

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K02420

研究課題名（和文）植物のストレス馴化を応用した野菜の新しい保存方法の開発

研究課題名（英文）Study of a new method preserving vegetables by applying plant acclimation

研究代表者

高塚 千広 (Takatsuka, Chihiro)

東海大学・人文学部・講師

研究者番号：90552539

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：ヒメツリガネゴケ原系体細胞からなるコロニーが暗所で引き起こす黄化現象を解析した。暗所では細胞内H2O2レベルが上昇した。活性酸素除去剤であるTroloxで処理すると、H2O2レベルの上昇は抑制され、老化が抑制された。コロニーを活性酸素発生剤methylviologenで処理すると、細胞内H2O2のレベルは増加し、コロニーは黄化した。これらの結果は、暗所ストレスと老化応答の間に細胞内H2O2レベルの上昇が介在することを指示している(Roni et al. 2022)。コロニーを暗所に置く前に熱処理を行っておくと黄化が遅延した。これらの結果は熱ストレスが植物の老化を遅延させることを示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒメツリガネゴケやオオムギで測定した植物の老化パラメーターを今後は野菜類の鮮度低下に当てはめることで、植物老化と野菜の鮮度低下の共通点を見出すことができると期待される。本研究で得られた老化遅延の因子は、野菜保存時におこる劣化を遅延させる技術に応用できる可能性を持っている。

研究成果の概要（英文）：The senescence accompanied by yellowing phenomenon induced in the dark on *Physcomitrium patens* colonies is analyzed. Intracellular H2O2 levels increased in the dark. Treatment with Trolox, an ROS scavenger, suppressed the increase in H2O2 levels and inhibited senescence. When colonies were treated with the ROS generator methylviologen, intracellular H2O2 levels increased, and colonies became yellowish. These results indicate that the increase in intracellular H2O2 levels is mediated between dark stress and senescence response (Roni et al. 2022). Yellowing was delayed when colonies were heat-treated before being placed in the dark. These results suggest that heat stress delays plant senescence.

研究分野：生活科学、植物生理学

キーワード：緑葉老化 鮮度低下

### 1. 研究開始当初の背景

収穫された野菜が廃棄される主な原因は緑葉の黄化やしおれのような鮮度低下である。野菜は保存中に鮮度が低下すると、商品価値がなくなったり食べられなくなったりして、最終的には廃棄されることになる。よって、鮮度を保持できれば野菜の廃棄量は減少すると考えられる。しかし、一般的に普及している冷蔵・暗所保存の方法は、野菜の萎れや腐敗を防ぐことで鮮度維持に役立つが、緑葉の黄化を防ぐ対策にはならないことから、鮮度を保持する画期的な方法を見出す必要がある。植物生理学において、緑葉が黄化する現象は緑葉老化と呼ばれる。緑葉老化では、葉が黄化するのと同時にクロロフィルやタンパク質、デンプンがダイナミックに分解される。緑葉老化は遮光や熱、栄養飢餓などの様々な環境ストレスにより促進される。緑葉老化のメカニズムは十分に理解されていないが、緑葉老化は植物が恒常性を失ってから起こる単純な分解過程ではないと考えられている。植物は、予め適度のストレスが与えられると次のストレスに対して耐性になるストレス馴化を起こす。ストレス馴化に関しては多くの研究があり、最初のストレスにより糖が蓄積したり保護タンパク質が合成されたりすることで次のストレスによる傷害が軽減されストレス耐性になるという説が植物生理学では一般に認められている。

本研究では、野菜の鮮度低下は緑葉老化と同様の現象であると仮定し、オオムギ葉やヒメツリガネゴケのコロニーを植物老化のモデルとして、老化を遅延させるストレス条件を見出す実験を開始した。

### 2. 研究の目的

植物生理学において老化のモデルとされているヒメツリガネゴケ原系体コロニーやオオムギの緑葉を用いて、老化が抑制される条件を見出すことを目的としている。さらに、植物生理学における老化遅延の考え方を家政学における野菜の鮮度保持に応用できないか検討しようとしている。

### 3. 研究の方法

(1) ヒメツリガネゴケ原系体を暗所に置くと老化に似た症状が起こる。これを植物の老化(野菜の劣化)のモデルとして捉えている。ヒメツリガネゴケ原系体細胞からなるコロニーが暗所で引き起こす黄化現象について解析する。ヒメツリガネゴケ野生株のコロニーを栄養培地上で、明条件で1週間、生育させた後、暗所に置いて老化を誘導する。老化を誘導したヒメツリガネゴケ原系体コロニーの老化の進行を観察する。老化進行のパラメーターとしてコロニーの黄化度や細胞内のアスコルビン酸、チオール化合物、活性酸素  $H_2O_2$ 、リブローズビスリン酸カルボキシラーゼ・オキシゲナーゼ(Rubisco)レベルの変化を測定する。

(2) オオムギの芽生えより切り取った第一葉の老化を観察する実験系は、植物の老化に対するさまざまな環境因子の影響や薬剤の効果調べる老化解析の実験系として長い間用いられてきた。この実験系を用いて、ストレス処理が暗誘導老化を遅延させるかどうかを調べる。連続明で1週間育てたオオムギ芽生えより第一葉を切り出し、暗所に置いて老化を誘導する。この老化に対する様々なストレス処理の影響を調べ、老化が遅延する条件を検討する。老化に対する環境因子の影響を調べる。

### 4. 研究成果

(1) ヒメツリガネゴケ原系体コロニーの老化のメカニズムを調べ、ヒメツリガネゴケコロニーではストレスと老化応答の間に細胞内活性酸素レベルの上昇が介在することを明らかにした(Roni et al. 2022)。

栄養培地上で、明条件で1週間生育させたヒメツリガネゴケ野生株のコロニーを暗所に置いて老化を誘導すると、暗所下7日目にコロニーが黄化した(図1, Dark, WT 7d)。暗所に置いたヒメツリガネゴケコロニーの細胞内のアスコルビン酸やチオール化合物のレベルを測定したところ、どちらも低下した。これらの結果はヒメツリガネゴケ原系体細胞からなるコロニーでは老化に伴い細胞内のアスコルビン酸やチオール化合物のレベルはどちらも低下することを示している。

ヒメツリガネゴケ原系体細胞からなるコロニーの黄化は、コロニーが暗所に置かれたり、窒素飢餓条件下に置かれたりしても起こったが、これに先駆けて細胞内活性酸素  $H_2O_2$

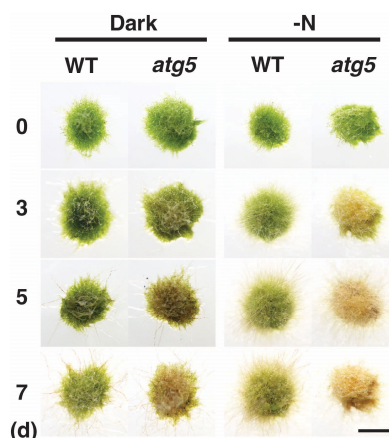


図1. ヒメツリガネゴケ原系体コロニー<sup>(1)</sup>

レベルが上昇した。ヒメツリガネゴケ野生株(WT)のコロニーを暗黒下、栄養十分な培地で培養した場合、細胞内  $H_2O_2$  レベルは、暗所に置く前(図2, 0 d)より暗所下2日目(図2, 2 d)の方が増加した。暗所下2日目ではコロニーの黄化は観察されないことから、これらの結果はヒメツリガネゴケコロニーの暗所誘導老化では、コロニーの黄化に先駆けて  $H_2O_2$  レベルが上昇することを示している。ヒメツリガネゴケコロニーを活性酸素発生剤である methylviologen で処理すると、細胞内の活性酸素  $H_2O_2$  のレベルは増加し、コロニーは黄化した<sup>(1)</sup>。一方、コロニーを活性酸素除去剤である Trolox で処理すると、 $H_2O_2$  レベルの上昇は抑制され、黄化が抑制された。さらに、セリンプロテアーゼが老化の進行に関わっていることを明らかにした。セリンプロテアーゼ阻害剤である phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF) で処理するとヒメツリガネゴケ原系体コロニーの黄化の症状が軽減された。ヒメツリガネゴケコロニーではセリンプロテアーゼ阻害剤を含む窒素飢餓培地で培養すると、黄化が抑制されるだけでなく、Rubisco の分解が抑えられた。ヒメツリガネゴケに予め熱処理を行うと老化が遅延することを明らかにした。老化遅延効果の詳細については現在継続して解析中である。

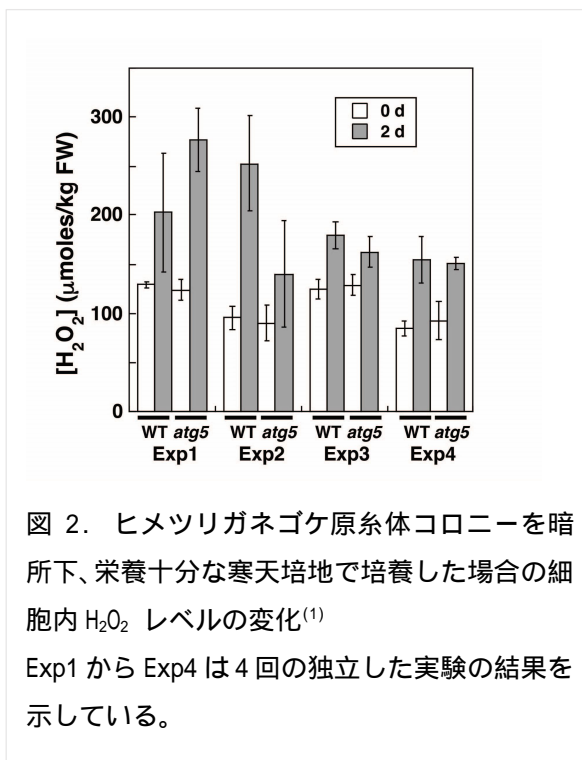


図 2. ヒメツリガネゴケ原系体コロニーを暗所下、栄養十分な寒天培地で培養した場合の細胞内  $H_2O_2$  レベルの変化<sup>(1)</sup>

Exp1 から Exp4 は 4 回の独立した実験の結果を示している。

(2) 連続明で 1 週間育てたオオムギの芽生えより切り取った第一葉を暗所に置くと緑葉が黄化する老化が起こる。ヒメツリガネゴケコロニーで得られた結果と同様に PMSF の老化阻害効果はオオムギ緑葉を暗所に置くと誘導される老化を阻害することを明らかにした。これらの結果を踏まえ老化が遅延する条件を検討する実験を継続中である。

#### <引用文献>

(1) Md. Shyduzzaman Roni, Md. Arif Sakil, Most Mohoshena Aktar, Chihiro Takatsuka, Kyosuke Mukae, Yuko Inoue-Aono and Yuji Moriyasu (2022). Hydrogen peroxide mediates premature senescence caused by darkness and inorganic nitrogen starvation in *Physcomitrium patens*. *Plants*, 10.3390/plants11172280

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Md. Shyduzzaman Roni, Md Arif Sakil, Most Mohoshena Aktar, Chihiro Takatsuka, Kyosuke Mukae, Yuko Inoue-Aono, Yuji Moriyasu	4. 巻 11
2. 論文標題 Hydrogen peroxide mediates premature senescence caused by darkness and inorganic nitrogen starvation in <i>Physcomitrium patens</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plants	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/plants11172280	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究分担者	森安 裕二  (Moriyasu Yuji)  (20200454)	埼玉大学・理工学研究科・教授    (12401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関