

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 23 日現在

機関番号：22303

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580048

研究課題名(和文)ピーマン着果、肥大性を向上するための生理、育種学的研究

研究課題名(英文)Physiological and genetic study of the fruit setting and enlargement of pepper

## 研究代表者

本多 一郎 (Ichiro, Honda)

前橋工科大学・工学部・教授

研究者番号：00241852

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：ピーマンの生産に関わる様々な問題の克服のため、ピーマンの着果、肥大性に関する生理、育種学的研究を実施した。様々な果実形質を持つ素材を用いた研究により、ピーマンの着果、肥大には、トマトなどとは異なり、植物ホルモン「サイトカイニン」が最も関わっていることを明らかにした。また、単為結果性ピーマン素材「CNPH2622」は果実の肥大性はすぐれるが、着果性は低く、単為結果ピーマン開発にはさらなる研究が必要ながことが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：To overcome some problem in pepper production, physiological and genetical studies of the fruit setting and enlargement of pepper were conducted. Using various fruiting characters of pepper, we clarified that the fruits setting and enlargement are involved in plant hormone cytokinin without the similarity to that of tomato. Examination of fruiting phenotype of newly finding potent parthenocarpic line "CNPH2622" clarified that have higher in fruit enlargement but not in fruit setting abilities. Therefore, to develop parthenocarpic pepper, further studies must be needed.

研究分野：園芸学

キーワード：ピーマン 単為結果 サイトカイニン 果実肥大 着果 ジベレリン

## 1. 研究開始当初の背景

野菜類のうち、ナス、トマト、ピーマンなどのナス科の果菜類は、受粉した花が着果したのち肥大することにより果実を形成する。

このため、これらの果菜類では、着果、果実肥大の安定とその制御は、生産性向上のためにきわめて重要である。

ナス、トマトにおいては、植物ホルモンであるオーキシン系の薬剤の開花時の花への処理が単為結果と着果安定をもたらすことが知られ、安定着果技術としてすでに利用されている。また、果実の着果、肥大に受粉を必要としない単為結果性素材の存在が知られており、実際に単為結果性ナス、トマトが育成され、これらの栽培、育種技術がトマトナスの、安定生産に寄与している。

一方、同じナス科植物であるピーマンにおいては、全く状況が異なっている。ピーマンでは、薬剤処理による安定着果技術は知られておらず、単為結果性素材も知られていなかった。

これらの状況を打開するために研究実施者らは、数多くの遺伝資源を調査し、見いだした果実着果、肥大に特徴のある複数のピーマン素材を見いだした。

最近、シンジェンタ社より単為結果ピーマン「アレグロ」が発表された。「アレグロ」は小型のピーマンであり、その単為結果特性も未知であるため、現時点でピーマンの育種において一般的に利用できる素材とはいえない。また、ホルモン処理などによる実用的ピーマンの安定着果技術は未だ開発されていない。

## 2. 研究の目的

本研究では研究の目的を大きく2つに分け、これらを並行して実施することで、ピーマンの着果、果実肥大の安定につながる技術を総合的に開発することを目的とし実施した。

すなわち、研究目的として、ピーマンの着果、果実肥大に関わる生理学的要因を解明すること、研究目的として、見いだした研究素材のうち、単為結果性素材「CNPH2622」の有望性を把握することの2本立てとして実施した。

## 3. 研究の方法

研究目的では、未受粉果が肥大しないトウガラシ「INT/RUSSIA/2001/1978(INT)」、単為結果性トウガラシ「シシトウ(SHI)」を利用して、まず果実肥大に及ぼす植物ホルモンの効果を調査した。

### (1) 植物ホルモン処理効果の検討

これらのトウガラシ系統をポット栽培し開花直前の花を柱頭切除した後、開花後1日おきに、オーキシン剤(4-クロロフェノキシ酢酸(4-CPA)、1-ナフタレン酢酸(NAA)、サ

イトカニン(CK)剤(ホルクロルフェニユロン(CPPU)、ジベレリン $A_3$ (GA $_3$ )の各100ppm溶液を果実に塗布した。約2週間処理を継続し、肥大程度を調査した。予備的試験も含め何度か実施し、効果、再現性を確認した。

### (2) 内生植物ホルモンの分析

これら2系統のトウガラシに加え、中型果実の通常ピーマン「California Wonder(CW)」、単為結果性ピーマン素材「CNPH2622(CNP)」の4系統を栽培し、柱頭切除と振動受粉により未受粉(単為結果)および受粉果実を作成、継時的に採取した。別に採取した試料を用いて予備的分析試験を実施し、内生CK、オーキシン、GAの分子種を確認した後、これらの試料を用いて、存在が確認された内生CK、GA及びオーキシン(IAA)量を測定した。

これらの果実の1-5gを粉碎し、メタノール抽出し、濾過して得られた抽出液に、内部標準物質として重水素化CK、GA、を各5ng、 $^{13}C$ 標識のIAAを各10ng添加後、濃縮した。濃縮液を、OASIS-MCX、BondElute DAE, Sep-pak-Siなどのカートリッジを用いて精製した後、高速液体クロマトグラフ質量分析計(LC-MS/MS; QTRAP3200)を用いて分離、同定、定量を行った。

研究目的では、栽培時期がCNPH2622の単為結果性に及ぼす影響について調査した。

### (3) 栽培時期がCNPH2622の単為結果性に及ぼす影響

CNP、INT、CWおよびSHIを2012年10月12日(10月播種試験)、2013年4月9日(4月播種試験)および2013年8月28日(8月播種試験)に播種し、3~4葉期の苗を直径21cmポリポットに鉢上げし、野菜茶業研究所内のガラス温室で栽培した。10月播種試験では12月中旬~1月中旬(温室内の平均気温約20℃)、4月播種試験では6月中旬(同約30℃)および8月播種試験では10月下旬~11月上旬(同約20℃)に柱頭除去をして単為結果を促すとともに、同時期の蕾を無処理で自然に着果させた。果実が赤く変色したところに、着果数および1果重を調査した。

## 4. 研究成果

### (1) 植物ホルモン処理効果について

各種植物ホルモン処理剤の未受粉果実への処理の結果を図1に示す。INT果実の未受粉果実は、着果しても全く肥大せず、石果実になることが既に明らかになっている。この未受粉果実へCK剤(CPPU)を処理することにより、果実の幅、長さ、重量が明らかに無処理より大きくなり、受粉果実と同等に肥大した。トマトなどに肥大効果があるとされているオーキシン剤(4-CPA)やGA $_3$ 処理も同時に行ったが、果実長、果実重が無処理より僅かに大きくなったものの、統計的に有意ではなく、受粉果実と比較した場合、明らかに

小さい果実しか得られなかった。また、NAA 処理の効果は全く効果が認められなかった (図 1, A-C)。

SHI は、未受粉果実でもある程度肥大する単為結果性の性質を有する。未受粉の SHI 果実に対し同様の処理を行ったところ、CPPU 処理果実では受粉果実より果実重が重くなったが、他の薬剤の処理では顕著な効果は見いだせなかった (図 1, D-F)。すなわち、CK 剤の処理によりピーマンの果実肥大は促進すること、オーキシン剤や GA 剤の効果は、これより弱いことが明らかとなった。

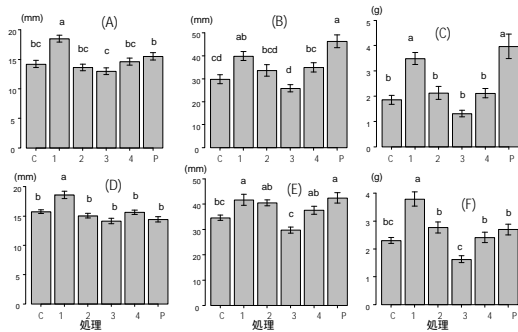


図1. 各種植物ホルモン剤のピーマン果実への処理効果

A-C: INT/RUSSIA/2001/1579, D-E: ししとう, A, D: 果実幅 (mm), B, E: 果実長 (mm) C, F: 果実重 (g)  
 処理: C: control, 1: CPPU, 2: GA<sub>3</sub>, 3: 1-NAA, 4: CPA, P: pollination  
 同じ英文字間に有意差なし (Tukey-Kramer 検定, P < 0.05), エラーバーは標準偏差

## (2) 内生植物ホルモン

処理試験により、ピーマンの果実肥大において重要な植物ホルモンは、GA であること、GA やオーキシンも弱いながら肥大効果を示すことが明らかとなったため、植物ホルモンのピーマンの受粉と果実肥大への役割を詳細に解析するため、これら 3 種のホルモンの定量を実施することとした。

トマトなどと比較して、ピーマンの内生植物ホルモンに関する研究例は少なく、果実中の内生ホルモンとして報告例があるのは、オーキシンとしての IAA のみであった。そこでまず果実中のこれらのホルモンの定性を試みた。ピーマン CW の果実を利用し、適宜内部標準物質を添加したあと、常法どおり抽出、分画、精製し、LC-MS/MS を用いて内生ホルモン類の定性を行い、内生 CK としてトランスゼアチン (t-Z)、トランスゼアチンリポシド (t-ZR)、イソペンテニルアデノシン (iPR) を同定した。ジヒドロ体の CK、シス体の Z, ZR、イソペンテニルアデニンの存在についても調査したが、見いだせなかった。すなわち、ピーマン果実における CK 主要生合成経路は、iPR → tZR → tZ である可能性が示された。

一方 GA では GA<sub>1</sub>, GA<sub>19</sub>, GA<sub>20</sub> などが同定されたが GA<sub>8</sub>, GA<sub>9</sub>, GA<sub>24</sub> などは同定されなかった。すなわちピーマン果実では GA<sub>19</sub>, GA<sub>20</sub>, GA<sub>1</sub> の早期 C13 位水酸化経路による GA の生合成が主に行われていることが示された。

これらの結果をもとに、ピーマン果実中の植物ホルモン類の動態を詳細に解析することとした。本試験においては INT, SHI の小

型果実を付けるトウガラシに加え、中型果実を付けるピーマン材料 2 系統、すなわち通常ピーマンとして CW、単為結果性ピーマンとして CNP を用いた。これら 4 系統を栽培し、柱頭切除および振動受粉により、未受粉および受粉果実を作成し、経時的に採取した。得られた果実の生長曲線を図 2 に示す。未受粉 ( ) と受粉 ( ) 果実の生長を比較すると、中型系統では CW (図 2, A) に比べ CNP (図 2, B) の未受粉果実の肥大がすぐれていた。一方、小型系統では INT (図 2, C) の未受粉果実は全く肥大しないが SHI (図 2, D) では未受粉果実が CNP 同様に肥大しており、これらの系統の特性がよく発揮された材料が得られた。

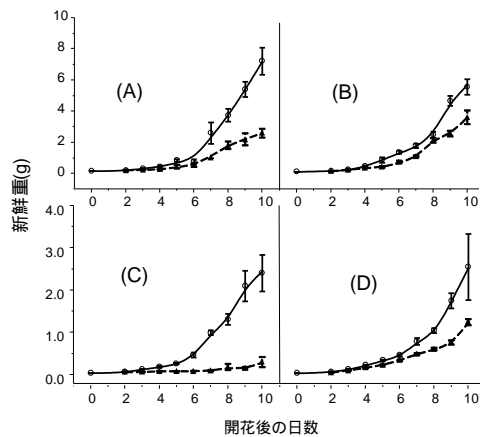


図2 植物ホルモン分析用試料の生育曲線

A: California Wonder, B: CNHP2622, C: INT/RUSSIA/2001/1579, D: ししとう  
 ; 受粉果実及び開花日の花 ; 柱頭切除 (単為結果) 果実  
 エラーバーは標準偏差

このうち開花 3, 6, 9 日目の果実を選び、その植物ホルモン含量を比較、検討した。また、開花中の花も分析した。

## 内生 CK

内生 CK 含量を図 3 に示す。4 系統とも受粉の受粉後 6-9 日目に顕著に tZR の含量が増加した。この tZR 含量の増加は未受粉では認められなかった。受粉で内生 tZR 含量の増加する時期はいずれも果実肥大が高まる時期であることから、この内生 tZR 含量の増加が果実肥大に直接関与していることが示唆された。

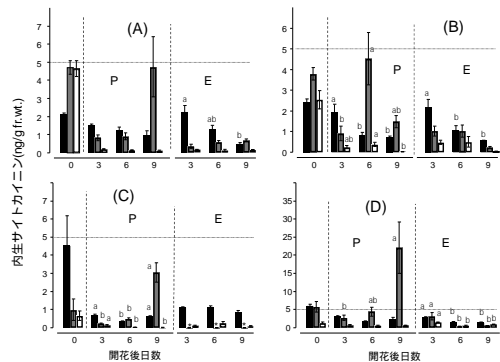


図3 内生サイトカニン量

A: California Wonder, B: CNHP2622, C: INT/RUSSIA/2001/1579, D: ししとう, P: 受粉, E: 柱頭切除  
 黒: tZ, 灰色: tZR, 白: iPR \*検出されず。 図中の横点線は同じホルモン濃度を示す  
 統計解析は化合物ごと、品種ごと、処理ごとに実施 (花は実施せず)  
 同じ英文字間に有意差なし (Tukey-Kramer 検定, P < 0.05) エラーバーは標準偏差

### 内生 IAA

内生 IAA 含量のを図 4 に示す。4 系統とも内生 IAA は開花後減少する傾向であった。また、未受粉と受粉での顕著な差は認められず、4 系統の単為結果、果実肥大特性と IAA 量には特段の関係はないと考えられた。小型果実の INT, SHI は中型の CW, CNP より IAA 量が高めであった。

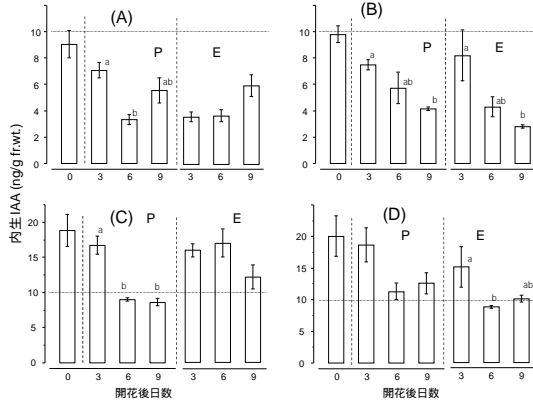


図4 内生IAA量  
記号及び統計処理等は図3と同じ

### 内生 GA

内生 GA 含量を図 5 に示す。CK, IAA とは異なり、GA 含量には 4 系統で顕著な差が認められた。すなわち CW (図 5, A) の未受粉の GA<sub>1</sub> 含量は受粉に比べ低く、低下傾向であるが、単為結果性の CNP (図 5, B) では未受粉の開花後 3 日目の GA<sub>1</sub> 含量が最も高かった。

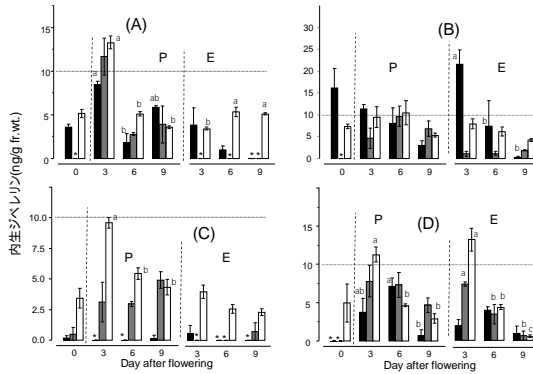


図 5 内生ジベレリン量

黒: GA<sub>1</sub>, 灰色: GA<sub>20</sub>, 白: GA<sub>19</sub>, \*検出されず;  
記号、統計処理等は図3と同じ

受粉果実が全く肥大しない INT (図 5, C) では GA<sub>1</sub> は受粉においても低レベルであった。一方単為結果性を有する SHI (図 5, D) においては、GA<sub>1</sub> は受粉、未受粉とは関係なく検出された。また、他の系統では、未受粉で低レベル~未検出であった GA<sub>20</sub> が未受粉においても比較的高いレベルで検出された。GA は処理実験でも弱いながら果実肥大を誘発している。すなわち、これらの GA 含量の変化は、各系統の単為結果、果実肥大特性と密接に関係しているものと考えられた。

正常に肥大している受粉 INT 果実において GA<sub>1</sub> がほとんど検出されなかったことは、CK や IAA 含量がある程度高いレベルで維持され

れば、GA は果実肥大に不要である可能性もまた示唆している。

INT, SHI の花の GA<sub>1</sub> 含量は CW, CNP より低レベルであった。これらの小型トウガラシの着果は中型の CW, CNP よりも良いことから、小型トウガラシでは、着果における GA の重要性は低いのかも知れない。

これら一連の植物ホルモン投与、分析結果は、トマトなどでは示されていないものであり、ピーマンの初期の果実肥大においては、トマト、ナスなどとは異なる生理学的機構が存在することを示唆するものと考えられた。

### (3) 栽培時期が CNPH2622 の単為結果性に及ぼす影響

各試験の着果数および 1 果重を表 1 に示した。4 月播種試験では、柱頭除去した蕾は全く着果しなかった。10 月および 8 月播種試験での柱頭処理した蕾の着果数および 1 果重を見ると、CNP は、無処理区の約半数が着果し、1 果重は 10 月播種試験で約 1/2、8 月播種試験で約 1/3 であった。INT は、着果数は無処理区と同等に多かったが、全てが石果であった。CW は、10 月播種試験では着果数が少なかったが、8 月播種試験では着果数が無処理区と同等に多く、10 月および 8 月播種試験ともに 1 果重が無処理区の果実よりやや軽いがある程度肥大した。SHI は、着果率は無処理区と同等に高かったが、全ての果実が小さかった。

以上の結果、CNP の単為結果性は、栽培時期の影響を受け、開花期が高温期にあたる 4 月播種試験では全く単為結果性を発揮しなかったが、開花期の温度が適温である 10 月および 8 月播種試験では、着果数および 1 果重ともに無処理区より小さく不十分であるが、単為結果性を発揮することが明らかになった。

表1 柱頭除去が着果に及ぼす影響

品種・系統名	柱頭除去			無処理		
	処理 蕾数	着果数	平均 1果重(g)	蕾数	着果数	平均 1果重(g)
(10月播種試験)						
CNPH2622	20	7	30.8	20	15	58.0
INT/1579	20	15	0.9	20	9	3.1
California Wonder	20	4	50.4	20	11	86.0
ししとう	20	20	2.9	20	19	3.0
(4月播種試験)						
CNPH2622	20	0	-	20	16	65.1
INT/1579	20	0	-	20	11	7.8
California Wonder	20	0	-	20	2	43.7
ししとう	20	0	-	20	13	8.9
(8月播種試験)						
CNPH2622	20	6	23.0	20	16	72.6
INT/1579	20	9	0.4	20	13	7.3
California Wonder	20	17	63.7	20	20	87.3
ししとう	20	19	2.1	20	20	2.2

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1件)

I.Honda, H. Matsunaga, K. Kikuchi, S.

Matsuo, and M. Fukuda. Identification of pepper (*Capsicum annuum* L.) accessions with large or small fruit that have a high degree of parthenocarpy  
Scientia Horticulturae 135 68-70 (2012)  
doi 10.1016/j.scienta.2011.12.014

〔学会発表〕(計 1件)

本多一郎、ナス科植物の単為結果性に関する研究、第4回上信越育種セミナー 2014年11月

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

本多 一郎 (HONDA, Ichiro)  
前橋工科大学・工学部・生物工学科・教授  
研究者番号：00241852

### (2) 研究分担者

今西 俊介 (IMANISHI, Shunske)  
国立研究開発法人 農業・食品産業技術研究機構・野菜茶業研究所・野菜ゲノム研究領域・主任研究員  
研究者番号：50343976

松永 啓 (MATSUNAGA, Hiroshi)  
国立研究開発法人 農業・食品産業技術研究機構・野菜茶業研究所・野菜育種研究領域・主任研究員  
研究者番号：90355339