樹上完熟栽培におけるウンシュウミカン果実のじょうのう膜の変化

竹林晃男¹・片岡丈彦²・行永寿二郎³

¹近畿大学附属農場 643 和歌山県有田郡湯浅町

²京都府立大学農学部 606 京都市左京区下鴨半木町

³京都大学農学部 569 高槻市八丁畷町 12-1

Changes in Segment Membrane of Satsuma Mandarin as Related to Delayed Harvest

Teruo Takebayashi¹, Takehiko Kataoka² and Hisajiro Yukinaga³

¹Experimental Farm, Kinki University, Yuasa, Wakayama 643

²Faculty of Agriculture, Kyoto Prefectural University, Kyoto 606

³Faculty of Agriculture, Kyoto University, Takatsuki, Osaka 569

Summary

Physico chemical characteristics of segment membranes were studied in 'Miyagawa Wase' and 'Hayashi Unshu' as related to delayed harvest. In this study, we focused on segment membrane strength because it may be a critical factor in evaluating fruit quality.

1. Large fruits had thicker segment membranes than did small fruits in both cultivars. Segment membranes of developing fruits, while yet immature, became thinner in 'Miyagawa Wase' but thicker in 'Hayashi Unshu'. The membrane became thinner, however, in 'Hayashi Unshu' as the fruits matured.

2. Intrusive resistance as an index of segment membrane strength was higher in larger fruits. With the advancement of maturation, it became lower in 'Miyagawa Wase', whereas it showed little or no changes in 'Hayashi Unshu'.

3. Some morphological differences in cells of the segment membrane between the two cultivars were observed in late February. The inner epidermal surface of the segment membrane showed some cracking in 'Miyagawa Wase'. Cell size of the outer epidermis of the segment membrane was larger in 'Hayashi Unshu' than in 'Miyagawa Wase'. Some digestion of the cell membrane was found in the latter.

4. Cellulase and polygalacturonase activity in segment membrane increased more rapidly in 'Miyagawa Wase' than it did in 'Hayashi Unshu' after November as the fruit matured. Contents of cellulose and total pectic substances in the segment membrane per 100 g whole fruit fresh weight decreased rapidly after December. This tendency was more pronounced in the smaller fruits of 'Miyagawa Wase'. Cellulose content on a dry weight basis of alcohol insoluble solids (AIS), in segment membrane, was lowest in the smaller fruits of 'Miyagawa Wase'.

We believe that changes in segment membrane strength are caused, not only by digestion of the segment membrane through degradation of cellulose and total pectic substances, but also by qualitative changes of the membrane itself through the decrease of cellulose content as determined by AIS.

緒 言

早生ウンシュウミカンの果実が市場において高い評価を得るためには、果汁中の全糖含量が多いことや糖

酸含量のバランスが良いことのほかに、じょうのう膜が薄く、脆くなり食べやすいことが重要な要素であると考えられる。筆者ら(竹林ら, 1992)は越年樹上着果させた完熟果実において食味の向上が著しいことを認めた。

カンキツ類のじょうのう膜に関しては化学組成、と

1993年11月19日 受理。

本報告の一部は園芸学会平成4年度秋季大会および平成5年度秋季大会で発表した。

くに、ペクチン含量の変化について大東・佐藤 (1984), 倉岡ら (1975), 真部・猶原 (1986), 三浦ら (1963), 吉田 (1980), および猶原・真部 (1987) の報告がある。

しかし、ペクチン質以外の細胞壁構成物質やじょうのう膜の物理的性状については、長谷川・矢野 (1990) が膜の硬さを、岩切ら (1991) が膜の厚さの測定法を、山口ら (1991) が果実の熟度と膜の厚さについて、村松ら (1992) が膜の厚さと食味について報告しているのみである。また、これらは通常栽培における果実品質および育種親としての関連から検討されたものであり、じょうのう膜の脆弱化とその要因を検討したものではない。著者らは越年樹上完熟栽培におけるじょうのう膜の形質と果実の大小、果梗の太さ、果皮の厚さなどとの関係、および膜質の変化と品種や採取時期の関係を明らかにし、膜の脆弱化およびそれに関連していると考えられる2, 3の要因について検討した。

材料および方法

近畿大学附属農場 (和歌山県有田郡湯浅町) に栽培されている30年生早生ウンシュウ '宮川早生' と普通ウンシュウ '林温州' について、果実を1991年度はサイズ別に2S~3Lの6階級に、1992年度はS区 (2S~M), L区 (L~3L) の2階級に分け、11月から2月までの各月1回それぞれ10~30果を採取した。果径、果梗径はノギス (三豊 DP-IHS) で、果皮の厚さとじょうのう膜の厚さは測定面10 mm直径の厚さ計 (富士平 ATG-100) でそれぞれ測定した。じょうのう膜の強度は直径3 mmの円柱針を装着した果実硬度計 (藤原 KMH-51) による貫入抵抗値として表示した。果径および果皮の厚さは果実の赤道部を、果梗径は果梗基部から3 mmのところを、じょうのう膜の厚さおよび貫入抵抗はじょうのう側面の中央部付近をそれぞれ測定点とした。

また、1992年度はS階級果をS区、2L階級果をL区の代表として以下の実験を行った。

じょうのう膜の表面構造は走査型電子顕微鏡 (日本電子 JSM-5400LV) で観察した。

じょうのう膜中の細胞壁多糖類の分解酵素であるセルラーゼ (CE) とポリガラクトナーゼ (PG) の活性は、生体重で30 gのじょうのう膜 (じょうのうの側面部) を供試して Yamaki・Matsuda (1977) の方法に従い、pH 7.3のリン酸緩衝液を用いて氷温下で酵素を抽出し、セルラーゼはカルボキシメチルセル

ロース Na 塩に、ポリガラクトナーゼはペクチン酸 Na 塩にそれぞれ pH 5.5 の酢酸緩衝液を加え 30 °C で3時間作用させたのち、放出された還元糖を Somogyi-Nelson 法で求めて酵素活性とした。ペクチンメチルエステラーゼ (PE) の活性は Awad・Young (1979) の方法に従い、pH 7.58 に調整したペクチン基質上に、24 °C で10分間に生じた-COOH 基を NaOH で中和滴定する方法で測定した。

細胞壁の構成成分であるセルロースおよびヘミセルロース含量は、Van Soest (1963a, 1963b), Van Soest・Wine (1967) の detergent fiber 法に従い、アルコール不溶性物質 (AIS) に含まれる Neutral Detergent Fiber (NDF) 量、Acid Detergent Fiber (ADF) 量および ADF-リグニン量をそれぞれ求めて測定した。また、ペクチン質含量は第1図のとおり AIS より3分画に抽出してカルバゾール硫酸改良法により測定した。含量の表示において、「AIS 当たり」とはじょうのう膜の AIS 1 g に占める各成分の含量を示し、「生果実当たり」とは果肉および果皮を含む全果実 100 g に含まれるじょうのう膜の AIS 中の各成分含量を表示したものである。なお、各区とも 30~50 果より採取したじょうのう膜を混合して供試し、セルロースの分析は2反復、その他は4反復行った。

結 果

1. 果実形質の経時的変化

'宮川早生' および '林温州' 果実の発育後期における果実形質の経時的な変化を大きさ (階級) 別に示すと第2図のとおりである。'宮川早生' および '林温州' の

Fig. 1. Fractional extraction methods of pectic substances.

Fig. 2. Seasonal changes in fruit stalk diameter, peel, and segment membrane thickness in 'Miyagawa Wase' and 'Hayashi Unshu' fruits of different sizes. 3L, 80~88 mm in fruit diameter; 2L, 73~79 mm; L, 67~72 mm; M, 61~66 mm; S, 55~60 mm; 2S, 50~54 mm.

両品種とも果実が大きいかほど明らかに果梗は太く、果皮、じょうのう膜は厚かった。とくに、'宮川早生'のじょうのう膜の厚さは、いずれもおおよそ2階級下の'林温州'と同等の値を示し、L級以上とM級以下の差は顕著であった。'宮川早生'のじょうのう膜の厚さは調査期間中、いずれの階級においても僅かながら減少する傾向を示したが、'林温州'では3L区は1月に、他の区は12月に最大となった後減少した。

2. じょうのう膜の貫入抵抗

じょうのう膜の貫入抵抗値は第3図に示すとおりである。'宮川早生'の抵抗値は全般的に'林温州'より小さかったが、両品種とも果実が大きいかほど抵抗値も大きくなる傾向を示した。一方、'宮川早生'では着果期間が長くなるほど抵抗値は小さくなったのに対し、'林温州'の抵抗値は横ばいか、僅かに上昇する傾向が見られた。また、'宮川早生'のM級以下を除いて1月以降、抵抗値のばらつきが大きくなった。

次に、じょうのう膜の厚さと果皮の厚さ、果梗径、果実径との関係を第4図に示した。いずれも高い正の

相関を示し、'林温州'では1回帰式で、'宮川早生'ではS区とL区の2回帰式で示された。

3. じょうのう膜の表面構造

走査型電子顕微鏡でみた2月下旬のじょうのう膜の表面構造を第5図に示した。'宮川早生'の膜の内側の表面には亀裂が認められ、とくにS区の亀裂が大きかった。一方、膜の外側では両品種ともにS区の細胞よりL区の細胞の方が大きく、その形態は'林温州'は丸型で'宮川早生'は長型であり、また、'林温州'では組織がち密であったのに対し、'宮川早生'では組織の隙間が粗く、細胞壁に崩壊によると思われる小穴が観察された。

4. じょうのう膜中の細胞壁多糖類の分解酵素活性

じょうのう膜中の細胞壁多糖類の分解酵素活性の経時的な変化は第6図および第7図のとおりである。

'宮川早生'のS区のCEおよびPG活性は、ともに11月以降上昇して1月を最高に2月には急激に低下した。また、L区のCEおよびPG活性は2月に最も

Fig. 3. Changes in intrusive resistance of segment membranes in developing 'Miyagawa Wase' and 'Hayashi Unshu' fruits of different sizes. See Fig. 2 for size definition. Vertical bar indicates SD.

高く、S区の1月と同レベルとなった。'林温州'のPGおよびCE活性はともに2月まで上昇を示したが、その程度は'宮川早生'より小さかった。一方、各月におけるPE活性は'宮川早生'のS区とL区で有意な差が認められたが、'宮川早生'と'林温州'の差は明らかでなかった。

5. じょうのう膜の成分

じょうのう膜の構成成分であるセルロースおよびヘミセルロース含量の経時的な変化は第6図に示すとおりである。'宮川早生'のL区を除きセルロースはAIS当たりでも、生果実当たりでも、12月が最も高かった。各区を比較すると'林温州'のL区が最も高く、'林温州'のS区と'宮川早生'のL区がこれに次ぎ、'宮川早生'のS区は極端に低かった。ヘミセルロースは全般的に微増傾向であったが、区間差はほとんど認められなかった。

ペクチン質の経時的な変化は第7図に示すとおりである。AIS当たりでは各区とも水溶性ペクチンが成熟とともに増加し、塩酸可溶ペクチンは減少したが、シュウ酸アンモニウム可溶ペクチンには一定した傾向はなかった。一方、生果実当たりのペクチン質含量を比較すると、'宮川早生'のS区において各分画ともに低く、とくに成熟にともなう全ペクチン質含量の低下が著しかった。

考 察

ウンシュウミカン果実の食べ易さに影響のあるじょうのう膜の物理性には、その厚さと脆さが関与すると考えられる。厚さの点からは'宮川早生'および'林温州'

両品種とも果実が小さいほど薄く、とくに'宮川早生'のS区において、その程度が著しい。

村松ら(1992)、山口ら(1991)はじょうのう膜は成熟の進行とともに薄くなる傾向にあり、品種によってその減少率に違いがあると述べている。本実験においても'宮川早生'では成熟の進行とともに薄くなったが、'林温州'では12月あるいは1月まで、むしろ厚くなる傾向が認められた。

樹上越年完熟栽培におけるじょうのう膜の厚さと、果実の形質(果径、果皮の厚さおよび果梗径)との間には高い正の相関があった。このことは、果実の大きさや果梗の太さ、あるいは果皮の厚さから、じょうのう膜の厚さを推定できることを示したものである。

長谷川・矢野(1990)は、引張り圧縮試験機を使用してじょうのう膜の貫入抵抗値を一定条件のもとで測定し、その値が膜の固さを評価する指標となることを明らかにし、品種および系統により値が異なることを認めている。

果実の大きさの相違や成熟にともなう膜の厚さの変化との関連でみると、'宮川早生'は'林温州'に比べて貫入抵抗値が小さく、成熟の進行にしたがってさらに小さくなる傾向を示した。この傾向は小果において著しく、じょうのう膜が脆いことを示している。'林温州'は果実が小さいほど貫入抵抗も小さかったが、成熟の進行にしたがって横ばいかむしろ僅かながら増加する傾向を示した。樹上で越年着果させると'林温州'は'宮川早生'のS区に比べ浮き皮、す上がり果の発生が早く、その率が高い(竹林ら、1993)ことから、

Fig. 4. Correlation between peel thickness, fruit stalk diameter, and fruit diameter to thickness of segment membrane in 'Miyagawa Wase' and 'Hayashi Unshu' in mid-December. Small size (●), ≤ 60 mm in fruit diameter; large size (×) ≥ 73 mm. $n=35$.

浮き皮に起因するじょうのう膜中の水分の違いも原因のひとつであろうと思われる。また、1月以降一部の果実にはす上がりとともにじょうのう膜の劣化がみられ、'林温州'と'宮川早生'のL区で抵抗値のばらつきを大きくしたものと考えられる。したがって、樹上越冬により一部のじょうのう膜が脆弱化しても、食味の改善は期待できないと思われる。

そのほか、両品種の間ではじょうのう膜の外側の表

面構造で細胞の大きさや形に相違がみられ、'宮川早生'のS区では細胞壁に亀裂や崩壊が観察されるなど、これが膜の脆さの違いとして現れたものと考えられた。

寧ら (1990) はナシで、垣内ら (1992) はイチゴ、モモおよびブドウなどで、果実成熟にともなう軟化には酵素活性の増大やセルロース含量の減少と水溶性ペクチンの増加などが関与するとしている。じょうのう膜におけるCE活性は'宮川早生'では'林温州'よりも

Fig. 5. Scanning electron micrographs ($\times 500$) of the surface structure of segment membrane in late February. See Fig. 4 for size definition. $\blackleftarrow$ and $\blackrightarrow$ show digestion and crack in membrane wall, respectively.

高く11月以降上昇した。その結果として、じょうのう膜中のセルロース含量が12月以降少なくなったと考えられる。とりわけ‘宮川早生’のS区はL区に比べて著しく少なくなった。また、AISに占めるセルロ

ース含量も‘宮川早生’のS区で最も低かった。したがって、これらのことがじょうのう膜の脆弱化の一因であると考えられた。

一方、植物組織にはペクチン質を加水分解する作用

Fig. 6. Developmental changes in cellulose (●) and hemicellulose (▲), and cellulase activity (○) in segment membranes of 'Miyagawa Wase' and 'Hayashi Unshu'. See Fig. 4 for size definition. Vertical bar indicates SD.

Fig. 7. Seasonal changes in contents of water soluble (●), HCl soluble (▲), ammonium oxalate soluble (■) and total pectin (○), and activity of polygalacturonase (○), pectin methylesterase (△) in segment membranes of 'Miyagawa Wase' and 'Hayashi Unshu'. See Fig. 4 for size definition. Vertical bar indicates SD.

を持つ PG と、脱メチル化作用を持つ PE 酵素が存在し、組織の軟化と密接な関係があると考えられている(吉岡, 1992). PE 活性は‘宮川早生’の S 区と L 区の間には差が認められたが僅かであり、その他の区との間には差が認められず、ペクチン質の消長、とくに、‘宮川早生’の S 区でみられる全ペクチン含量の急激な低下を説明するには不十分であると思われる。一方、PG 活性では‘宮川早生’の S 区と L 区の間にみられる時期的な差が全ペクチン含量の低下時期のずれと一致した。AIS 当たりのペクチン質の推移は、成熟にともなうじょうのう膜中のペクチン質の質的变化を示すが、その変化は品種や果実の大きさに左右されなかった。一方、生果実当たりのペクチン含量には差があり、PG 活性の上昇によるペクチン質の分解がじょうのう膜の脆弱化に関与していると考えられる。しかし、ペクチン質はじょうのう膜の外にも溶出することも考えられ、その挙動については、さらに詳細な検討が望まれる。

摘 要

1. ‘宮川早生’および‘林温州’の果実について、じょうのう膜の形質と果実の大小、果梗の太さおよび果皮の厚さとの関係を明らかにするとともに、樹上完熟栽培果実におけるじょうのう膜の変化、とりわけ、食味品質に影響を及ぼす膜の脆弱化の要因について検討した。

2. 果実が大きいほど果梗は太く、果皮とじょうのう膜は厚かった。樹上完熟栽培期間中におけるじょうのう膜の厚さは‘宮川早生’では減少傾向を示し、‘林温州’では 12 月に最大となりその後減少した。

3. じょうのう膜の脆弱化の指標としての貫入抵抗値は、果実の大きさに比例した。‘宮川早生’では成熟が進むほどじょうのう膜の貫入抵抗値は小さくなったが、‘林温州’では成熟とともに横ばいか僅かに増大する傾向を示した。

4. じょうのう膜の表面細胞の形態に差が認められ、内側では‘宮川早生’に亀裂がみられた。外側の細胞は S 区のほうが L 区より小さく、さらに細胞構造が粗となり、崩壊の部分も観察された。

5. じょうのう膜におけるセルラーゼおよびポリガラクトクロナーゼ活性は、いずれも、11 月以降成熟とともに急激に上昇し、その程度は‘宮川早生’の方が‘林温州’より強かった。その結果として、生果実 100 g に含まれるじょうのう膜中のセルロース含量および全ペクチン含量はともに 12 月以降急速に少なくな

り、とりわけ、‘宮川早生’の S 区で顕著であった。また、‘宮川早生’の S 区ではじょうのう膜のアルコール不溶性物質 (AIS) に占めるセルロースの含量が最も低かった。したがって、じょうのう膜の脆弱化にはセルロースおよび全ペクチン含量の減少に見られるじょうのう膜の消化、および AIS に占めるセルロースの含量の低下に見られる膜の質的变化が関与しているものと考えられた。

引用文献

- Awad, M. and R. E. Young. 1979. Postharvest variation in cellulase, polygalacturonase and pectin-methylesterase in avocado (*Persea americana* Mill, cv. Fuerte) fruits in relation to respiration and ethylene production. *Plant Physiol.* 64: 306-308.
- 大東 宏・佐藤義彦. 1984. ウンシュウミカン果実の成熟に伴うペクチン含量の変化. *園学雑.* 53: 150-156.
- 長谷川美典・矢野昌充. 1990. カンキツ果実のじょうのう膜硬さの評価. *園学雑.* 59 (別 2): 700-701.
- 岩切 徹・新堂高広・野方俊秀. 1991. カンキツのじょうのう膜の厚さの測定法について. *園学雑.* 60 (別 2): 52-53.
- 垣内勝哉・寧 波・久保康隆・稲葉昭次・中村怜之輔. 1992. 数種果実の成熟に伴う果肉硬度と細胞壁多糖類の含量および分解酵素活性の変化. *園学雑.* 61 (別 2): 656-657.
- 倉岡唯行・岩崎一男・日野 昭・辻 博美. 1975. 温州ミカンの浮皮に関する研究 (第 3 報) 果皮内ペクチン質ならびにカルシウム含量について. *園学雑.* 44: 15-21.
- 真部正敏・猶原 順. 1986. 温州ミカンのペクチンの性状. *日食工誌.* 33: 602-608.
- 村松 昇・高辻豊二・緒方達志・高原利雄. 1992. カンキツ類のじょうのう膜の厚さと食味について. *園学雑.* 61 (別 2): 6-7.
- 三浦 洋・萩沼之孝・水田 昂. 1963. 温州ミカンおよびナツミカンのペクチンの性状に関する研究. *園学雑.* 32: 27-37.
- 寧 波・久保康隆・稲葉昭次・中村怜之輔. 1990. ナシ果実の成熟特性の比較—特に果肉硬度の変化について. *園学雑.* 59 (別 2): 718-719.
- 竹林晃男・片岡丈彦・行永寿二郎. 1992. ウンシュウミカンの樹上完熟栽培と普通栽培ならびに銘柄産地の果実品質の比較. *園学雑.* 61: 39-47.
- 竹林晃男・片岡丈彦・行永寿二郎. 1993. カンキツ類の樹上完熟栽培果実の障害発生と品質の経時的変化. *園学雑.* 62: 305-316.
- Van Soest, P. J. 1963 a. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. I. Preparation of fiber residue of low nitrogen content. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 46: 825-828.
- Van Soest, P. J. 1963 b. Use of detergents in the analy-

- sis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fibre and lignin. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 46 : 829-832.
- Van Soest, P. J. and R. H. Wine, 1967. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 50 : 50-53.
- 山口清二・香月 浩・片山幸良・永淵 肇. 1991. カンキツの完熟果に関する調査. 佐賀大学農場報告. 5 : 13-28.
- Yamaki, S. and K. Matsuda. 1977. Changes in the activities of some cell wall-degrading enzymes during development and ripening of Japanese pear fruit (*Pyrus serotina* Rehder var. *culta* Rehder). Plant Cell Physiol. 18 : 81-93.
- 吉田保治. 1980. 温州ミカンの果汁に関する基礎的研究. 京都大学学位論文.
- 吉岡博人. 1992. 果実・野菜組織の軟化とペクチン及びペクチン分解酵素. 日食工誌. 39 : 733-737.
- 猶原 順・真部正敏. 1987. 温州ミカン果実の成長に伴うペクチンの性状変化. 日食工誌. 34 : 386-391.