モモ果実の追熟, 老化に伴うアブシジン酸及びファゼイン酸の消長

土田廣信¹・水野 進¹・小机信行²

¹神戸大学共同研究開発センター 657 神戸市灘区六甲台町

²賢明女子学院短期大学 670 姫路市本町

Changes in Absciscic and Phaseic Acids during Ripening and Senescence of Peach Fruits

Hironobu TSUCHIDA¹, Susumu MIZUNO¹ and Nobuyuki KOZUKUE²

¹Center for Development of Cooperative Research, Kobe University, Kobe 657

²Department of Home Economics, Kenmei Junior College, Himeji 670

Summary

Changes in contents of absciscic acid (ABA) and phaseic acid (PA) of peach fruits were examined during post-harvest ripening and senescence.

1. Immediately after harvesting, the content of ABA in peach fruits was 0.12 µg per g. of fresh weight. Its content increased to maximum 4.20 µg/gFW after 5 days in storage at 20°C. The presence of two isomers (cis- and trans forms) ABA was confirmed by GLC and GLC-MS and their contents were determined by an internal standard method. The results indicated that most of the increased ABA during ripening was trans-isomer.

2. Phaseic acid, which is known as an ABA-like bioactive compound among some ABA-metabolites, was detected in peach fruits. The content of PA in the fruits increased with proceeding of ripening and senescence. A correlation between the increase of PA content and softening of the peach flesh may involve a certain participation of PA in the softening process of peach flesh (ripening and senescence).

緒 言

果実の成熟にエチレンが重要な役割をはたしていることはよく知られている(2, 14). ところが, ある種の果実では成熟過程を通してエチレンの増加は認められないが, アブシジン酸 (ABA) の増加が観察される(3, 9) ことから, おそらく果実の成熟, 追熟には ABA も密接に関与しているものと推察されている. 一方, ABA と同様の生理活性を示す ABA 代謝物の一つであるファゼイン酸 (PA) の成熟, 追熟, 老化過程における消長については殆んど解明されていない.

そこで本研究ではモモ果実を 20°C に貯蔵し, 貯蔵中のエチレン含量を測定するとともに果肉中の ABA の 2 種類の異性体の含量比及びその含量, さらに ABA 代謝物である PA 含量を経時的に測定することにより, 果実の追熟, 老化の機構の一端を追求したものである.

材料及び方法

1. 供試材料

モモ果実 (*Prunus persica*) '大久保' (神戸大学農学

1989 年 8 月 28 日 受理

部付属農場産) を適熟期(1984 年 7 月 25 日)に採取した. 収穫後, 呼吸量及びエチレン生成量の測定の試料については, Workman ら(18)の方法に準じ, 通気式の貯蔵用ガラス製瓶に入れ, 20°C で貯蔵した. また, ABA 及び PA 測定用試料については, 有孔ポリエチレン袋に入れ 20°C 暗所で貯蔵した.

2. 貯蔵中の炭酸ガス及びエチレン排出量の測定

通気瓶中の果実が排出した炭酸ガス量については熱伝導検出器 (TCD) を付設したガスクロマトグラフィー(10), またエチレン生成量については水素炎検出器 (FID) を付設したガスクロマトグラフィー(7)により測定した.

3. 硬度の測定

モモ果肉の硬度の測定には, イマダ製ブッシュプールのスケール PS 型 (ピンゲージの外径 3 mm) を用い, 果肉中央部にピンゲージを差込み, その時の圧縮量を計測した.

4. ABA 及び PA の抽出

収穫後の果実ならびに所定日数貯蔵した果実の果肉部

を液体窒素で凍結し、 -20°C で保存した試料それぞれ 30 g を冷メタノールで 3 回抽出し、これを 30°C で減圧濃縮した。これに 0.1 N 水酸化ナトリウム溶液を加え、pH 9.0 に調整したのち、石油エーテル可抽出成分を除去し、次いで希塩酸で pH 3.0 に調整して酢酸エチルで 4 回抽出した。得られた抽出物を再び減圧濃縮したのち、小机ら(6) のセファデックス G-10 カラムクロマト法によって予備精製し、ABA を含む画分(この画分に PA も含まれている)を得た。

5. ABA 及び PA のガスクロマトグラフィー (GC)

1) トリメチルシリル誘導体の調製: Davis らの方法(4) によって 4 で得た ABA と PA を含む画分をビス-トリメチルシリルアセトアミド (BSA) でトリメチルシリル化したのち、GC 分析を行った。なお、定量分析には内部標準としてヘプタデカン酸トリメチルシリルエステルを用いた。

2) GC 分析条件: GC 分析には検出器として FID, 記録計付インテグレーターとしては島津製クロマトパック B-1 を附設した島津製ガスクロマトグラフ 8 A 型装置を使用した。また、カラムとしてはガラスカラム (3 mm $\times$ 3 m) に充填剤 (Gaschrom Q に 2% の OV-1 をコーティングしたもの, 100~120 mesh) を充填したカラムを使用した。なお、試料注入部及び検出部温度は 300°C , カラム温度は 120°C から 290°C (昇温速度 $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$), キャリアーガス(窒素ガス)の流速は 35 ml/min と設定し、分析を行った。

Fig. 1. Changes in the rates of carbon dioxide and ethylene evolution during storage at 20°C .

Fig. 2. Changes in hardness of peach fruit-flesh during storage at 20°C .

6. ABA 及び PA のトリメチルシリル誘導体のガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリー (GC-MS)

GC-MS 分析には日立ガスクロマトグラフ質量分析計 RUM-6 MG 型装置を用いた。分析条件はインターフェース温度 300°C , イオン化電圧 20 eV, 加速電圧 3.2 kV, イオン源温度 200°C に設定した。なお、GC の分析条件は上述と同一条件に設定した。

結果及び考察

1. モモ果実の貯蔵中の炭酸ガス及びエチレン排出量ならびに果肉硬度の変化

モモ果実はクライマクテリック型の呼吸型を示し、そのクライマクテリックピーク時期よりやや遅れてエチレン生成量が著しく増大することはすでに報告されている(5, 11, 16)。本研究においても同様の現象が認められた

Fig. 3. Gas chromatograms of both ABA and PA containing fraction obtained from peach fruits.

Fig. 4. Mass spectra of trimethylsilyl derivatives of cis-ABA, trans-ABA and PA.

(第1図)が、エチレン生成量の増大時期については、岩田ら(5)及び水野(11)が報告している時期よりは早く、蔡ら(16)の報告で述べている時期よりはやや遅れていた。

また、貯蔵期間中の果肉の硬度は急速に減少し、貯蔵12日後では当初の1/10に低下した(第2図)。

2. モモ果実中の cis- 及び trans-ABA ならびに PA の同定

貯蔵当初、5日貯蔵及び11日貯蔵したモモ果実から抽出し、セファデックス G-10 カラムで分画して得た含 ABA-PA 画分中の成分のトリメチルシリル誘導体のガスクロマトグラムを第3図に示した。これらクロマト上で検出されたピークのうち、黒色で示した2つのピークはそれぞれ標品 cis- 及び trans-ABA のトリメチルシリル誘導体の保持時間ならびにマスペクトル(第4図)と同一であった。一方、斑点で示したピークのマスペクトルは第4図に示したように、分子ピーク M^+ 424 を示しており、また GC の保持時間(4)から PA のトリメチルシリル誘導体と推定された。しかし、さらに明らかにするため、抽出物を予備精製したのち、Tietz ら(15)の TLC による分離法によって PA メチルエステルとして分離し、ケン化して得た PA のトリメチルシリル誘導体のマスペクトル、GC 保持時間を比較した。その結

果、第3図に示した斑点ピークは PA であると同定された。

3. 追熟、老化過程における ABA 及び PA 含量の消長

蔡ら(16)は、ナシ(‘パートレット’、‘幸水’、‘二十世紀’)、トマト‘福寿’、キウイフルーツ(‘ヘイワード’、‘ブルノー’)及びモモ‘太久保’の幼果と適熟果の追熟、老化過程におけるエチレン生成量と ABA 含量の相互関係を調べたところ、ABA の生成量とエチレン生成量との間には直接的な関係は認められないが、ABA 生成量の増加は追熟、老化(軟化、水浸状化)に何らかの関係があると推測されるような結果が得られたと報告している。この報告によれば、それら果実のなかでも追熟、老化の早いモモ果実では、ABA 含量がかなり高い値を示しており、増加時には $2.92 \mu\text{g/gFW}$ にまで達し、その後減少するパターンを示している。本実験においても、ABA (cis 型及び trans 型)の総含量を調べたところ、貯蔵中の増大時(貯蔵5日後)には $4.20 \mu\text{g/gFW}$ という一層高い値を示し、その後減少した(第5図)。貯蔵中の ABA 含量の増大パターンは蔡ら(16)の結果と類似の傾向を示したが、ABA の2つの異性体を別々に定量を行った結果、第1表に示したように、従来、生理活性の高いといわれている cis-ABA 含量は上述の ABA 総含量のような急速な変動は認められなかった。一方、

Table 1. Changes in cis-ABA and its trans isomer contents of peach fruits during storage at 20°C.

Days in storage	cis-ABA (ug/gFW)	trans-ABA (ug/gFW)	Ratio of trans-ABA to cis-ABA content
0	0.11	0.02	0.14
1	0.11	0.02	0.17
2	0.18	2.17	11.74
5	0.23	3.97	17.50
7	0.29	2.34	8.10
11	0.36	0.87	2.40

Fig. 5. Changes in total ABA contents of peach fruits during storage at 20°C. **Fig. 6.** Changes in PA contents of peach fruits during storage at 20°C.

trans-ABA の追熟、老化過程の変動パターンは ABA 総含量のそれに非常に類似していることが明らかになった。果実の追熟中に trans-ABA 含量が増加する現象は、すでに Bangerth(1) によって、リンゴ果実で確認されているが、本報のモモ果実の場合には、リンゴ果実より trans-ABA/cis-ABA 比の変化は著しく大きく、また、その速度も早かった。このことは、モモ果実の追熟、老化が早いことと何らかの関係があるように思われる。cis-ABA は光によってある程度 trans-体へ異性化

することはすでに知られている(8,13) が、ABA の抽出、分離条件はすべて同一条件で行ったので、増加した trans-ABA は貯蔵中に果実内で生合成されたものと考えられる。また、trans-ABA の生体内での生成は cis-体から異性化によって生成するものではなく、cis- 及び trans- 体はそれぞれ ABA 前駆体の段階で決定されていることが報告されているが(8)、果実の追熟過程における trans-ABA の増加の意義については全く明らかにされていない。今後、より多くの果実について、このような現象が認められるかどうか検討する必要があるように思われる。

PA は ABA 代謝産物での一つであり、ABA 様の生理活性を有することはすでに知られている(4,17)。従って、ABA が追熟、老化に何らかの関係があるとすれば、同時に PA の消長についても検討する必要があると考え、その含量の消長を調べた結果、第 6 図に示したように、貯蔵当初から 0.27 μg/gFW が検出され、その含量は cis-ABA 含量 (0.11 μg/gFW) より多く、追熟、老化の進行に伴い急速に増加した。すなわち、貯蔵 11 日後には 3.2 μg/gFW の値を示した。cis-ABA の増加率 (第 1 表) と比べると PA の増加率は約 3～4 倍高かった。PA は落果ホルモンとして知られているが(4,9)、以上の結果から追熟、老化にも何らかの関係があるものと予想される。特に、追熟、老化過程におけるモモ果肉の硬度の消長パターン (第 2 図) と PA の消長パターンを比べると、逆の関係が認められることから、果肉の軟化現象にも何らかの影響を与えているものと考えられる。

摘 要

本報はモモ果実 (*Prunus persica*) ‘大久保’ を収穫後、20°C に貯蔵し、追熟、老化に伴うアブシジン酸 (ABA) 及びファゼイン酸 (PA) の消長について検討を行ったものである。

1. 収穫当初のモモ果実の ABA 総含量は 0.12 μg/gFW であったが、追熟に伴い増加し、貯蔵 5 日後には最高値 4.20 μg/gFW に達した。ABA の二つの異性体 (cis- 及び trans- 体) の存在割合をガスクロマトグラフィー (GC) 及びガスクロマトグラフィー・マスマスペクトロメトリー (GC-MS) で検討した結果、追熟に伴い増加した ABA のほとんどのものが trans- 異性体であることが確認された。

2. ABA の代謝産物のうち、ABA 様生理活性を有することが知られている PA がモモ果肉中に存在することを確認すると同時に貯蔵中のその含量の消長について検討を行った。その結果、PA は追熟、老化に伴いほ

線的に急速に増加することが明らかになった。この消パターンは果肉の軟化の消長パターンと逆の関係にあることから、PA は果肉の軟化に何らかの形で関与しているものと思われた。

引用文献

1. BANGERTH, F. 1982. Changes in the ratio of cis-trans to trans-trans abscisic acid during ripening of apple fruits. *Planta* 155: 199-203.
2. BIALE, J. B. and R. E. YOUNG. 1981. Respiration and ripening of fruits. p. 1-40. In: J. Friend and M. J. C. Rhodes (eds.). Recent advances in the biochemistry of fruit and vegetables. American Press, London.
3. COOMBE, B. G. and C. R. HALE. 1973. The hormone content ripening grape berries and the effect of growth substance treatment. *Plant Physiol.* 51: 629-634.
4. DAVIS, L. A., J. L. LYON and F. T. ADDICOTT. 1972. Phaseic acid: Occurrence in cotton fruit: Acceleration. *Planta* 102: 294-301.
5. 岩田 隆・大亦郁子・緒方邦安. 1969. 果実の収穫後における成熟現象と呼吸型の関係 (第3報) 果実内エチレン濃度の変化及びエチレン処理に対する反応と呼吸型との関係. *園学雑.* 38: 350-358.
6. KOZUKUE, N., E. KOZUKUE, L. M. TSAY, M. SAWANO and S. MIZUNO. 1984. Determination of indole-3-acetic acid and abscisic acid in Japanese chestnuts by column chromatography on Sephadex G-10 and reversed phase high performance liquid chromatography. *J. Chromatog.* 287: 121-127.
7. LYON, J. M. and H. K. PRATT. 1964. Effect of stage of maturity and ethylene treatment on respiration and ripening of tomato fruits. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 84: 491-500.
8. MILLBORROW, B. V. 1970. The metabolism of abscisic acid. *J. Exp. Bot.* 21: 17-29.
9. MILLBORROW, B. V. 1974. The chemistry and physiology of abscisic acid. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 25: 258-307.
10. MIZUNO, S. 1971. The use of Porapak for gas chromatograph equipped with two-stage column and practical application for respiration studies of storage commodities. *Sci. Rept. Fac. Agr. Kobe Univ.* 10: 11-13.
11. 水野 進. 1978. 呼吸パターンからみた成熟 (追熟). *園芸学会シンポジウム要旨*. 53秋: 155-163.
12. NEILLS, J., B. A. MCGAW and R. HORGAN. 1986. Ethylene and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid production in flacca, a wilted mutant of tomato, subjected to water deficiency and pretreatment with abscisic acid. *J. Exp. Bot.* 37: 535-541.
13. PLANCHER, B. 1979. Anmerkungen zur UV-Isomerization der Abscisin saure. *Gartenbauwissenschaften* 44: 184-191.
14. PRATT, H. K. and J. D. GOESHL. 1969. Physiological roles of ethylene in plant. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 20: 541-584.
15. TIETZ, D., K. DORFFLING, D. WOHRLE, I. ERXLEBEN and F. LIEMANN. 1979. Identification by combined gas chromatography-mass spectrometry of phaseic acid and dihydrophaseic acid and characterization of further abscisic acid metabolites in pea seedlings. *Planta* 147: 168-173.
16. 蔡 龍銘・水野 進・小机信行. 1984. 果実の追熟，老化に伴う呼吸及びエチレン発生とアブシジン酸の消長について. *園学雑.* 52: 458-463.
17. WALTON, D. C. 1980. Biochemistry of physiology of abscisic acid. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 31: 453-489.
18. WORKMAN, M., H. K. PRATT and L. L. MORRIS. 1957. Studies on the physiology of tomato fruits. I. Respiration and ripening behavior at 20°C as related to date of harvest. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 69: 352-365.