

第 2 章 *Iris* 属植物におけるアントシアニンの有用変異の探索

1. 緒言

Iris 属では、ハナショウブにおけるアントシアニンの特性解明が最も進んでおり、これまでに Yabuya (1991) および Yabuya *et al.* (1994) は、その品種や野生系統(ノハナショウブ)を主要アントシアニンの構成により以下の 8 種類に分類した。すなわち、①malvidin 3*p*CRG5G – petunidin 3-(*p*-coumaroyl) rutinoid-5-glucoside (petunidin 3*p*CRG5G)、②petunidin 3*p*CRG5G – malvidin 3*p*CRG5G、③malvidin 3-rutinoid 5-glucoside (malvidin 3RG5G) – petunidin 3-rutinoid 5-glucoside (petunidin 3RG5G)、④malvidin 3*p*CRG5G、⑤petunidin 3*p*CRG5G、⑥delphinidin 3-(*p*-coumaroyl) rutinoid-5-glucoside (delphinidin 3*p*CRG5G)、⑦cyanidin 3-(*p*-coumaroyl) rutinoid-5-glucoside (cyanidin 3*p*CRG5G) および⑧peonidin 3-(*p*-coumaroyl) rutinoid-5-glucoside (peonidin 3*p*CRG5G) 型である。

これらの型のうち、malvidin 3*p*CRG5G – petunidin 3*p*CRG5G 型はハナショウブにおける主要アントシアニンの基本(野生)型であり、その他の 7 種類の型はいずれも変異型であるとみなされた(Yabuya 1991)。これら変異型アントシアニンのうち、delphinidin 3*p*CRG5G は青色花を発現するための鍵となるアントシアニンであり、Yabuya *et al.* (1997) はこのアントシアニンとフラボンの isovitexin とのコピグメンテーションによる青色花の育種法を提案している。一方、cyanidin 3*p*CRG5G 型または peonidin 3*p*CRG5G 型に属する品種は赤色花やマゼンタ花を育成するのに貴重な育種材料として注目されている(Yabuya 1994)。

しかしながら、ハナショウブでは pelargonidin 系アントシアニンや delphinidin

3pCRG5G、cyanidin 3pCRG5G および peonidin 3pCRG5G の脱アシル型を主要アントシアニンとする品種は未だ発見されていない。また、ハナショウブ以外の *Iris* 属植物においても新たなアントシアニン変異はほとんど報告されておらず(岩科・大谷 1998)、唯一ヒメシャガ (*I. gracilipes*) において malvidin 3-feruloylrutinoside 5-glucoside (malvidin 3FRG5G) が主成分であることが確認されているに過ぎない(林ら 1984)。

そこで、本章では *Iris* 属植物における花色の多彩化育種を促進するために、ハナショウブを含む 14 種の *Iris* 属植物における外花被含有アントシアニンの HPLC 分析を行い、新たな有用アントシアニン変異を探索した。また、ハナショウブでは赤色花品種を育成するためにアントシアニンと花色の評価を行った。

2. 材料および方法

1) 植物材料

ハナショウブ、ジャーマンアイリス、カキツバタ、アヤメ、イチハツ(*I. tectorum*)、カナダヒオウギアヤメ(*I. setosa* subsp. *canadensis*)、キリガミネヒオウギアヤメ(*I. setosa* var. *hondoensis*)とナスヒオウギアヤメ(*I. setosa* var. *nasuensis*)、エヒメアヤメ(*I. rossii*)、ヒメシャガ、チャショウブ (*I. fulva*)、*I. cristata*、*I. milesii*、*I. tridentata*、*I. versicolor* および *I. virginica* の 14 種 295 品種(系統)を植物材料として供試した (Table 2-1 参照)。これら植物材料のうち、ジャーマンアイリスの品種「Victoria Falls」、イチハツ、ヒメシャガ、*I. cristata* および *I. milesii* は清水弘氏、ナスヒオウギアヤメ、チャショウブおよび *I. tridentata* は堀中明氏、キリガミネヒオウギアヤメは京都大学大学院農学研究科中崎鉄也博士、カナダヒオウギアヤメ、*I. versicolor* および *I. virginica* は Tony Huber 氏(カナダ)から分譲され、その他の種および品種(系統)は市販または当研究室で保存されていたものである。

すべての供試植物について、以下の要領で外花被含有アントシアニンの HPLC 分析を行った。なお、これらの植物は、宮崎大学農学部の実験圃場で栽培されたものである。

2) 試料の作製と分析システム

一花分の新鮮な外花被を 1%塩酸性メタノールに 24 時間冷浸し、花卉を取り除いた抽出液を粗抽出液として、冷凍庫内(-20℃)に保存した。HPLC の試料は、Yabuya *et al.* (1987)の方法に従って作製された。

HPLC 分析装置として、島津高速液体クロマトグラフ用送液ユニット(LC-10AD VP)、オンラインデガッサ(DGU-14A)、システムコントローラ(SCL-10A VP)、オート

インジェクタ (SIL-10AD VP)、逆相カラム (STR ODS-II)、カラムオーブン (CTO-10A) およびフォトダイオードアレイ紫外可視検出器 (SPD-M10A VP) を用いた。溶出システムは、移動相に A 液 [水:酢酸:リン酸=89.9:10:0.1 (v/v)] と B 液 (50 %アセトニトリル水溶液) を用い、35°C 下で流量 1 ml/min の A 液に 2 %/min の直線勾配をかけて B 液を流し、20 分間のグラジエント溶出を行った後、B 液を 40 %のまま 20 分間保持した。アントシアニンの検出は、フォトダイオードアレイ紫外可視検出器により 540 nm で計測し、各アントシアニン成分の λ_{\max} 、保持時間および面積の算出は LC ワークステーション CLASS-VP ver. 6.12 SP5 によった。

3) 同定

本実験で検出された主要アントシアニンの同定および推定は標品や既知の植物種との比較、クロマトグラフィーおよび最大吸収波長 (λ_{\max}) により行った。同定に用いた色素標品のうち、malvidin 3pCRG5G、malvidin 3RG5G、malvidin 3-(p-coumaroyl)-rutinoside (malvidin 3pCRG)、malvidin 3-rutinoside (malvidin 3RG)、malvidin 3-glucoside (malvidin 3G)、petunidin 3pCRG5G、petunidin 3RG5G、petunidin 3-(p-coumaroyl) rutinoside (petunidin 3pCRG)、delphinidin 3pCRG5G、delphinidin 3-(p-coumaroyl) rutinoside (delphinidin 3pCRG)、delphinidin 3-rutinoside (delphinidin 3RG)、delphinidin 3-glucoside (delphinidin 3G)、cyanidin 3pCRG5G、cyanidin 3-rutinoside 5-glucoside (cyanidin 3RG5G)、peonidin 3pCRG5G、peonidin 3-rutinoside 5-glucoside (peonidin 3RG5G) および peonidin 3-rutinoside (peonidin 3RG) については南九州大学の山口雅篤博士から分譲していただき、cyanidin 3-rutinoside (cyanidin 3RG、keracyanin) および cyanidin 3-glucoside (cyanidin 3G、

kuromanin)についてはフナコシ株式会社から購入した。さらに、delphinidin 3-caffeoylrutinoside 5-glucoside (delphinidin 3CRG5G)および delphinidin 3-cis-(*p*-coumaroyl)-rutinoside 5-glucoside (petunidin 3-cis-*p*CRG5G)は、ペチュニアの野生種(*Petunia reitzii*)の系統 k-19 の花(Ando *et al.* 1999)から、また petunidin 3-rutinoside (petunidin 3RG)はヤブラン(*Liriope platyphylla*)の種子(Ishikura and Sugahara 1979)から、上記と同様の方法で抽出した既知のアントシアニンを用いて推定した。

4) 色差計による花色の評価

植物材料として当研究室で保存されているハナショウブのピンク、マゼンタおよび赤紫色の 24 品種・系統を供試した(Fig. 2-4 参照)。これらの品種は宮崎大学農学部の実験圃場で栽培され、その開花当日の外花被中央部を簡易型分光色差計(日本電色工業 NF333)により測定し、花色を評価した。1 品種(系統)当たり 1~4 個の花を試料とし、1 つの花から 3 枚の外花被について花色を測定した。その測定値の平均値を CIEL*a*b*表色系を用いて Fig. 2-4 に示すように座標上にプロットした。CIEL*a*b*表色系とは国際照明委員会(Commission Internationale d'Eclairage)によって提案されている表色系の一つであり、日本工業規格(JIS)にも取り入れられている。この表色系は色の波長ではなく、人間の心理的四原色に基づいて色度を表現しており、色差が知覚的に均等に表されるという特徴がある。この CIEL*a*b*表色系のグラフにおいて a*および b*は色度を表し、L*は明度を表している。

3. 結果および考察

Iris 属植物 14 種 295 品種(系統を含む)の外花被含有アントシアニンについて HPLC 分析を行い、これらの品種(系統)を主要アントシアニンの構成により分類した結果を Table 2-1 に示した。また、得られた各アントシアニン成分の λ_{\max} を Table 2-2 にまとめた。なお、本実験における主要アントシアニンの判定は、Yabuya(1991)の方法に従った。

まず、ハナショウブおよびノハナショウブの 262 品種(系統)で検出された 29 種類の型のうち、petunidin 3pCRG5G – delphinidin 3pCRG5G、delphinidin 3pCRG5G – petunidin 3pCRG5G、cyanidin 3pCRG5G – peonidin 3pCRG5G、delphinidin 3RG – petunidin 3pCRG5G、delphinidin 3pCRG5G – delphinidin 3RG、petunidin 3pCRG – petunidin 3RG、delphinidin 3RG – delphinidin 3pCRG、petunidin 3RG5G – malvidin 3RG5G、malvidin 3RG5G – peonidin 3RG5G、peonidin 3RG5G – cyanidin 3RG5G、peonidin 3RG5G – cyanidin 3G、petunidin 3RG – malvidin 3RG、petunidin 3RG – delphinidin 3RG、peonidin 3RG – cyanidin 3RG、petunidin 3G – delphinidin 3G、petunidin 3pCRG、peonidin 3RG5G、cyanidin 3RG5G、petunidin 3RG、delphinidin 3RG および malvidin 3pCRG5G – peonidin 3pCRG5G – petunidin 3pCRG5G の 21 種類の型は本研究で最初に発見されたものである (Fig. 2-1、2-2、2-3)。

本実験により新たに発見された主要アントシアニン型のうち、peonidin 3RG – cyanidin 3RG、peonidin 3RG5G – cyanidin 3RG5G、peonidin 3RG5G および cyanidin 3RG5G の 4 つの型は花色の多彩化育種上、極めて注目される。先にも述べたように、peonidin 型および cyanidin 型アントシアニンは赤色花品種を育成するために有用なアントシアニンであり (Yabuya *et al.* 1994a)、また Wiering and de

Table 2-1. Types of major anthocyanins detected in *Iris* species

I. ensata

1. Malvidin 3pCRG5G-Petunidin 3pCRG5G

Ageha, Akatsukinomine, Aogadakejo, Aoshibagaki, Asahikagami, Asatobiraki, Atsumori, Benikujaku, Beninoito, Beniogi, Benirenge, Benitsubaki, Beniwashi, Chitose, Choseiden, Daisogen (4x), Datedogu, Dewanoakebono, Dwarf 2, Enkaishu, Enrai, Fujibakama, Fujiyakko, Geishoui, Gekkyuden, Genkai, GHSF-1, Ginnokoto, Gokonoasobi, Gosannotakara, Goshoasobi, Gshozakura, Gun-en, Gunjo, H12-21a, H5A-60, Hagio, Hagoromo, Hanakago, Hanakonjo, Hanakotobuki, Harebare, Hatsuhi, Hekigyoku, Hekiho, Hikarikamakura, Hujinokasane, Inaarashi, Isamijishi, Isemonogatari, Isonoasakaze, Itakonoyume, Kagurajishi, Kamijimurasaki, Kamogawa, Kasumigaura, Kazashiogi, Kikyokomachi, Kirigasumi, Kobushikurabe, Kodainosato, Kojonotsuki, Kokuryujishi, Kokuryunotsume, Kongojo, Koromonokasumi, Kosennyo, Kosode, Kozakurahime, Kumafunjin, Kumonoue, Kyomai, Maikonohama, Maiogi (4x), Maisennyo, Matsubagasane, McEwen tetra, Meiji 3, Meiji 5, Mikawayatsuhashi, Minokotobuki, Miyakonotatsumi, Miyamamurasaki, Mizuhonokuni, Murasakikawa, Nagaikotohajime, Natsusugata, Nessianomai, Nue, Oshokun,

Table 2-1(continued)

Otomenoyume, Oyodo, Ozora, Rokkashomura, Ryoka, Ryuzu, Saigyozakura, Sennenotomo, Sennyonohora, Setsugetsuka, Shiinohomare, Shimashobu, Shimeinoaki, Shimmizuirojishi, Shin-ariake, Shinkyoku, Shinnanaironoyume, Shin-uchu, Shiunnomine, Shojo, Shorai, Shoryu, Soho, Suido, Suisei, SY-2, Takasegawa, Toronohikari, Toyoashihara, Tsukinotamagawa, Ushiwakamaru, Venetian velvet, Yamajinishiki, Yamataikoku, Yamesugata, Yoroimusha, Yugiri, Zuiho

2. Petunidin 3pCRG5G-Malvidin 3pCRG5G

Altay, Aoinoue, Aoyagi, Asagiri, Bingata, Gosetsunomai, Hamahagi, Hamakaze, Hananoame, Hoonokammuri, Hoshizora, Ishikarigawa, Jitsugetsu, Junihitoe, Kakkodori, Kamiyonomukashi, Kimigayo, Koaozora, Kumoiryu, Meiji 2, Mifuchinonagare, Naminoribune, Nemurijishi, Orihime, Oze, Ryofu, Ryunohige, Senrinokasumi, Shchifukujin, Suzunoki, Tamanokasumi, Tennyonokammuri, Usuzuki, Yoakemae, Zamanobi, Zuicho

3. Petunidin 3pCRG5G-Delphinidin 3pCRG5G

Asahizora, Chikubushima, Hanamonogatari, Isobe, MIT-1

4. Delphinidin 3pCRG5G-Petunidin 3pCRG5G

H12-11a, H12-17a

Table 2-1(continued)

5. Cyanidin 3pCRG5G-Peonidin 3pCRG5G

Yayoikagami

6. Delphinidin 3RG-Petunidin 3pCRG5G

Shiguresaigyo

7. Delphinidin 3pCRG5G-Delphinidin 3RG

ISB-1

8. Petunidin 3pCRG-Petunidin 3RG

SBG1-4

9. Delphinidin 3RG-Delphinidin 3pCRG

Shibukake, SBG1-5

10. Malvidin 3RG5G-Petunidin 3RG5G

Bijozakura, GS-1, Kogennoyuki, Mitsuzakura, Prima ballerina,
Renjonotama, Rokkashomura 2, Shoyosei, Yamatohime, Yuhi

11. Petunidin 3RG5G-Malvidin 3RG5G

Janomegasa, Kokonoenosakura, Kozasagawa, Risokyo,
Yukatasugata

12. Malvidin 3RG5G-Peonidin 3RG5G

Momajido

13. Peonidin 3RG5G-Cyanidin 3RG5G

Miyakei 2, MG-1, MG-4

14. Peonidin 3RG5G-Cyanidin 3G

HX-2

Table 2-1(continued)

15. Petunidin 3RG-Malvidin 3RG

SBG1-3, SBG1-6

16. Petunidin 3RG-Delphinidin 3RG

SBG1-2, SBG1-7

17. Peonidin 3RG-Cyanidin 3RG

Giondaiko

18. Petunidin 3G-Delphinidin 3G

Togonochaya

19. Malvidin 3pCRG5G

H9A-18, Miyoshino, Nijinotomoe, Shien, Shuzenji,
Tamatebako, Toyamagarasu, Yoshinoyama, Yumenokuni

20. Petunidin 3pCRG5G

Dewabanri, Izumikawa, Kyomaiko, Murasame, Sarumenkanja

21. Delphinidin 3pCRG5G

H12-2c, H12-6b, H12-7a, H5A-53, H5A-62, Miyakei 3

22. Peonidin 3pCRG5G

Anonootome, Benizakura, Fujinogaki, Geishunka, GH-1,
H91-15, H92-107, Hinomai, Hinosei, Hiwatari, HSA-1,
Kayonomai, Kitanotenshi, Komatsunagi, Manamusume,
MHSF-2, Miyoshino, Momomatsuri, Nohime, Otomekagami,
Saganoharu, Sakurajishi, Sakurayakko, Senbonzakura, Suiei,
Usugesho

Table 2-1(continued)

23. Cyanidin 3pCRG5G

Midareito

24. Petunidin 3pCRG

Inishienosato, Nokibanoume, Shohu

25. Peonidin 3RG5G

HA-2, MG-2, MG-3

26. Cyanidin 3RG5G

Miyakei 4

27. Petunidin 3RG

SBG-1

28. Delphinidin 3RG

SBG1-8

**29. Malvidin 3pCRG5G-Peonidin 3pCRG5G-Petunidin
3pCRG5G**

Izayoi, Isenoumi, Shiranui

I. germanica

1. Delphinidin 3pCRG5G

Batik, Black Out, G1, Honky-tonk Blues, Ovation, Red
Lightning, River Fork, Vanity's Child

2. Delphinidin 3pCRG5G-Delphinidin 3CRG5G

Blue Nocturne, Dusky Challenger, Lake Placid, Victoria Falls

Table 2-1(continued)

I. laevigata

1. Malvidin 3pCRG5G-Petunidin 3pCRG5G

Goshobeni, K-2

2. Petunidin 3pCRG5G-Malvidin 3pCRG5G

Shikizaki

3. Malvidin 3pCRG5G

Maikujaku

I. sanguinea

1. Delphinidin 3pCRG5G-Petunidin 3pCRG5G

A-2, A-4

2. Delphinidin 3pCRG5G-Delphinidin 3CRG5G

A-1

***I. tectorum* (Wild type)**

1. Delphinidin 3pCRG5G

I. setosa

1. Malvidin 3pCRG5G-Petunidin 3pCRG5G

I. setosa var. *nasuensis* (Wild type)

2. Petunidin 3pCRG5G-Malvidin 3pCRG5G

I. setosa var. *hondoensis* (Wild type)

3. Delphinidin 3pCRG5G

I. setosa subsp. *canadensis* (Wild type)

Table 2-1(continued)

***I. rossii* (Wild type)**

1. Delphinidin 3*p*CRG5G

***I. gracilipes* (Wild type)**

1. Petunidin 3*p*CRG5G-Delphinidin 3*p*CRG5G

***I. fulva* (Wild type)**

1. Delphinidin 3*p*CRG5G

***I. cristata* (Wild type)**

1. Delphinidin 3*p*CRG5G

***I. milesii* (Wild type)**

1. Delphinidin 3-*trans-p*CRG5G-Delphinidin 3-*cis-p*CRG5G

***I. tridentata* (Wild type)**

1. Delphinidin 3*p*CRG5G

***I. versicolor* (Wild type)**

1. Petunidin 3*p*CRG5G-Malvidin 3*p*CRG5G

***I. virginica* (Wild type)**

1. Petunidin 3*p*CRG5G-Delphinidin 3*p*CRG5G

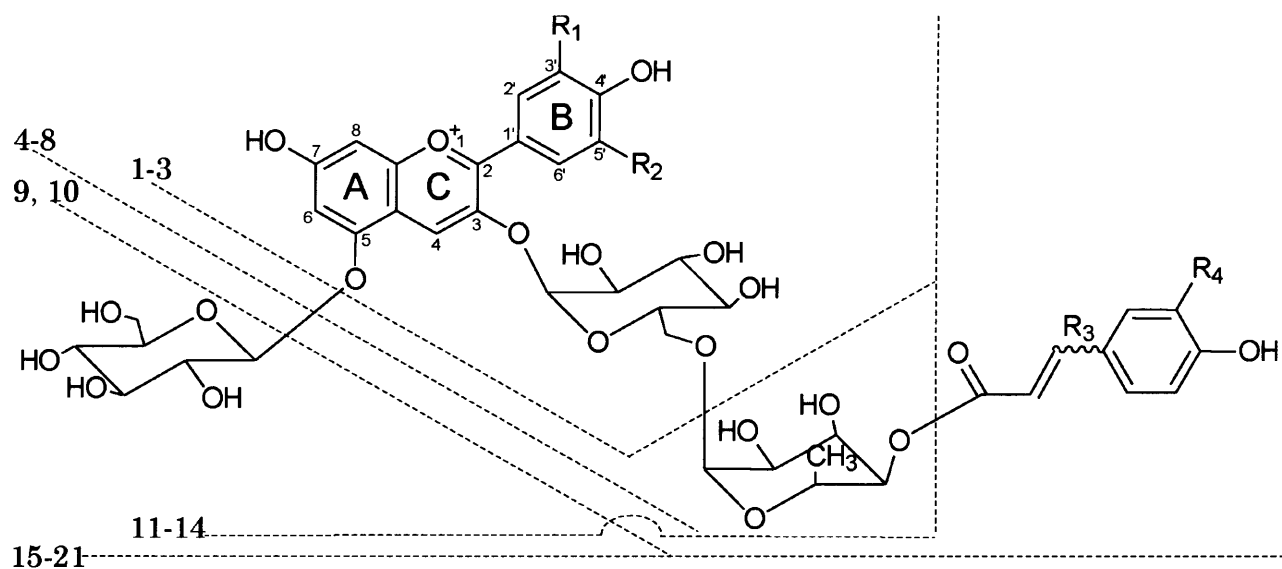
I. virginica var. *virginica* (IV-1, IV-2)

2. Petunidin 3*p*CRG5G

I. virginica var. *shrevei* (Lilac dream)

Table 2-2. λ_{\max} of anthocyanins in *I. ensata*

Anthocyanins	λ_{\max} (nm)
Malvidin 3pCRG5G	534
Petunidin 3pCRG5G	533
Delphinidin 3pCRG5G	531
Peonidin 3pCRG5G	522
Cyanidin 3pCRG5G	522
Petunidin 3pCRG	535
Delphinidin 3pCRG	532
Malvidin 3RG5G	527
Petunidin 3RG5G	525
Peonidin 3RG5G	516
Cyanidin 3RG5G	515
Malvidin 3RG	530
Petunidin 3RG	528
Delphinidin 3RG	526
Peonidin 3RG	519
Cyanidin 3RG	518
Petunidin 3G	524
Delphinidin 3G	524
Cyanidin 3G	515



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
1: Cyanidin 3G	OH	H	-	-
2: Delphinidin 3G	OH	OH	-	-
3: Petunidin 3G	OCH ₃	OH	-	-
4: Cyanidin 3RG	OH	H	-	-
5: Peonidin 3RG	OCH ₃	H	-	-
6: Delphinidin 3RG	OH	OH	-	-
7: Petunidin 3RG	OCH ₃	OH	-	-
8: Malvidin 3RG	OCH ₃	OCH ₃	-	-
9: Delphinidin 3 <i>p</i> CRG	OH	OH	<i>trans</i>	H
10: Petunidin 3 <i>p</i> CRG	OCH ₃	OH	<i>trans</i>	H
11: Cyanidin 3RG5G	OH	H	-	-
12: Peonidin 3RG5G	OCH ₃	H	-	-
13: Petunidin 3RG5G	OCH ₃	OH	-	-
14: Malvidin 3RG5G	OCH ₃	OCH ₃	-	-
15: Cyanidin 3 <i>p</i> CRG5G	OH	H	<i>trans</i>	H
16: Peonidin 3 <i>p</i> CRG5G	OCH ₃	H	<i>trans</i>	H
17: Delphinidin 3 <i>p</i> CR5G	OH	OH	<i>trans</i>	H
18: Delphinidin 3- <i>cis-p</i> CRG5G	OH	OH	<i>cis</i>	H
19: Delphinidin 3CRG5G	OH	OH	<i>trans</i>	OH
20: Petunidin 3 <i>p</i> CR5G	OCH ₃	OH	<i>trans</i>	H
21: Malvidin 3 <i>p</i> CR5G	OCH ₃	OCH ₃	<i>trans</i>	H

Fig. 2-1. The structures of anthocyanins detected in *Iris* species.

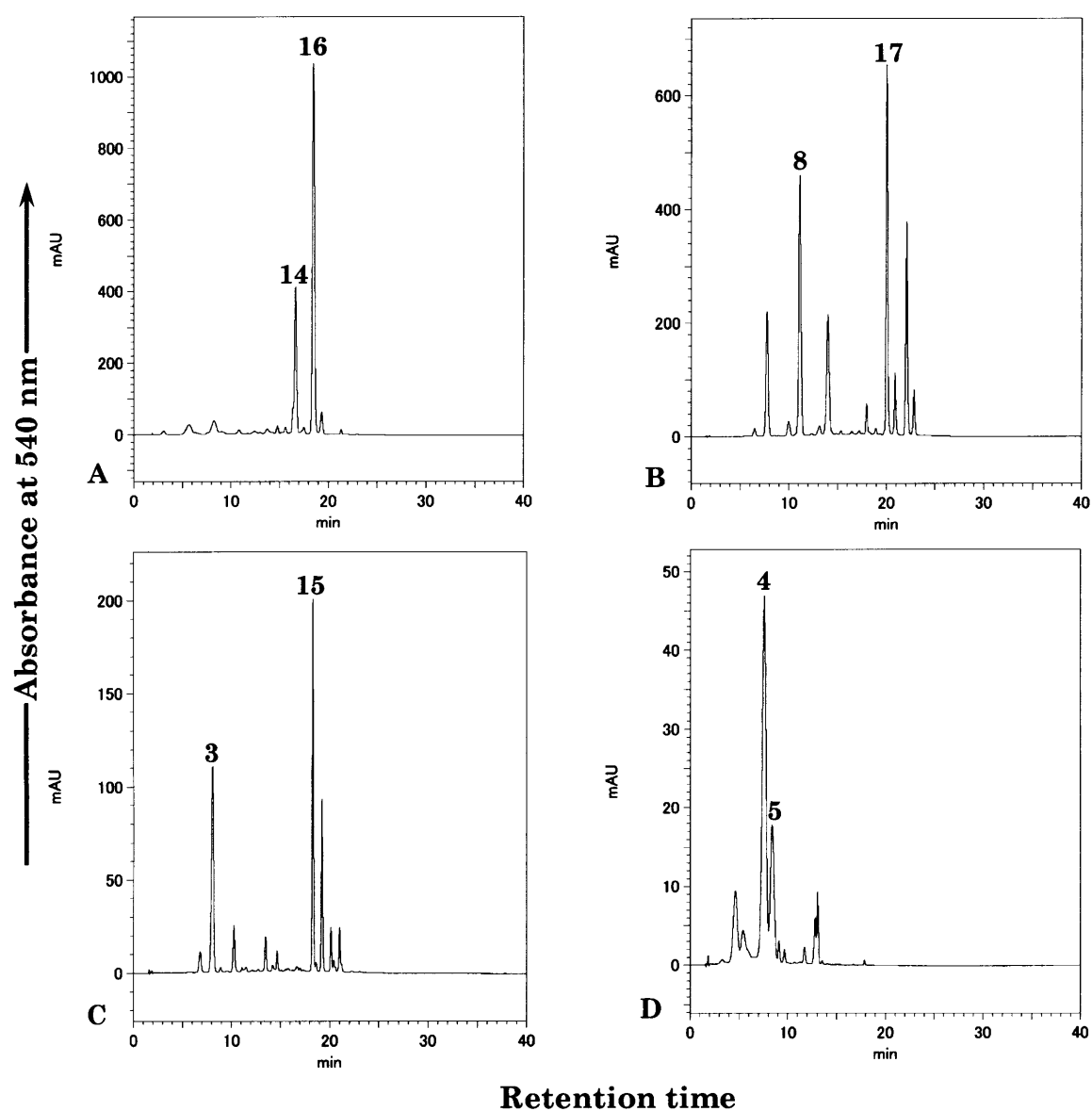


Fig. 2-2. The representative HPLC chromatograms of malvidin 3*p*CRG5G (peak no. 16)-petunidin 3*p*CRG5G (peak no. 14) (A: 'Ryuzu'), petunidin 3*p*CRG (peak no. 17)-petunidin 3RG (peak no. 8) (B: 'SBG1-4'), delphinidin 3RG (peak no. 3)-delphinidin 3*p*CRG (peak no. 15) (C: 'Shibukake') and peonidin 3RG5G (peak no. 4)-cyanidin 3G (peak no. 5) (D: 'HX-2') types in *I. ensata*.

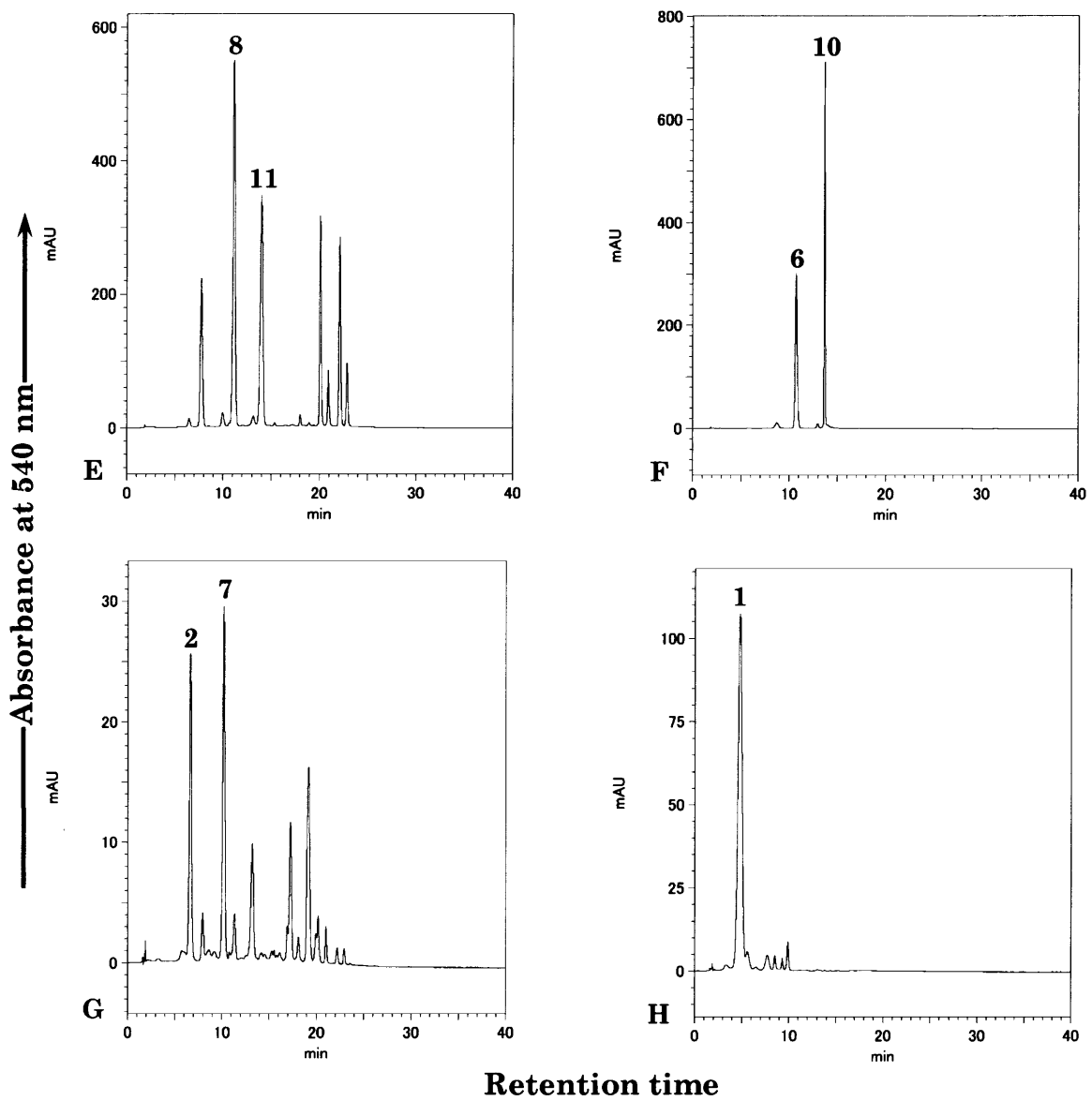


Fig. 2-2 (continued). The representative HPLC chromatograms of petunidin 3RG (peak no. 8)-malvidin 3RG (peak no. 11) (E: 'SBG1-6'), peonidin 3RG (peak no. 10)-cyanidin 3RG (peak no. 6) (F: 'Giondaiko'), petunidin 3G (peak no. 7)-delphinidin 3G (peak no. 2) (G: 'Togenochaya') and cyanidin 3RG5G (peak no. 1) (H: 'Miyakei 4') types in *I. ensata*.

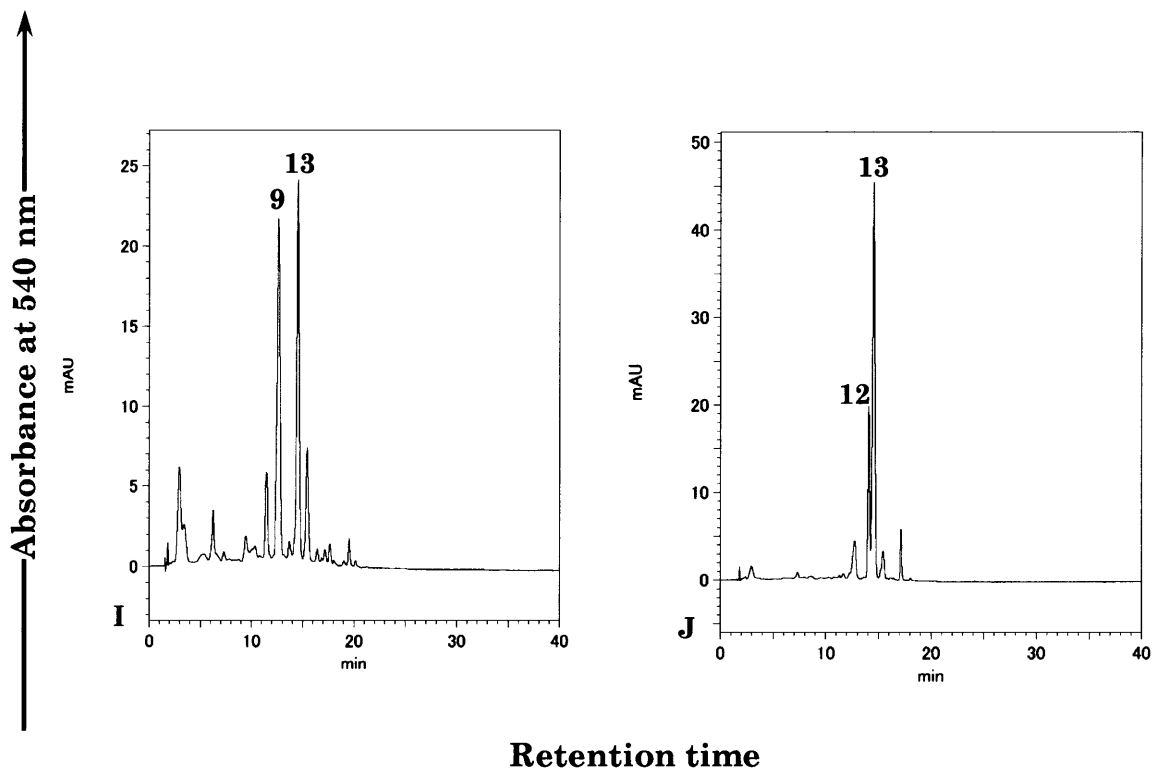


Fig. 2-2 (continued). The representative HPLC chromatograms of delphinidin 3CRG5G (peak no. 9)-delphinidin 3 p CRG5G (peak no. 13) (I: *I. germanica* 'Blue Nocturne') and delphinidin 3- $trans$ - p CRG5G (peak No. 13)-delphinidin 3- cis - p CRG5G (peak no. 12) (J: *I. milesii*) types in *Iris* species.

Vlaming(1984)もペチュニアの赤色花が cyanidin 3G および 3RG により発現していることを報告しているからである。Table 2-2 に示したように、peonidin および cyanidin 型アントシアニンほどの配糖体においても、malvidin および petunidin 型アントシアニンよりも λ_{max} が短波長側に 9~12nm シフトしており、赤色を発現するのに適していた。さらに、peonidin および cyanidin 型アントシアニンの中でも cyanidin 3G および 3RG5G は最も低い λ_{max} (515nm) を示し、peonidin 3RG5G もそれに次ぐ値 (516nm) であった。

次に、分光色差計を用いて赤紫、マゼンタおよびピンクといった赤色系品種・系統の花色 (Fig. 2-3) を測定し、その測定値を CIEL*a*b* 表色系グラフ上にプロットした (Fig. 2-4)。CIEL*a*b* グラフ上において、malvidin 3pCRG5G、petunidin 3pCRG5G、peonidin 3pCRG5G、cyanidin 3pCRG5G、malvidin 3RG5G、petunidin 3RG5G、petunidin 3pCRG、malvidin 3RG、petunidin 3RG および delphinidin 3RG を主要アントシアニンとして含有する品種・系統の花色は、Purple (紫) から Purplish red (紫赤) にかけての領域にプロットされた。これに対し、peonidin 3RG および cyanidin 3RG を主要成分とする系統は Purplish red (紫赤) から Reddish purple (赤紫) にかけて、また peonidin 3RG5G および cyanidin 3RG5G を多く含む系統は Reddish purple (赤紫) から Red (赤) にかけての領域にプロットされた。一方、L*値 (明度) については花被におけるアントシアニンの濃度が反映されており、アントシアニンの種類による特定の傾向は認められなかった。

以上の結果、ハナショウブでは、cyanidin 系アントシアニンにおける 5 位のグルコシル化が花色の赤色化に極めて重要であることが明らかになった。また、本種における主要アントシアニンのうち、cyanidin 3RG5G は赤色花育種を行う上で最も重要なアントシアニンであると結論された。



Fig. 2-3. Flowers of malvidin 3pCRG5G-petunidin 3pCRG5G type (A: 'Shishinden'), petunidin 3pCRG type (B: 'Inishienosato'), petunidin 3RG-malvidin 3RG type (C: 'SBG 1-3'), peonidin 3pCRG5G type (D: 'Nohime'), peonidin 3RG5G-cyanidin 3RG5G type (E: 'Miyakei 2'), peonidin 3RG5G type (F: 'Miyakei 4') cultivars of *I. ensata*.

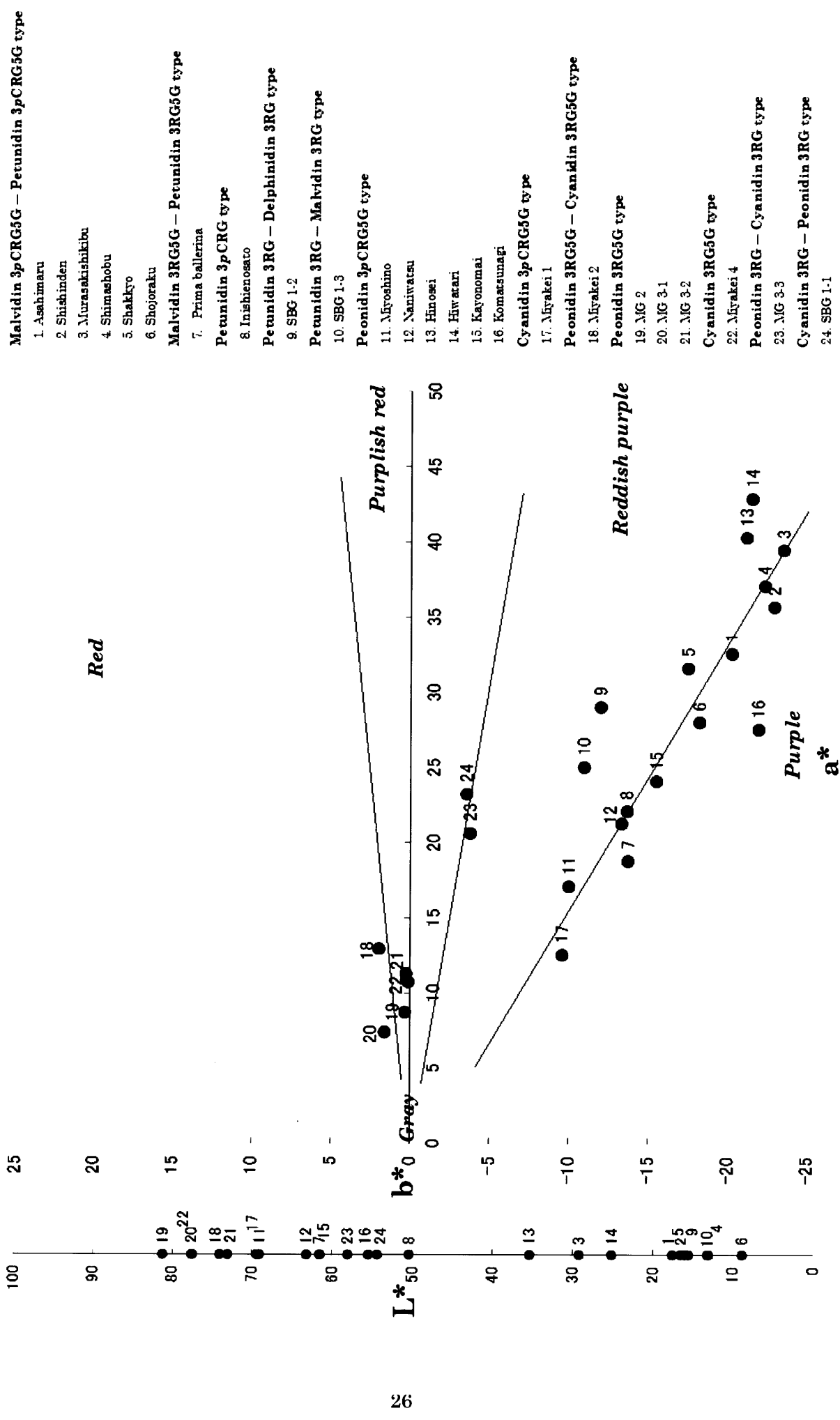


Fig. 2-4. The distributions of 24 cultivars (lines) in *I. ensata* due to flower color on CIEL*a*b* scatter diagram.

ハナショウブ以外の 13 種についてみると、アヤメ、ジャーマンアイリスおよび *I. milesii* の主要アントシアニン型が注目された。すなわち、アヤメおよびジャーマンアイリスから推定された delphinidin 3CRG5G はカフェ酸によるアシル化アントシアニンであり、主に *p*-クマル酸によりてアントシアニンがアシル化される *Iris* 属植物において、カフェ酸によるアシル化の報告は本研究が最初である[Fig. 2-1(19)、Fig. 2-2 (I)]。一方、*I. milesii* の主要アントシアニンは delphinidin 3-*trans-p*CRG5G (delphinidin 3*p*CRG5G) – delphinidin 3-*cis-p*CRG5G(推定)型であるが、このような *cis* 型のアシル化アントシアニンも本研究により初めて *Iris* 属植物から推定されたものである [Fig. 2-1(18)、Fig. 2-2(J)]。

ジャーマンアイリスにおいて delphinidin 3CRG5G を高度に含有する品種 (Fig. 2-5 I~L) の花は、delphinidin 3*p*CRG5G を主体とする品種 (Fig. 2-5 A~H) のものと同程度、あるいはより強い青色を示しており、また delphinidin 3-*cis-p*CRG5G も delphinidin 3-*trans-p*CRG5G と同様、フラボンとのコピグメンテーションにより花色に強い青色効果をもたらすと考えられることから、青色花育種を行う上で、今後、いずれのアントシアニンが最も有用であるかを決定することが必要である。

Delphinidin 3-*cis-p*CRG5G が、上述のように *I. milesii* からは主要成分として、また、主要成分ではないがイチハツ、エヒメアヤメ、ヒメシャガ、*I. cristata* および *I. tridentata* においても存在することが推定された [Fig. 2-2(J)、2-6、2-7]。このような *cis* 型のアントシアニンはペチュニアの野生種、*Petunia reitzii* および *P. saxicola* においても報告されているものの、両種とも微量成分として有しているにすぎない (Ando *et al.* 1999)。これに対して



Fig. 2-5. Flowers of delphinidin 3pCRG5G type (A: 'Batik', B: 'Black Out', C: 'G1', D: 'Honky-tonk Blues', E: 'Ovation', F: 'Red Lightning', G: 'River Fork', H: 'Vanity's Child') cultivars of *I. germanica*.

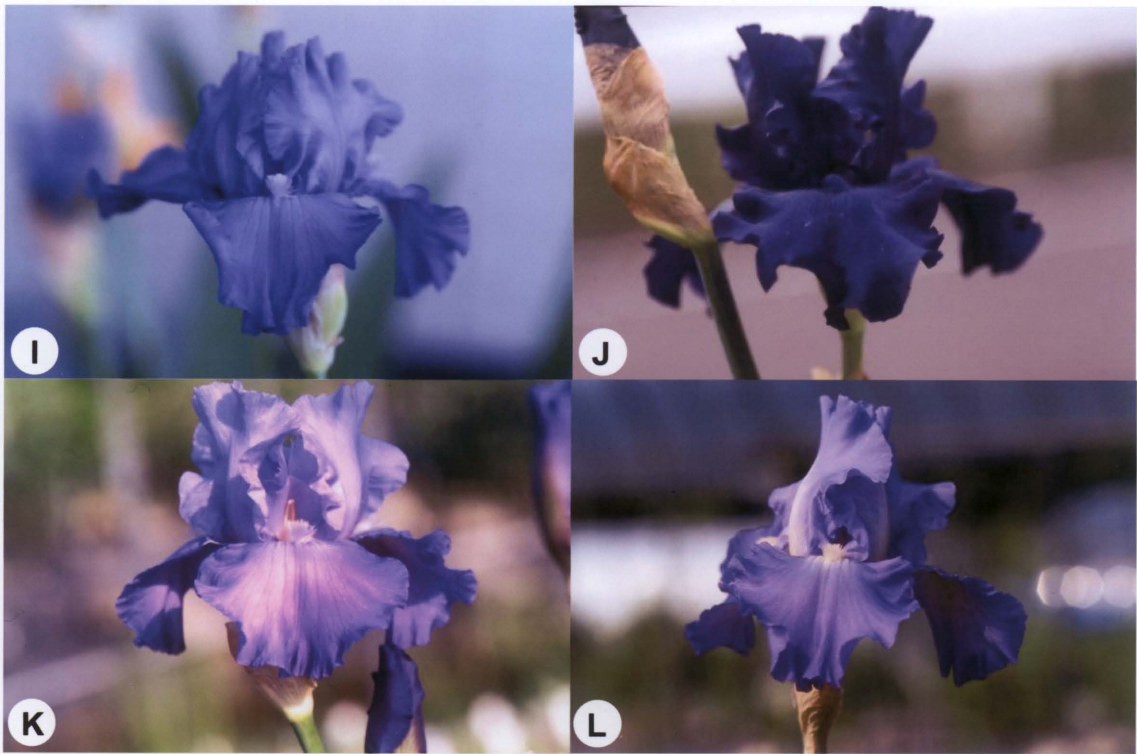


Fig. 2-5 (continued). Flowers of delphinidin 3pCRG5G-delphinidin 3CRG5G type (I: 'Blue Nocturne', J: 'Dusky Challenger', K: 'Lake Placid', L: 'Victoria Falls') cultivars of *I. germanica*.

Absorbance at 540 nm

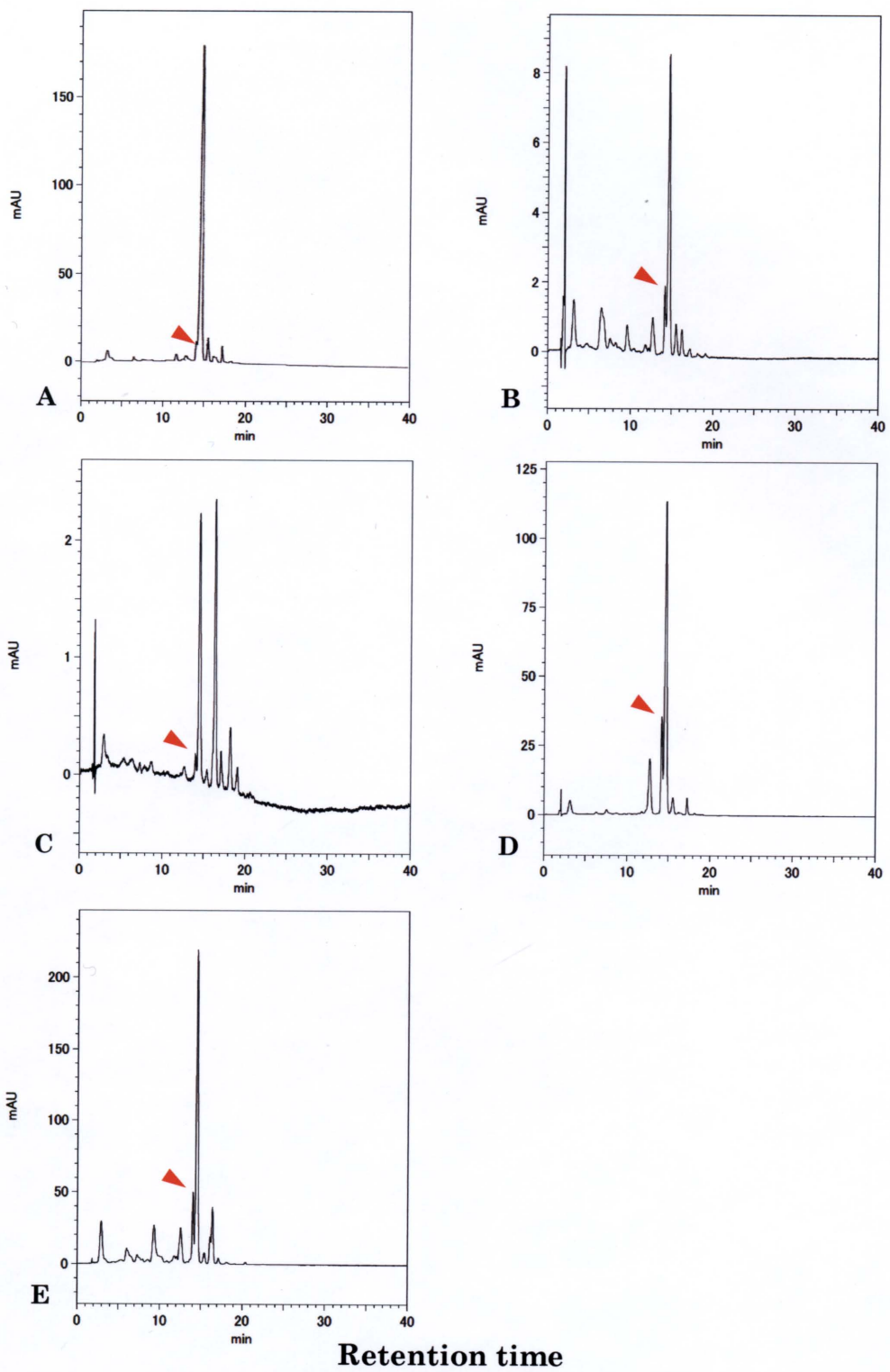


Fig. 2-6. The representative HPLC chromatograms of delphinidin 3-cis-pCRG5G (indicated by arrow heads) in *Iris* species.

A; *I. tectorum*, B; *I. rossii*, C; *I. gracilipes*, D; *I. cristata*, E; *I. tridentata*.



Fig. 2-7. A flower of *I. milesii* (delphinidin 3-*trans*-pCRG5G - delphinidin 3-*cis*-pCRG5G type).

I. milesii では delphinidin 3-*cis*-*p*CRG5G が主要成分として全アントシアニン量の 20% 以上も含まれており、非常に興味深い。また、シソの *in vitro* 実験では日光や UV によりアントシアニンの *trans* 型から *cis* 型への異性化が促進されることが報告されている (Yoshida *et al.*1990)。さらに、イチハツ、ヒメシャガ、*I. milesii* および *I. cristata* は分類学上 *Evansia* 亜節に属するが (Randolph and Lawrence 1959)、何故 *I. milesii* にだけ *cis* 型アントシアニンが主要成分として存在するのかは今のところ不明であり、今後の解明が必要である。

4. 摘要

Iris 属植物における花色の多彩化育種を促進するために、ハナショウブを含む 14 種の *Iris* 属植物における外花被含有アントシアニンの HPLC 分析を行い、新たな有用アントシアニン変異を探索した。また、ハナショウブでは赤色花品種を育成するためにアントシアニンと花色の評価を行った。得られた結果は次のとおりである。

ハナショウブおよびノハナショウブの 262 品種(系統)は外花被に含有される主要アントシアニンの型により 29 種類に分類された。これらの型のうち、petunidin 3pCRG5G – delphinidin 3pCRG5G、delphinidin 3pCRG5G – petunidin 3pCRG5G、cyanidin 3pCRG5G – peonidin 3pCRG5G、delphinidin 3RG – petunidin 3pCRG5G、delphinidin 3pCRG5G – delphinidin 3RG、petunidin 3pCRG – petunidin 3RG、delphinidin 3RG – delphinidin 3pCRG、petunidin 3RG5G – malvidin 3RG5G、malvidin 3RG5G – peonidin 3RG5G、peonidin 3RG5G – cyanidin 3RG5G、peonidin 3RG5G – cyanidin 3G、petunidin 3RG – malvidin 3RG、petunidin 3RG – delphinidin 3RG、peonidin 3RG – cyanidin 3RG、petunidin 3G – delphinidin 3G、petunidin 3pCRG、peonidin 3RG5G、cyanidin 3RG5G、petunidin 3RG、delphinidin 3RG および malvidin 3pCRG5G – peonidin 3pCRG5G – petunidin 3pCRG5G の 21 種類の型は本研究で最初に発見されたものであり、その中でも特に peonidin 3RG5G – cyanidin 3RG5G、peonidin 3RG5G および cyanidin 3RG5G の 3 つの型に属する系統は赤色花の育種を行う上で重要な遺伝資源として注目された。また、これら主要アントシアニンのうち、分光色差計による花色の評価および λ_{\max} の比較により、cyanidin 3RG5G が赤色花を育種する上で最も重要なアントシアニンであると結論された。さらに、ハナショウブ以外の 13 種についてみると、アヤメおよびジャーマンアイリスから

は delphinidin 3CRG5G が、*I. milesii* からは delphinidin 3-*cis-p*CRG5G が推定され、注目に値した。