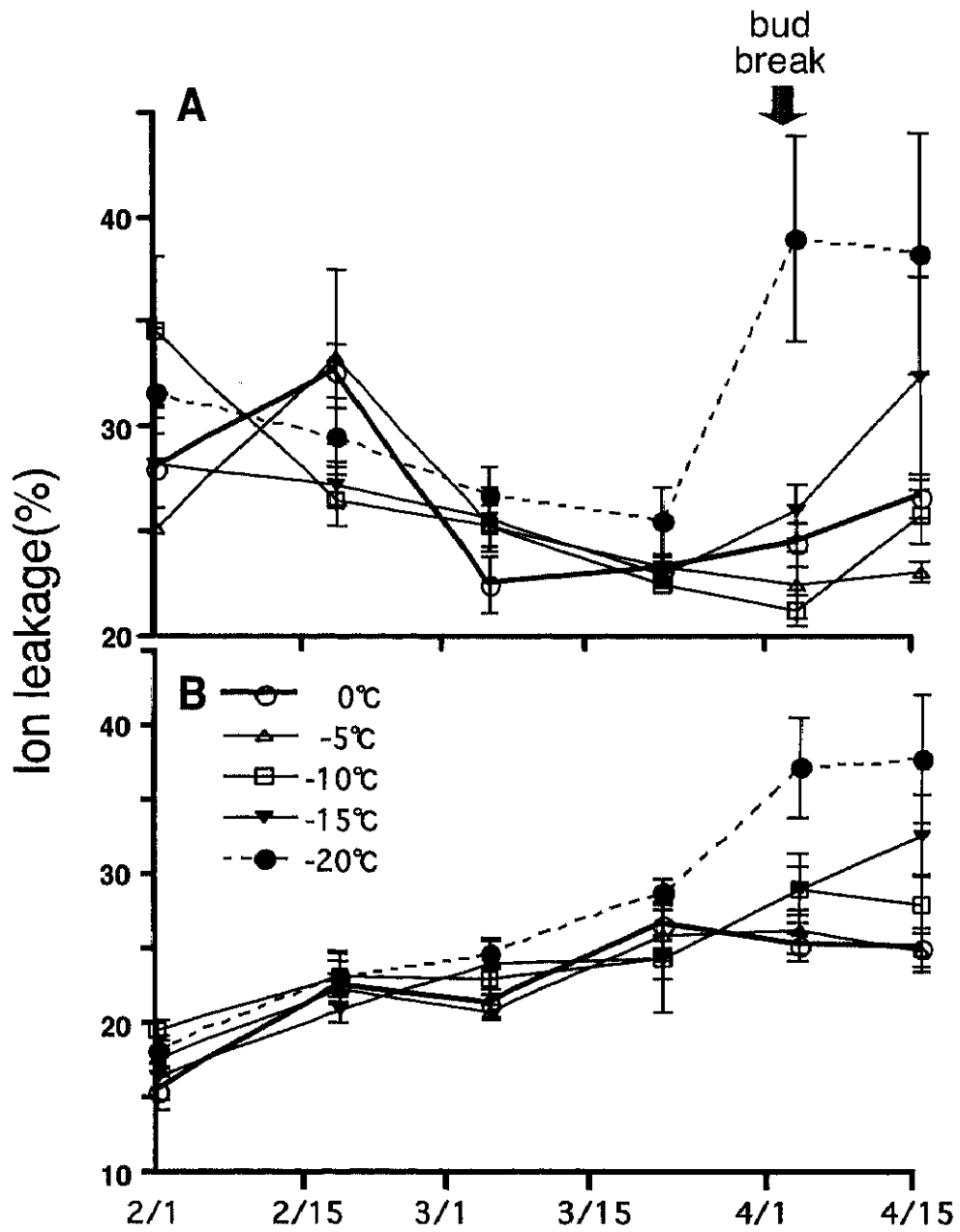


Fig. 5. Change in cold tolerance during dehardening of bark(A) and wood(B) in a stem of 'Kousui' Japanese pear as expressed by ion leakage in 1999. Vertical bars represent S.E. (n=6)

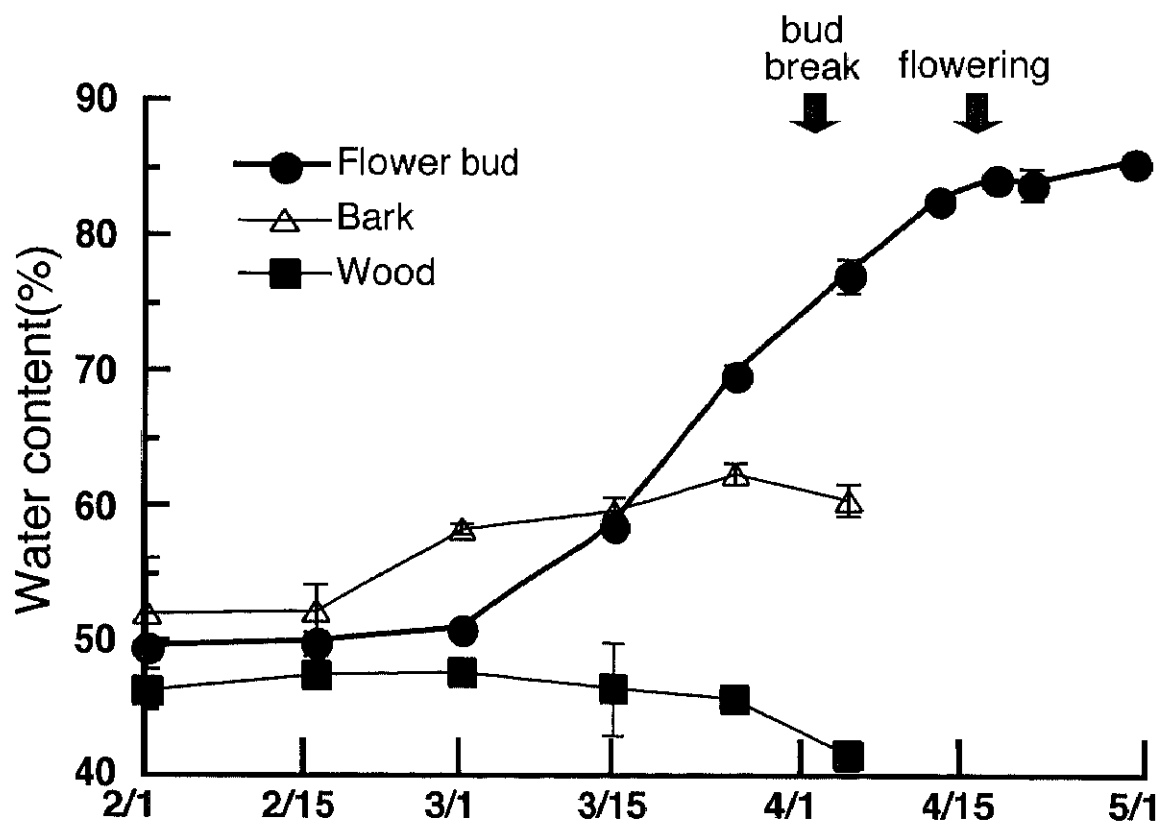


Fig. 6. Change in water contents in flower bud, bark and wood of 'Kousui' Japanese pear in 1999. Vertical bars represent S.E. (n=3)

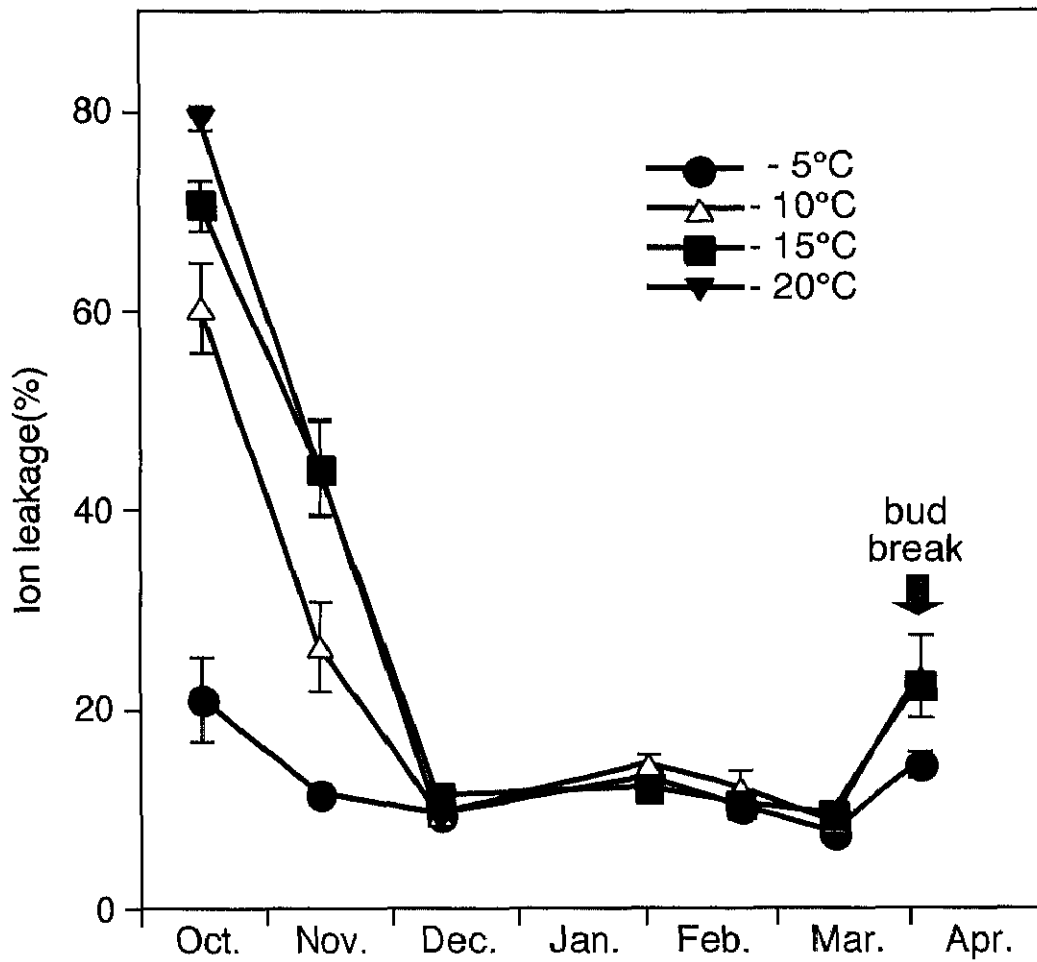


Fig. 7. Change in cold tolerance during dehardening of flower bud of 'Kousui' Japanese pear as expressed by ion leakage in 2000-2001. Vertical bars represent S.E. (n=5)

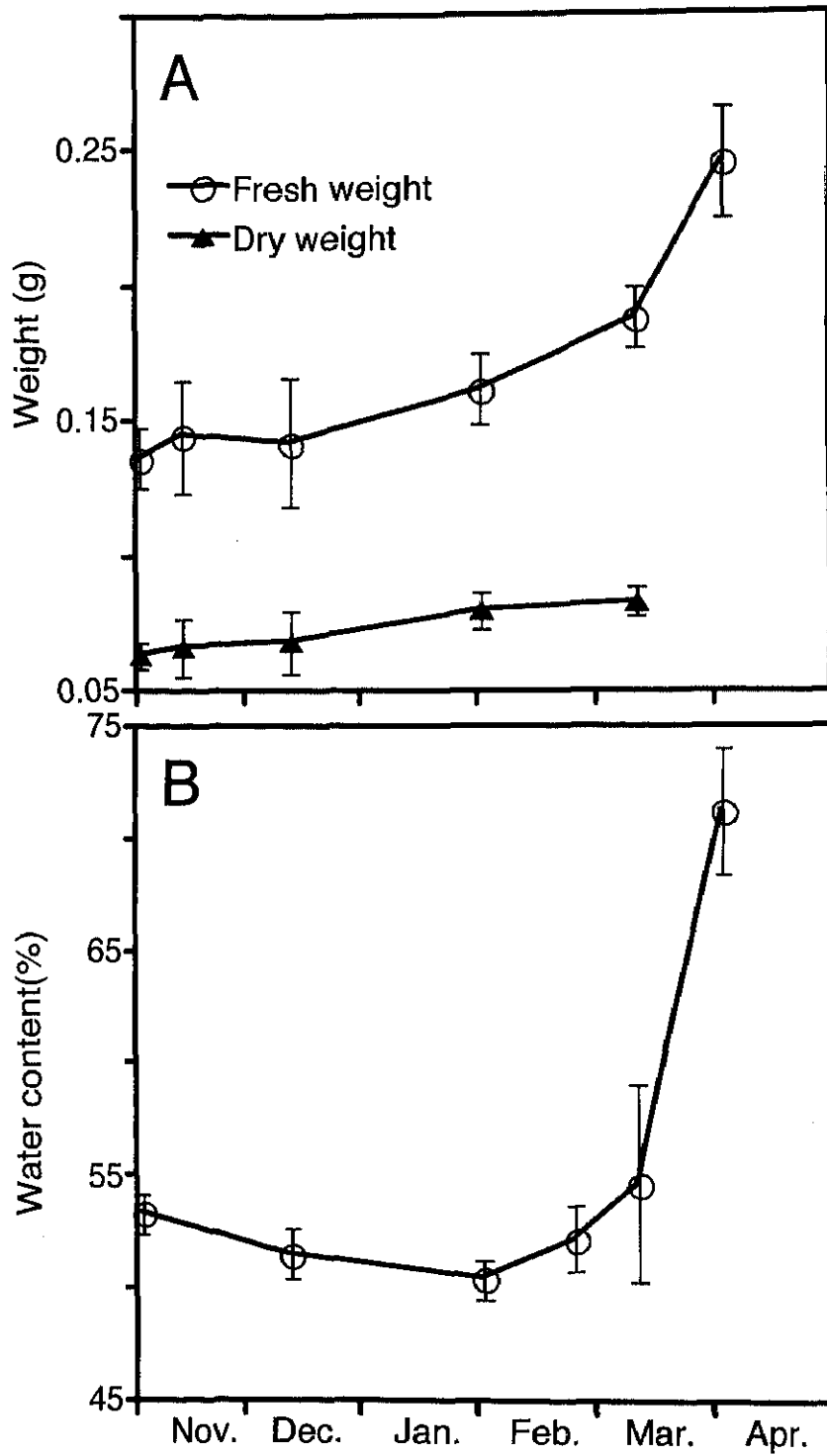


Fig. 8. Change in fresh and dry weight (A) and water content(%) (B) of flower bud of 'Kousui' Japanese pear during hardening and dehardening. Vertical bars represent S.E. (n=5)

2-3 ニホンナシ‘幸水’のハードニング・デハードニングにおける内生成分の物質変化

2-3-1 材料および方法

ニホンナシ‘幸水’の成木を用いて、花芽のアミノ酸含量、糖含量および内生ABA含量の秋から春にかけての変化について調査を行った。筑波大学農林技術センター栽植の20年生ニホンナシ‘幸水’成木の花芽を使用した。発育枝を採取し、花芽を発育枝から切りとった。採取は1999年2月1日より同年4月13日まで、計7回行った。採取した花芽は液体窒素で凍結し、-20°Cで保存し内生成分分析の試料とした。同様に、2000年10月から2001年4月まで花芽を採取した。採取した花芽は外部鱗片(OS)、内部鱗片(IS)、小花(FL)、包葉(Br)の各部位ごとに分解し(第2図)、分析の試料とした。

内生遊離アミノ酸含量

抽出、精製ならびに分析は、Szalaiら(1997)の方法に従って行った。試料を乳鉢で粉碎し、得られた粉末0.5gに5ml蒸留水を加えて攪拌した後、7,000rpm、4°Cで10分間遠心分離した。その後得られた上澄みに対し、同量のクロロホルムを加えて脱脂し、2層分離後、水層を得た。5%TCA(trichloro acetic acid、トリクロロ酢酸)を試料に対し同量混合し、3,000rpmで5分間遠心分離し、タンパク質を除去して上澄みを得た。

2Nの水酸化ナトリウム溶液を加えることにより、pH2.2に調整し、0.45 μ mのメンブレンフィルター(DISMIC-25AS、ADVANTEC)で濾過して遊離アミノ酸の試料とした。定量はアミノ酸分析システム(CR-7A/LC-10As、Shimadzu)で行った。標準アミノ酸溶液はアミノ酸混合液(和光純薬製H型)を0.2Nクエン酸三ナトリウム、pH2.20で希釈して使用した。カラムはNa型強陽イオンカラム(Shimpack Amino-Na、Shimadzu)を用い、カラムの温度60°C、流速0.6ml/min、蛍光検出器、励起波長350nm、検出波長450nmで行った。なお移動相はアミノ酸分析移動相キットNa型(Shimadzu)、反応液はアミノ酸分析用反応液キットOPA (ortho-phthalaldehyde、オルトフタルアルデヒド) 試薬(Shimadzu)を用いた。採取したサンプルはそれぞれグループに分けて、各グループについて1回ずつ分析を行い、3反復とした。

糖含量

0.2~1gの試料を粉碎した後、50mlの80%エタノールで2回抽出した後、抽出液は40°Cで減圧濃縮し、水相を得た。この水相をイオン交換樹脂(Amberlite IR-120BおよびAmberlite IRA-400)を用いて精製した後、0.15M水酸化バリウム5mlと0.15M硫酸亜鉛を5mlを加えて除タンパク質後、蒸留水を加えて100mlに定容し、そのうち5mlに内部標準物質である0.1%ペンタエリスリトールを1mlを加え、バイアル瓶中で乾固した。その後デシケータ内で完全に脱水させた後、無水ピリジン1mlに溶解し、HMDS (hexamethyl disilazane)を0.2mlとTMCS (trimethylchlorosilane)を

0.1 ml加えて160°Cで2分間加熱し、トリメチルシリル(TMS)化を行い、GLC(GC-9AM; Shimadzu)による分析に用いた。分析にはSE-52を充填したガラスカラム、温度条件は160~250°Cの5°C/minの昇温で行い、キャリアーガスはHe、水素炎イオン化検出器(FID)を用い、測定した。また花芽の各構成部位ごとの糖含量についてはHPLC (Toso Co., 8000シリーズ)による分析を用いた。0.2~1gの試料を粉砕し、50mlの80%エタノールで2回抽出した後、抽出液は40°Cで減圧濃縮し、水相を得た。この水相をイオン交換樹脂(Amberlite IR-120BおよびAmberlite IRA-400)を用いて精製した後、蒸留水を加えて5mlに定容し、0.45 μmのメンブレンフィルター(DISMIC-25AS; ADVANTEC Co.)で濾過して糖分析の試料とした。HPLCの条件は、カラム(Shim-pack SCR-101C、SHIMADZU)、移動相:D.W.、流速1.0ml/min、検出器:示差屈折(RI)検出器とし、測定を行った。採取したサンプルはそれぞれグループに分けて、各グループについて1回ずつ分析を行い、5反復とした。

内生ABA含量

抽出、精製ならびに分析は、Uthaiutra・Gemma(1991)の方法に従って行った。0.2~1g試料を粉砕した後、ポリビニルポリピロリドン(PVPP)を含む80%冷エタノールで2回抽出した。抽出液は減圧濃縮し、水層を得た後、16,000rpmで15分間遠心分離し、常法に従って酢酸エチル可溶性分画を得た。この分画を乾固させ、数滴のメタノールを含む1mlの蒸留水で溶解した。溶解したものをSep-pak C18カートリッ

ジ(Waters Co.)を用いて精製した後0.03gのPVPPを加えてよく振り、3,000rpmで2分間遠心分離した。その後上澄みを0.45 μ mのメンブレンフィルタ(SLLH R04 NL; Millipore)で濾過し、HPLC(Toso Co., 8,000シリーズ)を用いて定量した。HPLCの条件は、カラム:ODS(Super ODS、Toso Co.)、移動相:メタノール/水(40:60)+0.1%酢酸、流速1.0ml/min、検出器:UV吸収検出器(254nm)とした。採取したサンプルはそれぞれ3グループに分けて、各グループについて1回ずつ分析を行い、3反復とした。

2-3-2 結果及び考察

内生遊離アミノ酸量

ニホンナシ‘幸水’の発育枝から採取した花芽内のアミノ酸について測定し、11種が同定できた(第9図)。1999年4月3日に花芽は萌芽し、その後4月16日に開花した。満開日は4月21日であった。冬から春にかけてのデハードニング過程の内生遊離アミノ酸含量の経時的变化を第10図に示した。個々の遊離アミノ酸についてみると、負電荷を有するアミノ酸の中で、アスパラギン酸、グルタミン酸ともに測定開始時の2月上旬より緩やかに上昇し、3月中旬においてわずかに減少するが、その後は上昇し続けた。正電荷を有するアミノ酸の中では、アルギニンが一度2月の中旬に減少した後、急激に上昇し、3月15日にピークを迎えた後、急激に減少した。中性の極性アミノ酸では、グリシンは開花まで大きな変化は認められず低い値を保ち、その後急

激に増加した。疎水性のアミノ酸の中では、芽の生長が活発になるまでは、プロリンが比較的高い割合を占めていた。そして花芽の発芽後、全アミノ酸に対する割合は低下したもののアラニン、イソロイシン、バリンやフェニルアラニンと共に含量は増加する傾向があった。なかでも、アラニンの増加が顕著であり、4月中旬にはこの両者が疎水性アミノ酸の中で高い割合を占めた。

2000年は4月6日に萌芽し始め、開花は4月19日であった。12月から4月までの遊離アミノ酸の経時的変化を第11図に示した。ハードニング後の冬季においては、前年と同様、アルギニンが高い割合を占めており、気温が上昇してハードニングが進むにつれて減少していった。アスパラギン酸、グルタミン酸、グリシンや他のアミノ酸も前年と同様の傾向であり、開花が近づくにつれて急激に上昇し始めた。

通常の植物細胞では、遊離の形で含まれるアミノ酸はわずかな量であり、高い濃度で蓄積することはあまりない(坂野、1981)。このことは細胞内でアミノ酸合成がフィードバック調節により厳しく調節されており、必要とする適正量だけ合成し、必要以上の代謝中間体を蓄積しないようにしていることを示している。帯刀(1996)はニホンナシ‘幸水’の冬季における全アミノ酸含量は自発休眠覚醒期に急激に上昇し、その後減少すると報告している。今回の実験でも、ハードニング後の厳冬期においては低い値であったが、気温の上昇につれてその量を増加させ、特に花が開花する直前には急激な増加を示した。これは花芽の萌芽、開花と続く、一連の急激な発育活性に際し、タンパク質の合成などに必要とされるアミノ酸量の需要が高まったため、

活動の少ない冬季に比べ全アミノ酸量が多くなったものと考えられる。

また高等植物の越冬中の代謝産物としては、Sagisaka (1974)によって特異的なアミノ酸の蓄積が報告されており、生長期にある植物ではグルタミン酸の量が非常に多いが、冬季にはアルギニンが増加するとされている。本研究で使用した‘幸水’の花芽においても、ハードニング後はアルギニンがグルタミン酸に比べ多く含まれており、同様の結果が得られた。また、アルギニンはデハードニング中急激に減少し、一方グルタミン酸やアスパラギン酸の量が急増しており、花芽においてアルギニン合成からグルタミン酸合成へと転換が起こっていると考えられ、デハードニング過程では遊離アミノ酸量の特異的な変化があることが分かった。植物の中には越冬中のアミノ酸として、アルギニンの他にプロリンを蓄積するものも知られている(酒井、1982)。しかし今回の測定ではニホンナシ‘幸水’の花芽中にはハードニング過程においては、ごくわずかしか存在していなく、デハードニング過程においても、他のアミノ酸同様、開花直前に急激に上昇し、低温耐性に与える働きは少ないものと考えられた。

糖含量

第12図にデハードニング中のニホンナシ‘幸水’花芽における糖含量の経時的変化を示した。2月の初めからいずれの糖も減少を続け、開花直前の4月上旬まで減少していった。花芽における糖はソルビトールが多く、低温耐性が高い2月中旬には

全糖含量の65%を占めた。

花芽中の各部位における糖含量の経時的变化を第13図に示した。部位ごとにみると、花芽全体で測定したときと同様、ソルビトールが主要な糖であった。小花においてハードニングするにつれてソルビトール、スクロース含量が増加し、またその後のデハードニング過程においては急激に減少した。外部鱗片と内部鱗片+包葉においては、ハードニング過程においてソルビトールおよび他の糖含量が増加し、デハードニング過程においては減少し、ほぼ同様の傾向であった。しかし小花に比べると、その増加する時期は遅れており、また反対にピークを迎えた後は小花よりも先に減少を開始した。糖の量は小花が最も多く、鱗片に比べソルビトール、スクロースともに約2倍であった。スクロースはどの部位においてもソルビトールと同様の動態を示した。また鱗片や包葉において、デハードニングが進んだ萌芽直前の時期からスタキオース、グルコース、フルクトースの含量が増加し始めた。

酒井(1982)はクワやニセアカシアのジン皮組織で、ハードニングにおいて低温耐性の高まりに対応して、糖および浸透濃度が平衡して増加することを報告している。そして冬季に蓄積される糖の種類やその割合は、植物の種類によって大きく異なっていた。また多くの植物において冬季にラフィノースやスタキオースの蓄積が報告されている(酒井、1982)。ニホンナシの花芽においては、ラフィノースはごく少なかったが、外部鱗片においてスタキオースの蓄積が認められた。バラ科植物のバラ、リンゴなどにおいては、ソルビトールなどの糖アルコールが夏から冬にかけ

て増加し、糖の全量の40-55%に達する(酒井、1982)。糖は低温耐性に大きく関与しており、その中でグルコースがもっとも凍害防御効果が高く、ソルビトール、ラフィノースも高い効果を示す(酒井、1982)。ニホンナシの花芽で鱗片、小花いずれの組織において、冬季にかけてソルビトールの含量が増加し、高い割合を占めた。よってニホンナシ‘幸水’の花芽においても他の植物と同様に、細胞内に多量の糖を蓄積することによって、細胞内の浸透圧を増加させ、モル氷点降下により一定温度での凍結脱水の程度を緩和させている(吉田、1999)と考えられた。

内生ABA含量

ニホンナシ‘幸水’の発育枝から採取した、花芽における内生ABA含量の経時的变化を第14図に示した。内生のABA含量は1999年2月の中旬より上昇し、3月の初旬にピークがみられ、その後減少した。そして4月上旬の開花とともにわずかに増加した。ABA含量のピークを迎えた3月上旬の低温耐性は、厳冬期である2月に比べ著しく高いわけではなく、むしろ急激に低温耐性が弱まる直前であり、ABAの含量と低温耐性の中に相関が認められなかった。

花芽中の小花における内生ABA含量の経時的变化を第15図に示した。ハードニングが完了する12月まで、内生のABA含量は上昇し、その後急激に減少し、3月中旬にデハードニングが始まるに伴って、再び急激に上昇した。このように花芽におけるABA濃度とデハードニングとの間には直接的な関係がみられなかった。

田村ら(1993)は自発休眠中におけるニホンナシ‘二十世紀’の芽中のABA含量が低温遭遇にともない低下し、またABA含量の低下する時期が遭遇する低温の強さによって異なることを報告している。またABAは植物の乾燥時における気孔の閉鎖において重要な役割を果たし(近藤、1994)、また根あるいは頂芽にABAを処理したヒマワリにおいて、根から茎への水の移動が促進(Ludewigら、1988)されている。このようにABAは植物の水分状態と密接に関与していると思われる。花芽全体でみたときABAのピークを迎えている時期は、花芽の水分含量が増加する直前である。このころから花芽の鱗片基部周辺の木化していない組織が成長を始め、また小花の大きさが大きくなり、花芽全体がふくらみ始める。したがって花芽におけるABAの含量が増加することにより、花芽の肥大に伴い根から花芽への水の移動が促進された可能性が考えられる。

以上のようにハードニングに伴い、小花の内生のABA含量が増加したことから花芽の低温耐性獲得にABAが直接的に関与し、デハードニング中のABAは、植物体内の水分輸送に関与することにより、低温耐性に間接的に関係しているのではないかと示唆された。

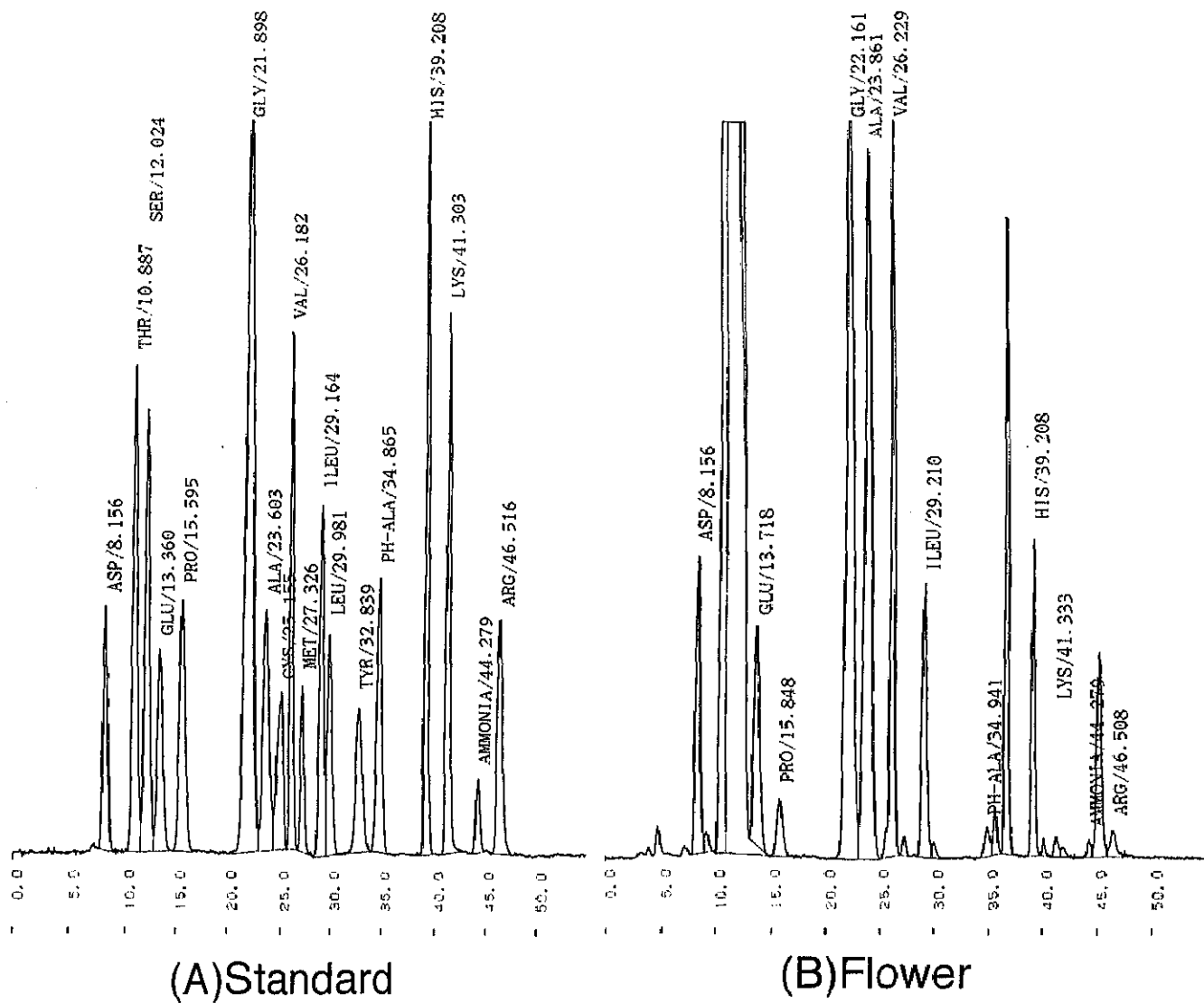


Fig. 9. Amino acid chromatograms with standard(A) and flower of Japanese pear flower 'Kousui'.

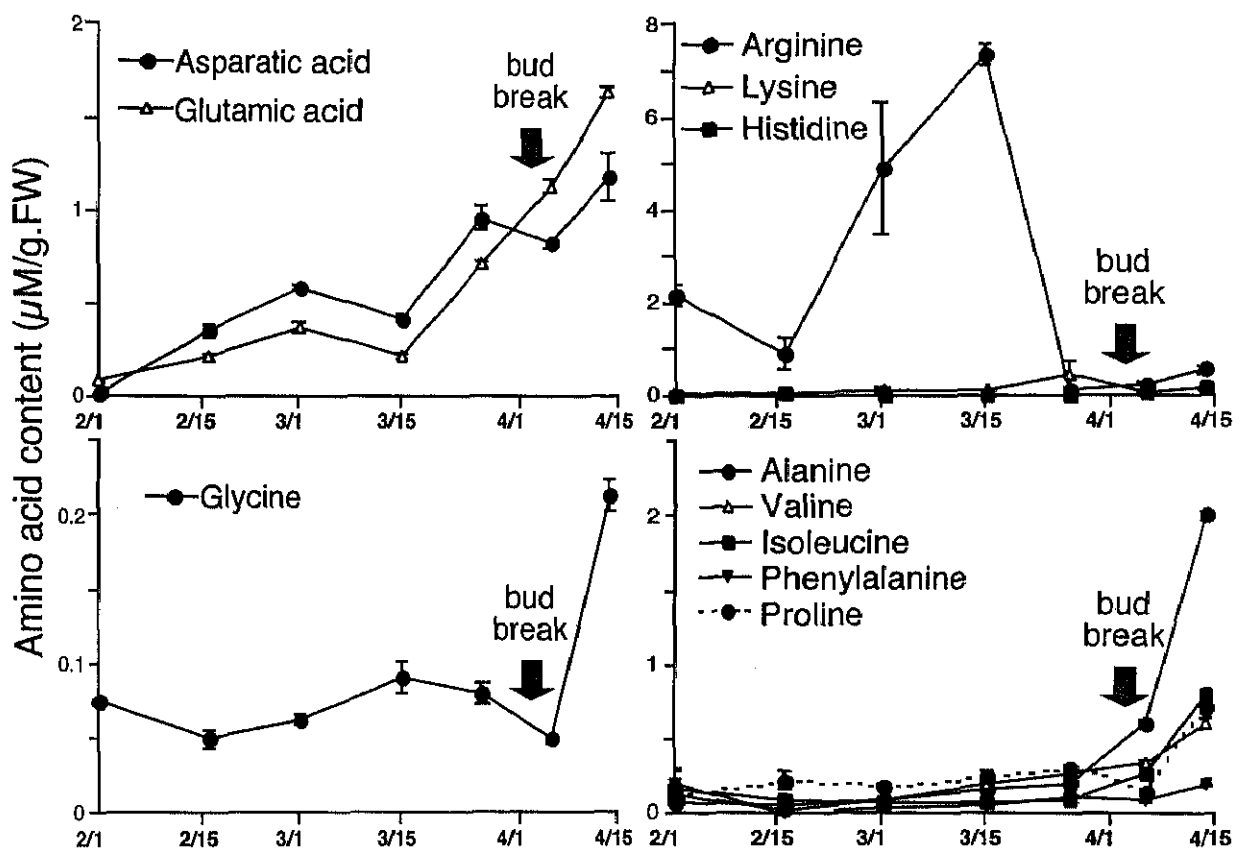


Fig. 10. Change in free amino acid contents of flower bud of 'Kousui' Japanese pear during dehardening in 1999. Vertical bars represent S.E. (n=3)

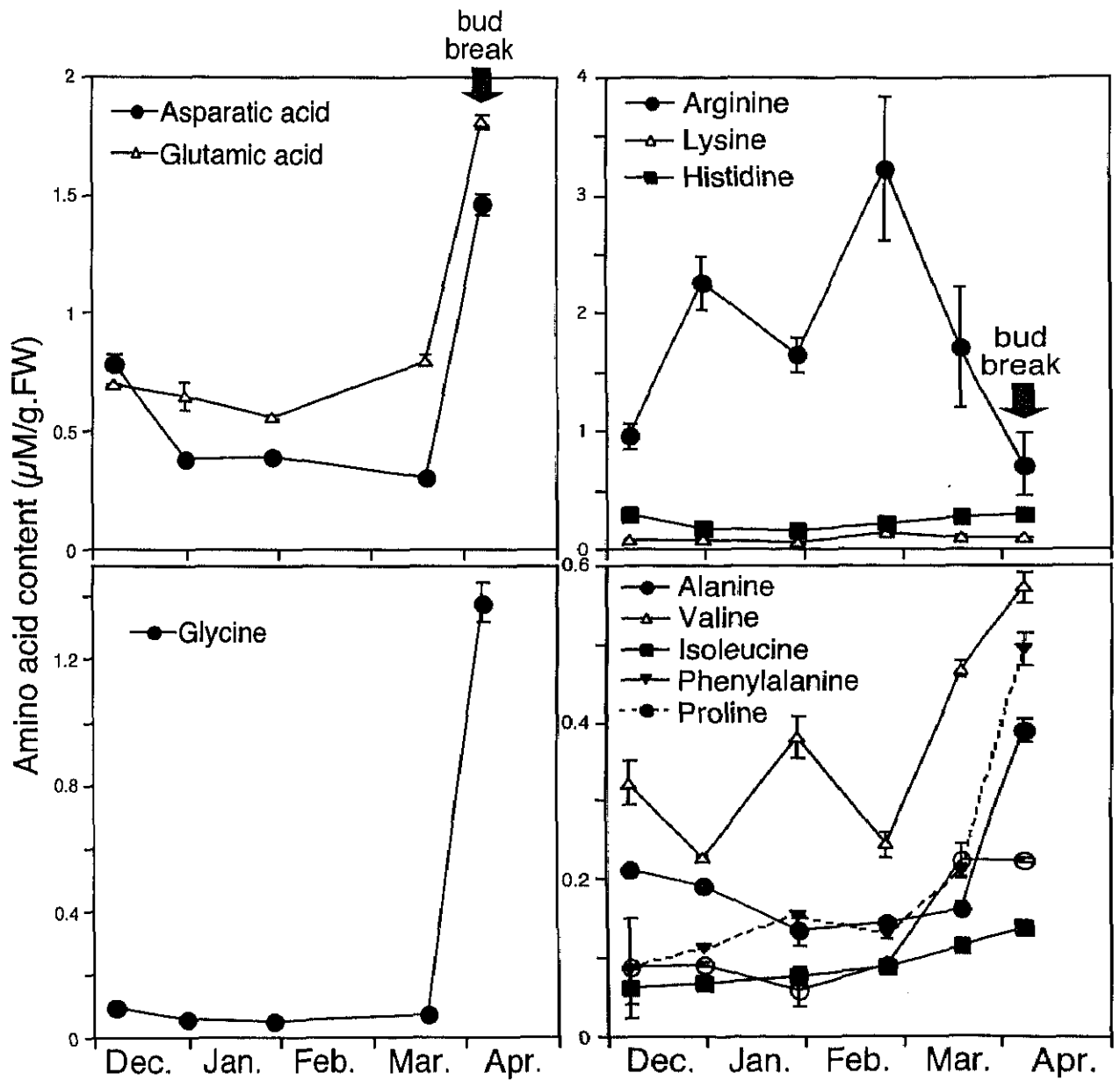


Fig. 11. Change in free amino acids contents of flower bud of 'Kousui' Japanese pear during hardening and dehardening in 2000-2001. Vertical bars represent S.E. (n=5)

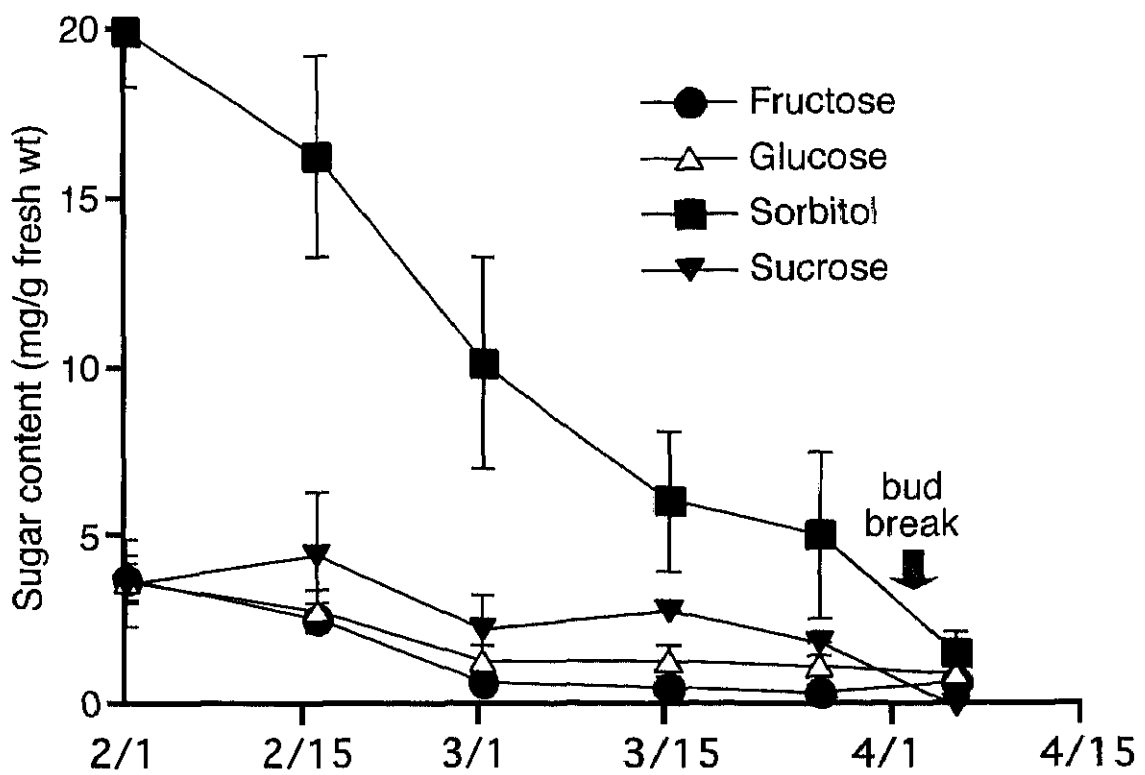


Fig. 12. Change in sugar contents of flower bud of 'Kousui' Japanese pear during dehardening in 1999. Vertical bars represent S.E. (n=5)

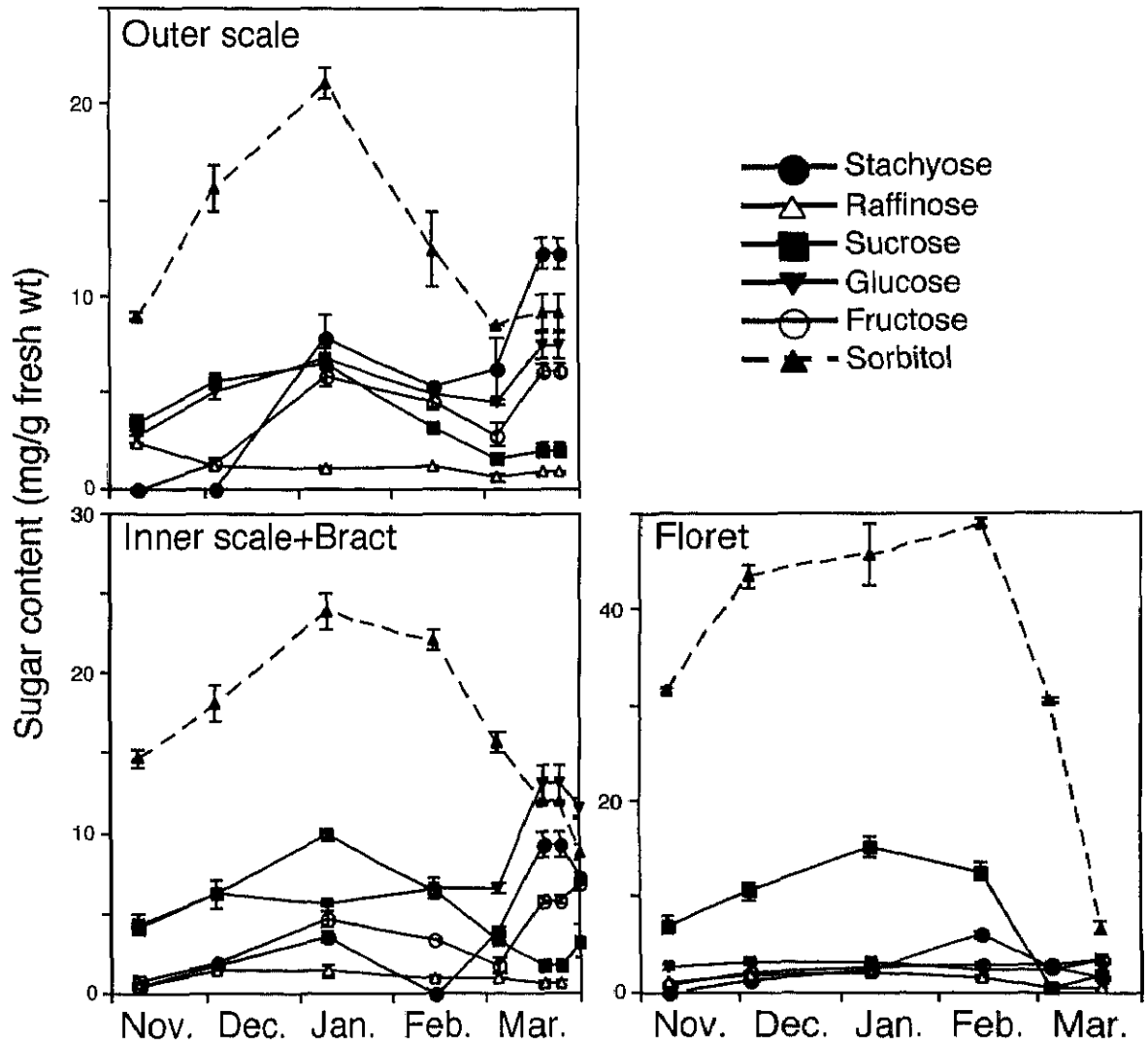


Fig. 13. Change in sugar contents in different parts of flower bud of 'Kousui' Japanese pear during hardening and dehardening in 2001-2002. Vertical bars represent S.E. (n=5)

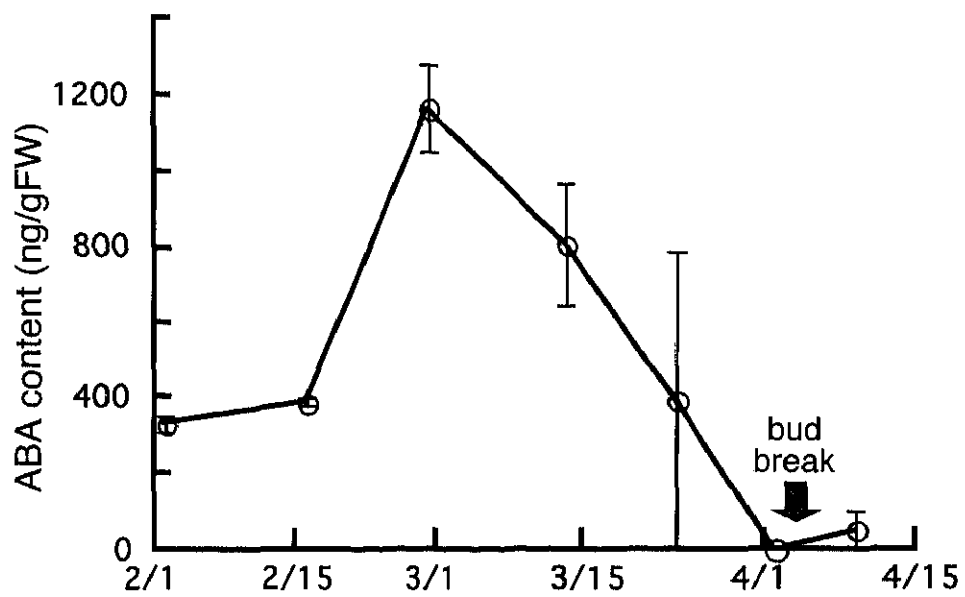


Fig. 14. Change in abscisic acid contents in flower bud of 'Kousui' Japanese pear in 1999. Vertical bars represent S.E. (n=3)

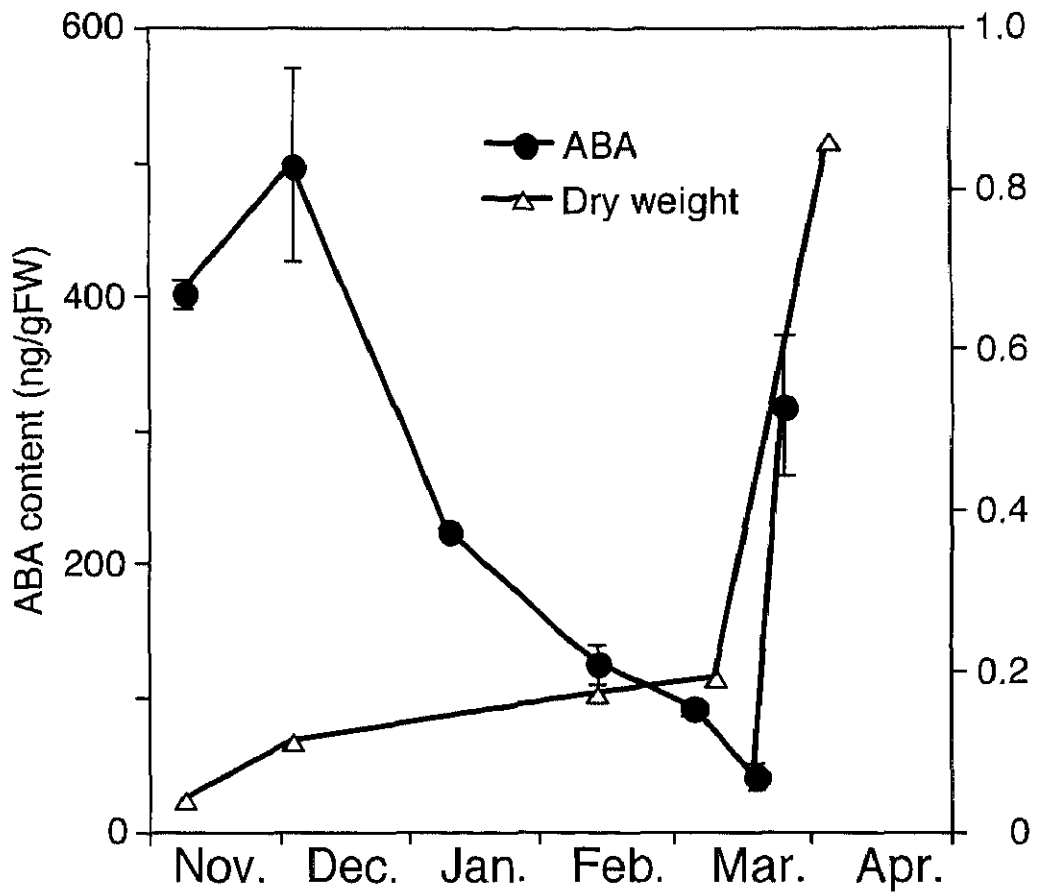


Fig. 15. Change in abscisic acid contents and dry weight of florets in 'Kousui' Japanese pear in 2001-2002. Vertical bars represent S.E. (n=3)