

令和 6 年 6 月 16 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05571

研究課題名（和文）切り花にすると花の香りが急速に減少する原因の解明

研究課題名（英文）Attempt to elucidate the cause of the rapid decrease in flower scent in cut flowers

研究代表者

岸本 久太郎（Kishimoto, Kyutaro）

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・野菜花き研究部門・上級研究員

研究者番号：60546737

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：カーネーションの切り花における香りの減少は、花弁内のフェニルプロパノイドの減少が直接的な原因であると考えられる。このフェニルプロパノイドの減少は、フェニルアラニンから桂皮酸を合成する過程の抑制が要因と推定されるが、この抑制は、この過程を触媒する酵素量の減少とは異なる機構であると推定される。また、S-アデノシルメチオニンからのメチル基の供給の減少も香りが失われる要因の一つと推定される。二糖や単糖処理は、こうした香りの抑制機構を解除する効果があると推定され、切り花の香り向上技術として応用できる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学術的意義：切り花において香りが失われる要因の一つが、香り（揮発フェニルプロパノイド）の基質となるフェニルプロパノイドの減少であること、また、この減少の原因と目される代謝過程を特定した。さらに、切り花への二糖や単糖処理は、この香りの抑制機構を解除すると推定され、発散香氣分量を増加させる作用をあることを見出した。

社会的意義：世界初となる切り花の香り保持剤の開発に応用可能な新知見を示した。

研究成果の概要（英文）：The loss of scent in cut carnation flowers is thought to be directly caused by a decrease in phenylpropanoids in the petals. This decrease in phenylpropanoids is thought to be caused by inhibition of the process of biosynthesis of cinnamic acid from phenylalanine, but this inhibition is thought to occur through a mechanism different from a decrease in the amount of the enzyme that catalyzes this process. In addition, a decrease in the supply of methyl groups from S-adenosylmethionine is also thought to be a factor in the loss of scent. Treatment with disaccharides or monosaccharides is thought to have the effect of removing this mechanism of suppression of scent, and may be applicable as a technique for improving the scent of cut carnation flowers.

研究分野：園芸学

キーワード：香り 切り花 カーネーション フェニルプロパノイド 単糖 二糖 芳香族化合物 ポストハーベス
ト

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

カーネーションの香りは、古くから香料や香水として利用されてきた(Anonis 1985)。しかし、一般の日本人を対象にしたアンケート調査では、カーネーションの香りを知っていると回答した人の割合は8%未満であり、同調査におけるバラやユリの割合(それぞれ66%と71%)と比較すると、非常に低い結果であった(岸本 2012)。カーネーションでは、品種改良の過程で香りが失われた可能性があり(Clery et al. 1999)。これが、香りの認知度が低い要因の一つと考えられる。しかし、われわれは、カーネーションには香る品種も存在するが、その香りは、切り花にすると急速に失われることを見出した(Kishimoto & Shibuya 2021)。従って、わが国においてカーネーションの香りがあまり認知されていないのは、普段接しているカーネーションの花、すなわち切り花が香らないことも要因と推定される。

一般に、花の香りは花の老化とともに失われていく。その理由として、花に老化を促す植物ホルモンのエチレンが、香りを作る過程に必要な酵素の遺伝子発現を抑える機構が提唱されている(Liu et al. 2017)。しかし、カーネーションの切り花における香りの減少は、老化がおこる前に生じ、エチレンの作用を化学的に阻害しても止めることができないことから、未知の機構であると推定される(Kishimoto 2021)。この機構を解明し、切り花を地植えの花の生理状態と同様にする方法が分かれば、切り花の香りを長く保つことができると考えられる。

これまでのところ、収穫して半日後のカーネーション切り花において、香りを作るときの基質となる糖質の代謝を担う酵素の遺伝子発現が低下することが見出されている(Kishimoto & Shibuya 2021)。そこでわれわれは、切り花では、主にこれらの酵素遺伝子の発現低下が原因で基質が減少し、香気成分合成能が低下することで、香りが失われるという仮説を立てた。

2. 研究の目的

この研究の目的は、芳香性のカーネーション品種「ミルキーウェイ」をモデルにして、切り花にすると香りが急速に失われる原因を解明し、切り花の香りを長く維持するための有用な知見を得ることである。

そのために、

香りが失われる原因となっている「基質の減少」を特定する。

この基質の減少の要因と考えられる「酵素遺伝子発現」を特定する。

で特定した基質の処理による切り花の香りの回復を試みる。

の3つの研究課題を遂行し、これらの結果から、切り花において香りが失われる機構を考察するとともに、基質の処理、すなわち外因的な化学処理によって切り花の香りが回復できる可能性についても議論する。

3. 研究の方法

1) 切り花で香りが失われる要因となっている基質の減少の特定

鉢植えの花と切り花の花弁内の生体分子の含有レベルを比較し、切り花で香りの発散量の減少と同期して特異的に減少する香りの基質を特定する。生体分子の含有レベルは、主に高速液体クロマトグラフィーシステム(HPLC)とキャピラリー電気泳動-質量分析(CE-MS)により明らかにする。香りの発散量は、動的ヘッドスペース法とガスクロマトグラフィー質量分析法(GC-MS)により明らかにする。

2) 切り花における香りの減少と関連していると考えられる遺伝子発現の特定

1)と同じように鉢花と切り花の花弁内の遺伝子発現レベルを比較し、切り花だけで発現レベルが変化している遺伝子を特定する。遺伝子発現の解析は、主に網羅的な遺伝子発現解析(RNA-Seq)によって行う。

3) 化学的な処理によって切り花の香りの持続期間を長くできる可能性の検討

1)で特定した基質を切り花に処理し、切り花の香りの発散を増加させる効果のあるものを選定する。次に、基質の処理濃度を比較し、切り花の香りを回復させるために最も適した基質の処理方法を明らかにする。最後に、ミルキーウェイ以外の品種の切り花に対しても同様な効果が示されるかどうかを確認する。

4. 研究成果

1) カーネーションを切り花にすることによって生じる香りの基質含量の変化

鉢植えの花の香りと切り花の香り(=ヘッドスペースガスとして大気中に発散された揮発成分量)を比較した(図1)。開花当日の発散量に差はないが、開花6日後の発散量は、鉢植えの花に比べて切り花で4分の1以下にまで減少していた。この6日後の花弁の中の生体分子(約1,100種類)の含有レベルを鉢花と切り花で比較した。図2に香り(=揮発性フェニルプロパノ

イド)の生合成経路の概略とその経路における各代謝過程の代表的な基質の含有レベルを示す。

香りの生合成の出発点に当たるスクロース分解の過程では、二糖や単糖のスクロース、グルコース、およびフルクトースの含有レベルに顕著な違いが認められ、これらはいずれも切り花では含有レベルが減少していた(図2)。同様に、フェニルプロパノイドの代謝過程においても生体分子の減少が認められた。ここでは、香りの生合成への寄与が高い基質である桂皮酸、カフェ酸、および安息香酸についての結果を示す(図2)。一方、アミノ酸のシキミ酸、フェニルアラニン、およびS-アデノシルメチオニン、切り花の方が多く。特に、フェニルアラニンとS-アデノシルメチオニンは、鉢植えの花よりも切り花で約5倍も高い含有レベルが示された。一方、グルコース6-リン酸やフルクトース6-リン酸に代表されるリン酸化糖の含有レベルは、鉢植えの花と切り花において、差は認められなかった。

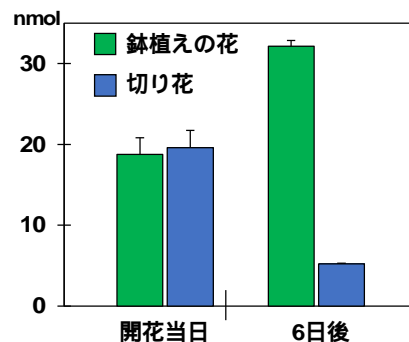


図1. カーネーション(1花・1時間当たり)の発散香氣成分の総量 (n=3)

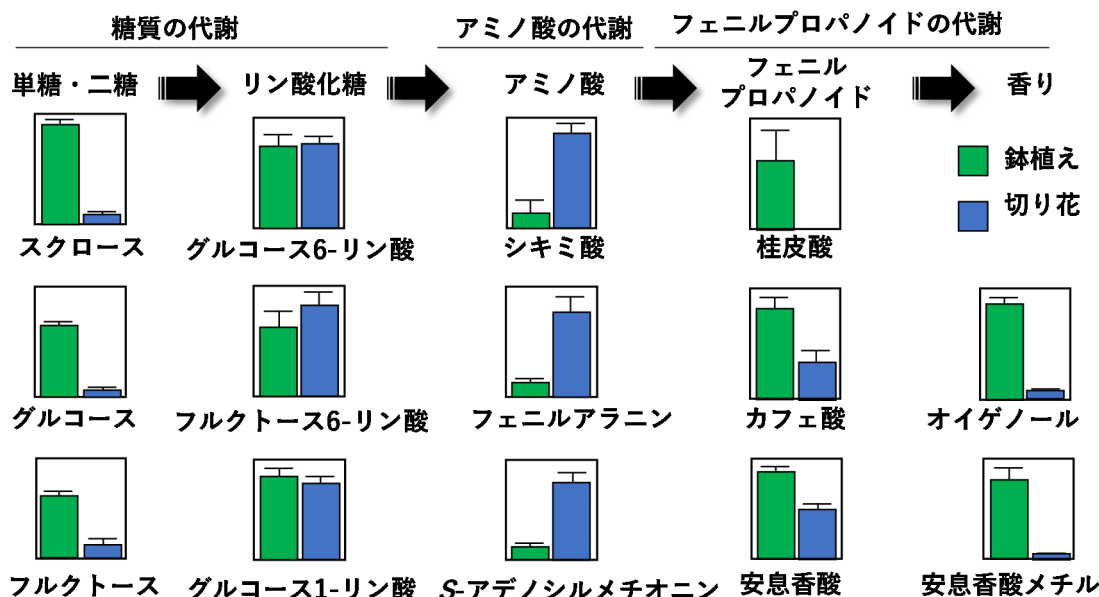


図2. 香りの生合成経路における各代謝過程の代表的な基質とその花卉内含有レベル (相対値, 3花の平均)

2) カーネーションを切り花にすることによって生じる遺伝子発現の変化

鉢植えの花と切り花の花弁における遺伝子発現を網羅的に比較した。開花3日後では、鉢植えの花に対して、切り花で発現レベルが2分の1以下 ($n=3, P < 0.01$) であった遺伝子が、1,285個見つかった(データ未掲載)。これらの遺伝子がコードするタンパク質の機能をグループ分けしたところ、最も多く認められた機能は「酵素活性」であった。次に、これらの中から PLANT METABOLIC PATHWAY DATABASES (<https://www.plantcyc.org/>) において「スクロース分解」、「解糖系」、「ペントースリン酸経路」、「コリスミ酸・フェニルアラニン生合成」、「フェニルプロパノイド生合成」および「揮発性ベンゼノイド生合成」とそれに付随する経路の代謝を担うとされている酵素遺伝子と相同性の高いタンパク質をコードした遺伝子を特定した。これにより、49個の酵素遺伝子が特定された(表1)。

特定された酵素遺伝子を機能別に分類したところ、糖質の代謝を担う酵素が最も多く、28個が検出された。これは、全体の約57%に相当した。さらに、これらの中では、解糖系の代謝を担うピルビン酸キナーゼが最も多く9個見出された。アミノ酸の代謝を担う酵素は非常に少なく、フェニルアラニンの生合成と分解に関わる酵素が各1個検出された。フェニルプロパノイドの代謝を担う酵素は19個が確認された。これは、全体の約39%に相当した。フェニルプロパノイドの代謝では、安息香酸とコニフェリルアルコールの生合成を担う酵素が最も多く、それぞれ、7個と5個が検出された。

また、データには示していないが、切り花で特異的に発現が減少した遺伝子の機能には、フェニルプロパノイドへのメチル基の供与体であるS-アデノシルメチオニンのメチルトランスフェラーゼも多く見出され、18個が特定された。

表 切り花の花弁で特異的に発現低下が認められた香気成分合成関連酵素遺伝子

| 代謝過程 | 予想されるタンパク質機能 | 代謝物 | 個数 |
|-------------------|---------------------------------|---|-------|
| 糖質の代謝 | スクロース-UDPグリコシルトランスフェラーゼ | UDP- β -D-グルコース + β -D-フルクトフラノース | 1 |
| | UTP--グルコース-1-リン酸 ウリジリルトランスフェラーゼ | UDP- α -D-グルコース \leftrightarrow α -D-グルコピラノース 1-リン酸 | 2 |
| | フルクトース-ビスホスファターゼ | -D-フルクトフラノース 6-リン酸 | 6 |
| | フルクトース-6-リン酸 1-ホスホトランスフェラーゼ | -D-フルクトース 1,6-ビスリン酸 | 1 |
| | グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ | D-グリセルアルデヒド 3-リン酸 \leftrightarrow 1,3-ビスホスホ-D-グリセリン酸 | 1 |
| | ホスホグリセリン酸ムターゼ | 1,3-ビスホスホ-D-グリセリン酸 \leftrightarrow 3-ホスホ-D-グリセリン酸 | 1 |
| | ピルビン酸キナーゼ | ピルビン酸 | 9 |
| | UDP-グルクロン酸デカルボキシラーゼ | UDP-D-グルクロン酸 \leftrightarrow UDP-D-キシロース | 2 |
| | UDP-グルコース 4-エピメラーゼ | UDP-ガラクトース \leftrightarrow UDP- α -D-グルコース | 1 |
| | グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ | 6-ホスホD-グルコノ-1,5-ラクトン | 1 |
| | ホスホグルコン酸デヒドロゲナーゼ | D-リブロース 5-リン酸 | 2 |
| | トランスケターゼ | D-エリトロース 4-リン酸 + D-キシロース 5-リン酸 \leftrightarrow β -D-フルクトフラノース 6-リン酸 + D-グリセルアルデヒド 3-リン酸 | 1 |
| | | | |
| アミノ酸の代謝 | アロゲン酸デヒドロゲナーゼ | L-フェニルアラニン | 1 |
| | フェニルアラニントランスアミナーゼ | L-フェニルアラニン + 2-オキシグルタル酸 \leftrightarrow 3-フェニル-2-オキソプロパン酸 + L-グルタミン酸 | 1 |
| | | | 小計 2 |
| フェニルプロパノイドの代謝 | (E)-ケイ皮酸-4-モノオキシゲナーゼ | 4-クマル酸 | 1 |
| | 4-クマル酸CoAリガーゼ | (E)-4-クマロイル-CoA | 2 |
| | シキミ酸 O-ヒドロキシシナモイルトランスフェラーゼ | (E)-5-O-(4-クマロイル)シキミ酸 | 2 |
| | シナモイル-CoAレダクターゼ | コニフェリルアルデヒド | 1 |
| | コニフェリルアルコール デヒドロゲナーゼ | コニフェリルアルコール | 5 |
| | コニフェリルアルデヒド デヒドロゲナーゼ | フェルラ酸 | 1 |
| | 安息香酸ベンジル エステラーゼ | 安息香酸 + ベンジルアルコール | 5 |
| ベンズアルデヒド デヒドロゲナーゼ | 安息香酸 | 2 | |
| | | | 小計 19 |
| 合計 | | | 49 |

3) 香りの基質処理が切り花の香りの発散に与える影響

鉢植えの花と比較して切り花で減少していた香りの基質は、糖質のスクロース、グルコース、およびフルクトースとフェニルプロパノイドの桂皮酸、カフェ酸、および安息香酸であった(図2)。蒸留水に挿した切り花と3%のスクロース、グルコース、あるいはフルクトース水溶液に挿した切り花の発散香気成分量を比較したところ、蒸留水に生けた切り花よりも糖質の水溶液に挿した切り花では、発散香気成分量が増加した(図3)。しかし、鉢植えの花の発散量よりは低い値にとどまった。また、同様な結果は、ミルキーウェイ以外の複数の品種においても示された(データ未掲載)。

桂皮酸と安息香酸は、これらの糖質よりもはるかに低い濃度である0.01%で、発散香気量を増加させる傾向を示したが、植物体を枯らせる副作用があり、香りに対する効果を上手く見ることができなかった(データ未掲載)。カフェ酸については調査していない。

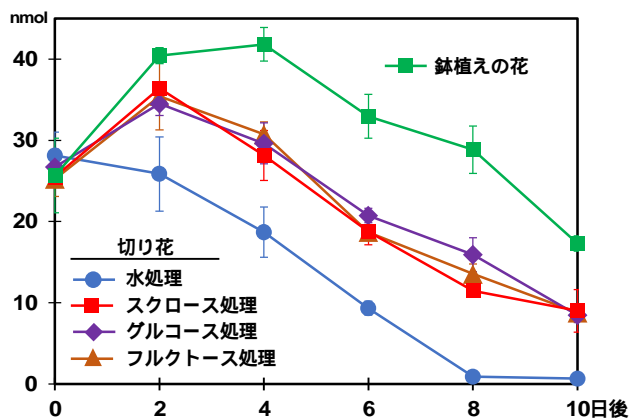


図3. カーネーション(1花・1時間当たり)の発散香気成分の総量の経日変化(3花の平均)

考察

1) 切り花で香りが減少する要因

カーネーションの切り花では、香り生合成の場である花弁において、フェニルプロパノイド含有レベルが減少していた(図2)。これらは、香りである揮発性フェニルプロパノイドの前駆体となることから、切り花において香りが失われる直接的な原因は、このフェニルプロパノイドの減少であると考えられる。切り花では、二糖や単糖の量も減少していた、しかし、これらの糖質よりも、香りの生合成経路のより下流の基質である、リン酸化糖やアミノ酸の減少が認められなかったことから、これらの減少は、少なくとも香りの基質が不足するほどの減少ではなかったと推測される。

切り花では、フェニルプロパノイド生合成の出発点に相当する基質であるフェニルアラニンの含有レベルが鉢花よりも高くなっていたにも関わらず、フェニルプロパノイド含量は減少していた(図2)。従って、フェニルアラニンから桂皮酸へといった代謝が抑制され、このような結果が生じていると推定される。しかし、この生合成過程を触媒する酵素であるフェニルアラニンアンモニリアーゼ(PAL)の遺伝子発現に有意な変化は示されなかった(表)。従って、PAL量に非依存的な機構により、この代謝過程が抑制されている可能性が高い。

また、切り花では、メチル基の供与体である、*S*-アデノシルメチオニンも鉢花より高いレベルで蓄積していた(図2)。遺伝子発現では、*S*-アデノシルメチオニン依存的なメチル基転移酵素遺伝子の発現が多く低下していた。従って、切り花では、この酵素の働きが低下することも香りが減少する要因の一つと推定される。

当初、われわれは、糖質代謝酵素の遺伝子発現の低下が、切り花で香りが失われる要因と予想していた。実際に切り花では、糖質の代謝関連酵素遺伝子の発現低下が最も多く検出された(表)。しかし、これらの発現低下は、リン酸化糖の含有レベルに影響しないことから(図2)、これらの酵素遺伝子の発現低下は、切り花における香りの減少と関連しないと考えられる。

フェニルプロパノイドの代謝過程においても、いくつかの遺伝子発現の低下が認められた(表)。これらの発現低下も、香りの減少に寄与した可能性がある。

二糖や単糖の処理は、切り花の発散香気成分量を増加させた(図3)。しかし、切り花では、上述のようにフェニルプロパノイドの生合成経路の開始に相当する代謝過程が抑制されていると推測されることから、これらが香りの基質として作用したとは考えにくい。植物では、二糖や単糖の濃度変化をシグナルとして、多様な生理状態や生体分子生合成への影響が知られている(Yoon et al. 2021)。従って、われわれは、糖質処理によって二糖や単糖の濃度が鉢植えの花と同程度に回復したことにより、香気成分生合成を抑制していた機構が部分的に解除されて、発散香気成分量が増加したのではないかと推定している。

2) 基質処理による切り花の香り向上の可能性

スクロース、グルコース、およびフルクトース処理は、複数のカーネーション品種の切り花の発散香気成分量を増加させることが示された。従って、これら糖質処理による、発散香気成分量の増加は、カーネーションに普遍的であると考えられる。カーネーションの切り花では、香りの強さを4段階(よく香る・香る・あまり香らない・香らない)で評価したときに、被験者の70%が「よく香る」あるいは「香る」と評価する発散量の閾値が推定されている(岸本ら2019)。これらの糖質処理による発散量の増加は、これらの閾値を上回ることから、嗅覚的にも意味のある効果であると考えられる。糖質処理では、糖質を炭素源として細菌が増殖し、生け水が腐敗しやすくなるため、これを防ぐための抗菌剤を併用する必要がある。今後は、こうした薬剤との併用が、香りの向上効果に影響するかどうかを検討する必要がある。

桂皮酸や安息香酸処理も発散香気成分量を増加させる傾向を示したが、切り花の日持ちを短くすることから、切り花の香り向上技術としての応用は難しいように見受けられる。

3) まとめ

カーネーションの切り花における香りの減少は、花卉内のフェニルプロパノイドの減少が直接的な原因であると考えられる。このフェニルプロパノイドの減少は、フェニルアラニンから桂皮酸を生合成する過程の抑制が要因と推定されるが、この抑制は、この過程を触媒する酵素量の減少とは異なる機構であると推定される。また、*S*-アデノシルメチオニンからのメチル基の供給の減少も香りが失われる要因の一つと推定される。

二糖や単糖処理は、こうした香りの抑制機構を解除する効果があると推定され、切り花の香り向上技術として応用できる可能性がある。

引用文献

- Anonis, D. P. (1985) The application of carnation in perfumery. *Flav. Fragr. J.* 1, 9-15.
Clery, R. A. et al. (1999) An investigation into the scent of carnations. *J. Essent. Oil Res.* 11, 355-359.
岸本 (2019) ナデシコ属における花の香気成分の特徴. *植調* 46, 291-299.
Kishimoto, K. (2021) Effect of post-harvest management on scent emission of carnation cut flowers. *Hort. J.* 90, 341-348.
Kishimoto, K. & Shibuya, K. (2021) Scent emissions and expression of scent emission-related genes: a comparison between cut and intact carnation flowers. *Sci. Hortic.* 281, 109920.
岸本ら(2019) カーネーション切り花の発散香気成分の分析と官能評価. *農研報* 3, 29-40.
Liu, F. (2017) PhERF6, interacting with EOBI, negatively regulates fragrance biosynthesis in petunia flowers. *New Phytol.* 215, 1490-1502.
Yoon, J. et al. (2021) Sucrose signaling in higher plants. *Plant Sci.* 302, 110703.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|