

# 黄花ツバキ属植物キンカチャの花色発色機構

谷川 奈津

農業・食品産業技術総合研究機構 花き研究所

〒305-8519 茨城県つくば市藤本 2-1

The mechanism of yellow flower coloration of *Camellia chrysantha*

Key words: aluminum; *Camellia chrysantha*; flavonols; yellow flower.

Natsu Tanikawa

National Institute of Floricultural Science, National Agriculture and Food Research Organization

2-1 Fujimoto, Tsukuba, Ibaraki 305-8519, Japan

## 1. はじめに

ツバキ属植物は、中国南部を中心にアジア東南部に広く分布し、現在約 250 種以上が知られている。このうち古くから花の観賞を目的に利用されてきたのは、日本のヤブツバキ (*Camellia japonica*)、ユキツバキ (*C. rusticana*) サザンカ (*C. sasanqua*)、中国のトウツバキ (*C. reticulata*) で、これらを中心にツバキの園芸品種は発達してきた (箱田 2006)。欧米において種間雑種品種育種が盛んに行われるようになり、ここ数十年は日本でも中国やベトナムから導入された様々な種を用いた種間交雑育種が盛んになっている (吉川&吉川 1990)。ツバキ園芸品種の花色は、白やアントシアニン色素による桃～赤の範囲にあり、濃黄色花色のものが無い。そのため濃黄色花色品種を作り出すことが大きな育種目標の一つになっている。黄色品種作出の交配親として期待されているのが、黄色花色を有するツバキ属植物である。黄花ツバキ属植物は、中国南部からベトナム北部を中心に約 50 種が分布していることが報告されている (箱田 2006)。このうち 1965 年に中国南部の広西壮族自治区で報告された鮮やかな濃黄色花色のキンカチャ (*Camellia chrysantha*, 金花茶) (Hu 1965) が、黄色品種育成のために最も利用されているツバキ属植物である。

黄花ツバキ属植物の花色に関する研究は、主にキンカチャにおいて進められてきた。キンカチャの黄色花色の発色の仕組みについては長い間議論をされてきた。多くの植物では、濃黄色花色はカロテノイド色素によって発色している。キンギョソウやカーネーションのように、黄色フラボノイドのオーロンやカルコンによって発色している植物もある。キンカチャ花卉には、3 種類のフラボノール (いずれもケルセチン誘導体) とカロテノイドが存在することが報告されていた (Miyajima et al. 1985, Scogin 1986)。キンカチャ花卉では、表皮細胞の液胞部分が黄色く発色していることが観察されるので、水溶性化合物の関与が考えられ、3 種類のフラボノイドのうち淡黄色色素であるケルセチン 7-グルコサイドがキンカチャの主要黄色色素であるとされてきた (Miyajima et al. 1985)。しかし、ケルセチン 7-グルコサイドはごく淡い黄色色素であるため、キンカチャの濃い黄色発色を担う色素としては疑問が残されていた。

キンカチャは年によって黄色の濃淡の異なる花を咲かせたり、互いにクローンであるはずの接

木苗が個体ごとに黄色の濃淡の異なる花を咲かせたりする。このことから、キンカチャの黄色発色には何か不安定な発色要因が存在すると考えられた。ケルセチン誘導体にはアルミニウムと錯体を形成して濃黄色を発色する性質があり、キンカチャと同じ *Thea* 亜属に分類されるチャ (*C. sinensis*, 茶) (Chang & Bartholomew 1984) は、代表的なアルミニウム蓄積植物である (Chenery 1955, Matsumoto et al. 1976)。これらのことに着目し、キンカチャ花卉の黄色発色におけるアルミニウムの関与について実験を行った。

## 2. 黄花ツバキ属植物の花弁に含まれるカロテノイド

キンカチャ花卉でも、カロテノイドは生合成されており、カロテノイドを蓄積する細胞内小器官のクロモプラスト粒子が観察されている (Miyajima et al. 1985)。蓄積量が少ないとされているものの、カロテノイドに関する具体的な含有量や成分組成についての報告は少ない。そこでキンカチャをはじめとする7種の黄花ツバキ属植物について、HPLC (high performance liquid chromatography) 分析により花卉のカロテノイドの含有量や成分について調べた (谷川ら 2010)。7種の黄花ツバキ属植物の花弁に含まれる総カロテノイド含有量は、ルテイン等量で0.8~11.3  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  FWであった (表1)。淡黄色花色のトルコギキョウ花卉のカロテノイド含有量がルテイン等量で16  $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$  FW (9  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  FWに相当)と報告されており (Nakayama et al. 2006)、これと比較していずれも同程度以下であった。したがってこれらの黄花ツバキ属植物では、カロテノイドは多少は花卉の黄色発色に寄与していると考えられるものの、濃黄色の発色には十分な濃度ではないことが示された。カロテノイド成分として、violaxanthin, luteoxanthin, (9Z)-violaxanthin, antheraxanthin,  $\beta$ -cryptoxanthin,  $\beta$ -carotene が検出された。これらはいずれも両端に $\beta$ 環をもつ、 $\beta$ - $\beta$ -カロテン誘導体である。また、いずれの種も同様なカロテノイド成分組成であり、黄花ツバキ属植物では、花卉のカロテノイド生合成系や蓄積能力において種間差が小さいという傾向が認められた (表1)。

表1. 黄花ツバキ属植物の花弁のカロテノイド

2, Violaxanthin; 3, luteoxanthin 4, (9Z)-violaxanthin; 7, antheraxanthin; 8,  $\beta$ -cryptoxanthin; 9,  $\beta$ -carotene。  
1, 5, 6 は未同定のカロテノイド成分。(谷川ら 2010)

	分析した花の数	総カロテノイド含有量 ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ FW) <sup>y</sup>	カロテノイド成分の組成比 (%)									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	Others
<i>C. chrysantha</i> (No. 564)	n=3	0.8 ± 0.4 <sup>x</sup>	4.4	12.2	15.5	19.9	10.9	3.4	13.7	4.7	1.8	13.5
<i>C. chrysantha</i> (No. 566)	n=2	11.3	7.0	21.8	8.7	27.7	9.9	2.4	9.5	1.9	1.2	9.9
<i>C. chrysantha</i> var. <i>phaeopubisperma</i>	n=4	2.4 ± 0.4	4.3	9.1	12.3	23.4	12.7	4.2	14.4	4.1	3.2	12.3
<i>C. cucphuongensis</i>	n=5	1.6 ± 0.3	5.1	4.5	8.2	23.0	18.4	— <sup>z</sup>	23.3	2.0	4.3	11.2
<i>C. fusuiensis</i>	n=3	3.9 ± 0.5	8.7	14.4	4.5	29.3	12.8	1.7	14.7	1.9	3.2	8.8
<i>C. impressinervis</i>	n=2	2.1	4.7	18.7	10.9	26.6	9.7	8.3	5.8	1.3	4.0	10.0
<i>C. ptilosperma</i>	n=3	3.8 ± 0.6	7.7	16.6	7.2	25.0	14.5	—	14.4	2.2	2.2	10.2
<i>C. quephongensis</i>	n=3	7.4 ± 1.2	3.9	11.5	6.4	29.1	16.7	1.2	15.0	2.3	5.4	8.5

<sup>z</sup>—: 検出不可

<sup>y</sup>ルテイン等量

<sup>x</sup>3花以上測定できたものについて標準誤差 (SE) を付した。

## 3. キンカチャの黄色花色発色機構

同じキンカチャ系統から枝を採集して接ぎ木増殖した株でありながら、濃黄色花を咲かせる個体 (図 1a) と淡黄色花を咲かせる個体 (図 1b) が生じる。これらの花弁を比較することで、キンカチャの濃黄色発色の仕組みの解明を試みた。対照として白いヤブツバキ (図 1c) の花を用いた。

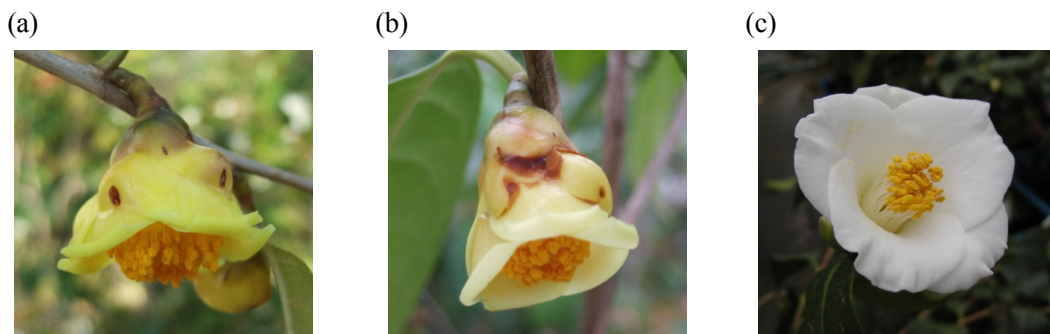


図 1. (a) 濃黄色キンカチャ, (b) 淡黄色キンカチャ, (c) 白色ヤブツバキ (Tanikawa et al. 2008)

### 3-1. 花弁の吸収スペクトル

人間は、およそ 400-500 nm の波長の光を吸収する物質を黄色として認識する。多くのカロテノイドは約 440 nm 付近に 2 つか 3 つの吸収極大を伴い、400-500 nm の波長領域に大きな吸収を持つため、カロテノイドを作る花では鮮やかな濃い黄色の花色になる。一方、フラボノイドは一般に約 360 nm 付近に吸収極大を持ち、400-500 nm の波長領域における光の吸収が小さいため、フラボノイドによる花色は、無色、あるいは淡い黄色にとどまる。

キンカチャ花弁の吸収スペクトルを測定したところ、カロテノイドのスペクトルとは異なり、420 nm 付近に吸収極大が認められた (図 2)。白いヤブツバキでは、400-700 nm の波長領域で吸収極大は認められず、吸収もキンカチャと比べて小さいことが示された。

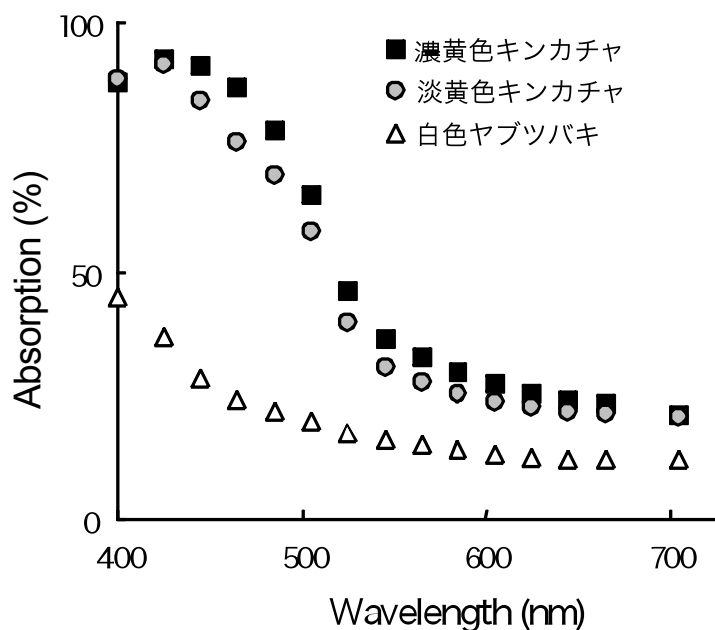


図 2. キンカチャおよび白色ヤブツバキ花弁の吸収スペクトル (Tanikawa et al. 2008)

### 3-2. キンカチャ花弁の pH, フラボノイド, アルミニウム

キンカチャの濃黄色花と淡黄色花, および白色ヤブツバキの花弁について, pH, 主要フラボノイド成分とアルミニウムの含有量を調べた。pH はすり潰した花弁について測定した。フラボノイドは, HPLC により 360 nm の光波長で検出することで分析を行った。アルミニウム含有量は ICP-AES 分析 (誘導結合プラズマ発光分光分析) により測定した。フラボノイドには pH が高いほど黄色化する性質がある。濃黄色キンカチャ花弁と淡黄色キンカチャ花弁の pH は, いずれも同じ 5.8 であった (表 2)。濃黄色花弁と淡黄色花弁のいずれから, 3 種類のフラボノール, ケルセチン 3-ルチノサイド, ケルセチン 3-グルコサイド, ケルセチン 7-グルコサイド (図 3) が検出された。それぞれの含有量は, キンカチャの主要黄色色素として報告されているケルセチン 7-グルコサイドを含めて, 濃黄色花弁と淡黄色花弁で大きな違いは認められなかった (表 2)。一方, アルミニウム含有量は, 濃黄色花弁と淡黄色花弁で大きな違いが認められた。濃黄色花弁のアルミニウム含有量は, 淡黄色花弁よりも約 3 倍高かった (表 2)。白いヤブツバキの花弁の pH は 4.2 であり, キンカチャの花弁より低かった。ヤブツバキもアルミニウムを蓄積する植物であるが (山田 1980), 本研究で使用した花ではアルミニウム含有量が濃黄色キンカチャ花弁の 21% と少なかった。また HPLC クロマトグラムにおいてフラボノイドと推定されるピークは非常に小さく, ヤブツバキの花弁ではフラボノイドをほとんど蓄積しないことが示唆された。

表 2. 花弁の pH, 主要フラボノイド成分とアルミニウムの含有量 (Tanikawa et al. 2008)

	濃黄色キンカチャ	淡黄色キンカチャ	白色ヤブツバキ
pH	5.8 ± 0.1	5.8 ± 0.1	4.2 ± 0.1
成分含有量 (μmol/g FW)			
ケルセチン 7-グルコサイド	1.75 ± 0.09	1.64 ± 0.04	—
ケルセチン 3-ルチノサイド	2.42 ± 0.14	2.04 ± 0.07	—
ケルセチン 3-グルコサイド	0.67 ± 0.03	0.55 ± 0.02	—
総フラボノール	4.84 ± 0.25	4.23 ± 0.11	—
アルミニウム	2.33 ± 0.18	0.79 ± 0.08	0.48 ± 0.05

—: 検出不可

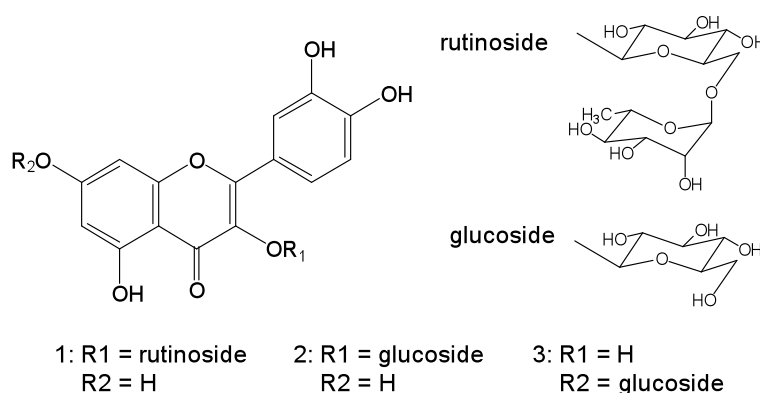


図 3. キンカチャ花弁に含まれる 3 種類のフラボノール

1, ケルセチン 3-ルチノサイド; 2, ケルセチン 3-グルコサイド; 3, ケルセチン 7-グルコサイド

### 3-3. フラボノイドに対するアルミニウムの作用

キンカチャ花卉に含まれる主要フラボノールの一つであるケルセチン 3-ルチノサイドを、キンカチャ花卉と同じ pH 5.8 の 0.1 M 酢酸緩衝液で 50  $\mu\text{M}$  濃度の溶液に調整した。このときケルセチン 3-ルチノサイド溶液はほぼ無色で (図 4a-0), 約 350 nm に吸収極大があり, 400-500 nm の波長領域にはほとんど吸収が認められない吸収スペクトルを示した (図 4b-0)。これに 0.1 M 酢酸緩衝液 (pH 5.8) に溶解した塩化アルミニウムを, 0  $\mu\text{M}$  から 50  $\mu\text{M}$  になるように 5  $\mu\text{M}$  ずつ添加していき, 溶液の色の変化とそれに伴う吸収スペクトルの変化を調べた。添加したアルミニウム量が増加するにつれて, 吸収極大が 350 nm から約 420 nm に移動し, 400-500 nm の波長領域における吸収が増加するとともに (図 4b), 溶液の黄色が濃く発色した (図 4a)。キンカチャ花卉の吸収スペクトルにおける吸収極大も約 420 nm であり (図 2), ケルセチン 3-ルチノサイドとアルミニウムによって形成される吸収スペクトルの特徴と類似していることが示された。

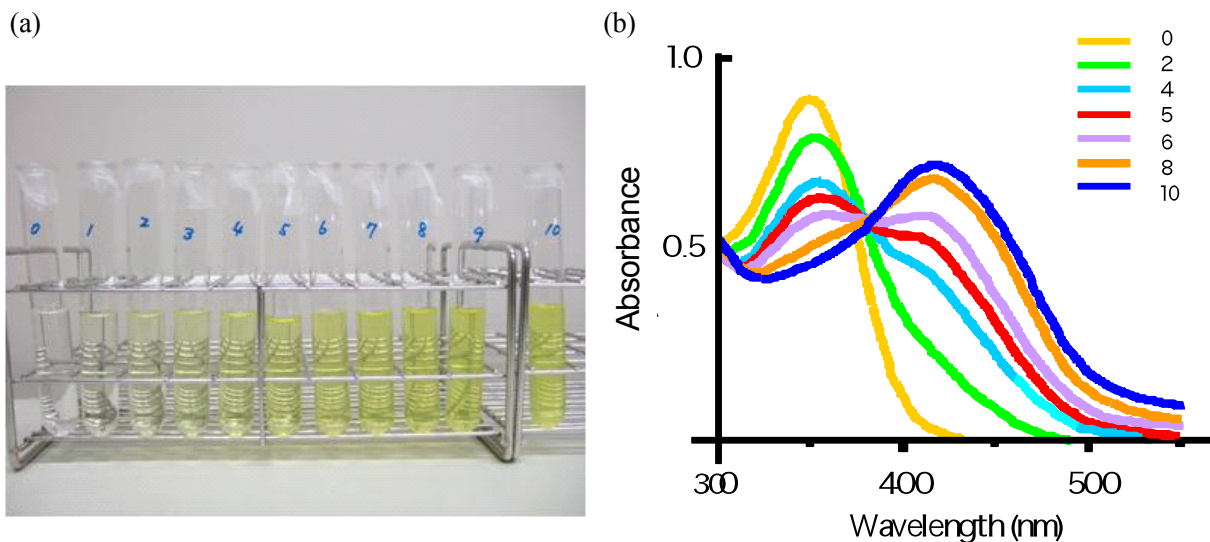


図 4. アルミニウムを添加したケルセチン 3-ルチノサイド溶液の色と吸収スペクトル  
(a) 50  $\mu\text{M}$  ケルセチン 3-ルチノサイドに  $\text{AlCl}_3$  を 0  $\mu\text{M}$  (左端) から 50  $\mu\text{M}$  (右端) まで 5  $\mu\text{M}$  ずつ添加したときの溶液の色の変化 (0.1 M 酢酸緩衝液, pH 5.8)。 (b) 各溶液の吸収スペクトル。スペクトルの番号は(a)の溶液の番号に対応。(Tanikawa et al. 2008)

### 3-4. 陽イオン交換クロマトグラフィーを用いてアルミニウムの影響を調べる

キンカチャ花卉から黄色色素を蒸留水 (DIW) で抽出し, 一部を陽イオン交換樹脂に通して, 抽出液中のアルミニウムを含む陽イオン類の除去を試みた。DIW 抽出液, カラム処理液, カラム処理液に塩化アルミニウムを添加した溶液, それぞれを 0.1 M 酢酸緩衝液 (pH 5.8) に調整し, 溶液の色と吸収スペクトルを比較した。DIW 抽出液 (図 5a-1) を陽イオン交換樹脂に通すと, 溶液の黄色が淡くなり (図 5a-2), 420 nm 付近の吸収が減少した (図 5b-2)。これに塩化アルミニウムを添加すると黄色の濃さが回復するとともに (図 5a-3), 420 nm 付近の吸収も回復した (図 5b-3)。DIW 抽出液の吸収スペクトルで, はっきりとした 420 nm の吸収極大が認められなかったのは, クエン酸などの有機酸類にもアルミニウムイオンをキレートする性質があるため (Hue et al. 1986), 無傷な状態での花卉と異なり, 花卉組織をすりつぶしたことで生じる様々な有機物によってアルミニウムイオンがキレートされたことが一因ではないかと考えられた。

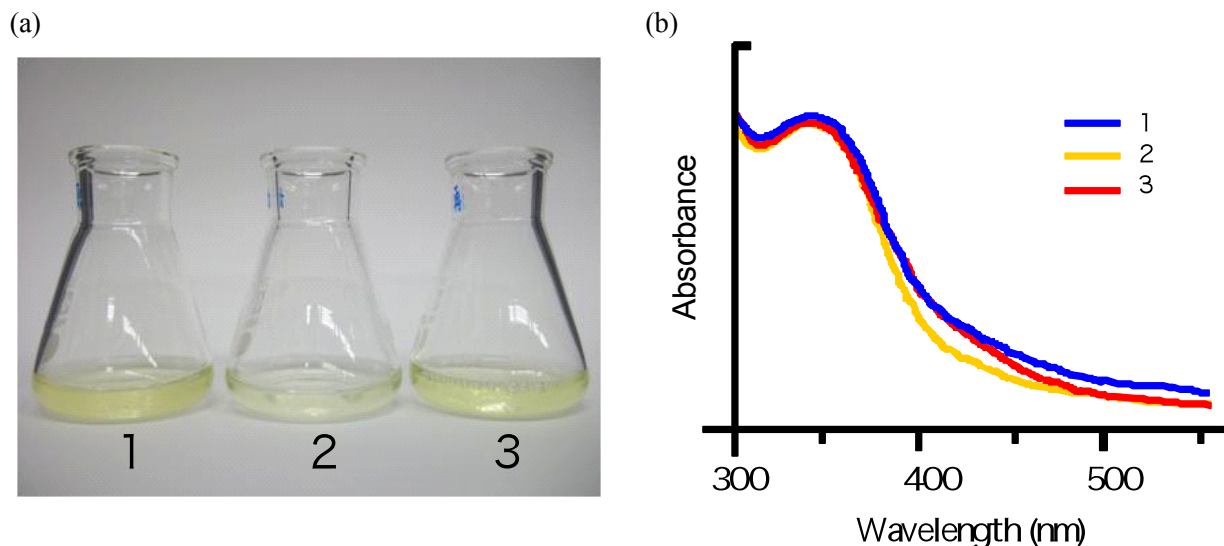


図5. キンカチャ花卉の抽出液の色と吸収スペクトル

(a)溶液の色。1, 花卉抽出液; 2, 陽イオン交換カラム処理液; 3, 陽イオン交換カラム処理液に  $\text{AlCl}_3$  を添加したもの (いずれも 0.1 M 酢酸緩衝液, pH 5.8)。 (b)各溶液の吸収スペクトル。スペクトルの番号は(a)の溶液の番号に対応。(Tanikawa et al. 2008)

#### 4. 結論

以上の結果から、キンカチャの黄色花色は花卉に蓄積されるフラボノールのケルセチン誘導体とアルミニウムの相互作用によって発色すると結論した。アルミニウムイオンは、フラボノールのA環の3位および5位の水酸基の他、B環の *o*-ジヒドロキシル基に結合する (Markham & Mabry 1968)。キンカチャ花卉の3種類のケルセチン誘導体は、いずれもB環に *o*-ジヒドロキシル基を有しており、アルミニウムのキレート結合により黄色の濃色化に貢献しうる。

これまでアントシアニン色素による青色花色の発色において、アルミニウムなどの金属イオンを必要とする例が報告されており、アジサイ (アルミニウム)、ツユクサ (マグネシウム)、ヤグルマギク (鉄, マグネシウム, カルシウム), サルヴィア (マグネシウム) (Takeda 2006), ケシ (鉄, マグネシウム) (Yoshida et al. 2006), チューリップの花底部分 (鉄) (Shoji et al. 2007) の報告がある。金属イオンによって黄色花色を発色する植物についてはこれまで例がなく、キンカチャが初めての報告であると考えている。

#### 5. おわりに

万葉集 12 巻 3101 に「紫は 灰さすものぞ 海石榴市の 八十の街に 逢へる子や誰」という歌がある。「海石榴」とはツバキのことである。布の染色においてツバキの灰が紫染めに用いられたことから、このような表現が生まれた。ツバキの灰分はアルミニウム塩が多くて鉄塩が少ないため、紫染めの際にタンニン質が発色せず、紫色が美しく発色するのだという (資源植物事典 1949)。こうしてみると、キンカチャの花は自分自身をアルミニウムによって染めているかのようなのである。

キンカチャは 1979 年に日本に導入され、翌 1980 年からキンカチャを使った交雑育種が開始された (箱田 2006)。以来 30 年の間に多くのキンカチャ雑種品種が作出されている。しかし、これら雑種品種の花色はクリーム色ないしは淡黄色の範囲にあって、鮮やかな濃い黄色花色の品種は作出されていない (箱田 2006, Hwang et al. 1992, 西本ら 2004)。これまで行われた交雑育種では、

キンカチャの交配相手に白花のヤブツバキ系品種を用いた例が多いようである (箱田 2006)。今回調査した白いヤブツバキでは、pH はキンカチャ花弁より低く、フラボノイドについてはほとんど蓄積が認められなかった。しかし白花ヤブツバキとキンカチャの交配で得られた雑種後代では、花弁にフラボノイドを蓄積し、総フラボン・フラボノール含有量ではキンカチャと同等またはそれ以上の含有量を有する系統も存在すると報告されている (西本ら 2004)。これらは、pH や生合成されるフラボノイドの種類、アルミニウムの蓄積量において、濃黄色花色を発色する条件を満たしていないのかもしれない。花弁の pH が高く、アルミニウムとの結合により黄色化するケルセチンタイプのフラボノイドを蓄積する雑種後代が作出されれば、より濃い黄色を発色するものと考えられる。また、その黄色発色の仕組みから、淡い黄色の雑種後代系統であってもできるだけ黄色を濃く発色させて観賞するには、アルミニウム含有量の多い培土に植える、あるいは地植えでじっくり育ててアルミニウムの蓄積を待つといったことも効果があるのではないかと推定される。

「濃黄色花色はカロテノイドにより発色し、淡黄色花色はフラボノイドにより発色している」という一般則は、時に先入観となり、見た目の黄色の濃さにもとづいてカロテノイドかフラボノイドのどちらか一方の分析実験を行い、他方の分析を行うことなく、その花色発色について論じられてしまう場合がある (Nakayama et al. 2006)。また、カロテノイドとフラボノイドが共存する花も多く存在する。こういった植物において、それぞれの化合物の黄色発色における貢献度を評価するには、花弁そのものの吸収スペクトルや反射スペクトルを測定して判別するなど、慎重な議論が必要と感じている。黄色花色の発色に金属が関与する植物が他にも存在するのかは、今後の興味深い課題である。今回のキンカチャの実験のように、花弁の吸収スペクトルを測定して 420 nm 付近の吸収極大を指標にすることで、フラボノイドと金属によって黄色花色を発色している植物が見出されることが期待される。

## 引用文献

- Chang, H. T. & Bartholomew, B. 1984. *Camellias*. B.T. Batsford Ltd., London.
- Chenery, E. M. 1955. A preliminary study of aluminium and the tea bush. *Plant Soil* 6: 174-200.
- 箱田直紀 2006. 黄花ツバキの系譜と育種の現状. 恵泉女学園大学園芸文化研究所報告 3: 43-69.
- Hu, H. H. 1965. New species and varietie of *Camellia* and Theopsis of China (1). *Acta Phytotax. Sinica* 10: 131-142.
- Hue, N. V., Craddock, G. R. & Adams, F. 1986. Effect of organic acids on aluminum toxicity in subsoils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50: 28-34.
- Hwang, Y. J., Yoshikawa, K., Miyajima, I. & Okubo, H. 1992. Flower colors and pigments in hybrids with *Camellia chrysantha*. *Sci. Hort.* 51: 251-259.
- Markham, K. R. & Mabry, T. J. 1968. A procedure for the ultraviolet spectral detection of *ortho*-dihydroxyl groups in flavonoids. *Phytochemistry* 7: 1197-1200.
- Matsumoto, H., Hirasawa, E., Morimura, S. & Takahashi, E. 1976. Localization of aluminium in tea leaves. *Plant Cell Physiol.* 17: 627-631.
- Miyajima, I., Uemoto, S., Sakata, Y., Arisumi, K. & Toki, K. 1985. Yellow pigment of *Camellia*

- chrysantha* Flowers. *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.* 29: 257-266.
- Nakayama, M., Miyasaka, M., Maoka, T., Yagi, M. & Fukuta, N. 2006. A carotenoid-derived yellow *Eustoma* screened under blue and ultraviolet lights. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 75: 161-165.
- 西本慎一・橋本文雄・清水圭一・坂田祐介 2004. キンカチャ×ヤブツバキ種間雑種の花色. *園学雑*. 73: 189-191.
- Scogin, R. 1986. Floral pigments of the yellow *Camellia*, *Camellia chrysantha* (Theaceae). *Aliso* 11: 387-392.
- 資源植物事典. 1949. ツバキの項. pp. 465-467. 北隆館. 東京.
- Shoji, K., Miki, N., Nakajima, N., Momonoi, K., Kato, C. & Yoshida, K. 2007. Perianth bottom-specific blue color development in tulip cv. Murasakizuisho requires ferric ions. *Plant Cell Physiol.* 48: 243-251.
- Takeda, K. 2006. Blue metal complex pigments involved in blue flower color. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B* 82: 142-154.
- Tanikawa, N., Kashiwabara, T., Hokura, A., Abe, T., Shibata, M., & Nakayama, M. 2008. A peculiar yellow flower coloration of camellia using aluminum-flavonoid interaction. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 77: 402-407.
- 谷川奈津・山溝千尋・大宮あけみ 2010. 黄花ツバキ属植物の花弁のカロテノイド成分. *花き研報*. 10: 75-79.
- 山田秀和 1980. ツバキ科植物のフッ素吸収に関する生物地球化学的研究. *京都府立大学学術報告 農学* 32: 138-170.
- 吉川和男・吉川宜宏 1990. ツバキの種間交雑について. *西武舞鶴植物研究所報告* 5: 56-75.
- Yoshida, K., Kitahara, S., Ito, D., & Kondo, T. 2006. Ferric ions involved in the flower color development of the Himalayan blue poppy, *Meconopsis grandis*. *Phytochemistry* 67: 992-998.