

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23580036

研究課題名(和文)植物ホルモンの分析による西洋ナシの追熟生理の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the ripening physiology of the pear by the analysis of the plant hormones

研究代表者

児島 清秀 (Kiyohide, Kojima)

新潟大学・自然科学系・教授

研究者番号：70271161

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：植物ホルモンのIAA、iP、Z、GA4濃度は種子で高濃度であることから、種子での合成が示唆された。iPよりZの内生濃度が10倍程度高いことから、主要なサイトカイニンはZであることが発見された。

満開後150日では全ての植物ホルモンの細胞外液(アポプラスト)よりも細胞内液(シンプラスト)の濃度が低い値であった。しかし、満開後177日では全ての植物ホルモンのシンプラストよりもアポプラストの濃度が高い値に変化した。

研究成果の概要(英文)：Because the concentrations of plant hormones, IAA, iP, Z, the GA4 were highly, it was suggested to syntheses those plant hormones in the seeds. Because the endogenous concentration of Z was higher around 10 times than that of iP, it was discovered that the main cytokinine was Z.

The concentrations of intracellular solution (symplast) was a low value than a cell external solution (apoplast) in all plant hormones 150 days after full bloom. However, apoplastic concentration changed to a higher concentrations than symplast in all plant hormones 177 days after full bloom.

研究分野：園芸学

キーワード：インドール酢酸 アブシシン酸 イソペンテニルアデニン ゼアチン ジベレリン アポプラスト

1. 研究開始当初の背景

セイヨウナシ‘ル・レクチエ’は新潟県の特産品であり、果実品質が優れていることから、近年では県のフードブランド化への取り組みが進んでいる。現在は、消費者から認められる高品質の果実を安定的に供給できるかが大きな課題となっている。植物成長調節剤(合成ホルモン剤)は、果実品質の向上(大玉化)および安定生産(花芽着生・着果促進)を目的として、多くの果実生産で施用されている。植物成長調節剤を効果的に施用するには、果実の内生植物ホルモンの消長とそれに伴う果実成長の様子を把握することが重要である。しかし、セイヨウナシにおいては、果実成長中の内生植物ホルモンを、最新の機器分析で定量したという報告はほとんどない。そこで、基礎的知見として、果実成長中の内生植物ホルモンの消長を解明することが求められている。

2. 研究の目的

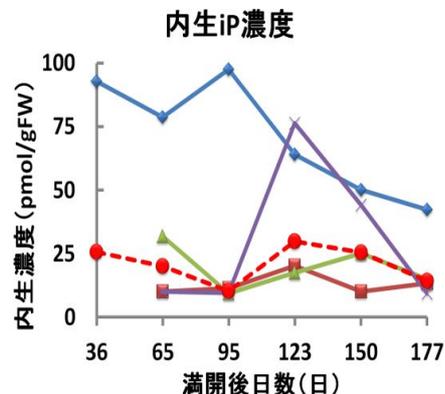
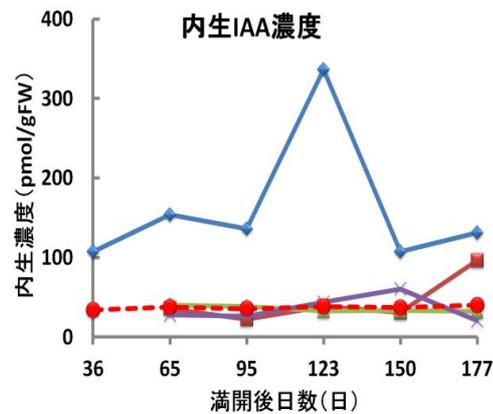
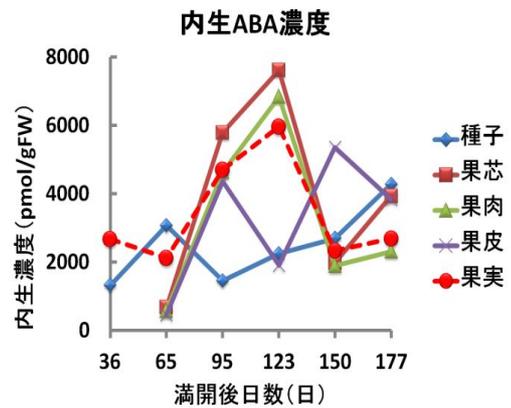
本報告では、果実成長における植物ホルモン(アブシジン酸(ABA)・インドール-3-酢酸(IAA)・サイトカイニン類(CKs, イソペンテニルアデニン;iP, ゼアチン;Z)・ジベレリン(GAs, GA1 および GA4))の消長を明らかにすることを目的として、セイヨウナシ果実の一連の成長過程における、内生植物ホルモンの1果当たりの内生量および部位毎(果皮・果肉・果芯および種子, 果肉由来の細胞外液および細胞内液)の内生濃度を明らかにする。

3. 研究の方法

果実は新潟県農業総合研究所園芸研究センターに植栽されている15年生樹3本から6果ずつ、2010年6月8日(満開後36日)、7月7日(65日)、8月6日(95日)、9月3日(123日)、9月30日(150日)、10月27日(177日)に収穫した。満開後36日の果実は、生重量を測定後に種子を除き、液体窒素で凍結させた。それ以外の果実は、果皮、果肉、果芯および種子に分け、分析まで冷凍庫で保存した。植物ホルモンの抽出および精製方法は坂井ら(園学研9別1:368, 2010)の方法を改編しHPLCによる分取を加え行った。植物ホルモンの分析にはLC/MS(2010EV, 島津)を用い、SIM法で行った。LC/MSの分析条件の詳細は児島ら(園学研7別1:444, 2008)の報告を参考にした。各植物ホルモンのピークは保持時間を基準とし、内生濃度は各ホルモンの天然体および内部標準物質の分子イオンおよびフラグメントイオンのピークエリアの割合から算出した。

4. 研究成果

部位毎の内生濃度のうち、果皮・果肉・果芯・種子および1果実あたりの変化を図1に示す。IAA・iP・ZおよびGA4では種子が著しく高濃度であった。このことから、種子がこれらホルモンの生成部位であることが考えられる。図2に細胞外液(AP)および細胞内液(SY)における内生ホルモン濃度を示す。IAA, iP, GA1およびGA4では、満開後150日ではSY液が高く、満開後177日ではAP液が低いという濃度変化パターンを示した。



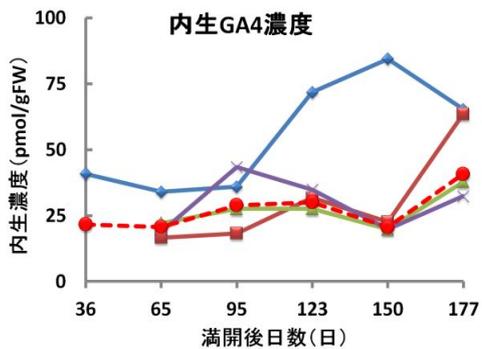
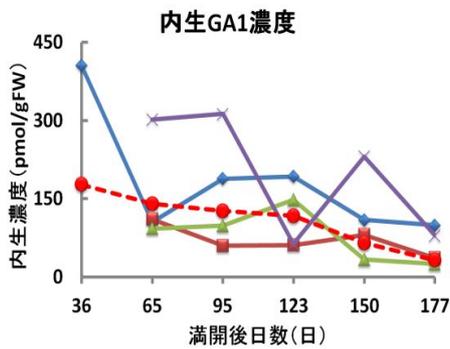
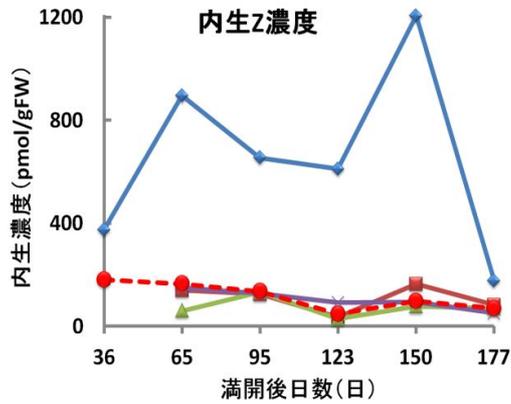


図.1 果皮・果肉・果芯・種子および1果実あたりの内生ホルモン濃度

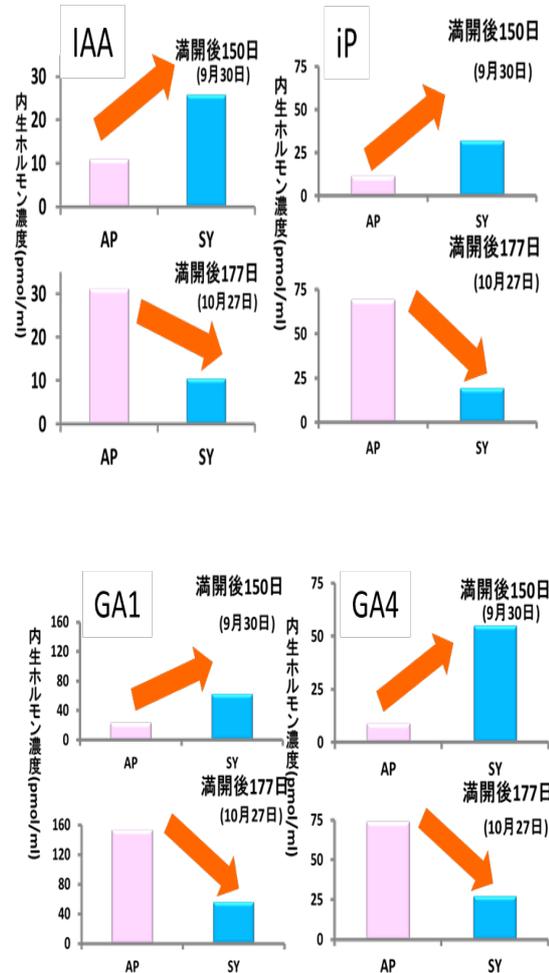


図.2 細胞外液 (AP) および細胞内液 (SY) における内生ホルモン濃度

本研究では、セイヨウナシの果実生長中の主要な内生植物ホルモンを LC-MS で分析した。これにより、果実における内生植物ホルモン濃度について、機器分析による信頼性の高いデータを提供することができた。また、一部の時期で樹ごとに区別して採取した果実を分析に用いることで樹体間差について検討し、木本性の果実を植物ホルモン分析に供試する際の基礎的な知見を提供することができた。更に、果肉由来の細胞外 (AP) 液および細胞内 (SY) 液と、果皮、果肉、果芯および種子といった詳細な部位分けを行うことで、各生長段階における植物ホルモンの役割や合成部位を推定した。

さらに、各植物ホルモンの生合成を明らかにするためには、各種ホルモンの生理活性を示す化合物のほかに、それの前駆体および代謝産物も分析する必要がある。また、関連する遺伝子の発現両調査等も内生植物ホル

モンの分析と並行して行っていくことが、果実生長を深く正確に理解するためには今後必要となってくる可能性がある。

セイヨウナシは、収穫後に追熟を経て食べ頃になる果実であり、今後は、収穫後の内生植物ホルモンの変化を追跡する必要がある。

今回研究に用いた‘ル・レクチェ’は新潟県特産の果実であり、他県および他国ではほとんど研究が行われていない。新潟県に拠を置く農学の研究所として、今後も新規性が高く、且つ、足元に貢献する植物ホルモンの研究が発展していくことを期待する。

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)

[雑誌論文](計8件)

N. Mojtabedi, J. Masuda, Y. Ozaki, N. Hai, K. Kojima, F. Chino, M. Hiramatsu, Y. Mizunoe and H. Okubo (2015): Molecular cloning and expression of a 9-cis-epoxy carotenoid dioxygenase gene (NCED) and its relationship to dormancy in *Lilium longiflorum* and *L. formosanum*. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 90 (2) 121–126. 査読有

佐藤翔一・児島清秀、2014. ジャスモン酸類の抽出・精製方法および LC-MS での最適な DC 電圧. 新潟大学農学部研究報告. 第 6 巻: 125-129. 査読無

セイヨウナシ‘ル・レクチェ’における追熟中の弾性と果皮色などの経時的な変化と追熟後の糖度と酸度. 石本卓也・長谷川悠子・佐野拓哉・甲斐慎一・小松優太・大竹佳奈・宮原悠里・児島清秀、新潟大学農学部研究報告. 66, 65-69. 査読無、2013

福田陽子・児島清秀、2013. サイトカニン分析における LC-MS の分析部直流(DC)電圧の報告. 新潟大学農学部研究報告. 第 65 巻: 123-129. 査読無

福田陽子・児島清秀、2012. LC/MS を用いた植物ホルモン分析における分析部直流(DC)電圧の報告. 新潟大学農学部研究報告. 第 65 巻: 85-91. 査読無

滝沢 憲一、中野 和弘、大橋 慎太郎、知野 秀次、松本 辰也、山澤 康秀、児島清秀、可視・近赤外分光法によるセイヨウナシ‘ル・レクチェ’の渋味果評価の可能性. **新潟大学農学部研究報告** 64(2), 179-186, 2012、査読無

知野秀次・松本辰也・徳田美佳子・二木明日香・太田祐樹・齋藤洋太郎・坂井 優・児島清秀、2011. セイヨウナシ‘ル・レクチェ’における低温貯蔵中の弾性指標と水分消失との関係. *園芸学研究*. 第 10 巻 3 号: 413-419. 査読有

太田祐樹・坂井優・知野秀次・福田陽子・児島清秀、2011. 液体クロマトグラフィー質量分析計を使用した果実の植物ホルモン

の同時分析. *質量分析*. 59.50-55、査読有

[学会発表](計6件)

Endogenous plant hormones of pear fruits during development, K. Kojima and Y. Fukuda, Plant Growth Regulation Society of America (ISHS XII International Symposium on Plant Bioregulators in Fruit Production), 2013年7月28日、デイズ・イン・オランダ・コンベンション・センター、米国(オランダ)

セイヨウナシ‘ル・レクチェ’における果実成長中の内生植物ホルモン(第3報)、福田陽子・松本辰也・児島清秀、園芸学会春季大会、2012年12月5日、朱鷺メッセ(新潟市)

セイヨウナシ‘ル・レクチェ’における果実成長中の内生植物ホルモン(第4報)、福田陽子・松本辰也・児島清秀、園芸学会秋季大会、2012年9月23日、大阪府立大学中百舌鳥キャンパス(大阪府堺市)

フィルム包装が追熟中のセイヨウナシ‘越さやか’の果実特性に及ぼす影響、張虹・知野秀次・松本辰也・児島清秀、園芸学会春季大会、2012年9月23日、大阪府立大学中百舌鳥キャンパス(大阪府堺市)

セイヨウナシ‘ル・レクチェ’における果実成長中の内生植物ホルモン(第2報)、福田陽子・松本辰也・児島清秀、園芸学会北陸支部会、2011年11月11日、富山国際会議場(富山市)

セイヨウナシ“ル・レクチェ”における果実成長中の内生植物ホルモン、福田陽子・太田祐樹・坂井優・知野秀次・松本辰也・児島清秀、園芸学会、2011年3月30日、宇都宮大学(震災のために発表自体は中止)

[その他]

ホームページ等

http://www.agr.niigata-u.ac.jp/profile/k_kojima/index.html

6. 研究組織

(1)研究代表者

児島清秀 (KOJIMA, Kiyohide)

新潟大学・自然科学系・教授

研究者番号: 70271161

(2)研究分担者

無し

(3)連携研究者

無し

(4)研究協力者

松本 辰也 (MATSUMOTO, Tatsuya)

新潟県農業総合研究所・

園芸研究センター・主任研究員
知野 秀次 (CHINO, syuuji)
新潟県農業総合研究所・
食品研究センター・主任研究員
太田 祐樹 (OHTA, Yuuki)
新潟大学・自然科学研究科・
博士後期課程学生