

# 地温がブドウデラウエア樹液中の生長 促進物質濃度に及ぼす影響

中村 怜之輔・有馬 博\*

Effects of root temperature on growth regulating substances  
in root exudate of Delaware grapes

Reinosuke NAKAMURA and Hiroshi ARIMA

IAA-like substance and gibberellin-like substance in root exudate of Delaware grapes were detected respectively. Concentration of these growth regulating substances was markedly and rapidly influenced by the change of temperatures around the roots. Immediately after the beginning of root temperature treatment, the concentration of these substances became temporarily high. But later, the concentration quickly decreased by 35°C treatment and the concentration was kept high by 28°C treatment.

The optimal root temperature for the shoot growth of Delaware grapes was in full accord with the root temperature in which the concentration of growth regulating substances was kept high. The coincidence suggests that there is some relation between the good shoot growth and the high concentration of these substances in Delaware grapes at 28°C treatment.

## I. 緒 言

ブドウデラウエア幼樹は、種々の点で地温に対してかなり敏感に反応する。そして、これまでの試験結果では、生長に対しても、果実品質に対しても、28°C区がもっとも好適であった<sup>9)10)</sup>。このようなデラウエアの地温に対する反応の基礎には、種々の生理的あるいは生態的要因が複雑に関係し合っているものと思われるが、その要因の一つに、生長促進物質の消長が考えられる。

ブドウの根あるいは樹液中の生長促進物質としては、これまでにIAA類似物質<sup>2)3)5)6)</sup>、ジベレリン類似物質<sup>11)17)</sup>、カイネチン類似物質<sup>8)12)</sup>が報告されているが、ここではデラウエア樹液中のIAA類似物質およびジベレリン類似物質の抽出を試み、さらにそれらの消長と地温との関係を調査した結果を報告する。

なお、本試験を行なうにあたって種々ご助言を賜わった、京都大学教授小林章博士に深く感謝の意を表す。

## II. 材料および方法

### 1. 材 料

3年生デラウエア幼樹(自根)を、黒色火山灰性土壌を詰めた直径30cmの素焼鉢に植え込み、試験に供した。6月8日～6月26日の間、鉢を電熱温床<sup>9)</sup>に埋め込んで、21°C、28°Cお

\*信州大学農学部

本報告の要旨は、園芸学会昭和43年秋期大会で発表した。

よび35°Cの3段階の地温処理を行なった。新梢伸長量に明らかに差の認められたところで、基部5~6節を残して新梢を切り取り、夜中に下からあふれ出てくる樹液を採取して、そこに含まれているIAA類似物質およびジベレリン類似物質の抽出測定を試みた。

また、別に6月30日~7月25日の間に同様の地温処理を行ない、処理開始直後の7月1日、7月10日および7月20日の3回にわたって同様に樹液を採取し、樹液中のIAA類似物質およびジベレリン類似物質の経時的変化を調査するための試料とした。

なお、本試験は1968年に信州大学農学部付属農場で行なった。

## 2. IAA類似物質の抽出調製

樹液中のIAA類似物質の抽出測定は、塚本他<sup>13)14)</sup>の方法に準じて行なった。すなわち、テラウエアの樹液200 mlを、採取直後に40°Cで50 mlになるまで減圧濃縮し、15%酒石酸溶液を加えてpHを3.0に調節したのち、過酸化物を含まないエーテル300 mlで3回に分けて抽出した。このエーテル抽出物は、60°Cの湯煎上で約0.5 mlになるまで濃縮し、ペーパークロマトグラフィーの試料とした。なお、エーテルの精製は常法によった。

この抽出濃縮液は、そのすべてをペーパークロマトグラフ用ろ紙(東洋ろ紙No.50, 2 cm×40 cm)にスポットし、充分風乾後上昇法によって約20 cm展開した。なお、展開は暗室内で室温で行なった。展開溶媒は、イソ・プロパノール-28%アンモニア-水(8:1:1, v/v)を用いた。展開風乾後のペーパークロマトグラムは、展開した距離を10等分して切断し、それぞれのろ紙片を直径20 mm深さ15 mmの小型シャーレに入れて2%しょ糖溶液を1 ml加え、室温で約6時間溶出し、ろ紙片を除去したのち、アベナ伸長試験法によってRfごとにIAA類似物質濃度を測定した。

試料中のIAA類似物質の総量の測定は、アベナ屈曲試験法によったが、この場合にはエーテル抽出液を湯煎上で蒸発乾固したのち、2%しょ糖溶液1 mlを加えて抽出物を溶出した。この溶出液中に3%寒天小片(2.2×2.2×2.0 mm)20個を入れ、約5時間室温におき、IAA類似物質をよく浸透させて屈曲試験に供した。

## 3. ジベレリン類似物質の抽出調製

樹液中のジベレリン類似物質の抽出は、SKENE他<sup>11)12)</sup>がブドウ樹液中のジベレリン類似物質およびカイネチン類似物質について行なった方法に準じて行なった。すなわち、樹液200 mlを、採取後直ちに40°Cで減圧濃縮乾固したのち、70%エタノール300 mlで3回にわけて2°Cで約10時間抽出した。このエタノール抽出液を40°Cで0.5 mlになるまで減圧濃縮し、ペーパークロマトグラフィーの試料とした。

このようにして得られた濃縮抽出液は、そのすべてをペーパークロマトグラフ用ろ紙(東洋ろ紙No.50, 2 cm×40 cm)にスポットし、充分風乾後室温で上昇法により約20 cm展開した。展開溶媒は、イソ・プロパノール-28%アンモニア-水(8:1:1, v/v)を用いた。展開風乾後のペーパークロマトグラムは、展開した距離を10等分して切断し、それぞれのろ紙片を直径30 mm、深さ120 mmの管びんに入れて純水2 mlを加え、室温で約6時間溶出した。その後ろ紙片を除去し、イネ幼苗伸長試験法によって、Rfごとにジベレリン類似物質濃度を測定した。

## 4. 生物試験法

i. アベナ屈曲試験法<sup>4)</sup>: 標準的な方法に従って行なった。すなわち、よく充実したアベナ種子を25°Cの暗室内で発芽育成し、子葉鞘の長さが2~3 cmに伸びたところで、約2.5 cmのも

のを選出して用いた。アベナ子葉鞘は先端を約 3 mm 除却したのち、そこに IAA 類似物質をよくしみ込ませた小寒天片を置き、90 分後にアベナ子葉鞘の屈曲角度を測定した。なお、操作はすべて 25°C の暗室内で行なった。

ii. **アベナ伸長試験法<sup>4)</sup>** : 屈曲試験の場合と同じように育成した、長さ約 2.5 cm のアベナ子葉鞘を用いた。子葉鞘の先端約 5 mm を除去し、その下 3 mm を切り取って前記の溶出し糖溶液中に 10 個ずつ入れ、25°C の暗室に 20 時間おいたのち、低倍率顕微鏡のマイクロメーターで伸長量を測定した。別に、試料をつけずに展開して得られたペーパークロマトグラムから切り取ったろ紙片を、同じように 2% 糖溶液で溶出したものを対照区とした。対照区のアベナ切片の伸長量を基準にし、それぞれの溶出液におけるアベナ切片の伸長増加率を算出して、生長促進の程度を判定した。

なお、上記に使用したアベナはすべてビクトリー 1 号 (農林省北海道農業試験場産) で、前年に採種された新しいものである。

iii. **イネ幼苗伸長試験法** : よく充実したイネの種子を、30°C で蛍光灯による人工光線下において発芽させた。発芽開始直後に、よく揃ったもの 10 個ずつを前記の溶出水溶液中に投入し、30°C で、蛍光灯による人工光線下において 1 週間育成した。この間、溶出水溶液が減少すれば、約 2 ml になるまで純水を追加した。1 週間後に、3~10 cm に伸長したイネ幼苗を管びんより取り出し、子葉鞘より第一葉基部までの長さを測定した。

別に、試料をつけずに展開して得られたペーパークロマトグラムより切り取ったろ紙片を、純水 2 ml で溶出したものを対照区とし、そのイネ幼苗の伸長量を基準として、それぞれの溶出液におけるイネ幼苗の伸長増加率を算出して、生長促進の程度を判定した。

なお、ここに使用したイネは、わい性 3 系 10 号 ((銀坊主見出×綾錦)×綾錦、農林省農事試験場産) で、前年に採種された新しいものである。

### III. 結 果

#### 1. 樹液中の IAA 類似物質

##### i. IAA 類似物質の検索確認

デラウエア樹液のエーテル抽出物の風乾クロマトグラムを、紫外線で検索したところ、Rf 0.4 付近に強い蛍光スポットを認めた。別に合成 IAA 1 $\mu$ g を展開したクロマトグラムを、同じように紫外線で検索したところ、Rf 0.4 付近に強い蛍光スポットを認め、両者の Rf はよく一致した。また、これらのクロマトグラムに塩化鉄試薬 (0.05 M 塩化第二鉄 : 5% 過塩素酸 = 1 : 50) を噴霧して発色させたところ、樹液のエーテル抽出物については、きわめて不鮮明な発色スポットしか得られなかったため明確なことはいえないが、両者の発色色調はほぼ一致しているように判定された。

つぎに、別な樹液のエーテル抽出物について、アベナ屈曲試験を行なった。その結果、明らかにアベナ子葉鞘を屈曲させ、同時に行なった合成 IAA 0.1 ppm とほぼ同じ程度の屈曲角を示した。

これらのことから、デラウエア樹液のエーテル抽出物から得られた、Rf 0.4 付近の物質は、IAA 類似の生長促進物質であることがほぼ確認された。しかし、この物質が IAA そのものであるかどうかは、さらに詳細な調査をした上でないと明確なことはいえない。したがって、この物質を IAA 類似物質と呼ぶことにした。

## ii. IAA 類似物質の濃度と地温

6月に約20日間3段階の地温処理を行ない、新梢の伸長に明らかな差が生じたのちに採取した樹液中の、IAA 類似物質濃度を、アベナ伸長試験法により Rf ごとに測定し、処理区間の比較を行なった。その結果を、アベナ子葉鞘の対照区に対する伸長増加率で示すと、第1図のとおりである。

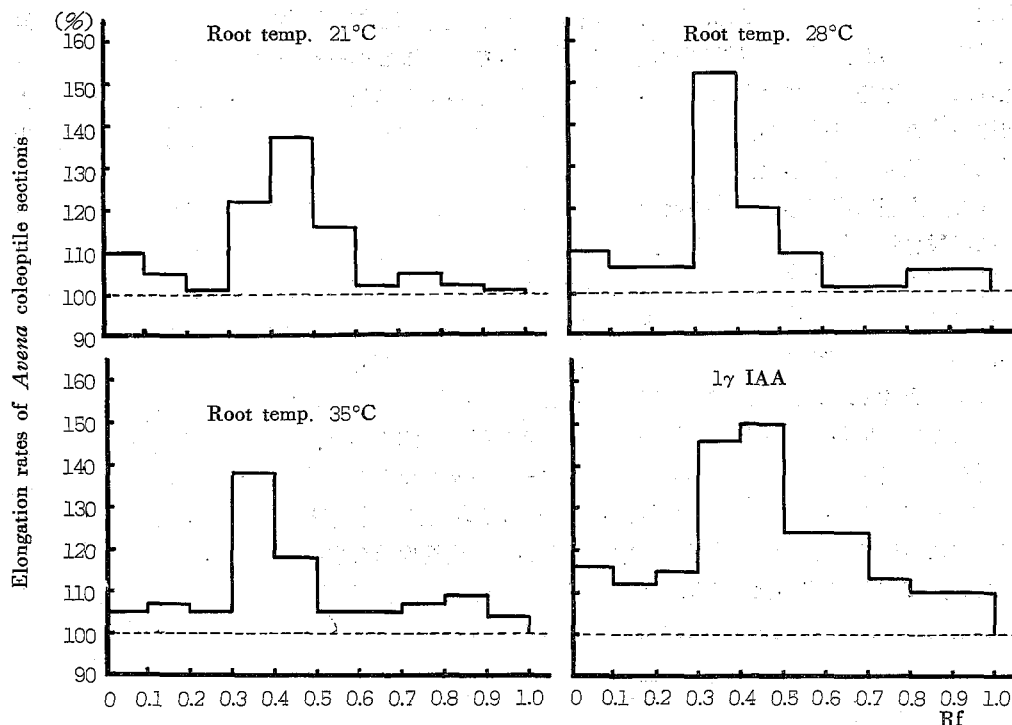


Fig. 1. Biological assay of IAA-like substance in ether extracts from root exudate of Delaware grapes as related to their root temperatures.

これによると、いずれの処理区においても、Rf 0.4 付近に明確な生長促進帯が認められた。これは、同時に展開した合成 IAA 1r の示す促進帯の Rf とよく一致していたところから、IAA 類似物質によるものと考えられる。

これらの促進帯の生長促進の程度を、処理区間で比較すると、28°C 区において明らかに強く、21°C 区および 35°C 区においては同じ程度に劣った。このことから、樹液中の IAA 類似物質の濃度は、28°C 区において高くなることがうかがわれた。

## iii. IAA 類似物質濃度の地温処理開始後の経時的変化

デラウェア樹液中の IAA 類似物質濃度は、地温により明らかに影響を受け、28°C 区においてもっとも高くなることが認められたが、つぎにこのような地温の影響が地温処理開始直後よりどのように変化するかを調査した。すなわち、6月30日に地温処理を開始し、その翌日の7月1日、10日後の7月10日、20日後の7月20日の3回について、各処理区より採取した樹液中の IAA 類似物質濃度を、アベナ伸長試験法により測定した。その結果を、アベナ子葉鞘の対照区に対する伸長増加率で示すと、第2図のとおりである。なお、この場合アベナ伸長試験は、Rf 0.2~0.7 について行なった。

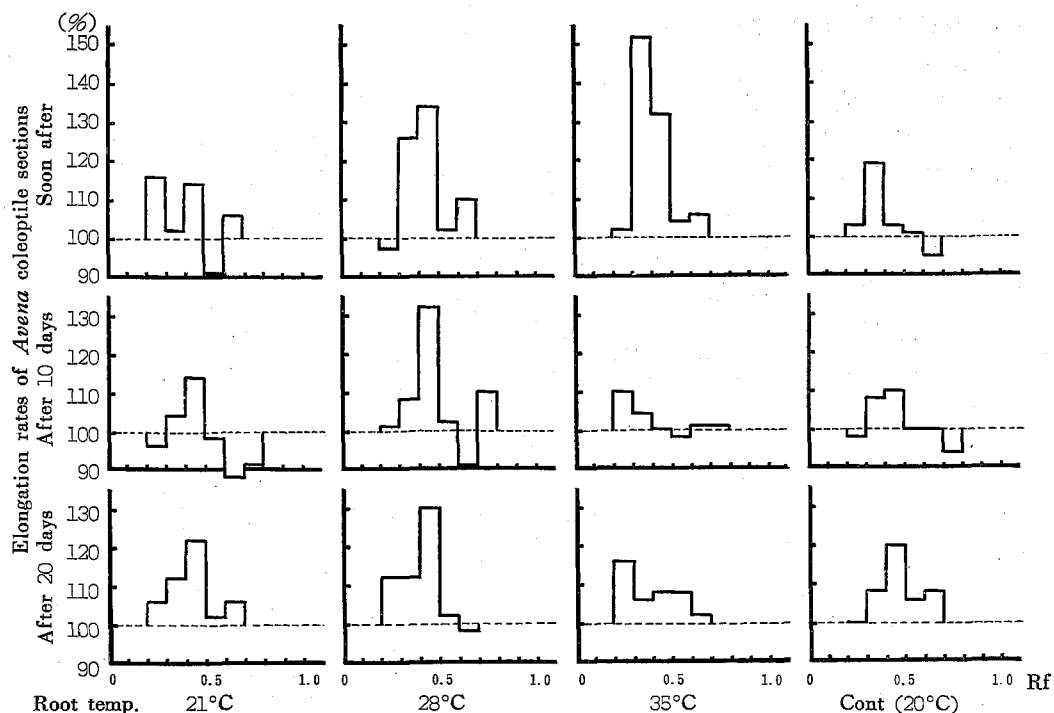


Fig. 2. The effect of root temperatures on IAA-like substance in root exudate of Delaware grapes.

Upper : assay for immediately after treatment.

Middle : assay for 10 days after treatment.

Lower : assay for 20 days after treatment.

処理直後：いずれの処理区においても、Rf 0.4 付近に強い生長促進帯がみられた。その生長促進の程度は、35°C 区でいちじるしく強く、以下 28°C 区、21°C 区の順に劣った。このことから、樹液中の IAA 類似物質濃度は、地温処理開始の翌日にはすでに地温の影響を受け、地温が高いほどその濃度がいちじるしく高くなる傾向がみられた。

処理 10 日後：いずれの処理区においても、Rf 0.4 付近に強い生長促進帯が認められ、その程度は 28°C 区においてももっとも強く、処理直後とほとんど同じ程度の高い促進度を示した。ところが、35°C 区においては、処理直後といちじるしく相違し、21°C 区よりむしろ弱くなった。

処理 20 日後：いずれの処理区においても、Rf 0.4 付近に強い生長促進帯が認められ、その程度は、10 日後とほとんど一致した傾向であった。

以上のように、デラウエア樹液中の IAA 類似物質濃度は、地温に非常に敏感であり、処理開始の翌日にはすでにその影響を受けていた。そして、処理開始直後には、地温の高いほどいちじるしく濃度が高くなった。ところが、その後 35°C 区においては急速に濃度が低下し、10 日後においてはむしろ 21°C 区より低くなり、この傾向は 20 日後においても同じであった。一方、28°C 区においては、10 日後、20 日後においても、処理開始直後に示された高い濃度を保ち続けた。21°C 区は、いずれの時期においても自然状態とほぼ同様の濃度を示し、地温処理の影響を受けていないように見受けられた。このことは、試験期間中の自然地温が約 20°C であったことから、むしろ当然のことであろう。

## 2. 樹液中のジベレリン類似物質

### i. ジベレリン類似物質の検索確認

デラウェア樹液のエタノール抽出物の風乾クロマトグラムを、5%硫酸で処理し、直ちに紫外線で検索したところ、 $R_f$  0.5~0.6に、きわめて不鮮明ではあるが蛍光スポットを認め、別に、試薬用結晶ジベレリン1 $\mu$ gを展開して得たクロマトグラムを、同様に紫外線で検索したところ、 $R_f$  0.50~0.55に強い蛍光スポットを認め、両者の $R_f$ はほぼ一致した。

つぎに、樹液のエタノール抽出物の風乾クロマトグラムから、 $R_f$  0.4~0.7の部分を切り取り、2 mlの純水で溶出してイネ幼苗伸長試験を行なったところ、対照区に比較して明らかにイネ幼苗の伸長を促進することが認められた。同時に、試薬用結晶ジベレリンの0.1、1.0および10.0 ppmのイネ幼苗伸長効果と比較すると、0.1 ppm区とはほぼ同じ伸長促進効果が認められた。

これらのことから、デラウェア樹液のエタノール抽出物から得られた $R_f$  0.5~0.6の物質は、ジベレリン類似の物質であることにほぼ間違いないと思われた。しかし、この物質がジベレリンそのものであるかどうかは、さらに詳細な調査をした上でないと明確なことはいえない。したがって、この物質をジベレリン類似物質と呼ぶことにした。

### ii. ジベレリン類似物質濃度と地温

6月8日~6月26日の間3段階の地温処理を行ない、新梢伸長量に明らかに差が生じたのちに採取した、樹液中のジベレリン類似物質濃度を、イネ幼苗伸長試験法により $R_f$ ごとに測定し、処理区間の比較を行なった。その結果を、イネ幼苗の対照区に対する伸長増加率で示すと第3図のとおりである。

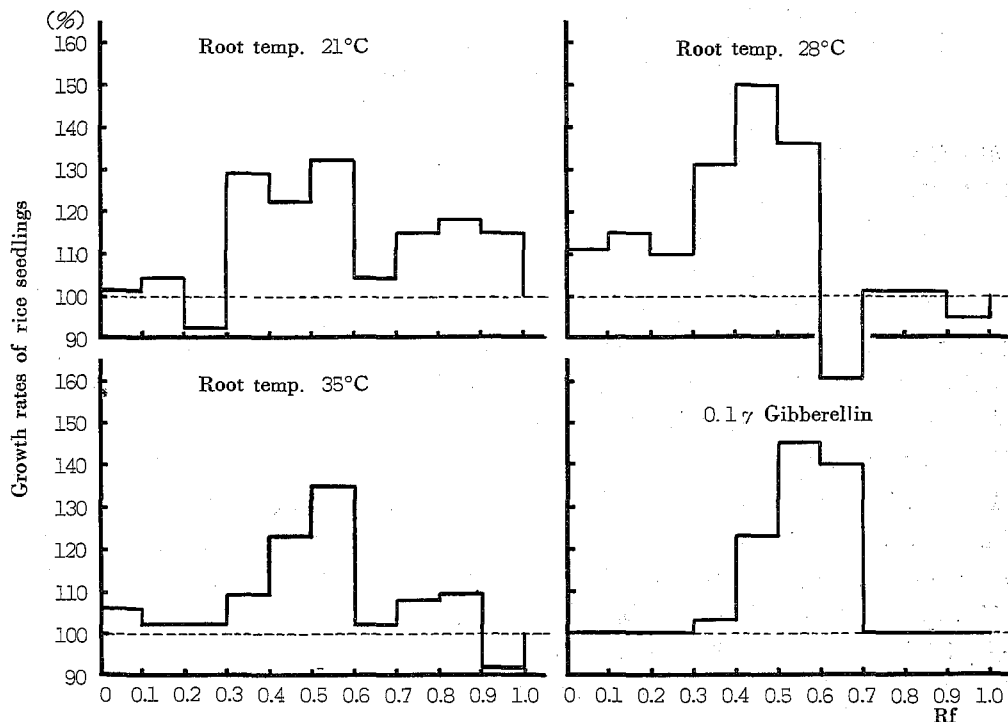


Fig. 3. Biological assay of gibberellin-like substance in ethanol extracts from root exudate of Delaware grapes as related to their root temperatures.

これによると、いずれの処理区においても、Rf 0.5 付近に明確な伸長促進帯が認められた。これは、同時に試薬用結晶ジベレリン 0.1 $\mu$ g を展開して得た伸長促進帯とよく一致したところから、ジベレリン類似物質による促進帯と考えられる。これらの促進帯の促進の程度を、処理区間で比較すると、28°C 区において明らかに強かった。ついで 21°C 区で強く、35°C 区はもっとも弱かった。このことから、樹液中のジベレリン類似物質濃度は、28°C 区付近で高くなることがうかがわれた。

### iii. ジベレリン類似物質濃度の処理開始後の経時的変化

デラウェア樹液中のジベレリン類似物質濃度は、地温により明らかに影響を受けることが認められたが、つぎにこの影響が地温処理開始直後より経時的にどのように変化するかを調査した。すなわち、6月30日に地温処理を開始し、その翌日の7月1日、10日後の7月10日、20日後の7月20日の3回について、各処理区ごとに採取した樹液中のジベレリン類似物質の濃度を、イネ幼苗伸長試験法により測定した。その結果を、イネ幼苗の対照区に対する伸長増加率で示すと、第4図のとおりである。なお、この場合イネ幼苗伸長試験は、Rf 0.3~0.8 について行なった。

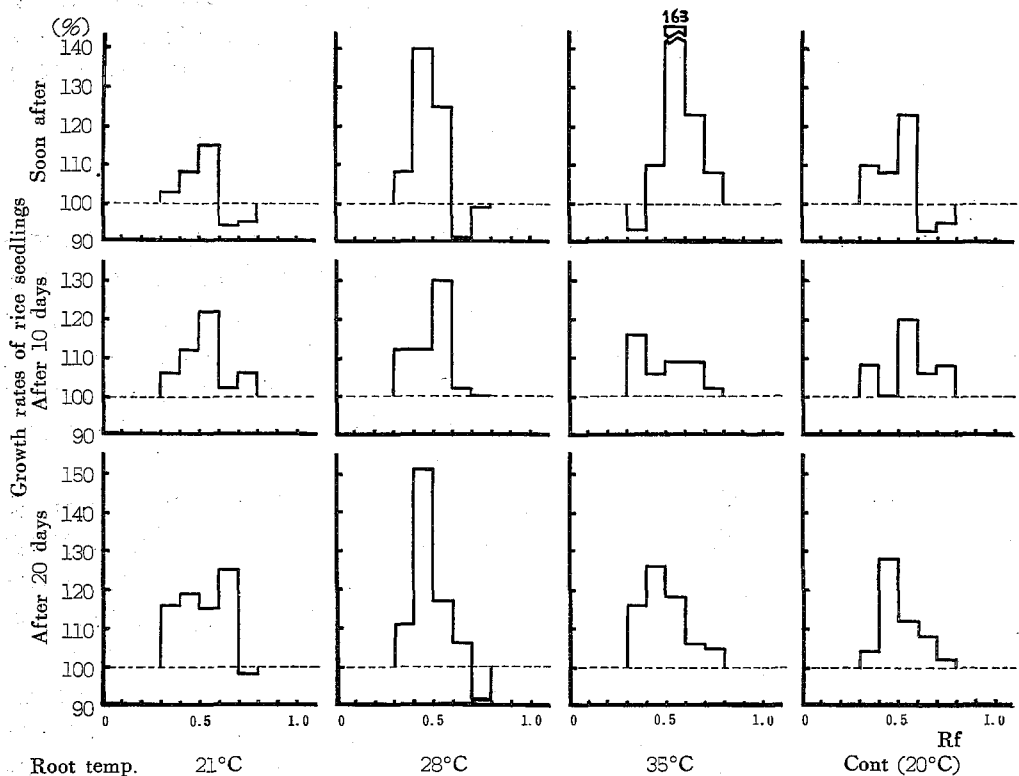


Fig. 4. The effect of root temperatures on gibberellin-like substance in root exudate of Delaware grapes.

Upper : assay for immediately after treatment.

Middle : assay for 10 days after treatment.

Lower : assay for 20 days after treatment.

処理直後：いずれの処理区においても、Rf 0.5 付近に明らかに伸長促進帯が認められた。それらの促進の程度を比較すると、35°C区でもっとも強く、以下28°C区、21°C区の順に急激に劣った。このことから、樹液中のジベレリン類似物質濃度は、地温処理開始の翌日にすでに処理区間で差がみられ、地温が高くなるにしたがってその濃度がいちじるしく高くなることうかがわれた。

処理10日後：いずれの処理区においても Rf 0.5 付近に明らかに伸長促進帯が認められた。その伸長促進の程度を比較すると、28°C区においてももっとも強く、処理直後とほとんど同じ程度に強い促進度を示した。ところが、35°C区においては、処理直後にはいちじるしく、かつ処理区の中ではもっとも促進度が強かったにもかかわらず、10日後には急激に促進度が弱くなり、むしろ21°C区より弱くなった。

処理20日後：いずれの処理区においても Rf 0.5 付近に強い促進帯が認められた。そして、その伸長促進の程度は、10日後とほぼ一致した傾向を示した。

以上から、樹液中のジベレリン類似物質の濃度は、地温により明らかに、かつ直ちに影響を受けることが明らかになった。そして、処理開始直後においては、地温が高いほどいちじるしく高い濃度を示した。ところが、35°C区においてはその後急速に濃度が低下し、10日後には21°C区より低くなり、20日後においても同じ傾向を示した。一方、28°C区においては、処理直後の高い濃度が10日後および20日後においても保持されていた。21°C区は、いずれの時期においても自然状態とほぼ同じ程度の濃度を示したが、これはその頃の地温が約20°Cであったことからみて、当然のことである。

#### IV. 考 察

植物体中に普遍的に存在する生長促進物質として、IAA およびその誘導体が知られている<sup>2)3)5)6)</sup>。また、ジベレリンおよびその類似物質についても、種々の植物でその存在が確認されており、ブドウについても WEAVER 他<sup>17)</sup>、SKENE<sup>11)</sup> などの報告がある。さらに近年新しい生長促進物質として、カイネチンおよびその類似物質が注目され始め、発芽促進、果実の肥大促進などに効果のあることが認められている<sup>7)15)16)</sup>。また、カイネチン類似物質は、植物体内で合成されることが2~3の植物で知られており、ブドウについても MULLIN<sup>8)</sup>、SKENE 他<sup>12)</sup> がそれを確認している。

これらの生長促進物質は、根および茎の生長点、その他植物の分裂組織などで生成され、体内に転流するものとされている。すなわち、これらの生長促進物質の生成場所として、根の占める役割りは大きい。根に対する温度処理が、根の生長をいちじるしく規制する以上、そこで生成される種々の生長促進物質に対しても、なんらかの意味で温度の影響が及ぶことは、容易に推察されることである。

本試験では、ブドウデラウエア樹液中の IAA 類似物質 およびジベレリン 類似物質について、地温との関係を調査した。その結果、いずれもその濃度は地温によって明らかに影響を受けていた。この影響を、根に対する温度処理開始直後より経時的に追跡したところ、処理開始の翌日にはすでに影響があらわれてきて、温度が高いほどいちじるしく濃度が高かった。ところが、その後35°C区において急激に濃度の低下がみられ、以後は28°C区においてもっとも高い濃度が保持された。この温度区は、樹体の生長がもっとも良好であった温度区<sup>9)</sup>とよく一致している。



SKENE 他<sup>12)</sup> は、トンプソン・シードレスについて、樹液中のサイトカイニン濃度と地温との関係を調査し、樹体生長の盛んであった温度において、サイトカイニン濃度も高く保たれていたことを報告している。デラウエアの IAA 類似物質およびジベレリン類似物質濃度と地温との関係も、これとよく一致した傾向を示した。したがって、地温 28°C 区の示した良好な樹体生長は、その基礎として、これらの生長促進物質濃度に密接に関係していることが推察される。さらに、樹体の生長の地温に対する反応がかなり敏感であったことは、生長促進物質濃度が地温によって非常に敏感に変化したことと、関係づけられるものと思われる。

## V. 摘 要

i. デラウエア樹液中の生長促進物質の検索を試み、IAA 類似物質 および ジベレリン類似物質の存在を認めた。

ii. これらの生長促進物質の濃度は、地温によっていちじるしく、かつすみやかに影響を受けた。地温処理開始直後には、一時的に温度が高いほどこれらの物質の濃度は高くなったが、その後 35°C 区では急激に低下し、以後は 28°C 区で高い濃度が保たれた。

iii. 樹体の生長に対する好適地温と、これらの生長促進物質が高濃度に保たれた地温はよく一致し、両者の間になんらかの意味で密接な関係のあることが推察された。

## 参 考 文 献

- 1) Bentley, J. A. (1966) : Activity of gibberellin A<sub>1</sub> to A<sub>9</sub> in the Avena first-leaf bioassay, and location after chromatography. *Ann. Bot.*, 30 (118) : 165.
- 2) 林 武・村上 浩. (1962) : 植物ホルモン「作物生理講座」. 朝倉書店.
- 3) 川田信一郎・八巻敏雄(訳). (1951) : 植物ホルモン. 養賢堂.
- 4) 小西通夫. (1959) : 植物ホルモン実験法「植物栄養学実験」. 朝倉書店.
- 5) Leopold, A. C. (1964) : Plant growth and development. McGraw-Hill Book Co.
- 6) Leopold, A. C. (1955) : Auxins and plant growth. Univ. Calif. Press.
- 7) Miller, C. O. (1961) : Kinetin and related compounds in plant growth. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 12 : 395.
- 8) Mullins, M. G. (1967) : Morphogenetic effects of roots and of some synthetic cytokinins in *Vitis vinifera* L. *J. Exptl. Bot.*, 18 : 206.
- 9) 中村裕之輔・有馬 博 : 地温がブドウデラウエア幼樹の樹体生長に及ぼす影響. 未発表.
- 10) 中村裕之輔・有馬 博. (1968) : 地温がブドウデラウエアの果実品質に及ぼす影響. 園芸学会 昭和43年春季大会発表要旨, P. 68.
- 11) Skene, K. G. M. (1967) : Gibberellin-like substances in root exudate of *Vitis vinifera*. *Planta*, 74 : 250.
- 12) Skene, K. G. M. and Kerridge, G. H. (1967) : Effect of root temperature on cytokinin activity in root exudate of *Vitis vinifera* L. *Plant Physiol.*, 42 : 1131.
- 13) 塚本洋太郎・浅平 端. (1956) : グラジオリラス球茎の休眠(第2報) 温度処理と抑制物質について. *園学雑誌*, 25(2) : 123.
- 14) 塚本洋太郎・佐野 泰. (1958) : ジャガイモの休眠に関する研究(第1報) ジベレリン処理と生長調整物質の消長. *京大食研報告*, 21 : 20.
- 15) Weaver, R. J. (1963) : Use of kinin in breaking rest in buds of *Vitis vinifera*. *Nature*, 198 : 207.
- 16) Weaver, R. J. and van Overbeek, J. (1963) : Growth stimulant : New compound effective on grape. *West. Fruit Grower*, 17 : 13.

- 17) Weaver, R. J. and Pool, R. M. (1965) : Relation of seededness and ringing to gibberellin-like activity in berries of *Vitis vinifera*. *Plant Physiol.*, 40 : 770.