ナツミカン果実貯蔵中の低温障害に関する 生理学的研究 (第2報)

岩田 隆・中川勝也*・緒方邦安
(大阪府立大学農学部)

Physiological studies of chilling injury in natsudaiddai

(*Citrus natsudaiddai* HAYATA) fruits. II.

Takashi IWATA, Katsuya NAKAGAWA and Kuniyasu OGATA

College of Agriculture, University of Osaka Prefecture, Sakai, Osaka

Summary

In our previous studies, it was observed that natsudaiddai fruits suffered physiological injury when stored at 1-1.5°C, and respiratory behavior of the fruits was abnormal prior to the appearance of visible symptoms. This paper reports further observations on the physiological changes occurring in natsudaiddai fruits stored at low temperatures. Healthy-appearing fruits were measured throughout the experiments.

(1) Respiration of albedo tissue slices was measured at 30°C. Higher respiratory quotient and more active decarboxylation of pyruvate added were found in the slices prepared from 1°C-stored fruits as compared with 6°C-stored fruits.

(2) Organic acids in flavedo part of peel were determined by silica gel chromatographic procedure. Malic and citric acids were found as major acids, and ratio of the former to the latter became much higher in 1°C-stored fruits than 6°C-stored fruits.

(3) When citric acid-¹⁴C was added to flavedo slices and incubated for 60 minutes at 30°C, considerable amount of radioactivity was detected in succinic, fumaric, malic, and two unidentified acid

fractions. From succinic acid-¹⁴C fumaric and malic acids were produced, but little conversion to citric acid was found.

(4) Production of carbon dioxide-¹⁴C from glucose-U-¹⁴C, citric acid-1,5-¹⁴C, and succinic acid-1,4-¹⁴C in flavedo tissue slices was determined at 30°C. The greatest production was obtained from the succinic acid, and it was more conspicuous in the slices taken from 1°C-stored fruits than 6°C-stored fruits.

(5) Ethylene production in the fruits was remarkably higher at 1°C of storage temperature than at 6°C.

(6) When fruits were treated with ethylene at 6°C which is a safe storage temperature in ordinary environments, a physiological injury developed on the peel, and the symptoms were quite similar to the chilling injury.

(7) The relation between metabolic abnormality and increase of ethylene production in 1°C-stored fruits, and possible role of ethylene in the development of chilling injury were discussed.

前報⁽¹³⁾においてナツミカン果実を1~1.5°Cに貯蔵すると低温障害が現われ、果皮に pitting が発生し、果皮全体がくすんだ汚黄色となり、微生物の侵害を受けやすくなることを述べた。そのさい低温貯蔵された果実は目にみえる障害の現われていないものでも呼吸作用に異常を生ずることが認められた。本報ではさらに果皮アルベド部の呼吸、有機酸代謝、エチレン生成との関連などについて検討した結果を報告する。

I. 実験材料および方法

本実験に用いた材料は前報⁽¹³⁾の1967年調査の和歌山

* 現在兵庫県立農業試験場
1968年7月8日受理

産「サニー」が主体であり、4月25日に1°Cおよび6°Cの貯蔵庫に収納した。他に一部広島産果実を5月18日より1.5°, 6°および13°Cに貯蔵し、供試した。測定は特定のものを除き、各温度区とも外観健全な果実を選んで行なった。

エチレン処理に用いた果実は、大阪産の12月23日に収穫されたもので、果皮に緑色が少し残存するやや未熟果であつた。

アルベド組織切片の呼吸：前報のフラベド部測定に準じて、果皮アルベド部より厚さ約0.7 mmの切片を調製し、Warburg 検圧計により30°Cで測定した。試料は一容器当たり0.5 gをリン酸塩液(pH 5.0)中に浮遊さ

せた。

CO₂ 排出量の測定：前報の通気式比色法を用いた。

有機酸の測定：浅田⁽¹⁾らのシリカゲルカラムクロマトグラフィーに準じて行なつた。果皮フラベド部 50 g をとり、熱エタノール（終濃度 80%）中に投じて 5 分間沸騰させた後ホモジナイザーで細砕し、80% エタノール計 600 ml で 3 回に抽出した液をアンバーライト IR 120 に通し、流液をアンバーライト IR 45 に通して有機酸を吸着させた。和歌山産果実については 1 回抽出後硫酸で pH 2 とし、さらに 2 回抽出をくりかえした。IR 45 吸着試料を 2 M 炭酸アンモニウム 250 ml で溶出し、40°C 以下で濃縮、最後は蒸発皿にとつて湯煎上で乾固させ、0.5 N H₂SO₄ 0.5 ml および 10 N H₂SO₄ 0.05 ml を加え、約 1.2 g のシリカゲルに混じてカラム上部に加えた。カラムは 8 g の Mallinckrodt の Silicic acid を用いて作成し、展開溶媒は 5, 15, 25, 35% の第 3 級ブタノールを含むクロロホルムをそれぞれ 75, 80, 200 および 250 ml 用いた。一部はさらに 10% タノールクロロホルム液も使用した。溶出液はフラクシヨコレクターにより 6 ml ずつ分画採取し、水を加えて 0.01 N NaOH により滴定した。

有機酸の同定には、滴定後の試料水溶液を硫酸酸性にしてエーテルで抽出し、減圧乾固したのち 80% エタノールに溶出、シリカゲルによる薄層クロマトグラフィーを行なつた。

エチレンの測定：YOUNG ら⁽²⁷⁾の方法に準じて捕集し、ガスクロマトグラフィーにより定量した。ナツミカン果実をデシケーターに入れて約 100 ml/min で通気し、含まれるエチレンを 0°C の過塩素酸水銀 50 ml 中に捕集した。その 20 ml を 300 ml 容三角フラスコに入れてゴム栓をし、注射器で 2 N HCl 10 ml を注入しエチレンを放出させた。そのヘッドスペースより 10 ml を注射器で採取し、アルミナカラムのガスクロマトグラフィーを行なつた。

クエン酸-¹⁴C, コハク酸-¹⁴C, グルコース-¹⁴C よりの ¹⁴CO₂ 生成：ワールブルグ容器主室に 1/15 M リン酸塩溶液 (pH 5) 2.7 ml およびフラベド切片 1 g, 副室に 20% KOH 0.3 ml および濾紙片、側室にクエン酸-1,5-¹⁴C, コハク酸-1,4-¹⁴C, グルコース-U-¹⁴C のいずれかを 0.3 ml, それぞれ 1 μCi ずつ入れた。クエン酸塩およびグルコースの終濃度は 1/30 M, コハク酸塩は 1/300 M となるように調整した。30°C 水槽で温度を平衡させてから側室の RI を主室に添加し、1 時間振とう後 KOH 濾紙をバイアルに移した。これに SHIMOKAWA ら⁽²²⁾の用いたシンチレーション液 20 ml を加え、Tri-carb 液

体シンチレーションカウンターにより測定した。各処理について 10 回の反覆を行なつた。

クエン酸-¹⁴C, コハク酸-¹⁴C の有機酸への移行：上記のようにフラベド切片に RI を加えて 1 時間 incubate したものを取出し、直ちに沸騰エタノール中で 5 分間加熱後、前記の手順で有機酸を抽出、分離し、6 ml ずつの分画より各 0.3 ml を試料皿にとつて乾燥させガスフローカウンターにより測定した。

エチレン処理：約 7 l 容のゴム栓付きデシケーター 1 個あたり 4 個の果実を入れた。デシケーターの底には 60% の H₂SO₄ 30 ml を入れた蒸発皿を置いたが、これによつて適度の湿度を保つことができたようで、過湿にもならず果皮が乾燥することもなかつた。エチレン処理はゴム栓を介して注射器により、500 ppm となるように毎日 1 回エチレンを注入した。貯蔵温度は 6°C とした。対照、処理各区 3 反覆とした。この場合の CO₂ 排出量測定は、デシケーター内に 2 N KOH 25 ml を封入して CO₂ を吸収させ、標準 HCl で滴定して求めた。

II. 実験結果

(1) 果皮アルベド切片の呼吸

前報で果皮フラベド部の呼吸について述べたが、アルベド部についても同様の測定を行なつた。第 1 表は O₂ 吸収量と RQ の動向を示したものである。本実験では、1°C 貯蔵中に pitting の発生が始まつたのは貯蔵 80 日ころからであるが、測定に使用した果実はいずれも外観健全なものを選び、目にみえる障害の発生に先立つ変化を知ろうとした。なお 6°C では全く障害はおこらなかつた。

O₂ 吸収量は当初に大きく、貯蔵されたものは小さくなる傾向であつたが、1° と 6°C 区の間に一定した相違は得られなかつた。RQ には両区の間に明らかな差が認められる。6°C 貯蔵果では最初 1.1 前後であつたものが 2 か月以降になると 1 以下のかかなり小さい値となつた。117 日に 1.19 となつているが、これは O₂ 吸収量も非常に小さく例外的なものと思われる。これに対して 1°C

Table 1. Changes of oxygen uptake and respiratory quotient in albedo tissue slices of natsudaikai fruits stored at 1° and 6°C.

	Storage temperature	Days in storage						
		7	22	39	61	85	103	117
Oxygen uptake	1°C			126	141	142	117	136
	6	191	187	123	126	136	127	90
Respiratory quotient	1°C			1.11	1.11	1.02	1.25	1.04
	6	1.08	1.13	1.00	0.86	0.93	0.75	1.19

Measured on healthy-appearing fruits, at 30°C

Fig. 1. Effect of pyruvate addition on respiration in albedo tissue slices of natsudaidai fruits stored at 1° and 6°C (temperature of measurement: 30°C)

Fig. 2. Effect of respiratory inhibitor addition on respiration in albedo tissue slices of natsudaidai fruits stored at 1° and 6°C (temperature of measurement: 30°C).

貯蔵果では全実験期間を通じてかなり高い値が維持された。この両区における傾向はフラベド切片の場合と全く同様であつた。

第1図は pyruvate を添加した場合の効果である。O₂ 吸収量に対しては最初の測定点を除き、1° と 6°C 区の間に差はない。しかし CO₂ 排出量に対しては顕著な相違がみられ、1°C に貯蔵されていたものは非常に脱炭酸

が活発であつた。

呼吸阻害剤を添加した場合の O₂ 吸収におよぼす効果は第2図のようであり、フッ化ナトリウムあるいはモノヨード酢酸で顕著に呼吸が抑制されたが、その程度は1° と 6°C 区の果実で差がない。マロン酸は貯蔵前半では1°C 果に対してほとんど効果を示さないが、貯蔵後半になると逆に 6°C 果よりも抑制効果が大きい傾向であつた。

(2) 果皮中の有機酸の変化

果皮フラベド部の有機酸はリンゴ酸とクエン酸が主体であり、シュウ酸の存在も明らかである。この他に相当量存在する未確認の酸が一つあり、フマル酸ではないかと思われるが多少の疑点がある。

広島産果実（第2表）は和歌山産（第3表）のものに比べて当初からリンゴ酸の比率がかなり高く、未確認酸（一応フマル酸として算出）も高率に含まれていた。なお抽出法が異なるために広島産試料にはシュウ酸が除外されている。主要有機酸の合計量はかなり変動した。果肉内果汁では貯蔵中に有機酸の減少するのがカンキツ類

Table 2. Changes of the major organic acid contents* in flavedo part of natsudaidai fruits during the storage (Fruits produced in Hiroshima in 1966).

Storage temperature	Days in storage	Organic acid (mg/100 g)				Mal/Cit
		Malic	Citric	Unkn-own**	Total	
1.5°C	59	57.5	20.2	18.6	96.3	2.85
	85	44.5	12.5	17.3	74.3	3.56
	100	35.1	10.4	26.4	71.9	3.38
6°C	24	47.1	21.4	13.3	81.8	2.20
	59	45.2	21.3	21.6	88.1	2.10
	85	43.6	23.9	20.2	87.4	1.83
	100	33.0	28.0	21.4	82.4	1.18
13°C	100	29.8	30.9	22.4	83.1	0.97

* Not including oxalic acid

** Calculated tentatively as fumaric acid

Table 3. Changes of the major organic acid contents in flavedo part of natsudaidai fruits during the storage (Fruits produced in Wakayama in 1967).

Storage temperature	Days in storage	Organic acid (mg/100 g)					Mal/Cit
		Malic	Citric	Oxalic	Unkn-own*	Total	
1°C	51	37.8	28.1	4.9	0.7	71.5	1.33
	92	91.2	11.5	9.9	22.6	135.2	27.94
6°C	51	21.0	25.4	8.1	0.9	55.4	0.83
	92	40.2	50.2	7.4	15.7	113.5	50.80

* Calculated tentatively as fumaric acid

果実の一般的傾向であるが、果皮では必ずしもそうではないようであり、かえって和歌山産のものでは明らかな増大があつた。これには果汁中からの有機酸の流入が考えられる。

低温障害発生温度である 1° あるいは 1.5°C 貯蔵果と他の温度区の果実では、貯蔵中に顕著な有機酸組成の相違が現われた。広島産のものでは 1.5°C におくとクエン酸の減少が大きく、 6°C および 13°C では反対に増加した。未確認酸は全区とも貯蔵が長くなると多くなつた。和歌山産果実では貯蔵中にリンゴ酸が増加するが、その程度は 1°C 果が大であつた。クエン酸は 1°C 貯蔵中に顕著に減少したが、 6°C では増大した。未確認酸は両温度区とも貯蔵 51 日には微量にすぎなかつたのが 92 日において激増を示した。その程度は 1°C 果がやや大きい。シュウ酸については傾向が明らかでなかつた。このように各有機酸の絶体量の動きについては広島産と和歌山産でかなり異なつたが、これは果肉からの流入の多少が関係すると思われる。しかしながらもつとも主要な酸であるリンゴ酸とクエン酸の比 (Mal/Cit) をみると両者に共し通た明らかな変化がみられた。すなわち安全な貯蔵温度におかれた果実に比較して、障害発生温度にあつた果実はリンゴ酸の割合が非常に大きくなつてゐる。たとえば 100 日貯蔵された広島産果実の果皮中では、 13°C 果の Mal/Cit は 0.97、 6°C 果が 1.18 に対して 1.5°C 果は 3.38 である。同様に 92 日貯蔵の和歌山産果実では、 6°C が 0.80 にすぎないのに 1°C では 7.94 と非常に高い値を示した。したがつて、クエン酸を主体とする果汁が絶えず果皮に流入する一方、果皮内ではリンゴ酸を蓄積する傾向の代謝が行なわれてゐるものとみられる。

(3) 放射性呼吸基質よりの $^{14}\text{CO}_2$ 生成

第4表は各区とも外観健全な果実のフラベド切片に対してグルコース- $\text{U-}^{14}\text{C}$ 、クエン酸- $1,5\text{-}^{14}\text{C}$ およびコハク酸- $1,4\text{-}^{14}\text{C}$ を添加した場合の $^{14}\text{CO}_2$ 生成状態を測定した結果である。貯蔵 68 日における測定ではグルコース、クエン酸ともに貯蔵温度によつて変わらない。しかし 110 日においてはグルコースよりの $^{14}\text{CO}_2$ 生成は 1°C 果が 6°C 果よりも大となつた。またクエン酸を添加したものでは 6°C 貯蔵果が大きいのに對して、コハク酸の 1, 4 位炭素原子に由来する $^{14}\text{CO}_2$ は障害発生温度の 1°C にあるものが大きいという結果が得られた。また両温度区ともコハク酸 (1, 4 位の C) より生ずる $^{14}\text{CO}_2$ はクエン酸 (1, 5 位の C) から生ずるものよりも高い値となつた。

Table 4. Production of carbon dioxide- ^{14}C from glucose- $\text{U-}^{14}\text{C}$, citrate- $1,5\text{-}^{14}\text{C}$, and succinate- $1,4\text{-}^{14}\text{C}$ in flavedo slices of natsudaidai fruits stored at 1° and 6°C .

Storage temperature	Days in storage	Substrate		
		Glucose- $\text{U-}^{14}\text{C}$	Citrate- $1,5\text{-}^{14}\text{C}$	Succinate- $1,4\text{-}^{14}\text{C}$
1°C 6	68	72 cpm	224	
6°C		64	236	
1°C 6	110	70	128	572
6°C		50	194	412

Incubated for 60 minutes at 30°C

(4) 放射性クエン酸およびコハク酸の変化
フラベド切片にクエン酸- $1,5\text{-}^{14}\text{C}$ を添加し、 ^{14}C の有機酸へのとりこみを調査した。 30°C 1 時間 incubation 後における有機酸を分析し、主要有機酸中における ^{14}C 分布を比率で示すと第5表のようである。38 日貯蔵では 1°C 、110 日貯蔵では 6°C 果においてクエン酸の変化が大であつたが、全般を通ずると両温度区間で明らかな相違は認められない。いずれもコハク酸、フマル酸、リンゴ酸など TCA サイクルに属する有機酸によく移行するものとみてよい。未確認のものとしてかなりの比率を占めるピークが2点みられたが、fraction number はコハク酸とリンゴ酸の間にあり、アコニット酸あるいはグリコール酸などが含まれるのではないかと考えられる。

第6表は同様にしてコハク酸- $1,4\text{-}^{14}\text{C}$ を添加した場合

Table 5. Percentage distribution of radioactivity in organic acids formed from citric acid- $1,5\text{-}^{14}\text{C}$ in flavedo tissue slices of natsudaidai fruits.

Days in storage	Storage temperature	Cit. & Isocit.	Unknown		Suc.	Fum.	Mal.
			I	II			
38	1°C	72.0	6.0	6.0	5.8	7.5	2.7
	6	83.2	2.7	1.8	6.9	3.8	1.8
68	1°C	91.2	1.2	1.6	5.2		0.8
	6	88.2	1.9	2.1	4.2	2.5	1.2
110	1°C	88.6	1.8		4.4	3.0	2.3
	6	78.9	5.0		9.9	3.4	2.7

Incubated for 60 minutes at 30°C

Table 6. Percentage distribution of radioactivity in organic acids formed from succinic acid- $1,4\text{-}^{14}\text{C}$ in flavedo tissue slices of natsudaidai fruits.

Days in storage	Storage temperature	Succinic	Fumaric	Malic	Citric
110	1°C	95.4	0.8	3.3	0.3
	6	96.4	1.4	2.0	0.3
130	1°C	97.3	0.9	1.9	0
	6	96.8	0.8	2.5	0

Incubated for 60 minutes at 30°C

合の主要有機酸- ^{14}C 分布である。クエン酸添加の場合に比べてコハク酸の比率は大きく、主要なピークとしてはコハク酸以外にフマル酸とリンゴ酸が認められたにすぎない。貯蔵 110 日に分析したものでは、わずかながらクエン酸への変化が測定されたが、130 日では全くピークが現われなかった。しかし上述の傾向は 1° および 6° 貯蔵果とも同様であつて、とくに差を認めることはできなかった。

(5) 貯蔵果実からのエチレン生成

1° および 6°C に貯蔵中、あるいはそれらを 20°C に移した場合についてエチレンならびに CO_2 生成量を測定すると第7表のようであつた。この場合も外観健全な果実を選んで測定したが、 1°C 貯蔵果は 6°C のものの3倍におよぶエチレン生成がみられた。前報に述べたように 1°C において漸次呼吸量が増大して 6°C 貯蔵果を上回るようになるものであるが、エチレン測定に用いた材料はまだ 6°C 果よりも低い状態にあつた。これらを 20°C に移すと、 1°C に貯蔵されていた果実は急激にエチレン生成が増大し、変温後1日では $354\text{ m}\mu\text{l/kg/h}$ を示したが、2日になると $145\text{ m}\mu\text{l/kg/h}$ にまで急減した。 6°C 貯蔵果でも同様傾向を示したが、その程度は 1°C 果のように激しくない。 CO_2 排出量においても、 1°C より昇温した場合は 6°C 果よりも大きな変化があつたが、前報で述べたほどではなかつた。すなわち呼吸量の変化からみると、それほど生理的に異常になつていない果実においても、エチレン生成の面ではかなりの変異が現われているものとみられる。

なお 1°C 貯蔵果のうち、目にみえる障害の発生した果実と外観健全な果実を比較してみると第8表のようであり、 CO_2 排出量については全く差が認められないが、エチレン生成量においては障害発生果が約倍量となつていた。

(6) エチレン処理による障害発生

普通の条件では低温障害の発生しない温度である 6°C においてナツミカン果実に 500 ppm のエチレン処理を行なつた。この実験の使用材料は果皮に多少緑色が残つていたが、大きさはほぼじゅうぶんに発育したものであつた。エチレン処理が CO_2 排出量におよぼす影響は第9表のようであり $20\sim 30\%$ の増大がみられ

Table 7. Ethylene and carbon dioxide productin in natsudaikai fruits during low temperature storage and after transferring to 20°C .

	Storage temperature	During low temperature storage	After transfer to 20°C (days)		
			1	2	3
Ethylene	1°C 6	$66\text{ m}\mu\text{l/kg/h}$ 21	354 91	145 77	121 62
Carbon dioxide	1°C 6	4.0 ml/kg/h 5.7	26.7 20.1	21.3 15.3	

Healthy-appearing fruits stored for 95 days at low temperatures

Table 8. Ethylene and carbon dioxide production in healthy-appearing and physiologically injured fruits stored for 105 days at 1°C .

	Healthy	Injured*
Ethylene ($\text{m}\mu\text{l/kg/h}$)	72	134
Carbon dioxide (ml/kg/h)	2.8	3.0

* Slight browning of peel

Table 9. Effect of ethylene treatment (500 ppm) on the carbon dioxide production in natsudaikai fruits stored at 6°C .

	Days of treatment			
	1	5	18	28
Control	9.5*	8.6	10.2	11.6
Treated	9.9	9.7	12.0	15.4

* ml/kg/h

Fig. 3. Physiological injury of natsudaikai fruits induced by ethylene treatment at 6°C . Left : control. Right : fruits treated with 500 ppm of ethylene for 50 days, showing brown pitting and darkening of whole peel color.

た。果皮の緑色は貯蔵中に漸次退色したが、エチレン処理によって促進されるようなことはまったくなかった。

対照区の果実は全期間を通じて健全に保たれたが、エチレン処理果では漸次果皮に障害が発生した。処理 30 日ころになると、一部個体で果皮に多少陥没したかつ変斑点が 2~3 みられるようになり、35 日ころではそれが明らかになり果皮全体も暗色化が始まった。他の個体でも逐次同様の症状が進展し、50 日ころではかつ変部が広範となるものが多かった(第3図)。果皮は処理された全果実とも非常に汚なくなつたが、これは油胞組織が破壊されて精油が酸化されたものと思われ、処理果実には特異なテルペン臭があつた。上記のようなかつ変障害や果皮の暗色化などは 1~1.5°C 貯蔵中において発生した低温障害の症状と非常に類似したものであつた。

III. 考 察

果実の生理的障害を異常代謝にもとづく有害物質の蓄積から説明しようとする試みは少なくないが、原因物質を決定することは容易でない。低温障害に関するものとしてはリンゴ⁽¹⁰⁾やバナナ⁽¹⁹⁾におけるオキサロ酢酸、サツマイモのクロロゲン酸⁽¹⁴⁾、CO₂ 過剰による障害としてはコハク酸^(9,26)などが、そのような物質としてあげられている。本研究に用いた分析方法では、不安定なオキサロ酢酸を定量することは困難であるためにその動行は不明であるが、コハク酸については障害と関係がないようであつた。

本実験では 1°C 貯蔵中のナツミカン果実が 6°C 貯蔵のものより多量のエチレンを生成することが認められ、また 6°C 貯蔵果にエチレンを与えることによって低温障害に非常に類似した症状を誘発することができた。人為的エチレン処理が生理的障害をまねく例としてはレタスに関する Rood⁽²¹⁾の報告があり、低濃度のエチレンの添加、もしくはリンゴから揮散する物質をレタス貯蔵室に導入することによって brown spot を発生させている。リンゴのヤケ病は貯蔵中に果実より生産される揮発性物質が原因とされているので、エチレンの役割も種々検討されたが(緒方⁽²⁰⁾、Griffiths⁽⁵⁾ら)、この場合は障害発生に関係のないものとされている。上述のレタスを除けばエチレンによって特異な障害を生ずる例をみないようであるが、エチレンが果実組織の軟化を助長することはよく認められる現象である^(11,12)。軟化は細胞壁あるいは細胞中層中のプロトペクチンあるいはペクチン酸塩の可溶化が主因となるもので^(6,17)、エチレンは間接的なようではあるが⁽²⁾、ペクチン質の変化を促進して細胞壁の構造に破壊的に働くものと考えられる。ナツミカンの低温障害における pitting の発生や果皮の暗色化は、果

皮の一部細胞の破壊によるものであるから、この面におけるエチレンの役割が考えられる。

エチレン生成は植物組織を破碎したり⁽¹⁸⁾、果実が過熱となつて細胞がこわれる段階になると増大する⁽²⁾場合がある。したがって 1°C 貯蔵果(外観健全果)でエチレン生成の増大していることは、すでに内部において障害の発生した結果ではないかとも考えられる。しかし 1°C 貯蔵果を 20°C に移した場合、すでに内部的に破壊が発生しているものであればエチレン生成に適当な温度である 20°C においてエチレン生産の高い値が持続するものと思われる。事実は昇温時急増して、その後急速に減少することが認められた。このことは 1°C の低温においてエチレンが生成されやすい条件にあつたことを意味すると考えられる。つぎにその条件について考察を加える。

エチレン生成の機作についてはまだ明確でないが、興味ある問題として種々論議され、解糖系や TCA サイクルにおける中間代謝物、あるいはメチオニン、リノール酸などがエチレンの前駆物質として提案されている^(4,15,16,25)。最近 SHIMOKAWA ら⁽²²⁾はリンゴ切片を用いた研究においてピルビン酸塩およびアセトアルデヒドからのエチレン生成経路を示唆し、エタノールを経ずにエチレンに移行するものであろうと述べている。また平井ら^(7,8)は脂肪酸処理がイチジク果実の成熟を促進する機作を考察して、ピルビン酸あるいはアセトアルデヒドよりのエチレン生成を推定し、GIBSON⁽³⁾はリンゴ酸およびピルビン酸が *Penicillium* によるエチレン生成に非常に有効なことを報告している。

本実験のナツミカンにおいては 1°C 貯蔵果実の果皮内でリンゴ酸の比率が大きくなり、RQ は常に高く、アルベドではピルビン酸の脱炭酸が著しく大であつた。またクエン酸-¹⁴C はコハク酸、フマル酸、リンゴ酸などによく移行するが、コハク酸-¹⁴C はフマル酸とリンゴ酸まで移行してもクエン酸-¹⁴C の生成は僅少であるか、もしくはほとんど認められなかつた。それにもかかわらずコハク酸の 1, 4 位の炭素原子に由来する ¹⁴CO₂ 生産があつてクエン酸の 1, 5 位の炭素原子より生ずるものを上回り、その程度は 1°C 貯蔵果のほうが大であつた。これらのことを総合すると 1°C に貯蔵された果実ではリンゴ酸あるいはオキサロ酢酸から脱炭酸されてピルビン酸を生じ、さらにエチレン生成に至る経路が活性化されているという可能性が考えられる。

1° と 6°C 貯蔵果の間では有機酸組成の相違があるにもかかわらず、クエン酸-¹⁴C やコハク酸-¹⁴C の変化の様相には両温度区間に明確な差がみられなかつた。これら切片を用いた実験はすべて 30°C で行なわれたが、そ

れが低温貯蔵中の果実生体内における変化と異なるところがあるのかもしれない。この点や果実組織内のエチレン濃度と障害発生との関係などさらに検討する必要がある。

なお洋ナシやスモモ^(23,24)を用いた研究において、低温ではエチレンの効果がないとする報告もある。6°C で行なわれた本実験では、クロロフィルの消失を促進するというエチレン特有の作用は発現されなかつたが、CO₂ 排出量においては増大効果があり、また顕著な生理的障害を誘発することとなつた。

IV. 要 約

ナツミカン果実を 1°~1.5°C に貯蔵すると呼吸作用に異常を生じ、やがて低温障害の発生することを前報に述べた。本報は障害発生と生理的諸変化の関連を明らかにする目的でさらに検討を加えたものである。測定は原則として目にみえる障害の現われていないものを選んで行なつた。

(1) 果皮アルベド切片の呼吸を Warburg 検圧計により 30°C で測定した。1°C 貯蔵果の RQ は常に 6°C 貯蔵果よりも高い値を示し、また pyruvate 添加による CO₂ 排出量の増大効果は 1°C 果がかなり大であつた。

(2) フラベド部の有機酸含量をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分画定量したところ、主要有機酸はリンゴ酸とクエン酸であつた。貯蔵中、1°C 果と 6°C 果では構成比率に大差を生じ、1°C 果のフラベドではリンゴ酸のクエン酸に対する比率が顕著に増大した。

(3) フラベド切片にクエン酸-¹⁴C を加えて 30°C で incubate すると、コハク酸、フマル酸、リンゴ酸などによく移行した。コハク酸-¹⁴C を添加した場合はフマル酸とリンゴ酸にまで移行してもクエン酸への変化はわずかであつた。

(4) グルコース-U-¹⁴C, クエン酸-1, 5-¹⁴C, コハク酸-1, 4-¹⁴C をフラベド切片に添加して ¹⁴CO₂ の生成を測定したところ、コハク酸からの生産量が最も大きく、またその程度は 1°C 貯蔵果が 6°C 貯蔵果よりも大であつた。

(5) 1°C 貯蔵の果実は、障害発生以前においても、6°C 貯蔵のものに比べて多量のエチレンを生産していた。

(6) 普通の条件では障害の発生しない温度である 6°C において、500 ppm のエチレン処理を行なつたところ、30 日ころより低温障害に非常に類似した生理障害が進展した。

(7) 1°C 貯蔵果における代謝の異常とエチレン生産増大との関連性、ならびに低温障害発生に対するエチレンの役割について考察を行なつた。

有機酸の測定方法その他について京都大学食研葛西研究室下川敬之氏より御教示をいただいた。厚く感謝の意を表する。また本研究の一部は文部省総合科学研究費補助金に負うところがあつた。記して謝意を表する。

なお本研究の要旨は園芸学会昭和 43 年春季大会で発表した。

参 考 文 献

1. 浅田浩二・小西茂毅・下川敬之・斎藤和実. 1966. クロマトグラフィーによる分析法. 土肥誌. 37: 85~112.
2. BURG, S. P. 1962. The physiology of ethylene formation. Ann. Rev. Plant Physiol. 13: 265~302.
3. GIBSON, M. S. and F. L. CRANE. 1962. Ethylene production by *penicillium digitatum* Sacc. Plant Physiol. Supplement. 18.
4. ————. 1964. Organic acids as sources of carbon for ethylene production. Nature 202: 902~903.
5. GRIFFITHS, D. G. and N. A. POTTER. 1949. Effects of the accumulation of volatile substances produced by apples in gas storage. J. Pom. Hort. Sci. 25: 10~18.
6. HANSEN, E. 1939. Effect of ethylene on certain chemical changes associated with the ripening of pears. Plant Physiol. 14: 145~161.
7. 平井重三・平田尚美・堀内昭作. 1967. 油処理によるイチジク果実の成熟促進に関する研究（第4報）. 園学雑. 36: 268~274.
8. ————. 1968. ————. (第6報). 園学雑. 37: 20~29.
9. HULME, A. C. 1956. Carbon dioxide injury and the presence of succinic acid in apples. Nature 178: 218~219.
10. ————, W. H. SMITH and L. S. C. WOOLTON. 1964. Biochemical changes associated with the development of low-temperature breakdown in apples. J. Sci. Food Agric. 15: 303~307.
11. 井口 透. 1957. エチレンガス処理による柿果の軟熟機構について. 園芸学会昭和 32 年春発表要旨.
12. 岩田 隆・大亦郁子・緒方邦安. 1965. 収穫後の果実の成熟に関する生理学的研究（第2報）. 園芸学会昭和 40 年春発表要旨.
13. ————・中川勝也・———. 1968. ナツミカン果実貯蔵中の低温障害に関する生理学的研究（第1報）. 園学雑. 37: 383~390.
14. LIEBERMAN, M., M. C. C. CRAFT and M. S. WILCOX. 1959. Effect of chilling on the chlorogenic acid and ascorbic acid content of Porto Rico sweetpotatoes. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 74: 642~648.
15. ————, and L. W. MAPSON. 1964. Genesis

- and biogenesis of ethylene. *Nature* 204 : 343~345.
16. ———. and A.T. KUNISHI. 1965. Ethylene production from methionine. *Biochem. J.* 97 : 449~459.
17. MATZ, S. A. 1962. *Food Texture*. (AVI Publish. Co. Inc.).
18. MCGLOSSON, W.B. and H. K. PRATT. 1964. Effects of wounding on respiration and ethylene production by tissue slices from cantaloupe fruits. *Plant Physiol.* 39 : 128~132.
19. 邨田卓夫・小机信行・緒方邦安. 1967. パナナ果実の追熟生理および貯蔵に関する研究 (第7報). *食品工誌*. 14 : 348~353.
20. 緒方邦安・邨田卓夫・岩田 隆. 1959. リンゴ果実の揮発性成分に関する研究. *園学雑*. 28 : 12~18.
21. ROOD, P. 1956. Relation of ethylene and post-harvest temperature to brown spot of lettuce. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 68 : 296~303.
22. SHIMOKAWA, K. and Z. KASAI. 1966. Biogenesis of ethylene in apple tissue. I. *Plant and Cell Physiol.* 7 : 1~9.
23. UOTA, M. and D.H. DEWEY. 1953. The respiration and volatile emanation of Bartlett pears as influenced by post-harvest treatment with ethylene and 2,4,5-T. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 61 : 257~264.
24. ———. 1955. Effect of temperature and ethylene on evolution of carbon dioxide, ethylene, and other oxidizable volatiles from three varieties of plum. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 65 : 231~243.
25. WANG, C.H., A. PERSYN and J. KRACKOV. 1962. Role of Krebs cycle in ethylene biosynthesis. *Nature* 195 : 1306~1308.
26. WILLIAMS, M. W. and M.E. PATTERSON. 1964. Nonvolatile organic acids and core breakdown of Bartlett pears. *J. Agric. Food Chem.* 12 : 80~83.
27. YONG, R.E., H. K. PRATT and J. B. BIALE. 1952. Manometric determination of low concentrations of ethylene. *Ann. Chem.* 24 : 551~555.