

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 10 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06022

研究課題名（和文）低温によって誘導されるトマト果実の異常食感の形成機構

研究課題名（英文）Abnormal texture in tomato fruit induced by cool temperature

研究代表者

立石 亮（TATEISHI, Akira）

日本大学・生物資源科学部・教授

研究者番号：30267041

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：食感は果実の品質を決定する重要な要素である。本研究では、果肉軟化とともに生じる食感形成のうち、特に低温によって誘導される異常食感について着目し、食感を客観的に評価する方法について検討するとともに、細胞壁多糖類構成成分の変化に関わるグリコシダーゼ類と食感形成の関係について検討した。その結果、異常食感の一つである粉質は果肉組織の壊れやすさが影響していることが示され、果肉ディスクを等張液中で振とうした際の崩壊度を調べる方法が、その評価に適していることが明らかとなった。また、細胞壁多糖類の代謝に関わる α -アラビノフラノシダーゼの特定のアイソザイムが粉質に関与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

果実の食感は品質を決定する重要な要素であるにもかかわらず、その形成機構についてはあまり注目されてこなかった。成熟時に形成される食感はそれぞれの果実の特徴にもなっている。一方で、過度な成熟の進行に伴って、食感は悪い方向にも変化する。また、不適切な貯蔵条件も食感を低下させる。本研究では、アラビノースの遊離に関わる、特定の α -アラビノフラノシダーゼの作用が食感形成に関わっていることを示した。ここで明らかにされた知見は、食感形成機構の基礎的情報を提供するだけでなく、今後の高品質果実の育成や貯蔵中の品質低下を抑制するための手掛かりとなるであろう。

研究成果の概要（英文）：Texture is an important factor in determining fruit quality. In this study, we focused on the abnormal texture induced by a relative low temperature, and investigated the relationship between glycosidases, which are involved in changes in cell wall polysaccharide structures, and texture formation. As a result, it was shown that mealy texture, one of the abnormal textures, is affected by the collapsibility of fruit flesh tissue, and the method of examining the degree of the collapse of fruit discs when shaken in isotonic solution was found to be suitable for the evaluation of the mealy texture. It was also suggested that a specific isozyme of α -L-arabinofuranosidase, which is involved in the metabolism of cell wall polysaccharides, may be involved in development of mealy texture in tomato fruit.

研究分野：園芸学

キーワード：アラビノース アラビノフラノシダーゼ 粉質化 細胞間接着

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

果実の硬さは収穫後の輸送性や棚持ち性に影響するため、これまでの研究では果実軟化の原因を特定するために、果実細胞壁多糖類の構造変化やそれに関わる酵素について調べられてきた。その結果、ホモガラクトソロナンの分解に関わるペクチン酸リアーゼの果実軟化への中心的役割が明らかになってきた。一方、果実細胞壁の構造変化は、果実の機械的強度の低下(軟化)だけではなく、歯ごたえや舌触りなどの食感形成にも影響していると考えられている。食感、青果物の内的品質である甘味、酸味、旨味、風味とならび重要な要素として捉えられている。しかしながら、果実の食感形成機構についてはほとんど明らかにされていない。これまでの研究から、アラビノース含有多糖類が細胞間の接着に関わっていること、食感異常を示す突然変異体トマトや食感の低下したモモ果実において細胞壁中のアラビノースの代謝に異常が生じていること、リンゴ貯蔵時の粉質化の QTL の一つとしてアラビノース代謝に関わる *-L-アラビノフラノシダーゼ* 遺伝子が座上していること等から、アラビノース含有多糖類およびその代謝に働く *-L-アラビノフラノシダーゼ* が食感形成に何らかの役割を担っていることが推察された。*-L-アラビノフラノシダーゼ* はジーンファミリーを構成し、それぞれが異なった発現様式を示す。また、酵素の機能として、単機能性と二機能性のものが存在しており、アラビノース代謝に関わる酵素とそうでないものが混在している。一方、果実の食感の評価は、基本的に官能評価によるところが多く、簡易で客観性のある評価方法は十分に確立されておらず、研究者が個々の研究で数種の方法を示しているが、一貫性がみられていなかった。

2. 研究の目的

本研究では、果肉軟化とともに生じる食感形成のうち、トマト果実における粉質性に着目した。軟化や食感形成には上述のように果実を構成する細胞の細胞壁多糖類の変化が関わっており、複雑な構造を持つ多糖類の中でアラビノース含有多糖類が重要と考え、その代謝を担う *-L-アラビノフラノシダーゼ* の役割を中心に調べることにした。そこで、(1) *-L-アラビノフラノシダーゼ* と果実の軟化、食感形成ならびに果実形態との関係について明らかにするため、*-L-アラビノフラノシダーゼ* ジーンファミリーについて、各アイソザイムの役割を発現レベルで考察する、(2) 低温によって異常食感を誘導し、これに関与する *-L-アラビノフラノシダーゼ* アイソザイムを特定する、(3) 官能評価によって捉えられている食感を客観的に評価する方法について検討するという3つを研究目的とした。

3. 研究の方法

(1) トマトには生食用と加工用の品種が存在する。一般に、生食用品種は果肉が軟らかく、ジューシーであり、それに対してイタリアントマトのような加工用品種では果肉が硬く、ジューシーさが感じられない。本研究では、生食用と加工用の品種に加えて、その中間的特徴を持つハイブリッド品種を用いることで、果実の形態、軟化、食感形成と *-L-アラビノフラノシダーゼ* との関係について調べた。トマトは慣行法で栽培し、成長・成熟段階の果実を採取した。これらの果実から RNA を抽出し、cDNA 合成後、定量 PCR 法によって *-L-アラビノフラノシダーゼ* の発現量の推移を調べた。また、果実成長に伴う形態変化についてモニターするとともに、果実硬度と果実からの水分放出量を調査した。果実からの水分放出量は、直径 1cm 程度の果肉ディスクを作成し、ディスクを 95% 変形させたときの放出水分を濾紙に吸着させ、その重量から求めた。

(2) トマトを催色期で収穫し、常温および低温でそれぞれ追熟させた。低温下での追熟によって低温障害を誘導し、異常食感(粉質)を形成させた。果実から塩を含む緩衝液で粗酵素液を抽出し、両者における *-L-アラビノフラノシダーゼ* 活性を 4-nitrophenyl α -L-arabinofuranoside を基質として測定した。また、(1)と同様に定量 PCR による *-L-アラビノフラノシダーゼ* の発現量と果実硬度、水分放出量等の差異を調べた。

(3) 複数のトマト品種を慣行法にて栽培し、催色期で収穫した果実を低温下で追熟させ、異常食感を誘導した。官能評価で粉質性を確認し、果肉組織の水分含量、水分放出量、果肉組織の崩壊性、果実硬度を調べた。これらの測定では、直径 1cm 程度の果肉ディスクを作成し、水分含量はディスク乾物の測定から、水分放出量は(1)と同様にディスクからの放出水分量から求めた。また、果肉の崩壊性は、ディスクを等張液中で振とうし、振とう前後のディスクの重量を求め、振とう後のディスクの崩壊度として求めた。

4. 研究成果

(1) はじめに、細胞壁の構造変化の結果として生じる果実の形態、成長、硬さ、ジューシーさ等の各特性に対する *-L-アラビノフラノシダーゼ* の関わりを明らかにするために、これらの形態に特徴的な違いを有する加工用トマト品種、生食用品種ならびにそれらのハイブリッド品種

を用いて、本酵素遺伝子の発現パターンと品種間におけるこれらの特徴の違いを比較した。品種間で成熟果実の直径に有意差はみられなかったが、果実重量の増加とともに、加工用品種では縦方向への伸長が観察された。加工用と生食用品種の交雑品種では、両者の中間的な縦方向の成長と果実重量の増加を示した。生食用の果実は加工用と比較して軟らかく、赤熟果では生食用品種で著しい軟化がみられた(図1)。また、生食用品種は果肉ディスクから多くの水分が放出され、

ジューシーさを示し、両者のハイブリッド品種では中間程度であった(図2)。-L-アラビノフラノシダーゼ遺伝子である *SIArf/Xyl2*、*LeXYL1* および *LeXYL2* は未熟な果実で発現し、また、*SIArf/Xyl1* および *LeXYL1* は成熟開始時にも発現上昇を示した。しかしながら、それらの発現パターンからは、品種間でみられる果実の成長や形態の違いあるいは硬さなどの違いに寄与しているとは考えにくかった。一方、*SIArf/Xyl1* と *LeARF1* あるいは *LeXYL2* の発現レベルは、成熟果実からの水分放出率の品種間差異と一致していた(図3)。したがって、-L-アラビノフラノシダーゼは、加工用と生食用品種でみられるジューシーさの違い、すなわち果肉の食感形成に関わっている可能性が示された。

(2) 催色期で収穫したトマト(2品種)を低温で追熟させた場合、果肉組織は粉質性を示し異常食感が形成された。一方、常温追熟果では粉質性は感じられなかった(図4)。正常な食感を示す果実と比較して、異常食感を示す果実では、より高い -L-アラビノフラノシダーゼ活性が観察された(図5)。しかし、2つの品種の果実の間で果実の硬さには有意な差はみられなかった(図4)。糖質分解酵素ファミリー3に属する -L-アラビノフラノシダーゼをコードする6つの遺伝子のうち、2つの遺伝子の転写物は両品種で検出されなかった。その他の遺伝子のうち、*SIArf/Xyl1* は低温追熟果においてその発現量が増加した。この *SIArf/Xyl1* は実際に -L-アラビノフラノシダーゼ活性を有していることがわかっている。また、*LeXYL2* は常温追熟果ではほとんど発現がみられなかったが、低温追熟果で発現上昇が認められ、低温によって新規に発現が誘導されているこ

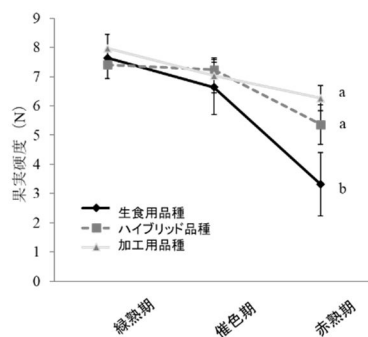


図1. 成熟時の果実硬度の低下

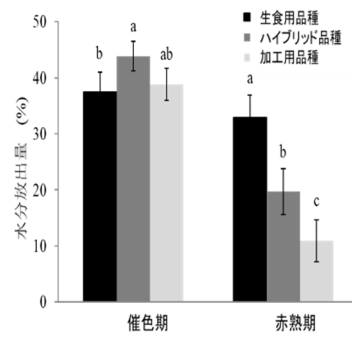


図2. 成熟時の果実からの水分放出量

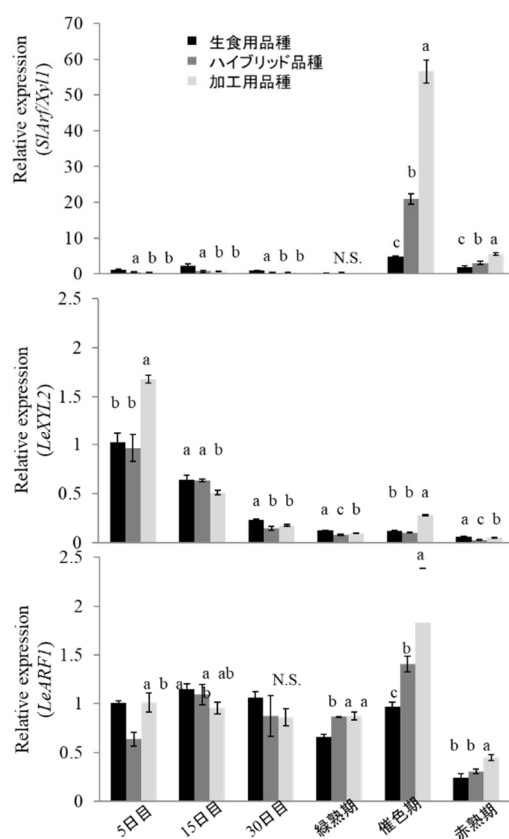


図3. 成長・成熟に伴う -L-アラビノフラノシダーゼの発現

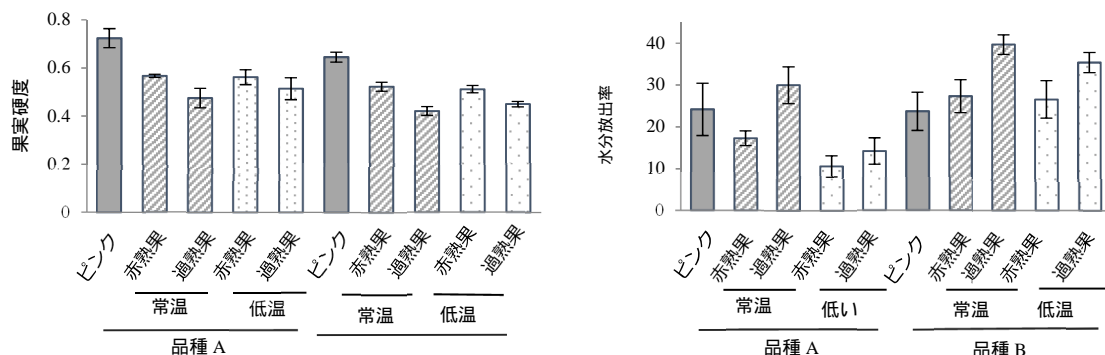


図4. 常温・低温下での追熟に伴う果実硬度、水分放出率の変化

とが示された。これらの結果から、 α -L-アラビノフラノシダーゼは果実の硬度低下に関わっている可能性は低く、トマト果実の異常食感、特に粉質性を引き起こしている可能性があることが示され、これには *SlArf/Xyl1* と *LeXYL2* が関与していることが示された。

(3) 複数のトマト品種を用いて低温追熟による異常食感の一つである粉質性を誘導した。用いたすべての品種で官能評価により粉質性が確認された。これらの果実では、みずみずしさが感じられなかったため、果肉に含まれる水分量の測定を行った。その結果、低温追熟果の方が常温追熟果よりもやや多い水分含量を示した。このことから、低温追熟したときの粉質には果肉の水分量は影響していないことが示された。また、果肉からの水分放出率を調べた結果、品種によって異なった結果が得られ、必ずしも官能評価の結果と一致しなかった。水分放出率の測定は過去に粉質性を評価する方法として用いられていたが、一部の品種を除いて、果肉からの水分放出率の測定は低温による異常食感の評価に有効な方法ではないと考えられた。果肉ディスクの崩壊度については、すべての品種において、低温追熟果での果肉崩壊率が高かった。これらのことから、低温による異常食感の形成は、細胞同士の接着性が弱まり、果肉が脆くなっていることが一因と考えられ、果肉の崩壊率の測定は有効な評価方法であることが示された。

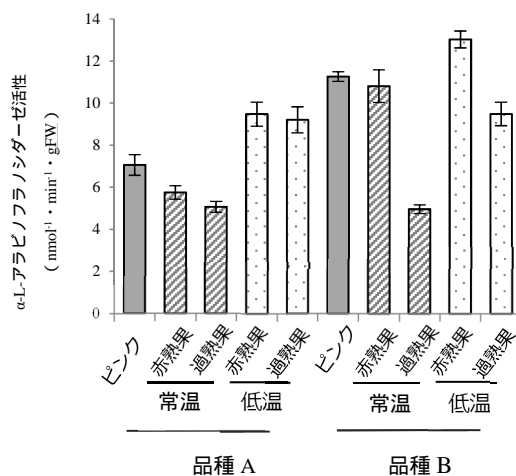


図5. 常温・低温下での追熟に伴う α -L-アラビノフラノシダーゼ活性の変化

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Miyohashi Fumika, Sawada Yukihisa, Kaminishi Aiko, Soga Ayako, Yoshida Makoto, Kamiyoshihara Yusuke, Tateishi Akira	4. 巻 1312
2. 論文標題 -L-arabinofuranosidase activity and gene expression in two tomato cultivars showing different flesh textures	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acta Horticulturae	6. 最初と最後の頁 485 ~ 492
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.17660/ActaHortic.2021.1312.69	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 Mizuno Shinji, Narukawa Noboru, Uto-Kondo Harumi, Kamiyoshihara Yusuke, Tateishi Akira, Kubota Satoshi, Shinmachi Fumie, Watanabe Keiichi	4. 巻 20
2. 論文標題 Anthocyanin Pigments and Quality of the Deep Red Strawberry Cultivar 'Shinku-no-misuzu'	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Horticultural Research (Japan)	6. 最初と最後の頁 109 ~ 115
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2503/hrj.20.109	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 Miyohashi Fumika, Sawada Yukihisa, Kaminishi Aiko, Soga Ayaka, Yoshida Makoto, Kamiyoshihara Yusuke, Tateishi Akira	4. 巻 90
2. 論文標題 Expression of -L-Arabinofuranosidase Genes at Ripening Initiation Potentially Contributes to the Difference in Flesh Juiciness Between Processing and Fresh Tomatoes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Horticulture Journal	6. 最初と最後の頁 130 ~ 137
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2503/hortj.UTD-218	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 Kamiyoshihara Yusuke, Miyajima Sakurako, Miyagawa Yota, Moriyama Kazuki, Mizuno Shinji, Goulet Charles, Klee Harry, Tateishi Akira	4. 巻 300
2. 論文標題 Functional divergence of principal alcohol o-acyltransferase for biosynthesis of volatile acetate esters among tomato wild species (Solanum Sect. Lycopersicon)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Science	6. 最初と最後の頁 110612 ~ 110612
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.plantsci.2020.110612	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 安倍 司・上吉原裕亮・水野真二・渡辺慶一・岩永 崇・土屋正邦・澤田幸尚・聖代橋史佳・上西愛子・曾我綾香・吉田 誠・立石 亮
2. 発表標題 低温によるトマト果実の異常食感の形成とその回避方法の検討
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 岸 彩子・上吉原裕亮・岩永 崇・土屋正邦・奈島賢児・水野真二・渡辺慶一・立石 亮
2. 発表標題 トウガラシ果実の軟化と離脱性に関わるペクチン分解酵素遺伝子
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 上吉原裕亮・宮川陽太・水野真二・渡辺慶一・立石 亮
2. 発表標題 国内主要イチゴ品種に含まれる揮発性香気成分の組成比較
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 F. Miyohashi, Y. Sawada, A. Kaminishi, A. Soga, M. Yoshida, Y. Kamiyoshihara and A. Tateishi
2. 発表標題 -L-Arabinofuranosidase activity and gene expression in two tomato cultivars showing different flesh textures
3. 学会等名 The 3rd Asian Horticultural Congress 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 亀井大貴・上吉原裕亮・水野真二・渡辺慶一・立石 亮
2. 発表標題 トマト果実における配糖体化酵素による香気成分貯蔵メカニズム
3. 学会等名 園芸学会令和元年度秋季大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 山内直樹・泉 秀実・立石 亮・上吉原裕亮・加藤雅也・馬 剛・張 嵐翠・ウェンダコーン スミトラ・濱渦康範・於勢貴美子・馬場 正・久保康隆・鈴木康生・平 智・元木 悟・北澤裕明・濱中大介・石丸 恵・永田雅靖・中村宣貴・吉田実花・椎名武夫・今堀義洋・山脇和樹・伊藤真一・後藤昌弘・後藤隆子	4. 発行年 2021年
2. 出版社 文永堂出版	5. 総ページ数 312
3. 書名 園芸利用学	

1. 著者名 荻原 勲(編著)・井上栄一・窪田 聡・澤登早苗・鈴木 栄・立石 亮・馬場 正・平塚 伸・細川宗孝・山田哲也・山根健治・吉田裕一・高橋さくら・田崎啓介・堀内尚美・吉田実花	4. 発行年 2020年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 184
3. 書名 図説園芸学第2版	

1. 著者名 金山喜則・西山 学・田淵俊人・西村安代・西澤 隆・奥田延幸・金澤俊成・村上賢治・吉田康徳・前田智雄・立石 亮・加藤一幾・深山陽子・安場健一郎・白武勝裕・山根健治	4. 発行年 2020年
2. 出版社 文永堂出版	5. 総ページ数 326
3. 書名 野菜園芸学 第2版	

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------