

ピリジンジカルボン酸類のスプレーカーネーション切り花の開花に対する作用

前京都府立大学生命環境科学研究科
龍谷大学農学部

佐藤 茂

はじめに

2,4-ピリジンジカルボン酸 (2,4-PDCA) は、2-オキソグルタル酸 (OxoGA) のアナログとして働き、OxoGA を補基質にする酸化酵素の活性を阻害することが明らかにされていた。この酵素の一つであるプロリン-4-水酸化酵素を研究していた Vlad ら (2010) は、2,4-PDCA がカーネーション (品種、ホワイトシム、切り花形態はスタンダードタイプ) 切り花のエチレン生成を阻害することを見いだした。また、作用機作として 2,4-PDCA がエチレン生合成経路の最終反応を触媒する 1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸酸化酵素 (ACC 酸化酵素) の反応の補基質であるアスコルビン酸のアナログとして働き、同酵素の反応を阻害することを推定した。著者らは、カーネーションを材料にして、ACC 酸化酵素阻害剤 (2-アミノイソ酪酸、2-アミノオキシイソ酪酸) の探索や、切り花老化時のエチレン生成における同酵素の役割を明らかにするため、同酵素遺伝子のクローニング、発現解析、遺伝子組換え植物の作出などの研究を進めてきた。そこでこれらの研究の延長として 2,4-PDCA を取り上げ、酵素レベルでの作用、切り花のエチレン生成や老化抑制に対する作用を検討した。その結果、2,4-PDCA を含む一群の PDCA アナログが、スプレーカーネーション切り花の蕾の開花を早め、かつ開花した花の老化を抑制して切り花全体の観賞

期間を延長すること、その上、開花能の低い蕾の開花をも誘導することを見いだした。PDCA はスプレーカーネーションを「早く咲かせて、長持ちさせ」しかも「咲かない蕾」を咲かせる」作用を持っていると言うことができる。現時点では、スプレーカーネーションのみの知見であるが、この花に限って言えば PDCA は切り花処理剤としては「夢の薬剤」といえる。本稿では、スプレーカーネーションを材料にして行ってきた研究の成果を紹介したい。

1. 2,4-PDCA のスプレーカーネーション切り花の開花に対する作用

スプレーカーネーション [品種、ライトピンクバーバラ (LPB)] を、2 mM 2,4-PDCA (構造は図-1) で処理した時の、処理開始後 15 日目の開花状態を図-2 に示した。通常カーネーション栽培では分枝を切除して 1 本の

花茎 (主茎) に 1 個の花を咲かせる (スタンダードカーネーション) が、スプレーカーネーションは分枝を切除せず 1 本の花に複数個の開花ステージの異なる蕾を付けたまま栽培し、複数個の花を咲かせる。図-2 の実験では、1 本の切り花 (茎) あたり 5 個の蕾 (咲き始めた花と小さく堅いつぼみを切除して、大ききのそろった蕾を残した) をつけた 5 本の切り花をまとめて 1 試料とした (25 蕾/試料)。図-2 の対照では、観賞に堪える満開の花が 5 個見られるが、残りは萎れているか枯死している。2,4-PDCA 処理区では、左端に花卉が萎れた 1 花が見えるだけで、残りの花には老化 (萎れ) の兆候は見られない。ただし、奥の方に未だ開いていない 1 個の蕾と咲きかけの花が数花見える。

通常、観賞期間を求めるための開花試験では、スタンダードカーネーションが用いられる。この場合蕾や満開の花のステージを揃えることが容易であ

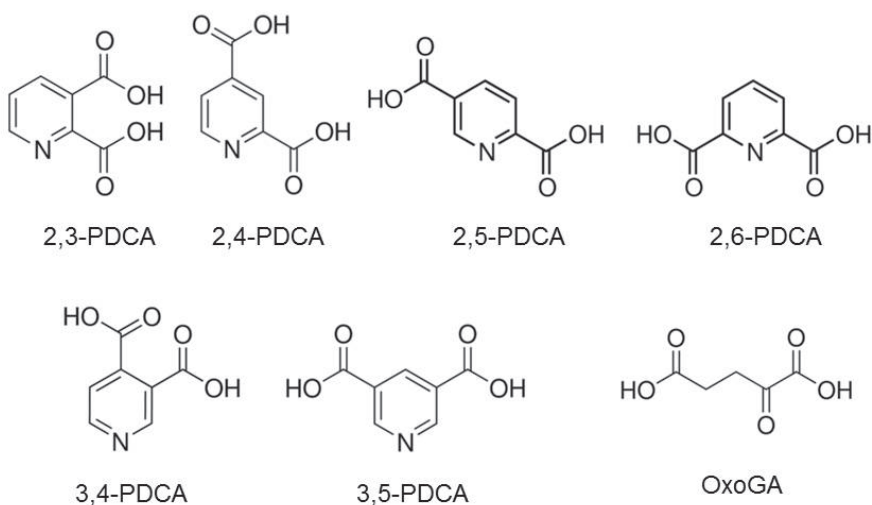


図-1 ピリジンジカルボン酸 (PDCA) アナログと 2-オキソグルタル酸 (OxoGA) の構造



図-2 2,4-ピリジンジカルボン酸 (2,4-PDCA) で処理したスプレーカーネーション‘ライトピンクバーバラ’の処理開始 15 日目の開花状態
左, 対照; 右, 2 mM 2,4-PDCA 処理。

る。他方、スプレーカーネーションでは、1本の茎に開花ステージが異なる数個の蕾がついているため、蕾、咲きかけの花、満開の花、老化した花が混在する。このような場合、観賞期間の評価には工夫が必要である。以前に著者ら (Satoh ら 2005) は、スプレーカーネーションの観賞期間の評価方法を考案した。その方法では、試験開始時に 1 試料あたりの蕾数を揃えて、以後は毎日満開の花を数えて開花率 (%) の推移を求め、開花率が 40% 以

上になる期間を観賞期間とした。図-3 に示した実験 (Satoh ら 2014; Sugiyama and Satoh 2015) では同じ方法を採用し、0 (対照), 0.3, 1, 2 mM で 2,4-PDCA 処理した時の開花率の推移を示した。図-3 では、各処理濃度の 3 試料の平均をプロットしてある。図中には上で述べた観賞期間に加えて、新たに開花到達日数 (Sugiyama and Satoh 2015) と総開花度 (Sugiyama ら 2015) を定義して開花の評価項目として記載している。

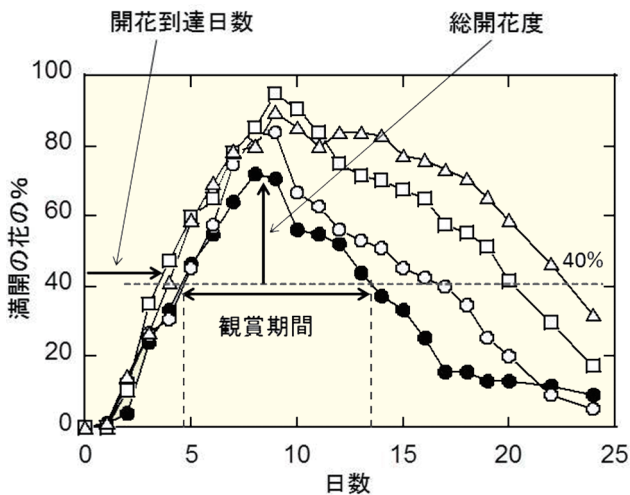


図-3 スプレーカーネーションの開花状態の評価法

5 個の蕾がついている 5 本の切り花 (総蕾数 25 個) を 1 試料にして各処理区 3 反復を用いた。試験開始時の蕾数に対する満開率の経日変化を調査し、40% 以上の開花を示す試料を観賞期間内にあると定義した。開花到達日数は処理開始時 (全て蕾) から 40% の開花に達するまでの期間として、総開花度 (スコア) は観賞期間内の日毎の 40% 以上の数値の総和として求めた。

●, 対照; ○, 0.3 mM PDCA; □, 1 mM PDCA; △, 2 mM PDCA。

る。開花到達日数は、試験開始時から開花が 40% に達するまでの日数である。薬剤処理によってこの日数が短縮された場合、その薬剤が開花スピードを加速したことになる。また、総開花度は、開花が 40% 以上の全期間について、毎

日の 40% 以上の数値の総和として定義した (単位はスコア)。薬剤処理によって総開花度が対照に較べて大きくなる場合、処理薬剤が蕾の開花能力を増大させたものと見なされる。これは別の言い方をすると、薬剤の「そのままでは咲かない蕾を咲かせる」作用を見ていることになる。図-3 の結果を表-1 にまとめて示した。当初注目した観賞期間の延長作用は、2,4-PDCA の濃度が高いほど大きかった。0.3 mM でも観賞期間の延長が見られ、2 mM では 2.3 倍に延長された。また、開花到達日数の短縮と総開花度の増大が見られ、これらは 1 mM と 2 mM の処理で顕著に現れた。以上の結果から、2,4-PDCA は開花到達日数の短縮 (開花の促進)、観賞期間の延長 (老化の抑制)、総開花度の増加 (開花能力の増大) の 3 つの作用を同時に及ぼすことが明らかになった。また、同様の結果が、スプレー咲きカーネーションの他品種 (ミュール) でも得られた。

表-1 2,4-PDCA のスプレーカーネーション‘ライトピンクバーバラ’切り花の開花に対する作用。

2,4-PDCA (mM)	開花到達日数 (日)	観賞期間 (日)	総開花度 (スコア)
0 (対照)	4.4	8.3	187
0.3	4.3	12.7*	257
1.0	3.3*	17.5*	504*
2.0	3.8	19.5*	604*

* 対照と較べて有意差有り ($p < 0.05$)。

表-2 2PDCA アナログのスプレーカーネーション‘ライトピンクバーバラ’
切り花の開花に対する作用

PDCA (mM)	開花到達日数 (日)	観賞期間 (日)	総開花度 (スコア)
対照	9.0	8.3	40
2,3-	4.0*	14.7*	531*
2,4-	4.0*	14.7*	423*
2,5-	4.7*	13.0*	412*
2,6-	5.3*	9.3*	283*
3,4-	5.7*	14.7*	441*
3,5-	4.7*	15.5	506*

*対照と較べて有意差有り($p < 0.05$)。

2. PDCA アナログの作用

次に、スプレーカーネーションの開花に対する作用が、2,4-PDCA に特異的な作用であるのか否かを知るために、他の PDCA アナログの作用を検討した。試験した PDCA アナログを図-1 に示した。これらのアナログのうち 2,3-PDCA (キノリン酸) はトリプトファンの代謝経路のキヌレニン系路における代謝物として知られ、2,6-PDCA (ジピコリン酸) は細菌の芽胞に大量に含まれ芽胞の耐熱性に関係する物質として知られている。しかし、これらの化合物が園芸花きの開花との関わりで研究された例は、今までになかったと思われる。

図-4 に 2 mM の PDCA アナログで処理したスプレーカーネーション

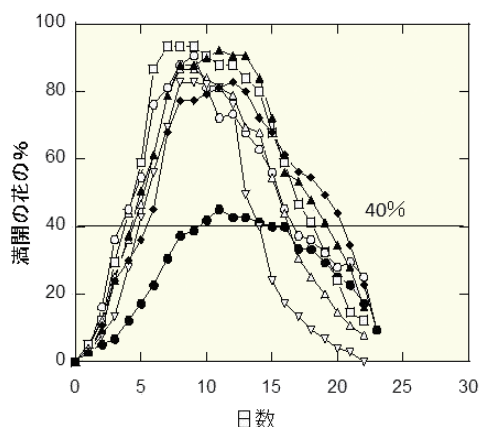


図-4 PDCA 処理時のスプレーカーネーション‘ライトピンクバーバラ’の開花%の推移
開花状態の調査方法は図-3 と同じ。●, 対照; □, 2,3-PDCA; ○, 2,4-PDCA; △, 2,5-PDCA; ▽, 2,6-PDCA; ◆, 3,4-PDCA; ▲, 3,5-PDCA。

‘LPB’の開花%の推移を示した。この実験でも、各プロットは、5個の蕾を有する切り花5本をまとめて1試料(総蕾数25個)とし、3試料を用いて1試験区とした。この実験を行った時期(平成26年5月)に入手したカーネーション切り花材料では、対照区の花(蕾)の開花能力が極端に低かった。開花%が40%をわずかに超えただけで、その期間も短かった。また、違う日に入手した切り花材料を用いて1mMの濃度でも実験を行ったが、その場合も対照の開花%は図-4に示した結果と同程度に低かった。しかし、このような開花能力の低い切り花材料を用いたことにより、PDCAアナログ処理による総開花度の増加をより明確に示すことができたと考えられた。図-4の結果を表-2にまとめた。いずれのPDCAアナログも、開花到達日数の短縮(開花促進)、観賞期間延長(老化抑制)、総開花度の増加の作用を示した。開花到達日数は、対照では9日であったが2,3-および2,4-PDCA処理で4日に短縮した。観賞期間は、対照では8.3日であったが、3,5-PDCA処理で15.5日に、2,3-PDCA処理、2,4-PDCA処理および3,4-PDCA処理で14.7日に延長した。さらに、総開花度は対照では40スコアであったが、2,3-PDCA処理で531スコアに3,5-PDCA処理で506スコアに増加し

た。3つの評価項目を総合すると、2,3-PDCA、2,4-PDCAおよび3,5-PDCAの作用が大きいことが推察された。以上から、スプレーカーネーションの開花に対する作用が、2,4-PDCAに特異的でないことが明らかになった。

3. PDCA の作用機構

Vladら(2010)は、2,4-PDCAのカーネーション‘ホワイトシム’のエチレン生成阻害作用を報告した論文において、2,4-PDCAの作用機構としてエチレン生合成経路上のACC酸化酵素の活性阻害を推定した。この推定は、2,4-PDCAがOxoGAとACC酸化酵素反応の補基質であるアスコルビン酸のアナログであるという知見に基づいている。著者ら(Satohら2014)は、カーネーションのACC酸化酵素遺伝子(*DcACO1*)を大腸菌で発現させて調製したACC酸化酵素を用いて、2,4-PDCAおよびOxoGAが酵素活性を阻害しACCを基質にするエチレン生成を阻害することを確認した。「カーネーション切り花の老化は花が生成するエチレンによって促進される」ことが知られているので、2,4-PDCAの観賞期間延長作用は、エチレン生成阻害によると推定した。しかし、観賞期間の延長作用が、2,4-PDCAだけでなく試験した全てのPDCAア

ナログでも見られた。今のところ全ての PDCA アナログが ACC 酸化酵素の阻害剤として作用するか否かは不明である。PDCA アナログの作用機構として ACC 酸化酵素活性の阻害によるエチレン生成抑制だけでなく、未知の作用を考える必要があるかもしれない。

他方、PDCA アナログの開花促進作用と開花能力の増大作用はエチレンの生成阻害作用とは無関係と推察され、これとは別の作用機構を検討する必要がある。2,4-PDCA は OxoGA のアナログとして働き、OxoGA を補基質にする酸化酵素の作用を阻害することが明らかにされている。このような酵素の中に、ジベレリンの生合成や代謝（不活性化）反応に関与する幾つかの水酸化酵素が知られている。カーネーションの開花が、ジベレリン生合成阻害剤のパクロブトラゾールによって阻害されることが報告されており、ジベレリンが開花促進に働いている可能性がある。著者らは、PDCA の開花促進作用については、ジベレリンの作用との関連を検討すべきものと考えている。その一環として現在、PDCA 処理後のジベレリン含量の測定と、ジベレリン作用系の DELLA タンパク質を介したジベレリンとエチレンのクロストークの解析を行っている。

4. PDCA の切り花処理剤としての実用化を目指した今後の課題

PDCA アナログが、スプレーカーネーションの切り花に対して、開花到達日

数の短縮（開花促進）、および観賞期間の延長（老化抑制）、総開花度の増加（開花能力の増大）の3つの作用を示すことが明らかになった。このようなユニークな作用は、既存の切り花処理剤に知られていなかったものである。

国内では、5月の母の日直前にカーネーション切り花の需要が非常に大きくなる。需要に答えるために、国内生産では4月初旬から蕾切りして低温貯蔵し、母の日直前に一斉開花させることが行われている。このための開花促進剤として、スクロースやグルコースが用いられている。このような場面に、PDCA が使えるかどうかは今後の検討課題である。糖質処理は、例えばスクロースの場合1～10%溶液が使用されるが、これは29～290 mMに相当する。この濃度の糖質溶液では生け水中の細菌の繁殖が問題になる。PDCA は2 mMの低濃度で有効であり、糖質溶液に見られる粘稠性がないため取り扱い易く、細菌の繁殖の恐れもない。

切り花処理剤としてPDCAの実用化を考える場合には、人畜に対する安全性が確保されなければならない。開花に対するPDCAの作用が広範囲のPDCAアナログで見られることから、より安全な薬剤の選抜・使用が可能と考えられる。また、PDCAの作用機構の解析は今後の課題であるが、作用機構が明らかにされると、その結果を基にしてより強力な作用を持ちしかも安全性の高い薬剤の開発が期待できる。今までの試験研究はスプレーカーネーションをモデルとして行ってきた

が、PDCAの実用化には、他種のスプレー咲きの切り花を用いた試験を行い、PDCAの適用範囲を明らかにすることが必須である。それらの対象品目としては、トルコギキョウ、シュツコンカスミソウ、アルストロメリア、コギク、デンドロビウム・ファレノプシスなどが上げられる。以上に述べた課題が早急に検討・解決されて、PDCAアナログが多種類の園芸花き切り花において「早く咲かせて、長持ちさせ」しかも「咲かない蕾」を咲かせる」作用を持つ処理剤として実用化されることを期待したい。

引用文献

- Satoh, S., *et al.* 2005. A method for determining the vase life of cut spray carnation flowers. *J. Appl. Hort.*, 7, 8-10.
- Satoh, S., *et al.* 2014. 2,4-Pyridinedicarboxylic acid prolongs the vase life of cut flowers of spray carnations. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 83, 72-80.
- Sugiyama, S. and S. Satoh, 2015. Pyridinedicarboxylic acids prolong the vase life of cut flowers of spray-type 'Light Pink Barbara' carnation by accelerating flower opening in addition to an already-known action of retarding senescence. *Hort. J.*, 84 (印刷中).
- Sugiyama, S., *et al.*, 2015 Three criteria for characterizing flower opening profiles and display values in cut spray-type carnation flowers. *J. Appl. Hort.* 17, (印刷中)
- Vlad, F., *et al.* 2010. Characterization of two carnation petal prolyl 4 hydroxylases. *Physiol. Plant.*, 140, 199-207.