

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 4日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2011

課題番号：20380015

研究課題名（和文） セイヨウナシ果実の樹上完熟を阻害する tree ファクターの解析

研究課題名（英文） Studies on tree factors that inhibit the ripening on the tree in pear fruit

研究代表者

村山 秀樹（MURAYAMA HIDEKI）

山形大学・農学部・教授

研究者番号：40230015

研究成果の概要（和文）：環状はく皮処理や摘葉処理によって、光合成産物のセイヨウナシ果実への流入を阻害することにより、樹上においても軟化が促進した。ただし完熟する前に落果したことから、離層に落下防止剤を併用処理した結果、セイヨウナシ果実は樹上においても完熟することが判明した。セイヨウナシ果実の樹上完熟を阻害する tree ファクターは、光合成産物の流入と樹上成熟に伴って生成されるエチレンによって落果が誘導されることの2つであると考えられた。

研究成果の概要（英文）：The treatments with girdling above the abscission zone of fruit or defoliation, that inhibited the influx of photosynthetic assimilates into the fruit, promoted fruit softening on the tree. However fruit dropped before they ripened. Pear fruit fully ripened even on the tree by the treatment with abscission inhibitor, NAA, in combination with girdling treatment. Taken together, there might be two tree factors that suppress the ripening of pear fruit on the tree. One is the continuation of influx of photosynthetic assimilates into the fruit. Another is ethylene produced by fruit themselves that promotes fruit drop before fully ripening on the tree.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
2009年度	3,300,000	990,000	4,290,000
2010年度	3,300,000	990,000	4,290,000
2011年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
年度			
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・園芸学・造園学

キーワード：環状はく皮、樹上成熟、セイヨウナシ、追熟、tree ファクター、ニホンナシ、メタボローム

1. 研究開始当初の背景

セイヨウナシは樹上では完熟せず、収穫後に追熟を行うことによってはじめて可食状態になる果実である。この原因として、樹からの物質等何らかの要因すなわち tree ファクターが成熟を阻害していると考えら

れているが、その正体は不明であり、その解明には興味を持たれる。セイヨウナシの他にも、キウイフルーツ、マンゴー、アボカドなど、収穫後の追熟を必要とする果実があるもの、いずれの果実においても tree ファクターは明らかにされていない。本研究に取り

組む前に、セイヨウナシ果実の樹上成熟特性を調べ、収穫適期以降、果実は徐々に軟化するものの、完熟する前に落下し、樹上では完熟しないことを明らかにした (Murayama ら, 1998)。一方 Kondo・Takano (2000) は、合成オーキシシンである 2,4-DP の葉面散布により、ラ・フランス果実が樹上完熟することを報告した。しかしながら、樹上成熟に対するオーキシシンの効果は安定せず、オーキシシンの作用機作についても言及されていない。そこで本研究では、果実の樹上完熟を阻害する tree ファクターを解明することを目指した。

2. 研究の目的

セイヨウナシが樹上で完熟しないのは、①師部輸送される物質が果実の樹上成熟を阻害している、②樹上成熟に伴い果肉で生成されたエチレンによって離層形成が促進され、果実が完熟する前に落下することが原因であるという仮説を立てた。本研究では、この仮説の真偽を確かめるために、樹上完熟性をもたないセイヨウナシ‘パートレット’、セイヨウナシと同じナシ属果実でありながら樹上完熟性を有するニホンナシ、さらにはセイヨウナシの中では珍しく樹上完熟性をもつといわれている‘ミクルマス・ネリス’を供試して、果実の樹上完熟を阻害する tree ファクターを明らかにすることを目指した。

3. 研究の方法

(1) 離層近傍の環状剥皮処理がセイヨウナシ果実の樹上成熟におよぼす影響

果実への師部輸送の抑制と果実の樹上成熟の関係を調べるために、果実離層上部の枝の環状剥皮処理、傷害処理および摘葉処理を施した。このとき果実落下を抑制するために果実離層部に NAA (ラノリンペースト) 処理を施した。また、摘葉処理については4年生の枝単位で行い、枝についている葉をすべて取り除いた。調査は収穫適期以降、果実のエチレン生成量、果肉硬度、果皮色ならびにデンプン含量について行った。また、エチレンと果実落下の関係を調べるために、収穫適期に樹上において果実をポリエチレンフィルムで密封し、エチレンまたは 1-MCP をそれぞれ約 500ppm、約 1ppm となるようにシリンジで注入した。24 時間後に袋を開封し、その後 30 日間落下数を調査した

(2) セイヨウナシ‘ミクルマス・ネリス’の樹上成熟特性

‘ミクルマス・ネリス’は樹上で完熟しやすい特性をもつとされている。そこで‘ミクルマス・ネリス’果実の樹上成熟特性について、とくに軟化や肉質にかかわる細胞壁成分の観点から検討した。また、果実離層上部の

環状剥皮処理を‘ミクルマス・ネリス’に施し、樹上成熟におよぼす影響を調べた。

(3) ナシ果実における成熟中のメタボローム解析

セイヨウナシ果実が樹上で完熟しない理由を明らかにするために、セイヨウナシ‘パートレット’とニホンナシ‘豊水’果実を供試し、成熟中のメタボローム解析を行った。果実は適期に収穫し、20°C で追熟した。また‘パートレット’果実については、適期以降も樹上で成熟した果実もあわせて解析した。デンプン、糖およびイオン性化合物は、それぞれ酵素法 (アミログルコシダーゼ、グルコースオキシダーゼ)、HPLC (カラム: Shimadzu Shim-pack SCR-101C) および CE-TOF MS (キャピラリー電気泳動/飛行時間型質量分析装置) で分析した。

(4) 環状剥皮処理を施したセイヨウナシ‘パートレット’果実のメタボローム解析

セイヨウナシ果実の樹上成熟中における代謝動態を把握することを目的として、環状剥皮処理を施したセイヨウナシ果実のメタボローム解析を試みた。

実験には、山形大学農学部実験圃場植栽のセイヨウナシ‘パートレット’3 樹を供試した。試験区として、収穫適期以降も樹上で成熟させる樹上成熟区、収穫適期に収穫し 20°C で追熟する追熟区、収穫適期に果実離層上部の枝に環状剥皮処理を施し樹上で成熟させる環状剥皮区の 3 区を設けた。収穫適期以降、エチレン生成量、果実硬度、果皮色を経時的に測定するとともに、HPLC を用いて糖含量を測定し、酵素法でデンプン含量を測定した。また、CE-TOF/MS を用いて果実中のイオン性代謝産物分析を行った。

4. 研究成果

(1) 離層近傍の環状剥皮処理がセイヨウナシ果実の樹上成熟におよぼす影響

転流物質に着目し、果実への転流物質の流入を阻害するために、果実離層上部の環状剥皮処理または摘葉処理を施した。その結果、環状剥皮処理によって樹上においても果実の軟化が促進されたが、果実は完熟する前に落下した。この果実落下は離層部への NAA 処理により抑制され、環状剥皮処理を併用した果実では、樹上でエチレン生成量が増加し、収穫後に追熟した果実と同様に果肉軟化と果皮色の黄化が生じ、適食状態に達した (図 1)。この結果より、転流物質の流入を阻害することで果実のエチレン生成および成熟が促進されること、さらには果実離層部に NAA を処理することによって落下が抑制され、樹上においても果実が完熟することが示された。

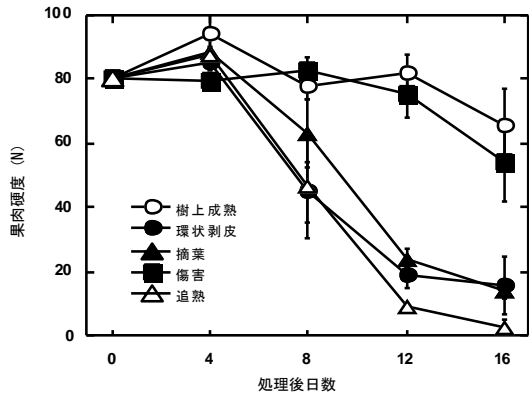


図1 師部輸送の抑制がセイヨウナシ‘パートレット’果実の果肉硬度におよぼす影響

エチレンと果実落下の関係については、無処理区では17日目から果実が落下し始めたのに対して、エチレン処理区では落下が促進され、6日目から果実が落下し始めた(図2)。逆に、1-MCP処理区では果実落下の開始が20日目と落下が抑制された。

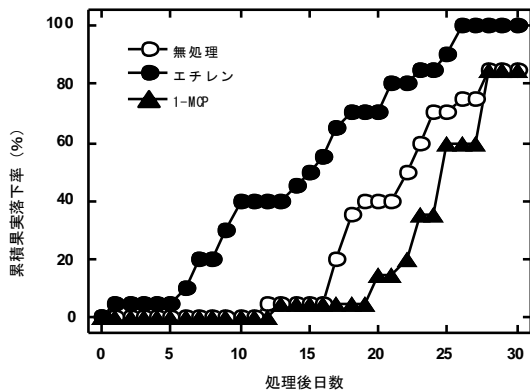


図2 エチレンと1-MCPがセイヨウナシ‘パートレット’果実の落下におよぼす影響

以上の結果から、セイヨウナシ果実は樹上においても成熟が進行するものの、自ら生成したエチレンによって完熟する前に落下することが示唆された。

(2) セイヨウナシ‘ミクルマス・ネリス’の樹上成熟特性

果肉硬度は、追熟区において4日目から8日目にかけて急激に低下した(図3)。一方、樹上成熟区では、追熟区と比較すると軟化が遅れたものの、果実は13日目には可食状態に達し、‘ミクルマス・ネリス’果実が樹上で完熟することを確認した。‘ミクルマス・ネリス’においては、‘パートレット’で報告されたエチレン処理による離脱促進は認められなかった。

果実内エチレン濃度は、追熟区では4日目以降増加した(図4)。一方、樹上成熟区にお

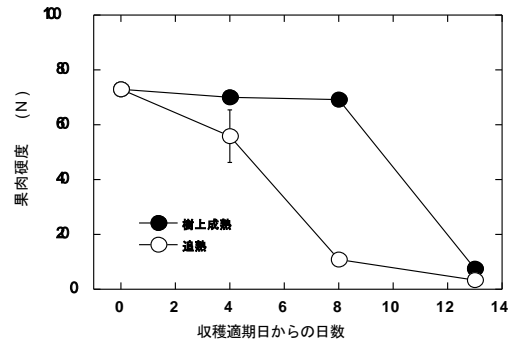


図3 セイヨウナシ‘ミクルマス・ネリス’果実の樹上成熟特性

いても果実内エチレン濃度は、8日目以降急激に増加した。さらに、‘ミクルマス・ネリス’果実はエチレン処理によって樹上での軟化が促進される傾向が認められたものの、‘パートレット’果実とは異なり、果実の落下は促進されないことが判明した。また、このことが‘ミクルマス・ネリス’果実の樹上で完熟しやすい特性にかかわっていると考えられた。

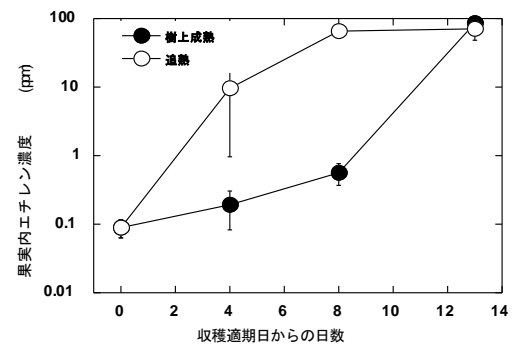


図4 セイヨウナシ‘ミクルマス・ネリス’果実における収穫適期以降の果実内エチレン濃度の変化

(3) セイヨウナシ‘パートレット’果実における成熟中のメタボローム解析

セイヨウナシ果実を収穫することによって、果実内の代謝がどのように変化するか調べるためにメタボローム解析を行った。その結果、セイヨウナシのデンプンおよび主要な糖について、樹上成熟区と比較して収穫した追熟区では、デンプンと転流糖のソルビトールが収穫2日後から4日後にかけて急激に低下した(図5)。また、デンプンの分解に伴って、追熟初期はスクロースが、後期はグルコースとフルクトースの単糖が増加した。ニホンナシでは、転流糖のソルビトールとスクロースが減少し、グルコースとフルクトースが増加した。このことから、果実に転流される糖が果実成熟に重要な役割を持ち、収穫すると転流が阻害されるため、果実内の炭水化

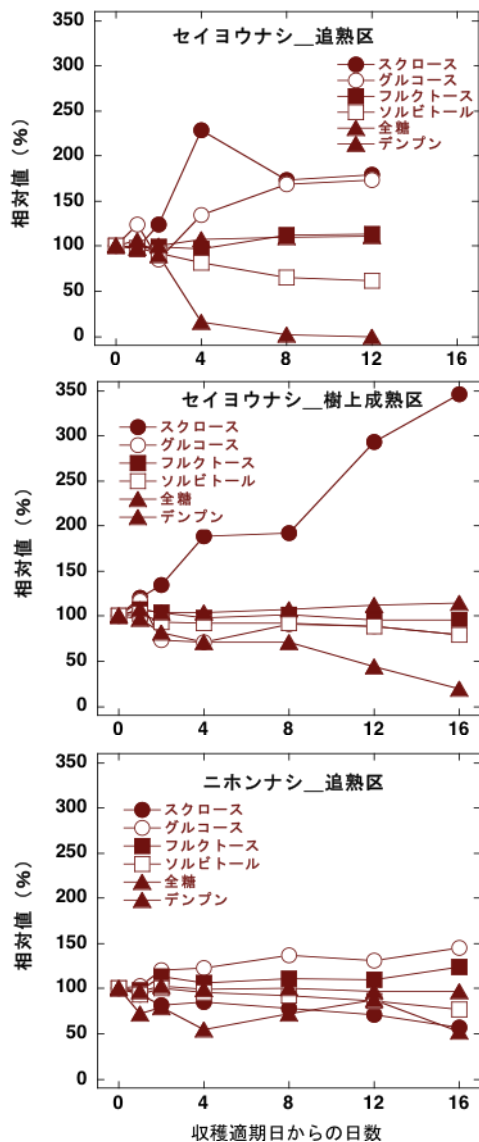


図5 セイヨウナシ‘パートレット’果実とニホンナシ‘豊水’果実における収穫適期以降の炭水化物の変化

物代謝が急激に変化すること判明した。

CE-MSによるメタボローム解析の結果、セイヨウナシの追熟区では、ソルビトール、6-リン酸、フマル酸、リンゴ酸、グルタミン酸、バリン、アラニンなどの代謝物が減少し、逆にコリン、ガラクトロン酸は増加することが判明した。

(4) 環状剥皮処理を施したセイヨウナシ‘パートレット’果実のメタボローム解析

CE-TOF/MSによって同定された代謝産物に糖(スクロース、グルコース、フルクトース、ソルビトール)およびデンプンのデータを加え、主成分分析を行った結果、樹上成熟区は、第一主成分および第二主成分マイナス側の領域に散在した(図6)。追熟区は、概して第一主成分プラス側および第二主成

分マイナス側の領域に位置した。また、収穫適期後日数が経過したサンプルほど、第一主成分プラス側および第二主成分マイナス側に位置した。環状剥皮区は、概して第一主成分および第二主成分プラス側の領域に位置した。また、収穫適期後日数が経過したサンプルほど、第一主成分および第二主成分プラス側に位置した。第一主成分の寄与率は66.9%であり、第二主成分の寄与率は23.2%であった。

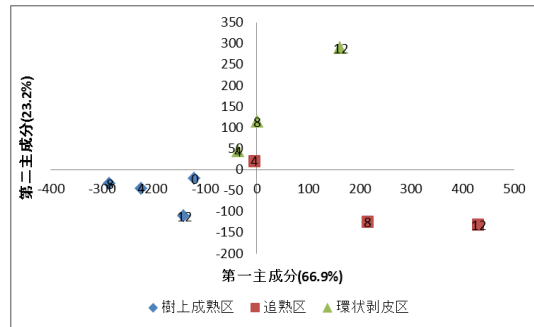


図6 セイヨウナシ‘パートレット’果実サンプルの主成分分析. プロット上の数字は収穫適期後日数を示す

以上の結果より、追熟処理果実および環状剥皮処理果実における代謝に、明確な差異があることが判明した。

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4件)

① Murayama, H., Arikawa, M., Sasaki, Y., Dal Cin, V., Mitsuhashi, W. and Toyomasu, T. Effect of ethylene treatment on expression of polyuronide-modifying genes and solubilization of polyuronide during ripening in two peach cultivars having different softening characteristics. *Postharvest Biology and Technology*, 52, 196-201. 2009.(査読有)

② Dal Cin, V., Barbaro, E., Danesin, M., Murayama, H., Velasco, R. and Ramina, A. Fruitlet abscission: A cDNA-AFLP approach to study genes differentially expressed during shedding of immature fruits reveals the involvement of a putative auxin hydrogen symporter in apple (*Malus domestica* L. Borkh). *Gene*, 442, 26-36. 2009.(査読有)

[学会発表] (計11件)

① Murayama, H., Y. Kobayashi and A. Oikawa. 2010. Alterations in the fruit metabolome on ‘Bartlett’ pear on and off

the tree after the optimum time for harvesting. 2010年11月24日. 第9回国際ナシシンポジウム (アルゼンチン)

- ② 村山秀樹. ナシ果実における成熟中のメタボローム解析. 園芸学会 (東日本大震災のため大会中止発表要旨のみ). 2010年3月 [図書] (計2件)
- ① 村山秀樹. 2011. 西洋ナシの食べ頃判定と追熟・貯蔵法. 追熟・貯蔵の基礎. p. 259-265. 農山漁村文化協会編. 最新農業技術. 農山漁村文化協会. 東京.
- ② 村山秀樹. 2008. セイヨウナシ. チュウゴクナシ. p. 339-348. 杉浦明ら編. 果実の事典. 朝倉書店. 東京.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村山 秀樹 (MURAYAMA HIDEKI)

山形大学・農学部・教授

研究者番号: 40230015

(2) 研究分担者

板井 章浩 (ITAI AKIHIRO)

鳥取大学・農学部・准教授

研究者番号: 10252876

立木 美保 (TATSUKI MIHO)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・果樹研究所果実鮮度保持研究チー

ム・主任研究員

研究者番号: 10355381

豊増 知伸 (TOYOMASU TOMONOBU)

山形大学・農学部・准教授

研究者番号: 60272085