

●論文

ペチュニア園芸品種の花色とアントシアニン

立澤文見^{1,*}・加藤一幾¹・新宮祥矢¹・
庄野浩資¹・國分 尚²・三吉一光²・
安藤敏夫²

¹岩手大学農学部
²千葉大学大学院園芸学研究科

Flower Colors and their Anthocyanins in *Petunia* cultivars

Fumi Tatsuzawa^{1,*}, Kazuhisa Kato¹, Sachiya Shingu¹,
Hiroshi Shono¹, Hisashi Kokubun², Kazumitsu Miyoshi²,
Toshio Ando²

¹Faculty of Agriculture, Iwate University,
²Graduate School of Horticulture, Chiba University.

Abstract

The relationships between the flower color and anthocyanin composition or pH of pressed juice of corollas were investigated in 20 cyanic *Petunia* cultivars (Baccara series). As a result of the present study, the flower color of *P. hybrida* has proved to be bluish hue by intramolecular copigmentation effect and decrease of anthocyanin concentration in corollas. However, it was assumed that pH data of pressed juice was unrelated to bluing effect of flower colors.

Key words : bluing, copigmentation, pH of pressed juice

キーワード : 青色化, コピグメンテーション, 搾汁pH

はじめに

これまでにペチュニア園芸品種や野生種のアントシアニンとしてシアニジン, ペオニジン, デルフィニジン, ペチュニジン, マルビジンを基本骨格とした配糖体やアシル化アントシアニンが41種類報告されている (Ando et al. 1999, 2000; Fukui et al. 1998; Gonzalez et al. 2001; Slimestad et al. 1999; Tatsuzawa et al. 1997, 1999, 2000, 2004; Tatsuzawa and Ando 2005). 花色とアントシアニン組成についてはペチュニア野生種で体系的にまとめられているが (Ando et al. 1999), 園芸品種においては断片的に主要アントシアニンの同定が行われているのみである (Fukui et al. 1998; Gonzalez et al. 2001; Slimestad et al. 1999). 最もアントシアニンの同定が進んでいて, なおかつ色調が最も豊富なシリーズの一つであるバカラシリーズにおけるアントシアニンの研究としては, 赤色系品種の‘バカラレッド’と桃色系品種の‘バカラチェリーローズ’, ‘バカラピンク’, ‘バカラピンクモーン’, ‘バカラローズ’, および ‘バカラローズモーン’ において詳しい同定が行われている (Tatsuzawa and Ando 2005; Tatsuzawa et al. 2004). 本研

究では, 上記の6品種を含むバカラシリーズ全21品種のうち, アントシアニンを含まない ‘バカラホワイト’ を除く20品種を用いて, アントシアニンの化学構造とアントシアニンの濃度を測定した. さらに, ペチュニアでは花冠の搾汁pHが花色に影響することが報告されており (Fukui et al. 1998; Wiering and Vlaming 1984), その機構の一つとして, アントシアニンを蓄積する液胞のpHを低下させるプロトンポンプ複合体が変異するとpHが上昇して花卉が青色化することが知られている (Faraco et al. 2014). 本研究においても各品種の搾汁pHの測定を行い, アントシアニン組成と花色, 搾汁pHと花色との関係について, いくつかの新しい知見が得られた.

材料および方法

供試材料

材料には (株)サカタのタネから購入した, ペチュニアバカラシリーズ (‘サーモン’, ‘チェリーローズ’, ‘バーガンディーピコティー’, ‘ピンク’, ‘ピンクベイン’, ‘ピンクモーン’, ‘ライトブルー’, ‘プラム’, ‘ブルーVer.2’, ‘ブルーピコティー’, ‘ホワイト’, ‘マジェンタ’, ‘ライトサーモン’, ‘レッド’, ‘レッド

ピコティー', 'レッドベイン', 'レッドモーン', 'ローズ', 'ローズピコティー', および, 'ローズモーン') の20品種を用いた。栽培は岩手大学の加温ガラス室で行い, 2012年2月に播種し, 6月に完全に開花した花冠を採取した。アントシアニンのHPLC分析および含量の測定に用いる花冠は採集後, 45℃で通風乾燥し, 各品種の乾燥花冠10gを-20℃で冷凍保存した。さらに, 'バカラブルーVer.2' は色素精製のために乾燥花冠が500gになるまで採集した。以下に示すその他の測定には生花冠を用いた。

花冠の花色の測定

カラーチャートによる花色の測定はアントシアニンが着色している花冠裂片を王立園芸協会カラーチャート (RHS. CC) で測定した。さらに, 測色計での花色の測定はカラーチャートによる測色に用いたのと同じ部分を分光測色計 (CM-700d: コニカミノルタ光学(株)) で測定し, CIELab表色系におけるL*, a*, b*値を求め, 10花の平均を測色値とした。

分光光度計によるアントシアニンおよびフラボノール類含量の測定

アントシアニンによる有色部位の各乾燥花冠裂片5mgを0.1%塩酸性メタノール10mLに室温で2時間浸漬し, 色素を抽出した。得られた粗抽出色素は分光光度計 (MPS-2450: (株) 島津製作所) で紫外部および可視部の吸収スペクトルカーブを測定し, 可視部の $\lambda_{\max}$ (nm) とその吸光度から花冠のアントシアニン量を, さらに, 350nmの吸光度からフラボノール類の量をそれぞれ相対的に評価した。

アントシアニンのHPLC分析と同定

アントシアニンが着色している各乾燥花冠裂片10mgを0.5mLのMAW (メタノール: 酢酸: 水=4: 1: 5, v/v/v) に室温 (25℃) で5時間浸漬し, 色素を抽出した。抽出液をメンブランフィルターでろ過し, HPLCで分析した。HPLC分析はTatsuzawa et al. (2012) と同様にLC-10A HPLCシステム ((株) 島津製作所) を用い, ODS系のカラムとリン酸系の溶媒を使って行った。アントシアニンの検出はフォトダイオードアレイ検出器で行い, 530nmにおけるそれぞれのピークを検出し, ピーク面積 (%) を成分分析に用いた。主要成分の同定には, アントシアニン構造が解明されている 'バカラローズ' (桃色系), 'バカラレッド' (赤色系), *Petunia occidentalis* (野生種) の花冠から得た25種類 (色素A~Y) の色素を比較同定に用いた。比較同定はHPLC分析で行い, フォトダイオードアレイ検出器 (PDA) による各アントシアニンピークのリテンションタイム (Rt) および吸収スペクトルカーブの特性を比較して行った (表1)。紫青色系の主要色素の内,

比較用の標準色素が入手できなかったもの (色素Z) については, 'バカラブルーVer.2' を採花し45℃で乾燥させた乾燥花冠500gを用い精製を行った。色素の抽出および精製を行うために, まず30Lの5%酢酸水に乾燥花冠を24時間浸漬後, ろ過し, ダイアイオンHP-20 (三菱化学(株)) およびセファデックスLH-20 (Amersham Pharmacia Biotech AB) カラムクロマトグラフィーを行った。各カラムクロマトグラフィーでの色素の溶出には5%酢酸性メタノールを用いた。次に, BAW (n-ブタノール: 酢酸: 水=4: 1: 2, v/v/v), 15%酢酸を展開溶媒とするペーパークロマトグラフィー (Filter Paper No.590: アドバンテック東洋(株)) を行い, さらに, HPLC分取により精製色素Z (8mg) を得た。単離精製した色素Zは0.5mgを用いて酸加水分解による構成成分の確認後 (Ando et al. 1999), 分子量測定 [High resolution fast atom bombardment mass spectra (HR-FAB/MS) (JEOL JMS-700: 日本電子(株))], 1mg], および, ^1H NMRスペクトルの測定 [溶媒: $\text{CF}_3\text{COOD-DMSO}-d_6$ (1: 9)], 測定項目: ^1H NMR, 2D COSY, および 2D NOESY (JEOL AL-400: 日本電子(株)), 5mg] に用いた。

花冠の搾汁pHの測定

供試した20品種の各10株から1輪ずつ完全に開花した花冠を採取し, マイクロチューブ内ですり潰し搾汁とともに, コンパクトpHメーター (ツイン・ウォーターブルー pH B-212: (株) 堀場製作所) の電極に圧着して搾汁pHを測定した。各品種における10検体の平均値を搾汁pHとした。全20品種間および各系内において, Tukeyの多重比較検定 (n=10) (エクセル統計2015: (株) 社会情報サービス) を行った。

結 果

花冠の花色の測定

カラーチャートによる花色の測定の結果, 供試した20品種の内, 品種名に「レッド」または「サーモン」とつく6品種はRHS.CCのRedに属したので赤色系, 品種名に「ローズ」または「ピンク」とつく7品種はRHS.CCのRed-Purpleに属したので桃色系, 品種名に「ブルー」とつく3品種はRHS.CCのViolet-Blueに属したので紫青色系, そして, その他の品種はRHS.CCのPurpleまたはPurple-Violetに属したので紫色系として分類した (表2)。測色計での花色の測定の結果として, 表2に花冠の測色計で求めた色相値 ($\text{hue}=\text{b}^*/\text{a}^*$) を示した (立澤ほか2015)。これらの結果, 赤色系, 桃色系, 紫色系, および紫青色系の品種はそれぞれ $\text{b}^*/\text{a}^*=0.39\sim 0.10, 0.09\sim 0.30, -0.32\sim -0.95$, および $-1.18\sim -1.99$ であった。RHS.CCの測色結果に基づいて分類した花色の系間で, 測色計による色相値の範囲は重ならなかった。本研究では, 各品種の測色値を大きい順に並べ整理した (表2)。

表1 ペチュニア バカラシリーズのアントシアニン

色素	HPLC				アントシアニン
	Rt (min)	PDA ^z			
		530nm	$\lambda_{\max}$ (nm)	E _{acyl} /E _{max} (%)	
A	15.7	524, 278	—	28	Delphinidin 3-glucoside ^y
B	16.0	516, 279	—	31	Cyanidin 3-sophoroside ^y
C	16.8	517, 291, 278	—	15	Peonidin 3-rutinoside-5-glucoside ^x
D	18.0	516, 279	—	32	Cyanidin 3-glucoside ^y
E	20.1	526, 279	—	25	Petunidin 3-glucoside ^y
F	21.5	533, (321), 298, 280	52	12	Petunidin 3-glucosyl-caffeoyl-rutinoside-5-glucoside ^w
G	21.8	533, (316), 296, 280	65	11	Petunidin 3-glucosyl- <i>trans-p</i> -coumaroyl-rutinoside-5-glucoside ^w
H	22.7	518, 279	—	30	Peonidin 3-glucoside ^y
I	23.4	523, (315), 291, 280	80	11	Peonidin 3-glucosyl- <i>trans-p</i> -coumaroyl-rutinoside-5-glucoside ^x
J	23.9	534, 322, 298, 280	55	11	Malvidin 3-glucosyl-caffeoyl-rutinoside-5-glucoside ^w
K	24.3	528, 279	—	23	Malvidin 3-glucoside ^y
L	24.4	534, (316), 300, 281	83	11	Malvidin 3-glucosyl- <i>trans-p</i> -coumaroyl-rutinoside-5-glucoside ^w
M	25.4	532, (322), 299, 280	73	12	Petunidin 3-caffeoyl-rutinoside-5-glucoside ^w
N	25.8	539, 320, 295, 283	86	11	Petunidin 3-caffeoyl-glucosyl-caffeoyl-rutinoside-5-glucoside ^w
O	26.9	538, (326), 296, 283	73	11	Petunidin 3-caffeoyl-glucosyl- <i>trans-p</i> -coumaroyl-rutinoside-5-glucoside ^w
P	27.3	523, 327, 292, 280	55	13	Peonidin 3-caffeoyl-rutinoside-5-glucoside ^x
Q	27.4	535, (316), 298, 279	66	10	Petunidin 3- <i>cis-p</i> -coumaroyl-rutinoside-5-glucoside ^w
R	27.8	541, 321, 296, 283	76	11	Malvidin 3-caffeoyl-glucosyl-caffeoyl-rutinoside-5-glucoside ^w
S	28.2	534, 326, 299, 280	59	12	Malvidin 3-caffeoyl-rutinoside-5-glucoside ^w
T	28.4	533, (314), 298, 280	70	12	Petunidin 3- <i>trans-p</i> -coumaroyl-rutinoside-5-glucoside ^w
U	28.6	530, (311), 290, 281	89	13	Peonidin 3-caffeoyl-glucosyl- <i>trans-p</i> -coumaroyl-rutinoside-5-glucoside ^x
V	28.9	540, (325), 294, 283	69	11	Malvidin 3-caffeoyl-glucosyl- <i>trans-p</i> -coumaroyl-rutinoside-5-glucoside ^w
W	30.4	536, (317), 299, 279	43	11	Malvidin 3- <i>cis-p</i> -coumaroyl-rutinoside-5-glucoside ^w
X	30.7	523, 311, 293, 280	63	13	Peonidin 3- <i>trans-p</i> -coumaroyl-rutinoside-5-glucoside ^x
Y	31.5	534, (314), 299, 280	67	12	Malvidin 3- <i>trans-p</i> -coumaroyl-rutinoside-5-glucoside ^w
Z	31.9	542, (312), 296, 282	81	11	Malvidin 3-feruloyl-glucosyl- <i>trans-p</i> -coumaroyl-rutinoside-5-glucoside ^y

^zフォトダイオードアレイ検出器 (PDA) による吸収極大波長 ($\lambda_{\max}$ (nm)) と PDA による可視部吸収極大値 ($E_{\max}$) に対する紫外部吸収極大値 (E_{acyl}) の比率 ($E_{\text{acyl}}/E_{\max}$ (%)) および PDA による可視部吸収極大値 ($E_{\max}$) に対する 440nm での吸光度の比率 ($E_{440}/E_{\max}$ (%))

^yTatsuzawa and Ando 2005

^xTatsuzawa et al. 2004

^wAndo et al. 1999

^vGonzalez et al. 2001

分光光度計によるアントシアニンおよびフラボノール類含量の測定

全品種の花冠中におけるそれぞれのアントシアニンおよびフラボノール類を単離して定量することは困難であった。そこで、粗抽出色素での可視部 $\lambda_{\max}$ の吸光度からアントシアニン量を相対的に評価した。この結果、0.1%塩酸性メタノール中での可視部 $\lambda_{\max}$ は、赤色系で 529~530nm、桃色系で 529~530nm、紫色系で 540~541nm そして紫青色系で 542~543nm で検出され、吸光度は 0.146~1.574 の範囲であった (表 2)。さらに、350nm での吸光度からフラボノール類の量を相対的に評価した結果、吸光度の範囲は 0.531~1.991 であった (表 2)。

アントシアニンの HPLC 分析と同定

供試した 20 品種の粗抽出色素の HPLC 分析 (530nm) の結果、標準色素と比較同定できた 25 種類のアントシアニンを含む 30 種類以上のピークを確認した。25 種類の色素 A~Y と紫青色系品種の主要色素の一つである色素 Z のピーク面積 (%) の合計は品種ごとに差があるが、72.4~96.7% を占めていた (表 2)。ここで、比較同定用の標準色素が入手できなかった色素 Z は精製後、酸加水分解、分子量測定、および、¹H NMR スペクトルの測定による構造解析の結果から malvidin 3-feruloyl-glucosyl-*p*-coumaroyl-rutinoside-5-glucoside と同定した。この色素は Gonzalez et al. (2001) により *P. hybrida* 'Festival' で報告されている化合物である。

malvidin 3-feruloyl-glucosyl-p-coumaroyl-rutinoside-5-glucoside
 {malvidin 3-O-[6-O-(4-O-(4-O-(6-O-(*trans*-feruloyl)- β -

表 2 ペチュニア バカラシリーズの花色、搾汁pH、および、アントシアニンの分布

品種名	RHS CC ^z	b ^a /a ^y	アントシアニン ^s		フラボノール類 ^w		d / c	HPLC (as %)																										
			λ _{max} (nm)	吸光度(c)	350nm	350nm(d)		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	その他の計
赤色系																																		
1. バカラレッド ^v	R45B	0.39	529	1.175	1.078	0.92	5.7	22.1	52.2	1.7			8.7			1.3																		8.3
2. バカラレッドピコチー	R53C	0.31	529	0.740	0.846	1.14	2.0	23.7	53.3	1.1			9.4			1.2																		9.3
3. バカラレッドベイン	R53C	0.31	529	0.644	0.574	0.89	4.8	19.0	60.3	3.6			5.6			2.1																		4.6
4. バカラレッドモーン	R53C	0.18	529	0.567	0.901	1.59	6.9	17.6	59.4	2.7			6.6			1.1																		5.7
5. バカラサーモン	R51B	0.11	530	0.398	0.670	1.68	6.0	26.1	45.9	3.4			6.0			3.4																		9.2
6. バカラライトサーモン	R55B	0.10	530	0.146	0.531	3.64	19.7	17.9	46.4	4.5			3.3			1.7																		6.5
桃色系																																		
7. バカラチェューローズ ^u	RP57A	0.09	529	1.569	1.138	0.73		0.8					1.5					7.2							1.0			66.2					23.3	
8. バカラローズピコチー	RP66A	0.06	529	1.156	1.586	1.37		1.5					0.8					9.9							0.4			80.7					6.7	
9. バカラローズ ^u	RP66A	-0.08	529	1.141	1.078	0.94		0.7					0.4					10.1							0.6			62.5					25.7	
10. バカラピンクベイン	RP57B	-0.14	530	0.431	1.848	4.29		2.3					2.3					6.1							1.1			60.6					27.6	
11. バカラローズモーン ^u	RP66A	-0.19	529	0.749	1.405	1.88		1.0					0.4					10.5							0.2			67.8					20.1	
12. バカラピンク ^u	RP68A	-0.26	529	0.718	1.062	1.48		1.8					1.2					16.5							0.1			62.5					17.9	
13. バカラピンクモーン ^u	RP74A	-0.30	530	0.353	1.087	3.08		0.6					1.0					9.0							0.5			68.9					20.0	
紫色系																																		
14. バカラバーガンディーピコチー	P78A	-0.32	540	1.574	1.139	0.72							0.5					2.3	4.9	9.7				0.9	11.7		58.7	0.1					7.0	
15. バカラプラム	P78B	-0.51	540	0.671	1.354	2.02							0.7					4.8	4.8	14.3				9.0	8.0		26.3	1.7					10.0	
16. バカラマジエンタ	P78A	-0.63	540	0.853	1.379	1.62							0.6					2.7	10.5	7.9				1.6	17.1		46.8	0.3					4.9	
17. バカララベンダー	PV82C	-0.95	541	0.474	1.925	4.06							0.2	3.9				3.7	13.6	13.5				3.0	8.6		23.1	0.9					6.0	
紫青色系																																		
18. バカラブルーピコチー	VB89A	-1.18	542	1.551	1.991	1.28							0.5					4.1		13.9				4.4	6.0		15.1	3.1					14.3	
19. バカラブルー-Ver.2	VB89A	-1.34	542	1.445	1.911	1.32							1.8					0.7	4.7	2.6	0.1			27.7	4.9		2.6	12.0					14.9	
20. バカラライトブルー	VB89C	-1.99	543	0.617	0.568	0.92							1.5					5.8	3.6	0.5	1.3	11.9	7.9		43.8	7.1	5.1	8.0					3.3	

^zRHS,CC=王立園芸協会カラーチャート

^yCIELab表色系での色相

^x乾燥花弁 (5mg) を0.1%塩酸性メタノール (10mL) に25℃で2時間浸漬後、各品種の吸収曲線の可視部吸収極大値とその吸光度の測定結果

^w乾燥花弁 (5mg) を0.1%塩酸性メタノール (10mL) に25℃で2時間浸漬後、各品種の350nmの吸光度の測定結果

^vTatsuzawa and Ando 2005

^uTatsuzawa et al. 2004

glucopyranosyl(C))-trans-p-coumaroyl)- α -rhamnopyranosyl)- β -glucopyranoside(A)]-5-O-[β -glucopyranoside(B)]: PDA (UV-VIS): $\lambda_{\max}$ (nm) 542, 312sh, 296, 282, $E_{\text{acyl}}/E_{\text{max}}$ (%) 81, E_{440}/E_{max} (%) 11, HPLC: Rt (min) 31.9. HR-FABMS $[M]^+$, calc. for $C_{60}H_{69}O_{31}$: 1285.3823. found: 1285.3818; ^1H NMR: δ malvidin: 8.93 (s, H-4), 7.04 (brs, H-6), 7.09 (brs, H-8), 8.02 (s, H-2', 6'), 3.97 (s, -OCH₃x2), glucose A: 5.50 (d, $J=7.8\text{Hz}$, H-1), 3.56 (t, $J=8.0$, H-2), 3.51 (m, H-3), 3.76 (m, H-4), 3.76 (m, H-5), 3.72 (m, H-6a), 3.90 (brd, $J=12.0\text{Hz}$, H-6b); glucose B: 5.18 (d, $J=7.6\text{Hz}$, H-1), 3.46 (m, H-2), 3.37 (m, H-3), 3.25 (t, $J=8.6\text{Hz}$, H-4), 3.39 (m, H-5), 3.58 (m, H-6a), 3.78 (m, H-6b); glucose C: 5.05 (d, $J=7.1\text{Hz}$, H-1), 3.37 (m, H-2), 3.37 (m, H-3), 3.32 (m, H-4), 3.79 (m, H-5), 4.28 (m, H-6a), 4.45 (brd, $J=11.5\text{Hz}$, H-6b); rhamnose: 4.65 (s, H-1), 3.69 (m, H-2), 3.70 (m, H-3), 4.76 (t, $J=9.0\text{Hz}$, H-4), 3.66 (m, H-5), 0.93 (d, $J=5.8\text{Hz}$, -CH₃); *trans-p-coumaric acid*: 7.30 (d, $J=8.0\text{Hz}$, H-2, 6), 7.10 (d, $J=8.0\text{Hz}$, H-3, 5), 6.23 (d, $J=16.0\text{Hz}$, H- α), 7.52 (d, $J=16.0\text{Hz}$, H- β); *trans-ferulic acid*: 7.07 (brs, H-2), 6.49 (d, $J=8.7\text{Hz}$, H-5), 6.83 (brd, $J=8.7\text{Hz}$, H-6), 6.24 (d, $J=16.0\text{Hz}$, H- α), 7.57 (d, $J=16.0\text{Hz}$, H- β), 3.47 (s, -OCH₃)

花冠の搾汁pHの測定

搾汁pHの測定の結果, 5.34~6.06までの分布であった. 赤色系や桃色系品種の搾汁pHは5.42以下のものが多かったが, 5.50以上の品種も存在した. 紫色系品種の搾汁pHは5.47~5.66の範囲に分布していた. 紫青色系の3品種の内2品種の搾汁pHは5.93と6.06の高い値を示したが, 残りの1品種の搾汁pHは5.64であり, 比較的低い値の品種が存在した (表2).

考 察

本研究に用いたペチュニアバカラシリーズの20品種は紫青色系を除いて, カラーチャートで分類した各グループ内でアントシアニン組成の共通性が高かった. よって, アントシアニンの種類が花色を決定する主要要因であると推察された (表2). 一方, 粗抽出色素の350nmにおける吸光度の測定結果とアントシアニンの吸光度の測定結果の比較からは花色変異に影響するような規則性 (立澤ほか2015) が見られなかったことから (表2), 分子間コピグメンテーションの可能性は低いと考えられた. その他, 各色系での発色のための補助的要因も含めて考えると以下のようになる.

赤色系品種の花色

赤色系6品種はAndo et al. (2000) およびTatsuzawa and Ando (2005) で色素組成が同定された 'バカラレッド' と同じ cyanidin 3-glucoside (色素D) を主要成分とするアントシアニン組成であった (表1, 表2, 図1). ペチュニアの赤色花

野生種の *P. exserta* (delphinidin 3-rutinosideが主要アントシアニン) とはどの赤色品種とも主要アントシアニンが一致しないことから, バカラシリーズをはじめとする赤色系品種の花色とアントシアニン組成は園芸品種独特のものであると考えられた. 赤色系品種は b^*/a^* 値の減少とともにアントシアニン濃度も減少した (表2). よって, 赤色系品種間ではアントシアニン濃度の減少が花色の青色味を増すための一つの要因であると考えられた (斎藤・御巫1991).

桃色系品種の花色

桃色系7品種はTatsuzawa et al. (2004) で色素組成が同定された5品種以外の2品種も同じアシル化したペオニジン配糖体を主要成分とするアントシアニン組成であった (表1, 表2, 図1). アシル化したペオニジン配糖体は野生種では報告されていないことから園芸品種独特の花色とアントシアニン組成であると考えられた (Ando et al. 2000). 'バカラビシクベイン' を除く6品種は b^*/a^* 値の減少とともにアントシアニン濃度も減少したことから (表2), アントシアニン濃度の減少が青色味を増す一つの要因と考えられた (斎藤・御巫1991).

紫色系品種の花色

紫色系4品種はペチュニア園芸品種の育種において, 最初の父親として使われた *Petunia integrifolia* と同じモノアシルタイプのマルビジン配糖体を主要成分とするアントシアニン組成であった (表1, 表2, 図1) (Ando et al. 1999). 搾汁pHは 'バカラバーガンディーピコティー' を除く3品種が5.60以上の高い値であった (図2). 'バカラバーガンディーピコティー' は他の3品種に比べて b^*/a^* 値が大きく, 赤色味の強い色相値であった. このことは, 搾汁の酸性度の上昇 (pHが低くなる) とともに花色の赤色化が進むというFukui et al. (1998) の結果と一致すると考えられた. しかし, 赤色系や桃色系で見られたアントシアニン濃度の減少による青色化 (斎藤・御巫1991) とは逆の作用で, 'バカラバーガンディーピコティー' はアントシアニン濃度が高いことから赤色味が増したと考えられ, 赤色化には搾汁pHだけではなく, アントシアニン濃度が影響していることが考えられた.

紫青色系品種の花色

'バカラブルーピコティー' では色素G, L, M, TおよびYが主要アントシアニンで (表2, 図1), これらは, モノアシルタイプのマルビジンおよびペチュニジン配糖体であった (表1). 一方, 'バカラブルーVer.2' と 'バカラライトブルー' では, 色素L, R, VおよびZが主要アントシアニンで (表2, 図1), これらの内, 色素R, VおよびZがジアシルタイプのマルビジン配糖体であった (表1). また, 色素Z以外

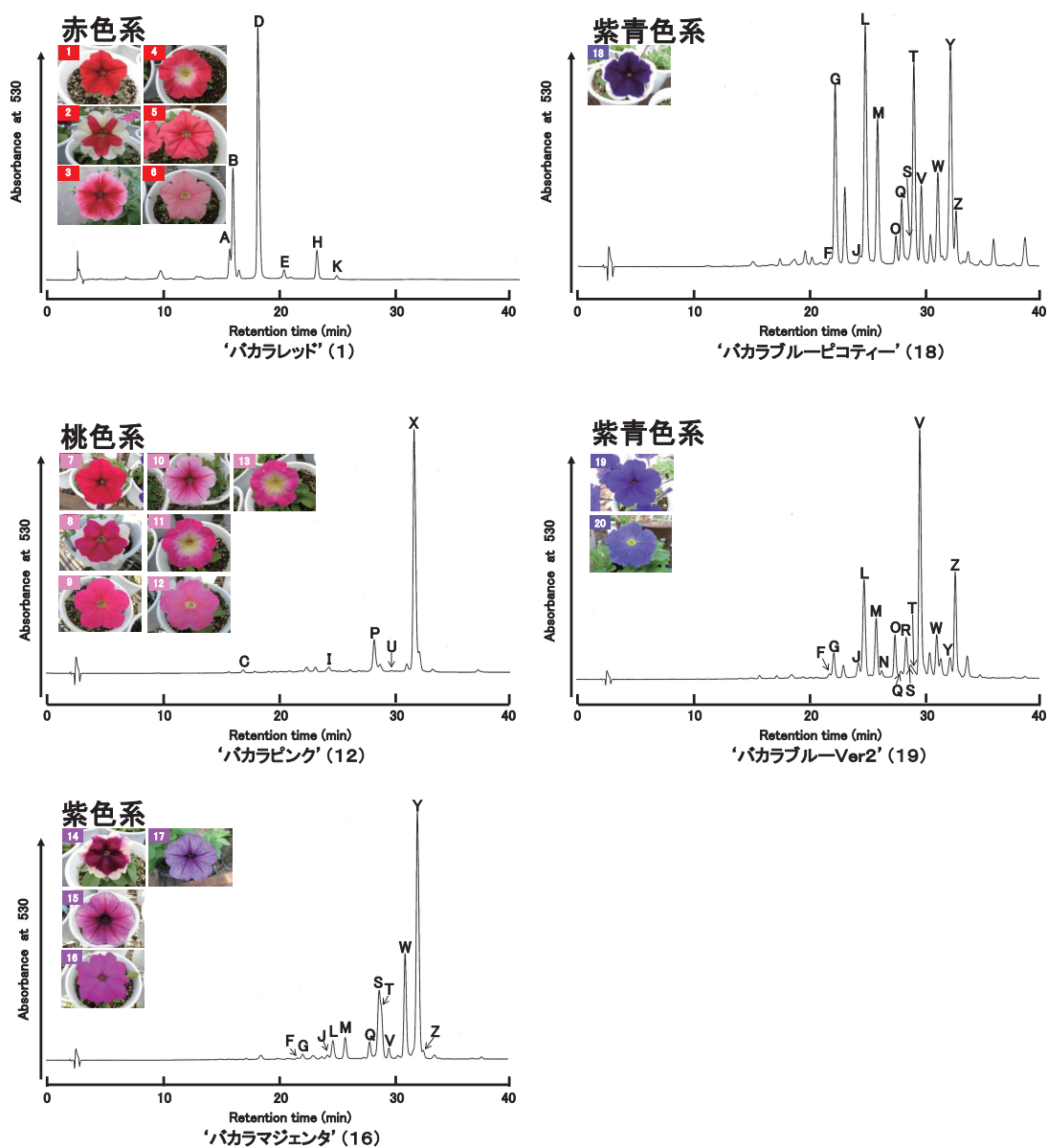


図1 ペチュニア バカラシリーズのアントシアニンのHPLCプロフィール
色素A～Z：表1と同じ
品種番号1～20：表2と同じ

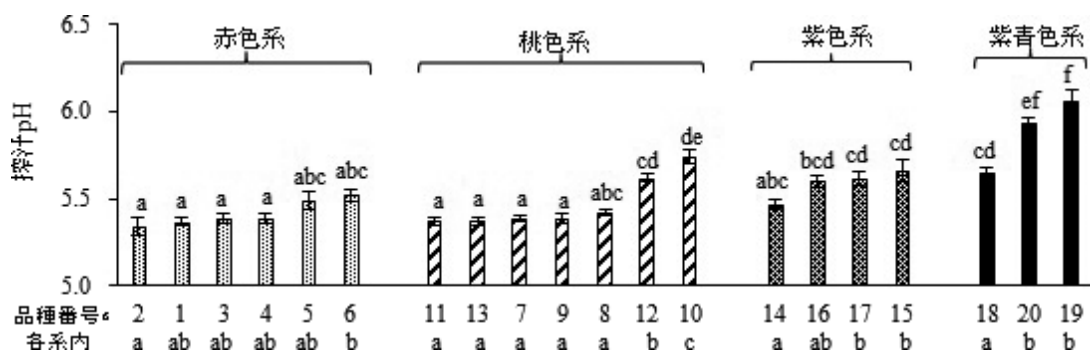


図2 ペチュニア バカラシリーズの搾汁pHの比較

表2と同じ

異なるアルファベットはTukeyの多重比較検定により5%水準で有意差あり (n=10)

全品種での比較：棒グラフの上に表示

各系内での比較：品種番号の下に表示

の色素G, L, M, R, T, V, およびYは野生種にも見られるアントシアニンであり、紫色系品種と同様に野生種のアントシアニンと共通性が高いことがわかった。紫青色系3品種のモノアシルアントシアニンに対するジアシルアントシアニン (%) の比率は、'バカラブルーピコティー' が0.12, 'バカラブルーVer.2' が1.40, 'バカラライトブルー' が2.10であり、ジアシルアントシアニンの比率が高いほど b^*/a^* 値が減少し青色味が強くなる傾向が見られた。このことから、ジアシルアントシアニンによる分子内コピグメント効果が花色の青色化に影響していることが考えられた(Fukui et al. 1998)。「バカラブルーピコティー」の搾汁pHは5.64であり、紫色系品種の中には同程度、もしくはそれ以上の品種も存在した(表2, 図2)。一般的に、ペチュニアの花色と搾汁pHの比較をする場合、紫色品種と紫青色品種を比べ、紫色品種の方が低pHを示すことを基に、搾汁pHが花色に影響するという結論に至っている(Fukui et al. 1998; Wiering and Vlamming 1984)が、これらの結果から、高い搾汁pHが花色の青色化に必ずしも必要な条件ではないと考えられた。また、「バカラライトブルー」は他のグループと同様にアントシアニン濃度が低いことが原因で「バカラブルーピコティー」や「バカラブルーVer.2」より青色味が強くなると考えられた(斎藤・御巫 1991)。

ペチュニアバカラシリーズの花色発現機構

ペチュニアバカラシリーズは花色から赤色系、桃色系、紫色系および紫青色系の4つに分類できるが、紫青色系は主要アントシアニン成分の違いからさらに2つのグループに分けられた(図2)。紫色系と紫青色系ペチュニア品種におけるアントシアニンの化学構造、アントシアニン濃度および搾汁pHと花色との関係はFukui et al. (1998)によると、ジアシルアントシアニンによる分子内コピグメンテーション、高い搾汁pHおよびアントシアニンの高濃度化が花色の青色化の要因であるとされている。本研究では、赤色系、桃色系、紫色系、および、紫青色系の複数の品種を分析した結果、Fukui et al. (1998)と同様にジアシルアントシアニンによる分子内コピグメンテーションの効果は紫青色系品種で確認されたが、高い搾汁pHやアントシアニン濃度の増加は花色の青色化に必ずしも必要な条件ではないと考えられた。特に、アントシアニン濃度に関しては、同じアントシアニン組成であれば、低い方が青色味は強くなると考えられた。また、本研究で分類した各花色のグループ中にはそれぞれ有意に異なる搾汁pHの品種が存在していた。特に、品種名にピコティーと付くものは、同色系の品種内でpHが低くなる傾向を示した(図2)。これまでに、ペチュニア品種の複色花形成のメカニズムは知られているが(Morita et al. 2012)、複色花品種の搾汁pHが単色花品種と異なることに関する研究はまだ無い。今後、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。

謝 辞

本研究はMEXT/JSPS(25450037)の助成を受けたものである。

和文抄録

ペチュニアバカラシリーズにおける有色の20品種を用いて、花色、アントシアニンおよび搾汁pHを分析した。これらの結果、ペチュニアバカラシリーズの花色はアントシアニンの分子内コピグメンテーション効果および花冠のアントシアニンの濃度の低下により青色味が増加すると考えられた。しかし、従来、花色変異との相関が知られている搾汁pHの値は本研究に供試したバカラシリーズでは、少なくとも青色化とは相関がないと考えられた。

引用文献

- Ando, T., Saito, N., Tatsuzawa, F., Kakefuda, T., Yamakage, K., Ohtani, E., Koshi-ishi, M., Matsusake, Y., Kokubun, H., Watanabe, H., Tsukamoto, T., Ueda, Y., Hashimoto, G., Marchesi, E., Asakura, K., Hara, R. and Seki, H. (1999) Floral anthocyanins in wild taxa of *Petunia* (Solanaceae). *Biochem. Syst. Ecol.* 27: 623–650.
- Ando, T., Tatsuzawa, F., Saito, N., Takahashi, M., Tsunashima, Y., Numajiri, H., Watanabe, H., Kokubun, H., Hara, R., Seki, H. and Hashimoto, G. (2000) Differences in the floral anthocyanin content of red *petunia* and *Petunia exserta*. *Phytochemistry* 54: 495–501.
- Farco, M., Spelt, C., Bliet, M., Verweij, W., Hoshino, A., Espen, L., Prinsi, B., Jaarsma, R., Tarhan, E., de Boer, A. H., Di Sansebastiano, G.-P., Koes, R. and Quattrocchio, F. M. (2014) Hyperacidification of vacuoles by the combined action of two different P-ATPases in the tonoplast determines flower color. *Cell Reports* 6: 32–43.
- Fukui, Y., Kusumi, K., Yoshida, K., Kondo, T., Matsuda, C., Nomoto, K. (1998) Structure of two diacylated anthocyanins from *Petunia hybrid* cv. *Surfinia Violet Mini*. *Phytochemistry* 47: 1409–1416.
- Gonzalez, E., Fougerousse, A. and Brouillard, R. (2001) Two diacylated malvidin glycosides from *Petunia hybrid* flowers. *Phytochemistry* 58: 1257–1262.
- Morita, Y., Sato, R., Ban, Y., Tanikawa, N., Kuchitsu, K., Ando, T., Yoshikawa, M., Habu, Y., Ozeki, Y., and Nakayama, M. (2012) Tandemly arranged *chalcone synthase A* genes contribute to the spatially regulated expression of siRNA and the natural bicolor floral phenotype in *Petunia hybrida*. *The Plant Journal* 70: 739–749.
- 斎藤規夫・御巫由紀 (1991) 桃色花の色素—特にアントシアニン濃度と色調。バイオホルティ 6. 誠文堂新光社. 49–55.
- Slimestad, R., Aaberg, A. and Andersen, O. M. (1999) Acylated anthocyanins from *petunia* flowers. *Phytochemistry* 50: 1081–1086.
- 立澤文見・山本啓未・津田旭・庄野浩資・加藤一幾. (2015) ニチ

ニチソウ園芸品種の花色と花色素. 園学研, 印刷中.

- Tatsuzawa, F. and Ando, T. (2005) Determination of minor floral anthocyanin in a red-flowered petunia. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 74: 482-484.
- Tatsuzawa, F., Ando, T., Saito, N., Kanaya, T., Kokubun, H., Tsunashima, Y., Watanabe, H., Hashimoto, G., Hara, R. and Seki, H. (2000) Acylated delphinidin 3-rutinoside-5-glucosides in the flowers of *Petunia reitzii*. Phytochemistry 54: 913-917.
- Tatsuzawa, F., Ando, T., Saito, N., Yoda, K., Kokubun, H., Watanabe, H., Hashimoto, G., Asakura, K., Hara, R. and Seki, H. (1999) Acylated malvidin 3-rutinosides in dusky violet flowers of *Petunia integrifolia* subsp. *inflata*. Phytochemistry 52: 351-355.
- Tatsuzawa, F., Koshiishi, M., Ohtani, E., Ando, T., Watanabe, H., Kokubun, H., Yokoi, M., Hashimoto, G., Seki, H., Saito, N. and Honda, T. (1997) Diacylated malvidin 3-rutinoside-5-glucosides from the flowers of *Petunia guarapuavensis*. Heterocycles 45: 1197-1202.
- Tatsuzawa, F., Saito, N., Toki, K., Shinoda, K. and Honda, T. (2012) Flower color and their anthocyanins in *Matthiola incana* cultivars (Brassicaceae). J. Japan. Soc. Hort. Sci. 81: 91-100.
- Tatsuzawa, F., Toya, Y., Watanabe, H., Hirayama, Y., Shinoda, K., Hara, R., Seki, H. and Ando, T. (2004) Acylated peonidin 3-rutinoside-5-glucosides from commercial petunia cultivars with pink flowers. Heterocycles 63: 509-517.
- Wiering, H. and de Vlaming, P. (1984). Genetics of flower and pollen colors. p. 49-67. In: Sink, K.C. (ed.). Petunia. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany.

(受付：2015年4月24日 受理：2015年8月7日)