

バラの花色に関する研究. 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 II

有隅, 健一
九州大学農学部園芸学教室

<https://doi.org/10.15017/22929>

出版情報 : 九州大学農学部学藝雑誌. 21 (2/3), pp.169-184, 1964-12. 九州大学農学部
バージョン :
権利関係 :

バラの花色に関する研究. 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 II*

有 隅 健 一

Studies on the flower colours in *Rosa*, with special
references to the biochemical and genetic analyses
and to the application of those results to the
practical breeding. II

Kenichi Arisumi

緒 言

前報¹⁾ではバラにおける花色色素の構成の品種、系統、および「種」間差異の究明から、将来の新花色造成に関する問題点の把握と育種目標の設定に論及した。本報では主として flavonoid constitution と genetic constitution との関係について得られた結果を取扱うこととする。

従来、バラの育種は科学的に見て極めて不利な背景の下に推進されてきた。すなわち、バラは永年性作物であるためこれら作物に共通的な育種操作上の隘路を伴なうと同時に、個々の素材品種が遺伝子的に極めてヘテロかつはなはだしく多型であり、更に高次の倍数体であるため、その遺伝行動ははなはだしく複雑な様相を呈する。したがって、たとえ遺伝子分析が完成されていたとしても、これが直ちに科学的、合理的育種の遂行を意味しない場合も多い。個々の素材品種の遺伝子型をその表現型より正確に把握することは、遺伝的背景が複雑なだけに必ずしも容易とは言えないからである。

花色に例をとろう。バラでは同一の hydroxylation pattern に属する anthocyanin 同志が共存しうるのみでなく、異種の pattern に属するものも共存しうる。しかもその間の変異の推移は連続的に行なわれる。それ故、たとえば cyanin と pelargonin の如くその間の色調を相当に異にする anthocyanin 同志を問題とする場合でも、一方の存在はもとより、その間の量的比率を問題にする如き場合に至つては附帯的条件——carotenoidの共存や前報で述べた細胞内要因など——が加わるために、その間の細かい差異を實際

の花色から類推し、遺伝子型の相違として実際育種に反映させることは相当に困難である。いわんやその間の色調も近い同一の hydroxylation pattern に属する色素同志、あるいは多数の anthocyanin の共存の場面を問題にするような場合においては、これはまったく不可能と断じておさしつかえない。

本実験の最大の目的としたところは、上記のようにはなはだ不利な背景下に行なわれている栽培バラの実際育種に一般的、普遍的な指標を確立して科学的、合理的育種への道を拓くとともに、生化学的手法の実際場面への広範な応用性を検討することにあつた。

その結果、paper chromatography の援用により色素構成の迅速正確な把握はもとより、それが genetic constitution をも現わしていることが明らかとなつた。これは実際の表現型花色より一步を進めて flavonoid constitution の立場に立てば、バラの如きものにおいてもなお科学的、計画的実際育種の遂行が可能であることを意味するものである。

本研究を遂行するに当り、終始懇篤な御指導と御鞭撻を賜つた恩師九州大学名誉教授伊藤寿刀先生ならびに九州大学農学部教授福島榮二先生に衷心より深厚の謝意を表す。また、材料の提供や育種実験の機会を与えられた岡本勘治郎氏を始めとして、実験遂行上の協力を惜しまれなかつた吉武哲夫氏、教職員各位、ならびに京阪枚方公苑研究員各位に対して深い謝意を表すものである。

材料および方法

供用した材料は前報とは異なり若者育成の実生植物を主体とした。また実験の方法については、anthocyanin の分析法は前報で詳述した通りであるので省略し、ここでは前報でふれなかつた flavone につ

* 九州大学農学部園芸学教室業績。

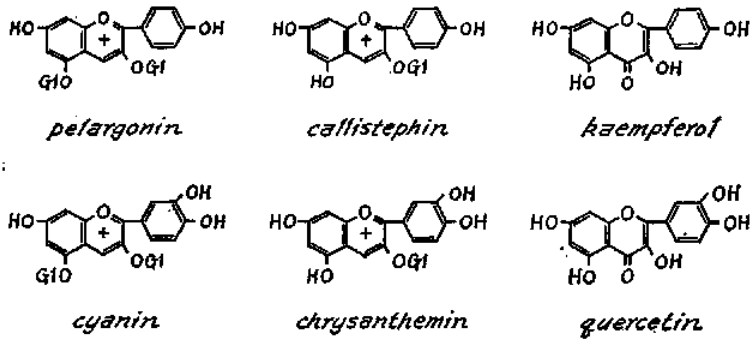


Fig. 1. Structural formulae for the main anthocyanins and flavonols relevant to the garden roses.

いて述べることにする。

その方法は吉武がバラの flavone について行なった実験法に準じたもので、本報では主として aglycone についての分析がなされた。すなわち、anthocyanin の場合と同様に 1% 塩酸または 1% 塩酸々性 methanol を用いて抽出し、methanol を含む場合はこれを完全に蒸発させて後 ethyl acetate をとりかえながら 5~6 回洗つて flavone を ethyl acetate 層に移す。次に ethyl acetate 層を乾固してから残渣に 5% 塩酸を加え、70°C で 1.5 時間加熱して加水分解を行ない、冷却後再び ethyl acetate を 3~4 回とりかえながら生成した aglycone を振りとり、これを chromatography 用の試料とした。

展開は一次元上昇法であり、濾紙は anthocyanin の場合と同様に主として東洋濾紙 No. 51 を用いた。また展開剤は acetic acid—water (60:40 および 15:85) および phenol—water (3:1) を主体とし、これに *iso*-propyl alcohol—water (60:40), *m*-cresol saturated with water, および butanol—acetic acid—water (4:1:5) を加用した。

吉武は純品との co-chromatography その他の方法でバラに含まれる flavone の同定を行ない、バラにおける flavone は厳密には flavonol であり、その aglycone として quercetin および kaempferol の 2 種が存在することを明かにしている。本実験においてもそれらの存在が確認された。その構造式を anthocyanin と併わせて第 1 図に示した。

一般に flavonoid 色素は $C_6-C_3-C_6$ の炭素骨格を持ち、その大部分が C_3 -部分で閉環して一方の benzene ring との間で酸素原子を含む複素環を構成している。この複素環形成に参与する benzene ring を A-ring, 側鎖として存在するものを B-ring とし

て区別する。B-ring おける水酸基の数と位置——hydroxylation pattern は以下の論議にしばしば取上げられる事項であるから注意されたい。

実験結果

Anthocyanin 相互の関係

前報でも触れたが *Chinenses* や *Floribunda* 系のバラには開花の時期によつて、到底同一品種とは考えられないほどの激しい花色変化を来すものがある。また、さほど極端ではないが、かかる傾向を持つものがそれぞれの品種の大部分を占める。その好例が *R. chinensis* var. *mutabilis* および《Masquerade》である。後者の chromatogram を第 2 図に示した。*R. chinensis* var. *mutabilis* も本質的にはこれと何ら異なるところはない。

開花直後は 3:5-dimonoside 型 anthocyanin である cyanin であつたのに対し、その色調に変化を来すと同時に 3-monoside 型の chrysanthemine が出現するに至つた。しかもその量は開花変色の度合に応じて増大した。逆の場合、すなわち 3-monoside→3:5-dimonoside なる関係はまつたく見出せなかつた。したがつて配糖体化 (glycosilation) に関して 3:5-dimonoside が 3-monoside に先行して生成されるという法則性の存在が指摘される。

しかも 3-monoside の量は開花変色の度合に応じて増大するのに対し、開花当初より存在する 3:5-dimonoside の量は変色後においても量的変化を来たさない。《Masquerade》の如く cyanin に対して圧倒的多量の chrysanthemine が出現するものでも、cyanin の chromatogram 上の見かけの量は肉眼による判定ではあるが殆んど変らなかつた。

更に、この色変りには光が関与する。変色を行なう

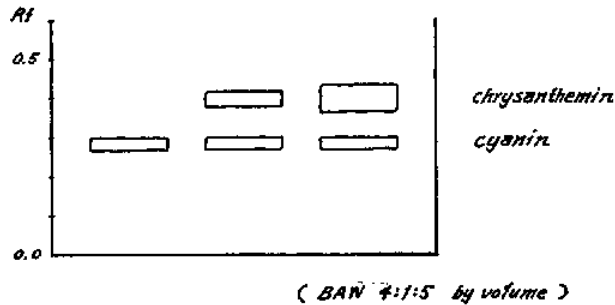


Fig. 2. Paper chromatogram of flower colours of "Masquerade" in various stages of flowering. From left to right; the bud stage, the intermediate stage and the full-bloom stage.

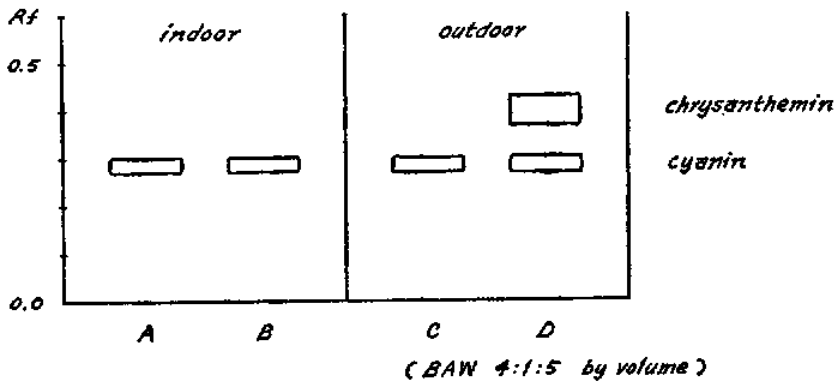


Fig. 3. Paper chromatograms of flower colours of "Masquerade" in different flowering conditions. A and B: From the cut flowers placed in indoor. A. The flowers at their early anthesis. B. Those at their full-bloom which have elapsed enough time to form the 3-monoside. The similar result was also obtained from the outdoor flowers which have remained under shading throughout. C and D: From the fully opened flowers in outdoor. C. From the colour-unchanged part under the shade of folded petals. D. From the colour-changed part received full sunshine. Both were obtained from the same flower. Quite similar results were also obtained from the varieties other than "Masquerade", which display the similar colour change during blooming.

部位は強い光の直射に曝された部分に限られる。したがって、極端に激しい変色を行なう品種でも、蕾の時に切つて室内にとり入れるか、また戸外にある時でも花卉が重なりあつて日光がとどかない部分ないしは適当な遮光を行なうと変色を行なわない。これら条件下の chromatogram の一例を第3図に示した。条件の如何に拘わらず、cyanin の量に変化を来たさない点が注目されよう。

なお、以上は cyanidin 型の《Masquerade》における変色に例をとつたが、他の cyanidin 型品種についても、また出現する色素数が多いだけで pelar-

gonidin 系色素が共存する場合の色変りについても、上記した事項はすべて妥当した。

次に、これら変色現象で anthocyanin の化学構造を同時に考慮した場合、極めて興味深い関係が見出された。その代表的 chromatogram を第4図に示した。見出された anthocyanin は cyanin, pelargonin, chrysanthemine および callistephin の4種であつたが、これを 3:5-dimonoside (cyanin および pelargonin) と 3-monoside (chrysanthemine および callistephin) とに分け、それぞれの chromatogram 上の見かけの量比に注目して、供試100品種について

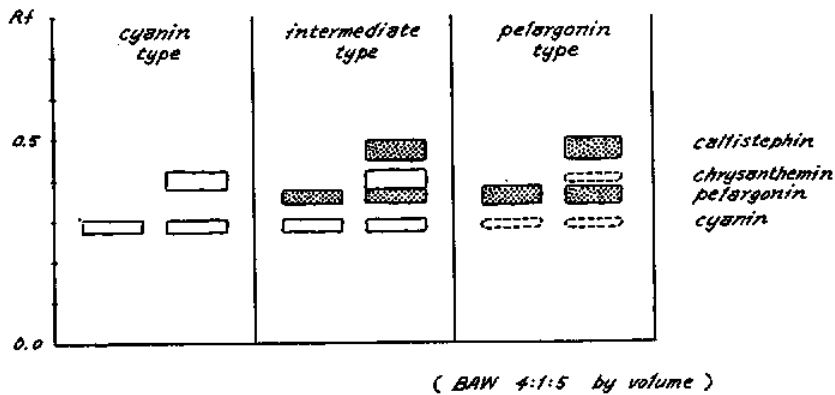


Fig. 4. Three typical paper chromatograms associated with the characteristic colour change. With each type, the left column represents the chromatogram from flowers at their early antheses, and the right one from those at their full bloom.

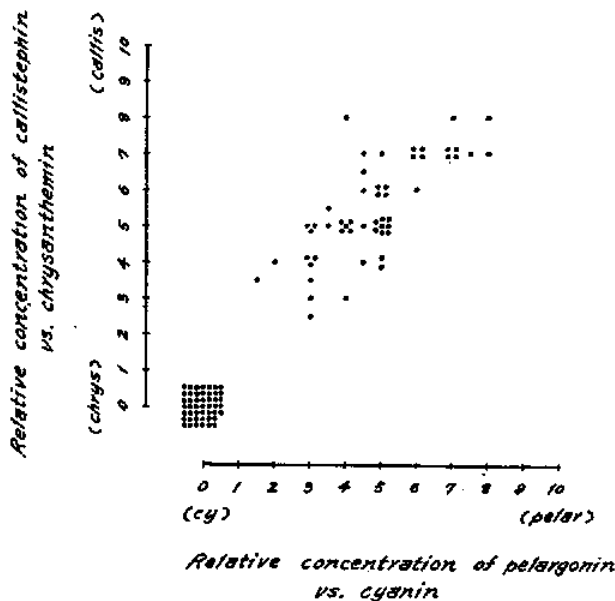


Fig. 5. Distribution of rose varieties having various anthocyanin constitutions in colour change phenomenon, showing the co-occurrence of anthocyanins which have the same hydroxylation pattern for their B-rings. Each dot represents one variety examined.

その anthocyanin 構成に関する変異の実態を示したのが第5図である。

ただし、本実験開始当初の1953年頃はまだ Floribunda 系品種は比較的少数で、特に pelargonidin 誘導体に関与する場合は cyanidin 誘導体の場合に比べ事柄が複雑であるにもかかわらず、かかる既成品

種が極めて少ないためその anthocyanin 構成の品種間差異を詳細に比較検討することは不可能な状態にあつた。それ故、著者の育成にかかる実生植物を多数加えた。その数は供試材料点数の約半数に及んだ。

さて、第5図より明らかな通りこの変色現象には cyanin と chrysanthemidin, pelargonidin と calliste-

phin とが常に相伴なう傾向がある。バラにおいて一般に見出される anthocyanin は cyanin や pelargonin の如き 3:5-dimonoside 型のものであり、その間の変異は典型的な cyanin 型品種より pelargonin 型品種へと連続的に推移している。ところで、この変色現象で注目されるのは、このような 3:5-dimonoside について cyanin 型より pelargonin 型へと移行するにつれて、開花変色に伴って出現する 3-monoside もこれに対応した chrysanthemine 型より callistephin 型への推移を示したことである。決して cyanin 型品種 (pelargonin free) に callistephin が現われたり、あるいは pelargonin 型品種 (少量の cyanin を含む*) に chrysanthemine が優勢に現われたりするような事例は見出されなかつた。その変異分布には多少の変動はあるにしても、ほぼ直線的な関係がある。これは上記の配糖体化に関する法則と併わせて、この変色現象には B-ring の hydroxylation pattern に関し同一の構造をもつ anthocyanin 同志が共存するという法則性の存在を示すものである。

交 雑 実 験

上記の如き B-ring の hydroxylation pattern に関して見出された法則性は anthocyanin と flavonol の間にも存することが確認された。すなわち、吉武 (未発表) は著者の上記 anthocyanin におけるとほぼ時を同じくして、200品種近くに上るバラの anthocyanin と flavonol との関係を検討し、pelargonin と kaempferol, cyanin と quercetin とのそれぞれの間にあたりに密接な共存関係が成立することを明らかにした。

* 現在までかかる 3-monoside 生成を行なうもので cyanin free の完全な pelargonin 型品種を見出していない。また、かかるものを得ようとして比較的これに近い品種、およびその次代間に繰返し交雑を重ねてきた著者の実験的余剰においても、まだ目的を達するに到らない。痕跡的に含まれる cyanin を完全に除去することには大きな抵抗が存在する。恐らく遺伝的に多数の微小変異因子が関与しているからであろう。いずれにしても、将来かかる完全な pelargonin 型品種がえられれば、その 3-monoside は callistephin のみで構成されているのではないかと考えられる。果してこの想定が当たっているか否か、3-monoside の生成過程の実態を解明することとも関連して興味深い課題であろう。

もともと、かかる色素の構造性とその分布との関係に最初に着目したのは、Geissman *et al.*⁹⁾ の *Dianthus caryophyllus* に関する事例を始めとするようである。ただ、当時は植物色素の分析に paper chromatography が導入される以前であり、その分析も木法によつたものではない。したがって、厳密な知見とは称しがたい。^{**} その後同じく Geissman 一派^{3,4,10,11)} は遺伝子型分析の進んだ *Antirrhinum majus* について詳細な花色分析を実施し、pelargonidin—kaempferol—apigenin と cyanidin—quercetin—luteolin なるそれぞれ異なつた 2 種の系列の共存関係があること、またそれらの間の相違は遺伝子的相違に基づくものであることを始めて明示している。

著者は前報において将来のバラ花色育種に対する幾つかの問題点を指摘した。これら問題点のうち多量の carotenoid と pelargonin との共存による花色の実現は、当面の最も重要かつ興味深い事項の一つであると考えた。

かかる育種課題の達成を目的とした場合、普通常識的にとられる方法は黄色品種と pelargonin 型品種との交雑であろう。この際、バラにおける上記の如き色素共存関係がただ単なる偶然の一致によるものでなく、*Antirrhinum majus* の場合の如く必然的、遺伝子的相違に基づくものとすれば、同一 pelargonin 型品種との交雑でも kaempferol 型黄色品種は quercetin 型黄色品種に比べて、より高い確率で pelargonin を次代植物に与えるであろうとの推論が成立つ。

本交雑実験の最大の目的としたところにかかる想定 の正当性を実証して上記育種目標の合理的かつ可及的速かなる達成を求めると同時に、更に花色色素の遺伝、育種全般の問題に関して広く寄与せんとすることにあつた。

供用した材料は〈Alpenglühen〉および数種の acyanic yellow 品種である。〈Alpenglühen〉は orange scarlet の花色を呈する Floribunda の一種で、pelargonin と cyanin とを相拮抗した割合で含むほぼ文学通りの中間型品種である。一方 acyanic yellow 品種としては Floribunda の〈Goldilocks〉、Hybrid Tea の〈Golden Rapture〉、〈McGredy's Yellow〉、〈E. J. Baldwin〉および〈Lydia〉の合計 5 品種を用いた。これらのうち前 3 者は quercetin

** 著者らの *Dianthus* 属における研究では quercetin がまつたく検出されぬ cyanidin—kaempferol なる共存関係をもつものが見出されている。

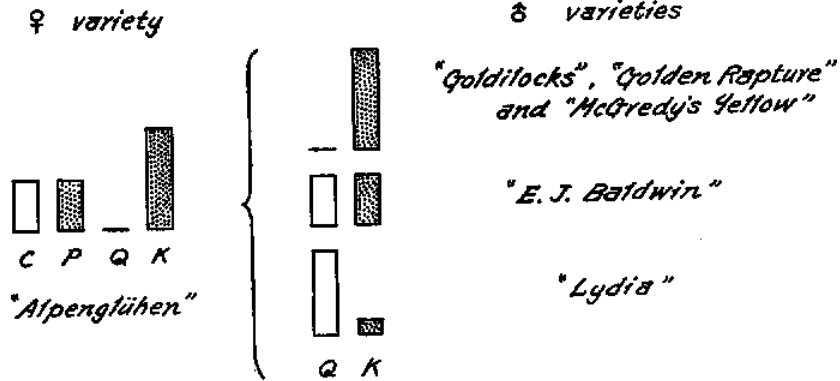


Fig. 6. Constitutional pattern of flavonoid components in the flowers of some garden roses employed in the crossing experiments. C, P, Q and K stand for cyanin, pelargonin, quercetin and kaempferol, respectively.

Table 1. Distribution of pelargonin in the resultant progenies of the crosses between "Alpengluehen" and some acyanic yellow roses which differ in their flavonol constitutions.

Index of relative concentration of pelargonin ¹⁾	Frequency of hybrid individuals raised by the crosses between "Alpengluehen" and each of "Golden Rapture", "McGredy's Yellow", "E. J. Baldwin", and "Lydia"			
	"Golden Rapture"	"McGredy's Yellow"	"E. J. Baldwin"	"Lydia"
0	—	—	5	37
1	—	2	4	7
2 - 3	8	7	3	3
4 - 5	13	15	1	1
6 and over	2	3	—	—
Total number of individuals examined	23	27	13	48

1) Index numbers are assigned according to the same basis as in Fig. 5. Index 0 denotes pelargonin free condition and 1 and larger values correspond to the increasing order of the relative concentration of pelargonin as compared to cyanin.

が殆んど認められぬ kaempferol 型, <Lydia> は吉武の調査したなかでは acyanic 型品種中最も高度の quercetin 型, <E. J. Baldwin> はそれらの中間型の品種である。それらの色素構成を第6図に模式的に示した。

これら数種の黄色品種と <Alpengluehen> との組合わせのうち <Goldilocks> とのそれでは、実生植物のすべてが外観からの識別でも明かに pelargonin の入った色調を示すもののみであつた。すなわち、非常に容易にこの色素が雑種後代に組み入れられることが判明したので、詳細な分析からは除外した。

その他の組合わせ、特に <Alpengluehen> × <Lydia> では pelargonin が極く少量含まれる個体

が混在してきたが、これらの実生を pelargonin free のそれと外観上より識別することはまったく不可能であつた。また <Golden Rapture> などとの組合わせでも、花色の淡いものではその判定が比較的困難であつた。それ故外観上の判定は一切行わず、すべて chromatography によつてその色素構成の綿密な比較検討を行なつた。その結果を anthocyanin について調べたのが第1表である。

表中の pelargonin についての指数とは cyanin および pelargonin の chromatogram 上における見かけの含量比率から定めた指数で、第5図と同一基準で示した。指数0は pelargonin free、また1以上は指数の大きいものほど pelargonin の cyanin に対する

相対量が大いもので、この類別によれば両色素含量がほぼ半半ばする《Alpenglühen》のそれは指数5に相当する。*

この表に明らかな通り、《Golden Rapture》や《McGredy's Yellow》の如き kaempferol 型黄色品種との組み合わせでは実生植物のすべてが多少に拘わらず pelargonin を含み、かつそれらの指数も比較的高く、4~5 が最も多く 2~3 がこれに次いでいた。また、《Alpenglühen》より更に指数の高いものも若干含まれていた。これに対し《Lydia》との組み合わせでは 48 個体中 37 個体、実に 77% が pelargonin free であり、またこれを含んでいる場合でも指数の低い実生植物が圧倒的多数を占め、《Alpenglühen》と同程度の指数を示すものは僅かに 1 個体 (2%) にすぎなかつた。中間型の《E. J. Baldwin》では供用した個体総数が少ないので厳密な断定はししがたいが、これら少数の個体群についてもなお両者の中間にあることが推定できた。

以上の結果は同じ acyanic yellow 品種でも quercetin 型より kaempferol 型に近づくにつれて pelargonin がいよいよ多量に雑種後代に移行することを示しており、本実験を企てた際に下した想定と完全な一致を見た。

なお、《Goldilocks》との組み合わせでは《Golden Rapture》や《McGredy's Yellow》との場合よりも更に pelargonin による色調を強く示す実生植物が多数を占め、厳密な分析を経ないでもその殆んどが高い指数値をもつものと判断された。したがって、その変異分布は《Golden Rapture》などのそれより更に高い指数値をモードとしたものであると考えられた。

次にこれら実生植物の flavonol 構成を検討し、そ

* この指数によれば *Galicanae* より Hybrid Perpetual に至る old rose の諸系統はすべて指数 0 であり、Hybrid Tea の大部分、Floribunda のかなりの部分がこの指数 0 に当る。また、指数 1 以上について既存品種中の代表例を挙げると、1 には《Baby Chateau》、2 には《Curly Pink》、3 には《Moulin Rouge》と《Queen Elizabeth》、4 には《Independence》と《Geranium Red》、5 には上記の《Alpenglühen》、6 には《Floradora》と《Spartan》、7 には 既成品種中には該当するものがないが、著者育成の実生中にはこれに相当するものが見出されている。8 には《Fashion》がある。しかし、cyanin を殆んど欠除する指数 9、および完全に cyanin free (指数 10) のものは現在まで既成品種中にも、また著者の実生中にもこれを見出してない。

これらの anthocyanin 構成との関係を併示したのが第 7 図である。

図から明らかなように、《Golden Rapture》および《McGredy's Yellow》に由来する実生植物群では、そのすべてが pelargonin を多少に拘わらず含んでいたが、その flavonol 構成は典型的な kaempferol 型に属するもののみで、quercetin 型はもとより中間型すらもまったくこれを見出すことができなかつた。一方《Lydia》との組み合わせでも、pelargonin を含む実生個体はその大部分が kaempferol 型であり、指数値の小さいものに若干の中間型が見られたが、quercetin 型はまったく存在しなかつた。これに対し、pelargonin を含まぬ cyanin 型では中間型または quercetin 型のいずれかであつて、kaempferol 型は 1 個体も見出されなかつた。すなわち、交配組合せの如何をとわず pelargonin を含むと kaempferol 型かせいぜい中間型であり、一方 cyanin 型は中間型か quercetin 型のいずれかであつた。

バラにおいては pelargonidin と kaempferol, cyanidin と quercetin との間にそれぞれ強い共存関係のあること、更にこれら 2 系列間の相違は遺伝子の相違に基づくものであると想定を下したこと先に記した通りであるが、本交雑実験の結果によつてもその正当性が十分に実証されたと言えよう。

考 察

3-monoside 型 anthocyanin の生合成について

花蕾の成熟に伴ないその植物特有の花色を発現することは一般の現象である。しかし、このバラの場合における如く開花後に至つて著しくその花色を変える、なかんづく花色を濃くするという植物は比較的少なく、またその要因の分析が行なわれた事例も乏しい。著者の知る限りでは僅かに *Carthamus tinctorius* があるのみである。この花は開花直後こそ黄色であるが数時間で orange の色調が現われ始め、10 時間もすれば完全な赤色を呈するに至る。Shimokoriyama *et al.*¹²⁾ によれば、その要因は leucopigment である dihydrocarthamin が polyphenoloxidase または peroxidase によつて酸化され、有色の carthamin を生じるからである。しかし、この場合糖の変化は関与していないとしている。したがって、花色を変えるという現象上は同じでも、その要因に関して両者はまったく異なつていと言わねばならない。

なお、一般に 3:5-dimonside 型 anthocyanin の

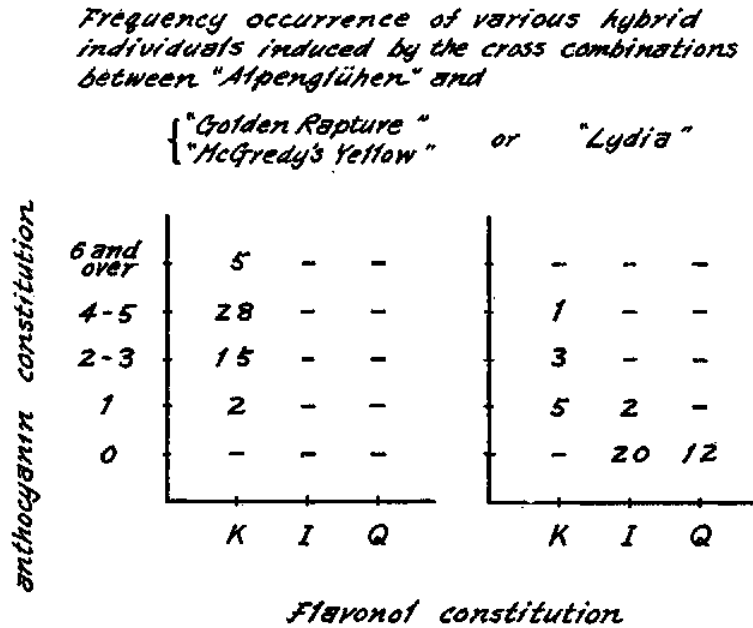


Fig. 7. Comparison of the different constitutional patterns between anthocyanin and flavonol in those hybrid progenies presented in Table 1. K, I and Q stand for kaempferol, intermediate, and quercetin type, respectively. Numerical values represent the number of individuals assigned to those different classes of flavonoid constitution.

生成は 3-monoside のそれに対し遺伝的に優性であるとされている。それ故に、バラにおける 3-monoside の生成は開花の時期により見かけの上で優性形質の劣性形質への転換が行なわれていることになり、この点でも特異な現象であると言えよう。

この 3-monoside 型 anthocyanin の生合成過程には第 8 図に示した如く、次の 2 つの対立仮説が考えられる。すなわち、

- (1式) 先に生成された 3:5-dimonoside の 5 の位置の糖が外れて 3-monoside になる。
- (2式) 3:5-dimonoside と 3-monoside とは生合成の中途まではまったく同じ経路をとるが、ある階梯より全然別の経路に入り、それぞれ 3:5-dimonoside と 3-monoside になる。

前式はその生合成の経路が直線的なもので 3:5-dimonoside を 3-monoside の直接の前駆物質とする考え方であり、後式は枝分れしているとする見方である。いま前式が当たっているとの考えをとれば次の如き矛盾を生じる。

- (i) 一般の Hybrid Tea その他の系統はもちろん

のこと、Floribunda のなかでも花色に変化を来たさないかまたはそれが軽微なものは、3:5-dimonoside → 3-monoside なる過程に参与する酵素系を欠くか、またはこの部分が強く block されていると考えられるから、当然かかるバラでは開花後 3:5-dimonoside の著しい集積が期待されるはずである。しかし、実際にはかかる事実認められない。

- (ii) 《Masquerade》や *R. chinensis* var. *mutabilis* の如く 3:5-dimonoside に比し遙かに多量の 3-monoside の生成がおこるものでも、3:5-dimonoside の開花直後および変色後の chromatogram 上の見かけの量は殆んど変らない。著者育成にかかる多数の実生植物を含め、花色変化を来たすもので供試しえた 100 種類以上に亘つて、この関係は常に妥当した。

上記の 3:5-dimonoside が 3-monoside の直接の前駆物質であるとする考えをとれば、3:5-dimonoside の量は変色後においては減少するかないしは完全に消失し去つていてよいはずであ

side の前駆物質 (x) からの生成 (反応 a) とその無色物質への転化 (反応 b) の両反応速度が互に平衡していること、(2) 後者の反応の阻害がバラに存在しないこと (若し阻害があれば 3:5-dimonside の集積が当然期待されるが、実際にかかるバラは存しない)、および (3) 一般の変色現象を示さぬバラは無色物質の 3-monside への転化 (反応 c) を支配する酵素系を欠くが、変色を行なうものはこれを持ち、かつこの反応が光によつて左右される、との 3 つの仮説を設定すれば上記した事項はすべて説明が可能であろう。

前記のように、anthocyanin 色素相互の間には B-ring の hydroxylation pattern を同一にした色素同志が共存するという法則性が見られた。すなわち、3:5-dimonside 構成について cyanin 型より pelargonin 型へと次第に推移するにつれて、3-monside 構成についても chrysanthemine 型より callistephin 型へと相対化した推移を示す。したがって、変異の様相を位置づけるとほぼ直線的な分布を示した (第 5 図)。しかし、詳細に検討するとその間にかんりの変動が見られた。その好例が 3:5-dimonside の指数値 4 のところで、3-monside について最低の指数値は 3 であるのに対し、最高指数値は 8 で 3:5-dimonside の指数値 7~8 のものに相当する高い値である。もちろん、これは肉眼の判定による位置づけであるから、図上における距離が接近したものの間には多少の見誤りはあるかもしれない。しかし、この 2 つの品種間における差は見誤りによる差を遙かに越えたものであり、他のものについても本質的にかかる“ズレ”があるものと考えなければならない。つまり pelargonin と callistephin, cyanin と chrysanthemine との間には大筋としては強い平行的共存の関係があるが、また多少の歪みが介在することも事実である。

このことは、次のように解釈するのが最も当をえているようである。すなわち、3:5-dimonside と 3-monside とは B-ring の構造の如何を問わず、その生成の過程は大筋として同じ経過をたどるが、比較的後期の階梯よりは別の経路に入る。そして遺伝子的にそれぞれ異なつた支配を受けてその生成が進行するものである。つまり、その過程が枝分れしているとする見方である (第 8 図 2' 式)。しかし、この場合においてもなお第 8 図 3 式の如く考えれば、すなわち反応 b または c に関与する酵素~酵素系の pelargonidin および cyanidin 系基質に対する基質特異性に品種間

差異があると仮定すれば、直線的仮説を完全に捨てさせることも出来ないであろう。

要するに、3:5-dimonside と 3-monside との生成はその過程のある階梯以後はそれぞれ別の経路をとつて行なわれるものと考えの方が望ましい。しかし、その間に無色物質の介在を考えれば、直線的な経路を完全に否定させることも不可能である。ただし、この場合多くの仮定を必要とする。特に 3:5-dimonside がそれが生成される量とほぼ同量だけ常に無色物質に転化するという仮定は、かりにバラの場合には成立しようとしても他の植物一般に妥当するかどうか。開花当初と数日後における花色に著しい色素量の変化を伴う植物の事例が一般に見られないだけに、大いに疑問である。少なくともその無色物質が有用なものでない限り、単なる仕事の空費ということになるからである。

なお、第 8 図では hydroxylation の階梯を一応 glycosilation の前段において示したが、当面の変色現象についてえられた著者の実験結果のみから、これら両階梯の順序を論議することは困難である。この点に関しては flavonol との関係をも総合して、後日吉武 (未発表) によつて論議される予定である。

いずれにしても、バラにおけるこの 3-monside の生成は極めて特異な現象であり、その詳細な解明は flavonoid 色素全般の生成過程の解明とも関連して行く問題である。今後さらに詳細な検討を必要とするゆえんである。今日まで継続されてきた遺伝生化学的な問題の解析が遺伝子と形質との間を埋め、ひいては遺伝子そのものの本質、あるいはその作用性の実態の解明に向けられているものであるとすれば、本問題の解明も究極するところそれと連なる意義をもっているわけである。

なお、この特異な 3-monside 生成に関連して、callistephin の生成にも考察を加えておく必要がある。酵素的に注目すべき現象と考えるからである。

この色素は一般の栽培バラや自然種はもとより、3-monside 生成能をもつ *R. chinensis* においてさえこれを認めることができなかった。また pelargonidin 系 anthocyanin の生成能をもつ *Polyantha* 系においても、一般に検出される anthocyanin は cyanin および pelargonin の如き 3:5-dimonside であり、callistephin は例えこれを検出した場合で

もかろうじて chromatogram 上に認知しうる程度の極微量であった(前報を参照せられたい)。したがって、その存在が本質的なものか、あるいは花卉からの分析試料調整の過程や展開操作途上における pelargonin の部分的加水分解による生成物であるかの識別は、はなはだ困難であった。

現在までの知見では、多量の callistephin の生成が行なわれるのは Floribunda 系にのみ限られている。つまりこの系統の成立以前には、callistephin はバラ属に未知の anthocyanin であつたとも言うことができよう。このことは次の事実を示すものではなからうか。すなわち、*R. chinensis* における 3-monoside 生成経路、および Polyantha における pelargonidin 誘導体生成経路とを支配する 2 種の酵素系が、Floribunda において始めて強固に結合され、そこに色素前駆物質から最終色素に至る平坦かつ完全なルートの開拓がなされ、その結果として callistephin 合成が始めて可能になつたのである。このことはまた、遺伝的に遠縁の系統あるいは「種」間に交雑を行なえば、互にその酵素系を補足しあうことにより、多量の新しい植物体内成分の生成が起りうる可能性のあることを示唆するものであろう。

また、木実験に関する限りかかる特異な 3-monoside 生成現象で paeonidin-3-monoside の生成も判然とは認められなかつた。^{*}

前報で明かにしたように、栽培バラで paeonin をもつものは極めて少数に止まつた。Floribunda についてその具体例をあげても《Red Pinocchio》、《Ruby Lips》、および《Piccolo》の 3 品種があるに過ぎない。そのうち前 2 者は可なり強い 3-monoside 生成能をもち、開花後に至ると多量の chrysanthemine の形成が見出される。しかし paeonin は微量に過ぎない。つまり、paeonidin 誘導体に至る経路そのものが全般的に貧弱なためか、その 3-monoside である paeonidin-3-monoside の生成は確実に認知しえない程度に止まるものの如くである。これに対し、《Piccolo》では cyanin に対し比較的少量の paeonin を形成する。その意味では paeonidin 誘導体に至る経路は cyanidin へのそれとある程度拮抗しうる程度の可なり強力なものであると見えよう。しか

^{*} 自然種中にはこの anthocyanin と考えられる色素を見出す例が若干知られている。ただし、その生合成の機構はここに問題としている場合とはまったく異なっているものの如くである。

し、本品種では上記 2 品種とは逆に 3-monoside 生成能が微弱であるため、やはり paeonidin-3-monoside の生成を確認することができなかった。

したがって、将来これらの品種間で paeonin の含量を高めるような育種の操作を加えると同時に、強力な 3-monoside 生成能をあわせ賦与した場合、果して多量の paeonidin-3-monoside の生成が起りうるか否か、callistephin の場合に下した想定 of 正当性を裏付ける意味からも興味ある今後の課題であると言えよう。

花色育種について

前報の結果でも明らかな通り、従来からの育種の結果一応改良の極致に達しているときえいわれているバラの如きにおいても、生化学的手法の組織的、系統的な採用によつて色素構成の品種、系統間差異を十分に究明することによつて、将来の新たな育種目標の明確な設定が可能であることがわかつた。これら育種上の新課題のうち pelargonin の導入に関するもの、なかんづく多量の pelargonin と carotenoid との組合わせの実現は、当面の最も重要かつ興味深い事項と著者は考えた。

その際、anthocyanin 相互の間にも、また吉武(未発表)によれば anthocyanin と flavonol との間にも、B-ring の hydroxylation pattern を同一にする色素同志が共存するという法則性が見られることは先に記した通りである。また、特異な開花後の変色現象については 3:5-dimonoside の生成が常に 3-monoside のそれに先行して行なわれるという法則性の存在も既に記した。これらの事実は flavonoid 色素の生合成がまったく任意の条件下に行なわれるものではなくて、遺伝子の厳格な支配下に極めて整然と行なわれるものであることを意味するものであろう。

いまかかる想定が当をえているとすれば、前者の法則性よりして同一の pelargonin 型品種を一方の親とする組合わせのうちでも、kaempferol 型黄色品種は quercetin 型のそれよりも、遙かに高い確率で pelargonin を雑種後代に導入しうるであろうとの推測が成立つ。

かかる推測の下に著者が実施した交雑実験の結果では、その正当性が全面的に実証された。すなわち、《Alpenglühchen》との組合わせに関して《Golden Rapture》や《McGredy's Yellow》のような kaempferol 型品種の場合は、実生植物のすべてが

pelargonin を含みかつその指数値も比較的高かつたが、quercetin 型の《Lydia》の場合では pelargonin が組入れられる確率は極めて低く、しかもその成功した場合でも実生植物の大部分は低い指数値を示した。また、中間型の《E. J. Baldwin》との組み合わせでは両者のほぼ中間の結果をえた。

さらに、これらの実生植物の flavonol 構成を検討したところ、交配組み合わせの如何をとわず anthocyanin として pelargonin を含むと kaempferol 型かせいぜい中間型であり、一方 cyanin のみのものは中間型か quercetin 型かのいずれかで、kaempferol 型はまったく認められなかつた。

上記事例は cyanic 品種を一定母本とし、これに flavonol 型を異にする幾つかの acyanic 品種を交配した場合であつたが、同様の結果は逆に acyanic 品種を一定母本とし、これに anthocyanin 型を異にする諸品種を交配した場合についてもえられた。例えば、《Goldilocks》や《Golden Rapture》にそれぞれ pelargonin 指数を異にする幾つかの cyanic 品種を交配したところ、それら品種の指数値如何によつてその遺伝的行動に可なりの相違が見受けられた。ただし、この場合は上記のような paper chromatography を援用しての詳細な比較検討を行なつていないので、厳密な断定は下しがたい。しかし、指数値の大きいものとの組み合わせほどやはり pelargonin が次代に組入れられる確率ならびにその実生群の示す指数値も、それに対応して大きくなる傾向が明らかに観察された。

同様なことは cyanic 型品種同志の組み合わせにも妥当した。やはり pelargonin 指数の大きい実生植物を高い確率でえようとすれば、指数値の大きいもの同志の交配組み合わせの方が然らざる場合よりも明かに好結果をえた。

著者が今までに行なつてきた膨大な数に上る交配組み合わせについて、その実生個体1つ1つの flavonoid 構成を丹念に調べ上げることは到底不可能なことであつた。しかし、《Alpenglühchen》と flavonol 型を異にする各種の黄色品種との組み合わせを行なうに当つて設定した予測とその後えられた結果との一致は、その他の種々の組み合わせの場合においても常によく妥当することを認めた。少なくとも、これにまつたく背馳するような結果は取扱つた多数の組み合わせについて、膨大な数に上るそれぞれの実生植物を通じて、これを見出すことが出来なかつた。

以上の結果はバラにおける B-ring の hydroxyli-

ation pattern を同一にする色素同志の共存、すなわち pelargonin—callistephin—kaempferol および cyanin—chrysanthemine—quercetin なる共存関係がただ単なる偶然の一致によるものでなく必然的、遺伝的に規制せられるものであることを示す。すなわち、これら2種の系列の相違は遺伝子的相違に基づくものであり、*Antirrhinum majus* における場合に比べて関与する色素に多少の違いこそ見られるが、Geissman *et al.*^{3,4,10,11} のえた結論と完全な一致を見たわけである。

このことはバラの如く永年性かつ倍数体で、しかも個々の素材品種が常にヘテロな形のまま交雑改良が繰返されてきたもので、その新育種を考える場合特に重要であろう。バラでは同一の anthocyanidin 系列に属する色素同志が共存しようと同時に、異種の系列に属する anthocyanin がしばしば共存し、しかもその間の変異は連続的に推移する。また、carotenoid の共存や細胞内要因の如き附帯的条件もこれに加わる。したがつて、実際の phenotypic な花色のみに依存して素材品種としての価値を判断したり、あるいは色調の近い2種以上の anthocyanin が共存する場合でこれら色素を簡い分け一定方向への淘汰を強行するなどの場合には、大きな危険が伴うことを覚悟しなければならぬ。関与する条件が複雑な場合は最初から完全な誤ちを犯していることもありうるであろう。

しかしながら、上記の如く flavonoid constitution よりその genetic constitution を推知しうるわけであるから、flavonoid constitution さえ判明しておれば実際の交配結果にまたなくてもその際の際に最も適切な素材品種の選択や、その結果の予測が前以つて可能とならう。少なくとも、可視的な花色に依存した育種より遙かに合理的である。この意味でバラにおいても計画的、科学的育種遂行の可能なことを実証したものと考える。ここにまた将来の新花色の育成に当つて、paper chromatography が重要な武器としてその縦横な駆使が望まれる理由もある。実際の育種に際してわれわれが取扱う形質は著しく多岐にわたる。その場面で問題とされるのはこれらすべての形質にわたつて如何にして確率の高い組み合わせを見出すかにかかつている。したがつて、花色だけについてもできるだけ確率の高いものにしておくことは極めて重要なことである。前報で多量の pelargonin と carotenoid との共存は今後バラ花色の1つの中心をなす花色だと考えたが、その速やかな実現も上記法則に則つて始めて

可能となつた次第である。

ただ、以上は主として pelargonin の導入を主体に論じたものである。したがつて、anthocyanin としては cyanin と pelargonin との相互関係、厳密には flavonoid 色素の hydroxylation level の問題にほぼ限定されていた。そこに上記理論を適用する場合自ら限界があるとも言えよう。

前報でも論じたように主として自然種に見出される paeonin, あるいは 3-monoside 型 anthocyanin (Floribunda や *R. chinensis* に見出されるものとは生合成の機構が異質のものようである) の栽培バラへの導入も今後の 1 つの興味ある育種課題であるが、これらについては本報では触れなかつた。前者の paeonin についてバラで差当つての問題は paeonin と cyanin との相互関係であり、後者では 3-monoside と 3:5-dimonoside との相互関係であるが、これらの際でも上記のような育種の基準がどの程度まで妥当するものかは——少なくとも anthocyanin constitution (flavonoid constitution ではない) がその genetic constitution を指すものであることは当然考えうるところであるが——今後広範な検討を要する問題である。何となれば、paeonin についてこれに相当する B-ring をもつ flavonol; isorhamnetin が paeonin を含むバラにも見出せなかつたからである。つまり、anthocyanin と flavonol との関係について B-ring の hydroxylation pattern を同一にする色素同志が共存するという法則性はこの場合にも厳存するが、これを methylation の領域にまでは拡大しえないからである。したがつて、paeonin の導入については上記とは別に更に想を新たにして出発しなければならぬ点もあるわけである。少なくとも本問題を対象とした実際育種で、flavonol constitution をその指標としてこれを利用することはできない。いずれにしても、このような methylation に関して anthocyanin と flavonol 色素との間に相違が見出されることは、究極するところ flavonoid 色素の生合成における hydroxylation と methylation の両過程がどの順序でどの時期に行なわれるかに由来する問題であり、3-monoside 型 anthocyanin の導入を企てる場合にも glycosilation の過程の如何によつては、これに類似した問題がこころいなるものと予想される。

更にまた、B-ring の hydroxylation pattern についての上記の如き明快な法則性がどの程度普遍的な真

理であるかについても疑問が残る。このことについてはその後他の植物についても検討が加えられた。すなわち、*Solanum phureya* について Harborne,⁶⁾ *Primula* について Harborne et al.,^{8,9)} *Lathyrus odoratus* について Harborne⁷⁾ および著者ら⁸⁾ の研究がある。それらの結果によれば材料植物の相違によつてその実態に幾分異なつたところは認められるが、いずれも *Antirrhinum majus* の場合および本実験のバラの場合と原則的には一致していることが明らかにされている。

しかし、これが植物界全体を律する普遍的法則であるかどうか、少なくとも上記したそれぞれの植物には妥当する事実であることは否定できないにしても、これら少数の植物についてえられた結果で全体を律するものかどうか、あるいは真理の一部しか伝えていないということもありうるかも知れない。また、ここでは詳しくは触れないが、B-ring の構造を同一にする色素同志の共存があるといつても anthocyanin と flavone との間には前述した anthocyanin 相互間に見出されたよりも遙かに大きな“ズレ”が見られる。しかもその“ズレ”の程度は供試植物の如何によつて異なつていようであり、また同一植物でも花や葉の如き植物の部位によつて、その色素構成に相違が見出される場合があるという事実も明らかにされている。

いずれにしても、これら hydroxylation や上記した methylation, glycosilation についての詳細かつ広範な問題の解決は単に実際育種という応用場面のみならず、flavonoid 色素全般の生合成の機構とこれに対する遺伝子の作用性の実態の解明、あるいは色素構成と植物進化との関係の把握など、より本質的な問題とも関連してくる重要事項であり、今後更に広範な植物を対象として詳細な追求を要する問題点である。

摘 要

前報において将来のバラ花色の育種に関し、いくつかの問題点を指摘した。これら問題点のうち pelargonin の導入、特に多量の pelargonin と carotenoid との共存は最も緊要かつ有望な事項と考えた。本研究はそれが可及的速かな実現をはかるとともに、更に花色育種一般に関する指標を確立して、複雑な背景の下に推進されてきている従来のバラ育種に科学的方向を賦与することを最大の目的としたものである。

R. chinensis や Floribunda のある種のバラ品種においては開花後著しくその花色が変動する。その原因

として 3-monoside 型 anthocyanin の形成にあることが明らかとなった。またこの現象に関連して, glycosilation については 3:5-dimonoside が常に 3-monoside に先行して生成されること, および B-ring の hydroxylation についてはそのレベルを同じくする anthocyanin 同志の共存, すなわち, pelargonin—callistephin と cyanin—chrysanthemine なる一連の共存関係が成立していること, の2つの法則性の存在を明らかにした。

この 3-monoside 生合成の形態については 3:5-dimonoside が 3-monoside の直接の前駆物質であるとする見方と, これら両配糖体はある階梯より以後はそれぞれ別々の経路に入つて生成されるという2種の対立仮説が考えられるが, この変色現象に伴う諸種の形質に鑑み後者の方がより当をえているものと考えた。しかしながら, その間に無色物質の介在を考え, かついくつかの仮定を置けば, 前説の可能性も完全に否定しきすることはできない。

また, callistephin は Floribunda 系の一部に顕著に認められる 3-monoside であるが, これが Floribunda に発現するに至つた要因について考察を加えたとともに, 特に種, 属間交雑の如き遺伝的に遠縁のもの間における交雑育種を問題にしている場合にこれがかつ意義についても言及した。

つぎに, パラには anthocyanin と flavonol との間にも B-ring の hydroxylation pattern を同じくする色素同志の共存関係が存することが, 吉武によつて明らかにされている。これと上記の各種 anthocyanin 相互の共存関係より考えて, 同一の pelargonin 型品

種を片親とした交雑に際しても kaempferol 型黄色品種との間の方が, quercetin 型の場合よりも一層高い確率で pelargonin を実生植物に伝えうるであろうとの推定の下に, 交雑実験を企てた。その結果は上の想定と完全な一致を見た。すなわち, flavonol 構成が quercetin 型より kaempferol 型へと移行するにつれて pelargonin が実生植物に組入れられる確率, ならびにその cyanin に対する相対的含量もそれに対応して高くなつた。また, これら実生植物は交配組合わせの如何にかかわらず, その flavonoid 色素構成は常に pelargonin—kaempferol および cyanin—quercetin なる共存関係を示した。

これらの結果は, パラに見出される B-ring の hydroxylation pattern を同じくする色素同志の共存関係, すなわち pelargonin—callistephin—kaempferol および cyanin—chrysanthemine—quercetin なる関係がただ単なる偶然の一致によるものでなく, 明らかな遺伝子的相連に基づくものであることを示すものである。これはまた, 将来の花色育種をより合理的, 計画的に進める上に拠るべき基準を与えたものである。またこれと関連して, paper chromatography の実際育種への広範な導入の必要なことを示すものといえる。現に著者はこの基準に基づいて多くの交雑育種を試み, 多量の pelargonin と carotenoid との共存による斬新な花色をもつたパラの速かな造成にも成功を収めている。

付記: 前報の第9表に誤りがあつたので下記の様に訂正します。(* 訂正したところ)

Table 9. Anthocyanin constitutions in various garden and species roses, showing especially the highly frequent occurrence of forms containing paeonidin derivatives in the latter.

Strain	Frequency distribution of varieties containing;						Total number of varieties examined
	cyanin	chrysanthemine	pelargonin	callistephin	paeonin	paeonidin 3-monoside	
<i>Gallicanae</i>	40(100.0)	4 (10.0)	—	—	1 (2.5)	—	40
Bourbon	13(100.0)	—	—	—	—	—	13
Hybrid Perpetual	21(100.0)	5 (23.8)	—	—	—	—	21
Hybrid Tea	129(100.0)	41 (31.9)	6 (4.4)*	2 (1.6)*	1 (0.8)*	—	129
Tea	6(100.0)	6(100.0)	—	—	—	—	6
Noisette	2(100.0)	—	—	—	—	—	2
<i>Chinenses</i>	7(100.0)	7(100.0)	—	—	1(14.3)	—	7
Floribunda	48(100.0)	43 (89.6)	26 (54.2)	23(47.9)	3 (6.3)	—	48
Polyantha	11(100.0)	1 (9.1)	11(100.0)	1 (9.1)	—	—	11
Natural Species	33 (97.1)	7 (20.6)	—	—	19(55.9)	4(11.8)	34

Numerical values in brackets present the percentage occurrence of varieties containing respective anthocyanin within the total number of varieties examined.

引用文献

- 1) 有嗣健一, 1963. バラの花色に関する研究. 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 I. 九大農学芸誌, 20: 131.
- 2) 福島栄二・吉武哲夫・有嗣健一, 1961. スイートピー (*Lathyrus odoratus* L.) における花色の分析. 園芸学会研究発表要旨 (春), 1961: 40.
- 3) Geissman, T. A., Jorgensen, E. C. and Johnson, B. L., 1954. The chemistry of flower pigmentation in *Antirrhinum majus*. color genotypes. I. The flavonoid components of the homozygous P, M, Y color types. Arch. Biochem. Biophys., 49: 368.
- 4) Geissman, T. A. and Harborne, J. B., 1955. Ditto IV. The albino (-mm-nn) form. Ibid., 55: 447.
- 5) Geissman, T. A. and Mehlquist, G. A. L., 1947. Inheritance in the carnation, *Dianthus caryophyllus*. IV. The chemistry of flower color variation, I. Genet., 32: 410.
- 6) Harborne, J. B., 1960. Plant polyphenols. 1. Anthocyanin production in the cultivated potato. Biochem. J., 74: 262.
- 7) Harborne, J. B., 1960. Flavonoid pigments of *Lathyrus odoratus*. Nature, 187: 240.
- 8) Harborne, J. B. and Sherratt, H. S. A., 1958. Flavonoids of the *Primulaceae*. Ibid., 181: 25.
- 9) Harborne, J. B. and Sherratt, H. S. A., 1961. Plant polyphenols. 3. Flavonoids in genotypes of *Prinula sinensis*. Biochem. J., 78: 298.
- 10) Jorgensen, E. C. and Geissman, T. A., 1955. The chemistry of flower pigmentation in *Antirrhinum majus*. II. Glycosides of PPmmYY, PPMYY, pmmYY and ppMMYY color genotypes. Arch. Biochem. Biophys., 54: 72.
- 11) Jorgensen, E. C. and Geissman, T. A., 1955. Ditto III. Relative anthocyanin and aurone concentrations. Ibid., 55: 389.
- 12) Shimokoriyama, Y. and Hattori, S., 1955. On the formation of carthamin in the flowers of *Carthamus tinctorius*. Ibid., 54: 93.

Résumé

1. Some of the Floribunda roses and *R. chinensis* change their flower colour remarkably with the progress of anthesis. "Masquerade" and *R. chinensis* var. *mutabilis* are the typical examples.

Such colour change was revealed chromatographically to be derived from the formation of the anthocyanins which have the 3-glycosidic configuration such as chrysanthemins and callistephins. These 3-monosides were scarcely detectable in flowers at their early stages of anthesis, but after full bloom a large amount of these pigments became to be recognizable. Any one example could not be met with, where such 3-monoside appearing in the flower bud stage was followed with entirely new formation of the 3:5-dimonoside towards the full blooming stage. Therefore, with regard to the glycosylation there could be noticed the existence of a law that the formation of the 3:5-dimonoside is always preceded by the formation of the 3-monoside.

Moreover, if the pre-existing 3:5-dimonoside was exclusively cyanin, the 3-monoside formed after full bloom was exclusively chrysanthemins, and when pelargonin prevailed against cyanin, callistephin predominated over chrysanthemins. With the gradual change of the 3:5-dimonoside constitution from cyanin to pelargonin, the corresponding shift from chrysanthemins to callistephin was revealed. Thus, there has been established a persistent rule that the anthocyanins having the same hydroxylating pattern for B-ring show co-occurrence in this characteristic colour change.

2 Concerning the biosynthetic pathway towards the formation of the above-mentioned 3-monoside, the following two alternative possibilities have been presented. Firstly, the 3:5-dimonoside is considered to be the direct precursor of the 3-monoside and the splitting off the glucose residue at 5 position of the former becomes to form the resultant 3-monoside. Secondly, both the 3:5-dimonoside and the 3-monoside are derived from a certain common precursor, i. e., first following the same pathway to a certain stage of the biosynthetic processes, and since then diverging into the different pathways.

The former scheme will be the case, where we ought to expect the following phenomena; (i) The disappearance of the 3:5-dimonoside in roses showing the characteristic colour change with the progress of efflorescence, (ii) The accumulation of the 3:5-dimonoside in the ordinary roses which are lacking such a characteristic colour change, because those roses are more or less deficient in an enzymatic system which catalyzes the splitting off the glucose residue at 5 position of the 3:5-dimonoside. But above these were not the cases.

And moreover, this colour change is strongly affected by light intensity. The flower parts which develop the 3-monoside are confined to the parts which have received the full sunshine. The chromatograms obtained from those materials were presented elsewhere in Fig. 3, and according to the former hypothesis we can not duly explain the situation where the relative concentration of the 3:5-dimonoside stayed unchanged throughout whole the materials obtained under different environmental conditions of light.

On account of the above reasons and others the latter hypothesis seems to be rather preferable. But the possibility of the linear pathway, the former hypothesis, could not be entirely excluded if we suppose the intervention of a certain colourless substance and under several additional assumptions.

3. The formation of callistephin, i. e., pelargonidin-3-monoglucoside, seems to be an enzymologically noteworthy phenomenon in connection with that of the 3-monoside. The former pigment did not occur in forms of *R. chinensis* which has the faculty for synthesis of 3-monoside. And in the Polyantha roses which are capable of forming a large amount of pelargonidin derivatives, the anthocyanin usually occurred in this category was confined only to pelargonin, i. e., pelargonidin-3:5-diglucoside. Callistephin occurred very rarely and even if it happened the amount was so small that it could hardly determine whether it existed originally or was derived from the partial hydrolysis of pelargonin during the preparation of sample or the executing of analysis. A large amount of this pigment was confined exclusively to the Floribunda roses.

Such situations would be duly interpreted as follows; the coupling of these two enzymatic systems, one concerning with the formation of the 3-monoside and the other of the pelargonidin derivatives, will operate complementally with each other and will become to open the steady route to callistephin. This would also suggest the possibility of occasional formation of the entirely new substances under the crossings within the genetically distant forms or among the species having different enzymatic systems.

4. The situation which reveals the co-occurrence of anthocyanins having the same B-ring configuration was also made clear by T. Yoshitake (unpublished) on his studies concerning the inter-relationship between anthocyanins and flavonols. Thus, in roses two different patterns of co-occurrence of flavonoid components, i. e., cyanin—chrysanthemine—quercetin and pelargonin—callistephin—kaempferol, were confirmed.

And from the following experiments such situations were clearly proved not to be a fortuitous coincidence, but to be derived under a certain genetic background. In the crossing experiments between a Floribunda rose and several acyanic yellow varieties, i. e., between a form containing pelargonin and the forms having different flavonol constitution, the following facts were ascertained that the crosses with yellow roses of kaempferol type could entirely afford the offspring having pelargonin, while the cross with quercetin type produced almost exclusively the pelargonin-free individuals. With the shift of flavonol constitution from quercetin to kaempferol in the used paternal yellow varieties, the resultant progeny showed the corresponding shift, i. e., both the percentage occurrence of pelargonin and also its relative concentration vs. cyanin became progressively higher. And moreover, irrespective of the cross-combinations those individuals containing pelargonin were of rigid kaempferol type or nearly so, but the pelargonin-free ones were of quercetin or of intermediate type, respectively.

These results suffice to show that the inferring the genetic behaviours of certain forms will be quite possible from their flavonoid constitutions and also that with the genetically very complex ornamentals such as garden roses the deliberate selection of suitable materials for the new breeding is easily practicable.

5. In the author's previous paper, the several breeding projects were presented concerning the future flower colours of garden roses. Among those practical projects the introduction of pelargonin and, moreover, the realization of co-existence of a large amount of pelargonin and carotenoid, were assumed to be one of the most fascinating and urgent projects. And in the present experiment such breeding object was more or less completely and rapidly attained, through the crosses between the yellow varieties of kaempferol type, whose flavonol constitutions are completely quercetin-free, and those of pelargonin type, which show the highest relative concentration of pelargonin as compared with cyanin.