

## ツバキ属植物の花色素に関する研究

—とくに系統発生との関連について—

坂田 祐介

(観賞園芸学研究室)

昭和 62 年 8 月 7 日 受理

### Studies on the Flower Colours in the Genus *Camellia*, with Special Reference to the Phylogenies of the Genus

Yūsuke SAKATA

(Laboratory of Ornamental Horticulture and Floriculture)

#### 目 次

第 1 章 緒 論	
第 2 章 ツバキ属植物のアントシアン色素分析法の 確立と色素分布の概要	
第 1 節 緒 言	
第 2 節 2 次元 TLC によるアントシアン色素分 析法の確立	
第 3 節 HPLC によるシアニジン 3-グルコシド とガラクトシドの分析	
第 3 章 ツバキ属植物栽培種のアントシアン色素分 布の様相	
第 1 節 緒 言	
第 2 節 ヤブツバキ, ユキツバキ, サザンカ, カ ンツバキ, ハルサザンカ, トウツバキ及び ワビスケ栽培種のアントシアン色素分布の 様相	
第 3 節 種間雑種群のアントシアン色素分布の様 相と色素の遺伝	
第 4 章 カメリア節ツバキ野生型のアントシアン色 素分布の様相と系統発生	
第 1 節 緒 言	
第 2 節 本邦産カメリア節ツバキ野生型のアント シアン色素分布の様相と系統発生	
第 3 節 中国産カメリア節ツバキ野生型のアント シアン色素分布の様相と種分化	
第 5 章 総 括	
謝 辞	
文 献	
Summary	

#### 第 1 章 緒 論

ネパールに端を発し, 途中中国南部と揚子江流域の諸省を含み, 朝鮮半島南部をかすめ本邦に至る, 常緑広葉樹を主体とする暖温帯系の植物帯がある. 植物にとって温暖でかつ快適な, いわゆる照葉樹林帯がそうである. ツバキ属植物 (*Camellia*) のほとんどはこの樹林帯に分布し, Sealy<sup>88)</sup> のモノグラフによると約 80 種, 近年の報告<sup>18, 48, 56, 91)</sup> では 200 余種を数えることができる.

これらのツバキの中で, 本邦産のヤブツバキ (*C. japonica*) が現在のところもっとも高緯度に分布し, 最北端にあたる. また本邦は観賞用花木として世界的に重要なツバキ栽培種群を持ち, これらの作出の母体となったユキツバキ (*C. japonica* ssp. *rusticana*) を始め, リンゴツバキ (*C. japonica* f. *macrocarpa*), ホウザンツバキ (*C. japonica* ssp. *hozanensis*), サザンカ (*C. sasanqua*), カンツバキ (*C. hiemalis*), ハルサザンカ (*C. vernalis*), ワビスケ (*C. wabisuke*) などの種と, これに 2, 3 のパラカメリア節やテオプシス節のものを加えた, いわばツバキの二次的な起源センターとして位置する.

現在のツバキ属植物がいつ原始ツバキとして, どの地域に分布していたのかは不明である. 上本<sup>116)</sup> は形態変異に富み, しかも伸長した枝の先端に花芽分化する *C. lanceolata* や *C. connata* を系統発生上の祖型ツバキとし, これらは現在の熱帯地域にあたる自生地から北進を開始, 途中気候温和な中国南部の諸省に定着したと推論した. これに対し Chang<sup>19)</sup> は四川省南部で続々と古ツバキや紅花ツバキの新種を発見し, 中国における古大陸とされるこの地域をツバキ属植物の起源地と考えた. しかしながら, 植物群の現在の分布

の中心をその起源地とする Chang の考えには問題が残る。堀田<sup>47)</sup>は変異の二次的な中心地は群に好適な場所に生じることが多く、この二次的分布の中心でしばしば重要な変化が起こり、多様な種分化をすると指摘している。つまり中国南部の諸省をツバキの二次的な起源センターとするほうがむしろ事宜を得ていると思える。

いずれにせよ中国南部の諸省は雲南の銘花トウツバキ (*C. reticulata*) を始めとして、サルウィンツバキ (*C. saluenensis*)、ピタルツバキ (*C. pitardii*)、宛田紅花油茶 (*C. polyodonta*) および南山茶 (*C. semiserrata*) などの本邦のツバキに極めて関連深い紅花のカメリア節ツバキを産し、センターを形成している。われわれツバキ愛好家がもっとも深い関心を寄せるのは、これらのツバキの中国南部の諸省からの東北進の経路と、ヤブツバキ分化の過程である。津山<sup>108, 113, 114)</sup>はカメリア節分類の重要な形質、たとえば萼苞の宿存性や子房・花柱の有毛性を踏まえ、これらに分布域の本邦からの距離を加味し、もっとも離れて分布するトウツバキに始まりサルウィンツバキ、ピタルツバキ、宛田紅花油茶、南山茶および浙江紅花油茶 (*C. chekiangoleosa*) を経て、ヤブツバキに至る主系列を提唱している。またヤブツバキ、ユキツバキ、リンゴツバキおよびユキバタツバキ (*C. japonica* var. *intermedia*) といった本邦産のものを *japonica* としてひとつに取りまとめ、ヤブツバキの祖型をユキツバキに求めた。

このような形態学、植物地理学または植物地史的なアプローチとは別に、植物の系統発生や類縁関係を内成分の共通性の度あいを探ろうとする、いわゆる成分分類学 (chemotaxonomy) が導入された。代表的な化学成分はアミノ酸 (amino acids)、脂質 (lipids)、アルカロイド (alkaloids)、テルペノイド (terpenoids)、フラボノイド (flavonoids) など多岐に及ぶが、植物集団を基礎とする詳細な分析の結果、成分的な観点で見た種間および種内構造が明らかにされ、従来の系統発生や分類学上の扱いに関しても多角的な検討が加えられるようになった<sup>2, 17, 22, 23, 27, 29, 105, 106, 119, 127)</sup>。

本論文で取り扱うフラボノイド色素類を指標とした系統発生や類縁関係に関する報告は多数にのぼる。とくにアントシアンやフラボノール類で種や系統に特徴的に出現する物質を駆使した例として、エリカ属<sup>20)</sup>、フクシャ属<sup>21)</sup>、ヒビスカス属<sup>58)</sup>、マメ科<sup>86)</sup>、ノボタン科とフトモモ科<sup>57)</sup>のアントシアン配糖体と、ワタのゴ

シッペチン<sup>69)</sup>およびツツジの 5-メチルフラボノール<sup>61)</sup>をあげることができる。ツバキでも著者は長崎県平戸市周辺で成立した群を 2 種のアントシアン配糖体を指標として成立起源に言及した<sup>81)</sup>。

ツバキ属植物における成分分類学的な研究はフラボノイド類全般<sup>34, 72, 73, 75, 99)</sup>、アントシアン色素<sup>70, 129, 139)</sup>および精油成分<sup>28)</sup>を分析した例がある。これらに加え最近では、遺伝子あるいは DNA と 1 対 1 の関係がより強いとされるアイソザイムを対象とした研究例も多い<sup>15, 66, 67, 120~123)</sup>。しかしながら、これらの研究は単一の集団からせいぜい数個体のサンプルに基づいて分析がなされたもの、種レベル以上における分類との関連でなされたもの、あるいは自然雑種集団や系統発生の不明なものの解析との関連でなされたものも多く、ツバキ属全体や細かな種内構造を必ずしもカバーするには至らなかったともいえる。ただこれらの手法を用いると、ツバキの種分化に関し従来の外部形態や核学的な知見を指標とするより、種、系統、種内あるいは個体レベルでの遺伝的相違や構造変異の実態を、はるかに強く反映する解析がなされた点で高く評価されよう。

Sealy<sup>88)</sup> や近藤<sup>52)</sup> はツバキ属は分類学的に互いに関連し、交雑親和性も高く、中間型の形態を持つ個体を含み、漸变的な変異移行を伴って複合体を形成し、連なっているという。事実、ヤブツバキ——ユキツバキ<sup>33, 68, 102, 109~111, 113, 114)</sup>、トウツバキ——サルウィンツバキ——ピタルツバキ<sup>24, 25, 31, 88)</sup> およびヤブツバキ——サルウィンツバキ<sup>71, 72)</sup>間の複合は顕著で、最近では異節間にまたがるヤブツバキ——ハルサザンカ——サザンカ間の複合すら立証されるに至った<sup>100, 101, 117)</sup>。したがってツバキ全般にわたって内成分を指標として解析すれば、これら複合体の内部構造のみならず、種成立や類縁関係についても多大な知見を得ることができるものと期待される。

このような観点から本研究は花卉のアントシアン色素を指標として、ツバキの系統発生と類縁関係を明らかにすることを目標とした。本論文はこの目的のもとに著者が 1978 年から 1985 年にかけて鹿児島大学農学部において行った研究の成果を取りまとめたもので、まず第 2 章ではツバキ属植物に見られるアントシアン色素の性状を把握するため、色素分析法の確立に努めた<sup>81, 82, 84)</sup>。ついで第 3 章では代表的なツバキ栽培種群のアントシアン色素分布の実態を明らかにし、色素構成上の類型化と色素蓄積の種内変異から、栽培種成立

と色素生成の遺伝的背景に言及した<sup>82-84</sup>。また第4章ではカメラ節ツバキに的を絞る、色素的に見た系統発生からヤブツバキの成立過程を推察した<sup>85</sup>。なお第5章はこれらの結果を総括したものである。

## 第2章 ツバキ属植物のアントシアン色素分析法の確立と色素分布の概要

### 第1節 緒言

ツバキ属植物の花弁にどのようなアントシアン色素が存在するのかを調べるにあたり、まず、試料の採集時期や調整法の検討に始まり、クロマトグラフ用の溶媒の選定を経て、構成色素の定性・定量に終わる一連の分析法を確立する必要がある。ツバキ属植物の場合、このような試みはむしろチャの茎葉部の、しかもアントシアン色素以外のフラボノイド類について多くなされてきた<sup>43</sup>。これは、観賞用花木としてのツバキより、チャは世界的な飲用芸作物として生活に密接にかかわり合い、はるかに重要な立場にあったからにはほかならない。したがってツバキに関するアントシアン色素の分析例は必ずしも豊富にあったとは言い難い。

ツバキ花弁のアントシアン色素をクロマトグラフィーを用いて分析した例として、とくに Parks ら<sup>70</sup> と Yokoi<sup>129</sup> の成果をあげることができる。氏らは1次元のペーパークロマトグラフィー（以下 PPC）、または薄層クロマトグラフィー（以下 TLC）を採用した分析の結果、主要な3個の色素を見出している。しかし、両氏らの結果には1次元クロマトグラフィーを用いたことに起因すると考えられる色素の不分離や、定性上の誤りが認められ、この方法での色素分析はかなり困難と思えた。

これに対し、2次元のクロマトグラフィーで分析したのは Parks and Kondo<sup>72</sup> が最初である。ヤブツバキ、サルウィンツバキおよび両種間の雑種後代を用い、ヤブツバキとサルウィンツバキにそれぞれ特有な2個の色素を見出した。しかしながら、氏らが分析の中心にすえたのはフラボノール色素で、しかも扱った種は2種と少なく、ツバキ属全体をカバーするには至らなかったといえる。

このように、ツバキのアントシアン色素についての知見は充分なものとはいえない。本章第2節で論じる場所は2次元 TLC による分析法の確立について<sup>81, 82</sup>、とくに花弁の採集時期、乾燥花弁の調整法および色素の定性を含めて広範に取り扱うこととした。

ところで PPC や TLC によるフラボノイド色素分

析に替わるものとして、近年高速液体クロマトグラフィー（以下 HPLC）がこの分野に導入された<sup>1, 30, 98, 124, 126</sup>。本法の利点は極微量の試料で、しかも短時間内に高精度の定性・定量分析が可能なことである<sup>8-10, 16, 60, 95, 97</sup>。いまひとつの利点は、通常の PPC や TLC で極めて困難とされるアントシアンの 3-グルコシドとガラクトシドの分離が容易にできることである<sup>9, 16, 125</sup>。

HPLC を用いてツバキの色素分析を行ったのは Miyajima ら<sup>62</sup> が最初である。フラボノール色素であるが、金花茶 (*C. chrysantha*) の花弁から黄色の発現にもっとも寄与すると思えるケルセチン 7-グルコシドを分離同定した。予備的ではあるが著者もアントシアン色素について本法を用い得るかどうかの検討を行い、有望であるとの感触を既に得ている。

本章第3節で述べるところは HPLC による分析法の確立<sup>84</sup>、とくに2次元 TLC で分離し得なかったシアニジン 3-グルコシドとガラクトシドの分離定量をめざした。

### 第2節 2次元 TLC によるアントシアン色素分析法の確立

#### 材料と方法

#### 実験1. 2次元 TLC によるアントシアン色素の検策

本節で用いた TLC の展開溶媒を Table 1 に示した。また TLC 用吸着剤はすべて微結晶セルロース (No. 2330, Merck 製) を用いた。

ヤブツバキ栽培種「村娘」、ユキツバキ栽培種「花かんざし」、サザンカ栽培種「七福神」、トウツバキ栽培種「キャプテン・ロー」および野生型サルウィンツバキの新鮮花弁を1979年1~3月に採集し、それぞれ1gを1%塩酸-メタノール10mlで15~20時間冷浸、色素を抽出した。これを減圧下35°Cで溶媒を留去し、粗抽出物を得た。ついでこれに蒸留水4~5滴を加えいったん水溶液とし、石油エーテルと酢酸エチル5mlでそれぞれ3回洗浄、溶出する夾雑物を除去した。この水溶液を再度減圧下35°Cで濃縮し、少量のメタノールを加えたものを TLC に供した。

1次元の TLC を行い2次元 TLC の展開溶媒を検討した。溶媒にアルコール系として n-BAW (I), iso-BAW および EFW を、水系として n-BAW (II) および AHW (I) を用いた。つぎに2次元の TLC (20×20 cm) を行った。溶媒の組み合わせは1次元と2次元

Table 1. Solvents used for the chromatographies of camellia anthocyanins, anthocyanidins and sugars

Solvents	Composition	Proportion (v/v)
n-BAW (I)	n-butanol / acetic acid / water	4 / 1 / 5, upper layer
n-BAW (II)	n-butanol / acetic acid / water	1 / 2 / 7
iso-BAW	iso-butanol / acetic acid / water	8 / 2 / 3
n-BuH	n-butanol / 2N hydrochloric acid	1 / 1, upper layer
EFW	ethyl acetate / formic acid / water	8 / 2 / 3
AHW (I)	acetic acid / hydrochloric acid / water	15 / 3 / 82
AHW (II)	acetic acid / hydrochloric acid / water	30 / 3 / 10
FHW	formic acid / hydrochloric acid / water	5 / 2 / 3
HOAc	acetic acid / water	30 / 70
EPAW	ethyl acetate / pyridine / acetic acid / water	5 / 5 / 1 / 2
n-BPW	n-butanol / pyridine / water	14 / 3 / 3

で, n-BAW (II) と n-BAW (I), n-BAW (II) と iso-BAW, n-BAW (II) と EFW, および AHW (I) と n-BAW (I) とした (Table 1).

2次元クロマトグラム上のアントシアニン色素の性状を把握するため, 色素粗抽出物の部分加水分解を行った. ヤブツバキ「村娘」, サザンカ「七福神」, トウツバキ「キャプテン・ロー」の新鮮花卉から上述の方法で色素粗抽出物を得, このものを2規定塩酸で沸騰水浴上10分間加水分解し TLC に供した. 展開溶媒は1次元と2次元で, n-BAW (II) と n-BAW (I) とした. なお同じ展開溶媒で既知アントシアニン色素の TLC を行い, 性状把握の手助けとした. 標品アントシアニン色素とそれを調整した材料はつぎのとおりである.

デルフィニジン, ペチュニジン, マルビジン, シアニジン, ペオニジン: 以上スイートピー花卉. デルフィニジン 3-グルコシド, デルフィニジン 3,5-ジグルコシド: 以上フリージア花卉. シアニジン 3-グルコシド, シアニジン 3,5-ジグルコシド: 以上バラ花卉. シアニジン 3-パラクマリルグルコシド, デルフィニジン 3-パラクマリルグルコシド: 以上ブドウ果皮. シアニジン 3-キシロシルグルコシド: ヒガンバナ花卉. シアニジン 3-ラムノシルグルコシド: キンギョソウ花卉.

#### 実験2. TLC による色素の定性

1982年2月にカンツバキ「立寒椿」の花卉を採集, その2kgを10lの1%塩酸-メタノールで2日間冷浸し, 抽出液8lを得た. これを減圧下35°Cで約500mlに濃縮し, 2倍量の蒸留水を加え, 析出する沈澱を濾去した. 色素の精製はカラムクロマトグラフィーを採用した. 上記抽出液をハイポラスポリマー 250g (HP-20, 三菱化成工業製) をつめたカラム (3cm I. D.×90cm) に加え色素を吸着させたのち, まず蒸留水

500mlで洗浄した. ついで1%塩酸-メタノールを流下し, 色素を溶出した. さらに溶媒を減圧下35°Cで留去して粗抽出物を得た.

粗抽出物内の色素の精製はマス PPC を援用した. 東洋濾紙 No.50 (40×40cm) に粗抽出物のメタノール溶液を線着し, n-BuH, HOAc, n-BAW (I), AHW (I) の溶媒による展開と, 0.1%塩酸-メタノールによる濾紙からの溶出を繰り返し, 色素を精製した. 2次元 TLC で「立寒椿」に6個の色素を検出できるが, 本実験ではこれらのうち4個を単離した.

単離色素の定性を1次元 TLC で行った. まず一部を AHW (I), n-BAW (I) および n-BAW (II) で展開し, 既知アントシアニン色素とのクロマトグラフに供した. 色素標品とそれを調整した材料はつぎのとおりである.

シアニジン 3-グルコシド, シアニジン 3,5-ジグルコシド: 以上バラ花卉. デルフィニジン 3-グルコシド, デルフィニジン 3,5-ジグルコシド: 以上デルフィニウム花卉. シアニジン 3-パラクマリルグルコシド, デルフィニジン 3-パラクマリルグルコシド: 以上ブドウ果皮.

つぎに残余を2規定塩酸2mlで沸騰水浴上60分間加水分解し, アグリコンおよび糖部の定性を行った. まず加水分解液からイソアミルアルコール (2ml×2回) でアグリコンを振り取り, 減圧下50°Cで溶媒を留去し少量のメタノールで溶かしたものを, FHW, AHW (II) および iso-BAW を用いた TLC による既知アントシアニンとのクロマトグラフに供した. また水層の糖部を1規定水酸化ナトリウムで中和し, イオン交換樹脂で脱塩後, 減圧下40°Cで溶媒をほぼ留去したものを, EPAW および n-BPW を用いた TLC による糖標品とのクロマトグラフに供した. なお加水

分解時に、処理後10分と20分の2回にわたって少量を取り、部分加水分解産物の検索を n-BAW (I) を用いた TLC で行った。

### 実験3. 乾燥花卉の調整と蕾の発達に伴う色素構成の変化

ツバキの新鮮花卉は容易に褐変する傾向があり、多数に及ぶ試料の保存に乾燥処理が必要である。本項は新鮮花卉、凍結真空乾燥花卉、煮沸風乾花卉のアントシアニン色素構成を検討した。

1978年3月鹿児島市桜島で野生型ヤブツバキ花卉を採集し、一部を  $-70^{\circ}\text{C}$  のフリーザーで凍結、凍結真空乾燥機 (DF-02E-S, 日本真空技術製) で乾燥した。また一部を沸騰水中に10~15秒間浸漬し、花卉の褐変に関与する酵素を不活性化後室温で風乾した。

まず新鮮花卉 2g, 乾燥花卉 100mg を 1%塩酸-メタノール 10ml で8~10時間冷浸し、色素を抽出した。これを減圧下  $35^{\circ}\text{C}$  で溶媒を留去し、粗抽出物を得た。このものを少量のメタノールで溶解し、2次元の TLC に供した。溶媒は1次元に n-BAW (II), 2次元に n-BAW (I) を用いた。

つぎに、得られたクロマトグラムを2波長クロマトスキャナ (CS-900, 島津製) に波長:  $\lambda_s=530\text{nm}$ ,  $\lambda_R=700\text{nm}$ , 光束:  $1.25 \times 1.25\text{mm}$ , モード: 透過ジグザグスキャンニングの諸条件でかけ、各色素スポットの相対的な面積をプランメーターで計測した。また乾燥花卉については 10mg を 0.05%塩酸-メタノール 10ml で10時間冷浸し、得られた抽出液を定量的に希釈後、2波長分光光度計 (UV-200, 島津製) で 535nm の極大吸収値を測定した。この値を標品のシアニジン 3-グルコシドの示す検量線 (Fig. 1) にしたがって換算し、乾燥花卉 100mg あたりの色素量 (mg) を得た。

蕾の発達に伴う色素構成の変化の検討は鹿児島大学内に植栽される野生型ヤブツバキ花卉を用いた。色素生成が始まった蕾 200個に印を付し、3日ごとに30個ずつ完全開花日まで採集した。これらは萼苞を除き筒状の花糸部から花卉を剥ぎ取ったが、この際花糸部と合着した花卉基部を切除し、煮沸風乾法で乾燥した。ついで蕾あたりの乾燥花卉重を測定し、上記の2次元 TLC で色素構成を、また分光光度計で総色素量を調べた。

## 結 果

### 実験1. 2次元 TLC によるアントシアニン色素の検索

2次元 TLC に際し、まずアルコール系と水系の溶

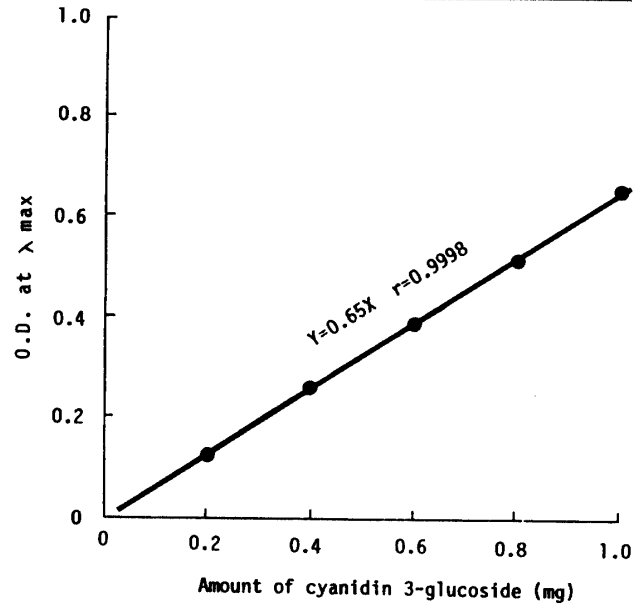


Fig. 1. Calibration curve of anthocyanin.

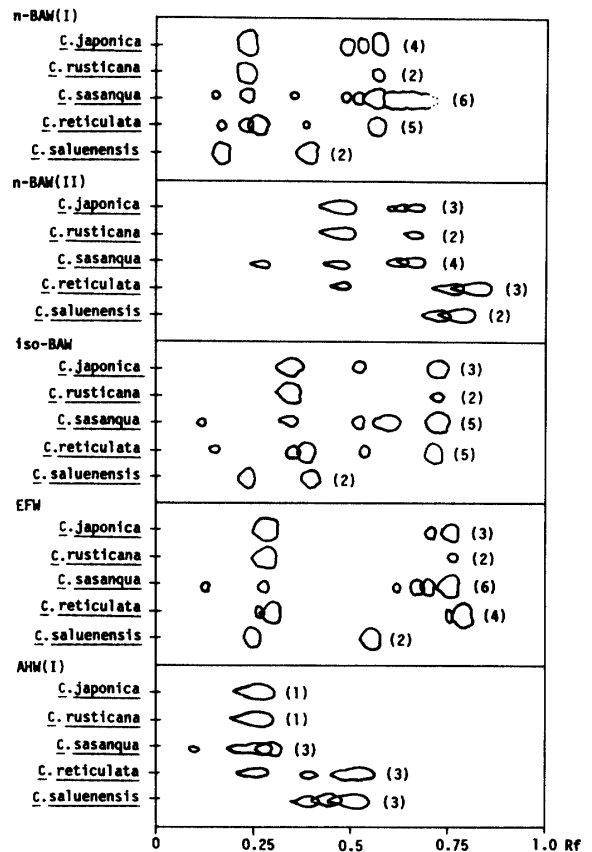


Fig. 2. Thin layer chromatograms of anthocyanins found in some camellias. Numbers in parentheses show the number of spots detected.

媒を選定する必要がある。Fig. 2 にアルコール系 3 種と水系 2 種の溶媒で、ヤブツバキ、ユキツバキ、サザ

ンカ、トウツバキおよびサルウィンツバキのアントシアン色素を1次元展開した場合のクロマトグラムを示した。前者の溶媒系は n-BAW (I) で、後者のそれは n-BAW (II) で良好なスポットの分離が得られた。

つぎに水系とアルコール系の組み合わせの n-BAW (II) と n-BAW (I), AHW (I) と n-BAW (I), n-BAW (II) と iso-BAW, n-BAW (II) と EFW の2次元 TLC を行った結果、図示しなかったがスポットの分離は n-BAW (II) と n-BAW (I) の組み合わせでもっとも良好であった。Fig. 3 はこの組み合わせを用

いた場合の各ツバキのアントシアン色素のクロマトグラムであるが、ヤブツバキに8個、ユキツバキに3個、サザンカに6個、トウツバキに5個およびサルウィンツバキに3個のスポットを検出できた。

各ツバキに見出された色素を一括し、スポットに番号を付した模式的なクロマトグラムを Fig. 4 に、またスポットの大小や濃淡を考慮した各ツバキの色素構成を Table 2 に示した。図表に明らかなごとく、色素1~14の計14個のアントシアン色素を供試ツバキに認めることができ、これらのうち色素1~9はヤブツ

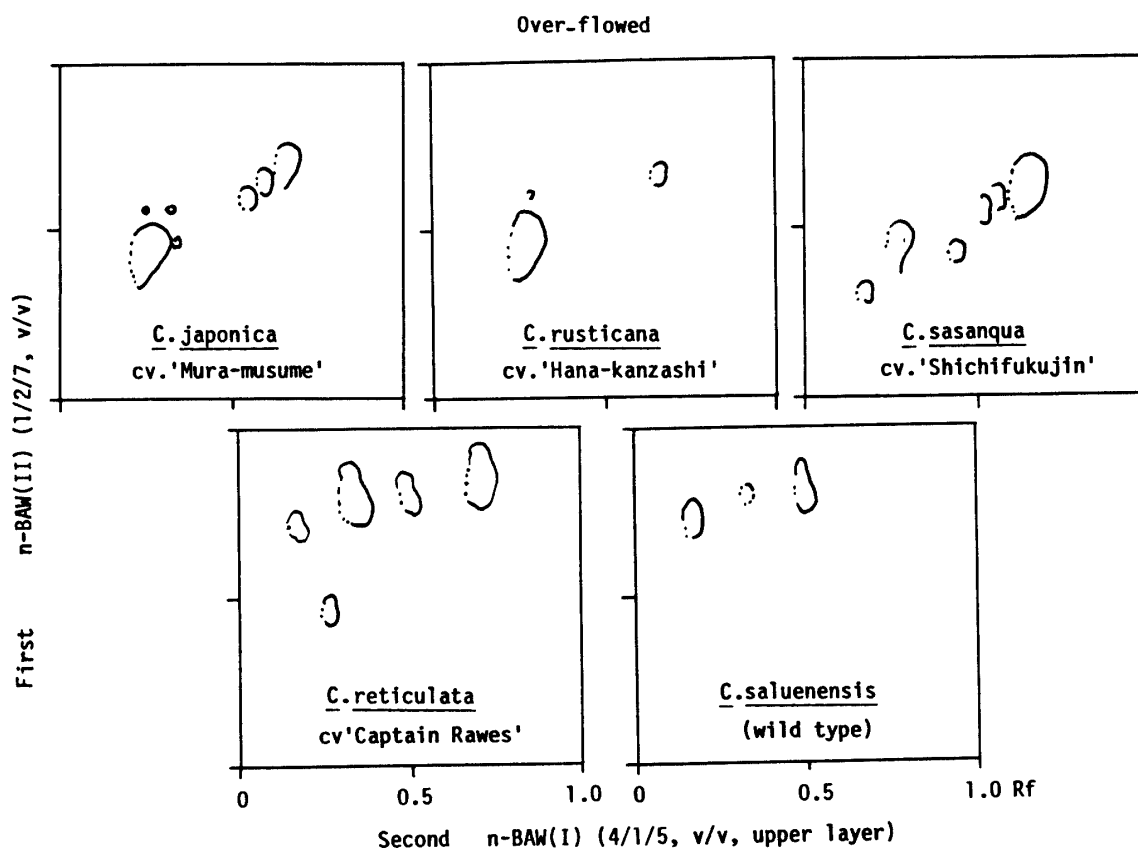


Fig. 3. Two-dimensional thin layer chromatograms of anthocyanins found in some garden forms of *Camellia*.

Table 2. Constitution of anthocyanins in some garden forms of *Camellia*

Cultivars	Occurrence of anthocyanin-spots*												
	1	2	3	4	5	6	7-9	10	11	12	13	14	
<i>C. japonica</i> cv. 'Mura-musume'	++		+	+	+		tr						tr
<i>C. japonica</i> ssp. <i>rusticana</i> cv. 'Hana-kanzashi'	++				+		tr						
<i>C. sasanqua</i> cv. 'Shichifukujin'	+	+	+	+	++	+							
<i>C. reticulata</i> cv. 'Captain Rawes'	+							+	++	+	++		
<i>C. saluenensis</i> wild type								++	+	++			

\* Spot-numbers used correspond to those represented in Fig. 4.

++: major pigment, +: minor pigment, tr: trace.

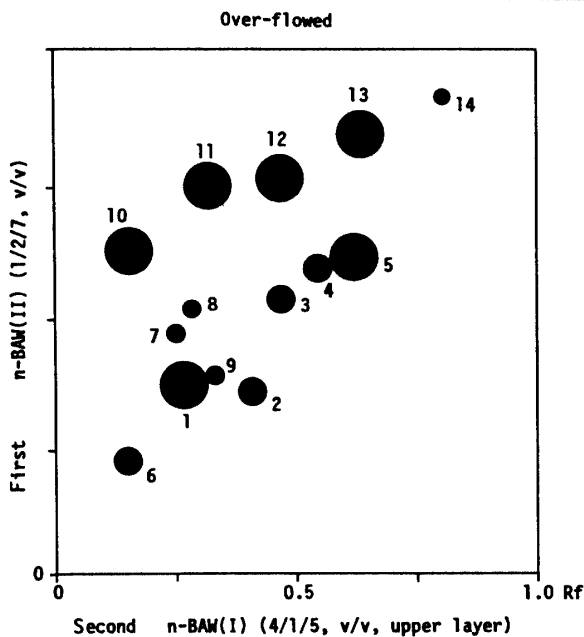


Fig. 4. Schematic representation of camellia anthocyanins appearing on a two-dimensional thin layer chromatogram.

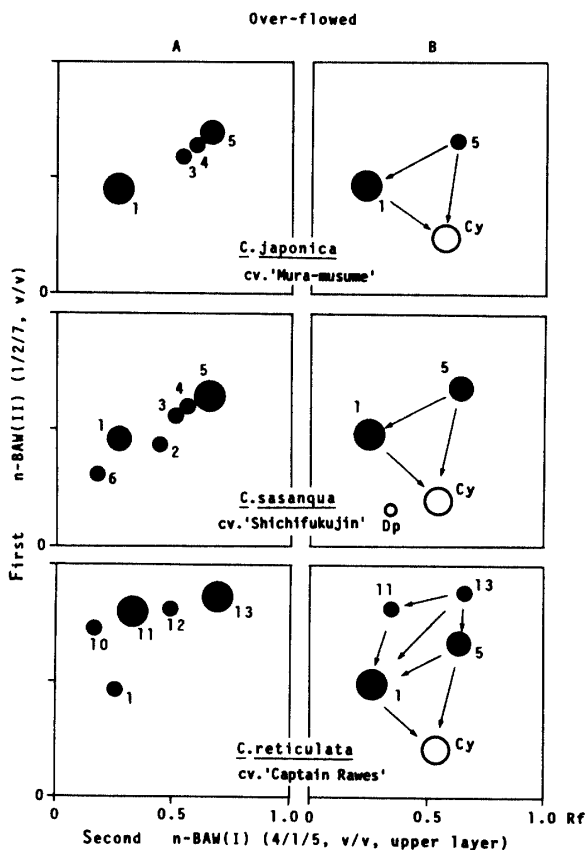


Fig. 5. Two-dimensional thin layer chromatograms of anthocyanins found in *Camellia japonica*, *C. sasanqua* and *C. reticulata* before (A) hydrolysis and after (B) controlled acid hydrolysis. The larger the spot, the more the amount of pigment.

バキ, ユキツバキ, サザンカに, 色素10~13はトウツバキ, サルウィンツバキに主に分布するものであった.

色素粗抽出物の部分加水分解産物の模式的な2次元クロマトグラムを Fig. 5 に示した. まずヤブツバキではあらたな中間生成物は見られず, 色素1の量もさほど変化しなかったことから, 色素5 (色素3, 4を含む) からシアニジンへ, もしくは色素5から色素1を経てシアニジンへ至る, 2つの分解経路があると考えられる. サザンカではヤブツバキと共通の色素1, 5は同様な経路をたどると考えられるが, 色素2, 6は直接デルフィニジンへ分解するようであった. これに対し, トウツバキでは主要な色素10~13は中間生成物の色素1, 5を生じ, これらを経てシアニジンへ分解した. したがって, 色素10~13は色素1, 3~5に比べより複雑な化学構造をもつと考えられる.

以上の部分加水分解時の色素の行動は, 色素1, 3~5はシアニジンの, また色素2, 6はデルフィニジンの, いずれもモノサイドであることを示し, 色素10~13は糖を2個以上持つシアニジン配糖体であることを示した. ちなみに Fig. 6 に標品のアントシアニン色

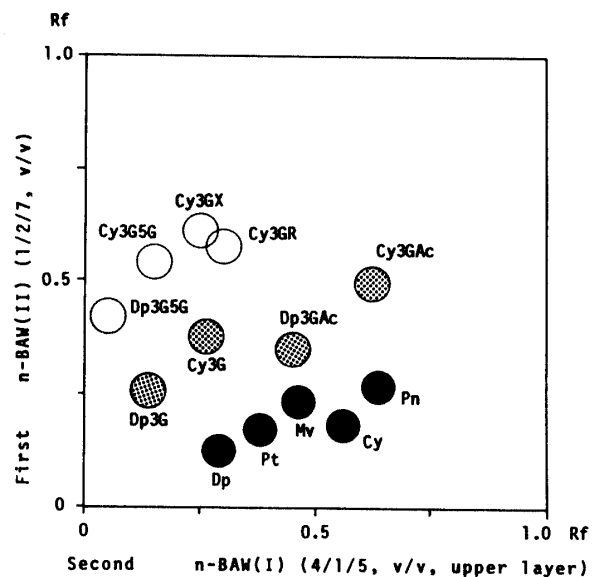


Fig. 6. Schematic representation of authentic anthocyanins appearing on a two-dimensional thin layer chromatogram. Cy: cyanidin, Pn: peonidin, Dp: delphinidin, Pt: petunidin, Mv: malvidin, Cy3G: cyanidin 3-glucoside, Cy3GAc: cyanidin 3-(p-coumaryl) glucoside, Cy3G5G: cyanidin 3,5-diglucoside, Cy3GR: cyanidin 3-rhamnosylglucoside, Cy3GX: cyanidin 3-xylosylglucoside, Dp3G: delphinidin 3-glucoside, Dp3G5G: delphinidin 3,5-diglucoside.

素の模式的な2次元クロマトグラムを示すと、n-BAW (II) の水系溶媒で、ダイサイドは対応するモノサイドより高 Rf 域を占め、かつ前者はトウツバキやサルウィンツバキの色素10~13と、また後者はヤブツバキやサザンカの色素1~9と、それぞれほぼ同じ Rf 域を占めたことも上述の推定を裏づけるものであった。

以上の実験結果を踏まえ、本研究はツバキにみられ

るアントシアン色素が構造上単糖型か多糖型かに着目し、とくに水系展開溶媒で低 Rf 値を示す色素1~9を低次色素系、逆に高 Rf 値を示す色素10~14を高次色素系と便宜的に呼ぶこととした。

#### 実験2. TLCによる色素の定性

ツバキに見られる14個の色素スポットのうちカンツバキには低次色素系の色素1~6の6個が存在する。

Table 3. Thin layer (cellulose) chromatographic identification of pigment-spots belonging to the lower-Rf anthocyanins appearing on a two-dimensional chromatogram

Compounds	Rf values (×100) in solvents		
	n-BAW (I)	iso-BAW	AHW (I)
Camellia anthocyanins			
Spot 1	23	38	26
Spot 2	38	59	15
Spot 5	53	72	29
Spot 6	17	18	10
Authentic anthocyanins			
Cyanidin 3-glucoside	23	39	27
Cyanidin 3,5-diglucoside	15	23	41
Cyanidin 3-( <i>p</i> -coumaryl) glucoside	52	70	30
Delphinidin 3-glucoside	17	19	11
Delphinidin 3,5-diglucoside	11	8	35
Delphinidin 3-( <i>p</i> -coumaryl) glucoside	39	58	14

Table 4. Thin layer (cellulose) chromatographic identification of acid hydrolysates of pigment-spots belonging to the lower-Rf anthocyanins

Compounds	Rf values (×100) in solvents				
	AHW (II)	FHW	iso-BAW	EPAW	n-BPW
Anthocyanidins					
Spot 1	54	28	40		
Spot 2	34	19	26		
Spot 5	55	29	40		
Spot 6	35	18	26		
Authentic anthocyanidins					
Pelargonidin	71	39	60		
Cyanidin	55	29	41		
Peonidin	67	36	53		
Delphinidin	35	19	27		
Petunidin	50	20	30		
Malvidin	63	32	35		
Sugars					
Spot 1				33	15
Spot 2				34	15
Spot 5				33	15
Spot 6				33	16
Authentic sugars					
Glucose				33	16
Galactose				29	13
Arabinose				40	20
Xylose				47	23



このうち色素 1, 2, 5, 6 の 4 個を単離し, 標品色素とのコクロマトグラフ (Table 3), 加水分解後のアグリコンと糖の定性 (Table 4), 部分加水分解生成物の精査 (Fig. 7) によってつぎのように同定した.

色素 1: シアニジン 3-グルコシド. 色素 2: デルフィニジン 3-パラクマリルグルコシド. 色素 5: シアニジン 3-パラクマリルグルコシド. 色素 6: デルフィニジン 3-グルコシド.

なお図表に示さなかったが, 高次色素系の色素 10 について標品アントシアン色素とのコクロマトグラフを

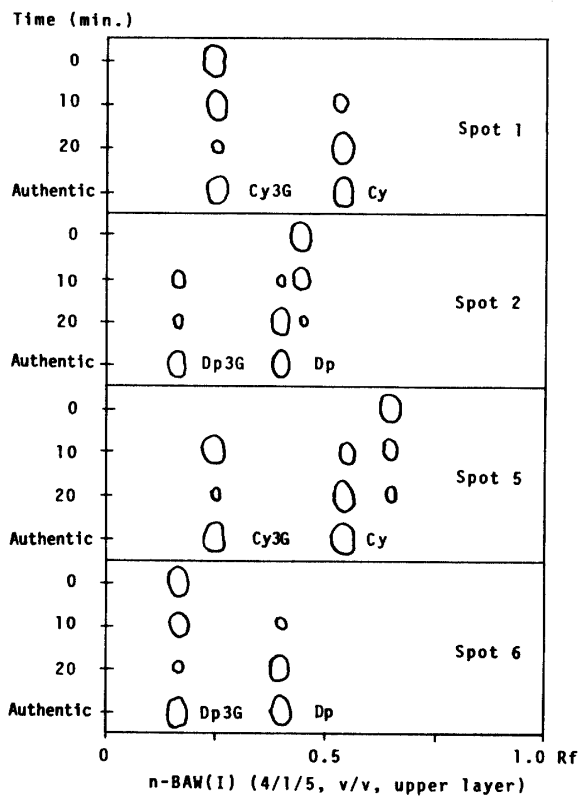


Fig. 7. Thin layer chromatograms of the controlled acid hydrolysates of spots 1, 2, 5 and 6 in parallel with authentic samples of anthocyanins.

行った結果, このものとシアニジン 3,5-ジグルコシドとの Rf 値が完全に一致した.

実験 3. 乾燥花卉の調整と蕾の発達に伴う色素構成の変化

新鮮花卉, 凍結真空乾燥花卉, 煮沸風乾花卉の 3 者の色素構成を Table 5 に示した. まず新鮮花卉の構成色素の蓄積比率と, 後者の凍結真空乾燥および煮沸風乾花卉のそれとで有意差は認められなかった. また総色素量についても後者の 2 処理間で有意差は認められず, 多数に及ぶツバキ花卉の乾燥に, 煮沸後風乾する方法を用いることが可能となった.

蕾の発達を見ると, 色素生成初期から開花に至る乾燥花卉重は, 開花前日数 (X) と重量 (Y) との間に  $Y = 0.012X + 0.2$  ( $r = 0.994$ ) 式の関係があり, 時間 (日数) に比例する乾物生産をしている (Fig. 8). これに対し蕾あたりの総色素は始めは急速に増加し, 開花 3

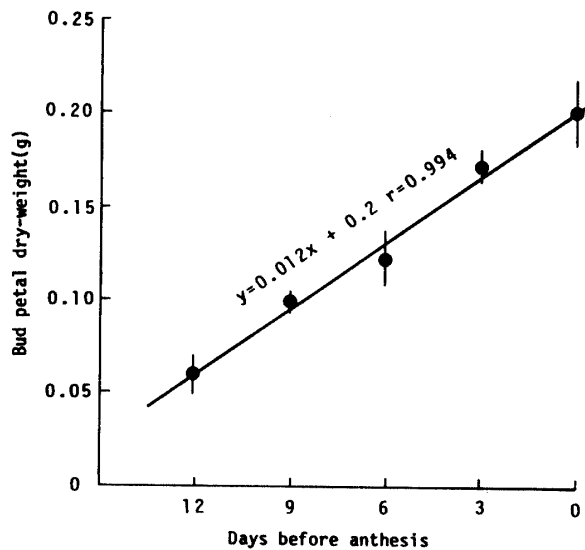


Fig. 8. Changes in petal dry-weight during flower-bud-development.

Table 5. Effect of preparation of petals for analysis on the constitution of anthocyanins in *Camellia japonica*

Preparation	Total* <sup>1</sup> anthocyanin	Constituent anthocyanins (%) <sup>*2</sup>				
		1	3 & 4	5	2 & 6	7-9
Fresh petal	—	65 ± 3 <sup>*3</sup>	11 ± 2	23 ± 3	—	1 ± 0.8
Lyophilized petal	0.63 ± 0.04	65 ± 2	10 ± 2	23 ± 2	—	2 ± 0.9
Boiled & dried petal	0.65 ± 0.03	68 ± 4	9 ± 2	22 ± 3	—	1 ± 0.9

\*<sup>1</sup> mg of anthocyanins / 100mg of petal dry-weight.

\*<sup>2</sup> Numbers used correspond to the spot-numbers represented in Fig. 4.

\*<sup>3</sup> Mean ± SD (standard deviation).

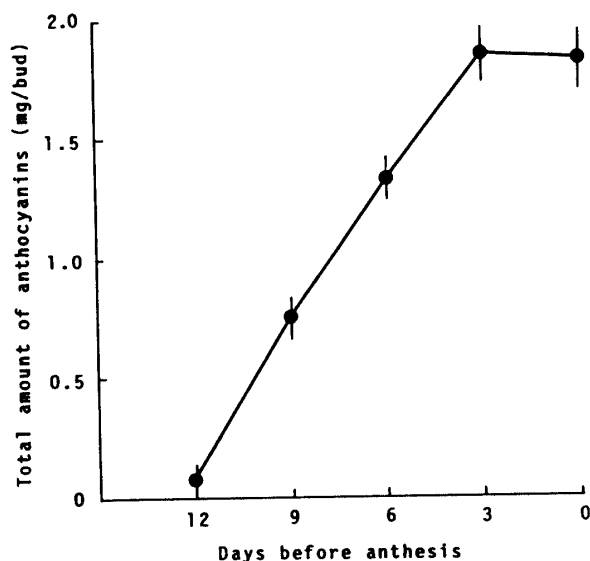


Fig. 9. Changes in total amount of anthocyanins per bud during flower-bud-development.

日前にほぼ最大に達した (Fig. 9). しかし乾燥重 100 mg あたりの色素量は開花 6 日前にすでに最大に達し、その後むしろ減少した (Table 6). つまり色素生成は蕾の発達途中で終結するが、色素以外の乾物生産は比較的遅くまで継続することを示した.

色素構成の変化を見ると (Table 6), 開花 3 日~6 日前では開花したものと同じ色素構成を示し、各色素蓄積比率も開花花卉とで有意差は認められなかった. しかし開花 9 日前では色素構成は同じであるが、色素 1 で比率は低く、色素 5 で逆に高かった. また色素生成初期の開花 12 日前では、開花花卉に見られぬ 1 個の未知色素が検出され、しかも比率は約 40% と、もっとも主要であった.

以上のようにツバキ花卉の色素生成はかなり小さな

蕾の段階で始まり、開花前に終了するといえる. このことは開花 6 日前でも開花花卉と同様に色素分析が可能なることを示した.

## 考 察

化学的手法による花卉のアントシアン色素の分析は Robinson and Robinson<sup>77)</sup>, Scott-Moncrieff<sup>87)</sup>, Lawrence ら<sup>53, 54)</sup> に始まるが、当時は色素の各種溶剤間の分配係数の差に基づく Robinson テスト<sup>76)</sup> が適用されたもので、必ずしも精度の高いものとはいえなかった.

1940 年代後半から 1950 年代後半にかけて、Bate-Smith<sup>12)</sup> と Harborne<sup>37~39)</sup> は PPC を用いた色素分析を行う方法を確立するに及んだ. PPC による初期の分析で Endo<sup>26)</sup> はヤブツバキにシアニジン 3-グルコシドとロイコアントシアニンを、また、Hayashi and Abe<sup>44)</sup> はヤブツバキとカンツバキにシアニジン 3-グルコシドとフリーのシアニジンを見出したが、Hayashi らの場合のシアニジンは Harborne<sup>42)</sup> によって存在を強く否定された.

比較的複雑な色素構成を持つとされる植物を 2 次元クロマトグラフィーで分析した例として、レッドラズベリー果実で Barritt and Torre<sup>11)</sup> の 9 個、ブドウ果皮で芥田ら<sup>3~5)</sup> の 10 個と白石・渡部<sup>89)</sup> の 14 個、またツツジ花卉で小林<sup>50, 51)</sup> の 11 個を検出した報告をあげることができる. これらはいずれもヒドロキシル化レベルを異にするアントシアン色素どおしが共存する複雑な構成を示す例である. とくに白石・渡部<sup>89)</sup> は 1 次元に iso-BAW, 2 次元に AHW (I) の溶媒を用いた TLC で合計 20 個にも及ぶ色素が分離可能と報告しており、2 次元クロマトグラフィーが色素分析に極めて有力な手段となることは必至と思えた.

Table 6. Changes in the constitution of anthocyanins in *Camellia japonica* during flower-bud-development

Days before anthesis	Total* <sup>1</sup> anthocyanin	Constituent anthocyanins (%) <sup>*2</sup>						
		1	2	3	4	5	6	others <sup>*3</sup>
12	0.18 ± 0.06 <sup>*4</sup>	20 ± 4	—	4 ± 1	15 ± 2	20 ± 4	—	41 ± 5
9	0.76 ± 0.12	81 ± 3	—	2 ± 1	6 ± 1	10 ± 2	—	1 ± 0.5
6	1.10 ± 0.15	86 ± 3	—	1 ± 0.2	5 ± 1	6 ± 1	—	2 ± 1
3	1.06 ± 0.07	87 ± 2	—	2 ± 1	4 ± 2	6 ± 1	—	1 ± 0.3
0	0.91 ± 0.12	86 ± 5	—	2 ± 1	4 ± 1	6 ± 2	—	2 ± 0.7

\*<sup>1</sup> mg of anthocyanins / 100mg of petal dry-weight.

\*<sup>2</sup> Numbers used correspond to the spot-numbers represented in Fig. 4.

\*<sup>3</sup> Other pigment-spots than 1-6 are spots 7-9, and in addition to these, petal of 12 days before anthesis contains an unknown pigment.

\*<sup>4</sup> Mean ± SD (standard deviation).

ツバキの場合1次元に n-BAW (II), 2次元に n-BAW (I) を用いた TLC でもっとも良好な色素分離を示し<sup>82)</sup>, 計14個のアントシアン色素を見出すことができた (Fig. 4). これまでの1次元の PPC, TLC で見出されたものはシアニジン 3-グルコシドとアシル化シアニジン配糖体が主体で, これにサザンカやカンツバキのデルフィニジン 3-グルコシド<sup>129, 130)</sup> と, サルウィンツバキとトウツバキの未知の2個<sup>70)</sup>を加えても, せいぜい5個であった. したがってこれまでの報告例のほぼ3倍の色素数を見出したことになる.

ところで, クロマトグラム上の色素を C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> 骨格の3位に1個の糖を持つモノサイドグループと, 3位または3, 5位に2個以上の糖を持つグループに区別することができたが (Figs. 5, 6), 前者を低次色素系, 後者を高次色素系と呼べば, ヤブツバキ, ユキツバキ, サザンカには前者が, また後者はトウツバキ, サルウィンツバキに主に分布するといえ (Table 2), 本邦と中国大陸産のツバキで大幅な色素分布の違いがありそうである. あるいはヤブツバキやユキツバキは色素1を, サザンカは色素5を, またサルウィンツバキは色素10, 12を, トウツバキは色素11, 13を主体とするように, 種間で色素蓄積が異なるようであるが, 白石・渡部<sup>89, 90)</sup>がブドウで報告しているように, 色素分布の様相で種, 系統および品種を区別する手法をツバキに適用することも可能と考えられる. 第3章ではこれらの点に着目し, 栽培種群の色素分布を詳細に検討する<sup>82, 83)</sup>.

色素分析法とあいまって, 乾燥花卉の調整や花卉採集時期についても解決しなければならない問題があった. ツバキ新鮮花卉は急速に褐変し, 分析に使えなくなることは周知のとおりである. 本実験の結果は凍結真空乾燥と煮沸風乾花卉の両者とも新鮮花卉と同じ色素構成や色素蓄積を示した. 花卉乾燥には凍結真空乾燥が望ましいことはいうまでもないが, それよりはるかに簡便な, 短時間煮沸し風乾する方法が採用でき, 多数に及ぶ試料保存が可能となった.

これに対し花卉採集時期の問題であるが, たとえばスイートピー<sup>74, 79, 80, 94)</sup>, ホウセンカ<sup>32)</sup>, バラ<sup>7)</sup>, キンギョソウ<sup>103, 104)</sup>などでは, 蕾と開花したものとで花卉の色素構成や色素蓄積が大幅に異なる場合がある. つまり花卉での色素合成はかなり緩慢に, かつ花卉の発達に伴って進行し, このような違いを生じるものといえる. したがって, これらではたとえば種, 系統および品種間で色素構成を比較するような場合, 発達段階をそろえた花卉を分析に用いることが不可欠となる.

ツバキでは開花6日前の蕾であっても, 開花花卉とまったく同じ色素構成や色素蓄積を示し (Table 6), かなり早い発達段階で急速な, しかも最終的な構成や蓄積に至る色素合成を行う植物といえる. したがって相当幅広い時期に及んで花卉を採集しても, 蕾と開花したものとで色素分布の様相に違いがあるなどという不都合をきたさない訳で, 分析に有利な材料と考えられる.

## 要 約

ツバキ属植物の花卉のアントシアン色素分析法の確立と色素分布の概要について検討した.

1. 1次元に n-BAW (II), 2次元に n-BAW (I) の展開溶媒を用いた TLC でもっとも優れた色素スポットの分離がみられ, 供試ツバキに色素1から色素14までの合計14個のアントシアン色素を検出した. またこれらの性状を精査した結果, モノサイド群の低次色素系とダイサイド群と推定できる高次色素系とに分類したが, 種によって両色素系の分布が異なることを予測できた.

2. 煮沸風乾花卉の色素構成や色素蓄積比率は, 新鮮花卉や凍結真空乾燥花卉のそれとまったく同じで, 試料花卉の調整・保存に煮沸後風乾する方法が可能となった.

3. 蕾の発達に伴う色素生成を見ると, 開花6日前の花卉は開花したものと同じ色素構成や色素蓄積を示し, 幅広い時期に及ぶ花卉採集が可能といえる.

## 第3節 HPLC によるシアニジン 3-グルコシドとガラクトシドの分析

### 材 料 と 方 法

1982年5月新潟県黒姫山山頂部 (標高: 海拔 900m ~ 1100m) で採集した野生型ユキツバキの花卉を, 第2節に示した煮沸風乾法で乾燥後, 10g を 1%塩酸-メタノール 100ml で10時間冷浸し, アントシアン色素粗抽出物を得た. このものをマス PPC に供し, n-BAW (I), AHW (I), n-BuH の3溶媒で色素1 (シアニジン 3-グルコシド, Fig. 4) に相当する部分を単離・精製した.

HPLC は BIP-I (日本分光製) システムを使用し, 少量のメタノールで溶解した色素粗抽出物の一部を供した. 分析条件はつぎのとおりである.

カラム管: 4.6mm I. D. × 250mm. 充填剤: Nucleosil 7C<sub>18</sub> (Nagel 製). 検出器: UVIDEC 100-

Table 7. High performance liquid chromatographic separations of spot 1 anthocyanins in *Camellia japonica* ssp. *rusticana*\*<sup>1</sup>

Compounds	Retention times (min) in solvents* <sup>2</sup>		Ga : G* <sup>3</sup>
	HClO <sub>4</sub> -MeOH	AcAW	
Spot 1 anthocyanins	12.50, 14.13	5.86, 6.76	62 : 38
Authentic anthocyanins			
Cyanidin 3-galactoside	12.50	5.86	
Cyanidin 3-glucoside	14.13	6.76	
Cyanidin 3-arabinoside	18.16	8.15	
Cyanidin 3,5-diglucoside	5.29	—	

\*<sup>1</sup> Chromatograms were run on a BIP-I HPLC system using a 25cm × 4.6mm I.D. column packed with Nucleosil 7C<sub>18</sub> and a UVIDEC 100-III detector set at 535nm. A flow-rate of 1.0ml/min was maintained employing HClO<sub>4</sub>-MeOH as an eluent, and that of 1.2ml/min was maintained employing AcAW as an eluent.

\*<sup>2</sup> HClO<sub>4</sub>-MeOH : 35% methanol containing 0.1% perchloric acid.  
AcAW : acetone / acetic acid / water (7 / 10 / 83, v / v).

\*<sup>3</sup> Ga : cyanidin 3-galactoside, G : cyanidin 3-glucoside.

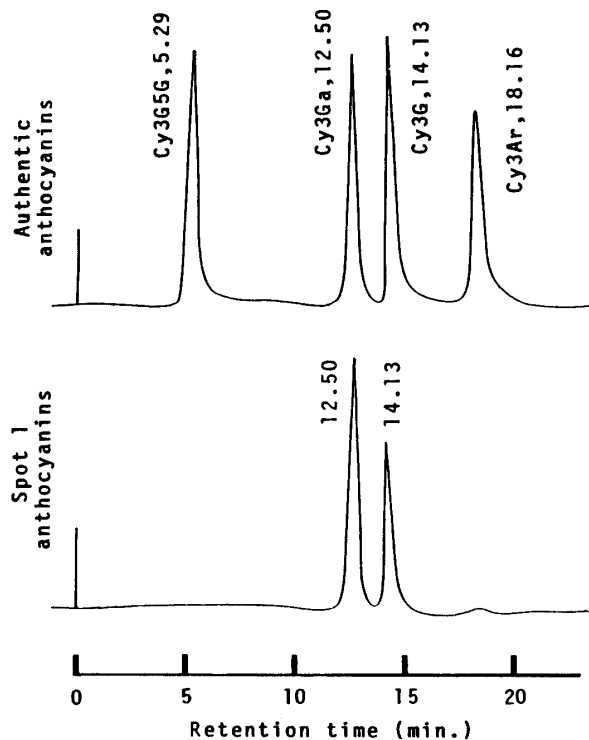


Fig. 10. High performance liquid chromatographic separation of component anthocyanins of spot 1 and authentic anthocyanins employing HClO<sub>4</sub>-MeOH as an eluent. For running conditions see Table 7.

Cy3G: cyanidin 3-glucoside, Cy3Ga: cyanidin 3-galactoside, Cy3Ar: cyanidin 3-arabinoside, Cy3G5G: cyanidin 3,5-diglucoside.

IV (日本分光製). 検出波長: 535nm. インテグレーター: Chromatocorder 11 (System Instruments 製).

溶媒の流速を0.1%過塩素酸-35%メタノール(以下 HClO<sub>4</sub>-MeOH)の場合は1.0ml/minとし, アセトン-酢酸-水(7+10+83, 以下 AcAW)の場合は1.2ml/minとした<sup>84</sup>). なお色素標品とそれを調整した材料はつぎのとおりである.

シアニジン3-グルコシド, シアニジン3,5-ジグルコシド: 以上バラ花卉. シアニジン3-ガラクトシド: ヤツデ果皮. シアニジン3-アラビノシド: ツツジ花卉.

色素同定に正確を期するため, HPLCに並行し従来のPPC, TLCを行った. 精製した色素1に相当する部分の一部を第2節に示した方法で加水分解し, アグリコン部をAHW(II), FHW, n-BAW(I), iso-BAWの, また糖部をEPAW, n-BPWの溶媒で, TLCによる標品とのクロマトグラフに供した. ついで糖部をEPAWを用いたPPCで分離し, 標品の糖と同じR<sub>f</sub>部分を切り取り, 熱水で抽出したものを3,6-ジニトロフタル酸を用いた百瀬法<sup>63, 64</sup>)で比色定量した.

## 結 果

野生型ユキツバキ花卉の色素1と, 標品アントシアニン色素のHPLCによる保持期間(retention time)をTable 7に, またHClO<sub>4</sub>-MeOHを溶媒とした場合のチャートをFig. 10に示した. HPLCを用いると, たとえば図に見られるような明確な色素の分離が得られるが, ユキツバキの色素1に両溶媒でシアニジ

Table 8. Thin layer (cellulose) chromatographic identification of anthocyanidin obtained by the acid hydrolysis of spot 1 in *Camellia japonica* ssp. *rusticana*

Compounds	Rf values (×100) in solvents			
	AHW (II)	FHW	n-BAW (I)	iso-BAW
Spot 1 anthocyanidin	53	26	67	42
Authentic anthocyanidins				
Pelargonidin	69	37	78	61
Cyanidin	54	26	68	43
Peonidin	68	34	72	56
Delphinidin	32	17	41	28
Petunidin	49	24	57	33
Malvidin	61	31	62	37

Table 9. Thin layer (cellulose) chromatographic identification of sugars obtained by the acid hydrolysis of spot 1 in *Camellia japonica* ssp. *rusticana*

Compounds* <sup>1</sup>	Rf values (×100) in solvents		Ga : G* <sup>2</sup>
	EPAW	n-BPW	
Spot 1 sugars	30, 35	12, 13	58 : 42
Authentic sugars			
Glucose	35	13	
Galactose	30	12	
Arabinose	41	17	
Xylose	49	19	

\*<sup>1</sup> Visualization of colour of sugar-spot was affected by aniline-phosphoric acid (Bryson and Mitchell, 1951).

\*<sup>2</sup> Ga : cyanidin 3-galactoside, G : cyanidin 3-glucoside.

ン3-グルコシドとガラクトシドに完全に一致する2個のピークが検出され、両色素の混合物と断定することができた。またガラクトシド：グルコシド比は62：38であった。

シアニジン3-ガラクトシドの存在を確証するための加水分解産物の検索の結果は Tables 8, 9 に示したとおりで、アグリコンはシアニジンが、また糖はグルコースとガラクトースが検出された。比色定量によるガラクトース：グルコース比は58：42で、HPLCによる配糖体レベルのそれとほぼ一致する値を示し、これらは色素1はシアニジン3-グルコシドとガラクトシドの混合物という HPLC の結果を完全に支持するものであった。

## 考 察

HPLC を用い野生型ユキツバキ花卉にシアニジン3-ガラクトシドを見出した<sup>84)</sup>。この色素の同定はツ

バキ属植物では初めてのものである。

PPC や TLC ではアントシアン色素のグルコシドとガラクトシドの分離は極めて困難と Harborne<sup>43)</sup> は指摘しているが、事実アルコール系や水系溶媒で両色素は近似した Rf 値を示す。したがって両者の定性に時として間違いがあっても無理からぬ話である。たとえば *Fragaria vesca* のペラルゴネジン3-ガラクトシドは後日 Sondheimer and Karash<sup>93)</sup> によってグルコシドと、あるいは *Primula sinensis* のマルビジン3-ガラクトシドも Harborne and Sherratt<sup>40)</sup> によってグルコシドと訂正された。ツバキの場合も TLC で色素1をシアニジン3-グルコシドと同定したが<sup>81, 82)</sup>、HPLC でシアニジン3-グルコシドとガラクトシドの混合物と訂正した<sup>84)</sup>。

このような HPLC の高度な分析能を利用し、多くの植物のフラボノイド類の正確な定性・定量を行い、色素構成や蓄積型で品種を同定する試みがアメリカ合衆国の Asen ら<sup>8~10, 95, 96)</sup> のグループで始められた。たとえばポインセチアではフラボノール色素で38品種、またアントシアン色素で28品種を同定し、かつ市販新品種の75%が体細胞突然変異に起因する特徴的な色素構成を持つことを明らかにした。つまり HPLC を用いた精密な分析法はこれまでにないデータの解析とそれに基づく利用、とくに系統発生の解明、種、系統、品種特異性の把握、あるいは育種への応用などに対して、極めて有効な手段と考えられる<sup>84)</sup>。

## 要 約

HPLC を採用して野生型ユキツバキ花卉のアントシアン色素を分析した結果、これまでの TLC でシアニジン3-グルコシドとした色素スポットは、実際はシアニジン3-グルコシドとガラクトシドの混合物であった。ツバキ属植物においてシアニジン3-ガラ

トシドの存在を見出したのは初めてのことである。

### 第3章 ツバキ属植物栽培種のアントシアン色素分布の様相

#### 第1節 緒言

本邦における代表的な花木としてツバキ以外にバラ、ツツジ、シャクナゲ、ボタンなどがあげられるが、これらは品種分化に関して2つのグループに大別できよう。ひとつは花色について性質を異にする多くの野生原種が広範囲にわたって結びあい、現在の品種群を形成したバラやシャクナゲで、いまひとつは花色についていくらか性質を異にする野生原種がせいぜい2、3種交雑に関係したか、あるいは原種が単種に限られていて花色に関する突然変異によるかのいずれかで、多彩な品種群を形成したツツジやボタンである<sup>78)</sup>。

ツバキはといえば後者に属する。観賞用のツバキではヤブツバキ、ユキツバキ、サザンカ、カンツバキ、ハルサザンカ、ワビスケ、トウツバキ、ウィリアムシー系ツバキが重要であるが、これらのうち系統発生上の来歴が不明とされるカンツバキ、ハルサザンカ、ワビスケと、雑種起源のウィリアムシー系ツバキを除けば、他は単一野生種に由来する品種分化を遂げた種といえる。したがって第2章で触れたように、種内の花色変異はサザンカとカンツバキに微量のデルフィニジン系色素があるものの、大部分はシアニジン系色素の発現に起因し、多彩とは言い難い。この点、同様な品種群成立起源のツツジやボタンは、種によって多量のデルフィニジン系色素や強力なコピグメント機構を持ち、趣を異にするところである<sup>46, 50, 51)</sup>。

さて、ツバキ属植物をアントシアン色素で類型化した例として Parks<sup>70, 72)</sup> と Yokoi<sup>129)</sup> の報告をあげることができる。前者はヤブツバキ、サザンカ、ハルサザンカが共通してシアニジン3-グルコシドを持つこと、およびサルウィンツバキまたはトウツバキにそれぞれ特有な色素があることから、ヤブツバキ型、トウツバキ型、サルウィンツバキ型の3型を提唱している。これに対し後者は3個の主要色素の分布から、ヤブツバキ型、サザンカ型、種間雑種(トウツバキを含む)型に分けた。両氏らで類型化は異なるものの、少なくともツバキに種間または系統間で色素分布に差があることを示唆するものであった。

前章では2次元クロマトグラム上に14個、またHPLCを用いた分析で、あらたにシアニジン3-ガラクトシドを加えた計15個のアントシアン色素をヤブツ

バキ、ユキツバキ、サザンカ、トウツバキの代表的な品種と、サルウィンツバキに見出し、それらの分布が種間で異なることを予見することができた。本章第2節で述べるところは、多数に及ぶツバキ栽培種群の総数15個の色素分布の様相で<sup>82, 84)</sup>、アントシアン色素型での類型化と種内変異に的を絞り、栽培種成立の実態を明らかにすることを目的とした。また本章第3節では雑種起源のものについて色素分布を明らかにし<sup>83)</sup>、とくに色素の遺伝に関し論じる。

#### 第2節 ヤブツバキ、ユキツバキ、サザンカ、カンツバキ、ハルサザンカ、トウツバキ及びワビスケ栽培種のアントシアン色素分布の様相

##### 材料と方法

##### 実験1. 2次元TLCによる色素分布の様相

本節で用いたツバキ花卉は Table 10 と Appendix 1 に示したごとくで、ヤブツバキ96品種、ユキツバキ21品種、サザンカ39品種、カンツバキ8品種、ハルサザンカ22品種、トウツバキ35品種、ワビスケ9品種である。花卉の主な入手先はつぎのとおりである。

ヤブツバキ：九州大学農学部(福岡)、久留米ツバキ愛好会(久留米)、長島熱帯植物園(鹿児島)。ユキツバキ：新潟大学農学部(新潟)。サザンカ：東京農工大学農学部(府中)、農林水産省野菜試久留米支場(久留米)。カンツバキ：九州大学農学部。ハルサザンカ：九州大学農学部、東京農工大学農学部。トウツバキ：久留米ツバキ愛好会。ワビスケ：横浜市立こどもの国(横浜)。

1978年から1979年にかけて花卉を採集し、第2章第2節に示す煮沸風乾法で乾燥花卉を得、デシケーター(シリカゲル)内に保存し適宜実験に供した。アントシアン色素の抽出と2次元TLCは前章第2節に示したとおりで、1次元にn-BAW(II)、2次元にn-BAW(I)の溶媒を用いた。クロマトグラム上の色素スポットの定量はクロマトスキャナ(CS-900, 島津製)を、総色素の定量は2波長分光光度計(UV-200, 島津製)を用い、前章第2節に示す条件で行った。

##### 実験2. HPLCによるシアニジン3-ガラクトシドの分布の様相

供試花卉は Table 11 に示したごとくで、あらたにヤブツバキ48品種、サザンカ5品種、ハルサザンカ20品種を加えた。

HPLCによる色素1に占めるシアニジン3-ガラクトシドとガラクトシドの分離定量は第2章第3節の方法

に準拠したが、手順を示すとつぎのとおりである。まず、乾燥花卉 20mg を 1%塩酸—メタノール 4ml で 4 時間冷浸し、濾過後濾液に 16ml の蒸留水を加え、色素を SEP-PAK C<sub>18</sub> カートリッジ (Waters 製) に吸着させた。つぎに蒸留水 2ml と 20%メタノール 4ml でカートリッジを洗浄、非極性および高極性の夾雑物を除去し、80%メタノール 4ml で色素を溶出した。この溶液をつぎの条件で HPLC に供した。

ポンプ：TRIOTAR-III (日本分光製)、カラム管：4.6mm I.D.×250mm、充填剤：Nucleosil 7C<sub>18</sub>、検出器：UVIDEC 100-III (日本分光製)、波長：535 nm、展開溶媒：0.1%過塩素酸—35%メタノール、流速：1.0ml/min、インテグレーター：Chromatocorder 11。

## 結 果

### 実験 1. 2次元 TLC による色素分布の様相

ヤブツバキ、ユキツバキ、サザンカ、カンツバキ、ハルサザンカ、トウツバキおよびワビスケの合計 230 品種のアントシアン色素構成と、構成色素の蓄積比率 (百分率) を Appendix 1 に、またこれらを種ごとに取りまとめ平均値として Table 10 に示した。

#### (1) ヤブツバキ群

「村娘」と「太神楽」の 2 品種に例外的に高次色素系の色素 14 を認めたが、他はすべて色素 1～9 の低次色素系のみを持つものであった。これら低次色素系では色素 1 と色素 5 を主体とし、前者は平均値で総色素の 64%、後者は 24% を占めた (Table 10)。

色素 1 は「クリスマス・ビューティー」や「南蛮紅」の総色素の 100% を占めるものから、「ティファニー」の 18% までの大幅な変異があり、色素 5 も「十八学士」

の 62% から、「クリスマス・ビューティー」や「南蛮紅」の 0% までの変異があった (Appendix 1)。色素 1 と色素 5 の量に関する品種分布を見ると (Fig. 11)、おおむね色素 1 を主体とする分布を示すといえるが、上記の色素 1 と色素 5 の量に関する変異が著しい品種群としてヤブツバキを捉えることができる。

#### (2) ユキツバキ群

「にいがた」、「仙台薄紅」および品種名不詳の 3 品種に高次色素系の色素 11 を認めたが、他はすべて低次色素系を持つものであった。低次色素系の構成は色素 1、3～5 および 7～9 でヤブツバキと同じであったが、色素 1 は平均値で総色素の 88% を占めることからうかがわれるように (Table 10)、色素 1 を主体とする点でヤブツバキと異なった。また色素 7～9 を持つ品種はほぼ 5 割に達し、ヤブツバキの 1 割以下に比べかなり高いことも特徴であった。

色素 1 は「小松姫」や「星姫」の総色素の 100% を占めるものから、「覆輪一休」の 64% までの変異があった (Appendix 1)。色素 1 と色素 5 の量に関する品種分布を見ると (Fig. 12)、ほとんどの品種で色素 1 のみを主体とする分布を示し、ヤブツバキに見られた両色素量の大幅な種内変異は認められず、色素的にさほど品種分化が進まなかった品種群と考えられる。

#### (3) サザンカ群

すべて低次色素系のみを持つことはヤブツバキやユキツバキとほぼ同様であったが、色素 1、3～5 に加え、デルフィニジン系の色素 2、6 を持つ点で、前者のツバキと異なった。また「西海」の 1 品種を除き色素 7～9 をまったく持たないことも特徴と思える。

低次色素系のうち色素 5 を主体とし、平均値で総色素の 60% を占めることからうかがわれるように (Ta-

Table 10. Summarized constitution of anthocyanins in the garden forms of *Camellia*

Species	Number of cvs.	Constituent anthocyanins (%) <sup>*1</sup>										1/5 <sup>*2</sup>	
		1	3 & 4	5	2 & 6	7-9	10	11	12	13	14		
<i>C. japonica</i>	96	64	11	24	—	1	—	—	—	—	—	+	2.7
<i>C. japonica</i> ssp. <i>rusticana</i>	21	88	3	5	—	2	—	2	—	—	+	—	17.6
<i>C. sasanqua</i>	39	17	18	60	5	+	—	—	—	—	—	—	0.28
<i>C. hiemalis</i>	8	14	11	68	7	—	—	—	—	—	—	—	0.21
<i>C. vernalis</i>	22	41	12	47	+	+	—	—	—	—	—	—	0.87
<i>C. reticulata</i>	35	4	+	1	—	—	7	31	10	47	—	—	
<i>C. saluenensis</i> <sup>*3</sup>	1	—	—	—	—	—	35	+	65	—	—	—	
<i>C. wabisuke</i>	9	27	6	20	—	—	13	5	27	2	—	—	1.4

<sup>\*1</sup> Numbers used correspond to the spot-numbers represented in Fig. 4.

<sup>\*2</sup> Amount of spot 1/amount of spot 5.

<sup>\*3</sup> A wild form of *saluenensis* was used.

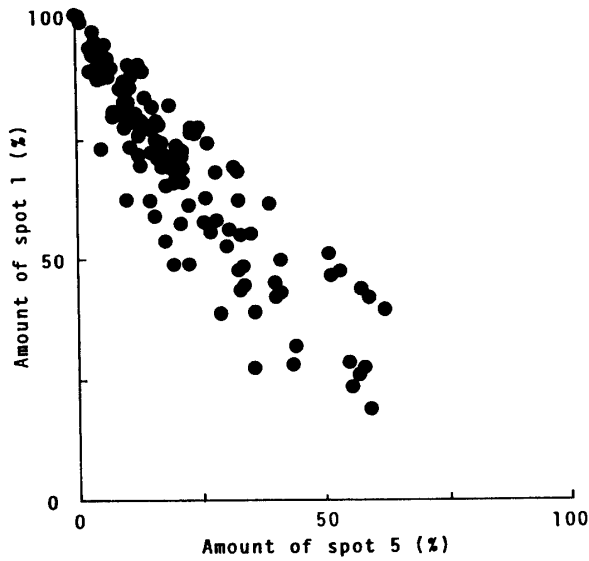


Fig. 11. Distribution of cultivars in the garden forms of *Camellia japonica* based on the amount of constituent pigments, spot 1 and spot 5. One dot represents one cultivar examined.

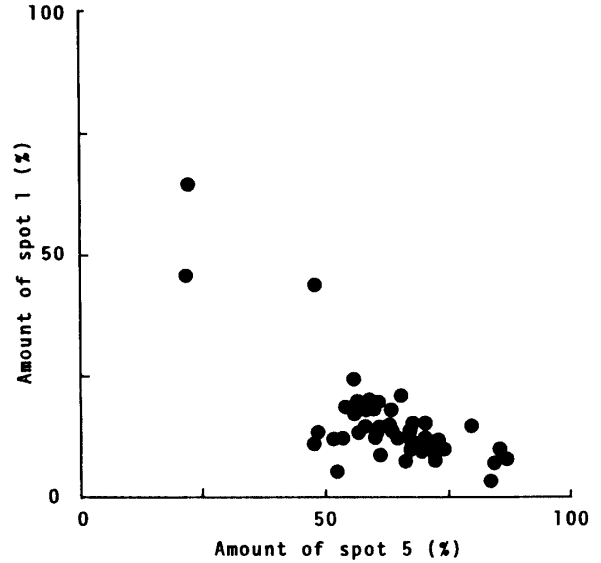


Fig. 13. Distribution of cultivars in the garden forms of *Camellia sasanqua* based on the amount of constituent pigments, spot 1 and spot 5. One dot represents one cultivar examined.

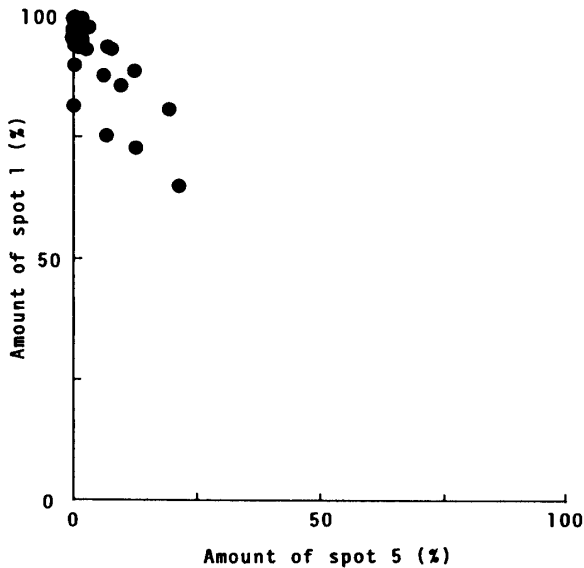


Fig. 12. Distribution of cultivars in the garden forms of *Camellia japonica* ssp. *rusticana* based on the amount of constituent pigments, spot 1 and spot 5. One dot represents one cultivar examined.

ble 10), この点もヤブツバキやユキツバキと異なっていた。色素5は品種名不詳のもの総色素の86%を占めるものから、「七福神」の40%までの変異があった(Appendix 1)。色素1と色素5の量に関する品種分布を見ると(Fig. 13), 2~3の例外はあるもののほぼ色素5を主体とする分布を示し、両色素量に関する

種内変異は比較的小さい品種群といえる。

#### (4) カンツバキ群

低次色素系の色素1, 3~5に加えデルフィニジン系の色素2, 6を持ち, 色素5を主体とする点でサザンカと軌をひとつにした。色素5は平均値で総色素の68%を占めたが(Table 10), 「獅子頭」の87%を占めるものから, 「立寒椿」の38%までの変異があった(Appendix 1)。

色素1と色素5の量に関する品種分布を見ると(Fig. 14), 1品種を除き色素5を主体とする, いわゆるサザンカ型の分布を示し, 種内変異は小さい品種群といえる。系統発生上の来歴が不明な品種群であるが, 色素的にはサザンカと軌をひとつにして成立したものとえよう。

#### (5) ハルサザンカ群

低次色素系の色素1, 3~5を持つものであったが, 「竜光」と「幽玄」は色素7~9を, また「内野紅」, 「凱旋」, 「望郷」および「星飛龍」はデルフィニジン系を併せ持っていた。これらのうち色素1と色素5を主体とし, 前者は平均値で総色素の41%, また後者は47%を占めた(Table 10)。

色素1は「唐衣」の総色素の64%を占めるものから, 「内野紅」の21%までの, また色素5は「内野紅」, 「旭」, 「紅玲」の64%を占めるものから, 「鎌倉絞」



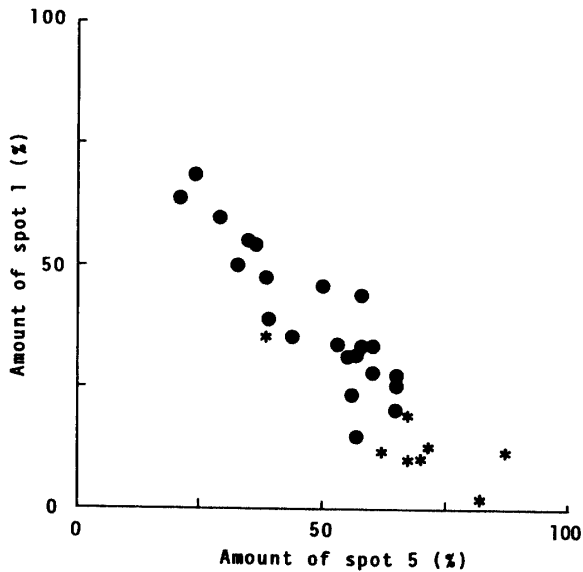


Fig. 14. Distribution of cultivars in the garden forms of *Camellia vernalis* (●) and *C. hiemalis* (\*) based on the amount of constituent pigments, spot 1 and spot 5. One dot represents one cultivar examined.

の20%までの、いずれも大幅な変異があった (Appendix 1)。色素1と色素5の量に関する品種分布を見ると (Fig. 14)、色素1を主体とするヤブツバキ型の品種から、色素5を主体とするサザンカ型に至る連続的な分布を示し、色彩的にはヤブツバキとサザンカの間中型の品種群といえる。

(6) トウツバキ群

すべて高次色素系の色素10~13を持ち、これに約8割の品種で低次色素系が混在し、本邦産のヤブツバキ、ユキツバキ、サザンカなどと大幅に異なった。高次色素系では「ライラ・ナフ」、「サマンサ」、「ショット・シルク」は色素10, 12を主体としたが、他はすべて色素11, 13を主体とし、色素11は平均値で総色素の31%、色素13は47%を占めた (Table 10)。

上記3品種を除くと、色素11は「クリサンセマム・

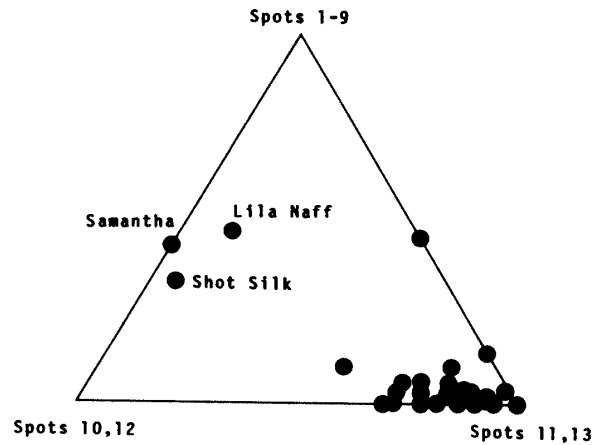


Fig. 15. Distribution of cultivars in the garden forms of *Camellia reticulata* based on the amount of constituent pigments. Each corner of a triangle comprises 100% of the pigment-groups specific to *japonica* (spots 1-9), *saluenensis* (spots 10, 12) and *reticulata* (spots 11, 13). One dot represents one cultivar examined.

ペタル」の総色素の86%を占めるものから、「アーリー・ペオニー」の9%までの、また色素13は「モウタンチャ」の88%を占めるものから、「クリサンセマム・ペタル」の3%までの大幅な変異があり、両色素を合計すると100%から56%までの変異であった (Appendix 1)。

色素1~9, 色素10, 12および色素11, 13の量に関する品種分布を見ると (Fig. 15)、2~3の例外を除き色素11, 12をほぼ主体とする分布を示し、3者の量に関する種内変異は小さい品種群といえる。

(7) ワビスケ群

供試した9品種の色素構成はまちまちで、かなりの品種間差が見られた。まず、Fig. 16に示す色素1~

Table 11. Summarized constitution of spot 1 anthocyanins in the garden forms of *Camellia*

Species	Number of cvs.	Constituent anthocyanins (%) <sup>*</sup>		Ga : G within spot 1
		Spot 1	( Ga G )	
<i>C. japonica</i>	144	65	( 12 53 )	19 : 81
<i>C. japonica</i> ssp. <i>rusticana</i>	21	88	( 40 48 )	46 : 54
<i>C. sasanqua</i>	44	15	( 1 14 )	3 : 97
<i>C. vernalis</i>	42	39	( 7 32 )	17 : 83
<i>C. reticulata</i>	35	4	( 1 3 )	25 : 75

<sup>\*</sup> Spot 1 corresponds to that represented in Fig. 4.

Ga : cyanidin 3-galactoside, G : cyanidin 3-glucoside.

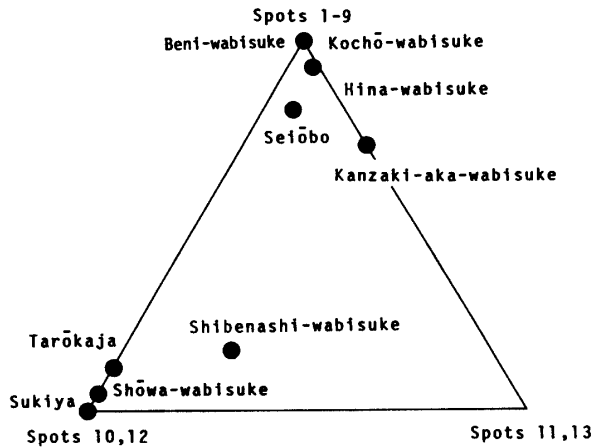


Fig. 16. Distribution of cultivars in the garden forms of *Camellia wabisuke* based on the amount of constituent pigments. Each corner of a triangle comprises 100% of the pigment-groups specific to *japonica* (spots 1-9), *saluenensis* (spots 10, 12) and *reticulata* (spots 11, 13). One dot represents one cultivar examined.

9, 色素10, 12および色素11, 13の量に関する品種分布を見ると, 低次と高次色素系のいずれを主体とするかで, 前者を主体とする「胡蝶佗助」, 「紅佗助」, 「ヒナ佗助」, 「西王母」, 「寒咲赤佗助」の一群と, 後者を主体とする「数寄屋」, 「昭和佗助」, 「太郎冠者」, 「芯なし佗助」の一群とに大別できる。

前者はまた低次色素系のみか(「胡蝶佗助」, 「紅佗助」)あるいはこれに高次色素系が混在するか(「ヒナ佗助」, 「西王母」, 「寒咲赤佗助」)で2群に, 同様に後者はほぼ色素10, 12型か(「数寄屋」, 「昭和佗助」, 「太郎冠者」)あるいはこれに色素11, 13が混在するか(「芯なし佗助」)で2群に分けられる(Appendix 1)。

ワビスケは系統発生上の来歴がまったくといっていいほど不明な品種群である。以上の結果は色素的には1) 純粋なヤブツバキ起源のもの, 2) 色素10・12型の種に由来するものおよび3) 色素10・12型の種に色素11・13型のトウツバキなどが関与したものなどの, 品種の集合体であることを示すものであった。

実験2. HPLCによるシアニジン3-ガラクトシドの分布の様相

(1) ヤブツバキ群

シアニジン3-ガラクトシドは平均値で色素1の19%, グルコシドは81%を占め(Table 11), グルコシド

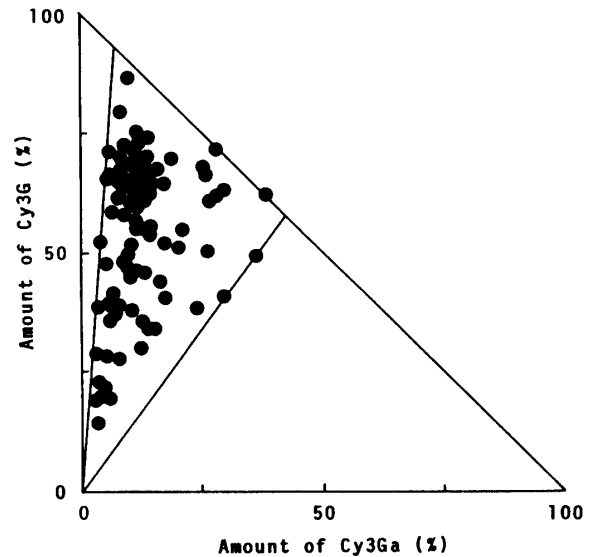


Fig. 17. Distribution of cultivars in the garden forms of *Camellia japonica* based on the amount of constituent pigments, cyanidin 3-glucoside and cyanidin 3-galactoside within spot 1. One dot represents one cultivar examined. Cy3G: cyanidin 3-glucoside, Cy3Ga: cyanidin 3-galactoside.

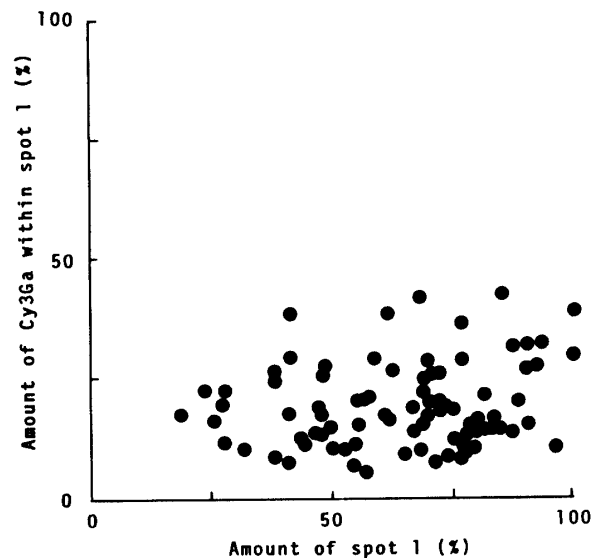


Fig. 18. Distribution of cultivars in the garden forms of *Camellia japonica* based on the amount of constituent pigments, spot 1 and cyanidin 3-galactoside. One dot represents one cultivar examined. Cy3Ga: cyanidin 3-galactoside.

はガラクトシドの4倍以上の蓄積を示した。また色素1に占めるシアニジン3-ガラクトシドは「肥後蜀紅錦」, 「クラーク・ホップス」, 「蜀紅」の5%以下のものから, 「鋸葉椿」の49%までの変異を示した(Ap-

pendix 1).

シアニジン 3-ガラクトシドとグルコシド量に関する

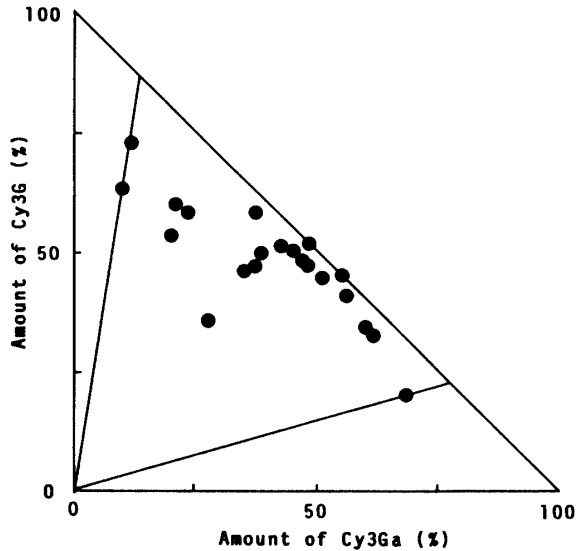


Fig. 19. Distribution of cultivars in the garden forms of *Camellia japonica* ssp. *rusticana* based on the amount of constituent pigments, cyanidin 3-glucoside and cyanidin 3-galactoside within spot 1. One dot represents one cultivar examined.  
Cy3G: cyanidin 3-glucoside,  
Cy3Ga: cyanidin 3-galactoside.

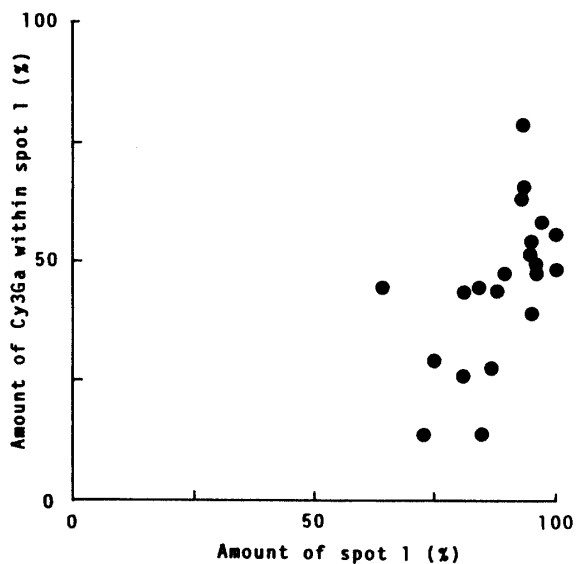


Fig. 20. Distribution of cultivars in the garden forms of *Camellia japonica* ssp. *rusticana* based on the amount of constituent pigments, spot 1 and cyanidin 3-galactoside. One dot represents one cultivar examined.  
Cy3Ga: cyanidin 3-galactoside.

る品種分布を見ると (Fig. 17), グルコシドを主体とする分布を示すといえ, ガラクトシドとグルコシド量に関する種内変異は前者で小さく, 後者で大きかった. また総色素に占める色素 1 の量と, 色素 1 に占めるガラクトシド量に関する品種分布を見ると (Fig. 18), 色素 1 の量にかかわらずガラクトシド量はまちまちで, 色素 1 の量の増大に伴ってガラクトシド量が増大するという関係は認められなかった.

## (2) ユキツバキ群

シアニジン 3-ガラクトシドは平均値で色素 1 の 46%, グルコシドは 54% を占め (Table 11), 両色素をほぼ等量持つものであった. また色素 1 に占めるシアニジン 3-ガラクトシドは「太刀山」や「雪小町」の 14% から, 「春日山」の 78% までの変異を示した (Appendix 1).

シアニジン 3-ガラクトシドとグルコシド量に関する品種分布を見ると (Fig. 19), ガラクトシドを主体とするものから, 逆にグルコシドを主体とするものまでの, 大幅で連続的な変異に富んだ分布を示し, グルコシド蓄積型に集中したヤブツバキと趣を異にした. また総色素に占める色素 1 の量と, 色素 1 に占めるガラクトシド量に関する品種分布を見ると (Fig. 20), 色素 1 の量が 90% までのものは低めの, まちまちのガ

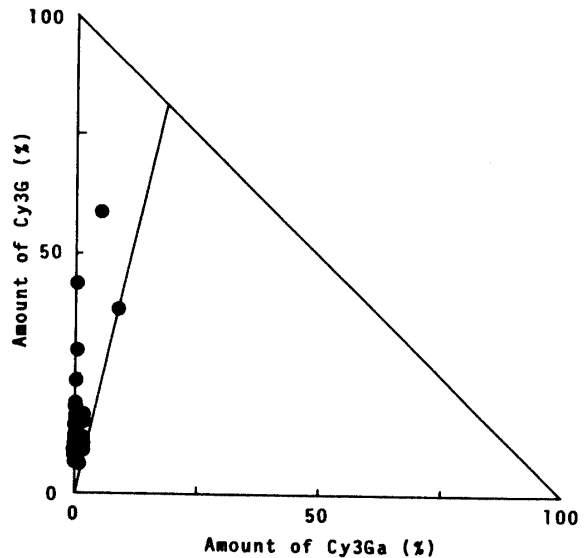


Fig. 21. Distribution of cultivars in the garden forms of *Camellia sasanqua* based on the amount of constituent pigments, cyanidin 3-glucoside and cyanidin 3-galactoside within spot 1. One dot represents one cultivar examined.  
Cy3G: cyanidin 3-glucoside,  
Cy3Ga: cyanidin 3-galactoside.

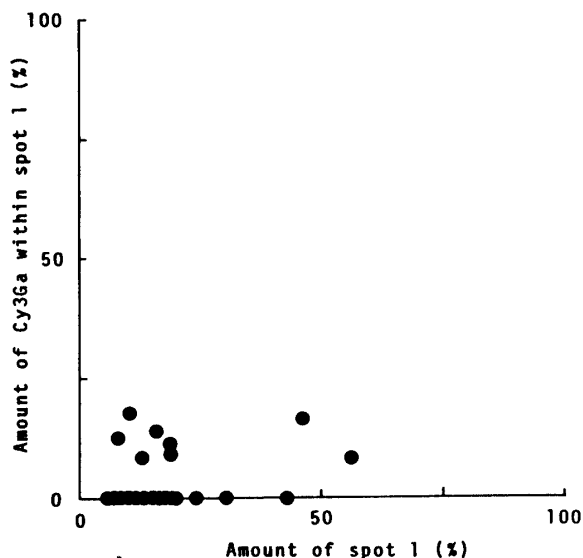


Fig. 22. Distribution of cultivars in the garden forms of *Camellia sasanqua* based on the amount of constituent pigments, spot 1 and cyanidin 3-galactoside. One dot represents one cultivar examined. Cy3Ga: cyanidin 3-galactoside.

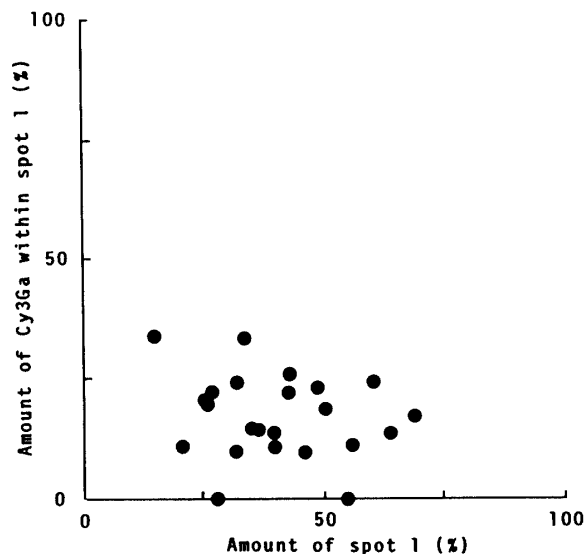


Fig. 24. Distribution of cultivars in the garden forms of *Camellia vernalis* based on the amount of constituent pigments, spot 1 and cyanidin 3-galactoside. One dot represents one cultivar examined. Cy3Ga: cyanidin 3-galactoside.

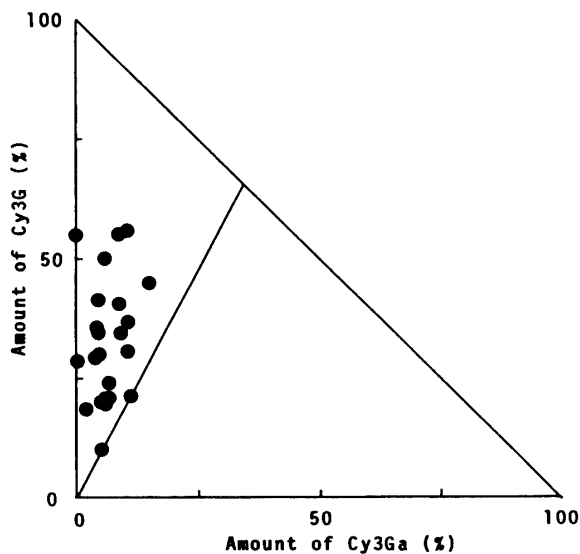


Fig. 23. Distribution of cultivars in the garden forms of *Camellia vernalis* based on the amount of constituent pigments, cyanidin 3-glucoside and cyanidin 3-galactoside within spot 1. One dot represents one cultivar examined. Cy3G: cyanidin 3-glucoside, Cy3Ga: cyanidin 3-galactoside.

ラクトシド量を示したのに対し、90%を超えるものは総じて高いガラクトシド量を示した。つまり色素1の量の多さが高ガラクトシド蓄積をもたらしたといえ、

この点でもヤブツバキと異なった。

### (3) サザンカ群

シアニジン 3-ガラクトシドは平均値で色素1の3%, グルコシドは97%を占めた (Table 11). サザンカの色素1の量はそもそも少ないが、色素1内では圧倒的にグルコシドを生成するといえる。

シアニジン 3-ガラクトシドとグルコシド量に関する品種分布を見ると (Fig. 21), まったくのグルコシドを主体とする分布を示し、総色素に占める色素1の量と、色素1に占めるガラクトシド量に関する品種分布は (Fig. 22), ヤブツバキに見られたように、色素1の量の多少にかかわらずガラクトシド量はまちまちであった。

### (4) ハルサザンカ群

シアニジン 3-ガラクトシドは平均値で色素1の17%, グルコシドは83%を占め (Table 11), ヤブツバキに類似した。これを総色素に占める蓄積比率に換算すると、前者は7%, 後者は32%で、ちょうどヤブツバキとサザンカの間値を示した。色素1に占めるシアニジン 3-ガラクトシドは「凱旋」, 「竜光」, 「梅ヶ香」の0%もしくは±のものから、「大和錦」の35%までの変異を示した (Appendix 1)。

シアニジン 3-ガラクトシドとグルコシド量に関する品種分布を見ると (Fig. 23), ヤブツバキとサザンカの間値を示した。また総色素に占める色素1

Table 12. Summarized constitution and accumulation of anthocyanins in the garden forms of *Camellia*

Species	Occurrence of*				Accumulation of*		
	Higher Rfs	Lower Rfs	Spots 10, 12	Spots 11, 13	Dp series	Spots 1 & 5	G & Ga
<i>C. japonica</i> ssp. <i>rusticana</i>	tr	mj			—	1 > 5	G ≐ Ga
<i>C. japonica</i>	tr	mj			—	1 > 5	G > Ga
<i>C. vernalis</i>		mj			tr	1 ≐ 5	G > Ga
<i>C. sasanqua</i>		mj			+	1 < 5	G > Ga
<i>C. hiemalis</i>		mj			+	1 < 5	(G > Ga)
<i>C. reticulata</i>	mj	tr	mi	mj	—		
( <i>C. saluenensis</i> )	mj	tr	mj	tr	—		
<i>C. wabisuke</i>	mj	mj	mj	mi	—		

\* — : absent, + : present, mj : major, mi : minor, tr : trace, higher Rfs : spots 10-14, lower Rfs : spots 1-9, Dp : delphinidin, G : cyanidin 3-glucoside, Ga : cyanidin 3-galactoside. Numbers used correspond to the spot-numbers represented in Fig. 4.

の量と、色素1に占めるガラクトシド量に関する品種分布は (Fig. 24), 色素1の量の多少にかかわらず、ガラクトシド量はまちまちのヤブツバキ型を示した。

### 考 察

前章で扱った野生型のサルウィンツバキを含めて、代表的なツバキ栽培種のアントシアン色素分布の様相を概括して示すと Table 12 のごとくである。

まず、2次元クロマトグラム上の色素を低次と高次色素系に分けた場合、前者を主体としたのはヤブツバキ、ユキツバキ、サザンカ、カンツバキ、ハルサザンカの本邦で成立したとされる品種群で、後者を主体としたのはトウツバキ、サルウィンツバキの中国大陸産のものである。これに対しワビスケの色素分布は複雑で、本邦で成立したとされるツバキでありながら多量の高次色素系を持つ品種を認めることができた<sup>82)</sup>。

このような本邦と中国大陸産とでの色素分布の違いは、たとえば高次色素系を持つトウツバキ (色素11・13型) とサルウィンツバキ (色素10・12型) 間にも、また低次色素系を持つ本邦産ツバキ間にも認められた。ちなみに色素構成と蓄積の特徴を示すとつぎのとおりである。

ユキツバキ : 色素1 ≫ 色素5, グルコシド ≐ ガラクトシド. ヤブツバキ : 色素1 > 色素5, グルコシド > ガラクトシド. ハルサザンカ : 色素1 ≐ 色素5, グルコシド > ガラクトシド. サザンカ・カンツバキ : 色素1 < 色素5, グルコシド ≫ ガラクトシド. トウツバキ : 色素11・13型. サルウィンツバキ : 色素10・12型.

ワビスケ : 高次 ≐ 低次色素系.

Parks ら<sup>70)</sup> はヤブツバキ、サザンカおよびハルサザンカに共通してシアニジン3-グルコシドを見出し、これらをヤブツバキ型の色素型とし、これにトウツバキ型とサルウィンツバキ型を加えた。しかし本実験で前者のツバキ群はそれぞれ異なる色素型を持つことを明らかにしたことで<sup>82, 84)</sup>、Parks らの色素型にあらたにサザンカ型、ハルサザンカ型およびユキツバキ型を付け加えることができる。つまり花卉の色素分布に関して1) 高次か低次色素系か、2) 高次系では色素10・12型か11・13型か、3) 低次系では色素1型か5型か、4) 多量のシアニジン3-ガラクトシドを持つかおよび5) デルフィニジン系色素を持つかなどを指標にすれば、ツバキ栽培種をほぼ類型化できる。

ところで、色素蓄積を見るとさまざまな種内変異を示した<sup>82, 84)</sup>。いまヤブツバキを色素1 > 色素5型、ハルサザンカを色素1 ≐ 色素5型と概括したが、これはあくまで品種群の平均像で、実際はヤブツバキに多くの色素1 ≐ 色素5型の品種があり、ハルサザンカに至っては色素1 > 色素5型や、色素1 < 色素5型の品種があるなど、変異に富むものであった。

園芸的に重要な花形について、野生型ヤブツバキはほとんど一重で、花色も紅一色であるのに対し、ユキツバキは変異に富むという。津山<sup>111)</sup>と石沢・萩屋<sup>49)</sup>はヤブツバキ栽培種の八重化や花色変異にユキツバキの変異が関与したとし、栽培種の成立起源をヤブツバキとユキツバキの雑種、ユキバタツバキに求めた。同様に長戸<sup>66)</sup>はエステラーゼに関する変異の研究で、ヤブ

ツバキ栽培種はヤブツバキ野生型よりむしろユキツバキ栽培種に近いとし、ヤブツバキ栽培種の成立にユキツバキが関与したことを示唆した。しかしながら色素1と5の量に関してユキツバキは変異に乏しく、色素1蓄積型ばかりで、ヤブツバキの豊富な変異がユキツバキのみからもたらされたとは考え難い。

このことに関し Wendel and Parks<sup>121, 123)</sup>と Caddell<sup>ら<sup>15)</sup></sup>は、ヤブツバキは自然の個体群内で遺伝的にヘテロ接合性や多形性が高いと指摘しているが、あるいは、ヤブツバキ自身のこのような遺伝的背景に起因する色素蓄積の変異性の高さともいえないか——こう考えるほうが事を得ているようにも思える。

ハルサザンカの場合、この品種群は系統発生上の来歴が不明なものとしてきたが、近年、ヤブツバキとサザンカの雑種起源であると立証されるに至った<sup>100, 101, 115)</sup>。このものはヤブツバキとサザンカの1次雑種にサザンカが戻し交雑した5倍体群や、ヤブツバキが戻し交雑した3倍体と4倍体群を包括するという。また形態的には5倍体2次雑種はサザンカに、4倍体3次雑種はヤブツバキに近いという。したがって、ハルサザンカを単にヤブツバキとサザンカの間中型とする、一律的なとらえ方は不都合と考えられる。この点色素的にはヤブツバキ型の品種からサザンカ型のそれに至るまでを包括しており<sup>82)</sup>、上記の立証を裏付けたことになる。

ユキツバキの場合、この品種群は色素1 ≧ 色素5型で両色素量の変異は極めて乏しかった。しかしながら実際は色素1に占めるシアニジン 3-ガラクトシドとグルコシド量に関し、ヤブツバキやハルサザンカに見られぬ大幅な種内変異を持つものであった<sup>84)</sup>。このことはトウツバキも同様で、色素11, 13の量に関し両者の合計量には変異は見られないが、個別の量は大幅な種内変異を示した<sup>82)</sup>。

このような色素構成や蓄積の種内変異を指標とし、花色に関する品種分化を考えると、まずヤブツバキやトウツバキの総色素に占める構成色素(色素1~14)量の変異に基づく分化をあげることができる。これに対し、ユキツバキは色素1に占めるガラクトシド量の変異に基づく分化でやや異質である。いっぽうハルサザンカのように、倍数性の異なる品種群を包括した結果としての分化を遂げたものや、サザンカとカンツバキのように、構成色素量の変異に乏しく、花色に関する品種分化があまり進まなかったもの——このように類型化できよう。

## 要 約

2次元の TLC と HPLC を用い代表的なツバキ栽培種の花弁のアントシアン色素を精査し、色素分布を検討した。

1. ヤブツバキ, ユキツバキ, サザンカ, カンツバキ, ハルサザンカは低次色素系を主体とし, トウツバキは高次色素系を主体とした。またワビスケは高次と低次色素系の混在する品種群であった。

2. 低次色素系ではヤブツバキとユキツバキは色素1を主体とし, サザンカとカンツバキは色素5を主体とした。ハルサザンカは色素1と色素5を等量持つヤブツバキとサザンカの間中型であった。また高次色素系ではトウツバキは色素11, 13を主体とした。

3. ユキツバキは色素1に占めるシアニジン 3-ガラクトシド量が多く, ヤブツバキは少なかつた。これに対し, サザンカとカンツバキはシアニジン 3-ガラクトシドをほとんど持たなかつた。

4. 構成色素の蓄積の変異はヤブツバキとハルサザンカは色素1と色素5間で, トウツバキは色素11と色素13間で, またユキツバキはシアニジン 3-ガラクトシドとグルコシド間で見られた。これに対し, サザンカとカンツバキには変異はさほど見られなかつた。

5. 以上の色素分布の様相から色素1, 色素5, 色素10・12, 色素11・13, シアニジン 3-ガラクトシドおよびデルフィニジン系色素を指標にすれば, ツバキ栽培種を類型化でき, かつ品種分化の実態を把握できることを明らかにした。

## 第3節 種間雑種群のアントシアン色素分布の様相と色素の遺伝

### 材 料 と 方 法

本節で用いたツバキ花弁は Table 13 と Appendix 2 に示したごとくで, サルウィンツバキ×ヤブツバキ21品種, トウツバキ×ヤブツバキ12品種, ヤブツバキ×トウツバキ7品種, サザンカ×トウツバキ8品種およびサルウィンツバキ×トウツバキ8品種であった。花弁の主な入手先はつぎのとおりである。

久留米ツバキ愛好会(久留米), 長島熱帯植物園(鹿児島), 九州大学農学部(福岡)。

1978年から1982年にかけて花弁を採集し, 第2章第2節に示す煮沸風乾法で乾燥花弁を得, デシケーター(シリカゲル)内に保存し適宜実験に供した。

アントシアン色素の抽出と2次元 TLC も前章第2

Table 13. Summarized constitution of anthocyanins in the camellias of hybrid origin

Hybrids	Number of cvs.	Constituent anthocyanins (%) <sup>*</sup>									
		1	3 & 4	5	2 & 6	7-9	10	11	12	13	14
<i>C. saluenensis</i> × <i>japonica</i>	21	19	2	12	—	—	22	+	45	—	—
<i>C. reticulata</i> × <i>japonica</i>	12	12	4	5	—	—	7	24	12	36	—
<i>C. japonica</i> × <i>reticulata</i>	7	29	3	5	—	—	6	20	23	14	—
<i>C. sasanqua</i> × <i>reticulata</i>	8	14	1	1	—	—	13	18	15	38	—
<i>C. saluenensis</i> × <i>reticulata</i>	8	8	1	6	—	—	18	5	51	11	—

\* Numbers used correspond to the spot-numbers represented in Fig. 4.

節に示したとおりで、1次元に n-BAW (II), 2次元に n-BAW (I) の溶媒を用いた。クロマトグラム上の色素スポットの定量はクロマトスキャナ (CS-900, 島津製) を、総色素の定量は2波長分光光度計 (UV-200, 島津製) を用い、前章第2節に示す条件で行った。

### 結 果

種間雑種ツバキの合計56品種のアントシアニン色素構成と構成色素の蓄積比率 (百分率) を Appendix 2 に、またこれらを雑種群ごとにまとめ、平均値として Table 13 に示した。

#### (1) サルウィンツバキ×ヤブツバキ群

低次色素系をほとんど持たぬ2品種の例外もあったが、おおむね低次色素系の色素1, 3~5と高次色素系の色素10, 12を持つものであった。低次色素系では

色素1と色素5を主体とし、前者は平均値で総色素の19%, 後者は12%を占めた。また高次色素系では色素10と色素12を主体とし、前者は平均値で総色素の22%, 後者は45%を占め、サルウィンツバキ型の色素10, 12 (Table 10) の量は67%と、低次色素系を上まわった (Table 13)。

色素1~9, 色素10, 12および色素11, 13の量に関する品種分布を見ると (Fig. 25), まったくの色素10・12型のものから、これにほぼ等量の低次色素系を混在するものまでの、連続的な分布を示したが、分布は色素11, 12を主体とする方向へ傾いた。つまりサルウィンツバキ型の色素10, 12の生成はヤブツバキ型の低次色素系の生成に対し、遺伝的に優性と考えられる。

#### (2) トウツバキ×ヤブツバキ群

低次色素系を持たぬ品種もあったが、おおむね低次

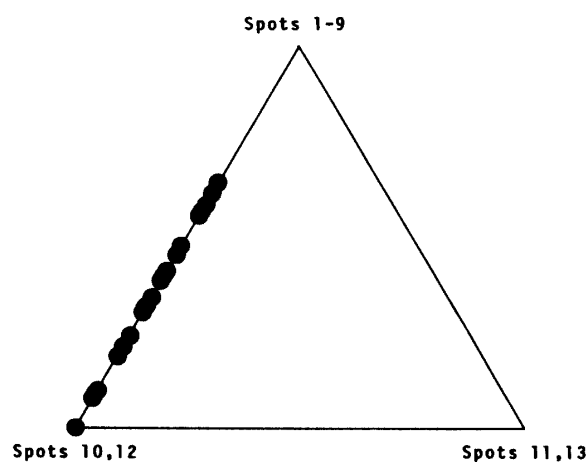


Fig. 25. Distribution of cultivars derived from the cross between *Camellia saluenensis* and *C. japonica* based on the amount of constituent pigments. Each corner of a triangle comprises 100% of the pigment-groups specific to *japonica* (spots 1-9), *saluenensis* (spots 10, 12) and *reticulata* (spots 11, 13). One dot represents one cultivar examined.

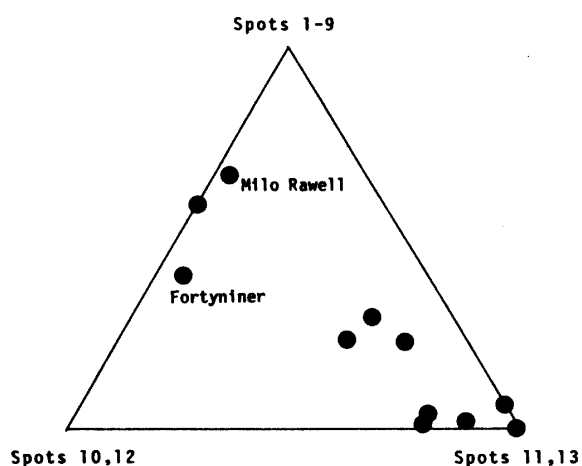


Fig. 26. Distribution of cultivars derived from the cross between *Camellia reticulata* and *C. japonica* based on the amount of constituent pigments. Each corner of a triangle comprises 100% of the pigment-groups specific to *japonica* (spots 1-9), *saluenensis* (spots 10, 12) and *reticulata* (spots 11, 13). One dot represents one cultivar examined.

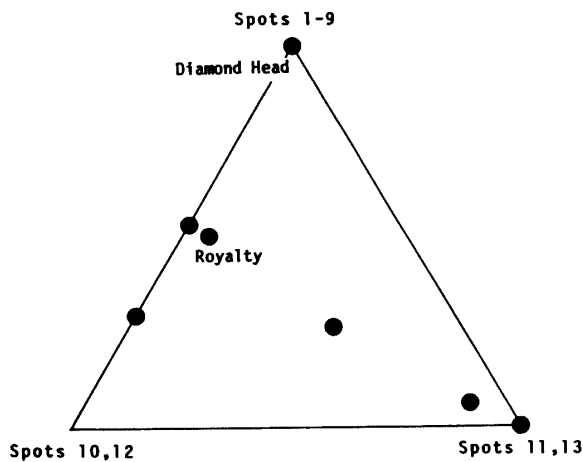


Fig. 27. Distribution of cultivars derived from the cross between *Camellia japonica* and *C. reticulata* based on the amount of constituent pigments. Each corner of a triangle comprises 100% of the pigment-groups specific to *japonica* (spots 1-9), *saluenensis* (spots 10, 12) and *reticulata* (spots 11, 13). One dot represents one cultivar examined.

色素系の色素1, 3~5と高次色素系の色素10~13を持つものであった。低次色素系では色素1と色素5を主体とし、前者は平均値で総色素の12%, 後者は5%を占めた。また高次色素系では色素10, 12で総色素の19%, 色素11, 13で60%を占め、トウツバキ型の色素11, 13 (Table 10)の生成が低次色素系を上まわった (Table 13)。

色素1~9, 色素10, 12および色素11, 13の量に関する品種分布を見ると (Fig. 26), 3品種で例外的に低次色素系と色素10, 12を混在して持つ分布を示したが、他はすべて色素11, 13を主体とする分布を示した。つまりトウツバキ型の色素11, 13の生成はヤブツバキ型の低次色素系の生成に対し、遺伝的に優性と考えられる。

### (3) ヤブツバキ×トウツバキ群

上述の雑種と正逆交雑の関係にあるが、色素分布の様相は品種間でまちまちであった。まず Fig. 27 に示す色素1~9, 色素10, 12および色素11, 13の量に関する品種分布を見ると、低次色素系のみのもので、色素10, 12と低次色素系の混在するもの、3色素群が伯仲するものおよび色素11, 13を主体とするものなどの分布を示した。平均的に見ても (Table 13), 低次色素系は総色素の34%, 色素10, 12は29%, また色素11, 13は34%を占めるように、3色素群を伯仲して持つものであった。つまり正逆交雑のトウツバキ×ヤブツバ

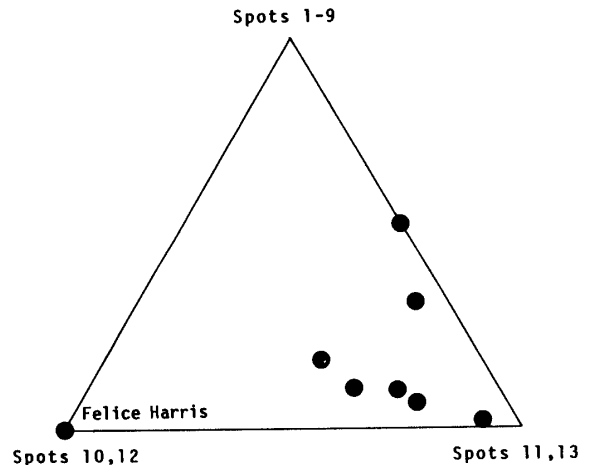


Fig. 28. Distribution of cultivars derived from the cross between *Camellia sasanqua* and *C. reticulata* based on the amount of constituent pigments. Each corner of a triangle comprises 100% of the pigment-groups specific to *japonica* (spots 1-9), *saluenensis* (spots 10, 12) and *reticulata* (spots 11, 13). One dot represents one cultivar examined.

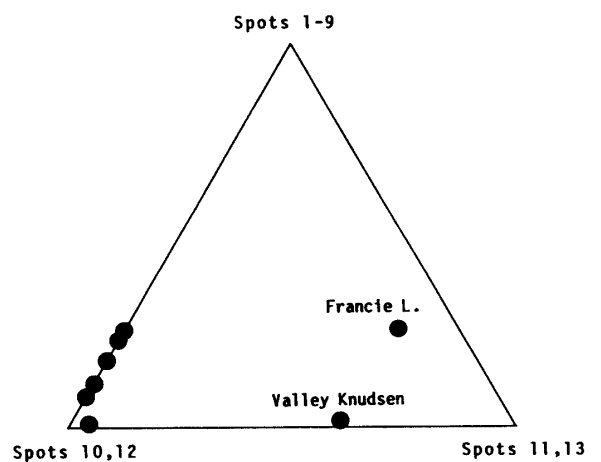


Fig. 29. Distribution of cultivars derived from the cross between *Camellia saluenensis* and *C. reticulata* based on the amount of constituent pigments. Each corner of a triangle comprises 100% of the pigment-groups specific to *japonica* (spots 1-9), *saluenensis* (spots 10, 12) and *reticulata* (spots 11, 13). One dot represents one cultivar examined.

キ群はトウツバキ型の色素を主体としたが、この場合は優性な色素11, 13の生成が弱められることになる。

### (4) サザンカ×トウツバキ群

低次色素系をほとんど持たぬ品種もあったが、ほぼ低次色素系の色素1, 3~5と高次色素系の色素10~



13を持つものであった。低次色素系では色素1を主体とし、平均値で総色素の14%を占めた。また高次色素系では色素10, 12で総色素の28%, 色素11, 13で56%と、トウツバキ型の色素11, 13が主体を占めた (Table 13)。

色素1~9, 色素10, 12および色素11, 13の量に関する品種分布を見ると (Fig. 28), 1品種の例外はあるが, 色素11, 13を主体とする分布を示した。つまりトウツバキ型の色素11, 13の生成はサザンカ型の低次色素系の生成に対し, 遺伝的に優性と考えられる。

#### (5) サルウィンツバキ×トウツバキ群

高次色素系を主体とするものどおしの交雑に由来するが, ほぼ低次色素系の色素1, 3~5および高次色素系の色素10~13を持つものであった。低次色素系では色素1と色素5を主体とし, 前者は平均値で総色素の8%, 後者は6%を占めた。また高次色素系では色素10, 12が69%, 色素11, 13が16%と, サルウィンツバキ型の色素10, 12が主体を占めた (Table 13)。

色素1~9, 色素10, 12および色素11, 13の量に関する品種分布を見ると (Fig. 29), 2品種の例外はあるが, 色素10, 12を主体とする分布を示した。つまり同じ高次色素系では, サルウィンツバキ型の色素10, 12の生成はトウツバキ型の色素11, 13の生成に対し, 遺伝的に優性と考えられる。

### 考 察

サルウィンツバキ型の色素生成はトウツバキ型やヤブツバキ型の生成に対して, またトウツバキ型の色素生成はヤブツバキやサザンカ型の生成に対して, それぞれ遺伝的に優性と考えられた<sup>83)</sup>。一般にアントシアン色素のヒドロキシル化, メチル化, グリコシル化およびアシル化過程では, より高次の色素を生成する遺伝子は低次のそれに対し優性とされるが<sup>13, 43, 45)</sup>, ツバキの場合も同様であった。

ツバキの低次と高次色素系はそれぞれシアニジンのモノサイド群と, 推定であるがダイサイド群に相当し, 両者はグリコシル化にかかわる違いを示す。したがって, たとえばシクラメンのM遺伝子はマルビジン 3-グルコシドを 3,5-ジグルコシドに, *Solanum chakoense* や *S. stoloniferum* の G1 遺伝子はケルセチン 3-グルコシドを 3-グルコシルグルコシドへ変える働きがあるが<sup>45)</sup>, そのような遺伝子の存在をツバキに想定できる。

これに対し, サルウィンツバキ型とトウツバキ型はシアニジンの 3,5-ダイモノサイド群 (3,5-di-mono-

sides) と 3-モノダイサイド群 (3-mono-disides) の違いと推定できた (Figs. 5, 6)。もしこの推定が当を得ているとするなら, たとえばストレプトカーパスで X, Z 遺伝子は 3-グルコシドを 3,5-ジグルコシドに, また P 遺伝子は 3-ダイモノサイドに変え, 遺伝的に上位な X, Z はモノサイドに優先してダイモノサイドを生成するが<sup>41, 45)</sup>, このような遺伝的背景をツバキに想定すればよい。

ツバキの色素のうち類型化に重要なものに色素1 (ヤブツバキ型), 色素5 (サザンカ型), 色素10, 12 (サルウィンツバキ型) および色素11, 13 (トウツバキ型) がある。グリコシル化かアシル化にかかわる違いを示すこれらの色素蓄積に関して, 栽培種群を概括すると Fig. 30 のごとくである。雑種群の図形に注目すると, サルウィンツバキ×ヤブツバキ, トウツバキ

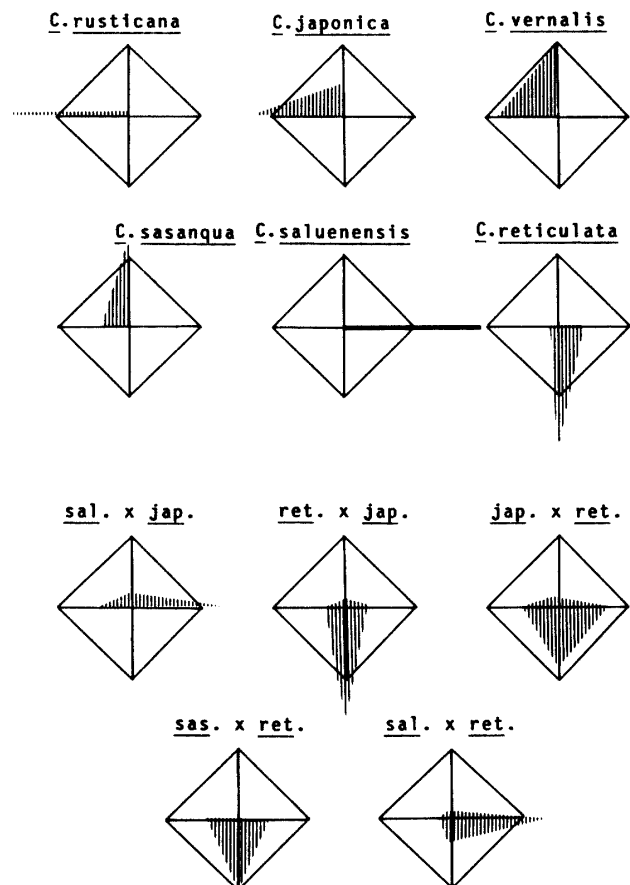


Fig. 30. Schematic representation of pigment-accumulations in the garden forms of camellias and those of hybrid origin. Each corner of a square comprises 50% of spot 1 (left), spot 5 (top), spots 10, 12 (right) and spots 11, 13 (bottom), respectively.

×ヤブツバキ、サザンカ×トウツバキおよびサルウィンツバキ×トウツバキでそれぞれ優性の色素型が強く現れるのは前述のとおりであるが、なぜヤブツバキ×トウツバキであらたにサルウィンツバキ型が拡大し、サザンカ×トウツバキでサザンカ型が消滅したのかの疑問が残る。

Parks ら<sup>73)</sup> はヤブツバキに特徴的に出現するフラボノイド類のカメリンは、サルウィンツバキ×ヤブツバキで強く発現するが、ヤブツバキ×トウツバキでは強く発現するものから、まったく発現しないものまでの変異があることの原因のひとつを、両親種の倍数性の違いに求めた。また永田・酒井<sup>65)</sup> はサザンカに特徴的に出現する精油成分のユーゲノールは、サザンカを親にすると F<sub>1</sub> に確実に発現し、カメリンはヤブツバキを親にしても F<sub>1</sub> に必ずしも発現しない理由を、両者の分子量の差に求めた。つまり高分子量化合物のカメリンの生合成は複雑で、関与する酵素数が多いため生合成経路のすべてが F<sub>1</sub> に遺伝しないという。

以上の事例はアントシアン色素にも妥当しよう。ツバキでは交雑に際して両親種の倍数性が異なる場合も多い。またアントシアン色素の分子量も 500 以上と、天然化合物中でも大きい部類に属する。あるいは前節で述べた遺伝的なヘテロ接合性の高さ<sup>15, 121, 123)</sup> などが、色素の遺伝にひずみを産ませるに至ったとでもいえないか。

いまひとつの疑問はおおかたの色素遺伝の法則にまったくのらない品種が存在することである。ヤブツバキ×トウツバキの「ダイヤモンド・ヘッド」は形態的にヤブツバキに酷似し、それと並行するかのよう色素的にもヤブツバキに一致することから、少なくとも巷間にいわれているような 1 次雑種とは思えなかった。またサザンカ×トウツバキの「フェライス・ハリス」は来歴不詳の品種で、この組み合わせの品種に特徴的に見られるサザンカ臭が無いことなど<sup>131)</sup>、片親にむしろサルウィンツバキが関与したものと思える。以上の 2 例に見られるような品種成立上の問題もかかっていると思えるが、交雑組み合わせ次第ではグリコシル化に関する特殊な潜在因子があることを暗示するものであった。

## 要 約

2 次元の TLC を用い種間雑種起源のツバキ栽培種の花弁のアントシアン色素を精査し、色素分布の様相から色素の遺伝を検討した。

1. サルウィンツバキ×ヤブツバキ群では色素 10、

12、トウツバキ×ヤブツバキ群では色素 11、13、サザンカ×トウツバキ群では色素 11、13、またサルウィンツバキ×トウツバキ群では色素 10、12 をそれぞれ主体したが、ヤブツバキ×トウツバキ群では低次色素系、色素 10、12 および色素 11、13 の量はまちまちであった。

2. 以上の色素分布の様相から、色素生成はサルウィンツバキ型>トウツバキ型>ヤブツバキ(サザンカ)型の順に遺伝的に優性と考えられる。

## 第 4 章 カメリア節ツバキ野生型のアントシアン色素分布の様相と系統発生

### 第 1 節 緒 言

ネパールに端を発し、ヒマラヤの温暖地帯と雲南、四川および揚子江流域の諸省を含み、朝鮮半島南部をかすめて本邦の九州、四国および本州の大部分を覆うひとつの植物帯がある。いわゆる照葉樹林帯がそれで、ツバキ属植物の大部分はこの植物帯に分布し、Sealy<sup>88)</sup> の古典的なモノグラフによると約 80 の原種が記載されている。しかし近年、Chang<sup>18)</sup> は中国南部の諸省で続々と新種を発見し、今やその数は 200 余種にのぼる勢いである。

これらのツバキのなかで、世界中の愛好家が観賞用のためにもっとも注目しているものにカメリア節ツバキがある。中国大陸産のトウツバキ、本邦産のヤブツバキやユキツバキがそうである。これらは分類学的に互に関連し、交雑親和性も高く、中間型の形態を持つ個体を含み漸变的な変異移行を伴って連なり合い、複合体を形成しているという<sup>52, 88)</sup>。本邦ではヤブツバキ——ユキツバキの複合が顕著である<sup>33, 49, 68, 102, 109~113)</sup>。これに対し、中国ではトウツバキ——サルウィンツバキ——ピタールツバキの複合があり<sup>24, 25, 31, 88)</sup>、近年ウィリアムシー系の出現<sup>92)</sup> に見られるヤブツバキ——サルウィンツバキの複合すら生じるに至った<sup>71, 72)</sup>。

津山<sup>113, 114)</sup> はカメリア節内種間に見出せる諸形質の連続的な変異と類似性、もしくは種の地理的分布から、系統発生上の主系列をトウツバキ——サルウィンツバキ——ピタールツバキ——宛田紅花油茶——南山茶——浙江紅花油茶——ヤブツバキの順とし、本邦のヤブツバキ、ユキツバキ、ユキバタツバキおよびリンゴツバキを *japonica* という 1 種に収めたほうが良いと結論づけた。このことに関し色素的に見ると不都合の生じる場合がある。つまり前章に述べたように、サルウィンツバキ型の色素生成はトウツバキ型のそれより遺伝的に優性で、系統発生上トウツバキをサルウィンツ

バキの上位に置くと、色素生成に関する劣性遺伝子の優性化方向への、一般に稀にしか見出せない変異を考える必要がある。またこれも前章で述べたが、ヤブツバキとユキツバキ栽培種とはかなり異なる色素生成の遺伝的背景を持つことの意味を説明できない。

津山の提唱したカメラリア節野生型の主系列とアントシアン色素分布の様相とに、どんな並行的な関係があるのか、あるいはハウザンツバキを含めた本邦のカメラリア節の類縁関係は、色素的にどんな様相を呈するのかが興味深い。

本章第2節で論ずるところはハウザンツバキ、リンゴツバキ、ヤブツバキ、ユキツバキ野生型の色素分布の様相<sup>85)</sup>、種の類縁関係と分化を明らかにすることを目的とした。また本章第3節では中国大陸産のカメラリア節を取り上げ、とくに種分化に的を絞って論ずる。

## 第2節 本邦産カメラリア節ツバキ野生型のアントシアン色素分布の様相と系統発生

### 材料と方法

本節で用いたツバキ花卉の採集地は Fig. 31 および

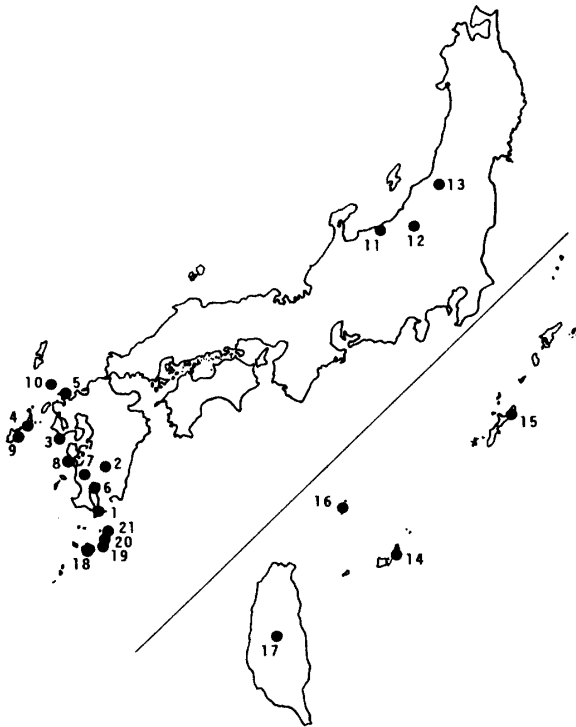


Fig. 31. Map showing the localities where the camellias were collected. Code numbers used in this figure correspond to the locality-numbers represented in Table 14.

Table 14 に示したごとくで、ヤブツバキ10地点291個体、ユキツバキ3地点91個体、リンゴツバキ4地点70個体、ハウザンツバキ3地点28個体で、これに台湾省産のハウザンツバキ1地点18個体を加えた。なおリンゴツバキは屋久島の海拔500m以上の山地に自生するものをいうが、九州南岸沿いには大きな果実をつけるヤブツバキがあり、リンゴツバキとの関連がうかがわれる。本実験に用いたものは屋久島海岸部および種子島に自生する大果をつけるツバキを含み、純粋なリンゴツバキ集団ではない。

1982年2月から6月にかけて本邦産のツバキ花卉を、また1983年2月に台湾省産のハウザンツバキ花卉を採集し、第2章第2節に示す煮沸風乾法で乾燥花卉を得、デシケーター（シリカゲル）内に保存し適宜実験に供した。アントシアン色素の抽出と2次元のTLCは第2章第2節に示したとおりで、クロマトグラム上の色素スポットと総色素の定量、および色素1に占めるシアニジン3-ガラクトシドとグルコシドのHPLCによる定量は、第3章第2節に示す方法によった。

### 結 果

#### (1) ヤブツバキ

比較的人里離れた山間部や海岸沿いにあるものを純粋型 (true type)、市街地近郊や人家の傍にあるものを近郊型 (urban type) として区別すると、前者は佐多岬、霧島山、野母崎、奈良尾、呼子の個体群が、また後者は桜島、東郷、河浦、福江、郷ノ浦のそれが相当する。

まず純粋型、近郊型を問わずすべて低次色素系の色素1、3~5を持つものであったが、これらでは色素1と色素5を主体とし、前者は野母崎 (純粋型) の総色素量の84%を占めるものから、東郷 (近郊型) の60%までの、後者は桜島 (近郊型) の30%を占めるものから、野母崎の8%までの変異があった (Table 14)。栽培種は平均値で色素1が64%、色素5が24%を占めたが、野生型もほぼ類似した色素蓄積を示すといえる。

つぎに色素1に占めるシアニジン3-ガラクトシド量を見ると、福江 (近郊型)、郷ノ浦 (近郊型) の29%のものから、佐多岬 (純粋型) の15%までの変異があった (Table 14)。栽培種は平均値で19%であったが、この色素も野生型はほぼ匹敵する蓄積を示すといえる。

色素1と色素5の量 (A)、シアニジン3-グルコシドとガラクトシド量 (B) およびこれらの比率 (C) に関する個体分布を見ると (Fig. 32)、色素1—色素5間の量に関して野母崎の、またグルコシド—ガラ

Table 14. Summarized constitution of anthocyanins in the wild forms of Section *Camellia* of Japanese origin

Species and localities collected* <sup>1</sup>	No. of individuals	Total anthocyanin* <sup>2</sup>	Constituent anthocyanins (%) <sup>*3</sup>							Ga : G* <sup>4</sup> within spot 1
			1(Ga G)	3 & 4	5	2 & 6	7-9	10-14		
<i>C. japonica</i>										
true type										
1. Sata-misaki	30	0.18	78(12 66)	8	14	—	—	—	—	15 : 85
2. Mt. Kirishima	21	0.27	81(18 63)	6	13	—	+	—	—	22 : 78
3. Nomozaki	30	0.28	84(21 63)	8	8	—	—	—	—	25 : 75
4. Narao	30	0.35	80(19 61)	2	18	—	+	—	—	24 : 76
5. Yobuko	30	0.34	79(14 65)	5	16	—	+	—	—	18 : 82
urban type										
6. Sakurajima	29	0.31	64(10 54)	6	30	—	—	—	—	16 : 84
7. Tôgô	31	0.41	60(12 48)	14	25	—	1	—	—	20 : 80
8. Kawaura	30	0.26	63(16 47)	14	23	—	—	—	—	25 : 75
9. Fukue	30	0.17	66(19 47)	15	19	—	—	—	—	29 : 71
10. Gônoura	30	0.14	69(20 49)	3	28	—	—	—	—	29 : 71
<i>C. japonica</i> ssp. <i>rusticana</i>										
11. Mt. Kurohime	31	—	100(60 40)	—	—	—	—	—	—	60 : 40
12. Tooka-machi	28	—	100(48 52)	—	—	—	—	—	—	48 : 52
13. Mt. Niôji	32	—	100(59 41)	—	—	—	—	—	—	59 : 41
<i>C. japonica</i> ssp. <i>hozanensis</i>										
14. Ishigaki Is.	6	0.16	47( 6 41)	2	51	—	—	—	—	13 : 87
15. Kunigami	21	0.20	57(12 45)	13	30	—	—	—	—	21 : 79
16. Senkaku Is.	1	0.20	88( 8 80)	+	12	—	—	—	—	9 : 91
17. Formosa	18	—	100(53 47)	+	+	—	—	—	—	53 : 47
<i>C. japonica</i> f. <i>macrocarpa</i>										
18. Yaku Is.	27	0.20	61(16 45)	14	25	—	—	—	—	26 : 74
19. Minami-tane	9	0.32	86(19 67)	5	9	—	—	—	—	22 : 78
20. Naka-tane	15	0.33	72(16 56)	10	17	—	—	—	—	22 : 78
21. Nishino-omote	19	0.33	79(14 65)	7	14	—	—	—	—	18 : 82

\*<sup>1</sup> Numbers used correspond to the locality-numbers represented in Fig. 31.

\*<sup>2</sup> mg of anthocyanins / 100mg of petal dry-weight.

\*<sup>3</sup> Numbers used correspond to the spot-numbers represented in Fig. 4.

\*<sup>4</sup> Ga : cyanidin 3-galactoside, G : cyanidin 3-glucoside.

クトシド間の量に関して霧島山(純粋型)や野母崎の、比較的まとまった分布を示すものもあったが、他は色素1やシアニジン3-グルコシドを主体としながらも変異に富む分布を示すといえる。また色素比率に関する個体分布は佐多岬、霧島山、野母崎でまとまった様相をしており、色素に関する種内分化が進まなかった群といえるが、他はグルコシド——ガラクトシド間よりむしろ色素1——色素5間で分化が進んだと考えられる様相を示した。

Fig. 33は色素1と色素5の量(A)、シアニジン3-グルコシドとガラクトシド量(B)およびこれらの色素比率(C)に関する個体分布を、純粋型と近郊型とに分けて示したものである。両者ともにそれぞれ似た分布

を示すが、近郊型でやや変異に富む分布を示すといえる。ちなみに栽培種の分布と比較すれば(Figs. 11, 17),栽培種は近郊型と酷似するといえる。

## (2) ユキツバキ

黒姫山、十日町、二王子岳の3個体群とも色素1が100%を占めた。また色素1に占めるシアニジン3-ガラクトシド量を見ると(Table 14)ほぼ50~60%と、グルコシドより優位を占めた。ユキツバキ栽培種は色素1は平均値で総色素の88%,ガラクトシドは色素1の46%を占めたが、野生型はまったくの色素1型でやや異なった。

色素1と色素5の量(A)、シアニジン3-グルコシドとガラクトシド量(B)およびこれらの色素比率(C)

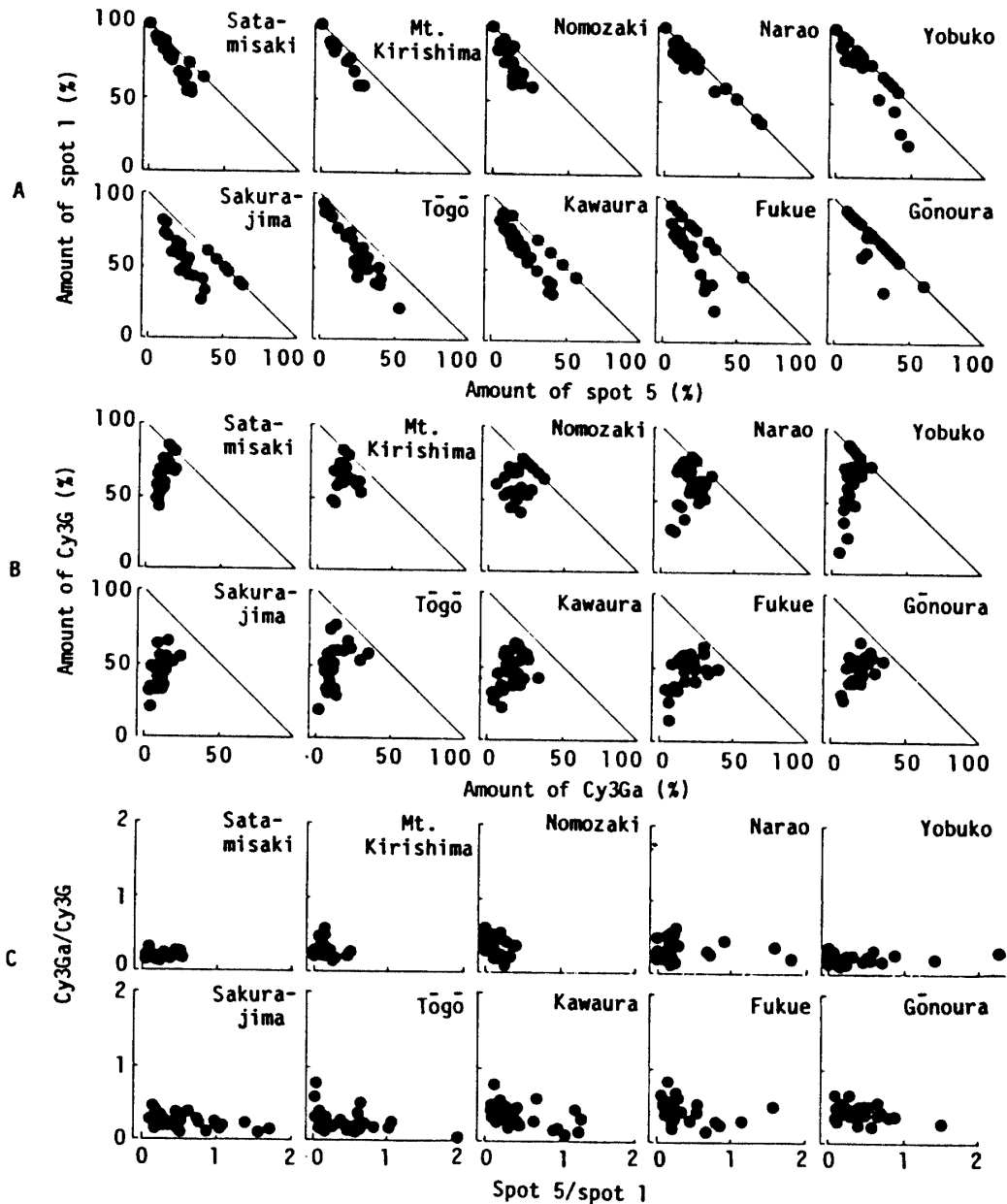


Fig. 32. Distribution of individuals in the wild forms of *Camellia japonica* based on the amount of constituent pigments.

A: Relationship between the amount of spot 1 and that of spot 5. B: Relationship between the amount of cyanidin 3-glucoside (Cy3G) and that of cyanidin 3-galactoside (Cy3Ga). C: Relationship between the ratio of Cy3Ga/Cy3G and that of spot 5/spot 1.

に関する個体分布を見ると (Fig. 34), グルコシド—ガラクトシド間の量に関してグルコシドを主体とするものから、逆にガラクトシドを主体とするものまでの、大幅で連続的な分布を示した。色素比率に関する個体分布も、色素的な種内分化がグルコシド—ガラクトシド間で進んだと考えられる様相を示した。

色素 1 のみを持つという、一見して変異性に乏しいと思えるユキツバキである。しかしながら、色素 1 を構成する 2 種の色素量に関して極めて変異に富んでおり、この点ヤブツバキとはかなり異質と考えられる。

### (3) ホウザンツバキ

本邦産ホウザンツバキ (石垣, 国頭, 尖閣列島) は

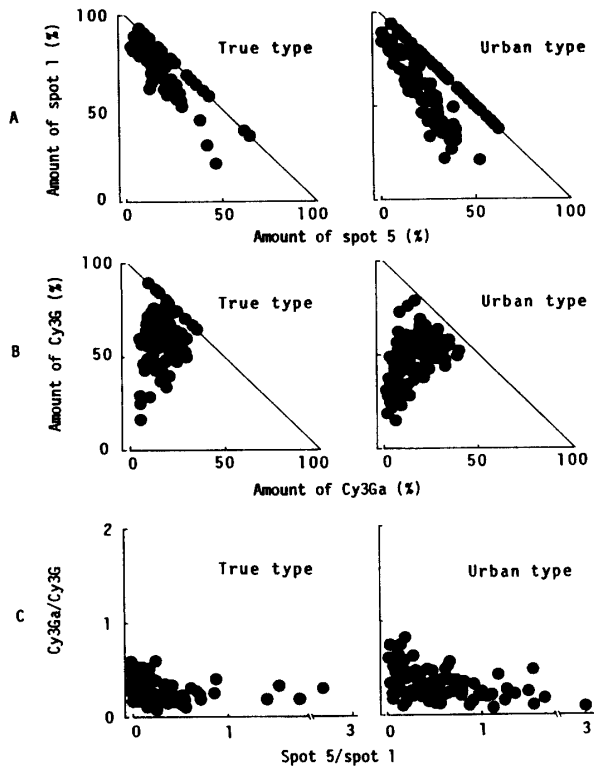


Fig. 33. Distribution of individuals in the true types and urban types of *Camellia japonica* based on the amount of constituent pigments.

A: Relationship between the amount of spot 1 and that of spot 5. B: Relationship between the amount of cyanidin 3-glucoside (Cy3G) and that of cyanidin 3-galactoside (Cy3Ga). C: Relationship between the ratio of Cy3Ga/Cy3G and that of spot 5/spot 1.

すべて低次色素系の色素1, 3~5を持つものであった。これらのうち色素1と色素5を主体とし、前者は尖閣列島で総色素の88%, 石垣で47%, 国頭で57%, また後者は尖閣列島で12%, 石垣で51%, 国頭で30%を占めた。尖閣列島を除くと、ヤブツバキに較べ色素1の量は少なく、逆に色素5の量が多いのが特徴で、この傾向はとくに石垣で強かった。

いっぽう色素1に占めるシアニジン3-ガラクトシド量を見ると、尖閣列島で9%, 石垣で13%, 国頭で21%と (Table 14), ヤブツバキに類似した。

ところで、台湾省産ホウザンツバキは色素1は100%, また色素1に占めるシアニジン3-ガラクトシドは53%と、ユキツバキと軌をひとつにした色素分布を示し、他のホウザンツバキとまったく異なった。

色素1と色素5の量 (A), シアニジン3-グルコシド

とガラクトシド量 (B) およびこれらの色素比率 (C) に関する個体分布を見ると (Fig. 35), いずれも本邦産のものはヤブツバキ近郊型に (Figs. 32, 33), 台湾省産のものはユキツバキ (Fig. 34) に酷似した分布を示した。つまり本邦産のものは色素1—色素5間で、また台湾省産のものはグルコシド—ガラクトシド間で色素に関する種内分化が進んだものといえる。

#### (4) リンゴツバキ

低次色素系の色素1, 3~5をすべて持つものであった。これらのうち色素1と色素5を主体とするが、前者は南種子の総色素の86%を占めるものから、屋久島の61%までの、後者は屋久島の25%を占めるものから、南種子の9%までの変異があり、ヤブツバキと類似した。色素1に占めるシアニジン3-ガラクトシド量も、西之表の18%のものから、屋久島の26%までの変異で、ヤブツバキの範中に入るものであった。

色素1と色素5の量 (A), シアニジン3-グルコシドとガラクトシド量 (B) およびこれらの色素比率 (C) に関する個体分布を見ると (Fig. 36), 南種子で変異に乏しい分布を示すものの、いずれもヤブツバキの示す分布 (Fig. 32) と酷似した様相を呈した。

#### 考 察

本邦産の野生型カメリア節ツバキの花弁のアントシアニン色素分布の様相を、台湾省産ホウザンツバキを含めて概括すれば、色素構成上色素1のみを持ち、シアニジン3-グルコシド=ガラクトシドの蓄積をするユキツバキおよび台湾省産ホウザンツバキの一群と、色素1, 5を主体とし、色素1>色素5, グルコシド>ガラクトシドの蓄積をするヤブツバキ, 本邦産ホウザンツバキおよびリンゴツバキの一群とに大別できる<sup>85)</sup> 前者のユキツバキと台湾省産ホウザンツバキは地理的にかなり離れて分布するが、色素的にはまったく同一で同じ系統発生をしたと思われる。また後者のツバキは地理的に分布域が連続しており、色素的にも3者を区別できる際立った特徴がないことなど、同じ系統発生をしたと考えられる。

本邦産のカメリア節の起源については津山<sup>108)</sup>と堀田<sup>47)</sup>の相反する論がある。まず津山は、第三紀に日本列島に分布していた古型の原ヤブツバキが氷期に多雪条件になった日本海側に残存隔離され、ユキツバキへの分化が起こったとし、現在のヤブツバキは原ヤブツバキが台湾北部まで南下し、暖期に再び北上する間にホウザンツバキやリンゴツバキを分化しながら成立したという。これに対し堀田は、氷期の南下は関東から

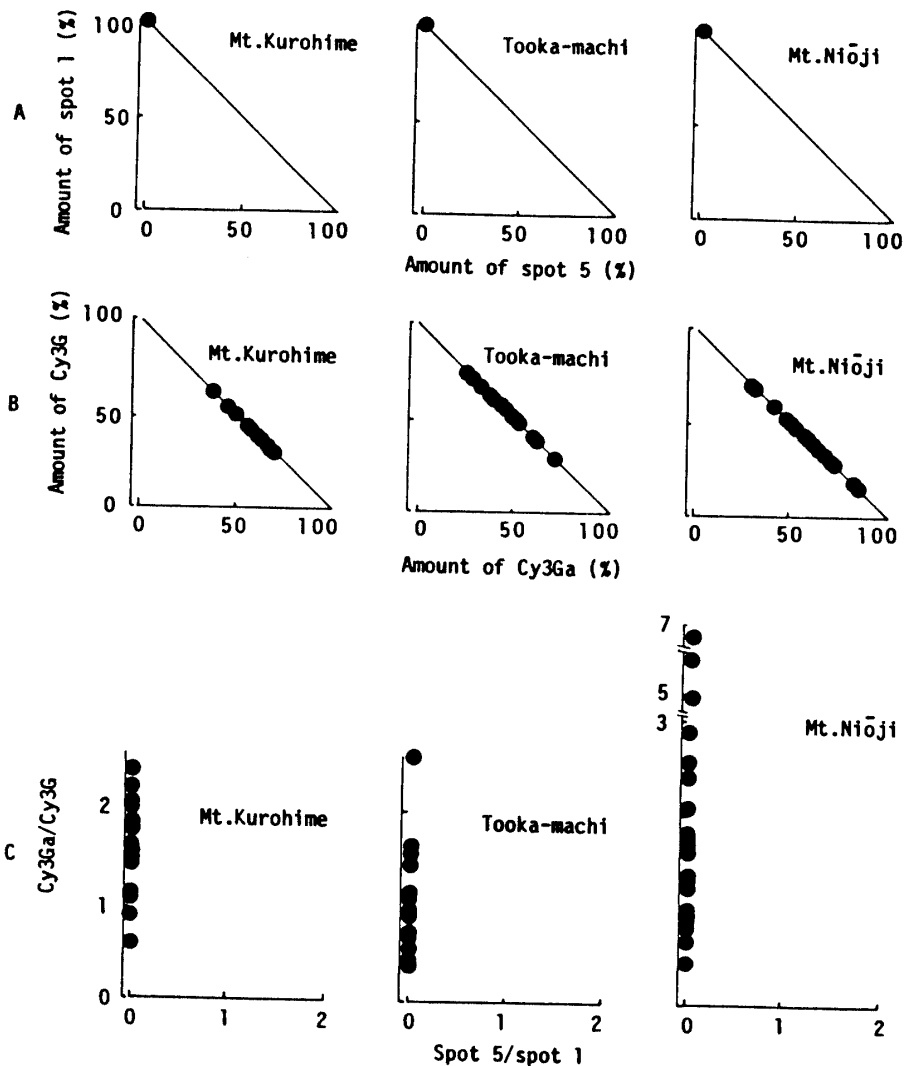


Fig. 34. Distribution of individuals in the wild forms of *Camellia japonica* ssp. *rusticana* based on the amount of constituent pigments.

A: Relationship between the amount of spot 1 and that of spot 5. B: Relationship between the amount of cyanidin 3-glucoside (Cy3G) and that of cyanidin 3-galactoside (Cy3Ga). C: Relationship between the ratio of Cy3Ga/Cy3G and that of spot 5/spot 1.

四国に至る太平洋側で止まり、その間南西諸島でリングツバキを、また日本海側でユキツバキを分化したという。

ヤブツバキとユキツバキを形態で比較すると、葉柄に短毛があり子房室数や胚珠数の多いユキツバキが原型であることは周知のとおりである<sup>88, 107, 108, 112~114</sup>。つまりヤブツバキからユキツバキが分化したとする堀田の考えは、色素的には複雑なものから単純なものへの変化で妥当するとしても、事宜を得ないこととなる。

したがって津山<sup>108</sup>の推論を借りれば、最後の氷期以前に本邦に分布していた原ヤブツバキは、ユキツバ

キ型の色素1のみを持ち、かつ色素1に多量のシアニンジン3-ガラクトシドを持っていたと思える。そこで氷期の到来とともにかなり南方までいったん後退したが、残存隔離したもののひとつは台湾省産ハウゼンツバキへの分化を、いまひとつは日本海側のユキツバキへの分化をおこしたと考えれば、両ツバキが同じ色素型を持つことの理由づけとなる。

ところで、尖閣列島は中国大陸、台湾および沖縄本島のほぼ中間に位置し、本邦ではもっとも大陸に近い、この島のハウゼンツバキはヤブツバキと同じ色素型で、これと歩調を合わせるかのように他の本邦のハウゼン

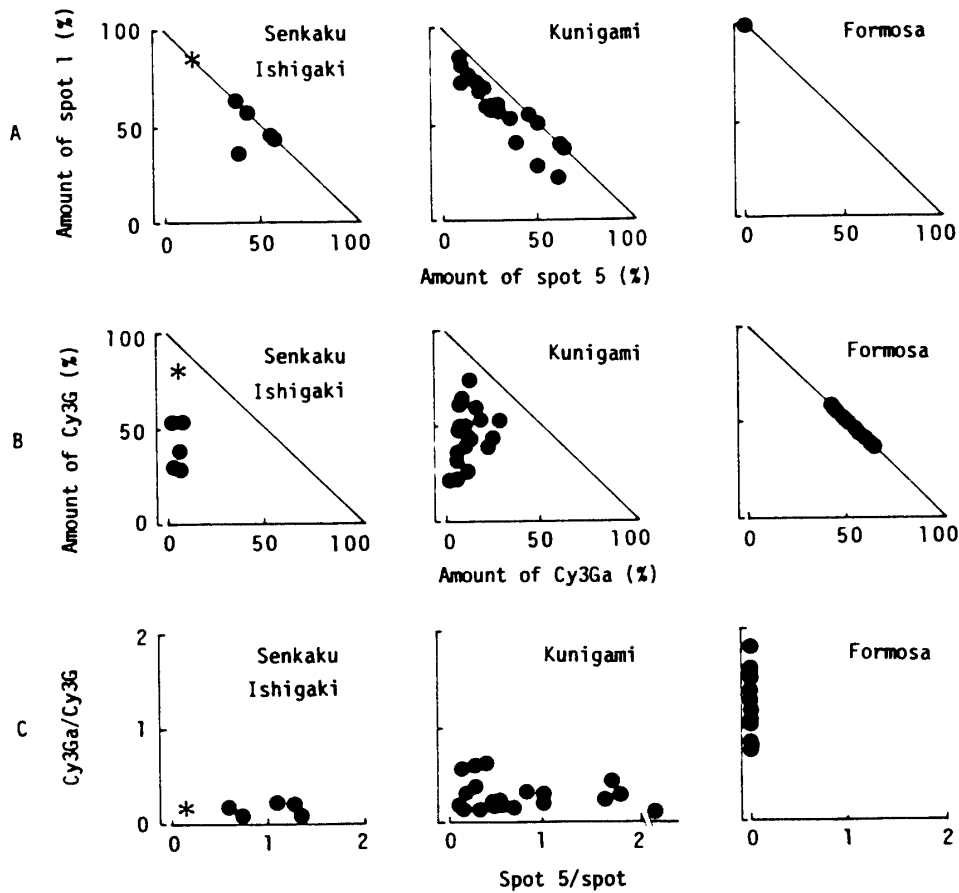


Fig. 35. Distribution of individuals in the wild forms of *Camellia japonica* ssp. *hozanensis* based on the constituent pigments. Mark \* represents an individual collected from Senkaku Island.

A: Relationship between the amount of spot 1 and that of spot 5. B: Relationship between the amount of cyanidin 3-glucoside (Cy3G) and that of cyanidin 3-galactoside (Cy3Ga). C: Relationship between the ratio of Cy3Ga/Cy3G and that of spot 5/spot 1.

ツバキもヤブツバキ型であった<sup>85)</sup>。ウルム氷期後の氷河の後退に伴う海進によって、ヤブツバキ型の色素を持つホウザンツバキがまず琉球列島の島々に根をおろしたことは容易に推定できる。しかしながら本邦に定着したホウザンツバキが、はたしてどのツバキから分化したのか——ユキツバキ型の原ヤブツバキか、またはヤブツバキ型の大陸産のものかについては言及できない。

屋久・種子島の離島化や現在の日本海の形成は地史的に新しく、ウルム氷期後の海進によるとされ、現在の海流と同じ流れをするようになったのは、約1万年～7000年前である<sup>47, 59, 128)</sup>。したがって琉球列島に定着したホウザンツバキは、この流れに乗って分布域をさらに北方へ拡大したと考えられる<sup>117)</sup>。つまり屋久

島でリンゴツバキへの変異分化と、九州を経て太平洋と日本海側に分布するヤブツバキへの分化を伴った拡大であった——色素的にはこのように結論づけられる。

## 要 約

2次元 TLC と HPLC を用い本邦産カメラ節ツバキ野生型の花弁のアントシアン色素を精査し、色素分布の様相を検討した。

1. ヤブツバキ、本邦産ホウザンツバキ、リンゴツバキは低次色素系の色素1と色素5を主体とし、かつ色素1に占めるシアニジン3-ガラクトシド量は少なかった。これに対しユキツバキ、台湾産ホウザンツバキは色素1は100%を占め、かつ色素1に占めるシアニジン3-ガラクトシドはグルコシドとほぼ等量と、



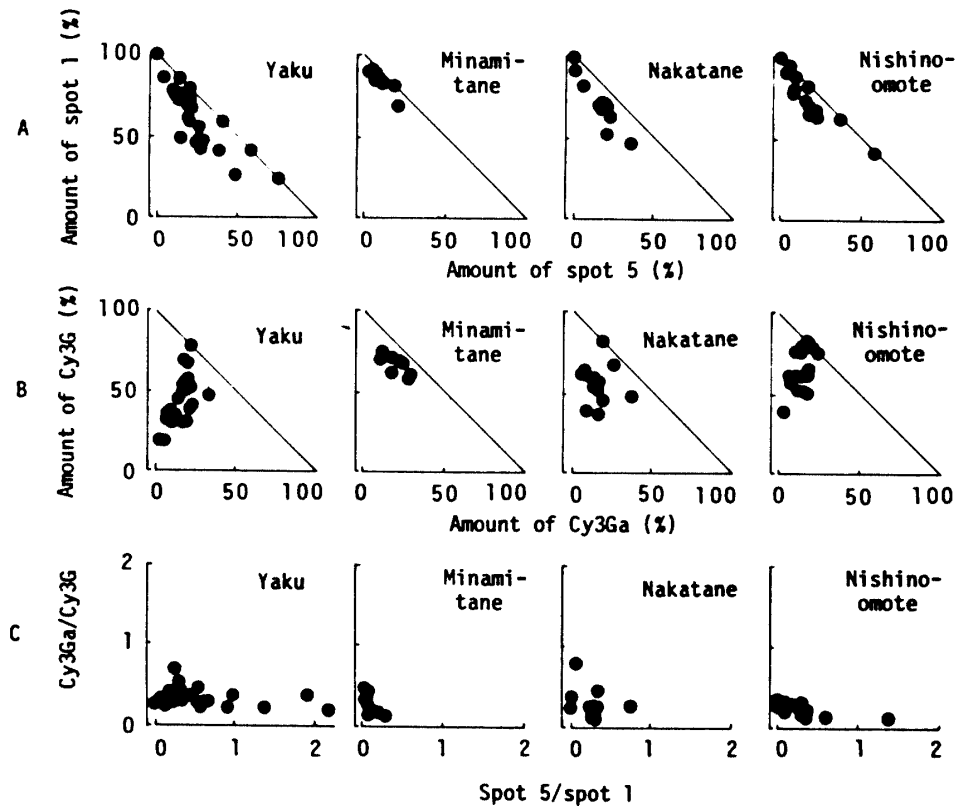


Fig. 36. Distribution of individuals in the wild forms of *Camellia japonica* f. *macrocarpa* based on the constituent pigments.

A: Relationship between the amount of spot 1 and that of spot 5. B: Relationship between the amount of cyanidin 3-glucoside (Cy3G) and that of cyanidin 3-galactoside (Cy3Ga). C: Relationship between the ratio of Cy3Ga/Cy3G and that of spot 5/spot 1.

多かった。

2. 構成色素の蓄積の変異はヤブツバキ, 本邦産ホウザンツバキ, リンゴツバキは色素1—色素5間で, またユキツバキ, 台湾省産ホウザンツバキはシアニジン3-グルコシド—ガラクトシド間で見られた。

3. 以上の色素分布の様相に加え, 種の分布域, 形態および地史を踏まえ, ヤブツバキとリンゴツバキは本邦産ホウザンツバキから変異分化し, ユキツバキと台湾省産ホウザンツバキは残存隔離した古型ツバキから分化したと推定できる。

### 第3節 中国産カメリア節ツバキ野生型のアントシアン色素分布の様相と種分化

#### 材料と方法

本節で用いたツバキ花卉は Table 15 および Appendix 3 に示したごとくで, サルウィンツバキ3個

体, ピタールツバキ・ピタール種 (*C. pitardii* var. *pitardii*) 1個体, ピタールツバキ・雲南種 (var. *yunnanica*) 1個体, 宛田紅花油茶9個体, 南山茶11個体, 浙江紅花油茶5個体, ホンコンツバキ6個体である。なお野生型トウツバキは入手不能であったので, 野生型の実生より選抜された栽培種と, 野生型そのものとされる栽培種の3個体で代替させた。これらのうちピタールツバキ・ピタール種はオーストラリア (R. M. Withers, メルボルン市) より, 雲南種は東京農工大学農学部より, またトウツバキは久留米ツバキ愛好会より入手し, その他はすべて中華人民共和国と香港の現地で採集した。

1982年から1984年にかけて花卉を採集し, 第2章第2節に示す煮沸風乾法で乾燥花卉を得, デシケーター (シリカゲル) 内に保存, 適宜実験に供した。アントシアン色素の抽出と2次元の TLC は第2章第2節に示したとおりで, クロマトグラム上の色素スポットと

総色素の定量, HPLC によるシアニジン 3-グルコシドとガラクトシドの分離定量は第 3 章第 2 節に示す方法によった。

## 結 果

(1) サルウィンツバキ, トウツバキ, ピタールツバキ

3 種とも低次色素系の色素 1, 3~5 を微量持つ個体や, トウツバキ「ワイルド・フォーム」の総色素の 14% を占める個体もあったが, おおねむ高次色素系の色素 10~13 を主体とした。

第 2 章でも触れたがサルウィンツバキは色素 10・12 型で, これらではほぼ 100% を占めた (Table 15)。またトウツバキは色素 11・13 型で, これらは平均値で総色素の 90% を占めた。

これに対し, ピタールツバキはピタール種と雲南種でまったく異なった色素分布を示した。つまり両者とも高次色素系を主体とするが, 前者は色素 10 を総色素の 33%, 色素 12 を 67% 持つサルウィンツバキ型を示したのに対し, 後者は色素 11 を 25%, 色素 13 を 67% 持つトウツバキ型を示した (Table 15)。

(2) 宛田紅花油茶

9 個体中 5 個体は低次色素系の色素 1, 3~5 のみを持つものであったが, 残りの 4 個体は低次色素系に, 総色素の 6~12% に相当する高次色素系の色素 10 が混在した (Appendix 3)。

低次色素系を見ると, 色素 1 と色素 5 を主体とし, 前者は平均値で総色素の 56%, 後者は 23% を占めた。また色素 1 に占めるシアニジン 3-ガラクトシドは土

~30% の変異を示したが (Appendix 3), 平均値は 14% と, ヤブツバキに類似した (Table 15)。

色素 1 と色素 5 の量 (A), シアニジン 3-グルコシドとガラクトシド量 (B) およびこれらの色素比率 (C) に関する個体分布を見ると (Fig. 37), いずれもヤブツバキ (Fig. 33) と軌をひとつにした様相を示した。つまり低次色素系に限って言えばヤブツバキ型の色素分布を示す種といえる。

(3) 南山茶

すべて低次色素系の色素 1, 3~5 を持つものであった。これらのうち色素 1 と色素 5 を主体とし, 前者は平均値で総色素の 71%, 後者は 23% を占めた (Table 15)。また色素 1 に占めるシアニジン 3-ガラクトシド量を見ると, ガラクトシドをほとんど持たない点で特徴的であった (Appendix 3)。つまり色素 1—色素 5 間の量に関してはヤブツバキ型であるが, グルコシド—ガラクトシド間の量に関してはサザンカ型といえる。色素 1 と色素 5 の量 (A), シアニジン 3-グルコシドとガラクトシド量 (B) およびこれらの色素比率 (C) に関する個体分布を見ると (Fig. 37), 色素 1—色素 5 間ではヤブツバキ (Fig. 33) に, またグルコシド—ガラクトシド間ではハウザンツバキの尖閣・石垣個体群 (Fig. 35) に類似する分布を示した。

本章第 2 節で本邦産ハウザンツバキの色素分布の様相をヤブツバキの範中に入るとしたが, このことからすれば本種をヤブツバキ型と考えてもよいと思われる。しかしガラクトシド量の少なさは本種の特徴のひとつといえよう。

Table 15. Summarized constitution of anthocyanins in the wild forms of Section *Camellia* of Chinese origin

Species	No. of individuals	Total* <sup>1</sup> anthocyanin	Constituent anthocyanins (%) <sup>*2</sup>								Ga : G <sup>*3</sup> within spot 1	
			1(Ga)	G)	3&4	5	2&6	7-9	10&12	11&13		
<i>C. saluenensis</i>	3	0.07	+(-)	+	-	-	-	-	-	100	+	-
<i>C. reticulata</i> (cvs.)	3	0.16	4(+)	4)	1	1	-	-	-	4	90	-
<i>C. pitardii</i>												
var. <i>pitardii</i>	1	0.02	+(-)	+	-	-	-	-	-	100	-	-
var. <i>yunnanica</i>	1	0.07	+(-)	+	-	-	-	-	-	8	92	-
<i>C. polyodonta</i>	9	-	56( 8	48)	17	23	-	-	-	4	+	14 : 76
<i>C. semiserrata</i>	11	-	71(+)	71)	6	23	-	-	-	-	-	0 : 100
<i>C. chekiangoleosa</i>	5	-	98(41	57)	2	+	-	+	-	-	-	42 : 58
<i>C. hongkongensis</i>	6	-	15(+)	15)	20	54	11	-	-	-	-	2 : 98

\*<sup>1</sup> mg of anthocyanins / 100mg of petal dry-weight.

\*<sup>2</sup> Numbers used correspond to the spot-numbers represented in Fig. 4.

\*<sup>3</sup> Ga : cyanidin 3-galactoside, G : cyanidin 3-glucoside.

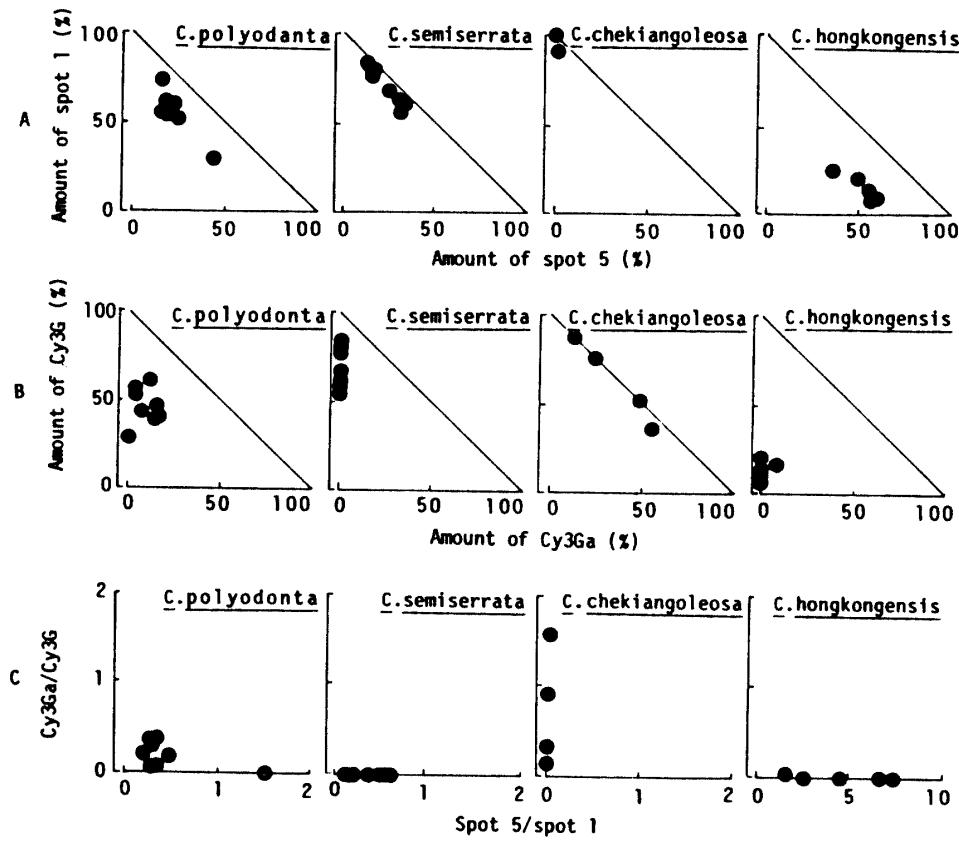


Fig. 37. Distribution of individuals in the wild forms of camellias of Chinese origin based on the constituent pigments.

A: Relationship between the amount of spot 1 and that of spot 5. B: Relationship between the amount of cyanidin 3-glucoside (Cy3G) and that of cyanidin 3-galactoside (Cy3Ga). C: Relationship between the ratio of Cy3Ga/Cy3G and that of spot 5/spot 1.

#### (4) 浙江紅花油茶

5 個体すべてが低次色素系を持つものであった。これらのうち色素 1 を主体とし、平均値で総色素の 98% を占めた (Table 15)。また色素 1 に占めるシアニジン 3-ガラクトシド量は 13% を占めるものから、64% までの変異があったが (Appendix 3)、平均値で 42% と、ユキツバキや台湾省産のホウザンツバキと近似した。

色素 1 と色素 5 の量 (A)、シアニジン 3-グルコシドとガラクトシド量 (B) およびこれらの色素比率 (C) に関する個体分布を見ると (Fig. 37)、いずれもユキツバキや台湾省産ホウザンツバキの分布 (Figs. 34, 35) と軌をひとつにした様相を示した。

#### (5) ホンコンツバキ

5 個体すべて低次色素系を持つものであったが、色素 1, 3~5 に加え、サザンカに特徴的に出現するデルフィニジン系の色素 2, 6 を持つ点で、他のカメリ

ア節と異なった (Appendix 3)。また低次色素系のうち色素 5 を主体とし、平均値で総色素の 54% を占めた (Table 15)。色素 1 に占めるシアニジン 3-ガラクトシド量も平均値で 2% と微量で、これらもサザンカと一致した。

色素 1 と色素 5 の量 (A)、シアニジン 3-グルコシドとガラクトシド量 (B) およびこれらの色素比率 (C) に関する個体分布を見ると (Fig. 37)、いずれもサザンカ型で (Figs. 13, 21)、他のカメリア節とかなり異質の色素分布を示した。

#### 考 察

中国大陸産カメリア節ツバキの野生型花卉に見られるアントシアン色素分布の様相を、概括して示すと Table 16 のごとくである。まず高次色素系を主体とするサルウィンツバキ、トウツバキ、ピタールツバキの一群と、低次色素系を主体とする宛田紅花油茶、南山

茶, 浙江紅花油茶, ホンコンツバキの一群に大別できる。加えてこれらのツバキは, 構成色素のどれを主体とするか, あるいはデルフィニジン系色素や多量のシアニジン 3-ガラクトシドを持つかを指標にすれば, さらに細かく分類できる。

中国大陸産のカメリア節ツバキの色素分布(色素型)の違いは, 前章に述べたように, 色素のヒドロキシル化, グリコシル化あるいはアシル化<sup>72)</sup>を支配する比較的少数の遺伝子の作用の違いに基づくものと考えられる。したがって, 種の分化が花色に関する突然変異を伴うとすれば, ツバキの系統発生の方向は, 一般の植物に見られるような, 色素生成に関する優性遺伝子の劣性を伴う種の分布移動<sup>13)</sup>とするほうが事を得ていると思える。

このような観点で中国大陸産のカメリア節に序列をつけると, まず遺伝的に最優性の色素 10, 12 を生成するツバキに始まり, 最劣性の色素 1 を主体に生成するツバキに終わる, 一連の流れを示唆できる。つまり色素の遺伝的な優性・劣性の序列は色素 10・12 型 > 色素 11・13 型 > 色素 5 型 > 色素 1 型の生成順で, これに種をあてはめると, サルウィンツバキ, ピタールツバキ・ピタール種 > トウツバキ, ピタールツバキ・雲南種 > 宛田紅花油茶 > ホンコンツバキ > 南山茶, 浙江紅花油茶の順となる。

ところでツバキの系統発生について論じる場合, 種の地理的な分布域や種を区別する重要な形質を考慮す

る必要がある。まず Fig. 38 に分布域を示すと<sup>35, 36, 88, 114)</sup>, 雲南省西南部のトウツバキに始まり, サルウィンツバキ, ピタールツバキ, 宛田紅花油茶を経て, ひとつは東方向へ南山茶とホンコンツバキに至る分布と, いまひとつは東北上し浙江紅花油茶に至る分布とがある。

このような分布域の本邦からの距離と, 重要な形質の萼苞の宿存性や子房・花柱の有毛性に着目し, 津山<sup>113, 114)</sup>はトウツバキに始まり, サルウィンツバキ—ピタールツバキ—宛田紅花油茶—南山茶—浙江紅花油茶と続くカメリア節の主系列を提唱した。これに対し Chang<sup>19)</sup>は「四川省南部のツバキ群落の生態」に関する談話で, 中国の古大陸とされる四川省南部をカメリア節の起源センターとする考えを明らかにした。つまり氏の考えによれば, サルウィンツバキやピタールツバキを起源センターにもっとも近いツバキとして捉えることができる。同様に, サルウィンツバキを発生の祖においたのは Parks と Griffith である。細胞遺伝学的手法を用い, 2 倍体のサルウィンツバキにヘテロゲニア節が交雑し 6 倍体のピタールツバキ・雲南種を生じたという<sup>6)</sup>。

したがってこのような分布域や形質, あるいは細胞遺伝の様相を踏まえ, これにアントシアン色素分布のそれを加味すると, Fig. 39 に示す 2 つの系統発生の系列を考えることができる。ひとつは低次色素系に高次色素系が混在する宛田紅花油茶から, ヤブツバキ型

Table 16. Summarized constitution and accumulation of anthocyanins in the wild forms of the Section *Camellia* of Chinese origin

Species	Occurrence of*				Accumulation of*		
	Higher Rfs	Lower Rfs	Spots 10, 12	Spots 11, 13	Dp series	Spots 1 & 5	G & Ga
<i>C. saluenensis</i>	mj	tr	mj	tr	—		
<i>C. pitardii</i> var. <i>pitardii</i>	mj	tr	mj		—		
<i>C. reticulata</i>	mj	mi	mi	mj	—		
<i>C. pitardii</i> var. <i>yunnanica</i>	mj	tr	mi	mj	—		
<i>C. polyodonta</i>	mi	mj	mi		—	1 > 5	G > Ga
<i>C. semiserrata</i>		mj			—	1 > 5	G > Ga
<i>C. chekiangoleosa</i>		mj			—	1 > 5	G ≅ Ga
<i>C. hongkongensis</i>		mj			+	1 < 5	G > Ga
<i>C. japonica</i>		mj			—	1 > 5	G > Ga
<i>C. japonica</i> ssp. <i>rusticana</i>		mj			—	1 > 5	G ≅ Ga
<i>C. sasanqua</i> (cvs.)		mj			+	1 < 5	G > Ga

\* — : absent, + : present, mj : major, mi : minor, tr : trace, higher Rf : spots 10–14, lower Rf : spots 1–9, Dp : delphinidin, G : cyanidin 3-glucoside, Ga : cyanidin 3-galactoside. Numbers used correspond to the spot-numbers represented in Fig. 4.

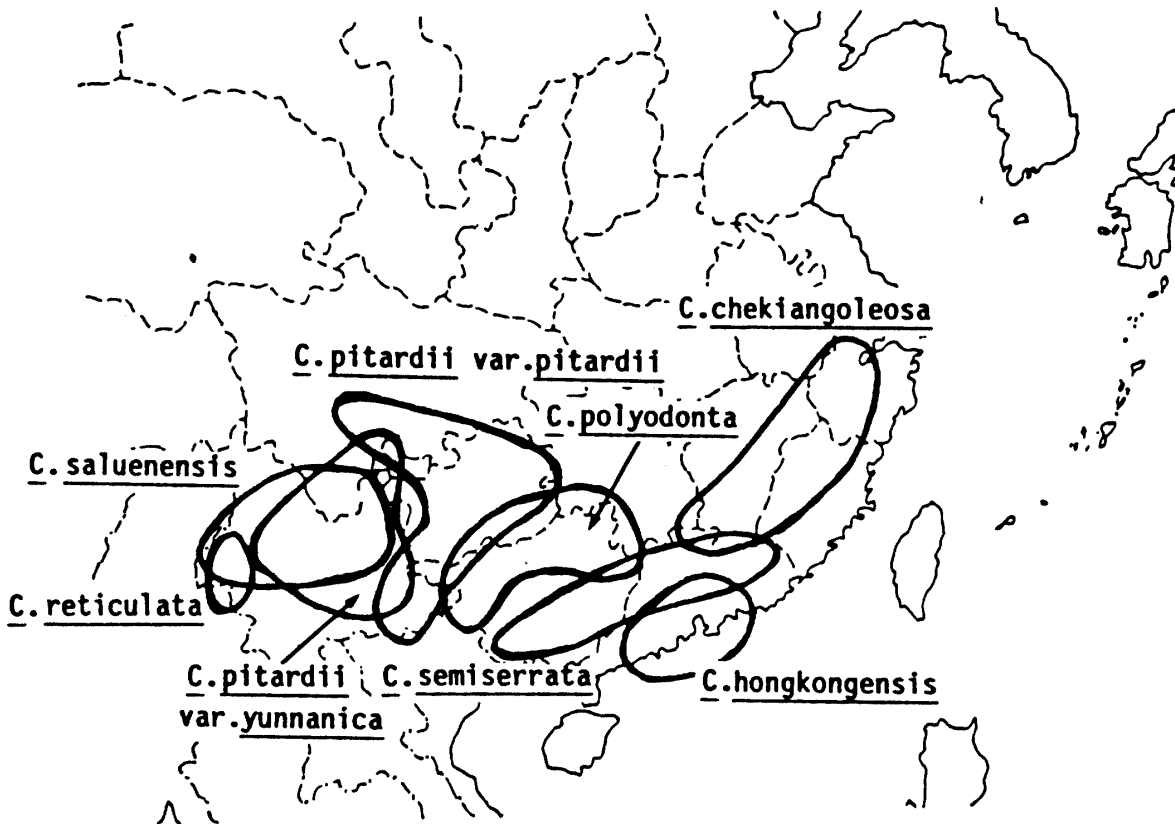


Fig. 38. Distribution of camellia species in China.

の南山茶とユキツバキ型の浙江紅花油茶が分化するもので、いまひとつは南山茶から浙江紅花油茶が分化するものである。南山茶のグルコシド $\gg$ ガラクトシド型の蓄積をこの種の特徴として捉えたと前者の、また宛田紅花油茶のグルコシド $>$ ガラクトシド型の範中に入るとすれば後者の系列が妥当と思える。なおホンコンツバキはあくまで南山茶に隣接した分布域を持つことでこれらの系列に入れたが、色素的には他節のツバキとの交雑や、もっと複雑な系列をたどった可能性があると考えられる。

これらの系列に従って種をながめると、遺伝的に最優性の色素生成をするサルウィンツバキから、東西2方向へ異質の分化を遂げたことが分かる。ひとつはトウツバキへの分化と、いまひとつは宛田紅花油茶を経てヤブツバキ型の南山茶や、ユキツバキ型の浙江紅花油茶への分化である。

ところで本章第2節ではヤブツバキを本邦産のハウザンツバキより派生したとした。中国大陸産の宛田紅花油茶や南山茶がヤブツバキ型の色素分布を示すことなどは、あるいは両種のいずれかに本邦のハウザンツ

バキの源をたどれまいか。また浙江紅花油茶はユキツバキとも台湾産のハウザンツバキとも同じ色素分布を示すが、この種にも後者の2種のツバキの源をたどれまいか。このように考えると、本邦産のカメリア節ツバキは中国大陸産のツバキからひどく孤立したものではない——色素的にはこう結論づけられよう。

#### 要 約

2次元 TLC と HPLC を用い中国大陸産カメリア節ツバキ野生型の花弁のアントシアン色素を精査し、色素分布の様相を検討した。

1. サルウィンツバキ、ピタルツバキ・ピタル種は高次色素系の色素10, 12を主体とし、トウツバキ、ピタルツバキ・雲南種は高次色素系の色素11, 13を主体とした。

2. 宛田紅花油茶は低次色素系に高次色素系が混在したが、低次色素系では色素1, 5を主体とし、色素1に占めるシアニジン3-ガラクトシド量は少なかった。

3. 南山茶は低次色素系のみで、色素1, 5を主体

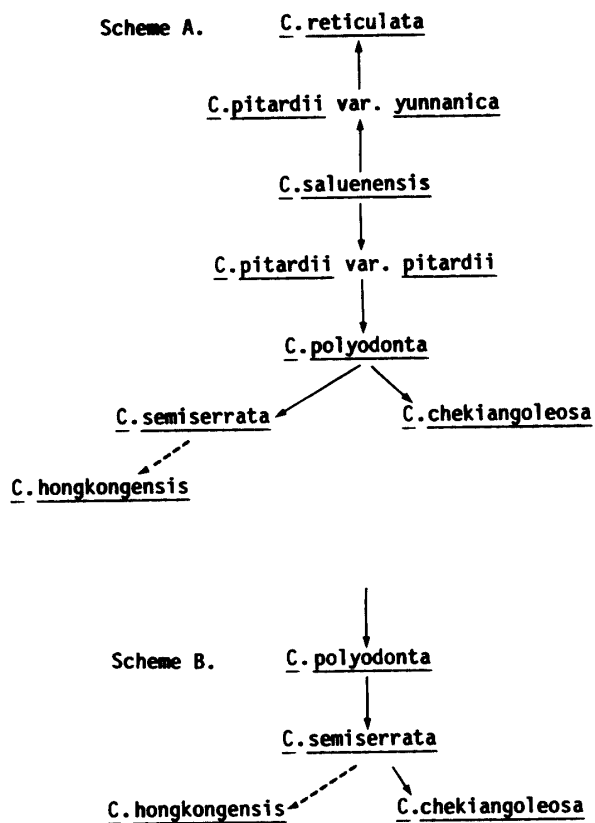


Fig. 39. Phylogenetical sequences of the wild forms of the Section *Camellia* of Chinese origin based on the constituent pigments.

とし、色素1に占めるシアニジン3-ガラクトシド量はほぼゼロに等しかった。

4. 浙江紅花油茶は低次色素系のみで、色素1が100%を占め、色素1に占めるシアニジン3-ガラクトシドはグルコシドとほぼ等量と、多かった。

5. ホンコンツバキは低次色素系のみで、色素5を主体とし、色素1に占めるシアニジン3-ガラクトシド量はほぼゼロに等しかった。またデルフィニジン系の色素2, 6を併せ持つものであった。

6. 以上の色素分布の様相に加え、種の分布域、形質および色素の遺伝を踏まえると、トウツバキやピタールツバキはサルウィンツバキから分化し、ピタールツバキ・ピタール種——宛田紅花油茶——南山茶——浙江紅花油茶と続く、地理的に東北上した系統発生上の系列を推定できる。

## 第5章 総 括

ツバキ愛好家が観賞用のためにもっとも注目しているものにカメラア節ツバキがある。本邦産のものでは

ヤブツバキ、ユキツバキ、リンゴツバキ、ホウザンツバキがそうである。これらは古くから栽培され、命名に若干の重複があるが、ひと口に2000以上の品種が登録され、多様な形態変異を持つ。

花の形の変異性を調べたものとして、津山<sup>111)</sup>と石沢・萩屋<sup>49)</sup>はヤブツバキ野生型には種々の変異があるながらも八重咲きは見られず、むしろユキツバキ野生型に著しい変異が見られるという。またヤブツバキとユキツバキの雑種のユキバタツバキに花形のもっとも著しい変異があるという。つまり津山<sup>109, 110)</sup>も指摘するように、ヤブツバキとユキツバキの複合によって、ヤブツバキ栽培種に形質の多様性がもたらされたといえる。

同様な複合体形成による形質の多様化は、カメラア節の起源センターに分布するトウツバキ、サルウィンツバキおよびピタールツバキにも該当する<sup>88)</sup>。近年ではヤブツバキ——サルウィンツバキ間<sup>71, 72, 92)</sup>、パラカメラア節のサザンカ——カンツバキ間<sup>70)</sup>およびカメラア節とパラカメラア節をまたぐヤブツバキ——ハルサザンカ——サザンカ間<sup>100, 101, 115)</sup>の複合が明らかにされるに至っている。しかしながら、このように種間で比較的容易に複合体を作るという事実は、外部形態上の形質でツバキを分類することへの疑問を生じたともいえる<sup>52, 72)</sup>。

ところで、これまで多くの植物化学者が植物体内成分の種類と分布を明らかにする研究に従事し、いわゆる成分分類学 (chemotaxonomy) が体系づけられるに至った。最近では、とくに低分子レベルの成分の種間および種内変異を扱う例も多く、集団を基礎とした詳細な分析の結果、成分的に見た種の構造が明らかにされるようになり<sup>105, 106)</sup>、従来の分類学的な扱いに関しても多角的な検討が加えられるようになった。

これらの代表的な事例として、アカネ科 *Cinchona* 属のアルカロイド成分<sup>17)</sup>、*Juniperus* 属のテルペン成分<sup>2, 119)</sup>、ブタクサの仲間の *Ambrosia* 属のテルペン成分<sup>27)</sup>、シロツメグサのシアニ化合物<sup>22, 23)</sup>、ウスバサイシンの精油成分<sup>29)</sup> およびネジキのフラボノイド類<sup>127)</sup> を指標とした研究をあげることができる。つまり分類や分化を扱う際に形態や核学的な手段を補足する重要な決め手のひとつとして、低分子化学成分を用いることが可能となった。

以上のような経緯を背景に本研究は花卉のアントシアニン色素を指標として、ツバキ栽培種や野生型の種間および種内構造を明らかにすることを目的とし、とくに色素分布の様相で系統や種分化を探ることを試みた

ものである。得られた結果を総括するとつぎのとおりである。

### 1. ツバキ花卉に見られるアントシアニン色素の性状と遺伝的背景

花卉における色素合成が比較的緩慢に進むものと、逆に急速に進むものがあるが、ツバキは後者に属するといえる。しかも色素生成を開始すると、短時間のうちにいっきに最終的な色素構成に至る合成を行う特徴を持つ。この合成の速さは温度や光などの外的条件で、色素生成は量的および質的な変化を受けにくいことを示しており、その意味では遺伝的に強く制御された色素生成機構を持つ植物と考えられる。

ツバキに見られるアントシアニン色素は15個で、モノサイド群の低次色素系10個とダイサイド群と推定される高次色素系5個に大別できる<sup>82, 84</sup>。低次色素系の4個をTLC, PPCで同定したが、これらの色素構造からヒドロキシル化、アシル化およびグリコシル化の色素修飾がなされていることが分かる。したがって、まずそれぞれの修飾に関与する最低3個の遺伝子の存在を想定することができる。

グリコシル化に限定しても3個の遺伝子を想定できる。グルコシド—ガラクトシド間、モノサイド—ダイサイド間、色素10・12—色素11・13間がそうである。つまり上述のヒドロキシル化とアシル化の2個を加えると、つごう5個の遺伝子が色素生成に関与すると思える。

これらの遺伝子の優劣関係は詳細な交雑実験の結果を待って判断すべきである。しかしながら少なくとも巷間にいわれるように、ダイサイド群はモノサイド群より、デルフィニジン系はシアニジン系より、またアシル化したものはそうでないものより遺伝的に生成は優性であろう。この点雑種起源のツバキの色素分布を精査したことで、ダイサイド群はモノサイド群より生成は遺伝的に優性なことを明らかにでき<sup>83</sup>、上記の推定の正しさを一部裏付けた。

### 2. ツバキ栽培種に見られるアントシアニン色素分布と品種分化

栽培種のアントシアニン色素構成を見ると、種で構成を異にするものであった<sup>82-85</sup>。たとえば主体とする色素を拾うと、トウツバキの色素11・13、サザンカの色素5、ヤブツバキの色素1、ユキツバキのシアニジン3—ガラクトシドなどがそうである。これに加えサザンカはデルフィニジン系色素を持ち、サルウィンツバキの血を引く雑種は色素10・12を持つ。

このような色素構成上の種特異性を扱った最近の例

として、エリカ属<sup>20</sup>、フクシャ属<sup>21</sup>、マメ科<sup>79</sup>、ヒビスカス属<sup>58</sup>、ノボタン科<sup>57</sup>およびワタ<sup>69</sup>のアントシアニンとフラボノール色素を指標とした研究をあげることができる。つまりツバキの場合も、前述した色素類はいわゆる化学的指標 (chemical marker) として成分分類に充分使用可能と考えられる。

いっぽう、色素蓄積の種内変異から品種分化を類型化できる。たとえばヤブツバキは色素1を主体としたが、実際はこの色素をほぼ100%持つ品種から、色素5を主体とするものまでの大幅な変異があった<sup>82</sup>。このことは色素1—色素5間の量に基づく品種分化を遂げた種としてヤブツバキを捉えることができる。このような観点で他のツバキを見ると、ユキツバキのシアニジン3—グルコシド—ガラクトシド間の変異<sup>84</sup>に基づくもの、トウツバキの主要な2色素間の変異<sup>82</sup>に基づくものや、逆にサザンカのように色素5の量に変異は見られず<sup>82</sup>、花色に関する品種分化をさほど遂げなかったものなどがある。

これに対し、ハルサザンカは雑種起源で種内に倍数性の異なる系統を持つ。このものなどは倍数性の違いに基づく品種分化を遂げた種として捉えることができる<sup>82</sup>。あるいは種間雑種ツバキのように、両親種の色素に関する遺伝的背景に基づく分化を遂げた種もあり<sup>83</sup>、多様といえる。

### 3. カメリア節ツバキ野生型にみられるアントシアニン色素の分布と系統発生

カメリア節野生型を色素型で分類する場合、色素1、シアニジン3—ガラクトシドおよび高次色素系の3色素群を指標とすることが重要である。これらの分布に加え、色素の遺伝、種の地理的分布、形態、地史的な古さ、核学的な観点を踏まえると、つぎの系統発生上の系列を想定できる。

起源センターとされる四川省南部にも分布し、最優性の色素生成機構を持つサルウィンツバキに端を發し、一方は西へ、ピタルツバキ・雲南種を経てトウツバキへ至る分化と、いま一方は東へ、ピタルツバキ・ピタル種を経て低次色素系を持つ種へ至る分化である。つまり色素的には優性遺伝子の劣性化を伴った分化・移行という秩序を見出せる。

Van Steenis<sup>118</sup>は、温暖な環境下では非適応ともいえる形態分化や、無適応的進化がおこるといふ。たとえばよくまとまった種群は同所的に生育するが、突然の遺伝的变化、それも1遺伝子の突然変異といったものが温暖な環境ゆえに生き残り、種分化に重要な役割を果たすといふ。温暖で快適な照葉樹林帯の住人と

されるカメラ節がそうではなかったろうか。おそらく花色素などという、いわばアクセサリーの種分化を遂げつつ、互いに連なる複合体を形作ったのではあるまいか。

ところでいまひとつの種分化が本邦で演じられたことになる。琉球列島先島や尖閣列島に最初に定着した本邦産のハウザンツバキが演じる系統発生劇である。これらの島々に端を発し、屋久島に至ってのリングツバキとしての変異分化と、さらに北上する間のヤブツバキへの変身と、九州北部におけるサザンカとの接触によるハルサザンカを誕生させたことである。あるいは、残存隔離して分布するユキツバキとの接触で現在のヤブツバキ栽培種を生み出したことも、もとはといえば本邦産のハウザンツバキに由来する出来事である。

以上のように考えると、カメラ節の起源センターに位置するサルウィンツバキから、宛田紅花油茶や南山茶を経て、ヤブツバキやツバキ栽培種に至る一連のつながりを想定でき、本邦のツバキが中国大陸産のカメラ節からひどく孤立したものではない——色素的にはこう結論づけられるのではあるまいか。

**謝辞** 本研究を取りまとめるにあたり、実にいろいろな方々の御指導と協力を戴いた。これらなくして、本研究が所期の目的を達することは到底ありえなかったはずである。

まず研究の当初から本論文の取りまとめまで、終始御懇篤な指導を戴いた九州大学教授・上本俊平博士、ならびに本論文の御校閲の労と数々の御教示を戴いた九州大学教授・藤枝國光博士、同教授・炭屋豊博士および同助教授・白石眞一博士に深甚の謝意を表します。また鹿児島大学教授・有隅健一博士には花色素の遺伝や花木の生理について教えられるところが多く、かつ本研究の遂行に対する各種の御配慮と論文の御校閲の労を戴いた。心からの御礼を申し述べます。

つぎに、本研究でかくも多数にわたるツバキ花卉を供試することができたのはひとえに多くの方々のお協力のおかげである。前新潟大学教授・萩屋薫博士にはユキツバキの、東京農工大学・箱田直紀博士にはサザンカとハルサザンカの、横浜市立こどもの国・桐野秋豊氏にはワビスケの、また久留米ツバキ愛好会会長・宮原勝美氏にはトウツバキを始めとして種々の雑種ツバキの花卉を快く提供して戴き、数々の助言も賜った。深く感謝の意を表します。なお、九州大学農学部園芸学教室、農林水産省野菜試験場久留米支場、長島熱帯植物園にも種々のツバキの花卉を提供して戴いた。併せて御礼を申し述べます。

この他、本研究の遂行にあたり中華民国台湾省のハウザンツバキ採集のための労を戴いた前九州大学教授・宮島寛博士と中華民国行政院農業委員会森林科科长・林文鎮博士、ユキツバキ採集のための労を戴いた新潟大学助教授・石沢進博士、また貴重なピタルツバキ・ピタル種の入手に労を戴いたオーストラリア・メルボルン市の Robert M. Withers 博士など大変御世話になった。現地での採集に際し、効率よく花卉を入手できたのは、この方々に負うところ極めて大きなものがあつた。感謝の意を表す次第です。

## 文 献

- 1) Adamovics, J. and Stermitz, R.: High-performance liquid chromatography of some anthocyanidins and flavonoids. *J. Chromatog.*, **129**, 464-465 (1976)
- 2) Adams, R. P.: Chemosystematic and numerical studies of natural populations of *Juniperus pinchotii* Sudw. *Taxon*, **21**, 407-427 (1972)
- 3) Akuta, S., Ohta, H., Sakane, Y. and Osajima, Y.: Anthocyanin pigments of wild and Seibel No.13053 grapes harvested in Tokachi. *J. Jap. Soc. Food Sci. Technol.*, **24**(12), 25-30 (1977)
- 4) 芥田三郎・太田英明・炭屋 豊: 巨峰ブドウ果皮中の少量アントシアニン色素について. 日食工誌, **24**(7), 346-349 (1977)
- 5) 芥田三郎・太田英明・炭屋 豊・松富直利・小林邦彦: 欧州系ブドウ, 甲州およびグロ・コールマンのアントシアニン色素について. 日食工誌, **24**(10), 21-23 (1977)
- 6) 安藤芳顕: トウツバキの神秘. 新花卉, **99**, 60-64(1978)
- 7) 有隅健一・坂田祐介・青木正隆・河原壯拓: パラの花色素に関する研究, 特に遺伝生化学的分析とその育種に対する応用について. V. 鹿大農学術報告, No.27, 23-30 (1977)
- 8) Asen, S.: Flavonoid chemical markers as an adjunct for cultivar identification. *HortScience*, **12**, 447-448 (1977)
- 9) Asen, S.: Flavonoid chemical markers in *Poinsettia* bracts. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **104**, 223-226 (1979)
- 10) Asen, S.: Identification of flavonoid chemical markers in rose and their high pressure liquid chromatographic resolution and quantification for cultivar identification. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **107**, 744-750 (1982)
- 11) Barritt, B. H. and Torre, L. C.: Fruit anthocyanin pigments of red raspberry cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **100**, 98-100 (1975)
- 12) Bate-Smith, E. C. and Torre, L. C.: Paper chromatography of anthocyanins and related substances in petal extracts. *Nature*, **161**, 835-838 (1975)
- 13) Beale, G. H.: Gene relations and synthetic processes. *J. Genet.*, **42**, 197-214 (1941)
- 14) Cabrera, J. L. and Juliani, H. R.: Isorhamnetin 3, 7-disulphate from *Flaveria bidentis*. *Phytochemistry*, **16**, 400 (1977)
- 15) Caddell, G. M.・上本俊平・Parks, C. R.: ヤブツバキ天然個体群内のアイソザイム変異. 園学要旨, 昭59秋, 334-335 (1984)
- 16) Camire, A. L. and Clydesdale, F. M.: High pressure liquid chromatography of cranberry anthocyanins. *J. Food Sci.*, **44**, 926-927 (1979)
- 17) Camp, W. H.: *Cinchona* at high altitude in Ecuador. *Brittonia*, **6**, 394-430 (1949)
- 18) Chang, H. T.: A taxonomy of the genus *Camellia*. *J. Sun Yatsen Univ.*, (Natural Sci.) **1**, 1-180 (1981)
- 19) Chang, H. T. (Personal communication) (1984)
- 20) Crowden, R. K. and Jarman, S. J.: Anthocyanins in the genus *Erica*. *Phytochemistry*, **15**, 1796-1797 (1976)
- 21) Crowden R. K., Wright, J. and Harborne, J. B.: An-



- thocyanins of *Fuchsia* (Onagraceae). *Phytochemistry*, **16**, 400-402 (1977)
- 22) Dady, H.: Gene frequencies in the wild populations of *Trifolium repense* L. I. Distribution by latitude. *Heredity*, **8**, 61-78 (1954)
- 23) Dady, H.: Gene frequencies in the wild populations of *Trifolium repense* L. II. Distribution by altitude. *Heredity*, **8**, 377 (1954)
- 24) Durrant, T.: Some comment on *Camellia reticulata*. *Amer. Camellia Yearbook*, **1968**, 103-120 (1968)
- 25) Durrant, T.: More comment on *Camellia reticulata*. *Camellia Review*, **31**, 4-8 (1969)
- 26) Endo, T.: Separation of anthocyanin and leucoanthocyanin in flowers of *Camellia japonica*. *Nature*, **182**, 808 (1958)
- 27) Fisher, N. H. and Mabry, T. J.: New pseudoguaianolides from *Ambrosia confertiflora* DC. (Compositae). *Tetrahedron*, **23**, 2529-2538 (1967)
- 28) 藤田真一・水川正勝・藤田安二: カンツバキおよびサザンカの精油. 農化, **51**, 253-258 (1977)
- 29) 藤田安二: 精油成分から見たカンアオイ属の分類と系統. *Bot. Mag. Tokyo*, **79**, 783-790 (1966)
- 30) Galensa, R. and Herrmann, K.: Analysis of flavonoids by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatog.*, **189**, 217-224 (1980)
- 31) Goertz, W. F.: *Reticulata* hybrids evaluated. *Camellia Review*, **35**, 13-14 (1974)
- 32) Hagen, C. W. Jr.: The differentiation of pigmentation in flower parts. II. Changes in pigments during development of buds in *Impatiens balsamina* genotype 11HHP<sup>r</sup> P<sup>r</sup>. *Amer. J. Bot.*, **53**, 54-60 (1966)
- 33) 荻屋 薫・石沢 進: ユキツバキに関する研究(第1報). 新潟県における野生および栽培ツバキの変異と分布について. 園学雑, **30**, 270-290 (1961)
- 34) 荻屋 薫・田中秀明: ツバキ属の類縁関係について. クロマトグラフィーによる比較. 園学要旨, **昭47秋**, 290-291 (1972)
- 35) 箱田直紀: 中国におけるツバキ原種考. ガーデンライフ, **1975(3)**, 20-22 (1985)
- 36) 箱田直紀・足立尚義: ツバキ属の原種. 西武舞鶴植物研報, **1**, 2-54 (1985)
- 37) Harborne, J. B.: The chromatographic identification of anthocyanin pigments. *J. Chromatog.*, **1**, 473-488 (1958)
- 38) Harborne, J. B.: The chromatography of the flavonoid pigments. *J. Chromatog.*, **2**, 581-604 (1959)
- 39) Harborne, J. B.: Plant polyphenols. I. Anthocyanin production in the cultivated potato. *Biochem. J.*, **74**, 262-269. (1960)
- 40) Harborne, J. B. and Sherratt, H. S. A.: Plant polyphenols. 3. Flavonoids in genotypes of *Primula sinensis*. *Biochem. J.*, **78**, 298-306 (1961)
- 41) Harborne, J. B.: Plant polyphenols IX. The glycosidic pattern of anthocyanin pigments. *Phytochemistry*, **2**, 85-97 (1963)
- 42) Harborne, J. B.: Flavonoids: Distribution and contribution to plant colour. in Goodwin, T. W. (ed.), *Chemistry and biochemistry of plant pigments*. p.247-278, Academic Press, London and New York (1965)
- 43) Harborne, J. B.: Comparative biochemistry of the flavonoids. p.64-73, Academic Press, London and New York (1967)
- 44) Hayashi, K. and Abe, Y.: Studien über Anthocyane. XXIII. Papierchromatographische Übersicht der Anthocyane im Pflanzenreich. I. *Misc. Repts. Research Inst. Nat. Resources*, **29**, 1-8 (1953)
- 45) Hess, D.: Die Beteiligung von Ribonucleinsäure and der Gen-Gesteuerten Induktion der Anthocyanthese. *Planta*, **61**, 73-89 (1964)
- 46) 細木高志・浜田守彦・稲葉久仁雄: ボタン花弁色素に基づく品種分類. 園学要旨, **昭60秋**, 304-305 (1985)
- 47) 堀田 満: 植物の進化生物学. III. 植物の分布と分化. p.1-400, 三省堂 (1974)
- 48) Hu, H.: New species and varieties of *Camellia* and *Theopsis* of China. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, **10**, 131-142 (1965)
- 49) 石沢 進・荻屋 薫: ツバキ品種の成立におけるユキツバキとヤブツバキの役割(第1報). ユキツバキとヤブツバキの中間型の分布変異. 育雑, **14**, 57 (1964)
- 50) 小林泰生: ツツジ類の花色に関する研究(第1報). アザレア園芸品種の成立について. 福岡園試研報, **16**, 6-12 (1978)
- 51) 小林泰生: ツツジ類の花色に関する研究(第2報). クルメツツジの園芸品種の成立について. 福岡園試研報, **18**, 33-40 (1980)
- 52) 近藤勝彦: ツバキ属の交雑に関する細胞学的研究. 新花卉, **99**, 41-53 (1978)
- 53) Lawrence, W. J. C., Price, J. R., Robinson, G. M. and Robinson, R.: A survey of anthocyanins V. *Biochem. J.*, **32**, 1661-1667 (1938)
- 54) Lawrence, W. J. C., Price, J. R., Robinson, G. M. and Robinson, R.: The distribution of anthocyanins in flowers, fruits and leaves. *Phil. Trans. Roy. Soc.*, (B) **230** 149-178 (1939)
- 55) Lawrence, W. J. C. and Sturgess, V. C.: Studies on *Streptocarpus*. III. Genetics and chemistry of flower colour in the garden forms, species and hybrids. *Heredity*, **11**, 303-336 (1967)
- 56) Liang, S.: New species of *Camellia* from Guangxi, China. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, **17**, 95-96 (1979)
- 57) Lowry, J. B.: Anthocyanins of the Melastomataceae, Myrtaceae and some allied families. *Phytochemistry*, **15**, 513-516 (1976)
- 58) Lowry, J. B.: Floral anthocyanins of some Malesian *Hibiscus* species. *Phytochemistry*, **15**, 1395-1396 (1976)
- 59) 湊 正雄・井尻正二: 日本列島. p.1-209, 岩波書店 (1958)
- 60) 宮島郁夫・坂田祐介・有隅健一: Rhododendron 属植物の花色素変更に係る緒要因の解析. 園学要旨, **昭58秋**, 378-379 (1983)
- 61) 宮島郁夫・上本俊平・桑原一幸・有隅健一: サタツツジおよび霧島山系ツツジの花色素変異について. 園学要旨, **昭60秋**, 302-303 (1985)
- 62) Miyajima, I., Uemoto, S., Sakata, Y., Arisumi, K. and

- Toki, K.: Yellow pigment of *Camellia chrysantha* flowers. *J. Fac. Agr. Kyushu Univ.*, **29**, 257-266 (1985)
- 63) Momose, T., Inaba, A., Mukai, Y. and Watanabe, M.: Organic analysis. XXIII. Determination of blood sugar and urine sugar with 3,6-dinitrophthalic acid. *Talanta*, **4**, 33-37 (1957)
- 64) Momose, T. and Nakamura, M.: Organic analysis. XXIX. A new spraying agent for reducing sugars on paper chromatograms. *Talanta*, **10**, 115-116 (1963)
- 65) 永田忠博・酒井慎介: カメリア属植物中のサザンキンの分布. 茶技研, **67**, 1-4 (1985)
- 66) 長戸かおる: アイソザイム変異に基づく我が国のツバキ属植物の種間および種内関係. 育種, **29**, 49-58 (1979)
- 67) Nagato, K.: Origin and taxonomic position of wabisuke group in the genus *Camellia* based on the isozyme variation. *Japan. J. Breed.*, **32**, 79-85 (1982)
- 68) 中尾佐助・山下孝介: 植物個体群の変異について. 駒井・酒井共編, 集団遺伝学. p.245-259, 倍風館 (1956)
- 69) Parks, C. R.: Floral pigmentation studies in the genus *Gossypium*. I. Species specific pigmentation patterns. *Amer. J. Bot.*, **52**(3), 309-316 (1965)
- 70) Parks, C. R., Griffith, A. Jr. and Montgomery, K. R.: A possible origin of anthocyanin (red) pigmentation in the flowers of *Camellia sasanqua*. *Amer. Camellia Yearbook*, **1968**, 229-242 (1968)
- 71) Parks, C. R. and Case, K. F.: Chromatographic evidence for the genetic contamination of *Camellia saluenensis* in cultivation. *Amer. Camellia Yearbook*, **1970**, 125-134 (1970)
- 72) Parks, C. R. and Kondo, K.: Breeding studies in the genus *Camellia* (Theaceae). I. A chemotaxonomic analysis of synthetic hybrids and back crosses involving *Camellia japonica* and *C. saluenensis*. *Brittonia*, **26**, 321-332 (1974)
- 73) Parks, C.R., Kondo, K. and Swain, T.: Phytochemical evidence for the genetic contamination of *Camellia sasanqua* Thunberg. *Japan. J. Breed.*, **31**(2), 168-182 (1981)
- 74) Peckett, R.C.: Development of anthocyanin pigmentation in flowers of *Lathyrus odoratus*. *J. Exp. Bot.*, **17**, 177-184 (1966)
- 75) Roberts, E. A. H., Wight, W. and Wood, D. J.: Paper chromatography as an aid to the taxonomy of *Thea camellias*. *New Phytol.*, **57**, 211-225 (1957)
- 76) Robinson, G. M. and Robinson, R.: A survey of anthocyanins. I. *Biochem. J.*, **25**, 1687-1705 (1931)
- 77) Robinson, G. M. and Robinson, R.: A survey of anthocyanins. IV. *Biochem. J.*, **28**, 1712-1720 (1934)
- 78) 斎藤 清: 花の育種. p.1-407, 誠文堂新光社 (1969)
- 79) 坂田祐介・上本俊平: スイートピーの花色に関する研究 (第1報). 春咲種のアントシアニン色素生成について. 園学雑誌, **45**, 181-186 (1976)
- 80) 坂田祐介・有隅健一: スイートピーの花色に関する研究 (第4報). 蕾の発育に伴う色素生成について. 園学要旨, 昭52秋, 372-373 (1977)
- 81) 坂田祐介・永吉実孝・有隅健一: ツバキ属植物の花色素に関する研究. I. 長崎県平戸市におけるヤブツバキ, サザンカおよびハルサザンカのアントシアニン色素について. 鹿大農学術報告, No.30, 35-40 (1980)
- 82) Sakata, Y., Nagayoshi, S. and Arisumi, K.: Studies on the flower colours in the *Camellia*. II. On the anthocyanin constitution in the cultivars of *C. japonica*, *C. japonica* subsp. *rusticana*, *C. sasanqua*, *C. hiemalis*, *C. vernalis* and *C. wabisuke*. *Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ.*, **17**, 79-94 (1981)
- 83) Sakata, Y. and Arisumi, K.: Studies on the flower colours in the *Camellia*. On the anthocyanin constitution in *C. reticulata*, *C. saluenensis*, *C. pūardū*, *C. hongkongensis*, *C. rosaeflora* and *C. maliflora*, and in the cultivars derived from interspecific hybridization. *Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ.*, **21**, 149-156 (1985)
- 84) Sakata, Y., Arisumi, K. and Miyajima, I.: Cyanidin 3-galactoside, a new anthocyanin from *Camellia japonica* subsp. *rusticana* (Honda) Kitamura and its occurrence in the garden forms of *Camellia* of Japanese origin. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **55**(1), 82-88 (1986)
- 85) Sakata, Y., Arisumi, K. and Miyajima, I.: Constitution of anthocyanins in flowers of the wild forms of Section *Camellia* of Japanese and Formosan origin. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **56**(2), 208-214 (1987)
- 86) Saleh, N. A. M. and Ishak, M. S.: Anthocyanins of some Leguminosae flowers and their effect on colour variation. *Phytochemistry*, **15**, 835-836 (1976)
- 87) Scott-Moncrieff, R.: A biochemical survey of some mendelian factors for flower colour. *J. Genet.*, **32**, 117-170 (1936)
- 88) Sealy, J. R.: A revision of the genus *Camellia*. p.1-239, Royal Hort. Soc., London (1958)
- 89) 白石眞一・渡部由香: ブドウ果実の着色に関する研究 (第1報). 巨峰品種群のアントシアニン組成. 園学要旨, 昭59秋, 90-91 (1984)
- 90) 白石眞一・渡部由香: ブドウ果実の着色に関する研究 (第2報). Steuben, Buffalo のアントシアニン組成. 園学要旨, 昭60春, 499 (1985)
- 91) Sin-Li, M. and Se-Zei, H.: Two new varieties of *Camellia chrysantha* from Kwaangsi. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, **17**, 88-92 (1979)
- 92) Smith, J. C.: Noteworthy plants *Camellia* × *williamsii*. *J. Royal Hort. Soc.*, **74**, 346-348 (1949)
- 93) Sondheimer, E. and Karash, C. B.: The major anthocyanin pigments of wild strawberry (*Fragaria vesca*). *Nature*, London **178**, 648-649 (1956)
- 94) Statham, C. M. and Crowden, R. K.: Anthocyanin biosynthesis in *Pisum*. Sequence studies in pigment production. *Phytochemistry*, **13**, 1835-1840 (1974)
- 95) Stewart, R., Asen, S., Massie, D.R. and Norris, K.H.: The identification of *Poinsettia* cultivars by HPLC analysis of their anthocyanin content. *Biochem. System. Ecol.*, **7**, 281-287 (1979)
- 96) Stewart, R., Asen, S., Massie, D.R. and Norris, K.H.: The identification of *Poinsettia* cultivars by HPLC analysis of their flavonol content. *Biochem. System. Ecol.*, **8**, 119-125 (1980)
- 97) Strack, D., Fuisting, K. and Popovici, G.: High-performance liquid chromatographic analysis of oat

- (*Avena sativa*) flavone derivatives. *J. Chromatog.*, **176**, 270-273 (1979)
- 98) Strack, D., Akavia, N. and Reznik, H.: High performance liquid chromatographic identification of anthocyanins. *Z. Naturforsch.*, **35**(C), 533-538 (1980)
- 99) 田中秀明・萩屋薫: ツバキ属の類縁関係について。(第2報). ワビスケ, カンツバキ, ハルサザンカおよび種間雑種数品種に関する paper chromatography による考察. 園学要旨, 昭48春, 368-369 (1973)
- 100) 田中孝幸・上本俊平・箱田直紀: ハルサザンカの成立に関する研究(第3報). 染色体数によるハルサザンカ品種群の分類と成立過程について. 園学要旨, 昭55秋, 290-291 (1980)
- 101) 田中孝幸・上本俊平: ハルサザンカの成立に関する研究(第5報). 「凱旋」および「望郷」の実生群の染色体数と紅花サザンカの起源について. 園学要旨, 昭56秋, 264-265 (1981)
- 102) 立石新吉・萩屋薫: ヤブツバキ, ユキツバキおよびその中間型ツバキの葉の組織学的差異, 特にその分類学への応用. 植物研究雑誌, **45**, 53-64 (1970)
- 103) 土岐健次郎・上本俊平: キンギョソウの花色素に関する研究(第3報). 花の発達に伴う cyanidin 3-glucoside および 3-rutinoside の消長. 園学雑, **46**, 343-348 (1977)
- 104) 土岐健次郎・上本俊平: キンギョソウの花色素に関する研究. 花の発達に伴うアントシアニンおよびオーロンの消長. 南九大園学報, **13**, 89-94 (1977)
- 105) Turner, B. L.: Plant chemosystematics and phylogeny. *Pure & Applied Chemistry*, **14**, 189-213 (1967)
- 106) Turner, B. L.: Chemosystematics: Recent developments. *Taxon*, **18**, 134-151 (1969)
- 107) 津山 尚: ツバキ及びユキツバキに関する二・三の形態学的所見. 植物研究雑誌, **31**, 225-228 (1954)
- 108) 津山 尚: 雪椿について. 自然科学と博物館, **23**, 119-135 (1956)
- 109) 津山 尚: 我国の栽培ツバキについて. 日本植物園協会報, **1956**, 9-21 (1957)
- 110) Tuyama, T.: The wild camellias of the *japonica* group in Japan and their relationship to garden varieties. *Amer. Camellia Yearbook*, **1957**, 1-16 (1958)
- 111) 津山 尚: 野生ツバキの八重化する傾向について. 植物研究雑誌, **38**, 289-298 (1963)
- 112) 津山 尚: ユキツバキの子房室数および胚珠数が多い傾向について. 植物研究雑誌, **39**, 44 (1964)
- 113) 津山 尚: 浙江紅花油茶とツバキとの分類学的関係. 植物研究雑誌, **41**, 43-48 (1966)
- 114) 津山 尚・二口善雄: 日本椿集. p.1-468, 平凡社(1966)
- 115) Uemoto, S., Tanaka, T. and Fujieda, K.: Cytogenetic studies on the origin of *Camellia vernalis*. I. On the meiotic chromosomes in some related *Camellia* forms in Hirado Island. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **48**, 475-482 (1980)
- 116) 上本俊平: ツバキ属植物の分布と分化. ガーデンライフ, **1985**(3), 15-17 (1985)
- 117) Uemoto, S. and Caddell, G. M.: The distribution of wild *Camellia japonica* in Japan and South Korea. *International Camellia J.*, **17**, 73-76 (1985)
- 118) Van Steenis, C. G. G. J.: Plant speciation in Malesia, with special reference to the theory of non-adaptive saltatory evolution. *Biol. J. Linn. Soc.*, **1**, 97-133 (1969)
- 119) von Rudloff, E., Irving, R. and Turner, B. L.: Reevaluation of allopatric introgression between *Juniperus ashei* and *J. virginiana* using gas chromatography. *Amer. J. Bot.*, **54**, 660 (1967)
- 120) Wendel, J. F. and Parks, C. R.: Application of electrophoresis of taxonomic and breeding problems in camellias. *Camellia J.*, **34**, 39-41 (1979)
- 121) Wendel, J. F. and Parks, C. R.: Genetic control of isozyme variation in *Camellia japonica* L. (Theaceae). *J. Hered.*, **73**, 197-204 (1982)
- 122) Wendel, J. F. and Parks, C. R.: Cultivar identification in *Camellia japonica* L. using allozyme polymorphism. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **108**(2), 290-295 (1983)
- 123) Wendel, J. F. and Parks, C. R.: Genetic diversity and population structure in *Camellia japonica* L. (Theaceae). *Amer. J. Bot.*, **72**, 52-65 (1985)
- 124) Wilkinson, M. M., Sweeny, J. G. and Iacobucci, G. A.: High-pressure liquid chromatography of anthocyanidins. *J. Chromatog.*, **132**, 349-351 (1977)
- 125) Williams, M., Hrazdina, G., Wilkinson, M. M., Sweeny, J. G. and Iacobucci, G. A.: High-pressure liquid chromatographic separation of 3-glucoside, 3,5-diglucosides, 3-(6-O-*p*-coumaryl) glucoside and 3-(6-O-*p*-coumarylglucoside)-5-glucoside of anthocyanidins. *J. Chromatog.*, **155**, 389-398 (1978)
- 126) Wulf L. W. and Nagel, C. W.: Analysis of phenolic acids and flavonoids by high pressure liquid chromatography. *J. Chromatog.*, **166**, 271-279 (1976)
- 127) 安江政一・板谷元一・見谷トヨ・和田 章: ネジキ *Lyonia ovalifolia* Sieb. Zucc. var. *elliptica* Hond. Maz. の産地による相違と isoengelith の単離について. 薬学雑誌, **85**, 1090-1092 (1965)
- 128) 安間茂樹: 琉球列島—生物にみる成立の謎. p.1-208, 東海大学出版会(1982)
- 129) Yokoi, M.: Colour and pigment distribution in the cultivars of selected ornamental plants, with special reference to their contribution to the ornamental value of plant. *Transaction Fac. Hort. Chiba Univ.*, **14**, 1-65 (1975)
- 130) 横井政人・山地美奈子・斉藤規夫: ツバキ属植物に存在するアントシアニン色素 (Dp. 3-gulcoside と Cy. 3-*p*-coumarylglucoside) の同定. 園学要旨, 昭60春, 300-301 (1985)
- 131) 吉川和男: ツバキの種間雑種. 早咲品種育成の試み. 京都園芸, **81**, 21-24 (1982)

### Summary

The present investigations were carried out to obtain some detailed figures concerning the phylogenies of the genus *Camellia*, using anthocyanins in petals as chemical markers. The results obtained are as follows:

#### 1. On the establishment of the pigment-analysis-methods and some characteristics of anthocyanins found in the flowers of the genus *Camellia*.

Fourteen anthocyanin-spots, spot 1 to spot 14, were distinguished obviously on a two-dimensional thin layer chromatogram (TLC-plate), using the following solvent systems: n-BAW (II) (n-butanol/acetic acid/water, 1/2/7 by vol.) for the first development and n-BAW (I) (n-butanol/acetic acid/water, 4/1/5 by vol., upper layer) for the second. Of these pigment spots, nine spots (1~9) were the lower-Rf pigments (monoglycosides) characteristically distributed in the species of Japanese origin, *i.e.* *C. japonica*, *C. japonica* ssp. *rusticana* and *C. sasanqua*; and five spots (10~14) were the higher-Rf pigments (mono-diglycosides or di-monoglycosides) distributed in the species of Chinese origin, *i.e.* *C. saluenensis* and *C. reticulata*.

Of these anthocyanins, spots 1, 2, 5 and 6 detected in the flowers of *C. hiemalis* were identical with cyanidin 3-glucoside, delphinidin 3-(*p*-coumaryl) glucoside, cyanidin 3-(*p*-coumaryl) glucoside and delphinidin 3-glucoside, respectively. Furthermore, as a result of the characterization of spot 1 detected by high performance liquid chromatography (HPLC) in the flowers of wild *C. japonica* ssp. *rusticana*, it was identified to be a mixture of cyanidin 3-glucoside and cyanidin 3-galactoside. This was the first case that an occurrence of 3-galactoside of cyanidin was detected in the genus *Camellia*.

The constitution and accumulation of anthocyanins in the boiled and air-dried petals were quite similar to those in the fresh or lyophilized ones. Almost identical situations were found in petals of flowers from six days before anthesis to the period of fully opened ones, suggesting that the anthocyanin-accumulation in petals reached maximum at a relatively earlier stage of flower-bud-development.

#### 2. On the constitution and accumulation of anthocyanins in the garden-camellia-flowers.

In the fourteen anthocyanin-spots on TLC-plates, the group with the lower-Rf pigments contained cultivars of *C. japonica*, *C. japonica* ssp. *rusticana*, *C. sasanqua*, *C. hiemalis* and *C. vernalis*, while the group with the higher-Rf pigments contained *C. reticulata*. Contrasting to these, *C. wabiusuke* contained cultivars with pigments of lower-Rf values as well as with those of higher-Rf ones.

The major pigment in *C. japonica* and *C. japonica* ssp. *rusticana* was spot 1, and the variation-extent in the anthocyanin constitution and accumulation of the former species was far more prominent than that of the latter, whereas the major pigment in *C. sasanqua* and *C. hiemalis* was spot 5, moreover both of them contained spots 2 and 6 of delphinidin-series. Concerning the anthocyanin constitution and accumulation, *C. vernalis* contained cultivars with various variation-extents, *i.e.*, the extent varying from cultivars containing mainly spot 1 to those predominated by spot 5, and this fact substantiated the hybrid origin of this species, occurring between *C. japonica* and *C. sasanqua*.

The major pigments in *C. reticulata* were spots 11 and 13, and a comparatively wide variation-extent was noted, *i.e.*, the extent varying from cultivars containing mainly spot 11 to those predominated by spot 13, in their accumulations.

Within spot 1 the amounts of cyanidin 3-galactoside detected by HPLC in *C. japonica*, *C. japonica* ssp. *rusticana*, *C. sasanqua* and *C. vernalis* were fixed to be 12, 40, 1 and 7% of the

total anthocyanins, respectively, with the confirmed indication that the occurrence of relatively large amounts of this pigment is specific to *C. japonica* ssp. *rusticana*.

In short, the occurrence-manners of pigments, i.e., lower- and higher-Rf values, highly hydroxylated delphinidin-series and the peculiar cyanidin 3-galactoside in *Camellia* cultivars, and the variations of cultivars based on the amount of these pigments; were differed, respectively, as shown in the above descriptions. Hence the assumption that anthocyanin pigments may aid us in classifying the cultivars, using the pigments as chemical markers, making more positive classification of camellias possible.

As for the modes of pigment-inheritance in the garden hybrids derived from the inter-specific crosses, in the species of *C. japonica*, *C. sasanqua*, *C. reticulata* and *C. saluenensis*, a considerable regularity was found. Namely, although the dominance was not complete, in the crosses between the lower- and the higher-Rf groups, the production of higher-Rf pigments was dominant to that of lower-Rf pigments, and in the crosses between the higher-Rf groups, the production of *saluenensis*-specific spots, 10 and 12, was dominant to that of *reticulata*-specific spots, 11 and 13.

### 3. On the constitution and accumulation of anthocyanins in the wild-forms of the Section *Camellia*.

Among the species of Chinese origin, the group with higher-Rf pigments contained *C. reticulata*, *C. saluenensis* and *C. pitardii* and the group with lower-Rf pigments contained *C. semiserrata*, *C. chekiangoleosa* and *C. hongkongensis*. On the other hand, *C. polyodonta*, together with the main lower-Rf pigments, contained 4% of *saluenensis*-specific higher-Rf pigments.

Among the pigments of higher-Rf values, major anthocyanins were spots 11 and 13 in *C. reticulata* and spots 10 and 12 in *C. saluenensis*. A somewhat different constitution of pigments were shown by two varieties of *C. pitardii*, i.e., var. *pitardii* and var. *yunnanica*. The former contained *saluenensis*-specific spots, 10 and 12, and the latter contained *reticulata*-specific spots, 11 and 13.

Among the pigments of lower-Rf values, major anthocyanins were spot 1 in *C. polyodonta*, *C. semiserrata* and *C. chekiangoleosa* and spot 5 in *C. hongkongensis*. Especially, *C. chekiangoleosa* contained 100% of spot 1, of the total amounts of anthocyanins, and moreover, this species contained nearly equal amounts of cyanidin 3-galactoside and cyanidin 3-glucoside, within spot 1. *C. semiserrata* contained quite small amount of cyanidin 3-galactoside, within spot 1, and *C. hongkongensis* contained *sasanqua*-specific spots, 2 and 6 of delphinidin-series.

All the species of the *japonica*-groups i.e., *C. japonica*, *C. japonica* ssp. *rusticana*, *C. japonica* ssp. *hozanensis* and *C. japonica* f. *macrocarpa*; contained lower-Rf pigments, with major anthocyanin being spot 1. Especially, *C. japonica* ssp. *rusticana* and Formosan *C. japonica* ssp. *hozanensis* contained 100% of spot 1, of the total amounts of anthocyanins, and in addition, these subspecies contained nearly equal amounts of cyanidin 3-galactoside and cyanidin 3-glucoside, within spot 1.

In conclusion, the anthocyanin constitution and accumulation in *Camellia* were revealed to be an effective means for chemical taxonomy, especially in such complicated ones as *C. vernallis*, *C. wabisuke*, *C. pitardii*, Formosan *C. japonica* ssp. *hozanensis*, etc.

Moreover, the anthocyanin constitution differed in accordance with the distribution of the species. The species from the localities in and around Yunnan and Szechuan showed anthocyanins chemically more complex than those in other Chinese and Japanese species. This is of some interests, because the centre of the origin of *Camellia* species has been considered

to lie in south-western China. If this were the case, it would happen that, as the species extended north-eastern wards from the centre of the origin, the anthocyanins were made to be simpler chemically, with the genes governing their production-process changed recessively, as compared with those governing the production of the more complex anthocyanins found in the species occurring near the presumed centre of the origin.

Based on these findings, the species may reasonably be arranged in the following three major phylogenetic sequences, namely: 1) from *C. saluenensis* through *C. pitardii* var. *yunnanica* to *C. reticulata*, 2) from *C. saluenensis* through *C. pitardii* var. *pitardii* to *C. polyodonta* and 3) from *C. polyodonta* through *C. semiserrata* and *C. chekiangoleosa* to the groups of *C. japonica*.











Appendix 1. (Continued)

Cultivars	Total anthocyanin <sup>*1</sup>	Constituent anthocyanins (%) <sup>*2</sup>										Ga : G <sup>*3</sup> within spot 1	
		1	3&4	5	2&6	7-9	10	11	12	13	14		
Egao-kurenai	0.18	42	8	50	—	—	—	—	—	—	—	—	26 : 74
Kotohira-kô	0.35	40	10	50	—	—	—	—	—	—	—	—	10 : 90
Shokkônishiki	0.34	46	5	49	—	—	—	—	—	—	—	—	9 : 91
Kokinran	0.03	35	21	44	—	—	—	—	—	—	—	—	14 : 86
Bôkyo	0.38	40	14	39	7	—	—	—	—	—	—	—	13 : 87
Sandanka	0.38	48	13	39	—	—	—	—	—	—	—	—	23 : 77
Ryukô	0.31	55	5	36	—	4	—	—	—	—	—	—	+ : 100
Yûgen	0.51	56	9	35	—	2	—	—	—	—	—	—	11 : 89
Sayohime	0.20	50	17	33	—	—	—	—	—	—	—	—	18 : 82
Hoshihiryu	0.31	60	11	29	+	—	—	—	—	—	—	—	25 : 75
Karagoromo	0.28	69	8	23	—	—	—	—	—	—	—	—	17 : 83
Kamakura-shibori	0.26	64	16	20	—	—	—	—	—	—	—	—	13 : 87
<i>C. reticulata</i>													
Moutancha	0.05	—	—	—	—	—	—	12	—	88	—	—	18 : 82
Mouchang	0.05	—	—	—	—	—	—	15	—	85	—	—	19 : 81
Early Peony	0.05	—	—	—	—	—	3	9	3	85	—	—	49 : 51
Butterfly Wings	0.08	+	+	3	—	—	1	15	1	80	—	—	21 : 79
open-pollinated (1)	0.12	1	—	—	—	—	11	12	2	74	—	—	19 : 81
Three Dreams	—	+	—	—	—	—	—	20	9	72	—	—	20 : 80
Lion Head	0.31	1	—	+	—	—	11	12	4	72	—	—	14 : 86
Arch of Triumph	0.31	+	—	—	—	—	4	20	5	71	—	—	15 : 85
Tom Durrant	0.05	1	+	—	—	—	1	29	1	69	—	—	43 : 57
Janet Clark	0.38	1	+	—	—	—	5	22	6	66	—	—	17 : 83
Wild Silk	0.05	7	—	+	—	—	7	12	11	63	—	—	17 : 83
open-pollinated (2)	0.12	—	—	—	—	—	13	19	5	62	—	—	21 : 79
Buddha	0.23	1	—	—	—	—	10	16	11	62	—	—	30 : 70
Ellie Rubensohn	0.15	2	—	—	—	—	7	31	7	53	—	—	21 : 79
Reti. Leaf S. Pink	0.11	—	—	—	—	—	6	40	5	49	—	—	14 : 86
Ming's Temple	0.12	1	—	—	—	—	13	24	13	49	—	—	14 : 86
Crimson King	0.31	1	—	2	—	—	8	30	11	48	—	—	28 : 72
Kohinor	0.15	1	—	2	—	—	—	45	5	47	—	—	13 : 87
Captain Rawes	0.20	1	2	2	—	—	6	37	7	45	—	—	16 : 84
Red China	—	11	—	—	—	—	—	43	6	40	—	—	14 : 86
Noble Pearl	0.31	1	—	—	—	—	3	57	11	38	—	—	20 : 80
Eden Roc	0.08	1	—	+	—	—	10	34	17	38	—	—	42 : 57
Crimson Robe	0.31	5	—	3	—	—	7	46	3	36	—	—	23 : 77
William Hertrich	0.46	—	—	—	—	—	5	59	1	35	—	—	21 : 79
Confucious	0.05	+	—	11	—	—	3	22	30	34	—	—	31 : 69
Chang's Temple	0.54	3	—	+	—	—	13	44	8	32	—	—	10 : 90
Wild Form	0.11	10	2	2	—	—	—	57	—	29	—	—	12 : 88
Red Emperor	0.31	1	—	1	—	—	10	54	6	28	—	—	—
open-pollinated (3)	0.18	—	—	—	—	—	30	42	+	28	—	—	12 : 88
Cornelian	0.20	+	—	—	—	—	9	57	9	25	—	—	20 : 80

Appendix 1. (Continued)												Ga : G <sup>*3</sup> within spot 1
Cultivars	Total <sup>*1</sup> antho- cyanin	Constituent anthocyanins (%) <sup>*2</sup>										
		1	3&4	5	2&6	7-9	10	11	12	13	14	
Pagoda	0.46	6	—	—	—	—	17	48	7	22	—	14 : 86
Lila Naff	0.03	33	—	14	—	—	10	1	30	12	—	46 : 54
Chrysanthemum Petal	0.05	3	—	—	—	—	5	86	3	3	—	45 : 55
Samantha	—	41	—	—	—	—	+	—	59	—	—	45 : 55
Shot Silk	0.11	1	15	14	—	—	10	8	52	—	—	29 : 71
<i>C. wabisuke</i>												
Kocho-wabisuke	0.10	76	16	8	—	—	—	—	—	—	—	17 : 83
Beni-wabisuke	0.07	34	23	43	—	—	—	—	—	—	—	29 : 71
Sukiya	0.04	—	—	+	—	—	29	—	71	—	—	—
Showa-wabisuke	0.04	8	—	—	—	—	30	—	62	—	—	31 : 69
Tarôkaja	0.04	11	—	+	—	—	39	—	50	—	—	33 : 67
Seiôbo	0.03	26	20	31	—	—	3	6	14	+	—	17 : 83
Hina-wabisuke	0.10	15	—	76	—	—	1	7	1	—	—	15 : 85
Shibenashi-wabisuke	0.12	9	—	9	—	—	14	12	45	11	—	21 : 79
Kanzakiaka-wabisuke	0.04	62	—	11	—	—	—	19	—	8	—	15 : 85

\*1 mg of anthocyanins / 100mg of petal dry-weight.

\*2 Numbers used correspond to the spot-numbers represented in Fig. 4.

\*3 Ga : cyanidin 3-galactoside, G : cyanidin 3-glucoside.

Appendix 2. Constitution of anthocyanins in the camellia cultivars of hybrid origin

Cultivars	Total <sup>*1</sup> antho- cyanin	Constituent anthocyanins (%) <sup>*2</sup>										
		1	3&4	5	2&6	7-9	10	11	12	13	14	
<i>C. saluenensis</i> × <i>japonica</i>												
November Pink	0.29	+	—	+	—	—	—	—	—	100	—	—
synthetic (1)	0.23	—	—	—	—	—	—	14	—	86	—	—
Debbie	0.15	+	—	10	—	—	—	20	+	70	—	—
Daintiness	0.40	24	—	8	—	—	—	7	—	61	—	—
Galaxie	0.05	5	9	9	—	—	—	22	—	55	—	—
E. G. Waterhouse	0.05	12	—	22	—	—	—	11	—	55	—	—
Lady Gowrie	0.11	12	—	7	—	—	—	29	—	52	—	—
Mary F. Taylor	0.03	19	—	5	—	—	—	24	—	52	—	—
Lady Cutler	0.52	24	6	9	—	—	—	12	—	49	—	—
Donation	0.08	3	—	6	—	—	—	44	—	47	—	—
Taylor's Perfection	0.09	38	—	+	—	—	—	18	—	42	—	—
Asahi	0.05	16	11	14	—	—	—	17	—	42	—	—
Anticipation	0.05	23	—	17	—	—	—	23	—	37	—	—
synthetic (2)	0.23	12	14	37	—	—	—	—	—	37	—	—
Bowen Briyant	0.08	12	—	18	—	—	—	34	—	36	—	—
Brigadoon	0.11	16	—	6	—	—	—	45	—	33	—	—
J. C. Williams	0.11	28	—	28	—	—	—	13	—	31	—	—
Elegant Beauty	0.23	47	8	3	—	—	—	21	—	21	—	—
Margaret Waterhouse	0.03	15	—	41	—	—	—	26	—	18	—	—
Water Lily	0.05	54	—	7	—	—	—	22	—	17	—	—
synthetic (3)	0.09	45	—	—	—	—	—	55	—	+	—	—
<i>C. reticulata</i> × <i>japonica</i>												
Pink Sparkle	0.20	—	—	—	—	—	—	—	39	—	61	—
Descanso Mist	0.15	5	—	—	—	—	—	—	34	—	61	—

Appendix 2. (Continued)

Cultivars	Total <sup>*1</sup> antho- cyanin	Constituent anthocyanins (%) <sup>*2</sup>									
		1	3&4	5	2&6	7-9	10	11	12	13	14
John Taylor	0.38	1	—	+	—	—	16	21	4	58	—
Howard Asper	0.03	1	1	2	—	—	5	23	12	55	—
Bernadette Karsten	0.38	+	—	—	—	—	—	52	—	48	—
Arbutus Gum	0.12	1	—	+	—	—	6	46	5	42	—
Valentine Day	0.31	15	4	3	—	—	12	11	15	40	—
Otto Hopfer	0.23	18	3	3	—	—	6	34	5	29	—
Miss Tulare	0.85	26	—	4	—	—	4	20	12	34	—
Fortyniner	0.54	22	7	14	—	—	19	2	32	4	—
Milo Rowell	0.18	21	20	25	—	—	6	4	24	—	—
synthetic (1)	0.66	41	10	7	—	—	6	—	36	—	—
<i>C. japonica</i> × <i>reticulata</i>											
synthetic (1)	0.31	—	—	—	—	—	—	50	—	50	—
Dr. C. R. Parks	0.45	5	—	—	—	—	—	56	11	28	—
Fire Chief	0.62	26	—	—	—	—	19	30	10	15	—
Royalty	0.46	24	14	13	—	—	23	2	22	2	—
synthetic (2)	0.26	6	7	16	—	—	+	—	71	—	—
synthetic (3)	0.45	53	—	+	—	—	—	—	47	—	—
Diamond Head	0.28	88	4	8	—	—	—	—	—	—	—
<i>C. sasanqua</i> × <i>reticulata</i>											
Show Girl	0.12	1	—	—	—	—	6	16	3	74	—
synthetic (1)	0.97	6	—	—	—	—	21	17	+	56	—
synthetic (2)	0.42	53	—	+	—	—	+	+	+	47	—
synthetic (3)	0.28	10	—	+	—	—	10	18	22	40	—
Flower Girl	0.08	11	+	6	—	—	19	14	16	34	—
synthetic (4)	0.37	9	—	—	—	—	7	41	16	27	—
Dream Girl	0.08	23	7	3	—	—	3	35	5	24	—
Felice Harris	0.03	+	—	—	—	—	42	—	58	—	—
<i>C. saluenensis</i> × <i>reticulata</i>											
synthetic (1)	0.46	18	—	+	—	—	9	—	73	—	—
Phyl Doak	0.05	3	—	9	—	—	17	—	71	—	—
Salutation	0.03	9	—	—	—	—	22	—	69	—	—
Brian	0.12	+	—	1	—	—	35	3	61	—	—
Dr. Louis Pollizzi	0.05	7	—	16	—	—	17	—	60	—	—
Barbara Clark	0.08	10	—	16	—	—	26	—	48	—	—
Valley Knudsen	0.11	1	—	—	—	—	15	21	15	48	—
Francie L.	0.68	18	—	+	—	—	+	20	14	41	—

\*<sup>1</sup> mg of anthocyanins / 100mg of petal dry-weight.\*<sup>2</sup> Numbers used correspond to the spot-numbers represented in Fig. 4.

Appendix 3. Constitution of anthocyanins in the wild forms of Section <i>Camellia</i> of Chinese origin												
Species	Total* <sup>1</sup> antho- cyanin	Constituent anthocyanins (%) <sup>*2</sup>										Ga : G <sup>*3</sup> within spot 1
		1	3&4	5	2&6	7-9	10	11	12	13	14	
<i>C. saluenensis</i>												
(1)	0.05	—	—	—	—	—	29	+	71	+	—	—
(2)	0.12	1	—	+	—	—	34	+	65	+	—	—
(3)	0.05	+	—	+	—	—	40	+	60	+	—	—
<i>C. reticulata</i>												
Arch of Triumph	0.31	+	—	—	—	—	4	20	5	71	—	—
Tom Durrant	0.05	+	—	—	—	—	1	29	1	69	—	—
Wild Form	0.11	10	2	2	—	—	—	57	—	29	—	—
<i>C. pitardii</i>												
var. <i>pitardii</i>	0.02	+	—	—	—	—	33	—	67	—	—	—
var. <i>yunnanica</i>	0.07	+	—	—	—	—	3	25	5	67	—	—
<i>C. polyodonta</i>												
(1)	—	61	10	19	—	—	10	—	+	—	—	7 : 93
(2)	—	60	9	23	—	—	8	—	+	—	—	7 : 93
(3)	—	59	11	24	—	—	6	—	+	—	—	2 : 98
(4)	—	29	14	45	—	—	12	—	+	—	—	+
(5)	—	73	11	16	—	—	—	—	—	—	—	16 : 84
(6)	—	61	20	19	—	—	—	—	—	—	—	25 : 75
(7)	—	56	27	17	—	—	—	—	—	—	—	27 : 73
(8)	—	54	27	19	—	—	—	—	—	—	—	30 : 70
(9)	—	51	24	25	—	—	—	—	—	—	—	14 : 86
<i>C. semiserrata</i>												
(1)	—	85	2	13	—	—	—	—	—	—	—	+
(2)	—	83	4	13	—	—	—	—	—	—	—	+
(3)	—	80	4	16	—	—	—	—	—	—	—	+
(4)	—	79	4	17	—	—	—	—	—	—	—	+
(5)	—	77	6	17	—	—	—	—	—	—	—	+
(6)	—	68	7	25	—	—	—	—	—	—	—	+
(7)	—	68	8	24	—	—	—	—	—	—	—	+
(8)	—	62	8	30	—	—	—	—	—	—	—	+
(9)	—	61	1	38	—	—	—	—	—	—	—	+
(10)	—	60	7	33	—	—	—	—	—	—	—	+
(11)	—	55	14	31	—	—	—	—	—	—	—	+
<i>C. chekiangoleosa</i>												
(1)	—	100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	48 : 52
(2)	—	100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	23 : 77
(3)	—	100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	13 : 87
(4)	—	97	—	3	—	—	—	—	—	—	—	64 : 36
(5)	—	90	9	1	—	—	—	—	—	—	—	61 : 39
<i>C. hongkongensis</i>												
(1)	—	16	13	66	5	—	—	—	—	—	—	5 : 95
(2)	—	9	25	60	6	—	—	—	—	—	—	+
(3)	—	8	25	58	9	—	—	—	—	—	—	+
(4)	—	13	20	55	12	—	—	—	—	—	—	+
(5)	—	24	18	39	19	—	—	—	—	—	—	3 : 97

\*<sup>1</sup> mg of anthocyanins / 100mg of petal dry-weight.

\*<sup>2</sup> Numbers used correspond to the spot-numbers represented in Fig. 4.

\*<sup>3</sup> Ga : cyanidin 3-galactoside, G : cyanidin 3-glucoside.