

令和元年6月27日現在

機関番号：85301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07610

研究課題名(和文)モモ果肉褐変の多様性：品種間差とその遺伝的背景

研究課題名(英文) Diversity of flesh browning in peach: difference among cultivars and its genetic background

研究代表者

小田 賢司 (Oda, Kenji)

岡山県農林水産総合センター生物科学研究所・その他部局等・専門研究員

研究者番号：10344409

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：モモの果肉を切ると、断面が短時間で茶褐色に変色してしまう。日本のモモは褐変の目立つ白肉種が中心であるが、果肉褐変に関する体系的解析は遅れていた。本研究では、日本の栽培品種間における果肉の褐変度を大規模に比較し、複数の褐変しにくい品種を見出した。また、低褐変品種である西尾白桃は、褐変の原因物質であるポリフェノールの含有量が少なく、果実成熟に伴う合成が抑制されていることを明らかにした。西尾白桃はポリフェノール合成酵素遺伝子群の発現が少なく、低褐変は転写制御系に遺伝的要因があると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

果肉褐変は現在のモモが抱える問題の一つである。見た目が悪いだけでなく、加工利用の大きな阻害要因となってきた。本研究は、果肉が褐変しにくいモモ新品種の育成に向けて解析を行い、日本の栽培品種間で果肉褐変度に大きな差があることを明らかにした。さらに、低褐変品種において褐変現象が抑制される主要な要因を明らかにした。褐変抑制の遺伝的背景についても解析を行い、モモの果肉褐変に関する新しい知見を見出した。

研究成果の概要(英文)：Cross section of peach fruits turns light brown easily. In Japan, flesh browning causes severer problem, since most cultivars grown in Japan bear white fleshed fruits. However, they have not been well studied so far. In this study, we found several cultivars showing lower flesh browning by comparing the discoloration of flesh homogenate. Nishio-hakuto, one of the lower browning cultivar, contains less amount of polyphenol compounds. During fruit maturation, biosynthesis of polyphenol was suppressed in Nishio-hakuto. In addition, the expression of biosynthetic genes was repressed, suggesting that Nishio-hakuto may have genetic defects in transcriptional regulation of polyphenol biosynthesis.

研究分野：果樹園芸

キーワード：モモ 果肉褐変 品種間差 ポリフェノール 転写制御

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

モモ (*Prunus persica* (L.) Batsch) は、日本において生産量第 6 位の大変人気のある果実である。モモの果実は、皮を剥きカットすると表面が短時間のうちに茶褐色に変色してしまう。欧米では黄肉のモモにも人気があるのに対し、日本で生産されるモモは果肉の白い白肉種に人気が集まっているため、果肉褐変は特に目立ち、見た目が悪くなりやすい傾向にある。特に、果肉褐変現象はカットフルーツやジュースへとしての加工利用の際の大きな阻害要因にもなっている。

これまで、日本の栽培品種における果肉褐変の品種間多様性についてはほとんど明らかにされてこなかった。また、適当な育種素材が見出されていないことから、新品種育成において果肉褐変が育種目標とされることはほとんどなかった。近年、同じ果肉褐変の問題を抱えるリングゴで、褐変しない品種 (あおり 27) が青森県で開発されており、モモにおいても果肉褐変しにくい品種の育成が求められるようになってきた。このため、日本品種の品種間多様性とその遺伝的背景に関する解明が望まれていた。

2. 研究の目的

本研究は、日本のモモ栽培品種の果肉褐変について、その多様性を明らかにすることを主な目的とした。これまでの予備的研究で、岡山 PEH7 号は清水白桃や岡山 PEH8 号に比べて果肉の褐変程度が低く、果肉褐変には品種間差があることを見出していた。そこで、さらに多くの品種・系統について解析を行い、果肉褐変しにくい品種の同定を目指す。低褐変品種について褐変機構を調査することで、褐変が起こりにくい要因を明らかにする。さらに、褐変に関わる遺伝子を解析し、低褐変の遺伝的背景について知見を得ることを目的とする。

3. 研究の方法

果肉断面の褐変具合は、場所によって大きく異なり、ムラが大きい。そこで、褐変度を顕著でかつ安定的に評価できるよう、おろし金ですりおろした果肉破砕液をリン酸緩衝液で薄め、室温・振とう培養条件下で見られる変色の様子を調べた。解析に用いた果実は、すべて、岡山県農林水産総合センター農業研究所 (岡山県赤磐市神田) の果樹園で収穫されたものを用いた。

褐変しにくい品種について、その要因を明らかにするため、褐変の要因となるポリフェノールの内生量を HPLC で測定した。また、ポリフェノール酸化酵素活性を比較するため、室温で数時間インキュベートすることで内生ポリフェノールを消費した果肉破砕液にカテコールを加えて生じた 490nm の吸光度変化を測定した。

低褐変品種および褐変品種における果肉成熟に伴う果肉内ポリフェノールの量と成分の変動を明らかにするため、4~5g 程度に成長した満開後 5 週間目頃から収穫期までの果実を 6 個ずつサンプリングし、HPLC で解析した。

ポリフェノール合成酵素遺伝子の構造および発現解析は、次世代シーケンサー (イルミナ社 HiSeq2500) による受託解析で行った。

4. 研究成果

(1) 果肉褐変度の品種間差

岡山県農林水産総合センター農業研究所で栽培される品種やゲノムバンクに保存されている品種・系統に関し、成熟果実の果肉すりおろし液の変色度を達観で調査した。褐変しにくい、やや褐変する、褐変しやすい、強く褐変するの 4 段階で分類したところ、清水白桃を含め、3 段階目の褐変しやすいに分類される品種が最も多かった。一方、やや褐変するに分類されるものが少なからず存在し、褐変しにくいに分類されるものも複数見出された。調査した中で最も褐変しにくかった品種は西尾白桃であった (図 1)。また、岡山 PEH7 号の自殖後代や F1 交配樹の初生り果実を調査したところ、褐変しにくい品種が複数見出された。これらについては今後複数年度に渡って調査を行いたいと考えている。以下の実験では西尾白桃を主な解析対象とした。

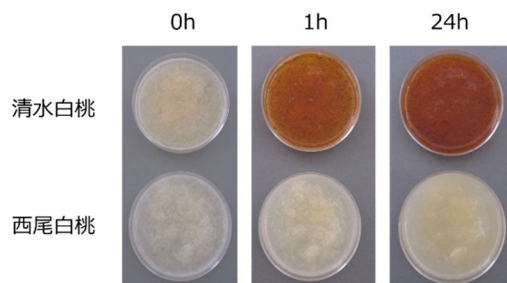


図 1. 褐変しやすい清水白桃と褐変しにくい西尾白桃の果肉破砕液の変色の様子

(2) 低褐変品種の特性

植物の褐変現象は、一般に、ポリフェノールの酸化によって引き起こされる。モモの果肉褐変の場合も、果肉をカットした際に細胞がつぶれ、液胞内に存在するポリフェノール成分と細胞質

に局在するポリフェノール酸化酵素が酸素の存在下で会うことにより引き起こされると考えられる。実際、果肉破碎液に抗酸化剤を与えたり、加熱処理を行ったりすると、変色が全く起こらない。このことは、ポリフェノール内生量やポリフェノール合成酵素活性が果肉の褐変度に影響することを強く示唆している。そこで、これらの要因が果肉褐変度にどの程度影響しているかを知る目的で、様々な品種間における、果肉破碎液の変色度とポリフェノール内生量またはポリフェノール合成酵素活性との相関を調べた。その結果、ポリフェノール合成酵素活性と果肉破碎液の変色度に有意な相関は認められなかった ($R^2=0.1088$)。一方、図 2 に示すように、ポリフェノール内生量と果肉破碎液の変色度には有為な相関がみられた。

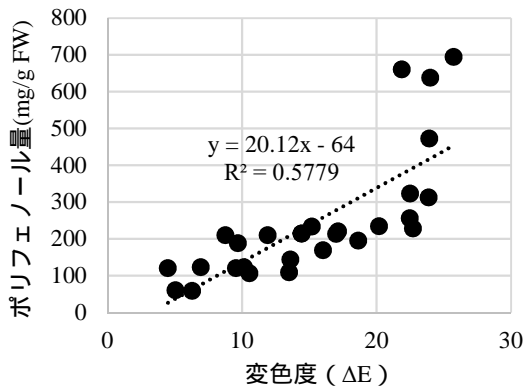


図 2 . 日本栽培品種における果肉の破碎液変色度と内生ポリフェノール量との相関

また、一部の品種についてポリフェノールの成分分析を行ったところ、岡山 PEH7 号では、主成分であるクロロゲン酸類とカテキンを含むフラボノイド類のうち、クロロゲン酸類の量が少ないという特徴が認められた。

(3) 果実成熟に伴うポリフェノールの蓄積

果肉褐変の品種間差はポリフェノール内生量が強く影響すると考えられたことから、果実成熟に伴うポリフェノール量の蓄積変化を調査した。その結果、図 3 に示すように、褐変しやすい清水白桃では、S1 期に当たる満開後 7 週目辺りまではポリフェノール内生量は低いものの、その後の S2 期に一過的な内生量の上昇が認められる。その後、S3 期頃から収穫期にかけて漸減していった。これに対し、褐変しにくい西尾白桃では、S2 期においてもポリフェノールの蓄積はほとんど観察されなかった。他の比較的褐変しにくい品種における調査でも、S2 期のピークが低い傾向が認められ、ポリフェノールの合成抑制が褐変度に深く関係していると推察された。一方、西尾白桃でも 3 年目の観察時には、成熟果実がやや褐変する傾向が認められたが、この時は S2 期にポリフェノール量の増加が観察された。果肉の褐変程度は環境の影響を受けやすく、年によって測定結果がぶれる時がある。例えば、観察 3 年目の西尾白桃は、育種目的でやや着果過多であったが、そのような生理条件の違いが影響したのかも知れず、今後の検討課題である。

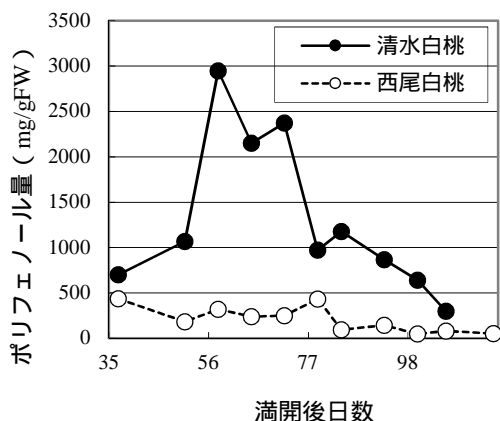


図 3 . 果実成熟に伴う果肉のポリフェノール量の変化

強く褐変する品種である岡山 PEH8 号について、同様に、果実成熟に伴うポリフェノール量の変動を調べたところ、S2 期の蓄積量が特に高いだけでなく、S1 期の時点でポリフェノールの一部の成分が高蓄積していることが明らかとなった。ポリフェノールの高蓄積には別の要因が関与していると考えられる。

(4) 低褐変品種の遺伝子解析

西尾白桃では、S2 期におけるポリフェノールの合成活性が弱いと考えられることから、フェニルアラニンからカテキン等のフラボノイドへの合成経路を触媒する生合成酵素について、西尾白桃の遺伝子を調査した。その結果、酵素活性を阻害すると推察され、西尾白桃に特異的であるような変異は検出することができなかった。このことから、低褐変の要因は酵素活性の低下が原因ではないと推察された。

次に、これら酵素遺伝子の発現を RNA-seq 法により解析した。その結果、ほとんどのものが S2 期に一過的に誘導されており、ポリフェノール内生量の一過的増加と一致する挙動を示した。興味深いことに、これら遺伝子の発現はいずれも清水白桃に比べ西尾白桃で有為に抑制されていた。これらのことから、西尾白桃の低褐変の特性は、ポリフェノール合成の制御系に起因するのと考えられた。

表 2. ポリフェノール合成酵素遺伝子の果肉における発現比較

遺伝子名	S2 vs S1	S4 vs S2	西尾 vs 清水
PAL	2.44**	-17.79**	-13.79**
PAL	1.59**	-2.91**	-3.05**
C4H	1.48*	-2.86**	-1.75**
4CL	1.62**	-6.32**	-3.19**
CHS	6.19**	-15.69**	-5.03**
CHI	1.81**	-4.04**	-2.82**
F3H	1.59*	-9.73**	-5.45**
DFR	1.81**	-4.78**	-7.02**
LAR	1.53**	-18.29**	-2.12**
ANS	1.23	-2.20**	-2.31**
LDOX	2.32**	1.98**	-5.11**

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Naoki Yokotani, Misugi Uraji, Miyuki Hara, Seisuke Hihara, Tadashi Hatanaka and Kenji Oda (2016) Low accumulation of chlorogenic acids represses reddening during flesh browning in Japanese peach “ Okayama PEH7 ”, **Biosci. Biotech. Biochem.**, 81:147-152 査読有

〔学会発表〕(計 4 件)

小田賢司、原美由紀、田村隆行、日原誠介「普遍性の高いモモ花粉稔性識別マーカーの開発」園芸学会平成 29 年度秋季大会、平成 29 年

小田賢司「モモ育種における DNA マーカー開発と利用」園芸学会平成 30 年度春季大会小集会、平成 30 年

原美由紀・鵜木悠治郎・日原誠介・小田賢司

「モモの果肉の褐変化に関する品種間多様性とその要因調査」園芸学会平成 30 年度秋季大会、平成 30 年 9 月 22 ~ 24 日 (鹿児島)

原美由紀・鵜木悠治郎・日原誠介・小田賢司

「モモ果肉色の多様化に向けた'天津水蜜桃'の紅肉形質の解析と育種マーカー開発」日本農芸化学会 2019 年度大会、平成 31 年 3 月 24 ~ 27 日 (東京)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

2017 年 B.B.B. 論文賞受賞

http://www.jsbba.or.jp/about/awards/about_awards_bbb_journal.html

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：小田 賢司

ローマ字氏名：Oda, Kenji

所属研究機関名：岡山県農林水産総合センター生物科学研究所

部局名：その他部局等

職名：専門研究員

研究者番号 (8 桁): 10344409

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：