

キンカチャの黄色花色の発色におけるアルミニウムの関与

農業・食品産業技術総合研究機構 花き研究所 谷川奈津

1. はじめに

人間は、およそ400～500 nmの波長の光を吸収する物体に対して黄色と感じる。多くの植物において黄色花色を担う色素は、カロテノイドやフラボノイドである。400～500 nmの波長領域に大きな吸収をもつカロテノイドを作る花では、鮮やかで濃い黄色の花色となる。例えば、パンジー、バラ、チューリップ、キク、マリーゴールドなどの黄色花が、カロテノイド色素による花色である。カルコンやオーロンは、フラボノイドの一種である。これらはカロテノイドと比べると400～500 nmの波長領域の吸収が小さく、従ってカロテノイドと比べて淡い黄色発色となる色素である。カルコンによる花色の代表的なものがカーネーションの黄色花、オーロンによる花色の代表的なものがキンギョソウの黄色花である。その他のフラボノイドでは400～500 nm領域の吸収が小さいため、無色、あるいは淡黄色の発色となる。花き園芸品種には、カロテノイド、カルコン、オーロンのような濃い黄色色素を作り出すことができず、フラボノイドによる淡黄色花色の品種しかないものが案外多い。ストック、アサガオ、スイートピー、キキョウ、サクラなどがこれにあたる。これらの植物における濃い黄色花色品種の作出は、育種上の目標の一つとなっている。

ツバキの園芸品種における花色も、白・桃・赤・

紅の範囲に限られており、濃黄色の品種を作り出すことが大きな目標となっている。キンカチャ (*Camellia chrysantha*, 金花茶) は、1965年に中国南部の広西自治区で報告された鮮やかな濃黄色の花を咲かせるツバキ属植物で¹⁾、黄色品種作出のための交配親として、これまで最も利用されているツバキ属植物である。日本には1979年に導入され、翌1980年にはキンカチャを使った交雑育種が開始された²⁾。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^{2), 3), 4)}。

キンカチャの黄色花色の発色機構については、長い間謎として議論をされてきた。キンカチャ花弁には、3種類のフラボノイド (いずれもケルセチン誘導体) と2種類のカロテノイドが存在することが報告されている^{5), 6)}。キンカチャの濃黄色に相当するカロテノイド量が含まれておらず、花弁表皮の液胞部分が黄色いことが観察されるので、3種類のフラボノイドのうち、淡黄色を呈するケルセチン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⁵⁾。しかし、ケルセチン7-グルコサイドは、カルコンやオーロンに比べて淡い黄色色素であるため、キンカチャの濃い黄色花色の発色を担う色素としては疑問が残されていた。

筆者は、キンカチャが年ごとに濃淡の異なる花を咲かせたり、互いにクローンである接木苗が、個体ごとに濃淡の異なる花を咲かせたりすることがあるのを不思議に感じていた。何か不安定な発色要因が存在するように思われた。キンカチャと同じ *Thea* 亜属に分類され近縁種であるチャ (*C. sinensis*, 茶) は⁷⁾、アルミニウム蓄積植物として有名である^{8), 9)}。また、ケルセチン誘導体がアルミニウムと錯体を形成して黄色を呈色する性質は、よく知られており¹⁰⁾、フラボノイドの検出に利用されている。筆者らはこの2つの事実に着目し、キンカチャの黄色花色においても、フラボノイドとアルミニウムの相互作用によって発色しているのではないかと仮説を立てて実験を行った。キンカチャで明らかになった新しい黄色花色の発色の仕組み¹¹⁾について紹介する。

2. キンカチャのカロテノイド含有量

キンカチャの濃黄色発色には、カロテノイドも関与するという議論がされている⁴⁾。そこで、花弁に含まれるカロテノイド含有量について調べた。蒸留水・メタノール・アセトンで順次抽出を行い、これらを合わせて蒸発乾固した後、水とジエチルエーテルによる分画を行った。エー

テル層を蒸発乾固し、さらに *n*-ヘキサンに溶解した。これを蒸発乾固させ、メタノールに溶解して、440 nm の吸光度を測定した。ルテイン当量として算出したキンカチャ花弁の総カロテノイド量は、新鮮花弁 1 g あたり 3.72 ± 0.44 nmol であった。これは、淡い黄色花色のトルコギキョウで報告されている総カロテノイド 16 nmol/g FW¹²⁾ よりも少ない値であり、キンカチャの濃黄色発色へのカロテノイドの影響は小さいと考えられた。

3. 花弁の吸収スペクトル

キンカチャの濃黄色花色の個体 (図-1a) と淡黄色花色の個体 (図-1b)、対照として白いヤブツバキ '鎮信' (図-1c) を試料とした。これらの花の吸収スペクトルを、カラーセンサ C-1020 (日立製作所) で測定した。キンカチャ花弁の吸収極大は 420 nm 付近に認められた (図-2)。この吸収スペクトルは、カロテノイドとは異なるものであった。また、淡黄色花色のキンカチャの方が、濃黄色花色のキンカチャよりも、長波長側で早く吸収の減少が生じていた。白いヤブツバキでは、今回測定した波長領域の範囲内に吸収極大は認められず、吸収もキンカチャと比べて全体的に小さかった。

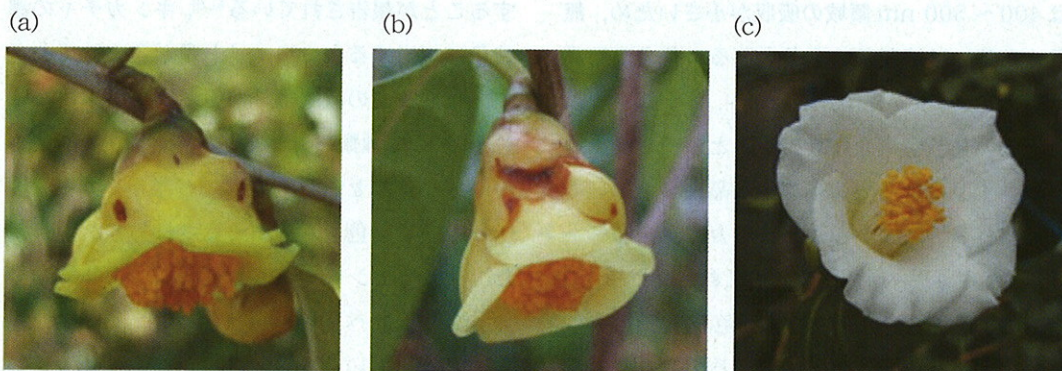


図-1 (a) 濃黄色キンカチャ, (b) 淡黄色キンカチャ, (c) 白色ヤブツバキ '鎮信'

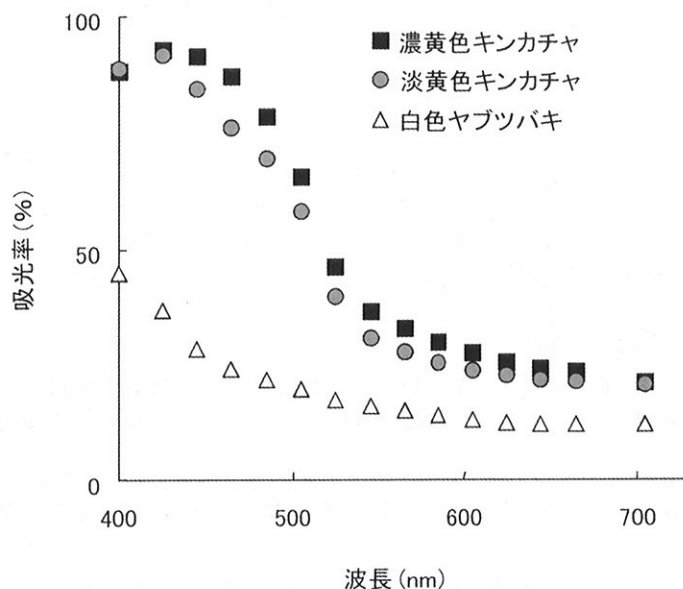


図-2 キンカチャと白色ヤブツバキ花卉の吸収スペクトル

4. pH, 主要フラボノイドおよびアルミニウム含有量

濃黄色花色と淡黄色花色のキンカチャと、白色ヤブツバキの花弁について、pH, 主要フラボノイドおよびアルミニウム含有量を調べた。pHは、破碎花弁をコンパクトpHメーター（堀場製作所）で測定した。フラボノイド含有量はHPLC

により、アルミニウム含有量はICP-AESにより測定した。結果を表-1に示す。フラボノイドは、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。キンカチャの花弁で検出される3種類の主要フラボノイド；ケルセチン3-ルチノサイド、ケルセチン3-グルコ

表-1 pH, 主要フラボノイドおよびアルミニウム含有量

	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

—: 検出限界以下

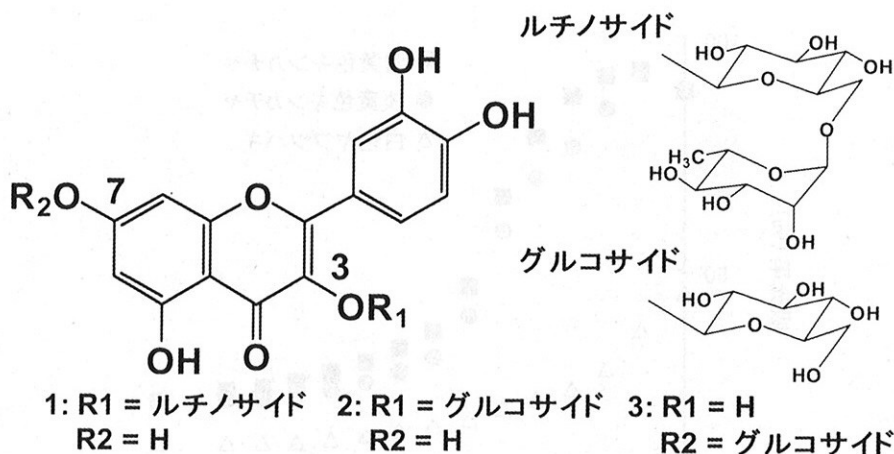


図-3 キンカチャ花弁に含まれる主要フラボノイドの構造

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

サイド, ケルセチン 7-グルコサイド (図-3) の組成に, 濃黄色花弁と淡黄色花弁では認められなかった。それぞれの成分の含有量についても, 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, 両者で大きな差は認められなかった。一方, アルミニウム含有量には, 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。白いヤブツバキでは, pHは4.2と低く, アルミニウム含有量も濃黄色キンカチャ花弁の21%と少なかった。また, フラボノイド成分はほとんど含まれていないことが明らかになった。

5. フラボノイドに対するアルミニウムの作用

キンカチャ花弁に含まれる主要フラボノイドの一つであり, 入手しやすいケルセチン 3-ルチノサイドを用いて, フラボノイドの色の変化に対するアルミニウムの影響を調べた。ケルセチン 3-ルチノサイドを0.1 M酢酸緩衝液に溶解し, キンカチャ花弁と同じ pH 5.8 に調整した。50

μ M のケルセチン 3-ルチノサイド溶液に, 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 μ M から 50 μ M になるように 5 μ 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。塩化アルミニウムを加えないとき, ケルセチン 3-ルチノサイド溶液は, ほぼ無色であり (図-4a), 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)。アルミニウム量が増加するにつれて, 溶液の黄色が濃くなり (図-4a), 同時に約 420 nm の吸収極大が新しく形成されてゆき, 400 ~ 500 nm の波長領域における吸収も増加していった (図-4b)。キンカチャ花弁の吸収スペクトルの吸収極大も約 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た。

6. 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

キンカチャ花弁を蒸留水中ですりつぶし, 黄

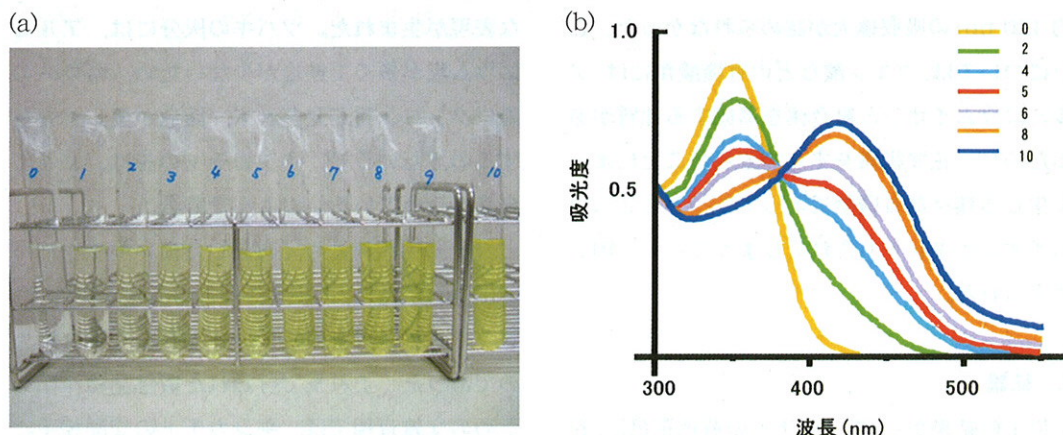


図-4 ケルセチン 3-ルチノサイド/アルミニウム溶液の色と吸収スペクトル

(a) 50 μ M ケルセチン 3-ルチノサイドに塩化アルミニウムを 0 μ M (左端) から 50 μ M (右端) まで 5 μ 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) 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する。

色色素を抽出した。一部を陽イオン交換カラム (Dowex 50W $\times$ 8; 100-200 mesh, H-form; The Dow Chemical Company) 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。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もの, それぞれについて 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。抽出液 (図-5a-1) を陽イオン交換カラムに通すと, 溶液の黄色が淡くなり (図-5a-2), 420 nm 付近の吸光度が減少した (図-5b-2)。これに塩化アルミニウムを添加すると, 黄色が回復し (図-5a-3), 420 nm 付近の吸光度も回復した (図-5b-3)。抽出液では, はっきりとした

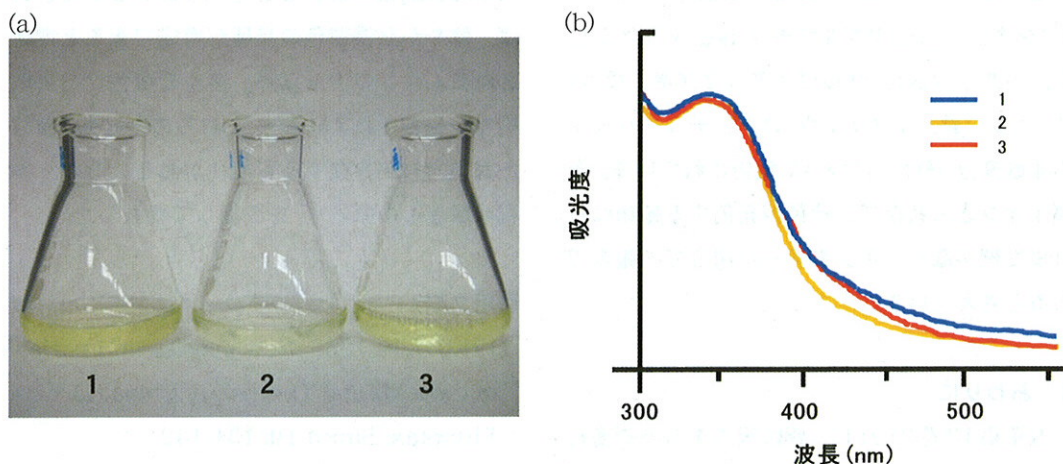


図-5 キンカチャ花卉抽出液の色と吸収スペクトル

(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塩化アルミニウムを添加したもの。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。

約 420 nm の吸収極大が認められなかった。これについては、クエン酸などの有機酸類には、アルミニウムイオンと複合体を形成する性質があるため¹³⁾、花卉組織をすりつぶしたことによって生じる様々な有機物によっても、アルミニウムイオンがキレートされてしまうことが一因と考えられた。

7. 結論

以上の結果から、キンカチャの黄色花色は、花弁中のフラボノイド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していると結論した。アルミニウムは、フラボノイドの A 環の 3 位および 5 位の水酸基、B 環の α -ジヒドロキシル基に結合すると考えられる¹⁰⁾。従って、キンカチャの 3 種類のケルセチン誘導体の中でも、ケルセチン 7-グルコサイドは、アルミニウムの結合できる部位が多く、より黄色化に寄与しているものと考えられる。

これまでに、青色花色においては、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)¹⁴⁾、ケシ (鉄、マグネシウム)¹⁵⁾、チューリップの花底部分 (鉄)¹⁶⁾ について報告されている。金属イオンとの共存で、黄色が発色する植物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。

8. 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」という歌が詠まれている。「海石榴」はツバキである。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。ツバキの灰分には、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¹⁷⁾。キンカチャの花は、まさに自身を染めているかのようなのである。

今回対照試料として調査した白いヤブツバキでは、pH が低く、アルミニウム含有量が少なく、フラボノイド含有量については著しく少ないものであった。これまで行われた黄色品種作出のための交雑育種では、キンカチャの交配相手には、白いヤブツバキ系品種が用いられた例が多いようである²⁾。総フラボン・フラボノール含有量では、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に、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が生じることが報告されている⁴⁾。これらにおいては、フラボノイドの種類、pH、アルミニウム含有量について、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。より pH が高く、アルミニウムと結合して黄色化するフラボノイドを多く作り、アルミニウムを蓄積する雑種後代が生じるような交配組み合わせを見つけることができれば、鮮やかな濃黄色の品種が育成できると期待される。キンカチャ以降、多くの黄色ツバキ属植物が報告されている²⁾。これらの中にも、優れた育種素材が存在する可能性がある。なお、本稿は筆者らの原著¹¹⁾ を改編して掲載した。

引用文献

- 1) Hu, H. H. 1965. New species and varietie of Camellia and Theopsis of China (1). Acta Phytotax. Sinica 10: 131-142.
- 2) 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.

- 3) Hwang, Y. J., K. Yoshikawa, I. Miyajima and H. Okubo. 1992. Flower colors and pigments in hybrids with *Camellia chrysantha*. *Sci. Hortic.* 51: 251-259.
- 4) 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.
- 5) Miyajima, I., S. Uemoto, Y. Sakata, K. Arisumi and K. Toki. 1985. Yellow pigment of *Camellia chrysantha* Flowers. *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.* 29: 257-266.
- 6) Scogin, R. 1986. Floral pigments of the yellow *Camellia*, *Camellia chrysantha* (Theaceae). *Aliso* 11: 387-392.
- 7) Chang, H. T. and B. Bartholomew. 1984. *Camellias*. B.T. Batsford Ltd., London.
- 8) Chenery, E. M. 1955. A preliminary study of aluminium and the tea bush. *Plant Soil* 6: 174-200.
- 9) Matsumoto, H., E. Hirasawa, S. Morimura and E. Takahashi. 1976. Localization of aluminium in tea leaves. *Plant Cell Physiol.* 17: 627-631.
- 10) Markham, K. R. and T. J. Mabry. 1968. A procedure for the ultraviolet spectral detection of *ortho*-dihydroxyl groups in flavonoids. *Phytochemistry* 7: 1197-1200.
- 11) Tanikawa, N., T. Kashiwabara, A. Hokura, T. Abe, M. Shibata and M. Nakayama. 2008. A peculiar yellow flower coloration of camellia using aluminum-flavonoid interaction. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 77: 402-407.
- 12) Nakayama, M., M. Miyasaka, T. Maoka, M. Yagi and N. Fukuta. 2006. A carotenoid-derived yellow *Eustoma* screened under blue and ultraviolet lights. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 75: 161-165.
- 13) Hue, N. V., G. R. Craddock and F. Adams. 1986. Effect of organic acids on aluminum toxicity in subsoils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50: 28-34.
- 14) Takeda, K. 2006. Blue metal complex pigments involved in blue flower color. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B* 82: 142-154.
- 15) Yoshida, K., S. Kitahara, D. Ito and T. Kondo. 2006. Ferric ions involved in the flower color development of the Himalayan blue poppy, *Meconopsis grandis*. *Phytochemistry* 67: 992-998.
- 16) Shoji, K., N. Miki, N. Nakajima, K. Momonoi, C. Kato and K. Yoshida. 2007. Perianth bottom-specific blue color development in tulip cv. Murasakizuisho requires ferric ions. *Plant Cell Physiol.* 48: 243-251.
- 17) 資源植物事典. 1949. ツバキの項. pp. 465-467. 北隆館.