

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 23 日現在

機関番号：14101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23658029

研究課題名(和文) 果実による炭酸ガス固定と果実品質との関係解明

研究課題名(英文) Carbon dioxide assimilation by fruit and its role in fruit quality

研究代表者

平塚 伸 (Hiratsuka, Shin)

三重大学・生物資源学研究科・教授

研究者番号：10143265

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：ウンシュウミカンおよびナシ果実は、光合成と炭酸暗固定によりCO₂を固定し、これらは果実の袋掛け遮光により阻害されることを明らかにした。また、果実で固定された¹⁴C₂O₂が果汁の糖に取り込まれることを証明し、“果実の袋掛けによる糖濃度低下は、果実によるCO₂固定阻害が原因”と結論づけた。一方、果皮表面には多数の気孔が存在し、成熟果実でも十分な蒸散が行われることから、果実はこれら気孔を介してCO₂固定を行っていると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Satsuma mandarin and pear fruits assimilated CO₂ by both photosynthesis and dark CO₂ fixation through PEPC (phosphoenol pyruvate carboxylase, EC: 4.1.1.31), but assimilation rate was considerably hampered by lightproof fruit bagging. The ¹⁴C₂O₂ assimilated by fruit was incorporated into sugars in the juice, suggests that inhibition of sugar accumulation by fruit bagging is due to "inhibition of CO₂ assimilation by fruit". Meanwhile, many stomata were observed on fruit surface and enough amount of transpiration was occurred from fruit even at mature stages. Accordingly, fruit assimilates CO₂ through these stomata.

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：果実 CO₂固定 糖濃度 光合成 PEPC

1. 研究開始当初の背景

リンゴやオリーブなど、数種の果実が光合成によって CO₂ 固定することは知られており、また、一部の報告では C₃ 植物でもその果実は C₄ 型、CAM 型あるいは C₃ と C₄ の中間型光合成をすることが示されていた。なお、植物の炭酸暗固定に参与すると考えられる PEPC (ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ) の果汁成分に及ぼす生理作用については、殆ど知られていなかった。一方、リンゴやナシ栽培において、古くから病虫害防除や果面保護の目的で行われてきた果実の袋掛けは、果汁の糖度低下を引き起こすことが問題となっていたが、その原因は不明であった。

2. 研究の目的

果実の CO₂ 固定特性を明らかにするとともに、光合成や PEPC によって果実で固定された CO₂ が、果汁成分に蓄積することを証明する。また、果実の袋掛け栽培が果汁糖度を低下させる原因を明らかにし、それらの結果を元に、栽培現場における果実無遮光栽培法を提言する。

3. 研究の方法

- (1) 8 月下旬～9 月上旬のウンシュウミカン果実を用い、果皮の光合成特性を葉のそれと比較した。
 - 1 0.2~20klx の異なった光強度下における果皮と葉の光合成速度を、酸素電極法で測定した。
 - 2 50~1,000ppm の異なった CO₂ 濃度下における果皮と葉の光合成速度を、酸素電極法で測定した。
- (2) 6~12 月のウンシュウミカン果実を採取し、光照射(270 μmol/m²/s)または暗黒下のアクリル製同化箱中で ¹⁴CO₂ 固定を行った。なお、¹⁴CO₂ 固定は葉を 5 枚つけた果実、および、果実のみで行った。
 - 1 ¹⁴CO₂ 固定した果実で各組織への ¹⁴C の分配について、液体シンチレーションカウンタを用いて計測した。
 - 2 果汁またはエタノール抽出した組織の抽出物を HPLC(ZIC-pHILIC カラム, 島津)で分離し、糖および酸に取り込まれた ¹⁴C を液体シンチレーションカウンタで計測した。
- (3) ウンシュウミカン果実表面の気孔密度・形態について、発育に伴う変化を走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて観察

した。

- (4) ウンシュウミカン果皮の気孔コンダクタンスを計測するため、果実からの蒸散を経時的に観察した。
- (5) 青ナシの 'ゴールド二十世紀' に袋掛け遮光処理し、果実の CO₂ 固定能力と糖含量に及ぼす影響を調査した。

- 1 満開後 33 日に袋掛けを行い、1 ヶ月ごとに果汁の糖含量を測定した。
- 2 1 ヶ月ごとに果実をサンプリングし、光照射下(270 μmol/m²/s)、または、暗黒下で ¹⁴CO₂ 固定させ、果汁への ¹⁴C の取り込みを測定した。
- 3 果汁を HPLC(ZIC-pHILIC カラム, 島津)分離し、糖と酸への ¹⁴C の取り込みを測定した。

4. 研究成果

(1) ウンシュウミカン果皮の光合成特性

- 1 異なった光強度下での CO₂ 固定速度
0.2~20klx 下で真の光合成は、葉では 5klx まで約 10 μmol O₂ 放出/h/dm² と低かったが、10klx で 100 μmol、20klx では 120 μmol と急激な上昇が見られた。これに対して果皮では、光強度の上昇に伴って光合成速度は上昇した。なお、20klx 下での果皮の光合成速度は葉の約 60%であったものの、5klx 以下では葉を上回ったことから、果皮は陰葉的な光合成特性をもつことが示された。

2 異なった CO₂ 濃度下での CO₂ 固定速度

- 50~1,000ppm の CO₂ 下での真の光合成速度は、葉では濃度増加に伴い約 70 μmol から 220 μmol O₂ 放出/h/dm² まで高まった。一方、果皮では 500ppm までは徐々に上昇したが、それ以上の濃度では抑制傾向を示した。見かけの光合成も、葉では CO₂ 濃度上昇に伴い直線的に上昇するのに対し、果皮では 500ppm 以上で低下する傾向を示した。このことより、果皮は C₄ 植物的光合成特性を有することが明らかとなった。

(2) 果皮で固定された ¹⁴CO₂ の果実各組織への分配

果実全体における ¹⁴CO₂ の取り込みの季節的变化を見ると、7 月に高く (35x10⁶ DPM)、8 月に低下し (18x10⁶ DPM) し、9 月以降ほぼ一定値 (8x10⁶ DPM) を示した。なお、葉をつけた果実での取り込みは、7 月には果実のみの 4 倍の固定量を示したが、8~11 月は果実自体の固定量と同程度だった。このこ

とから、幼果期には葉由来の炭素が果実成長に多量に用いられるが、果汁に糖や酸が蓄積する8月以降の果実では、むしろ果皮由来の炭素が果実に蓄積することを示している。特に、10月以降での葉の役割は極めて小さく、主として果皮で固定されたCO₂が果実に蓄積することが明らかとなった。

果汁への¹⁴Cの分配は、7月の果実で高く(45x10³ DPM/ml)、このステージでは葉から130x10³もの¹⁴Cが流入する計算となったが、8月以降の葉からの流入量は激減し、10x10³ DPM/ml以下だった。8月以降の果皮固定物の果汁への蓄積は、8月下旬で高く(18x10³ DPM/ml)、それ以後は6~8x10³ DPMで維持されており、完熟期の12月でも7x10³ DPMの¹⁴Cが検出された。従って、果汁への炭素の蓄積は、幼果期には葉と果皮からの供給を受け、迅速成長・成熟期には主として果皮から供給されるものと考えられた。このように、果汁中の糖・酸の蓄積には、果皮が固定した炭素が極めて重要と推察される。10月以降の果皮にはクロロフィルがないことから、成熟前の果汁成分は、PEPCによって固定された炭素によるものと考えられた。

(3) 果汁中の糖・酸への¹⁴Cの分配

果汁をHPLCで分離し、各糖および酸への¹⁴Cの分配を調査した。発育ステージ別に見ると、幼果期にはフルクトース、スクロースおよび酸(クエン酸と考えられる)への分配量が多く、発育に伴って減少する傾向があった。光合成およびPEPC活性の高い8月下旬の果皮の¹⁴C固定産物は、グルコース>スクロース>フルクトースとなり、光合成で合成されたヘキソースを用いて貯蔵糖であるスクロースを合成しているものと考えられた。また、光合成を行わない11月の成熟果でも各糖に¹⁴Cが検出されたことより、PEPCでリンゴ酸に固定された炭素から糖が合成される“糖新生”が果肉内で生じている可能性が示された。

(4) 果実表面の気孔密度・形態の変化

ウンシュウミカン果皮表面の気孔をSEM下で観察した。気孔密度は果頂部・赤道部・梗あ部で異なり、また、果実の肥大に伴って変化した。満開28日後では赤道部の密度が高く(約270個/mm²)、88日後以降徐々に低下して成熟期まで約50個を維持した。これに対して果頂部では、28日から63日まで急激に増加し(220から340個)、その後減少した。340/mm²という気孔密度はカボチャの葉と同程度であり、果実は葉なみのガス

交換能力構造をもつことが示された。また、梗あ部の密度は低く、28日後に200個程度であったものが果実の発育に伴い徐々に低下していった。なお、満開150日以降の密度はどの部位でも約50個であった。これら密度の変化は、果実肥大による気孔密度の希釈の結果生じているものと考えられる。

気孔形態は、満開88日後頃までは正常であったが、それ以後は孔辺細胞の損傷や気孔細胞自体の崩壊などがしばしば観察された。

(5) 果実の蒸散

果実からの蒸散速度を季節的に見ると、幼果期から満開100日後まで0.6mgから0.7mg/分/cm²まで上昇し、その後0.25mgまで急激に低下した。しかし、成熟期になっても0.25mg/分/cm²の値は変わらず、果皮を通じたガス交換は成熟果実でも十分行うことが可能と考えられた。

(6) ニホンナシ果実への袋掛け遮光処理が果実のCO₂固定能力・果実品質に及ぼす影響

青ナシである‘ゴールド二十世紀’への袋掛け遮光は、糖含量で約1%、酸含量では約0.03%の減少をもたらした。遮光は果皮クロロフィル含量を最大0.6mg/dm²減少させ(8月)真の光合成を50%抑制した。遮光によって果実肥大や果実からの蒸散は抑制されなかったことより、「袋掛け遮光による糖度低下は果皮の光合成抑制が主原因」と考えられた。また、果実によって固定された¹⁴Cは、果汁の糖に取り込まれたことより、上記仮説が支持された。ただし、果汁中の¹⁴Cは糖分画よりも酸分画に多量に検出され、PEPCによるCO₂固定が盛んに行われていると考えられた。

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)

[雑誌論文](計 1 件)

- ① Hiratsuka, S., Y.Yokoyama, H.Nishimura, T.Miyazaki, K.Nada (2012). Fruit photosynthesis and phosphoenolpyruvate carboxylase activity as affected by lightproof fruit bagging in Satsuma mandarin. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 査読有,137:215-220.

[学会発表](計 4 件)

研究者番号：

- ① 鈴木麻友・名田和義・平塚 伸, ウンシュウミカン果皮で固定された $^{14}\text{CO}_2$ の果汁への分配の季節的变化, 園芸学会, 2012 年 3 月 28 日, 大阪府立大学 (堺市中区)
- ② 鈴木麻友・西村浩志・名田和義・平塚 伸, ウンシュウミカン果皮の CO_2 固定特性とその輸送経路, 園芸学会, 2013 年 3 月 23 日, 東京農工大学 (東京都小金井市)
- ③ 平塚 伸・阿曾大佑・名田和義, ジベレリンはウンシュウミカン果皮の光合成を促進する, 園芸学会, 2013 年 9 月 21 日, 岩手大学 (盛岡市上田)
- ④ 立半俊樹・名田和義・平塚 伸, ニホンナシ果実の成長・品質に及ぼす袋掛け遮光の影響, 園芸学会, 2013 年 9 月 21 日, 岩手大学 (盛岡市上田)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

平塚 伸 (HIRATSUKA, Shin)
三重大学・大学院生物資源学研究科・教授
研究者番号： 10143265

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号：

(3) 連携研究者

なし ()