

1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸処理が、種々の発育段階のカキ果実のエチレン生成に及ぼす影響

Effect of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic Acid Treatment on the Rates of Ethylene Production by Japanese Persimmon Fruits at Various Stages of Development.

高田 峰雄

Mineo TAKATA

緒 言

既報のように、カキ果実はクライマクテリック果実とも、ノンクライマクテリック果実とも異なる第三のタイプの果実と考えられ、その採取後の変化は、発育程度の低い若い果実(ステージⅠの果実)は成熟期のクライマクテリック果実に似た変化を示す。中でもエチレン生成量の変化は極めて顕著で、採取後の種々の変化(成熟特性)の中でも最も重要なものと考えられる(17, 18)。

一般に、植物体によるエチレン生成はメチオニンを基質とし、メチオニン→S-アデノシルメチオニン(SAM)→1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸(ACC)→エチレン、という経路によって行なわれるが、果実によるエチレン生成も例外ではない(1, 8, 22)。

カキは欧米ではほとんど栽培されておらず、カキ果実の成熟特性などについても十分には明らかにされていない。しかし、果実一般の成熟生理を追究して行く上では重要な位置を占めるものと考えられ、他のタイプの果実と比較検討することにより、成熟現象の本質を解明して行く上で重要な一助になるものと思われる。

カキ果実は発育ステージの進行とともに内生エチレン生成のパターンが大きく変化するが(17, 18)、この変化とACCとの関連を調べることにより、カキ果実の成熟特性の一端が明らかになると考えられる。このことから、本研究では種々の発育ステージのカキ「富有」果実に、できる限りストレスを与えないようにしてACCを注入し、それに伴うエチレン生成量の変化を経時的に追究した。

材料及び方法

実験材料は千葉大学教育学部附属農場産のカキ「富有」果実を使用した。果実は必要数の約5倍を、ステージⅠの果実は7月中旬と下旬、ステージⅡの果実は8月下旬、ステージⅢの果実は10月下旬と11月下旬にそれぞれ採取し、その中から発育正常でほぼ同じ大きさの果実を選んで使用した。果実は採取後ただちに25°Cの呼吸室(ガラス製、容積0.5~1.5ℓ)に1個ずつ入れ、毎秒約60mlの流速で通気した。ACCの注入は採取1日後に減圧浸透法(Vacuum infiltration method)により、次の手順に従って行った。即ち、果実を呼吸室から取り出して重量を測った後、所定の濃度のACC溶液(0, 0.04, 0.2, 及び1.0mM)を入れてあるビーカーに果実を入れ、おもしろを乗せて溶液中に沈めた。このビーカーを約5ℓ容のデシケーター内に置いて密封し、アスピレーターに接続して3分間内部の空気を抜いて減圧に保った(この間に

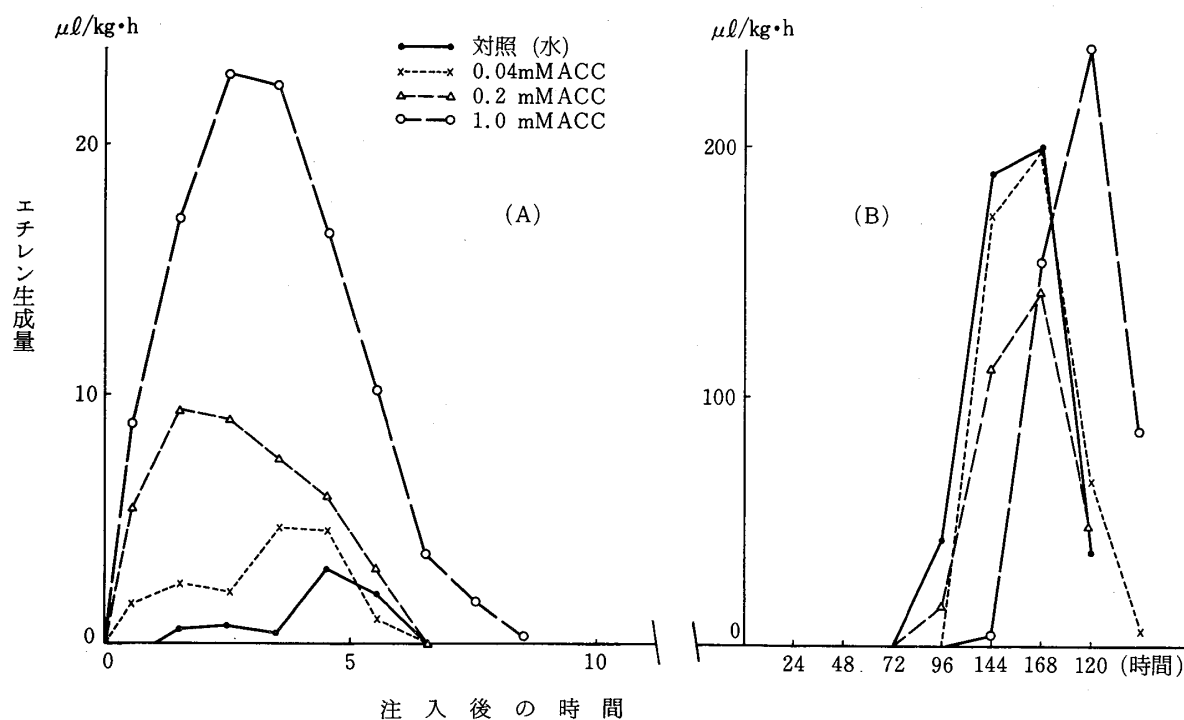
果実内の空気が気泡となって果実外に吸引除去された)。その後徐々に常圧に戻し、完全に1気圧になってからさらに30秒間溶液中に放置してから果実を取り出し、付着している溶液を拭き取った後再度重量を測った。ACC溶液の注入量は、注入前後の果実の重量差から求めた。ACC溶液注入後、果実はただちに呼吸室に戻して密閉し、1時間後にヘッドスペースから空気採取し、ガスクロマトグラフによりエチレン濃度を測定した。試料採取後はただちに呼吸室を開封し、呼吸室内の空気を十分に入れ替えた後再び密閉し、1時間後にヘッドスペースから空気採取した。その後はこれをくり返し行なった。なお、ACC注入翌日以後の測定は1日1回行なった。測定は2連又は3連で行ない、結果は平均値で示した。実験は2年間にわたりくり返し行なったが、両年とも同様の結果が得られたので、本報告では1986年の実験結果を示す。

結 果

ステージⅠ（6月～7月末）の果実。

ステージⅠの果実については、中期の果実（7月14日採取）と後期の果実（7月25日採取）について調べた。

中期の果実（7月14日採取、果実重=25.2g）で得られた結果は第1図に示すとおりであった。なお、ACC溶液の注入量は、果実100g当り 1.9 ± 0.6 mlであった。

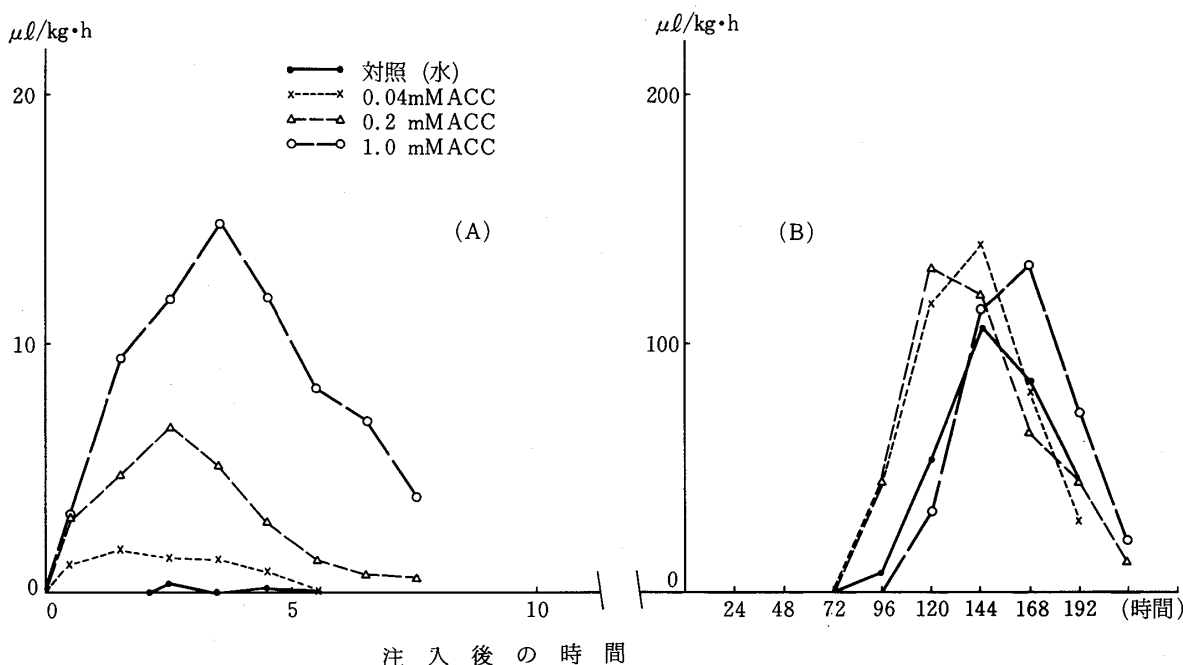


第1図 ACC注入がステージⅠ（中期）のカキ「富有」果実（7月14日採取、果実重=25.2g）のエチレン生成に及ぼす影響（25℃）。

第1図(A)に見るように、ACCを注入された果実はすべて注入直後からエチレン生成を示したが、対照区の果実（水注入）は注入直後の1時間以内にはエチレン生成を示さなかった。エチレン生成量はACC高濃度区（1.0mM区と0.2mM区）では生成開始後急速に増大し、注入2～3時間後にピークに達した後急減した。ACC低濃度区（0.04mM区）はエチレン生成量が少なく、ピークに達するのも遅かった。対照区の果実もエチレン生成を示したが生成量は少なかった。

た。無処理の果実（水注入せず）ではこの間エチレン生成はまったくなかった（データは示さず）。エチレン生成量はACC濃度の高いものほど多い傾向が見られた。また、処理区の果実は、対照区の果実も含めて、すべて注入9時間後以内にエチレン生成を停止した。なお、注入7時間後の果実はどの区のものも硬く、果色は緑色で変化なく、ヘタの脱落も見られなかった。処理果実についてはその後も1日1回エチレン生成量の測定を続けたが、第1図(B)に見るように、一時停止していたエチレン生成は処理96時間後（4日後）前後から再び始まり、2～3日でピークに達した後急速に減少した。この時のエチレン生成量は非常に多く、処理当日の10倍にも達した。また、ピークの直前にはヘタの脱落が起こり、ピーク前後から果肉の軟化が急速に進み、果色の黄化も進行した。

後期の果実（7月25日採取，果実重=40.0g）で得られた結果は第2図に示すとおりであった。なお、ACC溶液の注入量は果実100g当り 2.2 ± 0.6 mlであった。



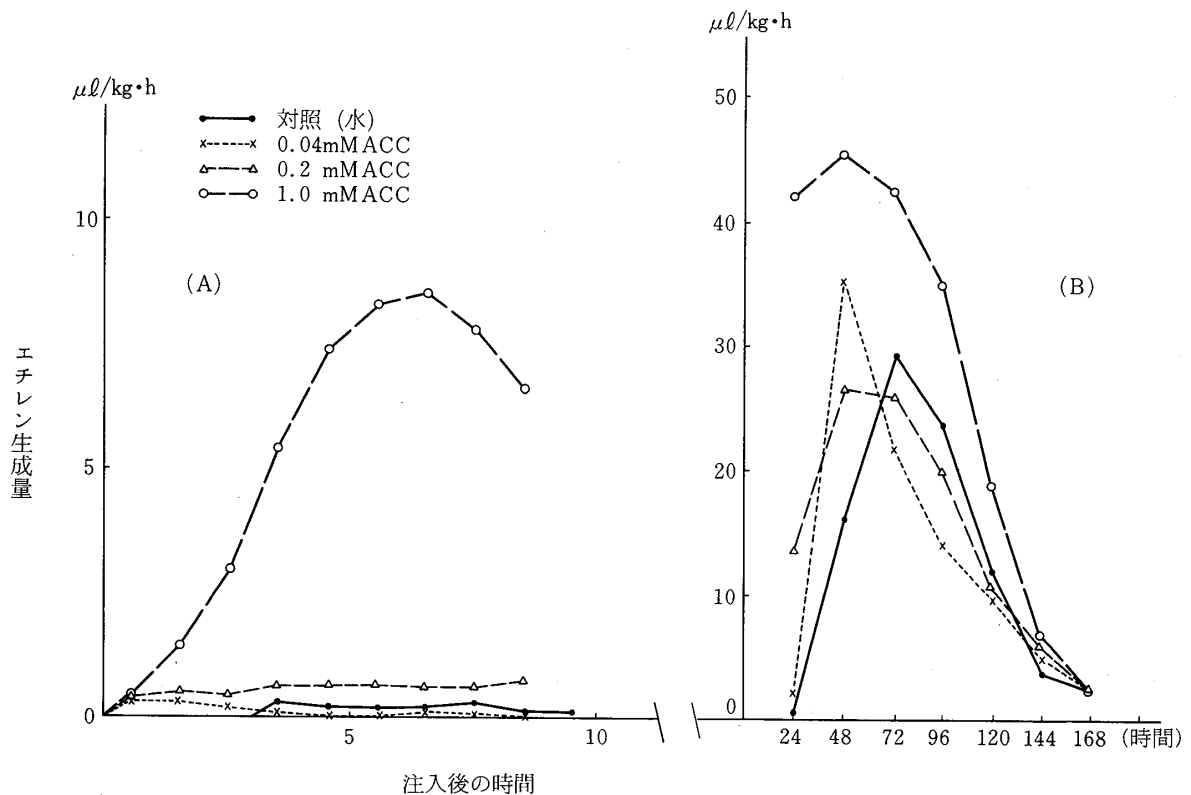
第2図 ACC注入がステージI（後期）のカキ「富有」果実（7月25日採取，果実重=40.0g）のエチレン生成に及ぼす影響（25℃）。

第2図(A)に見るように、処理8時間後以内でのエチレン生成量の変化の傾向は第1図とほとんど同じであったが、エチレン生成量のピークの出現が少し遅くなったことと、エチレン生成量が中期のものに比してかなり減少した点で相違があり、中でも対照区の減少は著しかった。

処理24時間後以降のエチレン生成量の変化は第2図(B)に示すとおりで、処理24時間後から処理72時間後までは全区ともエチレン生成が認められなかった。しかし、処理96時間後前後から再びエチレン生成が始まり、2～3日後にピークに達した後減少した。この時のエチレン生成量は処理当日のそれに比して約8倍以上も多かった。また、ピーク直前にはヘタの脱落が起こり、ピーク前後から果肉の軟化が始まり、果色の黄化が進行した。

ステージII（8月～9月上旬）の果実。

ステージIIの果実(8月26日採取, 果実重=90.1g)で得られた結果は第3図に示すとおりであった。なお, ACC溶液の注入量は果実100g当り 2.4 ± 0.5 mlであった。



第3図 ACC注入がステージIIのカキ「富有」果実(8月26日採取, 果実重=90.1g)のエチレン生成に及ぼす影響(25°C)。

第3図(A)に見るように, ACC注入8時間後以内でのエチレン生成量の変化は, ステージIの果実に比して全体的に生成量が減少し, 特に0.2mM区と0.04mM区での減少が著しかった。ACC1.0mM区ではピークの出現がステージIの果実に比して少し遅くなったが, 0.2mM区, 0.04mM区及び対照区では明白なピークの出現が見られなかった。なお, 注入8時間後の果実はすべて硬く, 果色の変化もなかった。

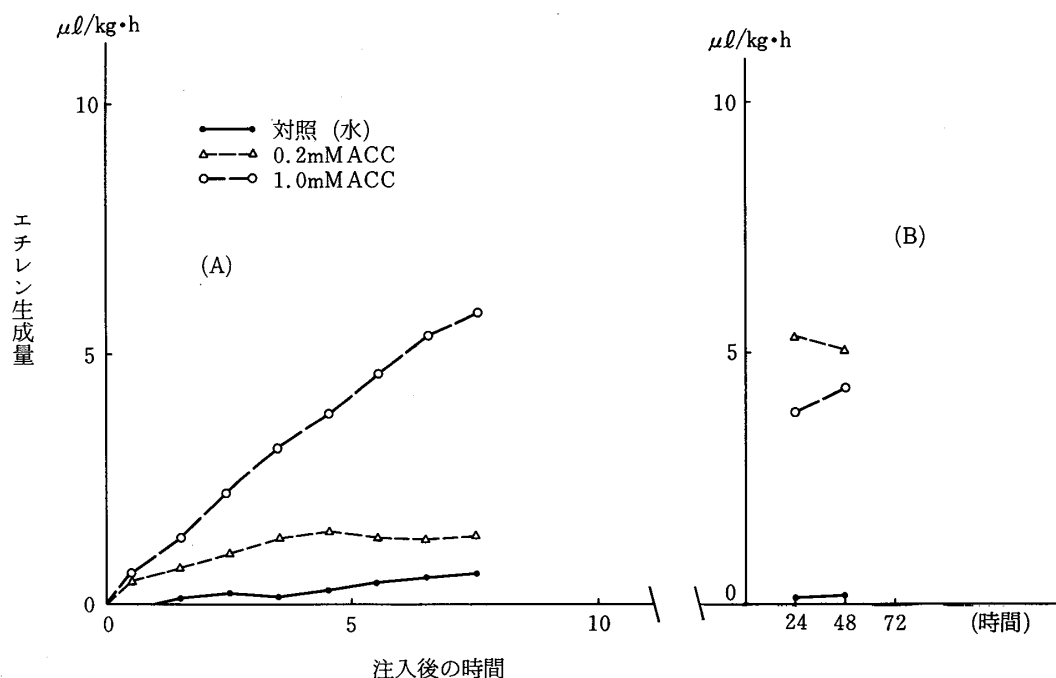
第3図(B)に見るように, 本実験の果実では注入24時間後に全処理区でエチレン生成が見られ, その後急速にピークに達した後急減したが, この点はステージIの果実とは大きく相違した。なお, 注入24時間後の果実はいずれも硬く, 果色の変化も見られなかったが, 注入48時間後前後から果肉の軟化が始まり果色の黄化も進行した。また, 無処理の果実(水注入せず)ではこの間エチレン生成はまったくなく, 果実の変化も見られなかったが, 注入26日後前後からエチレン生成が始まり, その5日後前後にピークに達した後減少した。

ステージIII(9月中旬~11月)の果実。

ステージIIIの果実については, 収穫適期の果実(10月24日採取)と後期の果実(11月29日採取)について調べた。

収穫適期の果実(10月24日採取, 果実重=159g)で得られた結果は第4図に示すとおりであった。なお, ACC溶液の注入量は, 2.0 ± 0.5 mlであった。また, この実験ではACC0.04mM区は

設けず、各区3連で行なった。

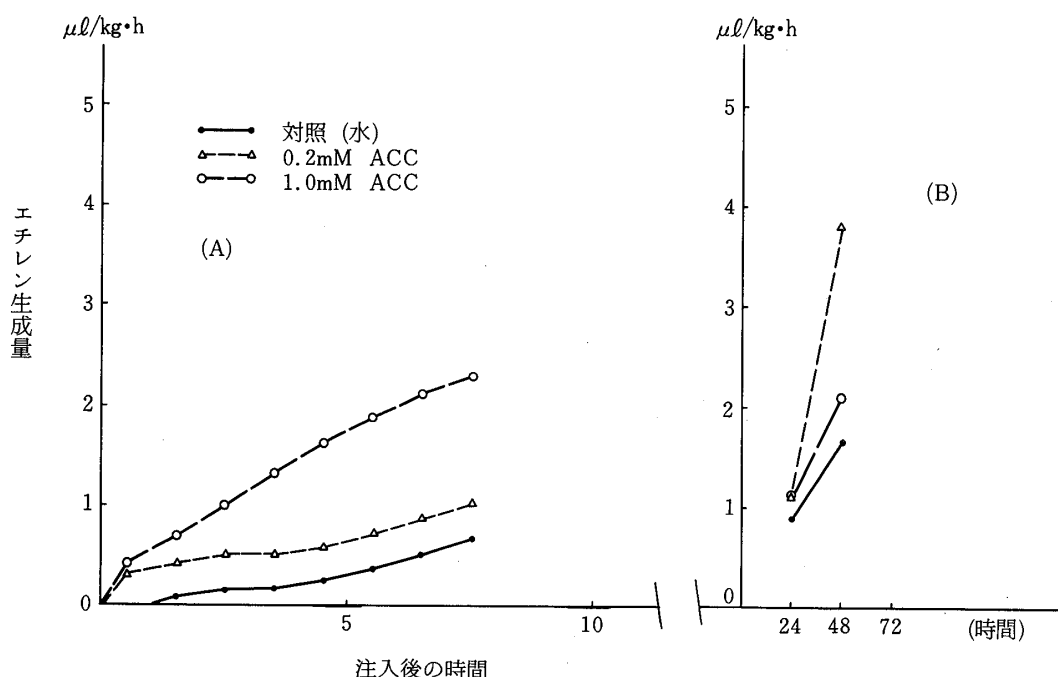


第4図 ACC注入がステージⅢ（収穫適期）のカキ「富有」果実（10月24日採取、果実重=159g）のエチレン生成に及ぼす影響（25℃）。

第4図(A)に見るように、処理8時間後以内での変化では、エチレン生成量のピークが見られなかった点に特徴があった。また、1.0mM区のエチレン生成量も、ステージⅠ・Ⅱの果実に比して少なかった。24時間後のエチレン生成量は第4図(B)に見るように、1.0mM区では前日の実験終了時（7.5時間後）の値に比してかなり低い値を示し、この間（8～24時間後）にエチレン生成のピークの出現を予想させた。0.2mM区では24時間後の値は7.5時間後の値よりもかなり高く、この間（8～24時間後）の変化は不明であった。対照区の値は低く、著しい変化はなかったと推測された。本実験では処理48時間後までしか測定を行なわなかったが、さらに測定を続けた方がよかったかも知れなかった。また、8～24時間後の変化も確めることが望まれる。なお、処理24時間後の果実は全区とも硬く、外観上の変化も認められなかったが、48時間後では1.0mM区と0.2mM区の果実は果肉がわずかに軟化した。しかし対照区の果実は軟化しなかった。

後期の果実（11月29日採取、果実重=185g）で得られた結果は第5図に示すとおりであった。なお、この果実は収穫適期を約1カ月過ぎた過熟の果実であり、採取時には全樹落葉していた。しかし果肉は硬かった。ACC溶液注入量は果実100g当り 1.3 ± 0.3 mlで、これまでの果実に比して注入量が少なかった。この実験においても0.04mM区は設けず、各区3連で行なった。

第5図(A)に見るように、処理8時間後以内での変化は第4図の結果とよく似ていた。しかしエチレン生成量は全体に少なかった。24時間後のエチレン生成量は第5図(B)に見るように、1.0mM区では前日の実験終了時（7.5時間後）の値に比してかなり低い値を示し、この間（処理8～24時間後）にエチレン生成のピークがあったことを推測させたが、この点は今後確める必要



第5図 ACC注入がステージIII（過熟）のカキ「富有」果実（11月29日採取，果実重＝185g）のエチレン生成に及ぼす影響（25°C）。

があろう。本実験では，処理48時間後に対照区を含めて全区ともエチレン生成量が急増したが，この時点ではどの果実も軟化は認められず，外観上の変化もなかった。

考 察

クライマクテリック果実の成熟にエチレンが重要な役割を果していることはよく知られている（8，12，22）。カキ果実はクライマクテリック果実ではないが，全発育期間を通じてその成熟（又は成熟様）変化がエチレンと深く関わっている（17，18）。

植物組織はすべてエチレン生成能力を持っていると考えられるが，栄養体組織では健全なものはエチレン生成を行わない。それは組織内でSAM→ACCの段階が制限要因となって，エチレン生成が抑制されるためと考えられている（2，5，14，23，25）。

果実の場合，クライマクテリック果実のアボガド，バナナ，トマト，ネクタリン，キウイフルーツ，メロンにおいて，その成熟の際のエチレン生成と果実内のACC含量との間には密接な関係があり，このエチレン生成が，メチオニン→SAM→ACC→エチレン，という経路によって行なわれていることが明らかにされている（4，6，7，10，11，16，20，24）。一方，ノンクライマクテリック果実の場合，健全なものではエチレン生成は見られず，SAM→ACCの段階が制限要因になっていると考えられる（5，9，20，21）。

本実験のカキ果実の場合，ACC注入によってエチレン生成がただちに始まったが，水の注入では1時間余のラグタイムがあった（第1図～第5図）。このことは，カキ果実ではACC→エチレンの段階が制限要因ではなく，SAM→ACCの段階が制限要因になっているらしいことを示している。また，ここに関与するACC合成酵素活性は，水注入というストレスによりカボチャ

同様短時間で誘導されるように考えられる。

他の果実の場合、プレクライマクテリックステージのリンゴ、メロン、アボガドに対してはACCの添加効果がほとんどなかったとの報告があり、この場合はACC→エチレンの段階が制限要因になっている可能性が考えられる(6)。一方、プレクライマクテリックステージのトマト、ネクタリン、リンゴ、キウイフルーツに対するACC添加効果が大きかったが(2, 3, 4, 5, 10, 20)、この場合はSAM→ACCの段階が制限要因であると推測される。これらの果実はいずれもクライマクテリック果実に属しているが、果実の種類によって差異があり、また報告によっては相反した結果もあるので、今後とも多くの果実について検討を続ける必要があろう。

YangとHoffmanは、クライマクテリック果実の場合、プレクライマクテリックステージの果実はACC合成酵素もエチレン生成酵素もともに活性がなく、クライマクテリックの開始とともに両者とも活性が高まるとしている(22)。これに対し、本実験のカキ果実はACC注入直後からエチレン生成を示し、エチレン生成酵素の活性が認められた。また、この活性は発育(成熟)程度の低い若い果実ほど高かったが、この点はクライマクテリック果実と大きく異なることになる。

Linらはプレクライマクテリックステージのトマトとカンタロープ果実にACCを添加する実験を行なった結果、これらの果実のエチレン生成酵素の活性は低く、これがエチレン生成の制限要因の一つであるとしている(13)。しかし本実験のカキ果実の結果では、すべての発育ステージの果実に対してACCの添加効果が認められ、トマトなどとは異なっていた。

これらのことから、すべての発育ステージのカキ「富有」果実において、内生エチレン生成は果実内でのACC生成にかかっている可能性が大きく、また発育ステージの違いによる内生エチレン生成パターンの差異も、ACC生成のパターンの差異による可能性が強いと考えられた。しかし、体内にACCが存在するにも拘らず、エチレン生成反応の場からACCが隔離されている可能性も考えられ、また生成反応の場へのACCの移動速度に差違があることも考えられるので(15)、今後は果実内のACC量の変化とも関連させて検討する必要があると考えられる。

このほか、本実験ではACC処理をした場合、果肉の軟化を伴うエチレン生成の発現(成熟様変化)がステージIIの果実で最も早かった。無処理の場合には、ステージIIの果実でこの変化の発現が最も遅いので(18)、この現象が何を意味するかについても今後検討する必要がある。

また、本実験では果実に傷をつけないで果実内にACCを注入することにより、できる限り果実にストレスを与えないように努めたが、それでもなお、溶液注入そのことがある程度のストレスになったようであり、この点は今後とも考慮しなければならないと考えられた。さらに、ACC溶液の注入量が、発育ステージの違いにより、また個体間により、かなりの差違を生ずることがわかり、この点も今後考慮しなければならないと考えられる。

摘 要

種々の発育ステージのカキ「富有」果実に、1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸(ACC)を注入し、果実のエチレン生成量の変化を調べた。

無傷の果実にACC水溶液を減圧浸透法(vacuum infiltration method)によって注入したが、その濃度はそれぞれ、0, 0.04, 0.2, 1.0mMであった。

ACC注入直後からエチレン生成はすべての果実で増大したが、ACC濃度が高いほど大きく増

大した。1.0mMのACC処理によって、果実のエチレン生成量は対照区（水処理）に比し著しく増大した。しかし0.2mM及び0.04mMのACC処理では効果が劣った。また、ACC処理の効果は若い果実に対して大きく、成熟した果実に対しては小さかった。

すべての発育ステージにおいて、対照区（水処理）のエチレン生成は1時間余のラグタイムを示した。これに対し、ACC処理果実にはラグタイムは認められず、カキ果実には常にエチレン生成酵素の活性が存在することを示した。

以上のことから、無傷のカキ果実におけるエチレン生成には、ACC合成酵素の活性が低いことが制限要因となっている可能性が強いと考えられた。

引用文献

1. Adams, D.D., and S.F. Yang. 1979. Ethylene biosynthesis: Identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76: 170-174.
2. Apelbaum, A., A.C. Burgoon, J.D. Anderson, T. Solomos, and M. Lieberman. 1981. Some characteristics of the system converting 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid to ethylene. *Plant Physiol.* 67: 80-84.
3. Boller, T., and H. Kende. 1980. Regulation of wound ethylene synthesis in plants. *Nature* 286: 259-260.
4. Brecht, J.K., and A.A. Kader. 1984. Ethylene production by 'Flame kist' nectarines as influenced by exposure to ethylene and propylene. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 109: 302-305.
5. Cameron, A.C., C.A.L. Fenton, Y. Yu, D.O. Adams, and S.F. Yang. 1979. Increased production of ethylene by plant tissues treated with 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *Hort. Sci.* 14: 178-180.
6. Hoffman, N.E., and S.F. Yang. 1980. Changes of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid content in ripening fruits in relation to their ethylene production rates. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 105: 492-495.
7. Hoffman, N.E., and S.F. Yang. 1982. Enhancement of wound-induced ethylene synthesis by ethylene in preclimacteric cantaloupe. *Plant Physiol.* 69: 317-322.
8. 兵藤宏. 1984. エチレン生合成の調節. *化学と生物* 5: 339-344.
9. Hyodo, H., K. Tanaka, and K. Watanabe. 1983. Wound ethylene production and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase in meso carp tissue of winter squash fruit. *Plant & Cell Physiol.* 24: 963-969.
10. Hyodo, H., and R. Fukasawa. 1985. Ethylene production in kiwi fruit. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 54: 209-215.
11. Kende, H., and T. Boller. 1981. Wound ethylene and 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase in ripening tomato fruit. *Planta* 151: 476-481.
12. Lieberman, M. 1979. Biosynthesis and action of ethylene. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 30: 533-591.
13. Liu, Y., N.E. Hoffman, and S.F. Yang. 1985. Promotion by ethylene of the capability to convert 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid to ethylene in preclimacteric tomato and cantaloupe fruits. *Plant Physiol.* 77: 407-411.
14. Riov, J., and S.F. Yang. 1982. Effects of exogenous ethylene on ethylene production in citrus leaf tissue. *Plant Physiol.* 70: 136-141.
15. Saftner, R.A., and J.E. Baker. 1987. Transport and compartmentation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid and its structural analog, -aminoisobutylic acid, in tomato pericarp slices. *Plant*

- Physiol. 84: 311-317.
16. Su, L. Y., T. Mckeon, D. Grierson, M. Cantwell, and S.F. Yang. 1984. Development of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase and polygalacturonase activities during the maturation and ripening of tomato fruits. Hort Sci. 19: 576-578.
 17. 高田峰雄. 1982. 発育ステージの異なるカキ果実の呼吸, エチレン生成及び成熟に対するエチレン処理の影響. 園学雑. 51: 203-209.
 18. 高田峰雄. 1983. 種々の発育段階で採取したカキ果実の呼吸, エチレン生成及び成熟. 園学雑. 52: 78-84.
 19. 田中啓之, 田中邦明, 兵藤宏. 1985. 傷害果実組織におけるエチレン生成とその機構. (第4報). カボチャ果肉組織における傷害によるACC合成酵素の誘導. 園学容旨. 昭60秋. P. 448-449.
 20. 寺井弘文, 水野進. 1985. トマトとキュウリ果実の生育, 成熟に伴う1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸 (ACC) 含量とエチレン生成酵素活性の変化. 園学雑. 53: 467-473.
 21. Wang, C. Y., and D.O. Adams. 1982. Chilling-induced ethylene production in cucumbers (*Cucumis sativus* L.). Plant Physiol. 69: 424-427.
 22. Yang, S.F., and N.E. Hoffman. 1984. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. Annu. Rev. Plant Physiol. 35: 155-189.
 23. Yu, Y., D.O. Adams, and S.F. Yang. 1979. 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase, a key enzyme in ethylene biosynthesis. Arch. Biochem. Biophys. 198: 280-286.
 24. Yu, Y., D.O. Adams, and S.F. Yang. 1979. Regulation of auxin-induced ethylene production in mungbean hypocotyls. Role of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. Plant Physiol. 63: 589-590.
 25. Yu, Y., and S.F. Yang. 1979. Auxin-induced ethylene production and its inhibition by aminoethoxyvinylglycine and cobalt ion. Plant Physiol. 64: 1074-1077.

Summary

Changes in the rates of ethylene production by Japanese persimmon fruits (*Diospiros kaki* Thumb. cv. Fuyū) were observed by addition of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) harvested at different stages of development. Intact fruits were vacuum-infiltrated with various concentrations of ACC solution (0, 0.04, 0.2, and 1.0mM).

Immediately after application of ACC ethylene production in all fruits increased. A higher concentration of ACC had an increasingly larger effect. The treatment with 1.0 mM ACC significantly increased the rate of ethylene production above water control, whereas 0.2 mM and 0.04 mM ACC gave a less effect. The effect of ACC application was stronger in younger fruits than in matured ones. Although control fruits at all stages of development had a lag-time of more than 1 hour in production of ethylene, ACC treatment increased ethylene production without a lag.

The evidence indicates that Japanese persimmon fruits show the activity of ethylene forming enzyme at any stage of development.

It is therefore concluded that a low level of ACC synthase activity may limit the ethylene production in intact fruit.