#### 科学研究費助成事業 研究成果報告書



平成 26 年 5 月 2 6 日現在

機関番号: 16201 研究種目: 基盤研究(C) 研究期間: 2011~2013

課題番号: 23580043

研究課題名(和文)亜熱帯地域でのブドウ栽培に対応するブドウ新品種の品種特性

研究課題名(英文) The characteristics of the new grape cultivar which can be grown normally in asubtro pical regions

#### 研究代表者

望岡 亮介 (Mochioka, Ryosuke)

香川大学・農学部・教授

研究者番号:20221624

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,700,000円、(間接経費) 810,000円

研究成果の概要(和文): ブドウ果皮の着色は年間で最高温となる時期と重なり、着色に関与する酵素の最適温度が25 であるため、西南暖地では着色障害が発生しやすい。また、ブドウ栽培品種は芽の休眠打破にある程度の低温を必要とするため、亜熱帯地域ではブドウ産業が発達してこなかった。そこで、芽の休眠がなく、高温でも着色に優れる野生種リュウキュウガネブを用いて育成した'香大農R-1'について、沖縄での生育特性を調査した。また、'香大農R-1'やリュウキュウガネブを育種母本として既存の四倍体品種の改良に用いるため、試験で た。リュウキュウガネブ雄株の茎頂培養は今まで成功例がなかったが、今回初めて成功した。

研究成果の概要(英文): Some grapes often cause a coloration disorder in southwest warm places in Japan. The most suitable temperature of the enzyme related to the coloration is 25 degrees Celsius, and the color ation of the grape skin begins at the higher temperature period in the year. As most cultivars require som e chilling hours for breaking bud dormancy, a grape industry did not develop in the subtropical area well. Therefore the characteristics of the new grape cultivar 'kadainou R-1' was investigated in Okinawa and Ka gawa, because this cultivar is the progeny of Japanese wild species Ryuukyuuganebu which has no bud dorman cy and is superior in the coloration even under the high temperature condition.

The methodology of in vitro chromosome doubling was examined for improving common tetraploid cultivars wi

th 'Kadainou R-1' and Ryuukyuuganebu. The shoot tip culture of male Ryuukyuuganebu has not been successful so far, and I could regenerate the plantlets for the first time.

研究分野: 農学

科研費の分科・細目: 生産環境農学・園芸科学

キーワード: ブドウ栽培 亜熱帯地域 野生ブドウ リュウキュウガネブ '香大農R-1'

#### 1.研究開始当初の背景

世界のブドウ栽培地は平均気温が9~21の等温線間に位置し, 亜熱帯地域の沖縄では, 本島北部の今帰仁で数軒, 観光ブドウ園があるに過ぎない. ブドウ栽培が展開しない最大の要因は冬季の低温不足による萌芽, 開花の不揃い・遅延であり, また, 果皮の着色開始時期が夏季の高温期と重なることによる着色障害によるところも大きい.

一方,熱帯・亜熱帯地域でのブドウ栽培においては,東南アジア,台湾等で二期作栽培が行われているが,芽の休眠打破に必要新してあるため,一旦全摘葉してがかいる。申請者は沖縄地方に自生する野生種リンは計を開始させなければならず,労力を利力がかかる。申請者は沖縄地方に自生する野生種リンは手し,西南暖地でも着色性の優れるでは、できる栽培も行われている。本品種で,ブドウのよる栽培も行われている。東求量で,ブドウの栽培地拡大に利用できる可能性が高い。

本研究は,ブドウ栽培の空白地帯ともいうべき沖縄地方で栽培可能なブドウ品種育成を目的としており,その目的達成のため,亜熱帯原産野生プドウを利用するという点が特徴である.

#### 2.研究の目的

現在日本で栽培されているブドウ品種は、 ヨーロッパブドウ Vitis vinifera ,アメリカブド ウ V. labrusca および両種の交雑種 V. labruscana を基に育成されている.ヨーロッ パブドウは夏季に乾燥している気候に適し ているため,わが国のように高温多湿のモン スーン気候では病害が多発し,また果実品質 (特に果皮の着色)の低下が問題となってい る.また,わが国の栽培品種の大半を占める 欧米雑種 V. labruscana は高温による果実品質 の低下に加えて,比較的低温要求量が大きい ため,冬季の温暖化により,萌芽の不揃い, 花芽発達の阻害が懸念される.これらの問題 点は,比較的限定された地域に分布する種を 基にした遺伝資源に頼っているため生じて いる

ブドウ果皮の着色時期は年間で最も気温の高い時期であり,着色に関わる酵素の最適温度は25 だとされているため,真夏日や熱糖夜の続く西南暖地では,果皮の着色障害が発生する.対策として環状剝皮,施設栽培化による高温時期の回避等が行われているが、対症療法であり,根本的な解決になっているがない.また,地球温暖化の影響で,着色障害の発生する地域は拡大,北上している.我がは自生する野生ブドウのリュウキュウガスで、Vitis ficifolia var. ganebu)は亜熱帯地域にある沖縄,奄美地方に分布し,高温耐性にない。高温による果皮の着色障害が発生しない。高温による果皮の着色障害が発生しない。高温による果皮の着色障害が発生しない。また,芽の自発休眠がほとんど認められず,着果習性は四季成り性であることから周年

栽培が期待される.本野生種を育種親とした ・香大農 R-1 'もリュウキュウガネブの特性 を有し,着色性に優れ,四季成り性も認められるため,亜熱帯地域での周年栽培が考えられる.さらに,・香大農 R-1 'に'ベーリー・アリカント A'を交雑した雑種新個体も着色性に優れ,芽の休眠が浅いため,リュウキュウガネブを用いた品種育成は沖縄を含む西南諸島では有用であると考えられた.今まで,リュウキュウガネブを活用したブドウ育種は,・香大農 R-1 '以外では行われていない.

# 3.研究の方法

(1) 沖縄と香川における'香大農 R-1'の生育 差異

沖縄県名護市にある(株)ナゴパイナップルワイナリー管内の圃場に'香大農 R-1'の挿し木苗を定植し,約1か月おきに新梢長,節数を測定した.香川においても同様に,露地栽培の同品種の挿し木苗の新梢長,節数を測定した.

(2) 台木の違いが'香大農 R-1'の生育および 成熟果実に及ぼす影響

香川での露地栽培において,台木別 { 3309 (準矮性台木),リパリア・グロワール・ド・モンペリエ(以下,リパリア・矮性台木),イブリ・フラン(以下,フラン.喬性台木),1202 (喬性台木)} および自根(挿し木苗)の新梢長および節数を(1)に準じて1週間ごとに測定した.また,成熟時に果実糖度,酸度,果粒重,果粒径を測定した.なお,果実糖度はポケット糖度計 PAL-1 (ATAGO),酸度は果汁酸度計 CAM-500(京都電子工業)で測定し,酒石酸換算とした.

(3) 葉果比の違いが'香大農 R-1'の成熟果の 品質に及ぼす影響

香川において,ベレーゾン期直前に1果房当たりの葉の枚数を1,2,4枚に制限し,果房の着生している結果枝基部を1cm 幅で環状剝皮し,成熟時に果実糖度,酸度,果粒重,果房重,果粒径を測定した.

(4) 接ぎ木用器械を用いた接ぎ木技術の改善ブドウの接ぎ木は、根のない台木の枝梢に穂木を揚げ接ぎし、湿らせたオガクズなどの挿し木床に全体を埋めて加温し、接ぎ木部のカルス発生を促しつつ萌芽、発根させ、その後、圃場に定植するのが一般的である・接ぎ木に用いられる足踏み式接ぎ木用器械(Automatic Type)は短時間で多数の接ぎ木が可能であるが、接ぎ木活着率が低いことが指摘されている・

そこで、3月下旬に接ぎ木用器械で接いだ後、圃場に台木部分を挿し木し、接ぎ木部は筒を被せて、筒の中には挿し木用の赤玉土(中粒)を充填して乾燥を防いだ、また、カルス形成には30程度のやや高めの温度が優れているとされていることから(岡本、1997)、筒の外面を黒マルチで被覆(以下、黒マルチ区)、アルミス(以下、対照区)とし

た3処理区を設定し,活着率を調べた.

# (5) '香大農 R-1'の花芽分化時期

実態顕微鏡を用いて,経時的に'香大農R-1'の腋芽を鱗片除皮し,茎頂の観察を行い,花芽分化期を探った.比較に,ヤマブドウ(V. coignetiae),リュウキュウガネブ,シラガブドウ(V. shiragai),エビヅル(V. ficifolia var. lobata),シオヒタシブドウ(仮称.未同定種.中川ら,1991)も調べた.

(6) リュウキュウガネブ雄個体の茎頂培養 現在のブドウに対する消費者の指向性は大 粒,無種子である.大粒系品種の多くは四倍 体であるが、'巨峰'群に偏っているため、交 配による品質改善の幅は狭い.また,着色系 の大粒品種は西南暖地で,より果皮の着色障 害が出やすいため、その改善策としてリュウ キュウガネブとの交配を計画した.しかし. リュウキュウガネブは二倍体なので,まず倍 加する必要がある. Notsuka ら (2000) は茎 頂培養の手法を用いて,効率よくブドウの試 験管内倍加を試みている.筆者も Notsuka ら (2000)の方法に則って,まず,リュウキュ ウガネブの茎頂培養を行ったが, 雄個体の茎 頂培養は植物体再生が不可能であった(望岡 ら,2003). そこで, 雄個体全般が茎頂培養困 難であるかを調べるため、リュウキュウガネ ブ,ケサンカクヅル(V. flexuosa var. rufo-tomentosa),華東葡萄(V. pseudoreticulata) の雄株,台木品種の'ルペストリス・デュ・ ロット'( V. rupestris )を ,1/2MS( Murashige・ Skoog,1962)液体培地,0.01mg・L<sup>-1</sup> ナフタ レン酢酸 (以下, NAA), 0.5mg・L-1 ベンジ ルアデニン(以下,BA),3%スクロース,pH 5.8 の条件で茎頂培養した.

果肉の形質は母系によるところが大きいと考えられ、果粒の小さな野生種は花粉親として用いた方が望ましい.上記の培養条件では植物体再生は不可能であったので、オーキシンを10µM 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(以下,2,4-D)に換え、生育阻害物質の吸着剤として0.05%活性炭、0.01%ベントナイト、1%アンバーライト XAD-4 を添加して、生存率を調べた.また、培養初期における暗黒処理の影響について、暗黒条件下で1か月、その後18時間明期、25条件で培養した.

# (7) リュウキュウガネブ雌個体の試験管内コルヒチン処理

リュウキュウガネブ雌株の茎頂培養は可能であることから(望岡ら,2003), 雌株の試験管内倍加を検討した.培養条件は,初代培地を  $0.01~{\rm mg}\cdot {\rm L}^{-1}{\rm NAA}$  ,  $0.5~{\rm mg}\cdot {\rm L}^{-1}{\rm BA}$  , 3% スクロース添加の  $1/2{\rm MS}$  液体培地とし,葉が 2 , 3 枚展葉した時点で増殖培地( $0.5~{\rm mg}\cdot {\rm L}^{-1}$  BA, 3% スクロース,0.8%寒天添加の  $1/2{\rm MS}$  固形培地)に継代した.増殖培地で増殖した小植物体を 1 節ごとに切り分け,以下の 2 処理を行った.

0.05%コルヒチン含有の 1/2MS 液体培地 (0.5 mg・L<sup>-1</sup> BA,3%スクロース添加)で 5 日,10日,15日振盪培養(120rpm)し,それぞ れの処理時間後,滅菌水で洗浄し,新たな増殖培地に継代した.

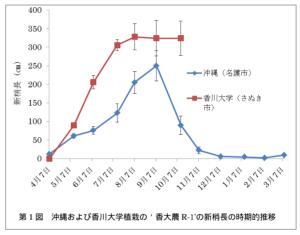
Notsuka ら (2000) の方法を基にした 1/2MS 固形培地(0.5mg・L<sup>-1</sup> BA,0.8%寒天,3%スクロース,0.05%コルヒチン添加)で,小植物体の腋芽を寒天培地に埋没させ,24時間,36時間培養し,と同じく,それぞれの処理時間後,滅菌水で洗浄し,新たな増殖培地に継代した.

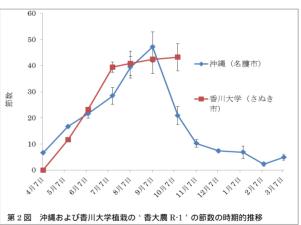
コルヒチン処理後,培養植物体が四倍体化 したかどうかは,発生した根の太さで判断した。

# 4. 研究成果

## (1) 沖縄と香川における'香大農 R-1'の生育 差異

両地区での新梢長の時期的推移を第1図に, 節数の時期的推移を第2図にそれぞれ示した.



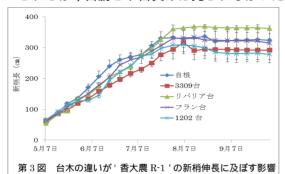


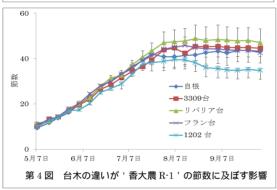
新梢伸長と節数の増加パターンは似ていた.香川では7月には新梢伸長はほぼ止まったのに対し,沖縄では9月まで伸長は続いた.その後は,新梢上のすべての葉が完全に離脱することはなかったが,新梢伸長は鈍化,または停止し,新梢先端部の枯死,ナメクジ等の食害により新梢長および節数は減少した.(2)台木の違いが、香大農 R-1、の生育および成熟果実に及ぼす影響

台木による新梢伸長の影響を第3図に,節数の推移を第4図に記した.いずれの台木または自根樹も7月~8月には新梢伸長が停止したが,自根樹では伸長停止時期まで新梢伸

長旺盛であった.矮性台木とされるリパリア台では7月まで新梢の伸長が抑えられていたが,8月以降は生育がかえって旺盛になり,矮性効果はあまり期待できなかった.喬性台木であるフラン台は8月まで自根樹より新梢伸長は抑制的であったが,8月以降は自根樹とほぼ同じであった.

看性台木である 1202 台は新梢伸長,節数が抑えられた.接ぎ木不親和の可能性も考えられるが,台勝ちや台負けは見られなかった.





台木の違いによる果実品質の影響は第1表に記した.新梢伸長がやや劣った1202台の果実以外は,果粒重や果粒径に大きな違いは見られなかった.果汁糖度,酸含量においては,リパリア台が最も優れた.糖度の一番低い1202台においても17.3°を示したことから,、香大農 R-1'の高糖度の形質が確認された.

第1表 台木が'香大農 R-1'の果実品質に及ぼす影響

6.1	果粒重	果粒径	果汁糖度	酸含量 <sup>z</sup>	wet TAII.
台木	(g)	(mm)	(· Brix)	(%)	糖酸比
自根	1.1	12.3	20.4	0.7	30.9
3309	0.9	11.6	18.0	0.8	22.3
リパリア	1.0	12.1	21.3	0.6	37.3
フラン	1.1	12.6	20.8	0.8	26.7
1202	0.6	10.5	17.3	0.7	23.8

²∶酒石酸換算

(3) 葉果比の違いが'香大農 R-1'の成熟果の 品質に及ぼす影響

葉果比の違いによる果実品質への影響については,第2表に示した.果粒重,果粒径において葉果比の違いによる影響は見られ

なかったが,果汁糖度については,葉果比が 大きくなるにつれ高まる傾向にあった.

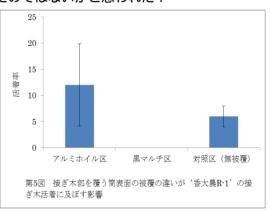
果実の品質については,葉果比2以上であれば,品質に悪影響を及ぼさないものと思われた.

第2表 葉果比の違いが'香大農 R-1'成熟果実の品質に及ぼす影響

葉果比	果粒重	果粒径	果汁糖度	酸含量 <sup>z</sup>	糖酸比
	(g)	(mm)	(· Brix)	(%)	
1	1.3	12.5	19.4	1.0	19.8
2	1.3	12.5	20.0	1.0	21.0
4	1.3	12.4	20.7	0.9	23.8
対照区	1.4	12.9	21.2	0.8	26.5

z:酒石酸換算

(4) 接ぎ木用器械を用いた接ぎ木技術の改善接ぎ木部分を覆う筒の違いによる活着率の差異は第5図に表した.最も活着率の高かったのはアルミ区であった. 黒マルチ区は活着しなかった.その原因として,黒マルチ区では,筒内の地温が上がりすぎたことが考えられる.ブドウ接ぎ木部のカルス形成促進には30 くらいのやや高温で管理するのが良いとされていることから(岡本,1997),黒マルチ区では筒内の温度が高くなりすぎたのではないかと思われた.



(5) '香大農 R-1'の花芽分化時期 各プドウの花芽分化期の結果は第3表に記 した.'香大農 R-1'は4月中旬に展葉期を向 かえ,6月中旬が満開期であった.

第3表 各プドウの花芽分化時期

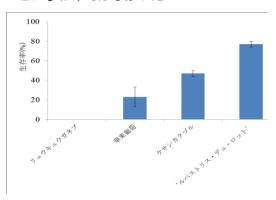
かって ロントンの化タガーの分割					
	6月6日	6月13日	6月20日	6月27日	
香大農 R-1					=8月2日
ヤマブドウ					
リュウキュウガネ	プ				=8月2日
シラガブドウ					
エビヅル					
シオヒタシブドウ	(仮称)				

次年度の花芽の分化期は6月6日で,6月20日に小穂形成の兆候と思われる小突起を認めた.8月には複数の小穂が見られた.節数と比較すると,花芽分化期は15節であった.

'香大農 R-1'の花芽分化期,小穂形成期は,種子親であるリュウキュウガネブと似ていた.

(6) リュウキュウガネブ雄個体の茎頂培養

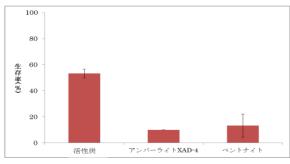
ブドウの雄個体が全般的に茎頂培養困難であるのか調べたのが第6図である.リュウキュウガネブは通常の培養条件では培地に置床後,褐変枯死し,植物体再生は見られなかったが,その他の雄個体は約20~80%の生存率を示し,培養難易度には種類による違いが存在し,雄個体全般が茎頂培養困難であるというわけではなかった.



第6図 異なるブドウ雄個体が茎頂培養における生存率に及ぼす影響

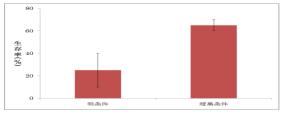
#### バーは標準誤差

2,4-D 添加培地での吸着剤添加効果の結果は第7図に示した.アンバーライト XAD-4,ベントナイトでの生存率が 10%前後と低いのに対し,活性炭は53%であった.



第7図 異なる吸着剤が雄個体の茎頂培養生存率に与える影響

初期培養の 1 か月間,暗黒条件下に置き,その後 18 時間明期で培養した場合は,茎頂の生存率が65%となり,継続して明条件下で培養するよりも有意に生存率が高くなった(第8図).

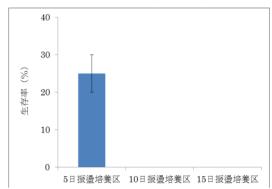


第8図 培養初期の光条件が雄個体の茎頂生存率に及ぼす影響

以上のことから,リュウキュウガネブ雄個体はオーキシンが NAA では反応が悪く,より活性の強い 2,4-D を使う必要があることがわかった.また,生存率向上には生育阻害物質吸着剤として活性炭を用い,培養初期に暗黒条件にすることが有効であることがわかった.

(7) リュウキュウガネブ雌個体の試験管内コルヒチン処理

コルヒチン処理5日区では25%の生存率であったが、10日区および15日区では生存個体は認められなかった(第9図).



第 9 図 異なる日数がコルヒチン液体培地振盪処理による生存率に及ぼ

#### す影響

倍加した個体は,元の個体(二倍体)に比べ,細根の直径が約0.2mm程度太くなるとされている(本杉・寺島,2005)が,生存個体を増殖培地に継代し,発生した根を観察したところ,細根は元の個体と変わらなかった.

24 時間区,36 時間区ともにすべての個体が生存した.生存個体のうち,大半が新梢の伸長,発根が起こったが,発生した細根は元の二倍体のものと変わらなかった.そのため,生殖器に関わる L2 層,根に関わる L3 層は倍加していないと判断した.

第4表 コルヒチン処理がリュウキュウガネブ・シュート再生に及

ぼす影響

処理時間	生存率	新梢伸長個体率	発根率
	(%)	(%)	(%)
24 時間	100	83.3	83.3
36 時間	100	73.3	73.3

# 引用文献

望岡亮介・濱路資治・小野由布子.2003.茎 頂培養による数種東アジア原産野生ブドウ の植物体再生の難易度.日本ブドウ・ワイ ン学会誌14:64-71.

本杉日野・寺島修平、2005、ブドウ台木 4 倍 体の根系の形態、根の研究 14 (4). 第 23 回根研究集会発表要旨、

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with

tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.

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.

Notsuka, K., T. Tsuru and M. Shiraishi. 2000. Induced polyploidy grapes via *in vitro* chromosome doubling. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 69: 543-551

岡本五郎 .1997 .ブドウ栽培の基礎知識 I 繁殖と育苗 , 定植 .日本ブドウ・ワイン学会誌 8:112-118.

5 . 主な発表論文等

(研究代表者,研究分担者及び連携研究者に は下線)

### 〔雑誌論文〕(計5件)

- 1. <u>望岡亮介</u>. 2014. 赤ワイン用ブドウ新品種'香大農 R-1'(リュウキュウガネブבマスカット・オブ・アレキサンドリア')の品種登録. 香川大学農学部学術報告 66:5-16. 査読無.
- 2. <u>望岡亮介</u>.2013.フルーツファイル# 003・亜熱帯原産野生ブドウ「リュウキュウガネブ」.果物月報 59(8): 8-10. 査読無.
- 3. <u>望岡亮介</u>.2012.知っていたい,こんな 品種(68)亜熱帯原産野生ブドウ「リュ ウキュウガネブ」.果実日本 67(9):13 -16.査読無.
- 4. <u>望岡亮介</u>・黒田絵美・高木理美、2012 . 希少糖がブドウの芽の休眠打破に及ぼす 影響 . 農業生産技術管理学会誌 19:19 -24. 査読有 .
- 5. Rijal, M., <u>R. Mochioka</u>, K. Beppu, P. R. Poudel and I. Kataoka. 2011. Effects of rare sugars, methionine, and sea water on 'Kyoho' grape bud dormancy release. Journal of ASEV Japan 22: 127 132. 查読有.

# [学会発表](計5件)

- 1. 渡邉茉利・<u>望岡亮介</u>・上羽裕樹 . 2013 . 培養困難な日本原産野生ブドウ・リュウキュウガネブ雄株の培養条件の検討 . ASEV 日本ブドウ・ワイン学会 2013 年大会 .
- 2. 小山和哉・沼田美子代・<u>望岡亮介</u>・上垣 内宏司・後藤(山本)奈美.2013.国産 ブドウ品種のフェノール化合物組成の特 徴.ASEV 日本ブドウ・ワイン学会2013 年大会.
- 3. 桧田涼子・谷本雄亮・藤井奈々・根岸友恵・岡本敬の介・<u>望岡亮介</u>・有元佐賀恵. 2013.ヤマブドウ,リュウキュウガネブ, およびヤマブドウ成分による脂質過酸化 抑制および皮膚炎症抑制.第20回日本がん予防学会.
- 4. 釘宮伸明・福田賢二・中尾浩二・古屋浩 ニ・小野哲夫・<u>望岡亮介</u>. 2012. ブドウ

属野生種エビヅルを用いた醸造用ブドウの育種について. ASEV 日本ブドウ・ワイン学会 2012 年大会.

5. <u>望岡亮介</u>・小野 慧. 2012. ワイン用ブ ドウ'香大農 R-1'の新梢生長および果実 品質に及ぼす台木,葉果比の影響. 園芸 学会平成 24 年度春季大会.

[図書](計0件)

#### [産業財産権]

○出願状況(計2件)

名称:Kagawa Univ. Original Cultivar R-1 発明者:永冨太一・望岡亮介・片岡郁雄・板 倉宏昭・倉増敬三郎

権利者:香川大学長

種類:商標

番号: 2013 - 20580

出願年月日: 2013年3月22日

国内外の別: 国内

名称:香大農 R-2 発明者:望岡亮介 権利者:香川大学長

種類:種苗 番号:26829

出願年月日:2013年3月12日

国内外の別: 国内

取得状況(計件)

名称: 発明者: 権利者: 種類:

番号: 取得年月日: 国内外の別:

〔その他〕 ホームページ等

- 6. 研究組織
- (1)研究代表者

望岡 亮介 (MOCHIOKA Ryosuke)

香川大学・農学部・教授 研究者番号:20221624

(2)研究分担者

( )

研究者番号:

(3)連携研究者

( )

研究者番号: