数種の日本原産野生ブドウの芽の休眠と内生 ABA および新梢内水分含量との関係

望岡亮介¹・東部光伸¹・堀内昭作¹・尾形凡生¹・塩崎修志¹・河瀬憲次^{1*}
・黒岡 浩¹・松井弘之²

¹ 大阪府立大学農学部 593 大阪府堺市学園町 1-1

² 千葉大学園芸学部 271 千葉県松戸市松戸 648

The Relationship between Bud Dormancy and the Endogenous ABA and Water Contents of
Several Wild Grape Species Native to Japan

Ryosuke Mochioka¹, Mitsunobu Tohbe¹, Shosaku Horiuchi¹, Tsuneo Ogata¹, Shuji Shiozaki¹,
Kenji Kawase¹, Hiroshi Kurooka¹ and Hiroyuki Matsui²

¹College of Agriculture, Osaka Prefecture University, Gakuen-cho, Sakai, Osaka 593

²Faculty of Horticulture, Chiba University, Matsudo, Chiba 271

Summary

The intensity of bud dormancy, water content, and the endogenous levels of ABA-like substances in shoots of several wild grape species native to different regions of Japan were compared with those of *Vitis labruscana* Bailey, cultivar 'Muscat Bailey A', from September to December.

The onset of endodormancy (rest) in *V. coignetiae* Pulliat and *V. amurensis* Rupr., which are wild species of the more northern origin, was earlier than that in other wild species. Furthermore, the water content decreased during a period of bud dormancy, whereas, the levels of ABA-like substances increased sharply in October for these two wild species. In *V. shiragai* Makino and the cultivar 'Muscat Bailey A', the period of the deepest dormancy occurred in November. The water content of their shoots decreased gradually and the levels of ABA-like substances increased as the intensity of bud dormancy deepened. The period of the deepest dormancy of *V. kiusiana* Momiyama and *V. sp.* (tentative name Shiohitashibudo) was not well-defined, because these wild species exhibited low percentages of bud burst during the study period. Changes in shoot water content of these two species paralleled the changes in percentage of bud burst. However, the level of ABA-like substances in these wild species peaked in November. The period of the deepest dormancy in *V. ficifolia* Bunge var. *ganebu* Hatusima, which is of subtropical origin, occurred in November, but its intensity was lighter than that of other wild species. Its shoots also had higher water content and low ABA-like substances.

The results show that the onset and intensity of bud dormancy differed among the wild grape species and, generally, low shoot water content and high level of ABA-like substances coincided with the time of deepest dormancy.

緒 言

現在、日本には7種8変種の野生ブドウの自生が確認されており、その分布域は、冬季に厳寒となる北海

道および東北地方の寒冷地域から冬季10℃を下らない沖縄などの亜熱帯地域に至る広範囲に及んでいる(中川ら, 1991)。したがって、分布域を異にする野生ブドウの種間には温度に対する生理反応に差異があるものと考えられ、この生理反応は、耐凍性の強弱、自発休眠の深さの差異および萌芽時期の差異などの特性

1995年7月7日 受理.

*現在：熊本県農業技術センター果樹研究所

として表現される(中川ら, 1986; 中川, 1989). また, Kondo (1955) は, 中央アジアのブドウ品種とヨーロッパの品種を比較すると, 前者の方が休眠誘導は早く, 自発休眠は短いとしている. しかし, 野生種の休眠現象を内生成分との関連での調査した報告は見当らない.

そこで本研究では, 同一環境条件下で生育させた日本原産の野生ブドウ(一部東アジア原産の野生種を含む)と栽培品種‘マスカット・ベリー A’の芽の休眠の季節的变化ならびにこれと密接に関連があると考えられる枝梢内水分含量およびABA含量について調査した.

材料および方法

実験1. 自発休眠の深さの季節的变化

供試材料として, 1991年に大阪府立大学実験園場栽植のリュウキュウガネブ(*Vitis ficifolia* var. *ganebu*), クマガワブドウ(*V. kinsiana*), 仮称シオヒタシブドウ(中川ら, 1991)(*V. sp.*), ヤマブドウ(*V. coignetiae*), シラガブドウ(*V. shiragai*), チョウセンヤマブドウ(*V. amurensis*)の6野生種と, 参考として栽培品種の‘マスカット・ベリー A’(*V. labruscana*)を用いた. これらについて, 自発休眠開始期と思われる9月から自発休眠覚醒期であると思われる12月にかけて経時的(約1ヵ月ごと)に枝梢を採取し, 基部より4~18節位を実験に供試した. この採取した枝梢のうち, 4, 7, 10, 13および16節目の芽を含む切り枝を萌芽率の測定用に供試した.

自発休眠の深さは, 堀内(1977)の方法に準じて, 25℃条件下のパーミキュライト床に一芽挿した30本の切り枝の30日後の萌芽率(萌芽個体数/30×100)で判断した. なお, 挿し穂の切り口には, 接ぎろうなどの塗布は行わなかった.

実験2. 枝梢内水分含量の季節的变化

実験1と同時期に採取した野生ブドウ6種および‘マスカット・ベリー A’の同じ枝梢を用い, 実験1で用いた隣の節位, すなわち基部より4~18節のうち, 5, 8, 11, 14, 17節目の芽を含む節部を枝梢内水分含量の測定に供試した. 枝梢採取後, 直ちに新鮮重を測定し, 80℃の乾燥器内で2日間乾燥して乾物重を測定し, 枝梢含水率{(新鮮重-乾物重)/新鮮重×100}として表した.

実験3. 芽を含む節部のABA様物質含量の季節的消長

実験1と同時期に採取した野生ブドウと栽培品種の

同じ枝梢を用い, 実験2で用いた隣の節位, すなわち基部より4~18節のうち, 6, 9, 12, 15, 18節目の芽を含む節部をABA様物質含量の測定用とし, 分析を行うまで-20℃の冷凍庫内に保存した. ABA様物質は, 芽を含む節部を約5gに調整し, 0.1%BHTおよび0.2%アスコルビン酸添加氷冷80%メタノール(Guinnら, 1986)で抽出した. 続いて, 第1図に示す方法で溶媒分配し, 酢酸エチル可溶性酸性画分を薄層クロマトグラフィー(Kieselgel 60 FF 254厚さ0.5mm Merck社製, 展開溶媒:n-ヘキサン:クロロホルム:酢酸エチル:酢酸=10:8:20:1, V/V)で精製し, HPLC(Waters 600型)で定量を行った. なお, 分析条件は, カラム:野村化学 Develosil ODS-5 (150×10mm), 溶媒:0.1%酢酸含有メタノール30→70%, 流速:2 ml・min⁻¹, 検出波長:254 nmとした.

結果

実験1. 休眠の深さの季節的变化

野生種および‘マスカット・ベリー A’の挿し木後30日の萌芽率を第2図に示す.

供試野生種のうち, 萌芽率が測定期間中常に最も高かったのはリュウキュウガネブで, 次いで, シラガブドウ, ヤマブドウおよびチョウセンヤマブドウで, 逆に萌芽率が最も低かったのはクマガワブドウ, 次いでシオヒタシブドウであった. それぞれの野生種の自発休眠最深期は, ヤマブドウおよびチョウセンヤマブドウが10月で最も早く, 次いでリュウキュウガネブ, シラガブドウおよびシオヒタシブドウの11月であった. クマガワブドウは他の種と異なり, 9~12月の広範囲で萌芽率が低く, 12月の時期でもまだ深い自発休眠期にあった. なお, リュウキュウガネブは, 休眠最深期においても60%以上の萌芽率を示し, ほとんど自発休眠がないか, あっても極めて浅いものと思われる. 一方, ‘マスカット・ベリー A’では, 自発休眠の最深期は11月であった.

実験2. 枝梢内水分含量の季節的变化

野生種および‘マスカット・ベリー A’の枝梢含水率の推移を第3図に示した.

野生種では, リュウキュウガネブは他の種と比較して, 非常に高い水分含量を示し, 測定期間中常に60%以上であった. シラガブドウも9~10月にはリュウキュウガネブと同じく60%以上の値を示したが, 休眠最深期である11月に近づくとき急激に水分含量は低下し, 約55%となった. ヤマブドウおよびチョウセンヤマブドウでは, 休眠最深期である10月には

Fig. 1. Flow diagram showing procedure for extraction and purification of ABA.

Fig. 2. Seasonal changes in the percentage of budbreak on single node cutting of several wild grape species. ○ : *Vitis ficifolia* Bunge var. *ganebu* Hatusima, ● : *V. kiusiana* Momiyama, □ : *V. coignetiae* Pulliat, ■ : *V. shiragai* Makino, △ : *V. sp.* (tentative name; Shiohitashibudo), ▲ : *V. amurensis* Rupr., × : *V. labruscana* Bailey cv. Muscat Bailey A.

Fig. 3. Seasonal changes in shoot water content of several wild grape species. ○ : *Vitis ficifolia* Bunge var. *ganebu* Hatusima, ● : *V. kiusiana* Momiyama, □ : *V. coignetiae* Pulliat, ■ : *V. shiragai* Makino, △ : *V. sp.* (tentative name; Shiohitashibudo), ▲ : *V. amurensis* Rupr., × : *V. labruscana* Bailey cv. Muscat Bailey A.

50%以下となった。しかし、クマガワブドウおよびシオヒタシブドウは、休眠最深期である11月にわずかに水分含量は低下したが、ほとんど変化がみられず、常に50%前後の値であった。いずれの種も、休眠最深期を脱し、覚醒に向かうにしたがって水分含量は回復した。

‘マスカット・ベリー A’では、水分含量は休眠期間中は50%以下の値であったが、休眠が覚醒し始める12月に入ると急増した。

実験3. 芽を含む節部のABA様物質含量の季節的消長

野生種および‘マスカット・ベリー A’の芽を含む節部のABA様物質含量の推移を第4図に示す。

野生種間では、リュウキュウガネブのABA様物質含量が他種と比較して測定期間中常に $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{fw}$

Fig. 4. Seasonal changes in endogenous level of ABA-like substances in shoots of several wild grape species. ○: *Vitis ficifolia* Bunge var. *ganebu* Hatusima, ●: *V. kiusiana* Momiyama, □: *V. coignetiae* Pulliat, ■: *V. shiragai* Makino, △: *V. sp.* (tentative name; Shiohitashibudo), ▲: *V. amurensis* Rupr., ×: *V. labruscana* Bailey cv. Muscat Bailey A.

以下と特異的に低い値で推移した。また、シラガブドウでは測定期間中ほぼ $0.3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{fw}$ であった。それに対し、ヤマブドウおよびチョウセンヤマブドウでは9月にはすでに約 $0.4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{fw}$ と他の種に比べその含量は高く、それ以降も増加が認められ、自発休眠最深期である10月に約 $0.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{fw}$ のピークとなった。その後、休眠最深期を過ぎると両種のABA様物質含量は徐々に減少した。一方、クマガワブドウおよびシオヒタシブドウのABA様物質含量は、休眠最深期である11月にピークとなり、その後減少した。

‘マスカット・ベリー A’において、ABA様物質含量のピークは自発休眠最深期に現われ、ピーク時には $0.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{fw}$ と高い値を示した。

考 察

堀内 (1977) は、鉢植えブドウ樹の枝梢 (根付き個体) の萌芽と一芽挿し枝梢からの萌芽との間には、その率および期間にほとんど差がないことを認め、20~25℃の温度条件下で80%の挿し木個体が萌芽に20日以上要する場合を自発休眠とみなしている。

一般に、栽培品種のブドウの芽の休眠現象は、枝の登熟が進む9月頃から開始し、10月~11月上旬に自発休眠が最も深く、その後徐々に打破されて、1月下旬頃にはほぼ完了することが知られている (堀内, 1977; 岡本, 1981)。また、堀内 (1977) や Nigond (1967) は、自然環境要因の中で休眠誘導には気温の低下が最も重要な要因ではないかとしている。今回の実験においても、最低気温が20℃以下になる9月 (第5図) から、リュウキュウガネブを除く全供試材料で萌芽率が60%以下となり、休眠誘導現象が認め

Fig. 5. Changes in daily maximum (—) and minimum (···) air temperature from August to October at Sakai in Osaka (1991).

られた。これまでの野生ブドウに関する報告（中川ら, 1986; 中川, 1989）では、野生ブドウの休眠現象はその自生地其自然条件に依存しているのではないかとしている。また、枝梢内水分含量の低下と自然休眠の誘導との間には密接な関連が認められている（中川ら, 1986）。

実験1および実験2で、休眠の深さと枝梢内水分含量を調査したところ、冬季の低温が早期に訪れる地域に自生するヤマブドウおよびチョウセンヤマブドウは、自発休眠誘導期が早く訪れ、その最深期が他の種よりも早い10月に当たり、それに伴い枝梢内水分含量も早期に低下することが明らかとなった。この結果は、チョウセンヤマブドウについて11月初旬には自発休眠を脱し、12月末には他発休眠状態に進むと述べているKondo (1959) の報告とも一致する。

これに対して、冬季に休眠誘導に必要な低温が訪れない地域に生息し、自発休眠が極めて短いか浅い亜熱帯産のリウキュウガネブは、全期間を通じて非常に高い水分含量を保持し、比較的冬季の気温が温暖で寒さの訪れが遅い九州地方に自生するクマガワブドウおよびシオヒタシブドウは、休眠最深期が11月～12月と遅い時期に認められ、その時期に一致して枝梢内水分含量が最も低下することが明らかとなった。なお、クマガワブドウおよびシオヒタシブドウの萌芽率は春季～8月の夏季には高く（未発表）、休眠最深期と思われる11月の萌芽率は、シオヒタシブドウでは挿し木後5週間から漸増する傾向が認められ（中川, 1989）、80%の萌芽に達するには15週を要する（中川ら, 1986）ことが知られている。

また、シラガブドウは11月上旬には自発休眠最深期に達し、'マスカット・ベリーA'は、このシラガブドウと比較的類似した休眠誘導のパターンを示した。これらの結果から、各野生種の休眠現象は、それぞれの生息地の気候条件に適応した休眠形態が発達しており、種の特異性が認められた。また、栽培品種と同様、野生種の自発休眠誘導と枝梢内水分含量の低下との間には密接な関連のあることも認められた。

ブドウのABAと休眠との関連は、休眠中の芽を含む枝梢中（堀内, 1991）、芽中（Corgan・Peyton, 1970）およびりん片中（水谷ら, 1985）の生育阻害物質の分画にABAが含まれることから、ABAと休眠との間に関連のあることが指摘されている。さらに、ブドウの落葉期に遊離型ABA含量が最も高く、自発休眠が完了した時期には減少することから、芽の休眠と

遊離型ABA含量の間には密接な関連があるのではないかと示唆されている（Düring・Alleweldt, 1973; Düring・Bachmann, 1975; 堀内, 1977; Iwasaki・Weaver, 1977）。本実験においても、休眠誘導期にABA様物質含量を測定したところ、休眠のほとんど見られない亜熱帯原産のリウキュウガネブのABA様物質含量は低く、休眠最深期が早く訪れるヤマブドウおよびチョウセンヤマブドウのABA様物質含量は早い時期から休眠誘導に伴って増加する傾向が認められた。この結果は、芽の休眠の深さとABA含量とが密接に関連していることを示すものである。しかしその一方で、クマガワブドウおよびシオヒタシブドウで認められたように、9～10月の萌芽率が非常に低いにもかかわらず、その時期の芽中ABA様物質含量は低く、ABAが休眠誘導と密接に関連しているのではないかとする前述の報告とは異なる結果を示した。これに関する一つの見解として、クマガワブドウの休眠枝には、栽培品種と比較してフェノール物質が約2.5倍含まれることが報告されており（望岡ら, 1995）、また、同種の枝梢中のフェノール物質は、萌芽期から新梢が盛んに生長する時期にかけて減少した後、落葉期にかけて再び増加することも認めている（未発表）。さらに堀内（1977）は、ブドウ枝梢内の生長抑制物質中にはABA以外のものも存在し、それらの物質がABAとあいまって休眠現象に関与しているのではないかとしている。これらのことから、9～10月におけるクマガワブドウおよびシオヒタシブドウの萌芽率が低下する現象は、ABA以外のフェノール物質などの生長阻害物質に起因するのではないかと考えられる。この方面に関しては、現在さらに野生ブドウの種が示す特異性の一つとして詳しく調査しているところである。

なお、予備実験（'デラウェア'の枝梢を使用）において、本実験で用いた抽出・精製法により得られた酢酸エチル可溶性画分をHPLCおよびGC/MSにより同定したところ、純品のABAと保持時間およびイオンピークが一致したことから、本実験におけるこのABA様物質もABAと考えられる。

以上のことから、芽の休眠の深さ、休眠最深期、枝梢内水分含量および芽中のABA様物質含量の推移は種により異なった。また、芽の休眠が深まるにつれ枝梢内水分含量は低下し、芽を含む枝梢節部のABA様物質含量も増加する傾向を示し、ABAが芽の休眠誘導と密接に関係していることが示唆された。しかし、

マクガワブドウのように ABA 様物質含量が比較的低い時期でも萌芽率の低い現象が認められたことから、種によっては ABA 以外の生長抑制物質が休眠の制御に関与しているのかもしれない。

摘 要

自生地を異にする日本原産野生ブドウ（一部東アジア原産種を含む）と栽培品種「マスカット・ベリー A」とを同一地（大阪府立大学実験圃場）で栽培管理し、芽の自発休眠の誘導条件とその生理的な変化との関連を明らかにするため、休眠の深さ、枝梢内水分含量、ABA 様物質含量を休眠誘導期から休眠最深期または休眠覚醒期に当たる 9～12 月にかけて調べた。

野生種において、リュウキュウガネブは自生休眠が極めて浅く、全調査期間を通じて枝梢内水分含量が高く、ABA 様物質含量は極めて低い値を示した。ヤマブドウおよびチョウセンヤマブドウは自発休眠が他種に比べて早期に誘導され、枝梢内水分含量も早くから低下し、ABA 様物質含量も早期に増加する傾向が認められた。シラガブドウは自発休眠最深期が 11 月と遅く、休眠が深まるにつれて、枝梢内水分含量は徐々に低下し、逆に ABA 様物質含量は高まる傾向にあった。

クマガワブドウおよびシオヒタシブドウは、実験期間の 9～12 月にかけて常に萌芽率が極めて低く経過したが、その中でも 11 月に最低値を示した。この傾向は枝梢内水分含量にも認められた。一方、ABA 様物質含量は両者とも 11 月に最高値を示した。このことから、両者の休眠最深期は 11 月と考えられた。

以上のことから、休眠誘導および覚醒期には種による違いが認められ、ABA 様物質含量は休眠最深期に最も高くなる傾向が見られた。しかしながら、クマガワブドウおよびシオヒタシブドウは 9～10 月の萌芽率が低いにもかかわらず ABA 様物質含量が低かった。

引用文献

- Corgan, J. N. and C. Peyton. 1970. Absciscic acid levels in dormant peach flower buds. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 95: 770-774.
- Düring, H. and G. Alleweldt. 1973. Der Jahresgang der Abscisinsäure in vegetativen Organ von Reben. Vitis 12: 26-32.
- Düring, H. and O. Bachmann. 1975. Absciscic acid analysis in *Vitis vinifera* in the period of endogenous bud dormancy by high pressure liquid chromatography. Physiol. Plant. 34: 201-203.
- Guinn, G., D. L. Brummett and R. C. Beier. 1986. Purification and measurement of absciscic acid and indoleacetic acid by high performance liquid chromatography. Plant Physiol. 81: 997-1002.
- 堀内昭作. 1977. ブドウの芽の休眠現象とその制御に関する研究. 大阪府立大学学位論文.
- 堀内昭作. 1991. 芽及び種子の休眠誘導並びに覚醒物質の探索. (平成 2 年度科学研究費総合研究成果報告書: 代表 平田尚美). p. 101-115.
- Iwasaki, K. and R. J. Weaver. 1977. Effects of chilling, calcium cyanamide, and bud scale removal on bud break, rooting, and inhibitor content of buds of 'Zinfandel' grape (*Vitis vinifera* L.). J. Amer. Soc. Hort. Sci. 102: 584-587.
- Kondo, I. N. 1955. The conditions of dormancy in buds of grapevine. Doklady Akad. Nauk. S. S. S. R. 102: 633-636.
- Kondo, I. N. 1959. Szosztowanie pokoja pocsek u razlicnych szortow winograda (v uszlovijah Szrednej Azii). Trudü VNIIV i v "Magaracs" 6 (1): 32-46.
- 水谷房雄・磯貝 勝・門屋一臣. 1985. ブドウの芽におけるリン片の役割. (1)リン片に含まれる萌芽抑制物質について. 愛媛大農学部紀要 29: 273-283.
- 望岡亮介・小田容子・椿本美也子・堀内昭作・黒岡浩. 1995. さし木発根の困難な日本原産野生種クマガワブドウの茎頂培養. 園学雑. 64 (別 1): 18-19.
- 中川昌一・湯田英二・堀内昭作・松井弘之. 1986. 日本原産野生ブドウの栽培利用に関する研究. (昭和 59 年度科学研究費研究成果報告書). p. 34-37.
- 中川昌一. 1989. 東亜原産の野生ブドウの収集・保存と新品種育成. (昭和 63 年度科学研究費総合研究成果報告書: 代表 林 真二). p. 10-20.
- 中川昌一・堀内昭作・松井弘之・湯田英二・山田省吾・村井泰広・小松春喜. 1991. 日本原産野生ブドウの分布ならびに葉の形態学的特性. 園学雑. 60: 31-39.
- Nigond, J. 1967. Recherches sur la dormance des bourgeons de la vigne. 4. Discussion des résultats et conclusions. Ann. Physiol. Veg. 9: 397-414.
- 岡本五郎. 1981. III 発育生理と栽培環境. 1. 休眠期. 基本技術編. p. 57-62. 農業技術大系. 果樹編 2. 農文協. 東京.