

バラの花色に関する研究：特に遺伝生化学的分析とその育種に対する応用について V

著者	有隅 健一, 坂田 祐介, 青木 正隆, 河原 壮拓
雑誌名	鹿児島大学農学部學術報告=Bulletin of the Faculty of Agriculture, Kagoshima University
巻	27
ページ	23-30
別言語のタイトル	Studies on the Flower Colours in Rosa, with Special References to the Biochemical and Genetic Analyses and to the Application of Those Results to the Practical Breeding V
URL	http://hdl.handle.net/10232/2408

バラの花色に関する研究

特に遺伝生化学的分析とその育種に対する応用について V

有 隅 健 一・坂 田 祐 介
青 木 正 隆・河 原 壯 拓*

(昭和 51 年 8 月 30 日 受理)

Studies on the Flower Colours in *Rosa*, with Special References to the Biochemical and Genetic Analyses and to the Application of Those Results to the Practical Breeding V

Ken-ichi ARISUMI, Yūsuke SAKATA, Masataka AOKI
and Takahiro KAWAHARA*

(Laboratory of Floriculture and Ornamental Horticulture)

緒 言

栽培バラにおける 3-モノグルコシドの存在はそれほど珍しいものではない。ただこれは変色現象に伴って生成されるもので、その起源は栽培バラの成立にきわめて大きな影響を及ぼした *Rosa chinensis* にまでさかのぼる。

これに対して、*Floribunda* 系の 1 品種 'Frensham' に見出された 3-モノグルコシドは、前報でも指摘したように³⁾、変色現象に伴うそれとは生成の機作、その他が大幅に異なるように観察された。いっぽうこの 3-モノグルコシドは、対応する 3:5-ジグルコシドより優れた花色をバラに与える可能性があると考えられた³⁾。そのために当研究室では 3:5-ジグルコシドを 3-モノグルコシドへと置き換える交雑育種を進めてきたが、その過程でこの 3-モノグルコシドの遺伝が一般の植物のグリコシレーションに関する遺伝とは合わない、きわめて特異なものであること、あるいは変色現象型の 3-モノグルコシド生成とも遺伝子の作用発現の時期や機構の点で異なることなどがわかってきた。

本報では、これらの結果を紹介するとともに、バラにおけるグリコシレーションの類型化を行ない、一般の植物におけるそれと本質的に異なる点を論述した。

材 料 と 方 法

(1) 花卉の発育パターンを検討

本研究の一部については文部省科学研究費 (936003) の助成を受けた。

* 現鹿児島県頰娃農業改良普及所

本研究は蕾が発育・開花しやがて老化するまでの間、それぞれのアントシアニン量がどのように変化するかを見ようとしているものであるから、まず蕾がどのような発育パターンをとるか、またその際何を指標とすればもっとも適確にその様相を把握しうるかを知る必要がある。そのために 'Frensham' 後代系統のうち 65-6-2** について、(a) アントシアニンの生成が開始された蕾 22 個にラベルをつけ、その直径を毎日経時的に測定した。また、(b) 種々の異なった生育段階の蕾と開花花卉をそれぞれ 30 個採取し、蕾については直径および乾物重を、開花花卉については乾物重を測定した。

(2) 花卉の発育・老化に伴う色素量の変遷について

上記 (b) によって得られた乾燥花卉を 10 ml の 1% 塩酸酸性メタノールで 4~5 時間冷浸しアントシアニンを抽出した。つぎに粗抽出液中のメタノールを通風下で留去したのち、残液に 2~3 滴の蒸留水を加え、これを石油エーテルで 4 回、酢酸エチルで 5 回くり返し洗浄し溶出する夾雑物を除去した。

つぎにアントシアニン溶液を微結晶セルロース薄層 (20×20 cm, Merck 社製) に点着し、存在するアントシアニンどおしがよく分離することをあらかじめ確認しておいた展開溶媒、イソブタノール-酢酸-塩酸-水 (3:1:2:30) で上昇法一次元の展開を行なった。

得られたクロマトグラムを島津製二波長クロマトスキャナ CS-900 型に波長: $\lambda_S = 535 \text{ nm}$, $\lambda_R = 750 \text{ nm}$,

** その交配組合わせは 'Charles Mallerin' × 'Frensham' である。

光束：1.25×1.25 mm，モード：反射ジグザグスキヤニング法の諸条件でかけ，得られたシアニジン 3：5-ジグルコシドとシアニジン 3-モノグルコシドの面積から両色素の濃度（既知濃度の標品から得られた面積と比較して算出した）と，これから算出できる 3-モノグルコシド指数*を求めた。

(3) 光と3-モノグルコシドの生成について

‘Frensham’ 後代系統のうち 65-6-2 と，変色現象型のシアニジン 3-モノグルコシド生成能を持つ栽培バラ‘絵日傘’について，種々の異なった生育段階の蕾の直径を測定後，透明ポリエチレンフィルム(Light)と黒ポリエチレンフィルム(Dark)で袋かけし，それらすべてについて開花2日目の花卉を採取した。つづいてこれらを乾燥花卉とし，前述した方法でアントシアニンを定量，3-モノグルコシド指数を算出した。

(4) ‘Frensham’型 3-モノグルコシドの遺伝について

著者らのひとり有隅が育成中の‘Frensham’後代系統，すなわち特異なシアニジン 3-モノグルコシド含有系統どおしの交雑による実生 363 個体(17 系統)と，一方にシアニジン 3-モノグルコシド生成能を持たぬ既成品種を片親にして交雑した実生 523 個体(30 系統)について，開花と同時に花卉を採取した。

これらの乾燥花卉からのアントシアニンの抽出方法は前述したとおりであるが，とくにクロマトグラフィーについてはペーパークロマトグラフィー法を援用した。すなわち，東洋ろ紙 No. 50 (20×20 cm)上にアントシアニン溶液を1：2：3：4の濃度比で点着し，展開溶媒，イソブタノール-酢酸-水(8：2：3)およびイソブタノール-塩酸-水(5：1：2)で上昇法一次元の展開を行なった。つぎに得られたクロマトグラムから可視光線下におけるスポットの大きさと濃度を相互に比較し，シアニジン 3：5-ジグルコシドとシアニジン 3-モノグルコシドの量的比率を求め，3-モノグルコシド指数を算出した。

結果および考察

(1) 花卉の発育パターンの検討

‘Frensham’後代系統 65-6-2 について，蕾の生育

段階と蕾の直径との関係，および開花率を Fig. 1. に，また種々の生育段階の蕾の直径と花卉の乾物重との関係を Fig. 2. に，さらに開花後の乾物重の変化を Fig. 3. に示した。

まず Fig. 1. より明らかなおとおり，蕾はアントシアニン出現後おだやかに肥大し，直径がほぼ 1.9～2.0

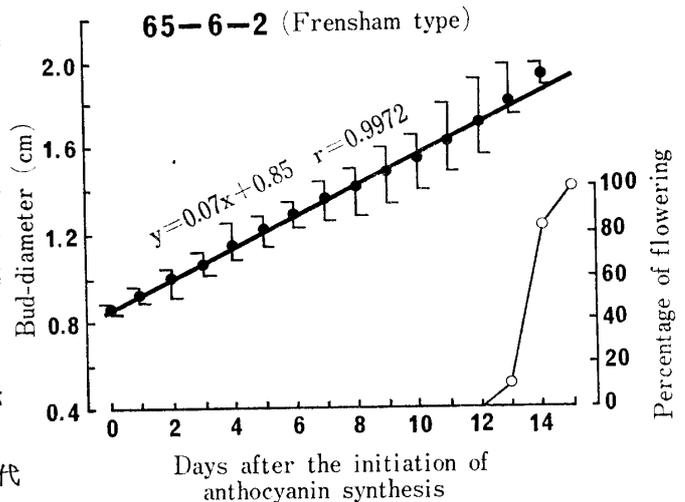


Fig. 1. Changes in bud-diameter and percentage of flowering during flower development.

●—● Bud-diameter
○—○ Percentage of flowering

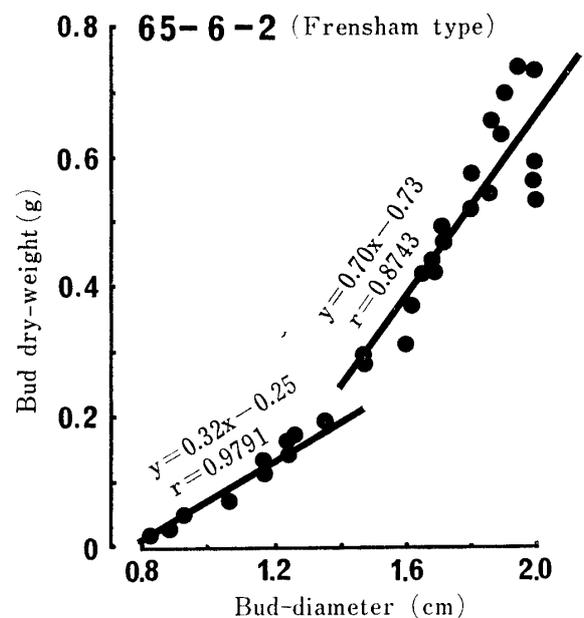


Fig. 2. Correlation between bud dry-weight and bud-diameter.

Increasing order of bud-diameter represents flower development, one dot showing one individual bud examined.

* {3-モノグルコシド量/(3：5-ジグルコシド量+3-モノグルコシド量)}×10 として算出，すなわち指数0は3-モノグルコシドフリー，1以上は指数が大きくなるにつれて3-モノグルコシドの3：5-ジグルコシドに対する相対量が大きくなる。

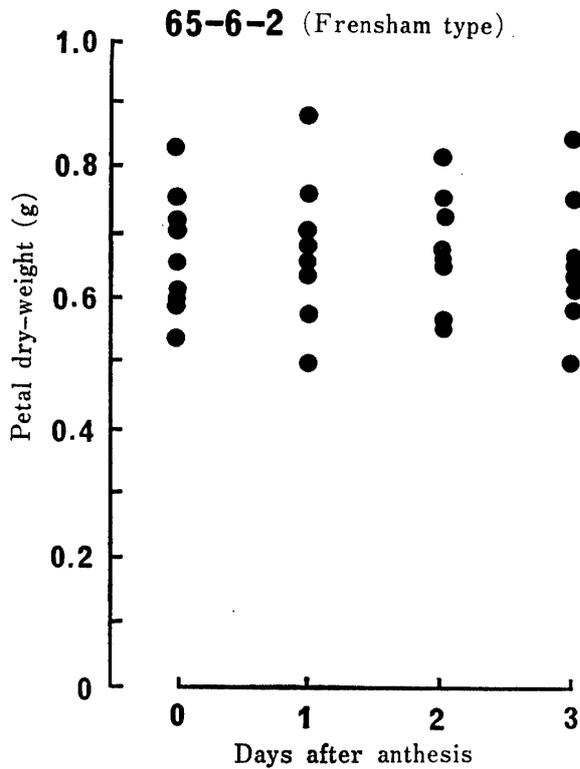


Fig. 3. Changes in petal dry-weight during the days after anthesis.

One dot represents one individual flower examined.

cm に達する 14 ~ 15 日目に開花した。また蕾の生育段階 (日数, x) と蕾の直径 (y) との間には $y = 0.07x + 0.85$ の一次式で示される回帰式が得られた。またその相関係数は 0.9972 で日数、直径 (ただし直径は開花後のものについては適用できない) の双方が花卉の生育段階を知るのにきわめて優れた指標となりうるということがわかった。換言すれば、蕾の生育程度とそれに対応するアントシアニン生成量とを関連づけるのに、日数または直径を直接的に利用しうることが示された。

いっぽう Fig. 2. より明らかなおとおり、蕾の直径と花卉の乾物重との間には 2 種類の回帰式が得られた。これは乾物重の増加には変節点があり定常的な速度では進行しないことを示している。また Fig. 3. より明らかなおとおり、開花後の花卉の乾物重はほぼ横ばいの状態に変化を示さず、開花後 4 日目には花卉数が少ないこともあって萎凋を開始した。このように蕾に関しては日数や直径ほどではないが乾物重もまた生育段階を知る指標となりうることを示している。

(2) 花卉の発育・老化に伴う色素量の変遷について

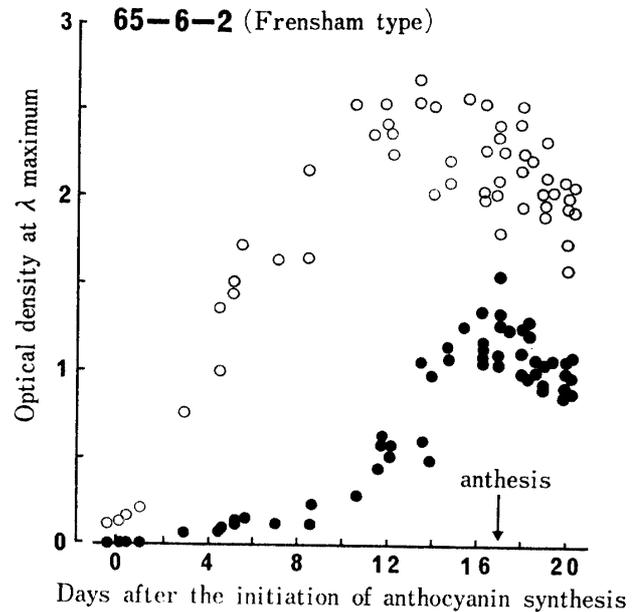


Fig. 4. Changes in the amount of cyanidin 3:5-diglucoside and cyanidin 3-monoglucoside during flower development.

○ cyanidin 3:5-diglucoside
● cyanidin 3-monoglucoside

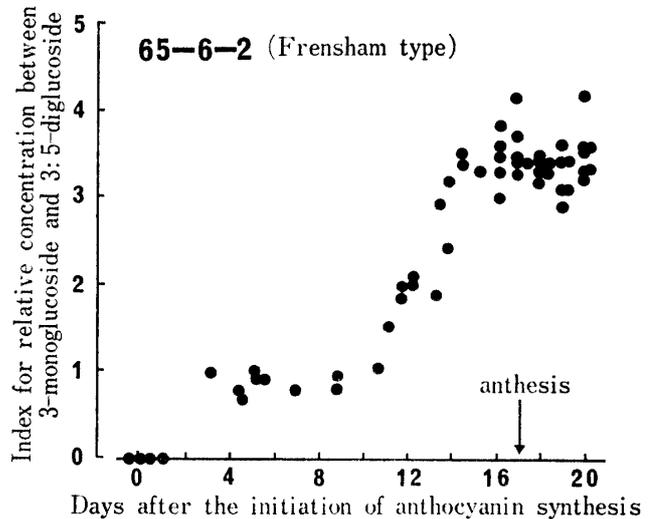


Fig. 5. Changes in the 3-monoglucoside index during flower development.

Index 0 shows that there is only cyanidin 3:5-diglucoside, and indices from 1 to 5 show the increasing order of relative concentration of cyanidin 3-monoglucoside compared with cyanidin 3:5-diglucoside.

'Frensham' 後代系統 65-6-2 について、シアニジン 3:5-ジグルコシドとシアニジン 3-モノグルコシ

ドの生成量の変遷を Fig. 4. に (種々の生育段階の蕾の直径を Fig. 1. に図示した回帰式に適用し, それをアントシアニン形成後の日数に換算して横軸に示した. この換算法によると, この場合の開花日はアントシアニン着色開始から 17 日目と算出された), また 3-モノグルコシド指数の変遷を Fig. 5. に示した.

まず Fig. 4. より明らかなとおり, 花卉の發育の全ステージを通して, 両色素の生成量はつねにシアニジン 3:5-ジグルコシド>シアニジン 3-モノグルコシドであった. また両色素の形成開始時期には明らかに時間的ズレがあり, シアニジン 3:5-ジグルコシドの形成がシアニジン 3-モノグルコシドのそれに先行していた. 同様に生成量が極大に達する時期も時間的ズレがあり, 前者が開花の 3~4 日前であるのに対し後者は開花のほぼ前日であった. なお, 両色素とも開花後は老化するにしたがって減少する傾向を示し, あとでのべる変色現象型のような著しい量の増大をきたさなかった. また同様な検討を 69-6-26* についても行ったが, 基本的には 65-6-2 と同じ結果が得られた.

一般にアントシアニンにおけるグリコシレーションは花卉の成熟に伴って低次の分子構造のものから高次のものへと進行するとされている. たとえば Hagen⁵⁾ はホウセンカについてつぎのような観察をしている. すなわち, 開花はほぼ 4 日前の若い蕾に出現するアントシアニンはペラルゴニジン 3-モノグルコシドが主体で, これに少量のアグリコンを伴っているが, 日時の経過とともにいろいろな中間型を経て, 最終的には有機酸の結合したペラルゴニジン 3:5-ジグルコシドや 3-ピオシド-5-モノシドのような高度の分子構造を持つアントシアニンが主体を占めるようになった. また同氏ら¹⁰⁾ は白色花の花卉にペラルゴニジン 3-モノグルコシドを取込ませて培養したところ, この色素が時間の経過とともに上とほぼ同様な運命をたどることを明らかにした. 同様な例は *Primula obconica*¹⁴⁾ や *Petunia hybrida*⁸⁾ でも観察されている. また *Pisum* や *Lathyrus odoratus* では 3-ラムノシドが異質の 3-サンビュビオシドや 3-ソホロシドにおきかわる点¹⁷⁾でホウセンカその他とは趣きを異にしたところもあるが, より高次化する点では軌をひとつにしているといえよう. このようなことからすると 'Frensham' 型におけるグリコシレーションは高次から低次へと進

行するわけであるから, これらとはまったく異なっているといわなければならない.

いっぽう栽培バラにおける 3-モノグルコシドの存在はさほど珍しいものではない. ただこれらはそのほとんどが変色現象型 (Mutable colour type) のバラに限って見出されるもので, 開花後に出現し量的にも大きく変動する^{2,16)}. これに対し 'Frensham' 型の 3-モノグルコシドは先に見たように蕾の時から出現し, しかも蕾の生育後期から開花期にかけて急速に生合成される. このように結果としては同じ 3-モノグルコシドが生成されるけれども, 生成の時期については両者はまったく異なっているわけである.

つぎに, 3-モノグルコシド指数に関して Fig. 4. を改図したのが Fig. 5. である. 図より明らかなとおり, 3-モノグルコシド指数は蕾の着色開始時は 0 であるが, 初期から中期にかけてもほぼ 1 の値をとりとくに大幅な増大は見られなかった. ところが, 着色開始後 10~11 日目を境にして急激な指数の増大が起こるにいたった. このように, 3-モノグルコシドの生成自体は着色開始後のかなり早い時点より始まっているけれども, 急速な生成が見られるのは 12 日目から開花直前にかけてである. そしてこの時期は乾物重が著しい増大を示す時期 (Fig. 2.) と一致している. この花卉への物質の著しい転流の開始が, あるいは 3-モノグルコシド生成に関する遺伝子の活性を高める引き金になるのかも知れない.

(3) 光と 3-モノグルコシド生成について

変色現象型における 3-モノグルコシドの生成は強い光の存在を必要とする^{2,16)}. 前川らは特に有効な光が紫外線であることを明らかにした⁹⁾.

上記したように, 'Frensham' 型の 3-モノグルコシドの生成は変色現象型のそれと生成の時期が異なる. このことは結果としては同じアントシアニンを与えるとしても, 関与する遺伝子は別個のものであることを示唆する. そこでもっとも著しい変色現象を示す '絵日傘' と対比しながら, 65-6-2 について 3-モノグルコシド生成に対する光の影響を調べた.

その結果を示したのが Fig. 6. であるが, 図より明らかなとおり, 明区では両品種ともそれぞれの対照区 (無袋) とほぼ同様な 3-モノグルコシド指数を示した. いっぽう暗区では '絵日傘' がシアニジン 3:5-ジグルコシドはもとより 3-モノグルコシドもまったく生成しなかったのに対し**, 65-6-2 は対照区より

* その交配組合わせは ('Charles Mallerin' × 'Frensham') × {'Charles Mallerin' × 'Frensham'} × ('Charles Mallerin' × 'Frensham') である.

** 便宜的に指数 0 として図示した.

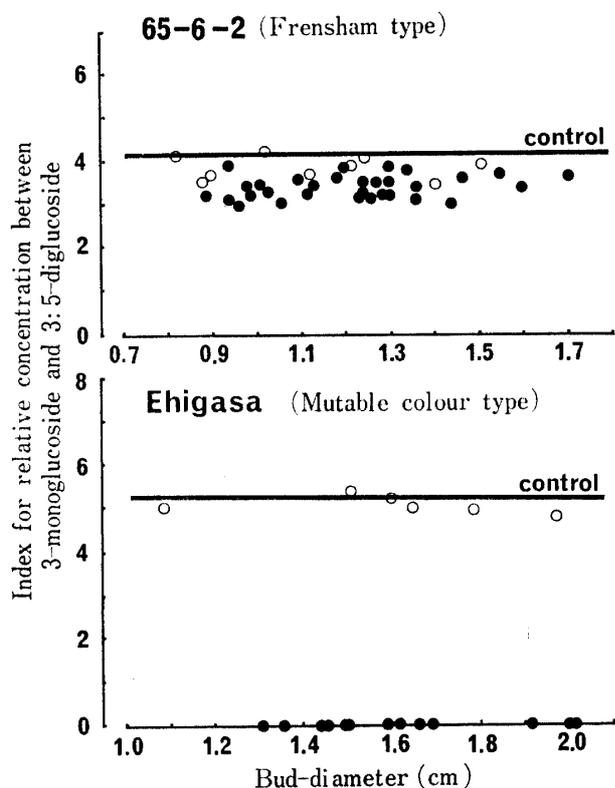


Fig. 6. The effect of light on the anthocyanin formation in "Frensham" type and Mutable colour type. Various stages of buds were bagged with clear or black polyethylene film and 3-monoglucoside indices were measured on the 2-days old flowers after anthesis.

- Light (clear polyethylene film)
- Dark (black polyethylene film)

やや低い数値を示したものの、光とはほぼ無関係に3-モノグルコシドを生成した。Fig. 6.は3-モノグルコシド指数で示したものであるが、乾物重当りでみた絶対生成量も65-6-2は光の有無にかかわらずほぼ同じ値で、変色現象型とは本質的に異なっていた。

(4) 'Frensham' 型 3-モノグルコシドの遺伝について

'Frensham' 型では3:5-ジグルコシドの生成の時期と3-モノグルコシドのそれが一致しない。またこの3-モノグルコシドは奇異なことに'Frensham'の直接のF₁にも出現してきた。これは常識的にも考え難いことである。

そこで'Frensham'型3-モノグルコシド含有系どおし(いずれも正四倍体)、ならびにこれを片親として3-モノグルコシド不在型とを交雑し、それぞれがどのような遺伝行動をとるかを調査した。その結果をとりまとめたのがFig. 7.である。実際の組み合わせは

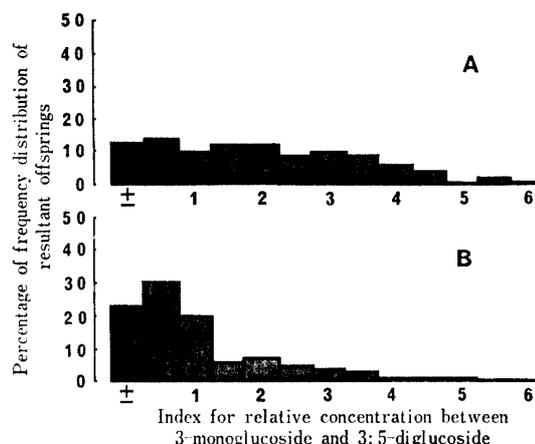


Fig. 7. Distribution of 3-monoglucoside indices in the resultant offsprings of the crossing experiments.

- A: Intervarietal crossing of "Frensham" type, in which the individuals with the 3-monoglucoside index from 1.5 to 5.5 were used as parent. 363 offsprings were examined.
- B: Crossing between "Frensham" type and cyanidin 3-monoglucoside free type. 523 offsprings were examined.

前者が17通り、後者が30通りであったが、個々の組み合わせはそれぞれのグループ内で同じ傾向の分離を示したので、ここでは個々の組み合わせとしては示さず、それぞれのグループを一括して示した。図より明らかとなり、'Frensham'型3-モノグルコシド含有系どおしの交雑では、指数6が最高で3-モノグルコシドのみまたはこれに準ずるものはまったく見出されなかった。いっぽう3-モノグルコシド不在型との交雑では、±またはそれに準ずるものが多かったものの、指数は最高6に及び大幅な変異を示した。

グリコシレーションの遺伝については1個の主要対立遺伝子が関与し、かつ高次の配糖体を与える遺伝子は低次のそれに対し優性であることが多くの植物で明らかにされている。たとえばバレイショ⁶⁾では遺伝子Acが劣性であると、花、塊茎ともに3-ルチノシドのみであるが、優性では多量の3-ルチノシド-5-グルコシドが生成されるようになる。同様な例はPetunia¹¹⁾、ナス¹⁾、Solanum chacoenseとS. stramonium⁷⁾、Phlox drammundii^{12,13)}、ストック¹⁵⁾などでも知られている。またFreesiaでは交雑実験は行なわれていないが、色素の分布の様相から同様なことが推察された⁴⁾。

これらの結果を本実験のバラの場合に当てはめようとすると、非常におかしなことになる。なぜなら、本

交雑実験に用いたバラがいずれも四倍体であることを考慮に入れても、3-モノグルコシド含有系どおしの交雑では指数 10 ないしはこれに近いものが圧倒的多数を占めてよいはずなのに、事実は指数 6 までであり、また 3-モノグルコシド不在系を配した場合には、指数 10 のもののみになってよいはずなのにこれも事実反した。これらの事実は優性の不完全性、あるいは関与する遺伝子の数が多数にわたるといった解釈もできないことはあるまいが、むしろ 3-モノグルコシドと 3:5-ジグルコシドの生成にあずかる遺伝子対立関係がない、別個の遺伝子であることを示すものと考えたい。本実験では変色型と 'Frensham' 型との交雑実験は行なわなかったが、これについても結果は同じではなかろうかと推察する。

以上要するに、'Frensham' 系における 3-モノグルコシドの生成にはいろいろ変った点が認められる。すなわち、3:5-ジグルコシドに対しては一般のグリコシル化の進行とは正反対の、高次から低次への方向をとり、また遺伝的にも両色素の生成に関する遺伝子対立関係にあるとは考えられなかった。いっぽう、変色型の 3-モノグルコシドに対しても生成の時期が異なり、また光の直接的存在を必要としなかった。

これらの諸事実を総合して、バラにおけるアントシアニンのグリコシル化の様式を模式化したのが Fig. 8. である。すなわち *Hybrid Tea* を主体とする、3:5-ジグルコシド生成遺伝子しかもたぬ普通型 (Normal type)、本論文に取り上げた 'Frensham' 型、および品種 'Masquerade' で代表される変色遺伝子を持つ変色型の 3 型で ('絵日傘' は変色型のうち II に入る)、それぞれの遺伝子は作用性発現の時期や要因を異にしている。

このなかで一般の植物に普通に見出され、また遺伝様式が明らかにされてきたのは普通型についてであり、最終色素までのグリコシル化の進行速度が遅いとホウセンカその他の中途の色素が現われる型になり (速度が早いといっきよに最終色素に達する。また言うまでもないが最終色素の種類は植物の種類によって当然異なる)、またそれまでの過程で突然変異が起ると、バレイショその他のようにグリコシル化の程度の異なる色素が対立形質として現われることになる。このように見ると、バラにおける 'Frensham' 型と変色型の 3-モノグルコシドの生成は、きわめて特異なものであることがうかがわれよう。

前報で指摘したように³⁾、バラ属全般に広く分布す

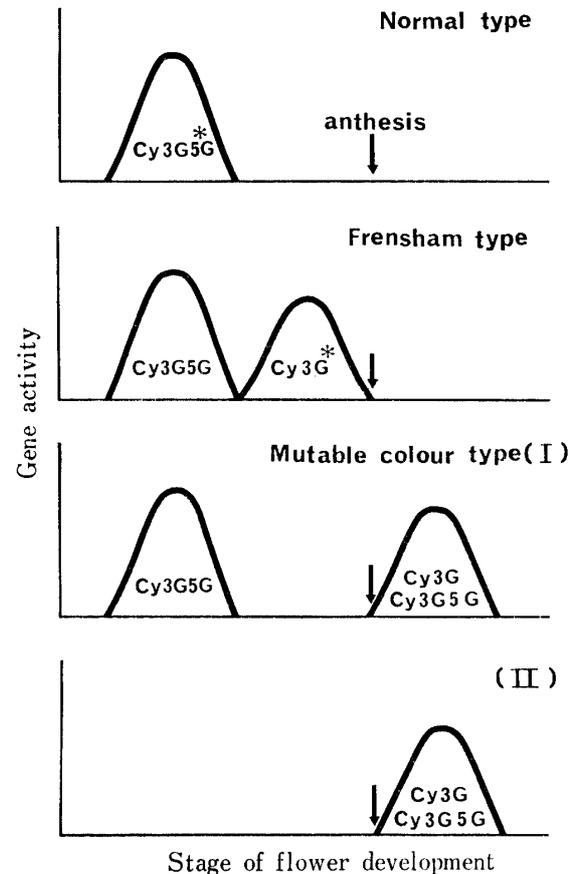


Fig. 8. Schematic representation of glycosylation of anthocyanins in garden roses.

* Cy3G5G; cyanidin 3:5-diglucoside
Cy3G; cyanidin 3-monoglucoside
Cy can be replaced by pelargonidin.

る 3:5-ジグルコシドの 'Frensham' 型 3-モノグルコシドへの置き換えは優れた花色——とくに緋紅色系で優れた花色を与える可能性がある。従来当研究室では、この 'Frensham' 型 3-モノグルコシドが他の植物におけると同様 3:5-ジグルコシドに対し対立関係にあるとしてその置き換えをはかってきた。しかしながら、本実験の結果からこのような想定が当を得ているとは考えられないようになった。この点からすると、'Frensham' 型とアジアニック型との交雑への切り換えが考えられるべきである。

また、'Frensham' 型 3-モノグルコシドと変色型 3-モノグルコシドとの共存も今後の課題であるが³⁾、この場合も両者が対立関係にないほうが目的を達成しやすいことになる。なぜなら、これらが対立関係にあっていづれかが完全優性であるとすると、両者を同時にあわせ持つことはありえないからである。

いづれにしてもこれら 2 つの課題は、Fig. 8. にな

い新しいグリコシレーションの様式をバラに求めようとしているもので、これが可能かどうか以上論議してきたことの真偽を裏付けることにもなり、目下その追求を続けているところである。また、このバラに類似した現象が他の植物にも存在するかどうかは、グリコシレーション全般を理解するうえにも重要な問題であり、その解明も今後の課題といえよう。

要 約

本実験は‘Frensham’後代系統バラの花弁の発育・老化に伴う特異なシアニジン 3-モノグルコシドの生成機作と、その遺伝について検討したもので、得られた結果の概要は次のとおりであった。

1. ‘Frensham’後代系統のうち 65-6-2 について花弁の発育に伴う蕾の直径の変化は、アントシアニン出現後の日数 (x) と蕾の直径 (y) との関係で見た場合、 $y = 0.07x + 0.85$ の式で示された。また発育に伴う乾物重の変化は、蕾の直径 (x) と乾物重 (y) との関係で見た場合、発育中期を境にしてそれぞれ $y = 0.32x - 0.25$ および $y = 0.70x - 0.73$ の式で示された。さらに開花後の花弁の乾物重の変化は認められなかった。

2. アントシアニンの生成に関して、特異なシアニジン 3-モノグルコシドはシアニジン 3:5-ジグルコシドの生成から 3~4 日遅れて生成され、そのもっとも急速に生合成される時期も 7~8 日遅れた。また両色素量が極大に達する時期は、前者が開花のほぼ前日、後者が 3~4 日前であった。さらに両色素量は開花および老化するに従い減少した。これらは ‘Frensham’後代系バラにおけるグリコシレーションの様式が、他の植物におけるそれとはまったく逆方向へ進行することを示した。

3. ‘Frensham’型のシアニジン 3-モノグルコシドの生成と品種 ‘Masquerade’ で代表される変色型のそれとは生合成の順序、つまり 3:5-ジグルコシドの生成が先行する点では同じであったが、3-モノグルコシド自体の生成開始時点は互に異なっていた。さらに変色型における 3-モノグルコシドの生成は、光によって決定的な影響を受けるのに対し、‘Frensham’後代系統のそれは暗黒下でも明区とほぼ同様の 3-モノグルコシドを生成した。このように両者は本質的に異なっていた。

4. この特異なシアニジン 3-モノグルコシドの遺伝に関して、‘Frensham’型どおしの交雑から得られた実生は、その 3-モノグルコシド指数は土から 6 に及んだ。また一方に 3-モノグルコシド不在型を配した場合、得られた実生は指数の低いものが多かったが、同様に土から 6 に及んだ。これらの結果は他の植物におけるグリコシレーションの遺伝様式とは合わなかった。

5. 以上のように ‘Frensham’型における 3-モノグルコシド生合成の機作は、一般の 3:5-ジグルコシドとも、また変色型における 3-モノグルコシドともまったく異なっていた。このことは、これら 3 つの配糖体の生成に関与する遺伝子が遺伝的に互に対立関係にないことを示すものと解釈された。

これらの結果にもとづき、バラにおけるグリコシレーションの様式は Fig. 8. に示すような 3 型があることを示すとともに、他の植物とも対比してその意義を論じた。

引用文献

- 1) Abe, Y. and Gotoh, K.: *Bot. Mag. Tokyo*, **72**, 432-437 (1959)
- 2) 有隅健一: 九大農学芸誌, **21**, 169-184 (1964)
- 3) ———: 山口大農学術報告, **18**, 1077-1089 (1967)
- 4) ———: 鹿大農学術報告, **24**, 1-9 (1974)
- 5) Hagen, C. W. Jr.: *Amer. J. Bot.*, **53**, 54-60 (1966)
- 6) Harborne, J. B.: *Biochem. J.*, **74**, 262-267 (1960)
- 7) ———: *ibid.*, **84**, 100-106 (1962)
- 8) Hess, D.: *Planta*, **59**, 567-586 (1963)
- 9) 前川 進・平野由美子: 園芸学会昭51年春発表要旨, 330-331 (1976)
- 10) Mansell, R. L. and Hagen, C. W. Jr.: *Amer. J. Bot.*, **53**, 875-882 (1966)
- 11) Meyer, C.: *Z. Vererbungsl.*, **95**, 171-183 (1964)
- 12) 中村直彦: 神戸大農研究報告, **9**, 43-48 (1971)
- 13) Nakamura, N. and Nakamae, H.: *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **44**, 154-160 (1975)
- 14) Reznik, H.: *Flora*, **150**, 454-473 (1961)
- 15) Seyffert, W.: *Z. Pflanzenzüchtg.*, **44**, 4-29 (1960)
- 16) 志佐 誠・高野泰吉: 園学雑, **33**, 140-146 (1964)
- 17) Statham, C. M. and Crowden, R. K.: *Phytochem.*, **13**, 1835-1840 (1974)

Summary

The present paper deals with the biochemical and genetical analyses of the biosynthesis of anthocyanin, cyanidin 3-monoglucoside, which occurs in developing buds and flowers of the progenies of garden rose "Frensham". The results obtained were summarized as follows.

(1) From the time when the anthocyanin-formation occurred, bud-diameters grew linearly in accordance with time until they reached their anthesis (Fig. 1.). This happened also in the case for dry weight, excepting the presence of a pair of linear equations (Fig. 2.). Therefore, these relations were to be used as a convenient morphological index for correlating the growth of buds with the progress of anthocyanin synthesis. On the other hand, after the anthesis no petal-dry-weight fluctuated with flower age (Fig. 3.).

(2) The beginning of the formation of cyanidin 3-monoglucoside was preceded 3 or 4 days by that of cyanidin 3:5-diglucoside. The period when the most rapid synthesis of the former anthocyanin occurred, was also preceded 7 or 8 days by that of the latter. Moreover, the concentrations of the cyanidin 3:5-diglucoside and cyanidin 3-monoglucoside reached a maximum approximately 3 or 4 days, and one day, before the anthesis, respectively. The amount of both anthocyanins, thereafter, decreased in accordance with flower age (Fig. 4.).

The precedence of formation of more complicated glucoside to that of the simpler one was entirely opposite to the glycosylation pattern of such plants as *Impatiens balsamina*, *Primula obconica* and *Petunia hybrida*.

(3) As regards the sequence of glycosylation, the biosynthesis of cyanidin 3-monoglucoside of the progenies of garden rose "Frensham" and that of the mutable colour types, whose 3-monoglucoside appears just after anthesis and increases with flower age, had the same pattern, i.e., the precedence of the formation of 3:5-diglucoside. However, the period of the initiation of 3-monoglucoside synthesis was quite different.

In addition, the indices of 3-monoglucoside in the dark-grown buds of the progenies of garden rose "Frensham" were almost equal to those of the light-grown buds, whereas those of mutable colour type were entirely different from each other, due to whether grown under the light or the dark condition (Fig. 6.). This indicates that the synthesis of 3-monoglucoside of "Frensham" type was not to be affected by light.

(4) In the offsprings originated from the crosses between "Frensham" types, the distribution of the indices for the relative concentration between cyanidin 3:5-diglucoside and cyanidin 3-monoglucoside ranged nearly 0 to 6. When "Frensham" type was crossed with the 3-monoglucoside free type, the similar results were obtained, although the distribution percentage of the individuals with lower indices was greater than that of the former crosses (Fig. 7.). These results did not coincide with the mode of inheritance of glycosylation found in other plants.

(5) The 3-monoglucoside of "Frensham" type was, therefore, quite different, in the synthesizing mechanism, from either the ordinary 3:5-diglucoside or the 3-monoglucoside of mutable colour type. This was interpreted to be suggesting that the genes concerned with the syntheses of these three glucosides are different from, and not allelomorph to, one another.

Based on the results of the present experiment we proposed the features of glycosylation of garden roses as presented schematically in Fig. 8., and their significance was discussed in connection with the glycosylation of other plants.