#### 研究成果報告書 科学研究費助成事業

今和 元 年 6 月 2 0 日現在

機関番号: 12102

研究種目: 挑戦的萌芽研究 研究期間: 2016~2018

課題番号: 16K14847

研究課題名(和文)モモ果実の香気生成の生化学的・分子生物学的メカニズムに関する研究

研究課題名(英文)Study on biochemical and molecular mechanisms of flavor biosynthesis of peach

fruits

#### 研究代表者

菅谷 純子 (SUGAYA, Sumiko)

筑波大学・生命環境系・教授

研究者番号:90302372

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文):モモ果実の品質として重要な香気成分について、そのプロファイルと生合成に関わる制御メカニズムについて、貯蔵温度、品種・系統、成熟段階、エチレンなどとの関連を検討した。その結果、低温で保蔵すると、ラクトン類、テルペン類、エステル類、ベンズアルデヒド、 イオノンの生成が抑制され、C6アルデヒド・アルコール類の生成が増加することが明らかになった。これらの変化は遺伝子発現レベルで制御され、たがラナッカ れ、特に、リカとが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義
本研究により、モモ果実の香気プロファイルが、成熟段階、保蔵温度、品種・系統、エチレンなどにより影響を受けることが明らかになり、香気生成経路において重要な段階が示された。モモ果実の香気成分の制御メカニズムについては日本の主要品種については、知見が少なく、保蔵条件や成熟段階など多くの要因について示したことは、果樹園芸学上重要な知見であると考えられる。また、モモ生産は、世界的にも重要であり、その香気はモモ果実の品質として食品業界においても重要である。

以上より、本研究で得られた知見は、果樹栽培を行う生産者や流通業においても意義のある成果であると考え

研究成果の概要(英文):Aroma is an important trait for peach fruits. Effects of storage temperature, cultivars and varieties, ripening stages and ethylene on the aroma compounds of the fruits and their regulatory mechanisms were investigated. Results indicated that lactones, terpenes, esters, benzaldehyde and b-ionone synthesis were inhibited and C6 alcohols and C6 aldehydes were increased under low temperature storage of peach fruits. It was suggested that these changes of aroma compounds were regulated under gene expression level, especially, linalool and C6 alcohols and C6 aldehydes would be regulated by both ripening, ethylene and low temperature.

研究分野: 果樹園芸学

キーワード: モモ 香気 遺伝子発現 貯蔵

# 様 式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19(共通)

## 1.研究開始当初の背景

モモは、世界的にも主要な落葉果樹であり、日本においても主要な果樹である。モモ果実の香気成分は、果実品質の重要な要因の一つである。そのため、モモらしいとされる主要な香気成分が以前より報告されており、100種類以上の成分がモモ果実の香気を構成するとされてきた。その中には、モモに特徴的に多く含まれるデカラクトンやデカラクトンなどのラクトン類、他の果実や花にも含まれ、モモ果実の香気として比較的量の多いリナロール、また、成熟前の果実の多く含まれ、他の植物や果実にも多く含まれる青葉香に関わるヘキサナールやヘキサノール等の寄与が報告されていた。しかしながら、品種による違いなどについて詳細は明らかになっていなかった。近年、日本のモモ育種では、果肉色が白い品種だけではなく、黄肉の品種も育成され注目されている。黄肉品種は白肉品種とでは香気が異なるという評価があるものの、香気成分の違いについては示されていなかった。

一方、モモ果実は、一般的に市場での流通過程では低温で保存される。この低温で保存された際に、その香気が減少することが以前より知られていたが、その現象の科学的検証や生化学的、分子生物学的メカニズムに関しては、ほとんど知られていなかった。花きや、他の果実でも温度条件により、香気生成が変化することが報告されているが、制御機構については知見が限られている。

さらに、果実香気は、果実の成熟やエチレンなどの植物ホルモンにより制御されることが予想されているが、その詳細について生理生化学的、分子生物学的に明らかになっていない。そのため、収穫された果実の市場における流通や、栽培管理において、優れた香気を有する高品質な果実を得るためには、果実香気の制御について明らかにする必要があると考えられる。

#### 2. 研究の目的

本研究では、収穫後果実の香気の保持が難しいとされるモモ果実の香気成分のプロファイリングを行い、香気生成に関与する酵素遺伝子の特性を明らかにし、香気の制御に関わる要因について解明することを目的とした。香気の制御要因として、保蔵温度や、品種・系統、および果実の成熟段階について検討した。具体的には、収穫後に保蔵した果実の発散香気および内生香気についてガスクロマトグラフィー質量分析(GC-MS)による分析を行い、香気成分のプロファイリングを果肉色の異なる品種や、異なる成熟段階で検討し、香気生合成と代謝に関与するとされる酵素遺伝子の発現を定量 PCR で解析した。

## 3.研究の方法

#### (1) 香気成分の分析

果実の香気成分の分析は、無傷の果実より大気中に発散される香気成分である発散香気と、果肉を破砕した際の抽出液より大気中に揮発する香気である内生香気について検討した。前者については、ガラスのデシケーターに果実を入れ、一定時間静置した後、デシケーターのヘッドスペースに揮発した果実由来の香気成分を固相マイクロ抽出法(SPME 法)により揮発性成分を抽出した。後者については、果肉を水と塩化ナトリウムとともに破砕した抽出液をガラス容器に入れ、密閉した後、一定時間静置した。容器のヘッドスペースに揮発した成分を SPME により抽出した。

抽出された揮発性成分を加熱脱着法によりガスクロマトグラフィー質量分析計(GC-MS)もしくは、ガスクロマトグラフィー(GC-FID)法により分析し、検出された成分について、揮発性成分の標準物質やRI(Retention Index)との比較により同定し、内部標準物質を用いて定量を行った。

# (2) 香気関連遺伝子の発現解析

本研究では、モモ果実の香気成分の生合成や代謝に関連すると報告されている遺伝子の塩基配列よりプライマーを合成し、定量 PCR を行った。リナロール等のモノテルペン合成に関わるとされるテルペン合成酵素遺伝子 (TPS-1, TPS-2)、ラクトン類の合成に関わるとされるアシル CoA 酸化酵素遺伝子 (ACX-1)、青葉香に分類される C6 アルデヒドや、C6 アルコール類の合成に関わるとされるリポキシゲナーゼ遺伝子(LOX)などについてプライマーを合成した。それぞれの果実の果肉より全 RNA を CTAB 法で抽出し、逆転写酵素にて cDNA を合成した。それらを鋳型にして、それぞれの遺伝子の相対的発現量を比較検討した。

# (3) 収穫後果実の 1-メチルシクロプロペン (1-MCP) 処理

筑波大学 T-PIRC 農場の圃場で収穫した果実をエチレン作用阻害剤である 1-MCP を入れた密閉容器にて、処理を行った。対照区については、1-MCP を入れない条件で、同様に処理を行った。その後、それぞれの処理区の果実を低温条件もしくは室温条件の恒温器にて保蔵し、経時的に果実の品質、エチレン生成量、果肉硬度、香気生成量などを測定し、果肉を凍結し保存した。その後、凍結した果肉については、遺伝子発現解析などの分析に用いた。

## 4. 研究成果

# (1) モモ果実の香気に対する 1-MCP の影響

モモ果実の香気生成に対するエチレンの影響を明らかにするため、適熟期の果実を収穫し、1-MCP処理を行い、保蔵した後、果実品質および果実の発散・内生香気を分析した。その結果、

モモ果実に特徴的なラクトン類、エステル類などは、1-MCP 処理により生成が抑制されることが示唆された。低温にて保蔵した果実では、ラクトン類、エステル類、リナロールなどのテルペン類、ベンズアルデヒドなどの生成が抑制されることが示唆された。加えて、ヘキサナールやヘキサノールなどの C6 アルデヒドや C6 アルコールの生成が増加する結果も見出された。それらの成分の生合成に関与するとされる遺伝子発現について調べたところ、

低温保蔵した果実を室温に移した際には、低温により生成が抑制された香気の中でもエステル類が顕著に生成されることが明らかになった。本研究では、熟期の異なるモモ品種として、「日川白鳳」、「あかつき」などを用いたが、それぞれの品種で 1-MCP の影響は異なっており、1-MCP の香気への影響は、それぞれの品種や、収穫時期により影響を受けることが示唆された。それぞれの果実に対する 1-MCP 処理の影響について、香気関連遺伝子の発現を調べたとこる、モノテルペン合成に関与する TPS2 遺伝子や、C6 アルデヒド・アルコール生成に関与する LOX2 遺伝子の発現は促進、ラクトン合成に関与する ACX1 遺伝子、エステル生成に関与する AAT1 遺伝子、イオノン生成に関する CCD4 遺伝子の発現は抑制されていた。このことから、これらの香気関連遺伝子の発現は、果実成熟もしくはエチレンにより制御されることが示唆された。

# (2)収穫後のモモ果実の貯蔵温度が香気に及ぼす影響について

収穫後のモモ果実を低温条件と室温条件にそれぞれ保蔵し、香気の生成について分析を行った。数品種のモモ果実を用いて保蔵実験を行った結果、内生香気については、低温処理によりリナロール、ラクトン類、エステル類、 イオノン、ベンズアルデヒドの生成量が減少することが明らかになった。また、C6 アルデヒド・アルコールは、低温保蔵によりやや生成が増加することが示された。TPS2 遺伝子や、LOX2 遺伝子、ACX1, AAT1、CCD4 遺伝子の発現は、それぞれ香気生成の変化と一致していることが示唆され、低温保蔵により、モモ果実の果肉では、遺伝子の発現レベルで香気生成の制御が起こると考えられた。

次に、低温で保蔵した果実を室温に移動させ、香気の生成や香気関連遺伝子の発現を解析した結果、ラクトン類、エステル類、 イオノン、ベンズアルデヒドについては、増加したが、リナロールおよび C6 アルデヒド・アルコールについては、低温保蔵による影響が継続していた。低温から室温に移動させた果実では、エチレンの生成が増加し、果肉硬度が低下するなど、果実の成熟促進が認められたことから、リナロールや C6 アルデヒド・アルコールは、成熟以外の制御要因が香気生成に影響することが示唆された。

## (3)果実の成熟段階の香気生成への影響について

4品種のモモについて、異なる成熟段階のモモ果実で香気成分を比較した。それぞれの品種について香気プロファイルを比較した結果、果実の成熟に伴い、ラクトン類やエステル類が増加することが明らかになった。これらの香気成分の生合成に関与する遺伝子発現を調べたところ、成熟に伴いそれぞれの遺伝子発現が増加し、香気生成量が増加することが示唆された。また、成熟に伴い、LOX遺伝子の発現は減少しており、このことは、C6 アルデヒド・アルコールの成熟に伴う減少と一致していた。このことから、果実の成熟において、これらの酵素は重要な働きをしていることが示唆された。

(4)異なる品種のモモ果実における香気成分の特徴および香気関連遺伝子の発現について白肉品種の'あかつき'、川中島白桃'と黄肉品種の'つきあかり'、'つきかがみ'の果肉について、香気成分を分析した。その結果、今回用いた品種においては、黄肉品種と比較して、白肉品種では イオノンの生成量が著しく多いことが明らかになった。これらの果肉における香気関連遺伝子の発現量を比較した結果、カロテノイドジオキシゲナーゼ(*CCD4*)の発現が白肉品種で高く、黄肉品種では低いことが明らかになった。 イオノンはカロテノイドを前駆体とし、その代謝により生成されることが他の植物や、モモ品種で報告されていることから、今回用いた白肉品種においても、*CCD4*遺伝子の発現により、 イオノン量に違いが生じたことが示唆された。

以上のことから、モモの主要な品種における香気は、果実の成熟段階や、エチレン、温度環境、品種などにより遺伝子発現レベルで制御されることが明らかになり、それらの制御に関連する遺伝子が複数示された。それぞれの遺伝子発現は、それぞれ異なる発現制御を受けていることから、高品質なモモ果実を栽培し、保蔵するためには、温度や成熟段階、品種などについて考慮することが重要であると考えられた。より優れた香気を有するモモ果実の生産・流通には、今後、詳細にそれぞれの要因と香気生成について検討することが必要であると考えられた。

#### 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

[学会発表](計2件)

- 1)鈴木啓亮、八重垣英明、<u>瀬古澤由彦、菅谷純子</u>. 短期的な貯蔵における温度条件がモモ果実の香気生成に与える影響. 園芸学会平成30年度秋季大会. (2018)
- 2)藤田沙織、八重垣英明、<u>瀬古澤由彦</u>、<u>菅谷純子</u>. 異なる品種・熟度におけるモモ果実の発散・内生香気について. 園芸学会平成 29 年度秋季大会. (2017)

[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〕 ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名:瀬古澤由彦

ローマ字氏名: SEKOZAWA Yoshihiko

所属研究機関名:筑波大学

部局名:生命環境系

職名:助教

研究者番号(8桁):90361310

(2)研究協力者 研究協力者氏名: ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。