

シアニック系シクラメン品種の花色および花色素

誌名	香川大学農学部学術報告
ISSN	03685128
著者名	高村,武二郎 杉村,隆之
発行元	香川大学農学部
巻/号	60巻
巻号補足	
掲載ページ	p. 39-45
発行年月	2008年2月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



シアニック系シクラメン品種の花色および花色素

高村武二郎・杉村隆之

FLOWER COLOR AND PIGMENTS IN CYANIC CYCLAMEN (*CYCLAMEN PERSICUM* MILL.) CULTIVARS

Takejiro TAKAMURA and Takayuki SUGIMURA

Abstract

The cyanic cyclamen cultivars (*Cyclamen persicum* Mill.) contained peonidin 3-glucoside, peonidin 3-neoheperidoside, peonidin 3,5-diglucoside, malvidin 3-glucoside, or malvidin 3,5-diglucoside in the petal slips as the main anthocyanin. The main anthocyanin in the red petals was peonidin 3-neoheperidoside or peonidin 3-glucoside, whereas that in the purple petals was malvidin 3,5-diglucoside. No pelargonidin glycoside was detected from any petals of cyanic cyclamen cultivars. The petals of some cultivars contained relatively large amount of flavonols to that of anthocyanins. The petals of such cultivars were bluer tone than those of other cultivars with the same main anthocyanins in the petals, suggesting that co-pigmentation effects were appeared.

Key words: cyclamen, flower color, pigment, anthocyanin, co-pigmentation effect.

緒 言

シクラメン (*Cyclamen persicum* Mill.) は、最も重要な鉢花の一つである。花きは観賞を主目的として生産されるため、視覚的な形質、特に花色の多様化は最も重要な育種目標とされている。カーネーション、ペチュニア、またはキンギョソウなどでは花色育種が非常に盛んであり、園芸品種の花色も多様で、花色を最も左右する花色素、特にアントシアニンを含むフラボノイド系色素の生合成経路およびそれに関する遺伝様式もかなり明らかにされている^(1, 2, 3)。

花色の重要性はシクラメンにおいても例外ではなく、これまでに花色の多様化を目的とした育種、すなわち花色育種が行われてきたが、その変異は赤、白、紫およびこれらの中間色に限られていた。近年になって、黄色花のシクラメンが作出されたが、未だその花色の多様化は十分なものではなく、さらなる花色変異の拡大が望まれている。

赤、紫、桃色花の園芸植物では主としてフラボノイド系色素のアントシアニンまたはカロテノイド系色素やバタレイ系色素が主要色素となっている場合が多い。シクラメンの赤、紫、桃色花品種はいずれにおいてもアン

トシアニンを主要色素とするシアニック系であると報告されている^(4, 5)。しかしながら、シクラメンの花色および花色素に関する報告は少なく^(4, 5, 6, 7, 8)、花色と花色素の関係に関する知見は乏しい。そこで本研究では、シクラメンのシアニック系品種の花色および花色素を調査した。

材料および方法

1. 花色の調査および花卉の調整

シクラメンのシアニック系15品種・系統の開花当日の花弁を採取し、測色色差計 (NR-3000, 日本電色工業) で花色を調査した後、花弁のスリップ部分の中央部を直径4 mmのコルクボーラーで切り抜き、得られたディスクを-20℃で冷凍保存、または乾燥後に常温で保存して、適宜分析に用いた。なお、全ての分析には花弁のスリップ (slip) のみを用いた。

2. 花色素の吸光度の測定

花弁のディスク6枚を5%ギ酸酸性メタノール2 mLで抽出した後、5%ギ酸酸性メタノールで10 mLに定容し、360 nmおよび530 nmの吸光度を分光光度計 (MSP-5000, 島津製作所) により計測した。

3. ペーパークロマトグラフィーによる予備分析

花卉から5%ギ酸酸性メタノールで色素類を抽出し、得られた粗抽出液を減圧濃縮して、ろ紙(Whatman No. 1, 42×42 cm)に線着し、ブタノール:酢酸:水(4:1:5, 上層, v/v)または15%酢酸で展開した。ろ紙を乾燥後、アンモニア, 10%塩酸(HCl)または5%塩化アルミニウム($AlCl_3$)を含むエタノール溶液を用いて呈色反応を試み、色素の構成を推測した。なお、塩酸処理では、処理の途中で硫酸マグネシウム($MgSO_4$)を加えて呈色反応の変化も観察した。

4. アントシアニン分析

まず、花卉ディスクから5%ギ酸酸性メタノールで抽出した色素類をメンブランフィルターでろ過した後、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)でアントシアニンの構成を調査した。HPLCシステムにはSCL-10Aシステムコントローラー(島津製作所), 2台のLC-10ATポンプ(島津製作所), CTO-10Aカラムオープン(島津製作所)で40℃に維持したコスモシル5C₁₈ARカラム(ナカライテスク)およびSPD-10AV検出器(島津製作所)を用いた。検出波長は530 nmとし、溶媒Aを4%リン酸, 溶媒Bをアセトニトリルとした混合溶液(92.5:7.5, v/v)を用い、溶媒Bの濃度を40分後に20%に変化させる曲線濃度勾配溶出法(SCL-10Aシステムコントローラーのcurve 3に設定)を適用した。

また、花卉ディスクから抽出したアントシアニンを、ペーパークロマトグラフィーを用いて単離した。展開溶媒には、水:酢酸:塩酸(82:15:3, v/v, HAc-HCl)およびイソブタノール:酢酸:水(8:2:3, v/v)を用いた。単離したアントシアニン類は5%ギ酸酸性メタノールで溶出した。単離した各色素の抽出液を減圧乾固後、2 mLの2.0 M塩酸で溶出し、95℃で5, 10, 15, 30 および60分間の部分加水分解または90分間の加水分解を行った。得られた酸加水分解物はメンブランフィルターでろ過し、Sep-Pak C₁₈カートリッジ(Waters)に吸着さ

せた。カートリッジに吸着された色素類のうち、可溶親水性物質を除去するため超純水で洗浄した後、5%ギ酸酸性メタノールで溶出し、得られた抽出液中の色素類を調査した。

単離されたアントシアニン類および部分加水分解で得られた色素類は、いくつかのアントシアニン標品とともに前述の条件でHPLC分析するとともに、HAc-HClを用いて、薄層クロマトグラフィー(TLC)分析を行った。

90分の加水分解で得られた色素類については、アントシアニン分析と同様のHPLCシステムを用い、溶媒Aを4%リン酸, 溶媒Bをアセトニトリルとした混合溶液(83:17, v/v)を用いて、アントシアニン標品と保持時間を比較した。なお、検出波長および溶媒の流速はアントシアニン分析と同様とした。また、結合糖の種類を調査するため、Sep-Pak C₁₈カートリッジ処理で得られた洗浄液を減圧濃縮後、展開溶媒として酢酸エチル:ピリジン:酢酸:水(5:5:1:2, v/v, EPAW)を用いて、標品の糖と共にTLC分析を行った。なお、展開後のスポット確認のために発色剤として、アニリン-リン酸溶液を用いた⁽⁹⁾。

5. ロイコアントシアニジンの推定

花卉ディスクより温メタノール(50℃)または5%ギ酸酸性メタノールで色素類を抽出した。なお、前者の溶媒ではアントシアニンが十分に分解するまで50℃に保ったまま維持した。得られた抽出液を酸加水分解後、前述した条件で酸加水分解液中のアントシアニジンを分析し、花卉に含まれるロイコアントシアニジンの推定を行った。

結果および考察

1. シアニック系品種の花色素

ペーパークロマトグラフィーで得られたスポットの典型的な呈色反応を第1表に示した。いずれのシアニック

Table 1. Typical color properties of pigments extracted from the petals of cyanic cyclamen and separated by paper chromatography.

Typical spot type no.	None		NH ₃		AlCl ₃		HCl	
	VIS.	UV.	VIS.	UV.	VIS.	UV.	VIS.	VIS. (+Mg)
1	Red or Purple	F. red or F. purple	D. blue	Purple	Red or Purple	F. purple	Red or R. purple	P. red or P. purple
2	-	-	Yellow	B. yellow	P. yellow	F. P. yellow	-	-
3	-	-	-	-	-	-	Y. pink	Red or R. purple
4	-	-	-	-	-	-	-	P. R. orange

B, bright; D, dull; F, fluorescent; P, pale; R, reddish; Y, yellowish.

系品種においても、展開溶液の種類を問わず、花色に応じて赤～紫のスポットが認められ、これらはアンモニア処理で暗青色に変化するアントシアニン特有の反応を示した。それとは別に、アンモニア処理で可視下とUV下いずれでも黄色を、 $AlCl_3$ 処理において可視下で黄色、UV下で蛍光黄色を呈するフラボノール特有の反応を示すスポットが観察されたのに加え、温HCl処理では新たに黄色味があったピンクのスポットが認められ、これはマグネシウムを加えることにより鮮明になるロイコアントシアニン特有の反応を示した。なお、その他に、温HCl処理でマグネシウムを加えることにより初めて確認できるスポットが認められた。以上の結果、シクラメンのシアニック系品種にはアントシアニンの他に、フラボノールおよびロイコアントシアニンが花弁中に含まれていると推測される。

2. シアニック系品種の花弁に含まれるアントシアニン

シアニック系品種のアントシアニンを分析した結果、主として6種類のアントシアニンが認められた(第1図)。この中でAn1～5の色素は、シアニック系シクラメンの主要花色素であり、An6は主要花色素ではないものの、その割合が全アントシアニン量に対して比較的高い品種が認められた。

第1図に示したAn1～6の色素を単離、90分間酸加水分解して色素のアグリコンと結合糖を分析したところ、

An1とAn3のアグリコンのHPLC保持時間は標品のマルビジン(Mv)と、An2、An4およびAn5のアグリコンの保持時間はペオニジン(Pn)と、An6のアグリコンの保持時間はシアニジン(Cy)とそれぞれ一致した(第2表)。また、An1、An2、An3、An5およびAn6では結合糖が1

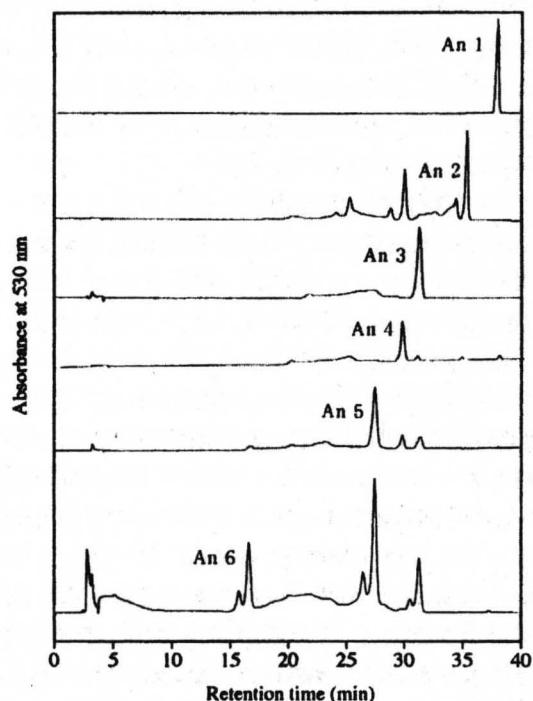


Fig.1. HPLC profiles of six major anthocyanins extracted from the petals of cyanic cyclamen.

Table 2. Anthocyanidin and sugar moiety obtained by complete acid hydrolysis of six major anthocyanins isolated from the petals of cyanic cyclamen.

Anthocyanin before hydrolysis	Standard anthocyanidin	Retention time of aglycone (min) ^z	Standard sugar	Rf value in EPAW ^y	Color of spot ^x
An1		16.6		0.48	brown
An2		15.2		0.48	brown
An3		16.6		0.48	brown
An4		15.2		0.48, 0.77	brown, dark-green
An5		15.2		0.48	brown
An6		7.9		0.48	brown
	Pelargonidin	12.8			
	Cyanidin	7.9			
	Peonidin	15.2			
	Delphinidin	5.5			
	Petunidin	8.7			
	Malvidin	16.6			
			Arabinose	0.59	brown
			Galactose	0.37	dark-brown
			Glucose	0.48	brown
			Rhamnose	0.77	dark-green
			Xylose	0.65	dark-brown

^z Retention time in HPLC.

^y TLC by using ethyl acetate-pyridine-acetic acid-water (5:5:1:2, v/v).

^x Reaction with aniline-phosphoric acid.

種類認められ、Rf値は0.48でアニリン-リン酸溶液により茶色を呈し、これらの反応は、標品のグルコースと一致した。また、An4では結合糖が2種類認められた。結合糖の1つのRf値は0.48でアニリン-リン酸溶液による呈色反応により茶色を呈し、標品のグルコースと一致し、残りの結合糖のRf値は0.77で呈色反応によりスポットが深緑色となり、標品のラムノースと一致した。これらのことから、An1, An2, An3, An5およびAn6の結合糖はグルコース、An4の結合糖はグルコースとラムノースであることが明らかとなった。

An1~6の部分加水分解物から検出された色素、ならびにAn1~6のHPLCおよびTLC分析の結果を第3表に示す。アグリコンがマルビジン、糖がグルコースであったAn1およびアグリコンがペオニジン、糖がグルコースであったAn2の部分加水分解物ではそれぞれのアントシアニンとそのアグリコンのみが検出された。また、An1はHPLCの保持時間およびTLCのRf値がともにブドウから単離したマルビジン3グルコシド (Mv3G) 標品と、An2の保持時間とRf値はともにブドウから単離した標品のペオニジン3グルコシド (Pn3G) と一致したことから、An1はMv3G, An2はPn3Gであると考えられた。

アグリコンがMv, 結合糖がグルコースであったAn3の部分加水分解物ではAn3以外にMv3G, Mv, ならびに1つの未同定のアントシアニンが検出された。さらに、An3はブドウから単離したマルビジン3, 5ジグルコシド (Mv3,5dG) 標品とHPLC保持時間, TLCのRf値がともに一致したことからAn3はMv3,5dGであると考えられた。

An4は赤色花品種‘ボンファイア’, ‘ラルゴ’および‘ピッコロ (赤色花)’ 共通の主要アントシアニンであり、‘ボンファイア’の主要アントシアニンはペオニジン3ネオ

ヘスペリドシド (Pn3Nh) であると同定されている⁽⁸⁾。An4のアグリコンはPn, 結合糖はグルコースとラムノースであり、An4の部分加水分解物ではAn4以外にPnとPn3Gとが検出された。これらの結果は、An4はペオニジン3ラムノグルコシドの1種であることを示しており、An4はPn3Nhであると示唆された。

アグリコンがPn, 結合糖がグルコースであったAn5の部分加水分解物ではAn5以外にPn, Pn3Gならびに1つの未同定のアントシアニンが検出された。さらに、An5のHPLC保持時間とTLCのRf値はボタンから単離したペオニジン3, 5ジグルコシド (Pn3,5dG) 標品と一致したことから、An5はPn3,5dGであると考えられた。

アグリコンがCy, 糖がグルコースであったAn6の部分加水分解物ではAn6以外にCy, シアニジン3グルコシドならびに1つの未同定のアントシアニンが検出された。さらに、An6は標品のシアニジン3, 5ジグルコシド (Cy3,5dG) とHPLC保持時間, TLCのRf値が一致したことから、An6はCy3,5dGであると考えられた。

3. シアニック系品種のロイコアントシアニン

温メタノールで抽出し、色素類を加水分解した液中にデルフィニジンまたはシアニジンが検出された (第2図)。抽出液中にはアントシアニンはほとんど含まれておらず (データ未掲載)、これらはロイコアントシアニジンの加水分解によるものと考えられた。なお、温メタノール抽出液の加水分解物からデルフィニジンのみまたはデルフィニジンとシアニジンが検出された品種・系統とほとんどアントシアニジンが検出されなかった品種・系統とが存在したことから (データ未掲載)、シアニック系品種にはロイコアントシアニンを花弁に含む品種と

Table 3. HPLC and TLC analysis of An1-6 anthocyanins and their hydrolyates in controlled hydrolysis.

Anthocyanin	Retention time in HPLC (min)	Rf value in TLC with HAc-HCl	Anthocyanins and anthocyanidins detected in controlled hydrolysis
An1	38.3	0.26	An1, Mv
An2	35.2	0.31	An2, Pn
An3	32.1	0.47	An3, Mv, Mv3G, UK-An1 ^z
An4	31.4	0.87	An4, Pn, Pn3G
An5	27.5	0.50	An5, Mv, Mv3G, UK-An2 ^v
An6	16.9	0.56	An6, Cy, Cy3G, UK-An3 ^x
<i>Standards</i>			
Cy3G	25.4	0.26	
Cy3,5dG	16.9	0.56	
Pn3G	35.2	0.31	
Pn3,5dG	27.5	0.50	
Mv3G	38.3	0.26	
Mv3,5dG	32.1	0.47	

Cy, cyanidin; Pn, peonidin; Mv, malvidin; G, glucoside, dG, diglucoside.

^{z, v, x} Anthocyanins without identification.

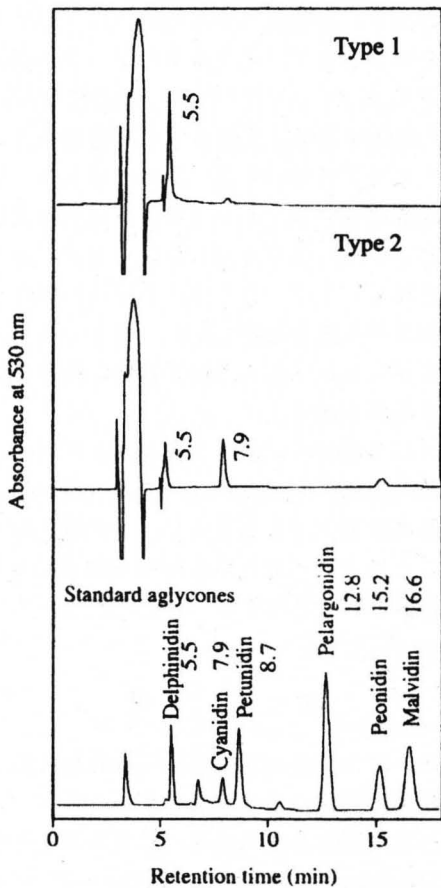


Fig.2. Two typical HPLC profiles of anthocyanidins found in the hydrolysates of pigments eluted with hot (50°C) ethanol from the petals of cyanic cyclamen.

ほとんど含まない品種が存在することが示唆された。

4. シアニック系シクラメン品種の花色と花色素

シアニック系品種の花弁中の主要アントシアニンは、 a^* 値が高く h （色相角度）値も13.6~21.9の赤色花系品種ではPn3GやPn3Nhなど全てPn配糖体であったが、 b^* 値が低く h 値が335.2~336.4の紫色系品種ではMv3,5dGであった。したがって、Pn配糖体を主要花色素とする花は赤色味が強く、Mv配糖体を主要色素とする花では紫が強く発現するものと推測された（第4表）。なお、主要アントシアニン以外に花弁に比較的少量のアントシアニンを有する品種も存在し、いくつかの品種では、極微量ながらデルフィニジンまたはペチュニジン配糖体も検出されたが、ペラルゴニジン配糖体を有する個体は全く認められなかった（データ未掲載）。

一方、主要アントシアニンが同様の品種でも、花弁から抽出した色素類の530 nmでの吸光度に対する360 nmでの吸光度の比が比較的高い値を示す個体で花弁の青みが強くなる傾向が認められた。この530 nmでの吸光度はアントシアニン、360 nmでの吸光度は主にフラボノールによるものと考えられる。花弁にアントシアニンを有する植物では、フラボンやフラボノール等が影響して花色の青色化に寄与する、いわゆるコピグメント作用を生じることがあり⁽¹⁰⁾、バラやボタンではアントシアニンに対するフラボノールの量比が高くなると青みが強くなると報告されているが^(11, 12)、シクラメンでもアントシアニンに対するフラボノールの量比が高くなると、コピグメント作用が生じ、花弁の青みが強くなるものと示唆

Table 4. Coloration in the petal slips of cyanic cyclamen cultivars.

Cultivar or strain	Value in color difference				Absorbance (g ⁻¹ FW) 360 nm / 530 nm	Anthocyanins ^z	
	h	L^*	a^*	b^*		Main	Others
'Bonfire'	21.9	43.2	65.6	26.4	0.7	Pn3Nh	
'Largo'	19.8	42.4	69.2	23.6	0.7	Pn3Nh	UK-An
'Strauss'	19.3	39.2	65.0	22.7	0.4	Pn3G	Pn3Nh
'Piccolo' (red-flowered)	13.6	37.8	68.8	16.7	0.4	Pn3Nh	
Argentine (pink-flowered)	2.7	52.1	59.4	2.8	10.9	Pn3Nh	Mv3G
'F ₁ Bright Red'	359.8	48.2	70.3	-0.2	1.7	Pn3,5dG	
Kage Pink	358.1	75.1	24.5	-0.8	40.5	Pn3Nh	Mv3G
550	356.5	35.5	84.2	-5.2	2.1	Mv3,5dG	Cy3,5dG
F ₁ (Kage Pink × 'Lilac')	352.5	76.5	25.0	-3.3	59.1	Pn3Nh	Mv3G
Kage 523p	350.8	54.4	62.4	-10.1	3.2	Pn3,5dG	Mv3,5dG
'Lilac'	349.2	46.1	62.7	-12.0	12.3	Mv3G	
'F ₁ Red Purple'	348.8	42.9	78.3	-15.5	3.0	Mv3,5dG	Pn3,5dG
'Wase Murasaki'	347.0	38.7	74.0	-17.1	2.0	Mv3,5dG	
'F ₁ Charm'	336.4	72.3	32.4	-15.0	65.8	Mv3,5dG	
'F ₁ Early Lilac'	335.2	53.2	60.5	-26.5	33.7	Mv3,5dG	

^z Pn 3G, Peonidin 3-glucoside; Pn3Nh, Peonidin 3-neohesperidoside; Pn3,5dG, Peonidin 3,5-diglucoside; Mv3G, Malvidin 3-glucoside; Mv3,5dG, Malvidin 3,5-diglucoside; Cy3,5dG, Cyanidin 3,5-diglucoside; UK-An, Anthocyanin without identification.

される。このようにシクラメンにおいても、花卉中のアントシアニン量に対するフラボノール量の割合が高くなると青みが増すことが明らかとなり、この現象を利用したアントシアニンに対するフラボノール量比を高くする方向への育種は、青みが強い花のシクラメン作出の一つの方法であると考えられる。また、宮島ら(1990)は、シクラメン有色花では主要アントシアニンの結合糖の数が多いほど青みが増し⁽⁵⁾、アザレア⁽¹³⁾やフリージア⁽¹⁴⁾の結果と一致したと報告している。本研究の結果からは、赤色花系統にPn3,5dGを主要花色素とするものが認められず、紫色花系統では主にMv3,5dGが主要花色素であったことから、アントシアニンの5位に糖が修飾されることにより花卉の青みが強くなった可能性は認められたものの、コピグメント等のその他の要因が関与している可能性、各系統の遺伝的背景が大きく異なる点、さらにPn3Gを主要アントシアニンとする系統とPn3Nhを主要アントシアニンとする系統では花色に大きな差異は認められなかった点から、主要アントシアニンの結合糖の数が多いほど青みが増すと断定するまでには至らなかった。今後、主要アントシアニンが3G型の系統と3,5dG型の系統を交雑し、後代の花色・花色素の遺伝様式を調査することが望まれる。

さらに、シアニック系品種のいくつかの品種では、花卉にロイコアントシアニンが含まれていることが示唆されたが、これは、アントシアニン生合成酵素の活性が低いことによるものであろう。なお、ロイコペラルゴニジン有すると示唆された品種はなかった。本研究では、ペラルゴニジン配糖体を有する個体は確認されず、これまでもペラルゴニジン配糖体を主要花色素として有する個体は報告されていないことから、シクラメンではジヒドロフラボノールからロイコペラルゴニジンが生成されていない、またはその生成が著しく抑制されていることが推測される。ジヒドロケンフェロールからロイコペラルゴニジンへの反応を支配する酵素のジヒドロフラボノールリアクターゼ(DFR)は、B環の置換パターンに関して高い基質特異性があることがペチュニアで報告されている⁽¹⁵⁾。シクラメンにおいてもペチュニアと同様に、ジヒドロケルセチンからロイコシアニジン、ジヒドロミリセチンからロイコデルフィニジンが生合成されているのに対し、ジヒドロケンフェロールからのロイコペラルゴニジンの生合成においてはDFRが作用していないものと推測される。これらのことから、シクラメン花卉

でペラルゴニジンを発現させるためには、ジヒドロケンフェロールからのロイコペラルゴニジン生合成の過程でジヒドロフラボノールリアクターゼ活性を生じる遺伝子、すなわちDFR遺伝子を導入する必要があると考えられる。ペチュニアにおいては、ジヒドロケンフェロールに対してDFR活性を示すトウモロコシのDFR遺伝子を導入することにより、ペラルゴニジンを有するレンガ色の花が作出されている⁽¹⁶⁾。シクラメンでも同様の方法、すなわち遺伝子導入法を利用して、ペラルゴニジンを主要花色素とするオレンジ色花系統の育種に有用な個体を作出できる可能性がある。

このように本研究の結果、シクラメンの花色と花色素に関して多くの知見が得られた。今後、これらの花色素と花色の関係性を精査するとともに、その遺伝様式を明らかにすることにより、より計画的かつ効率的な花色育種が可能になると期待される。

摘 要

シクラメンのシアニック系品種の花色および花色素を調査した結果、品種により異なるが、ペオニジン3グルコシド、ペオニジン3ネオヘスペリドシド、ペオニジン3,5ジグルコシド、マルビジン3グルコシドまたはマルビジン3,5ジグルコシドのいずれかが花卉の主要アントシアニンとして確認された。また、赤色花品種ではペオニジン3グルコシドまたはペオニジン3ネオヘスペリドシドが、紫色花品種ではマルビジン3,5ジグルコシドが主要アントシアニンであり、いずれの品種からもペラルゴニジン配糖体は検出されなかった。さらに、アントシアニンに対してフラボノールの量が多い品種・系統では、コピグメンテーションにより、同じ主要アントシアニンを花卉に有する他の品種より花色の青みが強くなる傾向が認められた。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、貴重な御助言を賜った香川大学農学部教授田中道男博士と九州大学農学部准教授宮島郁夫博士、アントシアニン標品を提供していただいた南九州大学農学部教授山口雅篤博士、ならびに研究材料を提供していただいた鹿毛真耕園の鹿毛哲郎氏に深く感謝の意を表す。

引用文献

- (1) 山口雅篤：カーネーション (*Dianthus caryophyllus* L.) の花色育種に関する基礎的研究. 南九州大学園芸学部研究報告, 19, 1-78 (1999).
- (2) HELLER, W. G., and FORKMANN, G.: Biosynthesis. In J. B. Harbone (ed.) *The Flavonoids*. pp.399-425. Chapman and Hall, London (1988).
- (3) STICKLAND, R. G., and HARRISON, B. J.: Precursors and genetic control of pigmentation. 1. Induced biosynthesis of pelargonidin, cyanidin and delphinidin in *Antirrhinum majus*. *Heredity*, 33, 108-112 (1974).
- (4) VAN BRAGT, J.: Chemogenetical investigations of flower colours in cyclamen, *Moded Landbouwhogeschool, Wageningen*, 62, 1-43 (1962).
- (5) 宮島郁夫, 土井一郎, 鹿毛哲郎: シクラメンの花色素と花色発現について. 九大農学芸誌, 45, 83-89 (1990).
- (6) SEYFFERT, W.: Die Vererbung der Blütenfarben bei hemiploiden Cyclamen. *Züchter*, 25, 275-287 (1955).
- (7) SEYFFERT, W.: Über die Wirkung von Blütenfarbgenen bei Cyclamen. *Z. Vererbungslehre*, 87, 311-334 (1955).
- (8) WEBBY, R. F. and BOASE, M. R.: Peonidin 3-O-neohesperidoside and other flavonoids from *Cyclamen persicum* petals. *Phytochemistry*, 52, 939-941 (1999).
- (9) BRYSON, J. L. and MITCHELL, T. J.: Improved spraying reagent for the detection of sugars on paper chromatograms. *Nature*, 167, 864 (1951).
- (10) 齊藤規夫: 青色花の色素と花色の安定化. バイオホルティ 2. pp. 49-59. 誠文堂新光社, 東京 (1990).
- (11) ASEN, S., STEWART, R. N. and NORRIS, K. H.: Co-pigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effect on color. *Phytochemistry*, 11, 1139-1144 (1972).
- (12) SAKATA, Y., AOKI, N., TSUNEMATSU, S., NISHIKOURI, H. and JOHJIMA, T.: Petal coloration and pigmentation of tree peony bred and selected in Daikon Island (Shimane prefecture). *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 64, 351-357 (1995).
- (13) DE LOOSE, R.: Flower pigment composition of natural bud - variants among hybrid Chinese azaleas, *Rhododendron simsii* (Planch). *J. Hort. Sci.*, 45, 265-274 (1970).
- (14) 有隅健一: Freesia の花色に関する研究. 第1報アントシアニンの同定と園芸種における分布について. 鹿児島大学農学部学術報告, 24, 1-9 (1974).
- (15) FORKMANN, G. and RUHNAU, B.: Distinct substrate specificity of dihydroflavonol 4-reductase from flowers of *Petunia hybrida*. *Z. Naturforsch*, 42c, 1146-1148 (1987).
- (16) MEYER P., HEIDMANN, I., FORKMANN, G. and SAEDLER, H.: A new petunia flower colour generated by transformation of a mutant with a maize gene. *Nature*, 330, 677-678 (1987).

(2007年10月31日受理)