

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：11201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06011

研究課題名（和文）花色と花色素の体系化による新花色品種を効率よく育成する手法の開発

研究課題名（英文）Development of a method for efficiently breeding new flower color cultivars using the systematization of flower colors and flower pigments.

研究代表者

立澤 文見（Tatsuzawa, Fumi）

岩手大学・農学部・教授

研究者番号：30320576

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：主要な春用花壇苗（プリムラ、ロベリア、バーベナ、およびキンギョソウ）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、分子内コピグメンテーション、アントシアニン濃度の変化、pHの変化、およびアントシアニジンの種類による花色への影響が、各品目で体系的にまとめられた。これらは、今後の春用主要花壇苗の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。

研究成果の学術的意義や社会的意義

花卉作物の新品種育成は盛んであるため、それらの花色は野生植物よりも非常に多彩である。特に需要の高い品目は育種が活発に行われ、品種数が多い。しかし、花色の成因の複雑さに対して表現型が単純なため同一品目のシリーズ間で類似花色の品種が多く、消費者にとって花色から見た品種の選択肢は限られた範囲にとどまっている。そこで、本研究では主要な春用花壇苗品種の花色素分析と、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ことにより、「花色と花色素の体系化」による現存する品種には無い新花色品種を効率よく育成するための園芸科学における新領域を開拓する。

研究成果の概要（英文）：The effects of intermolecular or intramolecular co-pigmentation of flavonoids and changes in anthocyanin concentration, pH, and anthocyanidin type on flower color in each cultivars were systematically summarized by analyzing the color and pigmentation of the flowers of spring bedding plants (Primula, Lobelia, Verbena, and Antirrhinum). The results of this study are considered to serve as useful basic data for future breeding of spring bedding plants with new flower colors.

研究分野：花卉園芸学

キーワード：花色 花色素 アントシアニン 園芸学

1. 研究当初の背景

これまで、花色の研究は理学的な観点からの研究が多く、青色の花を中心に特定の品目や品種に偏って研究が進められてきている。しかし、花卉産業の需要を考えると、園芸科学の分野としては各品目の花色を体系的にまとめ、現存する花色を整理したうえで、青色以外にも新しい花色の品種を育成することが重要な課題である。早春から初夏に開花する花壇用苗は、花壇苗の年間出荷量の三分の二を占めているが、パンジー以外の品目では発色機構の体系的なまとめが成されておらず、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、消費者から見ると実際には、花色の変異が限られている。近年、民間企業によるバラ等の特定の切り花を中心に遺伝子操作による新花色品種の育成が成されているが、目標とする完全な花色は得られていない。この事は、花色と花色素の発色機構が体系的に理解されていないことが原因と考えられる。そこで、本研究ではプリムラをはじめとする、複数の春用主要花壇苗の発色機構を体系化し、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することを目標とした。

2. 研究の目的

パンジーに次ぐ春用主要花壇苗の内、プリムラ、ロベリア、バーベナ、およびキンギョソウなどは、花色の変化を求めて活発な育種が行われており、シリーズ化されるなどして品種も豊富である。しかし、同一の種の品種間で類似色のものが多く品種名が異なっても変異が少ない。そこで、本研究ではプリムラ、ロベリア、バーベナ、およびキンギョソウの花色を体系的に解析し、花色の発色機構の解明を行うとともに、新花色品種を効率よく育成するための基礎情報を蓄積する。

3. 研究の方法

(1) 研究材料

本研究では、春用主要花壇苗の内、プリムラ (*Primula* × *polyantha*)、ロベリア (*Lobelia erinus*)、バーベナ (*Verbena* × *hybrida*)、およびキンギョソウ (*Antirrhinum majus*) 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 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。プリムラは各品種の乾燥花卉 100mg、ロベリアは各品種の乾燥花卉 50mg、バーベナは各品種の乾燥花卉 20mg、およびキンギョソウは各品種 20mg をそれぞれ 5% 酢酸水 (1mL) または MAW (メタノール: 酢酸: 水 = 4: 1: 5, 1mL) に浸漬し、十分

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

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)、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分光光度計で行った。プリムラは各品種の乾燥花弁 40mg、ロベリアは各品種の乾燥花弁 20mg、バーベナは各品種の乾燥花弁 5mg、およびキンギョソウは各品種の乾燥花弁 5mg をそれぞれ 0.1%塩酸性メタノール(20ml)に浸漬し、十分に色素を抽出した。抽出液を分光光度計で測定し、アントシアニンは 530nm、その他のフラボノイドは 350nm における吸光度で比較した。

アントシアニンおよびその他のフラボノイドの単離・精製はそれぞれの品種の乾燥花弁 50g 以上を用いて色素を抽出し、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 6 種類そして新規フラボノールが 4 種類得られた。

プリムラ:新規アントシアニン 2 種類、既知アントシアニン 5 種類、新規フラボノール 2 種類、既知フラボノール 2 種類。

ロベリア:新規アントシアニン 4 種類、既知アントシアニン 5 種類、既知フラボン 2 種類。

バーベナ:既知アントシアニン 15 種類、既知フラボノール 2 種類、既知フラボン 7 種類。

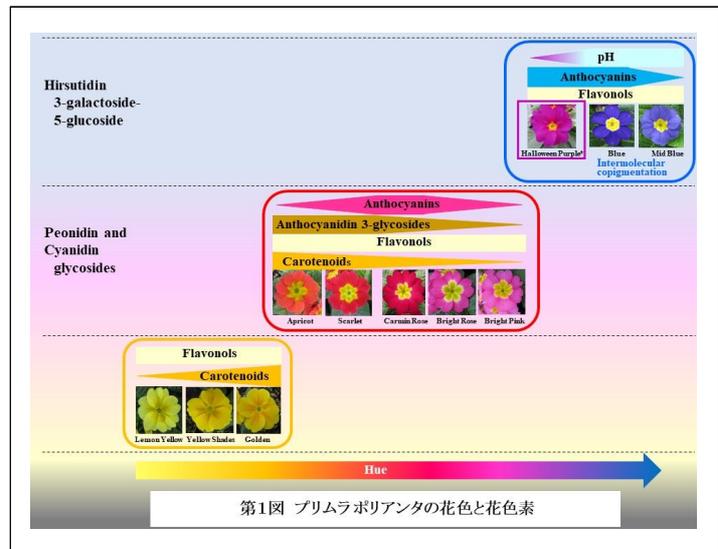
キンギョソウ:既知アントシアニン 2 種類、既知フラボノール 1 種類、既知フラボン 2 種類、既知オーロン 1 種類。

(2)発色機構について

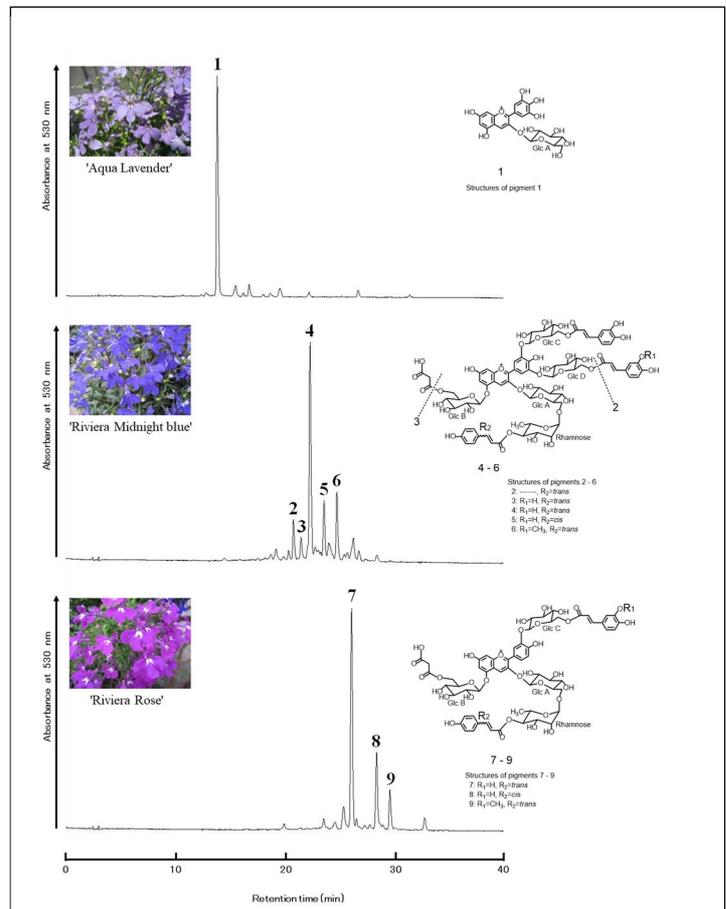
発色機構についてはプリムラ、ロベリア、バーベナ、および、キンギョソウでそれぞれ異なることがわかった。また、各品目で最も花色が豊富なシリーズを用いた詳しい分析の結果、各品目での発色機構が体系化できた。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

プリムラ: プリムラ × ポリアンタ園芸品種の花色は、色相値 (b^*/a^*) に反映されており、アントシアニン中の配糖体のパターンと花卉中のアントシアニン濃度に起因していることがわかった。特に、紫青系の花色は、主要アントシアニンのヒルスチジン 3-O-β-D-ガラクトピラノシド-5-O-β-D-グルコピラノシドと主要フラボノールのケルセチン 3-O-β-D-グルコピラノシル-(1→2)-β-D-グルコピラノシル-(1→6)-β-D-グルコピラノシドの分子間コピグメンテーションによるものであることが分かった。さらに、花色の変化は pH による影響も受けていることがわかった(第1図)。



ロベリア: ロベリア園芸品種の花色は分子内コピグメンテーションによるものであることが花色ごとに知られている。本研究では分子間コピグメンテーションや pH の影響も調べたが、これらは影響していないことが確認された。まとめると、ポリアシル化アントシアニンを含む紫青色花品種と紫色花品種は、弱酸性条件下で分子内コピグメンテーションの影響を受けるが、分子間コピグメンテーションの影響を受けないことがわかった(第2図)。



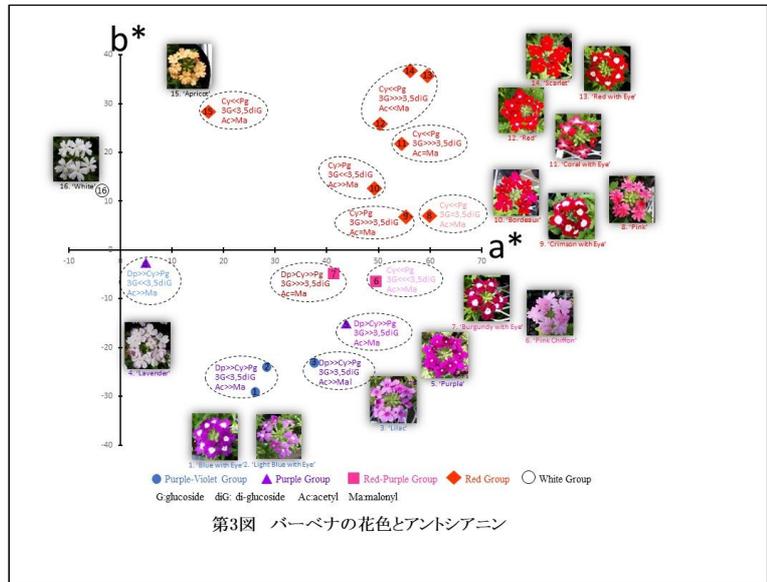
バーベナ: バーベナ園芸品種で最も花色が豊富なシリーズの1つであるオブセッションシリーズ 16 品種を用い、花色とフラボノイドパターンの比較をした。この結果、これまでに知られているアントシアニン、フラボノール、およびフラボンのほか、クロロゲン酸も確認できた。バーベナ園芸品種の花色と花色素を体系的にまとめた結果、特に、主要なアントシアニジンの比率が花色発現に影響していると

第2図 ロベリアの花色とアントシアニン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

考えられた(第3図)。

キンギョソウ:花色は、R.H.S.カラーチャートによる目視の結果から WHITE、YELLOW、YELLOW-ORANGE、ORANGE-RED、RED、RED-PURPLE の6グループに分かれた。フラボノイドは、すべての品種でフラボンとフラボノールが検出され、加えてオーロンを含む品種、アントシアニンを含む品種、オーロンとアントシアニンの両方を含む品種に分けられた。構造解析の結果、主要アントシアニンは pelargonidin と cyanidin の 3-O-[6-O-(rhamnosyl)-glucoside]、主要オーロンは aureusidin 6-O-glucoside、フラボンは apigenin 7,4'-di-O-glucuronide と 7-O-glucuronide、そして、フラボノールは kaempferol 3-O-[6-O-(rhamnosyl)-glucoside] であることが確認でき、これまで以上に正確な化学構造がわかった。フラボノイドの HPLC 分析の結果から、目視とは異なるグループ分けができた。さらに同一グループ内に、フラボノイドの量的な関係の違いで色調に濃淡があることもわかった(第4図)。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Fumi Tatsuzawa, Takayuki Mizuno, Ryo Kikuchi, Kazuhisa Kato, Toru Ota, Yoshinori Murai, Rinchen Yangzom, Tsukasa Iwashina	4. 巻 189
2. 論文標題 Flavonoids in the flowers of <i>Primula xpolyantha</i> Mill. and <i>Primula primulina</i> (Spreng.) H. Hara (Primulaceae)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Phytochemistry	6. 最初と最後の頁 112827
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.phytochem.2021.112827	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Fumi Tatsuzawa, Arisa Yoshikoshi, Akihito Takehara, Sakae Suzuki	4. 巻 99
2. 論文標題 Flavonoids from the flowers of <i>Adenium obesum</i> (Forssk.) Roem. & Schlt., <i>Mandevilla sanderi</i> (Hemsl.) Woodson, and <i>Nerium oleander</i> L. (Apocynaceae)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical Systematics and Ecology	6. 最初と最後の頁 104347
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bse.2021.104347	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 小林公美、中條しづ子、加藤一幾、竹原明秀、三浦靖、立澤文見	4. 巻 109
2. 論文標題 ウォールフラワー4品種および黄色系ストック15品種の花色と花色素に関する研究	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 アルテス リベラレス	6. 最初と最後の頁 125-136
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fumi Tatsuzawa	4. 巻 180
2. 論文標題 Flower colors and flavonoids in the cultivars of <i>Lobelia erinus</i> L. (Campanulaceae)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dyes and Pigments	6. 最初と最後の頁 108500
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fumi Tatsuzawa	4. 巻 92
2. 論文標題 Flavonoids in the blue flowers of <i>Parochetus communis</i> Buch.-Ham. ex D. Don	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical Systematics and Ecology	6. 最初と最後の頁 104108
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fumi Tatsuzawa, Chisato Mukai, Motoko Igarashi, Atsuyuki Hishida, Naoya Satta, Kazushige Honda, Shiduko Nakajo, Akihide Takehara, Natsu Tanikawa	4. 巻 87
2. 論文標題 Anthocyanins and anthocyanidins in the flowers of <i>Aconitum</i> (Ranunculaceae)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical Systematics and Ecology	6. 最初と最後の頁 103937
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ayumi deguchi, Fumi Tatsuzawa, Kazumitsu Miyoshi	4. 巻 173
2. 論文標題 A blackish-flowered cultivar of <i>Catharanthus roseus</i> accumulates high concentrations of a novel anthocyanin with a unique feature of aggregation in weak acid solutions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dyes and Pigments	6. 最初と最後の頁 108001
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 瀬戸花香, 笹木 悟, 本多和茂, 小森貞男, 立澤文見	4. 巻 21
2. 論文標題 サルビア・スプレndenシスおよびサルビア・コクシネア園芸品種の花色とアントシアニン	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 園芸学研究	6. 最初と最後の頁 413-423
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fumi Tatsuzawa	4. 巻 53
2. 論文標題 Flower colors and anthocyanins in the cultivars of <i>Campanula medium</i> L. (Campanulaceae)	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Phytochemistry Letters	6. 最初と最後の頁 13-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fumi Tatsuzawa, Haruka Seto, Mako Onodera, Yuko. Mitobe, Toru Ota	4. 巻 228
2. 論文標題 Structure determination of six flavonoid 3-O-[2-O-(-glucopyranosyl)- -glucopyranosides] (flavonoid 3-O-sophorosides) present in edible flower of <i>Tropaeolum majus</i> and the flavonoid distribution in red, orange-red, yellow-orange, and yellow flowers.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 FFI Journal	6. 最初と最後の頁 74-84
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Haruka Seto, Sarina Sasaki, Yuko Mitobe, Toru Ota, Fumi Tatsuzawa	4. 巻 in press
2. 論文標題 Flower Colors and Their Flavonoids in the Cultivars of <i>Verbena hybrida</i> .	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Horticulture Journal	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 鈴木征爾、立澤文見
2. 発表標題 バージニアストック (<i>Malcolmia maritima</i> (L.) R.Br.) のフラボノールに関する研究
3. 学会等名 植物色素談話会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 立澤文見、谷川奈津、柳下良美
2. 発表標題 スイートピーの花色とフラボノイド ~ 赤色と白色花について ~
3. 学会等名 植物色素談話会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 瀬戸花香、笹木悟、立澤文見
2. 発表標題 サルビア フラメンコ系品種の花色とアントシアニン
3. 学会等名 園芸学会東北支部令和元年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 立澤文見、迎千里、五十嵐元子、菱田敦之、颯田尚哉、本多和茂、谷川奈津
2. 発表標題 トリカブト属(Aconitum L.)の花のアントシアニン
3. 学会等名 園芸学会令和元年度秋季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小山田有紀、太田徹、立澤文見
2. 発表標題 エディブルフラワーの花色から判断するフラボノイド組成 第1報 ダリアの花色とフラボノイド
3. 学会等名 日本食生活学会第59回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 立澤文見、飛内萌華、太田徹
2. 発表標題 エディブルフラワーの花色から判断するフラボノイド組成 第2報 キンギョソウ・パレットシリーズの花色と主要フラボノイド
3. 学会等名 日本食生活学会第59回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐野広之、谷川奈津、立澤文見
2. 発表標題 キキョウの花のアントシアニン
3. 学会等名 園芸学会令和2年度春季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 瀬戸花香、笹木悟、立澤文見
2. 発表標題 サルビア コクシネア 園芸品種の花のアントシアニン
3. 学会等名 園芸学会令和2年度春季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 立澤文見・吉越有紗・鈴木栄
2. 発表標題 キョウチクトウの花のアントシアニン
3. 学会等名 園芸学会令和2年度春季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐野広之、遊川知久、立澤文見
2. 発表標題 Dendrobium ノビレ系赤紫色花のアントシアニンに関する研究
3. 学会等名 園芸学会東北支部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 瀬戸花香、佐々木芹菜、水戸部祐子、太田徹、立澤文見
2. 発表標題 パーベナ(Verbena hybrida)園芸品種の花色とフラボノイド
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 瀬戸花香、水野貴行、岩科司、笹木悟、水戸部祐子、立澤文見
2. 発表標題 サルビア・ガラニチカ(Salvia guaranitica)のアントシアニン
3. 学会等名 植物色素談話会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------