

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 18 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2020

課題番号：16H04872

研究課題名(和文) 光応答からむ果実生理へのABA依存性の解明およびABAのオキシリピンへの影響

研究課題名(英文) Study of ABA action in fruit related to optical response and effect of ABA on oxylipin

研究代表者

近藤 悟 (Kondo, Satoru)

千葉大学・大学院園芸学研究科・教授

研究者番号：70264918

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,700,000円

研究成果の概要(和文)：ブドウ‘巨峰’において、赤色LED照射は果皮の内生ABA濃度を無処理および青色LEDに比べ有意に増加させた。アントシアニンおよび糖濃度は青色LED照射区で有意に高くなった。青色LEDを果房あるいは葉主体に照射した場合、果房主体への照射が有意にこれらを増加させた。青色LEDの照射はABAシグナル伝達阻害遺伝子の発現を低下させた。以上は、アントシアニンおよび糖濃度に対して、ABA濃度以上にシグナル伝達の重要性を示唆した。またIPTはABA合成抑制剤であるNDGAと同様にクロロフィルの減少を抑制した。オキシリピン処理は内生ABA濃度を上昇させ、病原菌の繁殖抑制に相乗的な作用性を持つことを示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高品質果実の生産を目的とした植物工場における果樹栽培は始まったばかりであり、光および温度条件などに伴う果実の生理に与える影響について、データを積み上げる必要がある。本研究は施設下でのブドウ‘巨峰’栽培において、5月に収穫する促成栽培および11月に収穫する抑制栽培の二時期において、季節にかかわらず青色LED照射が着色および糖蓄積に有効である可能性を示唆した。

またブドウ果実の成熟に関わるアブシシン酸(ABA)の作用性および代謝が明らかになり、今後のブドウ栽培における植物成長調節剤の利用に有益な成果が得られたと考えられる。

研究成果の概要(英文)： Red-light irradiation increased endogenous ABA concentrations in the skin compared to those in the untreated control and blue-light irradiation in ‘Kyoho’ grape berries. However, anthocyanin and sugar concentrations in the skin were significantly increased in blue-light irradiated berries. Blue-LED cluster treatment increased sugar concentrations compared to leaf treatment. In addition, blue-LED treatment decreased the expression of ABA signal transduction retardant gene.

These results suggest that ABA signaling may be more important than ABA concentrations for anthocyanin and sugar production. Isoprothiolane retarded chlorophyll degradation in the berry skin as well as NDGA. The treatment of oxylipin increased ABA concentrations and affected synergistically against pathogen infection.

研究分野：果樹生理学

キーワード：アブシシン酸 青色LED イソプロチオラン オキシリピン ブドウ 植物工場

## 1. 研究開始当初の背景

植物工場で夜間に赤色 LED をブドウ樹全体に照射した際に、果皮中の内生 ABA および ABA 合成の上流に位置する *NCED* 遺伝子発現が青色 LED および無処理に比較して有意に増加したことを観察した。それにもかかわらず、果皮のマルビジンおよびペオニジンなど主要アントシアニン濃度、アントシアニン合成に関わる *MYB* 遺伝子、*UFGT* 遺伝子発現および果糖などの糖濃度は、青色 LED 照射果実で有意に増加した。環境ストレス下での ABA のシグナル伝達に、オキシリピン (ジャスモン酸 (JA) および 9,10-ケトールリノレン酸 (KODA)) が関連する可能性を見いだしており、本研究では両者の相互関連を検討する。

## 2. 研究の目的

- (1) 植物工場を供試し、促成栽培および抑制栽培における青色 LED 照射がブドウ果実のアントシアニンなどポリフェノール、糖代謝および香気成分合成について、内生 ABA の関連の有無・程度を解明する。
- (2) ブドウの成熟遅延への効果を見いだした IPT を処理し、ポリフェノール等の産生および貯蔵性への影響を明らかにする。また、ABA 非依存であった青色 LED をブドウ樹に部位別に照射し、ポリフェノール、糖代謝、香気成分、抗酸化性に及ぼす影響を解析する。
- (3) ABA およびオキシリピンの相互関連性および植物免疫活性への寄与度を解明する。

## 3. 研究の方法

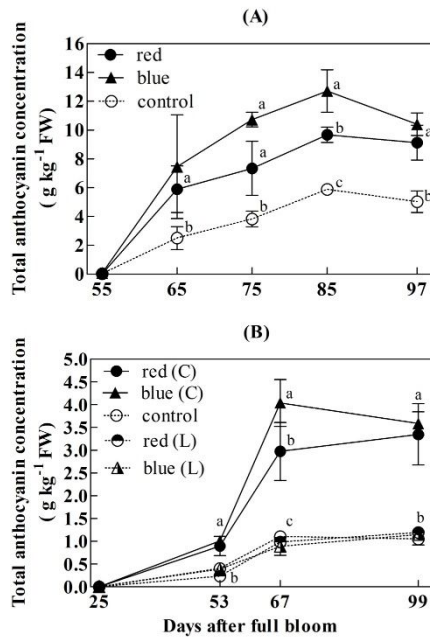
内生 ABA 濃度は、内部標準として *d*<sub>6</sub>-ABA を供試し、現有のガスクロマトグラフィーマススペクトロメトリー (GC-MS) を使用して分析する。糖代謝については、現有の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を使用して分析する。ブドウ果実の香気成分として、申請者らはアルコール類、アルデヒド類、エステル類およびテルペン類を同定・定量している。本課題でも GC-MS によりシクロヘキサノールを内部標準として SPME 法により定量を行う。さらに糖輸送関連遺伝子としてショ糖トランスポーター (*VvSUC1*, *VvSUC2*) 等の解析を定量 RT-PCR を用いて行う。また香気成分合成関連遺伝子としてはアルコールアセチルトランスフェラーゼ (*VvAAT*) およびテルペン生合成遺伝子 (*VvTPS1891*, *VvTPS4568*) の解析も併せて行う。

予備実験において IPT の果実硬度維持効果は長期にわたることを観察し、この結果はブドウの貯蔵性向上に利用できる可能性を示唆する。IPT のポリフェノール、糖、香気成分、抗酸化性およびオキシリピンに及ぼす影響を明らかにする。上記の解析に関しては GC-MS、LC-MS および HPLC で行う。IPT の作用機作や標的遺伝子に関する情報は皆無である。そこで IPT がどのようにブドウの成熟を抑制するのかを明らかにするために、IPT 処理によって誘導および抑制される遺伝子を次世代シーケンサーにより網羅的に解析を行う。またパスウェイ解析や GO 解析等により遺伝子間の相互作用やネットワークについても明らかにする。本解析後、特に顕著な動態を示した遺伝子については、定量 RT-PCR にて、処理後の経時的な変化を追跡する。

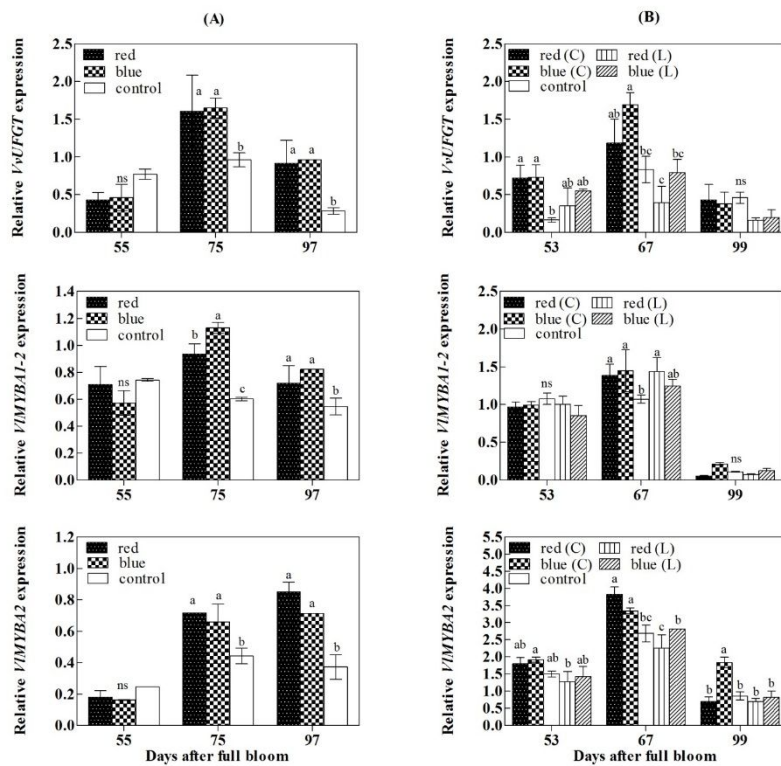
## 4. 研究成果

- (1) 植物工場での促成栽培および抑制栽培における ABA 代謝およびアントシアニン産生に及ぼす青色 LED 照射の影響

促成栽培 (5 月収穫) および抑制栽培 (11 月収穫) のブドウ「巨峰」を供試し、ABA 代謝、アントシアニンおよび糖合成に及ぼす赤色あるいは青色 LED 照射の影響を検討した。促成栽培されたブドウでの ABA 濃度は、青色 LED 処理で最も高くなり、一方 11 月収穫のブドウでは赤色 LED 処理で最も高くなった。1 年を通した太陽光の波長は、6 月には青色光が最も強くなり、一方 12 月には赤色光が強くなることから、LED 照射に加え太陽光の影響を強く受けたものと考えられた。ABA 代謝に関連する *VvNCED1* および *VvCYP707A1* 遺伝子の発現は栽培時期にかかわらずベレゾーン期に最も高くなった。両時期でアントシアニン濃度は青色光 LED 照射区で最も高くなり、次いで赤色光 LED 照射区が続いた (第 1 図)。一方無処理区では最も低くなった。アントシアニン合成に関わる遺伝子である *VIMYBA1-2*, *VIMYBA2* および *VvUFGT* 遺伝子の発現は、アントシアニン濃度と一致した (第 2 図)。糖濃度は促成栽培では赤色 LED 照射区で、抑制栽培では青色 LED 照射区で最も高くなった。以上の結果は、夜間の赤色あるいは青色 LED 照射は ABA、アントシアニンおよび糖代謝に関連遺伝子発現を経由して影響するが、その程度は栽培時期によって異なることを示した。また、果房主体への LED 照射は葉主体への LED 照射区に比べて有意にアントシアニンおよび糖濃度を上昇させた。



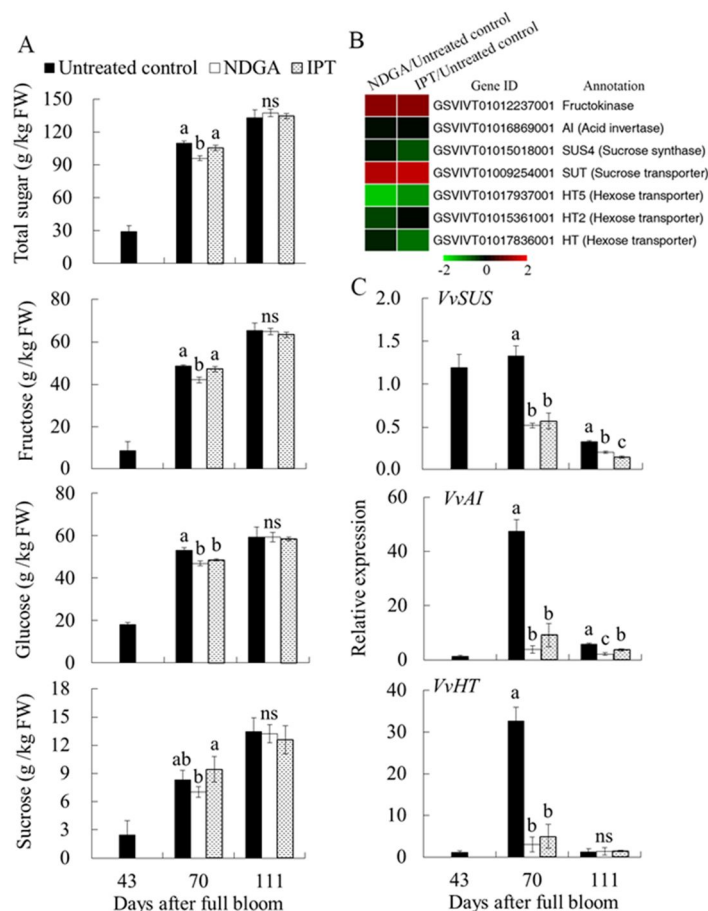
第 1 図. Changes in the total anthocyanin concentrations under the early-heating culture (A) and in the ordinary growing season(B). Red- or blue-LED cluster treatment: red (C), blue (C). Red- or blue-LED leaf treatment: red (L), blue (L)



第 2 図 . Changes in the expressions of *VvUFGT*, *VIMYBA1-2*, and *VIMYBA2* under the early-heating culture (A) and in the ordinary growing season (B).

(2) ABA 代謝および果実成熟に及ぼすイソプロチオラン (IPT) およびノルジヒドログアイアレチン酸 (NDGA) 処理の影響

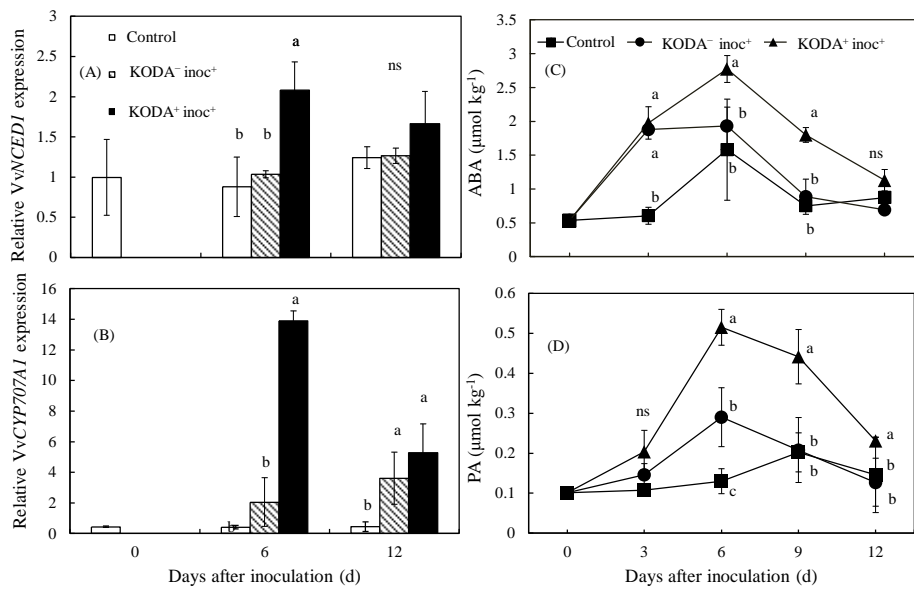
ABA 代謝および果実成熟に及ぼす IPT および ABA 合成阻害剤 NDGA の影響を検討した。IPT および NDGA 処理は果皮中のクロロフィルの減少を阻害した。次世代シーケンサーによる解析は IPT 処理区で 2218 遺伝子また NDGA 処理区で 2270 遺伝子で、無処理と異なる発現を示した。IPT および NDGA 処理は ABA、オーキシンおよびエチレン代謝を制御した。マップマン解析および PCR 解析は ABA 代謝経路における *VvNCED1*、*VvCYP707A*、*VvAAO4*、*VvGEM* 様遺伝子が IPT および NDGA 処理によって阻害されることを示した。さらに IPT および NDGA 処理は糖代謝経路において *VvSUS*、*VvAI*、および *VvHT* 遺伝子を経由してグルコース蓄積を阻害した (第 3 図)。加えて、E-2-ヘキサナールおよびヘキサノール合成を遅らせ、*VvLOX*、*VvADH*、*VvGPPS*、*VvTPS* が関与する香気成分の代謝経路を阻害した。これらの結果は、IPT および NDGA がクロロフィル減少、ABA 蓄積、糖および香気成分合成に影響することを示す。



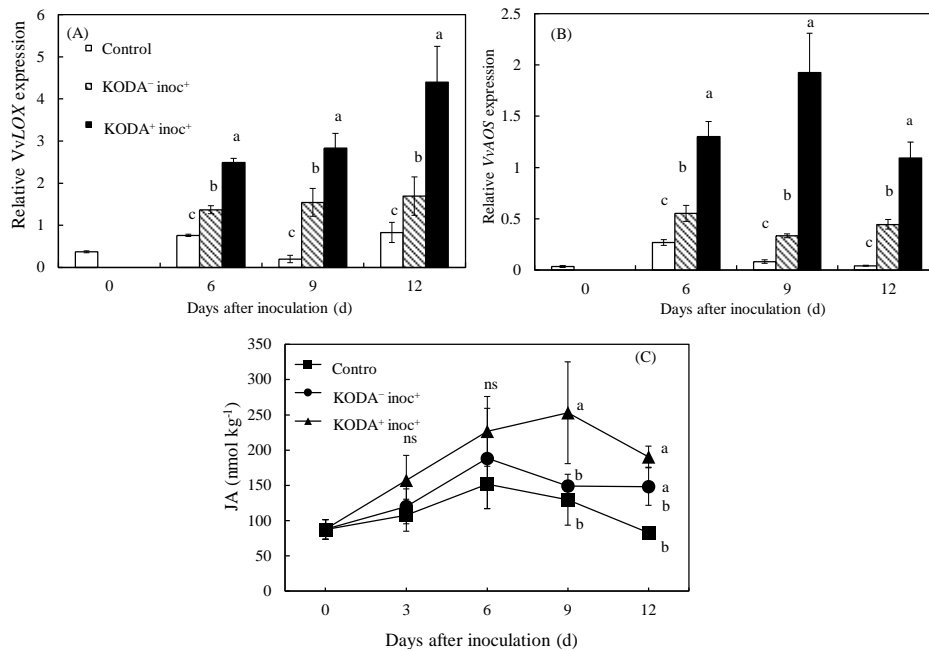
第 3 図. Effects of the IPT and NDGA treatments on sugar metabolism. (A) Changes in sugar contents. (B) Heatmap diagram of relative gene expression levels for DEGs in sugar metabolism, using log<sub>2</sub> fold change (|FC|) ≥ 2. The red-to-green scale was used to indicate up-regulation (red) or down-regulation (green). (C) qRT-PCR validation of selected sugar metabolism-related DEGs.

(3) ABA およびオキシリピンの相互関連性および植物免疫活性への寄与度

内生 ABA、ジャスモン酸、香気成分合成に及ぼすオキシリピンである 9,10-ケトールリノレン酸 (KODA) 処理の影響を、モニリア菌に感染させたブドウ‘巨峰’で検討した。加えてネオキサントニン酸化開裂酵素遺伝子 (*VvNCED1*)、ABA8'位水酸化酵素遺伝子 (*VvCYP707A1*)、リポキシゲナーゼ遺伝子 (*VvLOX*)、アレノオキシド合成酵素遺伝子 (*VvAOS*) の発現についても検討した。モニリア菌の接種前にブドウ果実を 0.1mMKODA 溶液で浸漬処理した。モニリア菌の拡大は KODA 処理により有意に抑制された。内生 ABA およびジャスモン酸は *VvNCED1*、*VvAOS1* 遺伝子発現などを経由して、菌が接種された果実で増加した(第 4 図、第 5 図)。加えて、メチルサリチル酸および (E)-2-ヘキサナールおよび *cis*-3-ヘキサナールなど菌への抵抗性に関する遺伝子発現も KODA 処理果実で増加した。これらの結果は、KODA 処理により誘導されたジャスモン酸、ABA およびいくつかの香気成分が、ブドウの菌感染抑制に関与している可能性を示唆する。



第 4 図. Endogenous (A) ABA and (B) PA concentrations, quantitative real-time RT-PCR analysis of (C) VvNCED1 and (D) VvCYP707A1 in 'Kyoho' grapes of Control, pathogen inoculation without KODA application (KODA<sup>-</sup> inoc<sup>+</sup>) and pathogen inoculation with KODA application (KODA<sup>+</sup> inoc<sup>+</sup>).



第 5 図. Quantitative real-time RT-PCR analysis of (A) VvLOX and (B) VvAOS, and (C) endogenous JA concentrations in 'Kyoho' grapes of Control, pathogen inoculation without KODA application (KODA<sup>-</sup> inoc<sup>+</sup>) and pathogen inoculation with KODA application (KODA<sup>+</sup> inoc<sup>+</sup>).

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hong Lin, Shanshan Wan, Takanori Saito, Satoru Kondo他	4. 巻 37
2. 論文標題 Effects of IPT or NDGS application on ABA metabolism and maturation in grape berries	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Plant Growth Regulation	6. 最初と最後の頁 1210-1221.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00344-018-9820-0	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 該当する
1. 著者名 Lin H. Wang S. Kondo, S他	4. 巻 1206
2. 論文標題 Abz or ethephone application affects 'Shine Muscat' grape berry maturation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Acta Horticulturae	6. 最初と最後の頁 137-143
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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. Saito t. Kondo S.他	4. 巻 1206
2. 論文標題 Isoprothiolane or NDGA application affects phytohormone-related gene expressions in Shine Muscat grape berry maturation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Acta Horticulturae	6. 最初と最後の頁 257-262
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Heifeng J. Kondo S.他	4. 巻 93
2. 論文標題 Effects of abscisic acid agonist or antagonist applications on aroma volatiles and anthocyanin biosynthesis in grape berries	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Horticultural Science and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 392-399
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/14620316.2017.1379364	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 該当する

1. 著者名 Rodyoung A, Kondo S他	4. 巻 79
2. 論文標題 Effects of light emitting diode irradiation at night on abscisic acid metabolism and anthocyanin synthesis in grapes in different growing seasons	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Plant Growth Regulation	6. 最初と最後の頁 39-46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10725-015-0107-1	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 Wan S, Kondo S他	4. 巻 192
2. 論文標題 Keto1 linolenic acid (KODA) application affects endogenous abscisic acid, jasmonic acid and aromatic volatiles in grapes infected by a pathogen ( <i>Glomerella cingulata</i> )	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Journal of Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 90-97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jplph.2016.01.009	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 Saito T, Kondo S他	4. 巻 14
2. 論文標題 Exogenous ABA and endogenous ABA affects 'Kyoho' grape berry coloration in different pathway	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ABA affects 'Kyoho' grape berry coloration in different pathwayPlant Gene	6. 最初と最後の頁 74 - 82
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1019./j.plgene.2018.05.001	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8件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 近藤 悟
2. 発表標題 Pre-harvest factor and phytohormone influence to fruit ripening and quality
3. 学会等名 The 17th National Postharvest Technology Conference in Thailand (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 近藤 悟
2. 発表標題 Effects of light emitting diode irradiation at night on abscisic acid and metabolism, anthocyanin and sugar syntheses in grapes in different growing seasons
3. 学会等名 American Society for Horticulturæ Science (Las Vegas) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 近藤 悟
2. 発表標題 ブドウ '巨峰' のアントシアニン、糖合成に及ぼすアブシシン酸代謝、シグナル伝達および光質の関連
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kondo S.
2. 発表標題 ABA metabolism, ABA transduction and light quality on anthocyanin synthesis in grapes.
3. 学会等名 American Society for Horticultural Science, Washington DC, USA (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kondo S.
2. 発表標題 Interaction between ABA metabolism and light quality on anthocyanin and sugar syntheses in grapes.
3. 学会等名 International Horticultural Congress, Istanbul, Turkey (国際学会)
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 Kondo S.
2. 発表標題 Interaction between ABA metabolism and light quality on anthocyanin and sugar syntheses in grapes.
3. 学会等名 The 3rd international conference on agriculture and agroindustry. Thailand (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Thanyamada, Kondo 他
2. 発表標題 Isoprothiolane or NDGA application affects phytohormone-related gene expressions in Shin Muscat grape berry maturation
3. 学会等名 国際園芸学会シンポジウム 13th Plant Bioregulators in Fruit Production (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 齋藤隆徳, 近藤 悟 他
2. 発表標題 葉におけるアブシシン酸合成阻害はブドウ'巨峰'果実の成熟を抑制する
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2021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)	

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
---------	---------