

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：33910

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580055

研究課題名(和文) 切り花収穫後の開花調節を目指した光による花弁成長リズムの解明

研究課題名(英文) Analysis for the rhythmic growth of rose flower by light signal aiming the development of postharvest technique for the control of the flower opening

研究代表者

山田 邦夫 (YAMADA, Kunio)

中部大学・応用生物学部・准教授

研究者番号：30345871

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)：本研究の目的は、光刺激とバラ花弁成長との関係を明らかにし、開花現象を解明することである。光刺激が切りバラの開花にどのような影響があるかを調査した結果、開花には、24時間のリズムと、暗期から明期への切り替わりによる動きが存在している可能性が示唆された。LEDを用いて光波長と開花との関係を調べた結果、花弁における光受容の感度が赤色と青色とで異なっており、赤色と青色は独立して開花成長に作用していることが示唆された。明期と暗期の花弁における開花関連タンパク質の発現量を比較した結果、暗期で細胞壁軟化が起こり、明期になるとアクアポリンのゲートが開くことで開花が進むことが推察された。

研究成果の概要(英文)：The aim of this research is to clarify the relation between light stimulus and rose petal growth and the mechanism of flower opening. Our results suggested the possibility that there were two steps for flower opening, one is circadian rhythm of 24 hours and the other is the movement by switching to light period from dark period. Our experiments using LED showed the sensitivity of the red light in rose petals was different from that of blue light, and the pathways of the red light signal and blue light signal were independently on flower opening. Western blot analysis for the protein related on petal growth suggested that cell wall loosening occurred during the dark period and opening of the gate of aquaporin resulted petal growth in the light period.

研究分野：園芸生理学

キーワード：バラ 光刺激 花弁成長 発光ダイオード

1. 研究開始当初の背景

我が国の切り花産業を活性化するためには、国産切り花の高品質化が重要な課題となる。切り花の高品質化の一つに、切り花の日持ち性があげられるが、本研究はつぼみから開花に至る花卉成長の仕組み解明を通して日持ち性向上を目指すものである。古くからバラは樹上で明け方に花卉を肥大させ始め、数時間後には花卉の成長を一時停止することが知られているが、この現象について分子機構の解明など細かな研究はこれまでなされてきていない。本研究では、光刺激によって何らかの重要な要因が引き金として機能しリズム成長を引き起こしているものと予想し、研究を開始した。

2. 研究の目的

本研究では、バラ切り花を用いて、花卉成長リズムと光刺激との関係を詳細に明らかにし、さらにその分子機構の解明を目的としている。本研究成果は、収穫後の切り花の光制御による開花コントロールへ応用することが可能である。さらに、切り花における光の受容システムについても学術的にも重要な知見を得ることも目標とした。

3. 研究の方法

バラ切り花は、名古屋大学付属農場で栽培されている「プリティーウーマン」を午前 10 時ごろに収穫し、室温で湿式輸送により 1 時間かけて中部大学の研究室に運搬し、実験に供試した。切り花は葉およびガクをすべて切り落とし、日本医科機器製のグロースキャビネット内で処理を行った。処理気温は 25 度で、グロースキャビネット付属の蛍光灯もしくは日本医科機器製の LED 照射装置を用いて実験を行った。開花速度の測定は、切り花を上部からデジタルカメラを用いてインターバル撮影を行うことで解析した。遺伝子発現およびタンパク質発現解析は、処理中の花卉

をサンプリングし、mRNA 抽出・タンパク質抽出を行い、それぞれ定量的リアルタイム PCR・ウエスタンブロット解析を行った。mRNA 発現解析は、エンド型キシログルカン転移酵素/加水分解酵素 (XTH)、エクспанシン、液胞膜型および細胞膜型アクアポリンの mRNA をターゲットとし、タンパク質発現解析は、XTH、エクспанシン、アクアポリン、リン酸化アクアポリンをそれぞれ特異的に認識する抗体を用いた。また、糖代謝に関しては、花卉液胞に存在する可溶性酸性インベルターゼおよび細胞壁に存在する不溶性酸性インベルターゼの活性を測定した。

4. 研究成果

本研究では、バラ切り花のリズム成長メカニズムを解明するため、開花に関連するタンパク質の発現パターンを調べるとともに、様々な光環境下での影響について調査した。まず、バラ花卉成長に関連する糖代謝について解析した。酸性インベルターゼは葉から花卉に転流してきたスクロースをヘキソースに分解する酵素であり、花卉中に多くの糖を蓄積させるのに重要な酵素である。本実験によりバラを切り花として収穫することで、本来樹上の花卉で上昇するはずの酸性インベルターゼ活性が上昇せず、切り花の花卉での糖代謝を著しく悪化させている原因となっていることが示された。活性が上昇しない要因として植物ホルモンの関与が示唆され、特にオーキシンおよびメチルジャスモン酸が酸性インベルターゼ活性に影響を与えていることが明らかとなった。次に、明期開始直後の開花進行中の花卉および暗期開始直前の開花停止時の花卉を用いて、開花関連酵素の mRNA およびタンパク質発現解析を行った。その結果、細胞壁軟化に関連する「エンド型キシログルカン転移酵素/加水分解酵素 (XTH)」は開花ステージが進むにつれて発現量は上昇してくるが、日周期を詳しく見る

と開花停止時のほうが開花進行中の花弁より発現量は増加していることが明らかとなった。また、細胞内への水の流入に関連する「アクアポリン」については、つぼみから開花が進行するにつれて徐々に発現量は低下していた。さらにアクアポリンのゲート開閉に関連するといわれているリン酸化の程度に関しては、開花進行時にリン酸化状態が維持されており、開花停止時は脱リン酸化が起こっていることが示唆された。これらの結果より、前日の開花停止時に XTH の働きにより細胞壁が軟化し、翌日の明期開始直前からアクアポリンのリン酸化により水の流入が起こることで、バラの開花が進行することが推察された。一方、切り花に様々な波長の光を照射したところ、青色光は $45 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 程度までは光強度を増加させると開花速度も上昇したが、赤色光は $25 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 程度で開花速度は最大に達し、それ以上光強度を増加させても開花速度は変化しなかった。これはバラ花弁における光受容の感度が赤色光と青色光とでは異なっていることを示唆している。さらに、赤色光 $55 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ に青色光 $20 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ を混ぜて照射すると、赤色光単独より開花速度は促進したことから、それぞれのシグナルは独立して花弁成長に作用していることが示された。本研究により、バラの開花現象に関わるタンパク質の役割および光シグナルとの関係が明らかとなった。これらの研究成果は、学術的な新規知見というだけでなく、切りバラの品質保持技術に応用が期待できるものと思われる。

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 6 件)

Horibe Takanori, Yamaki Shohei and Yamada Kunio (2015) Diurnal rhythm of petal growth in cut rose flowers. *Acta Horticulturae* 1064: 241-245.

Horibe Takanori and Yamada Kunio (2014) Petals of cut rose flower show diurnal rhythmic growth. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 83 302-307.

Horibe Takanori, Yamaki Shohei and Yamada Kunio (2014) Leaves of cut rose flower convert exogenously applied glucose to sucrose and translocate it to petal. *Journal of Horticultural Research* 22: 41-46.

Horibe Takanori, Yamaki Shohei and Yamada Kunio (2013) Effects of auxin and methyl jasmonate on cut rose petal growth through activation of acid invertase. *Postharvest Biology and Biotechnology* 86: 195-200.

Ochiai Masaki, Matsumoto Shogo, Maesaka Masahiro and Yamada Kunio (2013) Expression of mRNAs and proteins associated with cell-wall-loosening during Eustoma flower opening. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 82 154-160.

Ochiai Masaki, Matsumoto Shogo and Yamada Kunio (2013) Methyl jasmonate treatment promotes flower opening of cut Eustoma by inducing cell wall-loosening proteins in petals. *Postharvest Biology and Biotechnology* 82: 1-5.

〔学会発表〕(計 10 件)

山田邦夫 分子遺伝学・生理学からみたバラ切り花の日持ち性 園芸学会平成 26 年度秋季大会 公開シンポジウム 2014.9.27 佐賀大学

Yamada Kunio, Horibe Takanori and Sanda Kaoru, Effect of red and blue light on rhythmic opening of cut rose flower. 29th International Horticultural Congress. 2014.8.18-22, Brisbane, Australia

堀部貴紀・白武勝裕・山田邦夫 バラの周期的花弁成長とアクアポリン 第 9 回トランスポーター研究会 2014.6.14-15 名古屋市立大学

堀部貴紀・山田邦夫 バラ切り花の周期的

花卉成長とその応用 園芸学会平成 25 年度
秋季大会 2013.9.20-22 岩手大学

Horibe Takanori and Yamada Kunio.
Diurnal rhythm of petal growth in cut rose
flowers. Sixth International Symposium on
Rose Research and Cultivation.
2013.8.25-30, Hannover, Germany

堀部貴紀・山田邦夫 葉の有無がバラ切り
花の鑑賞期間と糖の転流に与える影響 園
芸学会平成 25 年度春季大会 2013.3.23-24
東京農工大学

落合正樹・太田垣駿吾・白武勝裕・松本
省吾・山田邦夫 ジャスモン酸がトルコギキ
ョウ切り花の開花および細胞壁伸展性関連
タンパク質量に及ぼす影響 園芸学会平成
25 年度春季大会 2013.3.23-24 東京農工
大学

堀部貴紀・山田邦夫 バラ花卉からのイン
ベルターゼインヒビターのクローニング
園芸学会平成 24 年度秋季大会 2012.9.22-24
福井県立大学

堀部貴紀・岩田成生・白武勝裕・山田邦夫 バ
ラ切り花の開花とアクアポリン 園芸学会平成 24
年度秋季大会 2012.9.22-24 福井県立大学

堀部貴紀・岩田成生・白武勝裕・山田邦夫
バラ切り花の開花とアクアポリン 第 7 回
トランスポーター研究会 2012.6.9-10 京
都大学

〔図書〕(計 1 件)

山田邦夫 第 6 章 生活環境との関わり
5 . 観賞植物と生活環境 pp. 218-224
第 7 章 食料生産と環境との関わり 5 . 植
物工場の展開 pp. 272-277
In: 環境生物学序論 改訂版 (ISBN
978-4-8331-4121-5), 南基泰・上野薫・山木
昭平 編, 風媒社 (2015/3)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)
なし

取得状況 (計 0 件)
なし

〔その他〕
なし

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

山田 邦夫 (YAMADA, Kunio)

中部大学・応用生物学部・准教授

研究者番号 : 3 0 3 4 5 8 7 1

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし