

バラの茶系花色発現に関する研究

安田 斉・青山 慎*

信州大学理学部生物学教室

(1988年7月22日 受理)

はじめに

野生植物のなかに茶色系の花を見付けることは非常に困難なことと考えられるが、園芸植物のなかにはバラをはじめとしてアサガオ、キンセンカ等いくつかの例をあげることができる。しかし、これらの植物における花色発現機構の本格的な研究はほとんど皆無といってよく、筆者らの知る限りでは、HARBORNE (1976) がニオイアラセイトウやバラ、プリムラポリアンサ等のいわゆる Black Brown 系花色について記載したものがあに過ぎない。この記載によれば、これらの植物の茶系花色は「シアニジン系アントシアニン+カロチノイド」という色素構成によって発現するものと説明されている。

しかし、筆者らが茶色バラの一品種 Black Tea 及びそれと類似の茶色系の花色を示す系統株（試作されたもので、品種名の付けられていないもの）の花弁に対して、色素化学的並びに細胞学的検討を加えた結果、これらの茶系花色発現の機構は、前記 HARBORNE の記載では説明できないとの知見を得た。以下にその検討経過を報告する。

材料及び方法

本研究に使用した材料植物は、栽培バラ *Rosa hybrida* のうち、代表的な茶色系の栽培品種 Black Tea 及びこれとおおむね同じニュアンスの茶色系の花（例：第1図A）を付ける17系統、並びに肉眼的に明らかにオレンジ色系の花を付ける3系統（本報ではこれらを系統1～20として扱う）である。いずれも京成バラ園芸株式会社（千葉県八千代市大和田新田755）の圃場または温室で栽培管理されていたものである。これらの株から、1982年5～6月及び同年10月に開花した花を採取し、実験に供した。

アントシアニジンの定性は、薄層クロマト法によった。展開資料の調製手順は次の通りである。新鮮な花弁を1%塩酸性メタノールに5°Cで約24時間浸漬し、得られた抽出液を減圧濃縮後、少量の濃塩酸を加えて3分間過熱して加水分解させた。分解液に少量のイソアミルアルコールを加えて振とうし、アルコール層を濃縮して展開資料とした。展開プレートには、セルローズ薄層プレート（Avicel, フナコシ薬品）を使用した。展開溶媒には、Forestal（酢酸：塩酸：水=30：3：10 v/v）並びに Formic（ギ酸：塩酸：水=5：2：3 v/v）の2種類を用いた。

アントシアニジンの量的比較は、志佐ら（1972）の方法に準じて、薄層クロマトグラム上のスポットの大小及び色調の濃淡から割り出し、花弁ごとのペラルゴニジンとシアニジンの

* 現所属 株式会社 三和化学研究所安全性研究所

比で表わした。

花卉の上面表皮細胞は、八分咲程度の開花段階にある花から採取し、次の2種類の資料を作成し、光学顕微鏡により観察した。

1 剝離表皮 新鮮花卉の上面表皮を剝離したもの。

2 パラフィン切片 花卉をカイゼル氏液（塩化第2水銀10g, 氷酢酸3ml, 蒸留水300ml）で約24時間固定した後、約4時間水洗し、ブタノール・エタノール溶媒シリーズで脱水、パラフィン包埋した。切片は20 μ の厚さとし、トルイジンブルーで染色した。

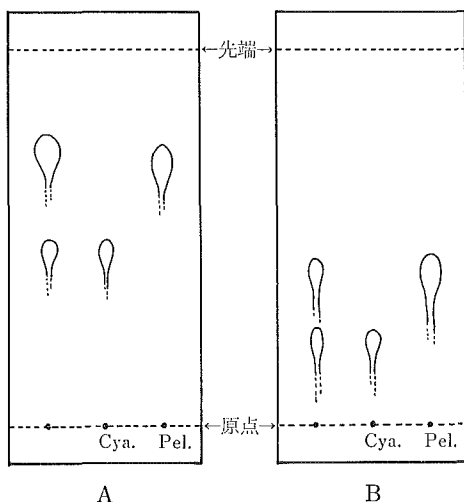
結 果

第2図は、茶色系バラの代表的品種 Black Tea の花卉のアントシアニジンの薄層クロマトグラムを示したものであるが、二つのスポットが認められた。スポットⅠ及びスポットⅡの Rf 値はシアニン標品並びにペラルゴニン標品の Rf 値にそれぞれ一致した(第1表)。系統1～20についても同様にアントシアニジンを定性した結果、すべての花卉からシアニンとペラルゴニンとが検出された。

第2表は、花卉中のアントシアニン量の相対比を示したものである。これによると、本研究で使用した茶色系並びにダイダイ色系のバラ花卉には、ペラルゴニンとシアニンがほぼ等量か、あるいはペラルゴニンの方が多く含まれていた。ペラルゴニンがシアニンの約10倍のものもみられた。

茶色系バラ花卉の剝離表皮の顕微鏡観察から、次の四つの特徴をあげることができる。

- 1 上面表皮細胞の液胞は、その大部分がダイダイ色系の色調を示していた(第1図B)。Black Tea の花卉では、日光が直接当たった部分の表皮細胞の液胞の方が、当たらなかった部分の表皮細胞の液胞より、ダイダイ色の色調が明らかに濃厚であった。



第2図 Black Tea 花卉のアントシアニジンの薄層クロマトグラム

Pel. : ペラルゴニン標品, Cya. : シアニン標品

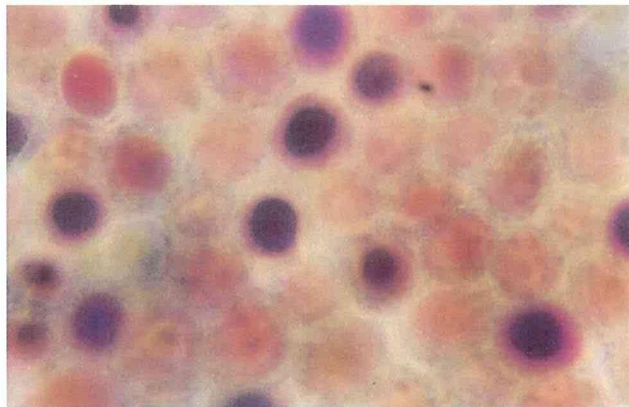
展開溶媒 : A = Forestal, B = Formic

第1表 Black Tea 花卉のアントシアニジンの薄層クロマトグラムにおけるRf値

スポット	Rf 値	
	Forestal	Formic
ペラルゴニン	0.71	0.41
シアニン	0.47	0.24
スポットⅠ	0.72	0.42
スポットⅡ	0.47	0.24

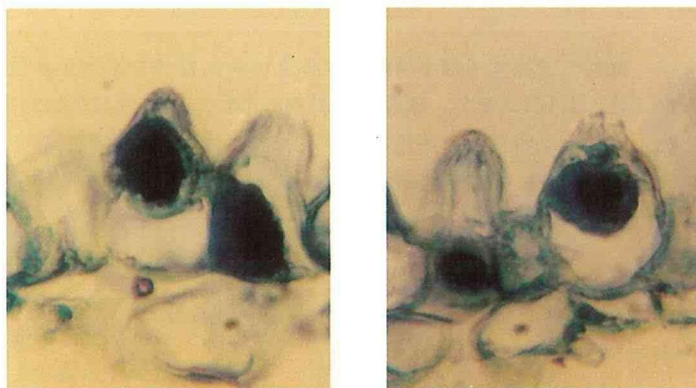


A 5cm



B 20μ

第1図 Black Tea とほぼ同様のニュアンスの茶色を示す花の例(A)とその花卉から剥離した上面表皮(B)



20μ

第3図 茶色系花卉にみられる青色球状体の、カイゼル氏液固定・トルイジンブルー染色像

第2表 茶色系バラ花卉におけるアントシアニジンの相対量, 青色球状体の有無並びに花色

品 種	ペラルゴニン	シアニン	青色球状体*	花 色
Black Tea	1	1	+	茶
系 統 1	2	1	+	〃
〃 2	5	3	+	〃
〃 3	5	4	+	〃
〃 4	5	1	+	〃
〃 5	10	1	+	〃
〃 6	6	1	+	〃
〃 7	3	1	+	〃
〃 8	3	2	+	〃
〃 9	3	1	+	〃
〃 10	4	1	+	〃
〃 11	5	1	+	〃
〃 12	3	2	—	ダイダイ
〃 13	4	1	—	〃
〃 14	5	4	+	茶
〃 15	4	1	—	ダイダイ
〃 16	1	1	+	茶
〃 17	10	1	+	〃
〃 18	2	1	+	〃
〃 19	1	1	+	〃
〃 20	10	9	+	黒 茶

* + : 青色球状体が観察された。

— : 青色球状体は観察されない。

2 上面表皮には, 青色の球状体 (以下青色球状体という) を含む細胞が多数混在しているのが観察された (第1図B)。また, 使用した材料についての青色球状体の出現の有無を, 第2表に示した。肉眼的に明らかに茶色を示す花卉には青色球状体が観察されたが, 明らかにダイダイ色を示す花卉には認められなかった。この青色球状体は, 同一花卉では, 日光の直接当たった部分と当たらなかった部分で同程度出現していた。

第3表 茶色系バラ花卉における上面表皮細胞の形状

品 種	高さ／幅
Black Tea	1.2
系 統 1	1.1
〃 5	1.4
〃 8	1.8
〃 20	2.4

3 この青色球状体は, 0.1% 塩酸により, 先ずダイダイ色となり, 次いでダイダイ色の部分は球状体より流出して液胞全体に広がるのが観察された。この時球状体は淡褐色となり, 塩酸処理前よりわずかに収縮するが, 消失することなく元の位置に残るのが認められた。

4 使用した茶色系バラ中, 特に黒色性を帯びた花を咲かせる株 (系統20) の花卉では, 上面表皮細胞が細長く, 細胞の高さ／幅の比は2.0以

上であった(第3表)。

第3図は、カイゼル氏液固定・トルイジンブルー染色によるパラフィン切片の青色球状体像であるが、同様の球状体像は使用した茶色系花卉に共通してみられた。

考 察

一般に、ダイダイ色系並びに赤色系品種のバラ花卉におけるアントシアニン型は、シアニジンの単独型かあるいはシアニンとペラルゴニンとの混在型かである(TAKAKUWA 1960; YASUDA, 1975 b; 志佐ら, 1972)。本研究で使用した Black Tea を含む21種の花卉のアントシアニン型は、第2表から明らかのように、シアニン・ペラルゴニン混在型に属している。

志佐ら(1972)によれば、ダイダイ色系品種のアントシアニンの量的関係は、シアニン:ペラルゴニンが1:1~8である。本研究で使用したバラ花卉のこの比は1:1~10であるから、アントシアニンの量的比率からみれば、茶色系花卉はダイダイ系花卉とほぼ等しいといえることができる。茶色系の花卉の上面表皮細胞の液胞部分だけを観察する限り、そこがペラルゴニン系アントシアニン特有のダイダイ色を示していることは、そこにペラルゴニン系アントシアニンが優占的に含まれていることを裏付けるものと考えられることができる。

一方、ペラルゴニン系アントシアニン優占という色素構成でも、シアニン系アントシアニンとの量的比率にはかなりの幅がみられる(第2表)。HARBORNE(1976)によれば、シアニン系アントシアニンは深紅色の色調の、またペラルゴニン系アントシアニンはダイダイ色系の色調のそれぞれ母体となっている。従って、この比率の幅は当然花卉におけるダイダイ色のニュアンス、ひいては茶色のニュアンスの変異として現われているものと考えなければならない。しかし、本研究は茶系花色の発現機構解明を主目的としているから、このニュアンスのレベルでの変異には言及しないこととする。詳細は今後の研究に待ちたい。

このように、茶系バラ花卉の色素構成はダイダイ系バラ花卉のそれとほぼ同様と考えられるが、茶系花卉の特徴は花卉の上面表皮細胞に青色球状体が出現していることである(第2表)。この青色球状体は、次の3点でYASUDA(1970, 1974)が赤系バラのブルーイング花卉の上面表皮細胞内に発見したタンニン体と相同であると考えられる。

- ① 新鮮花卉の観察における色調、形状及び大きさ。
- ② 新鮮花卉の上面表皮を希塩酸で処理した時の青色球状体の色調並びに形状の変化。
- ③ カイゼル氏液固定・トルイジンブルー染色法による染色像。

結局、Black Tea 及びこれと類似の茶色を示すバラ花卉の色調は、ペラルゴニン系アントシアニンに基づくダイダイ色の色調と、バラのブルーイング現象の原因の一つになっているタンニン体の青色の色調との混色によって発現するものと解釈することができる。

一般に、絵の具を用いて茶色系の色調を表わす場合、ダイダイ色系の絵の具に黒色系、濃青色系あるいは濃紫色系などの絵の具を混合する。茶系バラ花卉の色調は、ペラルゴニン系アントシアニンのダイダイ色と、青色球状体の濃青色との混合によるものといえることができる。

茶系品種のうち、特に強い黒色調の茶色を示す花卉の上面表皮の観察では、表皮細胞が

花卉の表面に垂直方向に細長い特長を備えていた。これは、バラ花卉における黒色調発現の原因の一つとして YASUDA (1964, 1965a, 1967) が報告した特長そのものである。すなわち、表皮細胞が細長いことにより表皮細胞自身の陰影が花卉表面に投じられる結果、花卉に黒色調が加味されるものと解釈することができる。

以上の考察から、バラの花色に茶色系の色調を与えるためには、最低次の二つの遺伝的方向性に期待するところ大きいものと考えることができる。

① ペラルゴニジン系アントシアニンを多量に生産させる遺伝的方向性。

② タンニン体型ブルーイングを起こさせる遺伝的方向性。

なお、茶色に表皮細胞の形状によって黒色性を与える遺伝的方向性は、上記①及び②が整っているとき、2次的に期待し得るものと考えられる。

摘 要

茶色系栽培バラの一品種 Black Tea 及びそれと類似の花色を示す系統株の花弁を用いて、色素化学的並びに細胞学的に花色発現機構を検討した。得られた結果は、大略下記の通りである。

- 1 薄層クロマト法により、使用花弁からはアントシアニンとして、シアニンとペラルゴニジンが同定された。
- 2 薄層クロマトグラム上のスポットの大小及び色調の濃淡から求めたアントシアニンの相対量の比は、シアニン：ペラルゴニジンが1：1～10であった。
- 3 茶色系バラ花弁の上面表皮細胞の液胞は、ペラルゴニジン系アントシアニン特有のダイダイ色を示した。
- 4 細胞内に青色の球状体が観察され、この球状体は、0.1%塩酸によりダイダイ色となり、その色はやがて液胞全体に広がった。
- 5 青色球状体は、カイゼル氏液で固定してパラフィン切片とし、トルイジンブルーで染色した結果、タンニン体と相同なものと認められた。

以上のことから、Black Tea を代表とするバラの茶系花色は、ペラルゴニジン系アントシアニンのダイダイ色と、バラにおけるブルーイング現象の一原因である青色球状体の青色との混色によって発現するものと考察される。

謝 辞

本研究を行うに当たり、材料並びに顕微鏡観察の場所をご提供下さいました 京成バラ園芸株式会社に深く感謝申し上げます。また、種々有益な助言と支援を頂きました同社研究所長 鈴木省三氏及び平林 浩氏外研究所員の各位に厚くお礼申し上げます。

引 用 文 献

- HARBORNE, J.B. (1976) Functions of flavonoids in plants. 736-778 *In Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments* (T.W. GOODWIN ed.) Academic Press.
- 土佐 誠・鈴木省三・片岡節男. 1972. 花きの育種における花色の新規性に関する研究. 昭和47年度農林省農林水産業特別試験研究補助事業費による研究報告書：1-26.

- TAKAKUWA, H. (1960) Anthocyanins in rose flowers. *Kagaku Kyoiku Kenkyushitsu Ronshu, Toyama Univ.* 19-21.
- YASUDA, H. (1964) Studies on the expression of color tone in rose petals, I. Characteristic structure of the epidermis of petals in velvety dark red roses. *Jour. Fac. Lib. Art. Sci. Shinshu Univ.* No.14 : 31-37.
- YASUDA, H. (1965a) Studies on the expression of color tone in rose petals, II. Changes of the epidermal structure in the velvety dark red petals as flower develops. *Jour. Fac. Lib. Art. Sci. Shinshu Univ.* No. 15 : 15-21.
- YASUDA, H. (1965b) Studies on the expression of color tone in rose petals, III. The role of anthocyanin in the expression of black tone in the petals of velvety dark red roses. *Jour. Fac. Lib. Art. Sci. Shinshu Univ.* No. 15 : 23-30.
- YASUDA, H. (1967) Studies on the expression of color tone in rose petals, IV. Comparison of spectro-reflectance of red rose petal and spectro-transmittance of anthocyanin solutions. *Bot. Mag. Tokyo* 80 : 86-91.
- YASUDA, H. (1970) Studies on "bluing effect" in the petals of red rose, I. Some cytochemical observations on epidermal cells having a bluish tinge. *Bot. Mag. Tokyo* 83 : 233-236.
- YASUDA, H. (1974) Studies on "bluing effect" in the petals of red rose, II. Observation on the development of the tannin body in the upper epidermal cells of bluing petals. *Cytologia* 39 : 107-112.

Studies on the Development of Black Brown Color in Rose Petals.

By Hitoshi YASUDA

Department of Biology, Faculty of Science, Shinshu University

and Makoto AOYAMA

Sanwakagaku Kenkyusho Co., Safety Assesment Laboratory

(Received July 22, 1988)

Abstract

Chemical and cytological investigations on the black brown color of rose petals were conducted using a cultivar Black Tea and some unnamed breeding lines, having the similar tinge in flower color.

1. Cyanidin and pelargonidin were detected as the major anthocyanidins in the petals, using the thin layer chromatography.
2. The ratios of pelargonidin to cyanidin contents in the petals were 1 to 1~10, estimated from the sizes of spots and shades of their colors on the chromatograms.
3. Microscopic observations on the fresh epidermis stripped off from the petals provide the following evidences :
 - (1) Central vacuoles showed an orange tone specific to pelargonidin glycosides.
 - (2) Some blue spherical bodies were recognized in the cells. The treatment with 0.1% hydrochloric acid brought about the color change of the bodies from blue to orange, being followed by oozing out some orange sap from the bodies.
4. The bodies were recognized microscopically as the homologous structures to the tannin body with the paraffin sections of epidermis, which were prepared by fixing in Kaiser's solution and stained with toluidine blue.

These results offered a new explanation that the black brown of petals such as Black Tea was given by the compound of two colors, one being orange of pelargonidin glycoside and the other being blue of the tannin body causing bluing effects in red petals.