

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 4 月 5 日現在

機関番号：11201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25450037

研究課題名(和文)夏用主要花壇苗の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 of summer bedding plants.

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：夏用主要花壇苗(特に、ニチニチソウ、インパチエンス、および、ペチュニア)の花色と花色素の分析により、フラボノイドの分子間コピグメンテーションやアントシアニンの濃度の変化による花色への効果が確認できた。さらに、これまでペチュニアの花色の青色化は、搾汁pHの変化と関係があると考えられていたが、例外が見つかった。これらは、今後の夏用主要花壇苗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。

研究成果の概要(英文)：In a study of flower colors and pigments in summer bedding plants (particularly, cultivars of Catharanthus, Impatiens, and Petunia), the factors of flower color expression have been confirmed by intermolecular copigmentation of flavonoids and by variation of anthocyanin concentration for flower colors. Although bluing of flower color of Petunia cultivars has been associated with a change in pressed corolla juice pH, an exception has been found. These results are considered to serve as useful basic data for future breeding of summer bedding plants with new flower colors.

研究分野：農学

キーワード：アントシアニン 色素 花壇苗 花色

1. 研究開始当初の背景

夏から秋にかけての主要花壇苗として流通しているニチニチソウ、ペチュニア、および、インパチエンスなどの品種数は近年増えつつあるが、同一属内の異なるシリーズ名の品種間で同系統の色が多く、実際には、花色の変異が限られている。近年、キク、バラ、および、カーネーションでは遺伝子操作による青花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の研究が進んでいることが大きな要因の一つであると考えられる。そこで、ニチニチソウ、ペチュニア、および、インパチエンスなどをはじめとする、特に夏用の主要花壇苗の色素や色素の存在する液胞の状態なども勘案し、精製した色素で花色の再現による発色機構の解明を試み、これまでに無い新花色品種育成の方法を考え、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

花卉園芸用花壇苗で需要の高い草花類は花色の変化を求めて育種が活発におこなわれ、これらはシリーズ化されるなどして品種数が非常に多い。しかし、花色を詳しく見ると、同一の属や種の品種間で類似のものが多く、特に品種名が異なっても変異は大きくないため、バラエティに富んでいるようで、実は、花色の変異が限られた範囲にとどまっている。そこで、本研究ではそれぞれの草花種ごとに花色を体系的に解析し、夏用の主要花壇苗に現存する品種の花色素の分析とそれらを用いた分光分析による花色の発色機構の解明を行うとともに、貴重な青色等の新花色品種を効率よく育成するための園芸学・育種学における新領域を開拓し、さらに、花の色からの社会貢献を目指す。

3. 研究の方法

(1) 研究材料

本研究では夏用主要花壇苗の内、ニチニチソウ (*Catharanthus roseus*)、ペチュニア (*Petunia xhybrida*)、および、インパチエンス (*Impatiens walleriana*) を用いた。さらに、発色機構の解明の参考になると考えられる数品目の花卉作物も分析した。

(2) 生花卉の測色

各植物の夏を中心とした栽培適期に合わせ栽培した。花色の測定は、開花した物から生花卉の測色を 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花色との関係を調べた。

(3) フラボノイドの分析および同定

フラボノイド成分の分析は HPLC 分析で行った。乾燥花弁約 5mg 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)。

アントシアニンとフラボノールの相対的定量は乾燥花弁 (10mg) を 0.1% 塩酸性メタノール (5ml) に室温で 24 時間浸漬し、フラボノイドを抽出した。抽出液を分光光度計で測定し、アントシアニンは 530nm、フラボノールは 350nm における吸光度で比較した。

アントシアニンおよびフラボノールの単離・精製は乾燥花弁約 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) 花弁の搾汁 pH の測定

生花弁の搾汁 pH は、エッペンチューブ内で花弁を押しつぶし、得られた搾汁をコンパクト pH メーターに押し付けて測定した。

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、新規アントシアニンが 3 種類得られた。

ニチニチソウ: 新規アントシアニン 2 種類、既知アントシアニン 9 種類、既知フラボノール 10 種類。

インパチエンス: 新規アントシアニン 1 種類、既知アントシアニン 13 種類、既知フラボノール 2 種類。

ペチュニア: 既知アントシアニン 26 種類。

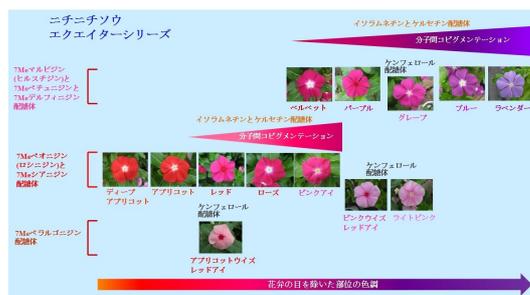
(2) 発色機構について

発色機構についてはニチニチソウ、インパチエンス、および、ペチュニアでそれぞれ異なることがわかった。また、各品目で最も花色が豊富なシリーズを用いた詳しい分析の結果、各品目での発色機構が体系化できた。

ニチニチソウ: ニチニチソウのアントシアニンの基本骨格は 7 位の水酸基がメチ

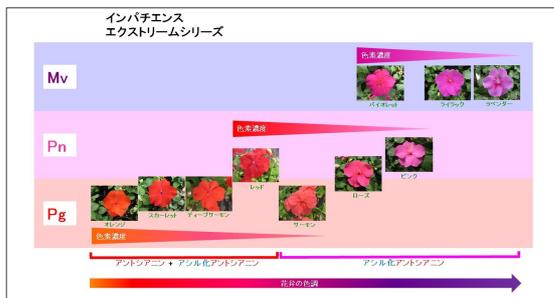
ル化していて通常より赤色味の強い花色になる傾向が知られている。花色は珠赤色～青紫色までである。本研究の結果、ニチニチソウの花色の珠赤色～青紫色の発色機構はアントシアニンとフラボノールによる分子間コピグメンテーションとアントシアニンの濃度によることが証明できた(第1図)。

このことから、この品目の現状における花色の限界が分かり、青や黄色の新花色を導入にはアントシアニジンのメチル化の阻害や7-メチルペラルゴニジンの高濃度化などが有効であると考えられた。



第1図 ニチニチソウの花色とフラボノイド(文献)

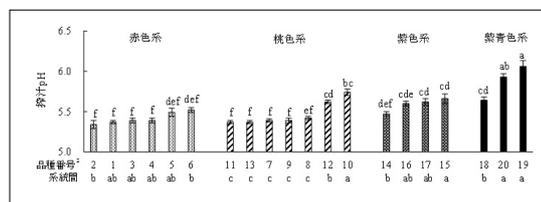
インパチエンス：インパチエンスのアントシアニンにはマルビジン、ペオニジン、および、ペラルゴニジンを中心とするアントシアニンが知られている。花色は珠赤色～紫色までである。本研究の結果、インパチエンスの花色の珠赤色～紫色の発色機構はこれまでに知られているアントシアニジンの違いだけではなく、アントシアニジンの組み合わせ、および、アントシアニンとアシル化アントシアニンの比率が色調に影響していることがわかった。さらに、アントシアニン濃度が低くなると青色味が増す傾向も確認できた(第2図)。



第2図 インパチエンスの花色とアントシアニン(文献)

ペチュニア：ペチュニア園芸品種で最も花色が豊富なシリーズの1つであるバカラシリーズ 20 品種を用い、花色とアントシアニンパターンを比較をした。この結果、これまでに知られているアントシアニジンの種類と桂皮酸による分子内コピグメンテーションによる花色の青色化やアントシアニン濃度の減少による青色化が再確認できた。しかし、これまでに知られている搾汁 pH の変化による花色への影響が現れない品種の存在が確認された(第3図)。今後は、本研究の結果を基にした遺伝子レベルでの研究

の展開が期待される。



第3図 ペチュニア バカラシリーズの搾汁 pH の比較(文献)

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16件)

F. Tatsuzawa, 7-O-Methylpelargonidin glycosides from the pale red flowers of *Catharanthus roseus*. *Natural Product Communications*, 8, 1095-1097. (2013) 査読有。

F. Tatsuzawa, N. Saito, T. Yukawa, T. Honda, K. Shinoda, K. Kato, K. Miyoshi. Acylated cyanidin 3,7-diglucosides in the red-purple flowers of *Sophranitis wittigiana* (Orchidaceae). *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 83, 64-71, (2014) 査読有。

F. Tatsuzawa, N. Takahashi, K. Kato, K. Shinoda, N. Saito, T. Honda. Acylated cyanidin glycosides from the pale-violet flowers of *Ionopsidium acaule* (Desf.) (Brassicaceae). *Phytochemistry Letters*, 7, 69-76. (2014) 査読有。

立澤文見, 奥山成美, 加藤一幾, 庄野浩資, 武田純一, 小藤田久義. ストック(*Matthiola incana*)の花弁におけるシナピルグルコシドとケンフェロール配糖体. *園芸学研究*, 13, 85-89. (2014) 査読有。

K-II, Park, A. Hoshino, N. Saito, F. Tatsuzawa. Anthocyanins in the flowers of *Ipomoea tricolor* Cav. (Convolvulaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 54, 15-18. (2014) 査読有。

F. Tatsuzawa, K. Toki, Y. Ohtani, K. Kato, N. Saito, T. Honda, M. Mii. Floral pigments from the blue flowers of *Nemophila menziesii* 'Insignis Blue' and the purple flower of its variant. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 83, 259-266, (2014) 査読有。

F. Tatsuzawa. Acylated cyanidin 3-sambubioside-5-glucosides from the purple-violet flowers of *Matthiola longipetala* subsp. *bicornis* (Sm) P. W. Ball. (Brassicaceae) *Phytochemistry Letters*, 9, 17-21 (2014) 査読有。

F. Tatsuzawa. Acylated anthocyanins in flowers of *Matthiola tricuspidata* (L.) R. Br. And *Matthiola fruticulosa* (L.) Maire (Brassicaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 57, 399-402. (2014) 査読有。

N. Saito, F. Tatsuzawa, T. Honda. Light

absorption spectral patterns of intact garden flowers in relation to the flower colors and anthocyanin pigments. *Heterocycles*, 90, 41-84 (2015) 査読有.

E. Tatsuzawa, K. Kato, M. Sato, S. Ito, H. Muraoka, Y. Takahata, S. Ogawa. Acylated cyanidin 3-sophoroside-5-glucoside in purple-violet flowers of *Moricandia arvensis* (Brassicaceae). *Natural Product Communications*, 10, 457-459. (2015) 査読有.

E. Tatsuzawa, S. Matsuda, K. Kato, M. Hosokawa. Acylated anthocyanidin 3-O-di-glycosides in red-purple flowers and grayed-purple leaves of *Saintpaulia* 'Tomoko'. *The Horticulture Journal*, 84, 77-82 (2015) 査読有.

E. Tatsuzawa, N. Hatakeyama, A. Takehara, S. Nakajo, H. Muraoka, S. Ogawa, Y. Takahata, K. Kato. Acylated anthocyanins in flowers of *Moricandia* DC. (Brassicaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 58, 38-42. (2015) 査読有.

立澤文見、山本啓未、津田旭、庄野浩資、加藤一幾. ニチニチソウ園芸品種の花色と花色素. *園芸学研究*, 14, 221-230. (2015) 査読有.

E. Tatsuzawa. Differences in the floral anthocyanin content of violet-blue flowers of *Vinca minor* L. and *Vinca major* L. (Apocynaceae). *Phytochemistry Letters*, 13, 365-369. (2015) 査読有.

E. Tatsuzawa, M. Hosokawa. Flower colors and their anthocyanins in *Saintpaulia* cultivars (Gesneriaceae). *The Horticulture Journal*, 85, 63-69 (2016) 査読有.

立澤文見、鈴木夢子、佐藤美紀、加藤一幾. インパチエンス園芸品種の花色と花色素. *園芸学研究*, in press. (2016) 査読有.

立澤文見、加藤一幾、新宮祥矢、庄野浩資、國分尚、三吉一光、安藤敏夫. ペチュニア園芸品種の花色とアントシアニン. *食と緑の科学*, in press. (2016) 査読有

〔学会発表〕(計5件)

立澤文見. アブラナ科花卉のアシル化アントシアニンに関する研究の紹介. 植物色素研究会、2013年3月16日、国立科学博物館筑波実験植物園(茨城県)

立澤文見、花色素の多様性の利用. つくば蘭展 2014 シンポジウム ランの未利用遺伝資源の保全と開発、2014年3月21日、国立科学博物館筑波実験植物園(茨城県)

立澤文見、奥山成美、加藤一幾、庄野浩資、武田純一、小藤田久義. ストック(*Matthiola incana*)の花卉におけるシナピルグルコシドとケンフェロール配糖体. 園芸学会、2014年3月29日、筑波大学(茨城県)

立澤文見、加藤一幾、新宮祥矢、庄野浩資、

安藤敏夫. ペチュニア園芸品種の花色と搾汁pH. 園芸学会、2015年3月28日、千葉大学(千葉県)

立澤文見、細川宗孝. セントポーリアの花色とアントシアニン. 園芸学会、2015年9月27日、徳島大学(徳島県)

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