葱頭の貯蔵に関する研究 (第8報)

貯蔵葱頭の機能障害とその発生機構*

緒方 邦安・邨田 卓夫

(大阪府立大学農学部)

K. OGATA and T. MURATA: Studies on the storage of onions. (8)
On the functional disorder of the onion bulbs

Summary

The mechanism of functional disorder caused by treatments with MH, KCN, acetaldehyde and/or by enclosing in desiccator was studied with onion bulbs (Yellow Danvers Flat) during the storage period. The experimental results are outlined as follows;

(1) In the tissues received fungal infection and functional disorder, the accumulation of ethyl alcohol and acetaldehyde were found, and the acetaldehyde reaction with SCHIFF's agent was strongly positive in the bulbs injured severely.

(2) The total sugar content was decreasing with the advance of disorder, and the decrease of sugar content was always lower in different degrees, when sudden disorder was induced by artificial treatments above mentioned.

(3) The total content of ascorbic acid was little decreasing during the development of functional disorder, whereas *l*-ascorbic acid was oxidized to dehydroascorbic acid.

(4) With increasing degree of disorder, the increased O_2 uptake and CO_2 output were evident in the disk part, both reaching to the peak and then rapidly decreasing to an extent much lower than the normal material.

(5) The variations of the activity of catalase and peroxidase in the disk part were showing the same tendency as that of the gas exchange pointed out in (4).

(6) The acetaldehyde of certain concentration inhibited the dehydrogenase activity in disk part, in vitro as well as in vivo.

(7) Judging from the results given above, it appears that the onions stored under such environmental condition in which the dehydrogenase activity in TCA cycle was inhibited, show an accumulation of acetaldehyde in their tissues and this must be an immediate cause of functional disorder of onions in storage.

I. 緒 言

貯蔵中におけるタマネギの腐敗は、多くの場合病原菌の侵入によつて生ずることはいうまでもないが、近年 MH などの発芽抑制剤の使用に伴い必然的に惹起される所謂機能障害による場合も少くない。またこれと類似の障害が温度、ガス組成などの貯蔵条件の如何によつても、もたらされるものであることは既に報告⁽¹⁴⁾した所である。

MH による機能障害については筆者らはさきに^(10,12,13)鱗茎底盤部における呼吸の質的異常に起因するものであると推定したが、今回はこれら一連の機能障害の発生機構を究明する目的で、専ら物質代謝の面から行つた実験結果を報告する次第である。

本報告にあたり御指導と御高閲を賜つた松本、塚本両博士に対し深謝するものである。

* 本研究の要旨は 1957 年 4 月春季園芸学会に発表
1957年12月6日受理

II. 実験材料及び方法

(1) 実験材料 タマネギは 1956 年大阪府立大学農業短期大学部園場で標準栽培された泉州中生を使用した。MH 処理区は常法により収穫 2 週間前に 0.5% MH (アミン塩)に展着剤を加用し撤布処理した。密封処理区は対照区の無処理タマネギをデシケーター内に一定期間密封し障害を誘起せしめた。この場合デシケーター内は当然タマネギの呼吸によつて生ずる水分と炭酸ガスのために過湿、炭酸ガス過剰の状態を呈する。また 1 部アセトアルデヒド及びシアン酸と共に封入し、これを夫々アセトアルデヒド処理区及びシアン酸処理区とした。

(2) 実験方法

(a) 糖及びアスコルビン酸: 糖はベルトラン法により、アスコルビン酸はインドフェノール滴定法により夫々定量した⁽¹¹⁾。

(b) alcohol 及び acetaldehyde: アルコールの検出はヨード、ヨードカリを用いヨードホルムの六方晶形

結晶を生ぜしめ組織化学的に顕鏡した。アセトアルデヒドの検出は SCHIFF の試薬による呈色反応によつて組織化学的に検出し、更に分溜法により分離後呈色反応を行つた。

(c) ガス代謝: 酸素吸収量及び炭酸ガス排出量は WARBURG 検圧計を用い 30°C 下で測定した。採取部位は前報⁽¹³⁾ に準じ鱗茎の代謝生理の中心となる底盤部を用いた。

(d) 脱水素酵素: dehydrogenase の測定は THÜNBERG 管を用いて真空内で底盤部の組織中の dehydrogenase が 30°C で一定量の methylen blue を褪色するに要した時間によつて活性度を示した。

(e) catalase 及び peroxidase: catalase の作用力は底盤部組織 1g が 10 分間に分解する H_2O_2 の量によつてその活性度を測定した。また peroxidase の作用力は鱗茎切断面について 1% ピロガロールの呈色反応を肉眼的に比色した。

III. 実験結果

(1) 機能障害による代謝産物の消長

(a) 糖及びアスコルビン酸の消長 まずエネルギー代謝の主要基質である糖の消長についてみると第1表に示す通り、MH 処理区、無処理区とも腐敗の進展に伴つて漸減する。しかしシアン酸及びアルデヒド処理区のように急激に機能障害を惹起せしめた場合は糖は殆ど消費されず残存したまま死滅する。一方アスコルビン酸については第2表の通り、総アスコルビン酸は腐敗が

第1表 機能障害と糖の消長

実験区 腐敗度	無処理		MH 処 理						シアン酸 処理	アルデ ヒド処 理
	健全	IV	健全	I	II	III	IV	IV	IV	IV
還元糖 (%)	3.5	1.5	3.7	2.6	2.0	1.6	1.5	3.3	3.6	3.6
全 糖 (%)	6.7	2.1	6.2	4.1	3.7	3.8	2.0	5.1	4.7	4.7

表中 I: 僅腐, II: 弱腐, III: 中腐, IV: 強腐, V: 極強腐 但し無処理 IV は病害強腐 (8 月下旬測定)

第2表 機能障害とアスコルビン酸の消長

実験区 腐敗度	無処理		MH 処 理					
	健全	IV	健全	I	II	III	IV	IV
アスコル ビン酸(mg%)								
還 元 型	5.1	2.8	5.5	5.3	4.4	4.1	3.5	3.5
酸 化 型	2.0	4.2	2.1	2.6	—	3.2	3.9	3.9
総アスコルビン酸	7.1	7.0	7.6	7.9	—	7.3	7.4	7.4

(8 月下旬測定)

著しくても激減せず、還元型のみが減少し酸化型が増加する。これは腐敗に伴つて還元型アスコルビン酸が酸化されるものとみられる。このような還元型アスコルビン酸の減少については MILLER⁽⁶⁾ らも認めており、これがパインアップルの生理病誘因の一つになりうるのではないかと述べている。他方酸化型アスコルビン酸増加の現象は子苗立枯病罹病南瓜⁽¹⁷⁾ 及び黒斑被害甘藷についても認められ、瓜谷⁽¹⁹⁾ らはその機構を究明している。

(b) alcohol 及び acetaldehyde 腐敗の異常代謝産物として最も普遍的に考えられるものとしてアルコールがあり、アルコール脱水素酵素の存在のもとでは当然アルデヒドの生成が考えられる。そこで MH 処理及び無処理の両区の腐敗球についてアルコールの検出を試みた所、両区とも明らかにアルコールの存在することが認められた。次にアルデヒドについても無処理、MH 処理及び密封処理による腐敗球を用い、SCHIFF の試薬による呈色反応を行つた結果、各区いずれも腐敗部及び外皮内接部に著しい呈色を示し、底盤部より鱗葉部に向い順次発色し遂に全面に及んだ。またこの反応は腐敗の段階の進行に従つて著しく、腐敗過程と呈色の強弱とはほぼ平行した。但しこの反応には catalase, keton 及び不飽和化合物などの影響も考えられるので、更に分溜法によつて観察し腐敗球にアルデヒドの存在することを確認した。

(2) 機能障害と呼吸との関係

(a) タマネギの呼吸系路 コハク酸脱水素酵素を競合的に阻害するマロン酸を用い、in vitro で底盤部組織の呼吸抑制効果をみると第1図に示したように 1%

第1図 マロン酸による酸素吸収の阻害 (in vitro)

マロン酸では添加後 20 分で顕著に抑制し、以後酸素の吸収量の増加は殆ど零となる。このことからコハク酸脱水素酵素がタマネギの呼吸系に重要な役割をなすことは明らかである。即ちタマネギの主要呼吸系路は糖より糖リン酸エステルを経てピルビン酸に変わり、これが TCA cycle に入り完全酸化されるものと考えられる。植物の呼吸系路についてはこの EMBDEN-MEYERHOF system

の他に、WARBURG-DICKENS system の存在も報告⁽⁸⁾されているが、タマネギにおいては呼吸酵素の阻害実験の結果から後者は余り重要な関与を示さないのではないかと判断した。

(b) 腐敗過程における O₂ 吸収量及び CO₂ 排出量

次に腐敗の進展に伴う O₂ 吸収量及び CO₂ 排出量の消長に関し、MH 及び密封処理タマネギの底盤部について測定した結果、第3、4表のような成績を得た。即ち

第3表 MH 処理による機能障害と呼吸の変化

実験区 腐敗度 (μ l/g/h)	無処理	MH 処 理				
	健全	健全	I	II	III	IV
O ₂ 吸 収 量	353	335	565	—	765	99.5
CO ₂ 排 出 量	355	328	550	—	880	172
RQ	1.01	0.98	0.98	—	1.15	1.73
O ₂ 吸 収 量	—	540	576	1568	888	—
CO ₂ 排 出 量	—	489	528	1896	1068	—
RQ	—	0.91	0.92	1.21	1.20	—

(上段8月下旬, 下段前年作 0.25% MH 処理タマネギ4月中旬測定)

第4表 密封処理による機能障害と呼吸の変化

実験区 腐敗度 (μ l/g/h)	密 封 処 理			
	健 全	I	IV	V
O ₂ 吸 収 量	499	780	129	62
CO ₂ 排 出 量	501	761	197	171
RQ	1.0	0.98	1.53	2.78

(9月中旬測定)

腐敗の進展に伴って O₂ 吸収量は次第に増大し或る段階では健全球の2〜3倍にも及ぶが、以後は急減し遙かに下廻るに至る。他方 CO₂ 排出量はその増加傾向は O₂ のそれに比べ更に著しく、また O₂ 減少時における CO₂ の減少は一層少いため、RQ は 1.0 より大なる値を示し上昇の一途をたどることになり明らかに異常呼吸の行われていることが窺われる。このことはさきに報告^(13,15) した MH 処理によるタマネギに、無処理タマネギの萌芽期にのぞみ、RQ の低下がみられ発芽伸長の阻害されることと対比して興味深いものがある。

(c) catalase 及び peroxidase activity 前記のように機能障害発生またはその以前にガス代謝に異常を生ずることは明確であるが、これは明らかに組織内の酸化還元系の異常に起因すると思われるので、2, 3 酵素について測定した。まず catalase 及び peroxidase 反

応について測定した結果は第5表の通りである。即ち機能病の進行と共に底盤部組織の catalase activity は漸増し1つの peak を示し完腐の状態に至つてその作用力は0となる。peroxidase は鱗茎切断面について観察したものであるが、catalase activity とほぼ一致する傾向

第5表 MH 処理による機能障害と catalase 及び peroxidase の活性度

腐敗度 酵 素	MH 処 理					
	健全	I	II	III	IV	V
catalase	6.1	50.1	91.1	137.0	78.9	15.5
peroxidase	+	++	+++	++++	++++	—

catalase は 1g 当り H₂O₂ 10 分間分解量 mg

peroxidase は 1% ビロガロール呈色反応の強弱 (8 月下旬測定)

第6表 機能障害と dehydrogenase の活性度

実験区 腐敗度 dehydrogenase	無処理	MH 処 理				
	健全	健全	I	II	III	IV
褪色時間(分)	25	30	45	60	75	—

(10月中旬測定)

を示した。近年 catalase, peroxidase は呼吸の主流には関与しないといわれているが、腐敗の進展に伴うその消長が前記 CO₂ 排出の消長と平行していることは注目すべきで、おそらく呼吸に直接関与しない物質の分解が行われるために生じた過酸化水素、就中 H₂O₂ が有毒な濃度にまで蓄積されるのを防ぐためその活性に上記のような変転がみられるものと思われる。

(d) dehydrogenase activity 然るに呼吸に直接関与する dehydrogenase activity については趣を異にするのであつて、その消長は第6表の通りである。即ち catalase 及び peroxidase の活性とは逆に健全球にあつては処理区は対照区より、また障害球にあつては被害の甚だしいものほどその活性の微弱なことが判る。

これは障害タマネギ組織の TCA cycle の廻転が著しく阻害されることを示すに足るものと思われるが、前記のように腐敗の進展に伴って CO₂ 排出量は増大し、RQ の上昇も著明となるのであるから TCA cycle 以外の CO₂ の発生があるものと考えねばならない。

(3) 機能障害発生に対する acetaldehyde の役割

前述のように腐敗タマネギにはアルデヒドが検出されしかもその反応は腐敗の進展に伴って著しいのであるが、このアルデヒドが組織の代謝にいかなる影響を与え

るかについて次のような実験を試みた。

まず健全なタマネギ底盤部組織に最終濃度 0.01, 0.1, 1.0% になるようにアセトアルデヒドを添加し in vitro でガス代謝に対する影響を観測し、第7表のような結果を得た。但しアルデヒド分圧による影響はブランクテストによつて補正した。即ち高濃度のアセトアルデヒドは明らかに CO₂ の異常増加を出現させ、RQ は濃度が高くなるにつれて高率を示すに至る。

一方全く同様な方法で dehydrogenase に対する影響を測定した結果は第8表の通りとなり、アルデヒドは明らかに抑制的に働いてその活性を低下させている。これらの結果は上述の MH による障害タマネギの in vivo における実験結果と全く規を一にするものである。

第7表 アセトアルデヒド添加による呼吸の変化 (in vitro)

アセトアルデヒド(%) (μ l/g/h)	0	0.01	0.1	1.0
O ₂ 吸 収 量	440	585	780	660
CO ₂ 排 出 量	440	800	1420	1520
RQ	1.0	1.37	1.82	2.30

(10月中旬測定)

第8表 dehydrogenase の活性度に対するアセトアルデヒドの影響 (in vitro)

アセトアルデヒド(%)	0	0.1	1.0
dehydrogenase			
褪 色 時 間(分)	25	30	55

(10月中旬測定)

第9表 アルデヒド処理による障害タマネギの呼吸率

処理後の日数	2日	5	6
腐 敗 度	I	II	III
呼吸率			
RQ	1.07	1.24	1.33

(11月上旬測定)

ちなみにアセトアルデヒドを注入したデシケーター中にタマネギを密封処理すると、例外なくかつ速かに障害をきたし、開封後底盤部について RQ を測定すると、第9表の通り日時の経過と共に漸次上昇し 1.0 より大なる値を示すに至るのである。

IV. 考 察

以上の実験結果を通覧すると、糖質作物であるタマネ

ギの呼吸基質は勿論糖であつて、その主要呼吸系路は、TCA cycle であると考えられる。今この TCA cycle の反応を支配する酵素群が阻害されるような環境条件が与えられると、ピルビン酸から TCA cycle への移行が緩慢となりその結果過剰のピルビン酸が非酸化的脱炭酸反応によつてアセトアルデヒドを生じ、1部はアルコールに変転して鱗茎内に蓄積するものと考えられる。このような生理的に不適な環境条件下における貯蔵の際、アルコール、アセトアルデヒドを生ずることは、単にタマネギのみならずリンゴ、洋ナシその他の果菜類で古くから知られているのであつて、近くカキ果実の脱渋についてもこのアルデヒドの蓄積が重要な因子であることが駒沢⁽⁶⁾らによつて報じられている。THOMAS⁽¹⁸⁾ らはシアン酸ガス中に封じて酸化酵素を抑制したリンゴに、アルコール及びアセトアルデヒドの蓄積することを認め、BEEVERS⁽²⁾ はマロン酸で阻害したトウモロコシの根について同様な現象を認めている。また JOSLYN⁽⁴⁾ は冷凍貯蔵中の生鮮エンドウにアルデヒドが生じ、その蓄積量は適当な blanching で減ずることができると報告している。更に NANCE⁽⁷⁻⁹⁾ 及び PERLIS⁽¹⁶⁾ らはコムギ、トウモロコシ、エンドウを用い、呼吸量に大なる影響を及ぼさない程度の濃度の植物ホルモンが生長に影響するのは組織内のメタボリズムに質的变化をきたし、TCA cycle が阻害される結果“Alternate pathway”を生ずることによるものであるとし、この結果アセトアルデヒドなどが生じ、しかも植物ホルモンはこのアセトアルデヒド及び acetate のメタボリズムに影響をもつと報告した。このように組織内に蓄積したアルデヒド及びアルコールが呼吸系に如何なる影響をもつかについては、蠅 (*Calliphora erythrocephala* MEIG) のさなぎの homogenate の dehydrogenase 活性がエチルアルコール及びアセトアルデヒドなどによつて増大するという AGRELL⁽¹⁾ の報告がみられるが、筆者らの実験ではエチルアルコールは殆ど影響をもたなかつたが、アセトアルデヒドについては第8表に示したように、in vitro では一定濃度以上のアセトアルデヒドは明らかにタマネギ底盤部の dehydrogenase activity を抑制する傾向を示した。勿論 in vivo ではこのような高濃度のアルデヒドの蓄積は考えられないが、酸素の活性の機作が in vitro とはかなり異なることも考えられるので微量のアセトアルデヒドでも抑制効果を示す場合もあるものと思われる。

そこで上記結果からタマネギの機能障害の1つの機作として次のように思考した。即ちタマネギ組織の呼吸系特に TCA cycle を阻害するような環境条件が与えられると鱗茎内にアルデヒドの生成を招来する。このアセト

アルデヒドの生成がその消費を上廻る時、アセトアルデヒドの蓄積のために TCA cycle に属する dehydrogenase の活性が阻害され、更にアルデヒドの蓄積を増加する結果となり、この循環が遂に腐敗を惹起することとなるのであろう。このような反応は特に呼吸旺盛な底盤部附近を中心として起り漸次外方に向うものと思われる。

V. 摘 要

本実験は貯蔵タマネギの機能障害特にその発生機構を究明する目的で泉州中生を用い、MH、密封、アルデヒド処理などによつてもたらされる障害について行われたもので、大略次のような結果を得た。

- (1) アルコール及びアセトアルデヒドは自然腐敗、障害タマネギともに検出され、腐敗程度とアルデヒド反応の強弱とは平行している。
- (2) 腐敗の進展に伴つて糖は減少するが、急速に障害のもたらされる場合は殆ど消費されない。
- (3) アスコルビン酸においては還元型は酸化型に移行し、総アスコルビン酸は腐敗著しくとも激減することはない。
- (4) O_2 吸収量及び CO_2 排出量は障害発生に伴つて異常に増大するが或段階以後は急激に減少する。しかし RQ は上昇の一途をたどり 1.0 より大なる値となる。
- (5) catalase 及び peroxidase 反応は CO_2 排出量の消長とはほぼ同一の傾向を示す。
- (6) dehydrogenase activity は逆に腐敗の進展に伴つて一層微弱となる。
- (7) アセトアルデヒドは或る濃度で dehydrogenase activity を抑制する。
- (8) 上記の結果からタマネギの呼吸系特に TCA cycle を阻害するような環境条件下ではアセトアルデヒドを生成し、これが機能障害発生の重要な因子となるものであることを考察した。

文 献

- (1) AGRELL, I. : Observation on the hydrogen-activating enzymes present during the metamorphosis of insect. Biol. Abst. 22: 23158.
- (2) BEEVERS, H. : Malonic acid as an inhibitor of maize root respiration. Plant Physiol. 27: 725~735, 1952.
- (3) ——— and M. GIBBS : The direct oxidation pathway in plant respiration. Plant Physiol. 29: 322~324, 1954.
- (4) JOSLYN, M. A. and J. J. DAVID : Acetaldehyde and alcohol in row or underblanched pea. Biol. Abst. 27: 12357.
- (5) 駒沢利雄・内田 泉 : 柿の脱渋機構について、

農産加工技研誌 3: 69~72, 1956.

- (6) MILLER, E. V. and A. S. HEILMAN : Ascorbic acid and physiological breakdown in the fruit of pineapple. Science 116: 505~506, 1952.
- (7) NANCE, J. F. and L. W. CUNNINGHAM : Acetaldehyde accumulation in excised wheat roots induced by plant growth substances. Science 112: 170~172, 1950.
- (8) ——— and Y. SHIGEMURA : Studies on acetaldehyde evolution and utilization. Amer. Jour. Bot. 41, 829~832, 1954.
- (9) ——— and I. S. PERLIS : Auxin effect on the utilization of C^{14} -labeled acetate by wheat root. Science 121: 104~105, 1955.
- (10) 緒方邦安・井上 隆・堀田卓夫 : 葱頭の貯蔵に関する研究（第3報）MH 処理による貯蔵葱頭の発芽抑制と腐敗現象について、園芸学 Research 7: 123~127, 1955.
- (11) ——— : (第4報)本邦産葱頭の糖及びアルコール含有量について、農産加工技研誌 2: 4~8, 1955.
- (12) ——— : (第5報) MH が生育末期の葱頭鱗茎に及ぼす 2, 3 の生理的影響、園学雑 23, 245~248, 1955.
- (13) ——— : 球根茎類作物並びに種実に対する MH の生理機構に関する研究（第2報）葱頭鱗茎及び馬鈴薯塊茎の呼吸機構に対する MH の影響、園学雑 25: 232~236, 1957.
- (14) ——— : 葱頭の貯蔵に関する研究（第7報）ソーダ石灰などによる密封処理が貯蔵葱頭の発芽生理に及ぼす影響、園学雑 25: 237~242, 1957.
- (15) ——— : 球根茎類作物並びに種実に対する MH の生理機構に関する研究（第3報）葱頭鱗茎及び緑豆種子の発芽、伸長阻害と呼吸、生長物質との関係、園学雑 27: 49~52, 1958.
- (16) PERLIS, I. B. and J. F. NANCE : Indolacetic acid and the utilization of radioactive pyruvate and acetate by wheat roots. Plant Physiol. 31: 451~455, 1956.
- (17) 高橋 実・糸井節美 : 子苗立枯病抵抗性機作に関する研究（第3報）、Bulletin Univ. Osaka Pref. 6, 123~125, 1956.
- (18) THOMAS, M. and J. C. FIDLER : Studies in zymdysis, VIII The discovery and investigation of aerobic HCN-zymdysis in apple treated with hydrogen cyanide and comparisons with other forms of zymdysis IX. The influence of HCN on respiration of apple and some evolution of the "Pasteur effect". Biol. Abst. 16: 15390.
- (19) 瓜谷郁三・家近恵子 : 黒斑病甘藷の病理化学的研究（第9報）農化学誌, 27: 688~692, 1953.