

ブドウ果粒の発育に関連する  
ジベレリンの同定と  
それらを利用した無核化技術の開発

(課題番号 12660019)

平成12年度科学研究費補助金(基礎研究(C)(2))  
研究成果報告書

平成15年4月(2003)

研究代表者 松井弘之  
(千葉大学園芸学部)

## はしがき

ブドウにはヨーロッパ系品種とアメリカ系品種があり、生食、ワイン、干ブドウおよびジュース用として利用されている。しかし、一般的にブドウではヨーロッパ系品種の方がアメリカ系品種より品質的に優れているものの、雨の多いわが国の気象条件下での栽培は困難である。したがって、ヨーロッパ系の良品質を備えていて、しかも栽培が容易な品種の育成が大きな育種目標であった。一方、最近の消費者の動向をみると大粒系品種で、しかも無核品種が求められている。

これまでに、大粒系品種としては‘巨峰’、‘ピオーネ’などを中心に多くの品種がわが国で育成されてきた。また、自然に無核となる品種は、干ブドウ用品種として‘トムソン・シードレス’、‘モヌッカ’、‘ブラック・コリンズ’および‘ホワイト・コリンズ’などの優良品種が古くからあるが、いずれもヨーロッパ系ブドウであり、わが国での栽培は困難である。さらに、これらの品種を親にした育種が試みられてきたが、現在のところ優良品種は育成されていない。

一方、Weaverら(1958、1959a, b, c、1960)は、ジベレリン酸( $GA_3$ )がブドウの無核化形成と果粒肥大に効果のあることが発見されて以来、わが国においても $GA_3$ の処理時期、処理濃度、処理方法の工夫がなされ、‘デラウェア’品種における人為的な無核化技術が開発された。その後の研究により‘マスカット・ベリーA’、‘巨峰’、‘ピオーネ’などの数品種においても実用化されるようになった。すなわち、‘デラウェア’や‘マスカット・ベリーA’では100 ppm  $GA_3$ 溶液に開花約2週間前および開花約10日後の2回、花(果)を浸漬処理することにより無核化することができる。また、‘巨峰’や‘ピオーネ’では低濃度の $GA_3$ (20~25 ppm)溶液を開花期のみ、あるいは、開花1~2週間後の2

回浸漬処理することにより容易に無核化が可能である。しかし、その他の多くの品種では、GA<sub>3</sub>を浸漬処理しても有核果が多く混入したり、小果粒が多く着粒するなど多くの問題があり、GA<sub>3</sub>により無核化が実用化されている品種は極めてわずかである(永田ら 1982)。

Iwahoriら(1968)は、ブドウの無核品種における着果や肥大時の内生 GAs 様活性は、有核品種よりも高いことをみいだし、ブドウの着果や肥大には内生 GAs が重要な働きをしていることを示唆した。

一方、モモにおいて GA<sub>3</sub> 処理による無核化誘起効果に品種間差異のあることが報告されている(Kiyokawa ら、1972)。すなわち、‘布目早生’、‘倉方早生’および‘高陽白桃’などでは GA<sub>3</sub> 処理では全く無核化することができなかった。しかし、モモの未熟種子や果肉中に含まれている主要な内生 GAs である GA<sub>32</sub> を処理すると、GA<sub>3</sub> で無核化できない品種でも容易に無核化を誘起することが可能であった(湯田ら、1986、1988)。また、ウメでも同様に GA<sub>32</sub> 処理は GA<sub>3</sub> 処理よりも高い無核化誘起効果が認められた(Paksasorn, 1995)。他方、モモやウメと同じ核果類に属する酸甘オウトウでは、未熟種子中に存在する GAs について詳細に調査され、GA<sub>3</sub>、GA<sub>17</sub>、GA<sub>19</sub>、GA<sub>20</sub>、GA<sub>25</sub>、GA<sub>30</sub>、GA<sub>32</sub>、GA<sub>44</sub>、GA<sub>86</sub>、GA<sub>87</sub> および GA<sub>95</sub> が同定された(Nakayama ら、1996)。これらの内、核果類の主要 GAs である GA<sub>32</sub> 以外でも、GA<sub>32</sub> の生合成経路に近い GAs である GA<sub>30</sub>、GA<sub>86</sub> および GA<sub>87</sub> は無核化誘起力が極めて強いことが報告されている(Bukovac ら、1991; 松井ら、未発表)。

これらの結果から、それぞれの果実(種子)中に含まれる GAs は果実の生長、肥大などの生理的変化に重要な働きしていると考えられる。したがって、ブドウの果粒や種子中に含まれている主要 GAs を明らかにし、これらを用いれば全てのブドウ品種の無核化が可能と考えられる。

そこで本研究では、GA<sub>3</sub> により比較的無核化し易い‘キャンベ

ル・アーリー’ と ‘デラウエア’ および無核化が困難な ‘甲州’ を用い、GA<sub>3</sub>によるブドウ無核化の品種間差異を内生 GAs との関連において明らかにしようとした。

なお、これらの研究は、栽培学的、生理学的な面から追求したものであり、もとよりこの種の研究には長い年月を要するものであるが、文部科学省より助成をいただいた3年間でかなりの部分を明らかにすることができ、一部は直ちに実際栽培に応用可能なまでにいたったことは、文部科学省科学研究費に負うところが極めて大であり、深く謝意の意を表す。ここにそれらの成果を取りまとめて報告する次第である。

平成 15 年 5 月

研究代表者 千葉大学園芸学部  
教授 松井 弘之

# 研究成果報告

## 1. 研究課題

ブドウ果粒の発育に関連するジベレリンの同定とそれらを利用した無核化技術の開発

## 2. 課題番号

1 2 6 6 0 0 1 9

## 3. 研究種目

平成 12 年度科学研究費補助金 基礎研究 (C) (1)

## 4. 研究代表者

松井 弘之 (千葉大学園芸学部・教授)

## 5. 研究協力者

小原 均 (千葉大学園芸学部・助教授)

大川 克哉 (千葉大学園芸学部・助手)

堀 隆哉 (千葉大学大学院自然科学研究科・院生)

加藤 薫子 (千葉大学大学院自然科学研究科・院生)

## 6. 研究経費

平成 12 年度 1,800,000 円

平成 13 年度 500,000 円

平成 14 年度 500,000 円

## 7. 研究発表

- 1) Matsui, H., T. Hori, H. Ohara and K. Ohokawa. 2001.  
Effect of gibberellins on induction of parthenocarpic  
berry growth of three grape cultivars and their  
endogenous gibberellins. ASEV 52nd Annual Meeting.  
81.
- 2) Kato, K., H. Ohara, E. Takahasi and H. Matsui. 2000.  
Endogenous gibberellin-induced parthenocarpy in grape  
berries. Acta Hort. 514:69-74.

# 目 次

第 1 章	‘キャンベル・アーリー’ 未熟種子中のジベレリンの同定とそれらによる無核化	1
第 1 節	緒 言	1
第 2 節	‘キャンベル・アーリー’ 未熟種子からのジベレリンの抽出・精製と同定	2
第 3 節	‘キャンベル・アーリー’ 未熟種子から得られたジベレリンによる無核化	6
第 4 節	考 察	9
第 2 章	GA <sub>3</sub> 、GA <sub>4</sub> および GA <sub>7</sub> 処理が ‘キャンベル・アーリー’ ‘デラウェア’ および ‘甲州’ の無核化	11
第 1 節	緒 言	11
第 2 節	GA <sub>3</sub> 、GA <sub>4</sub> および GA <sub>7</sub> による無核化	11
第 3 節	GA <sub>3</sub> 、GA <sub>4</sub> および GA <sub>7</sub> による花粉発芽への影響	15
第 4 節	考 察	16
第 3 章	‘キャンベル・アーリー’、‘デラウェア’ および ‘甲州’ 果粒中の内生ジベレリン様物質の違いとそれらの経時的変化	22

第1節	緒言	22
第2節	‘キャンベル・アーリー’、‘デラウェア’および‘甲州’の内生ジベレリン様活性の違い	22
第3節	‘キャンベル・アーリー’、‘デラウェア’および‘甲州’の内生ジベレリン様活性の経時的変化	24
第4節	考察	30
第4章	‘キャンベル・アーリー’および‘甲州’の内生ジベレリンによる無核化	33
第1節	緒言	33
第2節	‘キャンベル・アーリー’の内生ジベレリン様物質による‘キャンベル・アーリー’と‘デラウェア’の無核化	33
第3節	‘キャンベル・アーリー’および‘甲州’の内生ジベレリン様物質による両品種の無核化	49
第4節	考察	58
第5章V.	まとめ	64
	引用文献	67

# 第1章 ‘キャンベル・アーリー’未熟種子中のジベレリンの同定とそれらによる無核化

## 第1節 緒言

リンゴ、ニホンナシ、ブドウ、カキ、ビワおよび核果類（モモ、オウトウ、スモモ、アンズ、ウメ）などの果実は、開花期にジベレリン  $GA_3$  ( $GA_3$ ) 処理することにより容易に単為結果（無核化）を誘起することができる。しかし、果菜類のトマト、カボチャ、イチゴ、トウガラシ、果樹類のイチジク、キウイフルーツ、ブラックベリーなどでは  $GA_3$  よりもオーキシンやサイトカイニン进行处理した方が、無核化を誘起する能力が高いことが知られている。このことは、果実の着生および発育において、前者はジベレリン ( $GAs$ ) が、後者はオーキシンあるいはサイトカイニンが必要不可欠な内生植物ホルモンであることを示している。しかし、この二つのグループの果実を内部形態的な面から比較すると、前者は種子の少ない果実であり、後者は種子の多い果実であるという大きな違いがみられる。すなわち、種子は内生植物ホルモンの強い生合成場所であることから、このような違いが種子における植物ホルモンの生合成量あるいは生合成される種類に影響しているのかもしれない。

わが国で開発された  $GA_3$  によるブドウの無核化（単為結果の誘起）技術は、‘デラウェア’、‘マスカット・ベリーA’、‘スチューベン’、‘巨峰’ および ‘ピオーネ’ などの品種において実用化されている。しかし、ブドウに対する消費者の要望は、大粒・無核であるにもかかわらず大部分のブドウ品種は有核であり、現時点では  $GA_3$  処理により全ての品種を無核化することは不可能である。

著者らは以前の報告において、核果類の内生主要  $GAs$  は  $GA_3$

でなく、GA<sub>32</sub>であることを報告した(Yamaguchi ら、1970: Bukovac ら、1979: Paksasorn、1995)。また、核果類の主要内生ジベレリンである GA<sub>32</sub> を無受粉の子房に処理すると、GA<sub>3</sub> よりも極めて低濃度で、全ての品種を無核化できることをモモ、オウトウ、ウメで明らかにした(Yuda ら、1986: 湯田ら、1988)。これらの結果から考えると、ブドウの果肉や種子中の主要内生 GAs は GA<sub>3</sub> であるのかどうか疑問がもたれる。

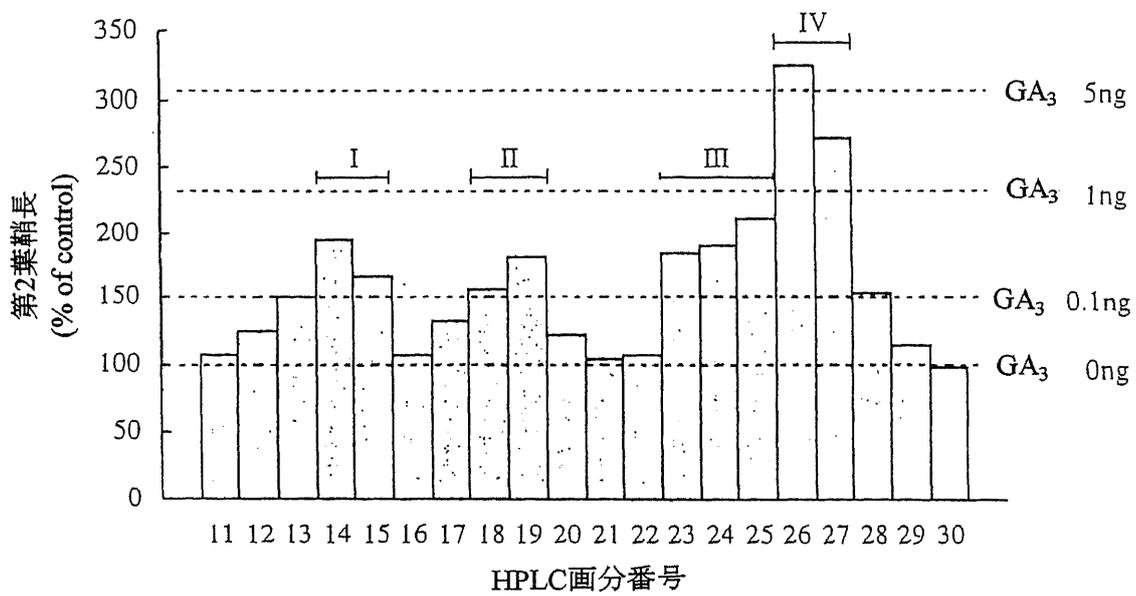
## 第2節 ‘キャンベル・アーリー’ 未熟種子からのジベレリンの抽出・精製と同定

千葉大学園芸学部の研究圃場栽植の15年生‘キャンベル・アーリー’から開花3週間後の幼果を採取し、GAsの抽出を行なうまで-20℃で冷凍貯蔵した。貯蔵してあった果粒は果肉と種子に分離し、本実験におけるGAsの抽出には種子のみを用いた。未熟種子2Kg・FWに3Lの冷80%メノール(MeOH)を加えてホモジナイズし、24時間、3℃の冷蔵庫中で抽出した。ろ過後、残渣は3Lの冷80%MeOHを加えて、24時間、3℃の冷蔵庫中で再抽出した。その後、両MeOH抽出液は、ロータリー・エバポレータを用いて、40℃の減圧化でMeOH除去し、水層を1NHClでpH2.5に調整後、酢酸エチル(EtOAc)で3回抽出した。酸性EtOAc液は3回飽和重炭酸ソーダ(NaHCO<sub>3</sub>)で抽出した。NaHCO<sub>3</sub>液は6NHClでpH2.5に調整後、EtOAcで3回抽出した。EtOAc液はロータリー・エバポレータを用いて、40℃の減圧化で濃縮乾固した。これらの残渣は0.1Mリン酸緩衝液(pH8.0)で溶解し、PVPP(30g)カラムにチャージし、300mlの0.1Mリン酸緩衝液で流出させた。流出液はEtOAcで3回抽出後、ロータリー・エバポレータを用いて、40℃の減圧化で濃縮乾固し、45%MeOHで溶解し、Sep-Pak C18シリカゲル・カートリッジ・カラムを通過させ、さらに80%

MeOH で洗浄後、両者を合わせて、Develosil ODS カラム (Senshu-Pak ODS 4253-D, 10 x 250 mm, 40°C) にチャージした。0.1 %酢酸を含む 30 %から 100 % MeOH の濃度勾配を持った流出液で流出させた。なお、流出液はフラクション (画分) あたり 1ml ずつ採取し、それらは濃縮後、わい性イネ (‘短銀坊主’) で生物検定を行った (Nishijima ら、1989)。

第 1 図は、‘キャンベル・アーリー’ の種子抽出物から得られた酸性 EtOAc フラクションを ODS-HPLC で分離し、わい性イネにより生物検定を行った結果を示したヒストグラムである。フラクション・ナンバー (画分番号) No. 14-15 (I)、No. 18-19 (II)、No. 23-25 (III) および No. 26-26 (IV) に強い GAs 活性が認められた。各フラクション・グループ (画分群) に含まれる GAs 量を GA<sub>3</sub> 当量に換算すると、‘キャンベル・アーリー’ の種子 2 Kg あたり画分群 I は 0.92 μg、II は 0.66 μg、III は 2.00 μg および IV は 20.77 μg であった。この結果は ‘キャンベル・アーリー’ 未熟種子中の主要 GAs は画分群 IV に存在することを示しており、これらが ‘キャンベル・アーリー’ の果粒の着果や発育に重要な働きをしていると考えられる。

そこで、最も活性が強かった画分群 IV を MeOH で溶解後、Bondesil EDA カラムに充填し、0.5 %酢酸を含む MeOH で溶出した。溶出液を蒸発乾固後 MeOH に溶解し、メチル化後、Bond Elute NH<sub>2</sub> カラム通過させ、流出物は薄層クロマトグラフィー (TLC) に展着し、EtAOc で展開後、Rf. 0.1 ごとに分け、それぞれをトリメチル化した後、ガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリー (GC-MS) で同定した。なお、GAs の同定はそれらのトリメチルエステルの KRI 値と MS スペクトルの比較により行なった。その結果、画分群 IV には第 1 表に示したように、GA<sub>4</sub>、3-epi-GA<sub>4</sub>、GA<sub>7</sub> および GA<sub>34</sub> が同定され、その他 2 種類の GAs 用物質の存在が確認された。すなわち、少なくとも ‘キャンベル・アーリー’ の種子中の主要ジベレリンは GA<sub>3</sub> でなく、GA<sub>4</sub> あるいは GA<sub>7</sub> と考え



第1図 ‘キャンベル・アーリー’未熟種子におけるODS-HPLC画分のGA活性

第1表 ‘キャンベル・アーリー’未熟種子から同定されたGAsのMeTMSi誘導体のGC/MSデータ

GAs	Rf値 <sup>z</sup>	KRF <sup>y</sup>	主要イオン (m/z) とその相対強度 (%)
GA <sub>4</sub>	0.64-0.72	2517 (2517)	418 ([M+], 21), 400 (11), 390 (20), 386 (23), 358 (12), 328 (33), 300(18), 296 (29), 289 (50), 284 (100), 268 (24), 261 (27), 233 (44), 229 (36), 225 (84), 224 (97), 201 (38), 173 (58)
3-epi-GA <sub>4</sub>	0.64-0.72	2633 (2632)	418 ([M+], 35), 400 (18), 392 (38), 386 (46), 371 (35), 361 (23), 358 (24), 328 (30), 300 (30), 289 (100), 284 (42), 271 (87), 261 (50), 233 (72), 229 (62), 225 (70)
GA <sub>4</sub> -like	0.64-0.72	2484	418 ([M+], 67), 387 (12), 371 (8), 358 (15), 328 (10), 300 (22), 289 (100), 284 (31), 268 (32), 261 (44), 229 (35), 225 (37), 210 (35)
GA <sub>7</sub>	0.64-0.72	2537 (2537)	416 ([M+], 13), 384 (16), 356 (25), 341 (10), 326 (10), 313 (10), 298 (31), 282 (27), 269 (13), 267 (13), 244 (14), 239 (14), 222 (100), 193 (30)
GA <sub>7</sub> -like	0.64-0.72	2505	416 ([M+], 72), 384 (34), 372 (19), 356 (56), 326 (18), 312 (29), 298 (42), 282 (51), 269 (31), 267 (31), 244 (27), 224 (100), 193 (69), 179 (51)
GA <sub>34</sub>	0.51-0.64	2670 (2671)	506 ([M+], 100), 459 (5), 431 (5), 416 (9), 384 (5), 372 (6), 356 (9), 311 (8), 288 (16), 283 (11), 261 (9), 223 (18)

<sup>z</sup> Rf値はMe誘導体として測定した。

<sup>y</sup> GAs標品のKRIは( )内に示した。

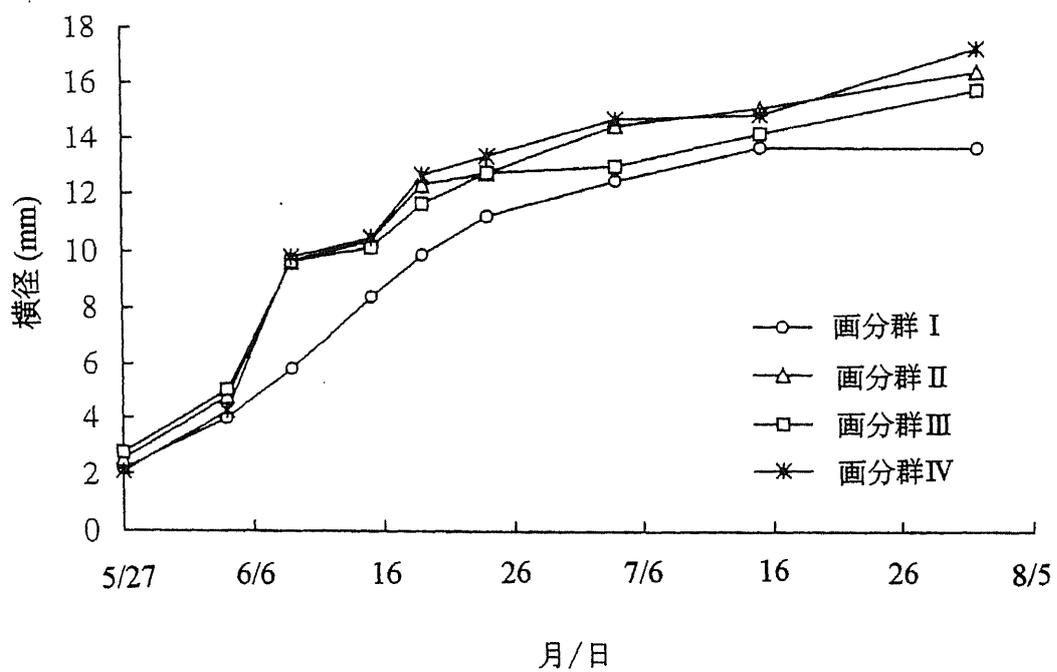
られる。このことは内生の GAs を用いればその品種の無核化の誘起あるいは果粒の生長に影響を及ぼすと考えられる。

### 第 3 節 ‘キャンベル・アーリー’ 未熟種子から得られたジベレリンによる無核化

‘キャンベル・アーリー’の種子から抽出・精製された GAs が、実際に単為結果の誘起に有効なのかどうかについて‘キャンベル・アーリー’と‘デラウェア’を用いて調査した。すなわち、両品種の開花約 5 日前に除雄を行ない、受粉しないように袋掛けした。開花日に各画分群 I、II、III および IV を 50 % EtOH で溶解し、小果あたり 1  $\mu$ l ずつ第 2 表に示した濃度で子房に処理した。なお、一部の処理区では 1 週間間隔で 2 回または 3 回追処理した。それぞれの処理液には、展着剤として Atlox BI (花王株式会社・東京) を 0.1 % 含んでいる。第 1 回目の処理後は、1 週間間隔で果径調査を行ない、収穫期には果粒重を測定し、その効果を比較した。この結果、第 2 表に示したように、いずれの画分群の GAs 処理においても無核化 (単為結果) を誘起した。初期の果粒生長を比較すると画分群 II、III および IV は核分群 I よりも優っていた。この傾向は収穫期まで変わらなかった。一方、画分群 II、III および IV の果粒生長は、生長第 2 期までは全く差がみられなかったが、生長第 3 期に入ると画分群 III の果粒生長が鈍くなり、収穫前になると画分群 II の果粒生長も遅くなり、結局収穫果の果粒重は IV > II > III > I の順に大きくなった (第 2 図)。「キャンベル・アーリー」の無核化誘起に及ぼす GA<sub>3</sub> と画分群 IV の濃度 (1, 2 および 5 ng GA<sub>3</sub> eq./子房) の影響を比較すると、GA<sub>3</sub> と画分群 IV の両処理ともに濃度の増加に伴って果粒重が直線的に増加した。低濃度の 1 および 2 ng では明らかに同濃度の GA<sub>3</sub> よりも果粒重が優っていた。しかし、5 ng では両者間で差異がみられなくなった。このことは、

第2表 ‘キャンベル・アーリー’未熟種子から抽出したGA様物質  
 処理が‘キャンベル・アーリー’および‘デラウェア’の単為  
 結果誘起に及ぼす影響

処 理 区			
画 分 群	濃 度 (mg GA <sub>3</sub> 当量/L)	処理回数	果粒重 (g)
‘キャンベル・アーリー’			
I	2	2	1.63
II	2	2	2.69
III	2	2	2.34
IV	1	2	2.63
	2	2	3.33
	5	2	3.70
-----			
標品GA <sub>3</sub>	1	2	1.81
	2	2	2.84
	5	2	3.73
-----			
‘デラウェア’			
IV	2	1	0.60
IV	2	2	0.73
IV	2	3	0.78



第2図 'キャンベル・アーリー'未熟種子から抽出したGA活性を有するODS-HPLC画分群処理により単為結果した'キャンベル・アーリー'果粒の生長曲線

GA<sub>3</sub>よりも画分群IVに含まれているGAsの方が低濃度で無核化を誘起できることを示しているものの、核分群IVにはまだ多くの不純物を含んでいることを示唆している。したがって、さらに精製することにより低濃度で無核化の誘起が可能と考えられる。

#### 第4節 考 察

Kiyokawaら(1972)はモモの単為結果の誘起を試み、GA<sub>4+7</sub>ではいずれの品種でも無核化(単為結果)の誘起が困難であったが、GA<sub>3</sub>ではかなりの品種で無核化の誘起が可能であった。しかし、‘布目’、‘倉方’および‘高陽白桃’では無核化を誘起できなかった。一方、核果類の未熟種子中の内生GAsの抽出・精製・同定が、すでに実施されており、モモ(Yamaguchiら、1970)、アンズ(Coombeら、1970)、酸果オウトウ(Bukovacら、1979)、ウメ(Paksasornら、1995)では、いずれもGA<sub>32</sub>が主要GAsであることが報告されている。

Yudaら(1986, 1988)はGA<sub>3</sub>で無核化の誘起が困難とされていたモモ‘高陽白桃’にGA<sub>32</sub>を処理した結果、GA<sub>3</sub>よりも低濃度(1/10~1/100)で無核化の誘起が可能であることを明らかにした。また、ウメや酸果オウトウでもモモと同様に低濃度で無核化を誘起できることを示した。さらに、酸果オウトウでは未熟種子中に存在するGA<sub>32</sub>以外のGAsであるGA<sub>30</sub>、GA<sub>86</sub>およびGA<sub>87</sub>で無核化の誘起を試みたところ、いずれのGAsでもGA<sub>32</sub>と同等の効果が得られた。Dennisら(1966, 1967)は、リンゴの場合GA<sub>4</sub>とGA<sub>7</sub>で無核化が誘起されるが、GA<sub>3</sub>では困難であること、さらにリンゴの未熟種子には、これらのGAsが存在することを明らかにしている。これらのいずれの結果も、内生GAsが無核化の誘起に有効であることを示唆していると言える。

われわれは、‘キャンベル・アーリー’の未熟種子中からGAsを

抽出し、ODS-HPLC で精製した結果、4 画分群 (I、II、III、IV) で強い GAs 活性が認められた。これらを除雄した小花の子房に 1 ~5 ng (GA<sub>3</sub> 当量) 処理したところ ‘キャンベル・アーリー’ でも ‘デラウェア’ でも同様の効果が得られ、しかも GA<sub>3</sub> よりも低濃度で効果が得られることが判明した。特に、画分群IVの活性が極めて高かった。この画分群の中の GAs を同定したところ、GA<sub>4</sub>、3-epi-GA<sub>4</sub>、GA<sub>7</sub> および GA<sub>34</sub> が存在した。明らかに ‘キャンベル・アーリー’ の種子中の主要 GAs は GA<sub>3</sub> でないことを示している。これらの結果は、ブドウの品種全てを無核化できないのは、GA<sub>3</sub> を使用しているためであることを示しており、もし内生の主要 GAs を使用すれば、無核化が可能となるかもしれない。

## 第 2 章 $GA_3$ 、 $GA_4$ および $GA_7$ による ‘キャンベル・アーリー’、‘デラウェア’ および ‘甲州’ の無核化

### 第 1 節 緒 言

実際栽培において、‘デラウェア’ および ‘マスカット・ベリーA’ の無核化は開花約 2 週間前と開花約 10 日後の 2 回、100 ppm  $GA_3$  溶液に、また ‘巨峰’ では開花期の 1 回あるいは開花期と開花約 10 日後の 2 回 20~25 ppm  $GA_3$  溶液に花房または果房を浸漬処理することにより行なわれている。前章において明らかにされたように、‘キャンベル・アーリー’ 未熟種子からの抽出物を HPLC で画分後、GAs 活性を有する 4 画分群 (I、II、III および IV) を ‘キャンベル・アーリー’ と ‘デラウェア’ の子房に処理した結果、いずれも無核化を誘起した。特に、画分群 IV (No. 27~28) は標品の  $GA_3$  よりも強い活性を示した。そこでこの画分群中の GAs を GC-MS で同定した結果、 $GA_4$ 、3-*epi*- $GA_4$ 、 $GA_7$  および  $GA_{34}$  の存在が確認された。

そこで本研究では、植物に対して強い生理活性を有する  $GA_4$  および  $GA_7$  と、従来から慣行的に使用されている  $GA_3$  を用いて、‘キャンベル・アーリー’、‘デラウェア’ および ‘甲州’ 対するそれらの GAs の無核化誘起効果を比較した。

### 第 2 節 $GA_3$ 、 $GA_4$ および $GA_7$ による無核化

実験材料には、千葉大学園芸学部研究圃場栽植の ‘キャンベル・アーリー’ (18 年生)、‘デラウェア’ (10 年生) お

よび山梨大学ワイン科学研究センター附属育種試験地栽植の‘甲州’（15年生）を供試した。各品種ともに1回目のGAs処理前に副穂（岐肩）を除去し、‘キャンベル・アーリー’では副穂より下の小花穂（支梗）を2段切除した。また、2回目のGAs処理後は各品種ともに摘心、2番枝除去などの栽培管理は慣行法にしたがって実施した。

各種GAsの処理区は第3表に示した。実験に用いた各GAsは少量の100% MeOHで溶解後に定容に希釈した。各処理液には展着剤として0.1% Atlox BIを加用した。各品種ともに開花約2週間前と開花約10日後の2回、花（果）に房浸漬処理した。実験に用いた花（果）房数と総数は、‘キャンベル・アーリー’では新梢あたり1花（果）房で10花（果）房、‘デラウエア’では新梢あたり2花（果）房で20花（果）房および‘甲州’では新梢あたり1花（果）房で12~15花（果）房とした。

各GAs処理が着粒率に及ぼす影響を調査するため、1回目の処理後に袋掛けし、着粒が安定する開花4週間後に袋を取りはずし、袋内に落下した果粒数を調査した。また、収穫時に果房あたりの着粒数を調べ、それらから着粒率を求めた。さらに、収穫時には果房長、果粒重および果粒あたりの種子数を調査した。

‘キャンベル・アーリー’、‘デラウエア’および‘甲州’に対するGAs処理が収穫時の諸形質に及ぼす影響を第4表に示した。‘キャンベル・アーリー’において、100 ppm GA<sub>3</sub>処理区および75 ppm GA<sub>3</sub>処理区の無核果粒率は71.3%と75.4%で、両者間で有意な差はみられなかった。しかし、50 ppm GA<sub>3</sub>では50.1%と著しく低くなった。100 ppm GAs処理区間で無核果粒率を比較するとGA<sub>4</sub>処理区ではGA<sub>3</sub>処理区と大差なかったが、GA<sub>7</sub>処理区では95.7%と著しく高くなった。着粒数はGA<sub>3</sub>とGA<sub>7</sub>処理区間ではほぼ同じ値を示し

第3表 3品種に対するGA<sub>3</sub>、GA<sub>4</sub>およびGA<sub>7</sub>の浸漬処理濃度

処理区	品 種			
	濃度 GAs (ppm)	‘キャンベル・アーリー’	‘Delaware’	‘甲州’
GA <sub>3</sub>	300			○
	200			○
	100	○	○	○
	75	○	○	
	50	○	○	
GA <sub>4</sub>	100	○	○	○
GA <sub>7</sub>	100	○	○	○
無処理		○	○	○

第4表 GA<sub>3</sub>、GA<sub>4</sub>およびGA<sub>7</sub>の浸漬処理がブドウ3品種の無核化に及ぼす影響

品種	処理区		無核果粒率			平均種子数			平均着粒数			平均果粒重			平均果房長			
	GA <sub>s</sub>	濃度(ppm)	(%)	(個)	(個)	(個)	(g)	(mm)	(個)	(g)	(mm)	(個)	(g)	(mm)	(個)	(g)	(mm)	
‘キャンベル・アーリー’	GA <sub>3</sub>	100	71.3 ab <sup>z</sup>	0.57 b	103.8 a	4.09 ab	183.6 a											
		75	75.4 ab	0.45 b	61.3 bc	3.91 b	188.7 a											
		50	50.1 b	0.73 b	98.7 a	3.78 b	175.4 ab											
	GA <sub>4</sub>	100	65.7 ab	0.52 b	42.8 c	3.81 b	157.8 b											
	GA <sub>7</sub>	100	95.8 a	0.05 b	95.0 ab	3.96 b	184.4 a											
		無処理		0.8 c	2.58 a	94.7 ab	4.90 a	161.5 b										
‘デラウェア’	GA <sub>3</sub>	100	94.0 ab	0.06 cd	75.0 a	1.30 b	117.7 a											
		75	78.8 bc	0.24 bc	85.8 a	1.39 b	123.2 a											
		50	72.3 c	0.35 b	63.0 a	1.44 b	115.1 a											
	GA <sub>4</sub>	100	97.2 a	0.03 cd	65.0 a	0.89 c	116.3 a											
	GA <sub>7</sub>	100	99.3 a	0.01 d	88.6 a	1.33 b	123.3 a											
		無処理		0.5 d	1.27 a	78.4 a	1.72 a	118.4 a										
‘甲州’	GA <sub>3</sub>	300	27.9 ab	1.08 bc	28.3 b	4.45 ab	282.3 ab											
		200	25.9 abc	1.02 c	44.5 a	4.27 bc	303.4 a											
		100	31.0 a	1.02 c	32.9 ab	3.88 c	279.7 ab											
	GA <sub>4</sub>	100	12.7 cd	1.33 b	35.9 ab	3.93 c	297.9 a											
	GA <sub>7</sub>	100	16.4 bcd	1.22 bc	25.2 b	3.95 c	290.5 ab											
		無処理		3.5 d	1.95 a	48.1 a	4.79 a	249.7 b										

1回目と2回目処理は同じGAsを用いた。

<sup>z</sup>: ダンカンの多重検定により、同一品種内で異なるアルファベット間に5%レベルで有意差のあることを示す。

たが、GA<sub>4</sub>処理区では著しく少なくなった。果粒重はGA<sub>3</sub>の濃度が高いほど重くなる傾向がみられたが、GAs処理区間で有意な差は認められなかった。

‘デラウェア’では、100 ppm GA<sub>3</sub>処理区の無核果粒率が94.0%であったが、処理濃度が低くなるに伴い低下し、75 ppm GA<sub>3</sub>と50 ppm GA<sub>3</sub>の処理区では78.8%と72.3%であった。しかし、100 ppm GA<sub>4</sub>および100 ppm GA<sub>7</sub>の処理区の無核果粒率は、それぞれ97.2%と99.3%と高くなった。すべてのGAs処理区の着粒数は63~89粒で、処理区間で差はなかった。また、果粒重は100 ppm GA<sub>4</sub>処理区で0.89 gと著しく軽かったが、その他の処理区では1.30~1.44 gで違いはみられなかった。

‘甲州’では、100 ppm GA<sub>3</sub>処理区の無核果粒率が31.0%と他の2品種に比べて著しく低かった。また、200 ppmおよび300 ppm GA<sub>3</sub>に処理濃度を高くしても無核果粒率はそれぞれ25.9%と27.9%で100 ppm GA<sub>3</sub>処理区と大差なかった。さらに、他の2品種では100 ppm GA<sub>4</sub>あるいは100 ppm GA<sub>7</sub>処理区で無核果粒率が100 ppm GA<sub>3</sub>処理区より高くなったが、‘甲州’では逆に12.7%と16.4%に減少した。着粒数は200 ppm GA<sub>3</sub>処理区で約45粒と最も高くなったが、300 ppm GA<sub>3</sub>や100 ppm GA<sub>7</sub>処理区では著しく低くなった。果粒重はGA<sub>3</sub>の処理濃度が高くなるほど重くなったが、100 ppm GA<sub>3</sub>、GA<sub>4</sub>およびGA<sub>7</sub>処理区間では差異が認められなかった。

### 第3節 GA<sub>3</sub>、GA<sub>4</sub>およびGA<sub>7</sub>による花粉発芽への影響

GA<sub>3</sub>は‘デラウェア’の花粉の発芽率を抑制することが知られている。そこで、GA<sub>3</sub>、GA<sub>4</sub>およびGA<sub>7</sub>処理が花粉の発芽

に及ぼす影響を調査するため、開花時に‘キャンベル・アーリー’、‘デラウェア’および‘甲州’の100 ppm GAs 処理区から花粉を採取し、乾燥条件下、 $-20^{\circ}\text{C}$ で貯蔵した。適宜、保存してあった花粉を取り出し、シヨ糖20%を含む1%寒天培地上に置床後、 $25^{\circ}\text{C}$ の条件下で8時間放置し、コットンブルーで染色後、光学顕微鏡下で発芽数を調査した。なお、花粉管が花粉粒の2倍以上に伸長したものを発芽とみなした。

100 ppm  $\text{GA}_3$ 、100 ppm  $\text{GA}_4$ および100 ppm  $\text{GA}_7$  処理区における3品種の開花期の花粉発芽率を第5表に示した。‘キャンベル・アーリー’では、無処理区の花発芽率が10.6%であるのに対して、いずれのGAsで処理しても1%以下に低下した。‘デラウェア’では、無処理区の花発芽率が約3%と低かったものの、各GAsを処理することにより0.4%以下に減少した。しかし、‘甲州’では、無処理区の花発芽率が約24%と他の2品種より高く、100 ppm  $\text{GA}_3$ 、100 ppm  $\text{GA}_4$ および100 ppm  $\text{GA}_7$  処理により花粉発芽率は低下するものの、その低下率は鈍く、それぞれ5.4%、7.7%、13.3%であった。

#### 第4節 考 察

元村ら(1982、1994)は、‘デラウェア’および‘キャンベル・アーリー’を無核化する場合に $\text{GA}_3$ 処理を行うと、処理後果粒中のGAs( $\text{GA}_3$ )の消失時間が2品種間で差があることを示した。もし、このことが無核果粒率に影響するならば、 $\text{GA}_3$ により無核化し易い品種には低濃度の $\text{GA}_3$ を、無核化が困難な品種には高濃度の $\text{GA}_3$ を処理すれば無核果粒率に変化が生じると考えられる。本実験において‘キャ

第5表 GA<sub>3</sub>、GA<sub>4</sub>およびGA<sub>7</sub>の浸漬処理がブドウ3品種の花粉の発芽に及ぼす影響(%)

処理区	品 種		
	‘キャンベル・アーリー’	‘デラウェア’	‘甲州’
GA <sub>3</sub> 100 ppm	1.1 b <sup>z</sup>	0.5 b	8.9 c
GA <sub>4</sub> 100 ppm	1.3 b	0.5 b	10.4 c
GA <sub>7</sub> 100 ppm	0.9 b	0.8 b	22.1 b
無処理	35.4 a	20.7 a	41.8 a

<sup>z</sup>:ダンカンの多重検定により、同一品種内で異なるアルファベット間に5%レベルで有意差のあることを示す。

ンベル・アーリー’や‘デラウェア’に対して  $GA_3$  の処理濃度を低くした場合、 $GA_3$  の濃度が低くなるに伴い、無核果粒率が低下する傾向がみられた。この結果は、逆に処理濃度を高くすることにより、無核果粒率を高くすることができることを示唆している。しかし、無核化が困難な‘甲州’では  $GA_3$  の処理濃度を高くしても無核果粒率は高くならなかった。したがって‘甲州’の場合、 $GA_3$  の濃度が無核果粒率に関係しているとは考えられない。

‘キャンベル・アーリー’において 100 ppm  $GA_3$  溶液を開花前後に 2 回処理した場合に、村西(1968)および井上ら(1961)は、95%以上の無核果粒率が得られると報告している。一方、同品種を用いた横沢ら(1961)の調査では、無核果粒率は 60 % 程度で低かった。本実験での結果では、無核果粒率は約 71 % と村西(1968)、井上ら(1961)および横沢ら(1961)らの報告よりも低かった。Motomura ら(1978)は、 $GA_3$  の処理時期が無核果粒率に著しく影響すると述べており、本実験では処理時期がやや遅れた可能性が考えられる。しかし、 $GA_4$  や  $GA_7$  を処理した場合、無核果粒率は  $GA_4$  処理区では  $GA_3$  処理区との差はみられなかったが、 $GA_7$  処理区では  $GA_3$  より著しく高くなった。第 1 章で示したように、‘キャンベル・アーリー’の主要内生 GAs は  $GA_4$  と  $GA_7$  であり、‘デラウェア’では  $GA_3$  処理よりも  $GA_4$  および  $GA_7$  を処理した方が無核果粒率を高めることができた。特に、 $GA_7$  の無核化効果が高かった。したがって、‘デラウェア’の場合も主要内生 GAs は  $GA_3$  ではなく、 $GA_4$  あるいは  $GA_7$  と推察された。このことは、無核果形成には、主要内生 GAs 処理が有効であることを示している。

一方、‘甲州’において、岸(1973)は  $GA_3$  の 1 回目処理の好適処理時期を 7 年生の幼木で検討した結果、無核果粒率は満開 10 日前の 100 ppm 処理において 72.1 % と最も高

く、満開 9 日前の 300 ppm 処理で 92.8 %となったが、それより早い時期の処理ではいずれの濃度でも無核果粒率は低下すると報告している。また、GA<sub>3</sub>以外の GAs として、主要成分が GA<sub>7</sub>であるジベレリン NG5・1を満開 12 日前に処理した場合、無核果粒率は 66.1 %であったと報告している。しかし、その後の多くの調査によると、GA<sub>3</sub>処理では‘甲州’の無核化は困難であるとされている。本実験では、100 ppm GA<sub>3</sub>処理の無核果粒率は 31.0 %で最も高かったが、GA<sub>3</sub>の 200 ppm、300 ppm 処理や GA<sub>4</sub>、GA<sub>7</sub>処理ではそれよりもさらに低下した。結果的に本実験の処理時期が満開 16 日前となったことから、処理時期が早すぎたことも無核果粒率の低下に関係したとも考えられるが、一般に GA<sub>3</sub>処理は、時期が早くなるほど果房が長くなり、無核果粒率が高くなることが知られているので、GAs の処理時期が早かったことだけが、無核果粒率の低下を引き起こしたとは考えられない。100 ppm GA<sub>4</sub>および 100 ppm GA<sub>7</sub>処理では、100 ppm GA<sub>3</sub>処理以上の効果が得られなかったことは、岸(1973)による結果と一致している。したがって、‘甲州’では、‘キャンベル・アーリー’のように GA<sub>4</sub>あるいは GA<sub>7</sub>が主要内生 GAs ではない可能性が示された。

GAs による果粒の肥大に及ぼす影響は、‘キャンベル・アーリー’では、GA<sub>3</sub>の処理濃度の低下に伴い果粒重が低下する傾向がみられ、‘甲州’では GA<sub>3</sub>の処理濃度を高くすると肥大が促進され、GA<sub>3</sub>による影響がみられた。このことから無核化の誘起に関係する GAs とその後の肥大に関係する GAs が異なっている可能性が考えられた。

王ら(1993a、b)は、無核品種の‘ヒムロッド・シードレス’や‘無核白’および‘モヌッカ’では、満開時に胚が退化し始めていることを示し、その原因として高濃度の GAs や IAA 様物質により胚の発育が進みすぎたためである

ことを示唆した。また、中川ら(1996)は‘デラウェア’の内壁細胞の分裂停止期は満開 11 日後であり、大粒あるいは晩生品種であるほど細胞分裂期は長期間続くことを明らかとしており、それ以降の果粒の肥大は細胞肥大によるところが大きいと述べている。本実験で、‘キャンベル・アーリー’と‘デラウェア’に対する GA<sub>3</sub> および GA<sub>7</sub> 処理では、高い無核果粒率と肥大促進効果を示した。一方、GA<sub>4</sub> 処理では無核果粒率は高いが、果粒重は著しく軽くなった。また、GA<sub>4</sub> による肥大促進効果は細胞分裂期が最も早く終わると考えられる小粒品種の‘デラウェア’で明らかに低いことから、GA<sub>4</sub> の無核化作用は GA<sub>3</sub> および GA<sub>7</sub> と同様であるが、細胞の肥大に対する作用は小さい可能性が考えられた。

GA<sub>3</sub> 処理による無核果形成の要因として、1 回目の処理により花粉が生理的異常を起こし、発芽率を低下させることが知られている。すなわち、村西ら(1968)は‘デラウェア’で、板倉ら(1965)は‘デラウェア’と‘キャンベル・アーリー’で GA<sub>3</sub> の開花前処理により花粉発芽率の著しい低下が起きることを報告している。また、Olmo(1942)は人工培地上で 3 % 以下の発芽率では、実質的に花粉の受精能力はほとんどないことを報告している。本実験では、‘キャンベル・アーリー’および‘デラウェア’の花粉を長期間貯蔵しておいたため、無処理花の花粉でも発芽率は低かった。しかし、GA<sub>3</sub>、GA<sub>4</sub> および GA<sub>7</sub> のいずれの GAs を処理した場合でも無核果粒率が高かった‘キャンベル・アーリー’、‘デラウェア’では花粉発芽率の著しい低下がみられた。一方、‘甲州’では、すべての GAs 処理区で花粉発芽率の低下はみられたが、‘キャンベル・アーリー’、‘デラウェア’と比較すると発芽率が 5 % 以上を示し、高い値であったことから、このことが有核果の割合を高くする一因で

あると考えられた。

### 第 3 章 ‘キャンベル・アーリー’、‘デラウェア’ および ‘甲州’ 果粒中の内生ジベレリン様物質の違いとそれらの経時的変化

#### 第 1 節 緒 言

前述の様に、‘キャンベル・アーリー’、‘デラウェア’ および ‘甲州’ の 3 品種に GA<sub>3</sub>、GA<sub>4</sub> および GA<sub>7</sub> を開花前後に 2 回浸漬処理した結果、品種によって無核果粒率が著しく異なっていた。

そこで本実験では、これら 3 品種の無核果粒形成程度の違いについて、未熟種子中の内生 GAs 様物質の量的・質的違い、および種子（一部は幼果）の内生 GAs 様活性の経時的変化の違いから明らかにしようとした。

#### 第 2 節 ‘キャンベル・アーリー’、‘デラウェア’ および ‘甲州’ の内生ジベレリン様活性の違い

1999 年に内生 GAs 様物質の抽出のため、満開 3 週間後の ‘キャンベル・アーリー’、‘デラウェア’ および ‘甲州’ の幼果 2 kg をそれぞれ成木から採取し、直ちに -20 °C の冷凍庫中で、分析に供試するまで凍結保存した。それらの幼果から約 50 g の種子を取り出し、GAs の分析に使用した。

種子は 80 % エタノール (EtOH) に浸漬し、ホモジナイザーで磨砕後、定期的に 3 回 80 % EtOH を新しいものに替え、冷蔵庫内 (4 °C) で約 24 時間抽出した。EtOH 抽出液は吸引ろ過し、ロータリー・エバポレータを用いて 40 °C で EtOH を減圧溜去後、水層は -20 °C で凍結保存した。その後水層を解凍し、2 °C、11,000 rpm で 10 分間づつ 2 回遠心分離を行い、その上澄み液を 1 N 塩酸

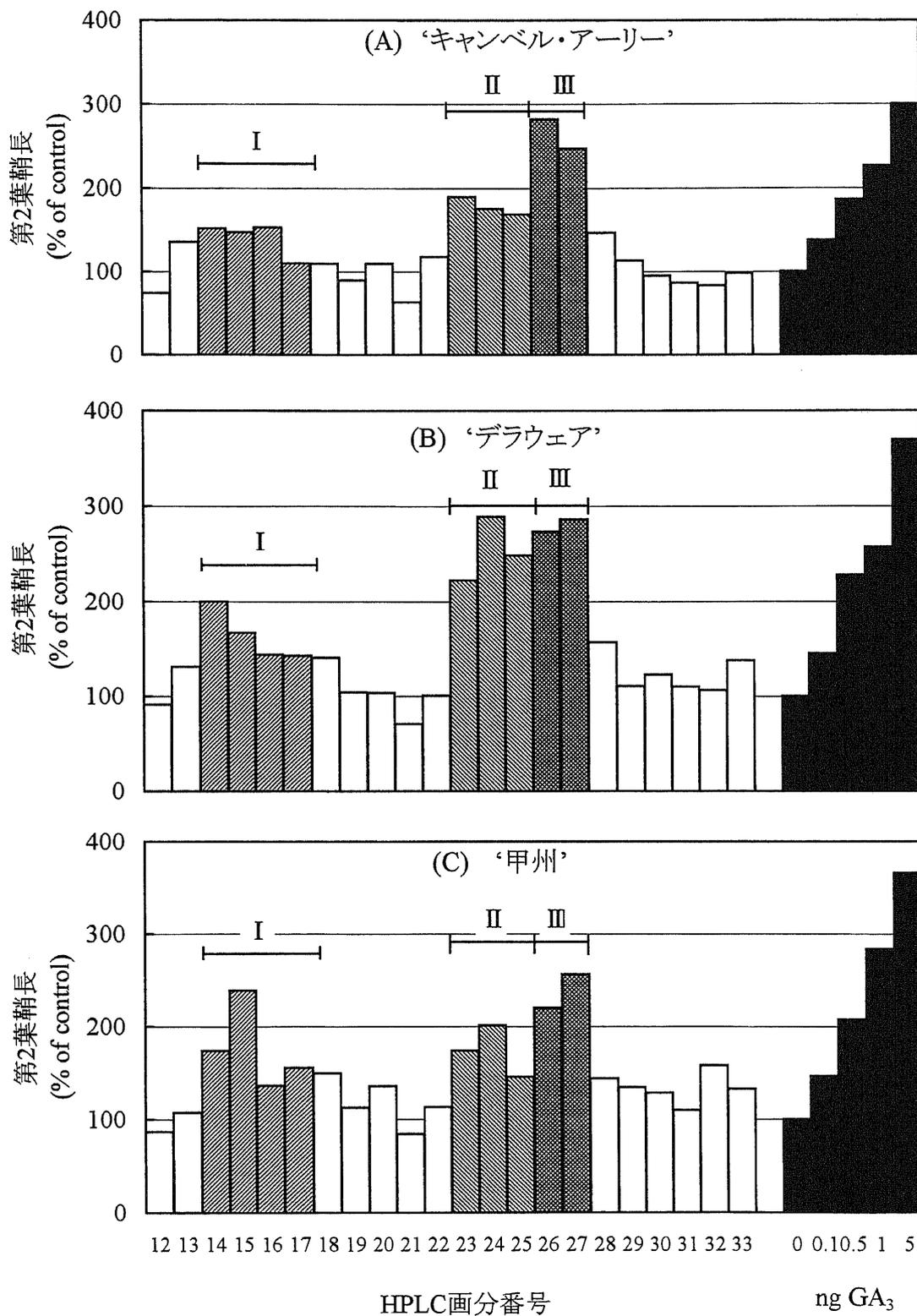
で pH 2.7 に調整した後、酢酸エチル(EtOAc)で 3 回分配抽出を行った。EtOAc 層はロータリー・エバポレータ(40 °C)で減圧濃縮した後、0.5 M リン酸緩衝液(pH 8.3)で 3 回分配抽出を行なった。得られたリン酸緩衝液層は 6 N 塩酸で pH 2.7 に調整し、再び EtOAc で 3 回分配抽出を行なった。EtOAc 層は無水硫酸ナトリウムで脱水後、ロータリー・エバポレータ(40 °C)で濃縮乾固し、得られた EtOAc 可溶性酸性画分は、-20 °C で凍結保存した。次に、乾固した試料重の 20 倍量のポリビニルポリピロリドン(PVPP)でカラムを作製し、冷凍保存してあった EtOAc 可溶性酸性画分を少量(1 ml × 3 回)の 0.1 M リン酸緩衝液で溶解し、PVPP カラムの上部にチャージした後、0.1 M リン酸緩衝液(PVPP 量の 20 倍量)で溶出した。溶出液を 4 N 塩酸で pH 2.7 に調整し、EtOAc で 3 回抽出分配を行なった。この EtOAc 層を無水硫酸ナトリウムで脱水し、ロータリー・エバポレータ(40 °C)で濃縮乾固し、-20 °C で凍結保存した。続いて、1 ml の 50 % MeOH で乾固した試料を 3 回に分けて溶解し、Sep-pak C<sub>18</sub>カートリッジに吸着させ、2 ml の 80 % MeOH を 3 回通して溶出した。溶出液を遠心エバポレータ(40 °C)で濃縮乾固し、-20 °C で凍結保存した。その後、乾固した試料を 100 % MeOH : 0.1 % 酢酸水 = 3 : 7 の溶液 500 μl で溶かしてよく混合した後、除塵するため、メンブレンフィルタ [DISMIC-13CP : 0.45 μm : (ADVANTEC)] に通した。そのろ液約 400 μl を高速液体クロマトグラフィー(HPLC) [カラム : Senshupac ODS-4253-D(センシュー科学)、10 φ × 250 mm、カラム温度 : 40 °C、溶離液 : 0.1 % 酢酸含有 MeOH, 30 % / 2 分 + 30 ~ 100 % / 28 分 + 100 % / 30 分、流量 : 3 ml/分] を用いて 1 分間隔で分取を行い、33 分後以降は 60 分まで 1 つの画分とし、合計 33 画分を得た。その後、すべての画分について矮性イネ ‘短銀坊主’ を用いた改良点滴法(Nishijima ら、1989)により生物検定を行なった。すなわち、33 分画をそれぞれ約 40 μl の 50 % アセトンで溶解し、苗当たり 1 μl(種子 1 g · FW 当量)を点滴し、4 日間培養後、第 2 葉鞘長を

計測した。

満開 3 週間後の内生 GAs を ‘キャンベル・アーリー’、‘デラウェア’ および ‘甲州’ で比較した結果、いずれの品種においても 14~15 画分(I 画分群)、23~25 画分(II 画分群)、26~27 画分(III 画分群)の 3 つの画分群で比較的高い GAs 様活性が認められた (第 3 図)。「キャンベル・アーリー」では III 画分群で最も高い活性がみられ、次いで II 画分群 > I 画分群の順であった(第 3 図-A)。「デラウェア」では、「キャンベル・アーリー」に比べて II 画分群の活性が高く、III 画分群とほぼ同程度の高い活性がみられた(第 3 図-B)。しかし、「甲州」では他の 2 品種と比べると全体的に GAs の活性が低かったが、III 画分群の活性が他の画分群よりやや高く、I 画分群と II 画分群とはほぼ同程度の活性がみられた。ただし、I 画分群中の画分番号 15 の活性は III 画分群と同じ程度に高かった(第 3 図-C)。

### 第 3 節 ‘キャンベル・アーリー’、‘デラウェア’ および ‘甲州’ の内生ジベレリン様活性の経時的変化

‘キャンベル・アーリー’、‘デラウェア’ および ‘甲州’ の 3 品種の満開期から満開 33~40 日後まで 5~15 日間隔で果粒を採取し、直ちに -20 °C で分析を行なうまで凍結保存した。凍結試料のうち、「デラウェア」の 6 月 5 日および ‘甲州’ の 6 月 21 日の果粒は極めて小さく、果粒から種子を取り出すことが困難であったため果粒のまま、それ以外の採取日の試料では果粒から種子を取り出し、GAs の抽出に用いた。内生 GAs 様物質の抽出・精製は、前節において示した方法に準じて行った。抽出・精製物質は HPLC で分取後、3 品種ともに GAs 様活性がみられた 14~17 画分(I 画分群)、23~25 画分(II 画分群)、26~28 画分(III 画分群)の 3 画分群に分け、



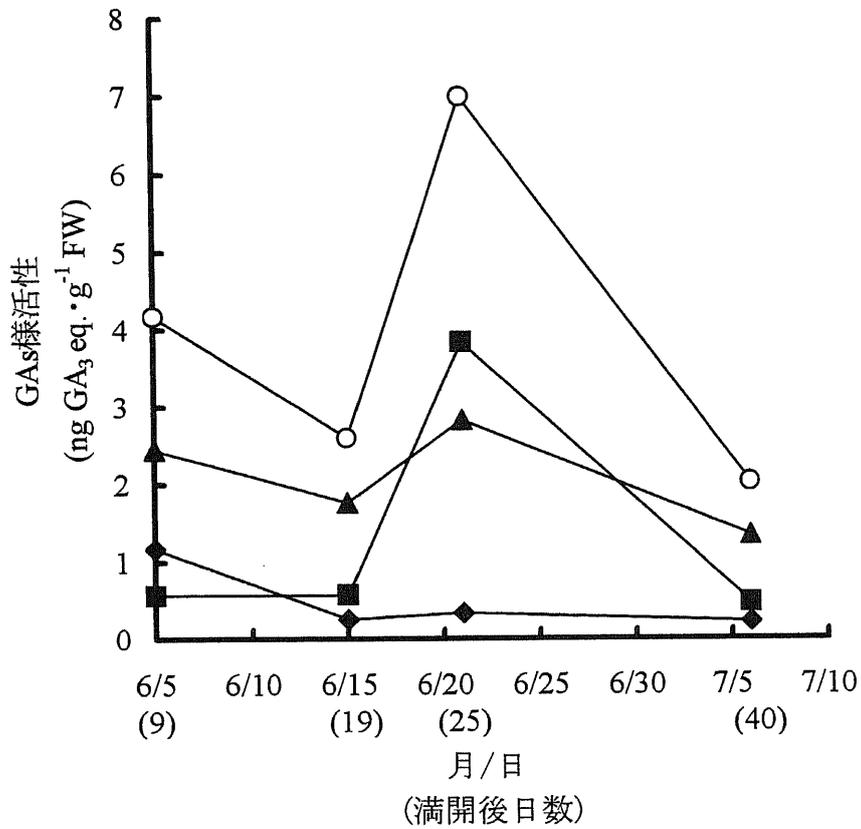
第3図 ブドウ3品種の満開約3週間後の未熟種子中のGAs様活性のヒストグラム

それぞれについて矮性イネ‘短銀坊主’の生物検定法により内生 GAs 様活性を測定した。なお、内生 GAs 様活性は GA<sub>3</sub> 当量に換算して示した。

‘キャンベル・アーリー’、‘デラウェア’および‘甲州’における GAs 様活性の経時的変化を第 4、5 および 6 図に示した。I、II および III 画分群の GAs 様活性を合計した総 GAs 様活性の変化を 3 品種間で比較すると、調査期間中の活性レベルは、‘キャンベル・アーリー’で最も高く、次いで‘デラウェア’で、‘甲州’は最も低く推移した。また、‘キャンベル・アーリー’では満開 25 日後に高いピークを示す特徴が認められたが、‘デラウェア’や‘甲州’では開花後、次第に GAs 活性が低下した。

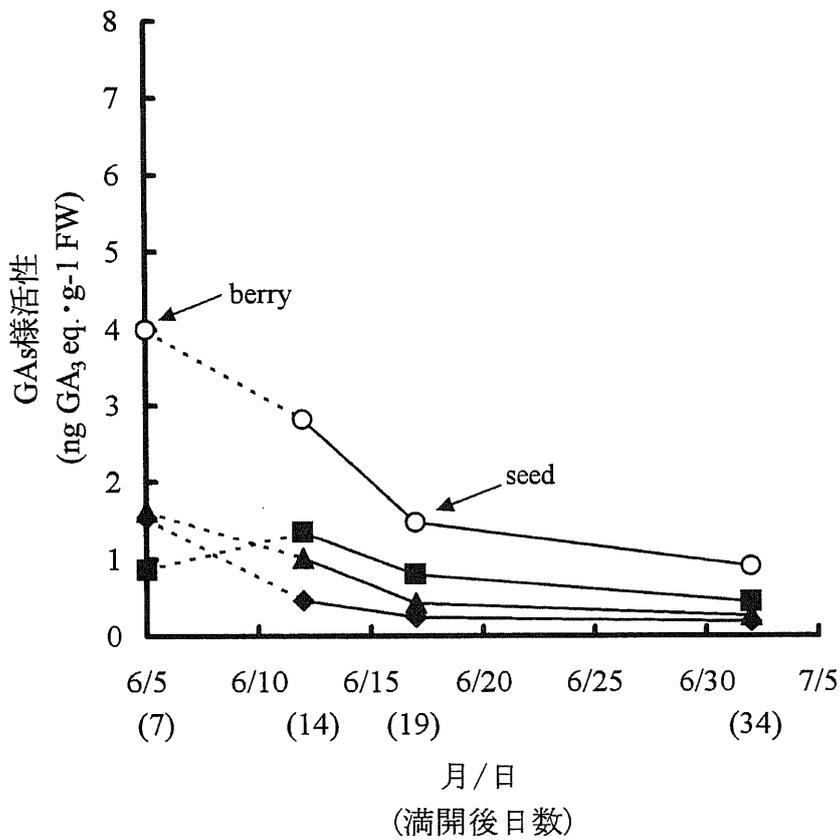
画分群別に比較すると、I 画分群の GAs 様活性の変化は、いずれの品種においても満開期に近いほど高く、次第に低下する傾向がみられ、‘キャンベル・アーリー’で満開 19 日後に、‘デラウェア’で満開 14 日後に、‘甲州’で満開 19 日後に 3 画分群の中で最も低くなった。II 画分群の GAs 様活性の変化は、‘キャンベル・アーリー’において、満開 19 日後まで低かったが、その後満開 25 日後には高いピークを示した。‘デラウェア’では、満開 7 日後に低下し、満開 14 日以降は、3 画分群中で最も高い活性を示した。‘甲州’では、満開 9 日後の活性は低かったが、21 日後にはやや高くなるものの、33 日後の活性は低くなった。III 画分群の GAs 様活性変化をみると、‘キャンベル・アーリー’では、満開 9 日後および 19 日後に、他の 2 つの画分群よりも高い活性がみられた。‘デラウェア’では I 画分群より活性は高く推移し、満開 7 日後に活性が最も高くなったが、その後は次第に低下した。‘甲州’では、満開 9 日後、他の 2 つの画分群に比較して、最も低くなったものの、その後やや増加がみられ、満開 33 日後にはほとんど活性が認められなくなった。

着粒や果粒肥大に関係が深いと考えられる満開直後の GAs 様活性を 3 品種間で比較すると、‘キャンベル・アーリー’の満開 9 日



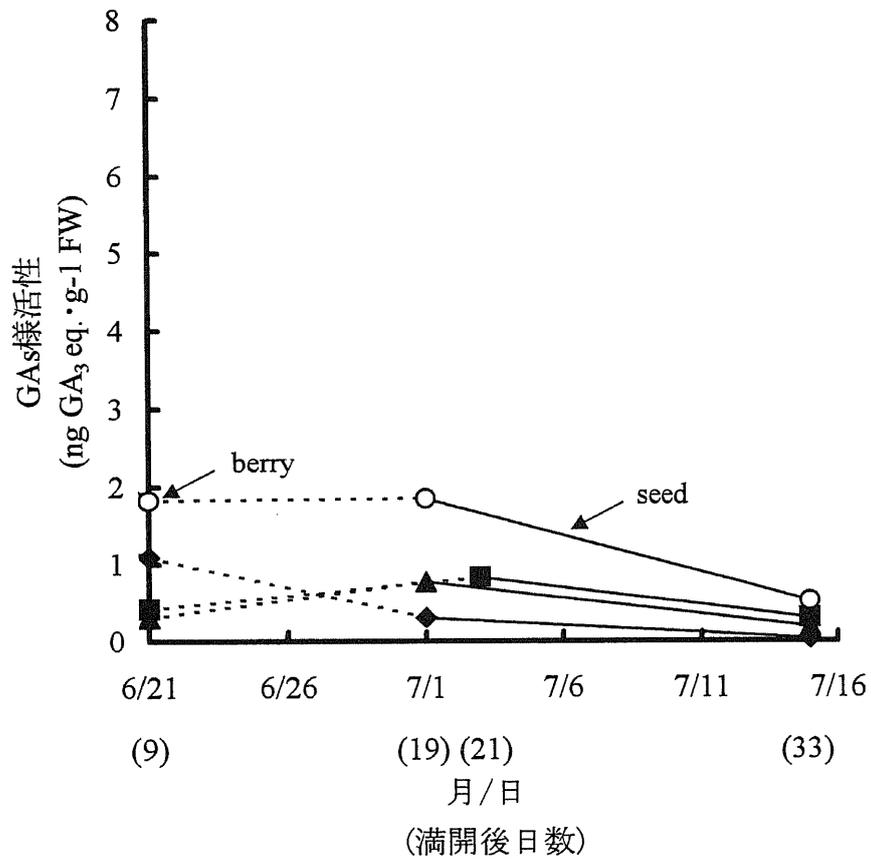
第4図 ‘キャンベル・アーリー’の種子中の内生GAs様活性の変化

◆ I 画分群    ■ II 画分群    ▲ III 画分群    ○ Total



第5図 ‘デラウェア’の幼果および種子中の内生GAs様活性の変化

◆ I画分群 ■ II画分群 ▲ III画分群 ○ Total



第6図 ‘甲州’の幼果および種子中の内生GA<sub>3</sub>様活性の変化

◆ I画分群 ■ II画分群 ▲ III画分群 ○ Total

後の幼果中では、Ⅲ画分群が最も高く、Ⅱ画分群が最も低かった。

‘デラウェア’の満開 7 日後の幼果中ではⅠ画分群とⅢ画分群がほぼ同じ活性を示した。しかし、‘甲州’の 9 日後の幼果中ではⅠ画分群で最も高く、ⅡおよびⅢ画分群の活性は低かった。

#### 第 4 節 考 察

王ら(1993b)は、無核品種‘ヒムロッド・シードレス’と有核品種‘キャンベル・アーリー’の両品種における開花時の内生 GAs 様活性を、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による分取後に比較を行なった。矮性イネ‘短銀坊主’を用いた生物検定により得られた GAs 様活性部位は、同一手法により得られている標品の GA<sub>3</sub>・GA<sub>1</sub>、GA<sub>19</sub>・GA<sub>4</sub> および GA<sub>24</sub>・GA<sub>9</sub> の溶出画分とほぼ同じ位置に認められ、さらに、開花 3 日後には両品種ともに標品の GA<sub>8</sub> の溶出画分と同じ位置に活性がみられた。すなわち、両品種間で GAs の活性部位に違いはみられないことを報告した。

現在、高等植物や菌類などから約 140 種類の GAs が同定されており、単に HPLC で分取した画分から GAs の種類を断定することは困難である。したがって、本実験では、HPLC 画分後の多くの画分において GAs 活性が認められたが、個々の GAs 種類は明らかではない。しかし、王ら(1993b)が示したように、いずれの品種においても GAs 活性を示す画分は同じであることが明らかとなった。したがって、本実験に用いた 3 品種は、ほぼ同一の内生 GAs が存在しているのではないかと考えられた。ただし、活性部位が同じであっても‘キャンベル・アーリー’では、Ⅲ画分群の活性が特に高く、‘デラウェア’ではⅡおよびⅢ画分群、‘甲州’ではⅠ画分群の活性が比較的高く、それぞれの活性の強さに違いがみられたことから、3 品種間で内生 GAs の種類が同じであったとしても、個々の内生 GAs の含量は品種により著しく異なっている可能性が示唆さ

れた。すなわち、無核化に関連する GAs は品種によって異なっている可能性が考えられた。

第 1 章、第 2 節において、‘キャンベル・アーリー’のⅢ画分群中に存在する GAs は、GA<sub>4</sub>、3-epi-GA<sub>4</sub>、GA<sub>7</sub>、GA<sub>34</sub>であることが同定された。この中で GA<sub>4</sub> と GA<sub>7</sub> は生物的活性が強いことから、‘キャンベル・アーリー’、‘デラウェア’および‘甲州’3 品種のⅢ画分群の主要 GAs は GA<sub>4</sub> と GA<sub>7</sub> ではないかと考えられた。しかし、‘デラウェア’ではⅡ画分群もⅢ画分群と同程度の活性を有しており、‘甲州’においてはⅠ画分群の活性もかなり強いことから、‘デラウェア’と‘甲州’の主要 GAs がこれらの画分群に存在し、この画分中の GAs が無核化に関与している可能性が考えられた。したがって、今後、ⅠおよびⅡ画分群中の GAs の同定が必要不可欠と言える。

ブドウ(Iwahori ら、1968)やセイヨウナシ(Gil ら、1972)の幼果中の内生 GAs 含量は有核果粒(果実)よりも無核果粒(果実)の方が、多いことを明らかにした。また同時に、Iwahori ら(1968)は、ブドウの無核品種では開花前後に内生 GAs 活性が高くなることを報告した。さらに、小松ら(1991)は、有核品種である‘巨峰’においても、強剪定により無核果粒が多く着生した場合、開花期の果粒中の GAs 含量が多くなることを明らかにし、内生 GAs が着果および初期発育に重要な役割を果たしていることを示唆した。

本実験においても、比較的無核化し易い‘キャンベル・アーリー’や‘デラウェア’では内生 GAs 様活性が高く、無核化し難い‘甲州’では GAs 活性が低かったことから、無核化の難易と内生 GAs 活性の強弱との間に密接な関係があると推察された。また、GAs 様活性を画分群別にみると、‘キャンベル・アーリー’ではⅢ画分群の活性が常に高く、特に満開後の早い時期で高い活性を示し、同時期の‘デラウェア’では、ⅠおよびⅢ画分群の両方で同程度の活性がみられた。しかし、‘甲州’ではⅠ画分群の活性が高いことから、3 品種間で、それぞれ極性の異なる GAs が着果に関連して

いる可能性が考えられた。なお、‘キャンベル・アーリー’では満開 25 日後に総 GAs 活性のピークがみられたが、満開 25 日後では本実験で目的としている無核化には関与せず、おそらく果粒の肥大に関係しているものと考えられた。また、満開直後の活性は、‘キャンベル・アーリー’ではⅢ画分群の活性が高く、‘甲州’ではⅠ画分群の活性が高いことから、両品種間では、それぞれⅢ画分群、Ⅰ画分群の中に存在する GAs が着果に関係する主要な GAs である可能性が考えられた。

## 第4章 ‘キャンベル・アーリー’ および ‘甲州’ の内生ジベレリンによる無核化

### 第1節 緒 言

‘キャンベル・アーリー’、‘デラウェア’ および ‘甲州’ の未熟種子中の内生 GAs 様物質活性を矮性イネ ‘短銀坊主’ を用いた生物検定により測定した結果、3 品種とも同一画分群で活性が認められたが、各画分群の活性の強さは品種によって異なっていることが明らかとなった。そこで、1999 年には ‘キャンベル・アーリー’ の未熟種子中より得た内生 GAs 様物質を ‘キャンベル・アーリー’ および ‘デラウェア’ に処理し、無核化に及ぼす影響を処理濃度、着粒および果粒肥大との関連において調査した。2000 年は無核化が比較的容易な ‘キャンベル・アーリー’ と困難な ‘甲州’ の未熟種子から得られた内生 GAs 様物質が、それぞれの品種の無核化に及ぼす影響を比較調査した。

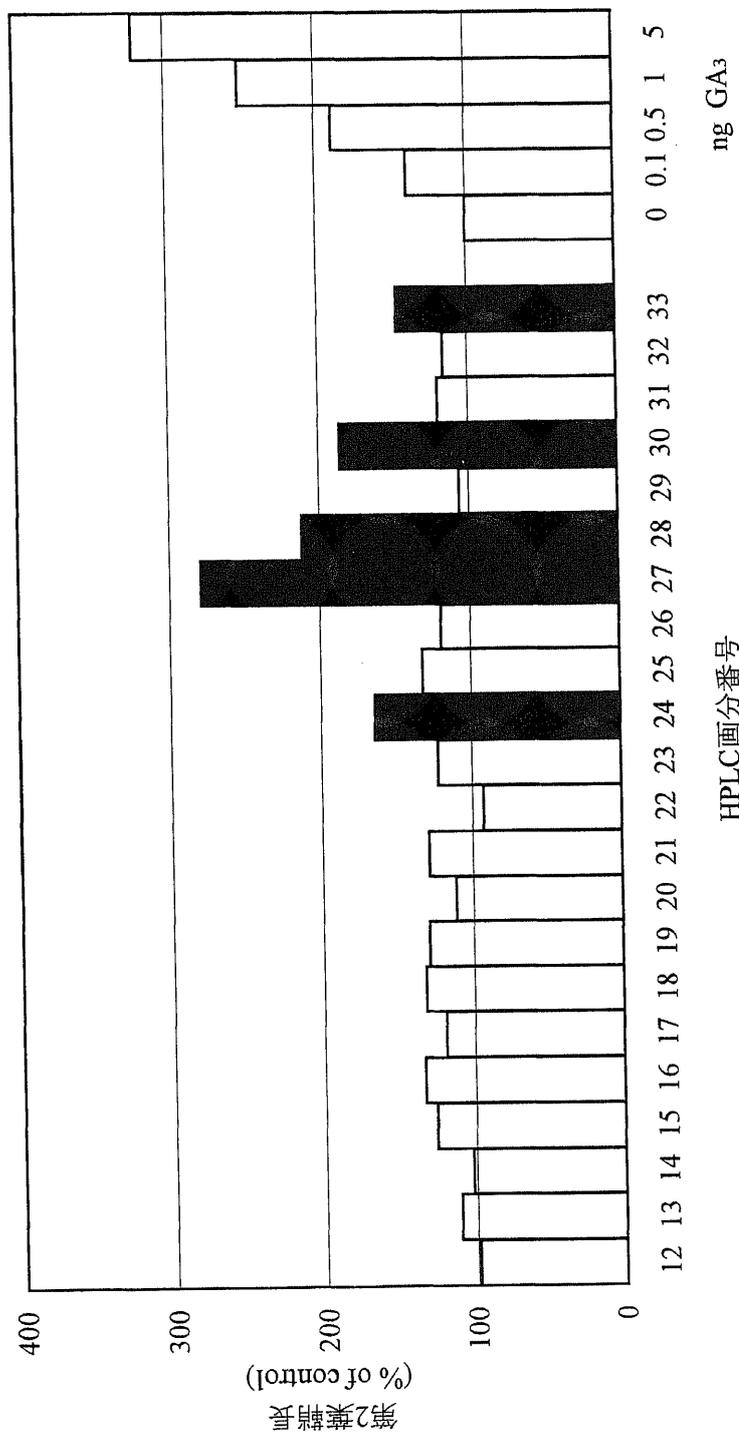
### 第2節 ‘キャンベル・アーリー’ の内生ジベレリン様物質による ‘キャンベル・アーリー’ と ‘デラウェア’ の無核化

1998 年に千葉大学園芸学部研究圃場栽植の 16 年生 ‘キャンベル・アーリー’ より、満開 3 週間後の幼果を多量に採取し、直ちに -20 °C で凍結保存した。1999 年に、それらの幼果中から約 1 kg の種子を取り出し、GAs 様物質の抽出材料とした。なお、GAs 様物質の抽出・精製、HPLC による画分並びに活性の測定方法は第 1 章、第 1 節の方法に準じて行った。

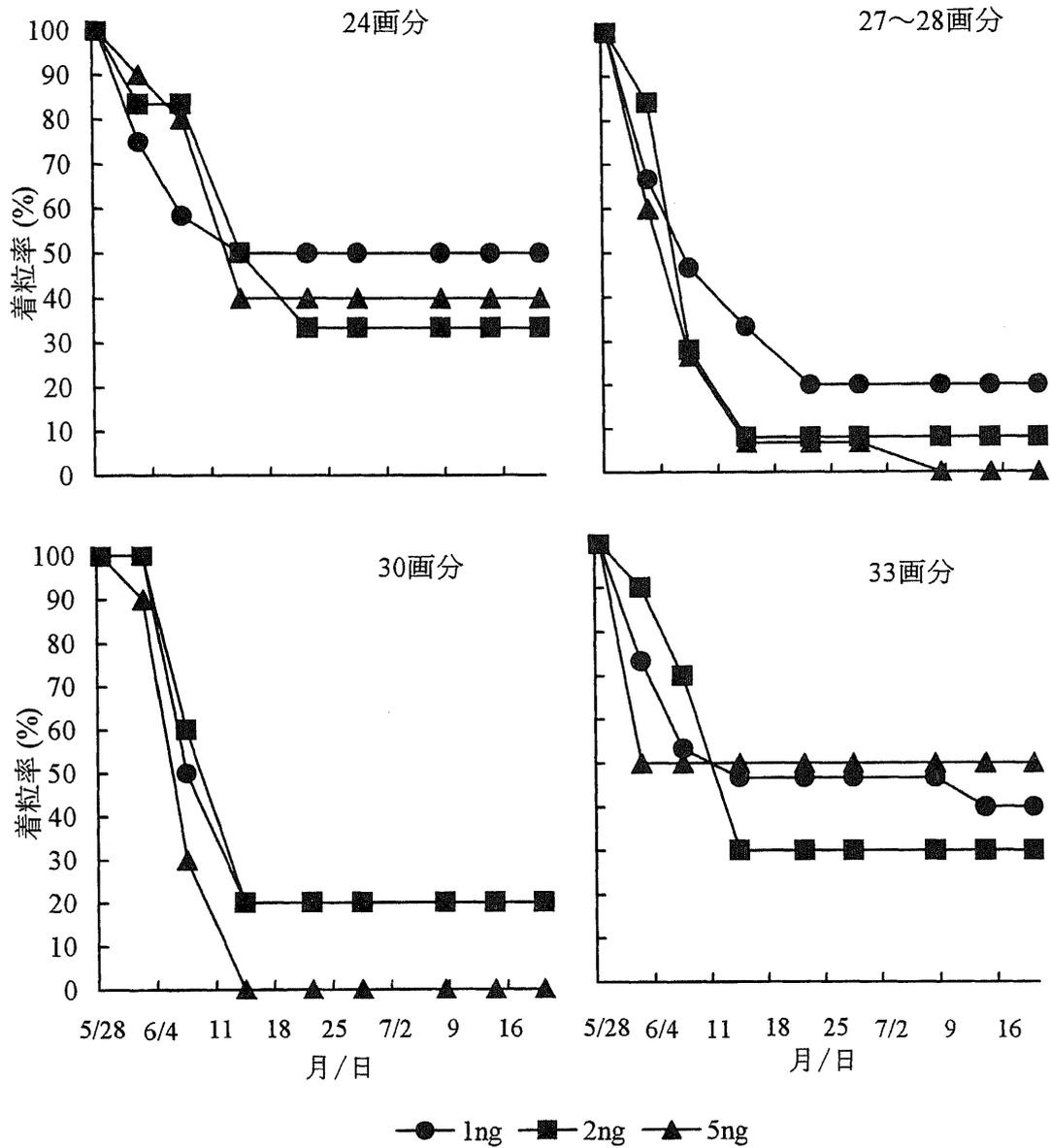
1999 年に千葉大学園芸学部研究圃場栽植の 17 年生 ‘キャンベ

ル・アーリー’ および 9 年生 ‘デラウェア’ を無核化の誘起に供試した。HPLC で分取した画分のうち、生物検定によって高い活性がみられた 24、27~28、30、33 画分（第 7 図）について、それぞれの画分を 50 % EtOH で溶解し、1  $\mu$ l 当たり 1 ng $\cdot$ GA<sub>3</sub> eq.、2 ng $\cdot$ GA<sub>3</sub> eq.あるいは 5 ng $\cdot$ GA<sub>3</sub> eq.（以下、1、2 または 5 ng とする）の GAs 様物質を含む処理溶液（展着剤として Atrox BI 500 ppm を含む）を準備した。‘キャンベル・アーリー’ および ‘デラウェア’ の開花 2~5 日前に 1 花房当たりの花蕾が 30 個程度になるように花房および花蕾の一部を切除した。その後、すべての花蕾についてピンセットを用いて除雄後、自家受粉や他家受粉を防ぐため紙袋をかぶせた。開花時（‘キャンベル・アーリー’ では 5 月 28 日、‘デラウェア’ では 5 月 30 日）に紙袋をはずし、小花（花蕾）の子房 20~30 個に対して、先に調整してあった処理溶液をマイクロシリンジを用い、1 子房当たり 1  $\mu$ l ずつを点滴処理した。なお、得られた GAs 様物質が少量であったため、‘デラウェア’ に対しては 27~28 画分および 30 画分のみを処理した。処理後は約 1 週間間隔で着粒数、果粒の横径および縦径を調査した。また、比較のため GA<sub>3</sub>、GA<sub>4</sub> および GA<sub>7</sub> の標品（1、2 または 5 ng/ $\mu$ l/子房）を用いて同様の処理を行った。

‘キャンベル・アーリー’ に同品種の内生 GAs を処理した結果、処理約 4 週間前後までは著しい落果が生じた。しかし、その後ほとんど落果はみられなくなり、いずれの濃度処理でも 24 および 33 画分処理で着粒率が高く、最も低濃度の 1 ng を処理した場合でも、高い着粒率が維持された。27~28 画分および 30 画分処理では 1 ng および 2 ng 処理により 10~20%の着粒率が得られたが、高濃度の 5 ng を処理した場合には、他の処理濃度に比較して着粒率が低くなり、濃度の増加に伴う着粒率の向上は認められなかった（第 8 図）。果粒の縦径は、24 および 30 画分処理では処理濃度の違いによる差はみられなかったが、27~28 画分処理では 2 および 5 ng 処理により、処理直後の著しい肥大促進効果がみられ、5 ng では



第7図 ‘キャンベル・アーリー’未熟種子1g中のGA<sub>3</sub>様物質のヒストグラム  
(黒色のカラムは点滴処理に用いた画分を示す)



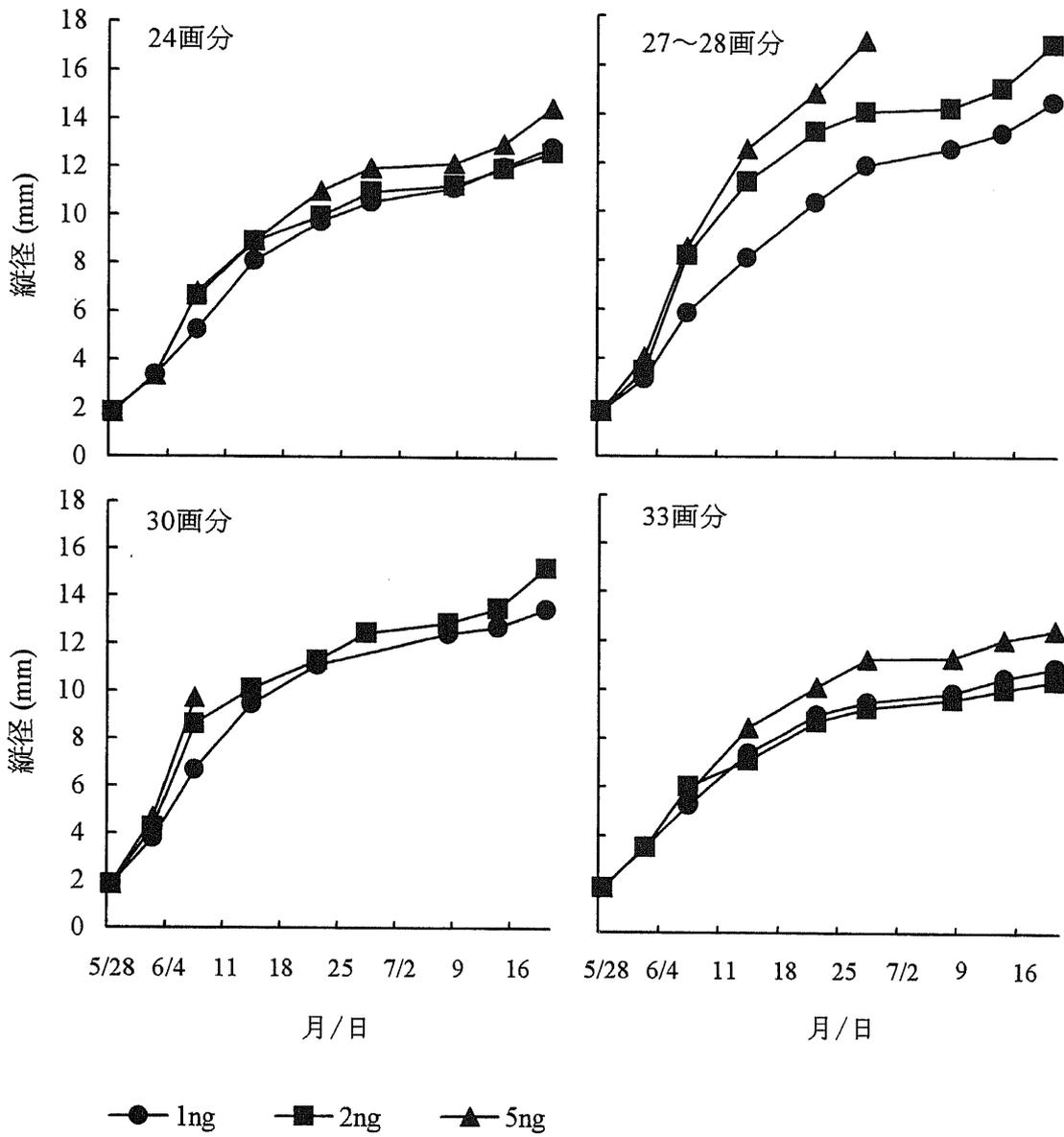
第8図 ‘キャンベル・アーリー’未熟種子中のGAs様物質処理が  
‘キャンベル・アーリー’の着粒に及ぼす影響

肥大促進効果が特に優れていた。また、33 画分処理では、いずれの処理濃度でも果粒の肥大が他の画分処理より劣っていた(第 9 図)。なお、果粒の横径の変化では縦径の変化とほぼ同じような傾向が観察された(第 10 図)。

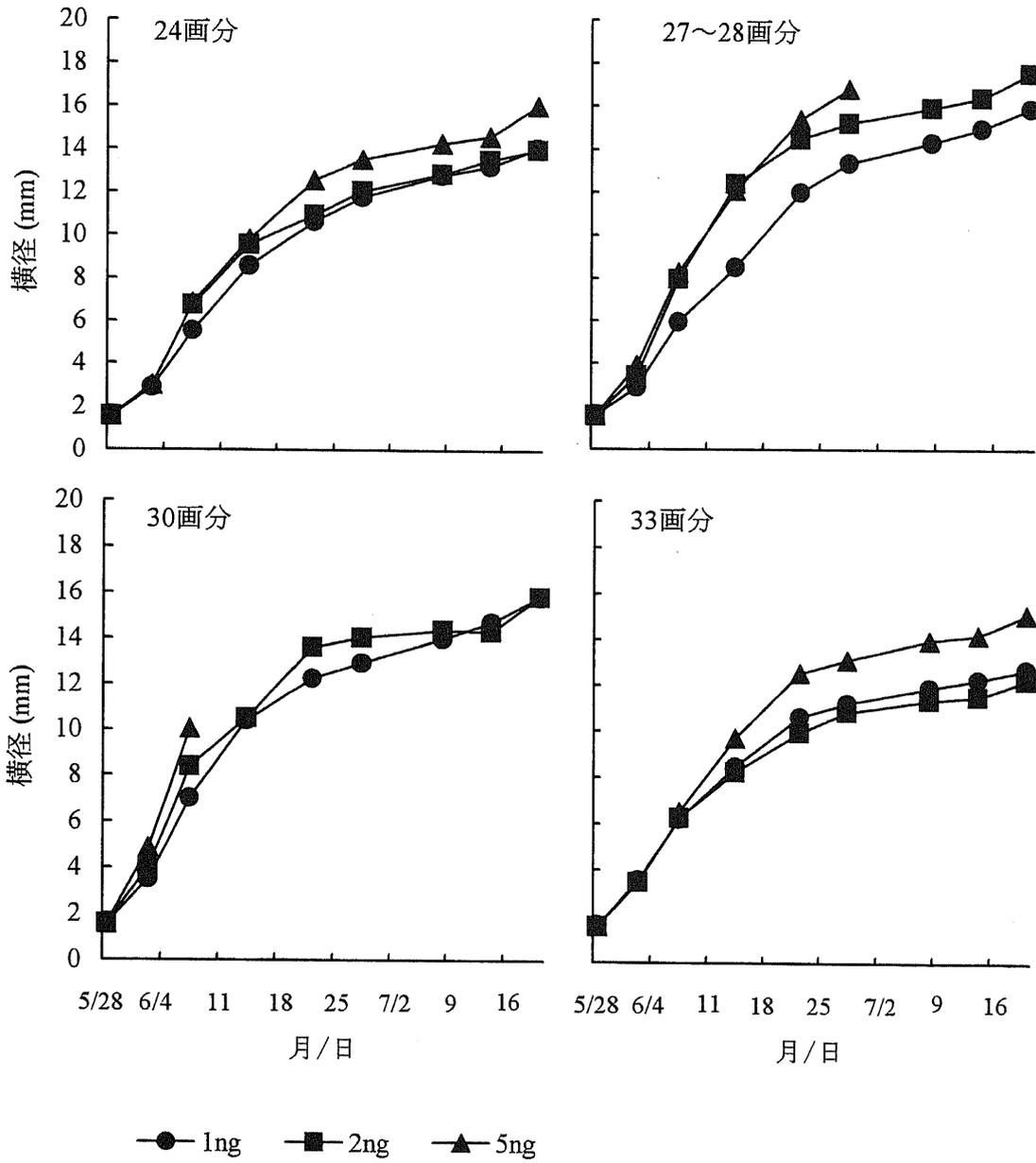
標品の GA<sub>3</sub>、GA<sub>4</sub>および GA<sub>7</sub>を処理した場合、内生 GAs 様物質を処理した結果と同様に、いずれの処理においても、処理約 4 週間後までに著しい落果がみられた。また、いずれの GAs 処理においても最も高い着粒率は約 50 %程度であった。GA<sub>3</sub>処理では、いずれの処理濃度でも着粒率は 40~50 %で、処理濃度が高くなるに伴う着粒率の増加はみられなかった。GA<sub>4</sub>処理では 5 ng 処理で約 40 %程度の着粒率を示したが、1 および 2 ng 処理では着粒率が 15 %以下となった。GA<sub>7</sub>処理では 2 および 5 ng 処理で 30~40 %の着粒率を示したが、1 ng 処理では約 7 %程度と低かった(第 11 図)。

果粒の生長に伴う縦径と横径の変化を第 12 および 13 図に示した。GA<sub>4</sub> および GA<sub>7</sub> 処理では、処理濃度の違いによる差は特にみられなかったが、GA<sub>3</sub> 処理では、高濃度処理ほど果粒の肥大が促進された。また、同じ濃度処理間では、GAs による肥大促進効果は GA<sub>3</sub>>GA<sub>4</sub>=GA<sub>7</sub>という関係が認められた。

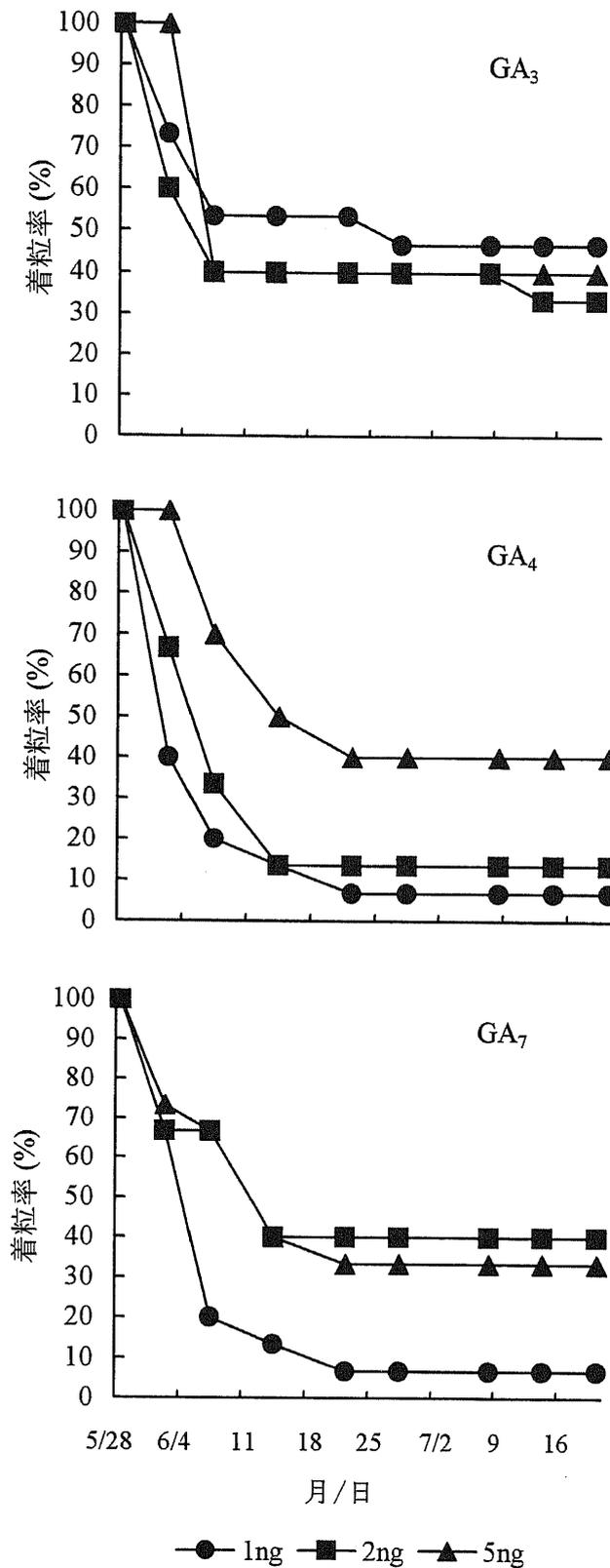
一方、‘デラウェア’では、いずれの内生 GAs の処理区でも 6 月 28 日には、ほとんど落果がみられなくなった。処理別にみると、27~28 画分処理の 5 ng 処理で着粒率が低くなったものの、2 ng 処理では約 70 %、1 ng 処理でも約 60 %の着粒率を示した。30 画分処理区では 2 ng 処理での着粒率が 7 月 11 日まで約 60 %と最も高く推移し、1 ng 処理では約 35 %、5 ng 処理では最も低く約 20 %であった(第 14 図)。果粒の縦径および横径をみると、27~28 画分処理では、処理濃度が高くなるにつれて肥大促進効果が優れていた。特に、横径では 2 および 5 ng 処理により、処理直後から著しい肥大促進効果がみられた。ただし、30 画分処理では縦径、横径ともに処理濃度による差異は認められなかった(第 15、16 図)。



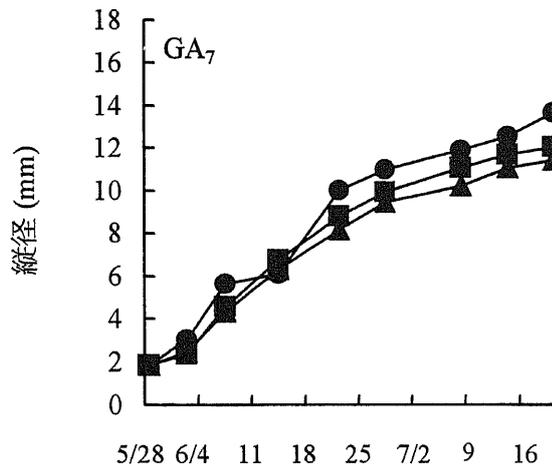
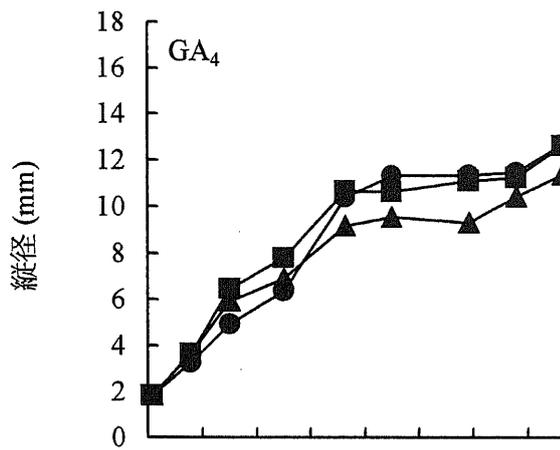
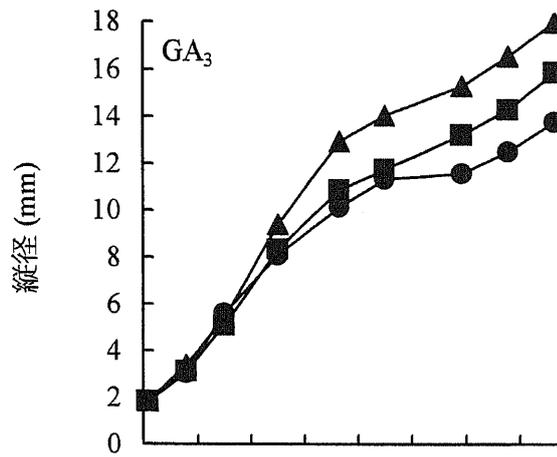
第9図 ‘キャンベル・アーリー’未熟種子中のGAs様物質処理が  
‘キャンベル・アーリー’果粒の縦径肥大に及ぼす影響



第10図 ‘キャンベル・アーリー’未熟種子中のGAs様物質処理が  
‘キャンベル・アーリー’果粒の横径肥大に及ぼす影響

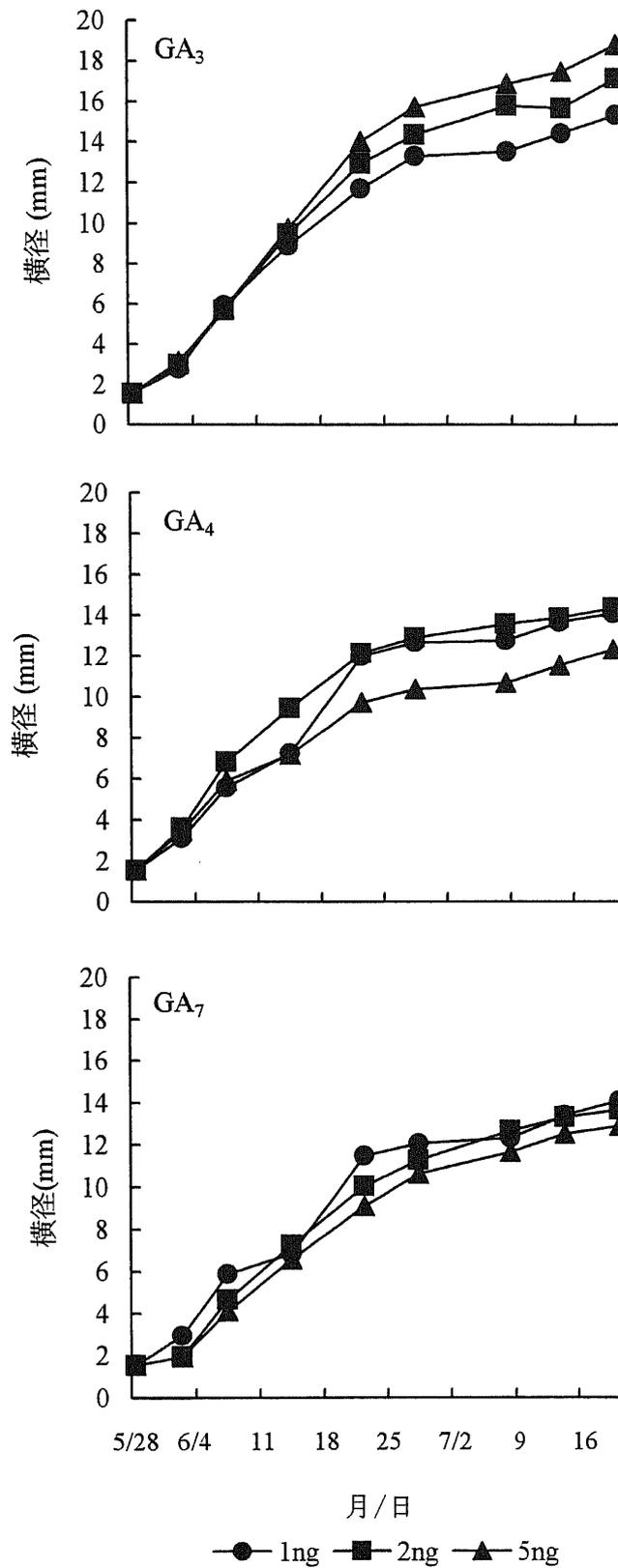


第11図 GA<sub>3</sub>、GA<sub>4</sub>およびGA<sub>7</sub>標品の処理が‘キャンベル・アーリー’の着果に及ぼす影響

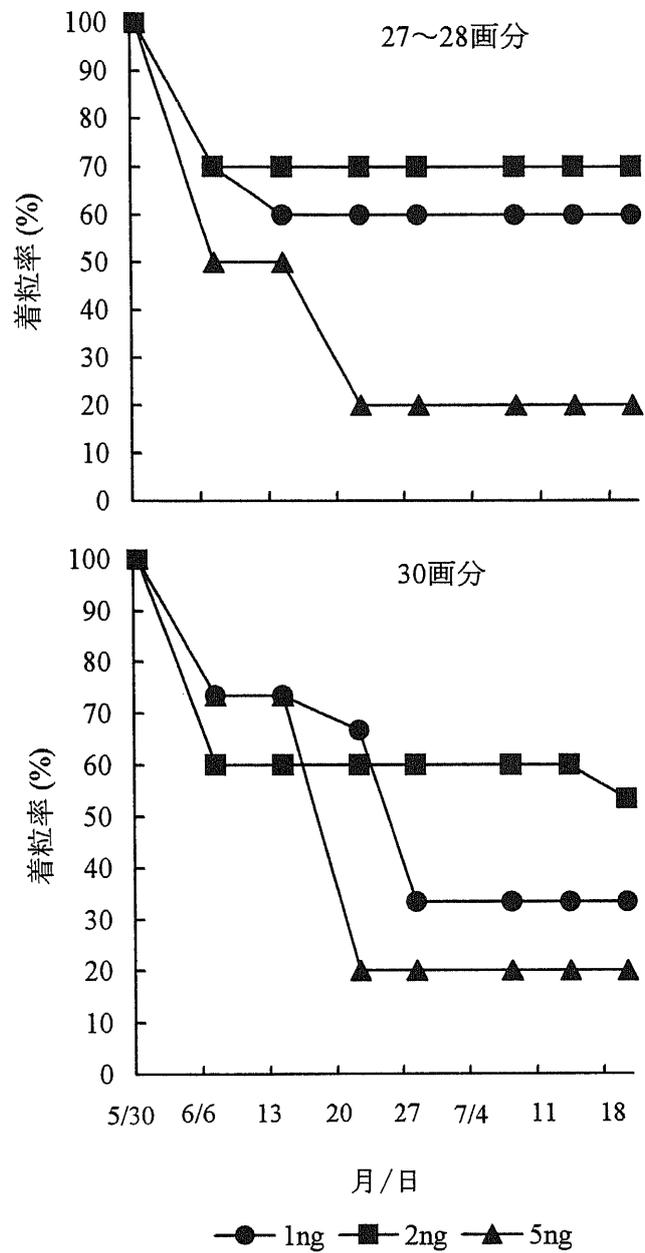


● 1ng ■ 2ng ▲ 5ng

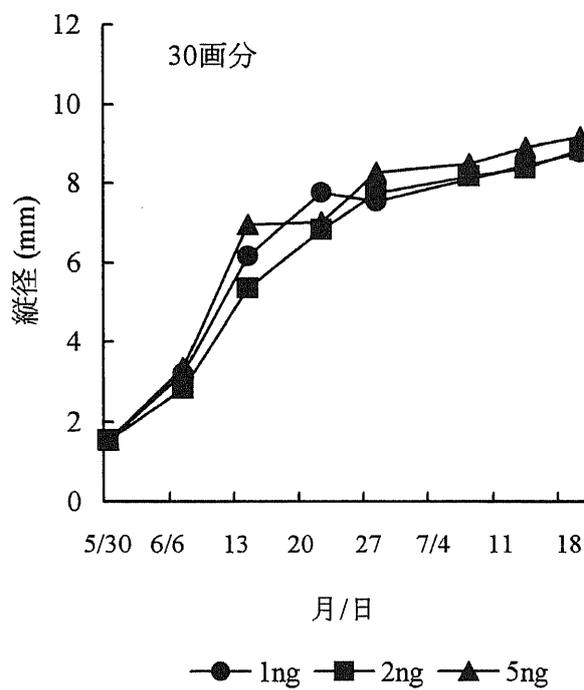
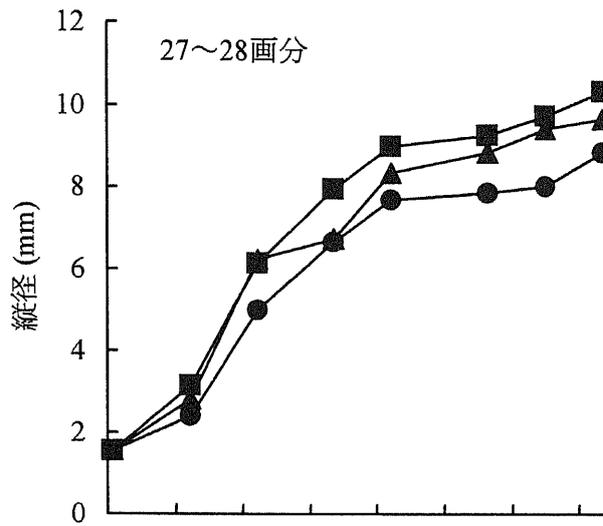
第12図 GA<sub>3</sub>、GA<sub>4</sub>およびGA<sub>7</sub>標品の処理が‘キャンベル・アーリー’果粒の縦径肥大に及ぼす影響



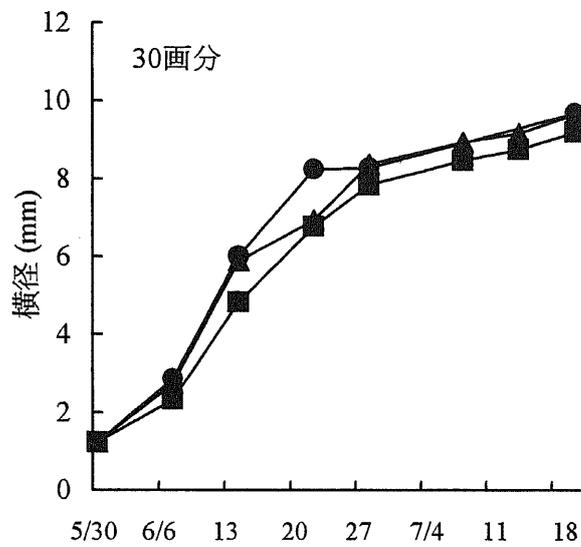
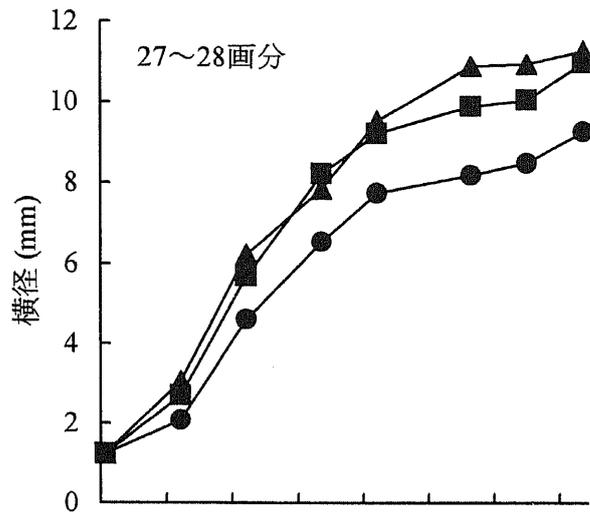
第13図 GA<sub>3</sub>、GA<sub>4</sub>およびGA<sub>7</sub>標品の処理が‘キャンベル・アーリー’果粒の横径肥大に及ぼす影響



第14図 ‘キャンベル・アーリー’未熟種子中のGAs様物質処理が‘デラウェア’の着粒に及ぼす影響



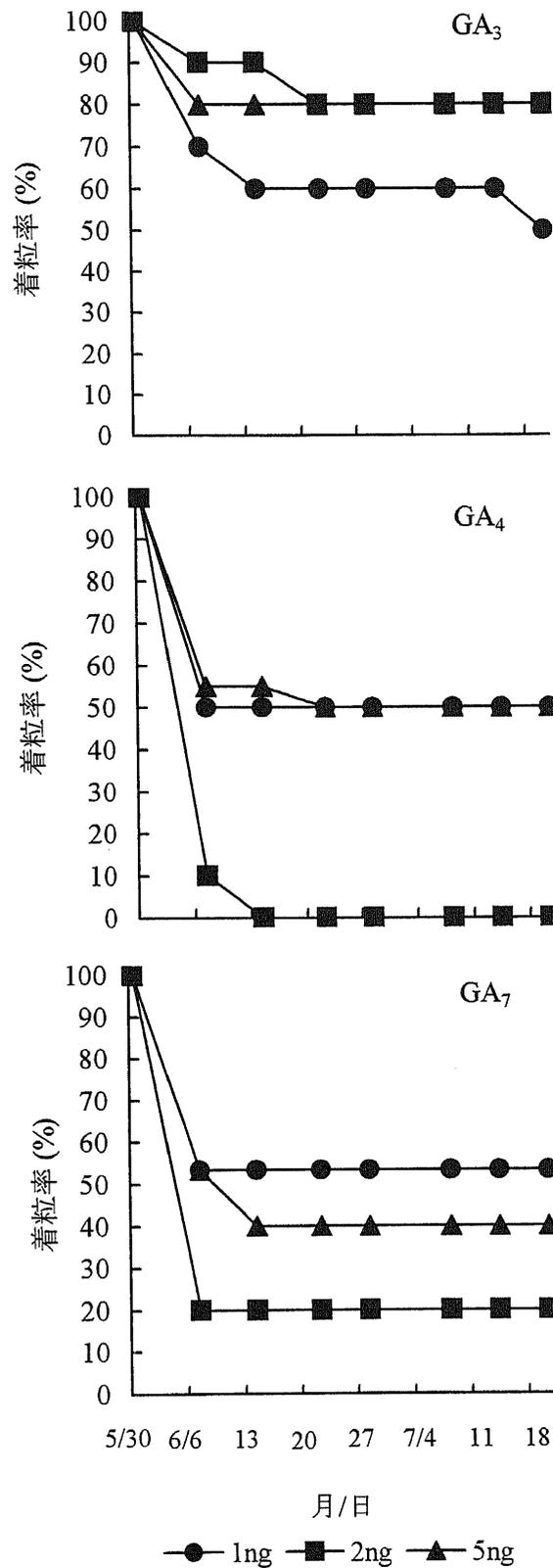
第15図 ‘キャンベル・アーリー’未熟種子中のGAs様物質処理が  
‘デラウェア’果粒の縦径肥大に及ぼす影響



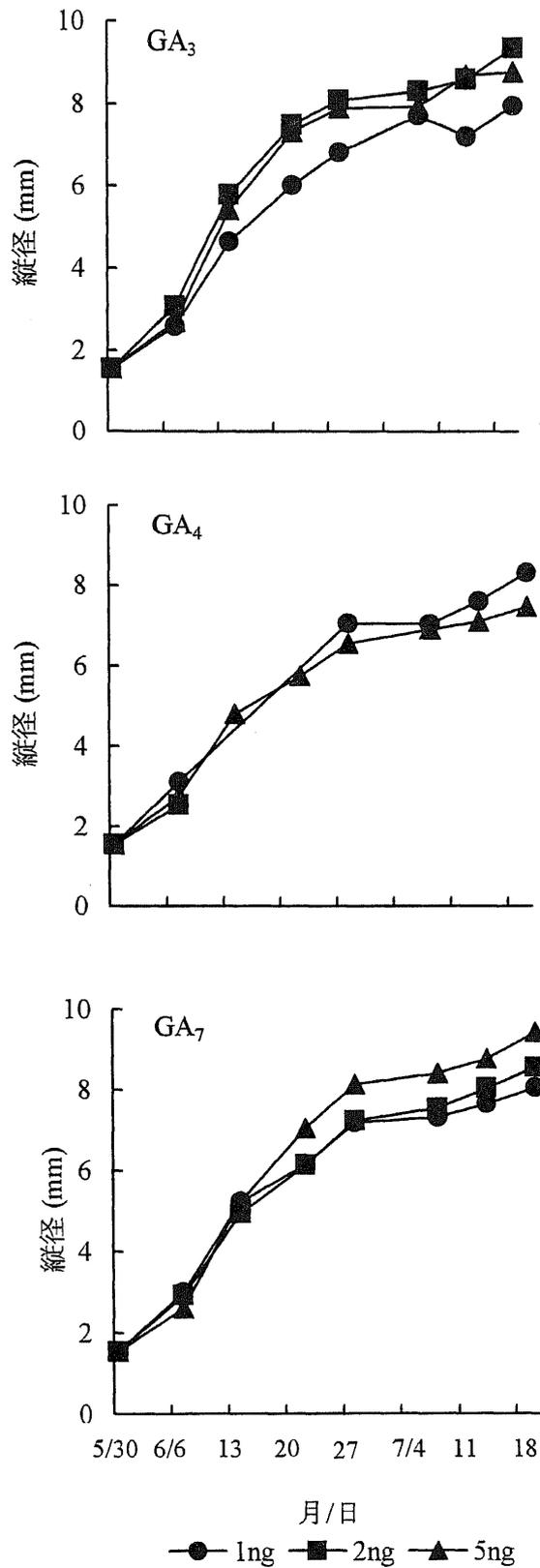
月/日

● 1ng ■ 2ng ▲ 5ng

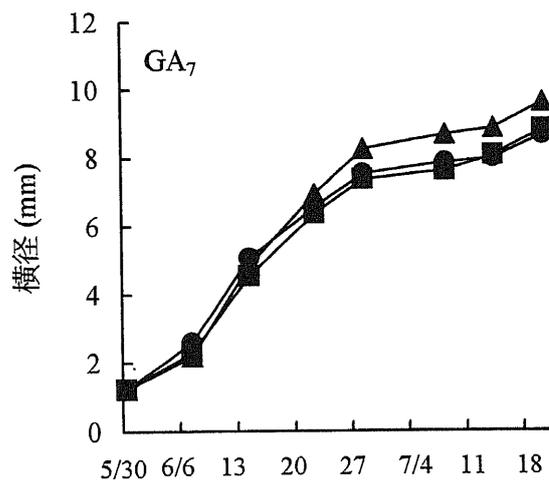
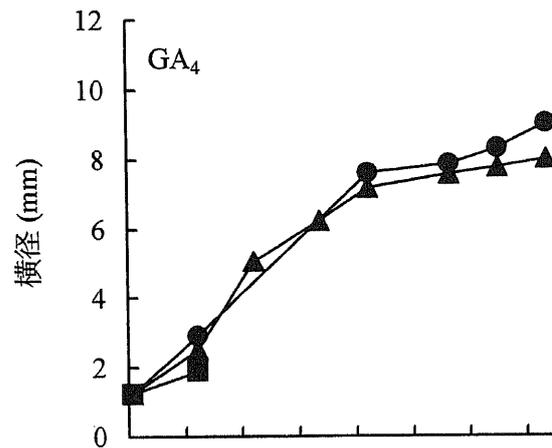
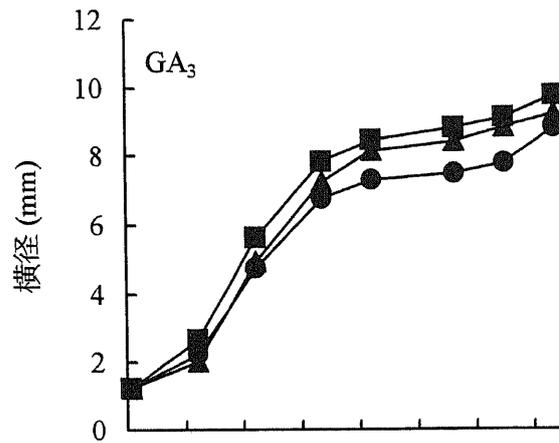
第16図 ‘キャンベル・アーリー’未熟種子中のGAs様物質処理が  
‘デラウェア’果粒の横径肥大に及ぼす影響



第17図 GA<sub>3</sub>、GA<sub>4</sub>およびGA<sub>7</sub>の標品処理が‘デラウェア’の着粒に及ぼす影響



第18図 GA<sub>3</sub>、GA<sub>4</sub>およびGA<sub>7</sub>の標品処理が‘デラウェア’果粒の縦径肥大に及ぼす影響



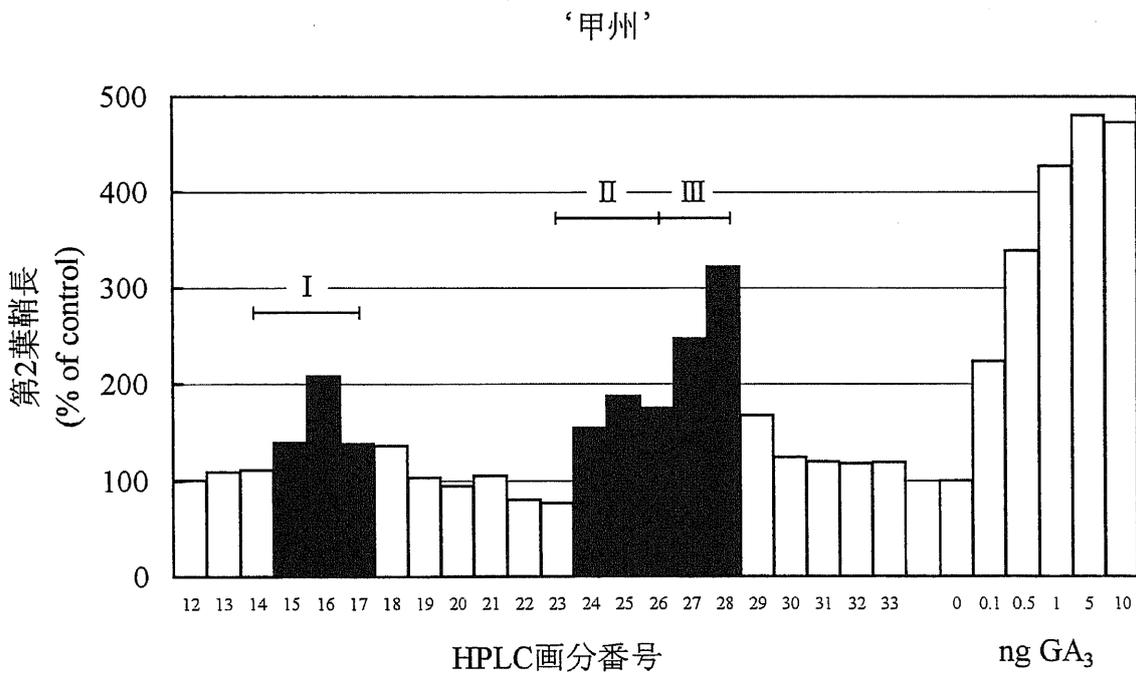
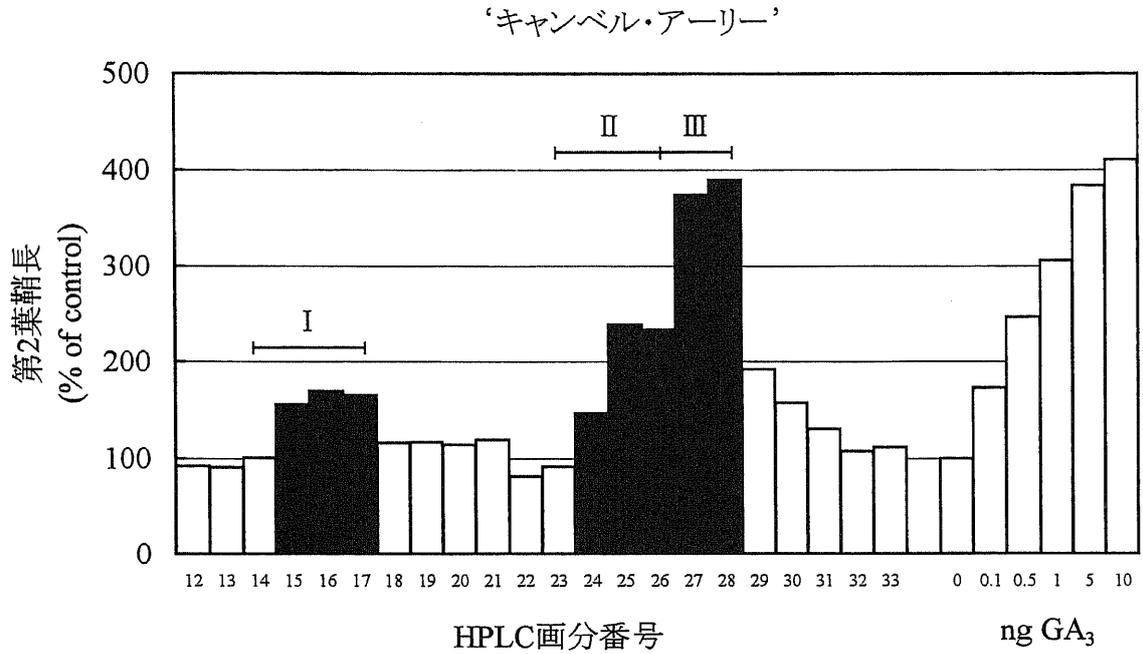
月/日  
 ● 1ng ■ 2ng ▲ 5ng

第19図 GA<sub>3</sub>、GA<sub>4</sub>およびGA<sub>7</sub>の標品処理が‘デラウェア’果粒の横径肥大に及ぼす影響

標品の GAs 処理において、GA<sub>3</sub> 処理区では 1 ng 処理でも 6 月 14 日以降、約 60 % 程度の着粒率で推移し、特に 2 ng あるいは 5 ng 処理では約 80 % 以上の高い着粒率を示した。GA<sub>4</sub> 処理では、1 ng および 5 ng 処理で約 50 % 程度の着粒率であったが、2 ng 処理では処理 2 週間後には、すべて落果した。GA<sub>7</sub> 処理では 1 ng > 5 ng > 2 ng 処理の順に着粒率は高く、1 ng 処理でも約 50 % 着粒した。(第 17 図)。果粒の縦径と横径の変化をみると、GA<sub>3</sub> 処理では 2 ng 以上の処理濃度で肥大が促進されたが、2 ng と 5 ng 処理の間で差異はみられなかった。GA<sub>4</sub> 処理では GA<sub>3</sub> や GA<sub>7</sub> 処理と比較して、縦径、横径ともに小さく、また、処理濃度による顕著な差はみられなかった。GA<sub>7</sub> 処理では、処理濃度が高いほど果径は大きくなり、特に縦径において明らかな差が認められた(第 18、19 図)。

### 第 3 節 ‘キャンベル・アーリー’ および ‘甲州’ の内生ジベレリン様物質による両品種の無核化

内生 GAs 様物質の抽出のため、1999 年に千葉大学園芸学部研究圃場栽植の 17 年生ブドウ ‘Campbell Early’ および山梨大学ワイン科学研究センター附属育種試験地栽植の 14 年生 ‘甲州’ の満開約 3 週間後の幼果を採取した。それぞれの品種の幼果から種子を約 1kg ずつ取り出し、第 1 章、第 1 節で示した方法と同様に内生 GAs 様物質の抽出・精製、HPLC による分画を行った。矮性イネ ‘短銀坊主’ による生物検定の結果、第 20 図に示したような GAs 様物質活性のヒストグラムを得たため、15~17 画分群 (I)、24~26 画分群 (II)、27~28 画分群 (III) を点滴処理用の試料とした。点滴処理は抽出に用いたそれぞれの品種に対して行った。点滴処理に用いた小花の準備と点滴処理の方法は前節と同様に行い、処理濃度は前節の結果に基づき、いずれの処理溶液も 2 ng·GA<sub>3</sub> eq./ $\mu$ l/子房 (50 % EtOH、500 ppm Atrox BI を含む) とし、両品種

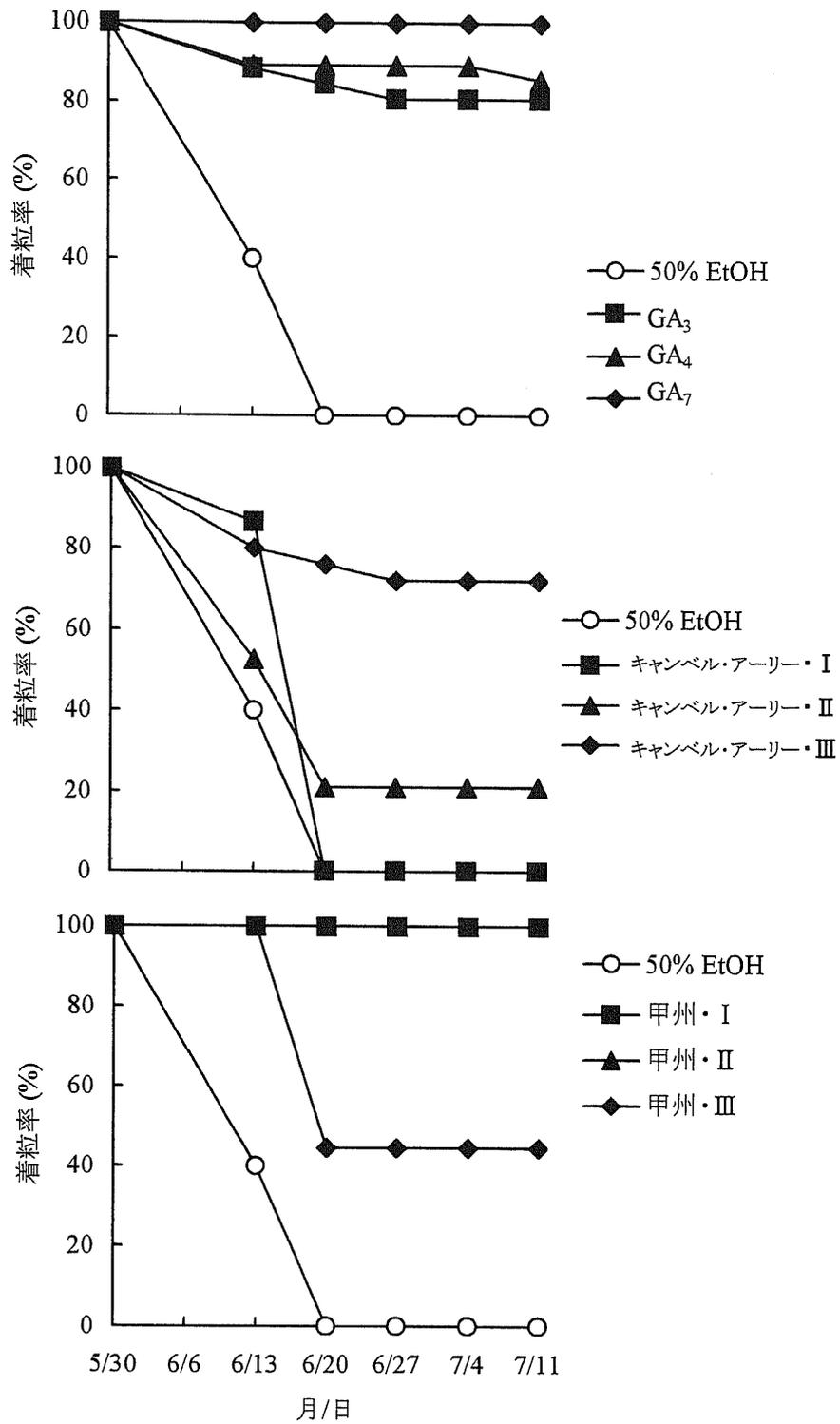


第20図 ‘キャンベル・アーリー’および‘甲州’未熟種子中のGAs様物質活性のヒストグラム

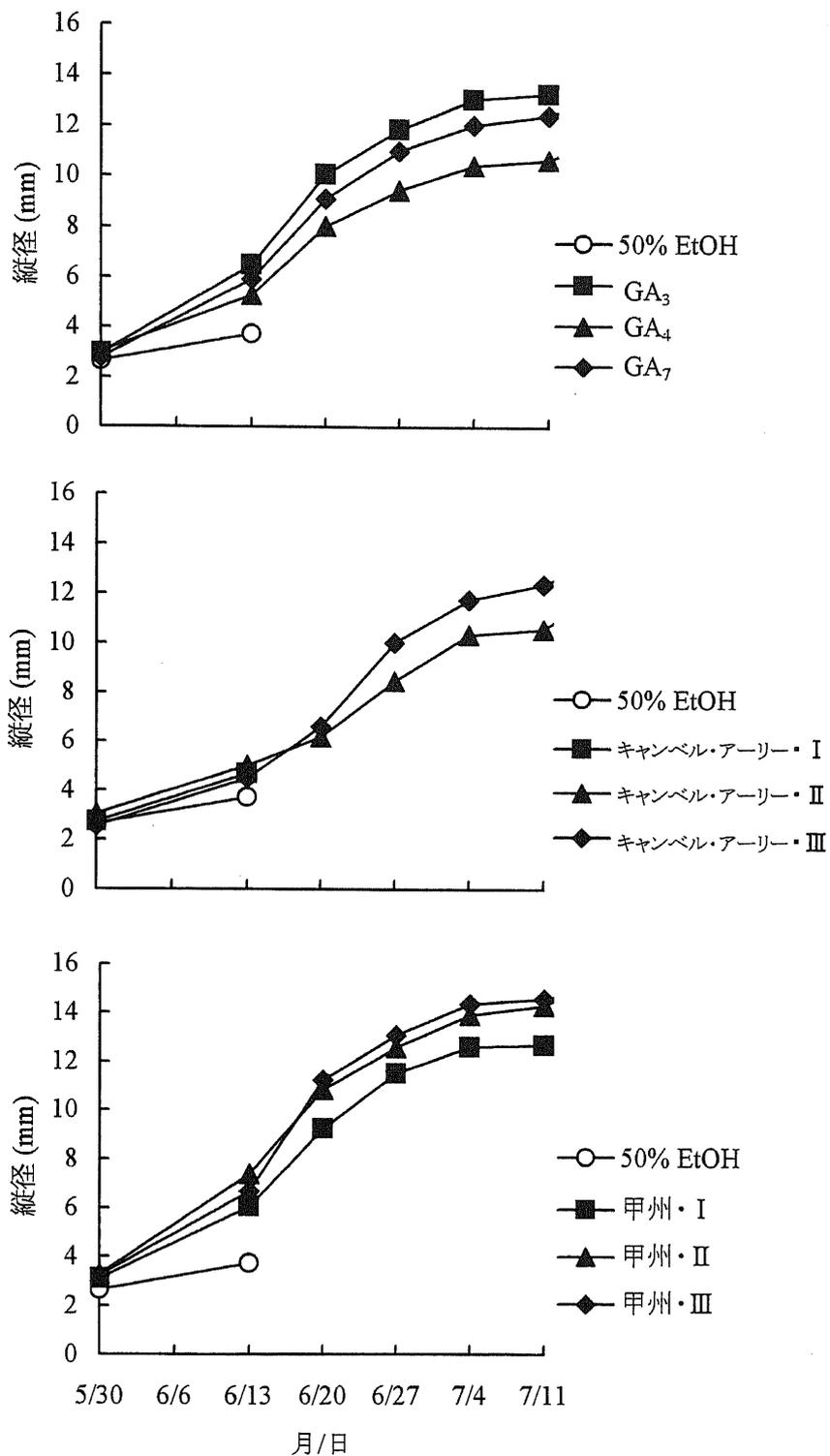
の内生 GAs 様物質以外に標品の GA<sub>3</sub>、GA<sub>4</sub>および GA<sub>7</sub> (いずれも 50 % EtOH、500 ppm Atrox BI を含む) も加えた。処理後の調査は前節と同様に行った。

‘キャンベル・アーリー’において、処理液の溶媒として用いた 50 % EtOH (対照) を処理した場合、処理 20 日後にはすべての果粒は落果した。標品の GAs を処理した場合、GA<sub>3</sub>、GA<sub>4</sub> および GA<sub>7</sub> のいずれの処理においても高い着粒率を示し、中でも GA<sub>7</sub> 処理では 100 %であった。‘キャンベル・アーリー’から得られた GAs 様物質処理では、Ⅲ画分群での着粒率は約 70 %と最も高く、次いでⅡ画分群で約 20 %、Ⅰ画分群では処理 20 日後までにすべて落果した。‘甲州’から得た GAs 様物質処理では、‘キャンベル・アーリー’の内生 GAs 様物質とは異なり、Ⅲ画分群で約 50 %と低くなったが、ⅠおよびⅡ画分群では 100 %と著しく高くなった(第 21 図)。‘キャンベル・アーリー’果粒の肥大に及ぼす影響をみると縦径、横径ともに類似した様相を示し、標品の GAs では GA<sub>3</sub>>GA<sub>7</sub>>GA<sub>4</sub>の順に肥大が促進された。‘キャンベル・アーリー’から得られた GAs 様物質処理ではⅢ画分群で最も肥大促進効果が高く、ⅠおよびⅡ画分群はほぼ同じ効果であった。また、‘甲州’から得られた GAs 様物質処理ではⅢ画分群>Ⅱ画分群の順に肥大が促進された。(第 22、23 図)。

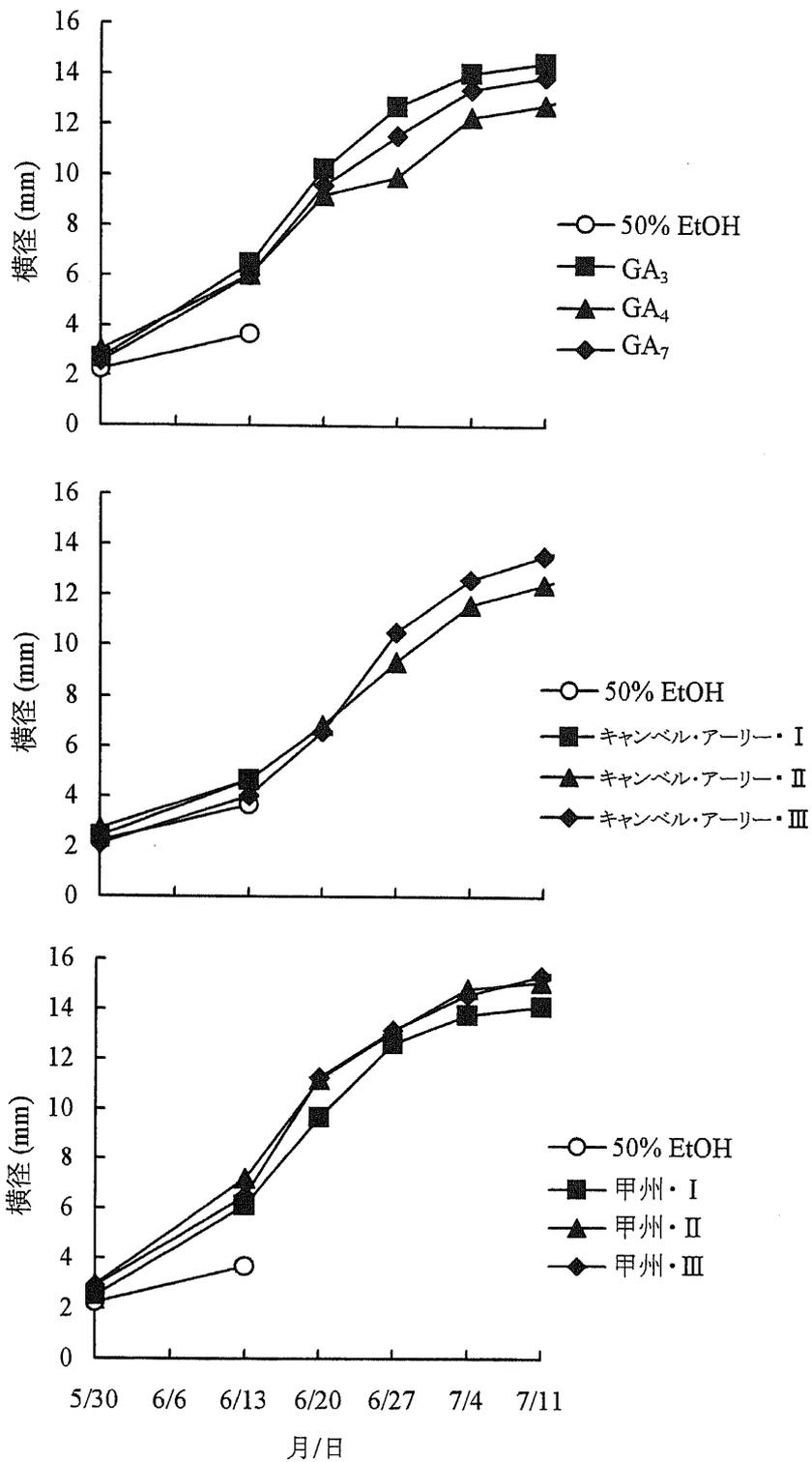
‘甲州’においては、‘キャンベル・アーリー’と同様に、50 % EtOH 処理 (対照) では満開 25 日後にはすべて落果した。標品の GAs を処理した場合、‘キャンベル・アーリー’と同様に、GA<sub>7</sub> 処理が最も高い着粒率を示したものの、その値は約 20 %と‘キャンベル・アーリー’より著しく低かった。また、GA<sub>3</sub> および GA<sub>4</sub> 処理では約 10 %の着粒率しか得られなかった。‘キャンベル・アーリー’から得た GAs 様物質処理では、Ⅲ画分群で着粒率が 60 %と最も高く、次いでⅠ画分群 (約 40 %) > Ⅱ画分群 (約 10 %) の順であった。‘甲州’から得られた GAs 様物質処理では、Ⅰ画分群で約 40 %の着粒率を示し、最も高くなったが、



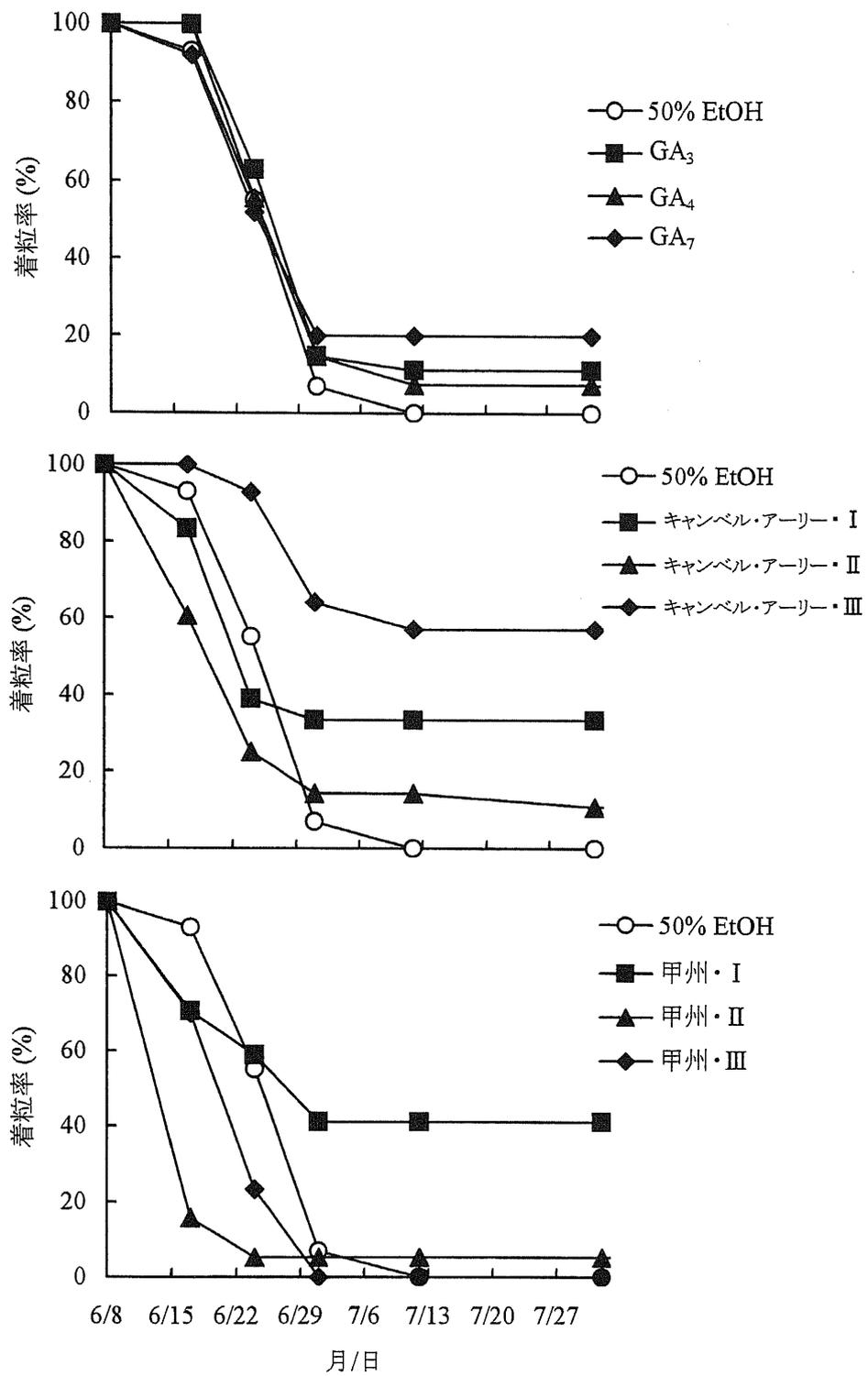
第21図 標品GAsと‘キャンベル・アーリー’および‘甲州’未熟種子中のGAs様物質処理が‘キャンベル・アーリー’の着粒に及ぼす影響



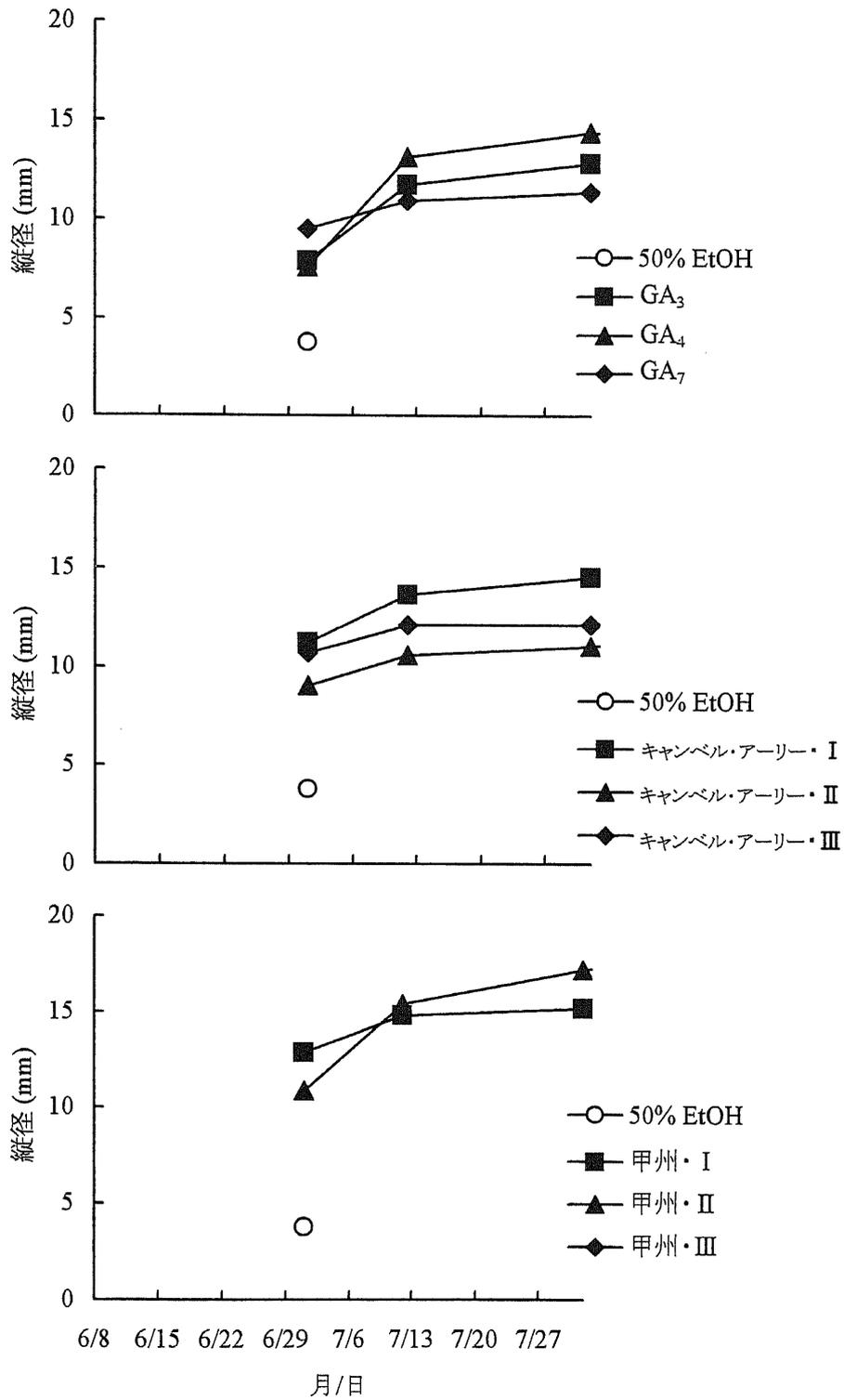
第22図 標品GAsと‘キャンベル・アーリー’および‘甲州’未熟種子中のGA様物質処理が‘キャンベル・アーリー’果粒の縦径肥大に及ぼす影響



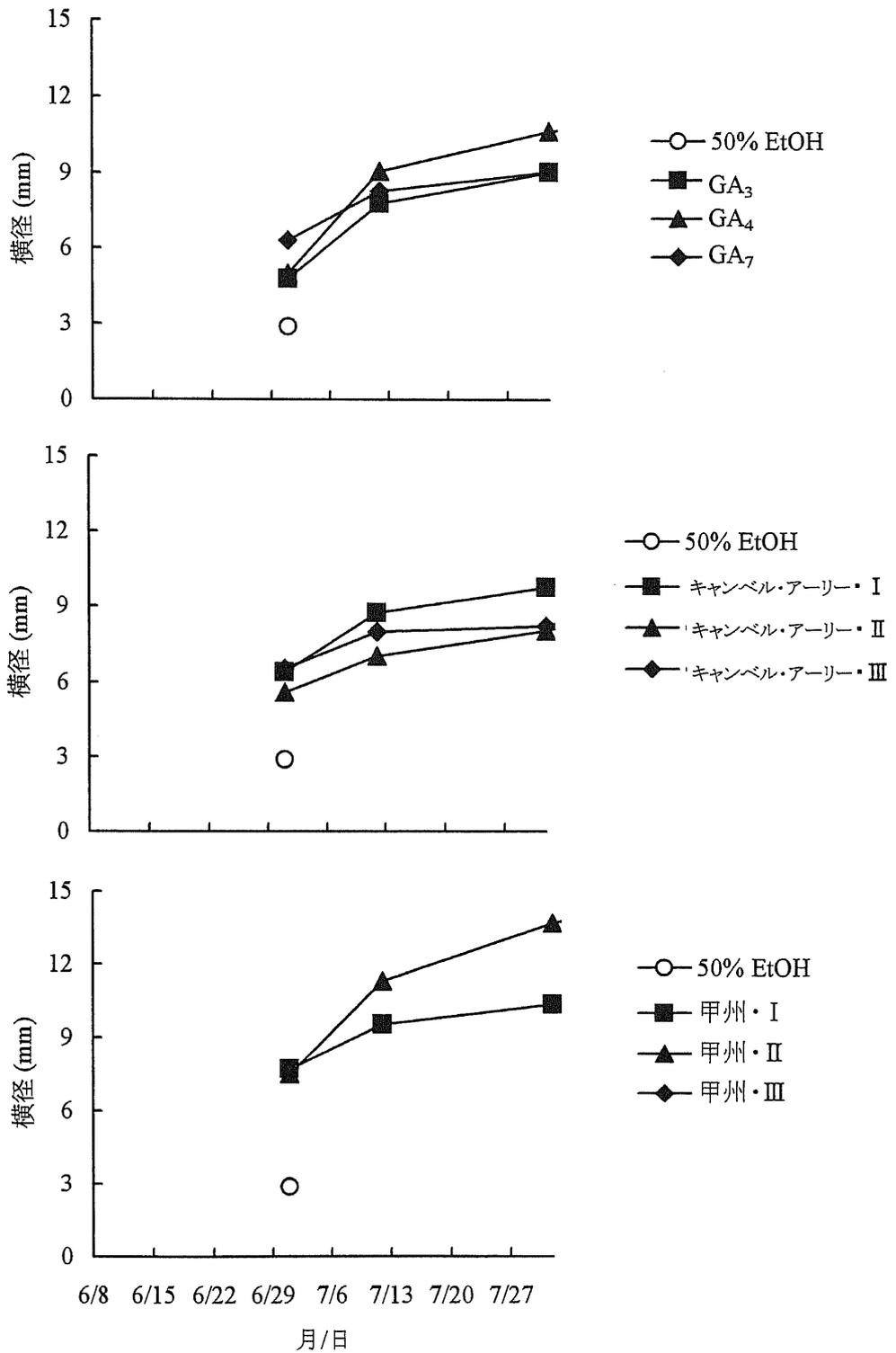
第23図 標品GAsと‘キャンベル・アーリー’および‘甲州’未熟種子中のGAs様物質処理が‘キャンベル・アーリー’果粒の横径肥大に及ぼす影響



第24図 標品GAsと‘キャンベル・アーリー’および‘甲州’未熟種子中のGAs様物質処理が‘甲州’の着粒に及ぼす影響



第25図 標品GAsと‘キャンベル・アーリー’および‘甲州’未熟種子中のGAs様物質処理が‘甲州’果粒の縦径肥大に及ぼす影響



第26図 標品GAsと‘キャンベル。アーリー’および‘甲州’未熟種子中のGAs様物質が‘甲州’果粒の横径肥大に及ぼす影響

Ⅱ画分群では 5 %と低く、Ⅲ画分群処理ではすべて落果した(第 24 図)。

果径(縦径、横径)に及ぼす影響は、標品の GAs 処理において 7 月 1 日の時点で 50 % EtOH 処理(対照区)と比較すると、肥大効果がみられたが、GAs 間で横径に差はみられず、縦径では  $GA_4 > GA_3 > GA_7$  の順に小さく、 $GA_7$  処理で最も劣った。‘キャンベル・アーリー’から得られた GAs ではⅠ画分群で肥大効果がみられたが、ⅡおよびⅢ画分群では大差はなかった。また、‘甲州’から得られた GAs 様物質処理では、測定を開始した処理 3 週間後において、Ⅰ画分群で縦径で肥大効果がみられたが、8 月 1 日の時点では、他の画分群処理との差は小さくなり、収穫期にはⅡ画分群の方が大きくなった。しかし、横径では、縦径と若干異なり、いずれの時期でも、Ⅱ画分群の方がⅠ画分群よりも肥大が著しく促進された(第 25、26 図)。

#### 第 4 節 考 察

‘キャンベル・アーリー’において、24 および 33 画分処理では、1 ng 処理した場合でも高い着粒率を示した。しかし、処理濃度の増加と着粒率との関係は明確ではなかった。一方、27~28 画分および 30 画分処理においても同様に 1 ng 処理以上で着粒率の向上がみられなかったが、本実験に用いた最も低濃度の 1 ng 処理によっても無核化を誘起できることが明らかとなった。また、果粒の肥大をみると 27~28 画分処理の 2 ng 以上の処理濃度で著しく促進され、他の画分処理ではあまり果径の肥大はみられなかったことから、27~28 画分処理に存在する GAs が肥大に大きく関与している可能性が示された。

標品の GAs を処理した場合、 $GA_3$  処理では 1 ng 処理でも着粒率は高く、 $GA_4$  処理では処理濃度が 5 ng、 $GA_7$  処理では 2 ng 以上で

着粒率が高く維持されることから、GA<sub>3</sub> 処理が最も着果を促進し、次いで GA<sub>7</sub> 処理の順に高くなることが示された。また、果粒の肥大に対しては、GA<sub>4</sub> 処理の効果は低く、GA<sub>3</sub> 処理で最も肥大促進効果が優れた。したがって、‘キャンベル・アーリー’に対する標品の GAs 処理では、一般に使用されている GA<sub>3</sub> のみならず GA<sub>7</sub> でも無核化の誘起に高い効果のあることが明らかとなった。

‘デラウェア’においては、27~28 画分および 30 画分の両処理で 2 ng 処理による着粒率が高いが、それより高い 5 ng 処理では、いずれの画分処理においても着粒率は低かった。この原因は、5 ng では処理濃度が過剰であったか、あるいは精製不足による抑制物質の混入の可能性が考えられた。しかしながら、27~28 画分の 1 ng 処理でも着粒率が高くなったのに対し、30 画分の 1 ng 処理による着果率は低かった。また、果粒の肥大に対しては 30 画分処理で促進効果が低かったのに対し、27~28 画分処理では 2 ng 以上の処理濃度で肥大の促進効果がみられ、‘キャンベル・アーリー’に対する処理結果と同様に、27~28 画分処理が果粒の肥大に対し高い活性を持つことが示された。これらのことから、27~28 画分に含まれる GAs の着粒および果粒肥大に対する効果が高い可能性が示された。

標品の GAs 処理では、GA<sub>3</sub> の 1 ng 処理でも着粒率は高く、処理濃度が高くなるに伴い、着粒率も高くなる傾向がみられた。GA<sub>4</sub> および GA<sub>7</sub> の 1 ng 処理でも着粒したが、両者とも処理濃度の増加に伴う着粒率の向上はみられなかった。果粒の肥大については、GA<sub>7</sub> 処理が最も肥大が促進された。一方、GA<sub>4</sub> 処理では‘キャンベル・アーリー’と同様に、肥大促進効果が劣っていた。これは、第 1 章の GAs の浸漬処理において、GA<sub>4</sub> 処理の肥大促進効果が劣ったことと一致している。したがって、‘デラウェア’に対しては、GA<sub>3</sub> が無核化を誘起するのに高い効果のあることが示され、GA<sub>4</sub> は‘キャンベル・アーリー’および‘デラウェア’の肥大に対して、GA<sub>3</sub> や GA<sub>7</sub> と同様の効果を示さないことが明らかとなった。

以上のことから、‘キャンベル・アーリー’および‘デラウェア’に対する‘キャンベル・アーリー’未熟種子中の内生 GAs 様物質の点滴処理ではいずれの画分でも処理濃度が 2 ng であれば無核化の誘起とその後の果粒肥大に効果があり、特に 27~28 画分に含まれる内生 GAs 様物質が無核化の誘起と果粒の肥大に効果が高かった。また、第 1 章において明らかにした様に、27~28 画分の主要 GAs は GA<sub>4</sub> と GA<sub>7</sub> であるこのことから、‘キャンベル・アーリー’および‘デラウェア’の無核化の誘起や果粒肥大に関係する GAs は GA<sub>7</sub> であると考えられた。

本節における標品 GAs 処理による‘キャンベル・アーリー’の着果率は、前節における結果とは異なり、非常に高い着粒率が得られた。しかし、肥大効果はほぼ同様の傾向を示していることから、この違いは除雄および処理時の果粒に対する機械的傷害の程度が異なったことによる可能性が考えられた。

Dennis (1966、1967) は、リンゴ果実からの抽出物中には、GA<sub>4</sub> および GA<sub>7</sub> が含まれることをみとめた。これらの GAs 様物質のレタス胚軸による生物検定では GA<sub>3</sub> と同様の活性を有するにもかかわらず、無受粉の子房に対する無核化の誘起では GA<sub>3</sub> よりも効果の高いことを明らかにした。

本実験では、矮性イネ‘短銀坊主’を用いた生物検定の結果に基づいて‘キャンベル・アーリー’および‘甲州’未熟種子中の GAs 様物質を 2 ng・GA<sub>3</sub> eq. の濃度で、除雄したブドウ子房に対して処理した結果、いくつかの画分で GA<sub>3</sub> 処理以上の着粒率および果粒肥大を示す画分が認められた。

‘キャンベル・アーリー’の内生 GAs 様物質を‘キャンベル・アーリー’に処理した場合、Ⅲ画分群処理で最も着粒率が高くなり、果粒の肥大も促進されることから‘キャンベル・アーリー’のⅢ画分群中に存在する GAs 様物質が無核化の誘起および果粒の肥大に関与していると考えられた。さらに、標品の GAs 処理において GA<sub>4</sub> 処理で着粒率が 90 %、GA<sub>7</sub> 処理で 100 % と高くなり、果粒

の肥大においても GA<sub>7</sub> の処理が最も効果の高いことが認められた。これらの結果から、‘キャンベル・アーリー’では内生 GA<sub>4</sub> および GA<sub>7</sub> が無核化の誘起に関連し、果粒の肥大には GA<sub>7</sub> が関連している可能性が高いと思われた。

‘キャンベル・アーリー’のⅢ画分群を‘甲州’に処理した場合、60 %の着粒率が得られたが、標品 GAs では、着粒率は低く、GA<sub>7</sub> 処理で 20 %程度であった。このことから、‘甲州’は、GA<sub>4</sub> あるいは GA<sub>7</sub> では無核化は誘起されにくく、‘キャンベル・アーリー’のⅢ画分群中に存在する、GA<sub>4</sub> や GA<sub>7</sub> 以外の GAs により無核化が誘起された可能性が考えられた。

また、‘甲州’のⅢ画分群の処理による着粒率は、‘キャンベル・アーリー’では 40 %程度と低く、‘甲州’ではすべて落果したことから、‘甲州’のⅢ画分群には GA<sub>4</sub> および GA<sub>7</sub> が存在せず、その他の GAs により‘キャンベル・アーリー’の無核化が誘起されたと考えられ、それらの GAs は‘甲州’の無核化誘起には関係しないと考えられた。

‘キャンベル・アーリー’のⅡ画分群処理では、‘キャンベル・アーリー’および‘甲州’ともに着粒率が低いことから、この画分群中の GAs は、両品種の無核化誘起に関連性が低いことが明らかとなった。

また、‘甲州’のⅡ画分群処理では、‘キャンベル・アーリー’の着粒率が 100 %であったのに対し、‘甲州’では全く着果しなかったことから、‘甲州’のⅡ画分群中には‘キャンベル・アーリー’の無核化を誘起する GAs が存在し、両品種のⅡ画分群中の GAs は異なっている可能性が示された。

‘キャンベル・アーリー’のⅠ画分群処理では、‘キャンベル・アーリー’の着粒に対してのみならず、‘甲州’においても 35 %の着粒率が得られた。また、‘甲州’のⅠ画分群処理では、‘キャンベル・アーリー’で着粒率が 100 %となり、‘甲州’では 40 %であった。このように内生 GAs 処理により両品種におい

て得られた着粒率は標品の GA<sub>3</sub>、GA<sub>4</sub> および GA<sub>7</sub> を処理した場合よりも高かった。このことから、‘甲州’の I 画分群中には両品種に対し、無核化を誘起させる GAs が存在し、‘甲州’は‘キャンベル・アーリー’よりも I 画分群中に含まれる GAs によって無核化を誘起され易いと考えられた。また、‘キャンベル・アーリー’では、着粒率が 100 % と高い処理画分がみられるなど、他の品種よりも全体的に着粒率が高かったが、これらの高い着果率は‘キャンベル・アーリー’自身が遺伝的に無核化し易い性質を持つことによると考えられた。

以上のことから、‘キャンベル・アーリー’と‘甲州’では、主要な内生 GAs が異なっている可能性があり、‘キャンベル・アーリー’では、‘キャンベル・アーリー’の未熟種子から得られた III 画分群中の GAs、特に GA<sub>7</sub> が無核化を誘起する GAs であると考えられ、‘甲州’の無核化の誘起には、‘キャンベル・アーリー’の III 画分群中に存在する GA<sub>4</sub>、GA<sub>7</sub> とは異なる GAs、あるいは‘甲州’の I 画分群中の GAs が関連していると考えられた。

また、‘キャンベル・アーリー’の果粒肥大に対する効果は、‘キャンベル・アーリー’の III 画分群処理が最も著しく、‘甲州’から得られた III 画分群処理においても同様に促進効果がみられた、さらに標品の GAs 処理では、GA<sub>4</sub> よりも GA<sub>7</sub> に促進効果がみられたことから、GA<sub>7</sub> が果粒の肥大にも高い促進効果のある GAs であると言える。

‘甲州’に対しては、‘キャンベル・アーリー’の I 画分群処理による肥大効果がみられたことから、‘甲州’では果粒の肥大に対し I 画分群中の GAs が関係していると考えられた。‘甲州’の I 画分群処理の肥大促進効果は‘キャンベル・アーリー’の I 画分群処理と同程度ではあったが、他の画分群処理の着粒数が非常に少なく、画分群処理間での比較ができなかった。この点は、今後確認する必要があると考えられる。また、今回の実験結果から、‘キャンベル・アーリー’および‘甲州’の内生 GAs について、GC-MS

などにより同定を行い、品種間および画分群間の内生 GAs の違いを明らかにする必要があると考えられた。

また、本実験では矮性イネ‘短銀坊主’を用いた生物検定で GAs 様物質の活性が得られた画分を処理に用い、内生 GAs 様物質の無核化の誘起に及ぼす効果を調査したが、Santes ら(1995)は、エンドウ子房からの抽出物を HPLC で分取後に、全ての画分を除雄したエンドウに処理した結果、矮性イネ‘短銀坊主’での生物検定で GAs 様活性がみられなかった画分でも着果を誘起したことを報告した。今後は、本実験で着目した以外の画分についても無核化誘起効果を調査する必要があると思われる。

## 第 5 章 まとめ

本実験において、GA<sub>3</sub>処理により極めて無核化し易い品種‘デラウェア’、比較的無核化し易い品種‘キャンベル・アーリー’および極めて困難な品種‘甲州’を材料とし、GA<sub>3</sub>処理により無核化できない理由を内生 GAs との関連において調査し、以下のような結論を得た。

- (1)従来から、‘デラウェア’や‘マスカット・ベリーA’などの無核化の際に、慣行的に使用されている GA<sub>3</sub> は、開花約 2 週間前処理により花粉と胚珠の発育・形成過程において障害を与える。特に、開花時には花粉の発芽率を著しく低下させる。この低下率は、GA<sub>3</sub>による無核化の難易度に関連し、‘デラウェア’ > ‘キャンベル・アーリー’ > ‘甲州’の順であった。特に、‘甲州’の場合の花粉発芽抑制率は、他の品種で 95 %以上であったのに対し、約 50 %程度に過ぎなかった。このことは、GA<sub>3</sub>は‘甲州’の花粉形成に異常を与えないことを示している。また、通常使用されている 100 ppm GA<sub>3</sub>を 200~300 ppm GA<sub>3</sub>に高くしても花粉発芽抑制効果は同じであった。
- (2)‘デラウェア’、‘キャンベル・アーリー’および‘甲州’の未熟種子中の GAs 活性変化を比較調査した結果、HPLC 画分後、GAs 活性が認められた画分群 (I、II および III) は 3 品種ともに同じであった。しかし、開花直後における各画分群の活性の強さは品種によって異なっていた。すなわち、‘キャンベル・アーリー’では画分群 III、‘デラウェア’では画分群 I および II、‘甲州’では画分群 I の活性が強かった。さらに、総 GAs 含量を 3 品種間で比較すると‘キャンベル・アーリー’ > ‘デラウェア’ > ‘甲州’の順となり、‘甲州’では全般的にかなり GAs 活性が低かつ

た。なお、‘キャンベル・アーリー’で最も活性が強かった画分ⅢのGAsをGC-MSで同定した結果、GA<sub>4</sub>、3-*epi*-GA<sub>4</sub>、GA<sub>7</sub>およびGA<sub>34</sub>が存在していることが判明した。生物活性の強さから判断すると‘キャンベル・アーリー’ではGA<sub>4</sub>あるいはGA<sub>7</sub>が主要GAsであると言える。いずれにしてもこれらの結果は、3品種間で主要GAsが異なっている可能性が示された。

(3) ‘キャンベル・アーリー’および‘甲州’の未熟種子中から得られたGAs活性のある画分群Ⅰ、ⅡおよびⅢを両品種の開花期に除雄した子房に処理した結果、‘キャンベル・アーリー’に対して同品種から得られた画分群Ⅰ、ⅡおよびⅢの無核化効果は、Ⅲ>Ⅱ>Ⅰの順であり、‘甲州’からの画分群ではⅠ=Ⅱ>Ⅲの順であった。一方、‘甲州’に対して同品種から得られた画分群Ⅰ、ⅡおよびⅢの無核化効果は、Ⅰ>Ⅱ>Ⅲの順であり、‘キャンベル・アーリー’からの画分群ではⅢ>Ⅰ>Ⅱの順であった。この結果は、無核化に有効なGAsが品種によってかなり異なっている可能性がうかがわれた。

(4) 標品GA<sub>3</sub>、GA<sub>4</sub>およびGA<sub>7</sub>を‘デラウェア’、‘キャンベル・アーリー’および‘甲州’の開花期に除雄した子房に処理し、無核化を試みた。‘デラウェア’では、100 ppmの各GAsで94%以上の無核化率を示したが、GA<sub>4</sub>処理では収穫期の果粒重が著しく劣っていた。‘キャンベル・アーリー’では、100 ppm GA<sub>3</sub>およびGA<sub>4</sub>の無核化率は66~71%、100 ppm GA<sub>7</sub>では96%であった。ただし、果粒重にはGAsの違いによる差はみられなかった。‘甲州’では、100 ppmの各GAsで13~28%で他の2品種に比較して著しく低かった。このGAsの中ではGA<sub>3</sub>が高い値を示したが、300 ppmまで濃度を高めても無核化率の改善は認められなかった。この結果は、この3品種間で無核化を誘

起する GAs と着粒後の肥大に関連する GAs が異なっていることを示している。

(5)以上の結果を踏まえて、ブドウのすべての品種を GAs により無核化するためには、花粉の形成過程で異常を引き起こす GAs と着粒後の果粒の肥大に関連する GAs を区別し、無核化が困難な品種において最も有効な GAs を明らかにする必要がある。また、品種によって主要 GAs あるいは無核化に関連する GAs が異なっているので、‘デラウェア’ と ‘甲州’ における画分群 I、II および III 中に含まれている GAs を同定することが重要である。さらに、これらの画分群の中の GAs あるいは画分群外の物質（GAs 活性のない画分）で花粉形成を阻害するものがあるかどうかについて調査が必要である。なお、これらについては、現在実験を継続中であり、結果が得られたならば関連主要論文に発表する予定である。

## 引用文献

- Bukovac, M. J., E. Yuda, N. Murofushi and N. Takahashi. 1979. Endogenous plant growth substances in developing fruit of *Prunus cerasus* L.. *Plant Physiology*, 63:129-132.
- Bukovac, M. J. and E. Yuda. 1991. In *Gibberellins* : 350. Springer-Verlag, Berlin. New York.
- Coombe, B. G. and M. E. Tate. 1970. A polar gibberellin from apricot seed. *Plant growth substances*. Carr, D. J. :158-165, Berlin Spring-Verlag.
- Dennis, F. G., Jr. and J. P. Nitsch. 1966. Identification of gibberellin A4 and A7 immature apple seeds. *Nature*, 211:781-782.
- Dennis, F. G., Jr. 1967. Apple fruit set : Evidence for a specific role of seeds. *Science*, 156:71-73.
- Gil, G. F., G. C. Martin and W. H. Griggs. 1992. Fruit set and development in the pear : extratable endogenous hormones in parthenocarpic and seeded fruits. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 34:142-153.
- 井上四郎. 1961. ジベレリンの諸影響とその品種間差異. 園芸学会 36 年度秋季大会シンポジウム講演要旨 : 3-5.

- 板倉 勉、小崎 格、町田 裕. 1965. ブドウに対するジベレリンの作用とその利用法に関する試験. 園試報. A4: 67-96.
- Iwahori, S., R. J. Weaver and R. M. Pool. 1968. Gibberellin-like activity in berries of seeded and seedless Tokay grapes. *Plant Physiol.* 43:333-337.
- 岸 光夫. 1973. ブドウにおけるジベレリン利用に関する試験. 京都大学学位論文.
- Kiyokawa, I. and S. Nakagawa. 1972. Parthenocarpic fruit growth and development of the peach as influenced by gibberellin application. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 41:133-143.
- 小松春樹、中川昌一. 1991. ブドウ‘巨峰’の結実と小花中の内生植物ホルモン. 園学雑. 60:309-317.
- Motomura, Y. and Y. Hori. 1978. Exogenous gibberellin as responsible for the seedless berry development of grapes. *Tohoku Journal of Agricultural Research.* 29:111-
- 元村佳恵. 1982. ブドウに施与したジベレリンの活性変化と無核形成効果. 17:53-59.
- 元村佳恵. 1994. ブドウの個々の果粒の着果と肥大に及ぼす光合成産物の取り込みとジベレリンの影響. 弘大農報. 58:34-45.

村西三郎. 1968. ブドウの結実に対するジベレリン処理の効果. 九大農雑. 23:225-289.

永田賢嗣、栗原昭夫. 1982. ブドウにおけるジベレリン反応の品種間差異について. 果試報. E4:7-19.

中川昌一監修、堀内昭作、松井弘之編集. 1996. 日本ブドウ学:200-201. 養賢堂.

Nakayama, M., T. Yokota, R. Sohma, L. N. Mander, B. Twitchin, H. Komatsu, H. Matsui and M. J. Bukovac. 1996. Gibberellin immature seed of *Prunus cerasus*: structure determination and synthesis of gibberellin, GA<sub>95</sub> (1,2-didehydro-GA<sub>20</sub>). Phytochem.. 42:931-920.

Nishijima, T. and N. Katsura. 1989. A modified micro-drop bioassay using dwarf rice for detected of femtomol quantities of gibberellin. Plant Cell Physiol.. 30:623-627.

Olmo, H. P. 1942. Strage of grape pollen. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.. 41:219-224.

王 近衛、堀内昭作、松井弘之. 1993a. ブドウ無核品種の無核化形成に関する組織形態学的研究. 園学雑. 62:1-8.

王 近衛、堀内昭作、尾形凡生、松井弘之. 1993b. ブドウ無核品種の無核化形成内生植物ホルモンとの関連. 園

学雑. 62:9-14.

Paksasorn, A., 1995. Studies on bloom delay, induction of parthenocarpic fruit growth and control of fruit ripening in Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. Et Zucc.). Ph.D. thesis Chiba University.

Santes, M. S., P. Hedden, P. Gaskin and J. L. G. Martines. 1995. Gibberellin and related compounds in young fruits of pea and their relationship to fruit-set. *Phytochem.* 40:1347-1355.

Weaver, R. J. and S. B. McCune. 1958. Gibberellin test on grapes. *Calif. Agri.*

Weaver, R. J. and S. B. McCune. 1959a. Response of certain varieties of *Vitis vinifera* to gibberellin. *Ibid.* 28:297-350.

Weaver, R. J. and S. B. McCune. 1959b. Effect of gibberellin on seeded *Vitis vinifera* and its translocation with the vine. *Ibid.* 28:625-645.

Weaver, R. J. and S. B. McCune. 1959c. Effect of gibberellin on seedless *Vitis vinifera*. *Ibid.* 29:247-275.

Weaver, R. J. and S. B. McCune. 1960. Further studies with gibberellin on *Vitis vinifera*. *Ibid.* 29:247-275.

Yamaguchi, I., T. Yokota, N. Murofushi, Y. Ogawa and N. Takahashi. 1970. Isolation and structure of a new gibberellin from immature seeds of *Prunus persica*. *Agricultural Biological Chemistry*, 34:1439-1441.

横沢弥五郎、保井昭男. 1961. ブドウ・キャンベルアーリーに対するジベレリン処理試験. 第4回ジベレリン研究発表会抄録 : 68.

Yuda, E., H. Matsui and S. Nakagawa. 1986. Fruit set, growth and development of some tree crops as affected by the use of plant growth regulators. *Japan-Taiwan, Plant Physiol. Semi.* :73-92.

湯田英二、金納圭吾、堀内昭作、松井弘之. 1988. モモ‘高陽白桃’の植調剤による単為結果と内生ジベレリン. *園学発要*. 昭63秋 : 124-125.