いろいろな生育段階における温州ミカン 果実のエチレン生成

兵 藤 宏・邨田卓夫

(静岡大学農学部)

Ethylene Production by Satsuma Mandarin Fruit Harvested at the Various Stages of Development

Hiroshi HYODO and Takao MURATA

Faculty of Agriculture, Shizuoka University, Ohya, Shizuoka

Summary

A marked production of ethylene by immature Satsuma mandarin fruit (*Citrus unshiu* MARCOVITCH, cv. ISHIKAWA) harvested in June and July occurred during incubation at 20°C in the dark after picking. The ability of ethylene production by the fruit conspicuously diminished in August and a trace of ethylene was evolved by the fruit harvested in September and October. The rate of ethylene production per fruit was highest in the fruit harvested in early July.

The remarkable ethylene production was accompanied by an increase in respiration, destruction of chlorophyll and abscission of calyx, the phenomenon being very similar to that revealed by the climacteric type fruits.

When discs are prepared from albedo tissue of immature fruit and incubated at 20°C, a great increase in ethylene production occurred in a short period which continued for 20 hr and then declined.

Discussion was made on a mode of ethylene production and an accompanied rise in respiration exhibited by immature citrus fruit in relation to the climacteric induced by ethylene of climacteric type fruits.

緒 言

果実のエチレン生成と呼吸の増加については数多くの総説があらわされている (5, 6, 7, 8, 17, 21, 23) BIALLE は果実を採取後の呼吸のパターンから大きく二つの型に類別した (5, 6). バナナ, アボカド, リンゴのような climacteric 型呼吸を示すものに対して成熟カンキツ類果実は呼吸上昇を示さずむしろ徐々に低下することから nonclimacteric 型とした. しかしカンキツの幼果, 未熟果はエチレン生成とそれにとまなう呼吸の増加が起きることを AHARONI (1) はオレンジを用いて明らかにした. さらに AHARONI は成熟カンキツ果実は post-climacteric の段階とみなされると述べた. しかしこのことは, 成熟果実がエチレン添加により呼吸の上昇が可逆的にくりかえし起きることから, いわゆる climacteric 型果実の postclimacteric 段階とは質的に異なることが示された (2, 9, 22). Eaks (12) はグレープフル

ーツ, オレンジの幼果で AHARONI と同様にエチレンの生成と呼吸の増加を観察した. 彼は幼果での呼吸上昇は pseudoclimacteric であり真の climacteric ではないとした. 邨田と宮下 (20) は温州ミカンの幼果で採取後顕著なエチレン生成と呼吸の増加がみられることを報告した. また果実を切断することにより著しいエチレンの生成があることを述べた. 大東ら (10) も同様に温州ミカンの未熟果でエチレンの発生を観察した. 今回著者らは温州ミカンを用いて生育のいろいろな段階で採取後のエチレン生成がどのように起きるか, またエチレン生成と呼吸などの生理的変化がどのように関連があるかを調べたのでここに報告する.

材料および方法

使用した温州ミカン (*Citrus unshiu* MARCOVITCH, cv. ISHIKAWA) は静岡大学農学部付属農場で栽培された 16 年生樹のものから採取された. 果実は有葉果を用い 1971 年 6 月から 11 月の間に採取されたものが使用された.

1972 年 8 月 8 日受理

果実は採取後果実の数、大きさに応じて、適当な大きさの容器 (100ml, 500ml のエルレンマイヤーフラスコ, 1.5l のデンシテータ) に入れ serum cap (Scientific Glass Apparatus Co., Inc. N.J.) あるいはシリコンゴム栓をして 20°C で暗所に放置した。毎日 1 回栓から注射針を通して気体を取りそのエチレン含量を測定した。エチレンは日立 023 型ガスクロマトグラフに高感度増幅器を接続し水素炎イオン化検出器を用いて測定した。カラムは活性アルミナを用いた。エチレン生成量は $\mu\text{l/kg/hr}$, あるいは $\text{m}\mu\text{l/g/hr}$ であらわした。またエチレン生成量を果実 1 個あたりに換算した $\mu\text{l/fruit/hr}$ も用いた。いづぼう組織のエチレン生成は果皮を径 9mm のコルクボーラーで打ちぬき得られたディスクからフラベドを切除しアルベドを分離した。それを 100ml のエルレンマイヤーフラスコに入れ serum cap をして 20°C, 暗所に放置して一定時間ごとに注射器で気体をぬきとりガスクロマトグラフで測定した。毎回一定時間ごとの測定の後には通気をした。呼吸の測定は発生した CO_2 を 2N KOH に吸収させ、塩化バリウム水を加え、過剰のアルカリを 0.2N HCl で滴定し、算出した。

結 果

温州ミカンの生育のいろいろな段階で果実を採取し暗所に 20°C で容器に封入し、その間のエチレン生成量を測定した結果が図 1 に示されている。6 月 14 日に採取した果実は 1 個あたりの平均重量は 1.27g で、採取後 7 日頃から著しいエチレン生成がみられた。10 日過ぎると果実は著しく黒かつ変をおこし腐敗した。6 月 23 日採取の果実はエチレン生成量はさらに増加し 11 日目頃から黒かつ変ひどく腐敗した。7 月 3 日に採取した果実はエチレン生成量が少し減少したが 7 月 6 日、10 日に採取した果実ではエチレン生成のピークは高くなった。図中矢印で示されたところから果実は黄化がみられた。7 月 17 日採取の果実は平均重量が 12.5g でエチレン生成量はかなり低下した。採取後 8 日経過しても果実はひどい黒かつ変をきたさず腐敗しなかつた。果実の表面にはかつ色のはん点があられた。7 月 27 日採取の果実ではエチレン生成量はさらに低下した。採取後 11 日経過しても果実は著しい黒かつ変を起

こさなかつた。果実のエチレン生成にともない果皮のクロロフィル分解とへの離脱がみられた。8 月 16 日に得た果実ではエチレン生成量はさらに大きく低下し生成量の極大は 7 日後で $2.27 \mu\text{l/kg/hr}$ であつた。採取時期がおくれるにつれてエチレン生成量はますます低下し 10 月 16 日の果実 (平均重量 137g) では極大値 (採取後 14 日) は $0.12 \mu\text{l/kg/hr}$ であつた。図 2 には各採取時期の果実について摘果後のエチレン生成量の極大値 ($\mu\text{l/kg/hr}$) とそれを果実 1 個あたりの生成量に換算した値 ($\mu\text{l/fruit/hr}$) の変化が示されている。重さあたりのエチレン生成量では二つのピークがみられる。エチレン生成能は 8 月に入ると著しく低下した。果実あたりのエチレン生成能は 7 月 10 日採取のものが最も高い値を示した。

エチレン生成にともない果実内部にはいろいろの生理的变化がおきる。すでに述べたように黄化 (クロロフィル分解) とがくの離脱 (離層形成) であるがもう一つ著しいのは呼吸の増加である。図 3 には 7 月 27 日採取の果実についてエチレン生成と呼吸 (CO_2 排出) の増大

Fig. 1. Ethylene production by Satsuma mandarin fruit at 20°C harvested at different stages of development. The points labeled with arrows indicate the times when fruits are turning yellow. The abscissa shows days after picking.

Fig. 2. Maximum rates of ethylene production by Satsuma mandarin fruit picked at various stages of development from June to October 1971. The rate of ethylene production was expressed as both μl per kg per hr (○—○) and μl per fruit per hr (●.....●).

との関係が示されている。

図にみられるように急激なエチレン生成にともない、顕著な呼吸の増加が起きている。この増加はエチレン生成がおとろえるにつれて止んだ。このエチレンによる呼吸促進の効果は外から与えたエチレンによつても同様にひきおこされた (図4)。

8月16日採取の果実に摘果後1日してエチレン ($65 \mu\text{l/l}$) を与えると果実の呼吸は増大する。1日おいてさらに同じ濃度のエチレンを1日間処理すると呼吸はさらに増大し2日後にピークに達しその後徐々に減少した。エチレン処理をしない果実では採取後6～8日で少しの呼吸の増大がみられた。これは内生エチレンの生成の増加時期 ($2.27 \mu\text{l/kg/hr}$) と一致している。

果皮のアルベド切片 (径 9mm) は 20°C 、暗所に保つ間に無傷の個体のレベルとは異なりごく短時間内に急速なエチレン生成がみられた。図5は7月30日採取の果実についての実験である。アルベド切片を調整してから2時間後には明らかなエチレン生成がみられ24時間後

Fig. 3. Ethylene production and respiration of Satsuma mandarin fruit at 20°C harvested July 27. Open circles and full circles represent respiration (CO_2 output, mg/kg/hr) and ethylene production ($\mu\text{l/kg/hr}$), respectively. The point labeled with an arrow indicates the time when fruits are turning yellow. The abscissa shows days after harvest.

Fig. 4. Respiration and respiratory response to ethylene of Satsuma mandarin fruit at 20°C harvested August 16. Ethylene ($65 \mu\text{l/l}$) was applied to the fruits alternatively from the first to second day and from the third to fourth day after picking. Open circles and open triangles represent control fruits and ethylene treated fruits, respectively.

Fig. 5. Ethylene production by albedo tissue of Satsuma mandarin fruit at 20°C. The albedo tissue was prepared from the fruits harvested July 30.

にはエチレン生成量は非常に増加した。その後生成量は徐々に低下した。

考 察

カンキツ果実は climacteric をもたない nonclimacteric 型の果実と分類されている (5, 6)。これは成熟果実がエチレン生成を行わず従って呼吸の増加をひきおこさないことに由来している。Aharoni らにより明確に示されたようにカンキツ果実の幼果では著しいエチレン生成がありそれにとまらう呼吸の増加がみられる。温州ミカン果実を用いた今回の実験でも Aharoni (1), Eaks (12), 邨田ら (20) の実験結果と同様な結果が得られた。すなわち温州ミカンの幼果では採取後数日すると著しいエチレンの生成が起きた。採取当日の生成量は幼果、未熟果、成熟果にかかわらずいずれも大変低く多いときでも $0.2 \mu\text{l/kg/hr}$ 以下であった。ほとんどの場合 $0.1 \mu\text{l/kg/hr}$ に満たなかつた。果実が生育するにつれてエチレン生成能は低下し 8 月に入ると極度に落ちた。ほかの果実の場合と同じくエチレン生成にとまらう呼吸の促進、クロロフィルの分解などが観察された。この現象は climacteric 型のバナナ、アボカドなどの climacteric と大変相似している。

幼果でみられる高いエチレン生成能の生理的意味としては落果との関連が考えられるかもしれない。事実エチレン生成能は 6 月から 7 月にかけての果実に著しく、この頃の自然落下の時期と合っている。幼果でみられる摘果後数日しての顕著なエチレン生成の原因としてどのよ

うなことが考えられるだろうか。ごく小さい果実の場合はひどい黒かつ変をきたし最後に腐敗するのでとくにその生理的变化と関連があるかもしれないが、一般に次のような場合が考えられるかもしれない。果実においてエチレン生成の基質としてメチオニンが考えられている (3)。(a) 基質の量が増加する。(b) メチオニンからエチレン生成の酵素系が誘導される。その酵素系を誘導するためある種の物質が生成される。(c) エチレン生成を抑えているある種の物質があり、その物質が消失するためにエチレン生成系が活発に動き出す。(a) については基質が急激に増大するのは考えにくいように思われる (3)。(b) について、えんどう胚軸 (15)、緑豆胚軸 (24) にインドール酢酸 (IAA) を与えることにより著しいエチレンの生成がおきることが報告されている。IAA のようにある種の物質が増加してエチレン生成を促進するかもしれない。(c) については (b) と相反するようにみえるが、摘果することにより、葉から送られていた成分あるいは着果していた時に生成されていた成分で果実のエチレン生成を抑えていると思われる物質が徐々に代謝され消失することによりエチレン生成系が動き出すという考え方である。In vitro でペルオキシダーゼによるエチレン生成には *o*-diphenols (例えばコーヒー酸、クロロゲン酸) が強い阻害剤であることが報告されている (25)。しかしこれに対して Fuchs (13) はオレンジ果皮によるエチレン生成にはカテコールが強い促進効果をもっていることを観察している。(b) と (c) に共通の意味をもつものとして果実内のオーキシン、ジベレリンのようなホルモンの量的あるいは相互のバランスの変動も考えられるかもしれない。果実が成熟するにつれてエチレン生成能は失われてゆくが、これはエチレン生成系を抑えている物質の代謝能が失われるのか、あるいはホルモンバランスがエチレン生成に不利なようにかたむくことに由来するかもしれない。これらは推察にすぎないが今後検討すべき問題と考えられる。

カンキツ果実は成熟過程で大変生理的状态がちがつてゆくようにみえる。たとえば著者らの温州ミカンを用いた phenylalanine ammonia-lyase (PAL) の実験で幼果においてこの酵素の活性は非常に高いが 7 月半ばすぎには活性はほとんど消失してしまうことがみいだされた (兵藤、浅原、投稿中)。

アルベド組織の切片をインキュベーションすると非常に短時間のうちに急激なエチレン生成が起きた。フラベド組織もエチレン生成があるが少量であった。このエチレン生成は個体レベルでのものと様相が異なっており、傷害により誘導されるものと思われる。傷害組織でのエ

チレン生成はメロン果肉切片 (18), サツマイモ塊根切片 (14), バナナ果肉のスライス (16), などで報告されている。カンキツ果皮の傷害組織におけるエチレン生成で FUCHS (13) はカテコールを与えることによりエチレン生成が促進されると述べているがエチレン生成の機構についてはわかっていない。たほうオレンジ果実に CuCl_2 を添加すると (4), またカンキツの葉を凍害にさらすとエチレン生成が促進されることも知られている。

カンキツ果実をエチレン処理すると呼吸が促進されることは古くから知られている (9, 11, 22)。今回の実験においても内生のまた外から与えられたエチレンはともに果実の呼吸を増加させることがみとめられた。成熟果ではエチレンにより可逆的に呼吸の増大がひきおこされる。これは成熟果実がエチレン生成能力がないためにエチレンを与えてもエチレンが作られないので与えたエチレンをとり去ると呼吸が低下することによると考えられている (19)。今果実を climacteric 型と nonclimacteric 型の二つに類別した場合その性質のちがいはエチレンによるエチレンの誘導生成があるかないかに基因すると考えてもよいのではなかろうか (17)。すなわち climacteric 型果実では内生のあるいは外から与えられたエチレンにより多量の内生エチレンが生成され、それによって呼吸のがひきおこされる。いつぼう nonclimacteric 型果実では少量のエチレンが与えられてもエチレン生成が誘導されず climacteric 呼吸は起こらない。しかし十分な濃度のエチレンを与えるとその間呼吸が増加する。こうしてみるとカンキツの幼果は climacteric 型 (あるいは pseudoclimacteric 型) に類別されることもできよう。エチレンによる呼吸促進の機構についてはまだ十分に説明されていない。今後解明されるべき問題の一つと考えられる。

摘 要

温州ミカンの6月—7月に採取した幼果で摘果後数日して著しいエチレン生成が起きた。8月に入ると果実のエチレン生成能は非常に低下し、9月、10月に採取した果実ではエチレン生成はほんのわずかであつた。果実あたりのエチレン生成量は7月初旬のものが最も高かつた。エチレン生成にともない顕著な呼吸の増加が起こり、果皮のクロロフィル分解、がくの離脱も生じた。この現象は climacteric 型果実のエチレンによつてひきおこされる呼吸の climacteric と非常に類似したものであつた。果皮のアルベド組織の切片をインキュベーションすると非常に短時間のうちに著しいエチレン生成がみられた。これは個体レベルでのエチレン生成とは様相が異なり傷害による誘導と思われる。カンキツ幼果のエチレン生成

に関してエチレン生成とその誘導、climacteric 果実と nonclimacteric 果実の比較、カンキツの幼果と熟果のちがいなどが考察された。

引 用 文 献

1. AHARONI, Y. 1968. Respiration of oranges and grapefruits harvested at different stages of development. *Plant Physiol.* 43: 99-102.
2. ———, F. S. LATTAR, and S. P. MONSELISE. 1969. Postharvest response of oranges to ethylene. *Plant Physiol.* 44: 1473-1474.
3. BAUR, A. H., S. F. YANG, H. K. PRATT, and J. B. BIALE. 1971. Ethylene biosynthesis in fruit tissue. *Plant Physiol.* 47: 696-699.
4. BEN-YEHOSHUA, S. and R. H. BIGGS. 1970. Effects of iron and copper ions in promotion of selective abscission and ethylene production by citrus fruit and the inactivation of indoleacetic acid. *Plant Physiol.* 45: 604-607.
5. BIALE, J. B. 1960. The postharvest biochemistry of tropical and subtropical fruits. *Adv. in Food Res.* 10: 293-354.
6. ———. 1960. Respiration of fruits. *Handbuch der Pflanzen Physiologie.* 12: 536-592. Springer Verlag, Berlin.
7. BURG, S. P. 1962. The physiology of ethylene formation. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 13: 265-302.
8. ———, and E. A. BURG. 1965. Ethylene action and ripening of fruits. *Science.* 148: 1190-1196.
9. CRAFT, C. C. 1970. Respiratory response of lemons to ethylene. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 95: 689-692.
10. 大東 宏・広瀬和栄・竹野 斌. 1971. カンキツの成熟に関する研究 (第1報) 温州ミカン果実の呼吸強度およびエチレン発生量の消長について。園芸学会昭和 46 年度春季大会研究発表要旨 42-43
11. DENNY, F. E. 1924. Effect of ethylene upon respiration of lemons. *Bot. Gaz.* 77: 322-329.
12. EAKS, I. L. 1970. Respiratory response, ethylene production, and response to ethylene of citrus fruit during ontogeny. *Plant Physiol.* 45: 334-338.
13. FUCHS, Y. 1970. Ethylene production by citrus fruit peel. *Plant Physiol.* 45: 533-534.
14. IMASEKI, H., I. URITANI, and M. A. STAHMANN. 1968. Production of ethylene by injured sweet potato root tissue. *Plant & Cell Physiol.* 9: 757-768.
15. KANG, B. G., W. NEWCOMB and S. P. BURG. 1971. Mechanism of auxin-induced ethylene production. *Plant. Physiol.* 47: 504-509.
16. MCGLOSSON, W. B. 1969. Ethylene produ-

- ction by slices of green banana fruit and potato tuber tissue during the development of induced respiration. *Aust. J. Biol. Sci.* 22: 489-491.
17. ———. 1970. The ethylene factor. The biochemistry of fruits and their products. Vol. 1, pp. 475-519. ed. by A. C. Hulme, Acad. Press.
 18. ———, and H. K. PRATT. 1964. Effects of wounding on respiration and ethylene production by cantaloupe fruit tissue. *Plant Physiol.* 39: 128-132.
 19. MCMURCHIE, E. J., W. B. MCGLOSSON and I. L. EAKS. 1972. Treatment of fruit with propylene gives information about the biogenesis of ethylene. *Nature*. 237: 235-236.
 20. 邨田卓夫・宮下幸郎. 1971. 柑橘類果実の生理および貯蔵に関する研究 (第1報) 柑橘類果実幼果の呼吸とエチレン生成について. *園学雑*. 40: 74-80.
 21. PRATT, H. K., and J. D. GOESCHL. 1969. Physiological roles of ethylene in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 20: 541-584.
 22. REID, M. S., and H. K. PRATT. 1972. Effects of ethylene on potato tuber respiration. *Plant Physiol.* 49: 252-255.
 23. RHODES, M. J. C. 1970. The climacteric and ripening of fruits. The biochemistry of fruits and their products. Vol. 1, pp. 521-533. ed. by A. C. Hulme, Acad. Press.
 24. SAKAI, S., and H. IMASEKI. 1971. Auxin-induced ethylene production by mungbean hypocotyl segments. *Plant & Cell Physiol.* 12: 349-359.
 25. YANG, S. F., and A. H. BAUR. 1969. Pathways of ethylene biosynthesis. *Qual. Plant. Mater. Veg.* 19: 201-220.
 26. YOUNG, R. and F. MEREDITH. 1971. Effect of exposure to subfreezing temperatures on ethylene evolution and leaf abscission in citrus. *Plant Physiol.* 48: 724-727.