低濃度酸素環境がモモとバナナ果実の エチレン生成に及ぼす影響

久保康隆*・平田 治**・稲葉昭次*・中村怜之輔*

Effects of Reduced O₂ Atmosphere on C₂H₄ Biosynthesis in Peach and Banana Fruit.

KUBO Yasutaka*, HIRATA Osamu**, INABA Akitsugu* and NAKAMURA Reinosuke*

**Faculty of Agriculture, Okayama University,
Tsushimanaka Okayama 700*

The rates of C₂H₄ production in peach and banana fruits stored under 3 % O₂ decreased by approximately 60% and 50% respectively compared to those stored in air. 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) oxidase activity in both fruits did not change during low O₂ and subsequent air storage, when measured in the disks incubated under air condition. Low O₂ treatment increased slightly ACC contents in both fruits. However, the increase in ACC content in peaches was much less compared to the calculated increase based on the result of the inhibition in C₂H₄ production, on the assumption that low O₂ atmosphere would not affect the conversion of S-adenosylmethionine (SAM) to ACC. When ACC oxidase activity in excised flesh tissues from peach, banana, cucumber, and eggplant was measured under various O₂ concentrations, the activity was distinctly O₂-dependent. Our results suggest that inhibition of C₂H₄ production by shortterm low O₂ treatment is mainly due to inhibition of ACC oxidase activity, not due to decrease in amount of the enzyme. The inhibitory effect of low O₂ on C₂H₄ production in peach fruit might be partly due to inhibition of the conversion of SAM to ACC.

(Received Nov. 9, 1995)

低濃度酸素(低酸素)条件はCA(Controlled Atmosphere)条件を構成する重要な要素の一つであり、貯蔵環境中の最適酸素濃度の研究は青果物の種類ごとに数多くなされてきた^{1)~3)}。低酸素環境が青果物に及ぼす生理学的影響は、呼吸代謝に対する影響を中心に研究が進められており、最適酸素濃度の決定の重要な指標の一つとして限界酸素濃度が提唱されている⁴⁾。

低酸素環境は青果物のエチレン生成を抑制することが知られており、CA効果の一側面であると考えられてき

た^{5),6)}。また、BURGとBURG⁷⁾はエチレンがその作用を発揮するためには、酸素の存在が必要であることを示している。ADAMSとYANG⁸⁾は嫌気条件下で、エチレン生成が停止することを利用して、エチレンの直接の前駆体が1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC)であることを発見した。DONG⁹⁾らによって明らかにされたエチレン生成の最終段階は下式に示すように、酸素が直接の酸化剤として働き、ACC酸化酵素が触媒する過程である。

* 岡山大学農学部 (〒700 岡山市津島中1-1-1)

** 現在：積水化学工業(株)

$\text{ACC} + \text{O}_2 + \text{Ascorbate} \rightarrow \text{C}_2\text{H}_4 + \text{CO}_2 + \text{HCN} + \text{Dehydroascorbate} + 2\text{H}_2\text{O}$

反応式からも酸素の存在なしにはエチレンが生成しないことは明らかであるが、CA貯蔵などで用いられる低酸素環境がACC→エチレンの転換をどの程度抑制するかについては十分には調査されていない。また、エチレン生合成におけるもう一つの律速段階であるs-adenosylmethionine (SAM) →ACCの過程への低酸素環境の影響についての報告も少ない。CA貯蔵で推奨されている酸素濃度は、青果物の種類、品種、収穫時期(熟度)、栽培条件、貯蔵温度等によって異なるが、1～5%の範囲に入る場合が多い^{10),11)}。本研究では、その中間である3%酸素を選び、エチレン生合成系の挙動についてモモとバナナを中心に検討した。

実験材料および方法

1. 低酸素環境がエチレン生合成系に及ぼす影響

モモ「清水白桃」(慣行収穫熟度)を岡山大学農学部附属農場から、バナナ「ジャイアント・キャベンディッシュ」(グリーンチップ段階)を岡山市内の青果卸売業者から入手した。約1kgの果実をガス代謝自動計測装置¹²⁾の呼

吸室(5.5L容、暗条件)に入れ、所定のガスを通気し、酸素吸収とエチレン排出を連続的に測定した。通気ガスは最初の12時間は空気、その後24時間は3%酸素+97%窒素混合ガスとし、さらにその後の24時間は再び空気とした。対照区には一貫して空気を通気した。ガス流量は100mL/min、温度は25℃に設定した。呼吸およびエチレン生成測定用以外の呼吸室(容器)から、低酸素処理開始直前、処理12時間後、処理終了時、低酸素処理解除後6時間後と22時間後の計5回、果実の一部を取り出し酵素活性とACC含量を測定した。2.5g果肉切片(5mm角)に2mLの5mM ACC (pH7.4 50mMリン酸緩衝液、1mMシクロヘキシミド加用)を1分間減圧浸透させた。これを30mL容栓付き三角フラスコに入れ、空気下で1時間インキュベート(30℃)した。ガスクロマトグラフ(FID検出器、活性アルミナカラム)を用いて、生成したエチレンを測定することからACC酸化酵素活性を求めた。ACC含量は、果肉の80%エタノール抽出物のカチオン画分についてLIZADAとYANGの方法¹³⁾に従って測定した。

2. 青果物のACC酸化酵素活性の酸素濃度依存性

モモ、バナナ、キュウリおよびナスを供試した。前述

Fig.1 Effects of 3%O₂ atmosphere on O₂ uptake and C₂H₄ production in peaches and bananas at 25°C.

Vertical bars are the standard error. n = 3

Fig. 2 Effects of 3%O₂ atmosphere on ACC oxidase activity in peaches and bananas at 25°C.

Fig. 3 Effects of 3%O₂ atmosphere on ACC contents in peaches and bananas at 25°C.

Fig. 4 The O₂ concentration profile of ACC oxidase activity in excised tissues from peaches, bananas, cucumber, and eggplant.

と同様に果肉切片に5 mM ACCを減圧浸透させた後、酸素濃度を0%, 1%, 3%, 5%, 10%, 20%, 40%, ならびに60% (バランスは窒素) に調整した30mL容栓付き三角フラスコ中で、1時間インキュベート(30°C)した。生成したエチレンを測定することで酵素活性を求めた。

実験結果

処理開始24時間目には、酸素吸収は3%酸素によって、モモでは対照区に比較して約40%、バナナでは約30%抑制され、モモでは低酸素処理を解除してもやや低いレベルで推移した (Fig. 1)。モモのエチレン生成は3%酸素処理により約40%抑制され、処理を解除すると、対照区と同じレベルにまで回復した。バナナのエチ

レン生成は3%酸素処理の初期には、強く抑制されたが、処理を継続すると抑制程度が小さくなり、処理を解除すると対照区よりもやや高い値を示した。両方の果実で、3%酸素処理によるACC酸化酵素活性の変動はみられなかった (Fig. 2)。ACC含量はモモでは3%酸素処理中および処理解除直後に対照区よりもやや高い値を示した (Fig. 3)。バナナでも3%酸素処理により、ACC含量はやや高くなる傾向がみられた。

ACC酸化酵素活性測定中の環境酸素濃度はその活性に著しい影響を与えた (Fig. 4)。調査した0~60%の酸素濃度範囲内では、モモのACC酸化酵素活性と酸素濃度はほぼ完全な比例関係を示した。バナナとキュウリでは酸素濃度40%、ナスでは10%で活性の飽和がみられた。20%酸素下での活性に対する3%酸素下での活性の割合は、モモでは約10%、バナナで約50%、キュウリで約5%、ナスでは約50%であった。

考 察

バナナおよびモモのエチレン生成は、酸素濃度の低下に伴って低下し、その変化様相は酸素吸収の場合とほぼ一致していた。同様な結果を、BURGとTHIMANN¹⁴⁾がリンゴ果肉切片について報告している。KADER¹¹⁾は、8%以下の酸素環境は果実類のエチレン生成を抑制することを介して追熟を遅らせること、障害を起こさない範囲 (約2%酸素以上) では酸素濃度が低いほどその効果が著しいことを示している。

処理開始24時間後には、3%酸素環境はモモ、バナナのエチレン生成を空気下と比較して、それぞれ約40%および50%抑制した。その際、ACC酸化酵素活性 (空気下で測定) は対照区とほとんど同じ値を示したが、ACC含量は3%酸素によりやや増加する傾向を示した。また、4種の青果物組織のACC酸化酵素活性を種々の濃度の酸素環境下で測定すると、その活性は強い酸素濃度依存性を示した。モモとバナナの3%酸素下でのACC酸化酵素活性は、空気下と比較して、それぞれ約90%および50%抑制された。これらの結果は、低酸素環境下でのエチレン生成の抑制の主因は、ACC酸化酵素の量的低下ではなく、基質の一つである酸素が不足することによる酵素活性の抑制にあることを示唆している。YIP¹⁵⁾は、酸素濃度 (0%~100%) とACC濃度 (0~100mM) を組み合わせた条件下で、数種の植物組織のACC酸化酵素活性を測定し、両対数plotを用いて解析している。それによると、ACC濃度が低い場合には、植物組織の種類にかかわらずACC酸化酵素の酸素に対するKm値は5~7%の範囲に入り、ACC濃度が高く

なるとKm値は低くなるという。今回の測定では、青果物の種類により酸素に対するACC酸化酵素活性の飽和濃度が大きく異なり、特にモモでは60%酸素下でも飽和しなかった (Km値が30%酸素以上になることを示す)。この種類間差異の要因としては、組織構造上の違いの他にそれぞれの組織のACC酸化酵素の性質が異なることも考えられる。

MAKHLOUF¹⁶⁾は、ブロッコリーを2.5%酸素下におくと、普通冷蔵に比べてエチレン生成、ACC酸化酵素活性およびACC含量のclimacteric様の増加時期が遅れ、ピーク値も低くなることを報告している。LAU¹⁷⁾もpreclimacteric段階のリンゴを2.5%酸素+1.5%炭酸ガス環境下で貯蔵し、類似の結果を得ている。一方、BLANKENSHIP¹⁸⁾は'd' Anjou'セイヨウナシを、3%酸素下で125日間貯蔵すると、内部エチレン濃度は普通冷蔵と変わらないが、ACC含量は20倍にも達することを報告している。ACCはエチレン生成の中間体であるので、SAM→ACCの転換力とACC→エチレンおよびACC→Malonylaminocyclopropane-1-carboxylic acid (MACC) の転換力のバランスによって、その含量が決定されと考えられる。MACCはend productと考えられており¹⁹⁾、低酸素環境によってMACCへの転換が急激に活性化されるとは考えにくい。低酸素環境がSAM→ACCの転換に影響を与えないと仮定すれば、ACC→エチレンの転換抑制に応じてACC含量は増加するはずである。低酸素処理前のエチレン生成に基づくSAM→ACCの転換力が維持されていると仮定すれば、3%酸素処理24時間目のACC含量は、1gあたりモモで約2nmol、バナナでは0.5nmol増加すると計算される (モモの計算例: $2\text{ nL/g/h (エチレン生成の減少分)} \times 24\text{ h} \div 22.4\text{ L} \approx 2\text{ nmol/g}$)。バナナでは測定された低酸素処理によるACCの増加量は計算値とほぼ一致していた。一方、モモでのACC増加は計算値よりもはるかに小さかったので、モモでは低酸素環境はSAM→ACCの転換をも抑制していたと推察される。

climacteric型果実は成熟時にエチレンを自己触媒的に生成していると考えられている¹⁹⁾。したがって、ACC含量が計算値よりも低いのは、低酸素によりエチレン生成が抑制され、この自己触媒的な循環が部分的に弱まるためかも知れない。

以上を総合すると、モモとバナナ果実でみられた低酸素環境下でのエチレン生成の抑制は、主としてACC酸化酵素の活性抑制 (酵素の量的低下はない) により起こるが、モモではSAM→ACC転換の抑制も部分的に関与していると考えられる。

文 献

- 1) WEICHMANN, J. In: J. WEICHMANN(ed.). Postharvest Physiology of Vegetables. Marcel Dekker, New York, p. 231 (1987)
- 2) ISENBURG, F. M. R.: *Hort. Rev.*, **1**, 338 (1979)
- 3) SMOCK, R. M.: *Hort. Rev.*, **1**, 301 (1979)
- 4) BOERSIG, M. R., KADER, A. A. and ROMANI, R. J.: *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **113**, 869 (1988)
- 5) ULRICH, R.: In: PANTASTICO, E. B. (ed.). Postharvest physiology, handling and utilization of tropical and subtropical fruits and vegetables. (AVI. Pub. Inc., Westport Connecticut) p. 187 (1975)
- 6) KADER, A. A.: *Food Technol.*, **40**, 99 (1986)
- 7) BURG, S. P. and BURG, E. A.: *Plant Physiol.*, **42**, 144 (1967)
- 8) ADAMS, D. O. and YANG, S.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**, 170 (1979)
- 9) DONG, J. R., FERNADES-MACULET, J. C. and YANG, S. F.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 9789 (1992)
- 10) 緒方邦安: 園芸食品の加工と利用 (第8版) (養賢堂), 東京. p.180, p.398 (1976)
- 11) KADER, A. A.: *Food Technol.*, **34**, 51 (1980)
- 12) INABA, A., KUBO, Y. and NAKAMURA, R.: *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **5**, 443 (1989)
- 13) LIZADA, M.C.C. and YANG, S. F.: *Anal. Biochem.*, **100**, 140 (1979)
- 14) BURG, S. P. and THIMANN, K.: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **4**, 335 (1959)
- 15) YIP, W. K., JIAO, X. Z. and YANG, S. F.: *Plant Physiol.*, **88**, 553 (1988)
- 16) MAKHLOUF, J. C., WILLEMOT, C., ARUL, F. C., CASTIGNE, F. and EMOND, J. P.: *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **144**, 955 (1989)
- 17) LAU, O. L., LIU, Y. and YANG, S. F.: *Hort-Science*, **1**, 425 (1984)
- 18) BLANKENSHIP, S. M. and RICHARDSON, D. G.: *HortScience*, **21**, 1020 (1986)
- 19) YANG, S. F. and HOFFMAN, N. E.: *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **35**, 155~189 (1984)

(平成7年11月9日受理)