

## [研究報文]

‘カベルネ・ソービニオン’ 培養果実のアントシアニン蓄積に  
おける波長域別の光条件

片岡郁雄<sup>1</sup>・織田邦和<sup>1</sup>・別府賢治<sup>1</sup>・柳 智博<sup>1</sup>・望岡亮介<sup>2</sup>・斉藤 浩<sup>3</sup>・岡本研正<sup>4</sup>

<sup>1</sup>香川大学農学部 〒761-0795 木田郡三木町池戸2393

<sup>2</sup>香川大学農学部附属農場 〒769-2304 さぬき市昭和字谷乙300-2

<sup>3</sup>メルシャン勝沼ワイナリー 〒409-1313 東山梨郡勝沼町下岩崎1425-1

<sup>4</sup>香川大学工学部 〒761-0396 高松市林町 2217-20

Effects of Light Conditions and Different Light Wavelengths on Accumulation of Anthocyanins  
in Cultured Berries of ‘Cabernet Sauvignon’ grapes

Ikuo KATAOKA<sup>1</sup>, Kunikazu ORITA<sup>1</sup>, Kenji BEPPU<sup>1</sup>, Tomohiro YANAGI<sup>1</sup>,  
Ryosuke MOCHIOKA<sup>2</sup>, Hiroshi SAITO<sup>3</sup> and Kensho OKAMOTO<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Agriculture, Kagawa University, Miki, Kagawa 761-0795, Japan

<sup>2</sup> University Farm, Kagawa University, Showa, Sanuki, Kagawa 769-2304, Japan

<sup>3</sup> Mercian Katsunuma Winery, Shimoiwasaki, Katsunuma, Higashi Yamanashi, Yamanashi 409-1313, Japan

<sup>4</sup> Faculty of Engineering, Kagawa University, Takamatsu 761-0396, Japan

The effects of light conditions and different light wavelengths on the accumulation of anthocyanins were studied by culturing softened green berries of ‘Cabernet Sauvignon’ at veraison. Under diffused sunlight (about  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ), the anthocyanin content in the skin after 72-h irradiation decreased with reductions in the sunlight intensity. When irradiated by white fluorescent light, the accumulation of anthocyanins increased with increasing light intensity up to  $50 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  and then reached a plateau. UV irradiation (peak wavelength 352nm) up to about  $3\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$  also enhanced anthocyanin accumulation, but the effectiveness of the irradiation decreased at higher intensities. In the case of irradiation by visible light of different wavelengths from blue to far-red using LEDs, all the wavelengths stimulated the accumulation of anthocyanins, but blue light was the most effective.

**Key words:** anthocyanin, Cabernet Sauvignon, light, UV, wavelength, wine grapes

### 緒 論

ワインブドウにおいて、果実のアントシアニン含量は、ワインの酒質に影響を及ぼす重要な要因であるが、アントシアニン生成は種々の環境要因や栽培管理条件により影響を受ける。光はアントシアニン生成を制御する主要な環境要因の一つであり、果房に到達する光量の低下は、果実のアントシアニン含量を減少させる(10, 11)。これまで、ワインブドウ果実の着色における光条件についての検討は、主として照射光の総量にもとづいて行われてきたが、リ

ンゴやオウトウなど他の種類の果実のアントシアニン生成では、紫外線や可視域の特定の波長域の光が個別にあるいは相乗的に作用していることが示され(1, 2, 3, 9)、一部の生食ブドウ品種でも果実の着色に紫外線が関与していることが明らかとなっている(7, 8, 13)。ワインブドウ果実においても、アントシアニンの蓄積は光質の影響を受けると推察されるが、十分に明らかにされていない。果実のアントシアニン生成における波長域別の光条件を明らかにしておくことは、わが国でのワイ

2002年9月11日受理

本研究の一部は、日本学術振興会・科学研究費補助金基盤研究(B)(1)課題番号12460016により実施した。

ンブドウの生産において、樹冠管理の適正化や被覆資材あるいは反射資材の選択を行う上で意義があるものと思われる。

本研究では、ワイン用主要品種である‘カベルネ・ソービニオン’について、均一な光条件での比較が可能な培養果実を用いて、異なる波長域の光成分が果皮のアントシアニン蓄積に及ぼす影響を調査した。

## 材料と方法

### 1. 材料と培養の手順

2001年8月メルシャンワイン (株) 勝沼ワイナリー試験圃場より低温輸送した‘カベルネ・ソービニオン’の成熟初期の果房から、未着色の軟化果実を採取した。果実を中性洗剤で洗浄し、水洗後、果梗部側の一部の果皮と果肉を除去した。滅菌したろ紙を敷き、ろ過滅菌したショ糖0.4M水溶液 3 mlを注入した滅菌済みプラスチックシャーレ (直径 6 cm) に、各々 4 果実を切断面を培地に接触させて置床した。各処理区につき 3 シャーレを用いた。

### 2. 光条件の測定

光量子束密度については、光量子センサー (LI-190SA; LI-COR Inc., USA)、紫外線強度については、UV-Aセンサー (SD104A-Cos; Macan Photometrics Ltd., Scotland)、をマルチチャンネル・データロガー (LI-1000; LI-COR Inc., USA) に接続して測定した。

### アントシアニンの測定

培養終了後、各々の果実から直径 5 mmの果皮を採取し、5mlの1%塩酸メタノールを用い暗黒下 5℃で12時間抽出し、抽出液の530nmにおける吸光度を測定した。

### 実験 1. 太陽散乱光の強度が果実切片のアントシアニン蓄積に及ぼす影響

果実を置床したシャーレを、直射光の当たらない室内の南窓側のベンチ上に置き、太陽光散乱光のもとで暗期を含め72時間培養した。窓ガラスは、紫外線を透過するポリエチレンフィルムに置き換えた。光強度の段階は、白色寒冷紗の被覆枚数により調整した。培養中、室温は約25℃に保った。照射期間中の天候は概ね晴天で、正午前後の光強度は、Table

1.のとおりであった。

Table 1. Intensity of sunlight diffused through cheesecloth.

No. of cheese-cloth layers	Light intensity <sup>z</sup>	
	Visible region ( $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	UV region ( $\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$ )
0	102.0	1.11
1	55.5	0.60
2	24.1	0.27
4	8.3	0.09
6	3.3	0
8	1.4	0
Dark	0	0

z: Measurement was done around noon.

y: UV-A region; 320-400 nm was measured.

### 実験 2. 紫外光および白色光の照射が果実切片のアントシアニン蓄積に及ぼす影響

果実を置床したシャーレを、強度段階を設けた白色光および紫外光の単独照射のもとで培養した。照射は、白色蛍光管 (National FL 29SSW/18) あるいは紫外線蛍光管 (UV: National FL 18S/BL-B, ピーク波長 352nm) を設置した 60cm (W) x 30cm (D) x 40cm (H) のフレーム内で行い、底部を除き全体を黒色フェルトで覆った。白色蛍光管については、紫外線成分を除去するため紫外線除去フィルム (三菱化成カットエース) で覆った。光照射は25℃の制御室で72時間連続して行った。

### 実験 3. LED光源による各波長の光照射が果実切片のアントシアニン蓄積に及ぼす影響

LED照射装置内 (15) に、果実を置床したシャーレを置き、72時間培養した。照射強度は約  $15 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  とし、25℃で72時間連続照射した。暗黒下で培養したものを対照とした。

## 結果

### 実験 1. 太陽散乱光の強度が果実切片のアントシアニン蓄積に及ぼす影響

太陽散乱光下で最も高い光強度の  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  で培養した果実の果皮の着色は、照射開始24時間後から始まり、以後急速に進んで72時間後には黒紫色に着色した。暗黒下および  $24.1 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  以下の光強度で培養した果実は、緑色のままに止まった。培養72時間後において、太陽散乱光の光強

度の低下に伴ってアントシアニン含量は低下した (Fig. 1)。

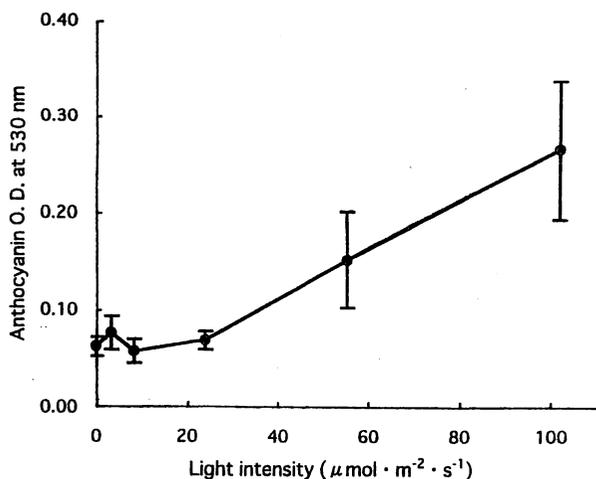


Fig. 1. Effect of intensity of diffused sunlight on anthocyanin accumulation in cultured 'Cabernet Sauvignon' berries. Bars indicate SE (n=12).

### 実験 2. 紫外光および白色光の照射が果実切片のアントシアニン蓄積に及ぼす影響

白色光照射によりアントシアニン含量が増加したが、 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 前後でほぼ飽和状態に達した (Fig. 2)。また紫外線照射もアントシアニン蓄積を促進し、約  $3 \text{W} \cdot \text{m}^{-2}$ まで照射強度の上昇に伴ってアントシアニンの蓄積量は増加したが、それ以上の強度では効果はやや低下した (Fig. 3)。

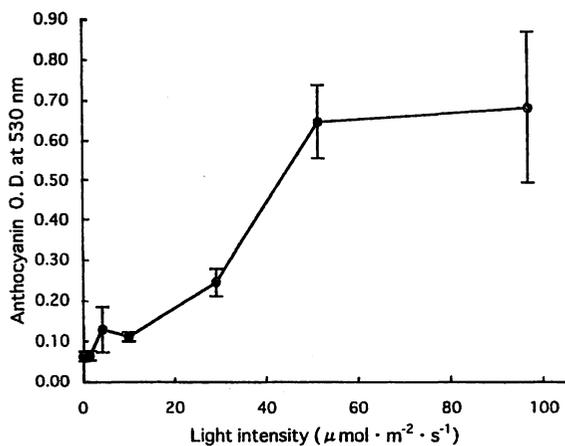


Fig. 2. Effect of intensity of white fluorescent light on anthocyanin accumulation in cultured 'Cabernet Sauvignon' berries. Bars indicate SE (n=12).

### 実験 3. LED光源による各波長の光照射が果実切片のアントシアニン蓄積に及ぼす影響

LEDにより各波長域の光照射を行った結果、暗黒下と比較して、いずれの波長域の光照射によっても

アントシアニンの蓄積が促された。波長域間では、青色光 (450nm) の促進効果が特に大きかった (Fig. 4)。

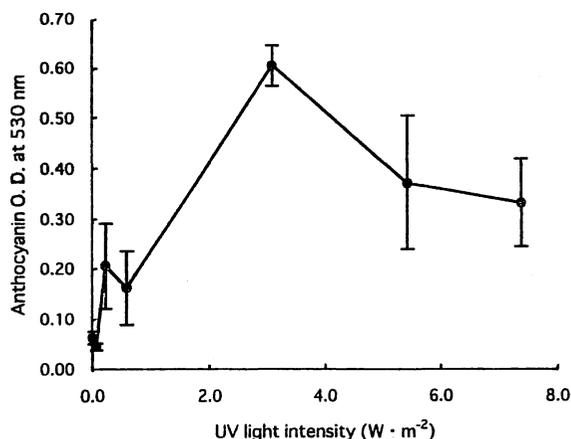


Fig. 3. Effect of intensity of UV fluorescent light on anthocyanin accumulation in cultured 'Cabernet Sauvignon' berries. Bars indicate SE (n=12).

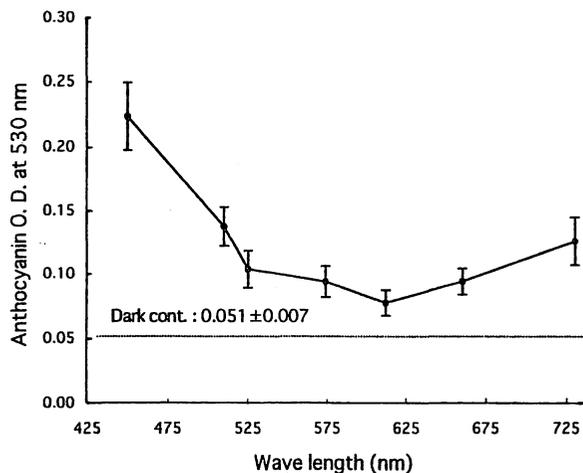


Fig. 4. Effect of irradiation by visible light of different wavelength on anthocyanin accumulation in cultured 'Cabernet Sauvignon' berries. Bars indicate SE (n=12).

### 考 察

太陽散乱光下での 'カベルネ・ソービニオン' の培養果実において、果皮のアントシアニンの蓄積量は、約  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 以下の強度で、受光強度の低下にしたがって減少した。Dokoozlian (5)は、制御環境下において、'カベルネ・ソービニオン' および 'ピノ・ノワール' に対する可視域の光照射が、果実生長や糖蓄積とともに、アントシアニン蓄積を促進することを示し、このような生長反応が、直射光強度の1~10%という非常に低いレベルで飽和することを明らかにしている。通常、夏季の晴天

日の太陽直射光の光強度は、 $1800 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ に達するが、繁茂した樹冠内での果房の受光量は $50 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 以下に減衰した(4)。本実験では、太陽散乱光の実質的な照射量は、人工光に比べて少なく、アントシアニン蓄積が飽和状態に達する光強度は明確ではないが、樹冠下での著しい光強度の低下は、果実のアントシアニン蓄積を制限要因となりうるものと推察された。

一方、樹冠下での太陽光の透過量の減少は、可視光の強度低下と同時に紫外線の成分の減少を伴っている (Table 1)。一方、人工的な紫外線の単独照射は、約  $3 \text{W} \cdot \text{m}^{-2}$  までの強度の上昇にともない‘カベルネ・ソービニオン’果実のアントシアニン生成を促進した。太陽散乱光に含まれる紫外線の強度からみると、紫外光はアントシアニン蓄積において、比較的低い強度の範囲において寄与しているように思われるが、紫外線成分は、果実のアントシアニン蓄積に直接的に作用し、過繁茂な樹冠下での紫外線強度の著しい低下もアントシアニン蓄積量の減少の一因となっていることが推察された。わが国のように生育期間中比較的多量の降雨があるため雨除け被覆を行う必要がある場合、その資材の選択には紫外線透過特性も考慮する必要がある (14)。また生食用のヨーロッパ系品種である‘グロー・コールマン’のガラス室栽培において、樹上の果房に対する紫外線照射が、着色を促進することが報告されており(7, 8, 13)、圃場条件では紫外域を含めた光反射効率の高いマルチング資材の利用も、アントシアニン生成の促進に効果的と考えられる。しかしながら、 $3 \text{W} \cdot \text{m}^{-2}$ を越える強度ではアントシアニンの蓄積量はむしろ低下し、高いレベルの紫外線はアントシアニンの生成経路において、むしろ何らかの抑制作用をもつものと思われ、この点についてはさらに検討が必要である。

樹冠下での可視域の光質の変化に関連して、Kliwerら (12) およびSmartら (16) は、‘カベルネ・フラン’において、葉を透過した太陽光では、遠赤光よりも赤色光がより多く吸収され、その結果R:FR比が低下することを示し、そのことによりフィトクロム制御されているフェノール合成の律速酵素であるフェニルアラニンアンモニリアーゼ(PAL)活性の低下を招き、アントシアニンの蓄積量が減少

することを示唆している。さらに、過繁茂の樹冠下において、赤色光を補光し、R:FR比を上昇させた場合、果実のPAL活性が無補光に比べて増大し、アントシアニン含量が増加した。本実験においては、‘カベルネ・ソービニオン’の培養果実では、赤色光のアントシアニン生成の促進作用は青色光に比べて小さかったが、照射強度や遠赤色光との組合せ照射によりR:FR比を変化させた場合の効果について、さらに検討の余地がある。

アントシアニン生成における可視域の光照射の反応スペクトルをみると、多くの種類の植物が青色域にピークをもっており (17)、‘カベルネ・ソービニオン’果実も同様の反応を示した。UV-A-青色域の光の受容体であるクリプトクロム制御のフェノール合成系に関与するカルコンシンターゼ(CHS)などの酵素遺伝子の活性化を介して、アントシアニン蓄積を促していることが推察される (6)。一方、我々の‘グロー・コールマン’品種を用いた実験では、紫外線照射にともない培養切片の果皮中のPALの活性が上昇し、アントシアニン蓄積が増加することが明らかとなっており、ニンジン培養細胞のアントシアニン合成系において推定されているようなCHSやPAL遺伝子の発現に関与するUV-B受容体の関与も推察される (18)。

以上の結果から、‘カベルネ・ソービニオン’の培養果実において、光の成分のうち、紫外光および青色光が、アントシアニンの蓄積に大きく寄与していることが示された。今後、品種間差異を含め、樹冠内の果実の受光条件とアントシアニン蓄積の関係について、これらの光成分の変動の観点から詳細に検討する必要がある。

## 要 約

‘カベルネ・ソービニオン’の成熟開始直後の未着色軟化果実を培養して、アントシアニン蓄積における波長域別の光条件を調査した。培養72時間後、太陽散乱光(約 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )下において、照射強度の低下に伴ってアントシアニンの蓄積量は低下した。蛍光管を用いた白色光照射によりアントシアニン含量が増加したが、 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 前後ではほぼ飽和状態に達した。また紫外線についても、約 $3 \text{W} \cdot \text{m}^{-2}$ までの照射強度の上昇に伴ってアント

シアニンの蓄積量は増加したが、それ以上の強度では促進効果はやや低下した。LEDを用いて、各可視波長域の光照射を行ったところ、暗黒下に比べ、いずれの波長域の光照射もアントシアニンの蓄積を促した。波長域間では、青色光 (450nm) の促進効果が最も大きかった。

### 文 献

1. Arakawa, O., Y. Hori, and R. Ogata. Relative effectiveness and interaction of ultraviolet-B, red and blue light in anthocyanin synthesis of apple fruit. *Physiol. Plant.* 64: 323-327 (1985).
2. Arakawa, O. Photoregulation of anthocyanin synthesis in apple fruit under UV-B and red light. *Plant Cell Physiol.* 29: 1385-1389 (1988).
3. Arakawa, O. Effect of ultraviolet light on anthocyanin synthesis in light-colored sweet cherry, cv. Sato Nishiki. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 62: 543-546 (1993).
4. Bergqvist, J., Dokoozlian, N. and N. Ebisuda. Sunlight exposure and temperature effects on berry growth and composition of Cabernet Sauvignon and Grenache in the central San Joaquin Valley of California. *Am. J. Enol. Vitic.* 52: 1-7 (2001).
5. Dokoozlian, N. K. and W. M. Kliewer. Influence of light on grape berry growth and composition varies during fruit development. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 121: 869-874 (1996).
6. Fuglevand, G., A. Jackson and G. I. Jenkins. UV-B, UV-A, and blue light signal transduction pathways interact synergistically to regulate chalcone synthase gene expression in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 8: 2347-2357 (1996).
7. Kataoka, I., A. Sugiyama and K. Beppu. Role of ultraviolet radiation in accumulation of anthocyanin in berry section of 'Gros Colman' Grapes (*Vitis vinifera* L.). *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* (2003) (in press).
8. Kataoka, I., A. Sugiyama and K. Beppu. Involvement of ultraviolet rays in anthocyanin accumulation of 'Gros Colman' grape berries. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 67 (Suppl.) : 73 (1998).
9. Kataoka, I., K. Beppu, A. Sugiyama and T. Taira. Enhancement of coloration of "Sato-nishiki" sweet cherry fruit by postharvest irradiation with ultraviolet radiation. *Environ. Control in Biol.* 34: 313-319 (1996).
10. Kliewer, W. M. Effects of day temperature and light intensity on coloration of *Vitis vinifera* L. grapes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 95: 693-697 (1970).
11. Kliewer, W. M. and L. A. Lider. Effects of day temperature and light intensity on growth and composition of *Vitis vinifera* L. fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 95: 766-769 (1970).
12. Kliewer, W. M. and R. Smart. Canopy manipulation for optimizing vine microclimate, crop yield and composition of grapes. p.275-291. In; Wright, C. J. (eds.). *Manipulation of fruiting.* Butterworth & Co. London (1989).
13. 久保田尚浩・土屋幹夫. ブドウ果実の着色に及ぼす紫外光(UV-A)の効果. *園学雑.* 62(別冊1) 86-87(1992).
14. 内藤文男. 第2章. 被覆・保温資材の種類と特性. p.90-108. (社)日本施設園芸協会. 新訂・施設園芸ハンドブック. 日本農民新聞社. 東京(1987).
15. Okamoto, K., T. Yanagi and S. Takita. Development of plant growth apparatus using blue and red LED as artificial light source. *Acta Horticulturae.* 440: 111-116 (1996).
16. Smart, R. E., S. M. Smith and R. V. Winchester. Light quality and quantity effects on fruit ripening of Cabernet Sauvignon. *Amer. J. Enol. Vitic.* 39: 250-258 (1988).
17. Salisbury, F. B. and C. R. Ross. *Plant Development.* p.390-391. In *Plant Physiology.* Wadsworth Publishing Company. Blemont, CA (1985).
18. Takeda, J., Y. Ozeki and K. Yoshida. Action spectrum for induction of promoter activity of phenylalanine ammonia-lyase gene by UV in carrot suspension cells. *Photochem. Photobiol.* 66: 464-470 (1997).