

Freesiaの花色に関する研究：第1報 アントシアニンの同定と園芸種における分布について

著者	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	24
ページ	1-9
別言語のタイトル	Studies on the Flower-Colours in Freesia : I The Identification of Anthocyanins and Their Distribution in Garden Forms
URL	http://hdl.handle.net/10232/2343

Freesia の花色に関する研究

第1報 アントシアニンの同定と園芸種における分布について

有 隅 健 一

(1973年8月31日受理)

Studies on the Flower-Colours in *Freesia*

I The Identification of Anthocyanins and Their Distribution in Garden Forms

Ken-ichi ARISUMI

(Laboratory of Floriculture)

緒 言

周知のようにフラボノイド色素，とくにアントシアニンの植物界における分布と遺伝に関する研究は今世紀初頭に始まり，1930年代に英国の John Innes 園芸研究所を中心にして精力的な研究が展開され，これが BEADLEらによる 'one gene one enzyme' 説提唱の重要な布石となった。

その当時色素の分析に広く採用された方法は，ROBINSONらによる分配テストで，各種溶媒間における溶質の分配係数の差にその基礎をおくものであった。しかしながら，本法はアントシアニン以外の色素については得るところが少なく，またアントシアニンそのものについても決して問題がなかったわけではない。例えば *Primula sinensis* の花色の遺伝は当時もつと詳しい研究が加えられたものの1つであったが，近年のペーパークロマトグラフィによる再検討では，アントシアニンのメチル化 (methylation) に関して遺伝子型のふるい分けが他の要因，例えばコピグメンテーション (copigmentation) によって妨害されることが明らかにされた¹³⁾。言葉をかえれば，われわれの目に直接訴える遺伝子分析が先行し，その結果に対して今日の新しい手法を駆使して再検討を加えても，果してどれだけ真の姿を捕えることができるのか，もちろん中には金魚草^{5, 6, 14, 15)}におけるような明快な事例もないわけではないが，疑問な点が多い。とくに同一植物に多数のアントシアニンが共存したり，あるいは互に色調の差の少ないアントシアニンを取り扱うような場合には，むしろ逆に色素型を先にふるい分け，それぞれがホモになった時点で相互の交雑を行ない，その後代の検定から何らかの結論を引き出す方がより当

をえた方法といえるのではあるまいか。個々の素材が極めてヘテロな状態にある栄養繁殖性の植物では，とくにこのような考え方が必要であろう。

ここに *Freesia* をとり上げたのは1つはこの花きで新しい花色創出の可能性を探りたいためであったが，いま1つはフラボノイド色素のグリコシル化 (glycosylation)，ヒドロキシル化 (hydroxylation) およびメチル化に関してより直接的な遺伝子分析を試みたいと考えたからである。とくに後者に関連しては，近年この花で従来の栄養繁殖型品種からこれを種子繁殖型 F₁ 品種へおきかえる育種も試みられており¹⁶⁾，そのためにも色素の遺伝様式の解明は緊急を要する問題となってきている。

本実験はこのような観点にたった研究の最初の段階として，この植物におけるアントシアニンの同定と，これらアントシアニンが各品種にどのように分布するか——現在の園芸種をどれだけの色素型に区別しうるかについて分析を試みたものである。

材料および方法

実験に供用した材料は既成品種が，'紫泉'，'瑞香'，'赤紫王'，'Robin Hood'，'Rose Mary'，'Stockholm' それに最近市販されるに至った F₁ 品種，ファンタジック系の 'Blue'，'Deep Rose'，'Crimson' および 'Scarlet' でこれに Super Giant 系統の混合種子より育成した実生 183 個体を加えた。これらのうち F₁ 系の 4 品種はまだ両親系統の固定が進んでいないためか個体間で色素構成を異にしていたので，色素の検討はすべて個体別に行なった。その内訳は 'Blue' が 20 個体，'Deep Rose' が 14 個体，'Crimson' が 17 個体，また 'Scarlet' が 7 個体であった。

これらの実生個体は従来からの栄養繁殖型における品種の概念からすれば、各個体それぞれが1つの品種に相当することになる。もちろん実際上はこのような個体群の中から優秀な個体を選んで品種とするわけであるが、選別が限られた遺伝子型の意識的ふるい分けにあるとすれば、むしろ淘汰の力が及んでいない無作為の実生の方が変異の真の姿を伝えていることにもなる。本実験でとくに実生を多く用いたのは市販の既成品種が少なかったせいもあるが、実はこのような理由によるものであった。

(1) アントシアニンの精製と同定

予備実験より *Freesia* には9種類のアントシアニンが存在することがわかったが、これらに便宜上 A1 から A9 までの番号をつけた。その精製と同定は次のようにして行なった。

まず乾燥花弁を1%塩酸々性メタノールに冷浸し、粗抽出液中のメタノールを通風下で留去したのち残液を石油エーテルで2回、酢酸エチルで3回くり返し洗浄し、これらに溶出するきょう雑物を除去した。つぎにこれを20×20cmの東洋ろ紙 No. 52 に線着し第1表に示したソルベントG 2回、H 1回、G 1回、I 1回の順に5段階の展開、溶離をくり返し各アントシアニンを精製した。各段階の溶離は下降法クロマトグラフィに準じて行なったが、使用したソルベントは5%酸性メタノールで最終段階の溶離のみ5%酢酸々性メタノールを使用した。また溶離時の受け皿であるビーカーにはあらかじめ1N塩酸数滴を加えておいた。各種アントシアニン、とくに delphinidin 系は不安定で精製段階、それも後期の段階でしばしば無色物質に変わり塩酸を後から添加しても回復しないことがあるが、このような方法で収量は大幅に増大した。

Table 1. Solvents used for the identification of the anthocyanins of *Freesia hybrida*.

Solvent	Composition	Proportion (by vol.)	Layer used	Application
A	<i>n</i> -Butanol-Hydrochloric acid-Water	5 : 1 : 4	Upper	Anthocyanin and anthocyanidin
B	<i>n</i> -Butanol-Acetic acid-Water	4 : 1 : 5	Upper	Anthocyanin
C	<i>iso</i> -Butanol-Hydrochloric acid-Water	1 : 2 : 6	Miscible	
D	Hydrochloric acid-Water	3 : 97	Miscible	
E 1 } E 2 }	Formic acid-Hydrochloric acid-Water	{ 5 : 2 : 8 5 : 2 : 3	{ Miscible Miscible	
F 1 } F 2 }		Acetic acid-Hydrochloric acid-Water	{ 15 : 3 : 82 5 : 1 : 5	{ Miscible Miscible
G	<i>iso</i> -Butanol-Acetic acid-Water		8 : 2 : 3	Miscible
H	<i>iso</i> -Butanol-Acetic acid-Hydrochloric acid-Water	3 : 1 : 2 : 30	Miscible	
I	Formic acid-Water	5 : 95	Miscible	
J	<i>n</i> -Butanol-Pyridine-Water	6 : 3 : 1	Miscible	Sugar
K	Ethyl acetate- <i>iso</i> -Butanol-Formic acid-Water	5 : 4 : 1 : 3	Upper	Anthocyanin

つぎに以上の精製を加えた試料の一部について既知のアントシアニンとコクロマトグラフィを行なうとともに、残余について加水分解を加え部分的加水分解時の行動と完全加水分解時に生じる糖とアントシアニンの種類とを調べた。その方法は具体的にはつぎの通りであった。また使用したろ紙は最終の精製段階以降はすべて No. 50 であった。

部分的加水分解時の行動；濃縮した最終溶離液に等量の2N塩酸を加え沸騰水中で8分および16分間加熱し、同様に処理した既知アントシアニンと並べて点着、展開した。ソルベントはAおよびCであった。

糖とアントシアニジンの同定；加水分解の条件は上と同様で時間のみを70分とした。これを直ちに冷却し少量のイソアミルアルコールを加えて振とうして二層に分離せしめた。糖を含む水層はジエチルヘキシルアミン(10%クロロホルム溶液)でくり返し洗浄して塩酸を除去したのち、室温真空下で乾固した。これを微量の純水に再び溶解し、既知の糖とのコクロマトグラフィを行なった。展開はJによる同一方向への二重展開で、発色はアニリン水素フタレート試薬によった。

いっぽうアルコール層は少量の1N塩酸と多量の石油エーテルとを加えて振とうし、アントシアニジンを

再び水層中に戻したのち、これを既知のそれと並べて点着、展開した。ソルベントは A, E2 および F2 の三種を用いた。

(2) アントシアニンの分布の検討

以上の方法で合計 9 種類のアントシアニンが同定された。その内容についてはすぐ後で述べるが、これらの各品種（個体）における分布はつぎのようにして検討した。すなわち、乾燥花卉よりえた粗抽出液を前記したように石油エーテルと酢酸エチルで洗浄したのち、各品種（個体）とも濃度が 4 段階になるよう正確に点着し、ソルベント C, G および K を用いて展開した。このように濃度に差をつけたのは共存する色素間の量の比較を容易ならしめるためであった。えられたクロマトグラムは可視および紫外光下で色調を検討し、Rf 値や必要な場合は既知アントシアニンとのコクロマトグラフィの結果も参照して、それぞれの色素

の同定に誤りがないよう配慮した。また量的評価はグリコシル化、ヒドロキシル化およびメチル化に分けて行なったが、これらのうちメチル化については peonidin が共存する場合は petunidin と、また cyanidin が共存する場合は delphinidin とみなして加算して評価した。またヒドロキシル化の場合は当然 malvidin, petunidin および delphinidin の合計と一方は peonidin および cyanidin の合計との間の対比ということになるが、色素構成がとくに複雑なものは正確な比率をとることが困難で、これらについての評価は若干信頼に欠けるものにならざるをえなかった。

結果および考察

それぞれのアントシアニンの各種の溶媒における Rf 値、可視および紫外線下の色調ならびに部分的加水分解時における中間生成物の種類を第 2 表に、また

Table 2. Properties of the anthocyanins of *Freesia hybrida*.

Pigment	Rf in solvent (×100)						Colour in ¹⁾		Intermediate products of controlled hydrolysis ²⁾
	A	B	C	D	E1	F1	VL	UVL	
A 1	16	29	9	4	31	20	P	D. Ma	—
A 2	6	20	20	9	49	33	P	D. Ma	Dp 3G, Dp 5G
A 3	18	35	13	5	36	25	P	D. P	—
A 4	7	26	28	11	56	40	P	B. P	Pt 3G, Pt 5G
A 5	24	41	19	6	46	32	P	D. P	—
A 6	11	34	40	16	68	50	P	F. Ce	Mv 3G, Mv 5G
A 7	25	40	18	8	41	31	Mg	D. Mg	—
A 8	12	28	33	17	63	45	Mg	B. R	Cy 3G, Cy 5G
A 9	30	43	23	9	48	35	R	D. Mg	—
Authentic anthocyanin ²⁾									
Dp 3G	16	29	10	4	31	20	P	D. Ma	—
Dp 3G 5G	5	20	20	9	49	32	P	D. Ma	Dp 3G, Dp 5G
Pt 3G	19	35	14	5	37	26	P	D. P	—
Pt 3G 5G	7	27	27	11	57	40	P	B. P	Pt 3G, Pt 5G
Mv 3G	23	40	20	6	45	32	P	D. P	—
Mv 3G 5G	11	35	41	17	69	51	P	F. Ce	Mv 3G, Mv 5G
Cy 3G	26	39	18	8	42	31	Mg	D. Mg	—
Cy 3G 5G	11	29	32	17	64	44	Mg	B. R	Cy 3G, Cy 5G
Pn 3G	31	44	24	9	48	36	R	D. Mg	—
Pn 3G 5G	16	36	41	20	69	52	R	F. Co	Pn 3G, Pn 5G

1) P; purple, Mg; magenta, R; red, Ma; mauve, Ce; cerise, Co; coral, D; dull, B; bright, F; fluorescent.

2) Dp; delphinidin, Pt; petunidin, Mv; malvidin, Cy; cyanidin, Pn; peonidin, 3G; 3-glucoside, 5G; 5-glucoside, 3G 5G; 3,5-diglucoside.

Table 3. Products of complete acid hydrolysis in the anthocyanins of *Freesia hybrida*.

Pigment	Rf in solvent ($\times 100$)			Colour in		Sugar ¹⁾
	A	E2	F2	VL	UVL	
A 1	34	20	27	P	B. P	G1
A 2	35	19	27			
A 3	45	29	37			
A 4	43	30	38	P	F. Mg	G1
A 5	52	40	49			
A 6	51	39	48			
A 7	60	32	42	Mg	F. Ce	G1
A 8	61	31	40			
A 9	67	42	52			
Authentic anthocyanidin						
Dp	35	20	27	P	B. P	
Pt	45	29	37	P	F. Mg	
Mv	51	39	48	P	F. Mg	
Cy	62	31	41	Mg	F. Ce	
Pn	66	42	53	Mg	F. Co Ce	

Abbreviations of pigments and their colours are given in Table 2.

1) G1; glucose.

完全加水分解時の生成物，すなわちアントシアニジンの諸性質と結合糖の種類を第3表に示した。

まず第2表より明らかとなり，9種類のアントシアニンはA1がdelphinidin-3-glucoside，A2がdelphinidin-3.5-diglucoside というように，既知のアントシアニンのいずれか1つとその諸性質がよく一致した。またそのアントシアニンと糖の種類も第3表に示したように，それぞれが相当すると想定したアントシアニンと一致した。これらの結果から各アントシアニンは次のように同定された。すなわち；

- A 1.....delphinidin-3-glucoside
- A 2.....delphinidin-3.5-diglucoside
- A 3.....petunidin-3-glucoside
- A 4.....petunidin-3.5-diglucoside
- A 5.....malvidin-3-glucoside
- A 6.....malvidin-3.5-diglucoside
- A 7.....cyanidin-3-glucoside
- A 8.....cyanidin-3.5-diglucoside
- A 9.....peonidin-3-glucoside

従来 *Freesia* のアントシアニンについては malvidin-3-glucoside だけ1種類の存在が報告⁹⁾ されていたが，このようにアントシアニンについて5種類，またグリコシル化についても 3-glucoside の外に 3.5-diglucoside 型が存在しており，その実態ははる

かに複雑であった。

つぎにこれら9種類のアントシアニンがそれぞれの品種や個体にどのように分布するかが問題になる。その様相をグリコシル化，ヒドロキシル化およびメチル化に分けてまとめたのが第4表である。

この表についてまず注目されるのはグリコシル化に関してすべての品種（個体）が 3-glucoside 型か 3.5-diglucoside 型かのいずれかに整然と分かれたことであった。もちろん多数の供試材料のなかには 3-glucoside 型でありながらごく微量の 3.5-diglucoside を併せもつもの，また逆に 3.5-diglucoside 型でありながら同様に微量の 3-glucoside が共存するものもないわけではなかったが，その間の変異は明らかに不連続であった。このことはこれら両配糖体の生成が対立関係を内蔵する1個の主遺伝子 (major gene) によって規制されていることを暗示している。

いっぽう実際の花色に対しては，3.5-diglucoside 型の方が 3-glucoside 型よりも明らかに青味の強い色相を与えた。供試した既成品種が少なかったため最適例に限られていたが，ヒドロキシル化とメチル化の両者についてその指数をほぼ同じくする‘赤紫王’ (3.5-diglucoside 型) と ‘Robin Hood’ (3-glucoside 型) の花色を対比すれば，この間の事情はおよそ推測がつくものと思われる。これは多数の実生個体を細かに比

Table 4. Distribution of the anthocyanins concerning hydroxylation, methylation and glycosylation in *Freesia hybrida*.¹⁾

Degree of methylation ²⁾	Type of glycosylation									
	3-Monoglucoside					3,5-Diglucoside				
	Degree of hydroxylation ³⁾					Degree of hydroxylation ³⁾				
	—	±	+	++	+++	—	±	+	++	+++
1				2	1					4
2				2						5
3										5
4									2	13
5									6	22
6				1				2	6	
7									6	7
8										6
9			1	5						
10	4	5	8	11	4					
11	2	9	11	8	3					
12	2	18	20	12	3					
13	3	5	3	5	1					
14			4	3	2		1			1
15							1			2

- 1) All figures are the number of garden forms. Where no figure is presented, no garden form belonging to the class is existing.
- 2) Indices from 1 to 15 are the decreasing order of methylated anthocyanins: 1; exclusively (or almost exclusively) Mv, 2; Mv ≫ Pt, 3; Mv ≫ Pt ≫ Dp, 4~6; various concentrations of Mv > Pt > Dp, 7; Mv = Pt > Dp, 8; Pt > Mv > Dp, 9; Pt ≫ Dp, 10; Pt ≫ Dp, 11~13; various concentrations of Pt > Dp, 14; Pt = Dp, 15; Dp > Pt (In this classification both Pn and Cy, if present, were regarded as Pt and Dp, respectively). There seemed to be two distinct groups, one from 1 to 8 and the other from 9 to 15, although some garden forms of the latter group contained trace amount of Mv.
- 3) Indices from — to +++ are the increasing order of Dp derivatives from the co-occurrence of Cy and Dp, the relative amount of which was approximately 45 : 55, to the pure Dp type whose anthocyanin consisted, almost exclusively, of Dp derivatives.
(For abbreviations of the anthocyanidins see Table 2)

較した場合についても同様であった。

この点に関して HARBORNE は 3,5-diglucoside と 3-glucoside の吸収スペクトルを比較し、吸収極大の波長部位がほとんど変わらないことからこれら両者の違いは実際の色相には余り影響がない、むしろあるとすれば 5 位への糖の結合は蛍光性を与えるので、色の強さ (intensity of colouration) の方に影響があるであろうと述べている¹⁰⁾。しかし先にも指摘したように⁴⁾、3-glucoside は吸収極大の波長部位より短波長のところに著しい肩 (shoulder) をもっており、当然この方が対応する 3,5-diglucoside より青味が少ないと予想されたが、*Freesia* でみる限りでは事実その通りで、色相自体にも明らかに影響をもっていた。

つぎにヒドロキシル化については純粋な delphini-

din 型とこれに cyanidin が共存する混在型とに分けられ、純粋な cyanidin 型は見いだされなかった。これまで他の多くの植物での遺伝子分析の結果では、delphinidin と cyanidin は互に対立形質をなし、かつ delphinidin の生成は cyanidin のそれに対して優性であるという点でほぼ一致していた^{1,12)}。その点 *Freesia* は変異の一端が中途段階で終わっている点、また変異自体がかなり連続的である点で、従来の定説とは大幅に食い違っていた。

Freesia は南アフリカ原生の植物であるが、今日の園芸種は白ないし黄色の花色をもつ *F. refracta* とピンクの花色をもつ *F. armstrongii* との交雑によって成立したとされている⁷⁾。本実験では残念ながら *F. armstrongii* の色素構成を検討することができな

ったので、厳密な断定はもちろん差し控えねばならないが、その花色でみる限りアントシアニンはおそらく delphinidin と cyanidin との混在型であったと思われる。もしこれが当たっているとすれば純粋な delphinidin 型、つまり青色系の花色は *F. refracta* よりもたらされたことになる。

この *refracta* はアントシアニンを欠いているので、これに関して具体的にどのような遺伝子をもっているのか直接確かめることはできないが、潜在的には純粋な delphinidin 型、つまり強い 3' 4' 5'-trihydroxylation の能力をもっていたのではあるまいか。そしてこれが *armstrongii* におけるアントシアニン合成能と結びついたとき、現在の園芸種にみられる純粋な delphinidin 型が生じたのではないかと思われる。

ちなみに異なった種や系統の交配によって新しい色素の生成が起りうるものが2, 3の植物で知られている。例えばバラの Floribunda 系における大量の変色型 pelargonidin-3-glucoside の生成は *Chinenses* における 3-glucoside の合成能と Polyantha 系における pelargonidin の合成能とが組み合わせられたことによると考えられており³⁾、また *Baptisia* では *B. leucantha* と *B. sphaerocarpa* の交配によって新物質の quercetin-3-rutinoside-7-glucoside が、また *B. alba* と *B. perfoliata* の交配によって同じく quercetin-7-glucoside, 7-rutinoside および 3-glucoside-7-rutinoside が出現したという²⁾。さらに *Streptocarpus* の園芸種は基本的には *S. rexii* と *S. dunnii* との交配に由来するものであるが、両野生種が潜在的にもっていた劣性遺伝子の集積によってこの植物にまったく存在しなかった pelargonidin と kaempferol とが後代に出現している^{11, 16)}。

Freesia の場合上記したことはもとより推論の域でないが、*F. armstrongii* のアントシアニン構成に変異がないとすれば、今日の園芸種にみられる多彩な花色変異、そしてそれを可能ならしめた多彩なアントシアニン構成がどうして生じたか、その原因の大半は *F. refracta* との種間交配そのものに求められねばならないであろう。

いっぽう実際の花色については、delphinidin 純粋型に若干でも cyanidin が混在すると、然らざるものに対して大幅に赤味をます点が注目された。これについては例えば‘紫泉’と‘赤紫王’、あるいは‘紫泉’とファンタジック系の‘Deep Rose’を対比すればその間の事情は明白であろう。これらはいずれも 3,5-digluconide 型であるが、‘紫泉’が純粋な delphinidin

型であるのに対して、‘赤紫王’と‘Deep Rose’はヒドロキシル化に関してともに土のクラスに属していた。

いずれにしても本実験に関する限り、純粋な cyanidin 型あるいはさらに水酸基数の少ない pelargonidin 型を見いだすことができなかった。今後 *Freesia* でさらに新しい花色を求めるとすれば、このような新しい色素型をいかにして獲得するかが最大の課題の1つになるろう。

最後にメチル化に関して注目すべき点をあげると、今述べたヒドロキシル化の場合と同じように変異の一端が中途段階で終わっていることであった。すなわち、もっとも高度にメチル化された malvidin のみよりなるものを一方の極端として、他方は delphinidin > petunidin (極限のもので両者の比率はほぼ 8.5 : 1.5 であった) で終わっており、delphinidin のみよりなるもの、つまりメチル基をまったく欠いた色素型は見いだせなかった。

しかもこれら変異の両極端の間は連続的に推移しており、指数1から8までが malvidin, petunidin および delphinidin 三者の間の、また9から15までが petunidin と delphinidin 二者の間の(この場合でもごく微量の malvidin が存在するものがないわけではなかったが)しゅじゅの量的対応であった点を除けば、変異に関してとくに不連続部分を指摘することはできなかった。

一般にメチル化されたアントシアニンは然らざるものに対して優性であるとされているが¹²⁾、以上のことは *Freesia* ではメチル化に関して多数の遺伝子が関与していること、また遺伝子型が最劣性 (bottom recessive) のものにあってもかなりの程度のメチル化に関する機能を保持していることを示している。

さらに、メチル化とグリコシル化とを同時に考慮した場合、品種(個体)の分布に著しい片寄りがあることに気付く。すなわち、3,5-digluconide 型では指数1から8まで、つまり malvidin, petunidin および delphinidin 三者の間の対応による品種(個体)が圧倒的多数を占めていたのに対して、3-glucoside 型では指数9から15まで、つまり petunidin と delphinidin 二者の間の対応によるものがほとんどであった。

メチル化とグリコシル化に関する遺伝は時として密接に結びついている。例えばバレイショの遺伝子 Ac^{8, 19)} と *Petunia* の遺伝子 F¹⁷⁾ は、アントシアニンのメチル化とグリコシル化にあずかるほか、さらにアシル化にも関与していることが知られている。これを1

遺伝子の多面的発現とするか、それともそれぞれの過程にあずかる別個の遺伝子が密接に連鎖して複合座位 (complex loci) をなすためであるとするか、まだ最終的な結論に達していないようであるが、*Freesia* の場合もこれらにかなり近いといえる。すなわち、5' 位のメチル化と 5 位のグリコシル化に関する別個の遺伝子がそれぞれ強く連鎖しているとすれば (他方では 3' 位のメチル化と 3 位のグリコシル化の段階にとどめる遺伝子同志が連鎖していることになる)、3,5-diglucoside 型が malvidin, petunidin および delphinidin 三者の間の、また 3-glucoside 型が petunidin および delphinidin 二者の間の対応をなすことも了解されよう。換言すれば、3,5-diglucoside 型における指数 14 と 15 の 5 品種 (個体)、また 3-glucoside 型における指数 1, 2 および 6 の 6 品種 (個体) はそれぞれ遺伝的な乗りかえによって生じたものと考えてよいのではあるまいか。

そしてこれが当をえているとすれば、このことは期せずして上記の Ac および F 遺伝子に対し両説のいずれをとるかに、回答を与えたことにならないであろうか。すなわち、*Freesia* におけるややルーズな複合座位のいっそうの高度化が進んだものが、バレイショや *Petunia* であるとしてよいのではあるまいか。グリコシル化とメチル化という異質な過程が同じ単一の酵素によって規制されているとは考えられないことから、この点はうなずけるように思う。

以上要するに、*Freesia* のアントシアニンの生成はグリコシル化については単純な遺伝様式に従うと推察されたが、その他の点に関してはかなり複雑な様式をもっており、また興味深い点も多かった。本実験でそれぞれの色素型の代表品種 (個体) の選別もほぼ完了したので、今後は交配実験に主体をおいて細かい遺伝様式を追求していきたい。

また先にも指摘したが、種子繁殖型への移行をねらった F₁ 品種の色素構成は必ずしも安定したものとはいえなかった。これは育種年限が浅かったせいもあるが、より本質的には *Freesia* のアントシアニン構成が複雑でその遺伝にも複雑なものがあること、またわれわれの目に直接うったえる素材の選択では色素型、ひいては遺伝子型のふるい分けそれ自体に無理があることを示すものと考えべきである。*Freesia* の園芸種は種間交配で成立しており、またその育種も従来は栄養繁殖型品種に主体をおいてきた。このような植物で広く種子繁殖型品種への切りかえ、とくに F₁ の開発を考える場合、やはり冒頭にも述べたように育種素材

の選別は色素型のふるい分けより出発すべきである。その意味では、ペーパークロマトグラフィのような分析法を実際の育種場面へ大幅にとり入れる必要のあることを、本実験の結果は端的に示しているといえよう。

摘 要

Freesia の園芸種は *F. refracta* と *F. armstrongii* との種間雑種に由来するとされているが、今日では両野生種にみられない広範な花色を獲得するに至っている。本実験はこの植物における花色の遺伝様式を解明するため、そのはじめとしてアントシアニンの同定とこれらの分布の様相に関し調査を行なったものである。えられた結果の概要はつぎの通りであった。

1. 同定された色素はアントシアニンに関して 5 種類、グリコシル化に関して 2 種類のパターンを組み合わせたもので、具体的には delphinidin-3-glucoside, delphinidin-3,5-diglucoside, petunidin-3-glucoside, petunidin-3,5-diglucoside, malvidin-3-glucoside, malvidin-3,5-diglucoside, cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3,5-diglucoside および peonidin-3-glucoside であった。

2. これらのアントシアニンの分布に関するすべての品種は 3-glucoside 型か 3,5-diglucoside 型のいずれかに整然と分けられた。もちろん多数の供試材料のなかには 3-glucoside 型でありながらごく微量の 3,5-diglucoside が共存するもの、およびその逆のものもないわけではなかったが、変異は明らかに不連続であった。このことはこれら両配糖体の生成が 1 個の主遺伝子によって規制されていることを示すものと解釈された。

3. これに対しヒドロキシル化とメチル化に関しては、事態はかなり複雑であった。すなわち、両者とも変異の範囲は一方の純粋型から混在型までで終っており、他方の純粋型を欠いていた。また両者ともその範囲内ではグリコシル化に比べ、変異は明らかに連続的に推移した。これはとくにメチル化について著しく、多数の遺伝子が関与していることを暗示した。

4. メチル化はまたグリコシル化と密接な関連をもっていた。すなわち、高度にメチル化されたグループは 3,5-diglucoside 型が大部分であったのに対して、低度のものは 3-glucoside 型にほぼ限られていた。このことはこれら両過程にあずかる遺伝子が同一染色体上にあって、互に密接に連鎖していることを示すものと考えられた。

本実験の遂行に当たり、坂田種苗KKの武田和男氏には Super Giant 系種子の提供を、また塩谷秀夫氏と徳永幸恵嬢には著者の前任地、山口大学において実験上の協力をいただいた。記して深い謝意を表する。

引用文献

- 1) ALSTON, R. E.: *Biochemistry of Phenolic Compounds* (J. B. HARBORNE, ed.). 171~204 Academic Press. London (1964)
- 2) ALSTON, R. E., RÖSLER, H., NAIFEH, K. and MABRY, T. J.: *Proc. natn. Acad. Sci. U. S. A.*, **54**, 1458~1465 (1965)
- 3) 有隅健一: 九大農学芸雑誌, **21**, 169~184 (1964)
- 4) 有隅健一: 山口大農学術報告, **No. 13**, 1077~1089 (1967)
- 5) GEISSMAN, T. A. and HARBORNE, J. B.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **55**, 447~454 (1955)
- 6) GEISSMAN, T. A., JORGENSEN, E. C. and JOHNSON, B. L.: *Ibid.*, **49**, 368~388 (1954)
- 7) GORER, R.: *The Development of Garden Flowers*. 195 Eyre and Spottiswoode LTD. London (1970)
- 8) HARBORNE, J. B.: *Biochem. J.*, **74**, 262~269 (1960)
- 9) HARBORNE, J. B.: *Chemical Plant Taxonomy* (T. SWAIN, ed.). 365 Academic Press. London (1963)
- 10) HARBORNE, J. B.: *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments* (T. W. GOODWIN, ed.). 259 Academic Press. London (1965)
- 11) HARBORNE, J. B.: *Phytochem.*, **5**, 589~600 (1966)
- 12) HARBORNE, J. B.: *Comparative Biochemistry of the Flavonoids*. 250~266 Academic Press. London (1967)
- 13) HARBORNE, J. B. and SHERRATT, H. S. A.: *Biochem. J.*, **78**, 298~306 (1961)
- 14) JORGENSEN, E. C. and GEISSMAN, T. A.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **54**, 72~82 (1955)
- 15) JORGENSEN, E. C. and GEISSMAN, T. A.: *Ibid.*, **55**, 389~402 (1955)
- 16) LAWRENCE, W. J. C. and STURGESS, V. C.: *Heredity*, **11**, 303~336 (1957)
- 17) MEYER, C.: *Z. Vererbungsl.*, **95**, 171~183 (1964)
- 18) 斎藤清: 花の育種 322 誠文堂新光社 (1969)
- 19) SIMMONDS, N. W. and HARBORNE, J. B.: *Heredity*, **20**, 315~318 (1965)

Summary

The garden form of *Freesia* is said to have been derived from the interspecific hybridization between yellow-or white-flowered *F. refracta* and pink-flowered *F. armstrongii*, both of which are native to South Africa. The flower-colours available today range from blue and crimson through mauve, orange, pink and yellow to white. The present investigation was conducted to identify the anthocyanins of this plant and, in addition, to make clear the distribution-patterns of these anthocyanins in garden forms using some 250 seedling individuals and varieties to obtain some clues to the pigment inheritance.

Nine anthocyanins, derived from five kinds of anthocyanidins combined with two patterns of glycosylation, were identified. These were delphinidin-3-glucoside, delphinidin-3.5-diglucoside, petunidin-3-glucoside, petunidin-3.5-diglucoside, malvidin-3-glucoside, malvidin-3.5-diglucoside, cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3.5-diglucoside and peonidin-3-glucoside.

As for the distribution-patterns of these anthocyanins, all garden forms were clearly divided into either the 3-glucoside type or the 3.5-diglucoside type, although some 3-glucoside types contained a trace amount of 3.5-diglucoside and *vice-versa*. This was interpreted to be showing that the production of glucosides in *Freesia* is controlled by the presence of a single major gene.

By contrast, the situations were complicated in distribution-patterns concerning both hydroxylation and methylation. The most prominent feature in hydroxylation of anthocyanins was the complete deletion of pure cyanidin type. The garden forms, so far as the examinations were concerned, varied from the pure delphinidin type to the mixed type containing various amounts of cyanidin, even in the extreme case of which the relative amount of cyanidin did not exceed about 45 percent. In addition, the variation was fairly continuous as compared with that of glycosylation.

In methylation-pattern, the variation beginning with pure malvidin type was again closed with mixed type. There was no garden form whose anthocyanins consisted exclusively of non-methylated anthocyanins. On the other hand, the variation within the two extremes was more continuous than that of hydroxylation, i. e., the relative concentrations between methylated and non-methylated anthocyanins were highly variable, although there seemed to be two distinct groups, one containing various amounts of 3', 5'-dimethylated, 3'-monomethylated and non-methylated anthocyanins, and the other containing 3'-monomethylated and non-methylated anthocyanins. The methylation-patterns of *Freesia* were thus highly complicated. It was presumed that a fairly large number of genes are involved in the genetic control of methylation.

Finally there was a correlative relationship between methylation and glycosylation. As presented in Table 4, most of the highly methylated garden forms were 3,5-diglucoside type, whereas the lower methylated forms were almost confined to 3-glucoside type, suggesting that the glucosylating gene is closely linked with the methylating genes.

In any event, it is necessary to uncover the more precise nature of the pigment inheritance. The crossing experiment between various different colour-types is in progress, and the result will be presented in further detail in the forthcoming paper.