

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：24405

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05580

研究課題名（和文）トランス2ヘキセナルによる有袋栽培黒色ブドウの着色促進技術の開発

研究課題名（英文）Coloring promotion of black skin grapes cultivated with bagging using trans-2-hexenal

研究代表者

塩崎 修志（Shiozaki, Shuji）

大阪公立大学・大学院農学研究科・准教授

研究者番号：10235492

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,400,000円

研究成果の概要（和文）：緑葉揮発成分であるtrans-2-hexenalを多糖類のキサンタンガムやシリカゲルであるサイリシアに包含させる最適条件を明らかにした。シリカゲル包含体は、長期保存が可能で、キサンタンガムより実用的な包含剤である。高温下で着色不良を起こしやすい巨峰を試料とし、trans-2-hexenal包含体により袋掛けした露地栽培の巨峰果実の袋内で、trans-2-hexenalを気浴処理したところ、果汁の糖度や酸度に影響することなく、果皮のアントシアニン蓄積を促進できることを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

昆虫などに食害されることにより植物が放出する防御応答物質であり、植物に外生処理した場合に高温耐性を付与することができる緑葉揮発物質の一種であるtrans-2-hexenalに、ブドウ果皮のアントシアニン蓄積を促進する効果が初めて確認された。

本研究成果は、過度な気候温暖化により引き起こされる黒色系ブドウの果皮の着色不良に対して果実袋内に投入することにより着色を制御できる技術の基礎を提示し、農業従事者の減少により栽培管理の省力化が求められている現代に即した、有用な栽培管理技術に発展しうる。

研究成果の概要（英文）：The optimum conditions for the retention and/or release of trans-2-hexenal, a green leaf volatile compound, in the polysaccharide xanthan gum and “silicia”, a kind of silica gel were confirmed. Silica gel inclusion of trans-2-hexenal can be stored for a long time in freezing and are more practical inclusions than xanthan gum as a treatment agent. Black-skinned Kyoho grapes are more susceptible to poor coloration due to high temperature during maturation. Vapor treatment of trans-2-hexenal on the tree by using the trans-2-hexenal inclusion in the bags of Kyoho grapes promoted anthocyanin accumulation in the skin without negative effects on the sugar content and acidity of the juice.

研究分野：果樹園芸学

キーワード：黒色系ブドウ 果皮色 アントシアニン trans-2-hexenal 有袋栽培 露地栽培

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) わが国の黒色ブドウの主力品種である巨峰は、気候温暖化により果皮の着色不良が生じ、品質低下が問題となっている。着色を改善する栽培管理には、環状剥皮や光照射などがあるが、樹勢の低下やコストが課題である。天然型アブシシン酸溶液の成熟開始期の果房への散布処理は、着色改善に有効であるが、果汁糖度の低下が生じることがある。また、露地でのブドウ栽培では、未熟期の摘粒後に袋かけを行うのが通常であり、除袋してアブシシン酸を処理するのは利便性に欠ける。したがって、有袋栽培下でも簡易に着色を促す方法の開発が求められる。

(2) 植物に高温耐性を付与する効果を有する緑葉揮発性分の *trans*-2-hexenal (Yamauchi et al., 2014) を *in vitro*、密閉容器中でブドウ果粒に気浴処理したところ、高温下において着色促進効果を示すことが確認され、気体として着色制御が可能な物質であると推察された。

2. 研究の目的

樹上の果実袋内で揮発させた *trans*-2-hexenal が安定して高い着色促進効果を示す処理条件を明らかにし、着色不良をもたらす温暖な気候下において高品質なブドウを安定して生産できる技術を開発する。

3. 研究の方法

(1) *trans*-2-hexenal の処理に適した包含体の調製：香料の包含ならびに徐放に用いられる多糖類の一種であるキサンタンガムとシリカゲルの一種であるサイリシア（株式会社 富士シリシア化学）に *trans*-2-hexenal を包含させた。キサンタンガム包含体は、溶媒でゲル化したキサンタンガムに処理直前に *trans*-2-hexenal を混合し包含させ、すぐに処理に使用した。サイリシアは *trans*-2-hexenal を含む有機溶媒に一定時間懸濁させ、溶媒を留去した。サイリシアの重量変化より包含量を推定し、冷凍保存した。サイリシア包含体は、カプセルに封入し、使用時に有機溶媒を添加し気浴処理に用いた。*trans*-2-hexenal の気浴処理はヤエナリ実生の成育を抑制する効果を示すため、ヤエナリの生物検定により、包含体の保存性、包含体からの放出性ならびに包含体調製と包含体からの放出に用いる有機溶媒の適性について調査した。

(2) *In vitro* での *trans*-2-hexenal 包含体処理効果の検証：①ジベレリン処理により無核化した巨峰と有核巨峰の果粒の成熟開始期に、果梗がついた状態で果粒を採取し、水を入れたマイクロプレートに果梗を挿し、27°C 下で *trans*-2-hexenal のキサンタンガム包含体により密閉容器中 18 時間気浴処理を行なった。処理濃度は、0, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 μM とした。処理後、無核では 7 日後に、有核では 12 日後に果頂部と赤道部から果皮ディスクを採取し、果皮ディスクのアントシアニンを 50% 酢酸で抽出した。抽出液の 530nm の吸光度を計測し、マルビジン 3 グルコシド当量でアントシアニン量を求めた。また、異性体である *cis*-3-hexenal の気浴処理が着色促進に及ぼす影響も有核巨峰果粒を用いて調査した。②成熟開始期の有核のマスカット・ベリーA を用いて、*trans*-2-hexenal を 2.5, 5 および 10 μM の高濃度で、1h 密閉容器中で気浴処理し、果頂部から果皮ディスクを調製し、アントシアニンを抽出し定量した。処理に適した市販紙製果樹袋の検討：国内 2 社製の紙質（紙厚）の異なる 4 種（0.7~5.9 mg/cm²）の果実袋の *trans*-2-Hexenal 遮蔽性をヤエナリの生物検定を用いて調査した。スチール製丸缶（容積 112 mL：口径 39.6 mm）に、フェルトに含浸させた *trans*-

2-hexenal(密閉容器あたり 20 μ M)を入れ、紙製袋の内面を下にし、一重および二重にして丸缶上に置き、穴あきのフェライト磁石で固定・密封した。2,700mlの密閉容器に *trans*-2-hexenal の入った丸缶を入れてヤエナリ実生に処理した。ヤエナリ実生の成長抑制の程度から袋の遮蔽性を評価した。

(3) 樹上での袋内気浴処理による着色促進：① 成熟開始期の無核巨峰と有核巨峰を用い、25%エタノールを溶媒としてキサントタンガムに *trans*-2-hexenal を包含させ、ビニール袋を被せた紙製果樹袋内で夕刻より 18h 気浴処理した。袋での気浴処理は完全密閉できないため、*in vitro* の 18 時間気浴処理で効果のみられた濃度の約 10 倍量に設定し、袋の容積（果房体積は除外）から *trans*-2-hexenal 量を補正し、袋あたり μ l 単位で設定した。なお、気浴処理後は成熟期まで無袋で管理し、成熟期に果皮のアントシアニンを抽出し、その含量を吸光度計で計測した。アントシアニン組成は高速液体クロマトグラフィーで分析した。成熟期の果汁を採取し、ポケット糖酸度計で果汁の糖酸度を調べた。② サイリシア包含体での処理効果の検証；アセトン溶媒としてサイリシアに *trans*-2-hexenal を包含させ、6.25%アセトンを放出溶媒として、有核巨峰果実の成熟開始期の果実袋に包含体を投入し、収穫期まで放置した。比較対照として、キサントタンガム包含体により同濃度の処理も行い、収穫期の果皮アントシアニン含量と果汁の糖酸度を分析した。③紙厚が 3.5, 4.4 および 5.3 mg/cm²の市販果実袋を用いて、袋あたり 0.5 および 1 μ l の *trans*-2-hexenal をサイリシア包含体で成熟開始期の有核巨峰果実に気浴処理し、処理 15 日後ならびに処理 28 日後の収穫期のアントシアニン含量を計測した。

4. 研究成果

(1) キサントタンガムおよびサイリシアとも *trans*-2-hexenal を効率よく包含することが確認された。サイリシアは細孔径にかかわらず、また調製時に用いる溶媒がエタノールでもアセトンでも効率的に *trans*-2-hexenal を包含することが確認された。サイリシアから放出させるために用いた溶媒を 6.25%アセトンとしたときのヤエナリ実生の成長抑制効果は、6.25%のアセトンを溶媒として調製したキサントタンガム包含体による抑制効果とほぼ同じであった。サイリシアから放出させるために加えるエタノール濃度を高めるとヤエナリの実生成長はより抑制された。アセトンを放出溶媒として用いた場合の方が抑制効果は小さく、溶媒の影響はアセトンの方が小さかった。*trans*-2-hexenal を包含後に約 550 日間冷凍保存したサイリシア包含体によるヤエナリ実生の成長抑制効果は、包含直後の成長抑制効果と差はなく、サイリシア包含体では、*trans*-2-hexenal の保持性が高いことが確認された。処理直前に *trans*-2-hexenal を混用する必要のあるキサントタンガムに比べ、サイリシア包含体は調製後に貯蔵が可能で、放出時に適した溶媒を加えることで使用できるため、*trans*-2-hexenal 処理を目的とした包含剤として、より利便性が高いと判断した。

(2) ① *In vitro* 密閉容器中でのキサントタンガム包含体による果粒への気浴処理は、無核および有核巨峰の 27 $^{\circ}$ C 下での果皮のアントシアニン含量を有意に増加させた。無核果粒では、処理によるアントシアニン量は、*in vitro* でも着色が進行する 20 $^{\circ}$ C でインキュベートした含量に相当した。有核巨峰では、0.5 および 0.75 μ M 処理で高いアントシアニン蓄積促進効果が見られた。*In vitro* の試験では、キサントタンガム包含体からの放出に用いるエタノール濃度が 25% の時、果皮に障害がみられる場合があり、成果(1)のヤエナリの試験結果と合わせて、これより低濃度での処理が適すると判断した。異性体である *cis*-3-hexenal は着色促進効果を示さなかった。② マスカット・ベリーA の 1h の短時間気浴処理では、高濃度ほど

果皮のアントシアニン含量は増加した。

(3) *trans*-2-hexenal によるヤエナリの実生成長抑制に対する緩和効果は紙厚が 5.3 mg/cm²の市販果実袋においてのみ確認された。*trans*-2-hexenal 無処理のヤエナリ実生重量を 100 とした時、袋での遮蔽なしでは実生重量は無処理の 74.5%であるのに対して、1 重遮蔽で 76.3%、2 重遮蔽で 80.2%であった。比較検討した市販袋の中では、遮蔽効果の高かった袋より紙厚が厚いものもあり、紙厚以外に袋に処理する撥水剤などが影響すると推察された。

(4) ①袋あたり 0.6 および 1.2 μl (約 2.5 および 5 μM 相当) の *trans*-2-hexenal を 18h 樹上において袋内で気浴すると有核巨峰の果皮アントシアニン含量は有意に増加した。一方、無核巨峰では、いずれの処理濃度でもアントシアニン含量は高い傾向が見られたが、有意な差はなかった。有核、無核果粒ともに、処理した果皮のアントシアニン組成は無処理果粒と違いはなかった。また、*trans*-2-hexenal 処理は有核、無核果粒ともに果汁糖酸度に影響しなかった。②サイリシア包含体で 1.2 μl/袋で気浴したとき、収穫期の果皮のアントシアニン含量が有意に高まった。サイリシア包含体での *trans*-2-hexenal 処理は果汁の糖酸度に影響しなかった。③In vitro のヤエナリ生物検定において *trans*-2-hexenal の遮蔽効果がみられた紙厚が 5.3 mg/cm²の袋を用いて 1 μl/袋で処理したとき、処理 15 日後においてアントシアニン含量が有意に増加した。しかしながら、収穫期においては、無処理区と有意な差は見られなかった。

<引用文献>Yamauchi Y., Kunishima M., Mizutani M. Sugimoto Y. Reactive short-chain leaf volatiles act as powerful inducers of abiotic stress-related gene expression. Scientific Reports. 5. 2014. 1-8.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 塩崎修志・日達和希・船木真由・武田大生
2. 発表標題 有袋栽培でのブドウ‘巨峰’の着色促進を目的としたtrans-2-hexenal処理方法の検討
3. 学会等名 園芸学会
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
---------------------------	-----------------------	----

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