

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450046

研究課題名(和文) グラジオラスの開花におけるオーキシンの役割と花持ちへの応用

研究課題名(英文) Role of the auxin action in the flowering of gladiolus, and its application for preserve of flower freshness.

研究代表者

添野 和雄 (SOENO, Kazuo)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・西日本農業研究センター 傾斜地園芸研究領域・上級研究員

研究者番号：50392006

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：オーキシン生合成阻害剤を用いてグラジオラスの開花時に機能しているオーキシン生合成経路の解析と、開花に及ぼす影響を調査した。

その結果、グラジオラス小花で開花時に機能しているオーキシン生合成経路はシロイヌナズナと同様インドールピルビン酸経路であった。また、オーキシンシグナルがエチレン生産制御に関与していることも示唆された。オーキシン生合成阻害剤をグラジオラス小花に処理することで、内生オーキシン量が減少し、小花の肥大・開花が遅延するとともに、エチレン生産も抑制されることにより老化抑制効果を示すことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, to verify the biosynthesis pathway and physiological role of auxin in the flowering of gladiolus, exogenous application of novel auxin-biosynthesis inhibitors were examined.

The result revealed that indole-3-pyruvic acid pathway has been suggested as a major biosynthesis pathway in the flowering of gladiolus floret. Application of the auxin-biosynthesis inhibitors showed reduced endogenous indole-3-acetic acid (IAA) content and ethylene production in flowering of gladiolus floret. These results suggested that reduced IAA content may suppress growth and hypertrophy, and reduced ethylene production may suppress aging in the floret of gladiolus.

研究分野：生物有機化学

キーワード：オーキシン 生合成阻害剤 グラジオラス 開花制御 鮮度保持 エチレン生合成

1. 研究開始当初の背景

切り花の鮮度を保持する技術は花きの生産・流通・消費活動において重要な位置を占める。切り花の鮮度保持は成長と老化の2つの現象を考慮する必要があり、切り花の品質低下の防止には予冷、貯蔵および輸送技術によるものと品質保持剤を使用する方法がある。品質保持剤には成長に必要な糖類やバクテリアによる水揚げ悪化を防止するための抗菌剤、老化現象を促進するエチレンの阻害剤などが中心である。エチレン阻害剤としてはエチレン作用を阻害するチオ硫酸銀錯塩(STS)がよく知られており、その他にエチレン生合成阻害剤としてL-アミノエトキシビニルグリシン(AVG)やアミノオキシ酢酸(AOA)などが、作用阻害剤として1-メチルシクロプロペン(1-MCP)などが知られている。しかしながら花器官においてエチレンを生成しないものやエチレンに対する感受性が低いものなど、エチレン阻害剤では鮮度保持効果が得られない花き類も多く存在する。また、STSはその主成分が重金属である銀であるため、最近では環境汚染の観点から使用が問題視される傾向にある。一方、エチレン以外の植物ホルモンでは、オーキシシンが比較的高濃度でエチレン生成を増加させることが知られており、切り花の収穫後生理においてもカーネーションにおいてインドール3-酢酸(IAA)と合成オーキシシン(2,4-D)がエチレンを増加させ、老化を促進することが報告されている(Wulster *et al.* 1982)。

アヤメ科の球根類花きであるグラジオラスでは、エチレンに対する感受性は低く(市村, 2011)、有効な品質保持剤は開発されていない。また、穂状花序を持つため、収穫後も茎の伸長が続くため重力屈性による曲がりや流通段階における問題点となっている(切り花の鮮度保持マニュアル, 1997)。

一方、果実の成熟においてもエチレンが重要な役割を果たすことが知られているが、最近になって溶質モモでは成熟後期にIAA内生量が増加することでエチレン生成量が増大し、急激な果実の軟化が起こるが、アンチオーキシシン処理でエチレン生成が抑制されること、硬質モモではIAA内生量およびエチレン生成量の増加が起こらないが、IAAやオーキシシン剤を処理すると軟化することなどが報告されている(Tatsuki *et al.* 2013)。

2. 研究の目的

グラジオラスはエチレンに対する感受性が低く、切り花として有効な品質保持剤は開発されていない。申請者らはこれまでにシロイヌナズナにおけるオーキシシン生合成阻害剤を多数開発しており、その内の4-ビフェニルボロン酸(BBo)がグラジオラス小花に対し、開花遅延・老化抑制効果を示すことを見いだした。これまでにオーキシシン生合成制御による切り花の品質保持に関する研究は行われていない。また、グラジオラスにおける

IAA生合成経路に関する報告は無く、IAA内生量と開花ステージの関係、小花における内生IAAがエチレン生成量に及ぼす影響、および開花遅延・老化抑制効果との関係などは明らかではない。

そこで、グラジオラスの開花時に機能しているオーキシシン生合成経路を明らかとすうえで、オーキシシン生合成阻害剤処理がグラジオラスの開花に及ぼす影響と作用機構を解析することで、STSなど既存の鮮度保持剤では効果が得られない花き類に対する鮮度保持技術開発の基礎となる知見を得ることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) グラジオラスの小花で機能しているオーキシシン生合成経路の解明

開花前のグラジオラス小花(‘エッセンシャル’、‘グリーンアイル’、‘プリンセスマーガレットローズ’)を試料として、IAAおよびトリプトファン(Trp)以降で想定される生合成前駆体としてインドールピルビン酸(IPyA)、インドールアセトアルデヒド(IAlD)、トリプタミン(TAM)、インドールアセトアミド(IAM)、インドールアセトアルドキシム(IAOx)、インドールアセトニトリル(IAN)についてUPLC-MS/MSを用いて網羅的に解析し、グラジオラスの開花時に機能しているオーキシシン生合成経路の推定を行った。

(2) オーキシシン生合成阻害剤処理がグラジオラスの開花とオーキシシン生合成およびエチレン生産に与える影響

①(a)開花前のグラジオラス花序(‘エッセンシャル’)を蒸留水(Mock)およびオーキシシン生合成阻害剤溶液(キヌレニン(Kyn) 10 μ M, パラフェニルボロン酸(PPBo) 1 μ M)処理し、鮮度保持効果と新鮮重変動を調査した。(b)花前のグラジオラス花序(‘シマローサ’)をMockおよびオーキシシン生合成阻害剤溶液(BBo 1 μ M, PPBo 1 μ M)処理し、鮮度保持効果と新鮮重変動を調査した。なお、全ての溶液には殺菌剤として8-HQSを100ppm添加した。25 $^{\circ}$ C、PPFD:15.78 μ mol/m 2 /s、12L/12D、平均湿度53%。

②開花前のグラジオラス小花(‘グリーンアイル’)をMockおよびオーキシシン生合成阻害剤溶液(BBo 100nM)処理し、鮮度保持効果と新鮮重変動およびオーキシシン類の内生量変動を調査した。

③開花前のグラジオラス小花(‘プリンセスマーガレットローズ’)をMockおよびオーキシシン生合成阻害剤溶液処理(BBo 1 μ M, PPBo 1 μ M)し、鮮度保持効果と新鮮重変動、オーキシシン類の内生量変動およびエチレン生産量を調査した。

4. 研究成果

(1) 開花前のグラジオラス小花の内生オーキシシン類について網羅解析した結果、いずれ

の品目においても Trp と IPyA、IAA1d が IAA 合成前駆体候補として検出された。IAM、IAOx、IAN は全く検出されず、TAM は品種により検出されたりされなかったりした。これらの結果から、グラジオラス小花の開花時に機能しているオーキシン合成経路はシロイヌナズナなどと同様、IPyA 経路である事が示唆された。

(2) オーキシン合成阻害剤処理がグラジオラスの開花およびオーキシン合成およびエチレン生産に与える影響

①(a) 開花前のグラジオラス花序にオーキシン合成阻害剤を処理したところ、いずれの品種においてもオーキシン合成阻害剤処理による表現型においては有意な開花遅延効果は認められなかったが、花序全体の新鮮重の増加が Mock 処理と比べて PPBo 処理では抑制されていた。また、花序全体の新鮮重が減少に転じた後に、阻害剤処理では Mock 処理と比較して減少抑制効果が認められた (図 1)。このことから、開花時の生育・肥大や老化にオーキシンが関与していることが示唆された。

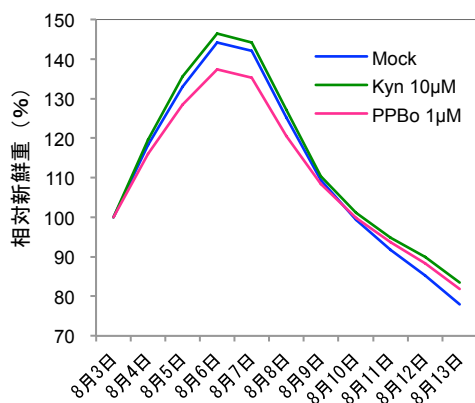


図 1 オーキシン合成阻害剤処理が‘エッセンシャル’花序の新鮮重に及ぼす影響

②開花前のグラジオラス(‘グリーンアイル’)小花にオーキシン合成阻害剤(BBo 100nM)を処理すると、表現型において Mock 処理と比較して 1~2 日程度の開花遅延効果が認められた。また、オーキシン合成阻害剤処理 1 時間後より内生 IAA 量の低下が見られ、処理 24 時間後では Mock 処理の半分以下であった (図 2-A)。このとき IAA1d 内生量に変化は見られなかったが、IPyA 内生量は処理 24、72 時間後に Mock 処理よりも増加傾向を示しており、BBo が IPyA から IAA への変換を阻害していることが確認された (図 2-B)。これらの結果から、グラジオラス花序全体ではオーキシン合成阻害剤の吸収・移行が充分行われず阻害効果が表現型に現れなかったが、小花でのオーキシン合成阻害剤処理では IAA 合成が有意に阻害されたことで小花の開花が遅延したと考えられる。

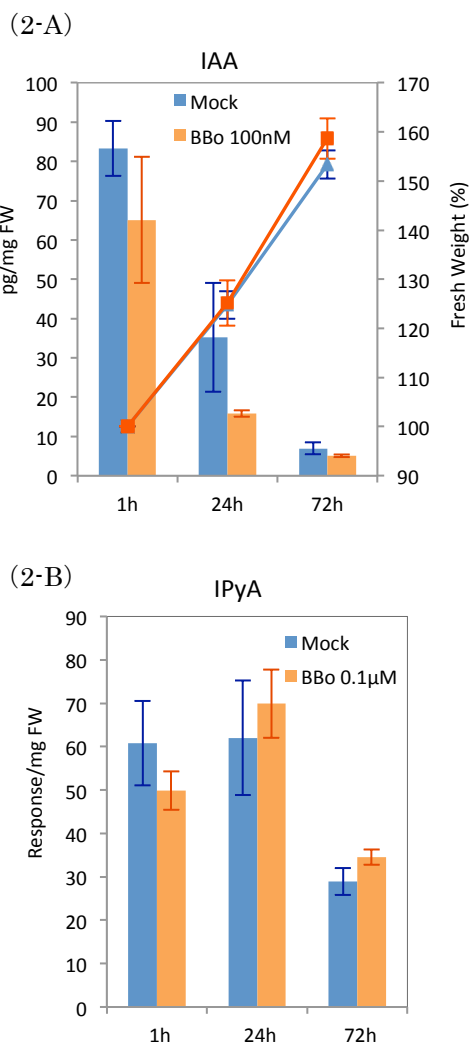


図 2 オーキシン合成阻害剤処理が‘グリーンアイル’小花の IAA (2-A) および IPyA (2-B) 内生量に与える影響

③開花前のグラジオラス小花(‘プリンセスマーガレットローズ’)にオーキシン合成阻害剤(BBo 1µM, PPBo 1µM)を処理すると‘グリーンアイル’とは異なり、処理 24 時間後の IAA 内生量が増加傾向(有意差無し)となっていた。一方、エチレン生産量は BBo、PPBo 処理 1 時間後から減少傾向を示し、処理 24 時間後には Mock 処理ではエチレン生産量が増加しているのに対し、BBo および PPBo 処理ではエチレン生産量が優位に減少していた。BBo 処理では 48 時間後ではエチレン生産量が増加に転じたが、PPBo 処理ではエチレン生産量が減少し続けた (図 3)。この結果から、グラジオラスの開花においてもオーキシンシグナルがエチレン生産制御に関与しており、オーキシン合成阻害剤を処理することで内生 IAA 量が減少し、小花の肥大・開花が遅延するとともに、エチレン生産も抑制されることにより老化抑制効果を示すことが示唆された。

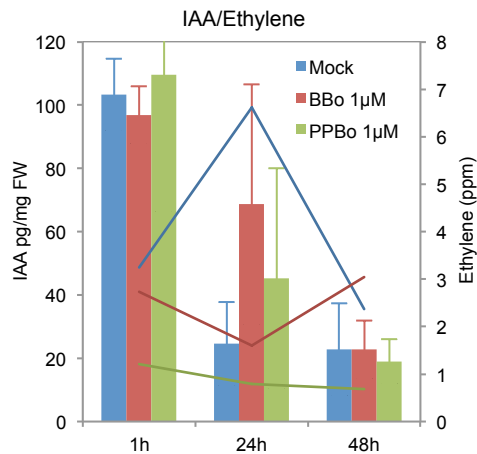


図3 オーキシン生合成阻害剤処理が‘プリンセスマーガレットローズ’小花の IAA 内生量 (縦棒) およびエチレン生産量 (折れ線) 内生量に与える影響

<引用文献>

- Wulster *et al.* (1982) *Plant Physiol.*, 70: 1039-1043.
 市村、(2011) MPS ニュース 49: 2-3
 切り花の鮮度保持マニュアル (1997) (財)日本花普及センター監修、(株)流通システム研究センター
 Tatsuki *et al.* (2013) *J. Exp. Bot.*, 64: 1049-1059.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 4 件)

- ①Y. Kakei, A. Nakamura, M. Yamamoto, Y. Ishida, C. Yamazaki, A. Sato, M. Narukawa-Nara, K. Soeno and Y. Shimada (2017) *Biochemical and Chemical Biology Study of Rice OsTAR1 Revealed that Tryptophan Aminotransferase is Involved in Auxin Biosynthesis: Identification of a Potent OsTAR1 Inhibitor, Pyruvamine2031.* *Plant and Cell Physiology* 58(3): 598-606. doi:10.1093/pcp/pcx007. (査読有)
- ②添野 和雄, 立木 美保, 嶋田 幸久 (2017) 植物ホルモン「オーキシン」の生合成阻害剤の開発と植物成長調節剤としての応用. *植調*. 50(11): 17-24. (査読無)
- ③M. Narukawa-Nara, A. Nakamura, K. Kikuzato, Y. Kakei, A. Sato, Y. Mitani, Y. Yamasaki-Kokudo, T. Ishii, K. Hayashi, T. Asami, T. Ogura, S. Yoshida, S. Fujioka, T. Kamakura, T. Kawatsu, M. Tachikawa, K. Soeno, Y. Shimada (2016) *Aminoxy-naphthylpropionic acid and its derivatives are inhibitors of auxin*

biosynthesis targeting L-tryptophan aminotransferase: structure-activity relationships. *Plant Journal* 87(3): 245-257. (査読有)
 doi: 10.1111/tpj.13197

④M. Suzuki, C. Yamazaki, M. Mitsui, Y. Kakei, Y. Mitani, A. Nakamura, T. Ishii, K. Soeno and Y. Shimada (2015) *Transcriptional feedback regulation of YUCCA genes in response to auxin levels in Arabidopsis.* *Plant Cell Reports* 34(8): 1343-1352. (査読有)
 doi: 10.1007/s00299-015-1791-z

[学会発表] (計 9 件)

①添野 和雄, 箕 雄介, 東出 忠桐, 立木 美保, 嶋田 幸久. オーキシン生合成阻害剤の開発と園芸植物への応用. 園芸学会平成 29 年度春季大会. 2017. 3. 20 日本大学生物資源科学部 (神奈川県・藤沢市)

②添野 和雄, 箕 雄介, 嶋田 幸久. オーキシン生合成阻害剤の開発とその作用機作解析. 日本農薬学会第 42 回大会. 2017. 3. 7 愛媛大学 城北キャンパス (愛媛県・松山市)

③K. Soeno, Y. Kakei, M. Tatsuki, Y. Shimada. Discovery and development of biosynthesis inhibitors for a plant hormone, auxin from bioinformatics approaches. The 44th Symposium on Structure-Activity Relationship & The 31st Assembly for Pesticide Design Research. 2016. 11. 16 Kyoto (Japan)

④K. Soeno, Y. Kakei, Y. Shimada. Auxin biosynthesis inhibitors, new tools for auxin study and regulation. 22nd International Conference on Plant Growth Substances. 2016. 6. 24 Toronto (Canada)

⑤箕 雄介, 山崎千秋, 鈴木優志, 中村郁子, 佐藤明子, 石田遥介, 菊地理絵, 東昌市, 國土祐未子, 石井貴広, 添野和雄, 嶋田幸

久. YUCCA を標的としたオーキシシン生合成阻害剤～作用機構解析の続報. 第 57 回日本植物生理学会年会 2016. 3. 18 岩手大学 (岩手県・盛岡市)

⑥高藤晋, 三井麻利江, 石田遥介, 鈴木優志, 笥雄介, 山崎千秋, 石井貴広, 林謙一郎, 藤岡昭三, 中村郁子, 持田恵一, 添野和雄, 嶋田幸久. SCF^{TIR1} 複合体を介したオーキシシン生合成のフィードバック制御機構. 第57回日本植物生理学会年会 2016. 3. 18 岩手大学 (岩手県・盛岡市)

⑦Y. Kakei, C. Yamazaki, M. Suzuki, A. Nakamura, A. Sato, Y. Ishida, R. Kikuchi, S. Higashi, Y. Kokudo, T. Ishii, K. Soeno, Y. Shimada. Auxin biosynthesis inhibitor effectively targets YUCCA. 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies. 2015.12.16 Honolulu (U. S. A.)

⑧Y. Shimada, Y. Kakei, A. Nakamura, K. Soeno. Novel chemical tools for auxin biology auxin-biosynthesis inhibitors. 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies. 2015.12.16 Honolulu (U. S. A.)

⑨高藤晋, 三井麻里江, 石田遥介, 鈴木優志, 笥雄介, 山崎千秋, 石井貴広, 林謙一郎, 藤岡昭三, 中村郁子, 持田恵一, 添野和雄, 嶋田幸久. SCF^{TIR1/AFB} complex を介したオーキシシン生合成のフィードバック制御機構. 植物化学調節学会 第 50 回大会 2015. 10. 24 東京大学 (東京都・文京区)

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

添野 和雄 (SOENO, Kazuo)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・西日本農業研究センター傾斜地園芸研究領域・上級研究員

研究者番号 : 50392006

(2) 連携研究者

嶋田 幸久 (SHIMADA, Yukihiisa)

公立大学法人横浜市立大学・学術院国際総合科学群 大学院生命ナノシステム科学研究科・教授

研究者番号 : 30300875