



Title	イネにおける遺伝的着色粒の抽出色素の分光特性
Author(s)	前川, 雅彦; MAEKAWA, Masahiko; 喜多, 富美治 他
Citation	北海道大学農学部農場研究報告, 23, 11-21
Issue Date	1983-03-10
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/13373
Type	departmental bulletin paper
File Information	23_p11-21.pdf



イネにおける遺伝的着色粒の抽出色素の分光特性

前川 雅彦・喜多富美治

(北海道大学農学部附属農場)

緒 言

イネにおける着色形態は茎・葉・穎から玄米にいたるまで種々多岐にわたっている。茎・葉においては、アントシアニンによる紫色系の着色のみであるが、玄米においては色調・模様にも多様な変異が認められる。特に、遺伝的形質として古くから注目され、遺伝子分析の結果、各種の色調あるいは模様に関する遺伝子系が確立された。イネの粒色に関する遺伝子系については木下⁴⁾が詳しく述べているが、大別して2種の遺伝子系に分かれる。すなわち、アントシアニン生成に関与する *C* (花青素色素) 遺伝子、*A* (アクチベータ) 遺伝子¹²⁾ と *Pl^w* (紫葉) 遺伝子の3遺伝子の補足作用によって紫米となる⁷⁾ 系と、*Rc* (種皮褐色) と *Rd* (種皮赤色) の2遺伝子の補足作用により赤米となる⁸⁾ 系である。一方、これらの粒色に関して生化学的な面からも解明され、紫米については、NAGAI *et al.*⁵⁾ によってアントシアニンによることが報告された。また、赤米については NAGAO *et al.*¹⁰⁾ によってカテキン、カテコールタンニンおよびフロバフェンによることが明らかにされた。いずれの報告もクロマトグラフィーによる定性分析のみで定量分析にはいたっていない。著者らは、イネの植物体にみられる各種の着色について定性的ならびに定量的に調べることによって、各種着色様式に関与する遺伝子の差異や機能について生化学的により明確にすることを目的として実験を行った。本報告では、分光光度計により、*C*・*A*・*Pl^w* ならびに *RcRd* 系による着色粒から抽出した色素について分光特性を調べると共に吸光度を測定して、各種着色粒の特徴を明らかにした。

材料及び方法

本実験で粒色に関する遺伝子分析ならびに分光特性を調べるために供試した材料は Table 1 の如くである。このうち、紫米系統と H-150 はいずれもフィリピン原産の Pirurutong, Padi-palae beong と日本稲との交雑後代で紫米に固定した系統で、紫米は Pirurutong と Padi-palae beong に由来している。HS-7 は A-5 (赤室) の葯培養から再分化した個体にガンマー線を照射した後代から得られた病斑葉の突然変異体であるが、他の形質は A-5 と同じであった。また、SMU-1 は品種「しおかり」のガンマー線照射後代から得られた系統で外見的に「しおかり」と同じであった。

色素抽出は、完熟・乾燥玄米種子 10 粒について重量を秤量し、1%メタノール塩酸 10 cc 中で行った。なお、I-33 については 20 粒を供試した。H-121 についてはだけは完熟・乾燥種子の芒をとり、同じ 1%メタノール塩酸 10 cc 中で色素を抽出した。なお、H-120, H-124, H-198, H-201 および H-406, また HS-7 × H-120 F₂ の各遺伝子型の個体については、抽出液が濃すぎるため 5 倍に希釈して分光特性を調べ、吸光度を測定した。H-59 × H-121 F₂ では各着色形質を示す 10 個体を選び、また、HS-7 × H-120 F₂ では各形質について 7 個体を選び、10 粒ずつ 3 反復で抽出した。分光特性については、自記分光光度計 (日立 323 型) による 340~700 nm の可視部の吸収曲線であらわした。各波長での吸光度については、分光光度計 (Spectronic 20 Shimadzu, Bausch & Lomb.) を用いて測定し完熟・乾燥玄米 1 g あたりの数字であらわした。

Table 1. List of the strains used in the experiment.

Strain	Name	Pericarp coloration	Source
H-120	Linkage tester	Purple	Progeny of the cross, A-13×Pirurutong
H-121	" "	"	" "
H-124	" "	"	Progeny of the cross, Pirurutong×A-31
H-151	" "	"	Progeny of the cross, A-13×Pirurutong
H-152	" "	"	" "
H-198	" "	"	Progeny of the cross, H-69×Pirurutong
H-201	" "	"	Progeny of the cross, A-13×Padi-palae beong
H-406	" "	"	Progeny of the cross, A-5×H-121
H-150	" "	Reddish brown	Progeny of the cross, A-13×Pirurutong
A-5	Akamuro	Red	
HS-7		"	Mutant induced by the gamma irradiation from the plant derived from "Akamuro" by anther culture
I-33	Surjamukhi	Light red	
H-21	Linkage tester	Speckled brown	
H-59	" "	White	
H-478	" "	"	
SMU-1		"	Mutant induced by the gamma irradiation from the variety, "Shiokari"
Ishikari		"	
A-133 MS	Cytoplasmic male sterile line of "Nohrin-9-go"		
A-136 MS	Cytoplasmic male sterile line of "Shiokari"		

結 果

紫米は、*C* (花青素色素), *A* (アクチベータ) と *Pl^w* (紫葉) の3遺伝子の補足作用によることが遺伝子分析から明らかにされた⁷⁾。*Pl^w* 遺伝子は、*C*・*A* 遺伝子によって生成されたアントシアニンを葉身・葉鞘に分布させる *Pl* 遺伝子座の複対立遺伝子で、*Pl^w* を有する系統では、葉身・葉鞘が紫色になり特に節間に濃い着色が認められる⁸⁾。そこで、*Pl^w* 遺伝子を有し紫葉・紫米である H-406 を用いて葉身と玄米からそれぞれ色素を抽出し、分光特性を比較した (Fig.1)。図では、葉身・玄米共に、535 nm に共通の吸収極大 (λ_{max}) が認められた。HARBORNE²⁾ によればメタノール塩酸で吸収極大が 535 nm に認められたことはアントシアニンの1種を示していた。従って、H-406 の紫葉と紫米には同じアントシアニンが含まれており、

葉身の紫色と玄米の紫色は共に *Pl^w* 遺伝子によることが傍証された。また、H-406 の玄米の場合、460 nm にもう1つの吸収極大が認められた。これは、後述する A-5 (赤室) の *RcRd* による赤米の吸収極大 (Fig.3) と一致していた。因みに、H-406 と稈先着色で白米系統の H-478 と交雑した F_1 を A-133 MS と A-136 MS に交雑した $B_1 F_1$ での果皮色の分離を調べた (Table 2)。H-406 は雄性不稔細胞質に係わる稔性回復遺伝子を有しており、果皮色の遺伝子分析が可能であった。H-478 は稈先色に関して *C^{bp}A* を有しているため稈先色の分離は生ぜず *Pl^w* のみの分離が期待されたが、*Pl^w* 型の節間着色を示さない集団中に赤米と白米の分離が生じていた。また、*Pl^w* 型節間着色集団ではすべて紫米であった。H-478 は白米であるから H-406 が *Rc* 遺伝子を有しており、*Pl^w* が *RcRd* より上位であると仮定した時、紫米：赤米：白

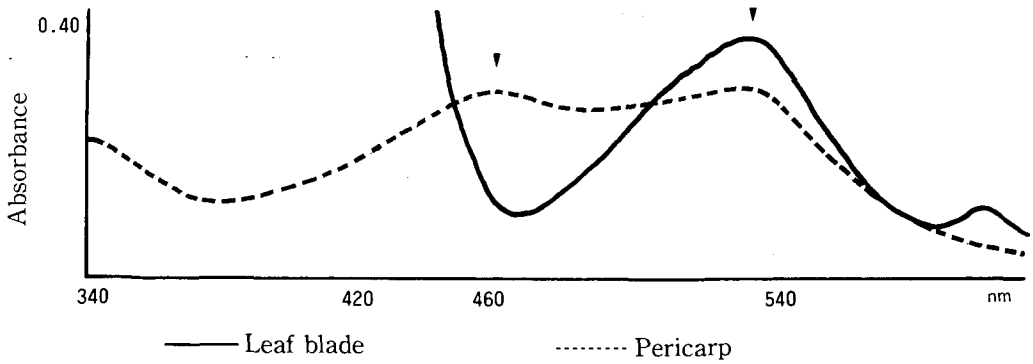


Fig. 1 UV spectra of extracted pigments from leaf blade and pericarp of H-406.

Table 2. Segregation of pericarp coloration in B_1F_1 populations of the crosses, A-133 MS \times (H-478 \times H-406) and A-136 MS \times (H-478 \times H-406).

Coloration	Internode	Dark purple		Purple lining or green		Goodness of fit		
	Pericarp	Purple		Red	White	Total	χ^2 (2:1:1)	P
Genotype		Pl^w	$RcRd$	$RcRd$	$rcRd$			
A-133 MS ¹⁾ \times (H-478* \times H-406)**			17	10	11	38	0.47	0.75-0.90
A-136 MS ²⁾ \times (H-478 \times H-406)			83	38	33	154	1.26	0.50-0.75
Total			100	48	44	192	0.50	0.75-0.90

*; H-478($C^{hp}ArcRd$). **; H-406(C^BAPl^wRcRd).
1); A-133 MS(C^+A^+rcrd). 2); A-136 MS(C^+A^+rcrd).

Homogeneity $\chi^2=1.28$, d.f.=2, $0.50 < P < 0.75$.

米 = 2 : 1 : 1 の分離比が期待され、両交雑集団とも期待分離比に適合していた。すなわち、H-406 は Pl^w と共に Rc も有していた。そのため 460 nm にも吸収極大が認められた。アントシアニンを生成する $C \cdot A$ 遺伝子は稈先色を支配しており、 C と A 遺伝子座にある数個の複対立遺伝子の組合せによって多様な稈先色を呈する¹²⁾。そこで、 $C \cdot A$ 座の複対立遺伝子と Pl^w の相互作用による果皮色について交雑 F_2 集団を用いて調べた (Table 3)。 $C^{Br}A$ を有する HS-7 と H-120 (C^BAPl^w) との交雑では稈先色が I 型 : V 型 = 3 : 1 と分離し、V 型の集団で節間が濃く着色しかつ紫米の個体が生じた。但し、葉身にアントシアニンは認められなかった。 F_2 で得られた 4 種の型は 9 : 3 :

3 : 1 なる 2 因子分離比に適合しており、 C 遺伝子と Pl^w 遺伝子の分離と認められた。つまり、 $C^{Br}APl^w$ と C^BAPl^w の果皮色は同一であった。但し、節間の色調が異なり、また、 C^BAPl^w では葉身に着色が認められたものの $C^{Br}APl^w$ では全く認められなかった。次に、 C^BA^d を有する H-59 と H-121 ($C^{Bp}APl^w$) との交雑では、 C^B と C^{Bp} を区別できなかったが A^d について I または II 型 : III または IV 型 = 3 : 1 の分離が得られた。III または IV 型の集団で、濃い節間着色型が判別でき、これらの玄米は濃褐色を呈していた。 F_2 で得られた 4 種の型の分離は 2 因子分離比に適合しており、 A と Pl^w 遺伝子によると結論された。 C^B または $C^{Bp}APl^w$ の果皮色と C^B または $C^{Bp}A^dPl^w$ の果皮色

Table 3. Combined segregations between apiculus and pericarp coloration in F₂ of the crosses between normal pericarp coloration and purple pericarp coloration types.

Type of coloration		I or II		V		III or IV					
Apiculus		Blackish red purple or Pansy purple		Rose red		Amaranth purple or Pomegranate purple					
(Genotype)		(C ^B A or C ^{Bp} A)		(C ^{Br} A)		(C ^B A ^d or C ^{Bp} A ^d)		Goodness of fit			
Coloration	Internode	Dark purple	Purple lining or green	Red purple	Green	Light red	Light red lining or green	Total	Ratio	χ ²	P
	Pericarp	Purple	White	Purple	White	Dark brown	White				
(Genotype)		(Pl ^w)	(+)	(Pl ^w)	(+)	(Pl ^w)	(+)				
HS-7(C ^{Br} A)											
×		125	45*	32	14*			216	9:3:3:1	2.40	0.25-0.50
H-120(C ^B APl ^w)											
H-59(C ^B A ^d)											
×		162	56			54	15	287	9:3:3:1	0.57	0.90<
H-121(C ^{Bp} APl ^w)											

*;including plants carrying red pericarp.

b)

Type of coloration		I or II		GT		Gt					
Apiculus		Blackish red purple or Pansy purple		Russet or Tawny		Straw white					
(Genotype)		(C ^B A or C ^{Bp} A)		(C ^B A ⁺ or C ^{Bp} A ⁺)		(C ^{Bm} A)	(C ^{Bm} A ⁺)	(C ^{Bm} A or C ^{Bp} A ⁺)	Goodness of fit		
Coloration	Internode	Dark purple	Purple lining or green	Yellow brown	Green	Green	Green	Green	Total	χ ²	P
	Pericarp	Purple	White	Reddish brown	White	Purple	Reddish brown	White			
(Genotype)		(Pl ^w)	(+)	(Pl ^w)	(+)	(Pl ^w)	(Pl ^w)	(+)			
SMU-1(C ^{Bm} A ⁺)											
×		57	18	18	4	17	2	4	120	5.39*	0.25-0.50
H-151(C ^B APl ^w)											
SMU-1(C ^{Bm} A ⁺)											
×		32	10	16	4	15	5	12	94	9.59*	0.10-0.25
H-152(C ^{Bp} APl ^w)											
Total		89	28	34	8	32	7	16	214	2.63*	0.75-0.90

*;χ² for 27:9:9:3:9:3:4.

Homogeneity χ²=11.85, d.f.=6, 0.05<P<0.10.

とはかなり異なっていた。さらに、稃先無着色の SMU-1 と紫米型 (H-151 と H-152) と交雑した F₂ では、稃先色について I または II 型 : GT 型 : Gt 型 = 9 : 3 : 4 に分離した。玄米色については、I または II 型内で紫米と白米が、GT 型で赤褐色米と白米が分離していた。また、Gt 型では紫米、赤褐色米と白米が分離していた (Table 3, b)。紫米がアントシアニンによることは H-406 の玄米

の分光特性で証明したところであるから、Gt 型の紫米もアントシアニンにより、稃先には認められなくともアントシアニンは生成されていると推定される。よって、NAGAO *et al.*⁷⁾ が仮定した如くに、C^{Bm} という極弱の作用を示す複対立遺伝子を考え、また Pl^w はわずかでもアントシアニンが存在すれば果皮にそれを分布させ紫米とするとすれば、稃先無着色でも紫米と赤褐色米が分離するこ

とは説明可能である。したがって、SMU-1は $C^{Bm}A^+$ なる遺伝子型を有すると考えられ、 F_2 での期待分離比はIまたはII型・紫米：IまたはII型・白米：GT型・赤褐色米：GT型・白米：Gt型・紫米：Gt型・赤褐色米：Gt型・白米=27：9：9：3：9：3：4となり、Table 3, b)の結果はこの期待分離比に適合していた。よって、NAGAO *et al.*⁷⁾が樹てた C^{Bm} と Pl^w の相互作用の仮説は妥当と考えられた。以上の遺伝子分析からC遺伝子が変わっても $A+Pl^w$ で紫米となるも、A遺伝子が変わると果皮色は褐色系に変化すると考えられた。

次に、 $C \cdot A \cdot Pl^w$ による玄米着色の分光特性および吸光度を調べた(Fig.2, Table 4)。 CPl^w による紫米ではいずれの系統も535 nmに吸収極大が認められた(Fig. 2, a, b, c)。また、 $C^{Bm}APl^w$ を有するH-124もやはり535 nmに吸収極大がありアントシアニンが存在していた。同時に、421 nmにもう1つの吸収極大を有する系統があった(H-120, H-201, H-121, H-124)。特に、H-121やH-124では421 nmと535 nmでの吸光度がほぼ同程度であった。また、535 nmでの吸光度も系統によって大きく異なり、紫米といっても全面紫色になるものばかりでなく、高橋・木下¹³⁾が指摘した紫色果皮着色に関する抑制遺伝子が関与しているものもあるためと考えられた。さらに、H-121については玄米と乾燥した芒との分光特性を比較したが、芒では421 nmでの吸収極大は認められず535 nmでわずかに吸収極大が認められた(Fig. 2, b)。一方、 C^B または $C^{Bp}A^dPl^w$ と $C^BA^+Pl^w$ による玄米色の分光特性をFig. 2, d)に示した。H-59×H-121 F_2 より選んだ C^B または $C^{Bp}A^dPl^w$ 型では421 nmに吸収極大が認められたと同時に535 nmにも吸収極大が認められた。また、 $C^BA^+Pl^w$ を有するH-150では421 nmにのみ吸収極大が認められた。したがって、 $C \cdot A \cdot Pl^w$ の補足作用による玄米色の分光特性では、421 nmと535 nmに特徴があらわれる。そこで、C遺伝子座の複対立遺伝子とA遺伝子座の複対立遺伝子と Pl^w との相互作用の差異について、HS-7×H-120とH-59×H-121の F_2 集団からそれぞれ選

抜した着色玄米の421 nm, 460 nmと535 nmでの吸光度を測定して量的に検討した(Table 5)。HS-7×H-120 F_2 集団から C^BAPl^w 型と $C^{Bp}APl^w$ 型を7個体ずつ選抜し、それらの玄米の421 nm, 460 nmと535 nmでの吸光度を比較したところ、いずれの波長においても C^BAPl^w 型の吸光度が高い値を示したものの有意差は認められなかった。一方、H-59×H-121 F_2 集団から選んだ C^B または $C^{Bp}APl^w$ 型と C^B または $C^{Bp}A^dPl^w$ 型間では、421 nmと460 nmで C^B または $C^{Bp}A^dPl^w$ 型が有意に高い値を示したものの、535 nmでは有意差は認められなかった。このことは、535 nmでの遺伝子型間で吸光度が変わらず果皮の Pl^w による色素分布量は一定であることを示唆していた。

最後に、 $RcRd$ 系による赤米について分光特性を調べ吸光度を測定した(Fig. 3, Table 6)。 $RcRd$ を有し赤米系統であるA-5では460 nmに吸収極大が認められたが、 Rc の複対立遺伝子 Rc^s による薄い赤米を有するI-33¹⁴⁾や $Rcrd$ により褐斑米となるH-21についても吸収極大は認められなかった。

考 察

自然界に存する色素の同定に濾紙クロマトグラフィのRf値や吸収スペクトルが用いられているが、本実験では簡便に試料が準備でき、しかも吸光度を測定することによって色素含量の指標とすることができるという利点から玄米色素について吸収スペクトルを測定した。

玄米の着色に関して $C \cdot A \cdot Pl^w$ による紫米の系と $RcRd$ による赤米の系が知られている⁴⁾。このうち紫米は $C \cdot A$ 遺伝子によって生成されたアントシアニンが分布遺伝子 Pl^w によって果皮に分布している⁷⁾。また、 $C \cdot A$ 両遺伝子座には数個の複対立遺伝子があり、それぞれの複対立遺伝子の組合せで稈先色が決定されている¹²⁾。一方、NAGAO *et al.*⁹⁾は稈先色に関して生化学的分析を行い、多様な色調を呈する稈先色はアントシアニン(シアニジン)によることを明らかにし、色調の差異はアントシアニンの濃度差によることを指摘

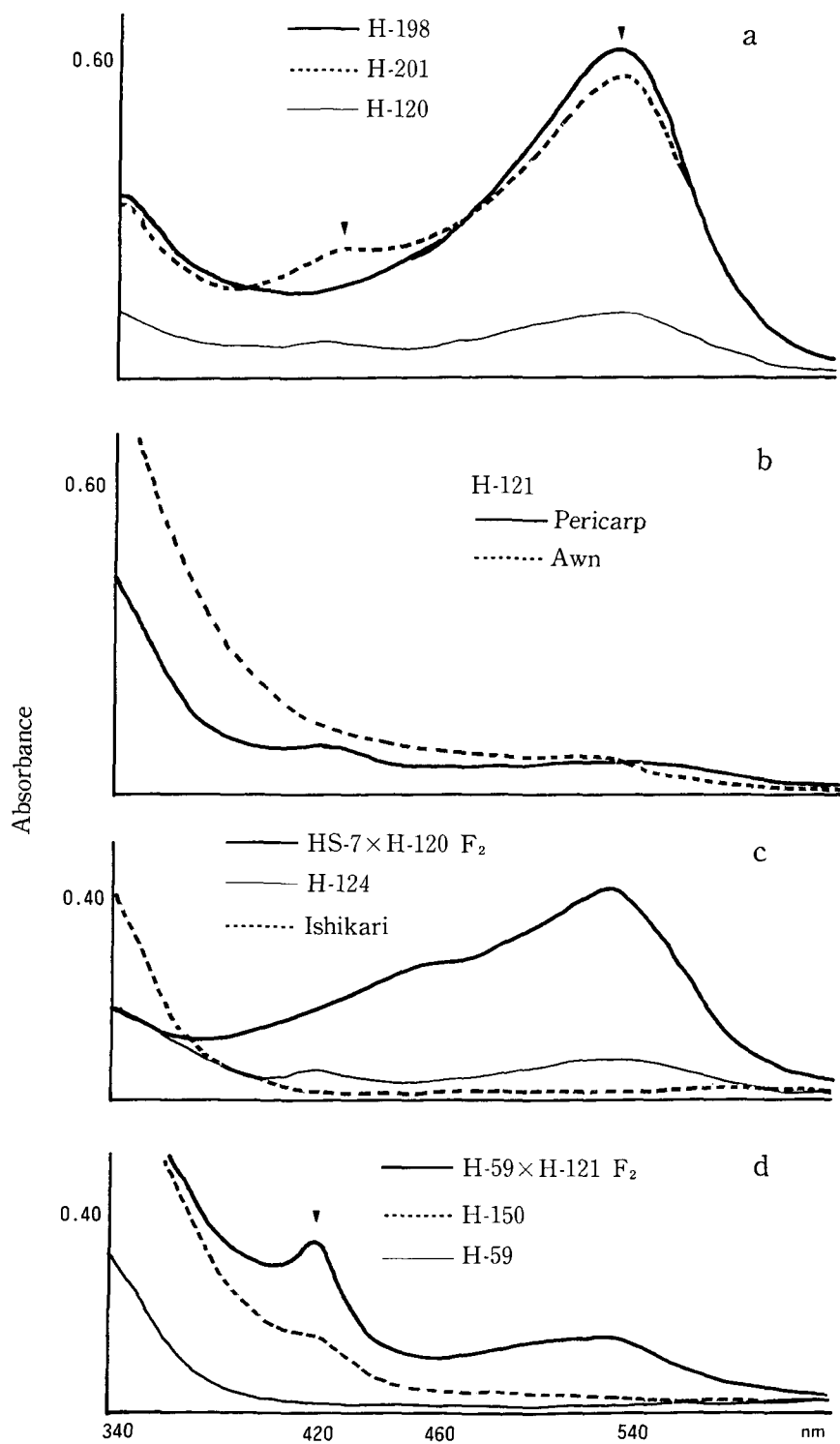


Fig. 2 UV spectra of pericarp coloration caused by *C*, *A* and *PI^w*.

Table 4. Coloration of apiculus and pericarp caused by *C*, *A* and *Pl^w*, and absorption maximum wave length (λ_{max}) and absorbance at 421nm, 460nm and 535nm of extracted pigments from pericarp of strains carrying *C*, *A* and *Pl^w*.

Genotype	Coloration		Strain	λ_{max} (nm)	Absorbance (/g)		
	Apiculus ¹⁾	Pericarp			421nm	460nm	535nm
<i>C^BA Pl^w</i>	Blackish red purple	Purple	H-120	421,535	2.859 ⁴⁾	2.687 ⁴⁾	5.258 ⁴⁾
			H-201	421,535	6.334 ²⁾	9.775 ³⁾	20.042 ³⁾
<i>C^BA Pl^w RcRd</i>		Purple+Red	H-406	460,535	5.814 ²⁾	7.795 ³⁾	8.559 ³⁾
<i>C^{Bp}A Pl^w</i>	Pansy purple	Purple	H-121	421,535	0.679 ²⁾	0.443 ⁴⁾	0.502 ⁴⁾
			H-121 A _{wn}	535	4.931 ²⁾	3.125 ²⁾	1.875 ²⁾
			H-198	535	3.992 ²⁾	6.566 ³⁾	14.083 ³⁾
<i>C^{Br}A Pl^w</i>	Rose red	Purple	HS-7×H-120F ₂	460,535	5.120	7.205	8.428
<i>C^{Bm}A Pl^w</i>	Straw white	Purple	H-124	421,535	1.553 ²⁾	0.923 ³⁾	1.783 ³⁾
<i>C^B or C^{Bp}A^d Pl^w</i>	Amaranth purple or Pomegranate purple	Dark brown	H-59×H-121F ₂	421,535	1.700	0.514	0.517
<i>C^BA⁺ Pl^w</i>	Russet*	Reddish brown	H-150	421	0.751 ²⁾	0.218 ³⁾	0.098 ³⁾

1) ;After TAKAHASHI (1957). 2) ;No replication. 3) ;Mean of two replications. 4) ;Mean of three replications.
* ;At ripening stage.

Table 5. Comparison of absorbances at 421nm, 460nm and 535nm between genotypes for pericarp coloration selected from F₂ populations of the crosses, HS-7 × H-120 and H-59 × H-121.

Cross combination	Genotype	Absorbance (/g)		
		421nm	460nm	535nm
HS-7×H-120	<i>C^BA Pl^w</i>	3.843±1.856 ¹⁾	5.039±3.150	7.314±3.299
	<i>C^{Br}A Pl^w</i>	5.120±0.448	7.205±0.864	8.428±1.426
	t-value	1.77	1.75	0.82
H-59×H-121	<i>C^B or C^{Bp}A Pl^w</i>	0.329±0.122	0.243±0.137	0.510±0.305
	<i>C^B or C^{Bp}A^d Pl^w</i>	1.700±0.240	0.514±0.131	0.517±0.131
	t-value	16.14**	4.52**	0.07

1) ;Mean ± Standard deviation. ** ;Significant at 1% level.

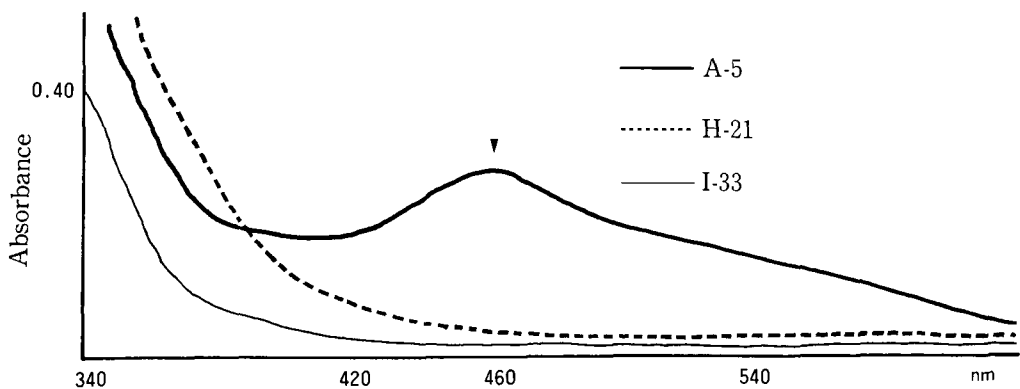
**Fig. 3** UV spectra of pericarp coloration caused by *Rc*, *Rc^s* and *Rd*.

Table 6. Absorption maximum wave length and absorbances at 421nm, 460nm and 535nm of extracted pigments from pericarp of A-5(*RcRd*), I-33(*Rc^s*) and H-21(*Rcrd*).

Genotype	Coloration of pericarp	Strain	λ_{max} (nm)	Absorbance (/g)		
				421nm	460nm	535nm
<i>RcRd</i>	Red	A-5	460	0.810 ¹⁾	1.173 ²⁾	0.628 ²⁾
<i>Rc^s</i>	Light red	I-33	—	0.112 ²⁾	0.094 ³⁾	0.043 ³⁾
<i>Rcrd</i>	Speckled brown	H-21	—	0.336 ¹⁾	0.092 ²⁾	0.024 ²⁾
	White	Ishikari	—	—	0.026 ²⁾	0.004 ²⁾
	"	H-59	—	0.081 ³⁾	0.050 ³⁾	0.050 ³⁾

1) ;No replication. 2) ;Mean of two replications. 3) ;Mean of three replications.

した。分布遺伝子 Pl^w は葉身を紫色に着色させる Pl 遺伝子座の複対立遺伝子であって⁸⁾, Pl 遺伝子と同様に葉身を紫色に着色させるが、その特徴はむしろ濃い節間着色にある。 Pl^w と $C \cdot A$ 遺伝子座の複対立遺伝子とを組合せた時の節間着色およびその玄米色について表現型でみると以下の如くなる。

遺伝子型	稈先色	節間色	玄米色
$C^B(C^{Bp})APl^w$	黒	紫	紫
$C^{Br}APl^w$	淡赤紫	淡赤紫	紫
$C^{Bm}APl^w$	白	緑	紫
$C^B(C^{Bp})A^dPl^w$	赤	桃	濃 褐
$C^BA^+Pl^w$	褐*	黄	褐* 赤 褐
$C^{Bm}A^+Pl^w$	白	緑	赤 褐

*成熟時

$C \cdot A$ 両遺伝子座の遺伝子が異なっても稈先色と節間色の相関は認められたが、 C 遺伝子が異なる場合稈先色と玄米色の間には相関がなく常に紫色となった。一方、 A 遺伝子が異なる場合も稈先色と玄米色との間には相関がなく玄米は赤褐色の着色となるようであった。これらの遺伝子型を有する玄米色について生化学的な面から検討した。紫米の系統から抽出した色素について分光特性を調べたところ、いずれも 535 nm に 1 つの吸収極大があった。また、421 nm にも吸収極大をもつ系統もあった(H-120, H-201, H-121, H-124)。1%メタノール塩酸での抽出色素であるから 535 nm の吸収極大はアントシアニンを意味しており、それは HARBORNE²⁾によればデルフィニジン 3-モノグルコシド、マルビジン 3-モノグルコシドかペチュニジン 3-ラムノグルコシド-5-グルコシド

と考えられる。紫米について生化学的に分析した報告は NAGAI *et al.*⁵⁾によってなされているが、紫米にはシアニジン配糖体かマルビジン 3-ガラクトシドが含まれていた。また、 $C \cdot A$ 遺伝子によって生成されたアントシアニンが Pl^w によって果皮に分布しているとすれば NAGAO *et al.*⁹⁾によれば稈先のアントシアニンはシアニジンであるから、紫米もシアニジンによると推定される。さらに、トウモロコシの糊粉層¹¹⁾, wild rice (*Zizania aquatica* L.)¹⁾やイネ科牧草³⁾にみられる着色もほとんどシアニジン配糖体であった。しかし、シアニジン配糖体の吸収極大は 522~525 nm²⁾で本実験で得られた 535 nm とは異なっていた。ただ、NAGAI *et al.*⁵⁾の報告との一致点を求めるとすると、紫米のアントシアニンはマルビジン 3-モノグルコシドと推定された。さらに、NAGAI *et al.*⁵⁾の分析によれば、含まれているアントシアニンの種類が異なっているものもあり、紫米に関与する遺伝子が Pl^w 以外にも存在している可能性が考えられた。紫米の各系統について 535 nm の吸光度を測定したところ大きな変異が認められ分布抑制遺伝子の存在¹³⁾が窺われた。一方、HS-7 × H-121 の F₂ で得られた C^BAPl^w の紫米と $C^{Br}APl^w$ の紫米について、421 nm, 460 nm と 535 nm で吸光度を比較したところ、いずれも有意差が認められなかった。このことから、 C 遺伝子が異なっても果皮に含まれているアントシアニン量は同じと考えられた。 A 遺伝子が異なった場合、 $C^B(C^{Bp})A^dPl^w$ と $C^BA^+Pl^w$ ではいずれも 421 nm に吸収極大が認められ、 $C^B(C^{Bp})A^dPl^w$ では 535 nm にも吸収極大がありアントシアニン

の存在を示していた。H-59×H-121のF₂で得られたC^B(C^{B^h})A^lPI^wとC^B(C^{B^h})A^dPI^wの玄米色素の吸光度を比較したところ、分光特性で明らかのように421 nmで有意差が認められた。C^BA⁺の場合、稈先にはC^Bのみによる花青素色素が分布する¹²⁾ことから、421 nmは花青素色素を示していると類推された。今後、稈先色の分光特性と紫米の分光特性の対応関係を検討する必要があるが、以上の結果から、C遺伝子が異なってもPI^w遺伝子によるアントシアニン分布の量は一定ではないかと推定された。また、花青素色素の分布については今後さらに検討する必要がある。最後に、RcRdによる赤米では460 nmに吸収極大が認められた。NAGAO *et al.*¹⁰⁾は、赤米にはカテキン、カテコールタンニンおよびフロバフェンが含まれていると報告しており、460 nmがいずれかを示しているものと考えられた。さらに、NAGAO *et al.*¹⁰⁾はRcRdによる褐斑米にも量的には少ないが同じ色素が含まれていることを報告したが、本実験ではRcRdによる褐斑米についても、またRc^sによる薄い赤米でも吸収極大は認められなかった。

摘 要

1) C・A・PI^w系による玄米色とRcRd系による玄米色について色素を抽出し、分光特性を調べ吸光度を測定した。

2) C^BAPI^wを有し紫葉・紫米を呈するH-406の葉身と玄米から色素を抽出し分光特性を調べたところ、535 nmに吸収極大が認められ共に同じアントシアニンが含まれていることが明らかになった。また、玄米色素では460 nmにもう1つの吸収極大が認められた。これはRcRdによる赤米の吸収極大と一致し、H-406がRcRdを有していたためであった。

3) 稈先色に関与するC・A遺伝子とPI^wの補足作用による玄米色についてF₂で検討した。C遺伝子が異なっても玄米は紫色となるが、A遺伝子が異なる場合は褐色米となった。

4) C・A・PI^wを有する紫米について分光特性を調べたところ、いずれも535 nmに吸収極大が

みられた以外に、421 nmにも吸収極大を認めた系統もあった。また、535 nmでの吸光度は系統によって大きく変異していた。一方、C^B(C^{B^h})A^dPI^wでは421 nmに吸収極大が認められたが同時に535 nmにもみられた。C^BA⁺PI^wでは421 nmにのみ吸収極大があった。

5) HS-7×H-120F₂でC^BAPI^wとC^{B⁺}API^wの紫米について421 nm、460 nmと535 nmで吸光度を測定したところいずれも有意差は認められなかった。H-59×H-121F₂でC^B(C^{B^h})API^wとC^B(C^{B^h})A^dPI^wの玄米色について421 nm、460 nmと535 nmで吸光度を比較したところ、421 nmと460 nmではC^B(C^{B^h})A^dPI^wが有意に高い値を示したが、535 nmでは有意差は認められなかった。

6) A-5(RcRd)の赤米から抽出した色素では460 nmに吸収極大が認められた以外、Rc^sについてもRcRdについても吸収極大は認められなかった。

謝辞

本実験を遂行するにあたり、農林水産省北海道農業試験場イネ第3研究室の佐竹徹夫博士をはじめ、伊藤延夫博士・西山岩男博士・小池説夫博士ならびに星千鶴子氏に種々の助言および便宜をはかって戴いた。また、北海道大学農学部教授木下俊郎博士から標識遺伝子株を分譲して戴いた。ここに記して心からの謝意を表する。

引用文献

1. GUTEK, L. H., WOODS, D. L. and CLARK, K. W.: Identification and inheritance of pigments in wild rice. *Crop Sci.*, **21**: 79-82. 1981
2. HARBORNE, J. B.: Spectral methods of characterizing anthocyanins. *Biochem. J.*, **70**: 22-28. 1958
3. HARBORNE, J. B.: Comparative biochemistry of the flavonoids. Academic Press, New York, pp.313. 1967
4. 木下俊郎: 日本型・インド型間における連鎖群の異同, 育種学最近の進歩, 第17集: 19-34. 1976
5. NAGAI, I., SUZUSHINO, G. and SUZUKI, Y.: Anthoxanthins and anthocyanins in the Oryzaceae. *Jap. J. Breed.*, **10**: 247-260. 1960

6. NAGAO, S. and TAKAHASHI, M. : Genetical studies on rice plant, XXVII. Trial construction of twelve linkage groups in Japanese rice. *J. Fac. Agr. Hokkaido Univ.*, **53** : 72-107. 1963
7. NAGAO, S., TAKAHASHI, M. and KINOSHITA, T. : Genetical studies on rice plant, XXVI. Mode of inheritance and causal genes for one type of anthocyanin color character in foreign rice varieties. *J. Fac. Agr. Hokkaido Univ.*, **52** : 20-50. 1962
8. NAGAO, S., TAKAHASHI, M. and KINOSHITA, T. : Genetical studies on rice plant, XXX. Heterotic effect of alleles at *Pl*-locus in rice plant. *J. Fac. Agr. Hokkaido Univ.*, **56** : 45-56. 1968
9. NAGAO, S., TAKAHASHI, M. and MIYAMOTO, T. : Genetical studies on rice plant, XX. Some chemical aspects on anthocyanin coloration caused by *C* and *Sp* allelomorphous series of genes. *Bot. Mag. Tokyo*, **69** : 430-434. 1956
10. NAGAO, S., TAKAHASHI, M. and MIYAMOTO, T. : Genetical studies on rice plant, XXI. Biochemical studies on red rice pigmentation. *Jap. J. Genet.*, **32** : 124-128. 1957
11. RHOADES, M. M. : The effect of the bronze locus on anthocyanin formation in maize. *Amer. Nat.*, **86** : 105-108. 1952
12. TAKAHASHI, M. : Analysis on apiculus color genes essential to anthocyanin coloration in rice. *J. Fac. Agr. Hokkaido Univ.*, **50** : 266-359. 1957
13. 高橋萬右衛門・木下俊郎：稲品種間の花青素遺伝子の異同。育種, **17**, 別冊 **2** : 145-146. 1967
14. 高橋萬右衛門・森 敏夫・木下俊郎・森 宏一：稲の交雑に関する研究, 第L報. 印度稲品種 Surjamukhi にみられる玄米赤色の遺伝子構成。北大附属農場報告, **18** : 47-53. 1972

Spectral Properties of Extracted Pigments from Genic Colored Grains of Rice

Masahiko MAEKAWA and Fumiji KITA

(Experiment Farms, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Japan)

Summary

It is known that grain coloration of rice is governed by two major genic systems, one is the purple coloration by the complementary action of *C* (Chromogen), *A* (Activator) and *Pl^w* (Purple leaf), the other is the red coloration by the complementary action of *Rc* (Brown pericarp) and *Rd* (Red pericarp).

The aim of the present study was to elucidate the gene function for grain coloration biochemically. In this report the authors examined the spectral properties of purple grain coloration and red grain coloration in the ultraviolet region by a spectrophotometer. The results obtained are summarized as follows ;

1) The gene *Pl^w*, responsible for the purple pericarp, is one of the multiple allelic series at *Pl* locus for the purple leaf. It was observed that the extracted pigments from purple leaf blade and purple grain of H-406 carrying *C^b A Pl^w* had the same absorption maximum wave length (535 nm) in the absorption spectra. This suggested that the purple coloration of leaf blade and pericarp of H-406 was due to the same anthocyanin.

2) The interrelationship between grain coloration by three complementary genes, *C*, *A* and *Pl^w* and apiculus coloration by the complementary action of genes at *C* locus and *A* locus was examined by the phenotypic characteristics in F_2 populations. It was assumed that the complementary action of two genes, *A* and *Pl^w* gave rise to the purple coloration of pericarp, and the complementary action of *A^d* or *A⁺* and *Pl^w* caused the brown pericarp coloration, irrespective of the gene at *C* locus.

3) Although all absorption spectra of the extracted pigments from purple grains by different genotypes showed the absorption maximum (λ_{max}) at 535 nm, a few strains had another λ_{max} at 421 nm. λ_{max} of the extracted pigments from dark brown grains of plants carrying *C^b(C^{bp})A^dPl^w* selected from F_2 population of the cross, H-59 \times H-121 was observed at 421 nm and another λ_{max} was also observed at 535 nm which showed the presence of anthocyanin. Therefore, the dark brown grain by *C^b(C^{bp})A^dPl^w* contained anthocyanin. The extracted pigments from reddish brown pericarp of H-150 carrying *C^b A⁺ Pl^w* showed λ_{max} at 421 nm in the absorption spectrum. Since the genotype *C^b A⁺* produced only chromogen and caused the russet apiculus coloration, it was assumed that the reddish brown pericarp contained chromogen. Consequently, λ_{max} at 421 nm was surmised to show the presence of chromogen.

4) Absorbances (/g) of the extracted pigments from colored grains at 421 nm, 460 nm and 535 nm were compared between the selected genotypes of *C^b APl^w* and *C^{br} APl^w* from F_2 of the cross, HS-7 \times H-120, *C^b(C^{bp})APl^w* and *C^b(C^{bp})A^dPl^w* from F_2 of the cross, H-59 \times H-121. Although in F_2 (HS-7 \times H-120) significant differences between absorbances of each genotype were not detectable, a clear difference between absorbances of each genotype at 421 nm was observed in F_2 (H-59 \times H-121) and the absorbance of *C^b(C^{bp})A^dPl^w* at 421 nm was significantly higher than that of *C^b(C^{bp})APl^w*. This result showed that there was no difference between the anthocyanin content of purple grain by *C^b APl^w* and *C^{br} APl^w*.

5) Although the absorption spectrum of red pericarp of A-5 (*RcRd*) showed λ_{max} at 460 nm, the light red pericarp by *Rc^s* (multiple allele at *Rc* locus) of I-33 and the speckled brown pericarp of H-21 (*Rcrd*) showed no typical peak in the absorption spectra.