

研究種目：基盤研究(C)	
研究期間：2007～2009	
課題番号：19580027	
研究課題名（和文）	収穫に伴う過敏感反応のシグナル伝達と発生機構の解明による新規切り花花卉の開発
研究課題名（英文）	Development of new cut flower crops through regulating the signal transduction and mechanisms of hypersensitive physiological disorders after harvest
研究代表者	土井元章 (DOI Motoaki) 京都大学・農学研究科・教授 研究者番号：40164090

研究成果の概要（和文）：新しい切り花花卉を開発することを視野に入れ、カンナ葉の収穫後の諸特性を明らかにした。収穫に伴って1分以内に葉面電位が低下し、茎の切断刺激が電氣的に葉身に伝わって巻き込みや褐変障害を引き起こすと考えられた。また、障害発生は量子収率の低下を伴った。日中に老化葉を収穫すると激しく発生するが、若葉を日の出前に収穫するとほとんど発生しなかった。このような日の出前の若葉ではアスコルビン酸ペルオキシダーゼ等活性酸素消去能が高く、収穫後も維持された。

研究成果の概要（英文）： With a view to developing new cut flower crops, we investigated the postharvest characteristics of canna leaves. The leaf electric potential decreased rapidly after harvest, suggesting that the electric signal caused inrolling and necrotic disorders of leaves. The occurrence of necrotic disorder was accompanied by a decrease in quantum yield. The old leaves harvested at noon exhibited severe disorders, while the young leaves harvested before sunrise rarely did. In these young leaves, the scavenging capacity of active oxygen, such as ascorbate peroxidase activity, was higher than that of old leaves.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
19年度	2,700,000	810,000	3,510,000
20年度	500,000	150,000	650,000
21年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：園芸学・造園学

キーワード：カンナ，切断，葉面電位，クロロフィル蛍光，量子収率，褐変障害，光酸素ストレス，活性酸素消去系

1. 研究開始当初の背景

植物の過敏感反応は、病害虫の全身抵抗性の獲得に深く関わり、外部ストレスに対して迅速に反応して細胞や組織といった部分的

な死を引き起こすことで個体の死を回避する機能であることが明らかにされてきた。また、セントポーリアをはじめとするいくつかの園芸植物で、過敏感反応が傷つけや火傷と

いった物理的ストレスに対しても生じ、リーフスポット等の障害発生を引き起こすことが明らかにされ、本研究の実験材料であるカンナにおいては、収穫という茎の切断行為が葉身の激しい褐変を引き起こすため、切り花として利用することができなかった。

2. 研究の目的

- (1) カンナを実験材料として、収穫（茎の切断）に伴って起こる過敏反応の諸特性を把握する。
- (2) 切断刺激の瞬時的なシグナル伝達機構を解明する。
- (3) 生理障害（葉身の巻き込み、萎凋、褐変等）の発生機構を解明する。
- (4) 過敏反応の制御手法を開発することにより、新たに切り花や切り葉としての利用を図る。

3. 研究の方法

- (1) カンナ‘バターカップ’の葉を収穫し、これらを水に生けて障害発生の様相を把握した。葉齢、収穫位置、収穫前後の光環境、収穫時刻、切断以外のストレス等と障害発生との関係を明らかにした。また、収穫に伴う気孔の開閉、吸水・蒸散速度の変化、褐変障害発生に至る生理的・形態的特性を明らかにした。
- (2) 収穫に伴う葉面電位の変化を計測した。また、カルシウム欠乏状態での反応、エチレン生成とエチレンに対する反応について明らかにした。
- (3) 収穫に伴う葉身のクロロフル蛍光の変化を計測し、障害発生との関係を検討した。
- (4) 褐変障害の発生しにくい若葉と発生しやすい老化葉におけるSODやAPX等の活性を計測し、活性酸素消去能を比較した。
- (5) 電気刺激、暗黒処理、水浸漬処理による障害発生の抑制法について検討した。

4. 研究成果

本研究では、「茎や葉柄の切断刺激は、電氣的シグナルとして葉身に伝わって過敏反応を引き起こし、光合成によって生じる活性酸素種を介して障害発生をもたらす」という仮説のもと、生理障害発生に至る生理的・形態的過程の観察、葉面電位、クロロフィル蛍光の計測、活性酸素消去系酵素活性の計測等を通じて収穫（切断）が収穫物にもたらす影響の理解を深めることができた。あわせて、植物を利用するにあたって unavoidable 収穫という行為が植物にもたらす影響を垣間見ることができ、園芸学に新たな視点をもたらすことができたと考えている。得られた研究成果は今後国際学会等で発表し、評価を得たい。

- (1) カンナ葉を節直下1～2cmの位置で収穫し、これを脱塩水に生けて収穫後の特性を

表1. 葉の収穫段階および葉位が巻込みと褐変発生に及ぼす影響。

収穫段階 ^a	葉位	巻込み率 (%)	褐変程度
つぼみ	上	8	0.3
	下	50	0.8
開花	上	30	0.5
	下	59	2.0
老化	上	71	3.3
	下	67	3.8

分散分析 (NS: $P > 0.05$, *: $P \leq 0.05$, **: $P \leq 0.01$, $n=4$)

項目	巻込み率	褐変程度
収穫段階	**	**
葉位	**	**
収穫段階×葉位	**	NS

^a葉を収穫したシュートの花序の状態。

調べた。晴天日の13時に葉を収穫した場合、収穫直後に蒸散速度が急増して葉身が巻き込み、その後数時間で褐変障害が発生した。この巻き込みと褐変障害は収穫するシュートの花序がつぼみ段階の若葉、開花段階の成熟葉、老化段階の老化葉と葉齢が進むほど、また開花段階のシュートまでは上位葉に比べて葉齢の進んだ下位葉でより激しく発生した（表1）。成熟葉を用いて収穫時刻が障害の発生及ぼす影響について検討したところ、収穫前が明期である時刻の収穫において激しい障害発生がみられ（図1）、また日の出から9時までの間では、それまで受けた日射量が多くなるほど障害が激しく発生した。

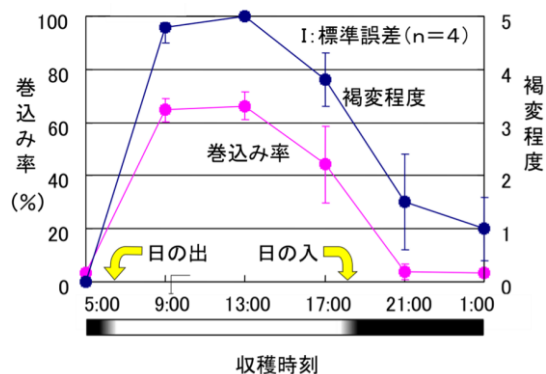


図1. 収穫後の葉身の巻込みおよび褐変。

- (2) 葉面電位の変化を測定したところ、葉身の葉面電位は収穫後1分以内にマイナス方向に約50mV変化し、その後30分間はそのままとなった（図2）。収穫位置の上下を銅

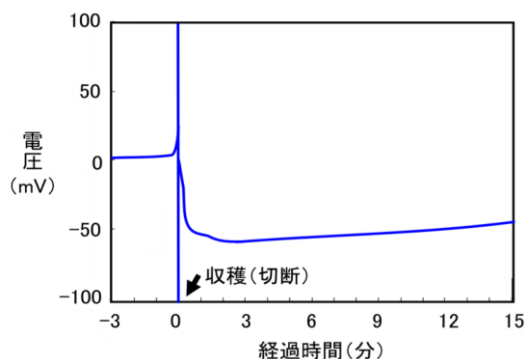


図2. 収穫後の葉面電位の変化。

線でつなぐ、もしくは収穫位置より下の茎部と葉身をコンデンサに接続することで、葉身の巻込みをほぼ完全に抑制することができた。しかしこれらの接続をはずし室内に取り込んだ場合、巻込みと褐変障害の発生を抑えることはできなかった。

(3) PSII由来のクロロフィル蛍光を測定したところ、若葉、老化葉とも収穫10分以内に蛍光収量が低下し、老化葉ではその後も低下したままであった。日中の収穫時点の量子収率は若葉、老化葉ともに0.63と低く、収穫後0.74前後まで上昇した。若葉においてはその後も徐々に上昇を続け、3時間の測定中に褐変障害の発生はみられなかった。一方、老化葉においては3時間後に量子収率の急激な低下がみられ、褐変障害が発生しはじめた。日の出前の収穫では、収穫時点の量子収率は高く、収穫後3時間はほぼ一定で推移し、この時点までに褐変障害の発生はみられなかった。また、昼間に収穫した老化葉では葉身の先端部から基部へ向かって褐変障害が発生し、褐変が始まる時点で収穫後いったん回復した量子収率の再低下が認められた。

(4) 日の出前のインタクトな若葉と老化葉の間にはSOD活性に有意な差は認められなかった。しかし、晴天日の昼間の老化葉では日の出前と比較してSOD活性が高く、活性酸素種がより多く生成されているものと考えられた(表2)。APX活性は、日の出前、日中とも老化葉で活性が著しく低く、老化葉において収穫3時間目の時点では、障害が発生していない部位は障害発生部位と比較してAPX活性が低下した。

(5) 障害の発生を抑制する目的で収穫前後に行う種々の処理を検討した。標準のカルシウム濃度の1/10濃度でカンナを栽培したが、収穫後の障害発生に有意な差は得られなかった。ただし、1/10濃度区でカルシウム欠乏が生じなかったことが考えられ、再検討を要する。収穫後の葉を水等に浸漬する実験を行ったところ、水中にある期間ならびに部位のみ褐変障害の発生が抑制された。ただし、水から引き上げた場合褐変障害が遅れて発生した(図3)。収穫前の株に遮光シートを被せ

表2. 若葉と老化葉におけるSODおよびAPX活性の比較.

葉齢 (収穫時刻)	SOD活性 (unit·g ⁻¹ FW)	APX活性 (unit·g ⁻¹ FW)
若葉 (6:00)	5.0	29.4
老化葉 (12:00)	7.5	5.6
t検定 ^z	*	**
若葉 (6:00)	5.5	32.2
老化葉 (6:00)	5.6	4.9
t検定 ^z	NS	**

^zNS: P≥0.05, *: P<0.05, **: P<0.01.

て暗黒とし、成熟葉および老化葉の収穫を行ったところ、成熟葉では4時間の処理で褐変障害は発生しなくなった。一方、老化葉では、12時間の暗黒処理を与え5時30分に収穫した場合に褐変障害発生が軽微であったものの、さらに暗黒処理を続け昼間の時間帯で収穫すると再度褐変障害が激しく発生するようになった。カンナを切り葉として利用するには、若葉または成熟葉を暗期開始後4時間以上経過してから収穫すればよく、水に生けるだけで2週間以上観賞価値を維持できることが明らかとなった。



図3. 下位節の葉のみ水に浸けた処理.

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0件)

〔学会発表〕(計2件)

Doi, M., M. Wakita, Y. Takizawa, N. Hirose and M. Hosokawa. 2010. Postharvest photooxidative disorders in canna leaves. Abstract of 28th IHC in Lisboa. (Accepted) International Horticultural Congress, Aug. 26, 2010, Lisboa.

土井元章・滝澤陽子・廣瀬望. 2007. カンナ葉の収穫に伴う葉面電位の変化と障害発生. 園学研. 7別2: 336. 園芸学会, 平成20年9月28日, 津.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

土井元章 (MOTOAKI DOI)

京都大学・農学研究科・教授

研究者番号: 40164090