

論文の内容の要旨

氏 名 羽山 裕子

論文題目

エチレンによるモモ果実の軟化制御に関する研究

モモには、成熟に伴う果肉の軟化特性が遺伝的に異なる幾つかのタイプが存在する。我が国の消費者は軟らかい果肉のモモを好むため、現在栽培されている主要品種は成熟に伴い急激に果肉が軟化する溶質タイプと呼ばれるモモである。溶質タイプのモモは、成熟果実の果肉が軟らかいという特性上、収穫作業や出荷後の流通過程において押し傷などがつきやすく、取り扱いの過程で商品性を失う果実の比率も高い。また、収穫後の日持ち性が極めて悪く、販売時における果実廃棄率も高い。このため、モモでは高品質な果実を安定的に供給する上で、果実の軟化制御技術の開発は極めて重要な課題となっている。

モモはクライマクテリック型果実の一つであり、成熟時には果肉の軟化とともにエチレン生成量が増加する。トマトでは、形質転換体を用いた研究によりエチレンが軟化に関与することが示されているが、モモでは形質転換体の作出が難しいこともあり、軟化に対するエチレンの直接的な関与は示されていなかった。一方、モモには成熟期になっても果肉が硬いままで収穫後もほとんど軟化しない硬肉タイプと呼ばれるモモが存在する。近年の研究により、硬肉タイプのモモは、成熟に伴うエチレン生成が遺伝的に抑制されていること、成熟果実にエチレンを処理すると溶質タイプのモモと同様に軟化が認められることが明らかにされた。硬肉タイプのモモは、処理したエチレンの影響が内生エチレンによってマスクされることがないため、その影響を容易に制御することが可能であると考えられる。

そこで、この硬肉タイプのモモを利用し、軟化に関わる遺伝子発現の面からエチレンによる果肉軟化制御機構を解明するとともに、エチレン生成阻害剤等を利用した果肉軟化制御技術の開発を目指して、本研究を実施した。

ペクチンの分解に関与するポリガラクトナーゼ (PG) およびペクチンメチルエステラーゼ (PME) 活性に及ぼすエチレンの影響

モモの成熟果実では、果肉軟化に伴い細胞壁に含まれるペクチンが大量に可溶化するとともに、ペクチンの分解に関与するendo型PG, exo型PGおよびPMEの活性が上昇することが明らかにされている。そこで、硬肉タイプのモモにおけるエチレン処理が、果肉軟化とこれらの酵素活性に及ぼす影響について調べた。

エチレンを処理しない場合、硬肉タイプのモモでは、収穫後も果肉は軟化せず、またendo型およびexo型PGの活性は低いままであった。エチレンを処理した場合には、果肉は急激に軟化し、同時にendo型およびexo型PGの活性が急激に増大した。一方、PMEは、エチレン処理の有無に関わらず一定の活性が認められたことから、エチレンによる影響は受けないものと考えられた。また、果肉軟化は、エチレン処理開始後12時間目以降に認められたが、endo型PGおよびexo型PG活性の上昇も軟化と同様にエチレン処理開始後12時間目以降に認められたことから、これらの酵素活性の増大がモモ果実の軟化において重要な役割を担っていることが示唆された。

成熟果実で発現する細胞壁代謝関連酵素遺伝子の発現に及ぼすエチレンの影響

果肉の軟化には、PGをはじめとする様々な細胞壁代謝に関与する酵素が関係していることが明らかにされている。そこで、軟化過程のモモ果実で発現する5種類の細胞壁代謝関連酵素遺伝子、endo型PG (*PpPG*)、endo型1,4-グルカナーゼ (*PpEG4*)、アラビノフラノシダーゼ・キシロシダーゼ (*PpARF/XYL*) およびペクチン酸リアーゼ (*PpPL1*, *PpPL2*) について、溶質タイプの果実の樹上での成熟過程や硬肉タイプのモモ果実における発現を解析した。その結果、これらの遺伝子は、大きく2つのグループに分けられた。一つは、樹上において成熟期の前半に発現量が増加し、そのまま発現が継続するグループで、本グループの遺伝子は硬肉タイプのモモでも発現が認められたことから、エチレン非依存的に発現するか、非常に微量なエチレンによって制御されていると考えられた。他方は、樹上では成熟後期のやや過熟な果実で急激に発現量が増加するグループで、硬肉タイプのモモではほとんど発現が認められなかったことから、エチレンによって発現が誘導されると考えられた。

果肉軟化に関与するエクспанシン遺伝子の解析

エクспанシンは、オーキシンによって促進される細胞伸長、いわゆる酸成長において重要な役割を果たすタンパク質と考えられてきたが、近年の研究によりトマト果実の軟化にも関与することが明らかにされた。そこで、モモの成熟果実で発現するエクспанシン遺伝子を3種類 (*PpExp1*~3) 単離し、果肉軟化との関係を解析した。はじめに、溶質タイプのモモと硬肉タイプのモモについて、成熟果実の果肉におけるエクспанシン遺伝子の発現パターンを比較した。その結果、*PpExp1*および*PpExp2*は両タイプの果肉で発現していたが、*PpExp3*は溶質タイプの果肉でのみ強く発現し、硬肉タイプの果肉では発現が顕著に抑制されていた。このことから、モモでは、*PpExp3*が収穫後の急激な軟化に関与している可能性が示唆された。一方、トマトの軟化に関与するエクспанシン (*LeExp1*) の抗体を用いてウエスタンブロット解析を行ったところ、エクспанシンタンパク質の蓄積量は、両タイプの果実で差異が認められなかったことから、軟化はエクспанシンタンパク質の蓄積のみでは進行しないことが明らかとなった。

エチレンの処理条件が果肉軟化並びに軟化関連遺伝子の発現に及ぼす影響

これまでの研究により、エチレンにより引き起こされる成熟後期の急激な軟化においては、*PpPG*、*PpARF/XYL*および*PpExp3*が重要な役割を持つと考えられた。そこで、エチレンが果肉軟化およびこれらの発現に及ぼす影響を詳細に検討するため、硬肉タイプのモモを供試し、エチレンの処理濃度 ($0.1 \mu\text{l l}^{-1}$, $1 \mu\text{l l}^{-1}$, $10 \mu\text{l l}^{-1}$, $100 \mu\text{l l}^{-1}$) および軟化途中におけるエチレン処理停止の影響を解析した。その結果、いずれの処理濃度においても果肉は軟化したが、軟化の速度はエチレン濃度に依存しており、濃度が高いほど速かった。また、エチレン処理を停止すると、処理停止後12~24時間で軟化が顕著に抑制されたことから、軟化が進行するにはエチレンの存在が不可欠であることが明らかになった。一方、*PpPG*、*PpARF/XYL*および*PpExp3*の発現量は、エチレン処理開始後12時間以内に増加し、処理停止後12時間以内に減少したことから、これらの遺伝子の発現はエチレンによって制御されていることが明らかになった。特に、*PpPG*の発現量は処理するエチレン濃度が高いほど多く、発現量と軟化速度との間には正の相関が認められた。これらのことから、エチレンはこれらの遺伝子の発現を制御することにより果肉軟化を促進する可能性が示唆された。

エチレン生成阻害剤および作用阻害剤処理による軟化抑制技術の開発

モモ果実における成熟後期の急激な軟化はエチレンによって引き起こされることから、エチレンの生成または作用を制御することにより抑制できるものと考えられた。そこで、

エチレン生成阻害剤であるアミノエトキシビニルグリシン (AVG) とエチレン作用阻害剤である 1-メチルシクロプロペン (1-MCP) の処理が溶質タイプのモモにおける果肉軟化に及ぼす影響を検討した。その結果、AVGの単用処理では、果実のエチレン生成量は顕著に抑制されたが、収穫後の急激な軟化が抑制されなかった。1-MCPの単用処理では、収穫後1日目においては軟化抑制効果が認められたが、その後は軟化が抑制されなかった。一方、両剤を併用処理すると、軟化が顕著に抑制され、収穫2週間後においても10 N以上の果肉硬度が維持された。

硬肉モモを活用した軟化制御技術の開発

硬肉タイプのモモは、収穫・流通過程における取り扱いが容易であるが、軟らかいモモが好まれる我が国における商品性は低い。そこで、人為的なエチレン処理により果肉を適度に軟化させる方法を検討した。これまでの研究により、果肉軟化はエチレンの存在下でのみ進行するため、硬肉タイプのモモを食べ頃の硬度まで軟化させるには、2~3日間の継続的なエチレン処理が必要と考えられた。バナナを追熟する際は密閉空間内でエチレンを暴露処理するが、硬肉タイプのモモをこのような長時間密閉すると炭酸ガス障害を起こす。このため、適度なガス透過性を持つ出荷用段ボール箱に、エチレンの発生量と発生期間を改変したキウイフルーツ追熟用エチレン発生剤とともに果実を梱包することにより硬肉モモの果実を簡便に軟化させる方法を開発した。

以上要するに、モモ果実の軟化のうち、成熟後期に見られる急激な軟化が進行するには、継続的にエチレンが存在することが必要であり、また軟化の進行速度はエチレンの濃度に依存することを明らかにした。また、endo型PG (*PpPG*)、アラビノフラノシダーゼ・キシロシダーゼ (*PpARF/XYL*) およびエクспанシン (*PpExp3*) の遺伝子発現は、エチレンによって制御されていることを明らかにした。さらに、溶質タイプのモモにおける果肉軟化は、エチレン作用性阻害剤 (1-MCP) とエチレン生成阻害剤 (AVG) の併用処理により抑制可能であること、また硬肉タイプのモモは、適度なガス透過性を持つ出荷用段ボール箱とエチレン発生剤を組み合わせることにより簡便に軟化させられることを明らかにした。