タンゴール‘清見’果実のこはん症発生に伴う イオン漏出と組織構造の変化

阿部一博*・矢野昌充**・長谷川美典**¹⁾
高橋 徹*²⁾・吉村公一*³⁾・岩田 隆*

Changes of Structure and K ion Leakage Associated with Rind-oil Spot
in Tangor ‘Kiyomi’ (*Citrus sinensis* × *C. tangerina*)

ABE Kazuhiro*, YANO Masamichi**, HASEGAWA Yoshinori**¹⁾,
TAKAHASHI Toru*²⁾, YOSHIMURA Koichi*³⁾, IWATA Takashi *

*College of Agriculture, Osaka Prefecture University
Gakuen-cho, Sakai, Osaka 593

**Okitsu Branch, Fruit Tree Research Station
Okitsu-naka, Shimizu, Shizuoka 424-02

Tangor ‘Kiyomi’ (*Citrus sinensis* × *C. tangerina*) fruits were stored at 5°C for 3 months and subsequently transferred to 8°C or 20°C with/without polyethylene film packaging (LDPE-20 μm), respectively. The fruits transferred to 20°C showed more severe rind-oil spot injury than those to 8°C, and the packaging with LDPE reduced the injury both fruits stored at 20°C and 8°C. The rate of K ion leakage from the fruits showed the increasing and sharp peak at 2 days for 8°C and 5 days for 20°C after transferring. The peak of leakage for 20°C was higher than that of 8°C and the rate of leakage of packed fruit was lower than that of non-packed fruit both at 20°C and 8°C. The flavedo tissues were prepared for observation by scanning electron microscopy (SEM). The surface of sound fruit was covered by a thick, waxy, highly patterned cuticles and the stomata scattered over the surface. The SEM showed that the epidermis cells, parenchyma cells, and oil glands remained intact in the cross section of sound fruit. The pit between oil gland and partially ruptured cuticles on the surface were observed for the injured fruit showing rind-oil spot and slight discolor. The destructed parenchyma cells were observed but the epidermis cells remained intact in the cross section of the slight injured fruit. The SEM showed the severely ruptured cuticles on the surface and severely destructed parenchyma cells of the severely injured fruit. The epidermis cells remained intact in the severely injured fruit and the pit in rind-oil spot injury commenced with the destruction of parenchyma cells locating several layers inside the surface.

(Received Aug. 22, 1995)

* 大阪府立大学農学部 (〒593 堺市学園町1-1)

** 農林水産省果樹試験場興津支場 (〒424-02 静岡県清水市興津中町)

1) 現在：農林水産省食品総合研究所

2) 現在：勸東洋食品研究所

3) 現在：㈱ヤクルト本社開発部

タンゴール‘清見’ (*Citrus sinensis* × *C. tangerina*) は特有の芳香があり食味も良いため、生食のみならず加工用としても近年生産量が増加している。しかし‘清見’果実 (以下は‘清見’) は低温貯蔵中や出庫後にこはん症 (虎斑症: 以下こはん症) が発生しやすく¹⁾、障害の軽減方法について種々検討されているが^{2), 3)}、発生を完全に抑制することは困難で流通上の問題となっている。一般的には柑橘類のこはん症発生は収穫後の流通条件に影響されるばかりか栽培条件にも影響^{4)~9)}され、原因のみならず発生条件にも不明な点が多い^{6), 7), 9)~11)}。

筆者らも‘清見’のこはん症発生には包装条件や果実内のガス濃度が影響することを報告し¹⁾、さらに発生要因の一端を明らかにするための研究を続けている。本報では果皮切片からのKイオン (以下はK⁺) 漏出量ならびに組織構造の変化を調べ障害発生の一因を考察した。

実験材料および方法

1. 実験材料

農林水産省興津支場で栽培した‘清見’を供試材料とした。適期に収穫後直ちに5℃で3カ月間貯蔵し、適宜無包装もしくは包装後に8℃と20℃へ昇温し、実験に供した。

2. 実験方法

1) 包装方法 ‘清見’を包装する場合は低密度ポリエチレン袋 (180mm×130mm, 厚さ20μm: 以下PE包装) で個装した。

各実験区の1回の分析には‘清見’12個を使用した。

Fig. 1 Changes of K ion leakage from the tissue slices of ‘Kiyomi’ fruits during storage after transferring from 5℃ to 8℃ or 20℃.

8℃ { △: no packaging
▲: sealed in LDPE bag (20μm)

20℃ { ○: no packaging
●: sealed in LDPE bag (20μm)

* [leakage for 1 hrs/total soluble K ion] × 100

2) イオン漏出量 ‘清見’の花落部から果梗部にかけて幅10mmの果皮をとり、カミソリの刃でアルベド部を除去し、厚さ2mmとした。この切片を1mmにスライスし10mm×2mm×1mmの切片を調製した。なおこはん症が発生した場合には障害部が一定の割合で含まれるように切片を調製した。切片2gを0℃のイオン交換水で3回洗浄後180mlのイオン交換水とともにガラス容器に入れて20℃に置き、1時間毎に10mlのイオン漏出液を3回分取し、溶液内のK⁺濃度をフレイムフォトメーターで測定した。

24時間後に切片を加熱し、全遊離K⁺を測定し、表示は全遊離K⁺に対する最初の1時間あたりの漏出量で表した。

3) 走査電子顕微鏡観察 走査電子顕微鏡で観察するための切片はまず1/15Mリソ酸緩衝液に5%濃度で溶かしたグルタルアルデヒドで固定を行った後にさらに1.5%KMnO₄によって固定を行う二重固定を1℃で行った。切片は固定後エチルアルコール、アセトン、ならびに酢酸イソアミルアルコールで脱水し、臨界点乾燥と金蒸着を行いS-800走査型電子顕微鏡で観察を行った。切片の調製部位はFig. 2に示した。

結果および考察

1. こはん症発生に伴うK⁺漏出量の変化

低温貯蔵した‘清見’を20℃へ昇温した方が8℃へ昇温した場合よりもこはん症の発生が多く、それぞれの昇温温度では包装によってこはん症の発生を抑制できた。障害発生に対する昇温温度や包装の影響は筆者らの既報の結果¹⁾と一致した。

‘清見’の、こはん症発生に伴うK⁺漏出量の変化を、Fig. 1に示した。

8℃に昇温した場合は昇温2日に漏出量のピークがみられ、20℃への昇温の場合は昇温5日に増加のピークがみられた。両昇温区ともピークの後には減少を示し、昇温14日以降は昇温直後の漏出量とほぼ同じになった。また両昇温区ともそれぞれにおいて無包装の果実における漏出量の増加は包装果実より多かった。

昇温後のこはん症の発生は、20℃ > 8℃であり、無包装果実 > 包装果実であることから、‘清見’のこはん症の発生とK⁺漏出量の増加には関連性があるものと思われる。

低温で貯蔵したサツマイモではK⁺漏出量の増加がみられることをLIEBERMANらが報告¹²⁾し、組織からのK⁺漏出と低温障害の発生には関連性のあることが古くから示唆され、筆者らもナス果実の低温障害発生に伴う

Fig. 2 Scanning electron micrographs of flavedo in 'Kiyomi' fruits (bar=0.2mm)

- A: patterned cuticles covering the skin and stomata of sound fruit
- B: epidermis cell, parenchyma cell, and oil gland of sound fruit
- C: pit between oil gland of injured fruit showing rind - oil spot and no discolor
- D-1: partially ruptured cuticles (RUPC, rupture of cuticles) and destructed parenchyma cells (DESPC, destruction of parenchyma cells) of injured fruit showing slight rind - oil spot and discolor
- D-2: enlargement of D-1, note destructed parenchyma cells (DESPC)
- E: severely ruptured cuticles of injured fruit showing rind - oil spot and browning
- F: severely destructed parenchyma cells of injured fruit same as E

K⁺漏出量の増加を報告¹³⁾した。しかし、ナス果実では低温障害の進展に伴い漏出量は増加を続け、‘清見’のような障害発生後の漏出量の減少はみられなかった。ナスの場合は低温障害の発生する条件下では果実全体にピッチングや組織の褐変などが生じ、個体全体に低温の影響が及ぶために漏出が増加する方向に生体膜が変性した場合は漏出量の増加が続いた。しかしながら‘清見’を昇温した場合は、発生したこはん症の発生部位が果実全体に及ばないことが障害発生時にK⁺漏出量が急増するもののその後は増加しない原因のひとつと思われた。

果実・野菜の組織の変化に伴い変化しやすいペクチン物質¹⁴⁾は‘清見’の果皮にも多く含まれているが、こはん症の発生した果実において含量変化が少ないこと¹⁵⁾からもこはん症発生時には成分的変化は少ないものと思われた。

また岩田ら¹⁶⁾はナツミカンを使った研究報告においてK⁺漏出量と低温障害発生の関連性は少ないと報告し、UTHAIBUTRA¹⁷⁾も低温貯蔵したハッサク果実からの電解質の漏出が増加するものの20℃で貯蔵した果実からの漏出量も増加することを報告¹⁷⁾しており、柑橘類の種類によってこはん症と漏出量の関連性には相違があるものと思われた。

2. こはん症発生に伴う組織構造の変化

‘清見’のこはん症発生に伴う果実表面ならびに切断面の観察結果をFig. 2-A～Fに示した。

健全な‘清見’の表皮は、ほぼ平面で散在する円形の気孔が観察された(A)。その切断面では規則正しい3～6層の表皮細胞とそれに続く不定形の柔組織細胞やそれらより大型の油胞が観察された(B)。

褐変のみられない障害部の表皮は油胞部分が凸部となり油胞間が凹部となっており、クチクラ層の剥離はほとんどみられなかった(C)。

少し褐変のみられる障害部の表皮ではクチクラ層の部分的な剥離がみられ(D-1:RUPC)、切断面では油胞間の表皮から数層内部の柔組織細胞の変形が観察され(D-1, 2:DESPC)、そのことが油胞間の陥没の原因であることが明らかになった。

明らかに褐変している障害部の表皮でも油胞部分が凸部となり油胞間が凹部となっており、クチクラ層の剥離がみられたものの破壊した表皮細胞は観察されなかった(E)。同様の障害部を切断面方向から観察した表皮ではクチクラ層の剥離が明らかであったが、最外層の表皮細胞の変形は観察されず、内部の細胞の変形部分が多くなっていることが観察された(F)。

低温障害の症状として典型的な陥没を示すナス果実の

ピッチングは表皮細胞の破壊や変形によるのではなく、表皮から数層内部の柔組織細胞の変形によって引き起こされることを筆者らは報告^{18)～20)}したが、‘清見’の陥没も表皮細胞の破壊によるものではなく、表皮から数層～十数層内部の柔組織細胞の変形によるものであり、ナスの低温障害と同様に果皮における水分損失や物理的損傷などが直接の発生原因でないことが明らかとなった。

なお、宮田ら⁹⁾ならびに小川ら⁷⁾はハッサクのこはん症を顕微鏡で観察し、障害部では表皮から数層内側の細胞の変形が生じており、症状が進行するに従い変形した細胞数が増加することを報告しており、‘清見’のこはん症発生時に最初に影響を受ける細胞群がハッサクと一致することが明らかとなった。

一方、UTHAIBUTRA¹⁷⁾らはハッサク果実では貯蔵に伴うクチクラワックスの構造変化とともに油胞の亀裂を走査電子顕微鏡で観察し、牧田^{4),10)}も‘清見’の障害発生には果皮油胞中の精油の漏出が原因となると報告しているが、本研究の‘清見’では障害の進展に伴う果皮表層細胞の破壊や油胞の変形は観察されなかったことから、油胞の構造変化がこはん症発生の直接原因ではないと推察した。

要 約

本研究では‘清見’果実のこはん症発生に伴うK⁺漏出量ならびに組織構造の変化を調べた。

こはん症は8℃へ昇温するより20℃に昇温した‘清見’に顕著に現れ、ポリエチレン包装によって軽減された。

20℃へ昇温した果実のK⁺漏出量は障害発生時に急増し、増加は8℃へ昇温した場合より多かった。両昇温区とも無包装‘清見’のK⁺漏出量は包装果実の漏出量より多かった。

走査型電子顕微鏡による観察では、‘清見’のこはん症の陥没は油胞間の表皮から数層内部の柔組織細胞の変形によって引き起こされ、表皮細胞や油胞の破壊によって陥没するのではないことが明らかとなった。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり協力いただいた浅野晴代氏(現在大阪市教員)に深謝するとともに、まとめるにあたり種々有益なご助言を賜りました大阪府立大学農学部教授茶珍和雄博士に謹んで感謝の意を表します。

文 献

- 1) 阿部一博・登紅・矢野昌充・長谷川美典・岩田隆：日食低温誌, **18**, 149 (1992)
- 2) 長谷川美典・矢野昌充：園学雑, **59** (別 1), 620 (1990)
- 3) 牧田好高：農耕と園芸, **49** (5), 50 (1994)
- 4) 牧田好高：農産物流通技術研究会報, 152, 1664 (1992)
- 5) 宮田明義・河村康夫・伊藤晴充：山口農試研報, **39**, 33 (1987)
- 6) MANAGO, M.: *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **57**, 295 (1988)
- 7) 小川勝利・坂井 堅・黒川泰幸：広島果樹試研報, **5**, 17 (1979)
- 8) 泉 秀実・伊東卓爾・吉田保治：園学雑, **59** (別 2), 698 (1990)
- 9) 泉 秀実：博士学位論文 (大阪府立大学), p 143 (1991)
- 10) 牧田好高：静岡柑試研報, **22**, 13 (1986)
- 11) KANLAYANARAT, S., OOGAKI, C., and GEMMA, H.: *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **57**, 513 (1988)
- 12) LIEBERMAN, M., CRAFT, C. C., AUDIA, W. V. and WILCOX, M. S.: *Plant Physiol.*, **33**, 307 (1958)
- 13) 阿部一博・緒方邦安：園学雑, **47**, 111 (1978)
- 14) 吉岡博人：日食工誌, **39**, 733 (1992)
- 15) 阿部一博：未発表
- 16) 岩田 隆・中川勝也・緒方邦安：園学雑, **37**, 383 (1968)
- 17) UTHAIBUTRA, J. and GEMMA, H.: *J. Japan. Soc. Cold Preserva. Food.*, **17**, 58 (1992)
- 18) 阿部一博・岩田 隆・緒方邦安：園学雑, **42**, 402 (1974)
- 19) 阿部一博・緒方邦安：園学雑, **46**, 541 (1978)
- 20) 阿部一博・茶珍和雄：園学雑, **54**, 247 (1985)

(平成 7 年 8 月 22 日受理)