

花きのアントシアニン・フラボノイド系色素に関する最近の研究成果

農業技術研究機構 花き研究所 生理遺伝部 品質生理研究室 中山真義

1. はじめに

花色は花に新規性をもたせ、需要拡大につながる重要な要素である。アントシアニンと、アントシアニンと生合成的に関係が深いフラボノイドと呼ばれる色素は、花色の発現の主要な役割を担っている。ほとんどの場合、赤、紫、青といった花色はアントシアニンによって発現される。フラボノイドは淡黄色を有しており、白や黄色の花色の発現に関与している。またフラボノイドは補助色素としてアントシアニンの分子構造に影響を与えることで、アントシアニンによる色彩の発現にも関与していることが知られている。

アントシアニンの分子構造の研究は一世紀に及ぶ長い歴史がある。その間、多くの植物を対象として研究が行われてきた。アントシアニンはpHによって構造を変化させるが、赤色を呈する酸性条件以外では速やかに無色になってしまうことから、抽出・精製は酸性条件下で行われるのが普通である。従来は酸性条件の調整のために塩酸等の鉱酸を用いていたが、この条件ではアントシアニンの分子に存在する脂肪酸エステルが加水分解をおこし、構造が変化してしまう可能性があることが明らかになってきた。実際、酢酸等の有機酸を用いて脂肪酸エステルの加水分解を抑制できる条件

下において分析を行うことで、多くの植物に脂肪酸エステルが結合したアントシアニンが存在することが示されている。

筆者は農林水産省の研究プロジェクト「アントシアニンの花色発現機構の解明」および「遺伝子組換え及びクローン技術による画期的な動植物の開発」において、花きにおけるアントシアニンとフラボノイドの研究を行なった。その過程でいくつかの脂肪酸エステルを有する新規色素を同定したので、これらの研究成果について紹介する。加えて、アントシアニンの生合成を阻害する効果を有する植調剤を利用して、花の色彩を制御する試みについても紹介する。

2. キクの新規アントシアニン（マロニル化アントシアニン）（図-1）

キクの花弁の主要アントシアニンは1910年代

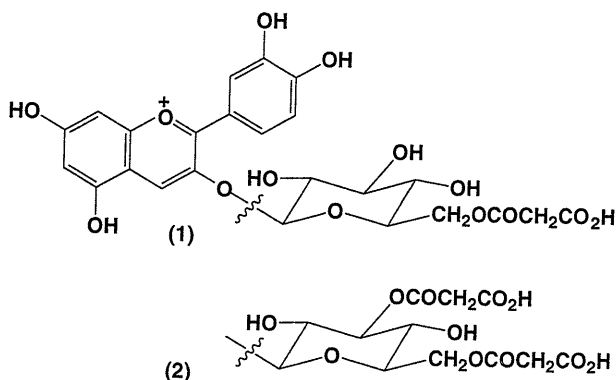


図-1 キクのアントシアニン

にcyanidin 3-glucosideであることが報告され、キクの学名 (*Chrysanthemum* spp.) にちなんで chrythanthemin と命名された。1980年代になりキク花卉には主に2種の未知のアントシアニンが存在し、cyanidin 3-glucosideはこれらの分解物であることが判明した。その後斉藤らにより、これらの未知アントシアニンの1つは、cyanidin 3-glucosideに1つのマロン酸エステルが結合 (マロニル化) したcyanidin 3-(6''-malonylglucoside) (1) であることが明らかになった¹⁾。筆者らはもう1つの未知アントシアニンを精製し、その構造をcyanidin 3-glucoside に2つのマロン酸エステルが結合したcyanidin 3-(3'', 6''-dimalonylglucoside) (2) と決定した²⁾。この2種のアントシアニンは、赤い色彩を示すすべてのキクの品種における主要アントシアニンとして存在している³⁾。

これらの2つの化合物のマロン酸エステルは、塩酸メタノール中で速やかに加水分解されcyanidin 3-glucosideに変換される。しかしながら、酢酸等を用いて加水分解がおこりにくい条件下で分析を行った場合においても、キクの花弁には少量のcyanidin 3-glucosideの存在が認められる。cyanidin 3-glucosideはマロニル化アントシアニンの生合成前駆体として存在していると考えられる。

マロニル化されたアントシアニンは、キク以外の多くの植物に存在することが知られている。マロン酸は、アントシアニンに結合している脂肪酸有機酸としては、最も一般的な物質であると思われる。中でもcyanidin 3-(6''-malonylglucoside) (1) は多くの植物から検出されている。一方でc

yanidin 3-(3'', 6''-dimalonylglucoside) (2) のように複数個のマロン酸エステルを含んでいるアントシアニンに関する報告はそれほど多くない。

3. カーネーションの新規アントシアニン (マリル化アントシアニン) (図-2)

マロニル化アントシアニンが多くの植物種から検出されるのに対し、リンゴ酸エステルの結合したマリル化アントシアニンは、カーネーションによって代表されるナデシコ科植物 (*Dianthus* spp.) のみから検出される。すでにpelargonidin 3-(6''-malylglucoside) (3) とcyanidin 3-(6''-malylglucoside) (4) がカーネーションから検出されている⁴⁾。

カーネーションには、さらに2種の未知アントシアニンが存在することが示されていた。これらの物質はたいへん不安定であると同時に、分離が困難な夾雑物が存在することから解析が送れていた。最近、ようやくこれらの物質の精製に成功し、構造を解析したところリンゴ酸に

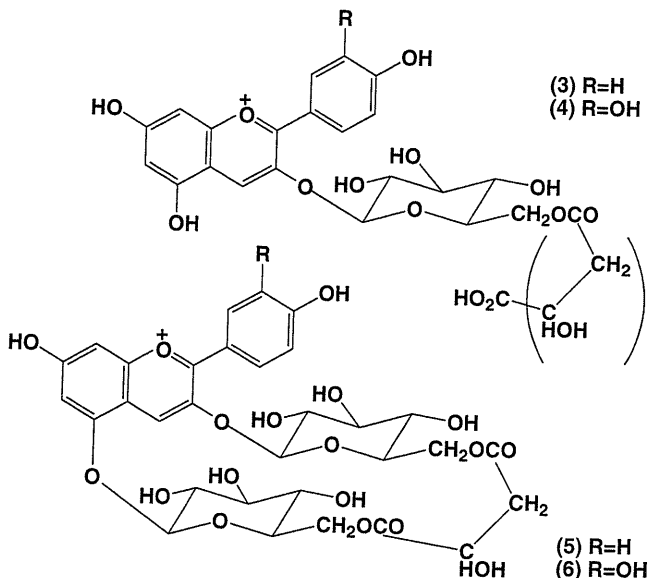


図-2 カーネーションのアントシアニン

よって2つの糖が架橋された、ユニークな環状構造を持つことが明らかになった。我々は環状構造を有する代表的な物質であるcyclic AMPにちなみ、これらのアントシアニンに対してcyclic malyl pelargonidin (5)とcyclic malyl cyanidin (6)と命名した⁵⁾。

Cyclic malyl cyanidin

(6)の構造はBloorらによりその構造が示されていたが、リンゴ酸の配向が不明であった⁶⁾。今回我々はNMRスペクトルを詳細に検討し、リンゴ酸の配向を含めた構造を明らかにした。他の研究グループからもcyclic malyl pelargonidin (5)の構造について、同一の構造が示されている⁷⁾。Bloorはcyclic malyl cyanidin (6)のリンゴ酸のエステル結合が分解を受ける位置を明らかにしており、cyclic malyl pelargonidin (5)も同様の分解を受けていると考えられる。

環状構造を有していないpelargonidin 3-(6''-malylglucoside) (3)とcyanidin 3-(6''-malylglucoside) (4)のリンゴ酸の配向は不明であるが、cyclic anthocyaninの報告を受けて配向の解明に取り組む計画がある。またカーネーションにおいても少量の非マリル化アントシアニンを検出しているが⁸⁾、これはマリル化アントシアニンの生合成前駆体として存在していると考えられる。

4. チューリップの新規アントシアニン (アセチル化アントシアニン) (図-3)

チューリップ花のアントシアニンは3位に糖

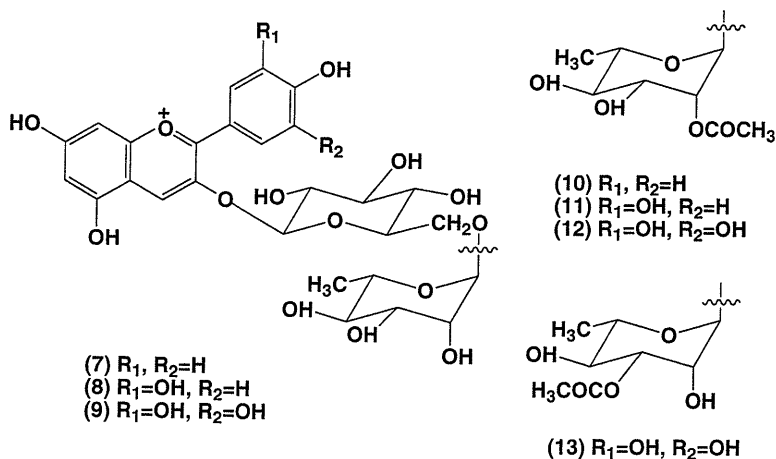


図-3 チューリップのアントシアニン

としてrutinosideを有するpelargonidin 3-rutinoside (7), cyanidin 3-rutinoside (8), 及び delphinidin 3-rutinoside (9)であることが報告され、特にdelphinidin 3-rutinoside (9)はチューリップの学名(*Tulipa gesneriana*)にちなんでTulipaninと命名されていた⁹⁾。筆者らはこれらに加え、4種の未知アントシアニンがチューリップの主要アントシアニンであることを見だし、それぞれの構造を酢酸エステルが結合したアセチル化アントシアニンである、pelargonidin 3-(2''-acetylglucoside) (10), cyanidin 3-(2''-acetylglucoside) (11), 及びdelphinidin 3-(2''-acetylglucoside) (12)とdelphinidin 3-(3''-acetylglucoside) (13)である事を明らかにした^{10,11)}。これらのアントシアニンのチューリップにおける存在は、他の研究者からも報告されている¹²⁾。アセチル化アントシアニンは、チューリップの他にゼラニウムやバーベナといった植物にも存在することが報告されているが、例は少ない。

280品種におよぶチューリップの花被において、これらのアントシアニンの分布を調査した¹³⁾。チューリップのアントシアニンは品種間の

差が大きく、赤色系、橙色系、桃色系品種の花被ではpelargonidin系とcyanidin系が、紫色系品種の花被ではdelphinidin系が主要アントシアニンであった。一般にdelphinidin系のアントシアニンはpelargonidin系やcyanidin系に比べて紫がかった色彩を示すことから、このようなアントシアニンの分布と花被の色彩との関係がある事は理解しやすい。キクやカーネーションにおける主要なアントシアニンがすべてアシル化アントシアニンであるのと違い、チューリップにおいては非アシル化アントシアニンも主要色素として存在する。品種によっては非アシル化アントシアニンが独占的に存在するものもある。

5. クルクマのアントシアニン(図-4)

クルクマは熱帯アジア原産のショウガ科植物であり、ピンク色の苞をもつ切り花として商品化されている。今のところピンク色の濃さの違いによるいくつかの品種があるのみである。育種のための基礎的情報を得るために苞の色素の分析を試みた。

クルクマのアントシアニンとしてmalvidin 3-rutinoside (14)を同定した¹⁴⁾。品種間の色彩の濃さとmalvidin 3-rutinoside (14)の内生量の

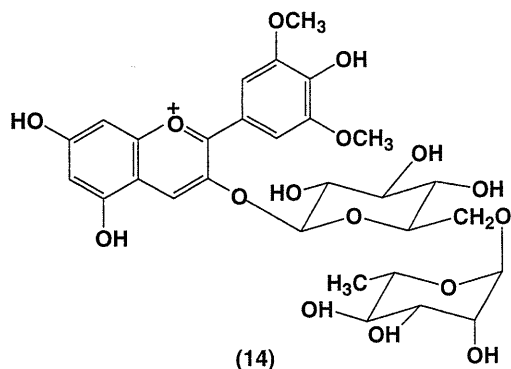


図-4 クルクマのアントシアニン

の間に良い関係が認められた。分析に用いたいずれの品種においても、他の有色色素の存在は認められなかったことから、クルクマの苞の色彩はmalvidin 3-rutinoside (14)ただ1種の色素によって発現することが明らかになった。色素の種類が同じであることから、クルクマの品種間の交配により多様な色彩を発現させることは困難であると考えられる。

6. カラーのフラボノイド(フラボンC-グルコサイド)(図-5)

白色系の仏炎苞を有する湿地性カラーの幾つかの品種においては、開花時に低温に遭遇することによって仏炎苞が黄色化する。これらの品種は結婚式等で用いられることから白色であることが重要な要素であり、黄色化により商品価値が低下してしまうといった問題が生じている。

黄色化したカラーから黄色色素を精製し構造を解析したところ、6種のフラボノイド様物質を検出した。そのうち量的に多い4種のフラボノイドの構造をそれぞれisoorientin (15), swertiajaponin (16), isovitexin (17), swertisin (18)と同定した¹⁵⁾。これらはいずれも糖(glucose)が炭素-炭素結合により結合している、フラボンC-グルコサイドという物質として分類される。Isoorientin (15)とswertiajaponin (16)は、isovitexin (17)とswertisin (18)に比べ長波長領域に吸光特性を有しており、より濃い黄色を示す。品種や生育条件の違いによるisoorientin (15)とswertiajaponin (16)の内生量は、それぞれの黄色の濃さと良い対応を示した。カラーの黄色化は主にisoorientin (15)とswertiajaponin (16)によるものであると考えられる。カラーにはなお2種の未知フラボノイドが存在するが、分解されやすく精製が困難

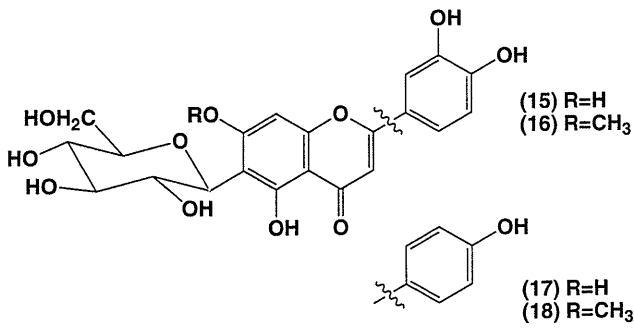


図-5 カラーのフラボノイド

であることから、構造決定には至っていない。

カラーのフラボノイドは仏炎苞が開く時期に内生量が急激に増加するが、加温処理により増加が抑えられる。この時期の温度がフラボノイド生合成の活性化に影響を与えていると考えられる。一般にフラボノイドとアントシアニンは低温に遭遇すると生合成が盛んになり、白色の花が着色する例が多い。カラーの黄色化もこの現象の一つであると考えられる。

7. アントシアニンの生合成阻害剤を用いた花色の制御

フラボノイド-アントシアニンの生合成阻害剤を用いて、花きの花色を変化させる試みがある。今井は住友化学工業の開発したS-84702という阻害剤を、水耕液加用処理あるいは切り花吸水処理することで、チューリップの花被のアントシアニン含量を低下させる技術を開発した¹⁶⁾。阻害剤の処理により、赤色系品種のチューリップの花被は淡色化し、ピンク色に変化した。この色彩の変化は処理濃度や処理時間により調節できた。チューリップは育種に20年近い長い時間がかかるため、消費者の好みに素早く対応するのが困難であったが、この方法を用いることで問題の解決が期待される。

この報告に基づき、筆者らもこの試薬を用い

てキクの花色の調節を試みた。先に述べたように、キクにおいても低温に遭遇することでアントシアニンの生合成が活性化され、白色品種の花弁がピンク色になる現象が認められる。S-84702を切り花吸水処理により、開花・着色前のキクに与えたところ、低温による花弁の着色は抑制され白い花弁を持つ花を開花させることが出来た。しかし

ながら、筆者の用いた条件では葉に葉害が生じてしまった。おそらく葉ではフラボノイドが生理的に重要な役割を担っており、阻害剤によりフラボノイド含量が低下することで、傷害を引き起こしたのだと推測している。この方法は、チューリップのように葉を持たない切り花に適した方法のように思われる。

薬剤を用いることで、育種が困難な植物に新しい花色を発現させる、あるいは望まれない着色を抑制する方法は、たいへん魅力的な方法である。今後多くの花きでの応用が検討され技術が確立されれば、花き産業に大きく貢献できると考えている。

参考文献

- 1) Saito N., K. Toki, T. Honda, and K. Kawase 1988. Cyanidin 3-malonylglucuronide in *Bellis* and cyanidin 3-malonylglucoside in *Dendranthema*. *Phytochemistry* 27, 2963-2966
- 2) Nakayama M., M. Koshioka, M. Shibata, S. Hiradate, H. Sugie, and M. Yamaguchi 1997. Identification of cyanidin 3-O-(3', 6''-O-dimalonyl-β-glucopyranoside) as a flower pigment of chrysanthemum (*Dendranthema grandiflorum*). *Biosci. Biotech.*

- Biochem. 61, 1607-1608
- 3) 山口雅篤・雫石賢一・笈三男1987. 有機酸の結合したアントシアニンに関する研究(第3報) キクのマロニル化アントシアニンの同定と分布. 園学雑56別1, 354-355
 - 4) Terahara N. and M. Yamaguchi 1986. ¹H NMR spectral analysis of the malylated anthocyanins from *Dianthus*. Phytochemistry 25, 2906-2907
 - 5) Nakayama M., M. Koshioka, H. Yoshida, Y. Kan, Y. Fukui, A. Koike, and M. Yamaguchi 2000. Cyclic maly anthocyanins in *Dianthus caryophyllus*. Phytochemistry 55, 937-939
 - 6) Bloor S. J. 1998. A macrocyclic anthocyanin from red/mauve carnation flowers. Phytochemistry 49, 225-228
 - 7) Gonnet J.-F. and B. Fenet 2000, "Cyclamen red" colors based on a macrocyclic anthocyanin in carnation flowers. J. Agric. Food Chem. 48, 22-26
 - 8) 水口聡・市村一雄・中山真義・久松完・腰岡政二 2001. スクロースがつぼみ切りカーネーションの花弁色調に及ぼす影響. 園学雑70別2, 355
 - 9) Shibata, M. and N. Ishikura 1959. On anthocyanins in tulip flowers. Naturwiss 46, 601-602
 - 10) Nakayama M., M. Yamaguchi, O. Urashima, Y. Kan, Y. Fukui, Y. Yamaguchi, and M. Koshioka 1999. Anthocyanins in the dark purple anthers of *Tulipa gesneriana*: identification of two novel delphinidin 3-O-(6-O-(acetyl- α -rhamnopyranosyl)- β -glucosides. Biosci. Biotech. Biochem. 63, 1509-1511
 - 11) 岡田真理子・中山真義・山口雅篤・本間環・山本福壽・田屋美作絵・腰岡政二1999. チューリップ花弁におけるアントシアニンの分布と未知アントシアニンの同定. 園学雑68別2, 138
 - 12) Torskangerpoll K., T. Fossen, and ϕ . M. Andersen 1999. Anthocyanin pigments of tulips. Phytochemistry 52, 1687-1692
 - 13) 田屋美作絵・中山真義・浦島修・腰岡政二 1999. チューリップの花弁に含まれるアントシアニンの品種間差異. 園学雑68別2, 399
 - 14) Nakayama M., M. S. Roh, K. Uchida, Y. Yamaguchi, K. Takano, and M. Koshioka 2000. Malvidin 3-rutinoside as the pigment responsible for bract color in *Curcuma alismatifolia*. Biosci. Biotech. Biochem. 64, 1093-1095
 - 15) 中山真義・井水清智・近藤忠雄・本間環・腰岡政二 2001. 白色系カラーの黄色化に関与するフラボノイドの同定. 2001年農芸化学会要旨, 238
 - 16) 今井徹 1996. チューリップの花色調節法の開発. Brain Techno News 53, 25-27