様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　７ 年　４ 月 １３ 日現在

機関番号：１２５０１
研究種目：基盤研究(B)（一般）
研究期間：2021～2023
課題番号：２１Ｈ０２１８２

研究課題名（和文）ブドウの色素・糖合成促進プロセスへのABAシグナル伝達と光応答のクロストーク解明

研究課題名（英文）Clarification of crosstalk between ABA signal transduction and optical response on anthocyanin and sugar accumulation in grape berries

研究代表者
近藤　悟（KONDO, Satoru）

千葉大学・大学院園芸学研究院・特任研究員

研究者番号：７０２６４９１８

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　12,900,000円

研究成果の概要（和文）：ブドウの糖濃度は青色LED照射区で増加した。果房への光合成産物の転流割合は、青色照射区では無処理に比べて、有意に増加した。また、青色LED照射はABAのシグナル伝達に関与するSNRK2.6、ABF2、PP2C9遺伝子を刺激し、さらに光受容体の遺伝子発現も刺激した。
これらの結果は青色光が光受容体を通じてABAシグナル伝達を刺激し、糖転流を刺激し、結果として果房の糖濃度が増加した可能性を示唆する。

研究成果の学術的意義や社会的意義
ブドウなど果実の発育にとって光は必須要素であるが、波長が果実の糖合成に及ぼす影響については必ずしも明らかでなかった。本研究ではブドウの成熟に関連する植物ホルモンであるアブシシン酸と光受容体の関係を検討し、これらが葉から果房への糖転流に関連することを示唆した。
ブドウ果実の品質向上のために補光処理が行われているが、青色光照射が有効であり、これは青色光が光受容体であるファトトロピンおよびクリプトクローム発現を刺激し、その結果アブシシン酸シグナル伝達遺伝子発現が刺激され、糖転流に関するスクローストランスポーターなど遺伝子発現が刺激されたことが示唆され、糖増加の機構の一端が解明されたと考えられる。

研究成果の概要（英文）：We investigated the effects of ABA metabolism, ABA signal transduction, and light wavelength on sugar synthesis in grapes. Endogenous ABA concentrations were highest in the red LED irradiation area, while anthocyanin and sugar concentrations were highest in the blue LED irradiation area.
When 13C stable isotope was incorporated into the leaves and the translocation of 13C to the cluster was measured, there was a significant increase in the blue irradiated plots compared to the untreated plots. Blue LED irradiation also stimulated the SNRK2.6, ABF2, and PP2C9 genes involved in ABA signal transduction, as well as the photoreceptor phototropin and cryptochrome gene expression. These results suggest that blue light may stimulate ABA signals through photoreceptors.

研究分野：果樹生理学

キーワード：植物ホルモン　アブシシン酸　光受容体　ABA代謝　ABAシグナル伝達　ブドウ

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９（共通）

１．研究開始当初の背景

（１）植物は光を必要とし、一般に特定の波長範囲（440 nm および 660 nm）が光合成に効果的である。現在、野菜など作物に関して、特定の波長の光を効率よく放射する発光ダイオード（LED）を利用した人工環境（いわゆる「植物工場」）での栽培が注目されている。果樹やブドウなどでは、露地栽培に比べて収穫を早めるためにハウス内で促成栽培が行われているが、その際に太陽光の不足を補う補助として利用されており、これらの用途に関して LED への期待は大きい。しかしながら、光波長とブドウの品質との関係は必ずしも明らかではない。

（２）ABA はブドウ顆粒の成熟に関連するが ABA 濃度と ABA シグナル伝達のどちらが糖濃度に重要であるかは明らかでない。

（３）　光シグナルは光受容体によって受け入れられる。しかしながら、光受容体と糖濃度の関係についての報告はほとんどない。

（４）　光受容体が ABA シグナル伝達に影響を与える可能性があることが示唆されているが、ブドウに関する同様の報告は見当たらない。

２．研究の目的

本研究では、ブドウ樹を供試して、葉から果実への糖の移動、糖代謝、光受容体、ABA 代謝、ABA シグナル伝達に及ぼす夜間の青色 LED 光照射の影響を解析し、これらの相互関係について検討する。

３．研究の方法

（１）供試材料

6～11 年生の「巨峰」または「シャインマスカット」のブドウの樹[*Vitis labruscana*]を供試した。実験は千葉大学の温室において、45L ポットに植栽し実施した。それぞれのブドウ樹には 6 房を着房させ、一房 30 粒の着粒とした。

試験１：「巨峰」ブドウを供試し 2 処理区を設けた。ブドウ果房に、タンパク質脱リン酸化酵素 2C9 (PYL-PP2C) ABA 受容体アンタゴニストである 3'-ヘキシルスルファニル-ABA (AS6) を処理し、無処理と比較した。 2020 年には「巨峰」を供試し 3 試験区を設けた。最初の処理区はブドウ果房に 100 μM ABA を処理した。 2 番目処理区のブドウ房には、ABA 生合成における 9-cis-エポキシカロテノイド ジオキシゲナーゼ (NCED) 活性の阻害剤である 100 μM ノルジヒドログアヤレチン酸 (NDGA)を処理した。3 番目の処理区は無処理である。

試験２：赤色 LED（ピーク波長 660nm）と青色 LED（ピーク波長 430nm）の照射区を設けた。LED は果房の両側から照射した。赤と青の LED の光合成有効放射束密度 (PPF) は、光から 10 cm 離れた位置で 120 mmol m-2 s-1 に調整した。 「シャインマスカット」ブドウ樹を使用して 3 処理区を設けた。最初の処理区のブドウ果房には、日没後、開花してから収穫まで（満開から 88 日後 [DAFB]）、赤色 LED を照射した。 2 番目の処理区のブドウ果房には、青色 LED を照射した。 3 番目の処理区は無処理である。

試験３：「巨峰」を供試し 2 処理区を設けた。最初の処理区のブドウの果房には、試験２と同様に青色 LED を照射した。2 番目の処理区は無処理である。

４．研究成果

（１）青色 LED および赤色 LED 照射が 13C 光合成物の移動に及ぼす影響

青色 LED 処理のブドウ樹の 13C 光合成物の割合は、果房で 44%、枝で 10%、葉で 46% だった (図 1)。赤色 LED 処理区では、果房で 38%、枝で 13%、葉で 49% であり、無処理の値は、果房で 23%、枝で 13%、葉で 49% であった。無処理と比較して、青色 LED 処理区における葉と枝の 13C 光合成物の割合は有意に低く、果房での割合は有意に高かった。赤色 LED 処理区における葉に含まれる 13C 光合成産物の割合は、無処理よりも低下した。しかし、赤色 LED 処理区における枝と果房における 13C 光合成産物の割合に有意差はなかった。

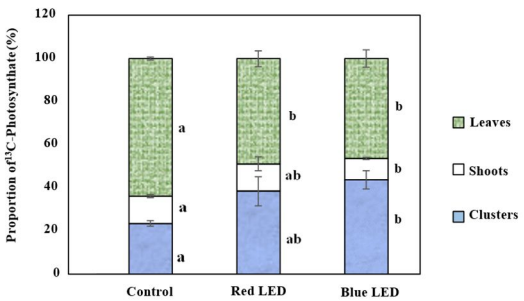

図 1．「シャインマスカット」ブドウ樹における 13C 光合成産物の転流に及ぼす青色 LED および赤色 LED 照射の影響。データは、 9 反復の平均±SE、$p<0.05$ で Tukey の HSD 検定によって解析。 ns: 有意差なし。

（２）　青色 LED 照射によるブドウ果実の糖濃度への影響

無処理区と比較して、青色 LED 照射により 57 DAT でのフルクトース濃度、36 および 57 DAT でのグルコース濃度が増加したが、14 DAT でのこれらの濃度には有意差はなかった。対照的に、スクロース濃度は、青色 LED 照射下では 14 DAT で有意に低く、36 または 57 DAT では青色 LED 照射と無処理区間に有意差はなかった（図 2）。

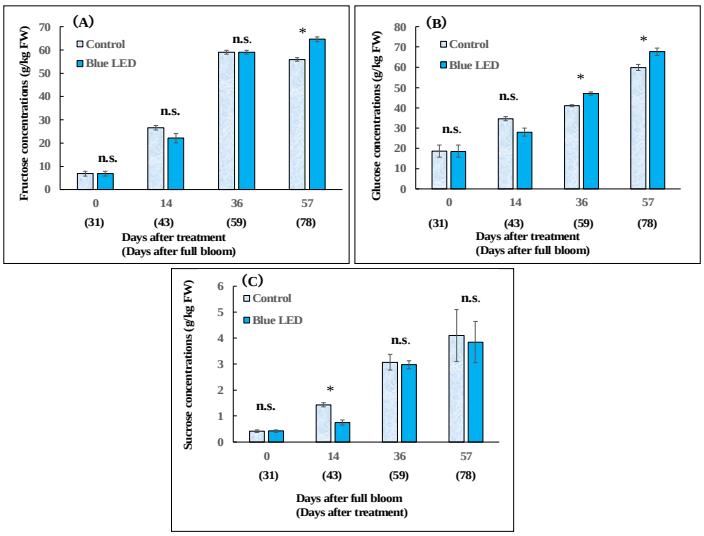

図 2.　ぶどう「巨峰」の果肉中の果糖、ブドウ糖、ショ糖濃度の推移。データは平均値±標準誤差（3 反復）であり、ｔ検定によって検定。 *p<0.05; ns: 有意差なし。

（３）　糖類トランスポーター（*VvSWEET10*）、スクローストランスポーター（*VvSUC11*）、スクロースシンターゼ（*VvSUS4*）、クリプトクローム（*VvCRYa*）、フォトトロピン（*VvPHOT2*）、*VvSnRK2.6*、*VvPP2C9* 転写因子（*VvABF1*）の発現に及ぼす青色 LED 照射の影響

青色 LED 照射により、36 DAT で *VvSWEET10* の発現が、36 DAT および 57 DAT で *VvSUC11* および *VvSUS4* の発現が有意に増加した。これらの遺伝子はそれぞれ糖代謝と転流に関連している(図 3)。青色 LED で処理したブドウ果実の 36 および 57DAT における *VvCRYa* の発現は、無処理区の発現よりも高かった（図 4)。 *VvPHOT2*(青色光の光受容体) の発現は、未処理の対照と比較して、14 および 36 DAT で高かった（図 4)。青色 LED 処理果実における *VvSnRK2.6* の発現は 14 および 57 DAT で増加し、青色 LED 処理果実における *VvABF1* の発現は 14、36 および 57 DAT で増加した。青色 LED 照射は、無処理区と比較して、14 および 36DAT での *VvPP2C9* の発現を有意に減少させた(図省略)。

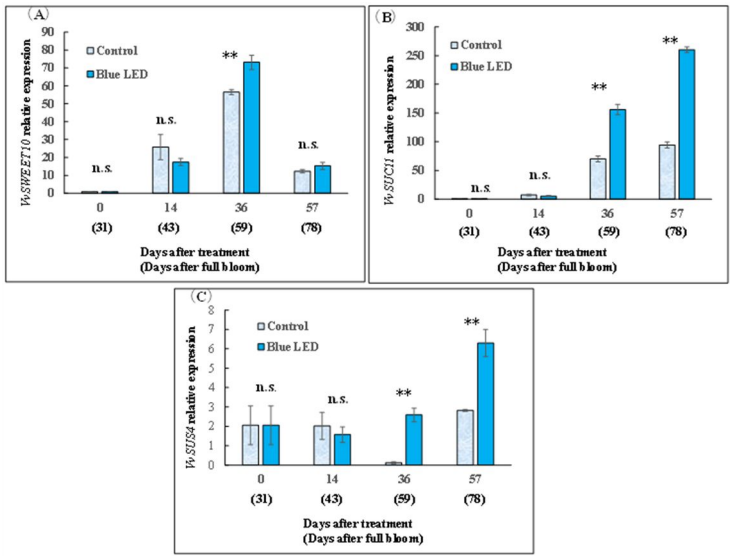

図 3. ブドウ果肉における *VvSWEET10*、*VvSUC11*、*VvSUS4* 遺伝子発現の変化。データは平均値±標準誤差（3 反復）であり、ｔ検定によって解析。 **p<0.01; ns: 有意差なし。

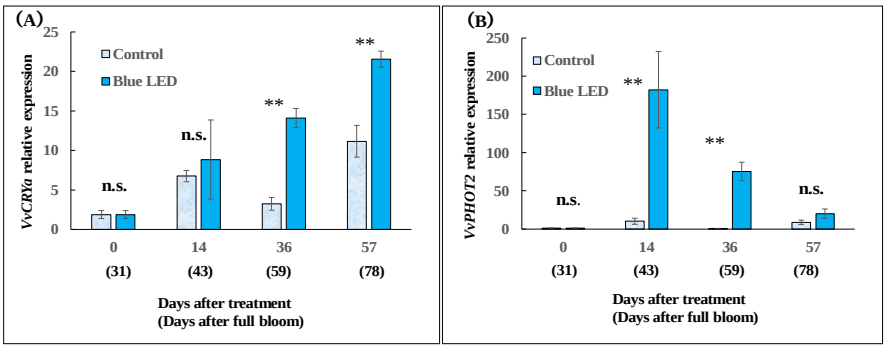

図 4. ぶどう「巨峰」果肉における *VvCRYa* および *VvPHOT2* 遺伝子発現の変化。データは平均値±標準誤差（3 反復）であり、t 検定によって解析。 **p<0.01; ns: 有意なし。

５．考察

我々の今回の結果は、AS6 処理により VvPP2C9 の発現が増加し、内生 ABA 濃度には影響がなかったものの、ABA シグナル伝達に影響をしたことが示された(Takeuchi et al., 2014)。この結果は、ABA シグナル伝達が ABA 濃度に影響を与えることなく収穫時のスクロース濃度を低下させたことを示唆する。ブドウ果房への ABA 処理は、葉からの 13C 光合成産物の転流に影響を与えなかった(Kondo et al., 2022)。これらの結果は、外生的に処理された ABA には長期的な影響がないこと、および/または ABA 濃度の密度が糖濃度にとって必ずしも必須ではないことを示唆する一方、ABA シグナル伝達はブドウ果実の糖濃度に寄与する可能性を示す。

また、我々の結果では、青色 LED 照射によりフルクトースとグルコースの濃度が増加するのに対し、青色 LED 照射下のスクロース濃度は無処理区よりも低かったことも明らかになった。*VvSWEET10*、*VvSUC11*、*VvSUS4* の発現も処理後に増加した。糖トランスポーターである *VvSWEET10* は、成熟（ベレゾーン）期に発現し、ブドウとトマトでの過剰発現により、グルコースとフルクトースの濃度が大幅に増加した（Zhang et al.、2019）。スクローストランスポーターである *VvSUC11* の発現は、ブドウ果実の糖蓄積と正の相関があった(Cai et al., 2021)。スクロース合成酵素である *VvSuSys* の発現は、内因性グルコースおよび ABA の増加と同時に増加した（Wang et al., 2017）。さらに、ブドウにおける SUSy の活性はショ糖の分解を誘導すると考えられている（山木、2010）。これらの報告は、青色 LED 照射によって刺激された *VvSTEET10*、*VvSUC11*、および *VvSUS4* がブドウ果実の糖蓄積と関連している可能性を示唆している。

我々の研究では、葉に取り込ませた $^{13}CO_2$ の割合は、無処理の果房よりも青色 LED 処理した果房で高かった。これは、青色 LED 照射が、葉からブドウ果房に転流する物質であるスクロースの移動を刺激する可能性を示唆する。それにもかかわらず、本研究における青色 LED 処理区での果房のスクロース濃度は影響を受けないか、または収穫時に減少した。貯蔵中のヤマモモ(Myrica robra Sieb. および Zucc. Cv. Biqi）では、青色光照射により糖代謝に関連する遺伝子発現が制御され、クリプトクローム遺伝子（*MyCRY*）が青色光照射により増加した（Shi et al.、2016）。葉から果実に転流したスクロースは、ブドウ果実内でグルコースとフルクトースに代謝される（Conde et al., 2007; 白石および浜田、2020）。この結果は、青色 LED で処理したブドウ果房に含まれる 13C 光合成産物の割合が高いことが、ブドウ果実のショ糖の減少に起因することを示唆する。つまり、果実の糖濃度の低下により、葉から果房へのスクロースの移動が誘発される可能性が考えられた。

クリプトクロムなどの青色光受容体は植物のあらゆる場所に存在し、アブラナ科（セイヨウアブラナ）の植物の成長を制御する（Sharma et al., 2014）。本研究では、青色 LED を照射した果房では、ブドウ顆粒中の *VvCRYa* と *VvPHOT2* の発現が増加していることが示された。フォトトロピンおよびクリプトクロムは、シロイヌナズナまたはスイートソルガム（Sorghum bicolor L.）の ABA シグナル伝達と関連していることが報告された（Boccalandro et al., 2021; Zhou et al., 2018）。青色 LED 照射による今回の研究では、青色 LED 処理果実の *VvSnRK2.6* および *VvABF1* の発現が増加したが、対照的に青色 LED 処理果実の VvPP2C9 の発現は減少した。

したがって、我々の結果は、青色 LED 照射が *VvCRY* および *VvPHOTO* を介した ABA シグナル伝達に影響を与えたことを示唆する。本研究における全体の概要は図 5 のようになると考えられる。

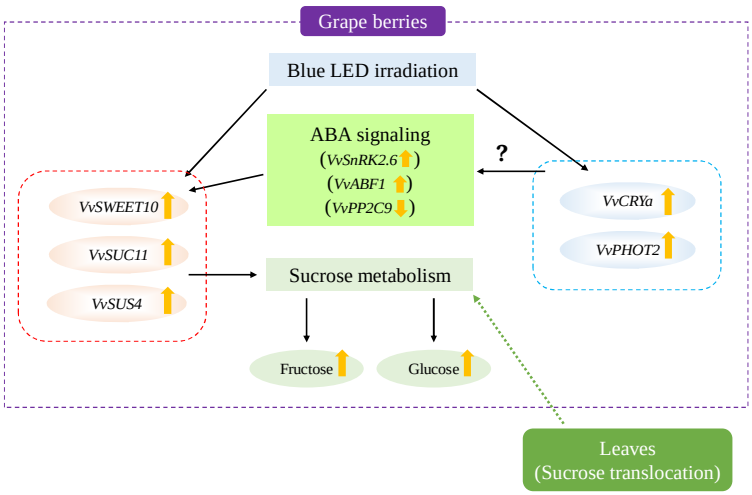

図５．青色光照射がブドウ顆粒の糖蓄積に影響する概念図

引用文献

Jia, H., Wang, S., Lin, H., Saito, T., Ampa, K., Todoroki, Y., Kondo, S. (2018). Effects of abscisic acid agonist or antagonist applications on aroma volatiles and anthocyanin biosynthesis in grape berries. J. Hort Sci. Biotechnol. 93:392-399. https://doi.org/10.1080/14620316.2017.1379364

Kondo, S., Hayata, Y., Tamaki, M. (2001). Effects of environmental conditions and canopy compositions on photosynthesis and photosynthate translocation in fruiting sweet cherry trees. Environ. Control Biol. 39: 59-65.

Kamuro, Y., Tohyama, T., Okabe, K. (2003). New functional photo-selective sheets. Regul. Plant Growth Dev. 38:132-138.

Kondo, S., Hoshi, C., Tomiyama, H., Lin, H., Saito, T., Ohkawa, K., Ohara, H., Iwasaki, N. (2022). ABA signaling and metabolism on anthocyanin and sugar synthesis in grapes. Acta Hort. 1377: 45-53. https://doi 10.17660/ActaHortic.2022.1344.8

Kondo, S., Sugaya, S., Sugawa, S, Ninomiya, M., Kittikorn, M., Okawa, K., Ohara, H., Ueno, K., Todoroki, Y., Mizutani, M., Hirai, N. (2012). Dehydration tolerance in apple seedlings is affected by an inhibitor of ABA 8'-hydroxylase CYP707A. J. Plant Physiol. 169: 234-241. https://doi:10.1016/j.jplph.2011.09.007

Kondo, S., Tomiyama, H., Rodyoung A., Okawa, K., Ohara, H., Sugaya, S., Terahara, N., Hirai, N. (2014). Abscisic acid metabolism and anthocyanin synthesis in grape skin are affected by light emitting diode (LED) irradiation at night. J. Plant Physiol. 171: 823-829. https://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2014.01.001

Phonyiam, O., Ohara, H., Kondo, S., Naradisorn, M., Setha, S. (2021). Postharvest UV-C irradiation influenced cellular structure, jasmonic acid accumulation, and resistance against green mold decay in satsuma mandarin fruit (*Citrus unshiu*). Frontiers Sus. Food System. 5:684434. https://doi:10.3389/fsufs.2021.684434

Rodyoung, A., Masuda, Y., Tomiyama, H., Saito, T., Okawa, K., Ohara, H., Kondo, S. (2016). Effects of light emitting diode irradiation at night on abscisic acid metabolism and anthocyanin synthesis in grapes in different growing seasons. Plant Growth Regul. 79: 39-46. https://doi.10.1007/s10725-015-0107-1

Tomiyama, H., Goto, Y., Opio, P., Saito, T., Ohkawa, K., Ohara, H. Kondo, S. (2021). A combination of hot water and abscisic acid (ABA) biosynthesis inhibitor regulates ripening of Japanese apricot (*Prunus mume*) fruits. Eur. J. Hort. Sci. 86:461-468. https://doi://org/10.17660/eJHS.2021/86.5.2 他

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計5件（うち査読付論文　5件／うち国際共著　0件／うちオープンアクセス　0件）

１．著者名 Saito Takanori、Tomiyama Hiroyuki、Ishioka Miho、Hashimoto Natsuki、Thunyamada Sorawee、Ohkawa Katsuya、Ohara Hitoshi、Ikeura Hiromi、Kondo Satoru	４．巻 91
２．論文標題 Retardation of Endogenous ABA Synthesis by NDGA in Leaves Affects Anthocyanin, Sugar, and Aroma Volatile Concentrations in ‘Kyoho’ Grape Berries	５．発行年 2022年
３．雑誌名 The Horticulture Journal	６．最初と最後の頁 186～194
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2503/hortj.UTD-338	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

１．著者名 Wang, S., Song, J, Wang, L., Saito, T, Ohkawa, K., Ohara, H., Srilaong V., Kondo, S.	４．巻 57
２．論文標題 Effects of varying concentrations of melatonin on anthocyanin and sugar metabolism in grapes	５．発行年 2023年
３．雑誌名 Agriculture and Natural Resources	６．最初と最後の頁 107-116
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.34044/j.anres.2023.57.1.11	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

１．著者名 Thunyamada, S., Ohkawa, K., Ohara, H., Saito, T., Todoroki, Y., Kondo., S	４．巻 88
２．論文標題 bolism, and aroma volatiles	５．発行年 2023年
３．雑誌名 European Journal of Horticultural Science	６．最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.17600/eJHS.2023/019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

１．著者名 Satoru Kondo, Miho Ishioka, Chihiro Hoshi, Hiroyuki Tomiyama, Yukino Masuda, Souma Murata, Naoto Iwasaki, Takanori Saito, Katuya Ohkawa, Jun Takeuchi, Yasushi Todoroki他	４．巻 104
２．論文標題 Effects of blue-light irradiation on abecisic acid signaling and sugar translocation in Vitis labluscana L.H. Bailey grapevines	５．発行年 2024年
３．雑誌名 Plant Growth Regulation	６．最初と最後の頁 899-910
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10725-024-01206-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

1．著者名 Satoru Kondo, Koyo Kunugi, Takanori Saito, Katsuya Ohkawa, Jun Takeuchi, Yasushi Todoroki 他	4．巻 338
2．論文標題 Inhibitors of abscisic acid synthesis or signaling affect anthocyanin synthesis and photoreceptors in grape berries	5．発行年 2024年
3．雑誌名 Scientia Horticulturae	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） 10.1616/j.scienta.2014.113623	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 －

〔学会発表〕　計3件（うち招待講演　0件／うち国際学会　3件）

1．発表者名 Satoru Kondo
2．発表標題 ABA signaling and metabolism on anthocyanin and sugar syntheses in grapes
3．学会等名 ISHS（国際学会）
4．発表年 2022年

1．発表者名 Satoru Kondo
2．発表標題 Effect of Blue LED irradiation on sugar concentrations
3．学会等名 ISHS（国際学会）
4．発表年 2023年

1．発表者名 Satoru Kondo
2．発表標題 Blue LED irradiation stimulates ABA signaling and sugar translocation
3．学会等名 ISHS（国際学会）
4．発表年 2024年

〔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	池浦　博美 (IKEURA Hiromi) (10440158)	島根大学・学術研究院農生命科学系・准教授 (15201)	
研究分担者	齋藤　隆徳 (SAITO Takanori) (20753479)	千葉大学・大学院園芸学研究院・助教 (12501)	
研究分担者	森口　卓哉 (MORIGUCHI Takuya) (80343945)	静岡県立農林環境専門職大学・生産環境経営学部・教授 (23805)	

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