

温度条件がトルコギキョウ覆輪花弁の着色面積率に及ぼす影響

福田直子*・中山真義

花き研究所 305-8519 つくば市藤本

Influence of Temperature on the Coloring Area Rate in Picotee Petals of *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.

Naoko Fukuta* and Masayoshi Nakayama

National Institute of Floricultural Science, Tsukuba, Ibaraki 305-8519

Abstract

Coloring area ratio in *Eustoma* picotee petals often increases in the winter, leading to a reduction of commercial value. It has been thought that encountering a low temperature before flowering causes this increase. We studied the effects of temperature on the picotee pattern of 'Candy Marin', which is a very early flowering cultivar, using artificial climate chambers under a 12-h light condition. Under constant temperature conditions, the picotee coloring area rate was the highest at 20°C and a negative correlation was found between the rate and growth temperature. Changing daytime and nighttime temperatures to 19°C and 25°C decreased the ratio. Even if the plant encountered 5°C at night, the picotee coloring area rate was kept low by encountering 35°C in daytime, suggesting that day-time treatment at high temperature could avoid increasing the rate in the winter season. The temperature condition reducing the picotee coloring area rate tended to decrease growth amounts as well. We also found that increase in the coloration area ratio is not directly related to an increase in the anthocyanin-flavonoid concentrations.

Key Words : anthocyanin, diurnal range, maximum day temperature, picotee coloring area rate

キーワード : アントシアニン, 覆輪着色面積率, 日較差, 日最高気温

緒 言

白色花弁の弁端が紫やピンクに縁取られる覆輪模様はトルコギキョウの代表的な花色である。覆輪形質は着色部の色彩の他、花弁面積に占める着色部の割合とその形によって構成されている。これらは品種特性として重要な形質であり、画像解析と統計学的な手法によって数量化することができる (Yoshioka ら, 2006)。覆輪花色の品質は、花弁先端側の着色部と基部側の白色部のコントラストが明瞭で、同一品種では個体や環境による着色部の面積や形に大きな違いがないこと、即ち覆輪安定性が高いことが望まれる。しかし、トルコギキョウでは覆輪花弁の着色面積率は大きく変化する場合があり、本研究に用いた品種 'キャンディマリン' では、花弁縁辺部や中央部、および花底部に着色部が拡大し、著しい場合は花弁全体が着色する (第1図)。このような着色部の変形を伴った拡大は「色流れ」と呼ばれており、切り花品質に大きく影響する。

覆輪着色面積率は季節変動し12月から3月の冬季に採花する作型で高くなることが知られている (渡辺, 2006)。覆

輪着色面積率とその標準偏差で表される覆輪安定性には品種間差が認められることから (福田ら, 2005)、冬季に高品質な覆輪花色の切り花を生産するためには、覆輪安定性の高い品種を用いることが重要である。しかし、冬季に収穫する作型においては早生性や低温伸長性等の形質を優先して品種を選定するため、覆輪安定性の低い品種を栽培せざるを得ない場合も多い。そこで、「色流れ」を回避して高品質な覆輪花色の切り花を生産するために、栽培環境の各要因が覆輪安定性に及ぼす影響を明らかにする必要がある。

トルコギキョウの紫やピンク色の花弁の主要色素はアントシアニンであることが知られている (Asen ら, 1986; Markham・Ofman, 1993)。アントシアニンの生合成は環境条件の影響を受けやすく高温や低照度条件で生合成量が低下する一方、低温で増加する多くの植物で報告されている (Christine ら, 1994; Leyva ら, 1995; Maekawa・Nakamura, 1977; Shvartsa ら, 1997)。覆輪花色についてもスプレーギクにおいて、夏開花の作期や30°Cの高温条件でアントシアニン量が低下するとともに着色部位が縮小することが報告されている (野崎ら, 2006)。そこで本報告では人工気象器を用い、光量と日長、土壤水分および施肥量を同一条件として、温度条件がトルコギキョウの覆輪着色面積率と着色部のアントシアニンの濃度に及ぼす影響を調査した。

2007年10月19日 受付 2008年4月30日 受理

* Corresponding author. E-mail: faba@affrc.go.jp



第1図 F_1 品種 ‘キャンディマリン’ の覆輪形質の変化
着色面積率 a ; 19%, b ; 38%, c ; 58%, d ; 75%, e ; 100%

材料および方法

1. 植物材料

供試材料として覆輪安定性が低く、環境の影響を受けやすい極早生の F_1 品種 ‘キャンディマリン’ ((株) ミヨシ) を用い (福田ら, 2005), 培養土 (HYPONeX Metro-Mix350) をつめた 288 穴のセルトレーに実験 1 では 2005 年 1 月 6 日, 実験 2 では 2004 年 8 月 6 日, 実験 3 では 2006 年 12 月 1 日に播種した。発芽を揃える目的で 10°C 暗黒条件において 2 週間種子冷蔵処理を行った後, 昼温 25°C 夜温 18°C 光量子束密度 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 12 時間日長で約 6 週間育苗し, 粒状育苗培養土とバーミキュライトを容量比 3 対 1 の割合で混合し充填した直径 10.5 cm のビニルポットに定植した。常時ビニルポットの底面から給水させ, 個体あたり元肥 $\text{N} : \text{P}_2\text{O} : \text{K}_2\text{O} = 122 : 577 : 182 \text{ mg}$ とし, $\text{N} : \text{P}_2\text{O} : \text{K}_2\text{O} = 15 : 8 : 17 \text{ mg}$ 相当の液肥を週 1 回施与した。

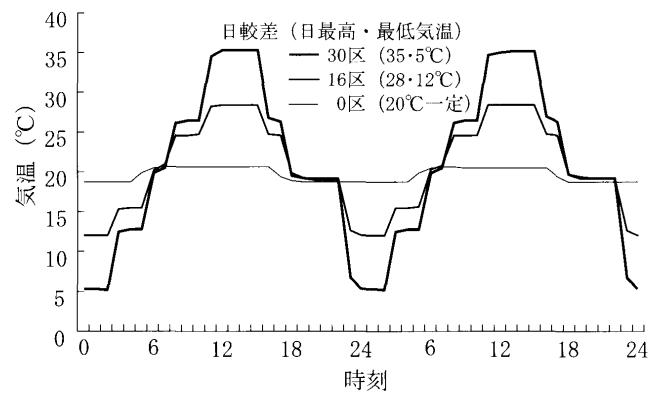
2. 温度処理

1) 一定温度が覆輪着色面積率に及ぼす影響と花弁色素含量との関係

人工気象器 (日本医化器械製作所 LPH-350SP) に搬入して昼温 25°C 夜温 18°C 光合成光量子束密度 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 12 時間日長で約 4 週間栽培した後に温度処理を開始した。温度処理は昼夜とも一定温度として $20, 25, 35^{\circ}\text{C}$ 区を設け, 光条件はいずれも 6:00 ~ 18:00 を明期とする 12 時間日長, 光量子束密度 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ とした。1 区 20 個体として各個体の主茎頂花の 5 枚の花弁のうちの 1 枚を用い, 各区 20 枚の花弁について花弁面積, 覆輪着色面積, 形質を調査した。さらに, 生育中庸な 10 個体について 3 輪以上開花時に切り花長, 切り花重, 主茎節数, 総節数, 花蕾数等の切り花形質を調査した。各温度処理区の開花花弁のフラボノイドとアントシアニンの濃度を分析した。

2) 昼温と夜温が覆輪着色面積率に及ぼす影響

実験 1 と同様に鉢上後 4 週間栽培した後, 日平均気温を 22°C として昼温 (12 時間) / 夜温 (12 時間) を $25 / 19^{\circ}\text{C}$ とする変温区, $19 / 25^{\circ}\text{C}$ とする逆変温区, および昼夜 22°C の一定区を設けて栽培した。1 区 20 個体供試し, 実験 1 と



第2図 20°C を基点とする異なる日較差条件の気温実測値
(実験 3)

同様に花弁形質と切り花形質を調査した。

3) 20°C を基点とした日較差の違いが覆輪着色面積率に及ぼす影響

定植後人工気象器に搬入して 20°C 一定, 光量子束密度 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 12 時間日長で約 4 週間栽培した後に日平均気温を 20°C として, 11:00 ~ 14:00 の間日最高気温 28°C , 23:00 ~ 1:00 の間日最低気温 12°C と変温する日較差 16 区 (日最高・最低気温 $28 \cdot 12^{\circ}\text{C}$), 同じく日最高・最低 $35 \cdot 5^{\circ}\text{C}$ と変温する日較差 30 区, および 20°C 一定の日較差 0 区を設けた (第2図)。各区 20 個体供試し, 実験 1 と同様に花弁形質と切り花形質を調査した。

3. 花弁形質の調査方法

1) 覆輪着色面積率

各個体の頂花の花弁 1 枚を供試し, 花弁の表面の像をスキャナー (EPSON GT9400UF, 出力設定: イメージタイプ 24 bit カラー, 解像度 240 dpi) を用いて BMP 形式でパソコンに取り込んだ。画像解析ソフト Image J (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>) を用いて画像の RGB 値をもとに花弁面積および着色面積を算出し, 花弁における着色部の割合を求めた。統計解析については各個体の覆輪着色面積率をアーチカルサイン変換後対数変換した値を用いて栽培条件の差異を検定するため分散分析を行うとともに, Tukey-Kramer の多重比較検定を行った。これらの解析には統計解析ソフト JMP4.0J (SAS Institute Inc., 2000) を用いた。

2) 花弁色素の分析

20, 25, 35°C一定温度条件で栽培した花弁の、着色部と白色部を切り分けて色素分析を行った。なお20°C区では着色面積が顕著に拡大したため、他の温度区の着色部に相当する花弁先端側着色部と、白色部に相当する花弁基部側に切り分けて分析を行った。生花弁0.1g当たり1mLの50%酢酸水を添加し、ガラス棒で花弁を磨碎して一晩静置し、上清を回収した。残渣に1回目の2分の1量の抽出溶媒を添加して上清を回収する操作を2回行い、脱脂綿で濾過した抽出液10μLを分析に用いた。分析条件はODSカラム(Thermo Separation Products Inertsil ODS-2 5 μm 2.1 × 250 mm 9CI41010 GL Sciences Inc.)を装着した高速液体クロマトグラフ(Hewlett Packard Series 1100)を用いて、溶媒は1.5%リン酸とアセトニトリル50%、酢酸40%、リン酸1.5%の組合せが90:10から40分後に50:50になるようグラジェントをかけて1分当たり0.8mLの流速で溶出した。360 nmにおける吸光でフラボノイド、530 nmの吸光でアントシアニンを検出し、それぞれルチンおよびシアニジンルチノサイド当量として定量した。1輪を1反復とし、3反復の平均値を用いた。

結果

1. 一定温度が覆輪着色面積率に及ぼす影響と花弁色素量との関係

花弁着色面積は20°C区の10.5 cm²に比べると、25°C区は1.8 cm²と著しく減少した。35°C区における花弁着色面積は25°C区とほぼ同じであった(第1表)。花弁面積は20°C区と25°C区が同程度であり、35°C区では減少した。その結果着色面積率は20°C区で90.3%と最大であったのに対して、25°C区では15.1%と著しく減少し35°C区では23.1%になった。

着色面積率が最も低い25°C区と最も高い20°C区の花弁先端側着色部のアントシアニンとフラボノイドの濃度を比較したところ、両化合物ともに有意な差は認められなかった(第3図)。35°C区における着色部のフラボノイドとアントシアニン濃度は25°C区より有意に少なかった。一方、25°C区と35°C区の花弁基部側白色部におけるアントシアニンとフラボノイドの濃度は先端側着色部よりも顕著に少なかった。20°C区において他の温度区では白色となる花弁基部側に着色が認められたが、フラボノイドとアントシアニンの濃度はそれぞれ、本来の着色部である先端側着色部

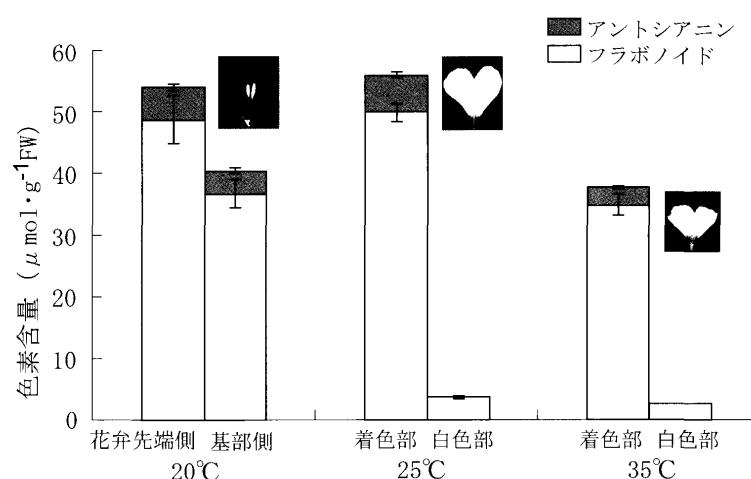
第1表 一定温度が花弁形質と切り花形質に及ぼす影響

温度 (°C)	花弁形質				切り花形質				栽培日数 ^z
	着色面積 (cm ²)	花弁面積 (cm ²)	着色面積率 (%)	切り花長 (cm)	切り花重 (g)	主茎節数	分枝数	花蕾数	
20	10.5 a ^y	11.7 a	90.3 a	35.5 b	89.8 a	11.5	6.9 a	25.9 a	147
25	1.8 b	12.0 a	15.1 c	42.6 a	70.8 b	11.1	5.0 b	20.1 ab	108
35	1.6 b	7.2 b	23.1 b	45.6 a	39.9 c	11.2	3.4 c	18.9 b	76
分散分析	*** ^x	***	***	***	***	NS	***	*	

^z定植から切り花調査までの日数を示す

^yTukey のHSD検定により異なる英文字間には有意差($P < 0.05$)があることを示す

^x*, ***はそれぞれ5%, 0.1%水準で有意、NSは有意差がないことを示す



第3図 覆輪花弁の部位別色素含量に及ぼす温度の影響

垂直線は標準誤差を示す

20°Cについては着色面積率90%以上の花弁の先端側と基部側に切り分けて供試

第2表 昼夜温の逆転が花弁形質と切り花形質に及ぼす影響

昼温／夜温 (°C)	花弁形質			切り花形質				栽培日数 ^z	
	着色面積 (cm ²)	花弁面積 (cm ²)	着色面積率 (%)	切り花長 (cm)	切り花重 (g)	主茎節数	分枝数		
25/19	8.2 a ^y	13.1 a	66.4 a	37.4 ab	106 a	12.2	6.1	15.6	113
22/22	6.5 ab	13.2 a	53.4 ab	39.7 a	96 ab	12.6	5.0	16.3	112
19/25	3.1 b	11.2 b	26.0 b	35.5 b	89 b	12.3	5.4	17.8	110
分散分析	** ^x	*	*	**	*	NS	NS	NS	

^z定植から切り花調査までの日数を示す^yTukey の HSD 検定により異なる英文字間には有意差 ($P < 0.05$) があることを示す^x, ^{**}はそれぞれ 5%, 1% 水準で有意, NS は有意差がないことを示す

第3表 20°C を基点とする日較差の違いが花弁形質と切り花形質に及ぼす影響

日較差 (最高・最低気温 °C)	花弁形質			切り花形質				栽培日数 ^z	
	着色面積 (cm ²)	花弁面積 (cm ²)	着色面積率 (%)	切り花長 (cm)	切り花重 (g)	主茎節数	分枝数		
0 (20・20)	12.2 a ^y	12.4 a	98.1 a	54.7	175 a	17.2 a	6.4	37.3	161
16 (28・12)	9.0 b	12.5 a	71.5 b	51.6	143 b	15.5 b	7.3	34.9	143
30 (35・5)	2.1 c	10.4 b	20.1 c	52.2	110 c	12.7 c	7.8	31.6	123
分散分析	*** ^x	***	***	NS	***	***	NS	NS	

^z定植から切り花調査までの日数を示す^yTukey の HSD 検定により異なる英文字間には有意差 ($P < 0.05$) があることを示す^x*** は 0.1% 水準で有意, NS は有意差がないことを示す

の約 80% であった。

切り花形質のうち主茎節数以外の形質については栽培温度処理の効果が有意に認められた(第1表)。切り花長は温度が上昇するほど増加する傾向であるが、切り花重、分枝数、花蕾数で表される生育量は20°C 区が最も大きく温度の上昇とともに減少した。

2. 昼温と夜温が覆輪着色面積率に及ぼす影響

夜温 25°C 区の着色面積と花弁面積は、昼温 25°C 区よりも小さかった(第2表)。昼温 25°C 区の花弁着色面積率は 66.4% であるのに対して夜温 25°C 区は 26.0% と有意に低下した。22°C 一定区の着色面積と着色面積率は両処理区のほぼ中間の値を示した。切り花重は昼温 25°C 区が夜温 25°C 区よりも大きいが 22°C 一定区と差は認められず、頂花節、分枝数、花蕾数は処理間に有意な差は認められなかった。

3. 20°C を基点とした日較差の違いが覆輪着色面積率に及ぼす影響

日平均気温を 20°C として日較差を 3 段階に変化させた場合、花弁の着色面積は日較差 0 区 (20°C 一定) が最も大きく花弁のほぼ全面が着色し、日較差 16 区 (日最高・最低気温 28・12°C)、日較差 30 区 (35・5°C) の順に日較差が大きいほど減少した(第3表)。花弁面積は日較差 0 区と 16 区が同様であるのに対して日較差 30 区はこれらよりも減少した。日較差 30 区の花弁面積の減少の程度は着色面積よりも小さかった。その結果、日較差 0 区の着色面積率は 98.1% だったのに対して、16 区は 71.5%，30 区では 20.1% と、日較差の上昇とともに顕著に低下した(第3表)。

切り花長は処理間に有意な差は認められなかったが、切り花重と頂花節は日較差が大きいほど減少し、0 区の切り花重 175 g に対して 30 区は 110 g、主茎節数は 17 節に対して 13 節と 30 区では明らかに花成が促進された(第3表)。分枝数と花蕾数は処理間に有意差が認められなかった。

考 察

圃場栽培試験において、温度は光や土壤水分などと運動して変化することから、温度の影響を詳細に解析することは困難である。本研究では、人工気象器を用いて他の環境要因を一定とすることで、温度が覆輪着色面積率に及ぼす影響を明らかにした。

著者らはこれまでに、トルコギキョウの覆輪形質は季咲きの作型よりも 20°C 一定条件での栽培で不安定化し、その程度には品種によって大きな違いが見られることを明らかにしている(福田ら, 2005)。本研究においても 20°C 一定条件で着色面積率は 90 ~ 100% と最大値となり、同様の結果が得られた。さらに、① 20 ~ 25°C の範囲における生育温度と着色面積率の間に明瞭な負の相関が認められ、25°C 一定条件で覆輪着色面積率は最小値となること、② 日平均気温を同一にした場合、昼温が 19°C 夜温 25°C と通常と逆転する方が着色面積率の増加が抑制され、さらに③ 日最高気温が 35°C と高ければ日最低気温が 5°C と低温でも着色面積率は 20% と低い値となることを新たに見出した。これらを統一的に説明するのは困難であるが、切り花のボリューム確保の観点から生育適温とされる夜温 15 ~ 18°C、

昼温 25 ~ 28°C (塚田, 2003) 付近で変温する条件で着色面積率が高く、夜温が昼温よりも高い条件や、日最低気温が 5°C 日最高気温 35°C と極端に変温する等、むしろストレス負荷条件と考えられる温度で着色面積率が低くなることが興味深い。覆輪着色面積率は採花前の 15°C および 20°C 未満の気温との積算遭遇時間との間に高い正の相関があることが報告され (渡辺, 2006), 低温が覆輪品質の低下を招くと考えられてきた。しかし、原油価格高騰の影響のため生産現場では暖房設定温度は下げざるを得ない状況で、覆輪品質や生産性の低下が懸念される。夜温 15°C の条件下日中 4 時間以上 30°C に遭遇させることで覆輪着色面積の拡大が抑制されることが報告されているが (渡辺・金子, 2003), 本研究においてはさらに日最低気温が 5°C と低くても日最高気温が 35°C と高ければ覆輪形質が安定化するうえ、開花が促進されて栽培期間が短縮するとの結果が得られた。このことから、現状よりも昼温を高くすることを前提にすれば夜温を下げても覆輪着色面積率の増加を回避し、生産性を維持できる可能性が示された。

多くの植物においてアントシアニンの濃度と生育温度との間には負の相関が認められ、ペチュニア (Shvartsa ら, 1997) やスプレーギク (野崎ら, 2006) 等において高温条件で花弁面積が縮小し、アントシアニン色素量が低下することが知られている。本実験の結果、35°C 一定区の花弁面積は 25°C や 20°C 区と比較して小さく、着色部のフラボノイドとアントシアニンの濃度も低下したことから、トルコギキョウの花弁面積と色素濃度も他の植物と同様の高温の影響を受けることが示された (第 3 図)。しかし、35°C 区の着色面積率は 25°C 区よりもむしろ高く、着色面積率が大幅に増加した 20°C 区のアントシアニンとフラボノイド濃度は最も着色面積率が低い 25°C 区と同程度で、覆輪着色部の色素濃度と着色面積率との間には相関が認められなかった。

覆輪着色部にはアントシアニンとフラボノイドが存在するのに対して、白色部はアントシアニンが検出されないだけでなく、フラボノイドの濃度も着色部の 10% 以下と少量であった。我々はトルコギキョウの覆輪花弁の基部側白色部においてはアントシアニンとフラボノイドの共通の生合成段階が抑制されていることを明らかにしている (福田ら, 2003)。温度による着色面積の変異はこの抑制機構が作用する範囲の変動、または機構の解除によって生じると考えられた。

摘要

トルコギキョウの覆輪花弁の着色面積率は冬季の栽培においてしばしば増加し、商品価値を低下させる。開花前の低温への遭遇が着色面積率の増加の原因と考えられている。我々は人工気象器を用いた 12 時間日長条件下で、極早生品種 ‘キャンディマリン’ の覆輪模様に与える温度の影響を調査した。一定温度条件下では着色面積率は 20°C で最大値を示し、生育温度と着色面積率の間に負の相関が見

出された。昼温よりも夜温が高い条件で着色面積率が低下した他、35°C の昼温を与えると夜間に 5°C に遭遇しても着色面積率は小さかった。これらから、冬季における着色面積率の増加は昼温を高めることで回避できる可能性が示された。処理開始から開花までの温度条件が一定である本実験条件においては、着色面積率を減少させる温度条件は、生育量も低下させる傾向も認められた。我々はさらに、覆輪着色面積率と花弁着色部のアントシアニン-フラボノイド色素の濃度との間には直接的な関係が無いことを明らかにした。

謝 辞 本研究を取りまとめるに当たり、有益なご助言とご指導を頂いた元花き研究所研究管理監 (現在農林水産技術会議事務局) 柴田道夫博士に感謝の意を表します。

引用文献

- Asen, S., R. J. Griesbach, K. H. Norris and B. A. Leonhardt. 1986. Flavonoids from *Eustoma grandiflorum* flower petals. *Phytochemistry* 25: 2509-2513.
- Christine, P. J., M. R. Alfenito and V. Walbot. 1994. Impact of low-temperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways: Enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings. *Planta* 194: 541-549.
- 福田直子・大宮あけみ・伊藤佳央・小関良宏・野田尚信・菅野善明・鈴木正彦・中山真義. 2003. トルコギキョウの覆輪形成に関与するフラボノイド系色素の生合成制御. 園学雑. 72 (別1): 360.
- 福田直子・大澤 良・吉岡洋輔・中山真義. 2005. トルコギキョウにおける覆輪安定性の数量化による品種間変異の評価. 園学研. 4: 265-269.
- Leyva, A., J. A. Jarillo, J. Alinas and J. M. Martinez-Zapater. 1995. Low temperature induces the accumulation of phenylalanine ammonia-lyase and chalcone synthase mRNAs of *Arabidopsis thaliana* in a light-dependent manner. *Plant Physiol.* 108: 39-46.
- Maekawa, S. and N. Nakamura. 1977. Studies on the coloration of carnation floweres. VII. The effect of temperature on the coloration and pigmentation for the intact flower and plant growth. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 45: 375-382.
- Markham, K. R. and D. J. Ofman. 1993. Lisianthus flavonoid pigments and factors influencing their expression in flower colour. *Phytochemistry* 34: 679-685.
- 野崎香樹・村本智香・高村武二郎・深井誠一. 2006. アプロコットおよび覆輪花系スプレーギクの花色に及ぼす作期と栽培温度の影響. 園学研. 5: 123-128.
- Shvartsa, M., D. Weiss and A. Borochova. 1997. Temperature effects on growth, pigmentation and post-harvest longevity of petunia flower. *Sci. Hort.* 69: 217-227.
- 塚田晃久. 2003. IV栽培管理4栽培管理技術. p. 72-83. 大

川 清編著. トルコギキョウ. 誠文堂新光社. 東京.
渡辺 功・金子英一. 2003. トルコギキョウ覆輪品種における昼間の高温遭遇時間の長短と花弁の着色割合. 園学雑. 72 (別2): 472.
渡辺 功. 2006. トルコギキョウ覆輪花弁における着色割

合の季節変動. 園学研. 5: 409-413.
Yoshioka, Y., H. Iwata, R. Ohsawa, S. Ninomiya and N. Fukuta. 2006. Quantitative evaluation of petal shape and picotee color pattern by image analysis in *lisanthus*. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 131: 261-266.