

氏名	ふらんこ もら おまー Franco Mora Omar
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	甲第359号
学位授与年月日	平成17年 3月15日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Relationship between polyamines and ethylene during flowering and fruit Development of Japanese Pear (<i>Pyrus pyrifolia</i> Nakai) (ニホンナシの開花および果実発育期におけるポリアミン とエチレンに関する研究)
学位論文審査委員	(主査) 田邊賢二 (副査) 田村文男 板村裕之 執行正義 尾谷 浩

学位論文の内容の要旨

Polyamines have been related to several biological processes including growth, senescence and stress responses. Presence of mutants which can not grow because their deficiency in biosynthesizing polyamines and the implication of polyamines in a large number of processes included in cell division are evidences that these natural compounds are essential for growth. Interestingly, in some plant tissues, polyamines have shown antagonistic effects on the action of the well known gaseous hormone ethylene. Thereafter, as S-adenosylmethionine (SAM) is shared between the biosynthesis of polyamines, specifically of spermidine and spermine, and the biosynthesis of ethylene, a relationship of competence has been suggested. As polyamines seem to influence several fruiting processes, with this research, we aimed to determine whether a correlation between polyamines and ethylene is present during pollination, fruit growth and ripening of Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai).

Polyamines during the flowering period

Differences in the amounts of polyamines between the anthers of the non-pollen producer 'Niitaka' and the anthers of the pollen producer 'Housui' were observed. From 3 to 0 days before anthesis, an increase in the spermine levels observed in the anthers of 'Housui' compared with the presence of constant

low levels in the anthers of 'Niitaka'. This situation related low amounts of polyamines to a manifestation of male sterility. Additionally, an increase in spermine during *in vitro* pollen germination seems to support the idea that spermine is related to the presence of viable pollen in Japanese pear.

In detached styles of 'Housui' cultured *in vitro*, an increase in the ethylene production occurred along with the progress of incubation. Pre-pollination treatment with 0.75 ml/L 1-methylcyclopropene (1-MCP) reduced the ethylene production on pollinated and non-pollinated styles *in vitro* cultured. Furthermore, on field conditions, the 1-MCP treatment increased the period of stigma receptivity and fruit set percentage in late-pollinated flowers. Thus, 1-MCP might reduce the rate of flower senescence and consequently influence the period of flower receptivity positively.

Pre-pollination application of putrescine in 'Housui' flowers, did not affect the ethylene response at post-pollination. However, an increase in pollen germination and fruit set was observed in late pollinated flowers. On the other hand, in non-treated flowers, an increase in putrescine and ethylene was observed as a pollination response. Thus, previous observation support the idea that putrescine might not play an antagonistic role versus ethylene during pollination. Moreover, as putrescine is easier to apply than 1-MCP, this treatment appears to be an important tool to improve fruit set when the period of application of artificial pollination is limited in Japanese pear orchards.

Polyamines in relation to fruit development

In early fruitlet of Japanese pear, the endogenous free polyamines content, especially that of putrescine, was positively correlated with the period of maturation and fruit size. Fruitlet with high putrescine content, namely 'Niitaka', 'Nijisseiki', 'Housui' and 'Kikusui' produced large or medium fruit size with late or mid-maturation periods. In contrast, the fruitlet of 'Edoya', 'Awayuki' and 'Ninomiya' presented low amounts of putrescine and produced small size fruit with early periods of maturation. Interestingly, the ethylene production in young fruitlet was not only negatively correlated with putrescine but reflected the well known characteristic of ethylene production at ripening. Thus, the factors involved in the characteristic ethylene production at ripening might be also active during the early phases of fruit development. These results indicate that the polyamine-ethylene balance in early fruitlet might influence the fruit growth in this species.

The negative correlation between polyamines and ethylene in young fruitlet was observed also at ripening. Cultivars with low or moderate production of ethylene resulted in high amounts of polyamines. In contrast, cultivars producing high levels of ethylene showed low levels of polyamines. Nevertheless, ethylene was high correlated with putrescine than with spermidine or spermine. This situation suggest that the higher amounts of putrescine observed in cultivars with low or moderate ethylene production might be not fully explained with the idea of competence for SAM between the biosynthesis of polyamines and

ethylene. Also, cultivars with high amounts of putrescine showed lower levels of fruit softening and weight loss than cultivars with low amounts of putrescine. Thus, in Japanese pear, high amounts of free endogenous polyamines might be related to the maintenance of postharvest quality.

Pre-harvest polyamine application was shown to affect fruit ripening in 'Kousui'. Putrescine, spermidine and spermine reduced ethylene production and fruit softening. Although 1.0 mM spermidine was the most effective reducing ethylene production; both spermidine and putrescine, at concentration of 1.0 mM, had the best effect reducing fruit softening. It seems that the mode of action of each polyamine might be different. This result supports our previous observation that polyamines might not act only by competing with ethylene production. Thus, the specific site of action of each polyamine pool might explain their different effects on the modulation of fruit ripening.

On the other hand, postharvest application of 1 mM putrescine reduced ethylene and fruit softening in 'Kousui'; in 'Housui' the rate of fruit softening was reduced but not the ethylene production; and in 'Ninomiya' no effect was observed. Moreover, high concentration of putrescine (4.0 mM) damaged the fruit of 'Kousui' but not the fruit of 'Housui'. Thus, the effect of postharvest putrescine application was cultivar dependent and it seems that the most effectiveness concentration for each cultivar must be tested before a possible commercial application.

論文審査の結果の要旨

ポリアミンは低分子の正電荷を持つ脂肪族炭水化物の総称で、全ての生物に存在する成分である。プトレシン、スベルミジン、スベルミン等のポリアミン類は、細胞分裂や DNA 複製、ストレス応答等、生体内の様々な生理現象に関与することが知られている。

また、上記3種のポリアミンは、エチレンと共通の物質 S-adenosyl-methionine(SAM)を前駆物質とするため、果実成熟や組織の老化などの生理面でエチレンとポリアミンの競合が指摘されてきた。

本研究はニホンナシ (*Pyrus pyrifolia* Nakai) の開花期、果実生長期および果実成熟期において、エチレンとポリアミンの動きを調べ、それらの関連性を明らかにするとともに、栽培現場への応用の可否を検討する目的で行ったものである。

花粉発育および受粉とポリアミンとの関係

花粉を持たない雄性不稔品種 '新高' の葯と、花粉を有する '豊水' の葯についてポリアミン含量を比較したところ、特にスベルミン含量の差が大きいことが認められた。開花3日前、'新高' の葯中のスベルミンは少なく、その後も増加しなかったのに対し '豊水' では開花当日まで増加し続けた。

一方、'豊水' と '長十郎' の成熟花粉を液体培地で発芽させ、経時的にポリアミン含量を調べた

ところ、発芽の進行に伴い、両品種ともスベルミン含量が増加する傾向にあった。これらの事から、花粉の発育にポリアミン、特にスベルミンが関係していると考えられた。

次に‘豊水’について人工授粉前にプトレシンを花叢に散布処理し、柱頭の受粉可能期間および受精能力に及ぼす影響を調査した。その結果、プトレシンを花叢に散布することにより、明らかに柱頭の受粉可能期間が長くなり、結実率が向上する事が認められた。これと合わせて行った 1-MCP (1-メチルシクロプロペン) の受粉前散布処理でも柱頭の受精可能期間が長くなり、結実率が増加した。プトレシン処理では柱頭のエチレン生成が抑制されることなく結実率が向上したことから、プトレシンは柱頭の老化抑制ではなく、花粉そのものの生理活性を高め、その結果、結実率を増加させているものと考えられた。

果実発育および成熟期におけるポリアミンとエチレンの関係

ニホンナシ果実の発育並びに成熟期におけるポリアミンとエチレンとの関係を明らかにするため、成熟時のエチレン生成量が多い品種から少ない品種に至るまで7品種を選び、発育、成熟に伴う両成分の変化を測定した。

成熟時のエチレン生成量が少～中の品種では、果実発育期におけるエチレン生成量も少なく、また、成熟時に多量のエチレン生成を示す品種は、開花12～25日の幼果期に成熟時と同様の多量のエチレン生成を示した。一方、ポリアミンについてみると、開花12日後の幼果期にエチレン生成量と負(－)の相関関係があることが認められ ($r=-0.81$, $P<0.01$)、エチレン生成量の多い品種の幼果ではポリアミン含量は少なかった。

また、成熟期に収穫し、貯蔵した果実についてもポリアミン含量とエチレン生成量および 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) 含量との間に強い負の相関関係が認められた ($r=-0.94$, $P<0.01$)。

これらのことから、ポリアミンと ACC の共通の基質である SAM が競合しあっている可能性が示唆され、また、ポリアミンとエチレン生成量のバランスがニホンナシの果実成熟に大きくかかわっていることが明らかにされた。

一方、プトレシン、スベルミジンおよびスベルミンの3種のポリアミンを収穫前の‘豊水’果実に散布処理したところ、スベルミジンが収穫後の果実のエチレン生成を抑制することが認められた。また、スベルミジンおよびプトレシン処理により、果肉の軟化が抑制された。このように収穫時にはポリアミンの種類ごとに異なった機能を果たしていることが明らかとなった。

以上のようにポリアミンはエチレン生成と密接に関わりあいながらニホンナシの開花結実、開花発育および成熟に関係していることが明らかにされ、結実、果実発育および成熟における制御技術開発の可能性を明らかにしたことから、博士(農学)の学位に値する研究成果であると認められた。