

チュウゴクナシ'鴨梨'果実の軟化と細胞壁多糖類 およびその分解酵素活性

寧 波^{a)}・久保 康隆・稲葉 昭次・中村 怜之輔
(生産物利用学講座)

Softening Characteristics of Chinese Pear 'Yali' Fruit with Special Relation to Changes in Cell-wall Polysaccharides and their Degrading Enzymes

Bo Ning^{a)}, Yasutaka Kubo, Akitsugu Inaba and Reinosuke Nakamura
(Department of Agricultural Products Technology)

The softening characteristics of Chinese pear 'Yali' fruit, based on changes in the rates of respiration and ethylene production, flesh hardness, the content of cell-wall polysaccharides and the activities of their degrading enzymes were determined, in comparison with Japanese pear 'Nijisseiki' and European pears 'la France' and 'Bartlett'.

Rates of respiration and ethylene production in 'Yali', 'la France' and 'Bartlett' fruits increased with the advance of ripening, showing the most significant increase of ethylene production in 'Yali' fruit. Decrease of flesh hardness during ripening was rapid in 'la France' and 'Bartlett' fruits, but slow in 'Yali' and 'Nijisseiki' fruits. Though rapid increase of pectinmethylesterase activity in 'la France' and 'Bartlett' fruits was observed with concomitant decrease of flesh hardness, the same activity was maintained at a lower level in 'Yali' and 'Nijisseiki' fruits. Increase in polygalacturonase activity during ripening was rapid in 'la France' and 'Bartlett' fruits, but slight in 'Yali' and 'Nijisseiki' fruits. Cellulase activity increased with the decrease in flesh hardness in 'la France' and 'Yali' fruits, whereas its increase was slight during ripening in 'Nijisseiki' and 'Bartlett' fruits. Increase in the content of water-soluble pectin and decrease in the content of hydrochloride-soluble pectin during flesh softening were very slight in 'Yali' and 'Nijisseiki' fruits in contrast with their marked evidence in 'la France' and 'Bartlett' fruits.

From the results obtained above, it seemed that long-term hardness maintenance in Chinese pear 'Yali' fruit during ripening was due to lower activity by degrading enzymes of cell-wall polysaccharides, compared with those in other pear fruits.

Key words : Chinese pear, ethylene production, pectinmethylesterase, polygalacturonase, cell-wall polysaccharide

Received October 1, 1996

a) 現在 : 加卜吉 (Kato-Kichi Co. Ltd.)

緒 言

前報¹⁵⁾で、チュウゴクナシ‘鴨梨’は、典型的なクライマクテリック型果実であることが明らかになった。クライマクテリック型果実には追熟に伴って果肉が急速に軟化するものが多いが、‘鴨梨’は追熟中に多量のエチレン生成がみられるにもかかわらず、果肉の軟化は非常に緩慢であった¹⁵⁾。肉質は果実の品質を示す重要な指標の一つであり、いかに果肉の軟化を調節するかは貯蔵・流通過程において極めて重要な問題である。果肉の軟化機構については種々な面から検討されている²¹⁾が、不明なところも多い。特にチュウゴクナシについての知見はほとんどみられない現状である。

本研究では、チュウゴクナシ‘鴨梨’果実の軟化機構を検討するため、軟化速度の遅いニホンナシ‘二十世紀’および軟化速度の速いセイヨウナシ‘ラ・フランス’や‘バートレット’と比較しながら、それらの成熟や追熟に伴う細胞壁多糖類とその分解酵素活性の変化を調査した。

材料および方法

材 料：チュウゴクナシ‘鴨梨’、ニホンナシ‘二十世紀’およびセイヨウナシ‘ラ・フランス’と‘バートレット’を用いた。‘鴨梨’は1989年10月19日、‘二十世紀’は9月4日、いずれも慣行収穫期に岡山市内の果樹園から直接採取した。‘ラ・フランス’と‘バートレット’は、プレクライマクテリック段階のものを山形県の果樹園から直接入手した。これらの果実は、いずれも採取あるいは入手後に有孔ポリエチレン袋で包装して20℃で貯蔵あるいは追熟させ、一定期間ごとに3個ずつ取り出して供試した。

呼吸活性とエチレン生成量の測定：果実をプラスチック容器に入れ、密封した後、常法に従ってヘッドスペースガスをガスクロマトグラフィー（検出器：TCD, FID）で測定した。

果肉硬度の測定：果実赤道部より120度間隔で3ヵ所の果肉片を採取し、圧縮試験器（東洋ボールドウィン製, STM-T-50P）で貫入抵抗を測定して果肉硬度とした。プランジャーは直径5.5 mmの円柱形のものを用い、貫入速度は50 mm・min⁻¹とした。

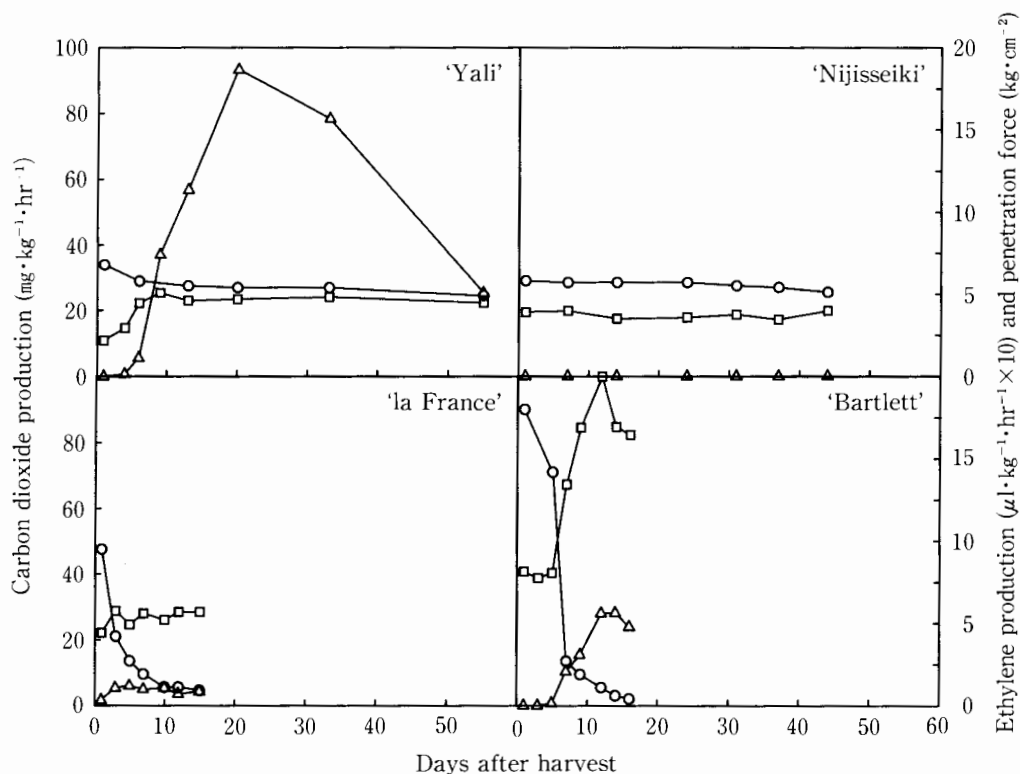


Fig. 1 Postharvest changes in respiration rates (□), ethylene production (△) and flesh hardness (○) of Chinese pear 'Yali' fruit compared with Japanese pear 'Nijisseiki', and European pear 'la France' and 'Bartlett' fruits.

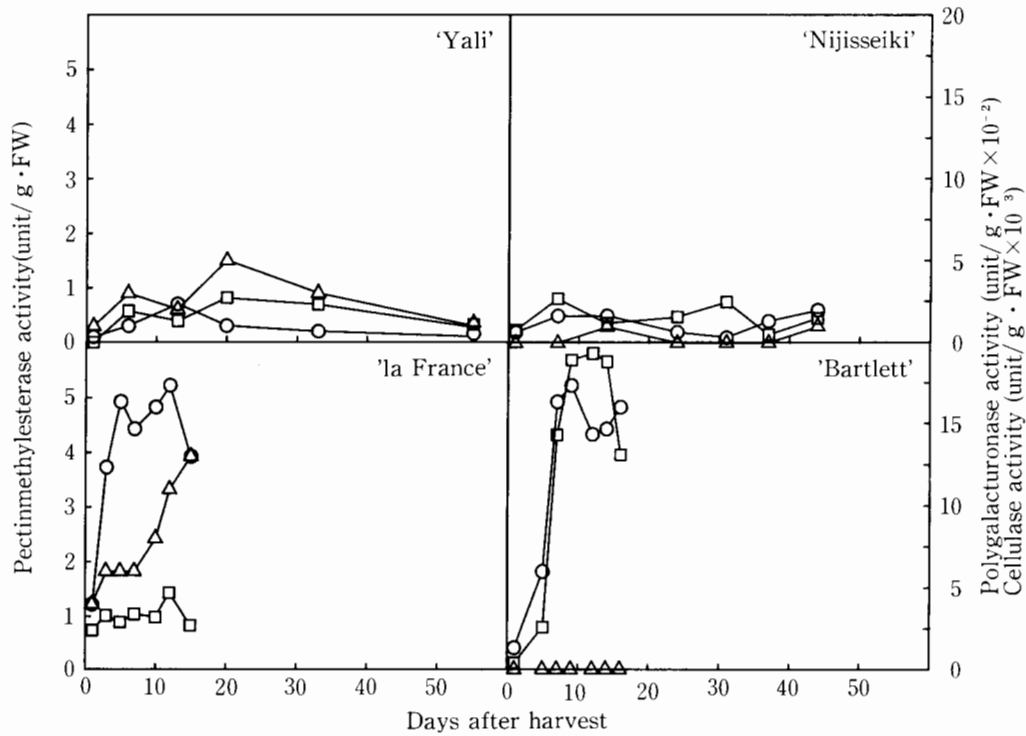


Fig. 2 Postharvest changes in pectinmethylesterase (○), polygalacturonase (□) and cellulase (△) activities of Chinese pear 'Yali' fruit compared with Japanese pear 'Nijisseiki', and European pear 'la France' and 'Bartlett' fruits.

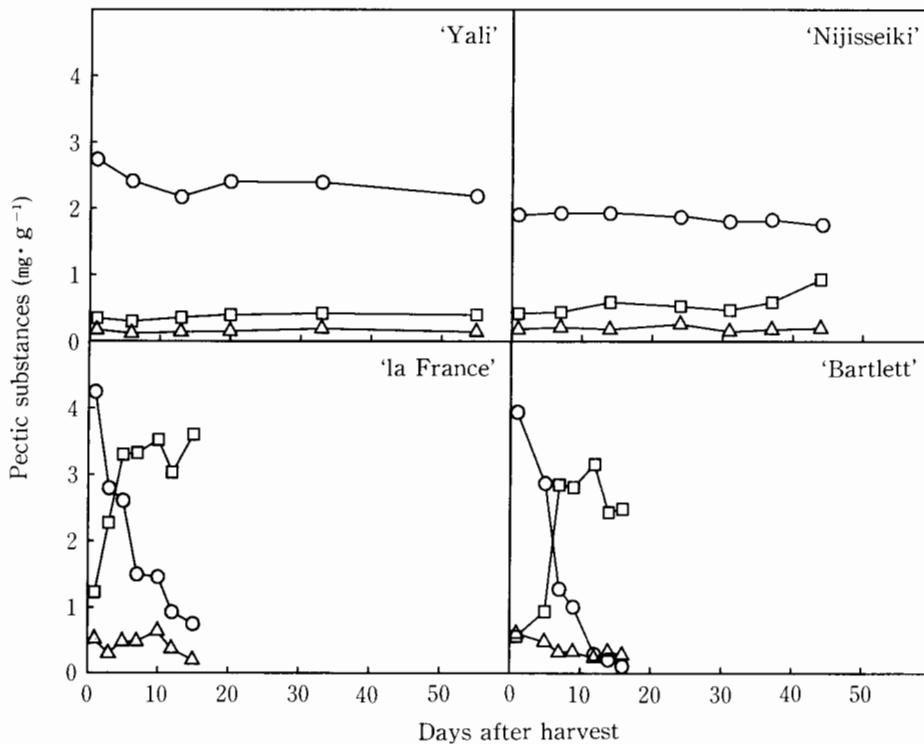


Fig. 3 Postharvest changes in pectic substances of Chinese pear 'Yali' fruit compared with Japanese pear 'Nijisseiki', and European pear 'la France' and 'Bartlett' fruits.

□ : Water-soluble pectin, △ : hexametaphosphoric acid-soluble pectin, ○ : hydrochloride-soluble pectin.

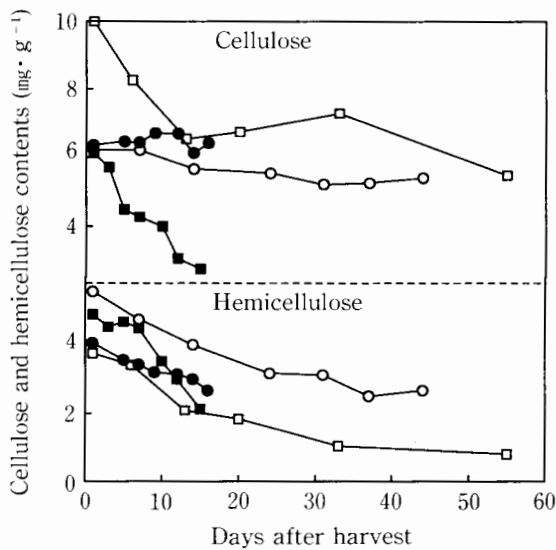


Fig. 4 Postharvest changes in cellulose and hemicellulose contents of Chinese pear 'Yali' fruit compared with Japanese pear 'Nijisseiki', and European pear 'la France' and 'Bartlett' fruits. □: 'Yali', ○: 'Nijisseiki', ■: 'la France', ●: 'Bartlett'

ペクチンメチルエステラーゼ (PME) の抽出および活性測定: Awad と Young の方法²⁾により, 果実赤道部の果肉10 g を冷0.4 M NaCl 液10ml とともにホモゲナイズした後, 15分間攪拌して酵素を抽出した。その後, 6000 g で30分間遠心分離し, 5 ml の上澄液 (酵素抽出液) を50ml のペクチン基質 (0.5% ペクチンを含む0.1M NaCl 液) と混合し, 直ちに NaOH で pH7.58 に調整した。24°C で10分間保った後, PME の作用により基質上に生じる -COOH を0.1N NaOH で pH7.58 に中和滴定することにより, PME 活性を測定した。1分間当たり 1 meq のエステルを加水分解した場合を 1 unit とした。

ポリガラクトナーゼ (PG) とセルラーゼの抽出および活性測定: Yamaki と Matsuda の方法²⁰⁾に従い, 果実赤道部より果肉10 g を採取して0.05M リン酸緩衝液 (pH7.3) でホモゲナイズし, 15000 g 遠心分離沈殿物を 2 M NaCl で抽出後, 透析および凍結乾燥し, 少量の水に溶解して, 粗酵素液とした。得られた酵素抽出液にペクチン酸およびカルボキシメチルセルロースナトリウムをそれぞれ基質として加え, 反応液の還元力を Somogyi-Nelson 法⁹⁾で測定することにより酵素の活性を求めた。PG およびセルラーゼ活性はそれぞれ放出されたガラクトン酸およびブドウ糖の 1 μmol/hr を 1 unit とした。なお,

酵素抽出の全ての操作は, 氷温下で行った。

ペクチン物質の測定: 果実赤道部の果肉10 g を80% エタノールとともにホモゲナイズし, ろ過により得たアルコール不溶物質を試料として, 蒸留水, 4% ヘキサメタリン酸ナトリウム溶液および0.05N 塩酸溶液によって, ペクチン質をそれぞれ水溶性ペクチン (WSP), ヘキサメタリン酸ナトリウム可溶性ペクチン (HMP) および塩酸可溶性ペクチン (HP) に分画した。各分画の抽出液を19 ml 取り, これに0.1N NaOH 1 ml を加え, 25~30°C で30分放置して脱エステル化した後, 無水ガラクトン酸残基を直接定量するカルバゾール硫酸比色法⁹⁾でペクチン物質を測定した。

セルロースとヘミセルロース含量の測定: 果実赤道部の果肉20 g に酸性デタージェント溶液50 ml とデカリン (デカハイドロナフタレン) 1 ml を加え, 環流冷却装置で1時間煮沸した後, ガラスろ紙を敷いたグーチャーのつぼで吸引ろ過しながら熱水とアセトンで不溶物を洗浄して乾燥した。その後, 電気炉を用いて550°C で灰化し, その前後の重量差から Acid Detergent Fiber (ADF) を求め, セルロースとした。また, 果肉20 g に中性デタージェント溶液50 ml, デカリン 1 ml および亜硫酸ナトリウム0.25 g を加え, 以下 ADF の場合と同様に操作して Neutral Detergent Fiber (NDF) を求め, NDF と ADF の差をヘミセルロースとした。

結 果

呼吸活性, エチレン生成量および果肉硬度の変化 (Fig. 1): ナシ果実の追熟に伴う呼吸活性の増加は, チュウゴクナシ '鴨梨', およびセイヨウナシの中生種 'ラ・フランス' と早生種 'バートレット' のいずれでもみられたが, 'バートレット' で最も明確であり, ピーク時の呼吸活性も最も高かった。エチレンは, 'ラ・フランス' では測定開始日にすでに検出され, '鴨梨' では4日後, 'バートレット' では5日後に検出されはじめ, いずれも成熟に伴って増加した。生成量は, '鴨梨' で最も高く, 最大値は 190 μl/kg·hr に達した。次いで 'バートレット', 'ラ・フランス' の順であった。'二十世紀' では, 呼吸活性の増加がみられず, エチレン生成も認められなかった。一方, 果肉硬度の低下は, '鴨梨' と '二十世紀' では極めて緩慢であったが, 'ラ・フランス' と 'バートレット' では, 急速であった。

PME, PGおよびセルラーゼ活性の変化 (Fig. 2) : PME 活性は測定開始時にすでに‘ラ・フランス’ではかなり認められたが、他の3品種のナシではわずかに認められなかった。‘ラ・フランス’および‘バートレット’では、果実の急速軟化に伴って PME 活性の急速増加が認められ、その後も高い値が維持されたが、‘鴨梨’や‘二十世紀’では低いレベルで推移した。PG 活性は、測定開始時に‘鴨梨’ではほとんど検出されなかったが、‘二十世紀’と‘バートレット’ではわずかに認められ、‘ラ・フランス’ではかなりの活性が認められた。果肉軟化に伴う PG 活性の増加は、4品種のナシのいずれでもみられたが、その程度は‘鴨梨’と‘二十世紀’では小さく、‘バートレット’で最も高かった。‘ラ・フランス’では、活性の増加程度は小さかったが、全体的な活性は‘鴨梨’や‘二十世紀’よりは高かった。セルラーゼ活性は、‘ラ・フランス’では測定開始時にすでに認められ、その後果肉の急速軟化に伴ってやや増加してから急増した。‘鴨梨’では果肉軟化に伴ってやや増加したが、‘二十世紀’や‘バートレット’では終始ほとんど活性は認められなかった。

ペクチン物質含量の変化 (Fig. 3) : 果実のペクチン総含量 (WSP, HMP および HP の合計値、図には省略) は、‘ラ・フランス’や‘バートレット’で多く、‘鴨梨’と‘二十世紀’ではやや少なかった。ペクチン組成としては、測定開始時には4品種とも HP が最も多く、WSP と HMP が少なかった。その後、‘ラ・フランス’と‘バートレット’では、果肉軟化に伴って WSP の急増と HP の急減傾向がみられ、HMP はやや減少した。一方、‘鴨梨’や‘二十世紀’の WSP は軟化に伴ってやや増加したが、HP はやや減少し、HMP はほとんど変化しなかった。

セルロースとヘミセルロース含量の変化 (Fig. 4) : セルロース含量の変化は、セルラーゼ活性の変化とよく一致しており、‘ラ・フランス’のみで急速に減少し、‘鴨梨’では漸減する傾向がみられたが、‘バートレット’ではほとんど変化しなかった。ヘミセルロース含量はいずれの品種とも漸減する傾向がみられた。

考 察

エチレン生成と PG 活性

エチレンは成熟ホルモンとして、クライマクテリック型果実の成熟開始の引き金とみなされているが、非クライマクテリック型果実の成熟にはほとんど関

与しないと考えられている。一方、PG は、多数の果実で成熟や追熟に伴う軟化に関与することがよく知られている。このエチレンと PG との関係は興味深いものであり、多くの研究者により検討されているが、その因果関係については意見が分かれている。トマトでは、PG 活性の増加が呼吸のクライマクテリック・ライズより前に起こることが認められている¹⁷⁾。また、PG の作用により細胞壁からある種の酵素が放出されることによって、エチレン生成の増加を含む追熟パラメーターの変化が始まるという報告もみられる¹⁹⁾。

Brecht と Huber⁶⁾ はガラクトクロン酸を、Kim ら¹⁴⁾ はガラクトースを未熟トマト果実に浸透させることにより、エチレン生成が増加したと報告している。これらの細胞壁多糖類の分解に由来するいくつかの物質がエチレン生合成を促進することは、PG がエチレンの増加を含む追熟の種々な反応を誘発するという考えの有利な証拠となる。病原体と寄主の相互作用についての研究でも、ペクチンおよび他の炭水化物の分解による低分子物質がエチレン生成を含む種々の反応を誘発させることが示されている^{7,18)}。更に、プレクライマクテリック段階のトマト果実への PG の浸透によるエチレン生成の誘導も報告されている⁴⁾。一方、ACC 合成酵素やエチレンは PG の合成に先立つという報告があり¹⁰⁾、成熟中のトマトではエチレンが PG の合成を活発にするという報告¹¹⁾やトマトの品種間で PG 活性とエチレン生成量に大きな関連性があるとの報告¹⁾もある。

本研究の結果、セイヨウナシの‘ラ・フランス’と‘バートレット’では、PG 活性とエチレン生成量は関連するようであったが、ナシ属のすべてについて認められることではないように思われる。実際、チュウゴクナシ‘鴨梨’では PG 活性とエチレン生成量の間には明確な前後関係は認められず、また、量的にみても‘鴨梨’はエチレン生成が多量であるにもかかわらず PG 活性は極めて低く、エチレン生成がわずかであった‘二十世紀’とほぼ同レベルであった。エチレンと PG の相互作用は複雑であり、更に検討する必要がある。

PME, PG およびセルラーゼ活性と果肉軟化

セイヨウナシでは、果肉の急速軟化に伴って、PME 活性が急速に増加した。PG は、‘バートレット’では活性が急増し、‘ラ・フランス’でも相対的に高い活性

がみられた。一方、チュウゴクナシ‘鴨梨’とニホンナシ‘二十世紀’では、これらの酵素活性が低かった。多数の研究者によって、果肉の軟化に伴う PME 活性の変化が検討されたが、一致する傾向は認められておらず、減少、不変および増加の3パターンが報告されている^{3,5,13)}。バナナでは、塩抽出溶液中の PME 活性は成熟中に起こるメチル化の真の変化量より遙かに多量の脱メチル化能力を示しているとされている⁹⁾が、アボカドでは、PME 活性が最大である間でもメトキシル含量はほとんど変化しないことが古くから知られている⁸⁾。従って、PME は成熟果実の軟化にはほとんど影響しないと考えられていた。しかし、本研究の結果では、果肉が急速軟化を起こすセイヨウナシでは、いずれも PME 活性の急増が認められ、かつ、PG 活性の増加に先行した。同時に、この期間には比較的高分子のペクチン質と考えられている HP あるいは HMP が急減し、逆に低分子ペクチン質とされている WSP の急増が認められた。これらの結果は、ナシ果実の軟化には PG だけではなく、PME も関与することを示唆している。PME はペクチンの部分脱メチル化に作用して PG による加水分解のための基質を準備し、PG はその基質を分解することにより、果肉が軟化すると推測される。

セルラーゼについては、‘鴨梨’と‘ラ・フランス’では軟化に伴う活性増加が認められたが、‘二十世紀’と‘バートレット’では活性はほとんど測定できなかった。このことは、セルロース含量の減少傾向ともよく一致していた。アボカド^{2,16)}やトマト¹²⁾でもセルラーゼと果肉軟化の間に密接な関係があるとされている。したがって、果肉軟化には種類や品種によってセルラーゼの関与するものと関与しないものがあると思われる。

細胞壁多糖類物質含量と果肉軟化

セイヨウナシ‘ラ・フランス’と‘バートレット’では、果肉の急速軟化に伴って、HP の急減と WSP の急増がみられた。一方、チュウゴクナシ‘鴨梨’とニホンナシ‘二十世紀’では、WSP の増加と HP の減少はわずかであり、このことが果肉軟化が緩慢であることの原因であると考えられる。果実の軟化とペクチン物質の消長との間に関連があることは一般に知られているが、ナシ果実ではその関連性が特に強いと思われる。

セルロース含量は、果肉硬度よりむしろセルラー

ゼ活性の変化とよく一致しており、‘ラ・フランス’では果肉の急速軟化に伴って急減し、‘鴨梨’でも減少がみられ、‘バートレット’では果肉の急速軟化にかかわらずほとんど変化しなかった。ヘミセルロース含量は、ナシの4品種のいずれも果肉軟化に伴って減少した。

これらの結果をまとめて考えると、ナシ果肉の軟化、特に本研究に用いた貫入抵抗からみた果実硬度の低下は、果実のペクチン物質の組成や含量の変化と密接に関連することが明らかになった。ナシ果肉の軟化は、主に細胞を結びつけるペクチン物質の分解によるものであり、次いでセルロースやヘミセルロースなどの細胞壁構成物質にも影響されるものと思われる。

‘鴨梨’の果肉軟化の特徴

以上のことを総合的に考えると、‘鴨梨’果実の軟化は、PME、PG およびセルラーゼなどの酵素によるプロトペクチン、セルロースおよびヘミセルロースなどの細胞壁多糖類の分解によるものであると思われる。‘鴨梨’果実は追熟中に多量のエチレンを生成するにもかかわらず、果肉硬度の低下は緩慢であるが、これは以下の理由によるものであると考えられる。

①エチレン生成量と果肉軟化の重要な分解酵素である PG 活性の間には関連性がないようである。②PME、PG およびセルラーゼなどの酵素活性が相対的に低い。③長期間の追熟中、セルロースやヘミセルロースなどがある程度分解するが、細胞を結びつけるプロトペクチンはわずかししか分解しないため、外部に対する抵抗力が十分に保持される。

摘 要

チュウゴクナシ‘鴨梨’果実の追熟に伴う、呼吸活性、エチレン生成量、果肉硬度、細胞壁多糖類およびその分解酵素活性の変化をセイヨウナシ‘ラ・フランス’と‘バートレット’、ニホンナシ‘二十世紀’と比較しながら検討し、‘鴨梨’の果肉軟化の特徴について考察を加えた。

1. ナシ果実の呼吸活性およびエチレン生成量は、‘鴨梨’、‘ラ・フランス’、‘バートレット’はいずれも果実の追熟に伴って増加したが、増加程度は異なった。特に、‘鴨梨’のエチレン生成量は多く、特徴的であった。果肉硬度は、‘ラ・フランス’と‘バートレット’では追熟に伴って急減したが、‘鴨梨’と‘二十世紀’では

低下は緩慢であった。

2. ナシ果実の PME 活性は, 'ラ・フランス' と 'パートレット' では果肉の軟化に伴って急減したが, '鴨梨' と '二十世紀' では低レベルで推移した。果実の軟化に伴う PG 活性の増加は4品種ともみられたが, その程度は, 'パートレット' で最も大きく, 次いで 'ラ・フランス' であり, '鴨梨' と '二十世紀' では小さかった。セルラーゼ活性は, 'ラ・フランス' では果肉軟化に伴って急増し, '鴨梨' でもやや増加したが, '二十世紀' と 'パートレット' では終始ほとんど認められなかった。

3. 'ラ・フランス' と 'パートレット' では果肉の軟化に伴って WSP の急増, HP の急減が認められたが, '鴨梨' や '二十世紀' では WSP の増加や HP の減少はいずれもわずかであった。ヘミセルロース含量は, 4 品種のいずれでも減少したが, セルロース含量は, 'ラ・フランス' でのみ急減した。

4. チュウゴクナシ '鴨梨' の果肉軟化は, PME, PG およびセルラーゼなどの酵素によるプロトペクチン, セルロースおよびヘミセルロースなどの細胞壁多糖類の分解に起因するものであるが, これらの酵素活性が他品種に比べて低く, 追熟中にプロトペクチンの分解はわずかであるため, 外部に対する抵抗力が十分に保持され, このことが果肉軟化が緩慢である原因になっているものと思われる。

引用文献

- 1) Ahrens, M. J. and D. J. Huber : Physiology and firmness determination of ripening tomato fruit. *Physiol. Plant.*, **78**, 8-14 (1990)
- 2) Awad, M. and R. E. Young : Postharvest variation in cellulase, polygalacturonase, and pectinmethylesterase in avocado (*Persea americana* Mill. cv. Fuerte) fruits in relation to respiration and ethylene production. *Plant Physiol.*, **64**, 306-308 (1979)
- 3) Awad, M. and R. E. Young : Avocado pectinmethylesterase activity in relation to temperature, ethylene, and ripening. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **105**, 638-641 (1980)
- 4) Baldwin, E. A. and R. Pressey : Tomato polygalacturonase elicits ethylene production in tomato fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **113**, 92-95 (1988)
- 5) Brady, C. J. : The pectinesterase of the pulp of the banana fruit. *Aust. J. Plant Physiol.*, **3**, 163-172 (1976)
- 6) Brecht, J. K. and D. J. Huber : Products released from enzymically active cell wall stimulate ethylene production and ripening in preclimacteric tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruit. *Plant Physiol.*, **88**, 1037-1041 (1988)
- 7) Chappell, J., K. Hahlbrock and T. Boller : Rapid induction of ethylene biosynthesis in cultured parsley cells by fungal elicitor and its relationship to the induction of phenylalanine ammonia-lyase. *Planta*, **161**, 475-480 (1984)
- 8) Dolendo, A. L., B. S. Luh and H. K. Pratt : Relation of pectic and fatty acid changes to respiration rate during ripening of avocado fruits. *J. Food Sci.*, **31**, 332-336 (1966)
- 9) 福井作藏 : 還元糖の定量法, pp. 55-59, 学会出版センター, 東京 (1969)
- 10) Grierson, D. and G. A. Tucker : Timing of ethylene and polygalacturonase synthesis in relation to the control of tomato fruit ripening. *Planta*, **157**, 174-179 (1983)
- 11) Gross, K. C. : Promotion of ethylene evolution and ripening of tomato fruit by galactose. *Plant Physiol.*, **79**, 306-307 (1985)
- 12) Hobson, G. E. : Cellulase activity during the maturation and ripening of tomato fruit. *J. Food Sci.*, **33**, 588-591 (1968)
- 13) Hultin, H. O. and A. S. Levine : Pectin methyl esterase in the ripening banana. *J. Food Sci.*, **30**, 917-921 (1965)
- 14) Kim, J., K. C. Gross and T. Solomos : Characterization of the stimulation of ethylene production by galactose in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruit. *Plant Physiol.*, **85**, 804-807 (1987)
- 15) 寧 波・久保康隆・稲葉昭次・中村怜之輔 : チュウゴクナシ '鴨梨' 果実の樹上および収穫後の成熟特性. *園学雑*, **60**, 703-710 (1991)
- 16) Pesis, E., Y. Fuchs and G. Zauberman : Cellulase activity and fruit softening in avocado. *Plant Physiol.*, **61**, 416-419 (1978)
- 17) Poovaiyah, B. W. and A. Nukaya : Polygalacturonase and cellulase enzymes in the normal Rutgers and mutant *rin* tomato fruits and their relationship to the respiratory climacteric. *Plant Physiol.*, **64**, 534-537 (1979)
- 18) Roby, D., A. Toppan and M. Esquerre-Tugaye : Cell surfaces in plant-microorganism interactions. VI. Elicitors of ethylene from *Colletotrichum lagenarium* trigger chitinase activity in melon plants. *Plant Physiol.*, **81**, 228-233 (1986)

- 19) Tigchelaar, E. C., W. B. McGlasson and M. J. Franklin : Natural and ethephon-stimulated ripening of F1 hybrids of the ripening inhibitor (*rin*) and non-ripening (*nor*) mutants of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Aust. J. Plant Physiol., **5**, 449-456 (1978)
- 20) Yamaki, S. and K. Matsuda : 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 (1977)
- 21) 吉岡博人 : 果実・野菜組織の軟化とペクチンおよびペクチン分解酵素. 日食工誌, **39**, 733-737 (1992)