

令和 2 年 6 月 20 日現在

機関番号：23303

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07649

研究課題名（和文）異なる成熟表現型ブドウを用いたノンクライマクテリック型果実の成熟制御機構の解明

研究課題名（英文）Analysis of ripening control mechanism of non-climacteric fruits using different ripening phenotype grapes

研究代表者

高居 恵愛（Takai, Mei）

石川県立大学・生物資源環境学部・准教授

研究者番号：70589770

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：成熟時に着色パターンの異なるブドウ品種や、各種環境処理によって得られた成熟・着色表現型の異なる果実に対して、成熟・着色過程における生理的变化及びその制御機構について検討した。本研究は、果実発育過程における植物ホルモンの動態変化及びネットワークの相互作用による果実成熟への制御に着目し、各種処理の果実の成熟過程におけるABA、オキシシンとサイトカイニンの含量および代謝動態について知見を得ることができた。さらに、果実着色制御に関する分子機構を解明するため、成熟・着色関連遺伝子と植物ホルモン代謝関連遺伝子の発現解析、または、一部の環境処理で得られた果実について網羅的な遺伝子発現解析を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでにクライマクテリック型果実の成熟機構は多く研究されてきたが、ブドウのようなノンクライマクテリック型果実では成熟に関するメカニズムはまた解明されていない。近年、アブシジン酸（ABA）はノンクライマクテリック型果実成熟の引き金と考えられ、ABAのブドウ成熟・着色促進作用が証明されつつある。本研究では、各種の成熟表現型の異なる果実におけるABAおよび他種の植物ホルモンの変化を検討することにより、ホルモンによる果実成熟制御の解明に重要な情報を提供できると考えられる。一方、本研究の結果によって開発されたブドウ果房冷却装置を高級ブドウ生産現場に利用され、利益を得ている。

研究成果の概要（英文）：In order to understand the control mechanism of ripening for non-climacteric fruits such as grape during their development and ripening process, we have analyzed the physiological changes and some ripening-related gene expressions using some grape cultivars with different coloring patterns and the fruits with different ripening and coloring phenotypes obtained by various environmental treatments. In this study, we focused that how fruit ripening is controlled by the plant hormones mainly including ABA, auxins, and cytokinins, and their dynamic changes and the interaction of their networks during the fruit development. On the other hand, the expressions of coloring-related genes and ABA metabolism-related genes were analyzed. Furthermore, the transcriptome analysis were conducted using a parts of treated fruits.

研究分野：果樹園芸学

キーワード：果実成熟における植物ホルモンの役割 ABAによるアントシアニン生合成への制御

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) ブドウ果実成熟における制御機構解明の重要性

果実成熟機構に関する研究は主にクライマクテリック型果実を中心として行われてきたが、ノンクライマクテリック型果実については未だに解明されていない。ブドウはノンクライマクテリック型果実の代表として、その成熟特に着色のメカニズムの解明は重要な課題である。

(2) 課題に関する研究状況

ブドウ果皮の着色に関する分子制御機構が明らかされつつある。転写因子の *MybA* がアントシアニン生合成関与構造遺伝子の発現を誘導することが明らかにされた。しかし、*MybA* 遺伝子上流にある制御因子について知見は殆どない。植物ホルモンであるアブシジン酸 (ABA) は果実成熟の引き金であり、ほかの植物ホルモンも成熟に関与すると考えられてきた。申請者らは、ブドウの各種環境処理試験を行い、果実成熟・着色進行パターンの異なる果実が得られ、内生植物ホルモンの変化及び関連遺伝子の発現解析を行っている。

2. 研究の目的

ブドウはノンクライマクテリック型果実であり、発達段階に“ベレゾーン”と呼ばれる成長転換期がある。ベレゾーン期を境に果実は急激に柔らかくなり、着色し始め、成熟がスタートする。この成熟開始の制御機構やベレゾーン期の果実内の生理的变化とそれに続く成熟、特に着色との関係については未解明の点が多い。本研究では、成熟・着色表現型の異なる果実の比較により、ブドウ果実成熟過程における植物ホルモンの動態変化とこれに関する未知の制御因子を探索し、ノンクライマクテリック型果実の成熟制御機構の解明を目的とする。得られた知見は、ブドウの着色を人為的に制御するための技術開発や環境適応型品種の育種に利用できるだけでなく、植物生理学などの基礎生物学の発展にも貢献することになる。

3. 研究の方法

本研究は、倍数性の異なる台木に接木した‘ルビーロマン’接木系統から採取した成熟・着色表現型相違の果実や、成熟・着色パターンが異なるブドウ品種と、各種の環境処理で得られた果実を材料として解析を進めてきた。まず、各種植物ホルモンと代謝物を測定し、その動態変化と相互作用を分析することにより成熟における植物ホルモンの役割を考察する。*MybA* 遺伝子やその下流の構造遺伝子、糖蓄積関与遺伝子、ABA 代謝関与遺伝子、環境応答関連遺伝子などの発現解析によりこれら因子の成熟制御機能を推察する。さらに、RNA-Seq による網羅的な発現解析を行い、成熟開始の制御因子や、成熟シグナル伝達系遺伝子などを探索する。

4. 研究成果

(1) 半わい性台木‘Teleki 5BB’(5BB(2×))と強勢台木‘Hybrid Franc’(HF(2×))及びそれらの四倍体台木(5BB(4×)と(HF(4×))に接木した赤色系ブドウ‘ルビーロマン’樹について栄養成長と果実品質を調査した。5BB(4×)台木に接木した樹の新梢と根の成長は最も少なく、果実の糖度と着色程度が最も高かった[1]。果実、芽と根における内生 ABA、IAA およびサイトカイニン含量を測定し、ベレゾーン期の 5BB(4×)果実における ABA 含量はほかの果実に比べ高かったが、芽と根における ABA 含量は 2 種類の HF 果実より低かった。5BB(4×)の根における IAA の含量はほかの 3 種より顕著に高かった(図 1)[2]。これら接木樹の果実におけるアントシアニン生合成関連遺伝子(*MybA1-2*, *MybA1-3*, *UFGT*, *F3'H*, *F3'5'H*)と ABA 代謝関連遺伝子(*NCED1*, *ABA-BG*, *ABA-GT*, *CYP707A*, *ABF2*)について定量 PCR 法により発現解析を行い、アントシアニン生合成関連遺伝子と ABA 代謝関連遺伝子の発現は一致しないことが分かった。さらに、この 4 種類の接木から得られた果実の成熟過程における植物ホルモンおよび代謝物含量の経時的な変化を測定した。また、これら果実の果皮を用いて、RNA-Seq 解析を行い、現在データ解析を行っている。

(2) ‘ルビーロマン’と‘安芸クイーン’果粒を異なる温度条件下で処理し、果皮における内生植物ホルモン含量と関連遺伝子発現解析を行った。その結果、温度処理に対するホルモンの変化は品種によって異なり、両品種ともベレゾーン期では低温下(15℃)でアントシアニンの蓄積が高温より促進さ

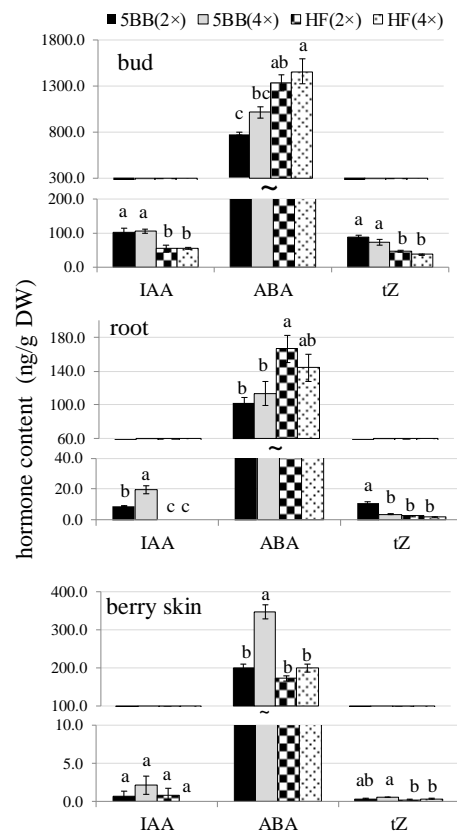


図 1. 新梢先端芽、根と果実における植物ホルモン含量

れたが、果実の成熟後期（満開後 65 日以降）では、‘ルビーロマン’は高温下（35℃）でもアントシアニン含量の増加を見られ、‘安芸クイーン’では低温でもアントシアニンの増加は見られなかった（図 2）。アントシアニン生合成関連遺伝子と ABA 代謝関連遺伝子の発現解析の結果、これら遺伝子の発現は一致しないことが分かった。すなわち、高温条件下でアントシアニン生合成が抑制されたが、ABA 生合成が促進された（図 3）。これらの結果から、アントシアニン生合成において ABA を介した MybA 転写因子による調節とは異なる機構が存在する可能性が示唆された〔3〕。

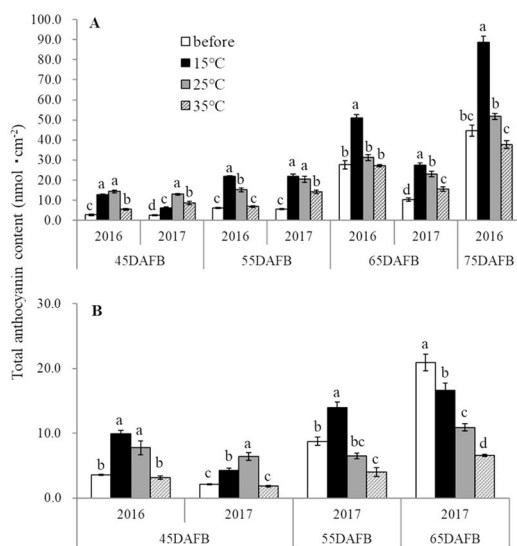


図 2. ‘ルビーロマン’(A)と‘安芸クイーン’(B)の果皮アントシアニン含量

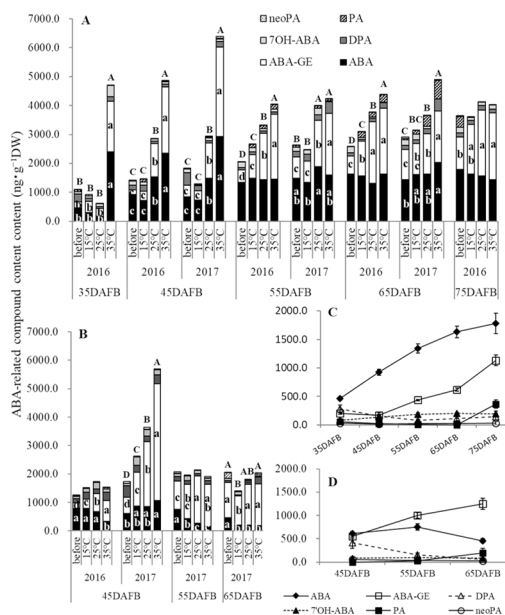


図 3. ‘ルビーロマン’(A)と‘安芸クイーン’(B)の果皮における ABA および代謝物含量

(3) ‘ルビーロマン’のポット栽培樹を用いた温度処理も行き、その結果は果粒を用いた温度処理と同じく、低温区より高温区の *MybA* 遺伝子の発現レベルが高く、満開後 60 - 80 日の期間での低温は *VviF3'H*, *VviF3'5'H2* の発現を促進した〔4〕。この結果からもアントシアニンの蓄積は *MybA* の発現量によって制御されない可能性が示唆された。

(4) ‘ルビーロマン’と‘安芸クイーン’の地植え樹の無核栽培果実における植物ホルモンの経時的な変化及び遺伝子発現解析を行った。両品種の着色パターンが異なり、前者は成熟後期にも着色が進行することに対して、後者は満開後 50 日以降に着色が殆ど進まなかった。両品種の内生 ABA 含量の変化も着色と一致し、‘ルビーロマン’ではベレゾーン直前から収穫 10 日程前まで ABA 含量は増加し続いたが、‘安芸クイーン’では満開後 50 日以降に ABA 含量は増加しなかった。また、この 2 品種の果実に ABA とオキシシンで浸漬処理し、ABA は両品種とも着色を促進し、オキシシンは着色を抑制した。以上の結果から、ABA はブドウ果実発育後期の成熟・着色を促進するが、成熟開始の誘導（ベレゾーンの起因）に直接関連性が低いことが示唆される。現在一部の果実について網羅的な発現解析を進行し、成熟の誘導および進行の全体像を明らかにするために継続の研究が必要である。

< 引用文献 >

- 〔1〕 M. Gao-Takai, A. Katayama-Ikegami, S. Nakano, K. Matsuda and H. Motosugi. Hort. J. 2017. 86:171-182
- 〔2〕 M. Gao-Takai, A. Shinmura, H. Nito, A. Katayama-Ikegami. Acta Hort. 2018. 1208:207-213
- 〔3〕 M. Gao-Takai, A. Katayama-Ikegami, K. Matsuda, H. Shindo, S. Uemae and M. Oyaizu. Plant Science. 2019. 283:165-176
- 〔4〕 松田賢一・片山(池上)礼子・東 成美・酒井賀乃子・中野眞一・玉村壮太・早川隆宏・伊達彩香・高居恵愛・園芸学研究、2020、19:29-38

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6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 M. Gao-Takai, A. Katayama-Ikegami, K. Matsuda, H. Shindo, S. Uemae and M. Oyaizu	4. 巻 283
2. 論文標題 A low temperature promotes anthocyanin biosynthesis but does not accelerate endogenous abscisic acid accumulation in red-skinned grapes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant Science	6. 最初と最後の頁 165-176
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.plantsci.2019.01.015	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 M. Gao-Takai, A. Shinmura, H. Nito, A. Katayama-Ikegami	4. 巻 1208
2. 論文標題 Comparison of vegetative growth, fruit quality and plant hormone content of 'Ruby Roman' grapevines grafted on diploid and tetraploid rootstocks	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Acta Horticulture	6. 最初と最後の頁 207-213
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.17660/ActaHortic.2018.1208.27	査読の有無 無
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 Mei Gao-Takai, Ayako Katayama-Ikegami, Shinichi Nakano, Kenichi Matsuda, Hino Motosugi	4. 巻 86(2)
2. 論文標題 Vegetative Growth and Fruit Quality of 'Ruby Roman' Grapevines Grafted on Two Species of Rootstock and Their Tetraploids	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The Horticulture Journal	6. 最初と最後の頁 171-182
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2503/hortj.OKD-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 Ayako Katayama-Ikegami, Mei Gao-Takai, Ryo Shimada, Kenichi Matsuda, Tomoaki Sakamoto	4. 巻 16(3)
2. 論文標題 Difference of Coloration between 'Aki Queen' and 'Ruby Roman' Grapes Treated with Abscisic Acid-containing Fertilizer at Late Stage of Maturation	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Hort. Res. (Japan)	6. 最初と最後の頁 317-324
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2503/hrj.16.317	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 Kenichi Matsuda, Ayako Katayama-Ikegami, Narumi Higashi, Kanoko Sakai, Shinichi Nakano, Souta Tamamura, Takahiro Hayakawa, Ayaka Date, Mei Gao-Takai	4. 巻 19
2. 論文標題 Effects of Temperature on Skin Coloration at Different Developmental Stages of Potted 'Ruby Roman' Grape Berries	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hort, Res. (Japan)	6. 最初と最後の頁 29-38
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2503/hrj.19.29	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 Kenichi Matsuda, Ayako Katayama-Ikegami, Narumi Higashi, Kanoko Sakai, Shinichi Nakano, Souta Tamamura, Takahiro Hayakawa, Ayaka Date, Mei Gao-Takai	4. 巻 19
2. 論文標題 Effects of Temperature on Skin Coloration at Different Developmental Stages of Detached 'Ruby Roman' Grape Berries	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hort, Res. (Japan)	6. 最初と最後の頁 39-47
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2503/hrj.19.39	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4件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 M. Gao-Takai, A. Katayama-Ikegami, Z. Lin
2. 発表標題 Grapevine rootstocks differentially affect genes expression and transcriptome profiling of 'Ruby Roman' berry skin grafted on diploid and tetraploid rootstocks
3. 学会等名 30th International Horticultural Congress (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 片山(池上)礼子・高居恵愛
2. 発表標題 赤色系四倍体ブドウ'ルビーロマン'と'安芸クイーン'の果実着色とABA蓄積パターンの差異
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2018年~2019年

1. 発表者名 高居恵愛・片山礼子・松田賢一・高山典雄・上前慎太郎・林哲
2. 発表標題 ‘ルビーロマン’ブドウ果皮の着色に対する夜温の影響
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 高居恵愛・片山（池上）礼子・松田賢一
2. 発表標題 温度処理がブドウ‘ルビーロマン’と‘安芸クイーン’果粒の着色と果皮における植物ホルモンに及ぼす影響
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2019年～2020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	片山 礼子（池上礼子） (Katayama Ayako) (00549339)	石川県立大学・生物資源環境学部・准教授 (23303)	