

## 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24年 5月31日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21580036

研究課題名（和文） *Pelargonium* 属植物における黄色発現の遺伝様式の解明研究課題名（英文） Flower color and pigments in yellow-flowered *Pelargonium* section *Hoarea*

研究代表者

柿原 文香 (KAKIHARA FUMIKA)

愛媛大学・農学部・准教授

研究者番号：80101377

研究成果の概要（和文）：*Pelargonium* 属 *Hoarea* 節黄色花野生種とそれらの自殖個体および F<sub>1</sub> 個体植物について、花卉の花色とそれに含まれる花色素との関係を調査した。黄色色素はカロテノイド、主要な色素はルテイン（50-90%）であった。加えて、β-カロテンなどその他未同定のカロテノイド色素（約 10 種類）も微量に含まれていた。種や系統により黄色花色には微妙な差異が認められたが、この変異は、ルテイン含量とその他の微量のカロテノイド色素の含有組み合わせによって生じていると推測された。

研究成果の概要（英文）：The yellow-flowered characteristics and identify the yellow pigment in *Pelargonium* section *Hoarea* for its pigment composition and content were investigated. The petals of parents had yellow and yellow-orange color, whereas those F<sub>1</sub> plants had varied from white, yellow, yellow-orange and orange color. The major carotenoids of all species were lutein(50-90%) together with β-carotene and the unidentified carotenoids as minor component. The difference in color appeared to be due to the variation in the total carotenoid concentration and small changes in the concentration of the minor carotenoids.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	4,100,000	1,230,000	5,330,000

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：*Pelargonium* 属・*Hoarea* 節・花色素・花色・黄色・カロテノイド・ルテイン・β-カロテン

## 1. 研究開始当初の背景

*Pelargonium* 属植物では、類縁関係など系統分化に関する研究は古くから行われている。また、近年は分子生物学的手法を用いた系統分化に関する新しい知見も得られている。しかし、実際の育種、特に花色に関する研究は僅少である。しかも、それらの殆どは、

アントシアニン色素に関するもので、黄色系花色に関する研究は皆無に等しいし、黄色系品種育成に関する研究報告は全くない。さらに、既存栽培品種の殆どは、白、ピンク、オレンジ、赤、赤紫などのアントシアニン系花色で占められており、黄色優良品種の作出が強く望まれている。申請者はこれまでに

*Pelargonium* 属植物に関して、生殖生理学的研究を行い、本属の胚珠は特異的な生育である事を見だし、「選択的発達現象」と呼び、その現象を解明した。続いて、交雑親和性や類縁性、種間交雑による諸形質の変異拡大、花色についても研究を行ってきた。そこで、黄色花優良栽培品種の作出には、長年に亘り確立した雑種獲得技術を生かし、従来型の交雑によって黄色色素の導入を図るのが効率的と考えた。野生種には黄色種があることから、遺伝子組換え法を用いた、他の植物からの黄色遺伝子導入の必要はない。

## 2. 研究の目的

本研究の最終目標は、交雑法を用いて黄色野生種の持つ黄色花遺伝子を、栽培品種に導入し、優良な黄色花栽培品種を育成することである。ここでは、①野生種の黄色花弁に含有される色素を同定し、②野生種の持つ黄色花色と花色素の遺伝様式を明らかにし、③より効率的に優良な黄花品種を育成するための育種素材を選抜する事を目的とする。

## 3. 研究の方法

*Pelargonium* 属 *Hoarea* 節には薄黄色やクリーム色を持つ多数の種が存在する。本研究ではこれを供試材料に用いる。

*Pelargonium* 属植物の花は5枚の花弁(上側2枚、下側3枚)からなり、上側2枚の基部に赤色～赤紫色(アントシアニン系花色)のブロッチがある。花色および花色素の調査にはブロッチ部分と非ブロッチ部分とを区別した。

### (1) 自殖個体およびF<sub>1</sub>個体の作出

*Pelargonium* 属 *Hoarea* 節には黄色花色を持つ多数の種が存在するが、野生種が持つ花色は極めて薄い(図1)。自殖または交雑により色素の蓄積が可能か否かを調査するため、自殖および相互交雑を行い、自殖個体およびF<sub>1</sub>個体を作成した。

### (2) 花色調査

#### ①目視による花色調査

RHSカラーチャートを用いて花色を調査した。

#### ②色差計による測色

色差計(ミノルタ、CM-2600d)を使用してL\*a\*b\*値を測定した(L\*は明度、a\*は赤色値、b\*値は黄色値を示す)。L\*a\*b\*値から彩度(C)およびhue値(色角度:h)を算出した。算出式は次の通りであった。

$$C = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

$$h = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$$

(h: 0° 赤紫色、90° 黄色、180° 青緑色、270° 青色を示す)

### (3) 花色素分析及び色素の同定

#### ①紫外可視分光光度計による吸収スペクトルの測定

紫外可視分光光度計(Jasco V-570)を使用し、吸収スペクトル(波長)を測定し、含有色素を推定した。

#### ②高速液体クロマトグラフィー(HPLC)

高速液体クロマトグラフィー(HPLC)(Shimadzu LC-20AD)を使用し、花弁の黄色部分およびブロッチ部分の含有色素を検出し、ピーク検出時間から色素の同定を行った。同定にはカロテノイド色素については標準物質を、アントシアニン色素については、既知の栽培品種 *P. xdomesticum* 'Dark venus' を標品に用いた。

### (4) 花弁表皮細胞の花色素分布

花弁表皮細胞の組織構造および花色素の分布を明らかにするため、マイクロスライサーを用いて、横断切片を作成し、光学顕微鏡で観察した。

### (5) 花色と花色素との関連性

花色と花色素との関係を解析し、両者の関連性を推定した。

## 4. 研究成果

本研究の目的は、*Pelargonium* 属植物の薄黄色花弁を持つ野生種の花色素の遺伝様式を解明し、優良な黄色花園芸品種作出の基礎的知見を得ることである。そこで、黄色花野生種(図1)、およびこれらのF<sub>1</sub>植物(図2)を供試して、花色と花色素とについて調査し、それらの関連性を追究した。F<sub>1</sub>個体は通常の交雑により容易に得られた(図3)。

(1) *Pelargonium* 属 *Hoarea* 節の野生種の黄色花弁の花色は、黄色、黄橙色を示した(図1)。ブロッチ部分の花色は、赤色、赤紫色、灰紫色であった(図1)。

(2) F<sub>1</sub>個体の花色は、白色、黄色、黄橙色および橙色であった。親世代と比較して黄色は濃くならなかった。ブロッチ部分の花色は親植物と同色であった。

(3) 自殖個体の花色は、非ブロッチ、ブロッチ部分共に親植物とほぼ同じであった。

(4) 薄黄色および黄色花弁の生花弁の花色を色差計により測定したところ、黄色および薄

黄色花卉の L\*値は 70～85、a\*値は 0.18～-3.03、b\*値は 7.63～25.89 であった

(5) 薄黄色花卉について、分光光度計で吸光度を調査した結果、最大吸収波長は 420、450、470nm で、含有色素はカロテノイドと推定された (図 4)。

(6) カロテノイド色素 (最大吸収波長 450nm) を抽出し、液体クロマトグラフィーを用いて色素分析を行った所、11本のピークが検出できた (図 5)。このうちルテインと  $\beta$ -カロテンとが同定できたが、その他のピークは極めて低く、同定は不可能であった。調査した野生種および F<sub>1</sub> 個体はほぼ同様のクロマトグラムのパターンを呈した。

(7) *Hoarea* 節の黄色花卉野生種および F<sub>1</sub> 個体植物における花色変異は、ルテイン含量とその他の微量のカロテノイド色素の含有組み合わせによって生じていると、推測された (図 2)。

(8) ルテインは主要な色素で、ほとんどの野生種や F<sub>1</sub> 植物では 50～90%以上を占めていた。また、 $\beta$ -カロテンの含有は、0-14%の範囲で変異が見られた。一般的にルテイン含量が高いと b\*値 (黄色味) も高くなる傾向が認められ (図 7)、ルテイン含量が多いと黄色く見える上に、明るく見えることが分かった。

(9) しかし、*Hoarea* 節の黄色は極めて薄いため、 $\beta$ -カロテンやその他の未同定の微量カロテノイドのわずかな含有量の差異で、花色に大きな差異を与えることが示唆された。

(10) さらに、極めて微量に混在するアントシアニン色素や表皮細胞の形態 (図 9) などの要因が微妙に影響しあって花色に変異を醸し出していると推察された。

### (11) 結論

*Pelargonium* 属 *Hoarea* 節野生種を育種素材に用いて黄色花優良品種の育成を行う場合、主要色素であるルテイン含量だけでなく、 $\beta$ -カロテンなどの微量に含まれるカロテノイド色素、またアントシアニン色素、花卉の表皮細胞の形態など、種々の要因を総合的に判断して交雑親の選定を行う必要があると結論できた。



図 1 *Pelargonium* 属 *Hoarea* 節野生種の花色変異



図 2 *Pelargonium* 属 *Hoarea* 節 F<sub>1</sub> 個体の花色変異

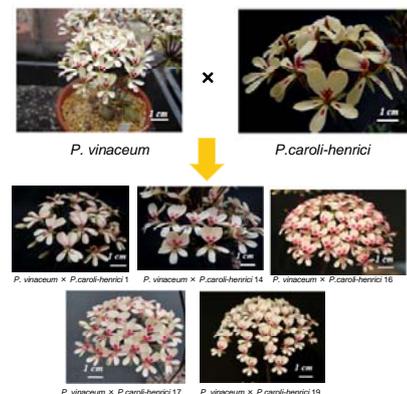


図 3 *Pelargonium* 属 *Hoarea* 節の種間雑種作出

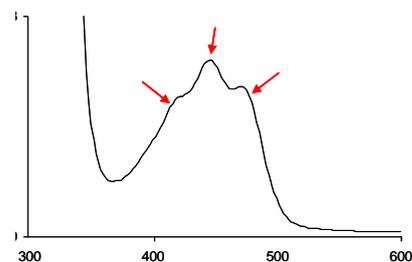


図 4 黄色生花卉のカロテノイドの吸収スペクトル (矢印: 420、450、470nm)

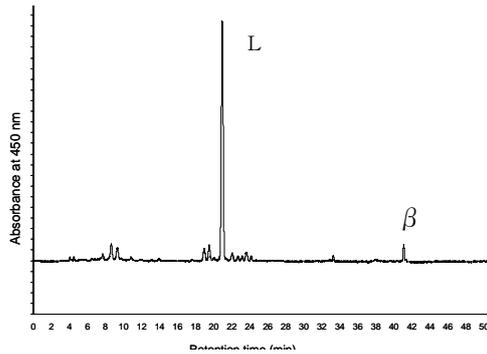


図5 高速クロマトグラフィーによるカロテノイド色素の分析  
(L:ルテイン、β:β-カロテン)

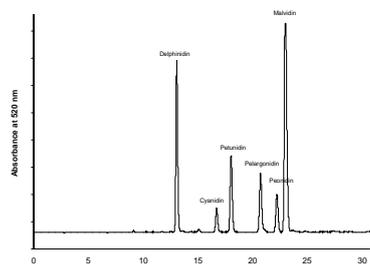


図6 高速クロマトグラフィーによるアントシアニン色素の分析

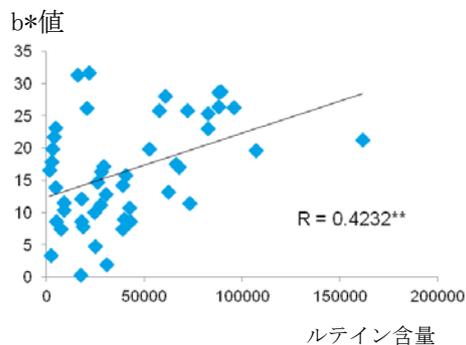


図7 ルテイン含量とb\*値との関係

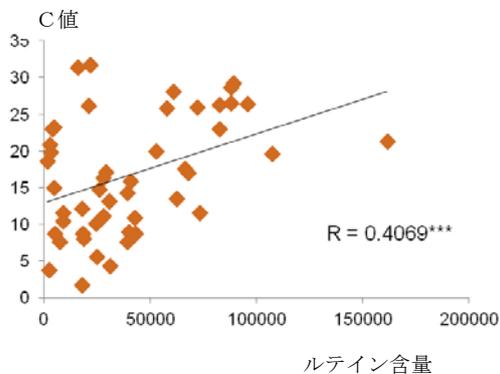


図8 ルテイン含量とC(彩度)との関係



図9 花卉表皮細胞の組織構造

## 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4件)

① Sukhumpinij, P., Kakihara, F., Hondo, K., Kato M.、査読有、Analysis of pigments in yellow-flowered Pelargonium section Hoarea, Acta Horticulturae, In press.

② Kakihara, F., Hondo, K., Kato M.、査読、Production of interspecific hybrids between Pelargonium crispum and P. rapaceum through ovule culture and their characteristics, Acta Horticulturae. In press.

③ P. Sukhumpinij, F. Kakihara, M. Kato、査読有、Effect of auxin-cytokinin interaction and light conditions on organogenesis in mature leaf explants of Pelargonium rapaceum(L.)L' Herit. Acta Horticulturae 907:185-188(2011)

④ Pornpan Sukhumpinij, Fumika Kakihara, Masahiro Kato、査読有、In vitro regeneration from mature leaf explants of Pelargonium rapaceum(L.) L' Herit. Scientia Horticulturae. 126:385-389(2010)

〔学会発表〕(計10件)

① 柿原文香：ペラルゴニウム属植物の花色育種。植物色素研究会第23回集会、P.3-4、2011年11月19日、都城市。

② 柿原文香・本藤加奈：ペラルゴニウムとゼラニウムにおける花色変異の拡大。日本育種学会四国談話会第76回講演会、2011年11月25日、南国市。

③ 柿原文香・Sukhumpinij pornpan・本藤加

奈：Pelargonium 属植物における黄色花品種  
作出の試み. 日本育種学会四国談話会第 76  
回講演会、2011 年 11 月 25 日、南国市。

④Sukhumpinij Pornpan・本藤加奈・柿原文  
香：Pelargonium 属 Hoarea 節黄花野生種の  
花色と花色素. 日本育種学会四国談話会第 75  
回講演会、2010 年 11 月 26 日、松山市。

⑤飯田大輔・本藤加奈・田中美奈・岡本充智・  
栗坂信之・柿原文香：RAPD 法による  
Pelargonium 属 Hoarea 節の多型の検出. 日  
本育種学会四国談話会第 75 回講演会、2010  
年 11 月 26 日、松山市。

⑥稲田真顕・Sukhumpinij Pornpan ・柿原  
文香・本藤加奈：コルヒチン処理による  
Pelargonium rapaceum (L.) L' Hérít の倍数  
体作出の検討. 日本育種学会四国談話会第 75  
回講演会、2010 年 11 月 26 日、松山市。

⑦Sukhumpinij,P., K.Hondo, F. Kakihara:  
Analysis of Carotenoids and Anthocyanins  
in yellow petals of Pelargonium section  
Hoarea. 園芸学研究、第 9 巻別冊 2：263、  
園芸学会秋季大会、2010 年 9 月 19 日、大分  
市。

⑧P. Sukhumpinij, F. Kakihara, K. Hondo  
and M. Kato: Analysis of Pigments in  
Yellow-Flowered Pelargonium section  
Hoarea.28th International Horticultural  
Congress, Abstracts Volume II p.451,  
Aug.24, 2010, Lisbon, Portugal.

⑨ F. Kakihara, K. Hondo and M.  
Kato:Production of interspecific hybrids  
between Pelargonium crispum and P.  
rapaceum through ovule culture and their  
characteristics 28th International  
Horticultural Congress, Abstracts Volume  
II p.460, Aug.24 , 2010, Lisbon, Portugal.

⑩ Sukhumpinij Pornpan, Fumika  
Kakihara, K. Hondo and Masahiro  
Kato:Relationship between flower colour  
and carotenoids in yellow petals of  
Pelargonium section Hoarea  
日本育種学会第 116 回講演会、育種学研究 1  
1 (別冊 2):351 札幌、2009 年 9 月 27 日、  
札幌市

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

柿原 文香 (KAKIHARA FUMIKA)

愛媛大学・農学部・准教授

研究者番号：80101377