

令和 5 年 6 月 23 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18H02200

研究課題名(和文)モモ民間育成の晩生希少品種を遺伝資源として活用した棚もち性と果肉障害回避性の解析

研究課題名(英文) Characterization of long shelf-life and pulp disorder-alleviating mechanisms using late-harvest rare peach cultivars bred private growers as genetic resource

研究代表者

中野 龍平 (Ryohei, Nakano)

京都大学・農学研究科・准教授

研究者番号：70294444

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 10,900,000円

研究成果の概要(和文)：モモにおいて、棚もち性の良い品種についてゲノム解析した結果、‘桃水’や‘ワッサー’など、自己触媒的エチレン生成能を欠損しており、硬肉モモと同様のPpYUC11の遺伝子型を示す品種が比較的広く存在することが分かった。‘大寿蜜桃’では、エチレンに対する応答性が低下しており、M遺伝子座のPG遺伝子の欠損および細胞壁分解関連遺伝子群の発現制御に関わるシグナル因子の変異の関与が示唆された。また、収穫後の果肉障害発生など多面的な変異形質を示す‘紅博桃’枝変わりのゲノム解析より、第4染色体上の13.3Mbpの領域におけるLoss of Heterozygosity (LOH)の関与が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

一般に、モモは他の作物と比べて棚もち性が悪く、流通面で問題となるとともに、栽培における制限要因にもなっている。近年、地球温暖化に伴う高温の影響による果肉障害の多発が問題となっている。本研究により、比較的棚もち性の良い品種の特性および関連する遺伝子や遺伝子領域などが明らかとなった。また、果肉障害が多発する枝変わりの解析より、果肉障害の発生に関連する遺伝子領域が明らかとなるとともに、その領域内のヘテロ性の消失(LOH)が関連していることが明らかとなった。これらは果実生理学全般にとって学術的に新しい知見であり意義があるとともに、モモの育種や流通・栽培技術の発展への社会的貢献が期待される成果である。

研究成果の概要(英文)：Genomic analysis of peach cultivars with excellent shelf life were performed. It was revealed that peaches, such as 'Tohsui' and 'Wasser', lacking autocatalytic ethylene production ability and showing the same PpYUC11 genotype as stony-hard peaches were exist relatively widely. In 'Daijyumitsutoh', responsiveness to ethylene was suppressed. The deletion of the PG genes at M locus and mutation of signal factors regulating the expression of cell wall degradation-related genes are suggested to be involved in the low ethylene responsiveness. A bud sport of 'Benihakuto' (Bhm) peach showed differences in the multiple traits including occurrence of disordered flesh from the original 'Benihakuto'. Genome analysis of Bhm detected a 13.3 Mbp region with LOH (loss of heterozygosity) hot spots on chromosome 4. The chromosomal rearrangement was indicated to occurred, which in turn, led to creating the LOH-region and unmasking the recessive phenotypes in the Bhm.

研究分野：園芸科学

キーワード：モモ 棚もち性 エチレン 熟期 果実 障害 枝変わり ゲノム

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年の次世代シーケンサーの発達により、園芸作物においてもその全ゲノム配列や遺伝子発現の網羅的な解析が進み、モデル植物と同レベルの体制が整えられつつある。しかしながら、一般的にゲノムサイズが大きく、一世代の期間が長い園芸作物（特に果樹作物）では、モデル植物と同じスピードで変異体コレクションや遺伝子組換え体を作成することは困難であり、モデル植物とは異なった方向性によるゲノム情報を生かしたポストゲノム解析が必要である。その一つとして、園芸作物には、長年にわたる園芸活動の結果として、様々な特性を持つ品種や系統の蓄積があり、その遺伝資源の活用があげられる。これまでに申請研究グループが民間（生産者や種苗業者など）育成された晩生品種より、棚持ち性や収穫後障害発生に関して新規な形質を示す品種を見出している。これらを遺伝資源として活用し、棚持ち性や収穫後障害発生に関連する遺伝子の同定を試みる。

2. 研究の目的

モモにおいては、収穫後の軟化（老化）が早いことや、赤肉症や水浸状症などの果肉障害の発生が問題となっている。モモの成熟や軟化（老化）には植物ホルモンのエチレンの関与が報告されている。本研究では、民間育成品種の中に見出された棚持ち性の優れる品種（‘桃水’‘大寿白桃’‘冬美白’）や熟期および障害発生の異なる品種（系統）（‘紅博桃’およびその枝変わり系統）を遺伝資源として活用し、自己触媒的エチレン生合成、外生的に処理したエチレンに対する応答性、軟化様式、障害発生性などの生理的解析をより詳細に実施する。さらに、次世代シーケンサーを活用した網羅的遺伝子解析や遺伝解析などにより、棚持ち性や障害発生性に関連した遺伝子群の同定を目的とする。

3. 研究の方法

(1) ‘桃水’の自己触媒的エチレン生合成能および軟化特性と *PpYUC11* 遺伝子型の調査：収穫適期に収穫した‘桃水’にエチレンと同じ効果を持つプロピレンを処理し、その自己触媒的エチレン生成や棚もち性を決定する軟化への影響を調査した。また、自己触媒的エチレン生成能を持たない品種群である硬肉モモや‘桃水’の親品種とされる‘川中島白桃’との関係を、硬肉性を決定関与しているとの報告のある *PpYUC11* 遺伝子型より調査した。

(2) ‘大寿蜜桃’および‘冬美白’の軟化特性とエチレン応答性の調査とゲノム解析：収穫適期に収穫した‘大寿蜜桃’および‘冬美白’についてプロピレンを処理の有り、無し条件下における軟化特性や自己触媒的エチレン生成を調査した。さらに、ゲノム解析により、エチレン生成、エチレン感受性、軟化などに関わる遺伝子群を通常品種と比較解析した。

(3) モモのメルティング (*M*) 遺伝子座のハプロタイプに関する再評価：‘大寿蜜桃’および‘冬美白’のゲノム解析の結果、モモの軟化に関わる細胞壁の分解に関与する二つの *polygalacturonase (PG)* 遺伝子が座乗するメルティング (*M*) 遺伝子座について、これまでに報告のない新たなハプロタイプが見つかった。そこで、独自に解析した日本の品種およびデータベース上の世界各地の品種のゲノム情報より、モモ全般の *M* 遺伝子座のハプロタイプをその軟化特性と合わせて再評価した。

(4) ‘大寿蜜桃’のエチレン不感受性に関連する要因の調査：‘大寿蜜桃’と通常品種や‘桃水’との RNA-seq による遺伝子発現の比較より、*M* 遺伝子座の *PG* 遺伝子以外に棚もち性に関連遺伝子の抽出を試みた。

(5) ‘紅博桃’およびその枝変わり系統の形質調査およびゲノム解析：‘紅博桃’およびその枝変わり系統について、果実発育時の形質および収穫後の形質を調査した。また、ゲノム解析により、枝変わり系統における変異箇所を探索した。

4. 研究成果

(1) ‘桃水’の自己触媒的エチレン生合成能および軟化特性と *PpYUC11* 遺伝子型の調査：通常モモ品種である‘川中島白桃’では、収穫後にエチレン生成増大し、果実の軟化が起こった(図1)。これに対して、‘桃水’では、エチレン生成が検出されず、軟化もほとんど起こらなかった。外部からエチレンのアナログであるプロピレンを処理すると、軟化は誘導されたが自己触媒的エチレン生成は誘導されず、‘桃水’はエチレン生成能を欠失していることが明らかとなった。この性質は硬肉モモとよばれる品種群を類似していることから、硬肉性の決定に関わる遺伝子との報告がある *PpYUC11* 遺伝子の遺伝子型を、育成者が片親品種としている通常品種の‘川中島白桃’と比較したところ、‘川中島白桃’は正常型 *Hd* 型と変異型 *hd-t* 型をヘテロとして有しており、‘桃水’は *hd-t* 型のホモとなったために、エチレン生成能を欠損した硬肉モモとなったと考えられた(図2)。また、‘ワッサー’など、既存の品種の中には、*hd-t* 型のホモであり、エチレン生成能を欠損した硬肉モモが硬肉モモと認識されずに日本では栽培されている場合があることが明らかとなった(データ略)。

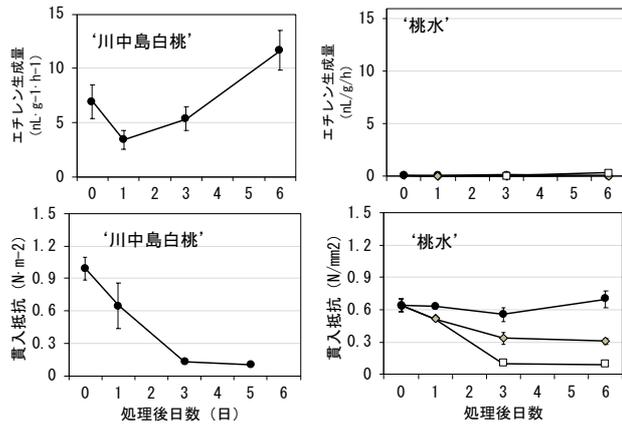


図1. モモ‘川中島白桃’と‘桃水’の収穫後のエチレン生成量と果肉硬度の変化および外生プロピレン処理が及ぼす影響
●無処理、○プロピレン連続処理、◇プロピレン1日間処理

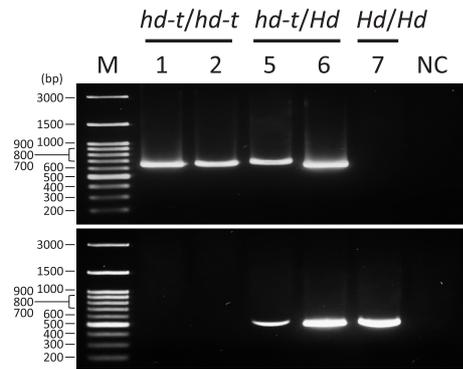


図2. モモ各品種の *PpYUC11* 遺伝子型
1 桃水, 2 おどろき(硬肉), 3 有明(硬肉), 4 まなみ(硬肉), 5 川中島白桃(溶質) 6 ゆうぞら(溶質) 7 西王母(溶質)

(2) ‘大寿蜜桃’ および ‘冬美白’ の軟化特性とエチレン応答性の調査とゲノム解析: ‘大寿蜜桃’ と ‘冬美白’ の収穫後のエチレン生成能や軟化特性を調査したところ、‘冬美白’ は軟化後の過熟に至る過程は若干ゆっくりしているものの、通常の品種と同様にエチレンを生成し軟化した (図3) 。 ‘大寿蜜桃’ では、エチレン生成はモモとしては少ないものの一定量の生成は観察されているにもかかわらず、軟化がほとんど誘導されなかった。外部からエチレンのアナログであるプロピレンを処理しても軟化はほとんど誘導されず、エチレンに対する感受性を失っていると考えられた (図4) 。 DNA-seq や RNA-seq により、既報のエチン生成、エチレン感受性、軟化などに関わる遺伝子群を調査したところ、‘大寿蜜桃’ では細胞壁の分解に関わり、モモの溶質 (メルティング) / 不溶質の決定に関わるとされる *M* 遺伝子座の二つの PG 遺伝子が欠損していることが分かり、このことが ‘大寿蜜桃’ は軟化が緩慢な原因の一つと考えられた (図5) 。

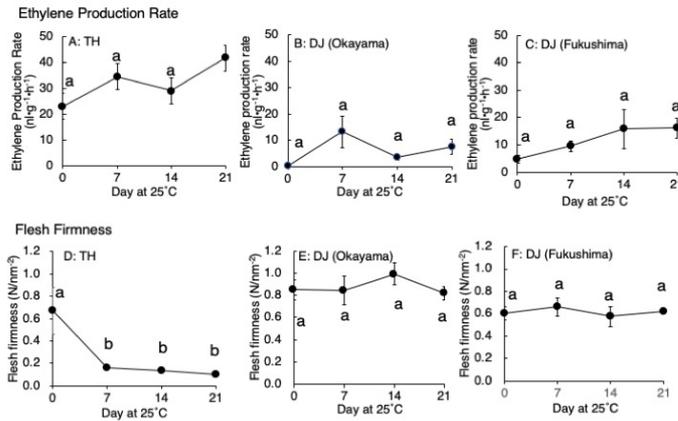


図3. モモ‘冬美白’ (TH) と ‘大寿蜜桃’ (DJ) の収穫後のエチレン生成量と果肉硬度の変化

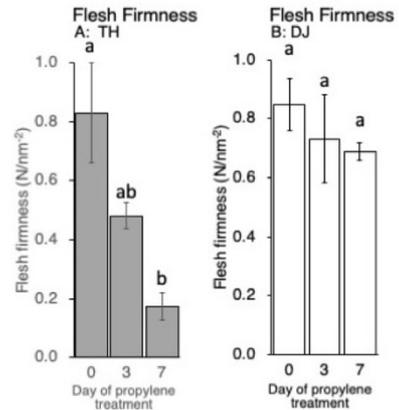


図4. 外生プロピレン処理下におけるモモ‘冬美白’ (TH) と ‘大寿蜜桃’ (DJ) の軟化

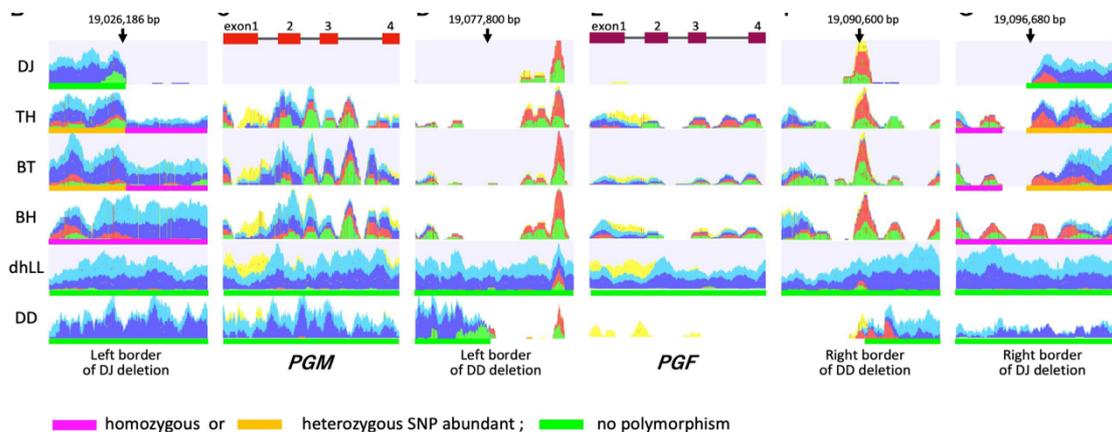


図5. DNA-seq 配列の *M1* ハプロタイプ配列へのマッピング結果
‘大寿蜜桃’ DJ (M3), ‘冬美白’ TH (M0), ‘Big Top’ BT (M0)
‘Benihakuto’ BH (M0), ‘double haploid Level’ dhLL (M1), ‘Dr Davis’ DD (M2)

(3) モモのメルティング (*M*) 遺伝子座のハプロタイプに関する再評価：これまでモモの *M* 遺伝子座に関しては、二つの PG 遺伝子持つ *H1*、その内片方の PG 遺伝子持つ *H2*、PG 遺伝子が欠損している *H3* に分類されており、*H2* からゲノムの duplication により *H1* が欠損により *H3* ができたと報告されてきた。一つの PG 遺伝子しか持たない ‘冬美白’ や ‘紅博桃’ を調査した結果、*H2* に分類されていたハプロタイプには二つの種類があり、それぞれ *M0* (日本の主要品種が含まれる) と *M2* に区別した (図6)。また、*H1* を *M1*、*H3* を *M3* と再定義した。*M0* と *M1* は優性であり、これらをホモあるいはヘテロで持つと溶質 (メルティング) となり、*M2* と *M3* は劣性であり、これらのホモあるいは *M2/M3* のハプロタイプを持つと不溶質となることが明らかとなった。日本の主要な溶質品種は *M0* を持っており、また、ハプロタイプの構造より、栽培化の早い段階で *M0* と *M1* の起源型に分かれ、*M1* から *M2* ができたと考えられた (データ略)。

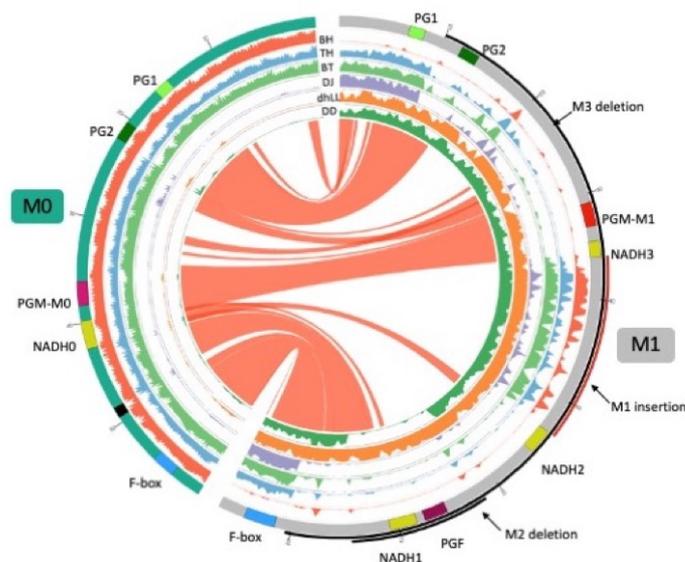


図6. *M1* および *M0* ハプロタイプの比較

‘Benihakuto’ BH (*M0*)
 ‘冬美白’ TH (*M0*),
 ‘Big Top’ BT (*M0*),
 ‘大寿蜜桃’ DJ (*M3*),
 ‘double haploid Lovel’ dhLL (*M1*),
 ‘Dr Davis’ DD (*M2*).
M1 や *M2* の *PGM* 遺伝子と *M0* の *PGM* 遺伝子は似ているが異なったものであることが分かっている

(4) ‘大寿蜜桃’のエチレン不感受性に関連する要因の調査：‘大寿蜜桃’と通常品種や‘桃水’との RNA-seq 解析の結果、‘大寿蜜桃’では *M* 遺伝子座の *PG* 遺伝子だけでなく、いくつかの細胞壁分解関連遺伝子や転写因子の軟化に伴う発現増大が抑制されていることが分かり、*M* 遺伝子座の *PG* 遺伝子の欠損以外の要因も軟化が緩慢ことに関連している可能性が示唆された (表1)。これらの要因を明らかにすることで新たな老化や軟化に関連する要因の同定が可能となると考えられた。

表1 ‘大寿蜜桃’の非軟化性と連動が見られた遺伝子

	Gene	Description	moduleColor	MM	GS
CWM	<i>PG-M</i>	polygalacturonase	grey60	0.953	-0.908
	<i>PG-F</i>	polygalacturonase	grey60	0.959	-0.898
	<i>PG_2</i>	polygalacturonase	grey60	0.917	-0.854
	<i>PL4</i>	pectate lyase	grey60	0.741	-0.664
	<i>PME63</i>	pectin methyl esterases	darkred	0.845	-0.690
	<i>PG25</i>	polygalacturonase	darkred	0.752	-0.734
	<i>GMMT2</i>	glucomannan 4-beta-mannosyltransferase 2	darkgreen	0.723	-0.698
	<i>Exp3</i>	expansin	darkgreen	0.759	-0.742
	<i>PL2</i>	pectate lyase	darkgreen	0.847	-0.660
	<i>PL1</i>	pectate lyase	darkgreen	0.780	-0.714
TF	<i>bZIP11</i>	bZIP transcription factor 11	grey60	0.893	-0.894
	<i>HD-ZIP IV</i>	homeodomain leucine zipper IV	grey60	0.886	-0.820
	<i>ASIL2</i>	trihelix transcription factor ASIL2	grey60	0.897	-0.797
	<i>NAC73</i>	NAC domain-containing protein 73	grey60	0.819	-0.680
	<i>FRS5</i>	FAR1-related sequence 5	darkred	0.841	-0.672
Aroma	<i>AAT1</i>	alcohol acyltransferase	grey60	0.906	-
	<i>FAD1</i>	fatty acid desaturase	grey60	0.805	-
	<i>LOX1</i>	lipxygenase	darkred	0.854	-

(5) ‘紅博桃’ およびその枝変わり系統の形質調査およびゲノム解析：‘紅博桃’ およびその枝変わり系統の形質を調査した結果、枝変わり系統では、果実発育第2期（発育停滞期）が長く熟期3週間遅れる、奇形果や落果が発生する、収穫後の赤肉果・水浸状果が多発するなど、多面的な変異が発生していることが明らかとなった（図7）。

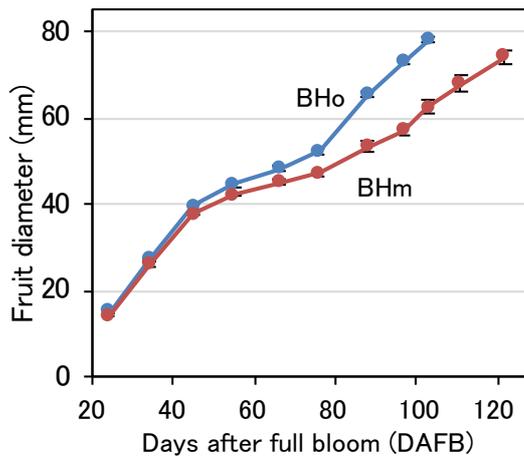
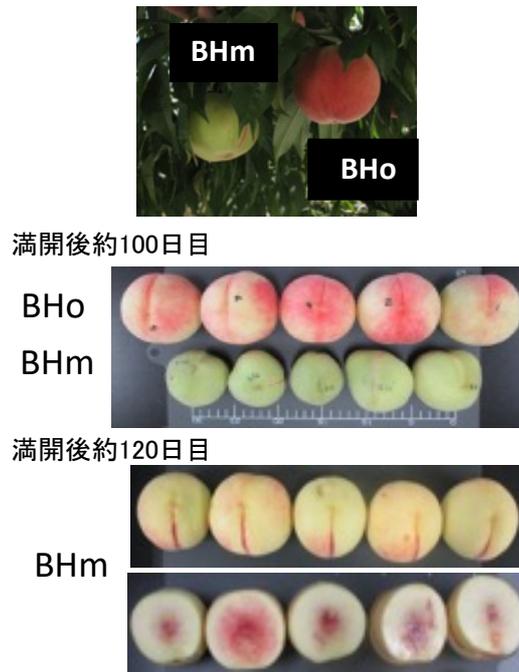


図7. モモ‘紅白桃’ (BHo) およびその枝変わり (BHm) の果実成長、BHo 収穫適期 (満開後約 100 日目) の樹上での果実様子と BHo および BHm 収穫果実の様子、その3週間後 (満開後約 120 日目) の BHm 果実およびその断面の様子



ゲノム解析の結果、第4染色体の上腕13.3Mbpの広い範囲において、‘紅博桃’ではヘテロであった配列がホモとなっている変異 (Loss of Heterozygosity : LOH) が発生していることが明らかとなった (図8)。LOHはガン遺伝子などにおいて報告されている変異であり、染色体レベルの再編成、再構築により発生した変異であると考えられた。

第4染色体のこの13.3Mbpの領域には約2,000遺伝子がアノテーションされており、その内、651遺伝子に非同義置換が生じていた (データ略)。また、RNA-seqより、いずれかのステージにおいて、‘紅博桃’と枝変わり系統間において遺伝子発現量に差が見られる遺伝子は数百存在した (データ略)。また、Copy Number Variantが192の遺伝子を含む69の領域で検出された (データ略)。以上のような大規模なゲノムの再編成により、障害多発性を含む多面的な形質が現れたと考えられた。

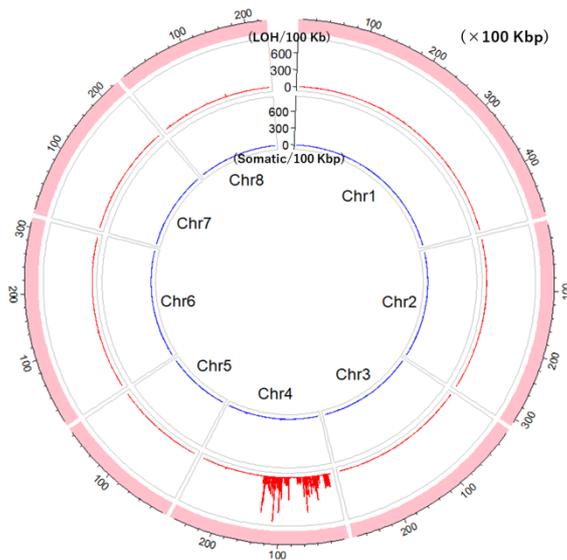


図8. ‘紅白桃’の枝変わりにおいて検出された染色体ごとのLOHおよびSomatic変異のヒストグラム

<引用文献>

① 河井 崇・秋田香雅里・渡邊咲音・深松陽介・高田大輔・佐藤 守・牛島幸一郎・福田文夫・中野龍平、モモ‘桃水’のエチレン生成と軟化特性、園学研. (Hort. Res. (Japan)) 19: 61-67. 2020.

② Ryohei Nakano, Takashi Kawai, Yosuke Fukamatsu, Kagari Akita, Sakine Watanabe, Takahiro Asano, Daisuke Takata, Mamoru Sato, Fumio Fukuda, Koichiro Ushijima. Postharvest Properties of Ultra-Late Maturing Peach Cultivars and Their Attributions to Melting Flesh (*M*) Locus: Re-evaluation of *M* Locus in Association With Flesh Texture, *Frontiers in Plant Science*, 11: 554158. 2020.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Nakano Ryohei, Kawai Takashi, Fukamatsu Yosuke, Akita Kagari, Watanabe Sakine, Asano Takahiro, Takata Daisuke, Sato Mamoru, Fukuda Fumio, Ushijima Koichiro	4. 巻 11
2. 論文標題 Postharvest Properties of Ultra-Late Maturing Peach Cultivars and Their Attributions to Melting Flesh (M) Locus: Re-evaluation of M Locus in Association With Flesh Texture	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 554158
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2020.554158	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kawai Takashi, Akita Kagari, Watanabe Sakine, Fukamatsu Yosuke, Takata Daisuke, Sato Mamoru, Ushijima Koichiro, Fukuda Fumio, Nakano Ryohei	4. 巻 19
2. 論文標題 Characterization of Ethylene Production and Fruit Softening in 'Tosui' Peach	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Horticultural Research (Japan)	6. 最初と最後の頁 61 ~ 67
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2503/hrj.19.61	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 谷口裕起・牛島幸一郎・河井崇・田村尚之・福田文夫・高田大輔・佐藤守・西村和紗・間合絵里・元木航・山崎彬・中崎鉄也・中野龍平
2. 発表標題 モモ「紅博桃」の新規枝変わりの第4染色体に検出された大規模なヘテロ接合性の消失
3. 学会等名 園芸学会令和3年度秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤守・高田大輔・田村尚之・河合崇・牛島幸一郎・福田文夫・中野隆平
2. 発表標題 モモ「紅博桃」の新規枝変わり「福大1号」
3. 学会等名 園芸学会令和3年度秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 河井崇・渡邊咲音・那須優 香・吉田侑城・高田大輔・佐 藤守・樋野友之・藤井雄一郎・福田文夫・中野龍平・牛島幸 一郎
2. 発表標題 モモの melting flesh(M)遺伝子座 における polygalacturonase(PG) 遺伝子の発現差異
3. 学会等名 園芸学会令和4年度春季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中野 龍平・河井 崇・浅野 貴洋・秋田 香雅里・渡邊 咲音・高田 大輔・佐藤 守・福田 文夫・牛島 幸一郎
2. 発表標題 モモ極晩生品種の収穫後の成熟特性への Melting Flesh(M)遺伝子座の関与 新規 M ハプロタイプの存在と M 遺伝子型の再評価
3. 学会等名 日本育種学会 第138回講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 牛島幸一郎・河井崇・ 秋田香雅里・渡邊咲音・ 浅野貴洋・高田大輔・佐 藤守・福田文夫・中野龍平
2. 発表標題 モモ果肉の溶質・不溶質を 制御する Melting Flesh(M) 遺伝子座のサクラ属での進 化
3. 学会等名 園芸学会令和3年度春季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 河井 崇・牛島幸一郎・秋田香雅里・渡邊咲音・浅野貴洋・高田大輔・佐藤守・福田文夫・中野龍平
2. 発表標題 日本の主要モモ品種におけるmeltingflesh(M)遺伝子座のハプロタイプ識別
3. 学会等名 園芸学会令和3年度春季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 河井 崇・秋田香雅里・渡邊咲音・橋本優菜・深松陽介・高田大輔・福田文夫・中野龍平
2. 発表標題 モモ‘桃水’の自己触媒的エチレン生成能と軟化特性
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	牛島 幸一郎 (Koichiro Ushijima) (20379720)	岡山大学・環境生命科学学域・准教授 (15301)	
研究分担者	福田 文夫 (Fumio Fukuda) (60294443)	岡山大学・環境生命科学学域・准教授 (15301)	
研究分担者	高田 大輔 (Daisuke Takata) (80456178)	福島大学・食農学類・准教授 (11601)	
研究分担者	河井 崇 (Takashi Kawai) (90721134)	岡山大学・環境生命科学学域・助教 (15301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------