

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 10 日現在

機関番号：11201

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22580024

研究課題名（和文）アブラナ科花卉作物における新花色品種育成に関する研究

研究課題名（英文）Studies on new color flower breeding in brassicaceous ornamentals.

研究代表者

立澤 文見（TATSUZAWA FUMI）

岩手大学・農学部・准教授

研究者番号：30320576

研究成果の概要（和文）：アブラナ科花卉作物 7 属の花色素と花色素の分析により、新規色素によるコピグメント効果が確認できた。これらは、今後のアブラナ科花卉作物における新花色品種育成に有効な基礎データであると考えられた。特に、切花として需要の多いストック（*Matthiola incana*）に青や黄色の花色素を導入するには、他属の花色素構造や発色機構を参考にした新花色育種が有効であると考えられた。

研究成果の概要（英文）：As a result of the study of flower colors and pigments in the 7 genera of brassicaceous ornamentals, the new flavonoids have been confirmed as attributing factors of copigmentation. It was thought that these results can serve as effective basic data for the new color flower breeding in the cultivars of brassicaceous ornamentals in the future. Especially, it was thought that new color flower breeding in brassicaceous ornamentals based on pigment structures and copigmentation of other genera were effective to introduce the blue or yellow flower colors for *Matthiola incana*, which is one of the most sought-after cut flowers.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,300,000	690,000	2990,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
2012 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・園芸学・造園学

キーワード：アブラナ科、花色、色素、アントシアニン、フラボノール

1. 研究開始当初の背景

アブラナ科花卉作物にはストック（*Matthiola incana*）やスイートアリッサム（*Loburialia maritima*）など需要の高いものが含まれている。しかし、花色や花色素に関する研究は始まったばかりで発色機構の詳しい調査が無い。近年、アブラナ科以外のバラ科やナデシコ科植物での遺伝子操作による青色系花色品種の育成が成されているが、こ

れらは花色素やその発色機構が解明されていたが故に成されたものである。そこで、アブラナ科花卉作物での色素や色素の存在する液胞の状態なども考えながら花色の再現を試み、これまでに無い新花色品種育成の方法を追求し消費者の求める花色の品種を効率よく作出する方法を開発したいと考えていた。

2. 研究の目的

ストックは近年需要が高まっているアブラナ科の一年草で、キク、バラ、カーネーションと共に最も重要な花卉作物の一つである。しかし、花色の変異に限られた範囲のものであり青色や黄色の品種が無いことが最大の欠点であることから、変異を拡大することにより、さらに需要が高まると考えられる。他のアブラナ科の花卉作物においても花色や花色素の研究はまだ始まったばかりであり、詳しい花色と花色素の関係はほとんど知られていない。そこで、本研究ではストックの様に既に需要の高いアブラナ科花卉作物だけでなく、今後の需要が見込まれるアブラナ科花卉作物も含めて花色素の分析とそれらを用いた分光分析による花色の再現実験による発色機構の解明を行う。そして、ストックをはじめとするアブラナ科花卉作物全般における新花色花卉育成のための園芸学・育種学における新領域を開拓することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 研究材料

本研究ではアブラナ科花卉作物の内、次の7属を用いた。*Arabis blepharophylla*、*Aubrieta x cultorum*、*Cheiranthus cheiri*、*Heliophila coronopifolia*、*Hesperis matronalis*、*Matthiola incana*、*Moricandia arvensis*、および、*Moricandia ramburii*。

(2) 生花卉の測色

各植物の栽培適期に合わせて栽培した。花色の測定は、開花した物から生花卉の測色を行った。生花卉の測色はR. H. S. カラーチャートとの比色および測色計による色の数値化により行った。さらに、分光光度計による生花卉の吸収スペクトルパターンも測定した。

(3) 花色素成分の分析および同定

フラボノイド成分の分析はHPLC分析で行った。乾燥花卉5-10mgを5%酢酸水に室温で24時間浸漬し、十分に色素を抽出した。抽出液はメンブランフィルターで濾過後HPLC分析に用いた。HPLC分析はLc10Aシステム(Shimadzu)を用い、以下の条件で行った。試料注入量:20 μ l、カラム:Waters C18(4.6 x 250mm)カラム(カラム温度:40 $^{\circ}$ C)、移動層:A液(1.5%リン酸)、B液(1.5%リン酸、20%酢酸、25%アセトニトリル)、濃度勾配:B液 20-85%(40分)、流速:1.0 ml/分、検出波長 530nm およびフォトダイオードアレイ検出器での吸収スペクトル測定(200-700nm)。

アントシアニンの相対的定量は乾燥花卉(1mg)を0.1%塩酸性メタノール(1ml)に室温で2時間浸漬し、アントシアニンを抽出した。

抽出液を分光光度計で測定し、530nmにおける吸光度で比較した。

カロテノイドおよび他のフラボノイドの相対的定量は乾燥花卉(1mg)をメタノール:アセトン=1:1(1ml)に室温で2時間浸漬し、カロテノイドおよび他のフラボノイドを抽出した。抽出液を分光光度計で測定し、445nm(カロテノイド)と355nm(他のフラボノイド)における吸光度を比較した。

アントシアニンおよびフラボノールの単離・精製は乾燥花卉約100gから色素を抽出し、ダイアイオン HP-20 カラムクロマトグラフィー、ペーパークロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィーおよびHPLC分取で行った。単離・精製したアントシアニンおよびフラボノールのアグリコン、糖および有機酸は酸およびアルカリによる加水分解により生じた産物を標品とのコ・クロマトグラフィーにより確認した。アントシアニンおよびフラボノールの構造決定はUV-Vis、FAB-MS およびNMRのスペクトル分析による構造解析等を行い、色素の構造を決定した。

(4) 花色の再現実験

花色の再現実験では生花の搾汁 pH を測定し、同値のリン酸バッファーを準備した。各精製色素を混合パターンを複数つくり、リン酸バッファーに溶解して分光光度計で吸収スペクトルを測定した。そして、生花卉の吸収スペクトル曲線と比較して一致する条件を調べた。

4. 研究成果

(1) 単離精製した色素

実験に用いた植物名と単離精製した色素の内訳は以下の様になり、6属7種のアブラナ科植物から新規アントシアニン 15種類、新規フラボノール 3種類が得られた。

① *Arabis blepharophylla* : 既知アントシアニン 5種類。

② *Aubrieta x cultorum* : 新規アントシアニン 2種類、既知アントシアニン 1種類、新規フラボノール 2種類。

③ *Heliophila coronopifolia* : 新規アントシアニン 6種類、既知アントシアニン 2種類、新規フラボノール 1種類。

④ *Hesperis matronalis* : 新規アントシアニン 2種類、既知アントシアニン 2種類、新規フラボノール 1種類、既知フラボノール 1種類。

⑤ *Matthiola incana* : 新規アントシアニン 1種類、既知アントシアニン 12種類。

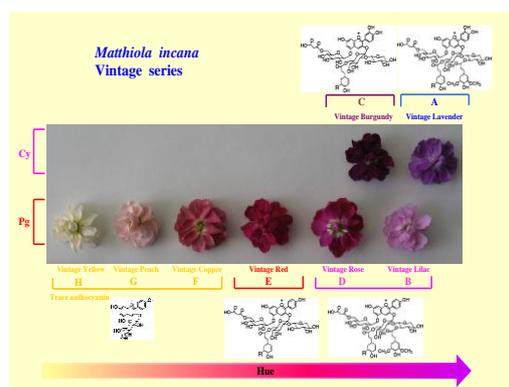
⑥ *Moricandia arvensis* : 新規アントシアニン 1種類。

⑦ *Moricandia ramburii* : 新規アントシアニン 3種類、既知アントシアニン 1種類。

(2) 発色機構について

発色機構については *Matthiola*、*Heliophila*、*Auburieta*、および、*Cheiranthus* の4属において結果が得られた。

① *Matthiola*: 本研究で最も花色改変が望まれる品目である。この品目の発色機構はアントシアニンとケイ皮酸による分子内コ・ピグメンテーションによることが証明できた(第1図)。



第1図 *Matthiola incana* の花色とアントシアニン

このことから、この品目の現状における色の限界が分かり、青や黄色の新花色を導入するには、後に示す *Heliophila* や *Cheiranthus* の発色機構を導入することが必要であると考えられた。

② *Heliophila* と *Auburieta*: 両品目ともアシル化アントシアニンとアシル化ケンフェロールによる分子間コ・ピグメンテーションによる発色機構であることが分かった。特に、*Heliophila* はアントシアニンの基本骨格がデルフィニジンであり、アブラナ科植物では現段階では唯一の品目である。よって、上記の *Matthiola* をさらに青くするためには、*Heliophila* の発色機構を導入することが期待された。

③ *Cheiranthus*: 赤、朱赤、黄、および、クリーム色の品種を用い、粗抽出アントシアニン、フラボノール、および、カロテノイドの量的な比較をした。この結果、フラボノール量は4色でほとんど差が無かった。一方、アントシアニンとカロテノイドは、赤色味が強いほどアントシアニン量、黄色味が強いほどカロテノイド量の多いことが分かった。よって、上記の *Matthiola* をさらに黄色くするためには、*Cheiranthus* のカロテノイドによる発色機構を導入することが期待された。

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12件)

- ① F. Tatsuzawa, Flavonol glycosides in the purple flowers of *Hesperis matronalis* L. (Brassicaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 49, in press. (2013) 査読有.
- ② 立澤文見, 加藤一幾, 永松義博, 庄野浩資, 土岐健次郎, 斎藤規夫. *Leschenaultia biloba*, *L. formosa* およびそれらの種間雑種の花色とアントシアニン組成について. 園芸学研究, 12, 23-28, (2013) 査読有.
- ③ F. Tatsuzawa, S. Ito, M. Sato, H. Muraoka, K. Kato, Y. Takahata, S. Ogawa. A tetra-acylated cyanidin 3-sophoroside-5-glucoside from the purple-violet flowers of *Moricandia arvensis* (L.) DC. (Brassicaceae). *Phytochemistry Letters*, 6, 170-173. (2013) 査読有.
- ④ S. Ito, K. Kato, F. Tatsuzawa. Acylated cyanidin 3-sambubioside-5-glucosides in the red-purple flowers of *Arabis blepharophylla* Hook. & Arn. (Brassicaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 48, 65-69. (2013) 査読有.
- ⑤ F. Tatsuzawa. Acylated cyanidin 3-sambubioside-5-glucosides in the purple flowers of *Hesperis matronalis* L. (Brassicaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 44, 374-379. (2012) 査読有.
- ⑥ N. Saito, K. Toki, T. Honda, F. Tatsuzawa. Floral pigments isolated from the sky-blue flowers of *Oxypetalum caeruleum*. *Heterocycles*, 85, 1427-1436 (2012) 査読有.
- ⑦ N. Saito, M. Nakamura, K. Shinoda, N. Murata, T. Kanazawa, K. Kato, K. Toki, H. Kasai, T. Honda, F. Tatsuzawa. Covalent anthocyanin-flavonol complexes from the violet-blue flowers of *Allium* 'Blue Perfume'. *Phytochemistry*, 80, 99-108 (2012) 査読有.
- ⑧ F. Tatsuzawa, Y. Aiba, T. Morino, N. Saito, K. Shinoda, K. Kato, K. Toki, T. Honda. Copigmentation with acylated anthocyanin and kaempferol glycosides in violet and purple flower cultivars of *Aubrieta xcultorum* (Brassicaceae). *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 81, 275-284 (2012) 査読有.
- ⑨ F. Tatsuzawa, K. Ito, H. Muraoka, T. Namao, K. Kato, Y. Takahata, S. Ogawa. Triacylated peonidin 3-sophoroside-5-glucosides from the purple flowers of *Moricandia ramburii* Webb. *Phytochemistry*, 76, 73-77. (2012) 査読有.
- ⑩ F. Tatsuzawa, N. Saito, K. Toki, K. Shinoda, T. Honda. Flower colors and their anthocyanins in *Matthiola incana* cultivars (Brassicaceae). *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 81,

91-100 (2012) 査読有.

⑪ N. Saito, F. Tatsuzawa, A. Hoshino, Y. Abe, M. Ichimura, M. Yokoi, K. Toki, Y. Morita, S. Iida, T. Honda. Anthocyanin pigmentation controlled by *speckled* and *c-1* mutations of Japanese morning glory. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 80, 452-460, (2011). 査読有.

⑫ N. Saito, F. Tatsuzawa, K. Toki, K. Shinoda, A. Shigihara, T. Honda. The blue anthocyanin pigments from the blue flowers of *Heliophila coronopifolia* L. (Brassicaceae). *Phytochemistry*, 72, 2219-2229. (2011) 査読有.

〔学会発表〕(計5件)

① 伊藤駿、加藤一幾、立澤文見. アラビス ブレファロフィラの赤紫色花品種におけるアシル化アントシアニン. 園芸学会、2013年3月23日、東京農工大学(東京都)

② 立澤文見、相場優志、加藤一幾、森野端之、土岐健次郎、篠田浩一. ムラサキナズナ (*Aubrieta x cultrum*) のフラボノイド. 園芸学会、2012年9月22日、福井県立大学(福井県)

③ 立澤文見、篠田浩一、土岐健次郎. ヘリオフィラ (*Heliophyla coronopifolia* L.) のフラボノイド. 園芸学会、2011年9月25日、岡山大学(岡山県)

④ 相場優志、加藤一幾、立澤文見. ムラサキナズナ (*Aubrieta x cultrum* Bergmans) の主要アントシアニン. 園芸学会東北支部会、2011年9月11日、ルポールみずほ(秋田県)

⑤ 伊藤加奈子、村岡宏樹、生魚利治、加藤一幾、高畑義人、小川智、立澤文見. モリカンディア ランブリー (*Moricandia ramburii* Webb.) のアントシアニン. 園芸学会東北支部会、2011年9月11日、ルポールみずほ(秋田県)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

立澤 文見 (TATSUZAWA FUMI)

岩手大学・農学部・准教授

研究者番号：30320576