

平成 21 年 5 月 28 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
研究期間：2007～2008
課題番号：19580031
研究課題名 (和文) 東北地方より収集したナシ遺伝資源の評価と利用
研究課題名 (英文) Evaluation and utilities of pear genetic resources collected from Tohoku region, Japan
研究代表者
片山 寛則 (KATAYAMA HIRONORI)
神戸大学・大学院農学研究科・講師
研究者番号：50294202

研究成果の概要：

東北地方より収集したイワテヤマナシを含む野生ナシ、在来品種の有用形質評価（香気、加工特性、早晩性）と新規利用法の開発、個体識別を行った。収集個体は香気成分、有機酸、糖類ともに多様性が高かった。在来品種‘サネナシ’‘ナツナシ’は香りの強いエステルが存在しニホンナシやセイヨウナシとは異なるさわやかな香りだった。‘ナツナシ’などニホンナシの約7倍の有機酸量をもつ個体も存在し優れた加工特性を示した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・園芸学

キーワード：梨、イワテヤマナシ、在来品種、遺伝資源、香り、有機酸、糖、加工特性

1. 研究開始当初の背景

‘二十世紀’をはじめとする特定の交配母本系統への偏りが懸念されて久しい（梶浦・佐藤 1990）。申請者らはニホンナシへの遺伝的多様性の導入を目的として育種素材として注目されることのなかった野生、半野生ナシの分布調査と収集活動を行ってきた（Iketani & Ohashi 2003; 片山&植松 2004）。

岩手県を中心とした東北地方に自生するイワテヤマナシ (=ミチノクナシ、*Pyrus ussur*

iensis var. *aromatica*) は昭和初期まで生食、保存食、木材、救荒作物として利用されてきた歴史を持つ（片山&植松 2004）。しかし現在はほとんど利用されることがなく個体数の減少が危惧されてきた。申請者は1999年より青森県、秋田県、岩手県の全市町村にわたりイワテヤマナシを含むナシ属植物の分布調査を行ってきた。聞き取り調査から30種類を超える在来系統の存在や過去の利用法を明らかにし果実形態やDNA分析により高い遺伝的多

様性を報告してきた (Katayama & Uematsu 2006)。これまでに見いだした700本を超えるナシ属植物のうち550本を申請者の所属する神戸大学農学部附属食資源教育研究センターにて野生ナシジーンバンクとして接ぎ木保存している。

これらの着果量が安定してきたため予備的な調査を行ったところ、ニホンナシ栽培品種にはない農業上の有用形質 (香氣成分、加工特性、早晩性、病虫害抵抗性、粗放栽培特性など) を多く持つことが明らかとなってきた。

2. 研究の目的

本申請課題はジーンバンクで保有する野生ナシや在来品種を用いてニホンナシにはない有用形質 (香氣成分、加工特性、早晩性) などの評価と新規利用法の開発を行い、未利用遺伝資源を掘り起こすことを目指す。

(1) 香氣成分

これまでナシ果実の香氣成分 (揮発性成分) 分析はセイヨウナシを中心に行われてきた。学名のアロマティカが示すようにイワテヤマナシにはニホンナシ栽培品種には無い芳香果実を持つ系統が存在する。これまで岩手大学菅原研究室との共同研究により香りの強い収集個体 (i830系統) の香氣成分を官能検査、GC-0分析、AEDA法により特徴づけてきた。i830系統はニホンナシ、セイヨウナシ栽培品種と比べて約2倍 (112種類) の揮発性香氣成分を含有していた。また特有の香りを構成する閾値の低い極めて貢献度の高い物質が存在しており、これらがイワテヤマナシに豊かな香りを与えている可能性を示唆した。本課題ではi830系統以外で果実に香氣を持つイワテヤマナシ由来の在来系統 (‘サネナシ’、‘ナツナシ’) の主要香氣成分を同定、比較しイワテヤマナシ果実に特徴的な香氣成分を特定する。また標準品を用いた ‘サネナシ’ 香氣の再構成実験により人工的な香氣の再現を試みる。

(2) 加工特性の評価

ニホンナシ栽培品種が高糖度、低酸度、多汁、シャキシャキした食感などを特徴とするのに対し、一般的には野生・半野生ナシは食味におとる。しかし収集系統の中には栽培品種より糖度が高い系統 (16度以上) や酸度が強い (pH3.0以下) ために濃厚な味を与える系統などがある。聞き取り調査からも生食の他、果実酒や砂糖煮で利用されていた (片山&植松2004; Katayama & Uematsu 2006)。我々の予備的な調査により収集個体にはジュース、缶詰 (砂糖煮)、洋食やお菓子の素材 (焼き菓子、洋和菓子、フランス料理)、果実酒、

ナシ酢、漬け物などに有用な形質が確認されている。生食用に適するニホンナシ栽培品種とは全く異なる観点から加工適性にすぐれたナシを評価、選抜する。本申請課題では収集個体のpH、ナシやリンゴにおける主要な有機酸であるリンゴ酸、クエン酸量の測定、スクロース、ソルビトール、フルクトース、グルコースなどの糖類の定性と含有量を比較し、収集個体間の多様性を調べる。最終的に加工特性が高い収集個体を評価、選抜する。

(3) 早晩生の評価

ニホンナシ栽培品種には多くの早晩性品種が存在する。なかでも市場では早生系統の需要が高い。収集個体には熟期が ‘幸水’ と同程度かそれ以上に早い極早生系統が含まれる。本研究課題では収集個体の熟期を調査し、極早生系統の選抜、評価を行い ‘幸水’ をこえるニホンナシ早生品種育成のための交配母本の選抜を試みる。

(4) DNAマーカーによる収集個体の識別

聞き取り調査から明らかとなったイワテヤマナシ由来と考えられる在来品種やその他の地方名を持つ在来品種は早晩生、味、香り、無核などの形質的特徴から名づけられたものが多い (‘ナツナシ’、‘サトウナシ’、‘タネナシ’、‘コナシ’ など)。これらには同名異種、異名同種と思われる系統が存在する (Katayama & Uematsu 2006)。申請者および研究協力者 (Yamamoto et al 2002; Kimura et al 2003) らの開発した核と葉緑体の2種類のDNAマーカー (SSRマーカー、葉緑体DNAマーカー) を用いて在来系統を識別することで過去の増殖法 (実生か接ぎ木繁殖か?) や由来 (伝播経路) を予想する。

3. 研究の方法

(1) 香氣成分評価

イワテヤマナシ由来とされる在来 2 品種 (‘ナツナシ’、‘サネナシ’) の果実を用いて GC-0 分析 (ガスクロマトグラフにおいかぎ分析) と AEDA 法 (Aroma Extract Dilution Analysis) により香氣揮発性成分を香り研究の先駆者であり研究分担者である岩手大学教育学部の菅原氏と共同で行う。香氣成分の抽出には Tenax-TA カラム濃縮法を用いる。GC-0 分析によりクロマトグラムと香調を調べる。AEDA 法によりアロマトグラムを作製し個々の香氣物質の果実の香りに対する寄与度 (FD-factor) を明らかにする。また GC-MS により香氣成分の特定を行う。またクロマトグラム、アロマトグラムをニホンナシ、セイヨウナシのそれと比較する。‘サネナシ’ において寄与度が高く、特定できた香氣成分に対する標準物質のミックスジュースと果実ジ

ュースとの差異を 18 人のパネルにより定量的記述分析法により官能評価する。

(2)加工特性評価

収集個体の加工利用を目指して収集個体の有機酸、糖の定性、定量、個体間の比較を研究分担者の植松千代美氏と共同で行う。酸度、糖度についてはpHメーター、Brix糖度計を用いる。有機酸はHPLCによりリンゴ酸、クエン酸量を計測する。糖類はHPLCによりスクロース、ソルビトール、フルクトース、グルコースを定性、定量する。また官能評価により渋みの確認も同時に行う。

(3)早晩生の評価

収集30個体の熟期を判定する。満開より収穫適期（完熟期）までの積算日数を調べる。神戸大学農学研究科附属食資源教育研究センターの果樹園で2007年、2008年の2年間にわたり満開から完熟期までの積算日数を調べる。収穫適期の判断は果実のデンプン質の消失と官能評価により判断する。

(4)DNAマーカーによる在来品種の識別

‘ナツナシ’をはじめとする同名異種、異名同種と思われる在来品種の識別を研究分担者の池谷祐幸氏と共同で行う。葉緑体と核の2種類のDNAマーカー(葉緑体DNAマーカー、マイクロサテライトマーカー(SSR)を用いる。葉緑体DNAマーカーとして申請者の開発した*rps16-trnQ*遺伝子間の欠失/挿入変異および*accD-psaI*遺伝子間の欠失/挿入変異の2領域を用いて在来品種がニホンナシ型ゲノムかセイヨウナシ型ゲノムかをPCR法と塩基配列にて識別する。また核DNAマーカーとして(独)果樹研究所山本俊哉氏の開発した‘豊水’、‘パートレット’由来の10種類のSSRマーカーを用いる。SSR断片の多型解析にはDNAシーケンサー(ABI310 Genetic analyzer)によるフラグメント解析を行う。

4. 研究成果

収集個体の有用形質評価

(1)香気成分評価

イワテヤマナシ由来の在来品種とされる‘サネナシ’、‘ナツナシ’の果実全体と果皮における香気寄与成分をTenax-TAによるカラム濃縮法により単離してGC-Oを用いたAEDA法で分析した。‘幸水’や‘ラフランス’と比べ‘サネナシ’の香気寄与成分は2倍近い116種類が検出された。特に寄与度の高い成分(FD=>32)は18種類存在し11種類がGC-MSにより同定された(Table 1)。

エステル類の中でMethyl 2- methyl butanoate以外は全てエチルエステルであり濃度も高かった。中でもEthyl 2- methyl butanoate (FD=512)はリンゴやイチゴの主要

香気成分であり香りの閾値が低く、サネナシのフルーティーな香りに強い影響を与えていると考えられた。またナツナシでもエチルエステル類の寄与度が高かった。既存の栽培品種と比べ‘サネナシ’、‘ナツナシ’は閾値の低い香りの強いエステルが存在し、量も多かった。その他、寄与度の高い物質では芳香族化合物の2-phenylethanolやKI=2170の未同定物質も見つかった。

Table1 Eighteen odor-active volatiles (FD factor \geq 32) in ‘Sanenashi’

No. ^a	KI ^b	Compound	Odor description ^c	FD factor
4	943	ethyl 2-methylpropanoate	fresh, apple-like	32
7	1008	methyl 2-methylbutanoate	fruity, fresh, apple-like	32
8	1033	ethyl butanoate	fruity, sweet	256
9	1047	ethyl 2-methylbutanoate	fresh, fruity pineapple-like	512,
11	1072	hexanal	green	512
16	1127	ethyl pentanoate	fruity	32
17	1130	cis-3-hexenal ^d	green	2048
21	1212	trans-2-hexenal	fresh, green	256
22	1234	ethyl hexanoate	fruity, sweet	128
26	1300		metallic	32
31	1371		burnt metal-like	128
33	1383	cis-3-hexenol ^d	green, cucumber-like	128
51	1629		citrus, unpleasant	32
69	1820		barley-like	32
71	1830		tea-like, alcohol-like	1024

^a Number follows Table 4, ^b Kovats Index on DB-Wax (60m × 0.25mm i.d.), ^c Odor description of Panel A is used, ^d Tentatively identified

芳香性の無核果を持つ‘サネナシ’香気の標準品による再構成実験を行った。‘サネナシ’ジュースを用いて18人のパネルにより6種類の評価用語を選定した。AEDA分析で選んだ8種類の主要香気成分の標準品混合液と‘サネナシ’果実ジュースとの香りの差を定量的記述分析法により比較した。標準品の混合液と‘サネナシ’果実ジュースには砂糖のような‘甘さ’で優位な差が見られた。その他の香調は基本的に一致し、‘サネナシ’果実の香りを人工的に再現できた(Fig. 1)。

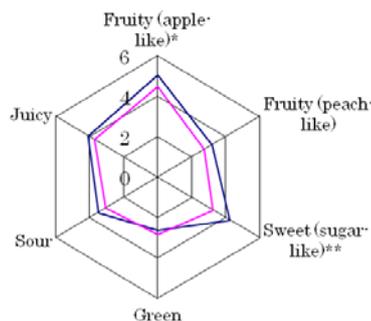


Fig. 1 Aroma profiles of the ‘Sanenashi’ juice and model juice

— ‘Sanenashi’ juice — Model juice

*p<0.05, **p<0.01

以上の結果から‘サネナシ’や‘ナツナシ’の在来品種はエチル、メチルエステル類が主要な香氣成分であり、フルーティな香りを持っていた。これらはアルデヒド類が主要香氣成分であるニホンナシ栽培品種や酢酸エステル類の多いセイヨウナシとは基本的に異なる芳香を持つことが明らかとなった。

(2)加工特性評価

栽培ナシとは異なる観点から加工特性に優れたナシを評価、選抜する目的で果実のpH、HPLCによる糖、有機酸の定性、定量を行った。pH2.8を示す‘ナツナシ’など高酸性果実を持つ在来品種も見つかった。ニホンナシ栽培品種は全てpH5.0以上だった。生食用として酸度の低い栽培品種とは異なり、むしろ酸度の高い在来品種が多く見つかった(Fig. 2)。またpHと香氣の強さには負の相関が見られ、pHが低い果実を持つ個体は香りが強い傾向があった。酸度が高く、香りが良い個体は過去に果実酒など様々な加工法により保存食として利用されていたという聞き取り結果とも一致する。

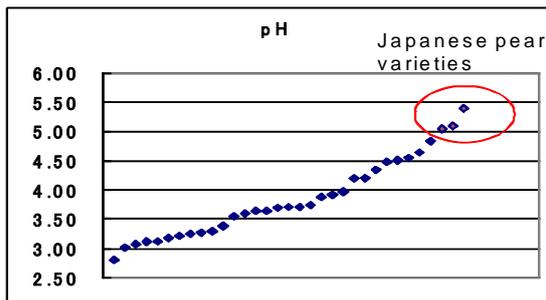


Fig. 2 pH values of 22 local pear varieties. Red circle indicates pH values of fruits in Japanese pear varieties.

収集個体でHPLC分析を行った結果、有機酸については多いもので新鮮重1gあたり37mgの含量を示すなど、栽培品種と比べて有機酸を多く含むことが明らかとなった(Fig. 3)。主要酸組成はクエン酸、リンゴ酸だった。とくにクエン酸が多い傾向がみられた。このような酸組成を示すナシはこれまでに報告されていないため、機能性成分の側面からも興味深い。これらの高酸性果実を持つ在来品種や野生ナシはジャムやピューレ、洋食料理のソースやドレッシングへの利用など優れた加工特性を有していた。‘ナツナシ’の有機酸の含有量は‘二十世紀’と比べて約7倍高く、クエン酸が最も多かった。また収集個体では有機酸含量が高いものから低いものまで多様性が見られた。

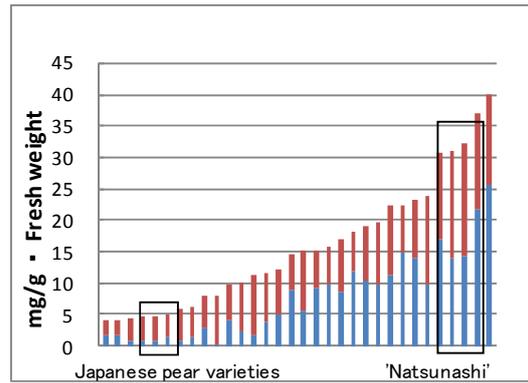


Fig. 2 Comparison of organic acids concentration in wild pears and local pear varieties. Red and blue bars indicate malic and citric acids concentration.

スクロース、ソルビトール、フルクトース、グルコースなどの糖組成・含量に関するHPLC分析ではニホンナシとの差異は顕著ではなかったが収集個体間では高い多様性が確認された。今後は主成分分析などを行い、ニホンナシ栽培品種と収集個体間で糖組成、含量の特徴づけを行う必要がある。

渋みの官能評価から収集個体には渋くて食べられないもの、少々渋いもの、渋くないものまで多様性が見られた。高酸性の‘ナツナシ’は渋みは全くなく、総じて在来品種には渋さは無いものが多かった。今後は渋みの原因の一つであるフェノール性物質の組成や含有量も調査する必要がある。

(3) 早晩性の評価

重要な農業形質である熟期の早晩性を収集個体で調査するため‘新水’に高接ぎした在来品種を含む22収集個体の熟期を調べた。ニホンナシ栽培品種で早生種とされる‘幸水’は8月中下旬に熟した。現地の岩手県で8月中旬に熟する‘ナツナシ’の5個体中3個体は7月15日頃に完熟し極早生種だった。残りの2個体は中生種だった。その他の収集個体は中～晩生が多かった。とりわけ12月上旬に熟する個体も見つかった(Fig. 4)。今回の調査により収集個体は極早生から晩生まで熟期においても幅広い多様性を持つことが明らかになった。また‘ナツナシ’などの極早生性は現在のニホンナシ栽培品種には見られない有用形質であり今後のニホンナシ育種の素材として期待される。

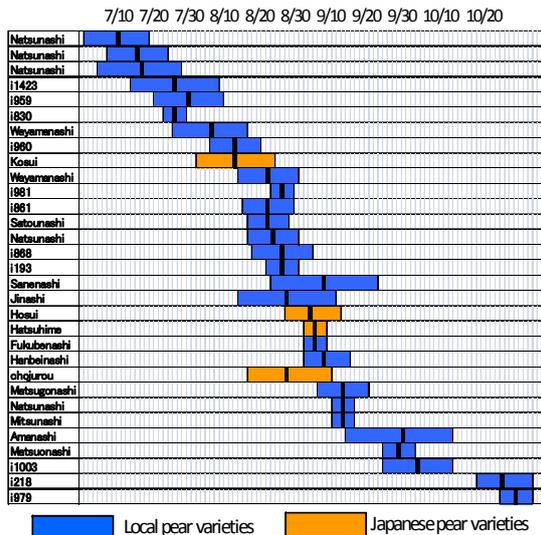


Fig.4 Ripening date of local pear varieties grown in Kobe University at 2008.

(4) DNAマーカーによる在来品種の識別

異所で収集され同名異種、異名同種の可能性がある在来品種のSSRマーカーによる識別を行った。10種類のSSRマーカーにより‘ナツナシ’5個体の識別を試みた。形態形質では区別できなかったがDNAマーカーでは全て識別でき、同名異種だった。なかでも岩手県九戸村で収集された‘ナツナシ’(i0009)と二戸市由来の‘ナツナシ’(i1701)は近縁であった。九戸村と二戸市は隣接しており過去に種子の伝播があったと予想された。‘サネナシ’‘ナシッコ’‘コナシ’は15個体全て遺伝子型が一致し異名同種だった。これらは無核のため栄養繁殖された可能性が高い。特に昭和初期まで盛岡市に‘砂糖煮瓶詰め工場があったらしく、現在でも盛岡市近隣の街道沿いに多く現存する。西和賀町由来の‘ハンペイナシ’2個体も遺伝子型は同一だった。

上記の結果から在来品種の‘ナツナシ’は極早生、高酸性など加工特性が優れていることが明らかになった。‘サネナシ’はフレッシュな香りの無核果実を持ちコンポートや洋菓子の素材として優れていた。野生や半野生ナシでもニホンナシ栽培品種にはない特徴的な形質を持つ個体が多く見つかった。上記以外にもイワテヤマナシにはニホンナシには無い有用形質が多く残されており、ニホンナシ育種の母本として、また機能性食品としても新たな利用が期待できる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Katayama, H., Adachi, S., Yamamoto, T. and Uematsu, C. :

A wide range of genetic diversity of pear genetic resources in Iwate, Japan revealed by SSR and chloroplast DNA markers, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54, 1573-1585, 2007. 査読有

[学会発表] (計 6 件)

- ① 大江美穂・菅原悦子・三宅幹雄・笈重文・正木健太郎・片山寛則 : 東北地方より収集したナシ遺伝資源(第2報)香気の高多様性評価, 園芸学研究第7巻別2, p443, 2008年9月27日. 三重大学

- ② 松村有一郎・橘美穂・三宅幹雄・笈重文・正木健太郎・植松千代美・山本俊哉・片山寛則 : 東北地方より収集したナシ遺伝資源(第1報)果実関連形質の高多様性とSSRによる識別, 園芸学研究第7巻別2, p442, 2008年9月27日. 三重大学

- ③ 片山寛則 : 招待講演 : イワテヤマナシに象徴されるナシゲノムの特殊性, 園芸学平成20年春季大会, 小集会; ‘ナシゲノム研究の発展と展望’ 2008年3月28日. 東京農大

- ④ 大江美穂・片山寛則・菅原悦子 : 岩手県にて見いだされたナシ在来品種: ‘ナツナシ’ ‘サネナシ’ の香気寄与成分の解析, 園芸学研究第6巻別2, p99, 2007年9月29日. 香川大学

- ⑤ 橘美穂・新保幸子・林田光祐・片山寛則・池谷祐幸・山本俊哉・植松千代美 : 山形県飛島のナシの探索と遺伝的多様性, 育種学研究第9巻別2, p239, 2007年9月22日. 山形大学

- ⑥ 池谷祐幸・片山寛則・植松千代美・羽生剛・間瀬誠子・澤村豊・高田教臣・佐藤明彦・平林利郎・山本俊哉・佐藤義彦 : 在来品種・野生種遺伝資源を研究材料として利用するためには同名異物等の問題を考慮しなければならない。-ナシを例にして-, 育種学研究9巻別1, p231, 2007年3月30日. 茨城大学

[その他]

報道関連 : 岩手日報朝刊 2008年4月4日

魅力の食材 : イワテヤマナシ

ホームページ :

<http://www2.kobe-u.ac.jp/~hkata/index.htm>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

片山 寛則 (KATAYAMA HIRONORI)
神戸大学・大学院農学研究科・講師
研究者番号：50294202

(2) 研究分担者

菅原 悦子 (SUGAWARA ETSUKO)
岩手大学・教育学部・教授
研究者番号：70122918

植松千代美 (UEMATSU CHIYOMI)
大阪市立大学・大学院理学研究科・講師
研究者番号：30232789

池谷祐幸 (IKETANI HIROYUKI)
独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・果樹研究所・研究支援センター遺伝資源室長
研究者番号：10391468

(3) 連携研究者

なし