

ブドウ巨峰の着色とアントシアノプラスト

宮城県農業短期大学 中村正博

はじめに

巨峰は、大粒で、成熟すると黒紫色を呈し、その優れた品質から一般に広く消費され、栽培も全国的に行われている。しかし、着色期高温が続く地帯や着果が多い場合など、着色不良になりやすい。一方、市場では着色の良否が価格に大きく反映されるため、黒紫色の巨峰を生産することは栽培者の主要な目標の一つになっている。

筆者は、1986年巨峰の着色の研究中、顕微鏡での果皮観察から、成熟した巨峰の果皮細胞の液胞内により濃く着色した小球体を見だし、アントシアノプラストと呼称することにした。アントシアノプラストという言葉は、1980年、アカキャベツの実生の液胞内に同様の小球体を見だした Pecket & Small (4) によって提唱されたもので、彼らは自らの研究と文献検索から33科70種以上で上記の小球体が見られるとしている。そのリストの中にブドウは含まれていないが、彼らのアカキャベツでの研究から、筆者はブドウにおけるものと同様なものと判断し、上記小球体にアントシアノプラスト（以下 ACP）という呼称を用いた。筆者の観察では、ACP はワイン用品種を含む他の黒色系ブドウでも同様に認められる。

本稿では、巨峰の着色期果皮着色細胞内に出現する ACP について、その出現と性質を中心に解説する。

1. 果皮の着色と ACP の出現

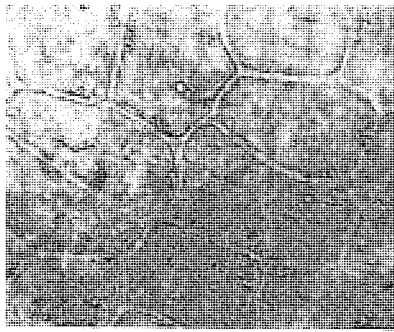
巨峰の果粒は、開花して着果後急速に肥大・生長し、その硬さを増す。しかし、着色直前のベレーゾン期になると急速に軟化してクロロフィルが壊れ、内部の維管束が見えるほど果皮は透けて

くる。このころから果皮細胞の液胞内にアントシアニンが生成され着色が始まるが、着色初期には液胞は全体がうっすらと赤色に染まっているのみで、ACP の出現はない。着色開始約 1 週間後、ACP は初めて着色細胞の液胞内に出現する（第 1 図）。この時期 ACP を含む細胞はまばらに存在するが、まもなくほとんどの着色細胞が ACP を含むようになる。出現初期の ACP は液胞と比較して小さく、色も赤色で液胞より極端に濃い色ではない。ACP は出現初期、一時的に多数出現するが、その後数が減少する。

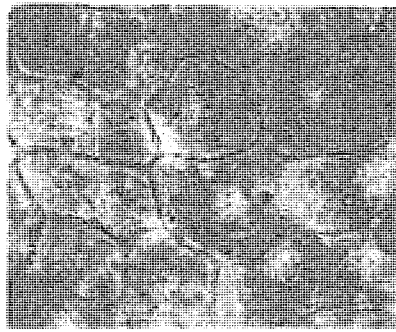
2. 着色の変化と ACP の発達

着色開始後、巨峰の果皮色は赤紫色から赤褐色、黒紫色へと変化する。ACP は、その出現後、着色の変化とともに細胞内で 1 つが徐々に肥大し、色も赤色から黒色に変化する（第 1 図）。しかし、その間も小さな赤色の ACP は出現し続け、液胞内で活発に動く。9 月下旬以降になると、細胞当たり ACP の数はその肥大と反比例して減少する。10 月中・下旬の収穫期ころには、小さな ACP はほとんどなくなり、肥大した 1 つの ACP が果皮表皮細胞最大直径の約 $1/2$ ($23\mu\text{m}$) ほどに発達して液胞の大部分を占めるようになる (1)。一方、液胞はこの時期 ACP の発達とは対照的に色が薄くなり、ほとんど透明なものも出現する (第 1、2 図)。

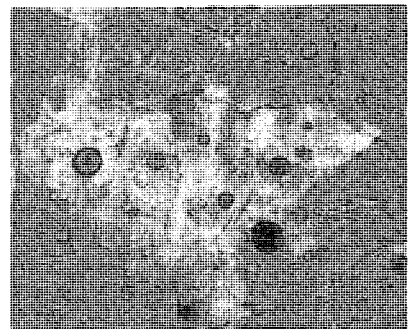
赤色系の紅伊豆で ACP の出現・肥大状況を観察すると、その出現時期は巨峰と大して変わらなかったが、ACP は収穫期に至るまで終始赤色のままで、10 月に入って数の減少と若干の肥大はあったものの、巨峰のように急速に 1 つが肥大す



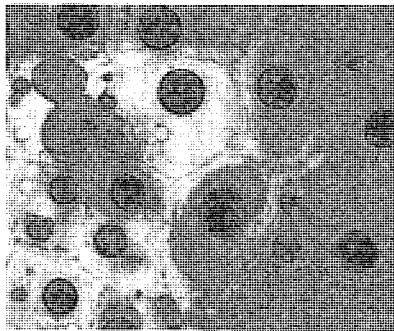
9月1日



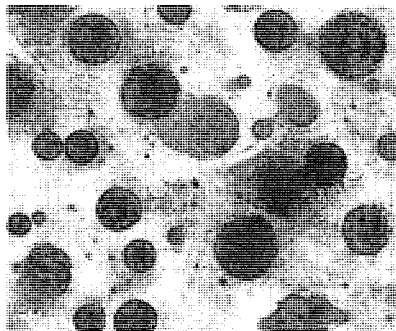
9月5日



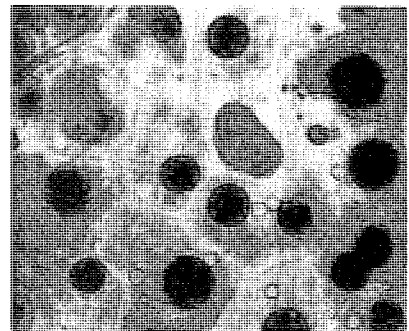
9月12日



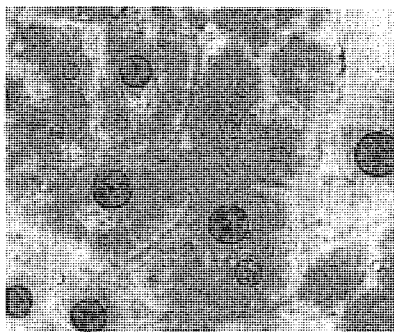
9月19日



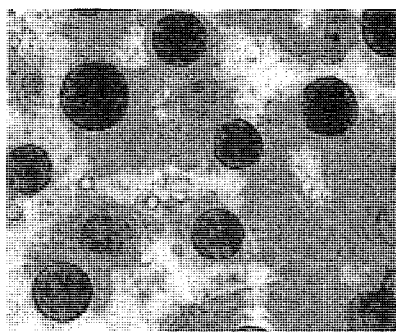
9月26日



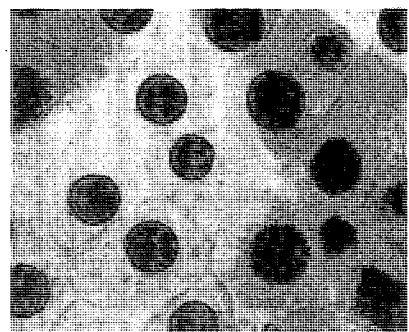
10月3日



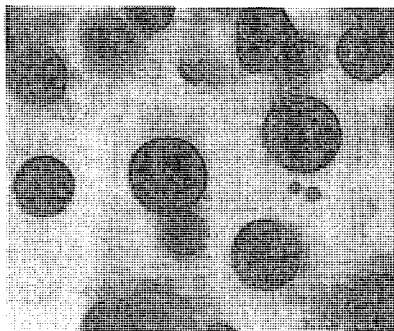
10月10日



10月13日

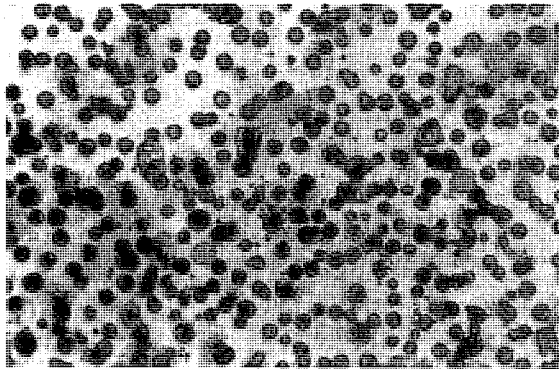


10月17日



10月20日

第1図 巨峰果皮表皮細胞における ACP の発達
(着色開始: 8月29日、ACP 出現: 9月5日)



第2図 成熟期における巨峰果皮表皮細胞

ることはなく、10月中・下旬の収穫期でも巨峰の約半分程度 ($11\mu\text{m}$) にしかなかった(1)。また、アントシアニン量は巨峰と比較して少なく、収穫時でも巨峰の1/6程度であった。

このように、上記の観察結果から、ACPの発達が巨峰の黒紫色への変化と密接に関わっている

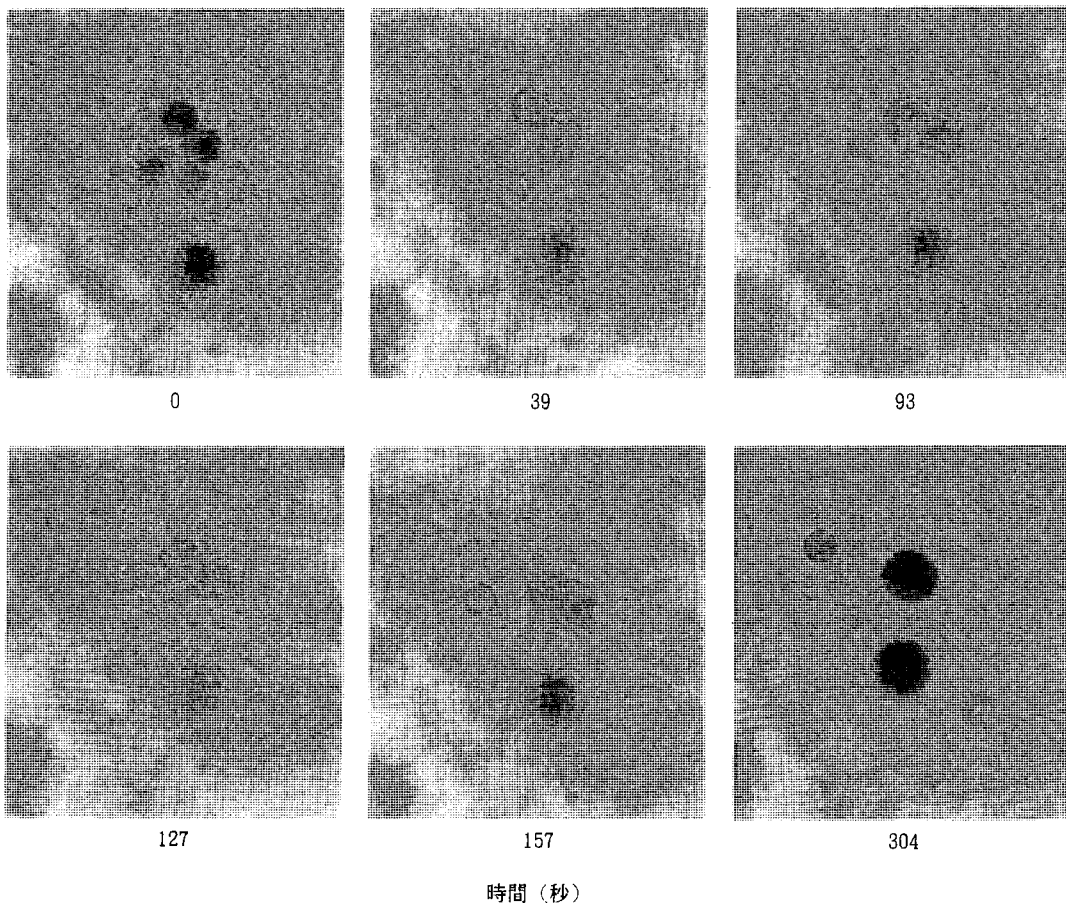
ことが示唆された。

3. ACPの融合

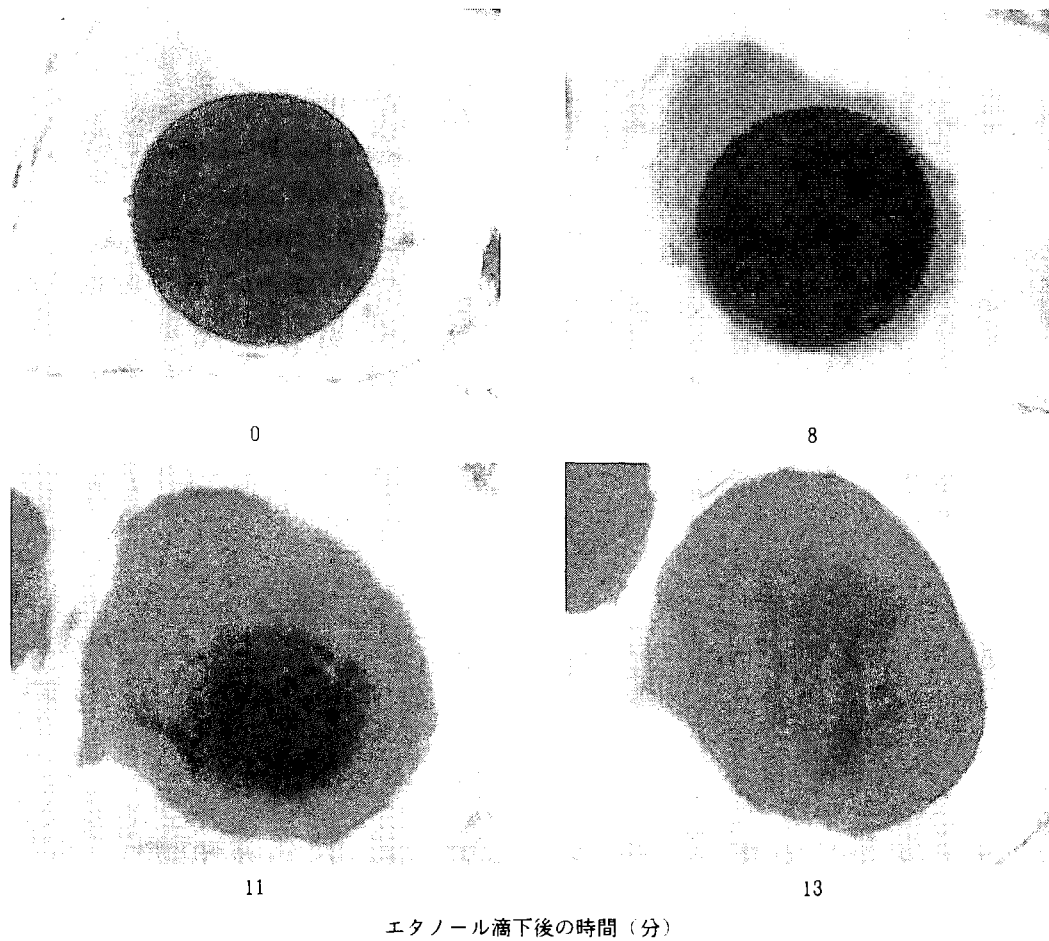
成熟した果粒の果皮を顕微鏡下で観察すると、赤色のACPが油滴のようにお互いに短時間に連続して融合するのが見られる。第3図はその様子を示したものであるが、最初の融合は約1分30秒で終了している。融合後のACPは、大きさが融合前のACPの体積を加えたものに等しく、色も濃いものとなる。こうして、ACPは着色の進行に伴ってお互いに融合しながら1つに集束、肥大していく(2)。

4. ACPの崩壊と液胞

成熟した巨峰の、ほとんど透明になった液胞内に発達した黒色のACPを含む果皮細胞組織にエ



第3図 ACPの融合(果皮表皮第2層細胞)

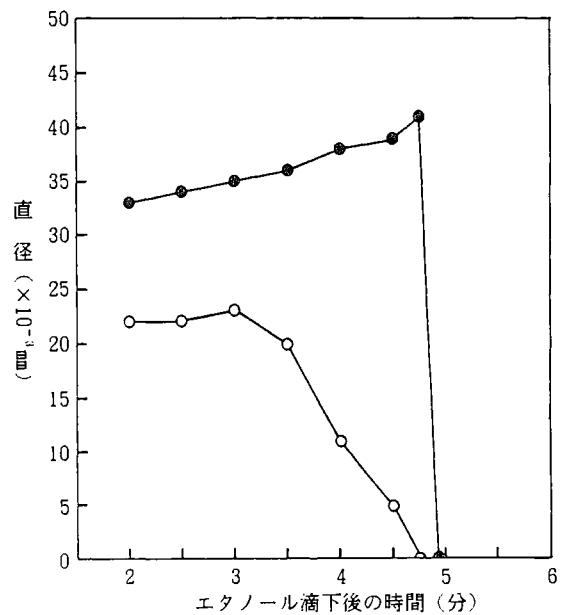


第4図 エタノール滴下後の ACP と液胞の変化 (果皮表皮細胞)

タノールを滴下・浸透させると、ACP は徐々に崩壊・消失する。その際、ACP から赤色のアントシアニンが漏出し、液胞は赤色に染まる (第4図)。まもなく、ACP は壊れて急速に縮小し、その痕跡はほとんど確認できなくなる。液胞は ACP からのアントシアニンの漏出に伴って徐々に拡大し、ACP 消失直後破裂する (第5図)。なお、ACP も崩壊直前わずかに拡大する。このように、エタノールによる ACP と液胞の崩壊パターンは異なっており、液胞のそれは風船が破裂するように瞬間的であり、一方、ACP は数分を要して風船から空気が抜けるように縮小・消失する (第5図、2)。

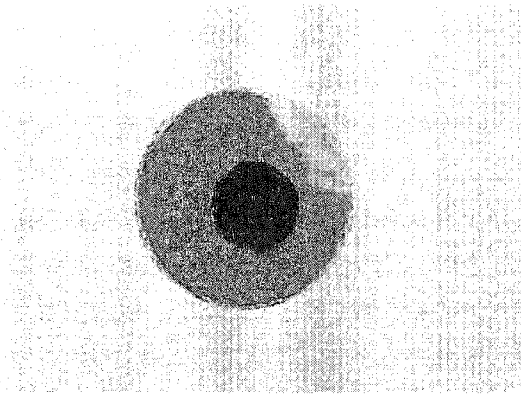
5. ACP と膜

成熟した巨峰の果皮組織をペクチナーゼ、セル



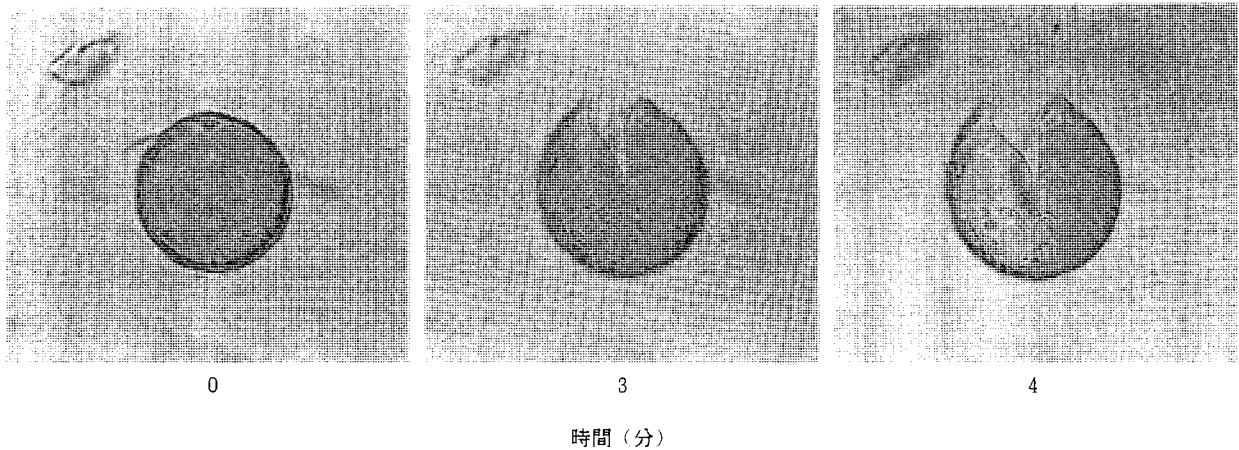
第5図 エタノール滴下後の液胞 (●) と最大 ACP (○) の直径の変化 (果皮表皮細胞)

ラーゼを含む酵素液に浸すと液胞内に ACP を含むプロトプラストができる (第 6 図)。浸す時

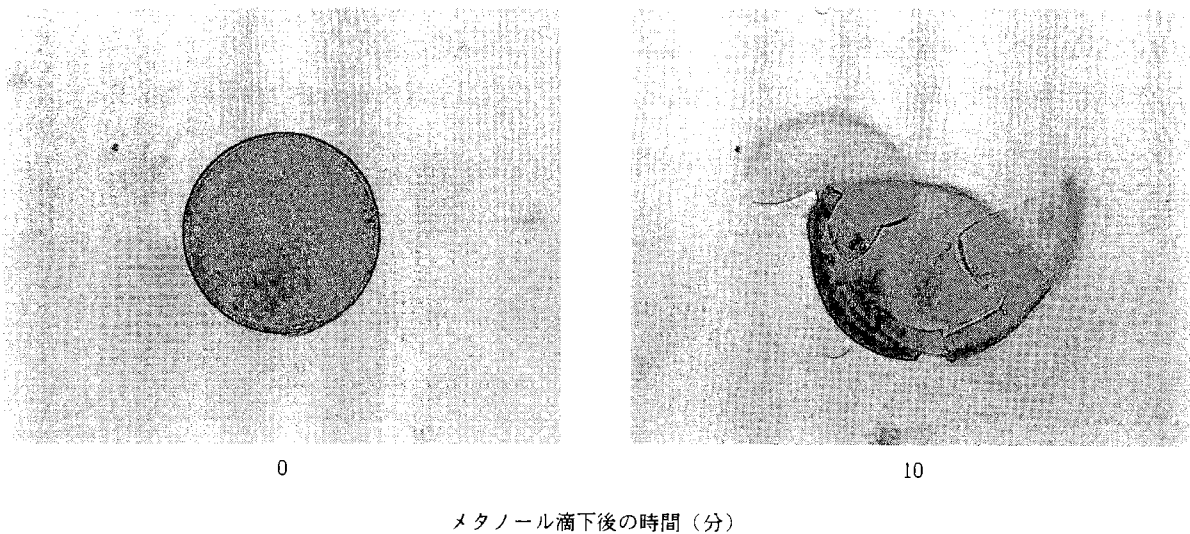


第 6 図 ACP を含む果皮細胞のプロトプラスト

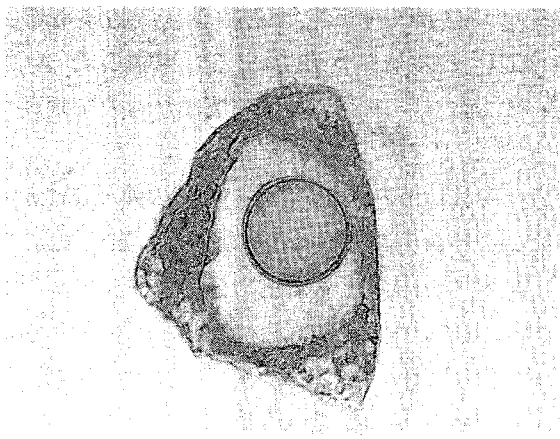
間をさらに長くすると、細胞膜、液胞膜も壊れて ACP そのものが単離する。単離した ACP で、すでにアントシアニンが抜けたものを観察すると、ACP の一部 (おそらくアントシアニンが抜けた部分) から亀裂が入り、球状の膜が裂けるように亀裂は数分間で徐々に広がった (第 7 図)。また、単離した ACP でまだ十分アントシアニンが抜け切れていないものにメタノールを滴下すると、ACP は数分後に亀裂が入り裂開したが、その破片は透明な輪郭のはっきりした膜状のものであった (第 8 図)。第 9 図は酵素液中のアントシアニンの抜けた細胞を示したものであるが、液胞内にアントシアニンが抜けて輪郭のはっきり



第 7 図 単離した ACP の変化 (すでにアントシアニンが抜けている)



第 8 図 単離した ACP のメタノール滴下後の変化



第9図 酵素液中で色素の流出した果皮細胞
(液胞中に ACP)

した ACP がほぼ完全な形で残っていた。こうした観察から、また、前出の ACP からのアントシアニンの漏出状況から、ACP はアントシアニンが膜によって囲まれたものと考えられた。なお、酵素液中で単離した ACP の破壊と、果皮組織にエタノールを滴下・浸透させた場合の ACP の崩壊の仕方とは異なるが、この点については現在検討中である。

6. ACP とアントシアニン

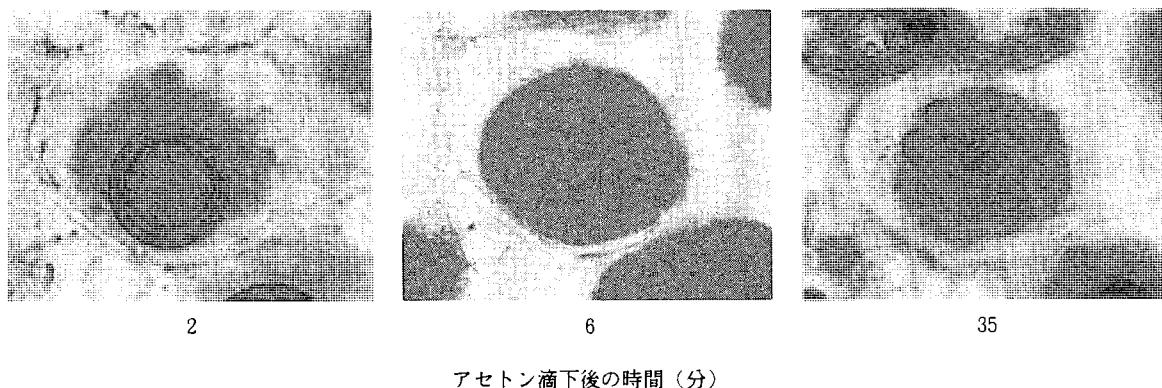
前出と同じほとんど透明に近い液胞内に発達した ACP を含む果皮表皮細胞にアセトンを滴下・浸透させると、ACP の崩壊・消失までの様子は前述のエタノールの場合と同様であったが、液胞膜は壊れなかった。さらに観察を続けると、滴下数十分後同一液胞内に再び小さな ACP が出現

し、これらは融合を繰り返して数を減じ、肥大した(第10図)。この過程を通じて、再び液胞内のアントシアニンは ACP に吸収され、液胞は透明になった。こうした観察から、ACP の形成によって液胞内のアントシアニンは ACP に取り込まれ、それらの継続した融合・集束によってアントシアニンは1つの ACP の中に濃縮されていくものと考えられた(2)。事実、成熟期の発達した黒色の ACP を含む果皮表皮細胞の液胞は透明または透明に近くになっているが、以上のような実験的観察から、その機構は、上記 ACP のアントシアニンを取り込む性質によるものと考えられた。

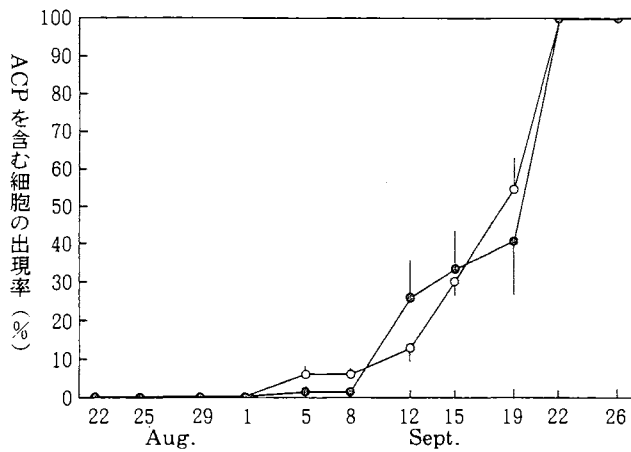
Pecket & Small (4) は、アカキャベツの実生細胞で、ほとんど透明に近い液胞内に小さな赤い vesicles (小泡) が出現、融合して ACP に発達し、さらに、ACP は肥大するにつれてアントシアニンが液胞内に漏れ、液胞は徐々に着色したとし、ACP はアントシアニンを合成する場ではないかとしている。その後、「ACP はアントシアニン合成の場」とする考えを支持する論文が(5、6、7)出されたが、筆者の巨峰での観察からは、そうした考えを支持するデータは得られなかった。

7. ACP の出現と肥大における表皮細胞と表皮下細胞の違い

これまで述べた筆者の観察結果は主として果皮



第10図 アセトンに滴下後の ACP の変化(果皮表皮細胞)



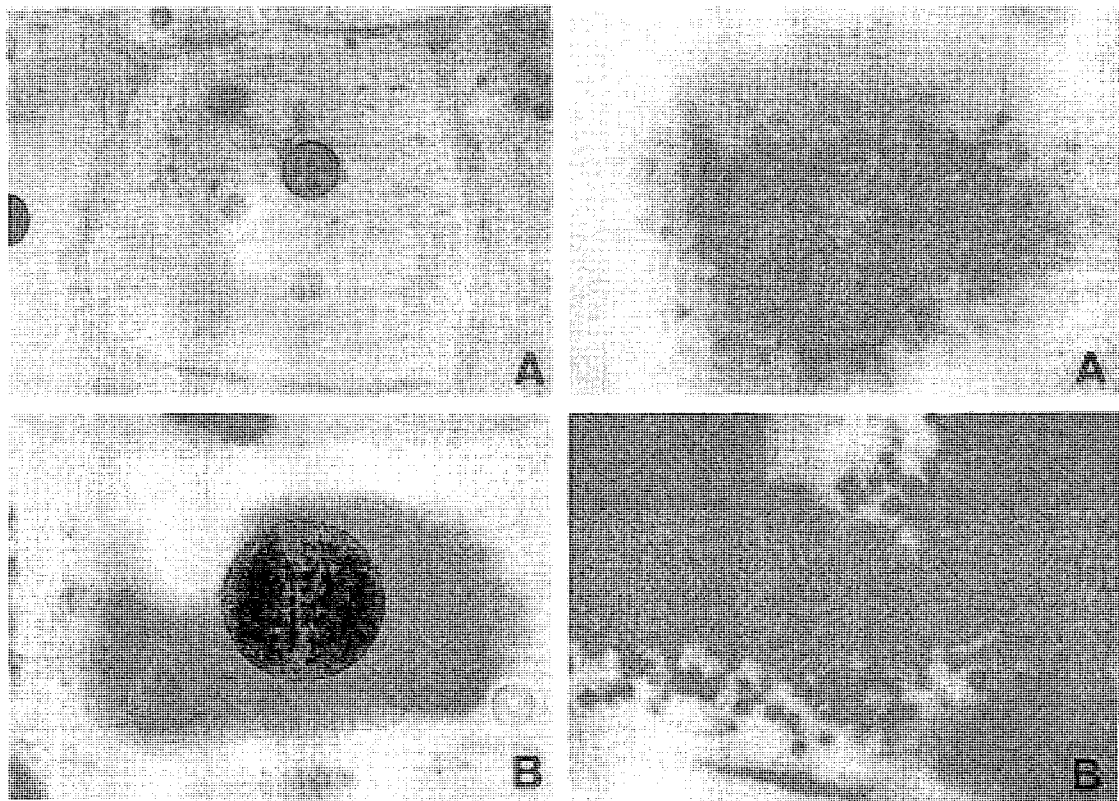
第11図 果皮表皮細胞 (●) と表皮下第2層細胞 (○) における ACP を含む細胞の出現率の変化

表皮細胞で行ったものである。しかし、巨峰の果皮細胞は表皮とその下4～5層の細胞組織からなっており、表皮下の細胞では ACP の存在様式が表皮細胞のそれとは若干異なる。以下は、表皮下細胞として表皮下第2層細胞を用い、ACP の存在様式を表皮細胞と比較したものである。

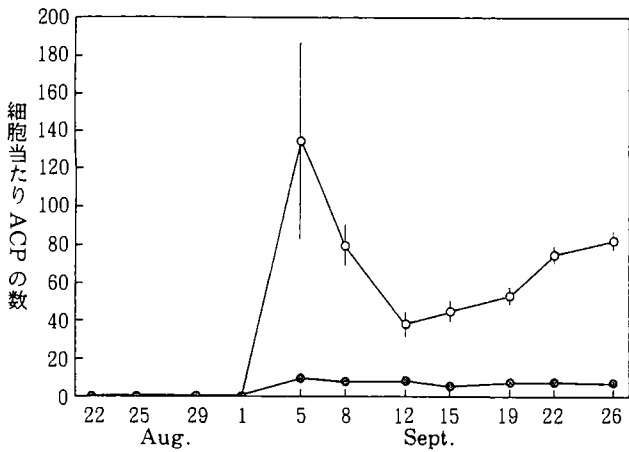
果皮の着色開始後、ACP 含有細胞の出現状

況は表皮細胞と表皮下第2層細胞とではほぼ同様であったが (第11図)、ACP 出現細胞当たりの ACP の数は両者で大きく異なった (第12図)。着色開始後、初めて ACP の出現が認められた時点での ACP の数は表皮細胞が10個、表皮下第2層細胞が135個、ACP 含有細胞の割合が100%に達した時点でもそれぞれ8個と74個であった (第13図)。また、表皮下第2層細胞では ACP の出現始めの時期に最も多数の ACP が認められている。

ACP 出現後、細胞内で一番大きな ACP (最大 ACP) とそれ以外の ACP (その他の ACP) とに分けてその大きさを調べていくと、最大 ACP は表皮細胞、表皮下第2層細胞いずれもほぼ同じように肥大していく (第14図)。一方、その他の ACP は、表皮細胞では最大 ACP の肥大とともにわずかつ肥大が見られるが、表皮下第2層細胞ではほとんど肥大が見られない。これは、表皮下第2層細胞では絶えず小さな ACP が新た



第12図 果皮表皮細胞 (左) と表皮下第2層細胞 (右) における ACP (A : 9月12日、B : 9月26日)

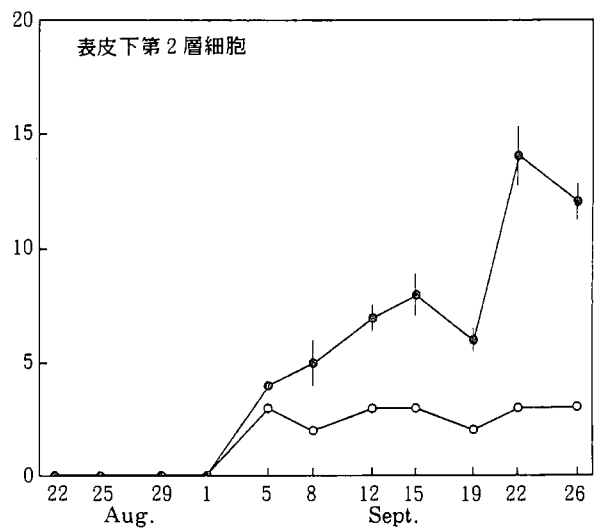
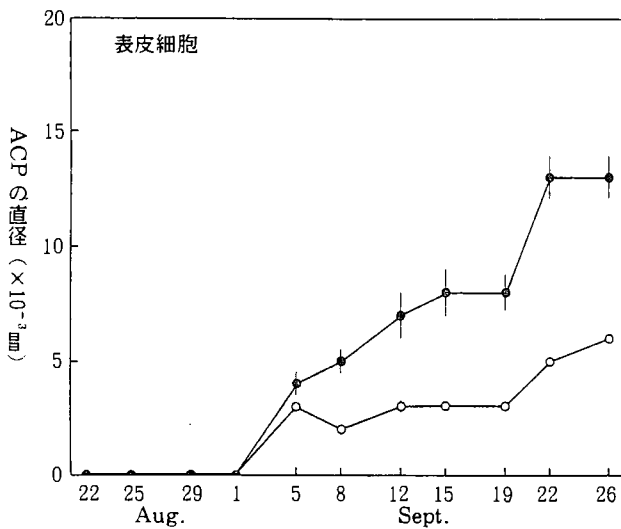


第13図 果皮表皮細胞 (●) と表皮下第2層細胞 (○) における ACP の数の変化 (ACP 出現細胞)

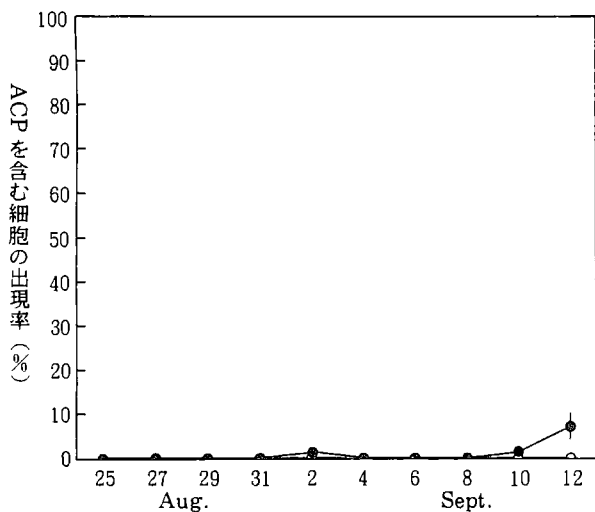
に作られているためと考えられる。

8. アントシアニン合成と ACP

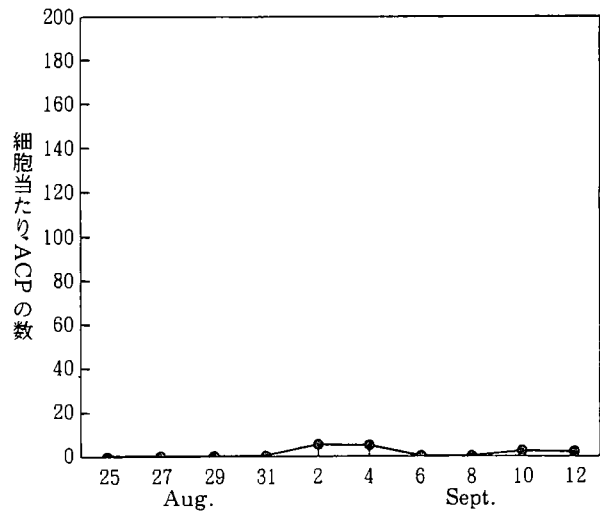
着色開始直前に採取した果粒を白色蛍光灯の連続照射下 (20℃)、ショ糖のみ添加した寒天培地上で培養すると、果皮はまもなく急速に着色してくるが、培養期間を通じて ACP の出現はほとんど見られなかった (第15、16図)。しかし、培養4日後アントシアニン量は露地果粒において最初に ACP が出現したときのアントシアニン量よりも多く、培養10日後では露地果粒で ACP の出現割合が100%に達した時のアントシアニン量の約



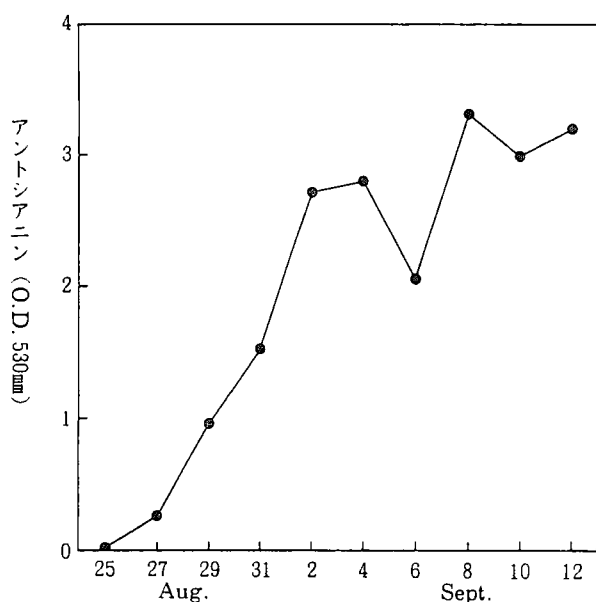
第14図 果皮表皮細胞と表皮下第2層細胞における ACP の大きさの変化 (●: 最大 ACP、○: その他の ACP)



第15図 培養した果粒の果皮表皮細胞 (●) と表皮下第2層細胞 (○) における ACP を含む細胞の出現率の変化



第16図 培養した果粒の果皮表皮細胞における ACP の数の変化 (ACP 出現細胞)



第17図 培養した果粒の果皮におけるアントシアニン量の変化（8月23日培養）

2倍もあった（第17図、3）。これらの実験結果は、Pecket & Small を初めとする何人かの研究者の「ACP はアントシアニン合成の場」とする考え方とは異なり、筆者の「ACP はアントシアニンを吸収する場」とする考え方を支持するものである。

9. ACP の作出

着色不良果の ACP を含まない果皮表皮細胞に顕微鏡下でアルカリ液を滴下・浸透させると、アルカリ液の浸透した細胞では赤色のアントシアニ

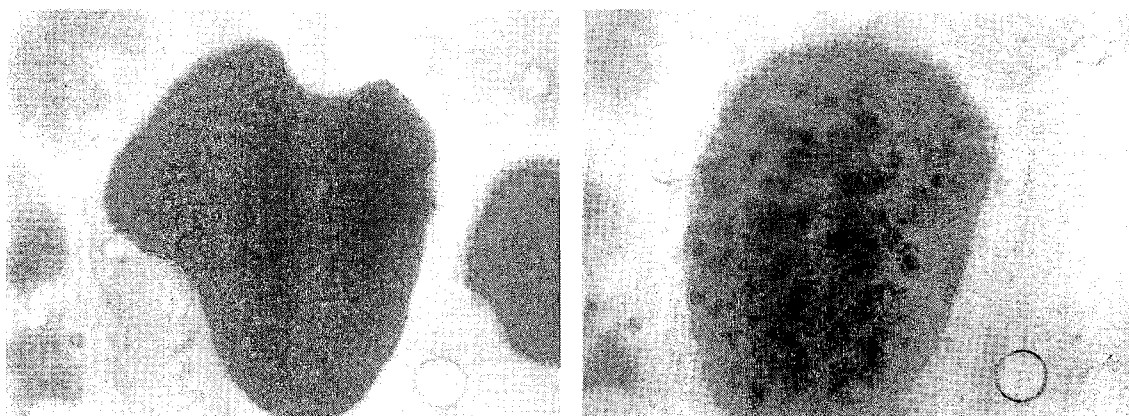
ンが青色に変わるとともに液胞が大きく変形して壊れ、細胞は死んだが、液胞が壊れる直前きわめて多数の小さな ACP が一時的に形成された（第18図）。ACP はまもなく液胞の崩壊とともに消失したが、上記の結果は、ACP の形成と液胞膜が何らかの関わりを持つことを強く示唆している。前出のアセトンを滴下・浸透させた場合でも液胞が壊れず残っていてそこに再び ACP が出現した。また、以後の実験においても、そうした考えを支持するいくつかの結果が得られている。

おわりに

以上、ブドウ巨峰における ACP の発見からその出現様式、性質、アントシアニンとの関わり等、いくつかの項目に分けて筆者の実験結果に基づきその概略を解説してきたが、ACP は巨峰の黒紫色への着色の変化と深く関わるものであり、また、アントシアニンの集積という観点からも興味深いものである。ACP について、本研究から明らかになったところはまだ一部に過ぎず、その全体像は今後の研究に待つところが大きい。しかし、その解明は多くの可能性を含むものと考えている。

文 献

1. 中村正博. 1989. ブドウ '巨峰' の着色とアントシアノプラストの発達. 園学雑. 58



第18図 アルカリ液滴下による ACP の出現（左：滴下前果皮表皮細胞、右：滴下後同一細胞）

- (3): 537-543.
2. 中村正博. 1993. ブドウ '巨峰' のアントシアノプラスト. 園学雑 62 (2): 353-358.
 3. 中村正博. 1994. ブドウ '巨峰' 果皮におけるアントシアノプラストの分布と形成. 園学雑. 62 (4): 717-723.
 4. Pecket, R. C. and C. J. Small. 1980. Occurrence, location and development of anthocyanoplasts. *Phytochemistry* 19: 2571-2576.
 5. Small, C. J. and R. C. Pecket. 1982. The ultrastructure of anthocyanoplasts in red -cabbage. *Planta* 154: 97-99.
 6. Yasuda, H. and Y. Tsujino. 1988. The studies on the spherical bodies containing anthocyanins in plant cells, II. The effects of light on the pigmentation of spherical bodies in the seedling hypocotyls of the radish plant. *J. Fac. Sci., Shinshu Univ.* 23: 1-6.
 7. Yasuda, H. and H. Shinoda. 1985. The Studies on the spherical bodies containing anthocyanins in plant cells. I. Cytological and cytochemical observations on the bodies appearing in the seedling hypocotyls of radish plants. *Cytologia* 50: 397-403.