

## ツバキ属植物の花色素に関する研究

### I. 長崎県平戸市周辺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

坂田祐介・永吉実孝・有隅健一

(観賞園芸学研究室)

昭和54年8月20日 受理

## Studies on the Flower Colours in *Camellia*

### I. On the Anthocyanin Constitution in *C. japonica*, *C. sasanqua* and *C. vernalis* Surrounding Hirado

Yūsuke SAKATA, Sanetaka NAGAYOSHI and Ken-ichi ARISUMI

(Laboratory of Ornamental Horticulture and Floriculture)

## 緒 言

長崎県平戸市（北緯33度20分，東経129度30分）は照葉樹林帯に位置し，旧藩時代の分散式城下を形成していた市街地は，明治維新以後急速な潰廃をたどりながら今日にいたっているが，なお40パーセント程度の旧態を残しているといわれる<sup>1)</sup>．したがって，400年以上にわたって城下町に散在する武家屋敷のツバキ属植物が，現在まで温存されてきた特殊な地域といえる．

平戸におけるツバキ属植物について，熊沢および小田<sup>2)</sup>は自生のヤブツバキならびに原産のサザンカとハルサザンカの個体（品種）群の分化と成立について報告している．それによると，平戸原産のハルサザンカは野生のサザンカとヤブツバキの自然交雑によってこの地に成立し，さらにこれらハルサザンカの自然実生から原産の紅花サザンカが生じたという．

一方，上本ら<sup>3)</sup>は平戸のツバキ属植物の細胞遺伝学的研究で，ハルサザンカにサザンカとヤブツバキとの一次雑種および二次雑種が存在することを確認し，前述の推定が正しいことを示唆した．

いずれにせよ平戸市は，ツバキ属植物の種の分化に関してきわめて特異的な地域である．本研究は平戸市周辺におけるこれらの花色素，とくにアントシアニン色素の分布に注目して，平戸のツバキ属植物の分化と成立に関する知見を得ようとして行なったものである．

## 材料および方法

平戸市周辺に自生する多くのヤブツバキ，サザンカおよびハルサザンカのなかから，それぞれ39，12および8個体の花卉を採集した．採集地点（Fig. 1）は平戸市北部の旧市街地域（大久保，岩ノ上，戸石川，鏡川，新町）と平戸市対岸（平戸口）で，平戸に成立したとされるヤブツバキ，サザンカおよびハルサザンカの原木が発見された地域である．

まず，新鮮花卉を沸とう水中に10～15秒間浸し，花卉の褐変化に関与する酵素類を不活性化した後，風乾した．つぎに乾燥花卉粉末 100 mg を 5 ml の塩酸酸性メタノールで4～5時間冷浸し色素を抽出後，通風下で溶媒を留去し粗抽出物を得た．ついでこのものに蒸留水4～5滴を加え水溶液とし，石油エーテルおよびエチルアセテート 5 ml で各々3回ずつ洗浄してクロマトグラフィーに供した．

クロマトグラフィーは二次元展開のTLC法（微結晶セルロース，20×20 cm，Merck社製）を採用した．展開溶媒は一次元にn-ブタノール：酢酸：水（1：2：7），二次元にn-ブタノール：酢酸：水（4：1：5，上層）を使用した．

つぎに，得られたクロマトグラムを島津二波長クロマトスキャナCS-900型に波長： $\lambda_s=530$  nm， $\lambda_R=700$  nm，光束：1.25×1.25 mm，モード：透過ジグザグスキャン法<sup>4)</sup>の諸条件でかけ，各アントシアニン色素の相対的な面積比から色素の量的比率（百分率）を算出

本研究の一部については文部省科学研究費（236004 および 466013）の助成を受けた．



Fig. 1. Map of Hirado showing the areas where *Camellia* were collected. Code numbers used in this figure show the collected places.

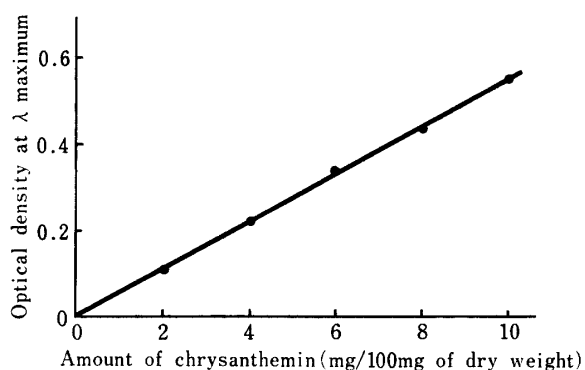


Fig. 2. Calibration curve of anthocyanin.

した。また粗抽出物を0.05%塩酸酸性メタノールで定量的に希釈後、島津二波長分光光度計 UV-200 型で 535 nm の極大吸収値 (optical density) を測定し、この値を標品のクリサンテミン (cyanidin 3-monoglucoside) から得られた検量線 (Fig. 2) に従って換算し、乾燥花弁 100 mg あたりの総色素量 (mg) を得た。

#### 結果および考察

ヤブツバキ、サザンカおよびハルサザンカ個体群から合計 9 個のアントシアニン色素 (色素 1~9) が検出された (Fig. 3)。このうち色素 1 は既知のアントシアニン色素とのコ・クロマトグラフィーの結果、クリサンテミンと推定された。その他の色素はまだ同定していないが、可視ならびに紫外光線下の色調から色素 3, 4, 5, 7, 8, 9 はシアニジンの誘導体で、かつ糖の結合位は 3 位にあると思われた。また色素 2, 6 は色調が多少紫味を帯びることから、横井<sup>4,5)</sup> の指摘するデルフィニジン配糖体の可能性も考えられる。

つぎに、それぞれの個体群の色素の量的比率と総色素量を Table 1 に示した。

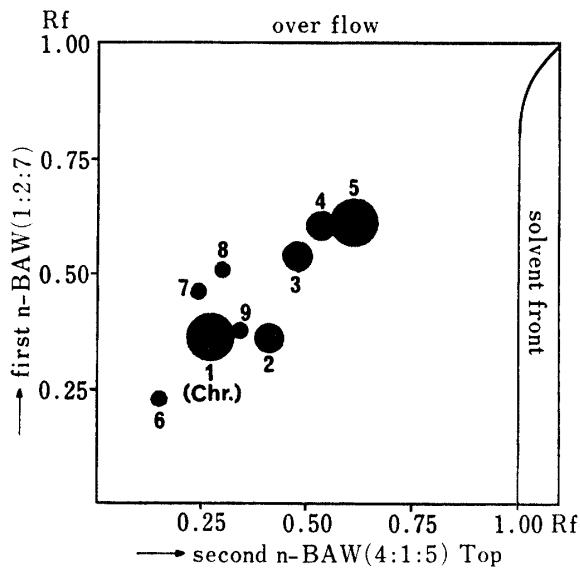


Fig. 3. Schematic representation of pigment-spots appeared on chromatograms in the anthocyanins of *Camellia* in Hirado.  
Chr.: chrysanthemin

色素組成は、ヤブツバキ個体群は色素1, 4, 5の主要色素と、色素3, 7, 8, 9の微量色素からなり、色素2, 6はまったく見出せなかった。これに対し、サザンカ個体群は色素1, 3, 4, 5に加え、色素2（出現率50%）および色素6（出現率82%）からなり、色素7, 8, 9を持つ個体がきわめて少なかった。すなわち、色素7, 8, 9はヤブツバキに、また色素2, 6はサザンカにそれぞれ独自に出現する色素といえることができる。また、ハルサザンカ個体群はおおよそ色素1, 3, 4, 5からなる集団といえそうである。

ところで、個々の色素の量的比率は、どの個体群も色素1と色素5の両者の総色素量に占める割合（60～100%）が他色素に比べて圧倒的に大きかった。

まずヤブツバキ個体群は、色素1が90%以上を占める個体（cv. 1, cv. 2, 平戸大薮）から30%以下の個体（cv. 37）までの変異があった。しかし、色素1が総色素量の約70%以上を占める個体が全体の8割以上に及んでおり、この点からヤブツバキは色素1を主体とする個体群といえる（Table 1, Fig. 4）。なお、色素3と4とでは後者をより多く含んでいた。これに対し、サザンカ個体群は2個体（cv. 38, 飛鷲）を除いて色素5が色素1より優位を占めること、および色素3と4とでは前者を多く含むことで、ヤブツバキ個体群と趣きを異にしていた。サザンカはパラカメリア節に分類され、形態的（子房、葉柄有毛）にも染色体数（ $2n=90$ ）のうえでもヤブツバキと異なるが、ヤブツバキは色素1またサザンカは色素5をそれぞれ主体

とする点で、色素的にもたがいに異なっていることがわかった。

一方、サザンカとヤブツバキの雑種とされるハルサザンカ個体群の色素の量的比率は、色素1および5がそれぞれ21～57%および29～64%で、変異の幅はヤブツバキおよびサザンカ個体群のそれに比べいずれも小さく、かつ両個体群のほぼ中間的な値を示した（Table 1, Fig. 4）。また、色素3と4とをほとんど伯仲して含む点でも両個体群の中間的存在であった。これらのことは平戸のハルサザンカが、サザンカとヤブツバキの間の雑種起源であることを色素的にも裏付けるものであるが、細かく見るとさらに次のような点も注目される。すなわち、平戸原産のハルサザンカには3倍体（幽玄、佐用媛）、4倍体（星姫、望郷、凱旋）および5倍体（cv. 45）が見出されているが<sup>3)</sup>、4倍体一次雑種とされる星姫、望郷および凱旋がサザンカとヤブツバキの中間の色素型を示したのに対して、ヤブツバキの血が濃いとされる3倍体二次雑種の幽玄と佐用媛はよりヤブツバキに近い、また逆にサザンカの血が濃いとされる5倍体二次雑種はよりサザンカに近い色素型を示したことである。もちろん、今回供試したサザンカおよびハルサザンカは個体数も少ないので断定的なことはいえないにしても、これらのことは、平戸における一次雑種の成立と、その後の動向を物語るものとして興味深い事実といえよう。

熊沢ら<sup>2)</sup>は、サザンカ園芸種の紅色色素の起源を野生のヤブツバキに求め、一次雑種のハルサザンカにサザンカが戻し交雑してゆくことで有色のサザンカ園芸種が成立したとしているが、上記の二次雑種の色素構成、特に5倍体二次雑種のそれが一次雑種よりもサザンカに傾いている事実は、氏らの洞察の正しいことを支持するものである。

つぎに、花卉の総色素量について見てみると、一般に花卉の色が濃いものほど色素量が多いとされるが、Table 1より明らかとなり平戸のツバキ属植物も同様であった。ところで、この総色素量に対する色素1と5の量（mg）との関係をそれぞれFig. 5, 6に示したが、ヤブツバキ個体群では、色素1の量は総色素量がふえるにしたがって増加するのに対し、色素5の量はほとんど増加しなかった。このことは、ヤブツバキ花卉の濃色化が色素1の量に依存し、色素5とはほぼ無関係であることを示すものである。なお、サザンカおよびハルサザンカ個体群は、供試個体数が少ないこともあって、ヤブツバキに見られるような明白な関係は示さなかった。

Table 1. Anthocyanin constitution of *Camellia* in Hirado

Cultivar	(collected place*1)	1	2	Percentage of pigment*2							Total anthocyanin*3	Notes
				3	4	5	6	7	8	9		
<i>C. japonica</i>												
cv. 1	(12)	94		+	2	4					1.60	pink
HIRADO-OYABU	( 2)	93		±	2	3		1	1		7.73	2n=45
cv. 2	(13)	91			1	3		1	4	±	8.32	
" 3	(12)	89			+	11					1.52	pink
" 4	(14)	89			2	5		2	2		2.68	"
" 5	( 2)	88			6	6		+	±	+	7.60	
" 6	(10)	88			+	10			2		8.64	
" 7	(12)	88			+	12					2.16	pink
" 8	(12)	88			3	8		1	+		10.24	deep red
" 9	(13)	88			2	5		2	3	±	10.45	blueing
" 10	( 9)	87		+	1	8		+	4		9.96	deep red
" 11	(14)	86			3	10		±	1		15.04	"
" 12	(14)	86		1	3	8		1	1		8.21	reddish pink
" 13	( 1)	85		+	2	9		1	3		5.88	early flowering
MUYU	(11)	84			3	13			±		2.04	pink
cv. 14	(14)	84			4	9		1	2	±	10.12	deep red
" 15	(10)	83		±	2	9		2	4		7.20	
" 16	( 1)	82		+	4	11		1	2		6.07	early flowering
" 17	(10)	82		+	3	9		+	6		6.72	
" 18	( 9)	82		+	5	9		2	2		6.08	
" 19	( 1)	81		+	3	11		2	3		5.40	early flowering
" 20	(14)	81			4	12		1	2		4.00	semi-double
" 21	(12)	80		+	4	13		±	3		8.64	
" 22	(14)	80		1	5	14		+	+		4.08	pink
" 23	(14)	79		1	6	11		1	2		8.15	
" 24	(12)	78		+	4	16		+	2		9.60	
" 25	( 7)	77		±	6	15		1	1		6.64	early flowering
" 26	(12)	77		±	6	14		2	1		2.92	pink
" 27	( 1)	76		+	5	8		3	8		4.28	early flowering
" 28	(10)	75		+	7	14		+	4		10.68	deep red
" 29	( 2)	74			6	19			1		5.64	semi-double
" 30	( 9)	69		±	3	25		1	2		12.24	deep red
" 31	(12)	69		±	6	20		2	3		8.52	
" 32	( 7)	65		±	5	28			2		5.33	early flowering
" 33	( 9)	59			±	41					0.62	pink
" 34	( 2)	54			10	36					4.48	
" 35	( 6)	45		2	11	41			1		4.80	blueing
" 36	( 9)	43		±	19	35			3		3.12	
" 37	( 4)	28			5	67					5.20	
<i>C. sasanqua</i>												
cv. 38	(11)	66	+		13	21	±				1.79	pink
HIRAN	( 6)	49			5	3	41	±		2	2.40	"
cv. 39	( 6)	27	±	14	+	56	3				4.60	deep pink
WAGOJIN*4	( 3)	19	±	16	±	63	2				1.32	semi-double
cv. 40	( 3)	18		11	3	66	2				2.24	pink
" 41	( 9)	18	±	7	+	75					0.73	"
SAIKAI	( 2)	18	1	17		60	4	+			2.84	"
cv. 42	( 5)	14		14		67	5				2.37	"
" 43	( 6)	13		20		60	7				0.90	pale pink
" 44	( 6)	13		16	+	71					1.12	pink
HITORISHIZUKA	( 3)	11		9	9	69	2				1.22	semi-double
H-5	( 2)	10	14	24	±	49	3				1.29	pink

Table 1. (Continued)

Cultivar (collected place* <sup>1</sup> )	1	Percentage of pigment* <sup>2</sup>								9	Total anthocyanin* <sup>3</sup>	Notes
		2	3	4	5	6	7	8				
<i>C. vernalis</i>												
HOSHIHIRYU* <sup>4</sup>	( 2)	57	±	5	9	29					2.72	2n=45
YUGEN	(12)	54		3	6	35		+	2		15.60	“
SAYOHIME	( 2)	50		3	14	33					2.40	“
BOUKYO	(12)	40	3	8	6	39	4				3.60	2n=60
HOSHIHIME	( 8)	32		+	12	56					4.55	“
SHOKKO-NISHIKI* <sup>4</sup>	( 5)	30		8	10	52					3.12	2n=45
GAISEN	(10)	28	+	6	7	59		±	+		4.96	2n=60
cv. 45	( 5)	21		10	5	64	±				2.37	2n=75

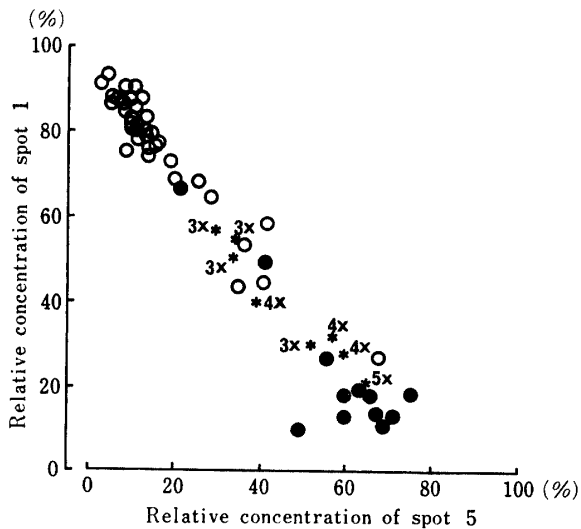
\*<sup>1</sup>: Numbers used are corresponding to the code-numbers in Fig. 1.\*<sup>2</sup>: Numbers represent the spot-numbers in Fig. 3.\*<sup>3</sup>: mg/100 mg of dry weight\*<sup>4</sup>: Not originated in Hirado

Fig. 4. Interrelationship between spot 1 and spot 5. One dot represents one cultivar examined. In *C. vernalis*, 3x, 4x and 5x show triploid, tetraploid and pentaploid, respectively.  
○ *C. japonica* ● *C. sasanqua* \* *C. vernalis*

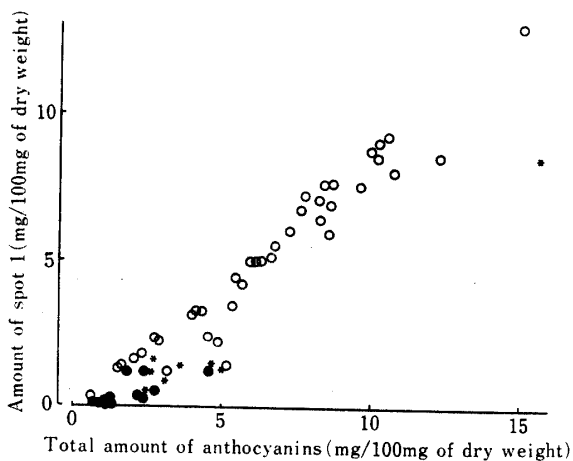


Fig. 5. Interrelationship between the total amount of anthocyanins and the amount of spot 1.  
○ *C. japonica* ● *C. sasanqua* \* *C. vernalis*

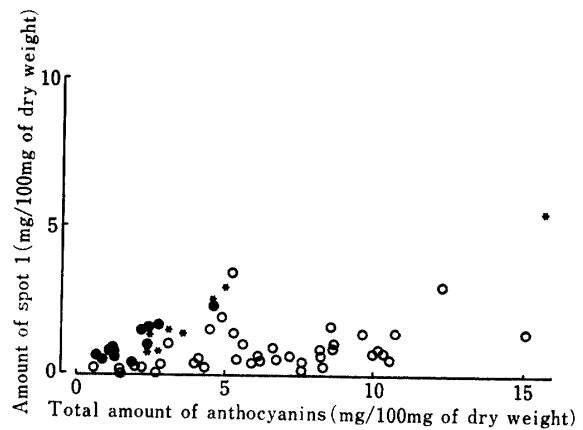


Fig. 6. Interrelationship between the total amount of anthocyanins and the amount of spot 5.

○ *C. japonica* ● *C. sasanqua* \* *C. vernalis*

以上要するに、平戸市周辺のツバキ属植物のアントシアニン色素の分布には、いろいろ興味深い点が認められた。すなわち、ヤブツバキとサザンカとで色素の構成とその量的比率が異なっていた。またヤブツバキには、花卉の濃色化に特定の色素のみが関与していた。さらに、ハルサザンカはヤブツバキとサザンカのちょうど中間型の色素構成を示し、その雑種起源説を裏付けるものであった。

一方、有色のサザンカ園芸種がハルサザンカを経て成立したとする熊沢ら<sup>2)</sup>の考えについては、それを支持するような結果がえられたものの、やはり間違いない確証をうるためには、人為的な交雑による有色サザンカの再現が果たして可能かどうかにかかっている。幸いに、平戸で発見された一次雑種のハルサザンカ凱旋は、サザンカともヤブツバキとも高い交雑親和性を示すという(上本ら, 私信による)。したがって、この品種に対するサザンカの戻し交雑後代の実生の色素

を追跡することによって、熊沢らの考えの当否を明らかにすることができるであろう。

## 要 約

長崎県平戸市周辺に自生するツバキ属植物を供試し、花卉のアントシアン色素について調査したもので、得られた結果の概要はつぎのとおりであった。

1. ヤブツバキ、サザンカおよびハルサザンカから9個のアントシアン色素(色素1~9)が見出され(Fig. 1)、そのうち色素1はクリサンテミン(シアニジン3-モノグルコシド)と推定された。また、色素7, 8, 9はヤブツバキに、色素2, 6はサザンカにそれぞれ独自に生じるものであった(Table 1)。

2. ヤブツバキは色素1を、サザンカは色素5をそれぞれ主体とする個体群であった。また、ハルサザンカはヤブツバキとサザンカの間期の色素構成を示すことから、両者の雑種起源であるという推定が正しいことが示唆された(Table 1, Fig. 4)。

3. ハルサザンカのうち、3倍体二次雑種はヤブツバキに、5倍体二次雑種はサザンカにそれぞれ近い色素型を示し、4倍体一次雑種は中間の色素型を示した(Table 1, Fig. 4)。

4. ヤブツバキ花卉の濃色化は色素1の量に依存し、

色素5とは無関係であった(Fig. 5, 6)。

**謝辞** 平戸市役所小田護氏に平戸での材料採集に対し御協力戴いた。また、九州大学農学部上本俊平教授および藤枝國光助教授に平戸のツバキ属植物について御教示を受けた。さらに、当研究室の村橋美代子嬢に色素分析の協力を得た。記して深謝の意を表します。なお本報告執筆中に、元九州農業試験場長熊沢三郎先生の御訃報に接した。先生の平戸のツバキに対する御遺徳を偲び、心から御冥福を御祈り申し上げます。

## 文 献

- 1) 熊沢三郎：平戸ツツジの成立とその歴史。ガーデンライフ, **14** (5), 19-23 (1975)
- 2) 熊沢三郎・小田護：平戸の自生ツバキと原産サザンカ。ガーデンライフ, **17** (3), 71-78 (1978)
- 3) 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.*, (in press)
- 4) Yokoi, M.: Colour and pigment distribution in the cultivars of selected ornamental plants, with special reference to their contribution to the ornamental value of plants. *Transactions Fac. Hort. Chiba Univ.* **14**, 43-46 (1975)
- 5) 横井政人：観賞植物の色彩と色素分布。(第12報) 寒椿, サザンカのデルフィニジン色素について。園芸学会昭54年春発表要旨, 266-267 (1979)

## Summary

Studies were made on the constitution of anthocyanins in the three species of *Camellia japonica*, *C. sasanqua* and *C. vernalis* surrounding Hirado in the north-western part of Kyushu. The results obtained were summarized as follows.

1. Of the nine kinds of anthocyanins which appeared on chromatograms of *Camellia*, spot 1 was identical with chrysanthemin (cyanidin 3-monoglucoside). Three anthocyanins (spot 7, 8 and 9) from *C. japonica* and two (spot 2 and 6) from *C. sasanqua* were peculiar to each species, respectively.

2. Spot 1 (chrysanthemin) in *C. japonica* and spot 5 in *C. sasanqua* were major components of anthocyanins in each species. In *C. vernalis* originated in Hirado, the constitution of anthocyanins represented the intermediate type between *C. japonica* and *C. sasanqua*, which suggested that various kinds of *C. vernalis* were derived from the natural interspecific hybrid between the former and the wild type of the latter species.

3. Within *C. vernalis*, in the constitution of anthocyanins triploid ( $2n=45$ ) resembled *C. japonica* and pentaploid ( $2n=75$ ) resembled *C. sasanqua*, respectively. Furthermore, the constitution of anthocyanins in primary tetraploid hybrid ( $2n=60$ ) was intermediate between triploid and pentaploid. This might support the idea that triploid *vernalis* was derived secondarily from the back-cross of primary tetraploid *vernalis* to *C. japonica* and pentaploid *vernalis* from the back-cross to *C. sasanqua*.

4. In *C. japonica*, the deeper the colour of petal, the higher the concentration of spot 1, but that of spot 5 was not concerned entirely with the depth of petal-colour.