

## カキ果実の組織内ガス組成の経時的変化及び数種のガス環境条件が種子のエタノール生成に及ぼす影響

誌名	園藝學會雜誌
ISSN	00137626
著者	平, 智 杉浦, 明 苫名, 孝
巻/号	55巻2号
掲載ページ	p. 228-234
発行年月	1986年9月

## カキ果実の組織内ガス組成の経時的変化及び数種の ガス環境条件が種子のエタノール生成に及ぼす影響<sup>1</sup>

平 智<sup>2</sup>・杉浦 明・苫名 孝

京都大学農学部 606 京都市左京区

Seasonal Changes of Internal Gas Conditions in Japanese Persimmon  
Fruits (*Diospyros kaki* Thunb.) and Effects of Several Environmental  
Gas Conditions on Productivity of Ethanol by Their Seeds

Satoshi TAIRA, Akira SUGIURA and Takashi TOMANA

Faculty of Agriculture, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606

### Summary

It has been thought that natural removal of astringency in three types of Japanese persimmon fruits, i. e. pollination-variant/astringent (PVA), pollination-variant/nonastringent (PVNA) and pollination-constant/astringent (PCA), depends on the level of volatile compounds such as ethanol and acetaldehyde produced by their seeds during fruit development. We studied the internal gas condition of the fruit in relation to ethanol production by the seeds, and also examined the effect of several artificial gas environments on detached whole fruits or excised seeds.

1) Ethanol production by the seeds of any type of fruit seemed to be partly triggered by the anaerobic conditions and high carbon dioxide concentration generated in the early stage of fruit development. No differences in the degree of anaerobicity were observed between the fruit types.

2) When whole fruits or excised seeds were placed in different concentrations of gas mixtures (N<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub>), PVNA seeds produced more ethanol than PCA seeds under given anaerobic conditions.

3) In conclusion, the level of ethanol production by the seeds mainly reflected the differences in their inherent ethanol producing capacity. The observed differences may partly be due to differences in permeability of the seed coats to ethanol, resulting in a differential ability to remove astringency.

### 緒 言

甘ガキの脱渋現象は長い間渋ガキの人工脱渋のメカニズムからの類推で考察されてきた(10)。しかし、著者ら(6, 7, 8)は最近、脱渋に関与すると従来考えられてきたエタノールやアセトアルデヒド等の揮発性物質は pollination constant の甘ガキ果実の自然脱渋には関与せず、pollination variant の甘ガキや渋ガキ果実の脱渋の場合

にのみ関与していることを明らかにした。さらに、pollination variant の甘ガキが樹上で自然脱渋するのに対して渋ガキが脱渋しないのは、果実発育中に種子から発生してくる揮発性物質の量の多少が大きいかかわっていることを示した(5, 9)。

そこで本報告では、pollination variant の甘ガキと渋ガキ (pollination variant 及び pollination constant の両者を含む) の自然状態での脱渋性の違いをもたらしている種子の揮発性物質、とくにエタノールの生成能の差異が何によって左右されているかを検討するために、まず果実内のガス環境条件を調べ、次いで実験的に設定した各種環境ガス条件下に果実あるいは種子をおいて種子のエタノール生成能に与える影響を調査した。

<sup>1</sup> 1985年10月7日 受理

カキ果実の脱渋性に関する研究 第4報。

本研究の概要は、昭和57年及び58年の園芸学会春季大会で報告した。

<sup>2</sup> 現在 山形大学農学部

## 材料及び方法

実験は1981年及び1982年に京都大学農学部附属京都農場植栽のカキ成木の果実を用いて行った。供試品種の開花期は1981年は5月下旬、1982年は5月中下旬であった。

### 実験1. 種子のエタノール発生の様相と果実内ガス組成との関係

PCNAの‘富有’、‘花御所’、PVNAの‘三国一’、‘大丹羽’、‘油壺’、PCAの‘四谷西条’、PVAの‘会津身不知’の7品種について、1981年7月1日から各々の品種が成熟期に至るまでの間約1週間おきに種子・果肉のエタノール含量及び果実内ガス組成を経時的に測定した。エタノール含量の測定は既報(9)と同様、冷アセトンで抽出、GLCで定量した。すなわち、種子あるいは果肉をそれぞれ5g秤取し、細片に切って直ちに冷アセトン10mlに入れて約1分間超音波にかけた後、 $-20^{\circ}\text{C}$ で分析まで保存した。抽出液の上澄み $2\mu\text{l}$ を直接GLC(充填剤Porapak Q, 検出器FID)にかけて測定した。果実内ガス組成の測定は、果実数個を採取後、直ちに実験室に搬入し、ヘタを除いて、硫酸酸性飽和食塩水中で減圧法により果実組織内から出てくる気体を捕集した。捕集したガス1mlをGLC(カラムWG-100(ガスクロ工業製), 検出器TCD)にかけて炭酸ガス及び酸素を同時定量した。

### 実験2. 数種のガス環境条件が種子・果肉のエタノール含量に及ぼす影響

#### 1. $\text{N}_2$ ガス及び $\text{CO}_2$ ガス処理

果実を約1l容のプラスチック容器に入れ、種子のみの場合は約145ml容の三角フラスコに入れて $\text{N}_2$ ガス(100%)あるいは $\text{CO}_2$ ガス(100%)を封入して密封した( $\text{N}_2$ ガス処理は1981年、 $\text{CO}_2$ ガス処理は1982年に行った)。処理開始後、数時間ごとに種子、果肉中のエタノールの蓄積程度を調べた。サンプリング時には容器内のガスを新しく入れかえた。処理はすべて室温(7月下旬処理では約 $27\sim 30^{\circ}\text{C}$ 、9月上旬処理では約 $27\sim 31^{\circ}\text{C}$ 、10月下旬処理では約 $21\sim 23^{\circ}\text{C}$ であった)で行い、対照区として果実あるいは種子を空气中に放置したものを用いた。

#### 2. $\text{O}_2$ 濃度と種子のエタノール蓄積

約145ml容の三角フラスコ中に果実より取り出した種子を数個ずつ入れ酸素濃度が0%(=100% $\text{N}_2$ )、1.5%(残りは $\text{N}_2$ 、以下同様)、5%、10%のガスを封入して密封し、経時的なエタノール蓄積を調査した。対照区としては空气中( $\text{O}_2=21\%$ )に放置したものを用いた。1.と同様サンプリング時に新しくガスを入換えた。

### 3. $\text{O}_2$ 、 $\text{CO}_2$ 濃度の組合せとエタノール蓄積

処理方法はほぼ前述(1.及び2.)のとおりで、実験に用いたガス組成は、100% $\text{N}_2$ 、2% $\text{O}_2+25\%$  $\text{CO}_2$ (残りは $\text{N}_2$ 、以下同様)、5% $\text{O}_2+15\%$  $\text{CO}_2$ 、10% $\text{O}_2+5\%$  $\text{CO}_2$ 及び空気の5種類とした。

各実験の供試品種、供試時期等の詳細については結果のところでも実験ごとに述べる。

## 結果

### 実験1. 種子のエタノール発生の様相と果実内ガス組成との関係

種子及び果肉のエタノール含量は既報(9)とはほぼ同様のパターンを示した。第1~4図にそれぞれ‘富有’、‘三国一’、‘四谷西条’、‘会津身不知’の結果を示した。種子のエタノール発生量の多い品種では概して果肉にも多量のエタノールが含まれる傾向が認められたが、‘会津身不知’と‘四谷西条’では種子のエタノール含量がほぼ同程度であるにもかかわらず、‘四谷西条’では果肉に全く検出されないことが特徴的であった。このことは、種皮のエタノール透過性に差異があることを示唆するものと考えられる。

果実内ガス組成の経時変化は供試した7品種ともほぼ同様の様相を示した。すなわち、7月から9月にかけては高 $\text{CO}_2$ 、低 $\text{O}_2$ 濃度のかなり嫌気的な条件で推移し、9月下旬から11月に至る時期には $\text{CO}_2$ 濃度の低下、 $\text{O}_2$ 濃度の上昇が認められ、果実の成熟に伴って次第に好気的な組成へと変化した(第1~4図)。

果実内ガス組成と種子のエタノール含量との関係については、品種によって多少のラグ期間が認められるもののガス組成がかなり嫌気的かつ高 $\text{CO}_2$ レベルになる時期とエタノール含量の高い時期がほぼ一致することから、果実内に形成されるガス条件が種子のエタノール発生の誘引の1つになっている可能性があるものと推察された。

なお、組織内エチレン濃度も合わせて調査したが、いずれの品種も生育期間を通じて0.1ppm前後で推移し、少なくとも種子のエタノール発生あるいは自然脱渋との直接的な関連はないものと思われた(データ略)。

### 実験2. 数種のガス環境条件が種子・果肉のエタノール含量に及ぼす影響

種子のエタノール生成能の差異を明確にするため、種々のガス環境条件下に種子あるいは果実をおいてそれらの反応性について調査した。

#### 1. $\text{N}_2$ ガス及び $\text{CO}_2$ ガス処理

PCNAの‘富有’、‘花御所’、PVNAの2品種( $\text{N}_2$ ガス処理は‘長建寺’、‘子成場’、 $\text{CO}_2$ ガス処理は‘水島’、

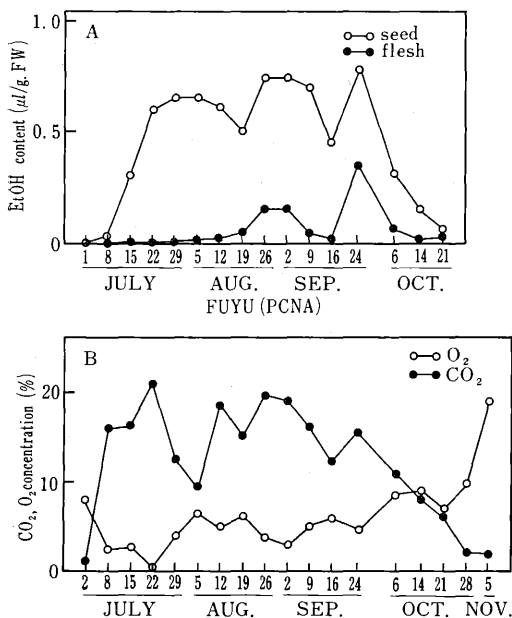


Fig. 1. Seasonal changes in ethanol contents in the seeds (○) and flesh (●) (A) and internal gas composition in fruit cv. FUYU (PCNA). (O<sub>2</sub> (○), CO<sub>2</sub> (●) (B))

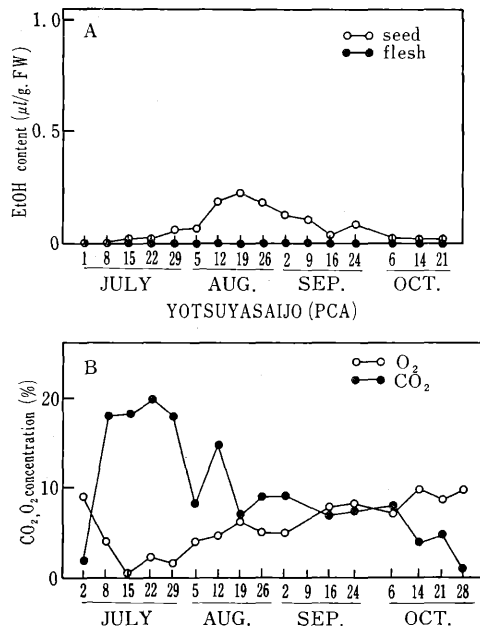


Fig. 3. Seasonal changes in ethanol contents in the seeds (○) and flesh (●) (A) and internal gas composition in fruit cv. YOTSUYASAIJO (PCA). (O<sub>2</sub> (○), CO<sub>2</sub> (●) (B))

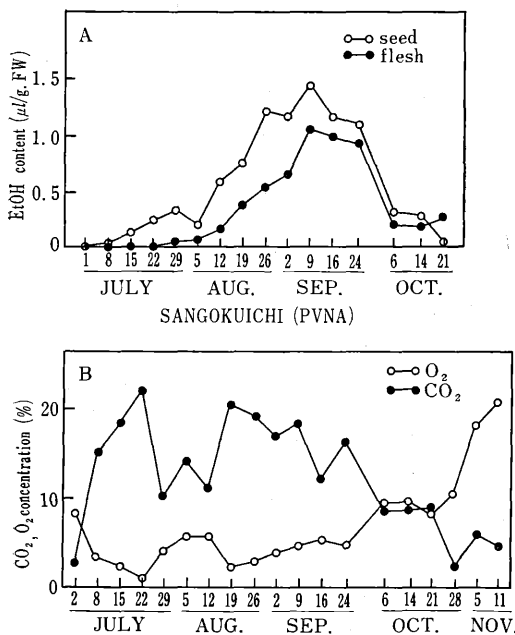


Fig. 2. Seasonal changes in ethanol contents in the seeds (○) and flesh (●) (A) and internal gas composition in fruit cv. SANGOKUICHI (PVNA). (O<sub>2</sub> (○), CO<sub>2</sub> (●) (B))

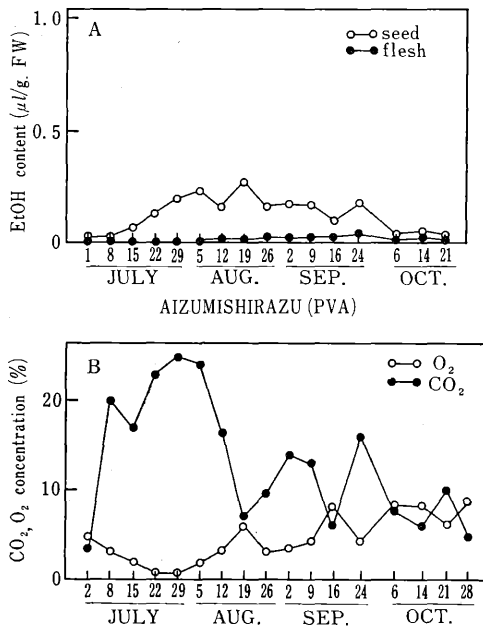


Fig. 4. Seasonal changes in ethanol contents in the seeds (○) and flesh (●) (A) and internal gas composition in fruit cv. AIZUMISHIRAZU (PVA). (O<sub>2</sub> (○), CO<sub>2</sub> (●) (B))

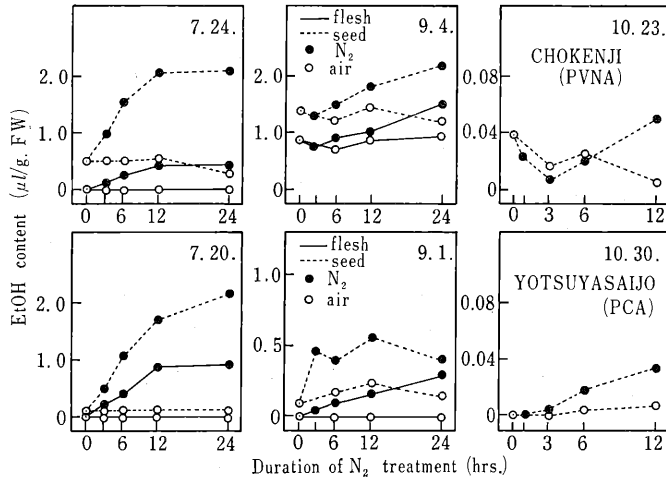


Fig. 5. Effects of  $N_2$  treatments on ethanol contents in the seeds (-----) and flesh (—). The treatments were applied to the whole fruits in July and September, and to excised seeds in October. The fruits or seeds were exposed to  $N_2$  gas in plastic chamber at room temperature. (upper : cv. CHOKENJI (PVNA) lower : cv. YOTSUYASAIJO (PCA)).

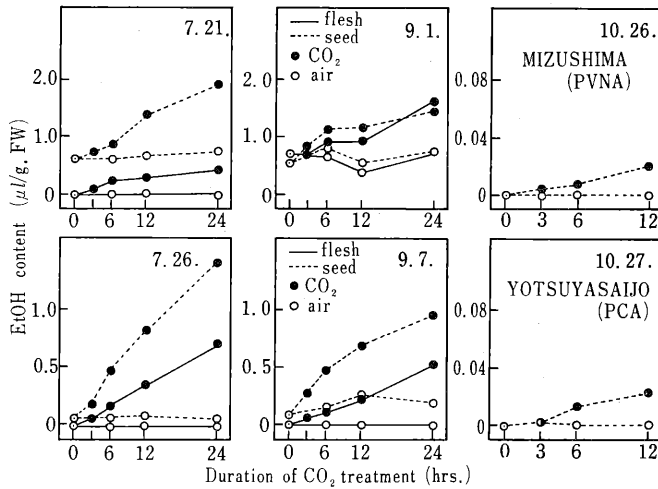


Fig. 6. Effects of  $CO_2$  treatments on ethanol contents in the seeds (-----) and flesh (—). The treatments were applied to whole fruits in July and September, and to excised seeds in October. The fruits or seeds were exposed to  $CO_2$  gas in plastic chamber at room temperature. (upper : cv. MIZUSHIMA (PVNA), lower : cv. YOTSUYASAIJO (PCA)).

‘黒柿’), PCA の ‘四谷西条’, PVA の ‘会津身不知’ の 6 品種について 7 月下旬と 9 月上旬に果実全体を, 10 月下旬には種子のみを用いて実験を行った。

$N_2$  ガス処理,  $CO_2$  ガス処理によっていずれの品種においても種子, 果肉の両者でエタノールの蓄積が認められたが, その蓄積の程度は処理時期によって異なった。すなわち, 種子からのエタノール発生の多い時期 (7 月下旬) では顕著に増大したが, 発生量の少なくなる 10 月

下旬では増加はわずかであった (結果の一部を第 5 図及び第 6 図に示した)。このように, 種子の生理的熟度によって  $N_2$  及び  $CO_2$  ガスに対する反応性は相当に異なっていた。PVNA 品種と渋ガキ品種間の処理効果の差異については, このように極端な嫌氣的ガス条件下に種子をおいた場合は明らかな反応性の差が認められず, PVNA 品種の方がやや渋ガキ品種に比べてエタノール蓄積が多い傾向が認められる程度であった。 $N_2$  ガスと

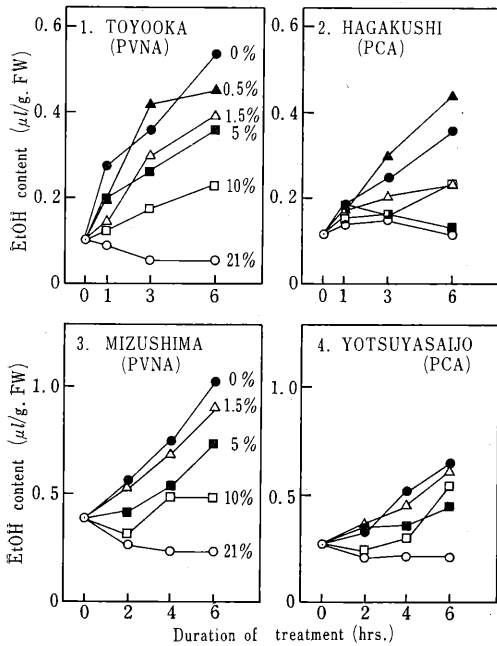


Fig. 7. Effects of various O<sub>2</sub> concentrations (N<sub>2</sub> as balance) on ethanol contents in the seeds. The seeds were exposed to the gases which had different O<sub>2</sub> concentrations in glass flask at room temperature.

CO<sub>2</sub> ガスの効果の差は、エタノールの蓄積という観点では両者に違いはなかったが、同時に調査した果肉の可溶性タンニンの減少に対しては CO<sub>2</sub> ガスの方により積極的な効果が認められた (データ略)。

## 2. O<sub>2</sub> 濃度と種子のエタノール蓄積

PVNA の '豊岡', '三国一', '水島', '伽羅', PCA の '葉隠', '倉光', '四谷西条', '田倉' の 8 品種を供試した。1981年及び1982年の 8 月上旬にそれぞれの品種の種子を用いて実験を行った。

その結果、いずれの品種においても酸素濃度が低いほどエタノールが多量に蓄積した。第 7 図に PVNA, PCA それぞれ 2 品種の結果を示した。他の供試品種の中にやや傾向のはっきりしないものがあるものの、概して PCA 品種の種子では O<sub>2</sub> 濃度が 1.5~10% の範囲内での蓄積の程度が低く、絶対量も PVNA 品種に比べ少なかった。

いずれにしても、PVNA 種子の方が酸素濃度の減少に敏感に反応したことから、果実内が同程度の嫌気的条件になっているならば PCA 種子よりもエタノールを発生しやすいものと考えられた。

## 3. O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> 濃度の組合せとエタノール蓄積

実験 1. で調査した果実内ガス組成をモデルとした 2,

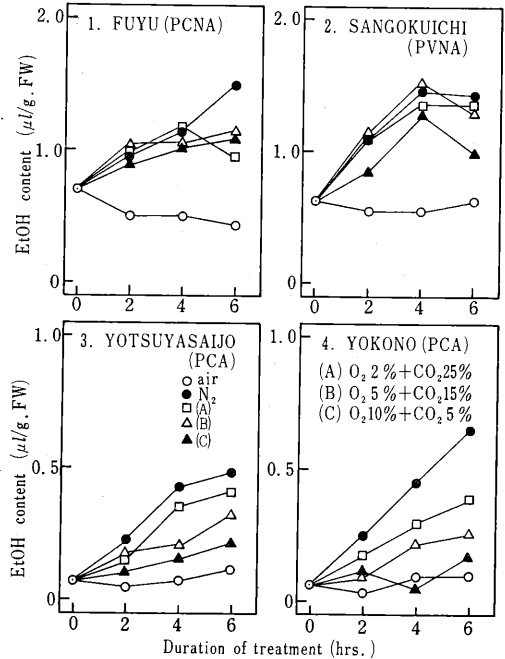


Fig. 8. Effects of several gas conditions which had different concentrations of O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> (N<sub>2</sub> as balance) on ethanol contents in the seeds. The seeds were exposed to the gases in glass flask at room temperature.

3 のガス環境の下で、PVNA 及び PCA 種子の反応性を比較した。PCNA の '富有', '花御所', PVNA の '三国一', '豊岡', '伽羅', PCA の '田倉', '四谷西条', '横野' の 8 品種について検討した結果 (9 月中旬の処理), '富有' や PVNA 品種の種子でガス条件に敏感に反応してエタノールが多量に蓄積するようであった (第 8 図)。

このことから、果実発育中に果実内に実際に形成されるガス環境条件においては、PVNA 種子の方が PCA 種子よりエタノールを発生しやすいことが推察された。

## 考 察

カキ種子がその発生過程で、エタノールやアセトアルデヒド等の揮発性物質を生成することはどのような生理的意義をもつのであろうか。まず、種子自身に対しては、他にこのような現象 (種子が発生過程でエタノール等の揮発性物質を生成する) に関する報告が見当たらないため全く不明と わざるを得ない。エタノールのような発酵産物が植物の生長に対して促進的に働くのではないか、あるいは発酵と呼吸 (酸素呼吸) が一定の比をとることが生長に対して有効に働くのではないかとする辻 (11) の考察に従えば、カキ種子の発生過程においても前述のようなことがあてはまるのかもしれない。一方、果実にとってはどうであろうか。本実験の結果から、果実

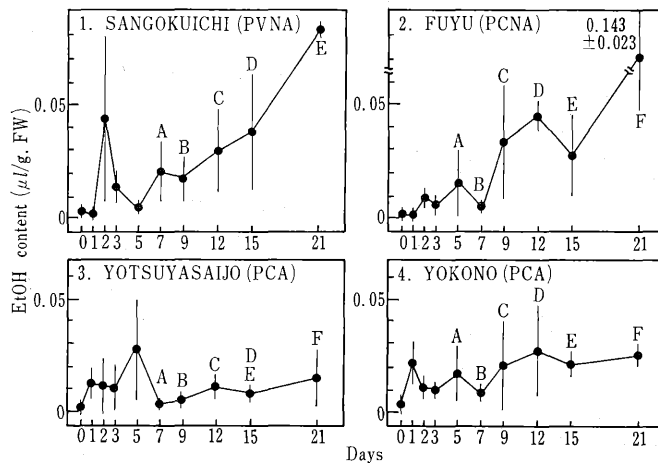


Fig. 9. Changes in ethanol contents in the seeds during germination at  $27^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Growth index (A~F) represents as follows, A: tap root emergency (<0.5 cm), B: tap root <2.0 cm, C: tap root <5.0 cm, D: tap root <10 cm (lateral root emergency), E: hypocotyl emergency and elongation, F: cotyledon development. Bars are SE of means.

が比較的未熟な段階で果実内がかなり嫌気的なガス組成になっていることが明らかとなり、このことが、種子のエタノール発生の誘因の1つになっている可能性が推察された。このような嫌気的条件は、未熟果における呼吸代謝を始めとする生理的活性の強さを反映しているものと考えられることはもとより、この時期の果実に多量に含まれる高粘度の可溶性タンニンが外気とのガス交換をある程度まで妨げることによるとも思われる。もし、後者が真実であるとすれば、「渋」は自らを脱渋すべく種子に間接的に働きかけているといえるかもしれない。

果実内ガス組成は果実の発育・成熟に伴って次第に酸化的な組成へと移行していったが、このことは果実が成熟に伴って次第に生理的に酸化的な状態へと移っていくことを反映しているものと考えられ、カキ果実の生理を考える上で興味深い現象であると思われる。収穫後の果実の  $\text{O}_2$ ,  $\text{CO}_2$ , エチレン等の組織内ガスの変化についての報告は種々みられるが、果実の発育に伴う組織内ガス組成の変化に関する報告はほとんどなされていないようである。ただ、LYONGら(3)はマスキメロン果実で開花後14日から41日の間に  $\text{O}_2$  が18%から15%まで漸減し、 $\text{CO}_2$  は4%から8%まで増加して次第に嫌気的な方向へと移行していくというカキ果実の場合とは対照的な結果を報告している。いずれにしても、果実発育中の組織内ガス組成に関しては、今後、樹上果実の成熟に伴う呼吸活性の変化、果実の呼吸型 (climacteric 型か nonclimacteric 型か) との関連において、さらに詳細に検討されるべき問題であろう。

通常、植物組織における発酵解消点は  $\text{O}_2$  濃度5%前後であるとされている(1)。カキ種子では  $\text{O}_2$  濃度が10%の気体中においたときでもエタノールを蓄積したことから、かなりエタノールを生成しやすい代謝系を持つか、あるいはエタノール生成部位と考えられる胚乳組織内部ではより嫌気的な条件が形成されているのかもしれない。

また、多くの植物種子で発芽に伴う吸水過程において嫌気呼吸によりエタノールが生成することが知られている。実験1. で認められたようなエタノール発生量の差異が吸水・発芽の過程でも認められるかどうかを別に調査した結果を第9図に示した。各々の品種の種子を1983年に十分に成熟した果実から採取して、層積貯蔵の後、パーミキュライト床、 $27^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、蛍光灯連続照明下で発芽させて胚乳中のエタノール含量の変化を調査した。種子間の個体差がかなり大きいものの、種子の発生過程でエタノール発生量の多い品種は発芽過程においてもエタノールを発生しやすい傾向が認められた。

種々のガス環境条件下に種子をおいたときのエタノール蓄積、種子発芽の際のエタノール発生の様相から、種子のエタノール生成能には、PVNA と PCA 品種の間に明らかな質的差異は認められないが、 $\text{PVNA} > \text{PVA} > \text{PCA}$  の順でエタノールが生成しやすい性質が強いこと、すなわち、量的なエタノール生成能が高いことが推察された。

なお、 $\text{N}_2$  ガスと  $\text{CO}_2$  ガスの効果の差に関して、PESIS と BEN-ARIE(4) は、カキ果実の脱渋に際して、果

肉のエタノール含量は両者で大差ないが、アセトアルデヒド含量は  $\text{CO}_2$  ガスを用いたときの方が  $\text{N}_2$  ガスのときよりもかなり高くなることを報告している。本実験でも、 $\text{N}_2$  ガスと  $\text{CO}_2$  ガスの効果の差はエタノール蓄積という観点からはほとんど認められなかったが、今後、アセトアルデヒドについても調査・検討する必要があると思われる。

最近、池田ら(2)は長年にわたるカキ育種事業の成果をまとめた報告の中で、甘渋の遺伝について考察し、PCNA とそれ以外(PVNA, PVA, PCA)の形質は質的遺伝をし、PVNA, PVA, PCA の3群は“種子脱渋力”(すなわち、種子の揮発性物質生成能)の差異による量的遺伝をすることを述べている。本実験の結果からは、PVNA, PVA, PCA の3群の間に種子のエタノール生成能の質的な差異は認められず、その量的な生成能の差異が前述3群の脱渋性に反映することが示唆された。このことは、池田らの考察を支持するものである。

以上のことより、PCNA 以外のカキ果実の脱渋性は、第一に種子のエタノール等の揮発性物質生成能が重要な役割を担い、加えて、各品種の種子形成力、種皮の揮発性物質透過性、果肉の揮発性物質透過性(果肉組織の差異、粗密等)の問題、さらには品種によるタンニン濃度及び組成の微妙な差異(すなわち、タンニン物質側の揮発性物質に対する反応性の差異)が相互に作用しあい、その結果として、PVNA, PVA, PCA の3群に段階的にグループ分けされるものと考えられる。

#### 摘 要

pollination variant の甘ガキ(PVNA)果実が樹上で自然に脱渋するのに対して渋ガキ(pollination variant (PVA) と pollination constant (PCA) の両者を含む)果実が脱渋しない主な原因は、果実発育中に種子から発生してくるエタノール等の揮発性物質の量の多少が大きくかわっていると考えられる。本研究では、種子の揮発性物質、とくにエタノール生成能の差異が何によって左右されているかを検討するために若干の調査を行った。結果の概要は次のとおりである。

1. 果実の発育に伴う種子からのエタノール発生は、カキ種子の本来の特性に加えて、かなり嫌気的な果実内ガス条件がその誘因の1つになっているものと思われる。

2. 果実よりとり出した種子を実験的に設定した種々のガス環境条件においたときのエタノール蓄積の様相及び種子の発芽に伴うエタノール発生の様相から、概してPVNA 品種の種子の方がPCA 品種の種子よりエタノールを発生しやすいと考えられた。

3. 以上のことより、種子のエタノール発生量の多少は、主としてエタノール生成のしやすさの程度によっており、このことが種皮のエタノール透過性とあいまって、カキ果実(PVNA, PVA, PCA)の脱渋性に反映しているものと推察された。

#### 引用文献

1. 赤堀二郎編. 1956. 酵素研究法Ⅲ. p. 97—106. 朝倉書店. 東京.
2. 池田 勇・山田昌彦・栗原昭夫・西田光夫. 1985. カキの甘渋の遺伝. 園学雑. 54: 39—45.
3. LYONS, J. M., W. B. McGLASSON and H. K. PRATT. 1962. Ethylene production, respiration & internal gas conditions in Cantaloupe fruits at various stage of maturity. *Plant Physiol.* 37: 31—36.
4. PESIS, E. and R. BEN-ARIE. 1984. Involvement of acetaldehyde and ethanol accumulation during induced deastringency of persimmon fruits. *J. Food. Sci.* 49: 896—899.
5. 杉浦 明・原田 久・織田久美・苜名 孝. 1975. カキ脱渋における種子の役割について. 第1報. 種子からのエタノール発生. 園学要旨. 昭50春: 100—101.
6. 杉浦 明・原田 久・苜名 孝. 1975. カキ果実の脱渋性に関する研究. 第1報. エタノール処理による樹上脱渋(その1). 園学雑. 44: 265—272.
7. 杉浦 明・原田 久・苜名 孝. 1977. カキ果実の脱渋性に関する研究. 第2報. エタノール処理による樹上脱渋(その2). 園学雑. 46: 303—309.
8. 杉浦 明・米森敬三・原田 久・苜名 孝. 1979. カキ果実のエタノールおよびアセトアルデヒド含量の消長と自然脱渋との関係について. 園学研集. 9: 41—47.
9. SUGIURA, A. and T. TOMANA. 1983. Relationships of ethanol production by seeds of different types of Japanese persimmons and their tannin content. *HortScience* 18: 319—321.
10. 田崎桂一郎・松岡仲助. 1924. 柿の脱渋に関する研究. 農学会報. 256: 113—132.
11. 辻 英夫. 1973. 嫌気条件下における植物の代謝と生長. 生物環境調節. 11: 79—94.