

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2006～2008

課題番号：18580033

研究課題名 (和文) 多糖性物質溢泌を司る鍵物質、ジャスモン酸の園芸学的研究

研究課題名 (英文) Jasmonates are important factors regulating gummosis in bulbous plants and Rosaceae plants

研究代表者

宮本 健助 (MIYAMOTO KENSUKE)

大阪府立大学・総合教育研究機構・教授

研究者番号：10209942

研究成果の概要：

植物ホルモン類の一つジャスモン酸類 (JAs) は、園芸上重要な作物であるチューリップやバラ科核果類植物において顕著に多糖性物質であるガムの溢泌を誘導する。球根植物であるチューリップ (アペルドーン品種) およびムスカリを対象とした外生的投与実験において、ガム形成は JAs とエチレンとの相互作用により制御されており、チューリップでは JAs が、ムスカリではエチレンが主導的役割を果たしていること、さらに器官や植物体の齢の違いによりガム形成能が異なることを明らかにした。化学組成を調べた結果、チューリップとムスカリでは、ガムの分子量、中性糖・酸性糖の比、中性糖組成が著しく異なっており、植物種によりガム形成に関わる代謝が異なることが示唆された。また、スモモ果実を対象とした投与実験においてはガム形成が JAs とエチレンとの相互作用により制御されていることを示すとともに、機器分析により障害誘導性のガム形成時における両植物ホルモン類の増加を明らかにし、これらがガム形成の重要な内的制御因子であることを示唆した。

交付額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|---------|-----------|
| 2006 年度 | 1,900,000 | 0 | 1,900,000 |
| 2007 年度 | 700,000 | 210,000 | 910,000 |
| 2008 年度 | 900,000 | 270,000 | 1,170,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,500,000 | 480,000 | 3,980,000 |

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：花卉、果樹

1. 研究開始当初の背景

本研究の対象としたジャスモン酸類（ジャスモン酸およびそのメチルエステル、以下、JAs）は、共同研究者である上田純一らによって植物の老化促進物質として世界に先駆けて単離・同定された化合物であり、現在では細胞伸長成長の阻害、離層形成の促進など多面的生理作用を有する植物ホルモン類の一つとされている。近年、病傷害外応答遺伝子や栄養分貯蔵に関係する遺伝子などジャスモン酸誘導遺伝子が注目されているが、JAsの植物の成長・発達に関わる遺伝子は十分に明らかにされているとはいえない状況にある。

他方、我々はJAsの作用機構の研究から、細胞伸長阻害や離層形成促進におけるJAsの細胞壁多糖類代謝への関与を示唆するとともに、チューリップやバラ科核果類を対象にJAsが多糖性物質であるガムの溢泌誘導という特異な生理作用をもつことを見出した(Skrzypek *et al.*, *J. Plant Physiol.*, 162: 495-505, 2005; *J. Plant Res.* 118: 27-30, 2005)。これらの事実は、JAsが成長・発達を制御する鍵として糖代謝が関係することを示唆し、ガム形成は糖代謝に直接関わる極めてJAsの作用機構研究に適した生理現象と考えられる。

多糖性物質の溢泌誘導は、花卉園芸上重要な球根作物であるチューリップや果樹であるバラ科核果類で顕著に見られ、これまでにエチレンの関与が示唆されてきた。しかしながら、JAsにも同様の作用があることから、そのホルモン制御を明らかにすることが花卉・果樹園芸学的に極めて重要である。JAsは多くの生理現象においてエチレンと相互作用することも知られており、ガム形成におけるエチレンとの相互作用、器官のホルモン感受性、ガム物質誘導時の植物

ホルモン類の動態、植物における普遍性などを検討する必要がある。

2. 研究の目的

本研究では、JAsの作用をエチレンとの相互作用を含め解析し、JAsが糖代謝を介して多糖性物質（ガム）の溢泌を制御する鍵化合物であることを提唱するとともに、JAsの作用全般に糖代謝における変化が重要であることを示すことにある。また、JAsはエチレン以外、オーキシンとも多くの生理現象において相互作用を示す。そこで、内生植物ホルモン動態の側面などを含めJAsの作用機構を総合的に解析することを本研究の目的とした。本研究により、果樹・花卉園芸への応用、すなわちガム形成の人為的制御の研究の基礎的資料が得られるものと期待される。

3. 研究の方法

【植物材料】

実験時期が異なる複数の植物種を対象とし、植物種における相違性の検討を可能にするとともに、通年の実験が可能となるように配慮し、球根植物としてチューリップ (*Tulipa gesneriana* L.) およびムスカリ (*Muscari armeniacum*) を、また、バラ科核果類植物としてスモモ (大阪府立大学大学院理学系研究科の実験圃場において栽培) の果実を主たる植物材料とした。

【植物ホルモン類の処理】

JAsとしてジャスモン酸メチルエステル (JA-Me, 0.1, 0.5, 1 and 2%, w/w, in lanolin) を、エチレンとしてエチレン発生剤であるエテホン (2-chloroethylphosphonic acid, 1 and 2% w/w, in lanolin) を、含水ラノリンペーストとして植物体に塗布した。

【植物ホルモン類の定性・定量解析】

JAsおよびエチレンの同定・定量には、そ

それぞれガスクロマトグラフ-質量分析計、およびガスクロマトグラフィーを使用した。なお、JAsの定量は、重水素標識した内部標準物質を用いて行った。

【ガム物質の化学組成の分析】

ガム物質多糖類についてはゲル濾過クロマトグラフィー（カラム：Tosohゲル G 5000PW）によってその分子量を、全糖量および酸性糖量についてはそれぞれフェノール硫酸法およびカルバゾール硫酸法によって調べた。さらに中性糖組成については、加水分解後、アセチル化し、ガスクロマトグラフィーによって解析した。

4. 研究成果

(1) 球根植物におけるガム物質形成の植物ホルモン制御

① チューリップのガム形成制御

チューリップ（アペルドーン品種）球根ではエチレン、ジャスモン酸メチルエステル（JA-Me）、いずれの投与によりガム形成が認められた。しかし、チューリップ植物体の茎葉部においてはエチレンではガム形成は認められず、JA-Meでのみガム形成が認められた。両者を同時に処理した場合にはいずれの器官においても相乗的作用が認められた。以上の結果から、チューリップにおけるガム形成ではJAsが主導的役割を果たしつつエチレンと相互作用することが示唆された。

また、チューリップ（アペルドーン品種）球根のJAsに対する感受性について検討した結果、JAs誘導のガム形成が、球根の発達段階と密接に関係すること、また、植物ホルモン処理時の光の有無はガム形成にほとんど影響しないことが明らかとなった。さらに、アペルドーン品種以外の様々な品種においてガム形成のエチレン感受性を検討したところ、エチレンに対する感受性が品種によっ

て異なっていた。これらの結果に文献調査をまじえてチューリップのガム形成のホルモン制御について総説の形としてまとめた。詳細は、*Floriculture and Ornamental Biotechnology* 1 : 30-40 (2007) を参照されたい。

② ムスカリにおけるガム形成制御

チューリップ同様、花卉園芸上重要な球根作物であるムスカリ (*Muscari armeniacum*) を対象に、ガム形成に重要な植物ホルモンを明らかにする目的で投与実験を行った。ムスカリ球根においてはエチレンではガム形成が誘導されたもののJA-Me単独ではガム形成は認められなかった。しかし、JA-Meはエチレンのガム形成能を著しく増大させた。

以上の結果からムスカリにおいては主導的役割を果たして植物ホルモンはチューリップとは異なるものの、JAsがエチレンと共同してガム形成を制御することを示唆した。また、チューリップとは異なり、ムスカリ茎葉においてはエチレンやJA-Meの単独処理、さらには同時処理によってもガム物質形成は認められず、球根植物においても種の違いに加え、器官の違いによる反応性の違いがあることを明らかにした。

さらにムスカリのエチレン誘導性ガム形成の球根の発達状態の違いに対する影響を調べた結果、春から夏にかけてガム形成量が増加したが、初秋からその生成量は減少した。この結果、成長期の球根はガム形成能が高く、球根の加齢に伴いその能力が低下することが示唆された。

今後、チューリップ、ムスカリの成長発達に伴う内生植物ホルモン動態を明らかにすることによって、病原菌や害虫などによる障害誘導性ガム物質形成を人為的に制御する方法の基礎的資料が得られるものと思われる。

これらの結果の一部は、10th International

Symposium on Flower Bulbs and Herbaceous Perennials (2008年4月)において口頭発表した。

(2) 球根植物におけるガムの化学組成

球根におけるガムの形成機構については多糖類の生化学的研究の難しさもあり、ほとんど明らかにされていない。そこで、ガムの生合成系に関する知見を得る目的で、ガムの分子量やその化学組成について調べた。

① チューリップのガムの化学組成

チューリップガムを可溶化し、ゲル濾過クロマトグラフィーに供した結果、平均分子量約700 kDaのシングルピークとして検出された。中性糖と酸性糖の割合は、ほぼ5:2であった。また、加水分解、アセチル化後、ガスクロマトグラフィーにより中性糖組成を調べた結果、アラビノースとキシロースがほぼ4:6の割合で存在した。これらの結果から、チューリップのガムはグルクロノアラビノキシランと推定されるが、今後酸性糖を同定する必要がある。

② ムスカリのガムの化学組成

ムスカリのガムも同様にしてゲル濾過クロマトグラフィーに供した結果、平均分子量約8.3 kDaのシングルピークとして検出された。中性糖と酸性糖の割合は、ほぼ2:1であり、また、その中性糖組成としてはラムノースとガラクトースを多く含んでいた。ムスカリにおいても酸性糖の同定には至っておらず、今後さらなる検討が必要とされる。

以上の結果から、球根植物のガム物質は酸性糖を多く含むペクチン様多糖類であるが、球根植物の種によって形成されるガム物質の分子サイズや化学組成が大きく異なっており、球根植物の種類によってガム形成に関わる代謝が異なっていることが明らかとな

った。これらの結果については、10th International Symposium on Flower Bulbs and Herbaceous Perennials (2008年4月、オランダ)、および植物化学調節学会第43回大会(2008年10月、筑波)において口頭発表を行った。今後、酸性糖を同定し、論文の形にまとめる予定である。

(3) バラ科核果類果実におけるガム形成

スモモ、モモなどのバラ科核果類植物におけるガム形成においては、古くからエチレンの関与が示唆されてきた。チューリップにおいてJAsがガム物質の鍵物質であることから、バラ科核果類のスモモ、モモ、サクラなどを対象にした外生的投与実験を行った。その結果、JAsはエチレン同様にガム形成作用を有すること、さらにエチレンと相互作用を示すことを明らかにした。本成果についてはJournal of Fruit and Ornamental Plant Research 14 (Suppl. 1): 137-144 (2006) に発表した。

外生的投与実験によってJAsとエチレンの相互作用がバラ科核果実におけるガム形成制御に重要であることが示唆されたが、障害など天然にガム物質を誘導する際の内生ホルモン動態は未だ明らかでない。そこで、実験圃場のスモモにおいて、その果実を対象に、障害誘導ガム形成に際してのエチレンおよびJAsの動態を機器分析により検討した結果、JAsおよびエチレン生成が障害で誘導されることが示され、ガム形成におけるエチレンの関与が示唆された。単年度の野外実験結果では障害によってその増加が認められており、本野外実験については年度を重ね、その成果をまとめる予定である。

(4) ジャスモン酸類の新規生理作用

JAsは植物の老化促進物質として単離同定された植物ホルモン類である。我々は、チューリップを対象とした外生的投与実験におい

て、チューリップの鱗茎に JAs を投与すると、鱗茎基部の根原基付近の組織でクロロフィル合成が誘導されるという特異な生理作用を見出した。これまでに JAs にはクロロフィル分解促進作用が知られているがクロロフィル合成促進作用は新奇なものである。HPLC を用いてクロロフィルを分析し、クロロフィル a および b を同定した。その成果を J. Fruit and Ornamental Plant Research 14: 199-210 (2006) に発表した。

(5) その他

チューリップ花茎の伸長成長制御機構

チューリップ花茎の伸長成長をオーキシンに対する反応性の側面から解析し、球根の成熟段階がその後の花茎のオーキシン反応性に関わることを見出し、その結果を Floriculture and Ornamental Biotechnology 1 : 142-146 (2007) に発表した。

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) (査読の有無)

[雑誌論文] (計 4 件)

- ① Saniewski, M., Okubo, H., Miyamoto, K., and Ueda, J. Susceptibility and/or responsiveness of tulip stem segments excised from cooled or uncooled bulbs to indole-3-acetic acid, Floriculture and Ornamental Biotechnology 1 : 142-146 (2007) (有)
- ② Saniewski, M., Miyamoto, K., Okubo, H., Saniewska, A. Puchalski, and Ueda, J., Gummosis in Tulip (*Tulipa gesneriana* L.): Focus on hormonal regulation and carbohydrate metabolism, Floriculture and Ornamental Biotechnology 1 : 30-40 (2007) (有)
- ③ Ueda, J., and Saniewski, M., Methyl jasmonate-induced stimulation of chlorophyll formation in the basal part of tulip bulbs kept under light conditions, Journal of Fruit and Ornamental Plant Research 14: 199-210 (2006) (有)
- ④ Saniewski, M., Ueda, J., Miyamoto, K. and *et*

al., Hormonal control of gummosis in Rosaceae, Journal of Fruit and Ornamental Plant Research 14 (Suppl. 1): 137-144 (2006) (有)

[学会発表] (計 3 件)

- ① 宮本健助、笹本真季子、Saniewski M.、上田純一、ムスカリ (*Muscari armeniacum*) におけるガム物質の形成制御およびその化学組成、植物化学調節学会第 43 回大会 (2008 年 10 月 29~30 日、筑波)
- ② Miyamoto K., Sasamoto, M., Saniewski, M. and Ueda, J., Interaction of ethylene and methyl jasmonate on gummosis in grape hyacinth (*Muscari armeniacum*) bulbs: Relevance to chemical composition of gums, 10th International Symposium on Flower Bulbs and Herbaceous Perennials, Abstract, p.106 (2008 年 4 月 20~24 日、オランダ)
- ③ Saniewski, M., Okubo, H., Miyamoto K., and Ueda, J., 2,3,5-Triiodobenzoic acid, an inhibitor of polar auxin transport, stimulates shoot growth and flowering of partially cooled tulip bulbs, 10th International Symposium on Flower Bulbs and Herbaceous Perennials, Abstract, pp.30-31 (2008 年 4 月 20~24 日、オランダ)

[図書] (計 2 件)

- ① 宮本健助、上田純一；天然物化学—植物編—(山村庄亮、長谷川宏司編) 1.1.1. オーキシン (株) アイピーシー、pp. 1-10 (2007)
- ② 上田純一、宮本健助；天然物化学—植物編—(山村庄亮、長谷川宏司編) 1.1.6. ジャスモン酸 (株) アイピーシー、pp. 42-51 (2007)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮本 健助 (MIYAMOTO KENSUKE)
大阪府立大学・総合教育研究機構・教授
研究者番号：10209942

(2) 研究分担者

上田 純一 (UEDA JUNICHI)
大阪府立大学・理学系研究科・教授
研究者番号：40109872