

令和 2 年 6 月 21 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07651

研究課題名(和文) LED照射によるバラ花弁成長への影響および切り花品質向上技術への応用

研究課題名(英文) Effect of LED irradiation on rose petal growth to improve cut flower quality

研究代表者

山田 邦夫 (Yamada, Kunio)

岐阜大学・応用生物科学部・教授

研究者番号：30345871

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、バラ切り花の開花現象について光刺激および植物体内リズムとの観点から明らかにしようとするものであり、開花現象の分子機構の解明を通して光による切り花品質保持技術や開花促進技術を開発することを目的としている。研究期間全体を通して、赤色光と青色光とではバラ切り花の感受性が異なり、開花速度や花弁からの蒸散量も変化することが明らかとなった。さらに、光照射と合わせて花弁へのオーキシン処理を行うことで花弁における糖代謝関連酵素を活性化し、光照射時に合成された同化産物の速やかな転流を促す可能性を示唆することができた。本研究では、切り花品質向上技術への応用を示唆する有用な知見が得られたと考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

収穫後のバラ切り花へ光照射とオーキシン処理を併用して行うことで、花弁における糖代謝関連酵素を活性化し、光照射時に合成された同化産物の速やかな転流を促す可能性を示唆することができた。このことは開花機構の一端を明らかにするだけでなく、光による切り花品質保持技術や開花促進技術など切り花流通産業に貢献する有用な知見を得ることができた。

研究成果の概要(英文)：The aims of this research are to clarify the petal growth of rose cut flowers from the viewpoint of photo stimulation and circadian rhythms, and develop a technology for higher quality of cut flowers by post-harvest treatment. Throughout the research period, I found the sensitivity of cut rose flowers was different between red light and blue light, and it was revealed that the flower opening speed and the amount of transpiration from petals also changed. Furthermore, it was suggested that auxin treatment of petals in combination with light might activate sugar metabolizing enzymes in the petals and promote rapid translocation of carbohydrates synthesized in leaves. In this study, it is thought that I have obtained useful information that suggests its application to the technology for improving the quality of cut flowers.

研究分野：園芸生理学

キーワード：花弁成長 光波長 糖代謝 細胞壁伸展性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

「花が開く」という現象は、シンク器官である花弁に糖と水が蓄積し、花弁細胞が急激に肥大する反応である。私は今まで、特に切り花の「開花の調節」を目標として開花について研究を進めてきた。バラなどはつぼみから徐々に成長してゆく花弁の展開を楽しむ花であり、また一本の花茎に複数の小花を持つ花も、つぼみをいかに大きく開花させるかが重要な品質要素であると言える。切り花品質としても、観賞期間中に確実に、そしてより大きく開花させるといった高品質化にもつながり、消費拡大に大きく貢献できる。

前述の通り、開花とは花弁細胞の吸水による肥大成長であるが、そのためには「細胞内での浸透圧の上昇」、「細胞壁の緩み」が必要不可欠と考えられる。これまでに私は、バラ花弁内の可溶性糖質含量の変化とスクロース代謝酵素活性の変動を詳細に調べ、開花における糖代謝の重要性を明らかにしている。一方、細胞壁の緩みについてもエクспанシンやエンド型キシログルカン転移酵素/加水分解酵素(XTH)が重要な役割を果たしていることを明らかにしている。さらに、糖代謝を阻害したり、細胞壁の緩みを阻害したりすると開花速度がゆっくりとなる現象も見出し、切り花の収穫後での開花制御を目指している。このように、私はバラのつぼみから開花にいたる花弁成長の分子機構を明らかにしつつある。古くからバラは樹上で明け方に花弁を肥大させ始め、数時間後には花弁の成長を一時停止することが知られている。近年私たちは、バラ切り花におけるリズム的花弁成長は、サーカディアンリズムと光による刺激の両因子が作用していることを明らかにした。この現象について分子機構の解明など細かな研究はこれまでなされてきていないが、私が提唱している「糖代謝」と「細胞壁の緩み」といった花弁成長の条件が揃った後、光刺激によって何らかの重要な要因が引き金として機能しリズム成長を引き起こしているものと予想される。さらに私たちの予備的実験により、赤色光照射は白色光照射と比較して切り花の開花を緩やかとし、赤色光照射処理開始1日間程度は花弁成長がほとんど引き起こされなかった。青色光照射ではまた異なった開花様式を示す傾向にあり、これらの予備実験より、収穫後の切り花への様々な光波長照射が、光合成量、水の移動、糖代謝、細胞壁のゆるみといった花弁成長因子に様々な影響を与えている可能性が示されている。

2. 研究の目的

本研究では、照射する光の波長と開花現象との関係を明らかにすることで、切り花の管理運搬技術、品質保持技術さらには開花促進技術に応用することを目的とした。まず切り花における光照射の波長と花弁のリズム成長について詳細に明らかにすることを目指した。光と植物の成長との関係は、花芽分化反応を中心に様々な研究が行われている。近年ではLEDランプを用いて波長を細かく制御し、光刺激と成長との関係が調べられている。次に、様々な光刺激によって、「糖代謝」や「細胞壁の緩み」に関わる遺伝子・タンパク質発現がどの様に影響を受けているかを明らかにするとともに、花弁への水の流れを径時的に測定し、花弁細胞の肥大成長を水の動きとともに明らかにすることを目指した。細胞内外の浸透圧差を引き起こし水の流入の原動力となる「糖代謝」については、糖組成の変化と糖代謝酵素活性および遺伝子発現の側面から日周期的な解析が可能であり、成長リズムとの関連性が詳細に明らかに出来る。花弁細胞は、細胞壁が緩むことで吸水し肥大成長する。肥大すると壁圧が再び生じ、吸水は一時的に停止する。さらに細胞壁が緩むと吸水は再開する。この様に水の流入と細胞壁の緩みとは密接に関係し合いながら花弁成長を引き起こしていると思われるため、「糖蓄積」、「細胞壁の緩み」と「アクアポリン」の制御を総合的に解析しながら水の流れと光刺激との関係を明らかにすることを目指した。先行研究により、花弁ディスクにオーキシン処理することで花弁組織内のインペルターゼが活性化することが報告されている(Yamadaら, 2010)ため本研究では、より一般的な切り前より小さな開花ステージで収穫したバラ切り花を用いて赤色光処理とオーキシン処理を併用することで、切り花の糖代謝や品質にどのような影響を及ぼすかを調査することとした。

切り花の生産、流通および小売り現場では、切り花の保管時に暗所下で保存するケースが多い。しかし、暗所保存中は開花の進行をほぼ停止させることはできるが、光合成による糖の合成が行われないため、切り花の品質低下は避けられない。先行研究で、異なる光環境における切り花の開花への影響を明らかにするため、暗所下、白色光、赤色光および青色光をそれぞれ照射したところ、青色光では白色光に次いで開花が促進され、赤色光では白色光や青色光と比較して開花が遅延する傾向がみられ、処理2日後の開花程度は暗処理とはほぼ同程度であった(三田, 2015)。また、赤色光照射保存と暗所保存の個体を比較したところ、赤色光照射した方が花弁、葉のいずれにおいても糖含量が暗所保存した個体より高くなった。

そこで、本研究では切り花の保管中に光合成を促進させながら、暗所下と同程度開花を遅延させる光条件を検討することとした。

3. 研究の方法

愛知県東郷町の名古屋大学大学院生命農学研究科フィールド科学教育研究センター東郷フィールドおよび岐阜県瑞穂市の市橋ローズナーセリーで栽培管理されているバラ‘プリティーウーマン’および‘サムライ08’を調査開始前日の午前中に収穫し、保水した状態で段ボール箱につめ、温度0~10℃で冷蔵配送された個体を用いた。小葉が3~5枚付いた葉を上から3節残し、切り花長を35 cmに調整した後に0.2 g/Lヒドロキシキノ硫酸塩(HQS)溶液に生けた。各処理区は、HQS溶液を入れたコニカルピーカーに調整したバラを3~5本生け、24時間暗所(暗所処理区)、白色光(白色光処理区)および赤色光(赤色光処理区)下の異なる光条件下のグロースチャンバー内に置いた。光強度は白色光で光量子束密度約100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、赤色光で約50 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ の条件下で行った。いずれの光条件下においても、グロースチャンバー内を気温25℃、相対湿度60%に設定した。IAA処理は、蕾をIAA溶液に浸漬する方法を用いた。IAA溶液は終濃度としてIAA 2.5 mg/l、0.1% (v/v) ジメチルスルホキシド(DMSO)および5000倍希釈した展着剤(マイリノー, 日本農薬株式会社)を含む溶液を処理液とした。コントロール区は、0.1% (v/v) DMSOおよび5000倍希釈した展着剤(マイリノー, 日本農薬株式会社)を含む溶液を処理液とした。各処理期間は2日間とし、処理開始0日目および2日目に新鮮重および開花の様子を記録した。また、処理開始2日目に外から5枚の花弁と小葉8~9枚を採取し、新鮮重を測定した後-80℃で保存した。糖の抽出は-80℃で凍結保存しておいた花弁および葉を、乳鉢、乳棒を用いて液体窒素中で摩砕し粉末状にした。サンプルの新鮮重に対して約5倍量の80% (v/v) エタノールをあらかじめ80℃に温めておき、その中に粉末状のサンプルを加え、さらに内部標準として1 Mマンニトール溶液を50 μl 添加し、よく懸濁した。その後、30分間80℃に加温し、これを9000 \times gで10分間遠心分離を行い、上澄み液を回収した。残った沈殿物に80%エタノールを3 ml加え、よく懸濁した後に再び9000 \times gで10分間遠心分離し、上澄み液を回収した。回収した上澄み液を一晩遠心エバポレーター(EC-57C3, 佐久間製作所)にかけて乾燥させた。乾固後の沈殿物に1~2 mlの脱イオン水を加えて懸濁した後、これを軽く遠心分離し、上澄み液をSep-Pak C18 Plus Short Cartridge (Waters, USA)に通して色素等を取り除いた。エタノールがコンタミネーションしている可能性があったため、Sep-Pak Cartridge C18を通したサンプルを再び遠心エバポレーターに一晩かけて乾燥させ、乾燥後の沈殿物を脱イオン水で溶解し4~5 mlにメスアップして可溶性糖試料とした。その可溶性糖試料約1 mlを0.45 μm のフィルター(ADVANTEC, USA)に通し、HPLC用のバイアルに入れた。これをHPLCシステム(ELITE LaChrom: 日立ハイテクサイエンス)にセットし、可溶性糖を分離・定量した。HPLCでの分離条件は、脱イオン蒸留水を溶離液とし、カラムオープンで80℃に加熱した分離用カラム(Shodex SUGAR SP0810, 昭和電工)を用い、流速0.8 ml/minの分離条件で行った。測定値は各ピークの高さを用い、内部標準からの回収率で補正して糖含量を求めた。なお、切り花3本分から採取した花弁(15枚分)および葉(小葉8枚分)を1回の測定に用いた。

4. 研究成果

処理2日目の白色光処理区および赤色光処理区のバラは、処理2日目の暗所処理区より開花を若干促進させる傾向がみられた。また、各処理区における花弁1枚当たりの相対新鮮重でも、処理0日の新鮮重を1とすると、処理2日目の白色光処理区で1.28、赤色光処理区で1.27、暗所処理区で1.10となり、白色光処理区および赤色光処理区が暗所処理区より高い値を示す傾向がみられた。処理0日の値を1とした切り花1本あたりの相対新鮮重の変化は、白色光処理区で1.14、赤色光処理区で1.06、暗所処理区で1.16と、いずれの処理区においても処理開始0日より値が増加したが有意な差はみられなかった。切り花1本あたりの処理2日目までの蒸散量において白色光処理区で63.1 g/本、赤色光処理区で23.0 g/本、暗所処理区で12.6 g/本と、白色光処理区が最も高く、暗所処理区が最も低い値を示す傾向がみられた。葉の糖含有量は、スクロースが他の可溶性糖より高い値を示した。処理0日で40.1 $\mu\text{mol}/\text{g}$ FW、処理2日目の白色光処理区で72.1 $\mu\text{mol}/\text{g}$ FW、赤色光処理区で46.5 $\mu\text{mol}/\text{g}$ FW、暗所処理区で6.6 $\mu\text{mol}/\text{g}$ FWとなった。白色光処理区で処理0日と比較して白色光処理区では有意に高い値を示した。赤色光処理区では処理0日と有意な差はみられなかったが、暗所処理区と比較すると有意に高い値を示した。花弁の糖含有量は、フルクトースが他の可溶性糖より高い値を示した。処理0日で30.0 $\mu\text{mol}/\text{g}$ FW、処理2日目の白色光処理区で39.9 $\mu\text{mol}/\text{g}$ FW、赤

色光処理区で27.3 $\mu\text{mol/g}$ FW、暗所処理区で17.3 $\mu\text{mol/g}$ FWとなった。処理0日と比較して白色光処理区は高い値を示し、赤色光処理区では低い値を示したが、いずれも有意な差はみられなかった。しかし、白色光処理区および赤色光処理区は暗所処理区より有意に高い値を示した。IAA処理区をコントロール区と比較したところ、花弁の展開に大きな差はみられなかった。処理0日の値を1として値を求めた相対新鮮重の変化も、コントロール区、IAA処理区ともに1.13と同じ値を示し、処理0日より値は増加したものの、処理区間で値の差はみられなかった。切り花1本あたりの蒸散量ではコントロール区で27.2 g/本、IAA処理区で28.7 g/本となり、有意差はみられなかった。糖含量は、葉ではスクロースが他の可溶性糖より高い値を示したが、コントロール区で42.0 $\mu\text{mol/g}$ FW、IAA処理区で41.6 $\mu\text{mol/g}$ FWと差はみられなかった。花弁では、フルクトースが最も高い値を示し、コントロール区で16.1 $\mu\text{mol/g}$ FW、IAA処理区で17.5 $\mu\text{mol/g}$ FWとIAA処理区で若干高い値を示したが、有意な差はみられなかった。また、葉および花弁のコントロール区とIAA処理区を比較したところ、いずれの可溶性糖で有意な差はみられなかった。バラはスクロースを転流糖とし、シンク器官である花弁中の開花に伴って主にグルコースとフルクトースが蓄積する（Yamadaら，2007）。葉から花弁へ転流したスクロースは酸性インベルターゼやスクロース合成酵素といったスクロース代謝酵素によってグルコースとフルクトースに分解される。グルコースやフルクトースは、エネルギーとしての利用や浸透圧調節物質として働く。開花が進みにつれ、花弁内の酸性インベルターゼが活性化し、糖含量が増加することが奉公されている（Yamadaら，2007）。バラ切り花では、酸性インベルターゼ活性が最もヘキソースの蓄積に関与していることが示されており、花弁での糖代謝は開花現象において重要な意義をもつと考えられる。

本研究では、通常の切り前より早い段階のバラ切り花を、用いて収穫後の切り花を保管する際の光条件の検討と、IAA処理および赤色光処理の併用が開花にどのような影響を及ぼすかを明らかにした。白色光および赤色光を照射することで、光合成を促進させ暗所処理を行うより開花に必要な糖を葉で合成、蓄積することができることが明らかとなった。しかし、葉に蓄積した糖を花弁へ転流が十分行われていなかったため、蕾へのIAA浸漬処理を行うことで、糖転流の改善や花弁展開を促進できる可能性が示唆された。過去に、バラ花弁ディスクにオーキシン処理することで花弁組織内のインベルターゼが活性化することが報告されている（Horibeら，2010）ことと一致する。ただし、バラ切り花へのIAAのみの処理では花弁内に糖を引き込み、花弁へ転流させる力に限度があると考えられる。モモにABA処理を行ったところ糖の蓄積が増加することが報告されており（Kobashiら，2001）。また、組織の成長や細胞分裂を促進するABAやGAなどの植物ホルモンによる細胞壁インベルターゼの活性が増進することも報告されている（Roitsch and Gonzalez，2004）ため、今後はIAA以外の処理も併せて行っていく必要があると考える。

本研究では、花弁への直接浸漬処理が効果的であり、開花促進効果が高いことが明らかとなった。さらに花弁での糖代謝に係わるインベルターゼ活性がオーキシンの誘導されることを複数のバラ品種を用いて示すことができた。ただし、細胞壁伸展性に係わるエクспанシンやXTHのmRNA発現に関しては安定した結果を得ることができず、今後の課題となった。研究期間全体を通して、赤色光と青色光とではバラ切り花の感受性が異なり、開花速度や花弁からの蒸散量も変化することを明らかにすることができた。さらに、光照射と合わせて花弁へのオーキシン処理を行うことで花弁における主要な糖代謝関連酵素であるインベルターゼを活性化し、光照射時に合成された同化産物の速やかな転流を促す仕組みについて示唆することもできた。一方で、エクспанシンやXTHといった細胞壁伸展性に関するタンパク質や水チャネルの役割については更なる解析が必要となった。本研究では、収穫後のバラ切り花への赤色光照射とオーキシン処理を組み合わせることで、収穫後での開花を促進しつばみをより大きく開かせる効果が示されたため、切り花品質向上技術への応用を示唆する有用な知見が得られたと考えている。

<引用文献>

- Yamada, K., Ito, M., Oyama, T., Nakada, M., Maesaka, M., Yamaki, S. (2007) Analysis of sucrose metabolism during petal growth of cut roses. *Postharvest Biol. Technol.* 43:174-177.
- Kobashi, K., Sugaya, S., Gemma, H., Iwahori, S. (2001) Effect of abscisic acid (ABA) on sugar accumulation in the flesh tissue of peach fruit at the start of the maturation stage. *Plant Growth Regulation* 35:215-223.
- Roitsch, T., Gonzalez, M-C. (2004) Function and regulation of plant invertases:

sweet sensations. *Trends in Plant Science* 9:606-613.

三田薫 (2015) バラ切り花の花弁成長関連タンパク質の発現変動と光環境による開花制御. 中部大学大学院応用生物学研究科 修士学位論文

Horibe, T., Ito, M., Yamada, K. (2010) Effect of plant hormones on invertase activity and on petal growth. *Acta Horticulturae* 870:279-283.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 山田邦夫	4. 巻 183
2. 論文標題 我が国の花き流通と品質に関する諸問題	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 施設と園芸	6. 最初と最後の頁 32-35
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 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 Wu Weijun, Ogawa Fumie, Ochiai Masaki, Yamada Kunio, Fukui Hirokazu	4. 巻 8
2. 論文標題 Common Strategies to Control <i>Pythium</i> Disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Reviews in Agricultural Science	6. 最初と最後の頁 58 ~ 69
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） http://doi.org/10.7831/ras.8.0_58	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 山田将弘, 落合正樹, 山田邦夫, 福井博一	4. 巻 19 (2)
2. 論文標題 ニチニチソウ実生実生苗へのコルヒチン処理によって得られた周縁キメラの倍数性と葉形との関係	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 園芸学研究	6. 最初と最後の頁 115-120
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） http://doi.org/10.2503/hrj.19.115	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7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 堀部貴紀・河合美旺・倉知優希・篠田知希・堀江果純・渡邊結佳・山田邦夫・牧田真歩
2. 発表標題 バラ切り花の周期的花卉成長と光による開花速度制御の取り組み
3. 学会等名 園芸学会平成30年度秋季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 坂本亮介・津川真輝・落合正樹・太田垣駿吾・山田邦夫・松本省吾・河村耕史
2. 発表標題 ノイバラの自家不和合性を制御するSRNase遺伝子の探索と配列解析
3. 学会等名 園芸学会平成31年度春季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 牧田真歩, 青山知聡, 長野はる花, 三輪直輝, 鶴見香奈, 中田安莉沙, 堀部貴紀, 山田邦夫
2. 発表標題 バラ切り花へのオーキシン処理による糖代謝の変化
3. 学会等名 園芸学会東海支部平成29年度研究発表
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 三田薫, 山田邦夫
2. 発表標題 切り花への糖処理による葉害の原因解明
3. 学会等名 園芸学会平成29年度秋季大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 牧田真歩, 上垣茉穂, 勝綾香, 高橋佑実, 伏屋颯太, 松尾卓実, 山田邦夫, 堀部貴紀
2. 発表標題 植物生育調節剤によるバラ切り花の開花速度制御の取り組み
3. 学会等名 園芸学会令和元年度秋季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 牧田真歩, 上垣茉穂, 勝綾香, 高橋佑実, 伏屋颯太, 松尾卓実, 山田邦夫, 堀部貴紀
2. 発表標題 LED照射によるバラ切り花の品質向上技術の検討
3. 学会等名 園芸学会令和元年度秋季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 清水雄太郎, 山田邦夫, 落合正樹
2. 発表標題 ローズヒップ生産に利用されるバラ属野生種の調査
3. 学会等名 園芸学会東海支部令和元年度研究発表会
4. 発表年 2019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