

ブドウ‘デラウェア’果粒の糖蓄積に及ぼす オーキシン, アブシジン酸の影響

松井弘之・奥村外与彦・金子真美子
小原 均・平田尚美
(果樹園芸学研究室)

Effect of Exogenous Auxin and Abscisic Acid on Sugar Accumulation in ‘Delaware’ Grape Berries

Hiroyuki MATSUI, Toyohiko OKUMURA, Mamiko KANEKO
Hitoshi OHARA and Naomi HIRATA
(Laboratory of Pomology)

ABSTRACT

Exogenous auxin and abscisic acid were applied to the clusters of GA₃-induced seedless ‘Delaware’ grapes at the end of Stage I. The concentration of reducing sugar and anthocyanin in the berries after each application was analysed at weekly intervals during the current season.

The application of IBA (500 ppm), IPA (500 ppm), NAA (100 ppm) and 2, 4-D (100 ppm) delayed sugar and anthocyanin accumulations in the berries. In particular, 2, 4-D was most effective in delaying their accumulation. It was also found that the effect of the delay in their accumulation increased with the increase in the concentration of 2, 4-D. In contrast, ABA (1000 ppm) application promoted their accumulation. The effects of ABA and 2, 4-D applications were reversed by additional 2, 4-D and ABA applications, respectively.

The application of IAN (100 ppm), in spite of the delay in sugar accumulation, promoted anthocyanin accumulation. However, the application of IAA (500 ppm) did not delay or promote their accumulation.

The results obtained suggest that the auxin and ABA levels may be related to sugar and anthocyanin accumulation in grape berries.

緒 言

ブドウの果粒肥大は典型的な 2 重 S 字型生長曲線を示し、生長第 3 期に入ると果肉の軟化、有機酸の減少、還元糖の増加及び着色が始まり、成熟過程が急速に進行する。特に、ブドウの果粒は、他の多くの果樹の果実成熟と異なり、この時期にグルコースとフルクトースを急激に蓄積するのが特徴である。この還元糖の蓄積には、葉からの光合成産物の転流が最も重要であるが、果粒自体での光合成及び果粒内の有機酸や多糖類の還元糖化も関与していることが報告 [14, 15, 16] されている。ブドウの成熟期の還元糖蓄積過程は外的及び内的要因によって著しい影響を受けることが知られている。外的要因としては環境条件、土地条件、栽培条件などがあり、既に多くの報告 [4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 17] がある。

しかし、内生植物ホルモンや糖蓄積に関与する酵素などの生理活性物質を含む果粒の内的要因についての報告 [1, 3, 13] は少なく、なお不明な点が多い。

本実験では、ブドウ果粒の成熟期における還元糖の蓄積機構を植物ホルモンとの関連において明らかにするため、ブドウ‘デラウェア’の果房に各種オーキシン及びアブシジン酸を外生的に処理し、その後の還元糖の蓄積に及ぼす影響が調査された。

材料及び方法

本実験には千葉大学園芸学部附属農場栽植の 16 年生ブドウ‘デラウェア’を 2 樹供試した。供試樹のすべての花(果)房は満開約 2 週間前と満開約 10 日後に 100 ppm のジベレリン A₃ (Atrox BI 500 ppm 含む) で浸漬処理し、単為結実させた。満開 3 週間後に結果枝当たり 1 果

房にし、さらに1果房当たり約50粒に調整した。なお、その他の栽培条件は慣行法に従った。

1. オーキシシン及びアブシジン酸処理

用いた各種オーキシシン及びアブシジン酸の種類と濃度は第1表に示した。これらの処理薬剤はいずれも50%エタノールに溶解し、展着剤としてAtrox BI (500 ppm)を加用した。まず、オーキシシン及びアブシジン酸処理が還元糖の蓄積に及ぼす影響を明かにするため、果粒の生長第1期後期(満開後36日目)に、2,4-Dのみは処理時期の影響を確かめるため、果粒の生長第1期中期(満開後24日目)から第3期初期(満開後50日目)まで約1週間間隔で計5回、それぞれ10果房ずつ浸漬処理した。さらに、ABAと2,4-Dの相互作用を知るため、果粒の生長第1期後期(満開後31日目)に両ホルモンを処理し、その後ABA処理区では満開後38日目と44日目に2,4-Dを、2,4-D処理区では満開後44日目と72日目にABAをそれぞれ追処理した。処理後は約1週間間隔で各処理区より30~40果粒を採取し、直ちに-20°Cの冷凍庫に凍結貯蔵した。

2. 還元糖及びアントシアニンの定量

還元糖の定量は、各処理区の凍結果粒10~20粒を磨砕後、80%メタノール約100mlを加え、5°Cで24時間抽出した。抽出後は常法により陽イオン及び陰イオン交換樹脂で糖、有機酸及びアミノ酸分画に分別し、さらに糖分画をSEP-PAK C₁₈で精製後、高速液体クロマトグラフィーでグルコースとフルクトースを定量した。

アントシアニン含量は、各処理区の凍結果粒10粒から1粒当たり果皮2片を直径6.7mmのコルクボーラで打ち抜き、計20枚の果皮を1%塩酸メタノール溶液30ml中に浸漬し、5°Cで24時間抽出した後、分光光度計(O.D. 530nm)で測定した。なお、吸光度の実測値をアントシアニン含量として示した。

Table 1. Auxin and abscisic acid used in this experiment.

| Treatment | Concentration(ppm) |
|--|--------------------|
| Indoleacetic acid (IAA) | 500 |
| Indolebutyric acid (IBA) | 500 |
| Indolepropionic acid (IPA) | 500 |
| Indoleacetonitrile (IAN) | 500 |
| Naphthaleneacetic acid (NAA) | 100 |
| 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) | 100 |
| Abscisic acid (ABA) | 1000 |

3. 植物生長調節物質の定量

インドール酢酸及びアブシジン酸の定量は、各処理区の凍結果粒10gを80%メタノールで抽出後、鈴木ら(1988)の方法に準じて分配、濃縮、精製を行ない、高速液体クロマトグラフィーで行なった。

実験結果

果粒の生長第1期後期に当たる満開後36日目に各種オーキシシンあるいはアブシジン酸を処理した後、果粒中の還元糖含量及び果皮中のアントシアニン含量の経時的变化を示したのが第1図及び第2図である。処理1週間

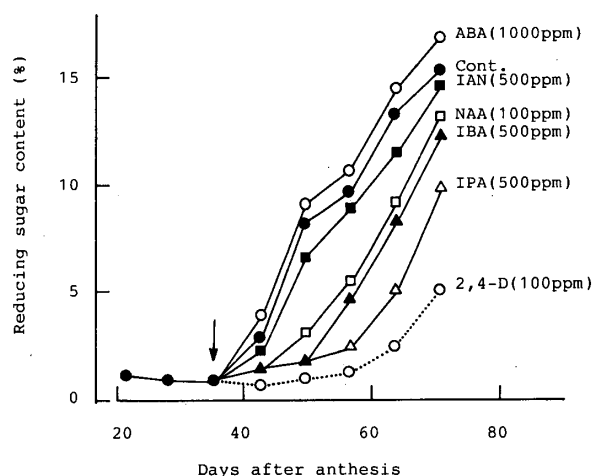


Fig. 1. Changes in the concentration of reducing sugar in auxin and ABA treated seedless berries. Arrow indicates the time of auxin and ABA applications.

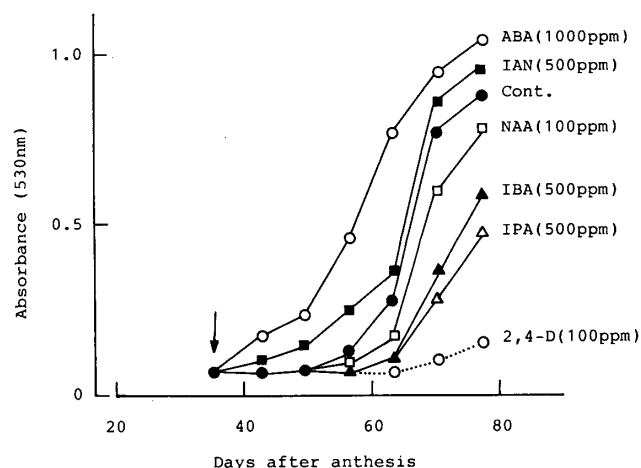


Fig. 2. Changes in the concentration of anthocyanin in auxin and ABA treated seedless berries. Arrow indicates the time of auxin and ABA applications.

後，処理区によっては還元糖含量に差が認められた。すなわち，対照区ではこの間に1.0%から2.9%に増加したのに対して，ABA処理区では，4.0%と対照区より還元糖含量が高くなった。ところがオーキシン処理区では，IAA処理区を除いていずれも対照区より還元糖含量の増加割合が鈍く，2,4-D処理区ではほとんど還元糖含量の増加が認められなかった。その後もABA処理区の還元糖含量は，常に対照区よりも高く推移したが，オーキシン処理区では還元糖の蓄積が遅れ，還元糖の蓄積が始まったのはNAA処理区で処理2週間後，IPA処理区では処理3週間後，2,4-D処理区で処理4週間後であった。その結果，対照区の収穫期に当たる満開後71日目の還元糖含量は，対照区の15.5%に対してABA処理区では17.0%と約1.5%高くなり，IAA処理区を除く他のオーキシン処理区では，いずれも対照区より還元糖含量は低く，IAN, NAA, IBA, IPA, 2,4-D処理区でそれぞれ14.7, 13.2, 12.4, 9.8, 5.2%となり，特に2,4-D処理区で著しく抑制された。

果皮中のアントシアニン含量の増加は，ABAとIAN処理区を除いていずれの処理区も還元糖含量の増加開始期より遅く，対照区では満開後56日目から，還元糖の蓄積が遅れたNAA, IBAとIPA処理区では満開後63日目，71日目から増加が始まった。その後のアントシアニンの増加パターンは還元糖の蓄積パターンに類似し，収穫期の含量は還元糖含量の高い順に高くなった。ただし，ABA処理区と中性オーキシンであるIAN処理区では，処理後1週間目に対照区より高くなり，その後も常に対照区より高い値を保った。その結果，収穫期のアントシアニン含量はABA処理区で最も高くなり，またIAN処理区では，収穫期の還元糖含量が対照区より低かったにもかかわらず，アントシアニン含量は逆に高くなった。

次に，還元糖の蓄積を最も抑制した2,4-Dについて，処理時期との関係を明らかにするため，果粒の生長第1期中期から第3期初期まで約1週間間隔で2,4-Dを処理し，その後の還元糖の蓄積に及ぼす影響を示したのが第3図である。果粒の生長第1期中期に当たる満開後24日目の最も早い時期の処理では，対照区に比較して還元糖の蓄積開始が1週間程度遅れるが，第3期中期頃から急速に回復し，対照区の収穫期にほぼ同含量となった。また，満開後31日目処理では還元糖の蓄積開始期が対照区より3週間遅れたが，満開後79日目の還元糖含量は約16%に達した。第1期後期処理では還元糖の蓄積を最も遅らせ，対照区の収穫期頃からやっと蓄積が始まり，満開後86日目（対照区の収穫期後14日目）の還元糖含量はわずか10.8%であった。既に還元糖の蓄積が始まった第3期初期及び中期の処理では，処理後両区とも還元糖

の蓄積が抑制され，対照区の収穫期の還元糖含量はそれぞれ10.5, 11.7%で，さらに14日後でもそれぞれ11.5, 14.5%までしか蓄積されなかった。

ABAが還元糖の蓄積を促進し，2,4-Dが逆に還元糖の蓄積を抑制することから両者の関係をさらに詳細に調べるため，両者が最も効果を示す果粒の生長第1期後期（満開後31日目）にそれぞれ別々に果房処理した。その後ABA処理区では2,4-Dを，2,4-D処理区ではABAを追処理し，処理後の還元糖の蓄積変化を見たのが第4図，第5図である。ABA処理1週間後の2,4-D追処理は，その後の還元糖の蓄積を著しく抑制し，2,4-D処理後約30日間，全く還元糖の蓄積が認められなかった。しかし，その後は糖の蓄積を急速に開始し，満開後86日目には13.4%に達した。また，ABA処理2週間後の2,4-D追処理では，1週間後の追処理程ではないが，やはり還元糖の蓄積を抑制し，対照区の収穫期では13.8%，満開86日目では15.2%であった。一方，2,4-D処理後のABAの追処理は，第3期の初期でも中期でも，それまで抑制していた還元糖の蓄積を解除し，急激な還元糖の蓄積を開始し，2,4-D単独処理では満開後86日目に10.7%であったが，第3期初期にABAを追処理すると15.7%に，第3期中期処理でも13.0%まで回復した。

第6図は満開後24日，31日及び38日目に2,4-Dを処理し，その後の果肉中のABA含量の変化を示したものである。対照区では還元糖の蓄積開始と同時にABA含量が増加し，満開後50日目にピークに達した。その後は次第に減少し，収穫期の含量は約0.1 $\mu\text{g/g}$ fwとなった。還元糖の蓄積にほとんど影響を与えなかった満開後24日目の2,4-D処理区では，対照区と同時期にピークとな

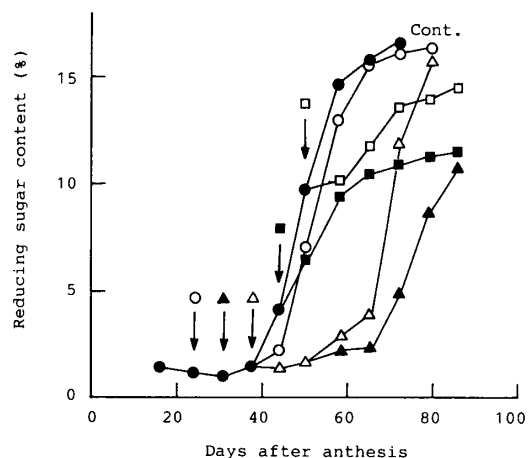


Fig. 3. Changes in the concentration of reducing sugar in 2,4-D treated seedless berries at various stage. Arrows indicate the time of 2,4-D application.

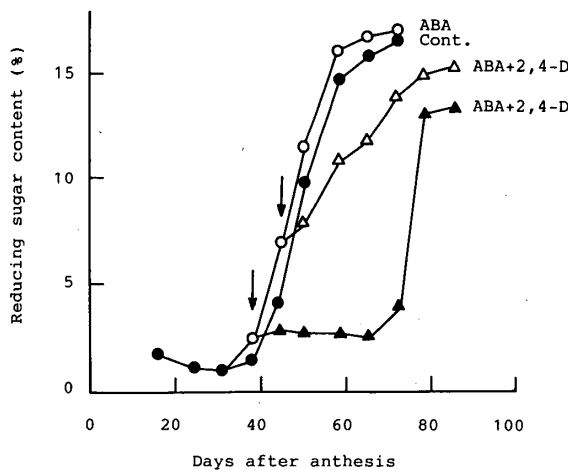


Fig. 4. Changes in the concentration of reducing sugar in 2,4-D treated seedless berries after ABA treatment. ABA was applied 31 days after anthesis. Arrows indicate the time of 2,4-D application.

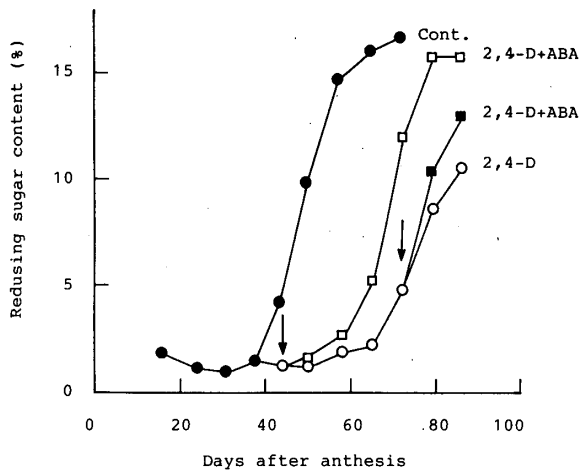


Fig. 5. Changes in the concentration of reducing sugar in ABA treated seedless berries after 2,4-D treatment. 2,4-D was applied 31 days after anthesis. Arrows indicate the time of ABA application.

ったが、その含量は著しく高く、対照区の約2倍であった。その後は対照区と同様に減少し、満開後79日目には約0.25 $\mu\text{g/g}$ fwとなった。しかし、還元糖の蓄積に著しい影響を与えた満開後31日目、39日目の2,4-D処理では、果肉中のABA含量の増加時期が遅れ、それらのピークは満開後72日目と79日目に認められ、ABA含量はやはり対照区より高かった。その後両者ともに減少するが満開後86日目の含量は、前者が約0.13 $\mu\text{g/g}$ fw、後者が0.27 $\mu\text{g/g}$ fwであった。なお、対照区における果肉中

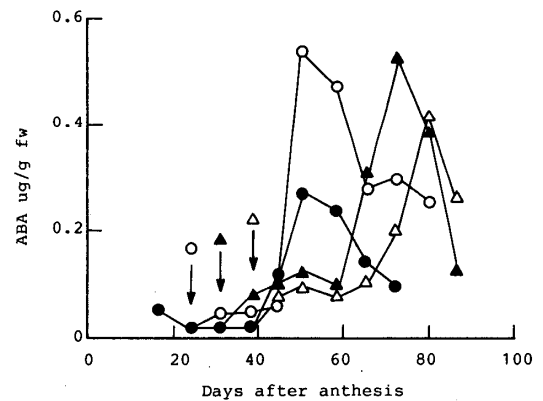


Fig. 6. Changes in the concentration of ABA in 2,4-D treated seedless berries. Arrows indicate the time of 2,4-D application.

のIAA含量は、還元糖の蓄積期には既に低下しており、約1.3 ng/g fw程度でほとんど変化が見られず、2,4-D処理区においても同傾向であった。

考 察

ブドウ果粒の生長に伴う内生生長調節物質の変化については、Coombeら[1]、Inabaら[3]、著者[13]らにより報告されている。すなわち、果粒の生長第1期にはIAA、ジベレリン様物質、サイトカイニン様物質及びABAの活性が高くなり、第2期になるとこれらの活性は低下するが、第3期に入るとアブシジン酸の活性のみが急速に高くなる。このことから、成熟期にエチレンの発生を伴わないブドウでは、ABAが成熟を制御しているのかもしれないと述べている。事実、外生的にABAをブドウ‘デラウェア’果粒の生長第2期頃に果房処理すると還元糖の蓄積開始期が早められ、2,4-Dを同時期に処理すると逆に還元糖の蓄積開始時期が遅れることをInabaら[2]、著者ら[15]が報告している。本実験においても同様の結果を得るとともに、2,4-D以外のオーキシン、例えばIAN, NAA, IBA及びIPA処理においても効果に差異が見られるものの2,4-D処理と同様に還元糖の蓄積開始期を遅らせることが明らかとなった。ただし、多くの植物体から抽出・同定されているIAAはまったく効果を示さなかった。この原因は、IAAが酸化され易いこと、及び光によって容易に分解されるにもかかわらず、処理後光を遮断しなかったこと、あるいは500 ppmの濃度では低すぎたのかもしれない。

還元糖の蓄積開始期を最も遅らせた2,4-Dの効果は、果粒のステージに関係し、いつ処理しても常に還元糖の蓄積開始期を遅らせるのではなく、果粒の生長第1期中期

では効果が少なく、第1期後期頃の処理が最も長期間遅らせた。さらに、注目すべきことは、第3期になり盛んに還元糖を蓄積している時でも、2,4-Dを処理するとその後の還元糖の蓄積が抑制されることが明らかとなった。このことは果粒自体が生理的にあるステージに達しなければオーキシシンの効果が現われないことを示している。前述のようにブドウ‘デラウェア’果粒中のオーキシシン活性は、第1期中期にピークとなりその後急速に低下するが、この時期はオーキシシン酸化酵素の活性が高く、この様な時に外生的にオーキシシンを与えても、果粒中に浸透したオーキシシンは、直ちに分解され効果を示さないのかもしれない。実際に2,4-Dの処理濃度を低下させると抑制期間が短くなり、100 ppmの高濃度でも処理後20日程度経過すると効果がなくなってくることから、還元糖の蓄積開始期はどの程度果粒中のオーキシシンが減少したかによって決定されると考えられる。なお、この点については2,4-D処理後、効果がなくなると考えられる時期に2,4-Dを再処理し、さらに抑制効果が維持できるかを調査することによって明らかにできるであろう。また、今回の実験では2,4-Dを除き一定濃度で処理したため、オーキシシンの種類により効果にばらつきを生じたが、この点についてはさらに検討する必要がある。

一般に、果皮中のアントシアニンは、果実中の糖含量があるレベルに達した時に増加し始めることが知られている。ブドウにおいても同様であるが、ABAを処理すると還元糖の蓄積開始と同時にアントシアニンが増加し、対照区を含む他の処理区では、ある程度還元糖が蓄積された後に増加した。ただし、IANは還元糖の蓄積を若干遅らせるにもかかわらず、処理1週間後からABA処理と同様にアントシアニンの増加が認められた。著者ら[13]は‘デラウェア’の果粒が第3期になるとIANの活性が高くなることを報告した。今日までIANが植物体中でどのような働きをしているかは不明であるが、他のオーキシシンと性質が異なり、中性オーキシシンであるIANはブドウの着色に関連しているのかもしれない。

本実験におけるアントシアニンの測定方法で可視的に着色が開始されたと判断された時の分光光度計の読みは、0.25を越えた時点であって、還元糖含量から見れば約10%に達した時であり、‘デラウェア’の着色開始には還元糖として10%前後必要なことを示している。ただし、この品種の成熟果粒中にはグルコースとフルクトースがほぼ1:1で存在していることが知られているが[14]、どちらの糖がアントシアニンの生合成に必要なのか、いまのところ明らかでない。片岡[5]は‘巨峰’の果皮で調査したところ、ABAがPAL(フェニールアラニン・アンモニアリアーゼ)活性を高めアントシアニン

合成経路を促進すると報告し、また著者ら[15]は‘デラウェア’の果房を暗黒状態に保った場合、還元糖は10%程度蓄積されるがアントシアニンの生合成が起これないことを発見し、この果房にABA処理するとその後還元糖の増加は起これないが、着色が促進されることを報告[15]した。これらの結果からは、アントシアニンの生合成にIANやABAが関与していると考えられるが、これらが還元糖の蓄積を促進するとはいえない。ところが本実験結果ではABA処理すると1週間後には対照区より糖含量が高くなり、その後も常に還元糖含量は対照区より高い値を示した。さらに、2,4-DやABAを前もって処理し、還元糖の蓄積を遅らせたり、あるいは促進させたりしておいて逆にABAや2,4-Dを処理すると、還元糖の蓄積が遅れていたものでは蓄積を開始し、還元糖の蓄積が促進されていたものでは抑制された。また、2,4-D処理された果粒では還元糖の蓄積が開始されるまで内生ABA含量の増加が起これないことは、やはり果粒内のオーキシシンとアブシジン酸のレベルによって還元糖の蓄積時期が調節されていることを示唆している。今後は還元糖蓄積機構を酵素学的立場から明かにする必要があると考えられる。

摘 要

ジベレリンA₃で無核果を誘起したブドウ‘デラウェア’の果房に各種オーキシシンやアブシジン酸を処理し、その後の還元糖の蓄積に及ぼす影響について調査した。IAN(500 ppm)、IBA(500 ppm)、IPA(500 ppm)、NAA(100 ppm)及び2,4-D(100 ppm)処理区では対照区に比べて還元糖の蓄積が抑制された。特に、2,4-D処理区では抑制効果が著しく、対照区の還元糖含量が15.5%に達したのに対して、2,4-D処理区ではわずか5.2%であった。ただし、IAA(500 ppm)処理区では対照区と顕著な差異は認められなかった。しかし、ABA(1000 ppm)処理区では、逆に還元糖の蓄積が促進された。還元糖の蓄積抑制効果の著しい2,4-D処理を、果粒の生長第1期中期からほぼ1週間間隔で行なったところ、早期処理は抑制効果が少ないが、第1期後期以後いずれの時期に処理しても還元糖の蓄積を抑制した。すなわち、還元糖の蓄積開始後でもその後の還元糖の蓄積を抑制した。なお、2,4-Dによる還元糖の蓄積抑制効果は、処理濃度が高いほど顕著であった。ABA処理により還元糖の蓄積を促進した果粒に2,4-Dを処理すると、その後の還元糖の蓄積を抑制し、逆に2,4-D処理により還元糖の蓄積を抑制した果粒にABAを処理すると、その後の還元糖の蓄積を促進した。

以上の結果から、ブドウ‘デラウェア’果粒の還元糖の蓄積は内生のオーキシンとアブシジン酸が関係していると考えられる。

引用文献

- [1] COOMBE, B. G. and C. R. HALE (1973) : The hormone content of ripening grape berries and the effects of growth substance treatment. *Plant. Physiol.*, **51**, 629-634.
- [2] INABA, A., M. ISHIDA and Y. SOBAJIMA (1974) : Regulation of ripening in grapes by hormone treatments. *Sci. Rep. Kyoto Pref. Univ. Agr.*, **26**, 25-31.
- [3] INABA, A., M. ISHIDA and Y. SOBAJIMA (1976) : Changes in endogenous hormone concentrations during berry development in relation to the ripening of Delaware grapes. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.*, **45**(3), 245-252.
- [4] 岩崎一男 (1972) : 土壌通気がブドウの樹体生長ならびに果実発育に及ぼす影響. 愛媛大農紀要, **16**, 1-16.
- [5] 片岡郁雄 (1986) : ブドウ果実の着色に関する研究. 香川大農紀要, **45**, 1-48.
- [6] KLIEWER, W. M., L. A. LIDER and H. B. SCHULTZ (1967) : Influence of artificial shading of vineyards on the concentration of sugar and organic acid in grapes. *Amer. J. Enol. Vitic.*, **18**, 78-86.
- [7] KLIEWER, W. M. and L. A. LIDER (1970a) : Effects of day temperature and light intensity on growth and composition of *Vitis vinifera* L. fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **95**, 766-769.
- [8] KLIEWER, W. M. and A. J. ANTCLIFF (1970b) : Influence of defoliation, leaf darkening and cluster shading on the growth and composition of Saltana grapes. *Amer. J. Enol. Vitic.*, **21**, 26-36.
- [9] KLIEWER, W. M. (1971) : Effect of day temperature and light intensity on concentration of malic and tartaric acid in *Vitis vinifera* L. grapes. *J. Amer. Hort. Sci.*, **96**, 372-377.
- [10] 小林章・行永寿二郎・板野徹 (1965 a) : ブドウの温度条件に関する研究 (第3報) 成熟期の夜温が Delaware の熟期と品質に及ぼす影響. 園学雑, **34**, 26-32.
- [11] 小林章・行永寿二郎・新居直祐 (1965 b) : ブドウの温度条件に関する研究 (第4報) 昼夜温が Delaware ブドウの生長に及ぼす影響. 園学雑, **34**, 77-84.
- [12] 小林章・福島忠昭・新居直祐・原田公平 (1967) : 昼夜温が Delaware の収量, 品質に及ぼす影響. 園学雑, **36**, 373-379.
- [13] 松井弘之 (1975) : ブドウ‘デラウェア’果実の成熟生理に関する研究—特に同化物質の分配と蓄積について—. 大阪府立大学学位論文.
- [14] 松井弘之・湯田英二・中川昌一 (1979) : ブドウ‘デラウェア’果実の成熟生理に関する研究 (第1報) 果粒中の糖蓄積に及ぼす新梢上の葉数及び果粒中の多糖類, 有機酸の変化. 園学雑, **48**(1), 9-18.
- [15] 松井弘之・湯田英二・中川昌一・米森敬三 (1980) : ブドウ‘デラウェア’果実の成熟生理に関する研究 (第2報) 果実に対する光度が糖・有機酸含量に及ぼす影響並びに果実での炭酸ガス固定. 園学雑, **48**(4), 405-412.
- [16] 松井弘之・湯田英二・中川昌一・今井克太 (1985) : ブドウ‘デラウェア’における光合成産物の転流と分配. 園学雑, **54**(2), 184-191.
- [17] 内藤隆次 (1966) : ブドウ果実の着色に関する研究 (第7報) 果皮中の anthocyanin および leucoanthocyanin の消長に及ぼす光度の影響. 園学雑, **35**, 225-232.
- [18] 鈴木富男・塚原一幸・高橋英吉・平田尚美 (1988) : リンゴの後期落果の発生機構その制御に関する研究 (第1報) IAA 分析方法の検討と落果に伴う離脱組織の IAA の変化. 園学発要 (秋), 122-123.