

イチゴヘタ離れ性とエチレンの関連性調査

阿部 竜也

Relationship of Ethylen and Capping Trait in Strawberry.

Tatsuya Abe

The strawberry cultivar ‘Benihibari’ has excellent calyx release property, called ‘capping trait’. The fruits of ‘Benihibari’ can be easily decapped from calyx. To elucidate the mechanism of decapping, the proteins involved in remove of the calyx were analyzed by proteome technique. The amount of S-Adenosyl methionine synthase (SAMS) protein increased in calyx cell of capping trait strawberries. SAMS is an enzyme that catalyzes the synthesis of S-Adenosyl methionine (SAM), a precursor for ethylene. In this study, the role of ethylene in ‘capping trait’ was investigated.

In ‘capping trait’ strawberries, ethylene-related genes were up-regulated. Especially, 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) synthase was highly increased. ACC plays an important role in the biosynthesis of ethylene. Therefore, it was suggested the amount of ethylene was rich in ‘capping trait’ strawberry. Measurement of ethylene content in various cultivars, the ethylene level was in proportion to their rate of decapping. The effect of ethylene metabolism agents, ethephon and aminoethoxvinylglycine (AVG) were examined. Ethephon is converted into ethylene in plant and AVG is inhibitor of ethylene biosynthesis. In non-capping trait cultivar ‘Houkouwase’, ethephon induced capping trait. In contrast, ‘Benihibari’ treated AVG was decrease the frequency of decapping. These results indicate that ethylene plays an important role in capping trait in strawberry.

Key words: イチゴ, ヘタ離れ, エチレン, AVG, エテホン

序論

当研究所で交配育種された加工用イチゴ品種‘ベニヒバリ’は、ヘタ離れ性が高いという特性を持っている。ヘタ離れ性の高さは、収穫作業の省力化、加工品への異物混入を阻止できることから、加工用品種において重要な形質である。2009年にアメリカ農務省 国立食糧農業研究所 (NIFA) が提唱した、RosBREED (<http://www.rosbreed.org/>) と呼ばれる、バラ科果実・野菜の有用形質を対象とした DNA マーカー育種の基盤整備プロジェクトでは、ヘタ離れ形質が農業的に重要な形質として位置づけられ、解析対象の1つとされている。この形質は、遺伝学的解析から遺伝率が高く、ヘタ離れを制御する遺伝子の存在が示唆されているが、明らかになっていなかった¹⁾。筆者等は、‘ベニヒバリ’ヘタ部における発現タンパク質の網羅的解析から、S-アデノシルメチオニン合成酵素 (SAMS) タンパク質の蓄積量が多いことを見出した²⁾。SAMSは、メチオニンからS-アデノシルメチオニン (SAM) への合成を触媒する酵素である。植物において、SAMは、植物ホルモンの一種エチレン産生の初発物質となる。エチレンは、果実の成熟、花の老化、生長制御、落葉、落果、クロロフィルの分解、呼吸量の増加といった生理作用に関わる植物ホルモンであり、イチゴヘタ離れにも関連することが推測さ

れた。そこで、本研究では、ヘタ離れ性の異なる品種を用いた、エチレン関連遺伝子発現量の調査、内生エチレン量の比較、エチレン代謝剤のヘタ離れへの影響調査から、ヘタ離れ性とエチレンの関連性を調査した。

材料および方法

材料および栽培条件

イチゴ (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) は、当研究所附属農場または屋内型人工気象室で栽培した、‘ベニヒバリ’と‘ベニヒバリ’の雄親品種である‘マーシャル’および雌親品種である‘宝交早生’、10倍体品種‘桃薫’の4品種を供試した。ヘタ離れ性の高い試料として、‘ベニヒバリ’、中程度のヘタ離れ性試料として‘マーシャル’と‘桃薫’、ヘタ離れ性の無い試料として‘宝交早生’を用いた。本研究では、ヘタ離れの際に破断する領域 (萼と一部果実) をヘタ部と定義した。

RNAの抽出およびリアルタイムPCRによる遺伝子発現解析

収穫した果実は、ヘタ部と果実部に分け、液体窒素で急速冷凍した後、-80℃で保存した。凍結試料を液体窒素と共に乳鉢・乳棒で粉末状に磨砕し、抽出試料とした。塩

化ナトリウム含有臭化セチルトリメチルアンモニウムにより, total RNA を抽出した³⁾. 抽出した total RNA を鋳型とし, 1st strand cDNA synthesis Kit (タカラバイオ株式会社) を用いた逆転写反応によって cDNA を合成した. リアルタイム PCR システム (Thermal Cycler Dice TP800, タカラバイオ株式会社) で目的遺伝子の一部を増幅し発現量を測定した. 遺伝子断片の増幅, 標識には SYBR Remix Ex Taq (タカラバイオ株式会社) を用いた. アクチン遺伝子の発現量を内部標準とし, 各遺伝子の発現量を補正した.

果実内エチレンの採集

果実からのエチレン収集法として以下の2通りを検討した (図1).

密閉容器法; ガス採集用コネクター (セプタム付きの治具) を取り付けた容量 2.5 L の密閉容器 (三菱ガス化学株式会社) にイチゴ果実を入れ密封し, 25℃ で1時間または16時間静置した. その後, 1 mL の横穴針付きガスタイトシリンジ (株式会社 伊藤製作所, 針は横穴型 XX-MSE) で任意量のヘッドスペースガスを採集した.

水上置換法; ガラス漏斗 (漏斗径 60 mm, 足外径 6 mm, 足内径 5 mm: 株式会社 相互理化学硝子製作所) の足を短く切断し, セプタムを嵌め込みガス捕集器を作成した. 飽和食塩水 350 mL を注水したビーカー内に, 果実全体または切り出したヘタ部 (萼片と果柄は除去, 直径 10 ~ 15 mm × 高さ 5 mm) を入れたガス捕集器を設置した. 果実全体では1時間後, ヘタ部では設置後すぐに1分間の減圧処理により試料内部の気体を捕集した. 捕集した気体は, ガスタイトシリンジで任意量を採集した.

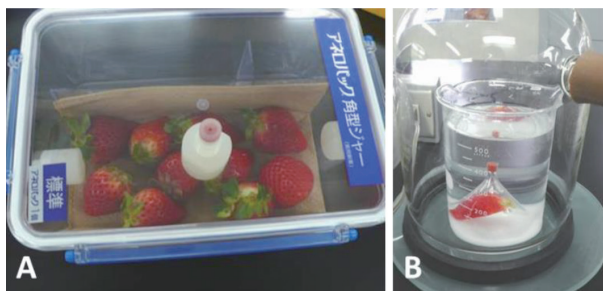


図1 検討したエチレンガス収集方法

A: 密閉容器法
B: 水上置換法

ガスクロマトグラフによるエチレン量測定

ガスクロマトグラフ装置は GC-9A (株式会社 島津製作所) を用いた. カラムは, 活性アルミナを充填したバックドカラム (内径 3.2 mm, 長さ 1.6 m: ジーエルサイエンス株式会社), キャリアガスはヘリウム (毎分 50 mL) を用いた. 注入口温度は 130℃, オープン温度は 80℃ とし, 検出器には水素炎イオン化検出器 (FID) を用いた. 試料ガス注入量は 0.1 ~ 0.5 mL とした. エチレン濃度は, 標準ガス (ジーエルサイエンス株式会社) を窒素ガスで希釈し,

そのピーク面積値より算出した.

有意差検定および相関率の算出には Excel (株式会社マイクロソフト) を用いた.

エチレン代謝関連薬剤の処理実験

エチレン発生剤であるエテホン (2-クロロエチルホスホン酸: 石原バイオサイエンス株式会社) の 0.1% 水溶液を果実全体またはヘタ部に塗布した. 塗布処理した株は 24 時間または 48 時間, 密封容器内に静置した後, ヘタ離れおよび果実の硬さを調査した. 果実を果梗と同軸方向に引き, 果実が潰れることなくヘタ部と果肉部が分離した場合にヘタ離れしたと判断した. 果実の硬さはプッシュブルスケール (株式会社イマダ) を用い, 直径 4 mm のプランジャーを果実中央部に貫入させたときの最大応力として測定した.

エチレン合成阻害剤であるアミノエトキシビニルグリシン塩酸塩 (AVG: シグマ・アルドリッチ株式会社) を, 0.1% Tween20 (和光純薬株式会社) 溶液に溶解し 1 および 10 mM 溶液を作成した. 各濃度の AVG 溶液を 'ベニヒバリ' 未成熟果実, 着色開始果実, 成熟果実のヘタ部に塗布した. 塗布した果実は通常栽培条件下で生育させ, 収穫期を迎えた果実のヘタ離れを調査した. 試料となるイチゴ果実は全て人工気象室で栽培し, 各処理区とも 3 株ずつを用いた. また, 対照区には 0.1% Tween20 溶液を塗布した.

結果

遺伝子発現解析

ヘタ離れ性の高い 'ベニヒバリ' と中程度のヘタ離れ性を示す '桃薫', ヘタ離れ性を持たない '宝交早生' のヘタ部における, SAMS 遺伝子, 1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸 (ACC) 合成酵素 (ACS) 遺伝子, ACC 酸化酵素 (ACO) 遺伝子, ならびに 3 種のエチレン受容体遺伝子 (ETR1, ETR2, ERS1) の発現量を調査した. SAMS については, 分析時にイチゴの遺伝子配列情報が報告されていなかったため, プライマー設計には既知配列の一部または他の植物種で高度に保存されている配列情報を用いた. 用いたプライマーの配列を表1に示した. 結果, ヘタ離れ性が高い 'ベニヒバリ' で, 全てのエチレン関連遺伝子の発現量が最も高かった. また, ヘタ離れ性の高い品種ほど酵素・受容体遺伝子の発現量が高い傾向が確認された (図2). 特に, その傾向は ACS 遺伝子や ETR2 遺伝子で顕著であった.

表1 リアルタイム PCR に用いた遺伝子情報及びプライマー配列

遺伝子名 (略名)	植物種	プライマー配列	生体内機能
S-adenosylmethionine synthetase (SAMS)	—*1	5'-atccctgacaaggagatcctc-3' 5'-cttcaccacctcccagggtgaagtc-3'	エチレン合成
ACC synthase (ACS)	Fragaria x ananassa	5'-accactaggcacaatcctagac-3' 5'-aacacagtggcagcatagatctc-3'	エチレン合成
ACC Oxydase (ACO)	Fragaria x ananassa	5'-tagcagaggagctcttgacttg-3' 5'-tgacctagtgcgaaggtaggac-3'	エチレン合成
Ethylene resistant 1 (ETR1)	Fragaria x ananassa	5'-gatgggttctgtgcagtttg-3' 5'-agtcaaaccttgccagtagtc-3'	エチレン受容体
Ethylene resistant 2 (ETR2)	Fragaria x ananassa	5'-ttgtcagctgctcgaatgtacc-3' 5'-ccagccattcagcaaatgtgtc-3'	エチレン受容体
Ethylene response sensor 1 (ERS1)	Fragaria x ananassa	5'-gaggaatgcgctttgtggatg-3' 5'-aggctaatggcacagtagacc-3'	エチレン受容体
Actin (ACT)*2	Fragaria x ananassa	5'-caaggctaactgtgagaagatgacc-3' 5'-ccactgcatacagggaagaacag-3'	細胞骨格 (内部標準)

*1: SAM のプライマー配列は、植物 5 種で高度に保存されている領域を用いた。

*2: Actin は内部標準として用いた。

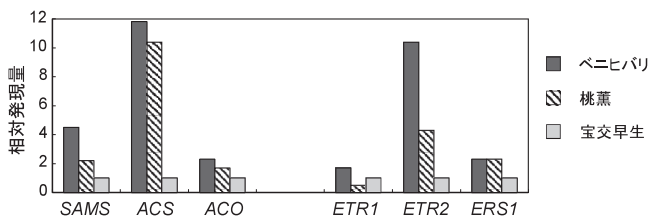


図2 エチレン関連遺伝子の発現量比較

‘宝交早生’における各遺伝子の発現量を1とした時の相対発現量

イチゴ果実のエチレン量測定

農場で露地栽培したイチゴ4品種‘ベニヒバリ’・‘宝交早生’・‘マーシャル’・‘桃薫’果実(全体)のエチレン生成量を、密閉容器法および水上置換法の二通りの方法で測定した。何れの方法でもバラツキが大きく、特に密閉容器法では顕著であった(図3)。また、バラツキが少なかった水上置換法による測定値を比較したところ、果実全体ではヘタ離れ率の低い品種ほどエチレン量が多い傾向にあった(図4)。一方で、ヘタ部のエチレン量を測定したところ、果実全体とは異なり、ヘタ離れ率の高い品種ほどエチレン量は多かったが、バラツキが大きく有意差は得られなかった(図5)。

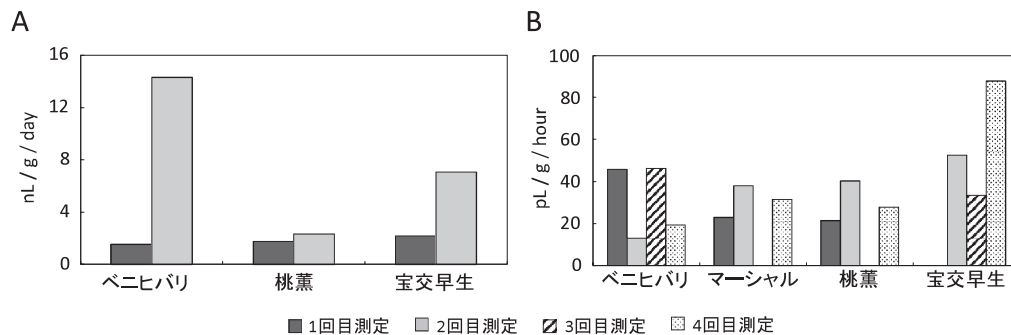


図3 異なる測定方法によるエチレン量測定

A: 容器密閉法による測定結果

B: 水上置換法による測定結果

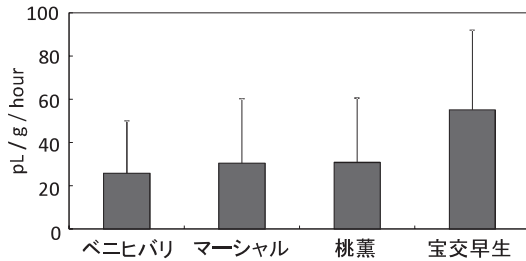


図4 果実全体のエチレン量測定

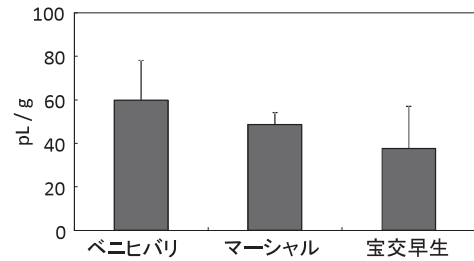


図5 ヘタ部のエチレン量測定

露地栽培中の環境要因（収穫直前の気象条件の違い）と収穫後の試料の保存方法（低温保存）が、バラツキの原因であると考えられた。そこで、露地栽培と人工気象室栽培の‘ベニヒバリ’を用いて、ヘタ部エチレン量を比較したところ、露地栽培果実は18.6 pL/g、人工気象室栽培果実は20.0 pL/g、で両者に差は無くバラツキも少なかった。一方、収穫した果実を4℃で3時間、保存するとエチレン量が大きく減少した（低温保存果実：5.7 pL/g）。また、同様の傾向が、‘宝交早生’でも確認された（図6A）。これらの結果から、低温保存が、バラツキの主要原因であると判明した。低温保存を止め、収穫後2時間以内にエチレン量を測定したところ、試料間のバラツキを抑えることが可能であり、ヘタ離れ性の高い品種ほどヘタ部エチレン量が多いことが分かった（図6B）。また、ヘタ離れ率とエチレン量には高い正の相関関係（相関係数 $r^2 = 0.753$ ）がみられ、イチゴヘタ離れにエチレンが強く関与していることが示唆された。

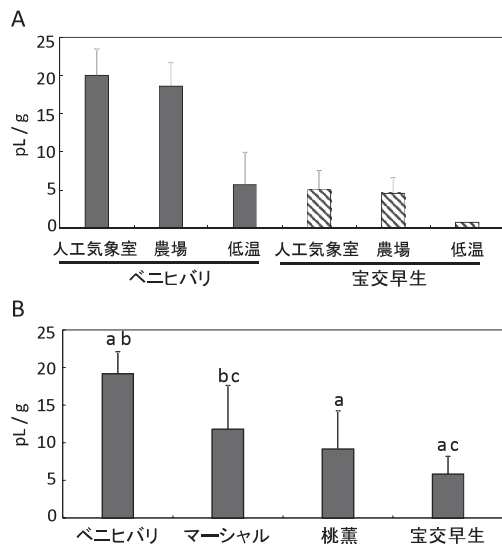


図6 ヘタ部のエチレン量再測定

A：栽培条件や収穫後の低温保管の影響

B：収穫直後のエチレン量の紫外

a, c：有意水準1%で有意差有り

b：有意水準5%で有意差有り

イチゴ果実へのエチレン代謝剤処理

市販‘さちのか’を用いて、果実にエチレン発生剤であるエテホン进行处理した際の、硬度・ヘタ離れ性を確認したが、影響は見られなかった（図7）。一方、鉢植えの‘宝交早生’を対象にエテホン进行处理したところ、一部の果実で‘ベニヒバリ’に近い状態のヘタ離れがみられた。ただし、果実全体の成熟の進行に伴う軟化により、ヘタ離れ評価時に果実が千切れることが多く、再現性は低かった（図8）。そこで、部位をヘタ部に限定し、成熟開始期（白色果実が赤く色づき始めた段階）または成熟期（果実全体が赤く色づき軟化が始まる段階）の果実を対象に試験した。結果、成熟開始期の果実（処理48時間後）ではヘタ離れは起こらなかったが、成熟期果実（処理24時間後）では、処理した21個中の12個で‘ベニヒバリ’様のヘタ離れが見られた（図8）。

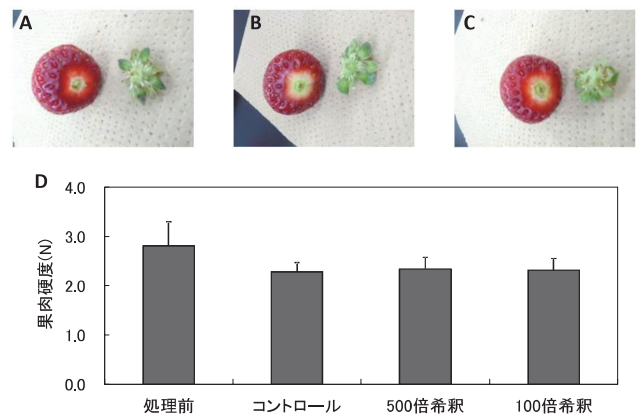


図7 市販イチゴ果実へのエテホン処理結果

A～C：市販イチゴ果実（品種名：‘さちのか’）の果実全体にエテホン进行处理し、密閉容器内に2日間静置（25℃、16時間照明）し、ヘタ離れ性を調査した結果（A：コントロール（水）、B：500倍希釈エテホン処理、C：100倍希釈エテホン処理）。

D：プッシュプルスケール（プランジャー径4mm）測定した果実の硬さ。

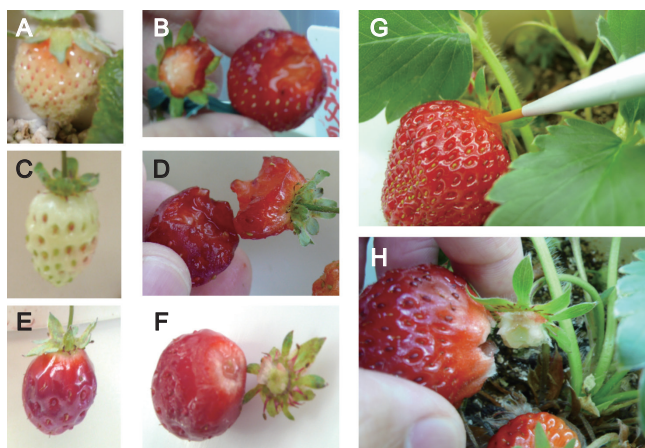


図8 鉢植え‘宝交早生’へのエテホン処理結果

A～C: 成熟初期果実（果実全体に処理）の処理前（A, C）とそれぞれの処理2日後のヘタ離れ（B, D）の様子。

E～H: 成熟期果実（ヘタ部のみ処理）の処理前（E），エテホン処理（G），処理1日後のヘタ離れ（F, H）の様子。

ヘタ離れ性を持たない‘宝交早生’に，エテホンを処理することで，‘ベニヒバリ’様のヘタ離れが引き起こされ，エチレンがイチゴヘタ離れを促進することが示唆された。そこで，エチレン合成阻害剤であるAVGを‘ベニヒバリ’に処理した際の影響を調査した。‘ベニヒバリ’未成熟果実および成熟果実のヘタ部に1 mMまたは10 mMのAVG溶液を処理し，その後のヘタ離れ率を確認したところ，1 mM AVGで50%（ヘタ離れ果実数/処理果実数 = 4/8），10 mM AVGで0%（同0/8）であり，濃度依存的なヘタ離れ抑制効果を示した。また，何れの熟度でもヘタ離れは抑制されたが，未成熟期処理果実では，収穫期の時点で着色が不十分な果実が一部あり，成熟期処理では，過熟による軟化が起これ，ヘタ離れ評価が不明瞭な果実があったため，処理時期を果実が色つき始めた着色期とし，処理後3-5日目にヘタ離れを評価することとした（図9）。

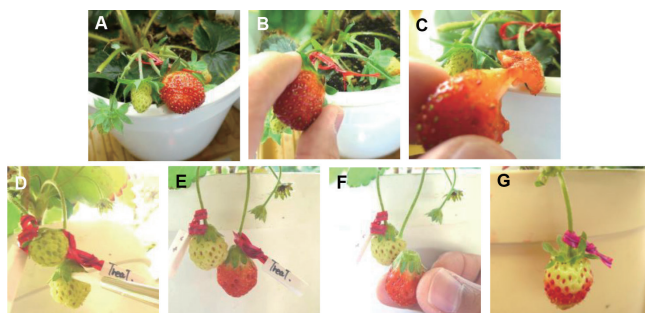


図9 AVG処理におけるヘタ離れの様子

A～C: 成熟期処理におけるヘタ離れ抑制の様子

A: 処理日の果実, B: 処理後2日目の果実, C: ヘタ離れ抑制（果実の崩壊）

D～G: 未成熟期処理におけるヘタ離れ抑制の様子

D: 処理日の果実, E: 処理後7日目の果実, F: ヘタ離れ抑制, G: 着色不十分な果実

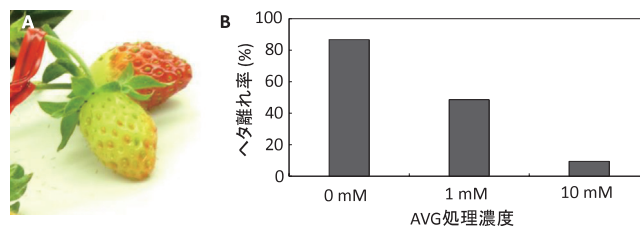


図10 AVG処理におけるヘタ離れ抑制効果

A: AVGを処理する果実の時期（写真手前：着色期）

B: 処理後3-5日目の果実のヘタ離れ率

グラフ内の数値は，ヘタ離れした果実数/処理果実数を示している
0 mM 処理区（対照区）は，溶媒である0.1% Tween20溶液を塗布した

考察

エチレンは，果実の成熟，花の老化，生長制御，落葉，落果，クロロフィルの分解，呼吸量の増加といった生理作用に関わる植物ホルモンである。その生成は自発的な制御の他，病傷害，物理的負荷，低温，乾燥，冠水など様々な外因性ストレスを受けた場合にも起こる⁴⁾。

多くの植物では葉や果実などの器官脱離は，組織の老化と共に起こるとされており，脱離部位では事前に離層組織が形成されている。離層組織は細胞壁の薄い細胞群（離層細胞）からなり，維管束などを横切って形成される。離層細胞の細胞間中層が，ペクチン分解酵素などにより分解されて器官脱離が起こる。これらの過程にエチレンが促進的に作用することも知られている。

高等植物のエチレン合成経路は，アミノ酸の一つであるメチオニンからSAMおよびACCを経て合成される^{5), 6)}。エチレン生成速度は主に組織内のACC含量に依存しており，SAMからACCを生成する反応がこの経路の律速段階である⁷⁾。この反応を担うACSタンパク質は，代謝速度が速く細胞内にほとんど蓄積されないため，ACCの生成速度は本酵素遺伝子の発現量やタンパク質合成速度に依存していると考えられている⁸⁾。ヘタ離れ性の異なる品種間のヘタ部で，ACSを含む3種のエチレン合成酵素遺伝子の発現量を比較したところ，ヘタ離れ性の高い品種ほど，遺伝子発現量が高い傾向を示した。特に，‘ベニヒバリ’におけるACS遺伝子の発現量は，‘宝交早生’より10倍以上高く，‘ベニヒバリ’のヘタ部エチレン量が増加していると推察された。また，エチレン受容体遺伝子として3遺伝子（ETR1, ETR2, ERS1）の発現量も比較した結果，ETR2で差が顕著（10倍以上）であった。これら受容体タンパク質は，N末端側の膜貫通ドメインの数から2つのサブファミリーに分けられている⁹⁾。サブファミリー間における機能の違いは明らかではないが，ETR1とERS1が属するサブファミリーⅠは小胞体膜，ETR2が属するサブファミリーⅡは細胞膜に局在するという違いが報告されている^{10), 11), 12)}。‘ベニヒバリ’では，サブファミリーⅡに属するETR2遺伝子の発現量が高いことから，細胞外のエ

チレンに対する感受性も高いと考えられた。

ヘタ離れ性の異なる品種間でヘタ部エチレン量を比較した結果、ヘタ離れ率とエチレン量には高い正の相関関係が見出された。この結果と遺伝子発現量比較の結果を併せると、ヘタ離れにエチレンが強く関与することを示唆するものであった。

今回のエチレン測定では、果実の低温保管がエチレン量の減少を引き起こし、測定値のバラツキの原因となっていた。収穫後のエチレン量の変動（細胞外への拡散、収穫時の刺激に伴うエチレンの新たな生成など）を最小限にする措置として、低温保管を実施したが、拡散防止の効果が弱く、且つ生成抑制には効果が有ったため果実内エチレンが減少してしまったと推測している。低温保管がエチレン放出量を抑制することは広く知られており、20℃貯蔵と比較して5℃貯蔵では2時間後のエチレン放出量がブロッコリーでは1/50量、トマトでは1/5量に抑制されることが報告されている¹³⁾。イチゴの最適低温貯蔵温度は0℃と報告されており（独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 HP より）、今回の4～5℃は低温として不十分であり、エチレンの拡散を防げなかった可能性が考えられた（貯蔵に用いた包装フィルムに呼吸による水滴の付着を確認している）。

また、収穫から測定までの所要時間が短いほどエチレンの損失を抑制できると推測され、トマトでは25℃貯蔵24時間で、エチレン放出量が20%減少することが報告されている¹³⁾。高精度な測定には所要時間の短縮が必須であるが、本研究の所用時間（約2時間）でもバラツキを抑えた測定結果が得られたことから、収穫後2時間以内に測定が終了すれば良いと考えられた。

本研究では、イチゴのヘタ離れにおけるエチレンの作用を確認するため、各種エチレン代謝剤の影響を調査した。エチレン発生剤のエテホン、ヘタ離れ性のない‘宝交早生’果実に処理すると、一部で‘ベニヒバリ’様のヘタ離れが誘導され、エチレンがヘタ離れを促進することが示唆された。エテホンは、植物に取り込まれた後、加水分解によってエチレンを発生する。発生までの速度は速く、また持続期間も1～2日間と非常に短いため、処理する果実の熟度が非常に重要である。従って、栽培規模でイチゴのヘタ離れを誘導するためには、本研究のような処理方法は、適さないと考える。一方、エチレン生製阻害剤であるAVGを処理した‘ベニヒバリ’では、濃度依存的にヘタ離れ率が低下し、エチレンのヘタ離れ促進効果を支持する結果であった。AVGは、二量体で機能するACSと複合体を形成することで、ACCへの代謝を阻害し、エチレン合成を阻害する¹⁴⁾。リンゴやバナナといった、AVG処理により果実成熟にエチレンが必要なクライマテリック型果実の器官脱離、果実成熟等が、抑制・遅延されることが報告されているが^{15), 16)}、成熟にエチレンを必要としないノンクライマテリック型の果実であるイチゴにおいて、AVGの作用を調査したのは本研究が初めてである。イチゴでは、1 mM AVG処理によりヘタ離れ（器官脱離）率

が半分近くまで低下しており、リンゴやウンシュウミカンでの落果抑制効果（それぞれ6.5 mM, 10 mM）と比較すると低濃度で効果が得られた^{17), 18)}。この結果は、イチゴにおけるエチレン生成量のごく僅かであることと関係すると推察している。また、AVG処理区では成熟の遅延は観察されず、対照区と同様の成熟期間であったことから、イチゴにおいてエチレンは果実着色とヘタ離れ以外に作用しないことが推察された。

イチゴヘタ離れ形質に関わるタンパク質の網羅的解析からエチレンの関連性を推測していた。そこで、本研究では、ヘタ離れ性が異なる品種を対象に、エチレン合成酵素や受容体遺伝子の発現量調査、内生エチレン量の比較、エチレン代謝剤のヘタ離れへの影響調査を実施した。ヘタ離れ性の高い品種ほど、エチレン関連遺伝子群の発現量が増加し、それに伴いエチレン量も多い傾向が確認された。また、エチレン代謝剤の処理では、エチレン発生剤によりヘタ離れが促進され、生成阻害剤で抑制された。これらの結果は、エチレンにイチゴヘタ離れを促進する作用があることを強く示唆するものであった。本研究により、ノンクライマテリック型果実の器官脱離においても、エチレンが促進的に作用することが示唆された。

文献

- 1) 高橋 徹, 森 大蔵, 奥 正和, 後藤隆子: 東洋食品工業短大・東洋食品研究所 研究報告書, 24, 9-17 (2002).
- 2) 阿部竜也, 高橋 徹: 東洋食品工業短大・東洋食品研究所 研究報告書, 29, 51-58 (2012).
- 3) 阿部竜也: 東洋食品工業短大・東洋食品研究所 研究報告書, 30, 19-25 (2014).
- 4) Mao L., Begum D., Chuang H., Budiman M.A., Szymkowiak E. J., Irish E.E., Wing R.A.: *Nature*, **406**, 910-913 (2000).
- 5) Yang S.F. and Hoffman N.E.: *Annual Rev. Plant Physiol.*, **35**, 155-189 (1984).
- 6) Kende H.: *Annual Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **44**, 283-307 (1993).
- 7) Adams D.O., Yang S.F.: *Proc Natl Acad Sci U S A.*, **76**, 170-174 (1979).
- 8) Yoshii H., Watanabe A., Imaseki H.: *Plant Cell Physiol.*, **21**, 279-291 (1980).
- 9) Perkins-Veazie P.: *Horticultural Review*, **17**, 267-297 (1995).
- 10) Schaller G.E., Ladd A.N., Lanahan M.B., Spanbauer J.M., Bleecker A.B.: *J. Biol. Chem.*, **270**, 12526-12530 (1995).
- 11) Chen Y.F., Randlett M.D., Findell J.L., Schaller G.E.: *J. Biol. Chem.*, **277**, 19861-19866. (2002).
- 12) Xie C., Zhang J.S., Zhou H.L., Li J., Zhang Z.G., Wang D.W., Chen S.Y.: *Plant J.*, **33**, 385-393 (2003).

-
- 13) 永井耕介：神戸大学学位論文 (1999).
 - 14) Capitani G., McCarthy D. L., Gut H., Grütter M. G., Kirsch J. F.: *J. Biol. Chem.*, **277**, 49735-49742 (2002).
 - 15) Williams A. M.: *HortSci.*, **15**, 76-77 (1980).
 - 16) Owens L. D., Lieberman M., Kunishi A. T.: *Plant Physiol.*, **48**, 1-4 (1971).
 - 17) Yuan R. and Li J.: *HortSci.*, **43**, 1454-1460 (2008).
 - 18) Ogata T., Hirota T., Shiozaki S., Horiuchi S., Kawase K., Ohashi M.: *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **71** (3), 348-354 (2002).