

トサカケイトウのベタレイン系色素生成に関する研究：II. 花序の色素生成に及ぼす光および2,3の生長調節物質の影響について

著者	坂田 祐介, 空閑 宏典, 有隅 健一
雑誌名	鹿児島大学農学部學術報告=Bulletin of the Faculty of Agriculture, Kagoshima University
巻	32
ページ	27-33
別言語のタイトル	Studies on the Synthesis of Betalains in the Inflorescence of <i>Celosia cristata</i> : II. The Effects of Light and Some Growth Regulators on the Synthesis of Betalains in the <i>Celosia</i> Inflorescences
URL	http://hdl.handle.net/10232/1861

トサカケイトウのベタレイン系色素生成に関する研究

II. 花序の色素生成に及ぼす光および2,3の生長調節物質の影響について

坂田祐介・空閑宏典・有隅健一

(観賞園芸学研究室)

昭和56年8月10日 受理

Studies on the Synthesis of Betalains in the Inflorescence of *Celosia cristata*

II. The Effects of Light and Some Growth Regulators on the Synthesis of Betalains in the *Celosia* Inflorescences

Yūsuke SAKATA, Hironori KUGA and Ken-ichi ARISUMI

(Laboratory of Ornamental Horticulture and Floriculture)

結 言

Garay と Towers³⁾が *Amaranthus tricolor* の実生葉中のアマランチン合成に光が必要であることを報告して以来, *Amaranthus* 属植物実生苗のベタレイン系色素の生合成について, 全容がほぼ明らかにされるに至っている。

ところで, トサカケイトウ (*Celosia cristata*) の花序の着色はベタレイン系色素によるものであるが, 前報ではトサカケイトウ「ピラミッド久留米」の着色した花序を暗処理すると, 色素が消失し白化すること, またいったん白化した花序を自然光下におくと, 色素が生成されて再び赤く着色することを明らかにした⁴⁾。このような花序の着色→白化→再着色という変化はベタレイン系色素の消長によるものであるが, 本報はトサカケイトウの花序について, ベタレイン系色素の消失および再生成過程で光量や光質および生長調節物質の処理が, 色素生成をどのように修飾するかについて検討したものである。

材料と方法

トサカケイトウ「ピラミッド久留米」を4月下旬に播種し, 6月中旬に露地に定植した。定植後ただちに摘心し, 1株あたり3~5個の花序が得られるように調整した。これらは7月下旬に出蕾し, 約2週間で花序の長径が3~5cmに達した。以下の実験はすべてこれ

ら発達段階初期の花序を用いて行った。

実験 1. 色素生成に及ぼす光量の影響

まず, 着色した花序についてであるがいろいろな段階の光量を得るため, 高さ2mのパイプ製の枠に寒冷紗1枚を張り, 実験圃場全体を被覆して寒冷紗1枚区とし, さらにその中に高さ1mの木枠を設け寒冷紗1枚(2枚区)および2枚(3枚区)を張って, それぞれ自然光量の50%, 25%および10%を得た。この他に花序をアルミ箔で被覆する区(dark)と, まったく自然光下の対照区(light control)を設定した。

つぎに, 12日間アルミ箔で花序を被覆し, あらかじめ白化させた花序についても同様に寒冷紗による被覆を行った。なお, この場合はまったく自然光下の区(light)と, 引き続きアルミ箔で花序を被覆する対照区(dark control)を設定した。

いずれの場合の被覆処理も8日間行い, 処理後それぞれ10花序を採取し色素の抽出および定量に供した。

色素の抽出は Koehler⁷⁾の方法に準じた。まず花序の先端部3~4mmを切り取り細かく刻み, その新鮮重1gあたり5mlの割合で蒸留水を加え, -20°Cで凍結後解凍した。この操作を2回反復して得られた抽出液を綿栓ろ過後, ろ液に氷酢酸1~2滴を加え遠沈器にかけた。得られた上澄液をただちに分光光度計(Toshiba SPECTA, SPM-60A型)にかけ, ベタシアニンは534nm, およびベタキサンチンは483nmでの吸光度を測定した。この吸光度から700nmでの吸光

度を差し引き両色素の相対的濃度を算出した。

実験 2. 色素生成に及ぼす各種セロファン紙被覆の影響

まず、トサカケイトウ実験圃場全体を寒冷紗1枚で被覆し、自然光量の50%下で以下の花序被覆を行った。はじめに、着色した花序については赤色セロファン紙1枚(以下R)と2枚(以下RR), 青色セロファン紙1枚(以下B)と2枚(以下BB) および赤色セロファン紙1枚+青色セロファン紙1枚(以下RB)で被覆した。これに対照区として透明セロファン紙1枚で被覆した区を設けた。

つぎに、12日間アルミ箔で花序を被覆し、あらかじめ白化させた花序についても前記と同様な被覆を行った。

いずれの場合の被覆処理も8日間行い、それぞれ10花序を採取し色素の抽出および定量に供した。なお色素の分析法は実験1に準じた。また使用したセロファン紙の分光透過率を Fig. 1 に、自然光量に対する花序レベルでの相対的な光量を Table 1 に示した。

実験 3. 色素生成に及ぼす2,3の生長調節物質の影響

自然光量の50%下(寒冷紗1枚被覆), 25%下(寒冷紗2枚被覆) および10%下(寒冷紗3枚被覆)のトサカケイトウ花序と、アルミ箔被覆の花序について、花序を含めた植物体全体に L-DOPA (10, 20, 40mM), GA (100, 200, 400ppm), BA (10, 20, 40ppm) お

よび B-995 (1000, 2000, 4000ppm) を4日ごとに3回くまなく散布した。12日目にそれぞれ10花序を採取し色素の抽出および定量に供した。なお、色素の分析法は実験1に準じた。

Table 1. Relative amount of light intensities at the *Celosia* inflorescence levels through various cellophane films under 50% of natural daylight

Film used*1	Relative amount of light intensity*2 measured by	
	Spectrophotometer	Illuminometer
Clear cellophane film control	45	45
R	22.5	10
RR	19	7.5
B	18	4.5
BB	11	1.35
RB	9	0.18

*1 R, RR, B, BB, RB: For details see Fig. 1.

*2 Expressed as a percentage of natural daylight intensity.

結 果

1. 色素生成に及ぼす光量の影響

Table 2 は着色した花序を種々の光量下に8日間おいた場合のベタシアニンおよびベタキサンチン色素の生成量を示したものである。

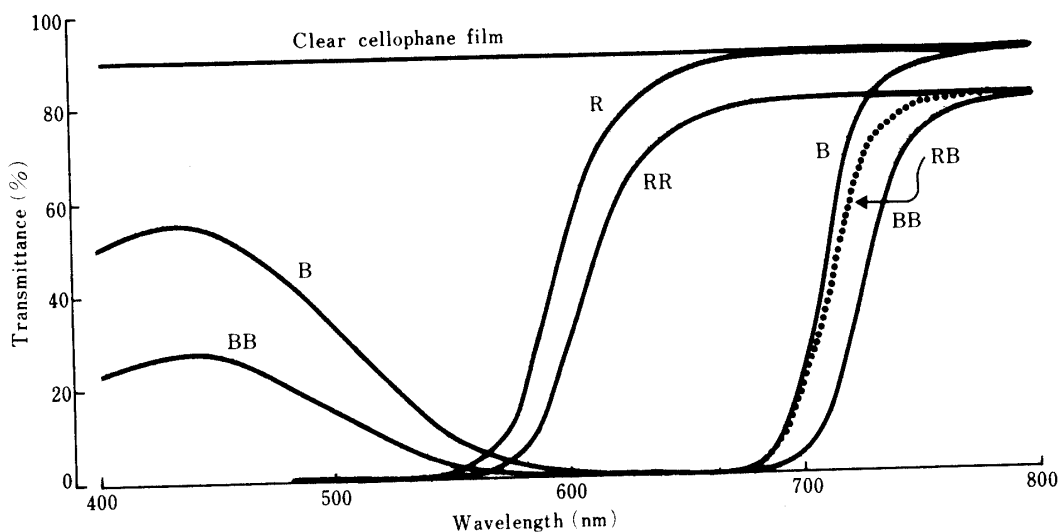


Fig. 1. Transmittance-curves of various cellophane films used in this experiment.

R: red cellophane film, RR: double-covered red cellophane film,
B: blue cellophane film, BB: double-covered blue cellophane film,
RB: red cellophane film+blue cellophane film

Table 2. Effect of light intensities on the pigment content in the coloured inflorescences of *Celosia cristata*

Treatment	Pigment content			
	Synthesized / original amount		Percentage of light control values	
	Betacyanins	Betaxanthins	Betacyanins	Betaxanthins
Light control	1.10	0.88	100 ^a	100 ^a
50% Light	1.20	0.98	109 ^a	112 ^a
25% Light	1.04	0.98	95 ^a	112 ^a
10% Light	1.16	1.29	105 ^a	147 ^b
Dark	0.46	0.45	42 ^b	51 ^c

Pigments were extracted from the inflorescences after 8 days light treatment.

a, b and c: Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% probability level.

Table 3. Effect of light intensities on the pigment content in the etiolated inflorescences of *Celosia cristata*

Treatment	Pigment content			
	Synthesized / original amount		Percentage of dark control values	
	Betacyanins	Betaxanthins	Betacyanins	Betaxanthins
Dark control	0.36	0.39	100 ^a	100 ^a
10% Light	3.00	2.00	825 ^b	514 ^b
25% Light	3.82	2.16	1050 ^b	557 ^b
50% Light	7.64	4.72	2100 ^c	1214 ^c
Full light	7.18	4.17	1975 ^c	1071 ^c

Pigments were extracted from the inflorescences after 8 days light treatment.

a, b and c: Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% probability level.

まず、自然光下の花序では両色素量ともに処理開始時のそれとほぼ等量であった。これに対し、花序をアルミ箔で被覆すると、両色素量ともほぼ半分量に減少した。

ところで、寒冷紗で光量を減じた50%、25%および10%光量下の花序では、両色素量とも処理開始時のそれとほぼ等量で、自然光下での色素量に比して大差は認められなかった。つまり、自然光下の色素量に対するそれぞれの光量下の色素量比からも明らかなように、アルミ箔被覆で有意的に量比が小さいことを除いて、他は自然光下と有意差が認められないばかりか、10%光量下のベタキサンチン色素量は逆に量比が大きい傾向すらみられた。

つぎに、Table 3 はいったん白化した花序を種々の光量下に8日間おいた場合のベタシアニンおよびベタキサンチン色素の生成量を示したものである。まず、花序を引き続きアルミ箔で被覆すると、両色素量は当

然のこととして減少した。これに対し、自然光下と50%光量下の花序は、処理開始時に比べてベタシアニン色素は7~8倍、またベタキサンチン色素は4~5倍の増加を示した。さらに、25%および10%光量下の両色素量はある程度増加するものの、自然光下のそれと比較すると約1/2量であった。アルミ箔被覆の色素量に対するそれぞれの光量下の色素量比からも明らかなように、自然光および50%光量>25%および10%光量>アルミ箔被覆の順に色素量が多かった。

以上、色素生成と光量との関係で興味深い点は、着色花序と白化花序とで光に対する反応が異なることである。すなわち、前者の花序は光量を大幅に減じても色素量はほとんど減少しないのに対し、後者の花序は光量を増すほど色素量が増加する傾向を示したことがある。

2. 色素生成に及ぼす各種セロファン紙被覆の影響 着色した花序を種々のセロファン紙で被覆した場合

Table 4. Effect of light through various cellophane films on the pigment content in the coloured inflorescences of *Celosia cristata*

Film used	Pigment content			
	Synthesized / original amount		Percentage of clear cellophane control values	
	Betacyanins	Betaxanthins	Betacyanins	Betaxanthins
C control	1.26	1.08	100 ^a	100 ^a
R	0.66	0.63	52 ^b	58 ^b
B	0.76	0.69	60 ^b	64 ^b
RR	0.28	0.33	22 ^d	30 ^c
BB	0.30	0.29	24 ^d	26 ^c
RB	0.42	0.37	33 ^c	34 ^c

All experiments were conducted under the cover of a sheet of cheese cloth (50% of natural light intensity). Pigments were extracted from the inflorescences after 8 days treatment.

a, b, c and d: Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% probability level.

Table 5. Effect of light through various cellophane films on the pigment content in the etiolated inflorescences of *Celosia cristata*

Film used	Pigment content			
	Synthesized / original amount		Percentage of clear cellophane control values	
	Betacyanins	Betaxanthins	Betacyanins	Betaxanthins
C control	5.90	2.94	100 ^a	100 ^a
R	1.45	1.00	25 ^c	34 ^c
B	4.27	2.33	72 ^b	79 ^b
RR	0.55	0.50	9 ^d	17 ^{cd}
BB	1.55	0.89	26 ^c	30 ^c
RB	0.45	0.33	8 ^d	11 ^d

All experiments were conducted under the cover of a sheet of cheese cloth (50% of natural light intensity). Pigments were extracted from the inflorescences after 8 days treatment.

a, b, c and d: Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% probability level.

のベタシアニンおよびベタキサンチン色素量を Table 4 に示した。まず、対照区は両色素量とも処理開始時のそれとほぼ同じであったが、R および B 被覆はやや色素量が減少した。また、RR, BB および RB 被覆はさらに著しく色素量が減少した。

対照区の色素量に対する各被覆の色素量比から明らかかなように、ベタシアニン色素は対照区 > R および B > RB > RR および BB の順に、またベタキサンチン色素は対照区 > R および B > RR, BB および RB の順にそれぞれ色素量が多かった。この際、B と RR 被覆では Table 1 に示したように相対光量はほぼ同じでありながら、RR 被覆で両色素量が少なかった点が注目された。

いっぽう、白化した花序を種々のセロファン紙で被

覆した場合のベタシアニンおよびベタキサンチン色素量を Table 5 に示した。すなわち、対照区は処理開始時の色素量に比べ両色素とも著しく増加するのは当然のこととして、B 被覆でもこれについて生成量の著しい増加がみられた。さらに R と BB 被覆は相対光量が大幅に異なるがほぼ同じ色素量で、かつ処理開始時の色素量を保った。さらに、ここでも RR 被覆は著しく色素量が少なかった。

白化花序の場合、対照区の色素量に対する各被覆の色素量比からも明らかかなように、両色素量とも対照区 > B > R および BB > RR および RB の順に色素量が多かった。とくに着色花序に比して R, RR および RB 被覆で極めて色素量比が小さかった点が注目され、着色花序と白化花序とで各種セロファン紙を通して得

Table 6. Effect of some growth regulators on the pigment content in the coloured inflorescences of *Celosia cristata* under various light conditions

Treatment	Pigment content*1							
	Betacyanins				Betaxanthins			
	Dark	10% Light	25% Light	50% Light	Dark	10% Light	25% Light	50% Light
L-DOPA (10mM)	100	112	132 ^{P2}	118	100	109	138 ^P	100
(20mM)	235 ^P	165 ^P	133 ^P	191 ^P	236 ^P	153 ^P	119	148 ^P
(40mM)	159 ^P	124	128	132 ^P	186 ^P	113	119	119
GA (50ppm)	29 ^{I2}	74 ^I	83 ^I	105	43 ^I	59 ^I	69 ^I	86
(100ppm)	71	103	72 ^I	82	71	81	60 ^I	71 ^I
(200ppm)	29 ^I	65 ^I	89	100	50 ^I	59 ^I	81 ^I	86
BA (10ppm)	53 ^I	71 ^I	83 ^I	91	79	75 ^I	88	81
(20ppm)	136	56 ^I	61 ^I	141 ^P	135	63 ^I	69 ^I	129
(40ppm)	65 ^I	71 ^I	56 ^I	68 ^I	57 ^I	75	69 ^I	62 ^I
B-995 (1000ppm)	106	91	106	114	107	88	106	100
(2000ppm)	59 ^I	129	111	109	64 ^I	100	100	90
(4000ppm)	129	118	111	141 ^P	136	100	106	114

*1 Expressed as a percentage of various light control values.

*2 P: pigment production promoted, I: pigment production inhibited

られた光に対する反応が、この場合でも異なっていた。

3. 色素生成に及ぼす 2, 3 の生長調節物質の影響

Table 6 は着色した花序を種々の光量下におき、生長調節物質を与えた場合のベタシアニンおよびベタキサンチン色素の生成量を示したものである。まず、L-DOPA ではいずれの濃度区にも濃紫色の斑点が花序に現われたことからうかがわれるように、両色素の生成を促進する傾向がみられた。この傾向は光量の差異によって若干の違いが認められるが、濃度 20mM のときに生成量が多かった。L-DOPA はベタレイン系色素の前駆物質であるが、*A. caudatus*^{1, 2, 4, 10)} や *A. tricolor*⁴⁾ の実生と同じように、トサカケイトウも L-DOPA を吸収し、かつベタレイン系色素へと代謝する能力を持つことを示唆するものである。

つぎに、GA は光量、濃度のいかなを問わず両色素量はそれぞれの光量下の対照区より少なく、前記の *Amaranthus* 属植物の場合と同様^{6, 9, 10)}、ベタレイン系色素生成を抑制する傾向を示した。

ところで、BA は一般に *Amaranthus* 属植物の実生のベタレイン系色素生成に関して、DOPA と同様に促進作用を示すが(著者ら 未発表データ)、トサカケイトウの場合は逆に両色素の生成を抑制した。なお growth retardant のひとつである B-995 はベタレイン系色素生成にほぼ無関係であった。

考 察

トサカケイトウ花序のベタレイン系色素生成に関して特に興味深いのは、花序をアルミ箔で被覆するといったん生成した色素が消失し、再び光によって生成する点である⁹⁾。本実験はこの色素の消失と再生成の過程で、光や生長調節物質がどのように関与するかを明らかにすることを目的とした。

まず光量についてであるが、光量を増せば増すほど、あるいは光に遭遇する時間が長ければ長いほど、一般に植物色素は多量に生成される⁹⁾。この現象は *A. caudatus* や *A. tricolor* のベタレイン系色素だけでなく、本実験のトサカケイトウ花序の再着色の場合の色素生成にもみられた。本実験ではトサカケイトウの生長点を暗処理し、その後出蓄してくる花序の色素生成と光量とのかわりあいについては検討できなかったが、おそらく色素再生成と同様な色素生成の様相を示すのではなからうか。

トサカケイトウ花序は色素が消失する過程と再生成する過程で光量に対する反応が異なる点で特異的であった。すなわち、前者の過程は自然光をほぼ90%減光しても色素量に変化をきたさないのに対し、後者の過程は自然光の50%の光量で色素を十分に生成した。つまり、いったん生成した色素を消失させるのに減じた

ければならない光量は、白化した花序に色素を生成させるのに必要なそれより多いことを意味するものである。

つぎに光質についてであるが、花序を種々のセロファン紙で被覆した場合にも、前述の色素が消失する過程と再生成する過程とで光に対する反応が異なる点が認められた。すなわち、R, RR および RB 被覆では対照区に対する色素生成比率が両過程で大幅に異なった。もちろん両対照区の色素量に差があるので厳密に比較することはできないが、少なくとも光量の場合と同様に、光質に対してもトサカケイトウは特異的な色素生成の機作を示すものといえる。

いっぽう、セロファン紙を通過する光量を考慮して色素生成をみると、青色セロファン紙は同じ光量の赤色セロファン紙被覆より色素の消失量が少なく、かつ再生成量が多かった。加えて、とくに色素の再生成過程で明らかのように、光量の少ない青色セロファン紙被覆は自然光の10%光量下よりも (Table 3), また光量の多い赤色セロファン紙被覆より色素量が多かった。セロファン紙を通して得た光を単色光と見る訳にはいかないが、青色あるいは赤色光に富む光と解釈すれば (Fig. 1), 本実験の結果は赤色光は青色光より色素生成を抑制する、または青色光は赤色光より色素生成を促進する作用が大きいことを示すものである。

この青色光や赤色光の色素生成に対する促進あるいは抑制作用について、French¹⁾ は *A. caudatus* 実生の色素生成に対する作用スペクトルを測定し、短時間の照射は 600~700nm の範囲の光が、また長時間の照射は 450~500nm の範囲の光が相対的に色素生成を促進することを報告している。本実験の場合前者の範囲を透過するものは赤色セロファン紙で、後者のそれに相当するものは青色セロファン紙である。したがって、8日間という長期にわたって被覆したことを考慮すれば、偶然の一致とはいえ *A. caudatus* の色素生成とその現象を同じくするものである。

ところで、ベタレイン系色素はチロシンから DOPA を経て生合成されるが、この生合成過程は光ならびに GA, growth retardant, サイトカイニン類および抗生物質等によって制御される^{6,10)}。

本実験は、トサカケイトウ花序も同様な生合成経路を持つことを想定して行ったが、処理した生長調節物質のうち、花序中に取り込まれ色素生成を促進したのは L-DOPA で、逆に抑制したのは GA と BA であった。

French ら²⁾ は *A. caudatus* で光の存在のいかんを

問わず DOPA が色素生成を促進すること、また Stobart ら¹⁰⁾ は同植物で GA は前駆物質がチロシンへ生合成される過程でチロシンの蓄積を抑制し、結果として色素合成を抑えることを報告している。トサカケイトウの場合、こと DOPA と GA に関しては *Amaranthus* 属植物の実生がこれらの物質に対して持つ作用機作と同様の機作を内在することが示唆された。

これに対し、BA は *Amaranthus* 属植物の実生の場合とは逆に色素生成を抑制した。この抑制作用がどのようなことに起因するのかわからないが、あるいは処理濃度等がトサカケイトウの色素生成促進作用を示す範囲とは異なっていた可能性も考えられないではない。今後細かく検討する必要がある。

要 約

トサカケイトウ「ピラミッド久留米」の花序のベタレイン系色素生成に対する光と生長調節物質の影響について検討したもので、得られた結果の概要はつぎのとおりであった。

1. 着色花序の場合は自然光の10%の光量でも色素量は減少しなかったのに対し、白化花序の場合は自然光の50%の光量ではじめて十分に色素を生成した (Table 2, 3)。また、花序を R, RR および RB で被覆すると、白化花序の場合の対照区に対する色素量比は着色花序の場合のそれより著しく大きかった (Table 4, 5)。このように、自然光量を減じた場合や花序を種々のセロファン紙で被覆した場合、色素の消失および再生成の両過程で光に対する色素生成反応が異なった。
2. 着色花序と白化花序では、B被覆は同じ光量の RR 被覆より色素生成を促進し、また白化花序では、BB 被覆は光量の多い RR 被覆より色素生成を促進する傾向を示した。とくに白化花序の B被覆は自然光量の10%下より色素生成量が多く、R被覆は逆に少なかった (Table 1~5)。
3. 生長調節物質のうち、L-DOPA は色素生成を促進したが、GA および BA は逆に抑制する傾向を示した。また、B-995 は色素生成とは無関係であった (Table 6)。

文 献

- 1) French, C.J., Pecket, R.C. and Smith, H.: Effect of light and exogenously applied precursors on amaranthin synthesis in *Amaranthus caudatus*. *Phytochem.*, 12, 2887-2891 (1973)
- 2) French, C.J., Pecket, R.C. and Smith, H.: Effect of exogenous DOPA and tyrosine on amaranthin synthesis

- and pigment type in *Amaranthus*. *Phytochem.*, **13**, 1505-1511 (1974)
- 3) Garay, A.S. and Towers, G.H.N.: Studies on the biosynthesis of amaranthin. *Can. J. Botany*, **44**, 231-236 (1966)
 - 4) Giudici de Nicola, Amico, V., Sciuto, S. and Piattelli, M.: Light control of amaranthin synthesis in isolated *Amaranthus cotyledons*. *Phytochem.*, **14**, 479-481 (1975)
 - 5) Harborne, J.B.: Comparative biochemistry of the flavonoids. p. 273-275, Academic Press, London and New York (1967)
 - 6) Kinsman, L.T., Pinfield, N.J. and Stobart, A.K.: The hormonal control of amaranthin synthesis in *Amaranthus caudatus* seedlings. *Planta*, **127**, 207-212 (1975)
 - 7) Koehler, K.H.: Photocontrol of betacyanin synthesis in *Amaranthus caudatus* seedlings in the presence of kinetin. *Phytochem.*, **11**, 133-137 (1972)
 - 8) 坂田祐介・有隅健一：トサカケイトウのベタレイン系色素生成に関する研究。I. 光の影響について。鹿大農学術報告, **30**, 41-46 (1980)
 - 9) Stobart, A.K., Pinfield, N.J. and Kinsman, L.T.: The effects of hormones and inhibitors on amaranthin synthesis in seedlings of *Amaranthus tricolor*. *Planta*, **94**, 152-155 (1970)
 - 10) Stobart A.K. and Kinsman, L.T.: The hormonal control of betacyanin synthesis in *Amaranthus caudatus*. *Phytochem.*, **16**, 1137-1142 (1977)

Summary

The present investigation was conducted to obtain more detailed figures concerning the effects of light and some growth regulators on to the synthesis of betalains in the *Celosia cristata* inflorescences. The results obtained were summarized as follows.

1. No decreasing occurred in the amount of betalains in the coloured inflorescences, even when the light intensity had been lowered to as low as 10% of the natural daylight, whereas in the etiolated ones as much as 50% of the natural daylight was required for being enabled to synthesize the similar amount of betalains to full daylight control (Tables 2 and 3).

Furthermore, when both inflorescences were covered with R, RR or RB cellophane films, the relative amount of synthesized pigment to the control value in the coloured inflorescences was noted to be higher than that in the etiolated ones (Tables 4 and 5).

Therefore, it appeared that the responses in the pigment syntheses to the various light intensities or the light qualities were different with the difference of inflorescences, whether coloured or previously etiolated.

2. In the relative effectiveness of light-quality on the pigment synthesis, the blue light promoted, but the red one rather inhibited their syntheses in both coloured and etiolated inflorescences, because the amount of pigment under the former light was higher and that under the latter light was lower than the natural daylight when compared considering the light intensity (Tables 1 to 5).

3. Exogenously applied L-DOPA promoted the pigment synthesis in the coloured inflorescences. On the other hand, BA and GA inhibited the pigment synthesis, and neither the promotive nor inhibitive effect was observed by the application of B-995 (Table 6).