

総 説

切り花における収穫後の生理機構に関する研究の現状と展望

市村 一雄

(平成 22 年 8 月 2 日受付 平成 22 年 10 月 5 日受理)

Post-harvest Physiology of Cut Flowers: Progress and Future Aspects

Kazuo ICHIMURA

目 次

1. はじめに	12	(4) エチレンと糖質の関係	24
2. エチレンと切り花の老化	12	(5) 糖質の輸送と品質保持	25
(1) 切り花の老化とエチレン	12	5. 老化と高分子化合物, 無機化合物および活性酸素	25
(2) エチレンに対する感受性と生成量に基づく花 きの類型	13	(1) DNA と RNA の分解	25
(3) 花卉萎凋型花きとエチレン生成	14	(2) タンパク質の分解とアミノ酸の合成	25
(4) 花卉脱離型花きとエチレン生成	15	(3) 老化と細胞壁構成多糖	26
(5) エチレン生合成に関与する酵素とその遺伝子	15	(4) 無機成分の変動	26
(6) エチレンの受容体とシグナル伝達	16	(5) 切り花の老化と活性酸素	26
(7) エチレン阻害剤	18	6. 切り花の老化と生体膜	27
(8) エチレン生合成と感受性に関する変異体	19	(1) 老化と生体膜	27
(9) 温度とエチレン生成および応答	19	(2) 生体膜脂質組成の変化	27
(10) 受粉による老化促進とエチレン	20	(3) 老化にともなう生体膜の流動性と相転移温度 の変化	28
(11) 傷害による老化促進とエチレン	21	(4) 生体膜の実験結果に関する問題点	28
3. エチレン以外の植物ホルモンと切り花の収穫後 生理	21	7. プログラム細胞死と遺伝子発現	28
(1) オーキシシン	21	(1) プログラム細胞死	28
(2) ジベレリン	21	(2) プログラム細胞死に関与する遺伝子の老化に ともなう発現	30
(3) サイトカイニン	22	(3) 老化にともなう花卉細胞の形態的变化とオー トファジー	30
(4) アブシシン酸	22	8. 花卉展開のメカニズム	31
(5) ジャスモン酸	22	(1) 花卉展開と細胞肥大	31
4. 切り花の収穫後生理における糖質の役割	23	(2) 花卉の展開における貯蔵炭水化物の役割	32
(1) 糖質と花の老化	23	(3) 花卉の展開にともなう糖質細胞内分布とその 濃度の変動	33
(2) 花卉に蓄積する糖質	23	(4) 花卉展開に関わる遺伝子とタンパク質	33
(3) 開花に必要な糖質量	24	(5) 花卉展開と植物ホルモン	34

9. 花卉に含まれる色素と退色34
 10. 切り花の水分生理35
 (1) 切り花の老化にともなう水分状態の変化35
 (2) 細菌と導管閉塞35
 (3) 切り口に入り込んだ空気およびキャビテーションによる導管閉塞36
 (4) 傷害による生理的応答と導管閉塞37
 (5) 導管閉塞を引き起こす要因の相互関係37
 11. 負の屈地性による茎の屈曲38
 12. 葉の黄化38
 13. 今後の課題39
 引用文献40

1. はじめに

切り花において、花持ちは最も重要な品質構成要素の一つである。切り花の花持ちを制御する品質保持技術を効率的に開発するには、切り花の収穫後の生理機構を解明することが必要である。現在、多くの切り花における品質保持技術が開発されているが、その多くはエチレン、糖質および水分生理に関する基礎研究の上に成立したといえる。

多くの切り花の老化にエチレンが関係していることは古くから知られており、切り花の収穫後生理において、エチレンに関する研究は中心的な課題であり続けている。切り花のエチレンに関する研究課題は植物科学の進展に少なからず影響されている。分子生物学的研究の進展にともない、1990年代以降はエチレン生合成と情報伝達に関わる遺伝子発現が老化との関係から解析されてき

た。

一方、エチレンとは直接関わらない分野の研究においても、研究の課題と解析手法は植物科学の進展に影響を受けてきた。1970年代は植物ホルモンと老化の関係に関する生理学的研究、80年代は老化過程における生体膜の機能に関する生化学的研究が中心的な課題であったといえる。さらに、分子生物学の進展にともない、老化関連遺伝子の解析が着手され、今世紀に入るとマイクロアレイ手法の発展にともない、多くの花きで老化に関わる遺伝子の単離と発現解析が推進された。他方、最近では花卉展開の分子機構に関する研究も重要な課題となっている。

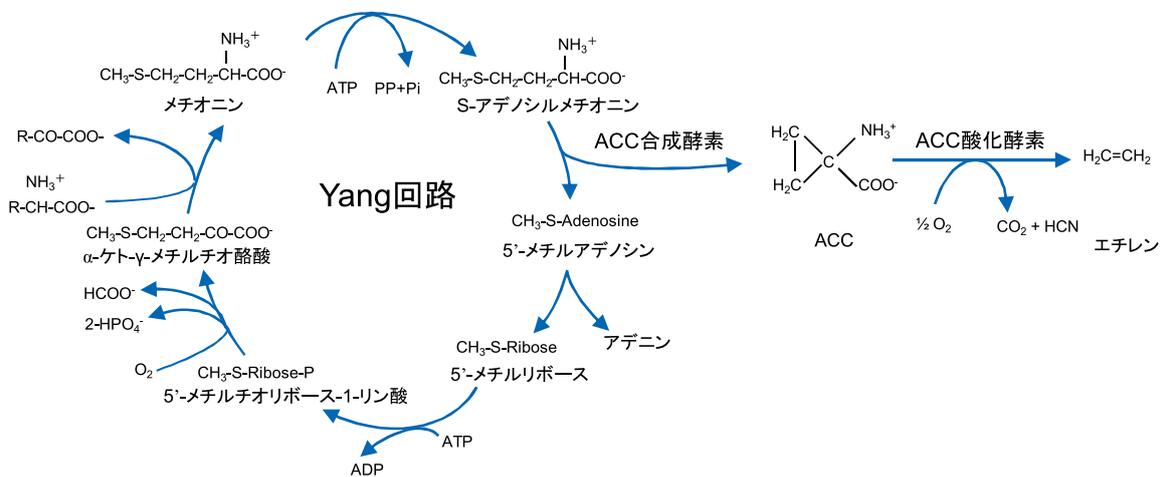
このような生化学的・分子生物学的研究とは別に、オランダの研究者を中心に、水分生理に関する成果も多数発表され、切り花の水分生理機構の理解が進んだ。

本稿では、これまでの切り花における収穫後生理機構に関する研究で得られた成果に基づき、収穫後生理の機構を解説する。また、今後、研究を推進すべき課題についても展望したい。

2. エチレンと切り花の老化

(1) 切り花の老化とエチレン

エチレンはタンパク質を構成するアミノ酸の一つであるメチオニンからS-アデノシルメチオニンおよび1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸 (ACC) を経て合成される (Kende, 1993; Yang and Hoffman, 1984) (第1図)。メチオニンはYangサイクルにより再合成される。エチレンの生合成において重要な酵素は、エチレンの前駆物質ACCの合成に関わるACC合成酵素と最終段階を触媒する



第1図 エチレンの生合成経路

ACC酸化酵素である。

多くの花きにおいて、エチレンにより花卉の萎凋あるいは離脱が促進される。エチレンに対する感受性は切り花を一定濃度のエチレンに曝露し、花に老化の兆候が認められるか否かで評価される。Woltering and van Doorn (1988) は22科96種の花きを約3 ppmのエチレンで22～24時間処理し、老化の状態により、感受性の高低を評価し、キク科あるいはアヤメ科に属する花はいずれもエチレン感受性が低い一方、ナデシコ科の花はエチレン感受性が高いことを報告している。したがって、エチレンに対する感受性は遺伝的な要因に依存している割合が高いことが示唆される。Woltering and van Doorn (1988) の論文は多数の広範な植物種を扱っていることから、現在でも引用されることが多い。しかし、24時間処理では老化の兆候が現れないが、処理時間をさらに延長することにより、老化が認められる切り花品目は少なくない。例えばスイセンはエチレン感受性が非常に低い花きに分類されているが、その後の研究でエチレンを連続的に処理することにより、老化が有意に促進され、エチレン阻害剤の老化遅延効果があることも判明している (Hunter et al., 2004b)。また、エチレンに対する感受性は加齢にともない高まる場合が多い。ペラドンナ系のデルフィニウムでは、収穫当日においては40 μ L/Lのエチレンで処理してもがく片は脱離しないが、収穫後1日経過した切り花では、がく片が脱離する (Ichimura et al., 2009a)。したがって、エチレンに対する感受性をある程度正確に評価するためには、処理時間、処理濃度および花の齢を考慮する必要がある。

エチレンに対する感受性は花きの種類により著しい差がある。例えば、カーネーションでは0.6 μ L/Lのエチレンで処理すると、12時間目には萎れが認められる (Wu et al., 1991b) が、バラでは1 μ L/Lのエチレンで処理した場合、落花が起こるまで2日以上かかる (Ichimura et al., 2005)。一方、キクでは1 μ L/Lのエチレンで10日間以上処理しても、花に対する影響は認められない (Doi et al., 2003)。第1表にはエチレンに対する感受性を便宜的に分類した結果を示す。なお、エチレンに感受性の低い切り花をエチレン非感受性と断定的に表現する場合もあるが、エチレンに感受性が低いと表現するべきである。

デルフィニウム (Ichimura et al., 2009a)、トルコギキョウ (湯本・市村, 2009)、ハナスベリヒユ (Ichimura and Suto, 1998)、トレニア (Goto et al., 1999) など多くの花では、エチレンに対する感受性は花の老化にともない上昇する。ところが代表的なエチレン感受性の花であるカー

第1表 切り花のエチレンに対する感受性

感受性 ^Z	植物種
非常に高い	カーネーション ¹⁾
高い	シュッコンカスミソウ ²⁾ 、スイートピー ³⁾ 、デルフィニウム ⁴⁾ 、デンドロビウム ⁵⁾ 、バンダ ⁶⁾
やや高い	カンパニユラ ⁷⁾ 、キンギョソウ ⁸⁾ 、ストック ⁹⁾ 、トルコギキョウ ¹⁰⁾ 、バラ ¹¹⁾ 、ブルースター ¹²⁾
やや低い	アルストロメリア ¹³⁾ 、スイセン ¹⁴⁾
低い	キク ¹⁵⁾ 、グラジオラス ¹⁶⁾ 、チューリップ ¹⁷⁾ 、テッポウユリ ¹⁸⁾ 、ユリ (オリエンタルハイブリッド) ¹⁸⁾

^Z 非常に高い; 1 μ L/L 未満のエチレン処理で24時間以内に萎れが観察される, 高い; 1～10 μ L/Lのエチレン処理で24時間以内に萎れあるいは落花が観察される, やや高い; 1～10 μ L/Lのエチレン処理で48時間以内に萎れあるいは落花が観察される, やや低い; エチレンあるいはエスレル処理により老化が有意に促進される, 低い; エチレン処理による老化促進作用が観察されない

¹⁾ Nichols (1968), ²⁾ Woltering and van Doorn (1988), ³⁾ 湯本・市村 (2006), ⁴⁾ Ichimura et al. (2009a), ⁵⁾ Porat et al. (1994), ⁶⁾ Goh et al. (1985), ⁷⁾ Kato et al. (2002), ⁸⁾ 市村ら (2007), ⁹⁾ Celikel and Reid (2002), ¹⁰⁾ 湯本・市村 (2009), ¹¹⁾ Ichimura et al. (2005), ¹²⁾ Hiraya et al. (2002), ¹³⁾ Wagstaff et al. (2005), ¹⁴⁾ Hunter et al. (2004b), ¹⁵⁾ Doi et al. (2003), ¹⁶⁾ Serek et al. (1994a), ¹⁷⁾ Sexton et al. (2000), ¹⁸⁾ Elgar et al. (1999)

ネーションでは、これらの花とはまったく逆に収穫後の時間の経過にともない、エチレンに対する感受性は低下する (Mayak and Tirosh, 1993; Onozaki et al., 2004)。

(2) エチレンに対する感受性と生成量に基づく花きの類型

花きの老化様式はエチレンに対する感受性と生成量の違いに基づき、類型化することが可能である。花卉の脱離はエチレンにより制御されている場合が多いが、チューリップのようにエチレンとは独立しているとみなされている花きも存在する (Sexton et al., 2000)。

エチレンに感受性の高い花きのエチレン反応として、花卉の萎れを誘導するタイプ (花卉萎凋型) の花と花卉あるいはがく片が離層形成して器官離脱を引き起こすタイプ (花卉脱離型) の花がある。花卉萎凋型花きにはカーネーション、スイートピー、ラン類などがある。花卉脱離型花きはエチレンにより花卉あるいはがく片の離脱が促進されるタイプであり、デルフィニウムが代表的である。なお、スイートピーやブルースターのように花卉が萎れた後、花卉あるいは花そのものが脱離する花きも多い。花卉萎凋型であるか脱離型であるかは、花卉の萎れか脱離のいずれが最初の老化の兆候であるかで評価さ

れる。ただし、アルストロメリアのように萎れと脱離が並行して起こるような花きもある。また、キンギョソウのように自然老化時には萎れがみられる花きもある。このように花卉萎凋型と花卉脱離型のどちらかに明確に分類できない花きも少なくない。

花卉萎凋型花きは自然老化時にエチレン生成が自己触媒的に著しく増加するタイプの花きと、自然老化時、換言すると受粉しない場合にはエチレン生成が増加しない花きに分類される。後者はさらに、受粉することによってはじめてエチレン生成が上昇するタイプの花きに分類することができる。

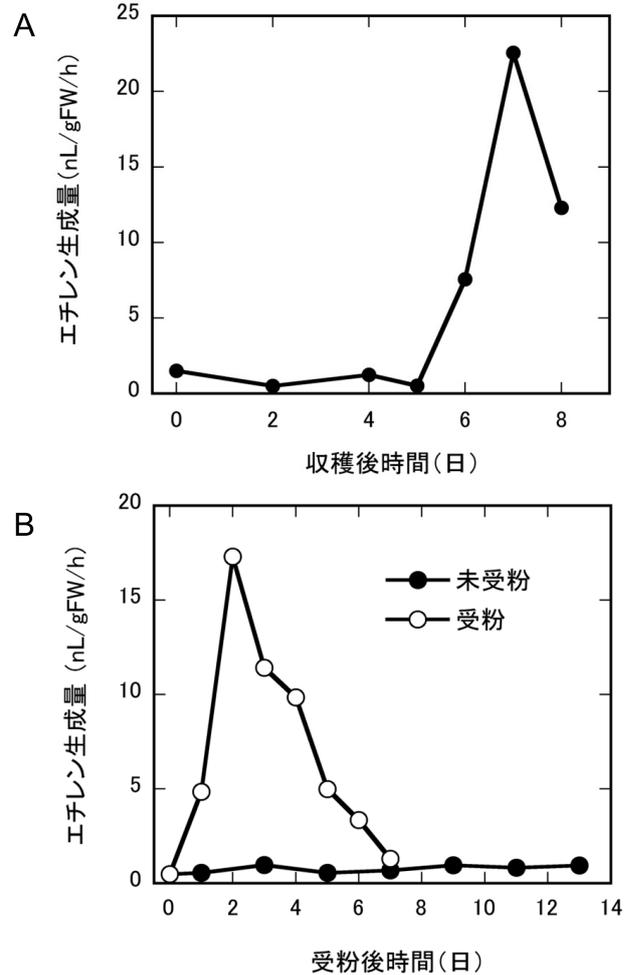
自然老化時にエチレン生成が著しく増加する花きにはカーネーション (Nichols, 1966), スイートピー (Mor et al., 1984), トルコギキョウ (Ichimura and Goto, 2000a) などが、増加しない花きにはカンパニュラ (Kato et al., 2002), アサガオ (Yamada et al., 2006b) などがある (第2図)。自然老化時にエチレン生成が上昇する花きでは、一般にチオ硫酸銀陰イオン性錯体 (STS) をはじめとするエチレン阻害剤により老化を遅延することができる。したがって、老化過程でエチレンが関与しているとみなされる。一方、自然に老化する過程でエチレン生成が上昇しない花きではエチレン阻害剤は老化遅延にほとんど効果がない (Kato et al., 2002; Yamada et al., 2006b)。したがって、このような花きでは自然に老化する過程ではエチレンはほとんど老化に関与していないとみなされる。

このうち、カンパニュラ (Kato et al., 2002) は受粉によりエチレン生成が著しく上昇し、花卉の老化が促進される (第2図B)。受粉した場合には、STS処理によりエチレン生成の上昇を抑制し、受粉の影響を阻害することができる (Kato et al., 2002)。

アサガオの老化は受粉により促進されることはない (van Doorn, 2002)。また、エチレン阻害剤による老化遅延効果は小さい (Yamada et al., 2006b)。したがって、エチレンに対する感受性が高いにもかかわらず、花の老化におけるエチレンの関与は小さいと考えられる。

(3) 花卉萎凋型花きとエチレン生成

カーネーション、スイートピーあるいはトルコギキョウのように、エチレンに対する感受性が高く花卉が萎れて寿命が終わる型 (花卉萎凋型) では花卉からのエチレン生成量は老化にともない次第に増加する場合が多い。したがって、このような花きでは花卉の萎凋には花卉から生成するエチレンが直接的に関与していると考えられる。



第2図 A. カーネーションの老化にともなうエチレン生成量の変動 (Pun et al. (2005) を改変). B. カンパニュラのエチレン生成に及ぼす受粉の影響 (Kato et al. (2002) を改変).

生成されたエチレンがその生合成を促進することを自己触媒的エチレン生成という。カーネーションなどの切り花において、花卉の老化にともなうクライマクテリック様の急激なエチレン生成上昇は自己触媒的なエチレン生成により引き起こされる。急激な自己触媒的なエチレン生成にともない、花卉が萎凋することから、花卉の萎れと自己触媒的エチレン生成は不可分なものと考えられていた。しかし、エチレン生合成の最終段階を触媒するACC酸化酵素の遺伝子発現を抑制した遺伝子組換え体を用いた解析により、エチレン処理により、エチレン生合成は抑制されていても萎れは誘導されることから、自己触媒的エチレン生成と萎れは異なる経路に分けられることが明らかにされている (Kosugi et al., 2000)。

エチレンは花のどの器官でも生成されるが、器官によりその生成能は異なっている。また同じ器官でも部位により生成能に差があり、カーネーションの花卉では、基

部の方が頂部よりも新鮮重あたりで10倍以上も生成量が多い (Mor et al., 1985).

カーネーションの切り花では、雌蕊からのエチレン生成が花弁からのそれに先立ち上昇する (ten Have and Woltering, 1997). このことから、雌蕊から生成するエチレンが花弁からのエチレン生成を上昇させ、花弁の萎れを引き起こしていると考えられてきた. 実際に、雌蕊を除去すると、花弁の老化が著しく遅延し、花弁からのエチレン生成の上昇がみられなくなることが報告されている (Shibuya et al., 2000). このことから、カーネーションでは花弁の老化は雌蕊から生成されるエチレンにより制御されている可能性がある. ただし、これとは異なる結果も多数報告されている (Mor et al., 1980; Sacalis and Lee, 1987; Woodson and Brandt, 1991) ことから、花弁の老化に雌蕊が不可欠であるか否かについては、より詳細な検討が必要であろう.

花壇用の花きであるハナスベリヒユでは花弁や雌蕊に比較して、雄蕊から多量のエチレンが生成する. また、雄蕊が接触刺激を受けると雄蕊からのみ多量のエチレンが生成し、老化が進行する (清水・市村, 2001). 一方、雌蕊や花弁の傷害では老化は促進されない (Ichimura and Suto, 1998). したがって、雄蕊から生成されるエチレンにより花弁の老化が制御されていると考えられる.

スイートピーでも雄蕊からのエチレン生成量が他の器官に比較して多い (Singh and Moore, 1994). STS 処理は小花全体のエチレン生成を低下させるが、雄蕊からのエチレン生成を低下させることはできない. さらに、花弁のみにした場合と小花全体で老化するまでの日数には差が認められない (湯本・市村, 2006). したがってスイートピーでは、花弁の老化は他の器官と独立している可能性が高い.

(4) 花弁脱離型花きとエチレン生成

花弁脱離型花きはデルフィニウム (Ichimura et al., 2009a) やトレニア (Goto et al., 1999) のように自己触媒的なエチレン生成を示すような花きとゼラニウム (Clark et al., 1997) のように自己触媒型のエチレン生成を示さない花きに大別できる. いずれの型においても、花弁からのエチレン生成の上昇は起こらない.

花弁脱離型 (デルフィニウムの場合、正確にはがく片) の花ではカーネーションのような花弁萎凋型の花とは老化におけるエチレンの関与が異なっている.

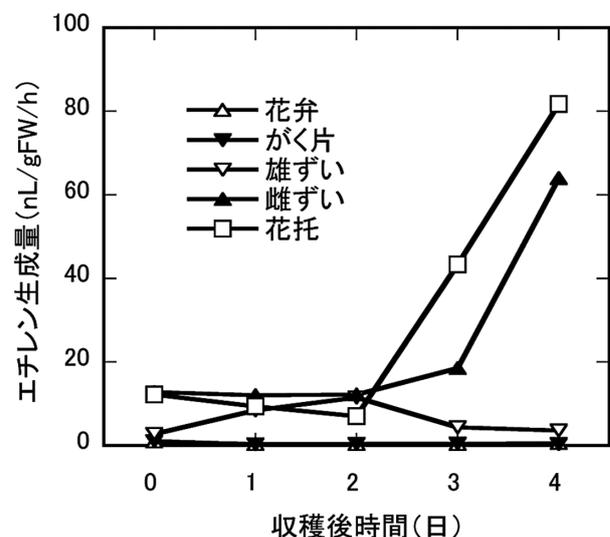
デルフィニウムでは、エチレンを生成する主要な器官は雌蕊と花托である. これらの器官では老化にともない

エチレン生成量は急増する (第3図). また、これらの器官を傷つけると多量のエチレンが発生し、落花を促進する (Ichimura et al., 2009a). デルフィニウムでは、がく片は花托と直接結合しているため、がく片の脱離には特に花托から生成するエチレンが特に重要な役割を果たしていると考えられる. ジギタリス (Stead and Moore, 1983) とトレニア (Goto et al., 1999) においても、雌蕊からのエチレン生成量は老化にともない増加するが、花弁からの生成量はわずかである. したがって、雌蕊から生成されたエチレンが離層に作用し、花弁の脱離に関与していると考えられる.

(5) エチレン生成に関与する酵素とその遺伝子

植物の栄養組織では、ACC 合成酵素がエチレン生成の律速段階であるとみなされている. しかし、カーネーションをはじめとした多くの花が老化する過程では、花弁において ACC 合成酵素活性だけでなく ACC 酸化酵素活性も上昇することから、エチレン生成には両者が重要であることが示唆されている (第4図) (Pun et al., 2005; Woodson et al., 1992). ただし、カーネーションの雌蕊では ACC 酸化酵素活性は恒常的に高い (Yangkhamman et al., 2007) ことから、ACC 合成酵素活性の上昇により、ACC 濃度が高まり、雌蕊で生成されたエチレンが花弁に作用して、エチレン生成を誘導している可能性がある.

これに対して、ハイビスカス (Woodson et al., 1985) およびアサガオ (Konze et al., 1980) のような一日花では、老化に到達するステージの前にも *in vivo* の ACC 酸化酵素



第3図 デルフィニウムの老化にともなう器官別エチレン生成量の変動 (Ichimura et al. (2009a) を改変)

活性がすでに上昇しているとする報告がある。しかし、ACC酸化酵素はACC処理により誘導されることから、*in vitro*の活性を調べないと結論することはできない。

多くの植物からACC合成酵素とACC酸化酵素をコードする遺伝子が単離され、塩基配列が決定されている。ACC合成酵素遺伝子には、ピリドキサルリン酸に結合する活性中心部位を初めとして、高度に保存された7箇所の共通の配列があることが明らかにされている (Kende, 1993)。

ACC合成酵素およびACC酸化酵素をコードする遺伝子はともに、共通する塩基配列を持つ多数の遺伝子からなる遺伝子ファミリーを構成している。例えばシロイヌナズナでは活性型のACC合成酵素をコードする遺伝子は9種類、トマトでも9種類の遺伝子が存在する (Lin et al., 2009)。ACC合成酵素は成熟・老化、組織の傷害あるいはオーキシンにより誘導されるが、遺伝子の種類によりそれぞれの刺激で誘導される発現パターンは異なっており、特定の器官にのみ特異的に発現する遺伝子も存在する (Kende, 1993)。

カーネーションの花弁では、ACC合成酵素活性とACC酸化酵素活性の変動は遺伝子発現とほぼ一致する場合が多い (Woodson et al., 1992) ことから、いずれの酵素活性も主として転写レベルで制御されていることが示唆されている。

カーネーションをはじめとする多くの花きでACC合成酵素の遺伝子が単離され、塩基配列が決定されている。そのうち、カーネーションでは3種類 (Henskens et al. 1994; Jones and Woodson, 1999a; Park et al., 1992)、バラでは4種類 (Wang et al., 2004)、キンギョソウでは3種類

(Woltering et al., 2005)、ファレノプシスでは3種類 (Bui and O'Neill, 1998)、ゼラニウムでは2種類 (Wang and Arteca, 1995)、ペチュニアでは2種類 (Lindstrom et al., 1999) のACC合成酵素の遺伝子が単離されている。

ACC合成酵素遺伝子は、遺伝子の種類により異なる発現制御を受けていることが知られている。カーネーションでは、ACC合成酵素をコードする3種類の遺伝子は *DcACS1*, *DcACS2*, *DcACS3* と命名されている。*DcACS1* は花弁で多量に発現しており、残りの二つは雌蕊で主に発現している。いずれも老化にともない発現量が増加する (Jones and Woodson, 1999a)。

ACC酸化酵素をコードする遺伝子もカーネーションをはじめとして、多くの花きで単離され、塩基配列が決定されている。カーネーションでは2種類 (Wang and Woodson, 1991; 乗越ら, 2008)、バラでは1種類 (Xue et al., 2008)、キンギョソウでは1種類 (Woltering et al., 2005)、ファレノプシスでは1種類 (Nadeau et al., 1993)、チューリップでは5種類 (Momonoi et al., 2007)、ペチュニアでは4種類 (Tang et al., 1993)、ゼラニウムでは3種類 (Clark et al., 1997) のACC酸化酵素の遺伝子が単離されている。

カーネーションでは、遺伝子の種類により異なる発現制御を受けていることが明らかにされている。*DcACO1* は老化にともない発現が著しく上昇するのに対して、*DcACO2* は雌蕊で恒常的に発現していることが見出されている (乗越ら, 2008)。ペチュニアでもACC酸化酵素遺伝子はその種類により異なる発現制御を受けている (Tang et al., 1994)。

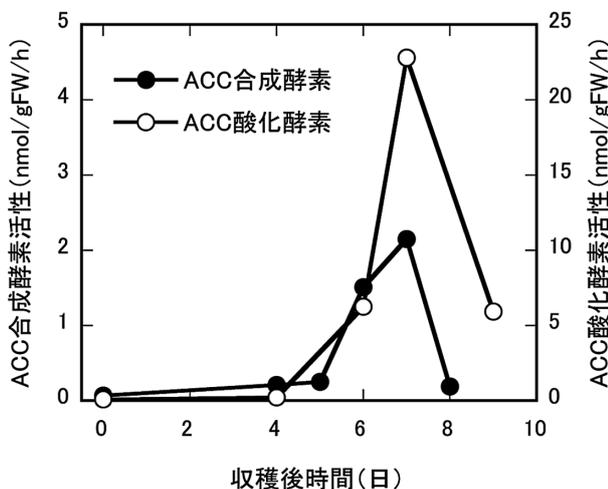
(6) エチレンの受容体とシグナル伝達

エチレンはエチレン受容体により受容された後、シグナル伝達経路により伝達される。

エチレンのシグナル伝達系はシロイヌナズナを用いてある程度確立されており、エチレン受容体をはじめとして、シグナル伝達に関わるタンパク質をコードする遺伝子が単離されている (Chen et al., 2005; Hall et al., 2007; Lin et al., 2009)。

エチレンの受容体は膜タンパク質で、小胞体に存在することが示唆されている (Chen et al., 2002; Ma et al., 2006a) が、原形質膜 (Xie et al., 2003; Zhong et al., 2008) あるいは核膜 (Lin et al., 2008) にも存在するという報告もある。

植物は複数のエチレン受容体を持っており、その構造からサブファミリー1とサブファミリー2に分けられてい



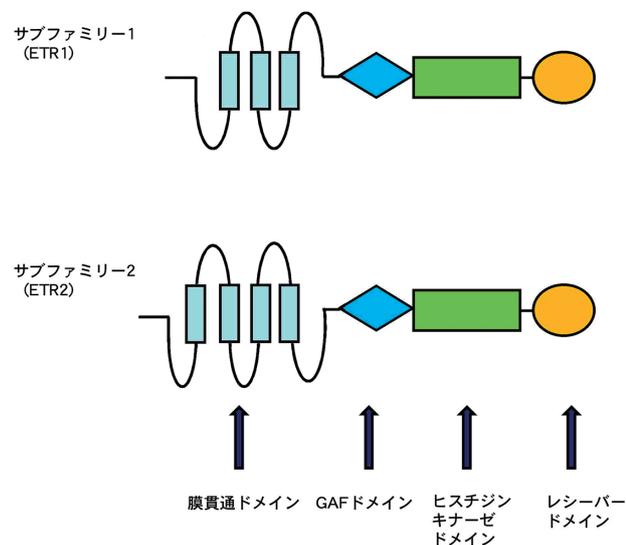
第4図 カーネーション花弁の老化にともなうACC合成酵素とACC酸化酵素活性の変動 (Pun et al. (2005) を改変)

る(第5図)。膜貫通ドメインがサブファミリー1は3個、サブファミリー2は4個存在する。サブファミリー1はヒスチジinkinナーゼ活性を有し、サブファミリー2はセリン/スレオニンkinナーゼ活性を有するが、例外的にシロイヌナズナの ERS1 は両方の活性を有している。シロイヌナズナでは5種類のエチレン受容体遺伝子が単離されている。そのうち ETR1 と ERS1 はサブファミリー1に、他の3種類はサブファミリー2に属する。トマトは6種類のエチレン受容体があり、3種類がサブファミリー1に属する (Hall et al., 2007; Lin et al., 2009)。

エチレン受容体はエチレン結合部位が存在する膜貫通ドメイン、GAFドメインおよびヒスチジinkinナーゼドメインから構成され、さらにヒスチジinkinナーゼドメインのC末端側にレシーバードメインが存在するタイプと存在しないタイプがある。例えば、シロイヌナズナの ETR1 はレシーバードメインが存在するが、ERS1 はそれが存在しない。受容体の機能発現にヒスチジinkinナーゼ活性は必須であるが、レシーバードメインは必須でないことが示唆されている。また、GAFドメインは受容体タンパク質の相互作用に関係していると考えられている (Hall et al., 2007; Lin et al., 2009)。

エチレン受容体のタンパク質はジスルフィド結合により、ホモ2量体を形成しており、1分子の銅イオンが架橋している。2量体の形成がエチレンの結合に必要であると考えられている (Rodriguez et al., 1999)。

シロイヌナズナでは、複数存在するエチレン受容体タンパク質は重複する機能を有しているものの、受容体の機能を欠損させた組換え体の解析から、サブファミリー



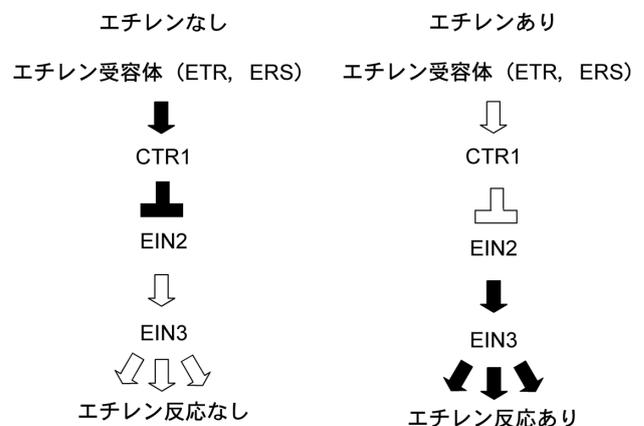
第5図 エチレン受容体の構造の模式図

1に属する受容体がサブファミリー2に属する受容体より重要であることが明らかにされている。一方トマトでは、サブファミリー2に属する受容体の発現量が多いことから、受容体により生理的な機能は異なることが示唆されている (Hall et al., 2007; Lin et al., 2009)。

エチレンの刺激は受容体によるエチレン受容後、シグナル伝達因子である CTR と EIN2 を経て、転写調節因子である EIN3 により伝達される (第6図)。CTR の機能発現は負に、EIN2 と EIN3 のそれは正に制御されていると考えられている。つまり、エチレンが存在しないときには、受容体と CTR は活性化され、EIN2 と EIN3 は動いていない状態となる。一方、エチレンが存在すると、受容体と CTR は不活性化され、その結果シグナルが EIN2 と EIN3 に伝達され、エチレン反応が誘導される (Chen et al., 2005; Hall et al., 2007; Lin et al., 2009)。

CTR はkinナーゼ活性を有し、エチレン受容体と結合して、複合体を形成し、反応を伝達することが示唆されている (Kieber et al., 1993; Clark et al., 1998; Gao et al., 2003)。シロイヌナズナでは1種類しか存在しないが、トマトでは4種類存在する (Lin et al., 2009)。

EIN2 は巨大なタンパク質分子であり、どの植物でも1種類しか存在しないとされている (Alonso et al., 1999)。ペチュニアでは EIN2 遺伝子の発現を抑制するとエチレン感受性を消失することが明らかにされている (Shibuya et al., 2004)。このようなエチレン情報伝達経路とは別に、シロイヌナズナにおいて、EIN2 はエチレンには非依存的と考えられる葉の老化にともなうプログラム細胞死に関係することが報告されている (Kim et al., 2009)。



第6図 エチレンシグナル伝達経路の模式図

↓は正の反応、⊥は負の反応を、また黒色の記号は信号が伝達されていることを、白抜きの記号は信号が伝達されていないことを示す。

EIN3は転写調節因子であり、核に局在する。EIN3は機能が重複する複数の遺伝子が存在する。シロイヌナズナではEIN3と同様の機能を持つということで、*EIL2* (*EIN-Like2*), *EIL3* (*EIN-Like 3*) および *EIL4* (*EIN-Like 4*) と命名された3種類の遺伝子が存在する (Chao et al., 1997; Solano et al., 1998)。

エチレン受容体の遺伝子は多くの花きから単離されている。例えば、キクでは1種類 (Narumi et al., 2005)、バラでは5種類 (Müller et al., 2000ab)、カーネーションでは3種類 (Shibuya et al., 2002)、デルフィニウムでは2種類 (Kuroda et al., 2003; Tanase and Ichimura, 2006)、ペチュニアでは4種類 (Wang and Kumar, 2007)、ゼラニウムでは2種類 (Dervinis et al., 2000)、グラジオラスでは2種類 (Arora et al., 2006) の遺伝子が単離されている。キク、バラ、カーネーション、デルフィニウムから単離されたエチレン受容体遺伝子はいずれもサブファミリー1に属する。一方、ペチュニアではサブファミリー1とサブファミリー2、それぞれに属する遺伝子が存在する。

シグナル伝達に関わるCTR遺伝子のホモログは、バラでは2種類 (Müller et al., 2002)、デルフィニウムでは1種類 (Kuroda et al., 2004) 単離されている。また、EIN2遺伝子のホモログはペチュニアから1種類 (Shibuya et al., 2004)、EIN3遺伝子のホモログはカーネーションでは3種類 (Waki et al. 2001; Iordachescu and Verlinden, 2005)、バラでは2種類 (Müller et al., 2003)、ペチュニアでは3種類 (Shibuya and Clark, 2006) が単離されている。

エチレン受容体はエチレン応答を負に制御していることから、受容体の量が少なくなるほど感受性は高まるとするモデルが提唱されている (Hua and Meyerowitz, 1998)。しかし、バラでは感受性の高い品種ほどエチレン受容体遺伝子の発現量が多いことが報告される (Müller et al., 2000a) など、受容体遺伝子の発現量でエチレンに対する感受性の強弱を説明するにはいたっていない。トマトの果実では、エチレン受容体遺伝子の発現と受容体タンパク質量の変動は一致しない。果実の成熟にともないエチレンに対する感受性は上昇するが、エチレン受容体の遺伝子発現は変動しない。しかし、受容体のタンパク質量は減少する (Kevany et al., 2007)。したがって、エチレン感受性の強弱には受容体のタンパク質量が関係しており、受容体タンパク質の減少による感受性の上昇が成熟に寄与していると考えられている。したがって、花きにおいてもエチレンに対する感受性と受容体との関係を明らかにするためには、遺伝子発現のみでなく、受容体タ

ンパク質の定量が必要であろう。

(7) エチレン阻害剤

エチレンの生合成あるいは作用を阻害する薬剤をエチレン阻害剤という。

エチレン合成阻害剤はACC合成酵素あるいはACC酸化酵素のいずれかを阻害する薬剤である。ACC合成酵素の阻害剤にはアミノエトキシビニルグリシン (AVG) とアミノオキシ酢酸 (AOA) がある。ACC酸化酵素の阻害剤にはアミノイソ酪酸 (AIB) とコバルトイオンがある (Yang and Hoffman, 1984)。他に阻害部位は特定されていないがエチレンの生合成を阻害する物質に1,1-ジフェニル-4-フェニルスルホニルセミカルバジド (DPSS) (Midoh et al., 1996) がある。

エチレンの作用阻害剤としては、STS (Veen, 1979)、1-メチルシクロプロペン (1-MCP) (Serek et al., 1994b)、2,5-ノルボルナジエン (NBD) (Sisler et al., 1986) などの物質が知られている。このうち、1-MCPとNBDは常温では気体である。

上記エチレン阻害剤のほとんどはカーネーション切り花の老化を遅延することが報告されている (Baker et al., 1977; Broun and Mayak, 1981; Ichimura et al. 2002; Midoh et al. 1996; Onozaki et al., 1998; Serrano et al., 1990; Veen, 1979; Wang and Woodson, 1989)。しかし、カーネーションでは効果があっても、デルフィニウムやスイートピーでは効果のないエチレン阻害剤も多い (宇田ら, 1997; Ichimura et al., 2002)。

このような特異的な阻害剤以外にスクロースあるいはグルコースなどの糖質およびエタノールもエチレンの生合成を抑制することが知られている (Pun and Ichimura, 2003; Podd and van Staden, 1998)。このうち、エタノールはACC合成酵素とACC酸化酵素の遺伝子発現の上昇を抑制することが明らかにされている (Pun・市村, 2003)。一方、スクロースなどの糖質処理は、カーネーション (Pun et al., 2005)、スイートピー (Ichimura and Hiraya, 1999)、デルフィニウム (Ichimura et al., 2000a)、キンギョソウ (Ichimura and Hisamatsu, 1999) など、エチレンに感受性の高い切り花の品質保持期間延長に効果が高い (Pun and Ichimura, 2003)。しかし、スクロース処理はエタノールなどとは異なり、ACC合成酵素とACC酸化酵素活性の上昇を遅延し、エチレン生成のピークも遅延するが、ピーク時の生成量はあまり減少させない (Pun et al., 2005)。

(8) エチレン生合成と感受性に関する変異体

カーネーションではエチレンの生合成系およびその感受性に変異がみられる品種・系統が存在する。カーネーションには老化にともなうエチレン生成がほとんどみられない‘サンドラ’、‘サンドローザ’、‘キラール’、‘ホワイトキャンドル’などの品種がある (Wu et al., 1991ab; Mayak and Tirosh, 1993; Nukui et al., 2004)。また、通常の品種よりもエチレンに対する感受性が低い‘チネラ’などの品種も存在する (Wu et al., 1991ab; Woltering et al., 1993)。これらの品種の花持ちは通常の品種に比較して2倍程度長い。他に、系統799のようにエチレン生成の上昇が認められないことに加えて、エチレンに対する感受性が低い系統もある (Brandt and Woodson, 1992)。

Onozaki et al. (2001) は交雑と選抜により花持ち性の改良が可能であることを報告し、さらに‘サンドローザ’を交配親の一つに用い、常温で約20日の花持ちを示す‘ミラクルシンフォニー’と‘ミラクルルージュ’という2品種を育成した (小野崎ら, 2006)。これらの品種の花持ちが長い原因はエチレン生成量が非常に少ないことであり、これはACC合成酵素とACC酸化酵素の遺伝子発現が非常に低いことによる。また、交配親に使用した‘サンドローザ’ではACC処理により花持ちは短縮するが、‘ミラクルシンフォニー’と‘ミラクルルージュ’では、ACC処理による花持ちの短縮は認められない (Tanase et al., 2008)。したがって、これら2品種では、ACC酸化酵素活性が著しく低いことに加えて、ACC酸化酵素の遺伝子発現が誘導されにくいことが示唆される。また、10 μ L/Lのエチレン処理でも72時間以上萎れないという、エチレンに感受性の低いカーネーション系統も育成している (Onozaki et al., 2008)。

トルコギキョウでは、受粉しない場合、花持ちには品種間差が認められる。受粉していない花では、エチレンに対する感受性が高い花ほど花持ちが短い傾向を示すことから、エチレンに対する感受性の高低が花持ち性の差に関与していると考えられる (湯本・市村, 2009)。トルコギキョウでは、受粉により老化が促進されやすい品種とされにくい品種が存在する。受粉により花持ちが短縮しにくい原因もエチレンに対する感受性が低いことである (湯本, 2009)。

デルフィニウムはがく片の脱離により観賞価値を失うが、がく片が非常に脱離しにくい系統 (B-10) が作出されている (徳弘ら, 2006)。B-10が落花しにくい原因はエチレンに対する感受性が低いことと、老化にともなうクライマクテリック様のエチレン生成上昇が起らないこ

とであると推定される。しかし、STSあるいはAVGを処理すると、通常の品種よりもさらに花持ちが延長する (Tanase et al., 2009)。したがって、B-10が落花しにくい原因には、エチレンの生合成と受容以外の老化に関わる生理的要因も関与していることが示唆される。

(9) 温度とエチレン生成および応答

エチレンの生成と受容は温度により影響される。

カーネーションでは低温ほどエチレン処理による老化に要する時間が長くなることから、エチレンに対する感受性は低温ほど低下することが示唆されている (Barden and Hanan, 1972)。ただし、呼吸など他の生理反応に比較して、低温によりエチレンに対する応答性が特に低下するか否かについてはよくわかっていない。一方、エチレンに対する感受性が低いユリでは、低温で2週間保管することにより、エチレンに対する感受性が上昇することが報告されている (Song and Peng, 2004)。

トマトあるいはリンゴなどの果実では、高温条件でエチレン生成が抑制されることが知られている (Lurie, 1998)。花きにおいても、カーネーション切り花において、高温条件下でエチレン生成が抑制される (Shibuya and Ichimura, 2010; Yangkhamman et al., 2005, 2007)。カーネーション‘バーバラ’では、32°C以上の高温条件で保持するとエチレン生成が抑制される。また、花持ちも常温で保持した場合よりもむしろ長くなり、エチレンに対する感受性も著しく低下する。常温で保持した切り花ではエチレン受容体およびシグナル伝達系に関与する遺伝子発現が老化にともない上昇するが、高温で保持した花では上昇がみられず、このようなエチレン受容とシグナル伝達に関わる遺伝子発現が高温条件下でのエチレン感受性の低下に関与していると推察される (市村ら, 2010)。

このように高温によりエチレン生成が抑制され、正常な老化の進行も抑制される。しかし、高温条件下では花弁の成長は抑制され、花弁の退色も著しい。したがって、現状では高温を品質保持技術に利用することは困難である。

カーネーション以外の花きでは、高温によるエチレン生成の抑制は報告されていない。しかし、高温条件下でエチレン生成が抑制される現象は果実では一般的である (Lurie, 1998) ことから、他の花きにも共通する現象である可能性は高い。

(10) 受粉による老化促進とエチレン

ラン類 (Burg and Dijkman, 1967; Porat et al., 1994), ペチュニア (Gilissen and Hoekstra, 1984; Whitehead et al., 1984), トルコギキョウ (Ichimura and Goto, 2000a; Ichimura et al., 1998b), カーネーション (Jones and Woodson, 1997; Larsen et al., 1995), カンパニュラ (Kato et al., 2002), デルフィニウム (岡本・市村, 2010), トレニア (Goto et al., 1999) など, エチレンに感受性の高い多くの花きにおいて, 受粉により花卉の萎凋や離脱が促進される。特にラン類では花の寿命の短縮が著しい (第7図)。しかし, スイートピーやアサガオのように自家受粉が主体となる花きでは, 受粉により老化は促進されないことが知られている (van Doorn, 2002)。一方, スイセンのようにエチレンに対する感受性が高いとはいえない花きでも, 受粉によりエチレン生成は著しく上昇し, 老化が促進される (Hunter et al., 2004b)。

受粉によりエチレン生成が著しく増大すること, ならびにエチレン合成阻害剤あるいは作用阻害剤の処理により, 受粉による老化促進作用は抑制されることが多くの花きで明らかにされている (Stead, 1992)。したがって, エチレンが受粉による老化促進現象の主因であるとみなされる。

トルコギキョウ (Shimizu-Yumoto and Ichimura, 2006), ペチュニア (Gilissen, 1977), ジギタリス (Stead and Moore, 1979) では受粉に用いる花粉量が多いほど, 老化促進程度は高まり, 老化を抑制するには高濃度のエチレン阻害剤処理が必要であることが明らかにされている。

受粉による老化促進は受粉された花粉と雌蕊との和合性に関係することが知られている。ペチュニアでは和合性の組み合わせで受粉したほうが不和合性の組み合わせで受粉した場合よりも, エチレン生成が増大し, 老化が促進される (Singh et al., 1992)。カーネーションでは, 和合性の組み合わせで受粉すると, エチレン生成が上昇し,

老化が促進されるが, 不和合性の組み合わせで受粉してもエチレン生成は増大せず, 老化も促進されないことが報告されている (Larsen et al., 1995)。一方, キンギョソウでは, 和合性の組み合わせであっても, 受粉により花冠脱離が促進される組み合わせと促進されない組み合わせが存在する (加藤ら, 2008)。

ラン類では受粉後, エチレン生成に先立ち, エチレン感受性が上昇する。この上昇はエチレン合成阻害剤である AOA で処理しても生じることから, エチレン生成とは独立した反応であることが示唆される (Porat et al., 1994, 1995a)。また STS であらかじめ処理するとエチレン生成は抑制されることから, 受粉によるエチレン生成の著しい増加はエチレン感受性の上昇により, 植物体中に基本的に存在するごく微量のエチレンの自己触媒的な反応により生成する可能性を示唆している。

受粉後のエチレン生成量の変動はペチュニア, カーネーションおよびファレノプシスで詳細に調査されている。ペチュニアでは, 受粉後3時間以内に花柱で増加し, 2~3日後には花卉からの生成が観察される (Hoekstra and Weges, 1986; Singh et al., 1992)。カーネーションでは受粉後12時間目には花柱で, 24時間目には子房で増加し, 36時間目には花卉で増加する (Jones and Woodson, 1999b)。ファレノプシスでは, 受粉後12時間目には柱頭と花柱に相当する蕊柱と呼ばれる組織から, 24時間目には唇弁から, 48時間目以降, 花被から上昇する (O'Neill et al., 1993)。

ファレノプシスでは3種類の ACC 合成酵素の遺伝子は, 受粉後, 異なる発現制御を受けており, このうちの2種類 (*PhalACS2* と *PhalACS3*) が受粉により初発的に誘導される遺伝子であることが明らかにされている (Bui and O'Neill, 1998)。なお, ファレノプシスでは, 受粉後の ACC 合成酵素と ACC 酸化酵素をコードする遺伝子の発現は, 受粉により雌蕊で上昇するが, ACC 合成酵素の mRNA は花被には検出されなかったという実験結果から, 花被の ACC は他の器官から輸送されるとする仮説が提案された (O'Neill et al., 1993)。しかし, 遺伝子発現の検出方法が, 高感度とはいえない方法で行われていることに加えて, 他の研究者により ACC 合成酵素活性は花被に検出されていることから, 単に ACC 合成酵素の遺伝子発現を検出できなかっただけの可能性が高い。実際に, より感度の高い定量方法を用い, 花被において ACC 合成酵素遺伝子, *PhalACS1* の発現が受粉により上昇することが見出されている (市村・仁木, 未発表)。他の植物では, ACC 合成酵素遺伝子が花被で発現していることが知



第7図 ファレノプシス‘葉月’の老化に及ぼす受粉の影響
左; 未受粉, 右; 受粉. 受粉後4日目に撮影。

られている。したがって、ACC合成酵素遺伝子の発現様式は、ランのみが他の植物と異なっているわけではないことが示唆される。

多くの植物では、受粉後、花粉管が到達する前に子房からエチレン生成は上昇する。また、ペチュニアでは受粉後数時間以内に花柱を取り除くと、老化を促進する作用はみられなくなる (Gilissen and Hoekstra, 1984)。これらの知見から、受粉後、花卉の老化を誘導する何らかのシグナルが存在することを示唆している。その候補として想定されているのはACCとエチレンである。カーネーションでは標識したACCを処理すると、標識されたエチレンが花卉と雌蕊から生成されることからACCがシグナル伝達物質である可能性が示唆されている (Reid et al., 1984)。一方、シンビジウム (Woltering et al., 1995) とペチュニア (Woltering et al., 1997) ではトレーサー実験により、ACCは移動しない移動しないことが示されている。また、ペチュニアでは花柱からの溶出物は萎れを誘導できるが、溶出物中にACCは検出されないことから、ACCはシグナル伝達物質にはなりえないことが示唆されている (Gilissen and Hoekstra, 1984)。このような化学物質の他、電気シグナルが関与している可能性も指摘されている (Fromm et al., 1995; Spanjers, 1981)。

(11) 傷害による老化促進とエチレン

受粉により老化が促進される花きでは、雌蕊が傷害を受けることにより老化が促進される場合が多い。トルコギキョウ (Ichimura and Goto, 2000a) とペチュニア (Lovell et al., 1987; Whitehead et al., 1984) では柱頭を傷つけると花卉の老化が促進される。また、トレンニアでは花卉の脱離が促進される (Goto et al., 1999)。デルフィニウムでは、子房あるいは花托の傷害により落花が促進される (Ichimura et al., 2009a)。

受粉では老化は促進されないが、特定の器官の傷害により老化が促進される花きもある。花壇用の花きであるハナスベリヒユは、花糸の切断傷害、あるいは花糸基部の接触刺激により老化が著しく促進される (Ichimura and Suto, 1998; 清水・市村, 2001)。

傷害により老化が促進される現象においても、エチレン生成の増加が促進され、受粉による老化促進との類似性が示唆される。しかし、ペチュニアにおいて、受粉と傷害によるエチレン生成のパターンが異なることから、傷害による老化促進のメカニズムは受粉によるそれとは異なることが示唆される (Hoekstra and Weges, 1986; Whitehead et al., 1984)。ペチュニアでは、柱頭を傷つけ

ることにより、数時間以内に柱頭と花柱以外の部位において、エチレン生成が上昇するが、受粉では上昇しないことから、傷害によるシグナル伝達物質はエチレンであるのに対して、受粉による伝達物質ではそうではないことが示唆されている (Woltering et al., 1997)。

3. エチレン以外の植物ホルモンと切り花の収穫後生理

エチレン以外の植物ホルモンとして、オーキシン、ジベレリン、サイトカイニンおよびアブシシン酸 (ABA)、ブラシノライド、ジャスモン酸が広く認識されている。最近では、サリチル酸とストリゴラクトンも植物ホルモンとして認識されつつある。このうち、花の老化との関係が調べられている植物ホルモンは、オーキシン、ジベレリン、サイトカイニン、アブシシン酸、ジャスモン酸である。

(1) オーキシン

オーキシンと老化との関係に関する研究は少ない。オーキシンは比較的高濃度でエチレン生成を促進することが知られている。カーネーションではインドール酢酸 (IAA) と合成オーキシンである2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (2,4-D) がエチレン生成を増加させ、老化を促進することが報告されている (Sacalis and Nichols, 1980; Wulster et al., 1982)。これは比較的高濃度のオーキシンがACC合成酵素を誘導することにより、エチレン生成を促進するためと考えられる。一方、合成オーキシンであるナフタレン酢酸 (NAA) はブーゲンビリアの落花を抑制する (Chang and Chen, 2001)。

最近、トルコギキョウ切り花では合成オーキシンではナフタレン酢酸 (NAA) は新鮮重の増加を促進することが明らかにされた (Shimizu-Yumoto and Ichimura, 2010)。オーキシンの役割について、今後一層の検討が必要である。

(2) ジベレリン

カーネーション切り花では、ジベレリンはエチレン生成を抑制することにより、その花持ちが延長する (Saks et al., 1992)。エチレンに対する感受性が比較的低いスイセンでも、ジベレリンにより花持ちが延長する (Ichimura and Goto, 2002)。バラでは花卉を大きくする作用があることも示されている (Sabehat and Zieslin, 1995)。しかし、これらの詳細な機構についてはよくわかってい

ない。

ジベレリンの正確な定量は難しいため、切り花中の動態についてはほとんど明らかにされておらず、今後の研究の進展に待つところが大きい。

(3) サイトカイニン

サイトカイニンは一般に植物の老化を抑制する生理作用がある。バラ (Mayak and Halevy, 1970) とカーネーション (van Staden et al., 1987) の切り花において、老化した花弁ではサイトカイニン様活性は減少する。また老化していない花弁に合成サイトカイニンであるベンジルアデニン (BA) を処理すると、花弁の老化は抑制される (Cook et al., 1985; Eisinger, 1977; Mayak and Dilley, 1976b)。

サイトカイニンの老化抑制機構に関して、カーネーション切り花では、BA 処理により外生 ACC はエチレンに転換されず、エチレンを処理しても、内生のエチレンレベルは増加しない (Cook et al., 1985; Mor et al., 1983)。しかしながら、エチレン生成が上昇した花に BA を処理しても、エチレン生成が抑制されることはみられない (Mor et al., 1983)。これらの結果はサイトカイニンがエチレン生合成に関与する酵素活性を直接に抑制することはないが、酵素の合成を抑制しているか、あるいはエチレンに対する感受性を低下させていることを示唆している。

合成サイトカイニンであるチジアズロンはエチレンに感受性が低いアイリスの花持ちを延長することも報告されている (Macnish et al., 2010)。

ペチュニアでは、サイトカイニンの生合成に関与するイソペンテニル転移酵素遺伝子の導入により、サイトカイニン濃度を著しく高めると花の寿命が延長した形質転換体が作出されている (Chang et al., 2003)。受粉した場合には5倍以上、自然老化の場合には約2倍に延長する。この形質転換体では、エチレン生成のピークが遅延し、エチレンに対する感受性も低下する。また、ABA 含量も低くなる。

以上のようにサイトカイニンは、エチレンに感受性にかかわらず、多くの花きの老化抑制に関与していることが示唆される。しかし、老化にともなう組織中のサイトカイニンの消長はほとんど明らかにされておらず、今後の研究が必要である。

(4) アブシシン酸

アブシシン酸 (ABA) は、一般的に老化促進に作用す

る植物ホルモンと考えられている。

花卉中の ABA 含量は、バラ (Borochoy et al., 1976c) とカーネーション (Eze et al., 1986; Hanley and Bramlage, 1989) ではエチレンと同様に老化にともない増加する。この増加は水分を失ったことによる乾燥ストレスにより引き起こされた二次的な現象の可能性がある。

カーネーションでは外生的に処理した ABA はエチレン生成を促進するだけでなく、エチレン感受性も高め、老化を促進する (Mayak and Dilley, 1976ab)。一方、エチレン処理は ABA 含量を増加させる。

エチレンに対する感受性の低いヘメロカリス (Panavas et al., 1998) とスイセン (Hunter et al., 2004a) 切り花においても、ABA 処理は老化を促進する。また、スイセンでは老化にともない ABA 濃度が上昇する (Hunter et al., 2004a)。

バラでは、ABA を、葉を除いた切り花に処理したときは老化が促進されるのに対して、葉を付けた切り花に処理するとむしろ老化は抑制される (Borochoy et al., 1976b; Halevy et al., 1974)。これは葉を除いた切り花に処理したときは単に ABA が老化を促進したためであるのに対して、葉を付けた切り花に処理したとき老化が抑制されたのは、蒸散の抑制により花への水揚げが良くなり、結果として老化が抑制されたためであると考えられている。

トルコギキョウ切り花では、ABA 処理は水分状態を良好にして葉の萎凋を抑制し、むしろ花持ちを延長する (Shimizu-Yumoto and Ichimura, 2009)。また、糖質の転流を促進することも示唆されている (Shimizu-Yumoto et al., 2010)。

以上のように ABA は切り花の品質保持に悪影響を及ぼす場合と好影響を及ぼす場合がある。花そのものに対しては老化を促進するケースが多いが、蒸散抑制により水分状態を良好にし、結果として品質保持効果がある場合も多い。

(5) ジャスモン酸

ジャスモン酸と老化との関係について研究は少ない。ペチュニア (Porat et al., 1993)、デンドロビウムとファレノプシス (Porat et al., 1995b) では、メチルジャスモン酸処理により老化の促進が報告されている。ジャスモン酸はその生合成阻害剤が開発されており、その利用により老化が制御できる可能性がある。

4. 切り花の収穫後生理における糖質の役割

(1) 糖質と花の老化

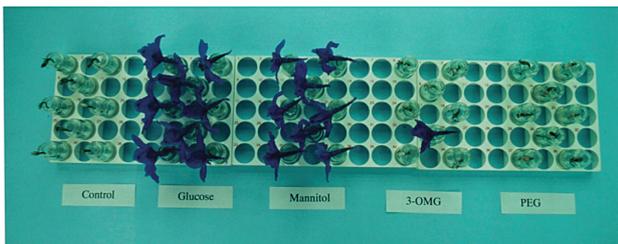
切り花は暗所に置かれることが多く、光合成による炭水化物の合成は限られる。したがって、呼吸により貯蔵炭水化物を消費し、結果として老化にいたる。花が開く過程では、多量のエネルギー源が必要である。そのため、糖質の不足により、蕾からの開花が不完全になりやすい。

呼吸量は温度が上昇するほど多くなる。したがって、切り花を保持する気温が高いほど、呼吸量が増加して、貯蔵炭水化物量が減少し、老化が早まることになる。

糖質が品質保持効果を示す最大の理由は、花卉細胞の膨圧を維持するとともに、吸水を促進し、水分バランスを良好にすることであると考えられている。しかし、デルフィニウムでは、3-O-メチルグルコースなどの非代謝糖の品質保持効果はグルコースなどの代謝されやすい糖質よりも著しく劣る（第8図）（Ichimura et al., 2000a）。また、マンニトールを主要な構成糖質とするデルフィニウムでは、マンニトールが品質保持効果を示すが、マンニトールをほとんど代謝できないバラ切り花では、マンニトールが花卉展開を著しく抑制する（Ichimura et al., 1999b）。したがって、糖質は単に浸透圧調節物質としてのみ機能しているわけではなく、呼吸基質としての機能も大きいことが示唆される。

(2) 花卉に蓄積する糖質

植物に存在する低分子の糖質にはさまざまな種類がある。花きの種類により含まれる糖質は異なっている。そのうち、グルコース、フルクトースおよびスクロースはどのような器官においてもほとんど普遍的に存在し、相互に容易に変換する。いずれも呼吸基質および浸透圧調



第8図 デルフィニウム‘ペラモーサム’のがく片脱離に及ぼす各種糖質の影響
左から対照、グルコース、マンニトール、3-*o*-メチルグルコース、ポリエチレングリコール 200。糖質濃度は0.55 M。処理開始後5日目に撮影。

節物質として機能している。花きではバラ、キクおよびカーネーションなどをはじめとして、花卉の展開にともない蓄積する糖質はグルコースとフルクトースであるものが多い（Ichimura et al. 1998a, 2000b; Yamada et al., 2009a）。トルコギキョウ（Shimizu and Ichimura, 2005）あるいはスイートピー（Ichimura et al., 1999a）のようにフルクトースがほとんど蓄積しない植物種ではグルコースとスクロースが蓄積する。

このような普遍的な代謝糖以外に、植物種により特異的な糖質が蓄積する場合がある。ゲンチオピオースはリンドウの花弁において、最も主要な構成糖質となっている（市村ら, 2005）。また、リンドウの蕾ではゲンチオトリオースも存在するが、開花した花弁では検出されない。一方、開花にともない単糖が増加することから、ゲンチオトリオースの分解が単糖の増加に関与している可能性が示唆される。また、バラではキシロースとメチルグルコシドが構成糖質となっている（Ichimura et al., 1997）。

一部の花きではポリオール（糖アルコール）が主要な構成糖質となっている。デルフィニウムではマンニトール（Ichimura et al., 2000a）、フロックスでは2-C-メチルエリトリトール（Enomoto et al., 2004）が花卉中の主要な糖質であり、これらの濃度は花卉の展開にともない上昇する。また、マンニトール処理により蕾の成長は促進される（Ichimura et al., 2000a）。従って、これらの花きではこのような糖質が浸透圧調節物質だけでなく、呼吸基質としても重要であることが示唆される。

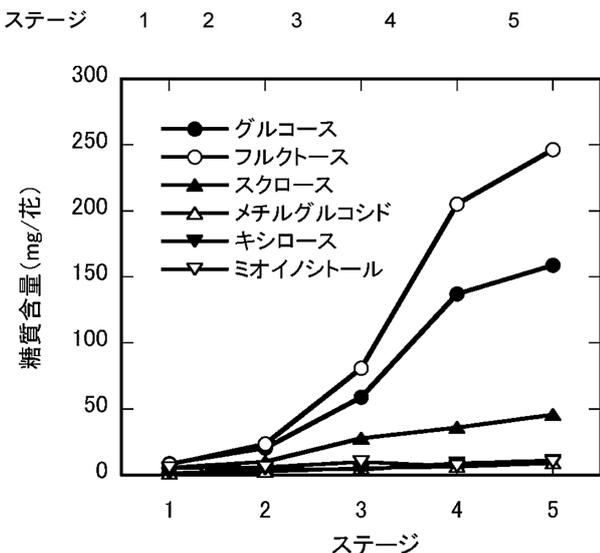
シクリトール（イノシトール）が主要な構成糖質となっている花きもある。ミオイノシトールは植物に普遍的に分布する。カーネーションではメトキシ化したイノシトールであるピニトールが主要な構成糖質である（Ichimura et al., 1998a）。また、キクではL-イノシトールとシリトール（Ichimura et al., 2000b）、トルコギキョウ（市村ら, 1997）とスイートピー（Ichimura et al., 1999a）ではボルネシトールが主要な構成糖質である。しかし、これらシクリトール類の濃度は比較的高いが、開花にともなう濃度の上昇はみられない（Ichimura et al., 1998a, 1999a, 2000b）。また、カーネーションではピニトール処理は蕾の成長を促進しない（市村, 未発表）。したがって、切り花の品質保持において、シクリトールの重要性は低いとみなされる。

植物において、多糖であるデンプンとフルクタンは貯蔵炭水化物として重要である。バラの樹上で開花した花では、花卉の展開にともなうデンプン含量の減少は、増加した単糖含量に比較するとごくわずかである

(Yamada et al., 2009a). 従って、花卉の展開には、葉からの光合成産物の供給が不可欠であり、花卉展開におけるデンプンの貯蔵炭水化物としての役割は限られたものとみなされる。一方、ヘメロカリス (Bielecki, 1993) とキク (Adachi et al., 1999) ではフルクタンが貯蔵炭水化物として重要であることが明らかにされている。

(3) 開花に必要な糖質量

バラの花弁が展開する過程における糖質含量の変動を第9図に示す。バラ「ローテローゼ」切り花の収穫適期はまだ花弁が展開していないステージ2である。この段階では花弁中の糖質含量は非常に少なく、67 mg であるが、それ以降急激に増加する。花弁が完全に展開し、露芯するステージ5では481 mg となり、花あたりの花弁中の糖質含量は7倍以上に増加する。花卉の展開には、花弁に存在している糖質に加えて、呼吸基質として利用された糖質も必要であるため、花が完全に開花するためには、さらにこれを上回る糖質が必要になる。一方、茎と葉に存在する貯蔵糖質は、切り花の長さや葉の枚数に依存するが、60 cm の切り花では130 mg 程度である。そのため、貯蔵糖質のみでは花卉展開に必要な糖質量をまかなうことはできない。したがって、糖質の不足により、花弁が十分に展開することができず、老化が促進される



第9図 バラ「ローテローゼ」の開花にともなう花弁中の糖質含量の変動 (市村, 未発表)。

と考えられる。

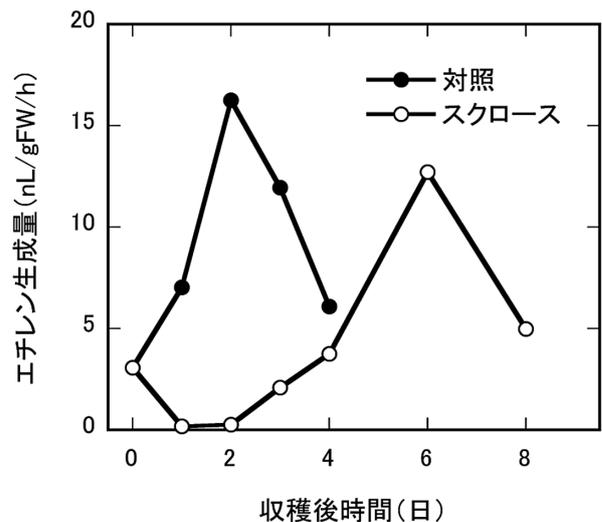
実際に、バラをはじめとする各種切り花に糖質を与えると、花卉展開が著しく促進され、品質保持期間が延長する。バラでは、抗菌剤を含む1%グルコース溶液に生けると、花弁が展開するまでに切り花1本あたり約1gのグルコースを吸収する (Ichimura et al., 2006)。この結果からも、花卉展開には多量の糖質の必要性が示唆される。

(4) エチレンと糖質の関係

エチレンと糖質はいずれも切り花の品質保持において、相互に密接にかかわりあっている場合が多い。

カーネーションはエチレンに対して非常に感受性の高い切り花であるが、スクロースをはじめとする糖質の処理により老化が遅延する (Pun et al., 2005)。カーネーションの切り花では老化にともない、エチレン生成量が増加し、花弁は萎れる。ところが、スクロース溶液の連続処理によりエチレン生成のピークは遅延する。ACC合成酵素とACC酸化酵素の活性上昇も糖質により遅延する (Pun et al., 2005)。

スイートピー切り花においても、スクロース処理により2~3倍花持ちが延びる。水に挿した切り花では、花弁の糖質は急激に減少し、それにともない、エチレンの生成は増大し、花弁は萎れる。一方、スクロースで処理すると、花弁中の糖質は増加し、エチレン生成のピークは遅延する (第10図) (Ichimura and Suto, 1999)。この結



第10図 スイートピー切り花のエチレン生成に及ぼすスクロース処理の影響
スクロースは100g/Lを連続処理 (Ichimura and Suto (1999) を改変)。

果として、花持ちは延びる。デルフィニウムでも同様にグルコース処理がエチレン生成を遅延させるとともに、エチレンに対する感受性を低下させることが明らかになっている (Ichimura et al., 2000a).

このように、エチレンに感受性の高い切り花では、糖質とエチレンは密接に関係しており、糖質を処理することにより、エチレン生成が遅延し、品質保持期間延長に効果がある。

糖質はエチレンに対する応答性を低下させることが報告され、注目を集めている (Hoeberichts et al., 2007; Yanagisawa et al., 2003). しかし、カーネーションでは少なくともエチレン合成阻害剤である AVG を処理したときほど、応答性が低下することはない (市村, 未発表). エチレン合成阻害剤であっても、エチレンに対する感受性を見かけ上、低下させることができる. いくつかの切り花において、糖質処理によりエチレン感受性の低下が報告されている (Ichimura et al., 2000a; Verlinden and Garcia, 2004; Mayak and Dilley, 1976b) が、エチレン合成の抑制により見かけ上、感受性を低下させている可能性を否定できない. したがって、糖質がエチレン感受性に対する影響を解析するためには、エチレン阻害剤を同時に処理することが必要である.

(5) 糖質の輸送と品質保持

グラジオラス、ヘメロカリスなど、小花が多数ついた切り花では、その老化にともない、糖質は再転流し、上位の小花に輸送される (Bielecki, 1995; Yamane et al., 1995). 一般に植物の転流糖質はスクロースである. ヘメロカリスの老化した花では、篩管中のスクロース濃度は14倍に上昇する (Bielecki, 1995). グラジオラスでは、放射性同位元素で標識した糖質が下位小花から上位小花に移動することが報告されている (Yamane et al., 1995). しかし、小花を分離しても老化の遅延はほとんどみられない (Bielecki, 1995). この結果は、糖質の移動が老化の引き金としては重要でないことを示唆している.

キンギョソウでも上位小花への糖質の輸送が示唆される. キンギョソウでは分離した小花の花持ちは花穂から分離しなかった場合に比較して、寿命は約2倍に延長する. また、分離しない場合は花卉の糖質濃度が急激に低下する (市村ら, 2007). したがって、キンギョソウでは糖質の減少が老化の引き金になっていることが示唆される.

5. 老化と高分子化合物、無機化合物および活性酸素

(1) DNA と RNA の分解

アサガオ、ペチュニア、キンギョソウ、マーガレットをはじめとする多くの花きにおいて、DNA 含量は老化にともない減少する (Yamada et al., 2006ab). また、これらをはじめとする多くの花きにおいて、DNA は断片化することが明らかにされている (Yamada et al., 2006ab). 後述するように DNA の断片化はプログラム細胞死の指標となっている. また、アサガオではデオキシリボヌクレアーゼ活性が老化にともない上昇する (Matile and Winkenbach, 1971). ヘメロカリス (Panavas et al., 1999)、スイセン (Hunter et al., 2004a) およびペチュニア (Langston et al., 2005) では、デオキシリボヌクレアーゼ遺伝子の発現が老化にともない上昇する.

アサガオ (Matile and Winkenbach, 1971) の花卉では老化にともない RNA の含量が著しく減少する. また、アサガオ (Matile and Winkenbach, 1971)、ヘメロカリス (Panavas et al., 1999) およびバラ (Mayak and Halevy, 1974) では、老化にともないリボヌクレアーゼ活性が上昇する. ペチュニアでは RNA 含量の減少は構造的に存在するリボヌクレアーゼ活性によることが示されている (Langston et al., 2005).

(2) タンパク質の分解とアミノ酸の合成

タンパク質の分解は大別するとユビキチン・プロテアソーム系と非プロテアソーム系に大別できる.

ユビキチン・プロテアソーム系はユビキチン化したタンパク質の分解に関与している. タンパク質のユビキチン化には E1 (活性化酵素)、E2 (結合酵素) および E3 (ユビキチンリガーゼ) の働きにより標的タンパク質をユビキチン化する. ユビキチン化したタンパク質はプロテアソームと呼ばれる巨大なタンパク質分解酵素複合体により分解される.

カーネーション (Hoeberichts et al., 2007)、スイセン (Hunter et al., 2002) およびヘメロカリス (Courtney et al., 1994) において、ユビキチン・プロテアソームに依存するタンパク質分解活性は老化にともない上昇する. また、アルストロメリア (Breeze et al., 2004)、スイセン (Hunter et al., 2002)、カーネーション (Hoeberichts et al., 2007)、ペチュニア (Xu et al., 2007b)、アサガオ (Yamada et al., 2007a) およびオシロイバナ (Xu et al.,

2007b) では、ユビキチン化に関わる遺伝子発現が老化にともない上昇する。アイリスではプロテアソーム系の阻害剤により、有意に老化が遅延する (Pak and van Doorn, 2005)。同様に、E3タンパク質のRINGドメインの遺伝子発現を抑制することにより、老化が遅延する (Xu et al. 2007b)。これらの結果はユビキチン・プロテアソーム系が老化と関わっていることを示している。

カーネーション (Hoerberichts et al. 2007)、アルストロメリア (Breeze et al., 2004)、アイリス (van Doorn et al., 2003)、スイセン (Hunter et al., 2002)、サンダーソニア (Eason et al., 2002)、ヘメロカリス (Stephenson and Rubinstein, 1998) など多くの花きにおいて、プロテアソームに依存しないプロテイナーゼ活性も老化にともない上昇する。カーネーション (Hoerberichts et al., 2007; Jones et al., 1995)、アルストロメリア (Breeze et al., 2004; Wagstaff et al., 2002)、スイセン (Hunter et al., 2002)、サンダーソニア (Eason et al., 2002)、およびアサガオ (Yamada et al., 2007a) ではシステインプロテイナーゼ遺伝子の発現も老化にともない上昇する。また、サンダーソニア (Eason et al., 2002) とアイリス (Pak and van Doorn, 2005) ではプロテアーゼ阻害剤処理により老化が遅延する。これらの結果はタンパク質分解が老化に重要な役割を果たしていることを示唆している。

このようなタンパク質の分解にともない、アミノ酸は他の器官に転流すると考えられる。実際に、サンダーソニアでは、老化にともないアスパラギンとグルタミン含量が増加し、これらの合成に関与するアスパラギン合成酵素とグルタミン合成酵素の遺伝子発現も上昇する (Eason et al., 2000)。

(3) 老化と細胞壁構成多糖

花卉の老化にともない細胞壁がどの程度分解しているかは植物種により異なることが知られている。アサガオ (van Doorn and Woltering, 2008) とアイリス (van Doorn et al., 2003) では細胞壁が相当分解されていることが観察されている。アイリス花卉の柔細胞では、液胞の崩壊前に細胞壁の分解の進行が観察されている (van Doorn et al., 2003)。また、アサガオでは、セルロースとヘミセルロース含量の減少が開花時点から開始する (van Doorn and Woltering, 2008)。カーネーションでは主として細胞壁中の中性糖質であるガラクトースとアラビノースが減少し、老化にともない細胞壁の分解が起こることが示唆されている (de Vetten and Huber, 1990)。一方、サンダーソニアでは、老化した花卉において、細胞壁中のガラク

トース含量はほとんど減少しない (O'Donoghue et al., 2002)。したがって、細胞壁の分解はほとんど起こらないことが示唆される。

アサガオ (van Doorn and Woltering, 2008)、サンダーソニア (O'Donoghue et al., 2005)、ヘメロカリス (Panavas et al., 1998) などでは、細胞壁の分解に関与する β -ガラクトシダーゼ、 β -グルコシダーゼ、ポリガラクトツロナーゼ活性が上昇する。

アイリス (van Doorn et al., 2003) では β -ガラクトシダーゼ、ペクチンエステラーゼ、エンド型キシログルカン転移酵素/加水分解酵素 (XTH)、カーネーション (Hoerberichts et al., 2007) では β -グルコシダーゼとエクスパンシン、またアルストロメリア (Breeze et al., 2004) ではXTHの遺伝子発現が老化にともない上昇する。この上昇は細胞壁の分解に寄与していると考えられている。

(4) 無機成分の変動

アサガオではリン酸、カリウム、マグネシウムが老化にともない減少する (van Doorn and Woltering, 2008)。この減少は他の器官に輸送されたためと考えられている。ペチュニアでは、老化にともないリン酸が著しく減少する他、窒素とカリウム含量の低下が明らかにされている (Verlinden, 2003)。ペチュニアにおいて、リン酸含量の著しい低下には、リン酸トランスポーター遺伝子の発現が関与しており、その発現はエチレンにより上昇することが報告されている (Chapin and Jones, 2009)。

アルストロメリア (Breeze et al., 2004) とスイセン (Hunter et al., 2002) では、老化にともないメタロチオネイン遺伝子の発現が上昇する。メタロチオネインは銅と亜鉛イオンに結合することから、金属の輸送に関与していると考えられている。

(5) 切り花の老化と活性酸素

酸化の過程で生成する活性酸素種にはヒドロキシルラジカル、過酸化水素、スーパーオキシド、一重項酸素が含まれる。このような活性酸素種は一般に酸化障害を引き起こし、細胞死を誘導する。一方、スーパーオキシドジスムターゼ、カタラーゼ、アスコルビン酸パーオキシダーゼおよびアスコルビン酸-グルタチオンサイクルに関与するデヒドロアスコルビン酸還元酵素とグルタチオン還元酵素などの酵素は、活性酸素消去系として機能している。植物において、このような活性酸素は細胞死を誘導することが報告されているため、花の老化と活性酸

素との関連についての報告は少なくない。

活性酸素の分解に関与するスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) 活性は、カーネーション (Droillard et al., 1987; Bartoli et al., 1996), グラジオラス (Yamane et al., 1999) およびアイリス (Celikel and van Doorn, 1995; Bailly et al., 2001) では老化にともない低下するが、逆にヘメロカリスでは上昇することが報告されている。カタラーゼ活性は、グラジオラス (Yamane et al., 1999) では上昇後、低下し、アイリス (Celikel and van Doorn, 1995; Bailly et al., 2001) とカーネーション (Droillard et al., 1987) では次第に上昇する。一方、ヘメロカリスでは低下する (Panavas and Rubinstein, 1998)。ペルオキシダーゼ活性は、グラジオラス (Yamane et al., 1999) とヘメロカリス (Panavas and Rubinstein, 1998) では次第に上昇し、カーネーション (Droillard et al., 1987) でもやや上昇する傾向を示す。このように活性酸素の分解に関与する酵素活性の変動パターンは、植物種により著しく異なることが報告されている。

カーネーションでは活性酸素を捕捉する機能を持つ 3,4,5-トリクロロフェノールの処理により、飽和脂肪酸の増加は抑制され、その花持ちは 1.5 倍以上延長する (Paulin et al., 1986)。逆に、フリーラジカルの発生源といわれる紫外線の照射は老化を著しく促進する (Borochoy and Faragher, 1983)。しかし、アイリス (Celikel and van Doorn, 1995; Bailly et al., 2001) では、抗酸化物質が老化を遅延しないことが報告されている。このように、活性酸素と花の老化との関係は明確ではなく、今後さらなる研究が必要である。

6. 切り花の老化と生体膜

(1) 老化と生体膜

花卉の萎凋は膨圧が減少することにより引き起こされるため、老化にともない生体膜に損傷が生じていると考えられる。実際に、老化した花卉では色素、糖質、アミノ酸あるいは無機イオンなどの溶出は著しく増加する (Mayak et al., 1977; Paulin et al., 1986; Suttle and Kende, 1980)。これらの物質の多くは液胞に貯蔵されているため、原形質膜だけでなく、液胞膜も老化花卉で損傷すると考えられる。

花卉において、物質の漏出から評価した膜の透過性の上昇は、多くの場合、花卉の老化の非常に遅い段階でのみ観察されるため、膜の透過性が実際に老化の初期過程に関与しているとは考えにくい。実際に膜を顕微鏡で観

察した結果、光学顕微鏡ではバラで老化が始まるまで原形質膜と液胞膜はともに健全であることおよびカーネーションではクライマクテリック様のエチレン生成上昇以降に原形質膜に崩壊が見られることが明らかにされている (Borochoy and Woodson, 1989)。

(2) 生体膜脂質組成の変化

生体膜は、親水基を外側に、疎水基を内側に配置したリン脂質の二重層の内に、同じく両性分子であるタンパク質が割り込んでいると考えられている。生体膜が老化の初期過程で形態的には傷害を受けていないのにもかかわらず、生体膜の脂質組成は開花後すぐに変化し始める (Beutelmann and Kende, 1977; Borochoy et al., 1982; Suttle and Kende, 1980; Thompson et al., 1982)。すなわちリン脂質およびその結合脂肪酸を含む極性脂質は老化にともない減少する。このようなリン脂質の減少は、リン脂質を合成する活性が低下するだけでなく、分解する活性が上昇することの両者により制御されている (Borochoy et al., 1982; Suttle and Kende, 1980)。

一般的に、植物生体膜のリン脂質はホスファチジルコリンとホスファチジルエタノールアミンを合わせると約 70% であり、それ以外にホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトールおよびホスファチジン酸がそれぞれ 10% 程度存在する (Borochoy and Woodson, 1989)。アサガオ (Beutelmann and Kende, 1977)、ムラサキツユクサ (Suttle and Kende, 1980) およびバラ (Borochoy et al., 1982) の花卉の膜のリン脂質の分子種の組成比に老化にともなう変化はみられない。また膜のリン脂質の構成成分である脂肪酸は老化にともない減少する (Brown et al., 1987; Paulin et al., 1986; Sylvestre and Paulin, 1987)。脂肪酸の種類により減少のパターンは異なっており、リノレン酸などの不飽和脂肪酸ほど早く減少する (Brown et al., 1987; Fobel et al., 1987; Paulin et al., 1986)。

また、カーネーション (Hoerbericht et al., 2007)、アイリス (van Doorn et al., 2003) およびヘメロカリス (Panavas et al., 1999) において、リン脂質の分解に関与するアレンオキシド合成酵素、リパーゼ、脂肪、脂肪酸の分解に関与する遺伝子発現は上昇する。

バラ (Borochoy et al., 1978, 1982) とカーネーション (Fobel et al., 1987; Thompson et al., 1982) では老化にともないリン脂質は減少するが、ステロールの量はほとんど変動しないため、リン脂質に対するステロールの割合は増加することになる。ステロールとリン脂質の割合は生体膜の流動性を決定する最も重要な要因の一つであると

みなされている。また膜の粘度の測定により、膜の流動性の程度について調べることができるが、これにより、花卉の老化にともない膜の流動性が低下することが明らかにされている。バラ (Borochoy et al., 1976a, 1978)、カーネーション (Adam et al., 1983) およびペチュニア (Borochoy et al., 1994) では膜の粘度は老化にともない2倍に増加する。

(3) 老化にともなう生体膜の流動性と相転移温度の変化

老化にともないリン脂質が減少するだけでなく、脂質の構成成分である脂肪酸においては、リノレン酸などの不飽和脂肪酸ほど早く減少し、脂質の飽和度が増加する (Fobel et al., 1987; Paulin et al., 1986)。このような脂質組成の変化、特に脂質を構成する脂肪酸の飽和度の増加は膜の流動性を減少させるだけでなく、相転移温度を上昇させる。生体膜の主要構成成分である極性脂質は、通常の状態では液晶と呼ばれる流動性の高い状態にあり、このことが生体膜の機能を果たすために必須となっている。ところが相転移温度が上昇すると、一部の脂質は相転移を起こして液晶状態からゲル状態になり、膜中に液晶とゲルが混在する相分離状態になる。実際に、バラでは老化していない花卉では、脂質はほとんどが液晶状態で存在しているが、老化花卉で生理的な温度条件下でゲル相の脂質が存在することが明らかにされている (Faragher et al., 1987; Legge et al., 1982)。このような相分離状態では膜の機能が損なわれ、低分子物質が自由に透過することとなる。また膜に存在するATPアーゼなどの酵素活性は低下もしくは失活する (Adam et al., 1983)。このような状態では生体膜はその機能を果たすことができず、細胞は次第に破壊に向かうことになると考えられている。

カーネーションでは、エチレン処理によりリン脂質の減少、流動性の低下あるいは相転移温度の上昇といった老化にともなう生体膜の理化学的性質の変化は著しく促進される (Beutelmann and Kende, 1977; Faragher et al., 1987; Suttle and Kende, 1980; Sylvestre and Paulin, 1987; Thompson et al., 1982) もの、脂質組成の変化はエチレン生成がみられる前からすでに起こっている (Beutelmann and Kende, 1977; Suttle and Kende, 1980; Thompson et al., 1982)。したがって、エチレンそのものは脂質組成を変化させる引き金ではなく、その変化を促進する役割を果たしているものと考えられる。

(4) 生体膜の実験結果に関する問題点

生体膜には原形質膜だけでなく、細胞内に液胞膜ある

いは核膜など各種の膜が存在する。老化過程で重要と考えられているのは液胞膜の機能消失であり、細胞死において液胞膜の崩壊が原形質膜のそれに先立つことが示唆されている。しかし、これまでの報告は細胞中の生体膜全体をまとめて解析したものである。また、生体膜と老化に関する実験結果の多くはバラ切り花を材料として得られたものである。しかし、バラ切り花では水分状態の悪化により花卉が萎れ観賞価値を失う。そのため、バラを材料とした実験では、本来の老化現象を解析していない可能性が高い。また、膜の透過性を電気伝導度で評価しているが、この評価法は死んだ細胞の割合を表しているだけに過ぎない可能性も高い。

このように、生体膜研究の結果は再検討の余地が多く、一部の研究者からは厳しい批判が浴びせられている (van Doorn and Woltering, 2008)。今後は異なる細胞で各生体膜の老化にともなう物理化学的性質を解析することが不可欠であろう。

7. プログラム細胞死と遺伝子発現

(1) プログラム細胞死

花の寿命はそれぞれの花の種類で遺伝的にある程度決まっている。また、カーネーション (Ichimura et al., 2009b) やグラジオラス (Jones et al., 1994; Yamane and Ogata, 1995) をはじめとして多くの花では、タンパク質合成阻害剤であるシクロヘキシミド処理により、老化が遅延する (第11図)。また、アサガオではRNA合成阻害剤であるアクチノマイシンD処理によっても老化は遅延する (Yamada et al., 2009d)。同様に、真核生物転写開始因子 (eIF-5A) の合成に関与するデオキシヒプシン合



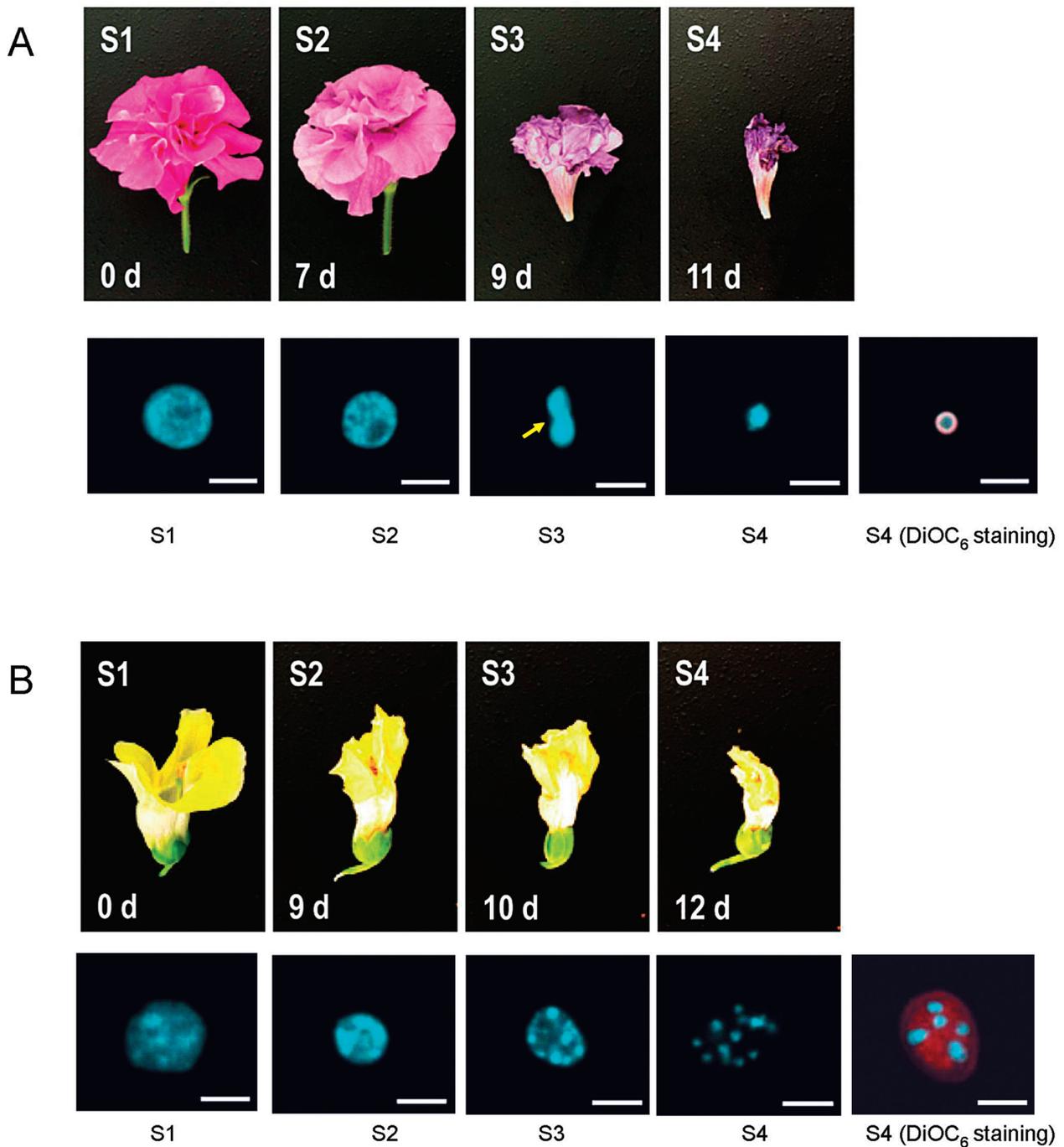
第11図 グラジオラス‘プリンセスサマーイエロー’切り花の老化に及ぼすシクロヘキシミドの影響
左:無処理, 右:シクロヘキシミド (1 mM) 処理.
処理開始後4日目に撮影。

成酵素の遺伝子発現を抑制することにより、カーネーションの老化が遅延することも報告されている (Hopkins et al., 2007). したがって、花の老化は能動的な死の過程であるプログラム細胞死 (PCD) により制御されているとみなされている.

動物細胞では、DNA と核の断片化を特徴とする、プログラムされた細胞死をアポトーシスと呼んでいる。アポ

トーシスを起こした細胞はアポトーシス小体を形成した後、食細胞や隣接する細胞により貪食除去される。植物でも細胞死の過程で DNA と核の断片化は起こるが、貪食除去はみられないため、単にプログラム細胞死 (PCD) と呼ぶことが一般的になっている.

一般に動物の PCD に特徴的な現象は核と DNA の断片化である。花卉が老化する過程で、最初に検出される PCD



第 12 図 花卉の老化にともなう核の断片化

A: ペチュニア, B: キングソウ. 左側 4 枚は DAPI 染色, 最も右は DAPI と DiOC₆ で二重染色 (Yamada et al. (2006a) を改変).

の徴候はクロマチンの凝縮である。カーネーション、アサガオなど花弁が萎凋するタイプの花では、PCDの特徴であるDNAの断片化が老化の過程で起こる。動物と同様に、アサガオ、ペチュニアなどでは、細胞死の過程で核が分裂する (Yamada et al., 2006ab)。一方、カーネーションやキンギョソウでは、核そのものは分裂せず、核内でクロマチンが分裂する (第12図) (Yamada et al., 2006b)。一方、花弁が脱離するサクラでは、花弁が脱離した時点ではDNAの断片化と核の分裂は観察されない (Yamada et al., 2007c)。したがって、このような花きではPCDがほとんど起こらないことが示唆されている。

カーネーションでは、エチレンがPCDの引き金となっているだけでなく、正常なPCDの進行にもエチレンが必要であることが示唆されている (Ichimura et al., 2009b)。バラでは花弁が脱離するタイプの品種としないタイプの品種でPCDの進行に差異がみられることが明らかにされている (山田・市村, 2006)。

(2) プログラム細胞死に関与する遺伝子の老化にともなう発現

アイリス (van Doorn et al., 2003)、アサガオ (Yamada et al., 2007b)、アルストロメリア (Breeze et al., 2004)、オシロイバナ (Xu et al., 2007a)、カーネーション (Hoerberichts et al., 2007)、スイセン (Hunter et al., 2002) およびヘメロカリス (Panavas et al., 1999) において、マイクロアレイ解析あるいはサブトラクション解析により、老化にともなう遺伝子発現の変動が解析されている。また、ペチュニアでは受粉後のプロテオーム解析が行われ、老化関連タンパク質の変動が解析されている (Bai et al., 2010)。多くの花きに共通して発現の上昇がみられるのは、システインプロテイナーゼ、アスパラギン酸プロテイナーゼなどのタンパク質分解に関わる酵素をコードする遺伝子およびリン脂質分解に関与する遺伝子である。これ以外に、発現上昇が認められる遺伝子として、カーネーションからはグルタチオントランスフェラーゼ遺伝子 (Meyer Jr. et al., 1991) が、ヘメロカリスからは脂肪酸ヒドロキシラーゼ、脂肪酸エロンガーゼ、アレンオキシド合成酵素遺伝子 (Panavas et al., 1999) が単離されている。グルタチオントランスフェラーゼは毒物とグルタチオンの結合を触媒することにより、解毒反応に関与している酵素である。

動物のPCDにおいて、システインプロテイナーゼの一種であるカスパーゼは非常に重要な酵素である。植物ではカスパーゼそのものは見出されていないが、カスパー

ゼと同様の機能を有するのが、液胞プロセッシング酵素 (VPE) である。VPEは基質タンパク質のアスパラギンまたはアスパラギン酸残基のC末端側を切断するシステインプロテアーゼである。VPEとカスパーゼの相同性は高くないが、VPEはカスパーゼの基質を認識することから、カスパーゼと共通する基質認識部位と活性中心の立体構造をもつと考えられており、植物においてカスパーゼ活性を示す酵素であることが明らかとなっている。アサガオ (Yamada et al., 2009d)、カーネーション (Hoerberichts et al., 2007) およびスイセン (Hunter et al., 2002) において、VPEの遺伝子発現も老化にともない上昇する。

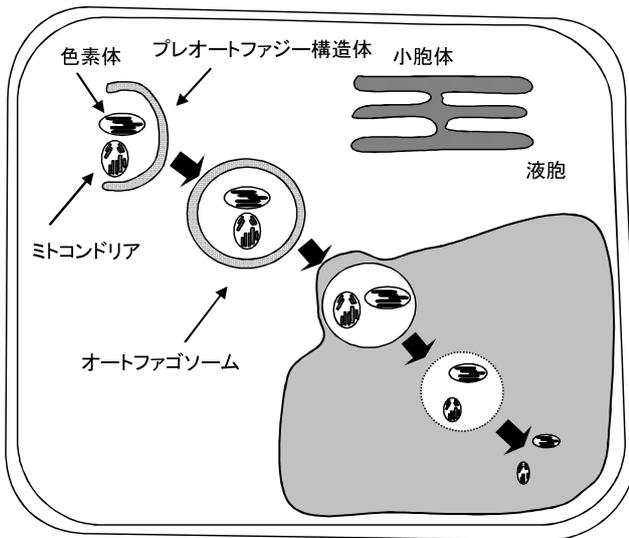
Bax-インヒビターは動物のPCDに重要な機能を有するBaxの阻害タンパク質である。植物では、Baxタンパク質は発見されていないが、Bax-インヒビター遺伝子は、老化にともない上昇する (Yamada et al., 2009d)。

DAD1 (defender against apoptotic cell death) は動物のPCDを抑制するタンパク質である。植物でもDAD1の相同遺伝子が単離されている。アルストロメリア (Breeze et al., 2004) では老化の初期段階で発現が低下し始めるが、カーネーション (Hoerberichts et al., 2007)、グラジオラス (Yamada et al., 2004) およびアイリス (van Doorn et al., 2003) では老化の後期に発現が低下する。しかし、花弁の老化における役割は、ほとんどわかっていない。

このように老化に関わる遺伝子は多数単離されているが、エチレン非依存性花きにおいて、花弁老化の鍵となる遺伝子は特定されていない。単離した遺伝子の機能解析により、老化を制御する遺伝子の発現が期待される。

(3) 老化にともなう花弁細胞の形態的变化とオートファジー

花弁は主として向軸側および背軸側表皮細胞および柔細胞から構成される。アイリスにおいて、老化にともない最初に観察される形態変化は表皮細胞間の原形質連絡の遮断であり、これは開花2日前にすでに観察される。また、アイリス (van Doorn et al., 2003) とアルストロメリア (Wagstaff et al., 2003) など多くの花では、柔細胞のほうが表皮細胞より前に崩壊する。アイリスでは開花後2日目には柔細胞の崩壊が始まり、4日目にはほぼ完全に崩壊するが、表皮細胞は4日目においても健全であることが観察されている (van Doorn et al., 2003)。同様に、アルストロメリアにおいても、開花後4日目には表皮細胞は健全であるが、柔細胞の崩壊開始が観察されている (Wagstaff et al., 2003)。



第13図 マクロオートファジーの模式図

植物の老化後期段階ではオートファジーが起こる。オートファジーとは液胞などのリソソームに細胞内小器官が取り込まれて、分解される自食作用のことをいう（第13図）。オートファジーにはマクロオートファジーとミクロオートファジーがある。マクロオートファジーは、オートファゴソームと呼ばれる二重膜を持つ小胞が形成され、オルガネラを取り込み、さらに液胞中で分解される現象である。ミクロオートファジーは液胞膜が陥没し、そこに取り込んだオルガネラが分解される現象をいう。

アサガオ (Matile and Winkenbach, 1971) とアイリス (van Doorn et al., 2003) では、細胞内小器官を飲み込む小胞としてオートファゴソームが形成され、液胞に取り込まれる。また、老化にともない液胞中に細胞内小器官が観察される。したがって、花卉の老化にはオートファジーが関与していると考えられている。

オートファジーに必要な遺伝子は酵母のオートファジー欠損変異体 (*autophagy-deficient mutants*) から単離された。ATGに数字が付された名称となっており、特にATG1～18が重要であることが示唆されている (Bassam et al., 2006)。アサガオでは、ATG4とATG8の発現のみが調べられており、いずれも老化にともない上昇する (Yamada et al., 2009d)。

アサガオでは、エチレン処理とオートファジー阻害剤である3-メチルアデニン処理の両者により老化が促進される (Yamada et al., 2009d)。エチレン処理により、オートファジー関連遺伝子であるATG4とATG8だけでなく、VPE、BaxインヒビターなどのPCD関連遺伝子も、発現のピークが早まると同時に発現量は低下する (Yamada et al., 2009d)。アサガオでは、老化過程で発現が上昇す

る、膜タンパク質をコードすると考えられる遺伝子 (*InPSR26*) の導入により、その遺伝子の発現を抑えると、オートファジー活性は低下するものの、老化が早まることが見出されている (Shibuya et al., 2009)。また、ATG4およびATG8遺伝子発現も低下する傾向がみられる。オートファジーがPCDに關与しているのであれば、オートファジーを抑制すれば、老化が遅延することが予想される。それとは逆の結果をどう説明すればよいのであろうか。これに関して、オートファジーは物質の再利用に關与しており、オートファジーの機能を阻害すると再利用の過程が阻害されることにより、老化の進行が早まるといふ仮説が提案されている。シロイヌナズナの葉でも、ATG8などのオートファジー関連遺伝子の発現を抑制すると、むしろ老化が促進されることが明らかにされている (Hanaoka et al., 2002; Thompson et al., 2005; Xiong et al., 2005)。

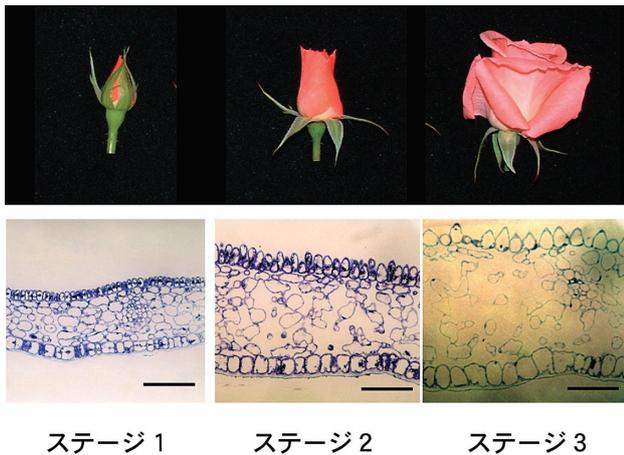
8. 花卉展開のメカニズム

(1) 花卉展開と細胞肥大

バラでは観賞の主体が蕾から開花に至る過程にあること、あるいはスイートピー、デルフィニウム、トルコギキョウなど、多くの花きでは1本の花茎にステージの異なる小花が多数存在しており、蕾を開花させることが非常に重要であることなどから、花卉の展開を何らかの方法で制御することが望まれている。

開花はシンク器官である花卉に糖質と水が急速に蓄積し、細胞が急激に肥大するとともに花卉が向軸側に反転する反応である。アサガオやマツヨイグサのような一日花では、開花は特定の時間に起こることがよく知られている。バラにおいても花卉の肥大は暗期終了直前から明期開始後数時間という1日のうちの特定の時間のみにみられる現象である (Evans and Reid, 1988)。

花卉は展開しながら成長する。これに関してガイラルディアの舌状花では、花卉を構成する細胞の分裂は比較的早い段階で停止する (Koning, 1984)。また、カーネーションでは、花卉中のDNA含量の増加は花卉ががく片から現れた時期にプラトーに達することが報告されている (Kenis et al., 1985)。バラにおいても、花卉の展開にともない細胞分裂は続くものの、花卉の成長は主として細胞肥大であることが明らかにされている (Yamada et al., 2009b)。これらの結果から、展開にともなう花卉の成長は主として細胞の肥大成長によって起こるとされている。



第14図 バラの花弁展開にともなう形態の変化 (Yamada et al. (2009b) を改変). バーは10 μ mを示す.

細胞が肥大するためには細胞内へ水が流入することと細胞壁がゆるむことが必要である。細胞への水の流入は、糖質、無機イオンあるいは有機酸などの物質が細胞内に蓄積し浸透圧が上昇することによって起こると考えられている。糖質が浸透圧上昇に最も寄与していることに加え、切り花への糖質の処理は花弁の展開を促進する。したがって、花弁の展開には糖質が最も重要な浸透圧調節物質であると考えられている。

花弁が展開する過程では花弁は生長する(第14図)。バラでは、細胞分裂が緩慢になった蕾のステージから花弁が完全に展開する間(写真のステージ1から3の間)、花弁の向軸側および背軸側表皮細胞の投影面積はそれぞれ約9および6倍に増加することは、花弁の展開にともない細胞が著しく肥大することを示している(Yamada et al., 2009b)。

(2) 花弁の展開における貯蔵炭水化物の役割

細胞の肥大には、浸透圧調節物質以外に、多量のエネルギー源と細胞壁の合成基質が必要である。糖質はエネルギー源、細胞壁の合成基質および浸透圧調節物質として花弁の展開に不可欠の物質である。

植物において、デンプンは重要な貯蔵炭水化物である。バラ切り花を用いた実験では、花弁が展開する過程でデンプン含量は減少し、単糖含量が増加することが報告されている(Evans and Reid, 1988)。そのため、花弁に貯蔵されたデンプンが花弁展開にともなう糖質濃度の上昇に寄与していると考えられてきた。しかし、バラの樹上で開花した花では、花弁の展開にともないデンプン含量は減少するが、その減少は増加した単糖含量に比較すると

ごくわずかである(Yamada et al., 2009a)。従って、樹上で開花した花のように花弁が十分に展開するためには、花弁中に貯蔵されていたデンプンだけでは不十分であり、葉からの光合成産物の供給が不可欠であると考えられる。

バラ以外にも、カーネーションなど多くの花きで、花弁の展開にともない糖質濃度は上昇するが、この上昇はデンプンの分解では説明できないことが見出されている(Ichimura et al., 1998)。従って、花弁展開におけるデンプンの貯蔵炭水化物としての役割は限られたものとみなされる。

一日花であるヘメロカリスではフルクタンが貯蔵炭水化物として重要であることが明らかにされており、花弁が展開する過程でフルクタンが分解し、その最終的な分解産物であるグルコースとフルクトースが花弁に蓄積し、浸透圧の上昇に寄与していることが報告されている(Bieleski, 1993)。また、カンパニュラでもフルクタンが重要であることが示唆されている(Vergaumen et al., 2000)。

バラでは、グルコースやフルクトースを初めとする単糖の濃度は開花にともない著しく上昇する。同様に、キク(Ichimura et al., 2000b)、カーネーション(Ichimura et al., 1998a)、あるいはグラジオラス(山根ら, 1991)をはじめとする多くの花きでは開花にともないスクロース濃度はほとんど上昇しないか、あるいは低下するのに対して、グルコースおよびフルクトース濃度は上昇する。この現象にはスクロースをグルコースとフルクトースに分解するインベルターゼが関与している(Yamada et al., 2007a)。一方、トルコギキョウ(Shimisu and Ichimura, 2005)とスイートピー(Ichimura et al., 1999a)のように、フルクトースがほとんど蓄積しない花きでは、花弁の展開にともないグルコースとスクロース濃度が上昇する。リンドウでは三糖であるゲンチオトリオースが一度増加した後、減少し、それに引き続いて二糖であるゲンチオビオースが増加した後、やや減少する(市村ら, 2005)。このような二糖あるいはオリゴ糖の分解による単糖の蓄積は、浸透圧の増加に寄与していると考えられる。

ポリオール(糖アルコール)を主要な構成糖質とする花きでは様相は異なる。デルフィニウムでは、マンニトールが最も主要な構成糖質であるが、マンニトール濃度は上昇せず、グルコースとフルクトース濃度が上昇する(Ichimura et al., 2000a)。フロックスでは、グルコースに加えて、特殊なポリオールである2-C-メチルエリトリトール濃度が上昇する(Enomoto et al., 2004)。

(3) 花卉の展開にともなう糖質細胞内分布とその濃度の変動

植物の細胞では、液胞に蓄積した糖質が膨圧を生じさせることにより肥大成長すると考えられている。実際に、アマリリスおよびチューリップの花弁においても、グルコースなどの代謝糖質は液胞に蓄積することが報告されている (Wagner, 1979)。

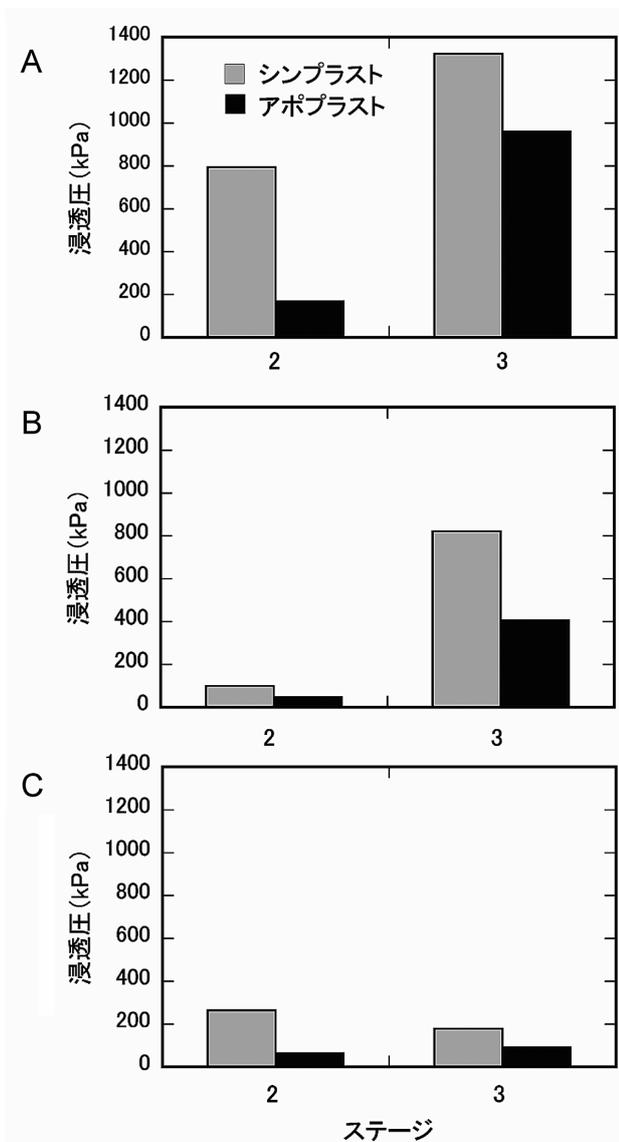
液胞が肥大するためには、シンプラスト (液胞, 細胞質など原形質膜の内側の部分) の浸透圧はアポプラスト (細胞壁など原形質膜の外側の部分) よりも高いことが必要である。シンプラストの大部分は液胞であり, 細胞質も含む。バラでは, 花卉展開にともない, シンプラストとアポプラストの浸透圧はそれぞれ上昇するが, 花卉

が展開する前のステージではシンプラストの浸透圧のほうがアポプラストのそれよりもはるかに高い。したがって, 両者の浸透圧差により水の流入が可能である (第 15 図)。花卉が展開する前のステージ 2 では, シンプラストとアポプラストにおける糖質由来の浸透圧の差は小さいが, 無機イオン由来の浸透圧の差は比較的大きい。したがって, 展開する前のステージでは, シンプラストとアポプラストとの浸透圧差には無機イオンの関与が大きいたことが示唆される。また, 花卉の展開にともない, シンプラストにおける浸透圧の上昇は糖質に由来する浸透圧の上昇とほぼ一致することから, 花卉展開にともなう浸透圧の上昇は液胞への糖質の蓄積によることが示唆される。

花卉の展開にともない, 特に液胞において, グルコースとフルクトース濃度が著しく上昇することを考え合わせると, 花卉細胞の肥大機構を以下のように説明することが可能である。すなわち, 無機イオン等, 糖質以外の物質によりシンプラストとアポプラストとの間に浸透圧差を生じさせる。それとともに糖質を連続的にアポプラストさらには液胞に輸送することにより浸透圧を上昇させる。浸透圧を高めながら細胞内外の浸透圧差を維持することにより, 水を多量に液胞に流入させ, これにより細胞を肥大させることが可能になると考えられる。

糖質が細胞あるいは液胞に多量に蓄積するためには原形質膜と液胞膜上に糖質の輸送に関わる特異的なキャリアの存在が必要である。また, 組織内に水が流入するために, 水チャンネルが必要であることが示唆されてきた。キャリアあるいは水チャンネルに関わるタンパク質と遺伝子を単離し, これらの遺伝子を導入することにより物質の輸送を制御し, 開花速度を調節できる可能性もあろう。

花卉の展開は向軸側と背軸側の成長差によりもたらされる (Wood, 1953) ことから, その機構を詳細に解析するためには, 向軸側および背軸側表皮細胞と柔細胞を分離することが必要である。ユリでは向軸側表皮細胞, 柔細胞および背軸側表皮細胞を比較的簡単に分離することができる。細胞により糖質濃度は異なり, 表皮細胞のほうが柔細胞よりも明らかに高いこと, また花卉展開前には向軸側表皮細胞のほうが背軸側表皮細胞より高いことから, これが花卉展開に関与していることが示唆されている (渡邊ら, 2008)。



第 15 図 バラの花弁展開にともなう浸透圧の変動 (Yamada et al. (2009a) を改変)

A; 総浸透圧, B; 糖質由来浸透圧, C; 無機イオン由来浸透圧. ステージは第 14 図と同じ。

(4) 花卉展開に関わる遺伝子とタンパク質

糖質の輸送と代謝にはさまざまな酵素タンパク質が関

与している。また、細胞が肥大するためには、細胞に水が流入するとともに細胞壁が緩むことが必要であると考えられている。細胞壁の緩みにはエクспанシンなど、多くの酵素タンパク質がある。

バラの花弁展開にともなう細胞肥大において、花弁展開にともない細胞壁の緩みが起こっている。さらに、細胞壁の緩みに関係すると考えられているエクспанシンとXTHの遺伝子発現は花弁成長にともない著しく上昇することから、これらのタンパク質が細胞肥大に重要な役割を果たしていることが示唆される (Yamada et al., 2009c)。

カーネーションでは花弁の展開にともなう遺伝子発現の変動が解析され、オーキシン応答性遺伝子をはじめとするいくつかの遺伝子発現が花弁展開にともない上昇することが報告されている (Harada et al., 2010)。

バラでは切り花にすると花弁展開が抑制される品種がある。株上に比較して、花弁のインベルターゼ活性は低く推移することから、花弁展開におけるインベルターゼの重要性も示唆されている (Yamada et al., 2007a)。

チューリップは温度上昇により花弁が展開し、温度低下により花弁が閉じる。温度上昇にともなう花弁の展開には水チャンネルをコードするアクアポリンタンパク質のリン酸化の関与が示唆されている (Azad et al., 2004)。

(5) 花弁展開と植物ホルモン

植物ホルモンの中では、ジベレリンとエチレンが花弁展開に関与していることが報告されている。ジベレリンはバラ (Sabehat and Zieslin, 1995) の花弁成長とスターチス (Steintz and Cohen, 1982) 切り花の開花を促進する。一方、フリージアとグラジオラスでは、蕾の開花がSTS処理により促進されることから、エチレンは開花に抑制的に作用すると考えられる (Serek et al., 1994a)。

興味深いことにバラの花弁展開においては、エチレンが促進的に作用する品種と、抑制する品種、さらには無関係な品種があることが報告されている (Reid et al., 1989)。

Gaoのグループはエチレンにより花弁展開が促進される品種と抑制される品種を用いて、花弁展開とエチレンとの関係について研究を進めている。品種‘サマンサ’では、エチレン処理により花弁展開は促進されるが、背軸側表皮細胞の肥大はむしろ抑制される (Ma et al., 2008)。したがって、エチレンによる花弁展開促進はエチレン処理では背軸側表皮細胞の成長抑制が原因であることが示唆される。水チャンネルをコードするアクアポ

リン遺伝子の発現はエチレン処理により低下する。また、アクアポリン遺伝子の発現を抑制することにより、花弁細胞の肥大が抑制される。したがって、エチレンによる細胞肥大の抑制はアクアポリン遺伝子が関わっていることが示唆される (Ma et al., 2008)。

バラ‘サマンサ’では、エチレン受容体遺伝子の発現はエチレン処理により著しく上昇する (Ma et al., 2006b; Xue et al., 2008)。一方、エチレン処理により開花が抑制される品種‘カーディナル’では、エチレンによりエチレン受容体遺伝子の発現が促進されない。しかし、CTRとEIN3ホモログの遺伝子発現には両品種で差はみられない (Tan et al., 2006)。したがって、バラの品種によるエチレン受容体の差が開花に及ぼす影響の差異になっている可能性がある。

9. 花弁に含まれる色素と退色

花弁の構成色素は大別すると、アントシアニン・フラボノイド類、カロテノイド類およびベタシアニン類に大別される。このうち、アントシアニン・フラボノイド類とベタシアニン類は水溶性であり液胞に蓄積する。カロテノイド類は脂溶性でクロモプラストに蓄積する。紫色あるいはピンク色の花色発現に関与する色素はアントシアニンである。赤色あるいはオレンジ色に関与する色素もアントシアニンが多い。黄色の花色発現に関与する色素はカロテノイドが一般的であるが、フラボノイドとその類縁体であるオーロンが関与している場合もある。ベタシアニンは赤、ピンク、黄色の花色発現に関与しているが、アントシアニンを蓄積するタイプの花弁ではベタシアニンは含まれていない。それとは対照的に、ベタシアニンを含む花弁ではアントシアニンは含まれていない。ただし、ベタシアニンを花弁の主要な構成色素とする花きは、オシロイバナ、マツバボタンなど限られている。

アントシアニンを主要な花色色素とする切り花品目では、単に水に生けた場合には、蕾の花色が十分に発現しない場合が多い。この原因はアントシアニンの色素そのものの合成が抑制されるためである。切り花への糖質処理は、基質を供給するだけでなく、アントシアニン合成に関与する遺伝子発現を促進し、アントシアニンを増加させ、花色発現を向上できる (Kawabata et al., 1999; Moalem-Beno et al., 1997)。

アントシアニンを主要な構成色素とする花弁では、老化にともない退色が起こる。特に、ピンク色のバラが、

紫がかかる現象はブルーイングと呼ばれる。本来、赤い花色のバラが黒ずんでくるともブルーイングの一種である。ブルーイングの原因は花卉細胞中の pH の変化が原因であることが示唆されている (Oren-Shamir et al., 2001)。

スイートピーでは花卉が退色し、白みがかかる。この原因は pH の変化だけでなく、花色発現を促進するコピグメント物質の蓄積と発現を抑制する物質の蓄積のバランスによることが最近明らかにされた (Shimizu-Yumoto et al., 2009)。

10. 切り花の水分生理

(1) 切り花の老化にともなう水分状態の変化

切り花において、その水分状態は切り花の品質保持期間に影響を及ぼす重大な要因である。切り花の水分状態は吸水量と蒸散量の差し引きにより決まる。水揚げが悪化すると切り花の萎凋が引き起こされるが、この直接の原因は吸水量より蒸散量が多いことである。したがって、水揚げは単に‘水の吸収’を意味する語ではなく、‘切り花の水分状態’を表す語であるとみなすべきである。吸水量が多くても、それよりも蒸散量が多ければ水揚げが悪化する。したがって、吸水量が多ければ水揚げがよいということにはならない。吸水の原動力は蒸発散による蒸散流である。

蒸散には二つの経路がある。気孔内の葉肉細胞を通じて行なわれるものを気孔蒸散といい、表皮細胞のクチクラ層を通じて行なわれるものをクチクラ蒸散という。全蒸散量に対するクチクラ蒸散の割合は 10%以下と少ないのが普通である。気孔蒸散の速度は、気孔内の水蒸気濃度と周辺大気の水蒸気濃度の差に比例し、その間の拡散抵抗に反比例する。拡散抵抗は、気孔内から葉表面までの抵抗である気孔抵抗と葉表面から自由大気までの拡散抵抗である葉面境界層抵抗からなる。

一般に気孔は明所および低湿度条件では開きやすく、水揚げが悪化しやすい。そのため、切り花は暗所で高湿度条件下での保管が有効である。バラなど、水揚げが悪化しやすい切り花では、葉を除去する、あるいは気孔の開鎖を促進する ABA を処理すると、水揚げが改善され、品質保持期間が延長する (Halevy et al., 1974)。

切り花の水分状態は水ポテンシャルの値により定量的に表すことができる。バラでは、 $-0.2 \sim -0.4$ MPa でキャビテーション (導管中の水柱が不連続となる現象) が起こり (Dixon et al., 1988)、 -0.9 MPa になると水分が約 10% 損失し、ベントネックが発生し始める (Hu et al., 1998)。ま

た -4 MPa になると、水分は 50% 損失し、通導抵抗が 0 になる (Dixon et al., 1988)。

バラ切り花では、蒸散は明暗周期のある条件下では日変動する。明期には気孔が開いて蒸散が促進され水分状態が悪化しやすいが、暗期には蒸散が抑制され水分状態が回復する。連続照明下で保持した場合でも、日周変動の傾向は維持されるが、暗黒条件下で保持すると、蒸散量の変動はみられず、低いレベルで推移する (土井ら, 1999)。

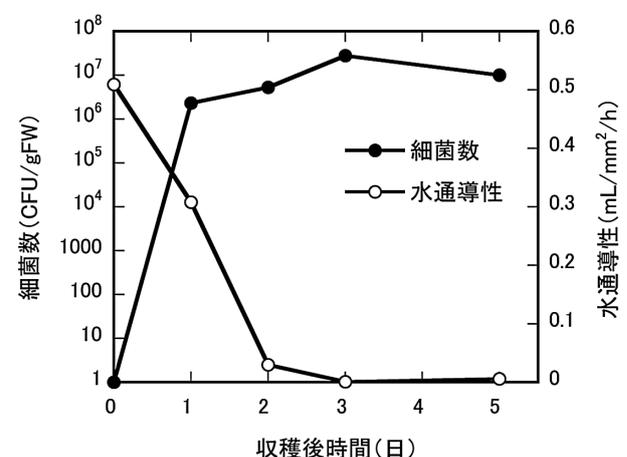
バラでは茎の表面から水は吸収されない (van Doorn, 1994) が、キク (土井・鈞賀, 2009) やガーベラ (van Meeteren, 1978) では茎の表面からも吸収されることが明らかにされている。この違いはクチクラ層の発達の違いが原因しているかもしれない。

導管の閉塞により通導抵抗は上昇する。また、水通導性は通導抵抗の逆数であるため、導管閉塞にともない低下し、吸水が抑制される。その結果、蒸発散による水の損失が吸収を上回ると、水揚げが悪化する。

導管の閉塞は水分状態悪化の直接的な原因である。導管閉塞は収穫してから数日後に問題となる場合が多い。導管を閉塞させる原因として細菌の繁殖、切り口の気泡などいくつかの事柄があげられている。

(2) 細菌と導管閉塞

生け水中に増殖した微生物は導管閉塞を引き起こすことが知られており、特に細菌は導管閉塞の重大な原因であると考えられている。生け水および導管において細菌の増殖にともない導管閉塞が進行し (第 16 図) (Ueyama and Ichimura, 1998; van Doorn et al., 1989, 1991)、細菌を生け水中に添加すると導管閉塞が促進される (de Witte



第 16 図 バラの茎基部における細菌数と水通導性の変動

and van Doorn, 1988; Zagory and Reid, 1986). また、抗菌剤処理は細菌濃度を低下させるとともに、導管閉塞を抑制する (Gilman and Steponkus, 1972; Ichimura et al., 2003; Jones and Hill, 1993; van Doorn and Perik, 1990; van Doorn et al., 1989). このような研究結果は、生け水中の細菌が導管を閉塞させる原因であることを強く支持している。

細菌に対する感受性は切り花の種類により異なっており、バラ (Jones and Hill, 1993) とガーベラ (Clerkx et al., 1989; van Doorn and de Witte, 1994) は弱く、 10^6 CFU (colony forming unit) /mL 以上の濃度で著しく花持ちが短縮するが、カーネーションは比較的強く、その濃度では花持ちに影響しない (Jones and Hill, 1993).

バラでは、シュドモナス属が主要な細菌であることが報告されている (Put, 1990; van Doorn et al., 1991). 切り花は乾式すなわち水に挿さない状態で輸送されることが一般的であるが、このような状態でも、細菌は生け水に挿したときと同様に増殖する (van Doorn and de Witte, 1991).

微生物の種類により花持ちに及ぼす影響が異なり、シュドモナス属の細菌と酵母の特定の系統はカーネーションとバラの花持ちを著しく短縮させることが明らかにされている (de Witte and van Doorn, 1988; Zagory and Reid, 1986).

細菌が導管閉塞を引き起こす機構については、依然として不明の点が多い。バラの茎の断面積の3分の2の部分にかみそりを挿しても、水揚げ程度は変化しないことが報告されている (van Doorn et al., 1989). したがって、水揚げの悪化には大部分の導管が閉塞されることが必要であることを示唆している。顕微鏡観察による結果において、切り口が分泌物をともなった細菌でおおわれていることを示す報告もある (van Doorn et al., 1991) が、閉塞している導管の割合は2~4%程度にしかすぎないとする報告もある (Rasmussen and Carpenter, 1974).

また、死滅させた細菌の懸濁液でも導管閉塞を引き起こすことから、細菌は導管を物理的に閉塞させているという見解がある (van Doorn and de Witte, 1991). しかし、Put and Jansen (1989) による詳細な解析により、生きている細菌のほうが死んだ細菌よりも導管を閉塞させる作用が大きいことが明らかにされている。したがって、導管閉塞は細菌そのものによる物理的な作用のみではないことを示唆している。これに関して、細菌の分泌産物が、その生理的作用により導管を閉塞させていることを示唆する報告がある。カーネーション切り花では、4種類の

細菌の分泌産物のうち、3種類により水揚げが低下する (Accati et al., 1980). 導管中には細菌の分泌産物あるいは細菌の酵素により分解された植物由来と考えられるペクチンなどの多糖およびタンパク質が集積していることが組織化学的方法により示されている (Lineberger and Steponkus, 1976; Parups and Molnar, 1972). また、バラの切り花において、細菌から精製されたペクチン分解に関与する酵素であるペクチンリアーゼとポリガラクトナーゼを生け水に添加すると、水揚げが低下することが報告されている (Put and Rombouts, 1989). これらの結果は分泌産物が悪影響を及ぼしていることを支持するものである。しかしながら、実際に与えた濃度と同等の濃度の酵素を分泌しているかは不明であることに加えて、生け水から単離された細菌にペクチン分解活性は検出されなかった報告 (de Witte and van Doorn, 1988) もあることから、ペクチン分解酵素が導管閉塞に関与しているかはさらに検討する必要がある。細菌の分泌産物の成分については未知のところが多いが、酵素以外の分泌物が導管閉塞に関与している可能性もある。分泌物と導管閉塞との関係を解明するためには、さらなる研究が必要である。

(3) 切り口に入り込んだ空気およびキャビテーションによる導管閉塞

切り口を空気にさらすと、空気が導管に入り込む。このような空気による導管閉塞は水の吸収を阻害する。切り口から入り込んだ空気に加え、キャビテーションと呼ばれる茎の内部に生じる気泡も吸水を阻害する。

バラ切り花では、脱気した水あるいは濾過した水を生け水に用いると吸水が促進される (Durkin, 1979ab). それとは逆に、生け水を通気することにより、吸水が抑制される (van Doorn, 1990). これらの知見は生け水中の気泡が導管閉塞に関与していることを支持している。

乾式輸送は湿式輸送に比較して水通導性の低下が著しく、花持ちが短縮しやすい (Hu et al., 1998). 乾式輸送では、このような空気による導管閉塞により、切り花の水状態が悪化し、品質保持期間が短縮する。

バラ切り花では、水揚げに品種間差が存在する。バラ切り花では、空気にさらす時間の長短によりその後の吸水が阻害される時間が品種により異なっている。4品種を用いて行った試験では、最も水揚げがよい‘フリスコ’では36時間でも吸水は抑制されないが、最も水揚げが悪化しやすい‘キャラミア’では3時間で吸水が著しく抑

制される (van Doorn and Reid, 1995).

キャビテーションは切り花にせず、花茎を株に付けた状態でも起こる。株上のバラでは、夜明け後徐々に増加し、10時前後にピークに達し、次第に低下する (van Doorn and Suiro, 1996)。これは、昼間の蒸散により水分が損失したことにより起こると推定される。

バラ切り花では、キャビテーションが起こる時間には著しい品種間差がある。最も水揚げが悪い‘キャラミア’では切り口を空気にさらした3時間後には、その発生がピークに達するのに対して、水揚げが比較的優れる‘ソニア’では、発生がピークに達するのは20時間以降であることが報告されている (van Doorn and Suiro, 1996)。このように水揚げの品種間差はキャビテーションの品種間差と対応していることから、バラ切り花ではキャビテーションが導管閉塞に関与していることが示唆される。

(4) 傷害による生理的応答と導管閉塞

植物の茎が切断されると傷口を治癒するため、スベリンやリグニンをはじめとして、表皮を保護する物質の合成と蓄積が起こる。キク (van Doorn and Cruz, 2000; van Doorn and Vaslier, 2002) とアスチルベ (Loubaud and van Doorn, 2004) では、切断傷害により誘導される生理的応答が導管閉塞に関与していることが明らかにされている。

キクでは、切り花をポリエチレン袋に入れて高湿度条件下で12時間保持した後、切り花を水に生けると、葉の萎れが進行する (van Doorn and Cruz, 2000)。この原因として、細菌、切り口に侵入した空気およびキャビテーションが関与している可能性が考えられる。しかし、保管中には細菌はほとんど増殖しない (van Doorn and Cruz, 2000)。また、切り口から空気を吹き込むと、空気の吸収は20分程度で止まるが、葉の萎れはそれよりもはるか後に起こる。また、キャビテーションは萎れが起こった後、観察される (van Doorn and Cruz, 2000)。これらの結果は、細菌、切り口に侵入した空気およびキャビテーションは導管閉塞の原因ではなく、切断傷害による何らかの生理的応答が導管閉塞の原因になっていることを示唆している。この生理的応答に関して、アスコルビン酸、安息香酸などの酸化防止剤で処理すると、細菌の増殖は抑制できないが、葉の萎れは抑制される (van Doorn and Cruz, 2000)。また、パーオキシダーゼとカテコール酸化酵素阻害剤の処理により、導管閉塞が遅延することから、酸化が関わるリグニン生合成が関与していることが示唆

される (van Doorn and Vaslier, 2002)。

同様に、アスチルベ切り花では乾式で高湿度条件下での保管により、萎れが促進される (Loubaud and van Doorn, 2004)。抗菌作用のない薬剤であらかじめ処理した後、空気にさらすと萎れが抑制される。これらの結果から、アスチルベ切り花では、傷害による酸化反応により導管閉塞が引き起こされることが示唆される。

ブルバディア切り花においても、空気中にさらす時間が短時間でも萎れが起こり、パーオキシダーゼおよびカタコールオキシダーゼ阻害剤の処理により萎れが抑制されることから、酸化反応が導管閉塞に関与していることが示唆される (Vaslier and van Doorn, 2003)。

バラの茎を無菌条件下で保持した場合でも導管が閉塞することが示されており、導管の閉塞は未知の生理的要因により起きることが提案されている (Marousky, 1969)。ただし、異なる結果も報告されている (van Doorn et al. 1989; Loubaud and van Doorn, 2004) ことから、バラの導管閉塞に傷害応答が関与しているか否かについては、詳細な検討が必要であろう。

このような可視的には識別できない傷害による導管閉塞とは別に、ブルースターやポインセチアのように切断により汁液を溢泌する植物種もあり、これらは汁液が固化することにより導管が閉塞する (平谷ら, 2002)。

(5) 導管閉塞を引き起こす要因の相互関係

バラ切り花では細菌の増殖は吸水を阻害し、結果として導管中に気泡が生じキャビテーションを引き起こす (Bleeksma and van Doorn, 2003)。また、乾式輸送の時間が長くなるとキャビテーションが起こることが示唆されている。このような複合的な要因により、導管閉塞は進行するのであろう。導管閉塞を引き起こす要因の解析にあたり、抗菌剤は植物そのものの細胞死を引き起こし、傷害反応を抑制することが少なくない。また、酸化防止剤も抗菌効果がある場合が多く、導管閉塞を引き起こす要因の解析を複雑にしている。

キク切り花を空気中に放置すると導管閉塞が誘導され、その時間が短い場合には、脱気のみにより導管閉塞から回復する。放置時間が長い場合には、カタコール酸化酵素の阻害剤であらかじめ処理した切り花では、脱気により導管閉塞から回復する (van Meeteren et al., 2006)。したがって、乾式輸送した場合、初期段階では導管閉塞に空気が関与しており、時間の経過にともない酸化反応も導管閉塞に関与することが示唆される。なお、キク切り花においても、抗菌剤処理は水分状態を良好にするこ

とから、水に生けた場合には細菌も導管閉塞の原因になっていることが示唆される(峯ら, 2008)。

このように、導管閉塞には複数の要因が相互に関わりあっていることが明らかになりつつある。

11. 負の屈地性による茎の屈曲

負の屈地性により、切り花を横置きにすると花穂が上方に屈曲し、結果として花穂が曲がる切り花がある。代表的なものにキンギョソウ、ストック、グラジオラスなどがある。

キンギョソウでは、負の屈地性により茎が屈曲する機構が詳細に研究されている。屈曲する過程で茎の下側の細胞肥大が促進され、上側の細胞肥大は抑制される。この肥大の差が屈曲を引き起こす。下側の細胞では縦軸方向への成長が促進される(Friedman et al., 2003)。

カルシウムイオンチャンネルの阻害剤である塩化ランタンあるいはEGTAなどのカルシウムイオンのキレート化合物の処理により屈曲が抑制される(Philosoph-Hadas et al., 1996; Friedman et al., 1998)。それとは逆に塩化カルシウム処理により屈曲は促進される。また、茎の屈曲はカルシウムのイオノフォア処理によりさらに促進される(Philosoph-Hadas et al., 1996)。これらの結果は負の屈地性にカルシウムイオンが関与していることを示唆する。しかし、塩化カリウムも塩化カルシウムと同様に屈曲を促進することから、屈曲はカルシウムイオンのみでは説明できない可能性も残されている。

キンギョソウの切り花を水平に置くと、屈曲するが、そのとき茎の下に置かれた部位からのエチレン生成が促進される。エチレン処理は屈曲を促進し、エチレン作用阻害剤であるSTSとNBD処理およびエチレン合成阻害剤である塩化コバルト処理は屈曲を抑制することから、屈曲にはエチレンが関与していることが示唆される。しかし、エチレン阻害剤の屈曲抑制効果は塩化ランタンのそれほどは高くない(Philosoph-Hadas et al., 1996)。

屈曲は安息香酸処理によっても著しく抑制されるが、小花の萎凋を引き起こす。また、pHを8に調整したトリス・メス緩衝液によっても屈曲は抑制されるが、pHを低くすると抑制効果は小さくなる(Friedman et al., 2005b)。なお、安息香酸およびトリス・メス緩衝液処理とカルシウムイオンとの関係はまったくわかっていない。

球根性の花きであるオーニソガラムにおいても、カルシウムイオンチャンネルの阻害剤である塩化ランタンあるいはEGTAなどのカルシウムイオンのキレート化合物

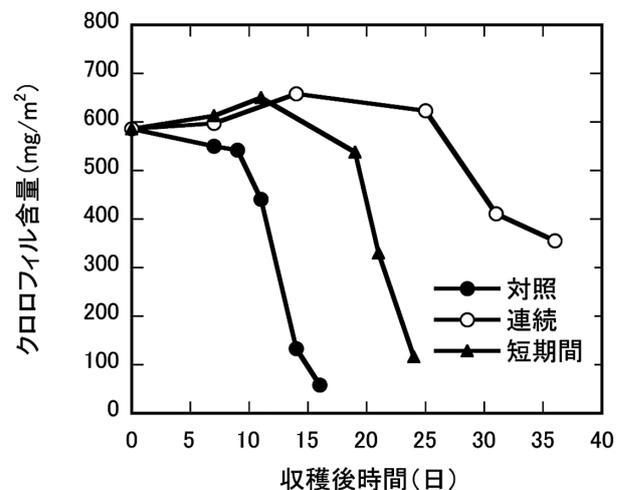
の処理により屈曲が抑制される。また、水平に置くと、茎の下に置かれた部位からのエチレン生成が促進される(Friedman et al., 2005a)。オーニソガラムは双子葉植物であるキンギョソウとは遠縁の単子葉植物であることから、植物種に共通した機構の存在が示唆される。

12. 葉の黄化

花そのものが萎れるよりも前に葉が黄化して、観賞価値を失う花きがある。代表的な品目はアルストロメリアである。他に、ユリやスイセンでも葉が黄色くなって観賞価値を失う場合もある。キクでも、花の萎れに先立って葉が黄化し、観賞価値を失う場合が多い。

アルストロメリア切り花の葉では、老化にともないジベレリン含量が減少し(Kappers et al., 1997)、活性型のジベレリンはGA₄であることが示唆されている(Kappers et al., 1998)。また、ジベレリン処理により葉の黄化が抑制される(Hicklenton, 1991; van Doorn et al., 1992)。合成サイトカイニン処理でも葉の黄化を抑制できるが、その効果はジベレリンほど高くない(van Doorn et al., 1992)。このようなことから、葉の黄化はジベレリンの不足によって起こると考えられている。スイセン(Ichimura and Goto, 2000b, 2002)およびユリ(Han, 1995)切り花においても、ジベレリンの水溶液を吸収させると、葉の黄化を抑制できることが明らかにされている(第17図)。

一方、キクの切り花では、葉の黄化はエチレンにより



第17図 ニホンスイセン切り花の葉のクロロフィル含量に及ぼすジベレリン処理の影響(Ichimura and Goto (2000b)を改変) ジベレリンの濃度は0.1mM、短期間処理は20時間行う。

引き起こされていることが明らかにされている (Doi et al., 2003, 2004). 具体的には、キクをエチレンに曝すと、花が萎れることはないが、葉が黄化する。これにはかなりの品種間差がある。1 ppmのエチレンで14日間曝露処理した場合、‘秀芳の力’では6日目以降、‘精興の誠’では10日目以降、葉の黄化が観察されるが、‘神馬’や‘岩の白扇’のようにまったく黄化しない品種も存在する (Doi et al., 2003). エチレンにより黄化しやすい品種でも、エチレンの作用を阻害するSTS剤で処理すると、葉の黄化を抑えることができる (Doi et al., 2003). したがって、キク切り花の葉の黄化にはエチレンの生成が関係していると考えられている。また、‘秀芳の力’では収穫後の時間経過にともない、葉のエチレンに対する感受性は上昇し、葉のACC含量も増加する (Doi et al., 2004). このような知見は、キクではエチレンが葉の黄化に密接に関係していることを示している。

アルストロメリアをはじめとする単子葉の花きではジベレリンの不足が、またキクではエチレン生成が葉の黄化に関与していることが明らかにされてきた。では、ジベレリンとエチレンの関係はどのようなものであろうか。これに関して、ユリでは、エチレン処理により葉の黄化が促進されず、エチレン阻害剤STS処理により葉の黄化を抑制できないことが報告されている (Han and Miller, 2003). したがって、エチレンはユリ葉の黄化に重要な役割を果たしていないと考えられる。一方、ジベレリンがキクの葉の黄化抑制に及ぼす効果はわかっていない。

13. 今後の課題

オランダ、米国、イスラエル、イギリス、デンマーク、オーストラリアおよび我が国をはじめとする各国の研究者の努力により、切り花の収穫後生理機構に関する研究は着実な進展をみせてきた。

エチレンの生合成と情報伝達に関与する遺伝子が1990年代以降、多くの花きから単離され、発現パターンが明らかにされた。しかし、花きの種類によるエチレンに対する感受性の違いがどのような機構によるのかは、まったく解明されていない。エチレンに対する感受性の低いキクとグラジオラスでも、エチレンの受容体遺伝子は発現している (Narumi et al., 2005; Arora et al., 2006). また、バラではエチレンにより誘導される生理的応答は花卉の萎凋ではなく脱離であるが、エチレン受容体と情報伝達に関わる遺伝子は花卉において発現している (Müller et

al., 2000ab, 2002, 2003) ことから、エチレンは受容され、その情報は伝達されると考えられる。このようなことから、エチレンにより花卉の萎れが誘導されない花きであっても、エチレンは受容され、その情報は伝達されていると考えられる。エチレンに感受性の高い花卉萎凋型花きでは、老化過程で加水分解酵素が誘導され、細胞内構成成分の分解が進行する (Matile and Winkensbach, 1971). したがって、エチレンの情報伝達後、このような細胞死に関わる直接的な反応にスイッチが入らないことが原因となっているのではないかとこの仮説を提案することができる。この実証は今後の課題である。

カーネーション、ハナスベリヒユなどのエチレンに感受性の高い花きでは、花卉の老化に雌蕊あるいは雄蕊が重要な役割を果たしていることを示唆する報告が出されてきた (Shibuya et al., 2000; Ichimura and Suto, 1998). しかし、その詳細は不明な点が多く、今後の解析が期待される。

エチレンに感受性の低い花きでは、老化の鍵となる要因はいまだ解明されていない。RNA合成阻害剤あるいはタンパク質合成阻害剤の老化遅延効果から、老化を誘導あるいは制御する遺伝子の存在が示唆され、プログラム細胞死に関する研究は多くの花きで進展したが、老化の鍵となる遺伝子は特定されていない。プログラム細胞死の機構と老化関連遺伝子の機能解析が必要である。特に、オートファジーとの関係についての研究は緒についたばかりであり、今後の研究の推進が必要である。このような研究を通じて、老化の鍵となる要因の解明が期待される。

アイリスなどの花卉における表皮細胞と柔細胞では、細胞死の時期が異なることが明らかにされている (van Doorn et al., 2003). したがって、異なる細胞ごとに老化機構を解析することが必要となっている。これに関して、最近、ユリをはじめとする一部の花きでは向軸側表皮細胞、背軸側表皮細胞および柔細胞を比較的容易に分離できることが明らかにされた (渡邊ら, 2008). したがって、分離した細胞を用い、細胞死の機構の解明が期待される。

花卉展開に関する研究は、ここ数年いくつかの研究グループにより取り上げられるようになり、進展した。花卉の展開は向軸側と背軸側の成長差によりもたらされることから、向軸側および背軸側表皮細胞と柔細胞を分離して、解析することが重要である。細胞の分離法が開発されたことにより、今後の進展が期待される。

水分生理に関する研究は、ここ数年は大きな進展がみ

られていない。細菌が導管閉塞を引き起こす主因であることは間違いのない事実と認識されているが、細菌が導管閉塞をどのような機構により引き起こしているかはいまだ不明である。他方、傷害応答により導管閉塞を引き起こすことも実証されたが、その分子機構も不明である。また、導管閉塞を引き起こす要因の相互関連を検討することも必要であろう。

本稿では発表されている論文が少ないため特に取り上げなかったが、切り花において重要な品質構成要素である香気成分の収穫後の生成機構に関する研究が、今後重要になると考えられる。キンギョソウとペチュニアでは受粉により老化が促進される過程で、香気成分の生合成が抑制される (Negre et al., 2003)。一方、バラでは糖質処理により香気成分量が減少する (Helsper et al., 1998)。Helsper らの論文では老化にはふれていないが、一般に糖質処理により老化は遅延することから、キンギョソウとバラでは香気成分の生合成機構が異なる可能性があり、このような点からも興味が持たれる。

以上のように、切り花の収穫後生理において解決が必要な課題は数多い。今後さらなる収穫後生理機構研究の進展に基づき、革新的な切り花の品質保持技術が開発されることが期待される。

引用文献

- Accati, E., S. Mayak and I. Abbatista Gentile. 1980. The role of bacterial metabolite(s) in affecting water uptake by carnation flowers. *Acta Hort.* 113: 137-142.
- Adachi, M., S. Kawabata and R. Sakiyama. 1999. Changes in carbohydrate content in cut chrysanthemum [*Dendranthema × grandiflorum* (Ramat.) Kitamura] 'Shuho-no-chikara' stems kept at different temperatures during anthesis and senescence. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 68: 505-512.
- Adam, Z., A. Borochoy, S. Mayak and A. H. Halevy. 1983. Correlative changes in sucrose uptake, ATPase activity and membrane fluidity in carnation petals during senescence. *Physiol. Plant.* 58: 257-262.
- Alonso, J. M., T. Hirayama, G. Roman, S. Nourizadeh and J. R. Ecker. 1999. EIN2, a bifunctional transducer of ethylene stress responses in *Arabidopsis*. *Science* 284: 2148-2152.
- Arora, A., S. Watanabe, B. Ma, K. Takada and H. Ezura. 2006. A novel ethylene receptor homolog gene isolated from ethylene-insensitive flowers of gladiolus (*Gladiolus grandiflora* hort.). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 351: 739-744.
- Azad, A. K., Y. Sawa, T. Ishikawa and H. Shibata. 2004. Phosphorylation of plasma membrane aquaporin regulates temperature-dependent opening of tulip petals. *Plant Cell Physiol.* 45: 608-617.
- Bai, S., B. Willard, L. J. Chapin, M. T. Kinter, D. M. Fransis, A. D. Stead and M. L. Jones. 2010. Proteomic analysis of pollination-induced corolla senescence in petunia. *J. Exp. Bot.* 61: 1089-1109.
- Bailly, C., F. Corbineau and W. G. van Doorn. 2001. Free radical scavenging and senescence of *Iris* tepals. *Plant Physiol. Biochem.* 39: 649-656.
- Baker J.E., Wang C.Y., Lieberman M., Hardenburg R. 1977. Delay of senescence in carnations by a rhizobitoxine analog and sodium benzoate. *HortScience* 12: 38-39.
- Barden, L. E. and J. J. Hanan. 1972. Effect of ethylene on carnation keeping life. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 97: 785-788.
- Bartoli, C. G., M. Simontacchi, E. Montaldi and S. Puntarulo. 1996. Oxidative stress, antioxidant capacity and ethylene production during ageing of cut carnation (*Dianthus caryophyllus*) petals. *J. Exp. Bot.* 47: 595-601.
- Bassham, D. C., M. Laporte, F. Marty, Y. Moriyasu, Y. Ohsumi, L. J. Olsen and K. Yoshimoto. 2006. Autophagy in development and stress responses of plants. *Autophagy* 2: 2-11.
- Beutelmann, P. and H. Kende. 1977. Membrane lipids in senescing flower tissue of *Ipomoea tricolor*. *Plant Physiol.* 59: 888-893.
- Bielecki, R. L. 1993. Fructan hydrolysis drives petal expansion in the ephemeral daylily flower. *Plant Physiol.* 103: 213-219.
- Bielecki, R. L. 1995. Onset of phloem export from senescent petals of daylily. *Plant Physiol.* 109: 557-565.
- Bleeksma, H. C. and W. G. van Doorn. 2003. Embolism in rose stems as a result of vascular occlusion by bacteria. *Postharv. Biol. Technol.* 29: 334-340.
- Borochoy, A., M. H. Cho and W. F. Boss. 1994. Plasma membrane lipid metabolism of petunia petals during senescence. *Physiol. Plant.* 90: 279-284.
- Borochoy, A. and J. Faragher. 1983. Comparison between ultraviolet irradiation and ethylene effects on senescence parameters in carnation flowers. *Plant Physiol.* 71: 536-540.
- Borochoy, A., A. H. Halevy, H. Borochoy and M. Shinitzky. 1978. Microviscosity of plasmalemmas in rose petals as affected by age and environmental factors. *Plant Physiol.* 61: 812-815.
- Borochoy, A., A. H. Halevy and M. Shinitzky. 1976a. Increase in microviscosity with ageing in protoplast plasmalemma of rose petals. *Nature* 263: 158-159.

- Borochoy, A., A. H. Halevy and M. Shinitzky. 1982. Senescence and the fluidity of rose petal membranes. Relationship to phospholipid metabolism. *Plant Physiol.* 69: 296-299.
- Borochoy, A., S. Mayak, and A. H. Halevy. 1976b. Combined effects of abscisic acid and sucrose on growth and senescence of rose flowers. *Physiol. Plant.* 36: 221-224.
- Borochoy, A., T. Tirosh and A. H. Halevy. 1976c. Abscisic acid content of senescing petals on cut rose flowers as affected by sucrose and water stress. *Plant Physiol.* 58: 175-178.
- Borochoy, A. and W. R. Woodson. 1989. Physiology and biochemistry of flower petal senescence. *Hort. Rev.* 11: 15-43.
- Brandt, A. S. and W. R. Woodson. 1992. Variation in flower senescence and ethylene biosynthesis among carnations. *HortScience* 27: 1100-1102.
- Breeze, E., C. Wagstaff, E. Harrison, I. Bramke, H. Rogers, A. Stead, B. Thomas and V. Buchanan-Wollaston. 2004. Gene expression pattern to define stages of post-harvest senescence in *Alstroemeria* petals. *Plant Biotechnol. J.* 2: 155-168.
- Broun, R. and S. Mayak. 1981. Aminoxyacetic acid as an inhibitors of ethylene synthesis and senescence in carnation flowers. *Sci. Hortic.* 22: 173-180.
- Brown, J. H., D. V. Lynch and J. E. Thompson. 1987. Molecular species specificity of phospholipid breakdown in microsomal membranes of senescing carnation flowers. *Plant Physiol.* 85: 679-683.
- Bui, A. Q. and S. D. O'Neill. 1998. Three 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase genes regulated by primary and secondary pollination signals in orchid flowers. *Plant Physiol.* 116: 419-428.
- Burg, S. P. and M. J. Dijkman. 1967. Ethylene and auxin participation in pollen induced fading of *Vanda* orchid blossoms. *Plant Physiol.* 42: 1648-1650.
- Celikel, F. and M. S. Reid. 2002. Postharvest handling of stock (*Matthiola incana*). *HortScience* 94: 515-521.
- Celikel, F. and W. G. van Doorn. 1995. Solute leakage, lipid peroxidation, and protein degradation during the senescence of *Iris* tepals. *Physiol. Plant.* 94: 515-521.
- Chang, H., M. L. Jones, G. M. Banowitz and D. G. Clark. 2003. Overproduction of cytokinins in petunia flowers transformed with PSAG12-IPT delays corolla senescence and decreases sensitivity to ethylene. *Plant Physiol.* 132: 2174-2183.
- Chang, Y.-S. and H.-C. Chen. 2001. Variability between silver thiosulfate and 1-naphthaleneacetic acid applications in prolonging bract longevity of potted bougainvillea. *Sci. Hortic.* 87: 217-224.
- Chao, Q., M. Rothenberg, R. Solano, G. Roman, W. Terzaghi and J. R. Ecker. 1997. Activation of the ethylene gas response pathway in Arabidopsis by the nuclear protein ETHYLENE-INSENSITIVE3 and related proteins. *Cell* 89: 1133-1144.
- Chapin, L. J. and M. L. Jones. 2009. Ethylene regulates phosphorus remobilization and expression of a phosphate transporter (*PhPT1*) during petunia corolla senescence. *J. Exp. Bot.* 60: 2179-2190.
- Chen, Y.-F., N. Etheridge and E. Schaller. 2005. Ethylene signal transduction. *Ann. Bot.* 95: 901-915.
- Chen, Y.-F., M. D. Randlett, J. L. Findell and E. Schaller. 2002. Localization of the ethylene receptor ETR1 to the endoplasmic reticulum of *Arabidopsis*. *J. Biol. Chem.* 277: 19861-19866.
- Clark, D. G., C. Richards, Z. Hilioti, S. Lind-Iversen and K. Brown. 1997. Effect of pollination on accumulation of ACC synthase and ACC oxidase transcripts, ethylene production and flower petal abscission in geranium (*Pelargonium × hortorum* L.H. Bailey). *Plant Mol. Biol.* 34: 855-865.
- Clark, K. L., P. B. Larsen, X. Wang and C. Chang. 1998. Association of the *Arabidopsis* CTR1 Raf-like kinase with ETR1 and ERS ethylene receptors. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 95: 5401-5406.
- Clerkx, A. C. M., A. Boekestein and H. M. C. Put. 1989. Scanning electron microscopy of the stem of cut flowers of *Rosa* cv. Sonia and *Gerbera* cv. Fleur. *Acta Hort.* 261: 97-105.
- Cook, D., M. Rasche and W. Eisinger. 1985. Regulation of ethylene biosynthesis and action in cut carnation flower senescence by cytokinins. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 110: 24-27.
- Courtney, S. E., C. C. Rider and A. D. Stead. 1994. Changes in protein ubiquitination and the expression of ubiquitin-encoding transcripts in daylily petals during floral development and senescence. *Physiol. Plant.* 91: 196-204.
- de Vetten, N. C. and D. J. Huber. 1990. Cell wall changes during the expansion and senescence of carnation (*Dianthus caryophyllus*) petals. *Physiol. Plant.* 78: 447-454.
- de Witte, Y. and W. G. Van Doorn. 1988. Identification of bacteria in the vase water of roses, and effect of the isolated strains on water uptake. *Sci. Hortic.* 35: 285-291.
- Dervinis, C., D. G. Clark, J. E. Barrett and T. A. Nell. 2000. Effect of pollination and exogenous ethylene on accumulation of ETR1 homologue transcripts during flower petal abscission in geranium (*Pelargonium × hortorum* L.H. Bailey). *Plant Mol. Biol.* 42: 847-856.
- Dixon, M. A., J. A. Butt, D. P. Murr and M. J. Tsujita. 1988. Water relations of cut greenhouse roses: The relationships between

- stem water potential, hydraulic conductance and cavitation. *Sci. Hortic.* 36: 109-118.
- Doi, M., K. Aoe, S. Watabe, K. Inamoto and H. Imanishi. 2004. Leaf yellowing of cut standard chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora* Kitamura) 'Shuho-no-chikara' induced by ethylene and the postharvest increase in ethylene sensitivity. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 73: 229-234.
- 土井元章・宮川 (生尾) 昌子・稲本勝彦・今西英雄. 1999. パラ切り花の吸水, 蒸散および水ポテンシャルの変化に及ぼす光周期の影響. *園学雑*. 68: 861-867.
- Doi, M., Y. Nakagawa, S. Watabe, K. Aoe, K. Inamoto and H. Imanishi. 2003. Ethylene-induced leaf yellowing in cut chrysanthemums (*Dendranthema grandiflora* Kitamura). *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 72: 533-535.
- 土井元章・釣賀美帆. 2009. キクシュートの水あげと生け水の物理的特性との関係. *園学研*. 8: 235-241.
- Droillard, M. J., A. Paulin and J. C. Massot. 1987. Free radical production, catalase and superoxide dismutase activities and membrane integrity during senescence of petals of cut carnations (*Dianthus caryophyllus*). *Physiol. Plant.* 71: 197-202.
- Durkin, D. J. 1979a. Some characteristics of water flow through isolated rose stem segments. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 104: 777-783.
- Durkin, D. J. 1979b. Effect of Millipore filtration, citric acid, and sucrose on peduncle water potential of cut rose flower. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 104: 860-863.
- Eason, J. R., J. W. Johnston, L. de Vr B. K. Sinclair and G. A. King. 2000. Amino acid metabolism in senescing *Sandersonia aurantiaca* flowers: cloning and characterization of asparagine synthetase and glutamine synthetase cDNAs. *Aust. J. Plant Physiol.* 27: 389-396.
- Eason, J. R., D. J. Ryan, T. T. Pinkney and E. M. O'Donoghue. 2002. Programmed cell death during flower senescence: isolation and characterization of cysteine proteinases from *Sandersonia aurantiaca*. *Funct. Plant Biol.* 29: 1055-1064.
- Eisinger, W. 1977. Role of cytokinins in carnation flower senescence. *Plant Physiol.* 59: 707-709.
- Elgar, H. J., A. B. Woolf and R. L. Bielecki. 1999. Ethylene production by three lily species and their response to ethylene exposure. *Postharv. Biol. Technol.* 16: 257-267.
- Enomoto, H., K. Kohata, M. Nakayama, Y. Yamaguchi and K. Ichimura. 2004. 2-C-methyl-D-erythritol is a major carbohydrate in petals of *Phlox subulata* possibly involved in flower development. *J. Plant Physiol.* 161: 977-980.
- Evans, R. Y. and M. S. Reid. 1988. Changes in carbohydrates and osmotic potential during rhythmic expansion of rose petals. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 113: 884-888.
- Eze, J. M. O., S. Mayak, J. E. Thompson and E. B. Dumbroff. 1986. Senescence in cut carnation flowers: Temporal and physiological relationships among water status, ethylene, abscisic acid and membrane permeability. *Physiol. Plant.* 68: 323-328.
- Faragher, J. D., E. Wachtel and S. Mayak. 1987. Changes in the physical state of membrane lipids during senescence of rose petals. *Plant Physiol.* 83: 1037-1042.
- Fobel, M., D. V. Lynch and J. E. Thompson. 1987. Membrane deterioration in senescing carnation flowers. Coordinated effects of phospholipid degradation and the action of membranous lipoxygenase. *Plant Physiol.* 85: 204-211.
- Friedman, H., S. Meir, A. H. Halevy and S. Philosoph-Hadas. 2003. Characterization of the asymmetric growth of gravistimulated snapdragon spikes by stem and cell dimension analyses. *Am. J. Bot.* 90: 849-856.
- Friedman, H., S. Meir, I. Rosenberger, A. H. Halevy, P. B. Kaufman and S. Philosoph-Hadas. 1998. Inhibition of the gravitropic response of snapdragon spikes by calcium-channel blocker lanthanum chloride. *Plant Physiol.* 118: 483-492.
- Friedman, H., S. Meir, I. Rosenberger, A. H. Halevy and S. Philosoph-Hadas. 2005a. Calcium antagonists inhibit bending and differential ethylene production of gravistimulated *Ornithogalum 'Nova'* cut flower spikes. *Postharv. Biol. Technol.* 36: 9-20.
- Friedman, H., Z. Zhang, S. Meir, A. H. Halevy and S. Philosoph-Hadas. 2005b. New approaches for post-harvest inhibition of undersired gravitropic bending in various snapdragon (*Antirrhinum majus* L.) cultivars. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 80: 433-438.
- Fromm, J., M. Hajirezaei and I. Wilke. 1995. The biochemical response of electrical signaling in the reproductive system of *Hibiscus* plants. *Plant Physiol.* 109: 375-384.
- Gao, Z., Y. F. Chen, M. D. Randlett, X. C. Zhao, J. L. Findell, J. J. Kieber and G. E. Schaller. 2003. Localization of the Raf-like kinase CTR1 to the endoplasmic reticulum of *Arabidopsis* through participation in ethylene receptor signaling complexes. *J. Biol. Chem.* 278: 34725-34732.
- Gilissen, L. J. W. 1977. Style-controlled wilting of the flower. *Planta* 133: 275-280.
- Gilissen, L. J. W. and F. A. Hoekstra. 1984. Pollination-induced corolla wilting in *Petunia hybrida* rapid transfer through the style of

- a wilting-inducing substance. *Plant Physiol.* 75: 496-498.
- Gilman, K. F. and P. L. Steponkus. 1972. Vascular blockage in cut roses. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 97: 662-667.
- Goh, C. J., A. H. Halevy, R. Engel and A. M. Kofranek. 1985. Ethylene evolution and sensitivity in cut orchid flowers. *Sci. Hortic.* 26: 57-67.
- Goto R., R. Aida, M. Shibata and K. Ichimura. 1999. Role of ethylene on flower senescence of *Torenia*. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 68: 263-268.
- Halevy, A. H., S. Mayak, T. Tirosh, H. Spiegelstein and A. M. Kofranek, 1974. Opposing effects of abscisic acid on senescence of rose flowers. *Plant Cell Physiol.* 15: 813-821.
- Hall, B. P., S. N. Shakeel and G. E. Schaller. 2007. Ethylene receptors: Ethylene perception and signal transduction. *J. Plant Growth Regul.* 26: 118-130.
- Han, S. S. 1995. Growth regulators delay foliar chlorosis of Easter lily leaves. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 120: 254-258.
- Han, S. S. and J. A. Miller. 2003. Role of ethylene in postharvest quality of cut oriental lily 'Stargazer'. *Plant Growth Regul.* 40: 213-222.
- Hanaoka, H., T. Noda, Y. Shirano, T. Kato, H. Hayashi, D. Shibata, S. Tabata and Y. Ohsumi. 2002. Leaf senescence and starvation-induced chlorosis are accelerated by the disruption of an *Arabidopsis* autophagy gene. *Plant Physiol.* 129: 1181-1193.
- Hanley, K. M. and W. J. Bramlage. 1989. Endogenous levels of abscisic acid in aging carnation flower parts. *J. Plant Growth Regul.* 8: 225-236.
- Harada, T., Y. Torii, S. Morita, T. Masumura and S. Satoh. 2010. Differential expression of genes identified by suppression subtractive hybridization in petals of opening carnation. *J. Exp. Bot.* 61: 2345-2354.
- Helsper, J. P. F. G., J. A. Davies, H. J. Bouwmeester, A. F. Krol and M. H. van Kampen. 1998. Circadian rhythmicity in emission of volatile compounds by flowers of *Rosa hybrida* L. cv. Honesty. *Planta* 207: 88-95.
- Henskens, J. A. M., G. J. A. Rouwendal, A. ten Have and E. J. Woltering. 1994. Molecular cloning of two different ACC synthase PCR fragments in carnation flowers and organ-specific expression of the corresponding genes. *Plant Mol. Biol.* 26: 453-458.
- Hicklenton, P. B. 1991. GA₃ and benzylaminopurine delay leaf yellowing in cut *Alstroemeria* stems. *HortScience* 26: 1198-1199.
- 平谷敏彦・清水弘子・市村一雄. 2002. ブルースター (*Oxypetalum caeruleum*) 切り花の品質保持に及ぼす STS, 1-MCP およびスクロース処理の影響. *園学研*. 1: 67-70.
- Hoeberichts, F. A., W. G. van Doorn, O. Vorst, R. D. Hall and M. F. van Wordragen. 2007. Sucrose prevents up-regulation of senescence-associated genes in carnation. *J. Exp. Bot.* 58: 2873-2885.
- Hoekstra, F. A. and R. Weges. 1986. Lack of control by early pistillate ethylene of the accelerated wilting of *Petunia hybrida* flowers. *Plant Physiol.* 80: 403-408.
- Hopkins, M., C. Taylor, Z. Liu, F. Ma, L. McNamara, T. W. Wang and J. E. Thompson. 2007. Regulation and execution of molecular disassembly and catabolism during senescence. *New Phytol.* 175: 201-214.
- Hu, Y., M. Doi and H. Imanishi. 1998. Competitive water relations between leaves and flower bud during transport of cut roses. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 67: 532-536.
- Hua, J. and E. Meyerowitz. 1998. Ethylene responses are negatively regulated by a receptor gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Cell* 94: 261-271.
- Hunter, D. A., A. Ferrante, P. Vernieri and M. S. Reid. 2004a. Role of abscisic acid in perianth senescence of daffodil (*Narcissus pseudonarcissus* L. 'Dutch Master'). *Physiol. Plant.* 121: 313-321.
- Hunter, D. A., B. C. Steel and M. S. Reid. 2002. Identification of genes associated with perianth senescence in daffodil (*Narcissus pseudonarcissus* L. 'Dutch Master'). *Plant Sci.* 163: 13-21.
- Hunter, D. A., M. Yi, X. Xu and M. S. Reid. 2004b. Role of ethylene in perianth senescence of daffodil (*Narcissus pseudonarcissus* L. 'Dutch Master'). *Postharv. Biol. Technol.* 32: 269-280.
- Ichimura, K. and R. Goto. 2000a. Acceleration of flower senescence by pollination in cut 'Asuka-no-nami' *Eustoma* flowers. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 69: 166-170.
- Ichimura, K. and R. Goto. 2000b. Effect of gibberellin A₃ on leaf yellowing and vase life of cut *Narcissus tazetta* var. *chinensis* flowers. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 69: 423-427.
- Ichimura, K. and R. Goto. 2002. Extension of vase life of cut *Narcissus tazetta* var. *chinensis* flowers by combined treatment with STS and gibberellin A₃. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 71: 226-230.
- Ichimura, K. and T. Hiraya. 1999. Effect of silver thiosulfate complex (STS) in combination with sucrose on the vase life of cut sweet pea flowers. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 68: 23-27.
- Ichimura, K. and T. Hisamatsu. 1999. Effect of continuous treatment with sucrose on the vase life, soluble carbohydrate concentrations, and ethylene production of cut snapdragon flowers. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 68: 61-66.
- Ichimura, K., Y. Kawabata, M. Kishimoto, R. Goto and K. Yamada. 2003. Shortage of soluble carbohydrates is largely responsible for

- short vase life of cut Sonia rose flowers. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 72: 292-298.
- Ichimura, K., M. Kishimoto, R. Norikoshi, Y. Kawabata and K. Yamada. 2005. Soluble carbohydrates and variation in vase-life of cut 'Delilah' and 'Sonia' rose cultivars. J. Hort. Sci. Biotechnol. 80: 280-286.
- Ichimura, K., K. Kohata and R. Goto. 2000a. Soluble carbohydrate in *Delphinium* and their influence on sepal abscission in cut flowers. Physiol. Plant. 108: 307-313.
- Ichimura, K., K. Kohata, M. Koketsu, M. Shimamura and A. Ito. 1998a. Identification of pinitol as a main sugar constituent and changes in its content during flower bud development in carnation (*Dianthus caryophyllus*). J. Plant Physiol. 152: 363-367.
- Ichimura, K., K. Kohata, M. Koketsu, Y. Yamaguchi, H. Yamaguchi and K. Suto. 1997. Identification of methyl glucopyranoside and xylose as soluble sugar constituents in roses (*Rosa hybrida* L.). Biosci. Biotechnol. Biochem. 61: 1734-1735.
- 市村一雄・木幡勝則・是永 勝・久松 完. 1997. トルコギキョウ切り花の品質保持に及ぼすスクロース処理の影響ならびにその糖組成. 園学雑. 66 (別2) : 614-615.
- Ichimura, K., K. Kohata, Y. Mukasa, Y. Yamaguchi, R. Goto and K. Suto. 1999a. Identification of L-bornesitol and changes in its content during flower bud development in sweet pea (*Lathyrus odoratus* L.) Biosci. Biotechnol. Biochem. 63: 189-191.
- Ichimura, K., K. Kohata, Y. Yamaguchi, M. Douzono, H. Ikeda and M. Koketsu. 2000b. Identification of L-inositol and scylitol and their distribution of various organs in chrysanthemum. Biosci. Biotechnol. Biochem. 64: 865-868.
- Ichimura, K., Y. Mukasa, T. Fujiwara, K. Kohata, R. Goto and K. Suto. 1999b. Possible roles of methyl glucoside and *myo*-inositol in the opening of cut rose flowers. Ann. Bot. 83: 551-557.
- 市村一雄・仁木朋子・湯本弘子. 2007. キンギョソウ切り花の花持ちに関わる要因. 園学研. 6 (別2) : 341.
- 市村一雄・仁木朋子・渋谷健市・湯本弘子. 2010. カーネーション切り花の高温によるエチレン情報伝達に関わる遺伝子発現の変動. 園学研. 9 (別1) : 219.
- 市村一雄・乗越 亮・清水弘子・木幡勝則. 2005. リンドウの開花におけるゲンチオピオースとゲンチオトリオースの生理的役割. 園学雑. 74 (別1) : 373.
- Ichimura, K., M. Shimamura and T. Hisamatsu. 1998b. Role of ethylene in senescence of cut *Eustoma* flowers. Postharv. Biol. Technol. 14: 193-198.
- Ichimura, K., H. Shimizu and T. Hiraya. 2002. Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on the vase life of cut carnation, *Delphinium* and sweet pea flowers. Bull. Natl. Inst. Flor. Sci. 2: 1-8.
- Ichimura, K., H. Shimizu-Yumoto and R. Goto. 2009a. Ethylene production by the gynoeceum and receptacle is associated with sepal abscission in cut *Delphinium* flowers. Postharv. Biol. Technol. 52: 262-267.
- Ichimura, K. and K. Suto. 1998. Role of ethylene in acceleration of flower senescence by filament wounding in *Portulaca* hybrid. Physiol. Plant. 104: 603-607.
- Ichimura, K. and K. Suto. 1999. Effects of the time of sucrose treatment on the vase life, soluble carbohydrate concentrations and ethylene production in cut sweet pea flowers. Plant Growth Regul. 28: 117-122.
- Ichimura, K., M. Taguchi and R. Norikoshi. 2006. Extension of the vase life in cut roses by treatment with glucose, isothiazolinonic germicide, citric acid and aluminum sulphate solution. JARQ 40: 263-269.
- Ichimura, K., T. Yamada, S. Yoshioka, U. K. Pun, K. Tanase and H. Shimizu-Yumoto. 2009b. Ethylene regulates programmed cell death (PCD) associated with petal senescence in carnation flowers. Acta Hort. 847: 185-190.
- Iordachescu, M. and S. Verlinden. 2005. Transcriptional regulation of three EIN3-like genes of carnation (*Dianthus caryophyllus* L. cv. Improved White Sim) during flower development and upon wounding, pollination, and ethylene exposure. J. Exp. Bot. 56: 2011-2018.
- Jones, M. L., P. B. Larsen and W. R. Woodson. 1995. Ethylene-regulated expression of a carnation cysteine proteinase during flower petal senescence. Plant Mol. Biol. 28: 505-512.
- Jones, M. L. and W. R. Woodson. 1997. Pollination-induced ethylene in carnation. Role of stylar ethylene in corolla senescence. Plant Physiol. 115: 205-212.
- Jones, M. L. and W. R. Woodson. 1999a. Differential expression of three members of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene family in carnation. Plant Physiol. 119: 755-764.
- Jones, M. L. and W. R. Woodson. 1999b. Interorgan signaling following pollination in carnations. J. Am. Soc. Hort. Sci. 124: 598-604.
- Jones, R. B. and M. Hill. 1993. The effect of germicides on the longevity of cut flowers. J. Am. Soc. Hort. Sci. 118: 350-354.
- Jones, R. B., M. Serek, C.-L. Kuo and M. S. Reid. 1994. The effect of protein synthesis inhibition on petal senescence in cut bulb flowers. J. Am. Soc. Hort. Sci. 119: 1243-1247.
- Kappers, I. F., W. Jordi, F. M. Maas and L. H. W. van der Plas. 1997.

- Gibberellins in leaves of *Alstroemeria hybrida*: Identification and quantification in relation to leaf age. *J. Plant Growth Regul.* 16: 219-225.
- Kappers, I. F., W. Jordi, N. Tsesmetzis, F. M. Maas and L. H. W. van der Plas. 1998. GA₄ does not require conversion into GA₁ to delay senescence of *Alstroemeria hybrida* leaves. *J. Plant Growth Regul.* 17: 89-93.
- Kato, M., H. Shimizu, T. Onozaki, N. Tanikawa, H. Ikeda, T. Hisamatsu and K. Ichimura, 2002. Role of ethylene in senescence of pollinated and unpollinated *Campanula medium* flowers. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 71: 385-387.
- 加藤美紀・市村一雄・湯本弘子・神田美知枝. 2008. キンギョソウの受粉後の落花とエチレン生成との関係. 園学研. 7 (別2): 331.
- Kawabata, S., Y. Kusuhara, Y. Li and R. Sakiyama. 1999. The regulation of anthocyanin biosynthesis in *Eustoma grandiflorum* under low light conditions. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 68: 519-526.
- Kende, H. 1993. Ethylene biosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 44: 283-307.
- Kenis, J. D., S. T. Silvente and V. S. Trippi. 1985. Nitrogen metabolite and senescence-associated change during growth of carnation flowers. *Physiol. Plant.* 65: 455-459.
- Kevany, B. M., D. M. Tieman, M. G. Taylor, V. D. Cin and H. J. Klee. 2007. Ethylene receptor degradation controls the timing of ripening in tomato fruit. *Plant J.* 51: 458-467.
- Kieber, J. J., M. Rothenberg, G. Roman, K. A. Feldman and J. R. Ecker. 1993. CTR1, a negative regulator of the ethylene response pathway in *Arabidopsis*, encodes a member of the Raf family of protein kinases. *Cell* 72: 427-441.
- Kim, J. H., H. R. Woo, J. Kim, P. O. Lim, I. C. Lee, S. H. Choi, D. Hwang and H. G. Nam. 2009. Trifurcate feed-forward regulation of age-dependent cell death involving *miR164* in *Arabidopsis*. *Science* 323: 1053-1057.
- Koning, R. E. 1984. The role of plant hormones in the growth of the corolla of *Gaillardia grandiflora* (Asteraceae) ray flowers. *Am. J. Bot.* 71: 1-8.
- Konze, J. R., J. F. Jones, T. Boller and H. Kende. 1980. Effect of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid on the production of ethylene in senescing flowers of *Ipomoea tricolor*. *Plant Physiol.* 66: 566-571.
- Kosugi, Y., K. Shibuya, N. Tsuruno, Y. Iwazaki, A. Mochizuki, T. Yoshioka, T. Hashiba and S. Satoh. 2000. Expression of genes responsible for ethylene production and wilting are differently regulated in carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) petals. *Plant Sci.* 158: 139-145.
- Kuroda, S., M. Hakata, Y. Hirose, M. Shiraishi and S. Abe. 2003. Ethylene production and enhanced transcription of an ethylene receptor gene, *ERS1*, in *Delphinium* during abscission of florets. *Plant Physiol. Biochem.* 41: 812-820.
- Kuroda, S., Y. Hirose, M. Shiraishi, E. Davies and S. Abe. 2004. Co-expression of an ethylene receptor gene, *ERS1*, and ethylene signaling regulator gene, *CTR1*, in *Delphinium* during abscission of florets. *Plant Physiol. Biochem.* 42: 745-751.
- Langston, B. J., S. Bai and M. Jones. 2005. Increases in DNA fragmentation and induction of a senescence-specific nuclease are delayed during corolla senescence in ethylene-insensitive (*etr1-1*) transgenic petunias. *J. Exp. Bot.* 56: 15-23.
- Larsen, P. B., E. N. Ashworth, M. L. Jones and W. R. Woodson. 1995. Pollination-induced ethylene in carnation. Role of pollen tube growth and sexual compatibility. *Plant Physiol.* 108: 1405-1412.
- Legge, R. L., J. E. Thompson, D. P. Murr and M. J. Tsujita. 1982. Sequential changes in lipid fluidity and phase properties of microsomal membranes from senescing rose petals. *J. Exp. Bot.* 33: 303-312.
- Lin, Z., L. Arciga-Reyers, S. Zhong, L. Alexander, R. Hackett, I. Wilson and D. Grierson. 2008. SITPR1, a tomato tetratricopeptide repeat protein, interacts with the ethylene receptors NR and LeETR1, modulating ethylene and auxin responses and development. *J. Exp. Bot.* 59: 4271-4287.
- Lin, Z., S. Zhong and D. Grierson. 2009. Recent advances in ethylene research. *J. Exp. Bot.* 60: 3311-3336.
- Lindstrom, J. T., C.-H. Lei, M. L. Jones and W. R. Woodson. 1999. accumulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) in petunia pollen is associated with expression of a pollen-specific ACC synthase late in development. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 124: 145-151.
- Lineberger, R. D. and P. L. Steponkus. 1976. Identification and localization of vascular occlusions in cut roses. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 101: 246-250.
- Loubaud, M. and W. G. van Doorn. 2004. Wound-induced and bacteria-induced xylem blockage in roses, *Astilbe*, and *Viburnum*. *Postharv. Biol. Technol.* 32: 281-288.
- Lovell, P. J., P. H. Lovell and R. Nichols. 1987. The control of flower senescence in petunia (*Petunia hybrida*). *Ann. Bot.* 60: 49-59.
- Lurie, S. 1998. Postharvest heat treatments. *Postharv. Biol. Technol.* 14: 257-269.
- Ma, B., M.-L. Cui, H.-J. Sun, K. Takada, H. Mori, H. Kamada and H. Ezura.

- 2006a. Subcellular localization and membrane topology of the melon ethylene receptor CmERS1. *Plant Physiol.* 141: 587-597.
- Ma, N., H. Tan, X. Liu, J. Xue, Y. Li and J. Gao. 2006b. Transcriptional regulation of ethylene receptor and *CTR* genes involved in ethylene-induced flower opening in cut rose (*Rosa hybrida*) cv. Samantha. *J. Exp. Bot.* 57: 2763-2773.
- Ma, N., J. Xue, Y. Li, X. Liu, F. Dai, W. Jia, Y. Luo and J. Gao. 2008. *Rh-PIP2;1*, a rose aquaporin gene, is involved in ethylene-regulated petal expansion. *Plant Physiol.* 148: 894-907.
- Macnish, A. J., C.-Z. Jiang and M. S. Reid. 2010. Treatment with thidiazuron improves opening and vase life of iris flowers. *Postharv. Biol. Technol.* 56: 77-84.
- Marousky, F. J. 1969. Vascular blockage, water absorption, stomatal opening, and respiration of cut 'Better Times' roses treated with 8-hydroxyquinoline citrate and sucrose. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 94: 223-226.
- Matile, P. and F. Winkenbach. 1971. Function of lysosomes and lysosomal enzymes in the senescing corolla of the morning glory (*Ipomoea purpurea*). *J. Exp. Bot.* 22: 759-771.
- Mayak, S. and D. R. Dilley. 1976a. Regulation of senescence in carnation (*Dianthus caryophyllus*). Effect of abscisic acid and carbon dioxide on ethylene production. *Plant Physiol.* 58: 663-665.
- Mayak, S. and D. R. Dilley. 1976b. Effect of sucrose on response of carnation to kinetin, ethylene, and abscisic acid. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 101: 583-585.
- Mayak, S. and A. H. Halevy. 1970. Cytokinin activity in rose petals and its relation to senescence. *Plant Physiol.* 46: 497-499.
- Mayak, S. and A. H. Halevy. 1974. The action of kinetin in improving the water balance and delaying senescence processes of cut rose flowers. *Physiol. Plant.* 32: 330-336.
- Mayak, S. and T. Tirosch. 1993. Unusual ethylene-related behavior in senescing flowers of the carnation *Sandrosa*. *Physiol. Plant.* 88: 420-426.
- Mayak, S., Y. Vaadia and D. R. Dilley. 1977. Regulation of senescence in carnation (*Dianthus caryophyllus*) by ethylene. Mode of action. *Plant Physiol.* 59: 591-593.
- Meyer Jr., R. C., P. B. Goldsbrough and W. R. Woodson. 1991. An ethylene-responsive flower senescence-related gene from carnation encodes a protein homologous to glutathione *S*-transferases. *Plant Mol. Biol.* 17: 277-281.
- Midoh, N., Y. Saijou, K. Matsumoto and M. Iwata. 1996. Effects of 1,1-dimethyl-4-(phenylsulfonyl)semicarbazide (DPSS) on carnation flower longevity. *Plant Growth Regul.* 20: 195-199.
- 峯 大樹・市村一雄・田中利幸・諸岡淳司. 2008. 銀イオンの短期間処理による秋ギク切り花の品質保持期間延長. 7 (別1): 249.
- Moalem-Beno, D., G. Tamari, Y. Leitner-Dagan, A. Borochoy and D. Weiss. 1997. Sugar-dependent gibberellin-induced chalcone synthase gene expression in petunia corollas. *Plant Physiol.* 113: 419-424.
- Momono, K., K. Shoji and K. Yoshida. 2007. Cloning and characterization of ACC oxidase genes from tulip. *Plant Biotechnol.* 24: 241-246.
- Mor, Y., A. H. Halevy, H. Spiegelstein and S. Mayak. 1985. The site of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthesis in senescing carnation flowers. *Physiol. Plant.* 65: 196-202.
- Mor, Y., M. S. Reid and A. M. Kofranek. 1980. Role of the ovary in carnation senescence. *Sci. Hortic.* 13: 377-383.
- Mor, Y., M. S. Reid and A. M. Kofranek. 1984. Pulse treatment with silver thiosulfate and sucrose improve the vase life of sweet peas. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 109: 866-868.
- Mor, Y., H. Spiegelstein and A. H. Halevy. 1983. Inhibition of ethylene biosynthesis in carnation petals by cytokinin. *Plant Physiol.* 71: 541-546.
- Muller, R., S. Lind-Iverson, B. M. Stummann and M. Serek. 2000a. Expression of genes for ethylene biosynthetic enzymes and an ethylene receptor in senescing flowers of miniature potted roses. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 75: 12-18.
- Muller, R., C. A. Owen, Z.-T. Xue, M. Welander and B. M. Stummann. 2002. Characterization of two *CTR*-like protein kinases in *Rosa hybrida* and their expression during flower senescence and in response to ethylene. *J. Exp. Bot.* 53: 1223-1225.
- Muller, R., C. A. Owen, Z.-T. Xue, M. Welander and B. M. Stummann. 2003. The transcription factor *EIN3* is constitutively expressed in miniature roses with differences in postharvest life. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 78: 10-14.
- Muller, R., M. Stummann and M. Serek. 2000b. Characterization of an ethylene receptor family with differential expression in rose (*Rosa hybrid* L.) flowers. *Plant Cell Rep.* 19: 1232-1239.
- Nadeau, J.A., X. S. Zhang, H. Nair and S. D. O' Neill. 1993. Temporal and spatial regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase in the pollination-induced senescence of orchid flowers. *Plant Physiol.* 103: 31-39.
- Narumi, T., Y. Kanno, M. Suzuki, S. Kishimoto, A. Ohmiya and S. Satoh. 2005. Cloning of a cDNA encoding an ethylene receptor (DG-ERS1) from chrysanthemum and comparison of its mRNA level in ethylene-sensitive and -insensitive cultivars.

- Postharv. Biol. Technol. 36: 21-30.
- Negre, F., C. M. Kish, J. Boatright, B. Underwood, K. Shibuya, C. Wagner, D. G. Clark and N. Dudareva. 2003. Regulation of methylbenzoate emission after pollination in snapdragon and petunia flowers. *Plant Cell* 15: 2992-3006.
- Nichols, R. 1966. Ethylene production during senescence of flowers. *J. Hort. Sci.* 41: 279-290.
- Nichols, R. 1968. The response of carnations (*Dianthus caryophyllus*) to ethylene. *J. Hort. Sci.* 43: 335-349.
- 乗越 亮・仁木朋子・市村一雄. 2008. カーネーション切り花の老化にともなう花弁, 花柱および子房における ACO 活性ならびに 2 種類の ACO 遺伝子発現量の変動. 園学研. 7 (別 2) : 330.
- Nukui, H., S. Kudo, A. Yamashita and S. Satoh. 2004. Repressed ethylene production in the gynoecium of long-lasting flowers of the carnation 'White Candle': role of the gynoecium in carnation flower senescence. *J. Exp. Bot.* 55: 641-650.
- O'Donoghue, E. M., J. R. Eason, S. D. Somerfield and D. A. Ryan. 2005. Galactosidases in opening, senescing and water-stressed *Sandersonia aurantiaca* flowers. *Functional Plant Biol.* 32: 911-922.
- O'Donoghue, E. M., S. D. Somerfield and J. A. Heyes. 2002. Organization of cell walls in *Sandersonia aurantiaca* floral tissues. *J. Exp. Bot.* 53: 513-523.
- 岡本充智・市村一雄. 2010. シネンシス系デルフィニウム切り花における受粉によるエチレン生成量の変化. 園学研. 9 (別 1) : 218.
- O'Neill, S. D., J. A. Nadeau, X. S. Zhang, A. Q. Bui and A. H. Halevy. 1993. Interorgan regulation of ethylene biosynthetic genes by pollination. *Plant Cell* 5: 419-432.
- Onozaki, T., H. Ikeda and M. Shibata. 2004. Video evaluation of ethylene sensitivity after anthesis in carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) flowers. *Sci. Hortic.* 99: 187-197.
- 小野崎 隆・池田 広・柴田道夫・谷川奈津・八木雅史・山口 隆・天野正之. 2006. 花持ち性の優れるカーネーション農林 1 号 'ミラクルルージュ' および同 2 号 'ミラクルシンフォニー' の育成経過とその特性. 花き研報. 5: 1-16.
- Onozaki, T., H. Ikeda and T. Yamaguchi. 1998. Effect of calcium nitrate addition to α -aminoisobutyric acid (AIB) on the prolongation of the vase life of cut carnation flowers. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 67: 198-203.
- Onozaki, T., H. Ikeda and T. Yamaguchi. 2001. Genetic improvement of vase life of carnation flowers by crossing and selection. *Sci. Hortic.* 87: 107-120.
- Onozaki, T., M. Yagi and M. Shibata. 2008. Selection of ethylene resistant carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) by video recording system and their response to ethylene. *Sci. Hortic.* 116: 205-212.
- Oren-Shamir, M., G. Dela, R. Ovadia, A. Nissim-Levi, S. Philosoph-Hadas and S. Meir. 2001. Differentiation between petal blueing and senescence of cut 'Mercedes' rose flowers. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 76: 195-200.
- Pak, C. and W. G. van Doorn. 2005. Delay of *Iris* flower senescence by protease inhibitors. *New Phytol.* 165: 473-480.
- Panavas, T. and B. Rubinstein. 1998. Oxidative events during programmed cell death of daylily (*Heimerocallis* hybrid) petals. *Plant Sci.* 133: 125-138.
- Panavas, T., A. Pikuka, P. D. Reid, B. Rubinstein and E. L. Walker. 1999. Identification of senescence-associated genes from daylily petals. *Plant Mol. Biol.* 40: 237-248.
- Panavas, T., E. L. Walker and B. Rubinstein. 1998. Possible involvement of abscisic acid in senescence of daylily petals. *J. Exp. Bot.* 49: 1987-1997.
- Park, K. Y., A. Drovy and W. R. Woodson. 1992. Molecular cloning of an 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase from senescing carnation flower petals. *Plant Mol. Biol.* 18: 377-386.
- Parups, E. V. and J. M. Molnar. 1972. Histochemical study of xylem blockage in cut roses. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 97: 532-534.
- Paulin, A., M. J. Droillard and J. M. Bureau. 1986. Effect of a free radical scavenger, 3,4,5-trichlorophenol, on ethylene production and on changes in lipids and membrane integrity during senescence of petals of cut carnation (*Dianthus caryophyllus*). *Physiol. Plant.* 67: 465-471.
- Philosoph-Hadas, S., S. Meir, I. Rosenberger and A. H. Halevy. 1996. Regulation of the gravitropic response and ethylene biosynthesis in gravistimulated snapdragon flower spikes by calcium chelators and ethylene inhibitors. *Plant Physiol.* 110: 301-310.
- Podd, L. A. and J. van Staden. 1998. The role of ethanol and acetaldehyde in flower senescence and fruit ripening - A review. *Plant Growth Regul.* 26: 183-189.
- Porat, R., A. Borochoy and A. H. Halevy. 1993. Enhancement of petunia and dendrobium flower senescence by jasmonic acid ethyl ester is via the promotion of ethylene production. *Plant Growth Regul.* 13: 297-301.
- Porat, R., A. Borochoy and A. H. Halevy. 1994. Pollination-induced changes in ethylene production and sensitivity to ethylene in cut dendrobium orchid flowers. *Sci. Hortic.* 58: 215-221.

- Porat, R., A. H. Halevy, M. Serek and A. Borochoy. 1995a. An increase in ethylene sensitivity following pollination is the initial event triggering an increase in ethylene production and enhanced senescence of *Phalaenopsis* orchid flowers. *Physiol. Plant.* 93: 778-784.
- Porat, R., N. Reiss, R. Atzorn, A. H. Halevy and A. Borochoy. 1995b. Examination of the possible involvement of lipoxygenase and jasmonates in pollination-induced senescence of *Phalaenopsis* and *Dendrobium* orchid flowers. *Physiol. Plant.* 93: 778-784.
- Pun, U. K. and K. Ichimura. 2003. Role of sugars in senescence and biosynthesis of ethylene in cut flowers. *JARQ* 37: 219-224.
- Pun, U. K. ・市村一雄 . 2003. スプレーカーネーション切り花のエチレン合成におけるエタノールの生化学的役割 . 園学雑 . 72 (別 2) : 564.
- Pun, U. K., H. Shimizu, K. Tanase and K. Ichimura. 2005. Effect of sucrose on ethylene biosynthesis in cut spray carnation flowers. *Acta Hort.* 669: 171-174.
- Put, H. M. C. 1990. Micro-organisms from freshly harvested cut flower stems and developing during the vase life of chrysanthemum, gerbera and rose cultivars. *Sci. Hortic.* 43: 129-144.
- Put, H. M. C. and L. Jansen. 1989. The effects on the vase life of cut *Rosa* cultivar 'Sonia' of bacteria added to the vase water. *Sci. Hortic.* 39: 167-179.
- Put, H. M. C. and F. M. Rombouts. 1989. The influence of purified microbial pectic enzymes on the xylem anatomy water uptake and vase life of *Rosa* cultivar 'Sonia'. *Sci. Hortic.* 38: 147-160.
- Rasmussen, H. P. and W. J. Carpenter. 1974. Changes in the vascular morphology of cut rose stems: A scanning electron microscope study. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 99: 454-459.
- Reid, M. S., R. Y. Evans, L. L. Dodge and Y. Mor. 1989. Ethylene and silver thiosulfate influence opening of cut rose flowers. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 114: 436-440.
- Reid, M. S., D. W. Fujino, N. E. Hoffman and C. S. Whitehead. 1984. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC): The transmitted stimulus in pollinated flowers?. *J. Plant Growth Regul.* 3: 189-196.
- Rodriguez, F. I., J. J. Esch, A. E. Hall, B. M. Binder, G. E. Schaller and A. B. Bleeker. 1999. A copper cofactor for the ethylene receptor ETR1 from *Arabidopsis*. *Science* 283: 996-998.
- Sabehat, A. and N. Zieslin. 1995. Promotion of postharvest increase in weight of rose (*Rosa* × *hybrida* cv. Mercedes) petals by gibberellin. *J. Plant Physiol.* 145: 296-298.
- Sacalis, J. N. and J. S. Lee. 1987. Promotion of floral longevity by the ovary in carnation flowers. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 112: 118-121.
- Sacalis, J. N. and R. Nichols. 1980. Effects of 2,4-D uptake on petal senescence in cut carnation flowers. *HortScience* 15: 499-450.
- Saks, Y., J. van Staden and M. T. Smith. 1992. Effect of gibberellic acid on carnation flower senescence: evidence that the delay of carnation flower senescence by gibberellic acid depends on the stage of flower development. *Plant Growth Regul.* 11: 45-51.
- Serek, M., R. B. Jones and M. S. Reid. 1994a. Role of ethylene in opening and senescence of *Gladiolus* sp. flowers. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 119: 1014-1019.
- Serek, M., E. C. Sisler and M. S. Reid. 1994b. Novel gaseous ethylene binding inhibitor prevents ethylene effects in potted flowering plants. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 119: 1230-1233.
- Serrano, M., F. Romojaro, J. L. Casas, J. A. Del Rio and M. Acosta. 1990. Action and mechanism of α - aminoisobutyric acid as a retardant of cut carnation senescence. *Sci. Hortic.* 44: 127-134.
- Sexton, R., G. Laird and W. G. van Doorn. 2000. Lack of ethylene involvement in tulip tepal abscission. *Physiol. Plant.* 108: 321-329.
- Shibuya, K., K. G. Barry, J. A. Ciardi, H. M. Loucas, B. A. Underwood, S. Nourizadeh, J. R. Ecker, H. J. Klee and D. G. Clark. 2004. The central role of PhEIN2 in ethylene responses throughout plant development in petunia. *Plant Physiol.* 136: 2900-2912.
- Shibuya, K. and D. G. Clark. 2006. Ethylene: Current status and future directions of using transgenic techniques to improve flower longevity of ornamental crops. *J. Crop Improv.* 19: 391-412.
- Shibuya, K. and K. Ichimura. 2010. Depression of autocatalytic ethylene production by high-temperature treatment in carnation flowers. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 79: 97-102.
- Shibuya, K., M. Nagata, N. Tanikawa, T. Yoshioka, T. Hashiba and S. Satoh. 2002. Comparison of mRNA levels of three ethylene receptors in senescing flowers of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). *J. Exp. Bot.* 53: 399-406.
- Shibuya, K., T. Yamada, T. Suzuki, K. Shimizu and K. Ichimura. 2009. InPSR26, a putative membrane protein, regulates programmed cell death during petal senescence in Japanese morning glory. *Plant Physiol.* 149: 816-824.
- Shibuya, K., T. Yoshioka, T. Hashiba and S. Satoh. 2000. Role of the gynoecium in natural senescence of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) flowers. *J. Exp. Bot.* 51: 2067-2073.
- 清水弘子・市村一雄 . 2001. ハナスベリヒユの花糸接触刺激による花の老化促進とエチレンとの関係 . 園学雑 . 70 (別 2) : 467.

- Shimizu, H. and K. Ichimura. 2005. Effects of silver thiosulfate complex (STS), sucrose and their combination on the quality and vase life of cut *Eustoma* flowers. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 74: 381-385.
- Shimizu-Yumoto, H. and K. Ichimura. 2006. Senescence of *Eustoma* flowers as affected by pollinated area of the stigmatic surface. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 75: 66-71.
- Shimizu-Yumoto, H. and K. Ichimura. 2009. Abscisic acid, in combination with sucrose, is effective as a pulse treatment to suppress leaf damage and extend foliage vase-life in cut *Eustoma* flowers. *J. Hort. Sci. Biotech.* 84: 107-111.
- Shimizu-Yumoto, H. and K. Ichimura. 2010. Combination pulse treatment of 1-naphthaleneacetic acid and aminoethoxyvinylglycine greatly improves postharvest life in cut *Eustoma* flowers. *Postharvest Biol. Technol.* 56: 104-107.
- Shimizu-Yumoto, H., K. Ichimura and M. Nakayama. 2009. Petal color fading by negative co-pigmentation in sweet pea. 5th International Workshop on Anthocyanins. Abstract 37.
- Shimizu-Yumoto, H., M. Kondo, Y. Sanoh, A. Ohsumi and K. Ichimura. 2010. Effect of abscisic acid on the distribution of exogenous carbon derived from sucrose applied to cut *Eustoma* flowers. *J. Hort. Sci. Biotech.* 85: 83-87.
- Singh, A., K. R. Evensen and T.-h. Kao. 1992. Ethylene synthesis and floral senescence following compatible and incompatible pollination in *Petunia inflata*. *Plant Physiol.* 99: 38-45.
- Singh, K. and K. G. Moore. 1994. Sites of ethylene production in flowers of sweet pea (*Lathyrus odoratus* L.). *Sci. Hortic.* 58: 351-355.
- Sisler, E. C., M. S. Reid and S. F. Yang. 1986. Effect of antagonists of ethylene action on binding of ethylene in cut carnations. *Plant Growth Regul.* 4: 213-218.
- Solano, R., A. Stepanova, Q. Chao and J. R. Ecker. 1998. Nuclear events in ethylene signalling: a transcriptional cascade mediated by ETHYLENE-INSENSITIVE3 and ETHYLENE-RESPONSE FACTOR1. *Genes Dev.* 12: 3703-3714.
- Song, L. L. and Y. H. Peng. 2004. Effect of cold storage on sensitivity to ethylene of cut lily. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 79: 723-728.
- Spanjers, A. W. 1981. Bioelectric potential changes in the style of *Lilium longiflorum* Thunb. after self- and cross-pollination of the stigma. *Planta* 153: 1-5.
- Stead, A. D. 1992. Pollination-induced flower senescence: a review. *Plant Growth Regul.* 11: 13-20.
- Stead, A. D. and K. G. Moore. 1979. Studies on flower longevity in *Digitalis*. Pollination induced corolla abscission in *Digitalis* flowers. *Planta* 146: 409-414.
- Stead, A. D. and K. G. Moore. 1983. Studies on flower longevity in *Digitalis*. The role of ethylene in corolla abscission. *Planta* 157: 15-21.
- Steinitz, B. and A. Cohen. 1982. Gibberellic acid promotes flower bud opening on detached flower stalks of statice (*Limonium sinuatum* L.). *HortScience* 17: 903-904.
- Stephenson, P. and B. Rubinstein. 1998. Characterization of proteolytic activity during senescence in daylilies. *Physiol. Plant.* 104: 463-473.
- Suttle, J. and H. Kende. 1980. Ethylene action and loss of membrane integrity during petal senescence in *Tradescantia*. *Plant Physiol.* 65: 1067-1072.
- Sylvestre, I. and A. Paulin. 1987. Accelerated ethylene production as related to changes in lipids and electrolyte leakage during senescence of petals of cut carnations (*Dianthus caryophyllus*). *Physiol. Plant.* 70: 530-536.
- Tan, H., X. Liu, N. Ma, J. Xue, W. Lu, J. Bai and J. Gao. 2006. Ethylene-influenced flower opening and expression of genes encoding *Ers*, *Ctr*s, and *Ein3*s in two cut rose cultivars. *Postharv. Biol. Technol.* 40: 97-105.
- Tanase, K. and K. Ichimura. 2006. Expression of ethylene receptors *DI-ERS1-3* and *DI-ERS2*, and ethylene response during flower senescence in *Delphinium*. *J. Plant Physiol.* 163: 1159-1166.
- Tanase, K., T. Onozaki, S. Satoh, M. Shibata and K. Ichimura. 2008. Differential expression levels of ethylene biosynthetic pathway genes during senescence of long-lived carnation cultivars. *Postharv. Biol. Technol.* 47: 210-217.
- Tanase, K., K. Tokuhira, M. Amano and K. Ichimura. 2009. Ethylene sensitivity and changes in ethylene production during senescence in long-lived *Delphinium* flowers without sepal abscission. *Postharv. Biol. Technol.* 52: 310-312.
- Tang, X., A. M. T. R. Gomes, A. Bhatia and W. R. Woodson. 1994. Pistil-specific and ethylene-regulated expression of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase genes in petunia flowers. *Plant Cell* 6: 1227-1239.
- Tang, X., H. Wang, A. S. Brandt and W. R. Woodson. 1993. Organization and structure of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase gene family from *Petunia hybrida*. *Plant Mol. Biol.* 23: 1151-1164.
- ten Have, A. and E. J. Woltering. 1997. Ethylene biosynthetic genes are differentially expressed during carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) flower senescence. *Plant Mol. Biol.* 34: 89-97.
- Thompson, A. R., J. H. Doelling, A. Suttangkakul and R. D. Vierstra. 2005. Autophagic nutrient recycling in Arabidopsis directed by the ATG8 and ATG12 conjugation pathways. *Plant Physiol.* 138:

- 2097-2110.
- Thompson, J. E., S. Mayak, M. Shinitzky and A. H. Halevy. 1982. Acceleration of membrane senescence in cut carnation flowers by treatment with ethylene. *Physiol. Plant.* 69: 859-863.
- 徳弘晃二・棚瀬幸司・市村一雄・天野正之. 2006. がく片が脱離しないデルフィニウム種間雑種の作出. *園学研.* 5: 357-361.
- 宇田 明・山中正仁・福嶋啓一郎. 1997. 新規エチレン阻害剤の前処理によるカーネーション, ラークスパーおよびスイートピー切り花の品質保持期間の延長. *近畿中国農業研究.* 93: 65-70.
- Ueyama, S. and K. Ichimura. 1998. Effects of 2-hydroxy-3-ionene chloride polymer on the vase life of cut rose flower. *Postharv. Biol. Technol.* 14: 65-70.
- van Doorn, W. G. 1990. Aspiration of air at the cut surface of rose stems and its effect on the uptake of water. *J. Plant Physiol.* 137: 160-164.
- van Doorn, W. G. 1994. Vascular occlusion in cut flowering rose stems exposed to air: role of the xylem wall pathway for water. *Physiol. Plant.* 90: 45-50.
- van Doorn, W. G. 2002. Does ethylene treatment mimic the effects of pollination on floral lifespan and attractiveness?. *Ann. Bot.* 89: 375-383.
- van Doorn, W. G., P. A. Balk, A. M. van Houwelingen, F. A. Hoeberichts, R. D. Hall, O. Vorst, C. van der Schoot and M. F. van Wordragen. 2003. Gene expression during anthesis and senescence in *Iris* flowers. *Plant Mol. Biol.* 53: 845-863.
- van Doorn, W. G. and P. Cruz. 2000. Evidence for a wounding-induced xylem occlusion in stems of cut chrysanthemum flowers. *Postharv. Biol. Technol.* 19: 73-83.
- van Doorn, W. G., H. C. M. de Stigter, Y. de Witte and A. Boekestein. 1991. Micro-organisms at the cut surface and in xylem vessels of rose stems: a scanning electron microscope study *J. Appl. Bacteriol.* 70: 34-39.
- van Doorn, W. G. and Y. de Witte. 1991. Effect of bacterial suspensions on vascular occlusion in stems of cut rose flowers. *J. Appl. Bacteriol.* 71: 119-123.
- van Doorn, W. G. and Y. de Witte. 1994. Effect of bacteria on scape bending in cut *Gerbera jamesonii* flowers. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 119: 568-571.
- van Doorn, W. G., J. Hibma and J. de Wit. 1992. Effect of exogenous hormones on leaf yellowing in cut flowering branches of *Alstroemeria pelegrina* L. *Plant Growth Regul.* 11: 59-62.
- van Doorn, W. G. and R. R. J. Perik. 1990. Hydroxyquinoline citrate and low pH prevent vascular blockage in stems of cut rose flowers by reducing the number of bacteria. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 115: 979-981.
- van Doorn, W. G. and M. S. Reid. 1995. Vascular occlusion in stems of cut rose flowers exposed to air: Role of xylem anatomy and rates of transpiration. *Physiol. Plant.* 93: 624-629.
- van Doorn, W. G., K. Schurer and Y. de Witte. 1989. Role of endogenous bacteria in vascular blockage of cut rose flowers. *J. Plant Physiol.* 134: 375-381.
- van Doorn, W. G. and V. Suiro. 1996. Relationship between cavitation and water uptake in rose stems. *Physiol. Plant.* 96: 305-311.
- van Doorn, W. G. and N. Vaslier. 2002. Wounding-induced xylem occlusion in stems of cut chrysanthemum flowers: roles of peroxidase and cathechol oxidase. *Postharv. Biol. Technol.* 26: 275-284.
- van Doorn, W. G. and E. J. Woltering. 2008. Physiology and molecular biology of petal senescence. *J. Exp. Bot.* 59: 453-480.
- van Meeteren, U. 1978. Water relations and keeping-quality of cut gerbera flowers. I. The cause of stem break. *Sci. Hortic.* 8: 65-74.
- van Meeteren, U., L. Arévalo-Galarza and W. G. van Doorn. 2006. Inhibition of water uptake after dry storage of cut flowers: Role of aspired air and wound-induced processes in *Chrysanthemum*. *Postharv. Biol. Technol.* 41: 70-77.
- van Staden, J., B. C. Featonby-Smith, S. Mayak, H. Spiegelstein and A. H. Halevy. 1987. Cytokinins in cut carnation flowers. II. Relationship between endogenous ethylene and cytokinin levels in the petals. *Plant Growth Regul.* 5: 75-86.
- Vaslier, N and W. G. van Doorn. 2003. Xylem occlusion in bouvardia flowers: evidence for a role of peroxidase and cathechol oxidase. *Postharv. Biol. Technol.* 28: 231-237.
- Veen, H. 1979. Effects of silver on ethylene synthesis and action in cut carnations. *Planta* 145: 467-470.
- Vergauwen, R., W. van den Ende and A. van Laere. 2000. The role of fructan in flowering of *Campanula rapunculoides*. *J. Exp. Bot.* 51: 1261-1266.
- Verlinden S. 2003. Changes in mineral nutrient concentrations in petunia corollas during development and senescence. *HortScience* 38: 71-74.
- Verlinden S and J. J. V. Garcia. 2004. Sucrose loading decreases ethylene responsiveness in carnation (*Dianthus caryophyllus* cv. White Sim) petals. *Postharv. Biol. Technol.* 31: 305-312.
- Wagner, G. J. 1979. Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiol.* 64: 88-93.

- Wagstaff, C., M. K. Leverentz, G. Griffith, B. Thomas, U. Chanasut, A. D. Stead and H. Rogers. 2002. Cysteine protease gene expression and proteolytic activity during senescence of *Alstroemeria* petals. *J. Exp. Bot.* 53: 233-240.
- Wagstaff, C., P. Malcom, R. Arfan, M. K. Leverentz, G. Griffith, B. Thomas, A. D. Stead and H. Rogers. 2003. Programmed cell death (PCD) processes begin extremely early in *Alstroemeria* petal senescence. *New Phytol.* 160: 49-59.
- Wagstaff, C., U. Chanasut, F. J. M. Harren, L.-J. Laarhoven, B. Thomas, H. Rogers and A. D. Stead. 2005. Ethylene and flower longevity in *Alstroemeria*: relationship between tepal senescence, abscission and ethylene biosynthesis. *J. Exp. Bot.* 56: 1007-1016.
- Waki, K., K. Shibuya, T. Yoshioka, T. Hashiba and S. Satoh. 2001. Cloning of a cDNA encoding EIN3-like protein (DC-EIL1) and decrease in its mRNA level during senescence in carnation flowers tissues. *J. Exp. Bot.* 52: 377-379.
- Wang, D., J. Fan and R. S. Ranu. 2004. Cloning and expression of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase cDNA from rose (*Rosa × hybrida*). *Plant Cell Rep.* 22: 422-429.
- Wang, H and W. R. Woodson. 1989. Reversible inhibition of ethylene action and interruption of petal senescence in carnation flowers by norbornadiene. *Plant Physiol.* 89: 434-438.
- Wang, H and W. R. Woodson. 1991. A flower senescence-related mRNA from carnation shares sequence similarity with fruit ripening-related mRNAs involved in ethylene biosynthesis. *Plant Physiol.* 96: 1000-1001.
- Wang, T.-W. and R. N. Artca. 1995. Identification and characterization of cDNAs encoding ethylene biosynthetic enzymes from *Pelargonium × hortorum* cv Sow Mass leaves. *Plant Physiol.* 109: 627-636.
- Wang, Y. and P. P. Kumar. 2007. Characterization of two ethylene receptors *PhERS1* and *PhETR2* from petunia: *PhETR2* regulates timing of anther dehiscence. *J. Exp. Bot.* 58: 533-544.
- 渡邊祐輔・小田正之・乗越 亮・市村一雄. 2008. コリの開花にともなう花被内方向軸側および胚軸側表皮細胞ならびに柔細胞における糖質濃度の変動. 園学研. 7 (別2) : 351.
- Whitehead, C. S., A. H. Halevy and M. S. Reid. 1984. Role of ethylene and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid in pollination and wound-induced senescence of *Petunia hybrida*. *Physiol. Plant.* 61: 643-648.
- Woltering, E. J., P. A. Balk, M. A. Nijenhuis-de Vries, M. Faivre, G. Ruys, D. Somhorst, S. Philosoph-Hadas and H. Friedman. 2005. An auxin-responsive 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase is responsible for differential ethylene production in gravistimulated *Antirrhinum majus* L. flower stem. *Planta* 220: 403-413.
- Woltering, E. J., T. de Vrije, F. Harren and F. A. Hoekstra. 1997. Pollination and stigma wounding: same response, different signal?. *J. Exp. Bot.* 48: 1027-1033.
- Woltering, E. J., D. Somhorst and C. A. de Beer. 1993. Roles of ethylene production and sensitivity in senescence of carnation flower (*Dianthus caryophyllus*) cultivars White Sim, Chinera and Epomea. *J. Plant Physiol.* 141: 329-335.
- Woltering, E. J., D. Somhorst and P. van der Veer. 1995. The role of ethylene in interorgan signaling during flower senescence. *Plant Physiol.* 109: 1219-1225.
- Woltering, E.J. and W. G. van Doorn. 1988. Role of ethylene in senescence of petals-morphological and taxonomical relationships. *J. Exp. Bot.* 39: 1605-1616.
- Wood, W. M. L. 1953. Thermonasty in tulip and crocus flowers. *J. Exp. Bot.* 4: 65-77.
- Woodson, W. R. and A. S. Brandt. 1991. Role of gynoecium in cytokinin-induced carnation petal senescence. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 116: 676-679.
- Woodson, W. R., S. H. Hanchey and D. N. Chisholm. 1985. Role of ethylene in the senescence of isolated hibiscus petals. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 79: 679-683.
- Woodson, W. R., K. Y. Park, A. Drory, P. B. Larsen and H. Wang. 1992. Expression of ethylene biosynthetic pathway transcripts in senescing carnation flowers. *Plant Physiol.* 99: 526-532.
- Wu, M. J., W. G. van Doorn and M. S. Reid. 1991a. Variation in the senescence of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) cultivars. I. Comparison of flower life, respiration and ethylene biosynthesis. *Sci. Hortic.* 48: 99-107.
- Wu, M. J., L. Zacarias and M. S. Reid. 1991b. Variation in the senescence of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) cultivars. II. Comparison of sensitivity to exogenous ethylene and of ethylene binding. *Sci. Hortic.* 48: 109-116.
- Wulster, G., J. Sacalis and H. W. Janes. 1982. Senescence in isolated carnation petals. Effects of indoleacetic acid inhibitors of protein synthesis. *Plant Physiol.* 70: 1039-1043.
- Xie, C., J.-S. Zhang, H.-L. Zhou, J. Li, Z.-G. Zhang, D.-W. Wang and S.-Y. Chen. 2003. Serine/threonine kinase activity in the putative histidine kinase-like ethylene receptor NTHK1 from tobacco. *Plant J.* 33: 385-393.
- Xiong, Y., A. L. Contento and D. C. Bassham. 2005. AtATG18a is required

- for the formation of autophagosomes during nutrient stress and senescence in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 42: 535-546.
- Xu, X., T. Gookin, C. Jiang and M. S. Reid. 2007a. Genes associated with opening and senescence of *Mirabilis jalapa* flowers. *J. Exp. Bot.* 58: 2193-2201.
- Xu, X., T. C. Jiang, L. Donnelly and M. S. Reid. 2007b. Functional analysis of a RING domain ankyrin repeat protein that is highly expressed during flower senescence. *J. Exp. Bot.* 58: 3623-3630.
- Xue, J., Y. Li, H. Tang, F. Yang, N. Ma and J. Gao. 2008. Expression of ethylene biosynthetic and receptor genes in rose floral tissues during ethylene-enhanced flower opening. *J. Exp. Bot.* 59: 2161-2169.
- Yamada, K., M. Ito, T. Oyama, M. Nakada, M. Maesaka and S. Yamaki. 2007a. Analysis of sucrose metabolism during petal growth of cut roses. *Postharv. Biol. Technol.* 43: 174-177.
- Yamada, K., R. Norikoshi, K. Suzuki, H. Imanishi and K. Ichimura. 2009a. Determination of subcellular concentrations of soluble carbohydrates in rose petals during opening by nonaqueous fractionation method combined with infiltration-centrifugation method. *Planta* 230: 1115-1127.
- Yamada, K., K. Suzuki, R. Norikoshi, T. Nishijima, H. Imanishi and K. Ichimura. 2009b. Cell division and expansion growth during rose petal development. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 78: 356-362.
- Yamada, K., R. Takahashi, C. Fujitani, K. Mishima, M. Yoshida, D. C. Joyce and S. Yamaki. 2009c. Cell wall extensibility and effect of cell-wall-loosening proteins during rose flower opening. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 78: 242-251.
- 山田哲也・市村一雄. 2006. バラの老化花卉におけるプログラム細胞死の品種間差. *園学雑*. 75 (別2): 344.
- Yamada, T., K. Ichimura, M. Kanekatsu and W. G. van Doorn. 2007b. Gene expression in opening and senescing petals of morning glory (*Ipomea nil*) flowers. *Plant Cell Rep.* 26: 823-835.
- Yamada, T., K. Ichimura, M. Kanekatsu and W. G. van Doorn. 2009d. Homologs of genes associated with programmed cell death in animal cells are differentially expressed during senescence of *Ipomea nil* petals. *Plant Cell Physiol.* 50: 610-625.
- Yamada, T., K. Ichimura and W. G. van Doorn. 2006a. DNA degradation and nuclear degeneration during programmed cell death of *Antirrhinum*, *Argyranthemum*, and *Petunia*. *J. Exp. Bot.* 57: 3543-3552.
- Yamada, T., K. Ichimura and W. G. van Doorn. 2007c. Relationship between petal abscission and programmed cell death in *Prunus yedoensis* and *Delphinium belladonna*. *Planta* 226: 1195-1205.
- Yamada, T., Y. Takatsu, M. Kasumi, K. Ichimura and W. G. van Doorn. 2006b. Nuclear fragmentation and DNA degradation during programmed cell death in petals of morning glory (*Ipomea nil*). *Planta* 224: 1279-1290.
- Yamada, T., Y. Takatsu, M. Kasumi, W. Marubashi and K. Ichimura. 2004. A homolog of the *defender against apoptotic death* gene (*DADI*) in senescing gladiolus petals is down-regulated prior to the onset of programmed cell death. *J. Plant Physiol.* 161: 1281-1283.
- Yamane, K., S. Kawabata and N. Fujishige. 1999. Changes in activities of superoxide dismutase, catalase and peroxidase during senescence of gladiolus florets. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 68: 798-802.
- 山根健治・川鱒実之・崎山亮三. 1991. グラジオリス花被の生長に伴う水分生理, 炭水化物含量および酸性インベルターゼ活性の変化. *園学雑*. 60: 421-428.
- Yamane, K., Y. Kotake, T. Okada and R. Ogata. 1995. Export of ¹⁴C-sucrose, ³H-water, and fluorescent tracers from gladiolus florets to other plant parts associated with senescence. *Acta Hort.* 405: 269-276.
- Yamane, K. and R. Ogata. 1995. Effects of cycloheximide on physiological parameters of gladiolus florets during growth and senescence. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 64: 411-416.
- Yanagisawa, S., S. D. Yoo and J. Sheen. 2003. Differential regulation of EIN3 stability by glucose and ethylene signaling in plants. *Nature* 425: 521-525.
- Yang, S. F. and N. E. Hoffman. 1984. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 35: 155-189.
- Yangkhamman, P., S. Fukai and K. Ichimura. 2005. Ethylene production and vase life of cut carnation flowers under high temperature conditions. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 74: 337-341.
- Yangkhamman, P., K. Tanase, K. Ichimura and S. Fukai. 2007. Depression of enzyme activities and gene expression of ACC synthase and ACC oxidase in cut carnation flowers under high-temperature. *Plant Growth Regul.* 53: 155-162.
- 湯本弘子. 2009. トルコギキョウ (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.) 切り花の品質保持に関する研究. *花き研報*. 9: 91-135.
- 湯本弘子・市村一雄. 2006. スイートピー切り花の旗弁が閉じる現象におけるエチレン感受性の関与. *園学雑*. 75 (別1): 246.
- 湯本弘子・市村一雄. 2009. トルコギキョウ未受粉小花の花持ちの品種間差におけるエチレンの関与. *園学研*. 8: 359-364.

- Zagory, D. and M. S. Reid. 1986. Role of vase solution microorganisms in the vase life of cut flowers. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 114: 154-158.
- Zhong, S., Z. Lin and D. Grierson. 2008. Tomato ethylene receptor-CTR interaction: visualization of NEVER-RIPE interactions with multiple CTRs at the endoplasmic reticulum. *J. Exp. Bot.* 59: 965-972.