

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05560

研究課題名(和文) 無核化処理により「シャインマスカット」の香気成分組成が変化する分子機構の解明

研究課題名(英文) Molecular mechanisms underlying the change in the aroma profiles of Shine Muscat by seedless treatment

研究代表者

本多 親子 (Honda, Chikako)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・准教授

研究者番号：40343975

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：「シャインマスカット」を用いて、GC-MSにより無核化処理と無処理の果実の香気成分プロファイルと比較した。無核化処理の有無または成熟段階の少なくとも一方で有意差があった123の香気成分を対象に二元階層クラスター分析を行った結果、成熟初期の無核化処理区は他の処理区と異なるクラスターに分類されるが、成熟後期には無核化処理区と無処理区は同じクラスターに分類されることがわかった。リナロール化合物は、両処理区で成熟とともに増加していた。RNA-seq解析の結果、成熟初期では無核化処理区の果実は無処理区よりも早く成熟が進み、成熟後期には無核化処理区における発現変動遺伝子数は減少することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

「シャインマスカット」では収穫が遅くなるにつれて無核化処理区と無処理区の揮発性物質プロファイルの差が減少したことから、収穫期を遅らせることで、無核化処理の種なし「シャインマスカット」の香りを種ありの本래の香りに近づけることができる可能性が示唆された。本研究で得られた成果は、食味のよい種なし「シャインマスカット」の栽培方法および収穫時期を検討する上で、重要な知見となる。

研究成果の概要(英文)：The aroma volatile profiles of seedless-treated and nontreated Shine Muscat grape berries during ripening were compared using GC-MS. According to two-way analysis of variance, the number of volatiles with differences between seedless-treated and nontreated berries and/or between ripening stages was 123. Two-way hierarchical clustering analysis for the 123 volatiles showed that seedless-treated berries at the early ripening stages were separated from the other berries, and the seedless-treated and nontreated berries at the post-ripening stage were classified into the same cluster. Linalool compounds increased in both seedless-treated and nontreated berries with ripening. Gene expression profile comparisons using principal component analysis of RNA-sequencing data showed that the seedless-treated berries ripened earlier than the nontreated berries ripened at the early ripening stage. The number of differentially expressed genes in the seedless-treated berries decreased during ripening.

研究分野：園芸科学

キーワード：ブドウ シャインマスカット 無核化処理 香気成分 GC-MS ストレプトマイシン ジベレリン

## 1. 研究の背景

生食用の種なしブドウの生産においては、無核化と果粒肥大のためにジベレリンを含む植物成長調節剤を使用するのが一般的である。しかし、無核化処理を行った種なしブドウと無処理の種ありブドウでの果実品質の差、特に香り成分の差についてはほとんど知られていないのが現状である。

## 2. 研究の目的

本研究では、‘シャインマスカット’を用いてガスクロマトグラフ質量(GC-MS)分析により無核化処理と無処理の果実の香り成分プロファイルを比較すること、RNA-seq解析により無核化処理と無処理の果実の遺伝子発現プロファイルを比較すること、香り成分と遺伝子の共発現解析を行うことを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) サンプルング

無核化処理区の果実については、満開の一週間前(5月13日)にストレプトマイシン処理(200ppm)、満開時(5月20日)に一回目のジベレリン処理(25ppm)、6月上旬に二回目のジベレリン処理(25ppm)を行った。二回目のジベレリン処理時には、サイトカイニン処理(フルメット 5ppm)も行った。8月上旬から9月下旬にかけて5回、‘シャインマスカット’の果実のサンプルングを行った(Fig. 1 および Fig. 2 を参照)。香り成分抽出用には、果皮と果肉を分けずにジュースを絞ったものをサンプルとした。RNA-seq解析用には、果皮と果肉を分けてサンプルングした。

### (2) GC-MS

Tanaka et al. (2018)の方法にしたがって、香り成分(揮発性物質)の分析を行った。捕集剤にはモトラップ<sup>TM</sup>を用いた。

### (3) RNA-seq解析と発現変動遺伝子(DEG)解析

果皮と果肉、それぞれからtRNAを抽出し、RNA-seq解析を行った(Kamitani et al., 2019)。得られたリードは、grape reference genome assembly (Vitisvinifera.12X.dna\_sm.toplevel.fa)にアラインメントした。DEG解析は、DESeq2 program on iDEP.91 (Ge et al., 2018)により行った。

### (4) 加重遺伝子共発現ネットワーク解析(WGCNA)

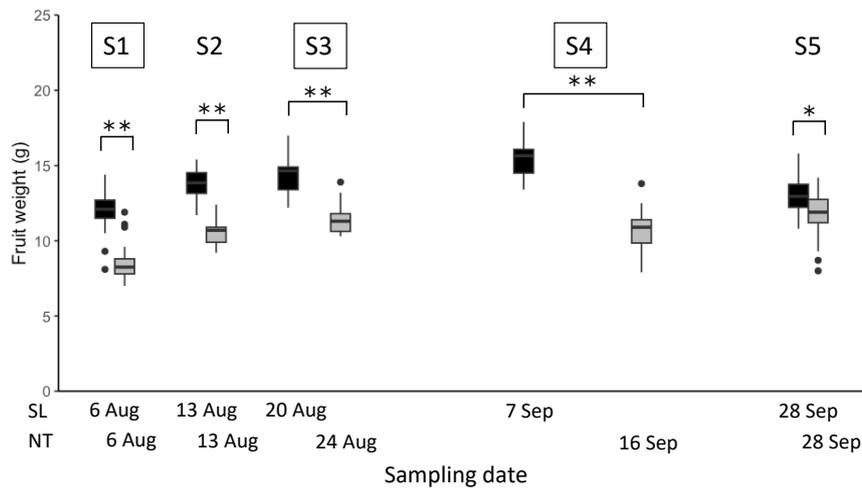
WGCNA (1.72.1) package (Langfelder and Horvath, 2008)により、香り成分と遺伝子の共発現解析を行った。

## 4. 研究成果

8月上旬から9月下旬にかけての、無核化処理(seedless treatment, SL)区と無処理(non-treatment, NT)区の‘シャインマスカット’の果粒重の変化をFig. 1に示した。最後のステージ5(S5)まで、SL区の方が果粒が大きい傾向にあった。糖度については、8月下旬のステージ(S3)まではSL区の方が高かったが、適熟期のステージ4(S4)には同等になった(Fig. 2)。四角で囲った3ス

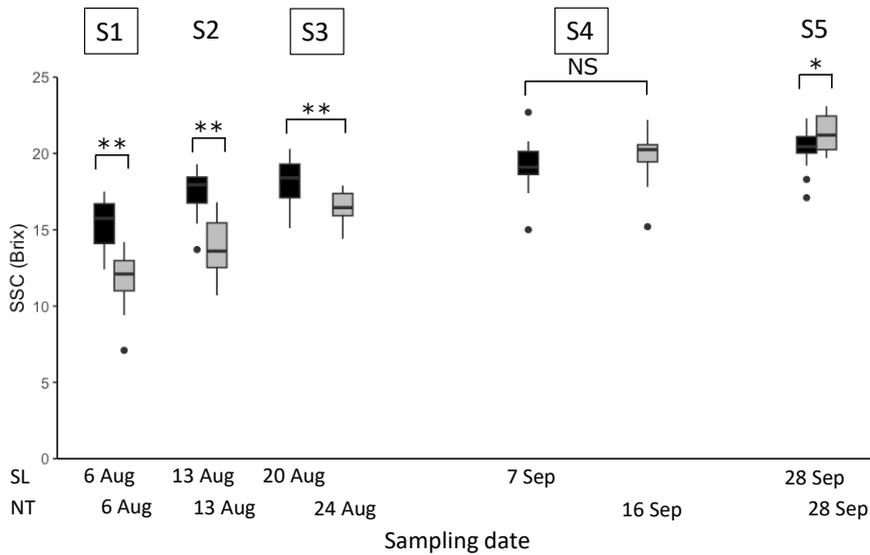
ステージ(S1、S3、S4)のサンプルをRNA-seq 解析に供した。

次に、GC-MS により無核化処理と無処理の果実の香気成分プロファイルと比較した。成熟期間中(ステージ1からステージ5まで)の果実の揮発性物質を測定した結果、無核化処理区および無処理区において202のピークが認められ、149の揮発性物質が同定された(データ略)。



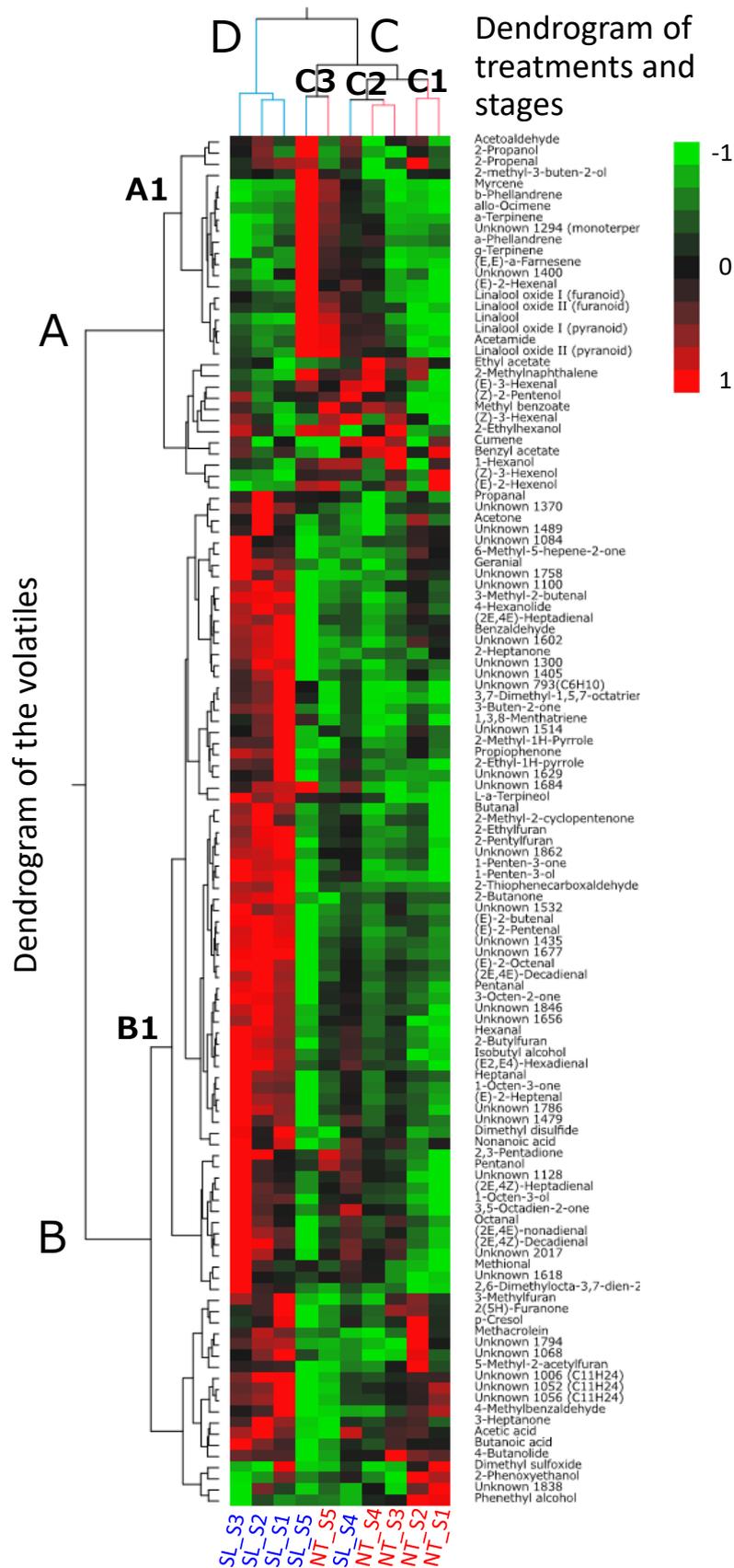
**Fig. 1. ‘シャインマスカット’の果実における果粒重の変化**

無核化処理(seedless treatment, SL)区を黒、無処理(non-treatment, NT)区を灰色で示した。5段階のステージ(S1、S2、S3、S4、S5)のうち、S4は適熟期、S5は過熟期である。



**Fig. 2. ‘シャインマスカット’の果実における糖度の変化**

無核化処理(seedless treatment, SL)区を黒、無処理(non-treatment, NT)区を灰色で示した。5段階のステージ(S1、S2、S3、S4、S5)のうち、S4は適熟期、S5は過熟期である。



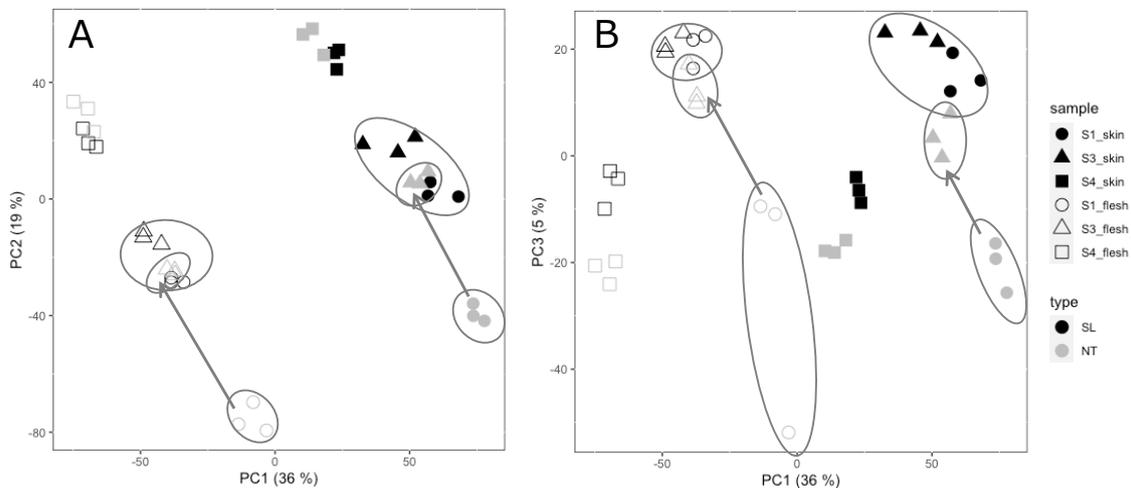
**Fig. 3. ‘シャインマスカット’ 果実の揮発性物質に対する二元階層クラスター分析**

無核化処理 (seedless treatment, SL) 区を青字、無処理 (non-treatment, NT) 区を赤字で示した。5 段階のステージ (S1、S2、S3、S4、S5) のうち、S4 は適熟期、S5 は過熟期である。

二元配置分散分析の結果、無核化処理の有無または成熟段階の少なくとも一方で有意差がある揮発性物質の数は 123、処理の有無および成熟段階で有意差がない揮発性物質の数は 79 であった (データ略)。有意差のあった 123 の揮発性物質を対象に二元階層クラスター分析を行った結果、成熟初期の無核化処理区は他の処理区とは異なるクラスターに分類されるが、成熟後期では無核化処理区と無処理区は同じクラスターに分類されることがわかった (Fig. 3)。

無核化処理区では、成熟初期にノナン酸や(2E,4E)-ノナジエンールのリポキシゲナーゼ経路の揮発性物質が無処理区よりも多く生成されていた。一方で、リナロール化合物は、無核化処理区と無処理区の両方で成熟とともに増加していた。

RNA-seq データに対する主成分分析によって遺伝子発現プロファイルを比較した結果、成熟初期では無核化処理区の果実は無処理区よりも早く成熟することが明らかとなった (Fig. 4)。成熟が進むに連れて、無核化処理区における発現変動遺伝子数は減少した (データ略)。



**Fig. 4. ‘シャインマスカット’ 果実の RNA-seq データに対する主成分分析**

WGCNA により、果皮と果肉でそれぞれ 12 モジュール、24 モジュールが検出された (データ略)。相関分析の結果、果皮では 33 の揮発性物質が 4 つのモジュールと、果肉では 50 の揮発性物質が 9 つのモジュールと相関していた。これらのモジュールと相関する揮発性物質の多くは、二元配置分散分析により無核化処理または成熟段階間で有意差を示した物質であった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Nakayama, M., Komazaki, K., Kawabata, S., Honda, C
2. 発表標題 Effect of seedless treatment on seed formation in grapes
3. 学会等名 The 4th Asian Horticultural Congress (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 駒崎琴音, 中山真志, 河鱒実之, 本多親子
2. 発表標題 無核化処理が‘シャインマスカット’の果実における有機酸蓄積に与える影響
3. 学会等名 園芸学会令和5年度春季大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田中周, 駒崎琴音, 田中福代, 大森良弘, 和泉賢悟, 市川健一郎, 河鱒実之, 本多親子
2. 発表標題 無核化処理が‘シャインマスカット’の香気成分に与える影響
3. 学会等名 園芸学会令和4年度春季大会
4. 発表年 2022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	大森 良弘  (Ohmori Yoshihiro)  (20398390)	東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・准教授    (12601)	

6. 研究組織（つづき）

	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	田中 福代  (Tanaka Fukuyo)  (50355541)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・高度分析研究センター・ユニット長    (82111)	

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