そ菜類の低温耐性についてのアレニウス プロットによる解析

泉 秀実*・辰巳 保夫**・邨田 卓夫***・吉田 保治*

Chilling Sensitivity of Several Vegetables by Means of Arrhenius Equation

Hidemi IZUMI*, Yasuo TATSUMI**, Takao MURATA*** and Yasuji YOSHIDA*

Summary

Chilling sensitivity of vegetables was investigated by means of Arrhenius equation of respiratory rate of whole and tissue slices or plugs, dehydrogenase activity of tissue slices and rate of potassium ion leakage from tissue slices.

1) Arrhenius plots of respiratory rate of chilling-sensitive vegetables i. e. cucumber, eggplant and winter squash fruits, snap beans and sweet potato roots showed break points at the critical temperatures ranging from 6.7°C to 10°C. These break points corresponded approximately with the critical temperatures for chilling injury of these vegetables. The Arrhenius plots showed different shapes for different species and cultivars of vegetables. Arrhenius plot of respiratory rate of potato tubers which is chilling-insensitive also showed a break point at nearly 10°C, giving a different shape of Arrhenius plot from those of chilling-sensitive vegetables.

2) Break points were observed at the critical temperatures in the Arrhenius plots of respiratory rate of tissue slices or plugs of chilling-sensitive vegetables i. e. cucumber and tomato (immature and ripe) fruits. Temperatures of break point corresponded approximately with the critical temperatures for chilling injury of these vegetables. The different shapes of Arrhenius plots were observed in the case of cucumber and tomato fruits. On the other hand Arrhenius plot of respiratory rate of tissue plugs of carrots (chilling-insensitive) showed a linear line, but that of radish roots (chilling-insensitive) showed a break point at a chilling temperature.

3) Arrhenius plots of dehydrogenase activity in tissue slices of sweet potato roots and potato tubers measured with the TTC reagent showed break points at nearly 10°C. Arrhenius plot of dehydrogenase activity of potato tubers showed a marked change in the activity at the critical temperature in spite of chilling-insensitive.

4) Arrhenius plots of rate of potassium ion leakage from tissue slices of chilling-sensitive vegetables i. e. cucumber, eggplant, tomato and winter squash fruits, snap beans and sweet potato roots showed break points at chilling temperatures ranging from 6.7°C to 12.5°C. These temperatures at break corresponded approximately with the

*近畿大学附属農場 (〒643 和歌山県有田郡湯浅町湯浅)

**宮崎大学農学部 (〒889-21 宮崎市熊野7710)

***静岡大学農学部 (〒422 静岡市大谷836)

*Experimental Farm, Kinki University (Yuasa-cho, Wakayama, 643, JAPAN)

**Faculty of Agriculture, Miyazaki University (7710 Kumano, Miyazaki-shi, 889-21, JAPAN)

***Faculty of Agriculture, Shizuoka University (836 Ohya, Shizuoka-shi, 422, JAPAN)

critical temperatures for chilling injury except winter squash fruit. Higher rates of potassium ion leakage were observed at lower temperatures below the break point. Arrhenius plots of rate of potassium ion leakage from tissue slices of potato tubers and radish roots (chilling-insensitive) showed break points at relatively high temperatures, and that of carrot roots (chilling-insensitive) showed a break point at a chilling temperature.

(Received Feb. 4, 1987)

緒 言

青果物の輸送、貯蔵にコールドチェーンシステムが導入され、低温流通が普及し始めている。しかし、そ菜類の中には低温耐性が弱く、5～15℃で低温障害を受け易いもの^{1),2)}がかなりあり、低温流通過程で問題になる。コールドチェーンを十分普及させるためには、低温障害の発生温度を正確に調査することが極めて重要な事である。これら低温障害の発生温度と発生機構を解明する手段として、アレニウス式による解析がよく利用される。現在までに、種々の酵素活性^{3)~5)}、呼吸⁶⁾およびK⁺漏出速度^{6)~8)}と温度との関係についての報告がみられるが、アレニウスプロットの結果と低温耐性との関係についてはなお議論があり、結論は必ずしも一致していない。

本研究では、数種そ菜類について、種々の温度下での無傷そ菜の呼吸、切断組織の呼吸量および脱水素酵素活性、組織切片からのK⁺漏出速度を測定してアレニウス式で解析し、折れ曲がり点(break点)の有無やこれらbreakと低温耐性の強弱との関係について検討した。

材料および方法

供試そ菜はTable 1に示す10種類で、市販品のダイコ

ン、ニンジンを除き、静岡大学附属農場、圃場および近郊農家で栽培されたものを通常の収穫熟度で供試した。

トマトについては、mature green stage と dark pink stage の果実を用いた。

無傷そ菜の呼吸量の測定は、密閉式測定法で、キュウリ、ナス、サヤインゲン、セイヨウカボチャ、ニホンカボチャ、サツマイモ、ジャガイモについて行った。それぞれのそ菜を1～30℃の間8温度区に2日間置いた後、一定時間内に呼出するCO₂をガスクロマトグラフで測定した。なお、1区当たりのそ菜の個体数は、キュウリが3、ナスが2、サヤインゲンが5、セイヨウカボチャ、ニホンカボチャ、サツマイモが1、ジャガイモが3で、ジャガイモの4反復以外は2反復実験を行った。

切断組織の呼吸量の測定も密閉式測定法で、原則として入手後20℃に1日間置いた後サンプリングした。測定したそ菜類の内、キュウリ、ニンジンは ϕ 4mm×3cmのプラグ5本を、トマトは ϕ 1cmの中果皮のディスク5個を、ダイコンは ϕ 7mm×3cmのプラグ5本をそれぞれ50mlの三角フラスコに入れ、1～30℃の間8温度区に数時間置いた後、無傷そ菜の場合と同様ガスクロマトグラフで測定した。

脱水素酵素活性(TTC反応)は、 ϕ 7mm×2mmのサツマイモ塊根、ジャガイモ塊茎ディスク10個を0.6%

Table 1 Materials and sample sizes used for measurement of potassium ion leakage from tissue slices

Vegetables	Cultivar	Average weight	Tissue slices	
			Size	No.
Cucumber	Horai	90.1g	ϕ 4 mm × 5 mm ,	15discs
Eggplant	Kokuyo	82.0	ϕ 7 × 3 ,	10
Tomato	Beiju	202.3	ϕ 7 × Thickness of the mesocarp,	10
Shap bean	Master piece	7.6	ϕ 7 × Thickness of the pod,	15
Winter squash	Ebisu	1081.0	ϕ 7 × 3 ,	10
<i>C. maxima</i>				
	Yakko	860.4	Unmeasured	
Winter squash	Kogiku	706.2	ϕ 7 × 3 ,	10
<i>C. moschata</i>				
Sweet potato	Kokei No. 14	250.7	ϕ 7 × 3 ,	10
Potato	MayQueen	121.2	ϕ 7 × 3 ,	10
Carrot	Unknown	120.5	ϕ 4 × 5 ,	15
Radish	Unknown	568.5	ϕ 7 × 3 ,	10

Triphenyltetrazolium chloride 溶液10mL 中に入れ、1～30℃の間9温度区で20時間反応させた後、フォルマザンを熱エタノール抽出し、ろ過した溶液を530nmの吸光度で比色し測定した⁹⁾。各温度区で生成されたフォルマザン量は、30℃で生成されたフォルマザン量の百分率で表した。またサンプリングは、サツマイモではキュアリングの後、ジャガイモでは収穫後20℃に1日置いた後行つた。

組織切片からのK⁺漏出速度は、Table 1 に示したそれぞれのディスクを30mLの脱塩水中に入れ、1～30℃の間の9温度区で2時間に漏出するK⁺量と、15分間煮沸した後のTotal K⁺量を原子吸光度計で測定し、百分率で表した。これらの場合もサンプリングは、原則として20℃に1日放置した後行つた。

以上の組織切片を使った実験は、材料3～10個体を用いて、ジャガイモは6反復それ以外は3反復行つた。

これら無傷そ菜の呼吸、組織切片の呼吸および脱水素酵素活性、組織切片からのK⁺漏出速度と温度との関係をアレニウス式によって解析した。

結 果

1. 無傷そ菜の呼吸のアレニウスプロットについて

低温感受性のキュウリ、ナス、サヤインゲン、セイヨ

ウカボチャ‘エビス’・‘ヤッコ’、ニホンカボチャおよびサツマイモと低温耐性が比較的強いとされるジャガイモの無傷そ菜の呼吸のアレニウスプロットをFig. 1 に示した。

キュウリでは、10～30℃の温度範囲内で、呼吸量は温度の低下に伴って小さくなるが、7.7℃以下ではむしろ増大し、アレニウスプロットにbreakがみられた。ナスでは、1～30℃の温度範囲内で、低温呼吸量は小さい傾向を示したが、9.1℃にbreakがみられ、9.1℃以下では呼吸量の低下が小さくなり、呼吸系の代謝の変化が推測された。

次にサヤインゲンは、9.5℃付近にbreakが認められたが、キュウリ、ナスの場合とは異なり、9.5℃以下では呼吸量が急減し活性化エネルギーが増大した。

この様なbreak温度以下での活性化エネルギーの増大現象は、セイヨウカボチャ‘エビス’・‘ヤッコ’、ニホンカボチャ、サツマイモのアレニウスプロットでも認められ、break温度は‘ヤッコ’の6.7℃を除き、いずれも10℃付近であった。この内、セイヨウカボチャ‘ヤッコ’とサツマイモがゆるやかに折れ曲がるのに対し、セイヨウカボチャ‘エビス’、ニホンカボチャはサヤインゲンと同様に折れ曲がり角度がより鋭かった。これら折れ曲がり方の相違は、0～10℃、10～20℃、20～30℃の各

Fig. 1 Arrhenius plots of respiratory rate of several vegetables.

温度段階での Q_{10} 値の差に表れている。

Table 2 Q_{10} Values of several vegetables ranging from 0°C to 30°C

Vegetables	Q_{10} Values		
	0~10°C	10~20°C	20~30°C
Snap bean	3.7	2.0	1.9
Winter squash 'Ebusi'	8.6	1.7	1.7
Winter squash 'Yakko'	2.8	2.3	2.1
Winter squash 'Kogiku'	3.6	1.7	1.6
Sweet potato	3.4	2.5	2.4

Table 2 に示した様に、10°C以下と10°C以上の温度範囲での Q_{10} 値の差は、そ菜類の種類、品種により異なった。セイヨウカボチャ‘ヤッコ’とサツマイモはその差が比較的小さいのに対し、サヤインゲン、セイヨウカボチャ‘エビス’、ニホンカボチャでは大きく、特にセイヨウカボチャ‘エビス’では0~10°Cの Q_{10} 値が8.6に対しそれ以上の温度段階では1.7で、その差が著しかった。

前述の様に、低温感受性のそ菜類の呼吸のアレニウスプロットすべてに低温で break がみられたことから、これらのそ菜類は低温で呼吸に変曲がみられ、break 温度の上下で異なった呼吸生理を示すことを示唆する。

またセイヨウカボチャのアレニウスプロットは、個体差によるばらつきがプロットに表れた。

一方、低温耐性が比較的強いとされるジャガイモの呼吸のアレニウスプロットは、低温感受性のそ菜類にみられた break の形とは異なる傾向を示したが、ジャガイモの場合も10°C付近に不連続点がみられた。

2. 切断組織の呼吸のアレニウスプロットについて

Fig. 2にキュウリ果肉、ニンジン、ダイコン根部プラグと mature green トマト、dark pink トマト中果皮ディスクの呼吸のアレニウスプロットを示した。キュウリ果肉プラグは、6.7°C でゆるやかな break がみられ、break 温度以下では呼吸量の低下の割合が少なくなった。

無傷の場合 (Fig. 1) と break 温度はほぼ似ているが、break 温度以下での呼吸量の顕著な増大はみられず、その点では異なった結果を示した。組織切片の呼吸には、wound respiration が関与しており、このため無傷の場合とは異なった傾向を示すものと推察した。

トマト中果皮ディスクでは、mature green トマト、dark pink トマト共直線に break がみられ、break 温

Fig. 2 Arrhenius plots of respiratory rate of plugs or discs prepared from several vegetables.

度は、前者が12.5°C、後者が10.3°Cであった。前者は、12.5°C以下では急速に呼吸量が落ち込み活性化エネルギーが増大するのに対し、後者は、10.3°C以下で呼吸量の低下の割合が少なくなり、同じトマトでも熟度の差によってアレニウスプロットの傾向、break 温度に差異がみられた。

一方、低温耐性が強いニンジンの場合、1~30°Cの温度範囲内では、break はみられず直線となった。これに対し同じ耐性の強いダイコンでは、5°Cに break がみられた。この場合、mature green トマトと同様で、break 温度以下では活性化エネルギーは増大する傾向を示した。

この様に、ニンジンを除いたキュウリ、mature green トマト、dark pink トマト、ダイコンの切断組織の呼吸のアレニウスプロットに break が認められ、このことは無傷そ菜の場合と同様、break 温度を境に呼吸系の代謝速度の変化を示唆している。

3. 組織切片の脱水素酵素活性のアレニウスプロットについて

脱水素酵素活性のアレニウスプロットが、そ菜類の低温耐性に関連するのかどうかを知るために、1~30°Cの

Fig. 3 Arrhenius plots of rate of triphenylformazan formation from triphenyltetrazolium chloride of discs prepared from sweet potato roots (Left) and potato tubers (Right).

温度範囲におけるサツマイモ塊根、ジャガイモ塊茎ディスクのTTCによるフォルマザン生成速度を測定し、アレニウス式で解析したのが Fig. 3 である。サツマイモは、10°Cに break がみられ折れ曲がり、10°C以下では脱水素酵素活性の低下の割合が少なくなった。

一方、ジャガイモもサツマイモの場合とは break の形は異なるが、10°C付近に不連続点があり、やはり10°Cを境に脱水素酵素活性の変曲が認められた。

4. 組織切片からの K⁺ 漏出速度のアレニウスプロットについて

Fig. 4 に、Table 1 に示したそ菜類について、組織切

片からの K⁺ 漏出速度の 1~30°C の温度範囲内のアレニウスプロットを示した。

低温感受性のキュウリの K⁺ 漏出速度は、10~30°C の範囲では温度の低下に伴って小さくなるが、6.7°C 以下ではむしろ漏出速度は増大しプロットに明確な break がみられた。このことは、K⁺ 漏出が単なる濃度勾配による拡散現象ではなく、膜によって制御を受けており、break 温度以下で膜に変化が起り膜の透過性が増大したことを示唆している。

このような傾向は、他にナス、サヤインゲン、サツマイモおよび低温耐性の強いジャガイモ、ニンジンでも認められ、break 温度はそれぞれ 9.0°C、7.1°C、8.0°C、18.5°C および 10.0°C であった。

また、低温で顕著な K⁺ 漏出速度の増大はみられないものの、低温で break が認められ、break 温度以下では漏出速度の低下の割合が減少したものには、mature green トマト (break 温度: 12.5°C)、dark pink トマト (7.1°C)、セイヨウカボチャ 'エビス'、ニホンカボチャ (12.5°C) およびダイコン (19.0°C) があげられる。

これらの内、ジャガイモ、ニンジンおよびダイコンは低温耐性が強いにもかかわらず break を示した。しかもジャガイモとダイコンでは break の温度は高く、ジャガイモが break 温度以下でむしろ K⁺ 漏出速度が増加しているのに対し、ダイコンでは 1~15°C の範囲で K⁺

Fig. 4 Arrhenius plots of rate of K⁺ leakage from discs prepared from several vegetables.

漏出速度はほとんど変わらず、活性化エネルギーはほぼ 0 に近かった。

考 察

青果物の収穫後の成熟、追熟、老化に至るまでの生理は、酵素群の反応による系であり温度依存性を示すはずである。一般に、化学反応の速度定数 k と絶対温度 T との間には、 $\ln k = -\frac{E}{RT} + C$ となる関係があることが Arrhenius によって知られている。そこで、数種のそ菜類を用いて呼吸と温度との関係、脱水素酵素活性と温度との関係、膜の透過性と温度との関係をアレニウス式に従って解析した。

Fig. 1, 2 に示した様に、呼吸のアレニウスプロットでは、低温感受性のそ菜類すべてに break がみられ、いずれの場合も break 温度を境に活性化エネルギーが変化し、この温度の上下での呼吸の量的、質的变化を示唆した。これらの break 温度は、低温障害発生の臨界温度^{11,12)} にほぼ近いことが判った。ただ break 温度での直線の折れ方については、そ菜類の種類によりまた無傷の場合と切断組織の場合で、多少の違いがみられた。

この様な傾向は、Purvis¹⁰⁾や邨田ら¹¹⁾が柑橘類の果皮組織で報告している。Purvis は、低温感受性のマーシュグレープフルーツの呼吸量を測定しアレニウス式で解析したところ、 O_2 吸収、 CO_2 排出量共 12℃ に break がみられ、break 温度以下では呼吸量の低下の割合が小さくなると報告した¹⁰⁾。

また邨田らは、オレンジとハッサクの呼吸のアレニウスプロットにおいて低温で break がみられることを示したが、全果では break 温度以下で活性化エネルギーが増大するのに対し、果皮組織切片ではその逆で呼吸量の低下の割合が小さくなることを見出した¹¹⁾。

本研究の結果は、これらの場合と同様、呼吸系の代謝経路あるいは代謝速度の変化によると考えられるが、さらに切断組織の場合、無傷そ菜に比べ O_2 分圧が高いことや切断することによりエチレン生成が誘導されることなど、外的な条件についても考慮しなければならないであろう。

一方、低温耐性が強いニンジンでは break をもたない一本の直線になり、Lyons ら³⁾ が、カブ、ジャガイモ、カリフラワーのミトコンドリアのコハク酸の酸化活性のアレニウスプロットで示したものと同様の傾向を示した。これに対し、同じ低温耐性のジャガイモ、ダイコ

ンでは低温に break がみられ、ジャガイモにおいてはさらに脱水素酵素活性のアレニウスプロット (Fig. 3) でも同様な不連続点を示し、低温下での呼吸代謝に変曲があることを示唆した。

以上の様に、ジャガイモ、ダイコンを除いたそ菜類に関しては、Lyons らの提唱した phase transition theory¹²⁾ を支持する結果を得た。ただ、ジャガイモについては基本的には低温耐性に分類されるものの、呼吸の異常、糖の蓄積¹³⁾ が報告されているので、これらの break はその表れといえるかもしれない。

また、組織切片からの K^+ 漏出速度のアレニウスプロット (Fig. 4) においても、低温感受性のそ菜類では低温障害の臨界温度付近に break がみられ、break 温度以下では K^+ 漏出速度が増大することから、これらの現象は膜脂質の phase transition の一つの表れであると推察した。これら低温感受性のそ菜類の膜変性については、ウリ科果実についての報告^{6),8)} とほぼ一致した。

これに対し、低温耐性のジャガイモ、ニンジン、ダイコンでも break はみられたが、ジャガイモ、ダイコンについては他のそ菜類と異なり高温で break がみられた。低温耐性が強いといわれるそ菜類の組織切片からの K^+ 漏出速度のアレニウスプロットが折れる例は、ニンジン、タマネギで報告されているが⁷⁾、高温で break を示したジャガイモとダイコンのような例は今までに報告がなく、ニンジンと合わせて低温障害が発生しないこれらのそ菜類にみられる break が、どのような生理現象を反映しているのか今後興味をもたれるところである。

上記の様に、低温感受性のそ菜類のアレニウスプロットにみられた break 温度は、いずれもそれぞれの低温障害発生温度に近く、例えばキュウリ (呼吸: 7.7℃, K^+ 漏出速度: 6.7℃), サヤインゲン (9.5℃, 7.1℃), mature green トマト (12.5℃, 12.5℃), dark pink トマト (10.3℃, 7.1℃) では、break 温度と障害発生温度との差が 0~1℃ の範囲となった。また、ナス (9.1℃, 9.0℃) とサツマイモ (10.0℃, 8.0℃) では、その温度差は 1~2℃ の範囲となり、西洋カボチャ‘エビス’ (10.0℃, 12.5℃)・‘ヤッコ’ (6.7℃, 12.5℃) およびニホンカボチャ (10.0℃, 12.5℃) では 2.5℃ であった。

これらのアレニウスプロットにみられる break の温度が低温障害発生温度と類似していることは、そ菜類の障害発生温度を推定するのにアレニウスプロットによる解析が有効であることを示している。しかし、低温耐性の

そ菜類にも break がみられる場合があるので、輸送、貯蔵温度の決定にはアレニウス式による解析からだけではなく、総合的な観察を含めた検討が必要であると思われる。

摘 要

数種そ菜類について、種々の温度下での呼吸量、脱水素酵素活性および組織切片からの K^+ 漏出速度をアレニウス式で解析し、低温耐性の強弱とこれらのアレニウスプロットとの関係について考察した。

1) 低温感受性のキュウリ、ナス、サヤインゲン、セイヨウカボチャ、ニホンカボチャおよびサツマイモの無傷そ菜の呼吸のアレニウスプロットには、すべて6.7～10℃の低温で break がみられた。これらの break 温度は、いずれも低温障害発生の臨界温度にほぼ近かった。アレニウスプロットの形は、そ菜類の種類、品種により異なった。

一方、低温耐性が強いとされるジャガイモの呼吸のアレニウスプロットにも、低温感受性のものとは形が異なるが、10℃付近に break がみられた。

2) 低温感受性のキュウリ、トマト(未熟果、熟果)の組織切片の呼吸のアレニウスプロットはいずれも低温で break を示し、break 温度は低温障害発生の臨界温度にほぼ近かった。アレニウスプロットの形はそれぞれ異なった。一方、低温耐性のニンジン、ダイコンの組織切片の呼吸のアレニウスプロットは、ニンジンが一本の直線になるのに対し、ダイコンでは低温で break がみられた。

3) サツマイモとジャガイモの組織切片の脱水素酵素活性のアレニウスプロットは、いずれも10℃付近に break がみられた。break の形は異なるが、両者共低温下での脱水素酵素活性に変曲を示した。

4) 低温感受性のキュウリ、ナス、サヤインゲン、トマト、セイヨウカボチャ、ニホンカボチャおよびサツマイモの組織切片からの K^+ 漏出速度のアレニウスプロットは、すべて6.7～12.5℃の低温で break がみられた。break 温度は、カボチャでは低温障害の臨界温度より2～3℃高かったが、それ以外はすべて低温障害発生の温度とほぼ一致した。

いずれのそ菜類も break 温度以下では、break より上の温度範囲のものと比較して K^+ 漏出量の割合が増加した。一方、低温耐性が強いとされるジャガイモ(18.5℃)、ニンジン(10℃)、ダイコン(19℃)の組織切片からの K^+ 漏出速度のアレニウスプロットにも break が認められた。

引用文献

- 1) 邨田卓夫：食品と低温，6，42 (1980)
- 2) KADER, A. A., LYONS, J. M. and MORRIS, L. L.: *Hort Science*, 9, 523 (1974)
- 3) LYONS, J. M. and RAISON, J. K.: *Plant Physiol.*, 45, 386 (1970)
- 4) YAMAKI, S. and URITANI, I.: *Plant Cell Physiol.*, 15, 669 (1974)
- 5) RAISON, J. K. and CHAPMAN, E. A.: *Aust. J. Plant Physiol.*, 3, 291 (1976)
- 6) 辰巳保夫・邨田卓夫：園学雑，47，105 (1978)
- 7) MURATA, T. and TATSUMI, Y.: *Low Temperature Stress in Crop Plants*. Ed. LYONS, J. M., GRAHAM, D. and RAISON, J. K., p. 141, Academic Press (1979)
- 8) 辰巳保夫・邨田卓夫：園学雑，50，108 (1981)
- 9) STEPONKUS, P. L. and LANPHEAR, F. O.: *Plant Physiol.*, 42, 1423 (1967)
- 10) PURVIS, A. C.: *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 105, 209 (1980)
- 11) 邨田卓夫・辰巳保夫・岩本光弘・西本敏治：静岡大学農学部研究報告，30，23 (1980)
- 12) LYONS, J. M.: *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 24, 445 (1973)
- 13) 小餅昭二・佐藤正人：農業および園芸，56，150 (1981)

(昭和62年2月4日受理)