

氏名(本籍)	飯村健(東京都)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博甲第6348号
学位授与年月日	平成24年11月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	日本産スマレ属の形態とフラボノイド成分を指標とした新規分類法の確立
主査	筑波大学教授 農学博士 佐藤誠吾
副査	筑波大学教授 農学博士 松本宏
副査	筑波大学教授 博士(工学) 市川創作
副査	筑波大学講師 博士(学術) 横谷(富田)香織

論文の内容の要旨

スマレ属はスマレ科スマレ属に分類される多年生草本で、世界に約400から450種分布する。日本産スマレ属は約60種分布するが、葉、花器および根の形態を同定の指標としているため、分類可能な季節が限定されるなどの不便がある。そこで本研究では、スマレの葉の形状を細部にわたって比較することで同定する従来の分類法を整理し、新たな基準を設定することにより5グループに分けた。さらにスマレ花卉のanthocyaninおよび葉のflavonoid成分を同定の指標として組み合わせることにより、簡便かつ確実な分類法を確立した。

日本に分布する野生スマレの中で、希少種および採取や栽培が困難な種を除き、形態等の同定方法では分類が困難な種を中心に24種を実験材料として選択し、これらを葉の形状により簡便に以下の5グループに分類した。*Viola mandshurica*、*V. japonica*、*V. yedoensis*、*V. phalacrocarpa*、*V. yezoensis*、*V. bisseti* および *V. ovato-oblonga* の7種は長卵形(グループ1)とし、*V. confusa* ssp. *nagasakiensis* および *V. tokubuchiana* var. *takedana* の2種は三角形(グループ2)とした。また *V. variegata* var. *nipponica*、*V. keiskei*、*V. selkirkii*、*V. vaginata*、*V. rossii*、*V. grypoceras*、*V. kusanoana*、*V. obtusa*、*V. rostrata*、*V. faurieana* および *V. verecunda* の11種は心臓状円形(グループ3)に分類した。さらに *V. eizanensis* および *V. chaerophylloides* f. *sieboldiana* の2種は全裂形(グループ4)とし、*V. violacea* および *V. Sieboldi* ssp. *Sieboldi* の2種は葉裏面が紫色(グループ5)に分類した。以上の24種の中で、形態等により同定が可能な種はグループ1では *V. mandshurica*、および *V. ovato-oblonga* の2種、グループ3では *V. grypoceras*、*V. kusanoana*、*V. obtusa*、*V. rostrata*、*V. faurieana* および *V. verecunda* の6種であったが、その他16種は形態等の基準のみでは同定が困難であった。

次に、供試したスマレ24種の花弁のanthocyaninを分離・分析したところ、21種のanthocyaninを検出した。これらanthocyaninは種固有の分布が認められ、本研究が提案したグループの所属と産生したanthocyaninのaglycon等を指標として組み合わせることにより、16種の中から11種を同定・分類することができた。すなわち、グループ1で形態のみでは同定が困難であった5種の中で *V. yedoensis* はCyanidin系のanthocyanidinのみを産生すること、*V. bisseti* はMalvidinを多量に産生することからグループ内の他のスマレと区別することができた。またグループ2に属する2種は形態のみでは同定が困難であったが、*V. confusa*

ssp. nagasakiensis は Delphindin 系 anthocyanidin を産生するのに対して *V. tokubuchiana* var. *takedana* は Cyanidin 系 anthocyanidin を産生することから容易に分類することができた。さらにグループ 3 で形態のみでは同定・分類が困難であった 5 種については、*V. variegata* var. *nipponica* は Delphindin 系 anthocyanidin を産生すること、*V. vaginata* は anthocyanidin として Malvidin を多量に産生すること、また *V. rossii* は Peonidin を産生することから容易に区別・分類することができた。またグループ 3 に属する *V. keiskei* と *V. selkirkii* は共に Cyanidin 系の anthocyanidin を産生したが、*V. keiskei* が産生する aglycon は Cyanidin のみであることから同定が可能であった。

上述したように形態による同定、さらに形態とスマレ花卉に含まれる固有の anthocyanin を組み合わせることにより、24 種中 19 種の同定・分類が可能となった。しかし *V. japonica*、*V. yedoensis*、*V. phalacrocarpa* (以上グループ 1)、および *V. eizanensis*、*V. chaerophylloides* f. *sieboldiana* (以上グループ 4) の 5 種は分類できずに残された。そこでこれら 5 種のスマレの葉に含まれる flavonoid 成分を HPLC、LC-ESI/MS および NMR により分析した。その結果、グループ 1 の *V. japonica* で、13 種の flavonoid 成分を検出し、その総量の 50% を超える主要 flavonoid としてスマレ属で新規となる acacetin 7-*O*-rhamnosyl-(1→6)-glucoside を全ての機器分析を用いて同定した。同様に *V. phalacrocarpa* で、12 種の flavonoid 成分を検出し、総量の 80% を超える主要成分として、kaempferol 3-*O*-rhamnosyl-(1→6)-glucoside-7-*O*-rhamnoside を同定した。一方、*V. yedoensis* は、18 種と最も多様な flavonoid 成分を産生することがわかったが、総量の 50% を超える特徴的 flavonoid 成分は認められなかった。これらのことから、グループ 1 の 3 種の同定・分類が可能となった。一方、グループ 4 の *V. eizanensis* は flavonoid 総量の 98% の主要成分として、スマレ属で新規となる apigenin 8-*C*-rhamnosyl-(1→2)-glucoside (Vitexin 2''-*O*-rhamnoside) を同定した。また *V. chaerophylloides* f. *sieboldiana* は、これに加えて acacetin 7-*O*-(4-*O*-acetyl-rhamnosyl)(1→6)-glucoside を flavonoid 成分として産生することからこれらを指標成分することで、容易に分類することができた。

審査の結果の要旨

本論文の著者は、従来行なわれていたスマレの形態のみを指標とした分類法に花卉に含まれる anthocyanin や葉に含まれる flavonoid 成分を指標とした化学分類学的手法を組み合わせることにより、スマレ属の確実な分類法を確立した。本研究では実験の遂行上、採取・栽培が可能な 24 種に限定され、日本産スマレ全種を対象とできなかった問題点は残るが、本研究で確立した分類法は簡便かつ確実なスマレの分類法であることは意義深い。また、日本産スマレ属における新規産生物質情報に示されるとおり、確実な分類ができることにより生物材料としてのスマレの利用が進み、同定物質の新規機能の発見も期待できる。

平成 24 年 10 月 12 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。