[農化 第 52 巻, 第 10 号, p.489~491, 1978]

温州ミカン (*Citrus unshiu* Marc.)
果実におけるエチレンによるクロロ
フィラーゼの活性化について

嶋田誠一*, 下川敬之**

(* 金子農機株式会社技術センター,

** 宮崎大学農学部)

昭和 53 年 5 月 1 日受理

Ethylene-activated Chlorophyllase in Satsuma
Mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) Fruits

Seiichi SHIMADA* and Keishi SHIMOKAWA**

* Kaneko Agric. Machinery Co. Ltd., Hanyu,
Saitama and ** Faculty of Agriculture,
Miyazaki University, Miyazaki 880

Effects of ethylene on chlorophyllase activity and chlorophyll degradation in peels of Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) fruits were studied using an ethylene-flow system to prevent the inhibitory effect of CO₂ on the ethylene action. Chlorophyllase activity and chlorophyll degradation were not increased by exposing to ethylene. After exposing the ethylene-treated fruits to air, chlorophyllase activity and chlorophyll degradation were accelerated simultaneously.

Based on these results, a role of ethylene in chlorophyll degradation of the fruits is discussed briefly.
(Received May 1, 1978)

エチレンのクロロフィル分解促進作用は広く知られており、わが国では、西南暖地特有の果肉先熟現象を呈する温州ミカン果実の脱緑（クロロフィル分解）促進のため、このエチレンの性質を利用して、商品価値を高める方法がしだいに普及してきた^(1,2)。

著者らは、エチレンによる脱緑をより効果的に行なうためには、まずエチレンによる脱緑機構を明らかにする必要があると考え、エチレンとクロロフィル分解活性の関係を明らかにするため、温州ミカン果皮のクロロフィル分解酵素に着目し、その諸性質、エチレンによる活性の変化、活性に対する蛋白質合成阻害剤の影響などにつ

いて研究をすすめてきた。その結果、エチレン処理による温州ミカン果皮のクロロフィル分解促進に、ある種のクロロフィル分解酵素が関与し、エチレンがこの酵素の活性を増加させること、この酵素がクロロフィラーゼ (EC 3.1.1.14) である可能性が高いこと、さらに、エチレンによるクロロフィル分解にタンパク質 (酵素) の合成が必要であることなどを明らかにしてきた^(3,4)。しかし、これらの研究はエチレン処理を 12 時間密封状態 (以下、クローズド・システムとする) で行なったものであり、エチレン処理終了時の 12 時間目には、温州ミカン果実による呼吸のために装置内の CO₂ 濃度は 10% にも達していた⁽⁵⁾。CO₂ はエチレンの生理作用に対する拮抗的阻害剤であり⁽⁶⁾、先の結果^(3,4) は CO₂ の影響を受けていて、真のエチレン効果を見ていない可能性がある。そこで、本研究では、CO₂ の蓄積の少ない装置でのエチレン処理による、温州ミカン果皮のクロロフィル含量およびクロロフィラーゼ活性の変化を明らかにするために、通気状態 (以下、フロー・システムとする) で温州ミカン果実のエチレン処理を行なった。

温州ミカン果実は、1977 年 10 月~11 月にかけて、宮崎県宮崎郡清武町の石川忠行氏のミカン園より、実験前に採取した 1~2 分着色の果実を使用した。

Fig.1 に示すフロー・システムで、エチレンガス (C₂H₄ 52 ppm/人工空気中) を流速 100 ml/分で 12 時間通気して行なった。この際、エチレンを含まない人工空気を同じ流速で同じ時間だけ通気したものを対照区とした。12 時間の通気終了後は対照区、処理区共に空気中においた。なお、エチレン処理区、対照区共に処理は

Fig. 1. Apparatus for Gas-flow Treatment. (1) gas cylinder, control: authentic gas mixture (N₂ 80% : O₂ 20%), ethylene treatment: gas mixture containing 52 ppm of ethylene in the authentic gas mixture. (2) gas flow meter. (3) gas reservoir containing water (apparatus for adding humidity to gas mixtures). (4) container of fruits.

Fig. 2. Ethylene-activated Chlorophyll Degradation in the Peel of Satsuma Mandarin Fruits. ●, control fruits; ○, ethylene-treated fruits. The arrow indicates the end of ethylene treatment.

Fig. 3. Ethylene-activated Chlorophyllase in the Peel of Satsuma Mandarin Fruits. ●, control fruits; ○, ethylene-treated fruits. For arrow; see Fig. 2.

20°C の定温室内で暗黒下に行なった。

果皮のクロロフィル定量, 基質としてのクロロフィル溶液の調製, クロロフィラーゼ活性の測定, 蛋白質の定量法などはすべて前報⁽³⁾で述べた方法によって行なった。また, 本研究で用いたクロロフィラーゼ標品はアセトン粉末からトリトン X-100 で可溶化した画分であり, その調製法は前報⁽³⁾に述べた。

対照区のクロロフィル含量は, 通気時間も含めて 48 時間目まで変化せず, その後, わずかに減少し, 96 時間目の含量はゼロタイムの 80% となった。これに対し, エチレン処理区では, エチレン処理終了時の 12 時間目, つまり, 空気中に移したときから 36 時間目にかけて徐々に減少し, その後, さらにこの減少傾向は続き, 96 時間目での含量はゼロタイムの 50% となった (Fig. 2)。一方, クロロフィラーゼ活性は対照区では通気中の 12 時間を含めて 96 時間目まで増加しないのに対し, エチレン処理区では, エチレンガス通気中の 12 時間には活性の増加は認められず, 通気終了後, 空気中に移すとしたに活性は増加し, この傾向は 60 時間目まで続いた。しかし, その後, 96 時間目までは減少した (Fig. 3)。

温州ミカン果実を, クローズド・システムで 12 時間エチレン処理すると, システム内の CO₂ 濃度は開封直前には 10% に達する⁽⁵⁾。この場合, クロロフィルの分解量とクロロフィラーゼ活性の増加は, 12 時間のエチレン処理後開封して 6 時間目, つまりエチレン処理開始後 18 時間目に始まった⁽⁴⁾。これに対し, 今回のフロ

ー・システムではエチレン処理中の装置内の CO₂ 濃度は 0.25% と低濃度に保たれ, クロロフィルの分解量と分解活性の増加開始はクローズド・システムの場合よりも 6 時間だけ短縮され, エチレン処理後, 空気中に移すと始まった。つまり, クローズド・システムであろうが, フロー・システムであろうが, エチレンガス処理中にはクロロフィルの分解と分解活性の増加は認められなかった。

この 6 時間の違いの原因としては次のようなことが考えられる。クローズド・システムでは 12 時間のエチレン処理期間中にシステム内に CO₂ が高濃度に蓄積し, Burg ら⁽⁶⁾により明らかにされているようなエチレンの生理作用に対する CO₂ による阻害効果が現われ, エチレンによるクロロフィル分解が抑制されたと考えることもできる。しかし, 高濃度の CO₂ 自身によるクロロフィル分解開始の阻害メカニズムの存在の可能性もあり, この点についてはさらに検討しなければならない。

また, CO₂ とともに O₂ 濃度の影響も考えられる。本研究では O₂ 濃度を測定しなかったが, 北川らの報告では, 密封法によるエチレン処理で 12 時間後の O₂ 濃度は低下しているが, 10% 程度は残っており⁽⁷⁾, クローズド・システムとフロー・システムでのエチレン処理果実のクロロフィル分解量と分解活性の増加に要する時間の差に, 酸素濃度はあまり影響しないのであろう。しかし, 一般に果実の成熟には酸素が必要とされており, 酸素濃度の影響については, 今後の検討が必要であらう。

北川ら⁽¹⁾や下川ら⁽²⁾のクローズド・システムでのエチレン処理法によると, 72~96 時間目までにエチレン処理果と無処理果のクロロフィル含量に明確な差が出る事が知られている。また, 前報のクローズド・システムと本報のフロー・システムの両システム間で, クロロフィル分解の開始時期に 6 時間の差はあるが, 72~96 時間目での両システムでのクロロフィル含量の最終的な違いは少ないことから, 北川ら⁽³⁾が指摘するように, トリクル法やショット法のような CO₂ の蓄積を防ぐための複雑な方法によらずとも, 操作の簡単なクローズド・システムでのエチレン処理で実用的には十分な効果が期待できる。

Barmore⁽⁹⁾はエチレン処理によってカラマンディン果皮のクロロフィル分解活性が増加し, クロロフィル分解が促進され, この活性増加に細胞質酵素の合成が関与することを報告し, 著者らも温州ミカン果皮で同様の結果を得た⁽⁴⁾。また下川と共同研究者は, エチレン処理によって誘導される温州ミカン果皮のクロロプラストの形態的老化の現象として, エチレン処理後 36 時間目には, クロロプラストは消失または小型化することを観察している⁽¹⁰⁾。さらに温州ミカン果実のクロロフィル分解過程におけるクロロプラスト自体あるいはラメラ構造の変化を電子顕微鏡により観察して, エチレンによる特異的な構造変化の存在を明らかにしている⁽¹¹⁾。クロロフィルはラメラ構造の構成成分であり, ラメラの構造変化, その結果としてのクロロプラストの形態的老化とクロロフィルの分解機構とは密接な関係があるはずであり, 今後, 追及していかなければならない課題の一つである。

エチレン処理果実のクロロフィル分解がクロロフィラ

ーゼ活性の増加を伴うのに対し, 無処理果実では 72 時間目からクロロフィル分解が始まるが, クロロフィラーゼ活性の増加は見られなかった。クロロフィルの生理的な分解の機作についての究明は進んでいないが, クロロフィラーゼによる分解以外にいくつかの分解様式が断片的に知られており⁽¹²⁾, 無処理果実のクロロフィラーゼ活性増加を伴わないクロロフィルの分解は, アセトン粉末からトリトン X-100 で抽出されるクロロフィル分解酵素とは別のものによって行なわれている可能性がある。エチレンによる脱緑は暗黒下で進行しており, エチレンによるクロロフィル分解促進には, 光は直接関与していないものと思われる。

- (1) 北川博敏, 足立修三, 樽谷隆之: 園芸学会雑誌, **40**, 195 (1973)。
- (2) 下川敬之: 農業および園芸, **51**, 987 (1976)。
- (3) 下川敬之, 嶋田誠一: 宮崎大学農学部研究報告, **24**, 309 (1977)。
- (4) K. Shimokawa, S. Shimada and K. Yaeo: *Scientia Hort.*, **8**, 129 (1978)。
- (5) 下川敬之: 温州ミカンの着色促進に関する研究, 1972。
- (6) S. P. Burg and E. A. Burg: *Science*, **148**, 1190 (1965)。
- (7) 北川博敏, 樽谷隆之: 園芸学会雑誌, **42**, 65 (1973)。
- (8) 北川博敏: “ミカンのカラリング”, 誠文堂新光社, 1974。
- (9) C. R. Barmore: *Hortscience*, **10**, 595 (1975)。
- (10) 下川敬之, 坂之下 旭: 宮崎大農研報, **24**, 27 (1976)。
- (11) K. Shimokawa, A. Sakanoshita and K. Horiba: *Plant Cell Physiol.*, **19**, 229 (1978)。
- (12) 清水 碩: 生物科学, **23**, 31 (1971)。