

ヤナギタデのアントシアニン生成に及ぼす光および植物生長 調節物質の影響

誌名	園藝學會雜誌
ISSN	00137626
著者	浅平, 端 榘田, 正治
巻/号	46巻2号
掲載ページ	p. 225-232
発行年月	1977年9月

ヤナギタデのアントシアニン生成に及ぼす 光および植物生長調節物質の影響

浅平 端・梶田正治

(京都大学農学部)

Effects of Light and Plant Growth Regulators on Anthocyanin Formation of Seedlings of Waterpepper, *Polygonum hydropiper* L.

Tadashi ASAHIRA and Masaharu MASUDA
College of Agriculture, Kyoto University, Kyoto

Summary

Effect of light and plant growth regulators on anthocyanin formation of seedlings of waterpepper, *Polygonum hydropiper* L. was investigated.

1. The seedlings were irradiated from daylight fluorescent lamps and then incubated at $20 \pm 3^\circ\text{C}$ in the dark for 2 days. The anthocyanin content in the seedlings was remarkably increased by 15-min irradiation. Furthermore, by irradiation over 15-min, the anthocyanin content was gradually increased in proportion to the length of irradiation.

2. Maximum of action spectrum for anthocyanin formation was 660 nm.

3. IAA and GA_3 application after irradiation markedly inhibited anthocyanin formation, but 2,4-D and NAA had no effect.

4. B-9 and CCC application after irradiation promoted anthocyanin formation, but MH had no effect. B-9 application before irradiation did not promote anthocyanin formation.

5. BA application before and after irradiation markedly promoted anthocyanin formation.

6. In the practical culture of seedlings of waterpepper, soaking the seeds in BA solution for 4 days before germination improved pigmentation. Such treatment with BA was effective to promote pigmentation even under adverse conditions such as high temperature or low light intensity.

緒 言

ヤナギタデは、一部の篤農家で栽培される軟弱野菜で、おもに芽生え“めたで”が、さしみのつまとして出荷される。この“めたで”栽培においては、子葉やはい軸の緑化を抑えると同時に紅色を鮮やかに発現させる技術が必要とされる。“めたで”のアントシアニンによる紅色発現は、多くの花きの花色発現にみられるように(13, 17, 19)、温度および光の影響を強く受け、とくに高温あるいは低照度条件下においては著しく抑制される。一般にアントシアニン生成には光が必要とされるが、この光で誘導されたアントシアニン合成は、種々の

植物生長調節物質によって影響されるとする報告が数多くみられる(1, 2, 6, 10, 11, 18, 25)。しかし、外から与えたオーキシン、ジベレリン、エチレンのアントシアニン生成に及ぼす効果は、植物によって異なるし、またこれら物質の処理方法によっても異なる(2, 25)。

本研究は、ヤナギタデ芽生えのアントシアニン生成に及ぼす光および植物生長調節物質の影響について検討し、とくにサイトカイニンの一種である N^6 -ベンジルアデニン (BA) の“めたで”栽培における実用的な効果について試験を行った。

材料および方法

種子の催芽および光の照射

ヤナギタデ種子は、暗黒下の水で湿らせた紙上で

1976年9月9日 受理

本研究の一部は、昭和47年春季園芸学会で発表した。

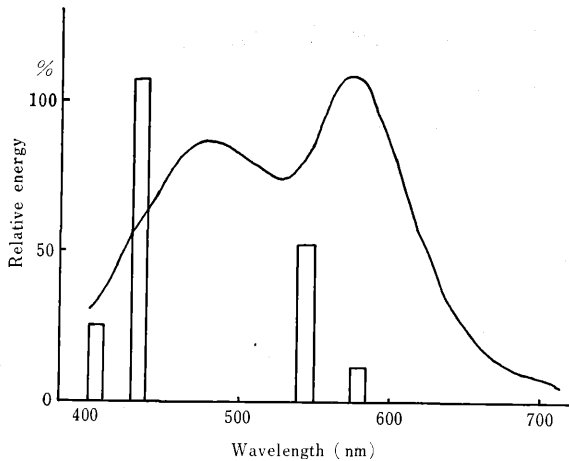


Fig. 1 Relative energy distribution of a daylight fluorescent lamp.

10°C(18時間)–30°C(6時間)の変温処理を4回行って催芽させた。発芽した種子を0.6%寒天上に置床した。吸水した種子は発芽2日前にすでに光感応性をもつので、この操作は緑色光下で行った。寒天に置床後、20±3°C暗黒下で48時間生育させた芽生えに光照射を行い、その後暗黒下で48時間色素の生成をはかった。光源には、ナショナル昼光色蛍光灯を使用した。その分光比エネルギー分布は第1図に示した。光質の影響をみた実験では、京都大学環境制御温室内に設けられた6.5KW-Xeアークランプを光源とした回折格子照射分光器を使用した(12)。その分光エネルギー分布は第2図に示した。また生長調節物質の影響をみた実験では、調節物質を寒天に含ませて生育期間中与える場合と、ろ紙に含ませて催芽期間中のみ与える場合について検討した。一般にこの実験では、発芽種子を照度5,000 luxの蛍光灯で15分間照射したのち、ただちに寒天上に置床し、そののち

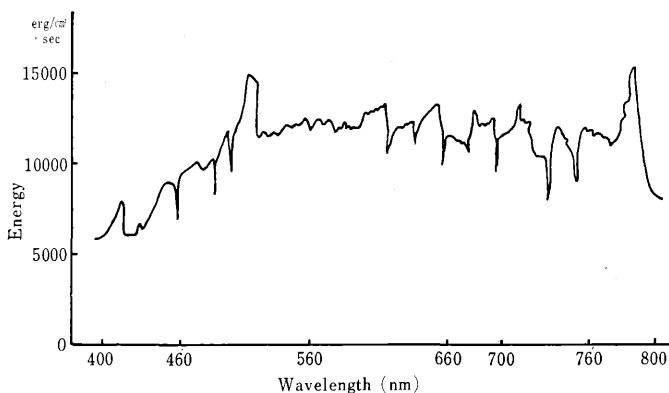


Fig. 2 Distribution of energy irradiated from a diffraction grating monochromator.

96時間20±3°C暗黒下で色素の生成をはかった。

色素の抽出

寒天上に生育した20本の芽生えから、その大きさあるいは色が著しく異なるもの3本を除き17本の実生から色素を抽出した。抽出には、1%メタノール性塩酸を用い、4°Cで1昼夜抽出を行ったのち、芽生えを乳ばちでま碎し、メタノール性塩酸で残った色素を完全に抽出した。抽出液をろ過したのち10 ml定容とし、530 nmでアントシアニンの吸光度を測定した。またBAの着色効果を実際栽培に準じて調べた実験では、アントシアニンの抽出に新鮮重1gの根を除いた芽生え(子葉+はい軸)を供試した。アントシアニンの吸光度は、同時に含まれるクロロフィルによって影響を受けるので、メタノール性塩酸抽出液を30°C減圧下で水層まで濃縮し、これに水を加え遠心分離によってクロロフィルを除去した。一方、クロロフィルの抽出には、80%アセトンを用い、665 nmでその吸光度を測定した。

実験結果

光量および光質の影響

芽生えに光が当たらないと、アントシアニンの生成はまったく起らないが、15分間の蛍光灯照射で著しく色素生成が促進され、さらに照射時間が長くなると、照射時間に比例してほぼ直線的に色素量が高まった。この場合、照度を500 luxから5,000 luxにあげると色素生成量は増加した。また500 lux; 150分間照射が色素生成に及ぼす効果と5,000 lux; 15分間照射が色素生成に及ぼす効果とを比較すると、前者は後者の約50%の色素生成量しかもたなかった(第3図)。

また光質のアントシアニン生成に及ぼす影響についてみると、15分間照射、8時間照射ともほぼ同様な作用スペクトルを示し、660 nmの赤色光が色素生成に最も有効であった(第4図)。なお実験に用いた光源の各波長光エネルギーは、第2図に示したとおり青色部で若干低下していた程度でほぼ均一な分布を示した。

植物生長調節物質の影響

寒天培地に加えたインドール酢酸(IAA)は、色素生成を著しく抑制したが、 α -ナフトレン酢酸(NAA)、2,4-ジクロロフェノキシン酢酸(2,4-D)は、色素生成にほとんど影響を及ぼさなかった。ジベレリン酸(GA₃)も色素生成を抑制し、1 ppm処理で色素量は対照の約50%に減少した。しかし、GA₃はIAA、NAA、2,4-Dとは異なりは

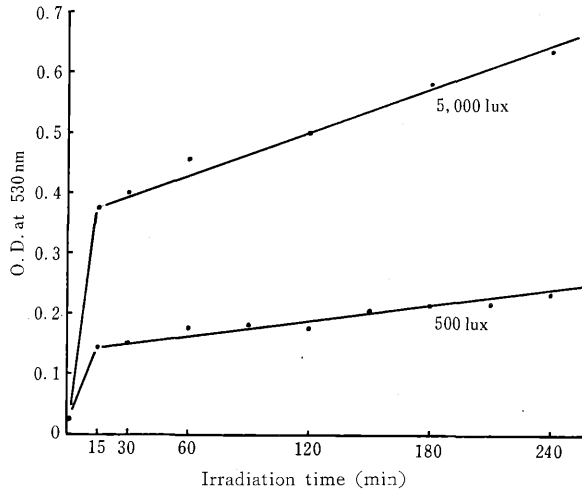


Fig. 3 Effect of light intensity and irradiation time on anthocyanin formation of the seedlings incubated for 2 days in darkness after irradiation.

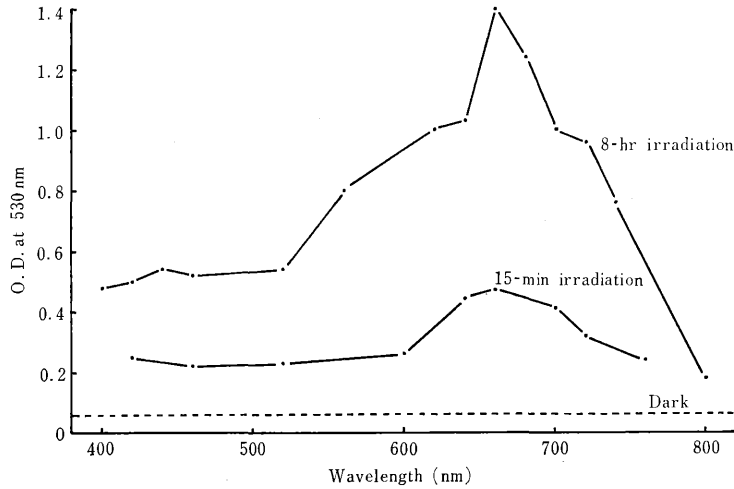


Fig. 4 Action spectra for anthocyanin formation of the seedlings incubated for 2 days in darkness after irradiation.

い軸伸長を促進した(第5図a~c)。このGA₃の色素生成抑制は、同時に添加したN-ジメチルアミノ・サクシナミックアシド(B-9)によって回復したが、2-クロロエチル・トリメチルアンモニウム・クロライド(CCC)ではほとんど回復しなかった(第6図)。B-9およびCCCをそれぞれ単独に与えた場合、色素生成は促進されたが、とくにB-9は100 ppmから1,000 ppmと濃度が高くなるにしたがって著しい色素生成促進効果を示した(第5図d)。B-9、CCCのような生長抑制物質が色素生成を促進したことから、マレイン酸ヒドРАЗド(MH)にも色素生成促進効果が期待されたが、MHはい軸伸長を強く抑制し、色素生成には全く影響を及ぼさなかった(第

5図e)。またサイトカイニンの一種であるBAとカイネチン(KI)の色素生成に及ぼす効果を調べたところ、BAは色素生成を促進したが、KIはほとんど影響を示さなかった。しかし、両物質ともはい軸伸長を著しく抑制した(第5図f)。

以上のように寒天培地に加えた生長調節物質のなかでB-9とBAに著しい色素生成促進効果が認められたので、次にこれらの物質を催芽期間のみ与え、照射後は寒天のみの培地で育てることによって色素生成に及ぼすこれらの物質の催芽処理時の影響について検討した。その結果、B-9は、1,000 ppmおよび5,000 ppmの濃度においても色素生成、はい軸伸長にまったく影響を及ぼさな

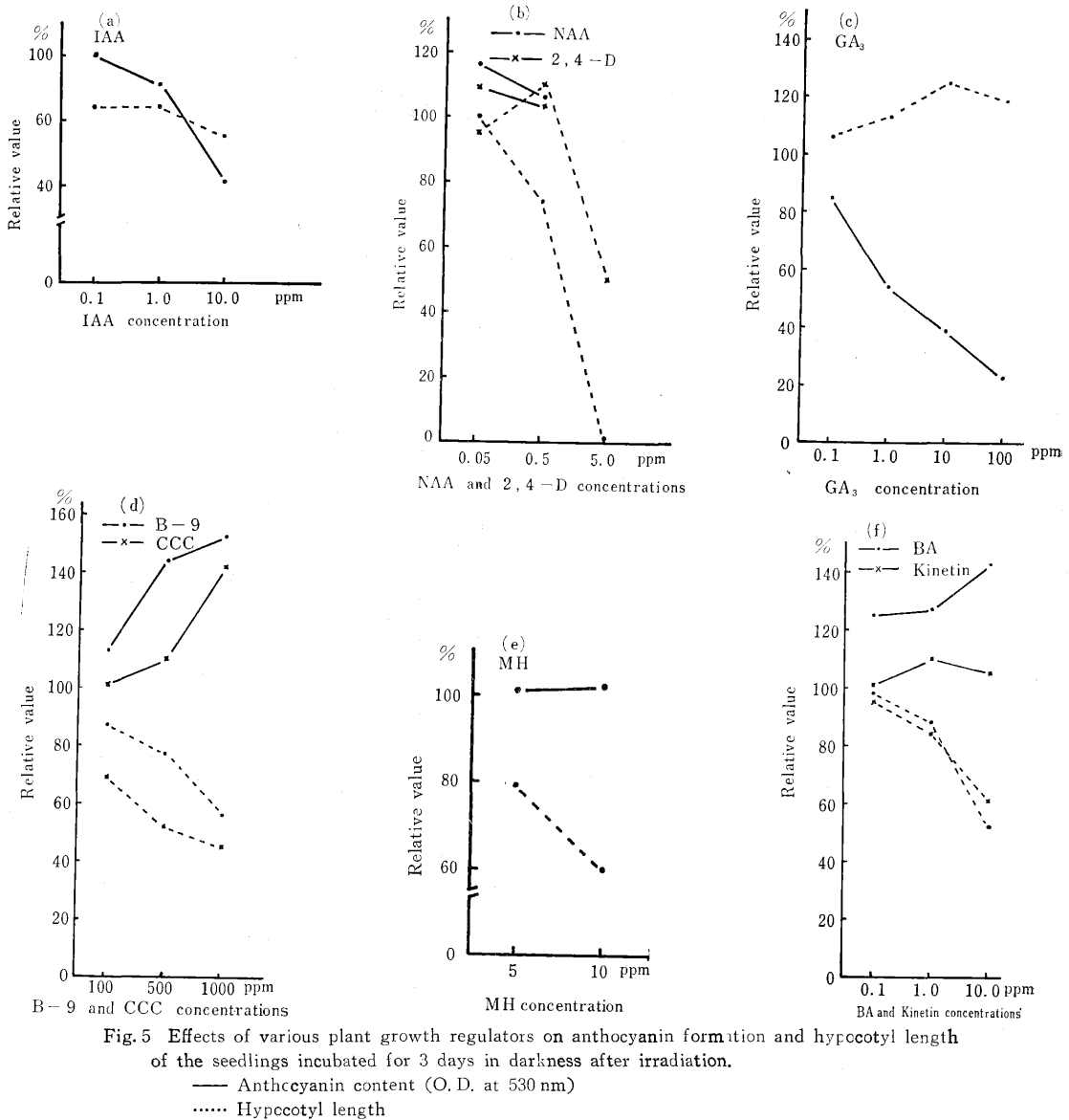


Fig. 5 Effects of various plant growth regulators on anthocyanin formation and hypocotyl length of the seedlings incubated for 3 days in darkness after irradiation.
 — Anthocyanin content (O.D. at 530 nm)
 Hypocotyl length

かった (第7図). 一方, BA (50 ppm) は催芽時に与えた場合, 寒天培地 (10 ppm) に与えた場合よりも色素生成を促進した. なお寒天培地の BA 濃度を 50 ppm まで高めた場合には, はい軸の伸長は完全に阻害された. BA を与えながら催芽した種子に対して寒天培地置床時に光射した場合, 色素量は水のみで催芽したのち光照射した対照区の 60% 増加を示した. また催芽中 BA 処理を行ったのち 72 時間暗黒で寒天のみの培地で生育させた芽生えに光照射した場合には, 色素量は BA 無処理区の約 110% 増加を示した. なお, 催芽中のみ BA 処理を行った場合は, はい軸伸長はほとんど抑制されなかった (第

8 図).

BA の色素生成促進効果は, 実際栽培に準じて行った “めたて” 栽培実験においても認められた. BA の水溶液で湿らせたろ紙上で催芽させた種子を砂にまき, 昼温 25°C~夜温 20°C で 6 日間, あるいは昼温 30°C~夜温 25°C で 5 日間生育させた. また低照度条件下における BA 処理の効果のみをみた実験では, 黒色寒冷しゃの枚数で光量を調節したが, 0, 1, 2 枚区の照度比は, 100:60:30 であった. 栽培温度 25°C~20°C 区では, BA 濃度が 10 ppm から 100 ppm と高くなるにしたがってアントシアニン量は多くなり, 30°C~20°C 区では BA 100 ppm の

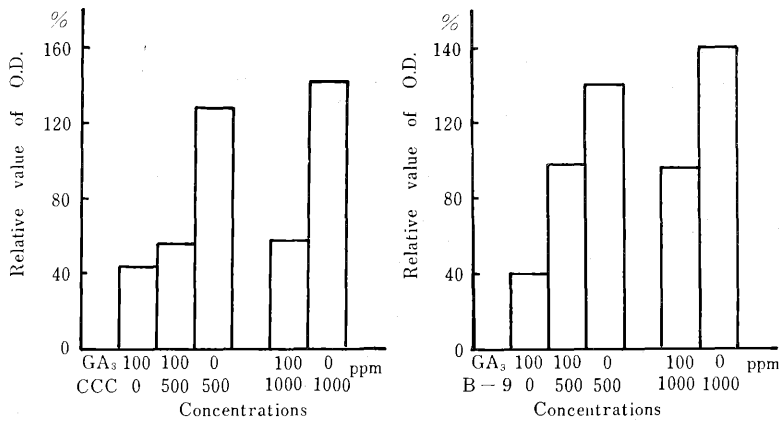


Fig. 6 Interaction between GA₃ and CCC or B-9 in anthocyanin formation of the seedlings incubated for 3 days in darkness after irradiation.

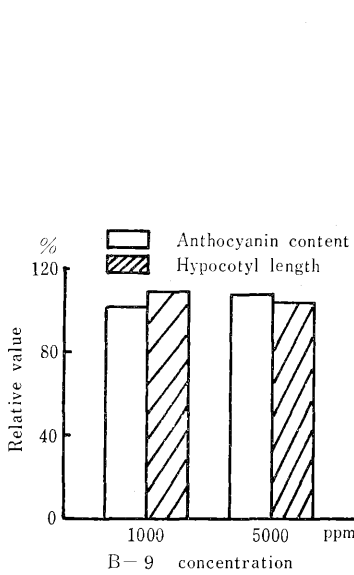


Fig. 7 Effect of B-9 on anthocyanin formation and hypocotyl length of the seedlings.

Seeds were soaked in B-9 aqueous solution for 4 days before germination.

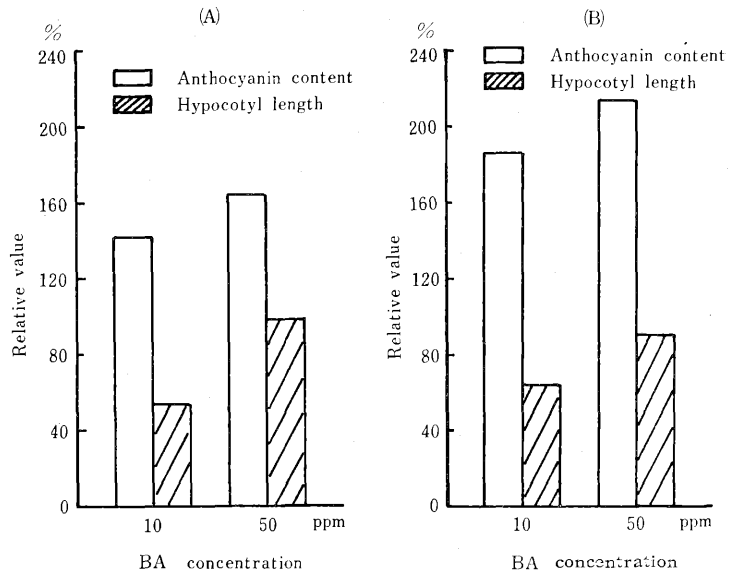


Fig. 8 Effect of BA application time on anthocyanin formation and hypocotyl length of the seedlings incubated for 3 days in darkness after irradiation.

10 ppm BA was applied into agar medium after germination.

50 ppm BA was applied as aqueous solution for 4 days before germination.

Seedlings having been incubated on agar medium for 0 (A) or 3 (B) days were irradiated with fluorescent lamps for 15 minutes.

高濃度処理で効果が認められた (第9図)。両温度区の対照区におけるアントシアニン量を比較すると、25°C~20°C区のO.D.が0.305を示したのに対して30°C~25°C区のO.D.は0.225となり、高温区においてアントシアニン量は低下した。またクロロフィル量は、BA処理によって両区とも低下した。このように種子のBA処理によってアントシアニン量が増大し、クロロフィル量が減少したため、“めたで”は外見上きわめて赤くなった。寒冷して照度を低下させた場合、“めたで”のアントシア

ニン量は低下する傾向にあったが、この場合でもBA処理によってアントシアニン量は増加した(第1表)、すなわち光量を1/3に落してもBA処理した“めたで”のアントシアニン量は、全光量下の水対照区のそれより多かった。またBA処理によって1gあたりの“めたで”の本数は対照区のそれに比べて10本少なくなったが、これはBA処理によってはい軸が大きくなり、子葉の展開が早くかつ大きくなったためである。したがってアントシアニン量も“めたで”1本あたりとして換算すると、重

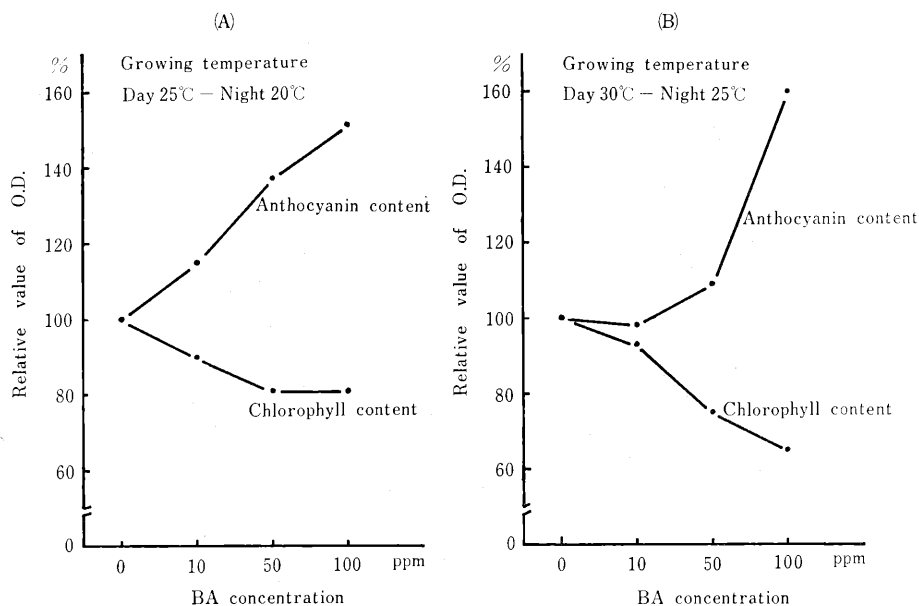


Fig. 9 Effect of BA on anthocyanin and chlorophyll formation of the seedlings. Seeds were soaked in BA aqueous solution for 4 days before germination.

さあたりで比較するよりも対照区との差はさらに大きくなった。

考 察

本実験に供試したヤナギタデのアントシアニンは Hayashi (9) によって cyanidin-3-galactoside であることが明らかにされている。この色素は光が与えられないと全く生成され得ないが、15分間光照射を行うことによってかなりの量生成される(第3図)。それ以上の時間照射を行うと、照射時間に比例して色素量はほぼ直線的に増加したが、その増加率は最初の15分間照射にくらべて著しく低かった。このことは、芽生えの色素生成量は必ずしも照射された光エネルギーの総和で定まるものではないことを示している。つまり、15分間照射の光が色素合成系に関与する仕方と15分以上光照射した場合の15分以後の光の関与の仕方が異なることを示唆するものである。15分間の光照射でかなりの量の色素が生成されたが、この色素の生成には、さらに短時間の光照

射で充分なのかも知れない。15分間の光射において強い光が色素生成により有効であったのは、光の種皮透過度が関係しているためと考えられる。ヤナギタデ種子は硬実種子類に属し、光照射を行った段階では種皮は硬く子葉をつつんでいたからである。したがってさらに強い光を照射すれば、色素量はその強さにもなって増大するものと考えられる。

Downs ら(3) は、モロコシの芽生えに2分間光照射-18分間暗期のサイクルを4時間にわたって処理し、24時間後に色素量を測定したところ、それ以外のどのような明暗サイクルよりも色素量が増大したことを報告している。このように短時間の光照射がアントシアニン生成を促進する例は数多い。しかしながらその作用スペクトルの最大値は植物によって異なり、紫キャベツの芽生えで690 nm(23)、赤カブの芽生えで725 nm(23)、モロコシでは470 nm(3)、リンゴの果皮では650 nm(24)、白ガラスの芽生えで710 nm(15)が得られている。本実験に

Table 1. Effects of light intensity and BA application on anthocyanin formation of the seedlings.

Relative light intensity to natural light (%)	BA treatment			Water control		
	Anthocyanin content (A) O. D. at 530 nm	No. of seedlings (B) per g of fresh weight	A/B × 100	Anthocyanin content (A) O. D. at 530 nm	No. of seedlings (B) per g of fresh weight	A/B × 100
100	0.80	77	1.04	0.50	85	0.59
60	0.65	76	0.86	0.50	90	0.56
30	0.55	76	0.72	0.42	90	0.47

Light intensity was reduced by covering seedlings with cheesecloths.

Seeds were soaked in 100 ppm BA aqueous solution for 4 days before germination.

供試したヤナギタデのアントシアニン生成には 660 nm に光の作用スペクトルの最大値が認められた (第 4 図). 光を媒介とするアントシアニン生成は, おもに phytochrome を光受容体とする色素系によって誘導されるが (5, 7, 10, 16), 長時間照射による近赤外光の有効性に対して多くの論議がなされてきている (5, 7, 8, 15, 16, 21).

ヤナギタデのアントシアニン生成についても, 光の作用スペクトルの最大値が 660 nm であるところから, おそらく主として phytochrome によって誘導されるものと思われる.

光で誘導されたアントシアニン生成は, オーキシシン, ジベレリン, エチレン, サイトカイニンなどの生長調節物質によって影響される (1, 2, 6, 10, 18, 25).

本実験において寒天培地に加えた生長調節物質は, 光照射時には生体内に吸収されていないから, これら物質のアントシアニン生成に及ぼす効果は, 光受容体の量あるいはその能力に関係するものではなく, 光受容体が光エネルギーをアントシアニン合成系に受け渡す過程以降に関係しているものと解釈できる. ヤナギタデと同じ cyanidine-3-galactoside であるリンゴの果皮のアントシアニン生成には, おもに pentose-phosphate 系 (PP 系) が関与しているとされる (14). また最近, Servettaz ら (22) は, ヒマワリの子葉におけるアントシアニン生成が BA によって促進されることを報告し, これは, BA が phenylalanine-ammonialyase (PAL) 活性を高めるためだとしている. ヤナギタデのアントシアニン生成に対する BA の作用も, 上述の PP 系あるいは PAL 活性を高めることによって色素生成を促進しているのかも知れない.

IAA や GA_3 のような植物に普遍的に存在する生長促進物質がアントシアニン生成を著しく抑制し, B-9 や CCC のような合成の生長抑制物質がアントシアニン生成を促進したが (第 5 図 a, c, d), これらの作用も生長を制御することによって間接的に発現したのではなく, もっと直接的に, たとえば前駆物質の代謝的競合に関与しているように思われる. なぜなら, IAA は, アントシアニン生成を抑制しかつはい軸伸長も抑制するし, NAA, 2,4-D, MH はアントシアニン生成にほとんど影響を及ぼさないが, はい軸伸長を著しく抑制したからである (第 5 図. b, e). このように生長を抑制することが, 必ずしもアントシアニン生成を促進する結果にはならない.

寒天培地に加えた B-9 および BA は, はい軸伸長を抑制し, アントシアニン生成を促進した. 催芽期間中に与

えた場合も BA はアントシアニン生成を著しく促進したが, B-9 は全く影響を及ぼさなかった (第 7 図, 第 8 図). B-9 がリンゴやオウトウの果皮のアントシアニン量を高めることが報告されているが (4, 20), これらは散布処理によるものである. 本実験でみられたように, 光処理の催芽中のみ B-9 を処理した場合に, B-9 の影響が現われなかったのは, アントシアニン生成の光誘導がまだ行われていない段階で処理したことによるのかも知れない. この意味では, BA と B-9 のアントシアニン生成に及ぼす作用機構は異なるものと思われる. BA のアントシアニン生成促進効果は, 実際の栽培に準じて行った実験でも認められた (第 9 図, 第 1 表). アントシアニン生成が, 一般に低温で促進されることより, 実際の“めたで”栽培においても温度を低くかつ照度を高く保って栽培することが必要であるが, これらの条件が充分得られない場合, 種子の BA 処理は“めたで”の紅色発現のための補助的手段となりうる. しかし農業としての使用の可否については今後充分検討されねばならない.

摘 要

ヤナギタデ芽生えのアントシアニン生成に及ぼす光および植物生長調節物質の影響を調べた.

1. 芽生えを蛍光灯 (500 lux あるいは 5,000 lux) で 15 分間照射したのち 48 時間暗黒で色素生成を行なわせたところ, かなりの量の色素が生成された. 光照射時間をそれ以上長くすると照射時間に比例してほぼ直線的にアントシアニン量は増加したが, 色素生成に及ぼす光照射の効果は最初の 15 分間が最も高かった.

2. アントシアニン生成に及ぼす光の最大有効波長は 660 nm であった.

3. 光照射後に与えた IAA, GA_3 はアントシアニン生成を著しく抑制したが, NAA, 2,4-D は, ほとんど影響を及ぼさなかった.

4. 光照射後に与えた B-9, CCC は, アントシアニン生成を著しく促進したが, MH は全く影響を及ぼさなかった.

5. 光照射前に与えた B-9 は, アントシアニン生成を全く促進しなかった.

6. BA は, 光照射前に与えても光照射後に与えても, アントシアニン生成を著しく促進した.

7. 実際栽培に準じて行った実験においても, 種子を BA で処理することによって, 芽生えのアントシアニン量は著しく高まった. この効果は, アントシアニン生成に不利な高温あるいは低照度の栽培条件においても認められた.

引用文献

1. ARNOLD, A. W. and L. S. ALBERT. 1964. Chemical factors affecting anthocyanin formation and morphogenesis in cultured hypocotyl segments of *Impatiens balsamina*. *Plant Physiol.* 39 : 307-312.
2. CRAKER, L. E., L. A. STANDLY. and M. J. STARBUCK. 1971. Ethylene control of anthocyanin synthesis in sorghum. *Ibid.* 48 : 349-352.
3. DOWNS, R. J. and H. W. SIEGELMAN. 1963. Photocontrol of anthocyanin synthesis in milo seedlings. *Ibid.* 38 : 25-30.
4. EDGERTON, L. J. and M. B. HOFFMAN. 1966. Inhibition of fruit drop and color stimulation with N-dimethylaminosuccinamic acid. *Nature.* 209 : 314-315.
5. 古谷雅樹. 1963. 光と植物の形態形成. *科学.* 33 : 473-480.
6. FURUYA, M. and K. V. THIMMAN. 1964. The biogenesis of anthocyanins. XI. Effects of gibberellic acid in two species of *Spirodela*. *Arch. Biochem. Biophys.* 108 : 109-116.
7. GRILL, R. and D. VINCE. 1965. Photocontrol of anthocyanin formation in turnip seedlings. II. The possible role of phytochrome in the response to prolonged irradiation with far-red or blue light. *Planta.* 67 : 122-135.
8. ————. ————. 1966. ————. III. The photoreceptors involved in the responses to prolonged irradiation. *Ibid.* 70 : 1-12.
9. HAYASHI, K. 1959. Anthocyanin of the seedlings of a *Polygonum*. *Bot. Mag. Tokyo.* 73 : 231-233.
10. KANG, B. G. and P. B. STANLEY. 1973. Role of ethylene in phytochrome-induced anthocyanin synthesis. *Planta.* 110 : 227-235.
11. KLEIN, A. O. and C. W. HAGEN, JR. 1961. Anthocyanin production in detached petals of *Impatiens balsamina* L. *Plant Physiol.* 36 : 1-9.
12. 小西通夫. 1970. 回折格子照射分光器とその使用について. *植物生理.* 8 : 131-136.
13. MAROUSKY, F. J. 1967. Effect of temperature on anthocyanin content and colour of poinsettia bracts. *Pro. Amer. Soc. Hort. Sci.* 92 : 678-684.
14. MILKOS, F. 1965. Physiology of anthocyanin development of McIntosh apples. I. Participation of pentose phosphate pathway in anthocyanin development. *Ibid.* 87 : 1-9.
15. MORE, H. 1957. Der Einfluß Monochromatischer Strahlung auf das Längenwachstum des Hypocotyls und auf die Anthocyaninbildung bei Keimlingen von *Sinapis alba* L. *Planta.* 49 : 385-405.
16. ————. 1962. Primary effects of light on growth. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 13 : 465-488.
17. RATSEK, J. C. 1944. The effect of temperature on bloom color of roses. *Pro. Amer. Soc. Hort. Sci.* 44 : 549-551.
18. RUSSEL, D. W. and A. W. GALSTON. 1969. Blockage by gibberellic acid of phytochrome effects on growth, auxin responses, and flavonoid synthesis in etiolated pea internodes. *Plant Physiol.* 44 : 1211-1216.
19. RUTRAND, R. B. 1968. The effect of temperature on the concentration of anthocyanin in pink flowers of *Chrysanthemum morifolium* Ram. cv. 'Orchid Queen'. *Pro. Amer. Soc. Hort. Sci.* 93 : 576-582.
20. RYUGO, K. 1966. Persistence and mobility of Alar (B-9) and its effect on anthocyanin metabolism in sweet cherries, *Prunus avium*. *Ibid.* 88 : 160-166.
21. SCHNEIDER, M. J. and W. R. STIMSON. 1971. Contributions of photosynthesis and phytochrome to the formation of anthocyanin in turnip seedlings. *Plant Physiol.* 48 : 312-315.
22. SERVETTAZ, O., D. CASTELLI. and C. P. LONGO. 1975. The effect of benzyladenine on anthocyanin accumulation in excised sunflower cotyledons. *Plant Sci. Lett.* 4 : 316-368.
23. SIEGELMAN, H. W. and S. B. HENDRICKS. 1957. Photocontrol of anthocyanin formation in turnip and red cabbage seedlings. *Plant Physiol.* 32 : 393-398.
24. ————. ————. 1958. Photocontrol of anthocyanin synthesis in apple skin. *Ibid.* 33 : 185-190.
25. VINCE, D. 1968. Growth of anthocyanin synthesis in excised sorghum internode. I. Effect of growth regulating substances. *Planta.* 82 : 261-279.