

糖質がアスチルベ切り花の品質と遺伝子発現に及ぼす影響

宇都宮大学農学部

山根 健治

山崎 和希

(現栃木県農業試験場)

はじめに

切り花を販売していくうえで品質保持技術および品質保持剤は必要不可欠なものである。切り花の老化の原因として、植物ホルモンであるエチレンが代表的なものとしてあげられる。カーネーションやスイートピーなどのエチレン感受性の高い切り花であれば、エチレンの作用を阻害することで老化の遅延が可能である。エチレン阻害剤の代表的なものとしては、チオ硫酸銀錯体 (STS) と1-メチルシクロプロペン (1-MCP) が実用化されている (市村 2018)。1-MCP はリンゴ、ナシなどの鮮度保持剤として農業登録されており、カーネーションや洋ランなどに対する効果も確認されている。一方、切り花の中にはエチレン阻害剤の効果がみられないものも多数存在し、代表的なものとしてはキク、ユリ、アヤメなどがあげられる。これらの花きは「エチレン低感受性花き」と呼ばれている。これらエチレン低感受性花きの老化機構を調べることで、新たな品質保持技術の確立や、これまで流通の難しかった切り花の流通が可能になることが期待できる。

アスチルベ (*Astilbexarensii* Arends) は中国原産のオオチダケサシや日本原産のアワモリショウマなどの交配により作出された多年生植物であり、花壇や切り花用として栽培されている。アスチルベは、切り花は、エチレン低感受性の花きであるが、収穫後に導管閉塞が起きやすく、比較的日持ちが短い

ことから、切り花としての利用は限定的となっている。

トレハロースは、バクテリア、酵母、菌類、昆虫および無脊椎動物に含まれる二糖であり、ほとんどの高等植物ではみられない。しかし、グラジオラスやチューリップなどの切り花へのトレハロース処理は、寿命を延長することが報告されている (Otsubo・Iwaya-Inoue 2000)。2%スクロース (ショ糖) または2%トレハロース溶液の連続処理は5品種のアスチルベの中のそれぞれ1または2品種の日持ちを延長した (Villanueva *et al.* 2019)。また、トレハロースの前処理により、アスチルベ花序の糖含量が高まり、呼吸量が増加した。そこで、本稿では、スクロースとトレハロースによる切り花の寿命の延長効果を調査するとともに、老化時に特異的に変動する遺伝子について検討した結果を解説する。

1. 糖質処理による切り花の鮮度保持効果

アスチルベ 'Gloria Purpurea' を供試し、花序の50%の小花が開花したステージに収穫し、葉を全て取り除き、処理は超純水に挿したものを対照 (Control) とし、4%スクロース (Suc), 2%トレハロース (Tre), 4%スクロースと2%トレハロースを組み合わせた溶液 (Suc+Tre) で連続処理した (Yamazaki *et al.* 2020)。収穫後の切り花は、室温 20~21°C, 相対湿度 60~80%, PPF 15 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (24

時間日長) の環境下で処理を行った。50%の小花が老化した時点で日持ち終了とした。

日持ちは、Suc区とTre区では10日前後まで、Suc+Tre区では最長の12.4日まで有意に延長された (図-1)。特に花色の退色が糖処理によって抑制された (図-2)。実体顕微鏡下で観察すると、組合せ処理は対照区に比べ、小花の花弁、花柱、花糸および花床を鮮やかなピンク色に維持していた。

切り花の生体重はControl区では、4日後の105.1%がピークとなり、それ以降は減少した。一方、Suc, TreおよびSuc+Tre区では、測定した16日間を通して生体重が増加した。ただし、TreはSucおよびSuc+Treよりも緩やかな増加を示したことから、小花の発達にはトレハロースよりもスクロースの方が大きく影響を及ぼすことが示唆された。

Suc+Tre区の花弁における可溶性糖濃度は、最大で22.2 mg/g FWか

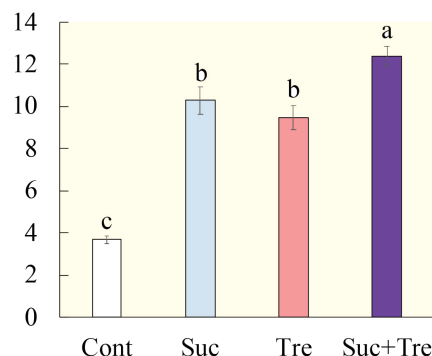


図-1 4% Suc, 2% Tre, 4%Suc+ 2% Tre 処理が切り花の日持ちに及ぼす影響 平均 \pm SE (n = 18). 異符号間には TukeyHSD 検定より 5%水準で有意差あり



図-2 糖の連続処理がアスチルベ切り花に及ぼす影響 (収穫 10 日後)

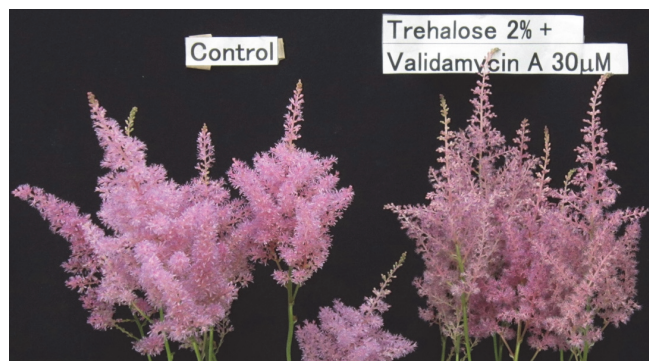


図-3 トレハロースとバリダマイシン A の組み合わせ処理がアスチルベ切り花に及ぼす影響 (収穫 3 日後)

ら 60.2 mg/g まで増加した。Suc 区および Tre 区においても 4 日後で対照区に比べ有意に高い値を示した。また、Tre 区および Suc+Tre 区においてトレハロース含量の増加が確認された。一方、対照区および Suc 区ではトレハロースを検出できなかったことから、通常、アスチルベ切り花はトレハロースを含んでいないと考えられる。

2. トレハロース阻害剤バリダマイシン A の切り花への影響

「バリダシン液剤 5」は農業用抗生物質「バリダマイシン A」を有効成分とする殺菌剤で、イネ紋枯病菌をはじめとするリゾクトニア菌などによる各種作物の糸状菌病害に優れた効果を発揮する。バリダマイシン A はトレハロースを分解するトレハラーゼ活性を阻害することで、菌類の代謝を抑制している。アスチルベのトレハロースの代謝について、バリダマイシン A を用いて調査した。アスチルベ切り花に 2%トレハロースと 30 µM バリダマイシン A の組合せ処理をしたところ、激しい小花のしおれを引き起こした (Villanueva *et al.* 2019; 図-3)。トレハロースの濃度が 2% および 4% 処理で小花と葉身のトレハロース代謝活性が増加し、バリダマイシン A 処理で、活性が低下する傾向にあった。これらのことから、アスチルベ切り花に

吸収された外生トレハロースはトレハロース代謝活性により加水分解されており、分解活性が阻害されると、花弁などの組織に濃度障害を引き起こすと考えられた。

3. 糖質が小花の遺伝子発現に及ぼす影響

(1) RNA シーケンシング (seq) による発現解析

次に、アスチルベ切り花への Suc および Tre 処理が老化関連遺伝子の発現にどのような影響を与えているかを次世代シーケンサーによる RNA-seq で網羅的に調査した。

‘Gloria Purpurea’ 切り花に 4% Suc, 2% Tre およびそれらを組み合わせた Suc+Tre 処理を行い、小花における遺伝子発現への影響を調査した。小花を収穫後 0 日 (0d) と 2 日 (2d) に採取し、RNA-seq を行ったところ、89,705 個の遺伝子が検出され、0d_Cont vs 2d_Cont, 2d_Cont vs 2d_Suc, 2d_Cont vs 2d_Tre, 2d_Cont vs 2d_Suc+Tre 処理間からそれぞれ 2517, 979, 609 および 1,846 個の発現変動遺伝子を見出した。

RNA-seq より得られた遺伝子発現量 (FPKM) 値とこれまでの研究報告から、老化関連遺伝子の候補として *NAC029* 転写因子、*老化関連遺伝子*

12 (*SAG12*) およびペルオキシダーゼ *21* (*PER21*) の 3 つを選択した。アサガオの *EPHEMERAL1* と呼ばれる NAC 転写因子が花卉老化における齢依存的な PCD の重要なレギュレーターであると報告されている (Shibuya *et al.* 2014, 2018)。*SAG12* は老化のマーカー遺伝子であるシステインプロテアーゼであると報告されている (Noh and Amasino 1999)。最も日持ち延長に効果のあった Suc+Tre は 2 日後において *NAC29*, *SAG12* そして *PER21* の発現量の増加を顕著に抑制した (図-4)。RT-qPCR と RNA-seq におけるこれら 3 遺伝子の発現の傾向は相似していたが、RNA-seq より得られた FPKM 値に比べると RT-qPCR の相対発現量は低い値であった。

Tre 単独の処理区における 3 つの遺伝子の発現への影響は Suc を含む処理に比べると相対的に小さかった。一方、Tre は変動がみとめられたアクアポリン液胞膜内在タンパク質 *1-3* のような水輸送に関連する遺伝子の制御や生体膜の物理的な保護により小花の老化を遅延していると考えられた。

(2) KEGG パスウェイ解析

KEGG パスウェイ解析とは、代謝経路を中心とした酵素反応やシグナル伝達などを遺伝子に関連付け、どのような経路に発現変動遺伝子があるかを解析するものである。KEGG パ

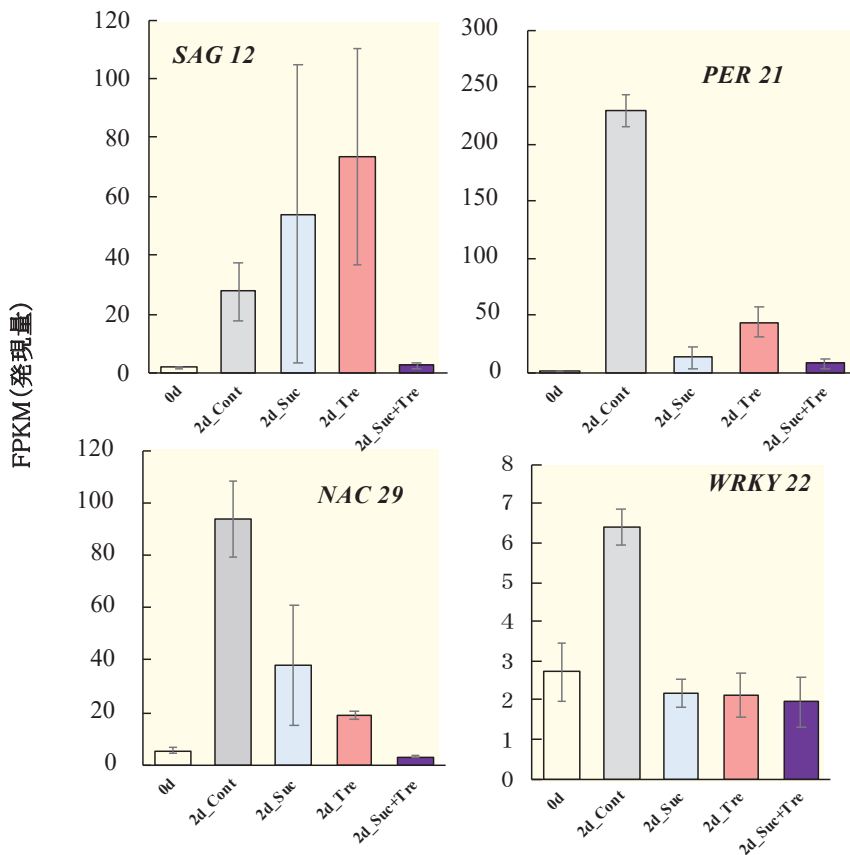


図-4 糖質処理が0および2日後の小花の老化関連遺伝子12 (*SAG12*), ペルオキシダーゼ21 (*PER21*), *NAC* 転写因子29 (*NAC29*) および *WRKY* 転写因子22 (*WRKY22*) の遺伝子発現に及ぼす影響
平均 ±SE (n=3 or 6).

スウェー解析から、*WRKY* 転写因子22 (*WRKY22*) が老化とともに変動していることが示され、2d_Control区で最も高い発現量を示していた(図-4)。*WRKY22* はシロイヌナズナの葉の老化に関与すると報告されている(Zhou *et al.* 2011) ことから、アスチルベ小花の老化に関与する可能性もある。一方、Tre 処理と対照区との比較でもトレハラーゼ遺伝子がマッピングされなかったことから、Tre 処理によるトレハロース代謝活性の増加については、発現レベルでの調節ではないことが示唆された。

(3) GO エンリッチメント解析

遺伝子オントロジー (GO) は、遺伝子の生物学的プロセス、細胞の構成要素、分子機能に着目し、各機能をもつ

発現変動遺伝子の Z スコアで示す。Z スコアが高いほど、ある機能に関わる多くの遺伝子が発現変動していることを意味する。GO 解析から、老化が進行するとタンパク質分解や光合成に関わる遺伝子の発現が増加している傾向が明らかとなった(図-5)。*SAG12* を含むプロテアーゼ活性の増加は老化

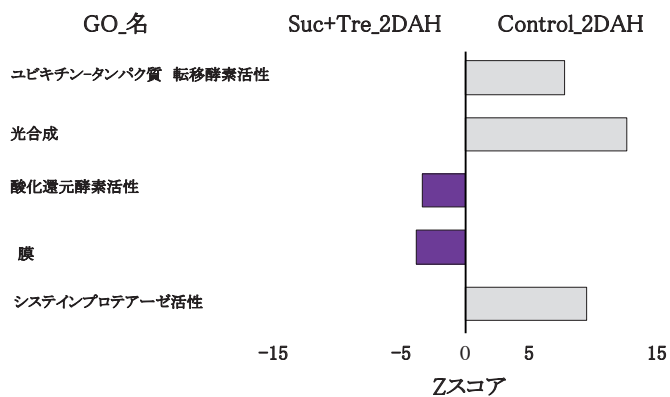


図-5 処理2日後の対照区とスクロース+トレハロース区を用いたGO

期に高まることが知られている。また、糖処理をした区、特に Suc+Tre は小花のピンク色を維持していたのに対して、対照区の花は黄緑色に変化した(Villanueva *et al.* 2019)。また、対照区の花でクロロフィル含量が顕著に増加し、Suc 処理で増加が抑制されていた(Yamazaki *et al.* 2020)。これらのことから、老化の進行に伴い減少した糖質を補うために光合成が活性化されたと推察された。

一方、酸化還元酵素や膜に関わる遺伝子群の発現は対照区よりも、Suc+Tre 区で増加する傾向が認められた。これらの活性は小花の細胞の維持に不可欠であり、老化による発現低下を糖質処理が緩和したことが示唆された。

4. おわりに

以上の結果から、アスチルベ切り花へのトレハロースとスクロース溶液の連続処理は小花の発育を維持し、様々な遺伝子発現や糖質含量などを変化させ、老化を遅らせることにより日持ち

を延長することが示された。このような処理がアスチルベ切り花の普及に役立つことを期待したい。

また、遺伝子解析では、*NAC29* と *WRKY22* 等の転写因子遺伝子はアスチルベ小花の老化に関与する候補として示された。アサガオにおいて老化を制御する NAC 転写因子 *EPHEMERAL1* とは異なるものであるが、低感受性花きの老化機構の解明につながる可能性があるため、さらなる検証が必要である。将来的には、転写因子遺伝子など分子レベルでターゲットを絞ったゲノム編集により、

様々な切り花のロングライフ化が実現することを期待したい。

引用文献

- 市村一雄 2018. 切り花の収穫後生理と品質保持技術に関する研究の最近の進展と今後の課題. 園芸学研究 17(3), 279-292.
- Otsubo, M. and M. Iwaya-Inoue 2000. Trehalose delays senescence in cut gladiolus spikes. HortScience 35, 1107-1110.
- Shibuya, K. et al. 2014. Identification of a NAC transcription factor, EPHEMERAL1, that controls petal senescence in Japanese morning glory. Plant J. 79, 1044-1051.
- Shibuya, K. et al. 2018. CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of the EPHEMERAL1

locus that regulates petal senescence in Japanese morning glory. Plant Physiol. Biochem. 131, 53-55

- Villanueva, E. et al. 2019. Effects of trehalose and sucrose on the vase life and physiology of cut astilbe (*Astilbe × arendsii* Arends) flowers. Hort. J. 88, 276-283.
- Yamazaki, K. et al. 2020. Effects of trehalose and sucrose on the gene expression in relevant to senescence of cut astilbe (*Astilbe × arendsii* Arends) flowers. Hort. J. 89, 628-638.
- Zhou, X. et al. 2011. WRKY22 transcription factor mediates dark-induced leaf senescence in *Arabidopsis*. Mol. Cells 31, 303-313.

田畑の草種

行儀芝・行基芝 (ギョウギシバ)

イネ科ギョウギシバ属の多年草。全国の道端、芝地、河原、海浜などにごく普通。茎は地表を這い、節ごとに発根、花茎も節ごとに出て立ち上がり、先端に花穂をつける。高さは 10cm から 40cm。日本では 1 属 1 種。英語名は Bermuda Grass。牧草として利用される。また、人工交配で作られたティフトン 419 は国立競技場の芝生にも使われている。

ギョウギシバの名の由来は定かではない。一説には、茎に対して短く硬い葉が一平面上に 2 列に並ぶ姿や、節々から立つ茎が規則的に並び、花穂が一カ所からきっちりと出ること、小穂も行儀よく並んでつく様などから「行儀」のいい「芝」ということでギョウギシバと名付けられたという。

また一説には、弘法大師に名をとったコウボウムギに似た草ということで、奈良時代の高僧である「行基」をもってきたのだろう、ともいう。ところが「行基」は筆者が使った教科書の

(公財)日本植物調節剤研究協会
兵庫試験地 須藤 健一

中では「ギョウキ」であり、「行基芝」は「ギョウキシバ」であり、それを「ギョウギシバ」とはなかなか読むことができない。しかし、古代日本語では、「ng」(ウ)の音のあとの清音は濁音になるという連濁の法則があった。「東西」をトウザイ、「方角」をホウガクと読むがごとくである。すなわち「行基」は「ギョウギ」であったというのである。

ギョウギシバとコウボウムギはイネ科とカヤツリグサ科との違いがあり、およそ似たものとも思えないが、海浜に生える同じ単子葉類の両者を見て、片や弘法、こなた行基と張り合ったのかもしれない。

牧野富太郎もギョウギシバの名には窮したと見え、「ぎょうぎしば」の解説で「和名ハ蓋シ行儀芝ノ意ナランモ草體中何レヲ目標トシテ此名ヲ下セシカ未詳ナリ。」と記す。