

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20580036

研究課題名(和文) 金属イオンを用いた花き園芸作物の花色の改変

研究課題名(英文) Modification of flower color for horticultural crops using metal ions

研究代表者

渡部 由香 (WATANABE YUKA)

鹿児島大学・農学部・准教授

研究者番号：70244267

研究成果の概要(和文)：花き園芸作物にモリブデンを吸収させることにより赤色の花弁を青色化する技術について、青色化機構の解明と適用しうる作物の調査を行った。アントシアニンとMoは試験管内で弱酸性から中性条件下で特定のモル比で青色の錯体を形成した。このことから、液中でのアントシアニンとモリブデンの錯体形成によって花色の青色化が生じると考えられた。シクラメン花弁ではモリブデンと結合できるアントシアニンの存在割合が環境条件によって変動したため、青色化効果にも年次変動や個体差が生じた。

研究成果の概要(英文)：The bluing mechanisms and applicable horticultural plants were investigated about the cultivation technique which change red flower petals into blue by absorbing molybdenum (Mo). The anthocyanins and Mo formed blue complexes with a specific molar ratio under weakly acidic to neutral conditions in vitro. In cyclamen petals, the annual differences were caused in degree of bluing because percentages of the anthocyanin which could be combined with Mo varied by an environmental condition.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度			
2007年度			
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
総計	2,200,000	660,000	2,860,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：園芸学・造園学

キーワード：園芸学, 農林水産物

1. 研究開始当初の背景

花き園芸作物において花色は重要な形質の一つであり、様々な花色のバリエーションが求められている。花色は花弁中に含まれる

植物色素の種類によって発色の範囲がおおよそ決定されており、例えば、脂溶性色素であるカロテノイドは黄色からオレンジ、赤色を発色する。水溶性のフラボノイド色素であ

るカルコンやオーロンは黄色，同じく水溶性色素のアントシアニンも赤・ピンクから紫，青色までの範囲の花色素発現に関わっている。

アントシアニン色素は植物細胞の液胞に存在する。化学的特性として酸性溶液中で安定した赤色を発色し，アルカリ条件下では青色となり退色する。通常は弱酸性と言われている液胞の状態においては赤やピンク色を発色すると考えられる一方で，花色が青色を示す場合は，アントシアニンのみならず，コピグメントとの共存，金属錯体形成，液胞のpH等様々な要因が関わり安定した青色を保つことが報告されている。

金属と結合したアントシアニンが青色に発色する例として，アルミニウムが関与するアジサイの青色花，マグネシウムが関与するツクサなどがあるが，筆者はアントシアニンを有する花卉組織をモリブデン酸アンモニウム溶液に浸漬することで花色を青色化させることを確認し，花き園芸植物の根から低濃度のモリブデンを少しずつ吸収させることにより，花色を変化させる技術を開発した。この技術を応用すれば，これまで青色の花色素がなかった花類についても栽培技術によって青色花を作成することが可能となるかもしれない。

2. 研究の目的

(1) モリブデンによるアントシアニン色素の青色化機構の解明

金属イオン，特にモリブデンはB環に隣接水酸基を有するアントシアニンを含む花卉の青色化を起こすが，その詳細な機構については不明な点が多い。アントシアニンとモリブデンは液胞内で錯体を形成していると推察されるが，その構造を解明するために，アントシアニン純品を用い様々なpHの溶液においてモリブデンとアントシアニンの比率を変えて混合することにより深色効果の詳細を調査する。

(2) モリブデンによる花卉の青色化と花卉アントシアニン組成との関係

①シクラメンの花色素は赤紫，赤，ピンク，白に加え近年黄色系の花が育成されているが，これに青色系が加われば花色の多様性が増すものと思われる。シクラメン花の赤系の花卉に含まれるアントシアニン色素はこれまでの報告ではアグリコンとしてマルビジン，ペオニジン，シアニジン，また配糖体の種類として3-モノグルコシド，3,5-ジグルコシド，3-ルチノシド，ネオヘスペリドシドが検出されている。しかしながらこれらのアントシアニンの発色は基本的に赤色であるため花色の青色化は困難であると考えられる。

そこでシクラメン花卉中のアントシアニ

ン組成を調査し，モリブデンによって青色化するアントシアニンの含有率を明らかにすることにより，モリブデン施用によるシクラメン花色の青色化の可能性を探る。

②キクの花色素は白の他にカロチノイド色素を含む黄色系，アントシアニン色素を含む赤・赤紫系があるが，青色系の花色素はない。赤・赤紫系のキク花卉に含まれるアントシアニン色素はシアニジン配糖体であり，B環に隣接水酸基を有する構造のため，モリブデンによる青色化の可能性はある。そこで，モリブデン施用によるキク花色の青色化を目指し，花卉切片をモリブデン溶液に浸漬し青色化の有無を調査すると共に花卉中のアントシアニン等の分析を行う。

(3) 花き園芸植物へのモリブデン施用が花色・生育に及ぼす影響

植物にモリブデンを施用した場合，根から吸収されたモリブデンが植物体内を移動し，花卉の液胞に吸収されるまで，ある程度の時間がかかると予想される。また，モリブデンは植物にとって必須な金属であるが，本来の要求量はごく微量であるため，過剰なモリブデン施用は生育障害を生じさせる可能性がある。そこでシクラメン苗に様々な濃度のモリブデンを施用し，青色化効果の現れる時期と生育に与える影響を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) モリブデンによるアントシアニン色素の青色化機構の解明

アントシアニンとしてシアニジン-3,5-ジグルコシド(シアニン)，シアニジン-3-モノグルコシド，シアニジン-3-ルチノシドを使用した。アントシアニン溶液は各種配糖体を少量のエタノールに溶解し，さらに緩衝液で希釈したものとした。モリブデン溶液としてモリブデン酸ナトリウムを緩衝液に溶解したものをを用いた。アントシアニン溶液とモリブデン溶液は共に濃度を1mMとした。アントシアニン溶液とモリブデン溶液を混合し，必要に応じてさらに緩衝液で希釈し分光光度計で極大吸収波長と吸光度の変化を調査した。

(2) モリブデンによる花卉の青色化と花卉アントシアニン組成との関係

シクラメンとキクについて花卉をモリブデン酸アンモニウム溶液に浸漬し花卉の青色化の有無を調査した。

シクラメンは鹿毛真耕園(福岡県久留米市)提供の系統と市販のものを用いた。キクについてはデリフローラジャパン社のキク32系統の花卉を用いた。

青色化の有無については花卉をモリブデ

ン酸アンモニウム溶液 (Mo=1 mM) に浸漬し、浸漬前と浸漬後の花色を L*a*b*表色系を用いて計測することにより調査した。

また各花卉のアントシアニンを酢酸酸性メタノールで抽出し薄層クロマトグラフィー法、高速液体クロマトグラフィー法を用い分離同定を試みた。

なお、キクについてはアントシアニン以外の黄色系フラボノイドの量も調査し、青色化に与える影響を検討した。

(3) 花き園芸植物へのモリブデン施用が花色・生育に及ぼす影響

シクラメンについて調査を行った。鹿毛真耕園育成の‘KN パープル’の苗を用い、ガラス温室内で底面灌水鉢 (4号) の苗にモリブデン酸アンモニウム溶液 (500, 1000, 2000, 2500 倍) を一鉢あたり 100ml 施用した。各施用区は 3 鉢とした。花茎の発達状態をステージ 1 (花茎長約 6cm, つぼみが未着色)、ステージ 2 (花茎長約 10cm, つぼみが着色) ステージ 3 (花茎長約 12cm, 開花) に分け、施用後の花色の色相角度を調査した。

4. 研究成果

(1) モリブデンによるアントシアニン色素の青色化機構の解明

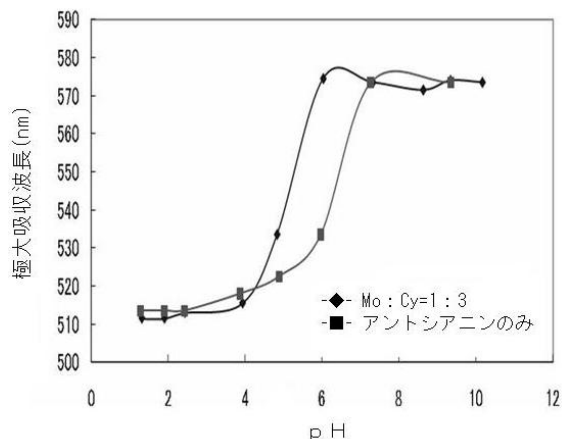
アントシアニン色素は植物の液胞中に存在している。モリブデンが根等から吸収されると他のミネラル類と同様植物体内を移動するはずであり、花卉の液胞に移行してアントシアニンと結合することにより青色の錯体を形成すると推察される。そこで青色化が生じる液胞の条件とアントシアニンとモリブデンの結合比を予想するため、5.5~6.0 に調整した溶液中でシアニンとモリブデンのモル比を変え極大吸収波長を調査したところ、シアニンのみの溶液では 547.5nm であったがモリブデン溶液を加えることにより長波長側にシフトした。特にシアニンとモリブデンの比率が 3:1 のときに波長が 33.5nm 長波長側にシフトし混合液が最も青色化した。また、シアニンのみの吸光度を 1 とした場合の相対吸光度はモリブデン溶液を加えることにより 1.5~4.3 倍となり、モリブデンによる濃色効果もあることが分かった。

アントシアニンとモリブデンのモル比を 3:1 としたときの濃色効果はシアニジン C-3-モノグルコシドが最も高く 51.5nm であった。次いでシアニジン-3-ルチノシドが 43nm でありシアニンは濃色効果が最も低かった。このことから配糖体の種類によってモリブデンによる濃色効果の強弱があることが示唆された。

さらに、シアニジン-3-ルチノシド:モリブデン=3:1 で混合した溶液について異なる

pH における極大吸収波長を調査したところ、混合液の pH が 4 以下では濃色効果はみられず、pH5~6 においてモリブデンによる濃色効果が見出された (第 1 図)。以上の結果は、植物体にモリブデンを吸収させたときに、花卉の液胞の pH 条件によっては青色化効果が低い場合があることを示唆するものである。また、一般に花卉中のアントシアニン色素は単一ではなくアグリコンレベル、配糖体レベルでも数種が存在することが普通であることから、モリブデンによる花卉の青色化は花卉の色素組成によって大きく左右されることが推察される。

シアニジン配糖体以外の配糖体についてはデルフィニジン-3-モノグルコシドについても同様の調査を行ったが、デルフィニジン-3-モノグルコシド:モリブデン=1:1 の比率のときに濃色効果が大きく、シアニジン配糖体の場合とは異なった比率で青色化が認められた。このことから、アグリコンの種類によって結合比率が異なることが示唆された。



第 1 図 異なる pH 条件下でのモリブデンによるシアニジン-3-ルチノシドの極大吸収波長の変化

(2) モリブデンによる花卉の青色化と花卉アントシアニン組成との関係

① 数系統のシクラメンの花弁抽出液について薄層クロマトグラフィーを行ったところ、3-モノグルコシド、3,5-ジグルコシドと考えられる配糖体グループの他に 15%酢酸の展開溶媒で高い Rf 値を示す配糖体グループが存在した。これらの Rf 値は、これまでに報告されているペオニジン-ネオヘスペリドシドの Rf 値と類似していたため、この配糖体グループはネオヘスペリドシド類と推定した。以上 3 種の配糖体の分布は系統によって異なっていた。この中でモリブデン溶液の噴霧により濃色反応を示すスポットは 3,5-ジグルコシドグループとネオヘスペリドシドグループに検出された。数種の系統について高速液体クロマトグラフィーで分離同定が可能であった 3,5-ジグルコシドの含有率を調

査した結果、5系統にシアニジン-3,5-ジグルコシドが1系統にデルフィニジン-3,5-ジグルコシドが含まれていたが、最も含有率の高かった‘KNパープル’でも両アントシアニンを合わせて6%弱であった。この5系統について鉢の底面からモリブデンを施用したところ‘KNパープル’では花卉の色相角度が30°程度青色方向に変化した。他の系統はモリブデンの効果がいかに現れなかった(2008年度)。

また、2009年度に同様にアントシアニン組成の調査を行ったところ、デルフィニジン配糖体が検出されなかった。これは、他のアントシアニン(マルビジン)の生合成のために基質として消費されたためと推察された。

シクラメンにおいてはモリブデンで深色反応を起こすアントシアニンは含量率が少なく、また年次変動があることから現段階ではモリブデンによるシクラメンの青色化効果は弱いと考える。モリブデンによって深色効果を示すアントシアニンを多く含む品種・系統を育成することも今後の課題であるとする。

②キク花卉からは、シアニジン-3-モノグルコシドを含む数種のシアニジン配糖体が分離された。花卉をモリブデン溶液に浸漬すると、そのほとんどの色相角度が青色方向に変化した。花卉の青色化の程度と色素組成との関係は認められなかった。また、モリブデンに浸漬した花卉において、アントシアニン色素以外の黄色系フラボノイド量が花卉中に多いと彩度が減少し、少なくなると鮮やかな青色となることが分かった。キクの場合にモリブデン施用の実用化を試みる場合には花卉中の黄色系フラボノイドが少ない系統を選定する必要があるとする。

(3) 花き園芸植物へのモリブデン施用が花色・生育に及ぼす影響

シクラメンのステージ1～3のモリブデン施用による花卉の色相角度の変化を第2図に示した。色相角度は0が赤、プラス方向で黄色、マイナス方向で青色への変化を示す。

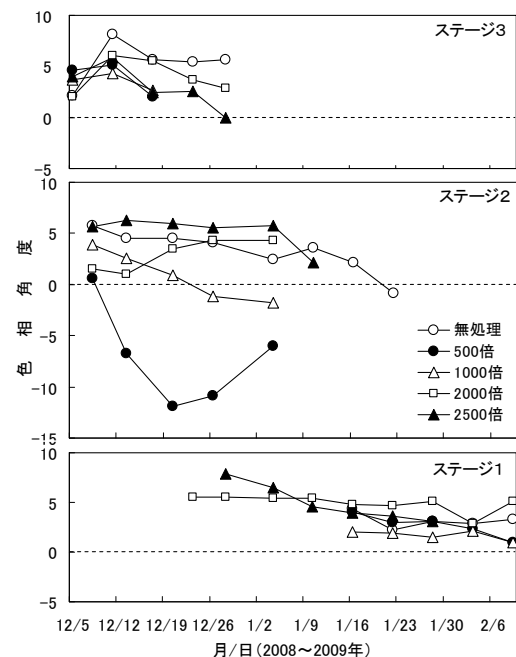
ステージ3の花卉の色相角度は、いずれのモリブデン施用区でも無処理より低い値になったもののマイナス値には転じなかった。ステージ2は施用後3日目頃から開花し始めたが、500倍区と1000倍区で色相角度が低下し、マイナス値に転じたことから、モリブデン施用の効果があることが分かった。500倍区では施用後2週間で最も色相角度が低下したが、その後色相角度は上昇し、花卉色が赤色に戻る傾向が見られた。

ステージ1は、モリブデン施用後約3週間後から開花した。開花後の花色の色相角度は最終的に500倍、1000倍区がわずかに低下し

たがマイナス値には転じなかった。

ステージ2で最も青色化効果が現れた500倍処理であるが、ステージ1では顕著な効果が見られなかったことから、モリブデンは植物体に速やかに吸収されてしまい、未発達の花には効果が及ばないと考えられた。青色化の持続的な効果を得るためには継続的なモリブデン施用が必要である。開花後の花にはモリブデンはほとんど影響しないため、モリブデン施用の際には開花した花茎は取り除いておく必要があると考えた。

また、高濃度のモリブデン処理では奇形花の発生や株の衰弱が観察された。シクラメンの根からのモリブデン吸収能力等も含め実用化にはさらに施用条件の検討が必要である。



第2図 モリブデン施用によるシクラメン花卉の色相角度の変化

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)

[学会発表] (計3件)

1. シアニジン配糖体に対するモリブデンの深色および農色効果. 渡部由香・松尾百香. 園芸学会平成23年度春季大会(宇都宮大学) 2011. 3. 21

2. モリブデン施用によるシクラメン花卉の青色化とその持続性. 渡部由香・三嶋大輔・鹿毛哲郎. 園芸学会九州支部大会(佐賀大学) 2009. 8. 19

3. モリブデン施用によるシクラメン花色の青色化. 渡部由香・三嶋大輔・繁田雄介・榊葵. 園芸学会平成 20 年度秋季大会 (三重大学) 2008.9.27

[その他]

ホームページ等

<http://www.rdc.kagoshima-u.ac.jp/rdc/se-arch/upload/watanabe-agr.pdf>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡部 由香 (WATANABE YUKA)

鹿児島大学・農学部・准教授

研究者番号: 70244267