

シクラメンの花と葉におけるアントシアニン発現の相互関係

高村武二郎・濱田成一

Interrelation of anthocyanin expression between flowers and leaves in cyclamen.

Takejiro Takamura and Seiichi Hamada

Summary

Anthocyanins in the petals, peduncles and leaves of cyanic cyclamens were investigated. The main anthocyanins in the all organs, except petal slips, were malvidin glycosides in the cyanic cyclamens used in the present study. The plants containing 3,5-diglucoside type anthocyanins in the petal slips as the main anthocyanin contained malvidin 3,5-diglucoside as the main anthocyanin in the petal eyes, peduncles, leaf blades and petioles. On the other hand, the plants with 3-glucoside or 3-neohesperidoside type anthocyanin in the petal slips contained malvidin 3-glucoside as the main anthocyanin in other organs. These results suggested that there is an interrelation of glycosylation in 5-position of anthocyanins between flowers and leaves in cyclamen.

Key Words : cyclamen, anthocyanin, interrelation, glycosylation

緒言

シクラメンの花色は白、赤、紫およびこれらの中間色が主であったが、近年になって黄、緑、青紫等の花色を有する個体が作出されている。これらのうち、白、黄および緑色以外の花色の品種、すなわちシアニック系品種の主要花色素はアントシアニンである⁽¹⁻⁴⁾。視覚を通じてその価値が評価される観賞植物において、花色は最も重要な形質の1つであり、シクラメンにおいても花色の多様化・改良は重要な育種目標である。

シクラメンの花色改良を目的とした育種を行う場合、通常の育種サイクルでは交雑から次世代株の開花まで約2年を必要とするうえ、開花後に目的の花色を有する個体を選抜する方法では、著しく栽培コストが増大する。例えば、劣性の1遺伝子に支配される花色の個体を育成する場合、理論上、F₂世代の75%が目的以外の花色を呈する個体である。したがって、開花前にその株の花色が判断できれば、育種プログラムの推進やコストの削減に有用な技術となるものと期待される。

カルコノナリンゲニン2'グルコシド(Ch2'G)を主要花色素とする黄色花シクラメン⁽⁵⁾では、花卉以外の栄養器官にもCh2'Gが含まれて黄色味を帯びているために、幼苗時に黄色花株の選抜が可能であることが明らかに

なっており⁽⁶⁾、実際に黄色花シクラメンの品種改良にその幼植物体選抜が用いられている。しかしながら、黄色花シクラメン以外のシクラメン個体では、幼植物検定を可能にするような花色素と他の栄養器官に含まれる色素との相互関係は、明らかになっていない⁽⁷⁾。

そこで本研究では、花色育種の効率化を目的として、アントシアニンを主要花色素とするシアニック系シクラメンの花色素と各栄養器官に含まれる色素間における相互関係を調査し、シアニック系シクラメン品種・系統における幼植物選抜の可能性について検討した。

材料および方法

香川大学農学部の温室で栽培されたシアニック系の系統・品種の523P, 523PM, 550Mおよび‘ボンファイア’の開花当日の花弁および花柄と、横幅2~3cm程度に展開した葉を採取して実験に用いた。

採取した花弁はスリップ部分(slip)と底紅部分(eye)を切り離してRoyal Horticultural Society(RHS)カラーチャートを用いて花色を調査した後、40℃で20~24時間乾燥させ、得られた乾燥花弁を常温乾燥状態で保存した。花柄および葉身、葉柄は花弁と同様に色の調査と新鮮重の測定を行った後、-20℃で冷凍保存した。

slipとeyeは5%ギ酸メタノールに20~24時間浸漬して素抽出液を得た。得られた抽出液を減圧乾固し、2 mLの5%ギ酸メタノールで再抽出した後、メンブランフィルター（孔径0.45 μm）で濾過して試料とした。花柄、葉身および葉柄は5 mm~1 cm程度の大きさに切り分け、花弁と同様に試料を調整した。

各試料中のアントシアニンは、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を用いて調査した。HPLCシステムには、CBM20Aliteシステムコントローラー（島津製作所）、DGU-20Aデガッサー（島津製作所）、SIL-10AFオートインジェクター（島津製作所）、SPD-M10Avp検出器（島津製作所）、2台のLC-20ATポンプ（島津製作所）、2個のイナートシルODS-3カラム（径3.0 mm×長さ50 mmおよび径3.0 mm×長さ250 mm, GLサイエンス）、および40℃に設定したCTO-10ASvpカラムオープン（島津製作所）を用いた。溶媒には、溶媒Aを0.1%トリフルオロ酢酸（TFA）水溶液、溶媒Bを0.1% TFA-20%酢酸-25%アセトニトリル水溶液（v/v）とした混合溶液（以下TFA溶媒；75：25, v/v）を用いて溶媒Bの濃度を40分後に85%に変化させる直線的濃度勾配溶出法を適用した。混合溶液の流速は0.4 mL・min⁻¹に維持した。また、同様のHPLCシステムを用いて、カラムを2個のCOSMOSIL 5C18-AR II カラム（径4.6 mm×長さ50 mmおよび径4.6 mm×長さ250 mm, ナカライテスク）とし、溶媒Aを1.5%リン酸水溶液、溶媒Bを1.5%リン酸-20%酢酸-25%アセトニトリル水溶液（v/v）とした混合溶液（以下リン酸溶媒；75：25, v/v）を用いて溶媒Bの濃度を40分後に85%に変化させる直線的濃度勾配溶出法で再分析を行った。その際、混合溶液の流速は0.8 mL・min⁻¹に維持した。

結果および考察

いずれの品種・系統においても検出された主要アントシアニンは、TFA溶媒とリン酸溶媒を用いた場合で明確な差異は認められなかった（データ未掲載）。高村・杉村⁽⁴⁾は、Kage 523Pの主要アントシアニンがペオニジン3,5ジグルコシド（Pn3,5dG）であり、他にマルビジン3,5ジグルコシド（Mv3,5dG）も含まれていたと報告している。Kage 523Pより選抜育成された系統である523Pのslipにも同様に主要アントシアニンとしてペオニジン3,5ジグルコシド（Pn3,5dG）およびマルビジン3,5ジグルコシド（Mv3,5dG）が含まれていた（第1図）。しかしながら、eyeではMv3,5dGの割合が大きく増大し、葉身、葉柄および花柄の主要アントシアニンもMv3,5dGであった。また、葉柄および花柄ではマルビジン3グルコシド（Mv3G）も主要アントシアニンとして検出された。

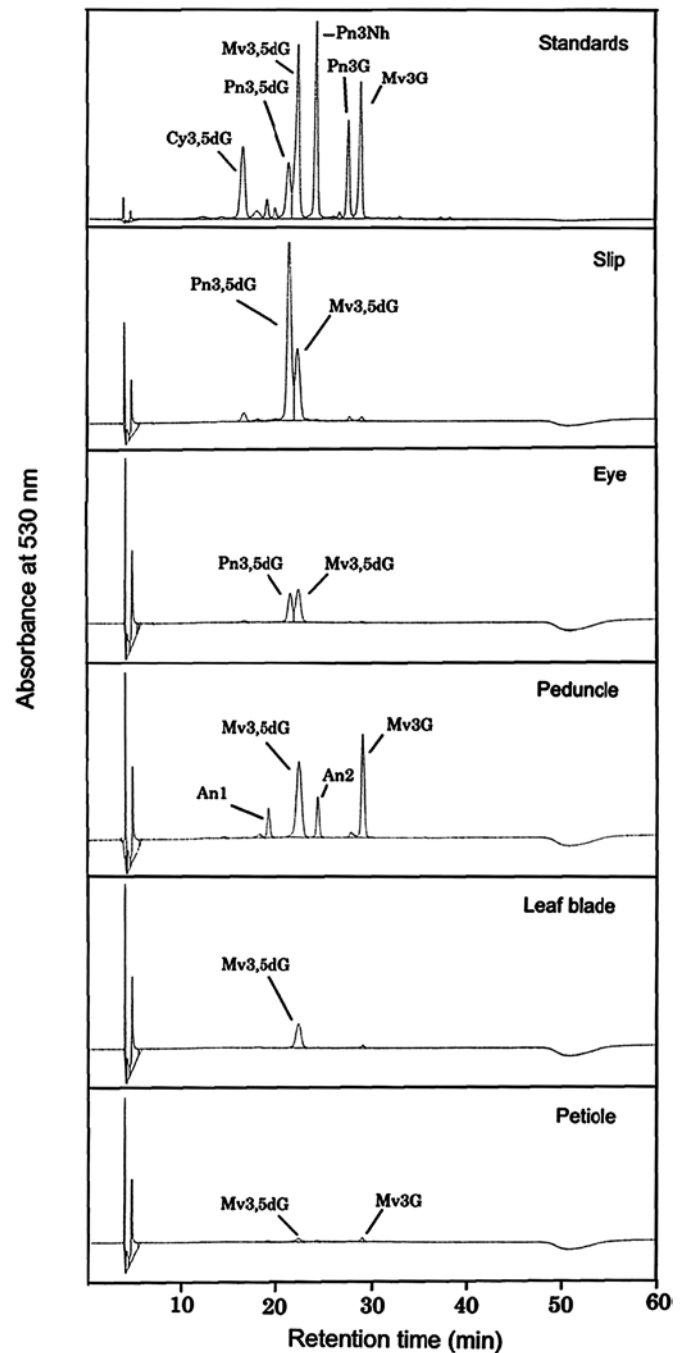


Fig. 1. Typical HPLC (by using TFA solvent) profiles of anthocyanins extracted from the petals, peduncles and leaves of cyanic cyclamen 523P. Cy: cyaniding, Pn: peonidin, Mv: malvidin, G: glucoside, dG: diglucoside. An1-2: anthocyanins without identification.

523Pの変異個体から育成された523PMは523Pより明らかに赤みが強い花弁を有し（データ未掲載）、そのslipの最も主要なアントシアニンはペオニジン3グルコシド（Pn3G）であり、Mv3Gも主要アントシアニンとして検出された（第2図）。一方、eyeではPn3Gも主要なアントシアニンとして検出されるもののMv3Gの割合が増大

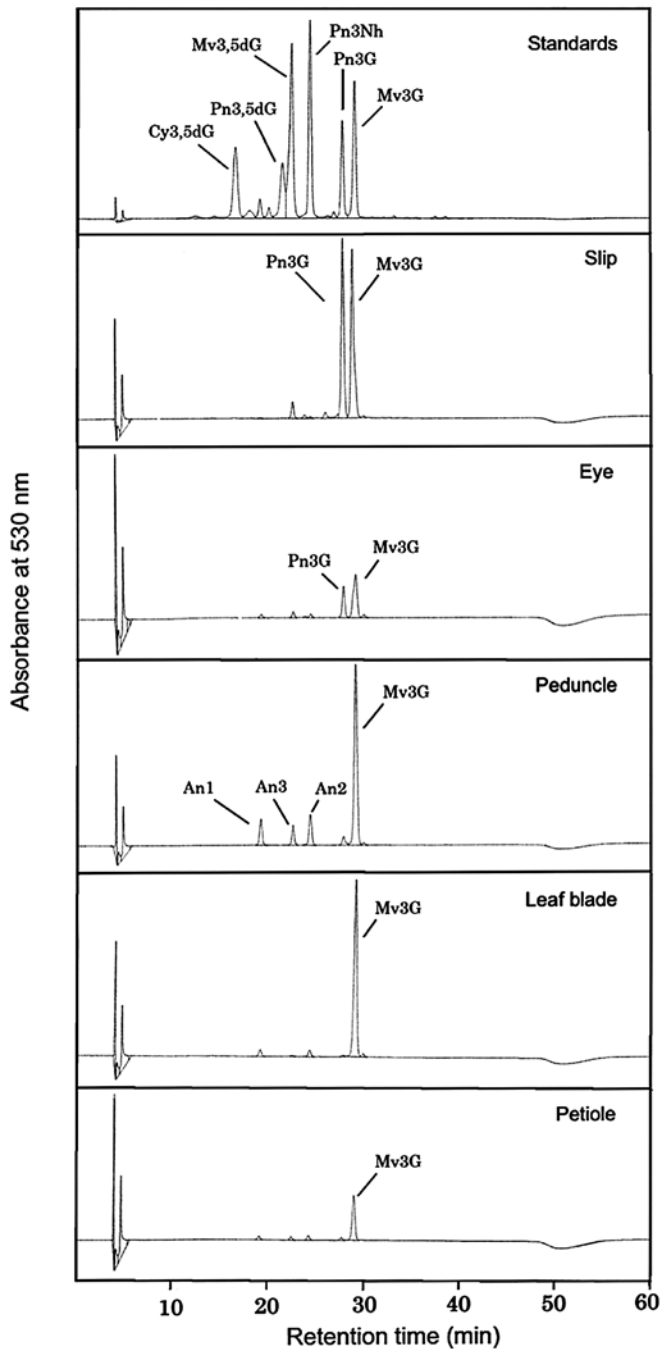


Fig. 2. Typical HPLC (by using TFA solvent) profiles of anthocyanins extracted from the petals, peduncles and leaves of cyanic cyclamen 523PM. Cy, Pn, Mv, G, and dG: See Fig.1. An1-3: anthocyanins without identification.

して最も主要なアントシアニンとなった。また、葉身、葉柄および花柄の主要アントシアニンもMv3Gであり、Pn3Gは確認できなかった。

550Mのslipからは、主要アントシアニンのPn3,5dGおよびMv3,5dGに加えてシアニジン3,5ジグルコシド(Cy3,5dG)も検出されたが(第3図)、eyeではMv3,5dG

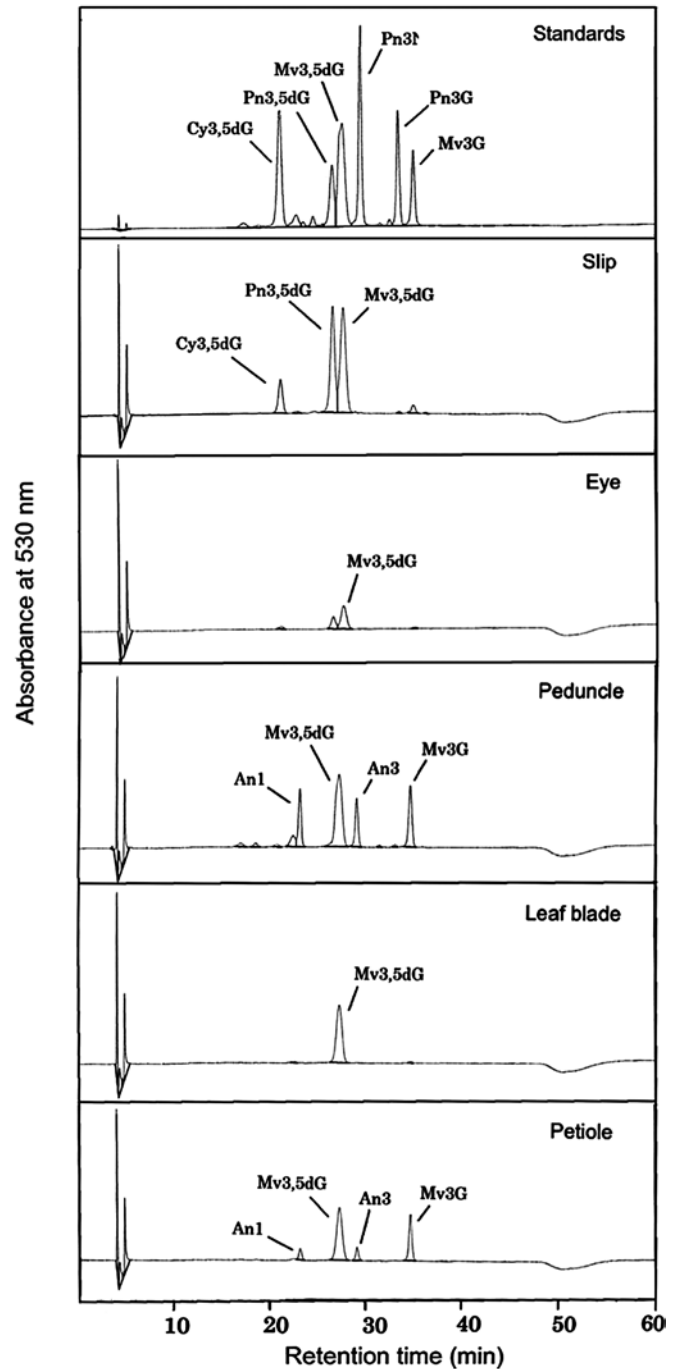


Fig. 3. Typical HPLC (by using TFA solvent) profiles of anthocyanins extracted from the petals, peduncles and leaves of cyanic cyclamen 550M. Cy, Pn, Mv, G, and dG: See Fig.1. An1 and An3: anthocyanins without identification.

の割合が大きく増大して最も主要なアントシアニンとなった。葉身、葉柄および花柄においてもMv3,5dGが主要アントシアニンとして検出されたが、花柄および葉柄ではMv3,5dGに加えて多量のMv3Gが検出され、比較的他のアントシアニン(未同定)も認められた。

赤色花品種‘ボンファイア’のslipの主要アントシア

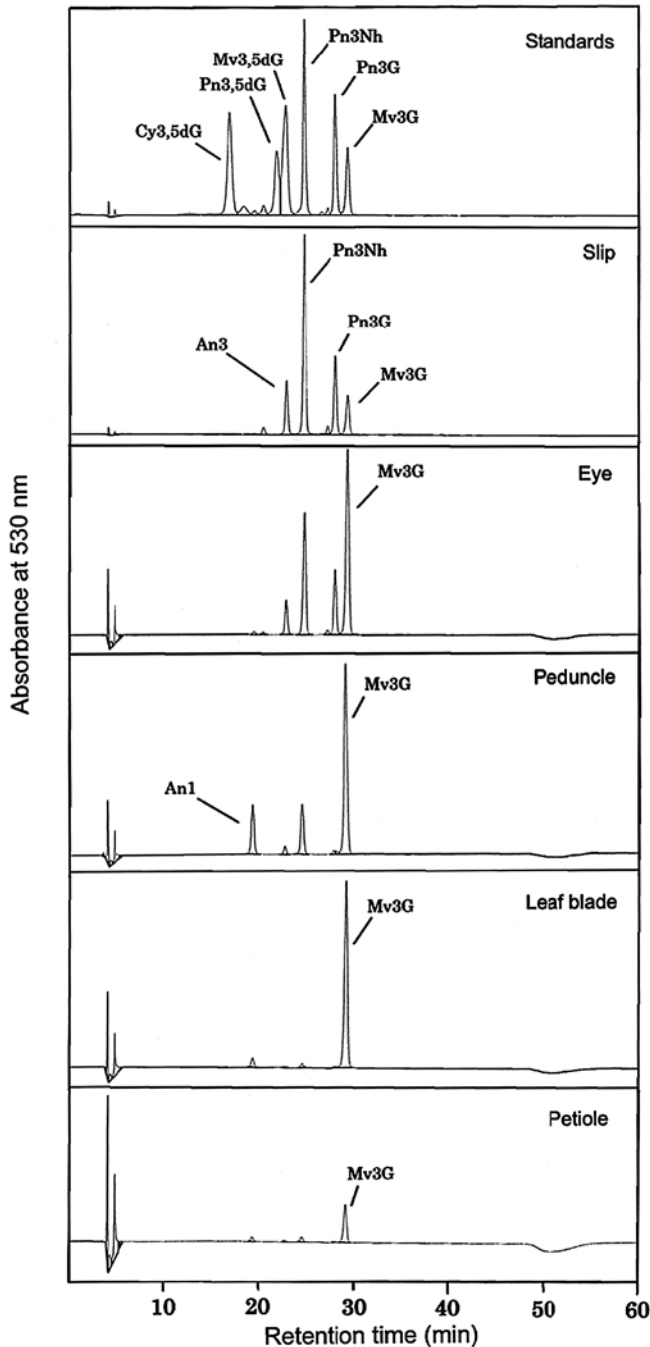


Fig. 4. Typical HPLC (by using TFA solvent) profiles of anthocyanins extracted from the petals, peduncles and leaves of cyanic cyclamen 'Bonfire'. Cy, Pn, Mv, G, and dG: See Fig.1. An1 and An3: anthocyanins without identification.

ニンは、ペオニジン3ネオヘスペリドシド (Pn3Nh) であると報告されている^(3,4)。本研究で用いた'ボンファイア'のslipにおいても最も主要なアントシアニンは、Pn3Nhであった(第4図)。しかしながら、花卉の底紅部分では、比較的多量のPn3Nhも検出されたものの、最も主要なアントシアニンとしてMv3Gが検出され、葉

身、葉柄および花柄の主要アントシアニンもいずれもMv3Gであった。

高村・伊坂⁽⁷⁾は、シクラメンの葉に含まれる主要アントシアニンは、いずれの品種においてもマルビジン配糖体であったが、花卉と他の栄養器官に含まれる色素間における相互関係は不明瞭であったと報告している。また、シクラメンでは、slipとeyeの花色が異なる場合にはeyeの向軸面と背軸面の色素が異なり、ペオニジン配糖体をslipの主要アントシアニンとするシクラメンでもeyeではマルビジン配糖体を主に集積することが報告されている^(8,9)。本実験で用いたシアニック系シクラメンは、すべてslipにペオニジン配糖体を主要アントシアニンとして含んでいたが、eyeとともに葉身や葉柄においてもマルビジン配糖体が主要アントシアニンとして含まれており、これらは既報と一致した。一方、本実験においては、slipの主要アントシアニンとその他の器官に含まれるアントシアニンの5位での配糖体化に相互関係が認められた。すなわち、5位に糖が修飾されていないPn3Gがslipの主要アントシアニンである523PMおよびPn3Nhがslipの主要アントシアニンである'ボンファイア'では、eye、花柄、葉身および葉柄の主要アントシアニンはMv3Gであり、3,5dGタイプの主要アントシアニンは検出されなかった。一方、5位が配糖体化されたPn3,5dGがslipの主要アントシアニンである523Pおよび550Mでは、Mv3,5dGがeye、花柄、葉身および葉柄の主要アントシアニンとして検出された。したがって、シクラメンのeye、花柄、葉身および葉柄でアントシアニンが発現する場合には、いずれにおいてもマルビジン配糖体が主要アントシアニンとなると共に、そのslipの主要アントシアニンにおいて5位での配糖体化が認められる場合には、eye、花柄、葉身および葉柄の主要アントシアニンにおいても5位に糖が修飾されることが示唆される。

本研究の結果、シクラメンのslipと葉および花柄の間でアントシアニンの5位での配糖体化に相互関係があり、この相互関係がシクラメンの幼植物選抜に利用できる可能性が示された。シクラメンでは、花卉の主要アントシアニンの5位での配糖体化の有無が花色に影響を及ぼす可能性が指摘されており^(2,4,9)、この幼植物選抜は、花色育種プログラムの推進に有効な手段になると期待できる。しかしながら、slipの主要アントシアニンが3,5dGタイプの場合、花柄および葉柄では多量のMv3Gの検出が認められ(第1図、第3図)、Mv3,5dGよりも同量以上検出される個体も認められた(データ未掲載)。これは、5位にグルコースを修飾する5グルコシルトランスフェラーゼの生成を支配する遺伝子(5GT)が花卉以外の栄養器官でも発現しているが、その5GTの発現または

5位への糖の修飾の効率に部位間で差異があり、花柄や葉柄でのアントシアニンの5位での配糖体化に影響した可能性がある。したがって、シクラメンの花色に影響を及ぼす花卉の主要アントシアニンの5位での配糖体化の有無に関する幼植物選抜には、葉身を用いることが望ましいと考えられる。

摘 要

シアニック系シクラメン品種・系統の花弁、花柄、葉身、葉柄に含まれるアントシアニンを分析した。その

結果、本研究で用いた全ての品種・系統においてslip以外の器官に含まれる主要アントシアニンはマルビジン配糖体であった。また、slipの主要アントシアニンの5位での配糖体化が認められる場合には、他の器官からMv3,5dGが主要アントシアニンとして検出されたが、slipの主要アントシアニンの5位での配糖体化が認められない場合には、他の器官の主要アントシアニンは、Mv3Gであった。このように、シクラメン園芸品種では、slipと他の器官の主要アントシアニンの5位での配糖体化に相互関係があるものと示唆された。

引 用 文 献

- (1) Van Bragt, J.: Chemogenetical investigations of flower colours in cyclamen, Meded Landbouwhogeschool, Wageningen, 62, 1-43 (1962).
- (2) 宮島郁夫, 土井一郎, 鹿毛哲郎: シクラメンの花色素と花色発現について. 九大農学芸誌, 45, 83-89 (1990).
- (3) Webby, R. F. and Boase, M. R.: Peonidin 3-O-neohesperidoside and other flavonoids from *Cyclamen persicum* petals. *Phytochemistry*, 52, 939-941 (1999).
- (4) 高村武二郎, 杉村隆之: シアニック系シクラメン品種の花色および花色素. 香川大学農学部学術報告, 60, 39-45 (2008).
- (5) Miyajima, I., Maehara, T., Kage, T. and Fujieda, K.: Identification of the main agent causing yellow color of yellow-flowered cyclamen mutant. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 60, 409-414 (1991).
- (6) Takamura, T., Miyajima, I. and Maehara, T.: Seeding selection and micropropagation for the breeding of yellow-flowered cyclamen cultivars. *J. Fac. Agr., Kyusyu Univ.*, 37, 265-271 (1993).
- (7) 高村武二郎, 伊坂美恵子: シクラメンの花弁と栄養器官との間の色素の相関関係. 園芸雑., 66 (別1), 412 (1997).
- (8) 高村武二郎, 北村裕美, 田中道男: シクラメン花弁の底紅部分の花色および花色素とその遺伝. 園芸雑., 69 (別1), 35 (2000).
- (9) 高村武二郎, 金秀榮, 田中道男. シクラメンの花弁内主要アントシアニンにおける配糖体生成の遺伝とその花色への影響. 園芸雑., 70 (別1), 157 (2001).