有機溶媒を用いたヤマブドウ花粉の長期貯蔵に関する研究

本間英治^{1*}・遠藤正昭¹・高橋秀典¹・平 智²

¹ 山形大学農学部附属農場 997-0369 鶴岡市大字高坂

² 山形大学農学部 997-8555 鶴岡市若葉町1-23

Long-term Pollen Storage in *Vitis coignetiae* Pulliat with Organic Solvents

Hideharu Honma^{1*}, Masaaki Endou¹, Hidenori Takahashi¹ and Satoshi Taira²

¹ The University Farm, Faculty of Agriculture, Yamagata University, Takasaka, Tsuruoka, Yamagata 997-0369

² Faculty of Agriculture, Yamagata University, Tsuruoka, Yamagata 997-8555

Summary

To stabilize the yield of fruit production in *Vitis coignetiae* Pulliat, which is a dioecious plant that requires pollination for fruiting, we investigated long-term pollen storage using organic solvents. The germination rate which was initially 50.6%, was reduced to zero after 189 days of storage in low temperature (-20°C) and was also reduced to zero after 117 days of storage in acetone. However, the germination rate of pollen remained 22.8% after one year of storage in diethyl ether. Artificial pollination of *Vitis coignetiae* Pulliat using pollen that had been stored for one year in diethyl ether achieved fruiting almost equal to that achieved using fresh pollen. Berry quality did not differ between fruits pollinated by stored pollen and those pollinated by fresh pollen. We conclude that long-term pollen storage over one year with diethyl ether may be a promising for stabilized fruit production in *Vitis coignetiae* Pulliat.

キーワード：人工授粉，花粉，ヤマブドウ，有機溶媒

緒 言

ヤマブドウ (*Vitis coignetiae* Pulliat) は日本国内に広く分布する野生ブドウの一種である。最近では健康食品の一つとして注目され (望岡, 1996), 各地の地域おこし事業の中でワインやジュースの原料として栽培されるようになってきており, 山形県朝日村などの中山間地域では重要な農業収入源になっている (難波, 1995; 田代, 1997)。

ヤマブドウは一般のブドウとは異なり, 雌雄異株であるため, 受粉・受精のよしあしが収量に大きく影響する (望岡, 1999)。そのため, 栽培する場合には雄株を混植したり, 花粉を採取して人工受粉を行って安定生産を目指しているが, その年の気象条件の変動などにより, 雌花と雄花の開花時期が一致しない年もある (田代,

1997)。そこで, 山形県朝日村では花粉を低温条件下に貯蔵して翌年の人工授粉に利用する方法を試みているが, ブドウの花粉は一般的に寿命が短い (清野, 1991) ため, 受粉時における発芽率の低下が問題になっている。

花粉の貯蔵方法には低温貯蔵や有機溶媒貯蔵などがあるが (岩波, 1980), ヤマブドウ花粉の有機溶媒貯蔵に関してはまだ研究例がない。

本研究は, 1年以上の長期間の貯蔵を目指して, ヤマブドウ花粉の有機溶媒貯蔵の方法を検討するとともに, 貯蔵花粉の受精能力ならびに貯蔵花粉の受粉によって結実した果実の品質について調査した結果を取りまとめたものである。

材料および方法

山形大学農学部附属農場 (鶴岡市) で栽培している 26 年生のヤマブドウ (自根) を供試した。花粉は 2001 年 5 月 22 日に雄株より第 1 図に示すような方法で採取したものをを用いた。

試験 1. 花粉の貯蔵方法と発芽率の調査

採取した花粉を 2 種類の有機溶媒, すなわち, ジエチルエーテル (以下エーテルと略す) あるいはアセトンに入れ

2003 年 2 月 4 日 受付。2003 年 5 月 30 日 受理。

本報告の概要は園芸学会東北支部平成 14 年度大会 (鶴岡) で発表した。

本研究の実施には, 日本学術振興会からの科学研究補助金 (奨励研究 (B) 課題番号 13920013) の交付を受けた。

*Corresponding author. E-mail: hhdhonma@jm.kj.yamagata-u.ac.jp

第1図 ヤマブドウ花粉の採取方法および有機溶媒を用いた貯蔵の手順

て貯蔵する区と低温貯蔵区を設けた。エーテル区とアセトン区は、100 mlのサンプル瓶に80 mlの有機溶媒を入れ、そこに直接0.4 gの花粉を入れて密封し、冷蔵庫(約8℃)中に貯蔵した。低温貯蔵区は、100 mlのサンプル瓶にシリカゲルを20 g入れ、薬包紙に包んだ4 gの花粉を入れて密封し、-20℃のフリーザー内に貯蔵した(第1図)。なお、発芽率調査用の花粉のサンプリング時に他の花粉の温度が上昇しないように、各処理区とも上述したサンプルを7瓶ずつ用意し、調査のたびに1瓶ずつ使用した。

発芽率の調査は採取時から約2か月おきに行った。人工培地には蒸留水に20%のショ糖および1%の粉末寒天を加えたものを使用し、20℃で10時間培養した後の発芽率を調査した。発芽率は花粉管が花粉粒の直径より長く伸長しているものを発芽した花粉と見なし、処理区当たり1,000粒以上の花粉について調査して算出した。

試験2. 貯蔵花粉の受粉が結実率に及ぼす影響
エーテル中に約1年貯蔵した貯蔵花粉を人工受粉する区(貯蔵花粉受粉区)、当年に採取した花粉を人工受粉する区(新鮮花粉受粉区)、放任区(自然受粉区)および花粉遮断区を設け、処理区当たり調査樹から無作為に選んだ10花穂を供試した。

貯蔵花粉受粉区、新鮮花粉受粉区、花粉遮断区の花穂は開花直前から紙袋(リング用果樹袋)で被袋し、貯蔵花粉受粉区および新鮮花粉受粉区は2002年5月21日と24日の2回、絵筆を使って花粉を柱頭に直接受粉した。除袋は雄株の花が完全に咲き終わった6月10日に行った。

試験3. 果実品質の比較調査

供試樹の果房が収穫熟度を迎えた10月1日に果実を一斉に収穫し、各処理区ごとに、果房重、果粒重、果粒あ

第2図 貯蔵期間がヤマブドウ花粉の発芽率に及ぼす影響

たりの種子数ならびに果汁の糖度と滴定酸含量を調査した。

果房重と果粒重は、収穫時まで樹上に残っていた全処理果房について調査した。果粒当たりの種子数と果汁の糖度および滴定酸含量については、処理果房の中から果房あたり10果粒ずつを無作為に選んで調査の対象とした。

結果および考察

試験1. 花粉の貯蔵方法と発芽率の調査

採取直後の花粉の発芽率は50.6%であった。低温貯蔵区では貯蔵後61日の調査で19.7%まで低下し、貯蔵後189日には0%になった。一方、アセトン区では貯蔵後61日までに発芽率が2.9%まで急激に低下し、117日には発芽力を失った。これに対して、エーテル区は貯蔵後61日の調査で発芽率は44.2%であり、その後貯蔵後189日時点の21.2%まで発芽率は徐々に低下した。しかし、それ以降は20%前半の発芽率を維持し、貯蔵後363日でも発芽率は22.8%と比較的高い値を維持していた(第2図)。

試験2. 貯蔵花粉の受粉が結実率に及ぼす影響

調査の対象として設定した花穂は1処理区当たり10花穂であったが、成育途中で強風などの影響によりいくつかの果房が脱落したため、収穫時の調査で果房数が少なくなっている場合もある(第1表)。

人工受粉の場合、貯蔵花粉区と当年生の新鮮花粉区との結実率には約10%の差が認められ、新鮮花粉を用いた方が結実率が優った。このような差が生じた主な原因は、使用した花粉の発芽率の違いによるものと推察される。

また、放任受粉区の結実率が人工授粉区のそれらに比較的近い値を示しているのは、調査に供試したほ場は雄株が約全体の40%という混植率のかなり高い園地であったのに加えて、調査を行った年は開花期間中の天候が比較的安定していたために、雌花と雄花の開花時期がほぼ

第1表 花粉の貯蔵方法ならびに受粉方法がヤマブドウ花粉の発芽率と結実率に及ぼす影響

貯蔵ならびに受粉方法	花粉発芽率 (%)	調査花穂数	小花数	結実数	結実率 (%)
貯蔵花粉受粉	22.8	10	1518	696	45.9
新鮮花粉受粉	43.6	9	1483	819	55.2
放任受粉	— ^z	10	1560	620	39.7
無受粉	—	7	909	62	6.8

z データなし

第2表 貯蔵花粉受粉区と新鮮花粉受粉区および放任受粉区の果実品質の比較

受粉方法	果房重 (g)	果粒重 (g)	果粒当たりの種子数	糖度 (%)	滴定酸含量 ^z (ml)
貯蔵花粉受粉	98 a ^y	1.41 a	2.3 a	16.0 a	2.22 a
新鮮花粉受粉	154 b	1.66 b	2.6 b	16.5 a	2.06 a
放任受粉	91 a	1.56 b	2.6 b	15.4 a	2.18 a

z 果汁1mlを中和するのに要した0.1N NaOHの量

y 同じカラム内の異なるアルファベット間にはTukeyの範囲検定 (5%レベル) で有意差があることを示す

一致し、自然条件下でも受粉が良好に行われたものと考えられる (第1表)。

試験3. 果実品質の比較調査

花粉遮断区の花房は不受精のために不結実となったものがほとんどで、結実した果実は無核で、かつ小果であったため調査の対象から除外した。

平均果房重は新鮮花粉受粉区で最も大きく、次いで貯蔵花粉受粉区、放任区の順であった。これは試験2の結実率の高い順序と一致していた。

しかし、平均果粒重と果粒当たりの種子数は貯蔵花粉受粉区よりも放任区の方が上回っていた。果汁の糖度と滴定酸含量の平均値には3処理区間に有意な差が認められなかった (第2表)。

以上の調査結果から、ヤマブドウ花粉の貯蔵には、-20℃前後の低温貯蔵よりジエチルエーテルを用いた有機溶媒貯蔵の方が適していることが明らかであった。ただし、本実験の結果から有機溶媒にアセトンを用いた場合の花粉の発芽率の保持はかんばしくなく、有機溶媒の種類によって発芽率の維持のよしあしに大きな差異があることが示唆された。この原因については、今のところ不明だが、有機溶媒の揮発速度の違いなどによる影響が考えられる。今後他の複数の有機溶媒による貯蔵効果についても検討する必要があると考えられる。

岩波 (1980) は、低温貯蔵や乾燥貯蔵などの従来の花粉貯蔵法は花粉の生命活動を緩慢にして寿命を引き延ばしているのに対し、有機溶媒による貯蔵は植物の種類によっては花粉の生命を半永久的に保存できる可能性があるとして述べている。今回の調査でも低温貯蔵では発芽率が徐々に低下したのに対し、有機溶媒 (エーテル) 貯蔵では貯蔵後 189 日以降発芽率はほとんど低下しなかった。今

後、より適切な花粉の取り扱い方法やよりよい貯蔵条件を検討すればもっと高い発芽率を維持しつつ、より長期間の貯蔵ができる可能性もあると思われる。

一方、ある品種のブドウ花粉は、乾燥状態では 10℃で約 1 年、2℃で約 2 年、-12℃で約 4 年間発芽力が保持されたという報告も認められる (岩波, 1980)。このことから、ブドウ花粉の寿命は種や品種・系統の違いによる差がかなり大きいものと推察される。清野 (1991) もジエチルエーテル中でヤマブドウ花粉の貯蔵を試みているが、貯蔵後 224 日で発芽率は 0% にまで低下した。同氏が貯蔵に用いた花粉の発芽率は採取時点で 22.4% であり、本試験で使用した花粉よりもかなり低い。貯蔵開始時点での発芽率の低さが発芽力を長期に渡って維持できなかった原因かもしれない。従って、ヤマブドウの花粉を長期間貯蔵しようとする場合には、発芽率の高い系統の雄株から適切な方法で採取した花粉をすみやかに有機溶媒 (エーテル) 中に密封し、低温下に保存することが望ましいと思われる。

なお、本実験ではエーテル中に貯蔵した花粉を受粉した果実の肥大が新鮮花粉受粉区や放任区に比べるとやや劣る傾向が認められた。これは主として受粉に用いた花粉の受粉時の発芽率の違いが影響したものと推察される。放任区に比べれば、貯蔵花粉受粉区、新鮮花粉受粉区とも十分な結実率が得られていることから、人工受粉の効果は十分にあるものと判断される。また、貯蔵花粉受粉区は放任区より結実率が高く、かつ果房重も増加しているので、新鮮花粉受粉区には及ばないものの収量は放任区より相当高くなることが予想される。果実の品質には花粉が新鮮かどうかの影響はまったく認められなかったことから、エーテル中で約 1 年間貯蔵した花粉を使用して

翌春人工受粉を行うことによって、ヤマブドウの収量を安定確保することができる可能性が十分あるものと考えられる。

摘 要

雌雄異株で受粉が必要なために、収量が安定しないヤマブドウの安定生産を目指して、花粉を有機溶媒の中に貯蔵して翌年の人工受粉に利用する方法を検討した。

採取時の発芽率が50.6%の花粉を-20℃の低温下と2種類の有機溶媒中に貯蔵した。低温下では貯蔵後189日、アセトン貯蔵区では117日で花粉の発芽力がほぼ失われたが、ジエチルエーテル貯蔵区では貯蔵1年後でも22.8%の発芽率を保持した。

ジエチルエーテル中に貯蔵した花粉と当年に採取した新鮮な花粉をそれぞれ人工受粉し、結実率と果実品質に及ぼす影響を比較した結果、ジエチルエーテル貯蔵区の結実率は新鮮花粉受粉区に比べてやや劣ったが、十分な結実率が得られた。また、収穫時の果実品質には差が認められなかった。

謝 辞 本実験の果実品質調査に当たり、ご協力頂いた山形大学農学部果樹生産学研究室の学生諸氏に深く感謝します。

引 用 文 献

- 岩波洋造. 1980. 花粉学. p. 156-162. 講談社. 東京.
- 望岡亮介. 1996. 野生ブドウの利用. p. 96-97. 堀内昭昨・松井弘之編. 日本ブドウ学. 養賢堂. 東京.
- 望岡亮介. 1999. 栽培の基礎. ヤマブドウ. p. 11-12. 農業技術体系(果樹編). 7. 特産果樹. 農文協. 東京.
- 難波勉治. 1995. ヤマブドウの自然及び栽培条件下における成長・開花・結実特性に関する研究. p. 45-50. 山形大学農学部附属農場報告. 第6号別冊.
- 清野隆浩. 1991. ヤマブドウの結実に及ぼす人工授粉の効果と花粉の貯蔵試験. 山形大学農学部卒業論文.
- 田代重哉. 1997. 山形県におけるヤマブドウ栽培. p. 17-29. 難波勉治・田代重哉・藤根勝栄著. 特産のくだもの. ヤマブドウ. 日本果樹種苗協会. 東京.