

平成 22 年 5 月 21 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2009

課題番号：19580035

研究課題名（和文） 熱帯産花木ジャカランダの開花習性の解明と新規鉢物生産技術の確立

研究課題名（英文） Investigation of flowering habits and establishment of pot production technique in Jacaranda

研究代表者

宮島 郁夫 (MIYAJIMA IKUO) 九州大学・熱帯農学研究センター・准教授

研究者番号：20182024

研究成果の概要（和文）：南米原産の花木であるジャカランダ (*Jacaranda mimosifolia*) の北部九州における形態的花芽分化の開始期は 4 月初旬であることがわかった。ジャカランダの花芽形成には低温 (15°C) に 1 ヶ月以上遭遇することが必要であり、正常な開花には 2 ヶ月以上の低温期間が必要であると思われた。ジャカランダ花弁の主要アントシアニンマルビジンに複数のグルコースと脂肪族有機酸が結合したアシル化アントシアニンであると推定された。

研究成果の概要（英文）：Flower bud differentiation of *Jacaranda mimosifolia* which originated in South America has started at the beginning of April and become to anthesis at June. More than 2 months of cold (15 °C) period seems to be necessary for normal flowering whereas more than 1 month of cold period has been required for flower bud differentiation in *J. mimosifolia*. The major flower anthocyanin of *J. mimosifolia* has been presumed as acylated anthocyanin combined with aliphatic acid.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2008 年度	900,000	270,000	1,170,000
2009 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：園芸・造園学

キーワード：熱帯、花木、ジャカランダ、花芽分化、鉢物

1. 研究開始当初の背景

ジャカランダ (*Jacaranda mimosifolia*) はブラジル南部からアルゼンチン北部の乾燥した亜熱帯地域に自生する高木性の花木である。ジャカランダは初夏、葉の展開に先だつて薄青紫色の花を枝先に房状につけるため、

開花時は樹冠が青紫色の花で覆われ、その美しさから熱帯花木のなかでもっとも観賞価値が高いとされる。この観賞性の高さから世界各地で街路樹や庭園木として植えられているが、わが国では一部の無霜地域で植栽されているのみでその利用は限定的なもので

あった。しかしながら、近年では花芽付きの接ぎ木苗が生産されるようになり、今後需要の拡大が見込まれる新規な鉢物花木として市場関係者に注目されている。しかしながら、ジャカランダの花芽分化の条件や生理生態的な特性はほとんど解明されていないため、その鉢物生産は経験に頼らざるをえないのが現状である。

一般に、植物の花芽分化には温度や日長が影響を及ぼすことが知られているが、ジャカランダのような熱帯および亜熱帯性の花木の開花サイクルは、雨季と乾季のない地域では「周年開花型」、雨季と乾季が明瞭な地域では「休眠あけ開花型」、もしくは「生長期開花型」の3パターンに分けられるといわれる(坂崎, 1998)。ジャカランダの原産地であるアルゼンチンでは、通常、乾季が明けた10月～11月(日本での開花は6月上旬から7月上旬)にかけて開花することから「休眠明け開花型」植物と考えられるが、花芽分化の引き金となる要因は明らかにはされていない。

2. 研究の目的

本研究では、まずジャカランダの自然条件下における花芽分化期を正確に把握し、つぎに、ジャカランダの花芽分化条件を明らかにする。さらに、ジャカランダの実生を材料として植物生長調節剤(矮化剤)処理により花芽分化の誘導が可能であるか検討し、可能であればジャカランダの実用的な鉢物生産技術として確立させる。

3. 研究の方法

(1). 自然条件下における新梢伸長および花芽分化調査

2005年11月18日、12月19日、2006年1月18日、2月17日、3月17日、4月17日、5月17日に1回目の調査を行い、2007年4月2日、4月16日、5月2日、5月16日に2回目の調査を行なった。

それぞれの調査日に九州大学農学部構内に植栽されている14年生ジャカランダの発育中庸な茎頂部(直径7～12mm)を6～8枝採取しFAA液(70%エタノール:ホルマリン:酢酸=18:1:1)で固定した。固定後の試料は、水、エタノールおよび空気を除去するために5段階のブタノールシリーズで脱水・置換を行なったのち、60°Cでパラフィン浸透させてからブタノールを蒸発させ

パラフィン包埋した。包埋後の試料は回転式ミクロトームを用いて厚さ約10 μ mの縦断切片にし、乾燥後、0.05%トルイジンブルー水溶液で10分間染色した。染色後の試料はさらに1日間乾燥させ、ほぼ等量のキシレンで希釈したカナダバルサムで封入したのち光学顕微鏡で観察した。観察した茎頂部の発育ステージを第7表の定義に基づき、IからVIIまでの7段階に分類した。

(2). 制御環境下における花芽分化調査

2006年4月および2007年4月にジャカランダの2年生実生を台木とし、九州大学農学部構内に植栽されているジャカランダ成木の前年伸長枝を穂木として接ぎ木した。接ぎ木後は無加温ガラス温室内で通常の管理で栽培し、栽培全期間を通じて無加温ガラス室内で栽培する区以外の株はすべて2007年10月1日に九州大学生物環境調節センターの自然日長下のファイトトロン25°C区に搬入した。その後、25°C恒温条件下で栽培する区、および2007年12月1日からファイトトロン15°C条件下で2週間、1, 2, 3および4ヶ月間栽培したのちに25°C条件下で栽培する区の7処理区を設け、シュート長、着蕾株数、開花株数について調査した。

(3). 実生苗に対する植物生長調節剤処理

ジャカランダの実生苗を材料に、スミセブン、B9などの植物生長調節剤処理を行なって、開花に対する植物生長調節剤の種類、処理濃度および処理時期の効果を調査した。

(4). ジャカランダ花卉の主要なアントシアニン色素の定性

①アントシアニンの精製

*J. mimosifolia*の開花当日の花弁を採取し、送風乾燥器内で一昼夜乾燥させた。得られた乾燥花弁(約5g)を10%ギ酸に一晩浸漬してアントシアニンを抽出し粗抽出液を得た。得られた粗抽出液を水で平衡にしたダイアイオンHP-20(500g, SUPELCO製)を充填したガラスカラム(直径6cm×70cm)に通してアントシアニンを吸着させ、4Lの蒸留水で洗浄し未吸着物質を除いた。つぎに、カラムに吸着したアントシアニンを5%ギ酸メタノールで溶出したのち、得られた溶出液を40°C以下で減圧乾固した。乾固したアントシアニンを少量の10%ギ酸に溶かして

紙 (ADVANTEC No.1) でろ過した。アントシアニン色素ろ過液を 5%ギ酸 50%エタノールで平衡にしたセファデックス LH-20 (200g, ファルマシア社製) を充填したガラスカラム (直径 5cm× 70cm) に通し、同一の溶液でアントシアニン色素液を溶出した。

②花卉アントシアニンの構成

カラムクロマトグラフィーにより精製されたアントシアニン色素液を、40°C 以下で減圧乾固したのち、少量の 10%ギ酸で溶かし、HPLC 前処理用ディスクフィルター (0.45 μm, 25mm) でろ過したのち HPLC により分析した。HPLC のポンプは LC-20AD (島津製作所製)、記録計は C-R6A (島津製作所製)、カラムオーブンは CTO-10A (島津製作所製)、検出器は SPD-10AVP (島津製作所製) を用い、検出波長を 520nm とした。カラムは COSMOSIL 5C₁₈-MS- II (直径 4.6mm× 250mm, ナカライテスク製) を用い、A 液 (1.5%リン酸水溶液)、B 液 (1.5%リン酸, 20%酢酸, 25%アセトニトリル) を用いて、40 分間で B 液濃度を 20%から 85%に変化させる濃度勾配溶出を行った。流速は 1.0ml/min とした。

③花卉内主要アントシアニンの単離と粉末化

先の HPLC 分析で明らかになったジャカラランダ花卉の主要アントシアニン (A-1) を以下の方法で単離した。

HPLC のポンプは LC-6AD (島津製作所製)、記録計は C-R6A (島津製作所製)、カラムオーブンは CTO-10A (島津製作所製)、検出器は SPD-10AVP (島津製作所製) を用い、検出波長を 520nm とした。カラムは COSMOSIL 5C₁₈-AR- II (直径 20mm× 250mm, ナカライテスク製) を用いた。流速を 1.0ml/min とし、展開溶媒 A 液 (10%ギ酸水溶液)、B 液 (10%ギ酸, 40%アセトニトリル) を用いて 25 分間で B 液濃度を 20%から 50%に変化させる濃度勾配溶出を行った。得られた A-1 の色素溶液を 40°C 以下で減圧、濃縮後、ごく少量の 1%塩酸メタノールを加え、さらに、約 10 倍量のジエチルエーテルを加えてアントシアニンを沈殿させた。沈殿物を 10ml の遠心管に移したのち、3000rpm で 3 分間遠心分離して室温にて通風乾燥ののち、粒状の水酸化ナトリウムを入れたデシケータ内で減圧乾燥し A-1 の色素粉末を得た。

④酸加水分解

単離した A-1 の色素粉末を少量の 10%ギ酸に溶かし、等量の 2N 塩酸を加え、100°C に設定したヒーティングブロック (ヤマト製) で 60 分間加水分解した。加水分解後、等量の蒸留水を加え、Sep-Pak カートリッジ C₁₈ (Waters 製) に通してアントシアニンを吸着させ、充分量の蒸留水で洗浄して高極性の夾雑物を除去した。ついで、50%酢酸 2ml を加えてアントシアニンを溶出して HPLC 分析用の試料とした。分析条件は②と同様とした。

⑤部分加水分解

単離した A-1 の色素粉末を少量の 10%ギ酸に溶かしたのち、等量の 2N 塩酸を加え、④と同様に 100°C で酸加水分解を行った。0, 5, 10, 30 分後に反応液を採取し、HPLC を用いて分析した。HPLC 分析条件は②と同様とした。

⑥結合糖の定性

④の Sep-Pak カートリッジ C₁₈ 処理で溶出した水層を減圧濃縮した後、セルロース薄層クロマトグラフ (以下 TLC) 用の試料とした。試料を標品のグルコース、ガラクトース、アラビノース、ラムノース、キシロースとともに、TLC プレート (Pre-coated TLC plates CEL 400-10, MERCK 製) に点着し、BAW (n-ブタノール : 酢酸 : 水 = 4 : 1 : 2) で展開した。展開完了後には TLC プレートを充分乾燥させ、アニリン水素フタル酸塩 (アニリン 0.93g, フタル酸 1.66g, 水飽和ブタノール 100ml) を噴霧して加熱した後、現れたスポットを観察した。

さらに、試料と標品のグルコース、ガラクトースおよびアラビノースを HPLC により分析した。HPLC のポンプは LC-10AD (島津製作所製)、記録計は C-R6A (島津製作所製)、カラムオーブンは CTO-10A (島津製作所製)、検出器は RID-6A (島津製作所製)、カラムは Shim-pack SCR-101N (直径 7.9mm× 300mm 島津製作所製) を用い、カラム温度は 40°C とした。溶媒には蒸留水を用い、流速は 0.7ml/min とした。

⑦ 脱アシル化アントシアニンとその結合有機酸の分析

単離した A-1 の色素粉末を少量の 10%ギ酸に溶かしたのちに窒素ガスを通しながら、色素液が緑褐色になるまで 10%水酸化ナトリウム水溶液を加えて、45 分間室温に放置した。その後、10%塩酸水溶液を徐々に加えて酸性

に戻したのち、ろ過して A-1 の脱アシル化アントシアニンの HPLC 分析を行った。HPLC の条件は②と同様とした。

さらに結合有機酸の安定性を検討するため、A-1 を 10% 酢酸水溶液および 1% 塩酸メタノール水溶液にそれぞれ溶かし、TLC と HPLC で分析した。TLC の展開溶媒には酢酸：塩酸：蒸留水=15：3：82 と BAW を用いた。また、HPLC の分析条件は②と同様とした。

4. 研究成果

(1). 自然条件下における新梢伸長および花芽分化調査

ジャカラнда頂芽の顕微鏡観察の結果、11 月から 3 月までに採取したジャカラндаの頂芽には花芽は形成されていなかった。4 月 16 日に採取した茎頂のサンプルの一部で茎頂周辺部の隆起がみられた (Fig. 1)。そこで、この時期を花芽分化開始期 (ステージ III) とみなした。また、同日に調査した 19 芽のうち 4 芽がステージ III よりも花芽の発達が進んでおり、花芽原基の形成 (ステージ V) が開始した茎頂もみられた。5 月 2 日には調査した 13 芽のうち 7 芽がステージ III よりも花芽分化が進んでいた (ステージ VI)。5 月 16 日には調査したすべての茎頂で花房が認められ (ステージ VII)、6 月初旬には開花が始まった。

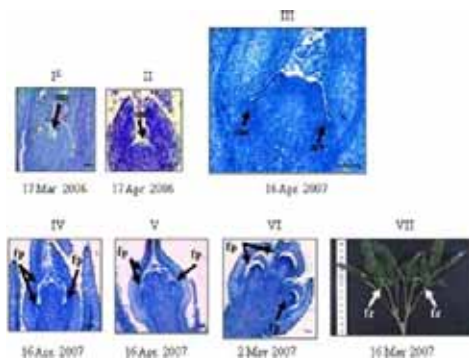


Fig. 1. Microphotograph of floral differentiation in *J. mimosifolia*. (Bar=0.1mm)
am=apical meristem, fp=floral primordium, fc=flower cluster

このことから、北部九州ではジャカラндаの形態的花芽分化は 4 月初旬に始まり、その後、花芽の発達は急速に進み、ステージ VII 以降は花房の伸長とともに小花が形成され、6 月初旬に開花に至ることが明らかになった。

(2). 制御環境下における花芽分化調査

15°C で 4, 3, 2 および 1 ヶ月間栽培した区と、無加温ガラス温室内で栽培した区では着蕾が認められたが、15°C・2 週間栽培区と、25°C 恒温条件下区では着蕾が認められなかった (Table 1)。これらのうち、15°C で 4, 3, 2 ヶ月間栽培した区および無加温ガラス室区では着蕾したすべての株が開花に至ったが、15°C・1 ヶ月栽培区では、花蕾が極端に小さく開花に至らずに落蕾した。着蕾株数および開花株数が最も多かったのは 15°C・3 ヶ月栽培区であり、同 4 ヶ月栽培区が続いた。

Table 1. Effect of cold treatment on flowering of grafted *J. mimosifolia*.

Treatment	No. of plants examined	No. of plants with flower buds	No. of flowering plants
1 15°C, 4 months	3	2	2
2 15°C, 3 months	3	3	3
3 15°C, 2 months	4	1	1
4 15°C, 1 month	4	1	0
5 15°C, 0.5 months	4	0	0
6 15°C, 0 month	2	0	0
7 Unheated glasshouse	3	1 ^a	0

^aDead

さらに、異なる温度環境下におけるジャカラндаの着蕾枝と非着蕾枝別のシュート長の経時変化をみると、処理区 3, 4, 5, 6 および 7 において非着蕾枝では、2 月上旬から下旬にかけて急激なシュートの伸長がみられ、その後花芽を形成せずに栄養成長を続けた。一方、15°C・4 ヶ月栽培区では、低温期間中にシュートの伸長ははじまったが、花芽が形成されるとシュートの伸長は停止し、その後、4 月中旬に開花した。また、15°C で 3 または 2 ヶ月間栽培した区では、低温期間中はシュートはほとんど伸長しなかったが、25°C に移動後、急激に伸長し、その後茎頂に花芽が形成されるとシュートの伸長は停止し開花に至った。15°C・1 ヶ月間栽培区では、15°C から 25°C へ移動した直後はシュートの急激な伸長はみられなかったが、2 月初旬にシュートの伸長ははじまり、2 月 22 日には花芽が確認された。

以上のことから、ジャカラндаの花芽形成には低温 (15°C) に 1 ヶ月以上遭遇することが必要であり、花芽形成後はシュートの伸長が停止しその後開花に至るが、低温期間が全くない場合 (25°C 恒温区)、およびその期間が短い (15°C・2 週間) 場合には花芽は形成

されないことがわかった。また、低温（15°C）に1ヶ月遭遇すれば花芽は形成されるが、その後落蕾したことから、正常な開花には少なくとも2ヶ月以上の低温期間が必要であると判断された。

(3). 実生苗に対する植物生長調節剤処理

2008年度に植物生長調節剤処理によるジャカラダの鉢物生産技術の確立を目指したが有益な結果を得ることはできなかった。

(4). ジャカラダ花弁の主要なアントシアニン色素の定性

ジャカラダの花弁には総アントシアニン量に占める含有率が5%以上のアントシアニンが3種類含まれていた（Fig. 2）。このうち保持時間16.3分に出現するアントシアニンの含有率は63%で、最も主要なアントシアニンであった。そこでこれをA-1とし、先に述べた分取HPLCにより単離精製し、以下の実験に供した。

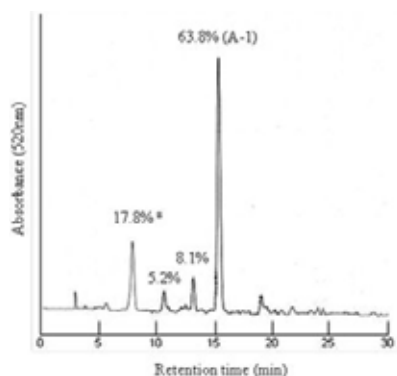


Fig. 2 HPLC chromatogram of anthocyanins in the petals of *J. mimosafoia*.
* Percentages of constituents of anthocyanins.

まず、A-1の酸加水分解を行い、アントシアニジンの標品とのコ・クロマトグラフィーを行ったところ、A-1のアグリコンはマルビジンであることがわかった。

単離したA-1を100°Cで5分間または10分間酸加水分解すると、アントシアニンであるマルビジンの他に2種類の間中生成物が認められた。このことからA-1はマルビジンに糖が複数、もしくは糖と有機酸が結合した構造を有していることが示唆された。

また、HPLC分析の結果、A-1の結合糖はグルコースであることが明らかとなった。

A-1のアルカリ加水分解後の溶液をHPLC

により分析すると、加水分解前のサンプルよりもピークの保持時間が早くなった。このことから、A-1は有機酸が結合しているアントシアニンであることが示唆された。

一般に、植物の組織内には広くアシル化アントシアニンが含まれているが、脂肪族有機酸やウロン酸でアシル化したアシル化アントシアニンは塩酸メタノール中では塩酸の触媒によりアントシアニンとアルコールとのエステル化が起こるといわれるが、このエステル化は50%酢酸水溶液中では起こらない。このため、これら2種類の溶媒中でのアシル化アントシアニンの挙動を調べることで結合有機酸の種類を予め知ることができる。今回の実験においては、2種類の溶媒でそれぞれ溶解したA-1のサンプルのHPLCの保持時間に違いがみられ、またTLCのRf値にも違いが見られた。このことより、A-1は強酸に対し不安定な反応を示す有機酸が結合していると考えられ、脂肪族有機酸やウロン酸等でアシル化されたアントシアニンであると推察された。

以上の結果を総合すると、完全な構造決定はできなかったが、ジャカラダ花弁の主要アントシアニンA-1はアントシアニンとしてマルビジンを持ち、それにグルコースが複数結合して、さらに、脂肪族有機酸が結合したアシル化アントシアニンであると推定された（Fig. 3）。

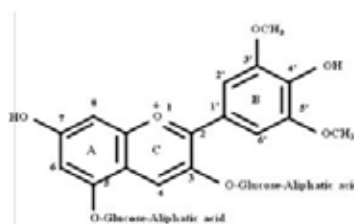


Fig. 3 Hypothetical structure of major anthocyanin (A-1) in the petals of *J. mimosafoia*.

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計0件）

〔学会発表〕（計3件）

- ① 宮島郁夫・竹村智佳・尾崎行生・大久保敬・Diego Mata・小林伸雄，熱帯性花木ジャカラダの花芽分化期について，園芸学会平成19年度秋季大会，2007年10月1日，香川大学。

- ② 宮島郁夫・竹村智佳・尾崎行生・大久保敬・
Gabriela Facciuto・小林伸雄, 熱帯性花木
ジャカラランダの花粉貯蔵法, 園芸学会平成
20年度春季大会, 2008年3月29日, 東京
農業大学.
- ③ 竹村智佳・宮島郁夫・尾崎行生・大久保敬・
Gabriela Facciuto・小林伸雄, ジャカラ
ランダの接ぎ木株の花芽分化に及ぼす低温処
理の影響, 園芸学会平成20年度秋季大会,
2008年9月29日, 三重大学.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮島 郁夫 (**MIYAJIMA IKUO**)
九州大学・熱帯農学研究センター・准教授
研究者番号: **20182024**

(2) 研究分担者

尾崎 行生 (**OZAKI YUKIO**)
九州大学・大学院農学研究院・准教授
研究者番号: **60253514**
小林 伸雄 (**KOBAYASHI NOBUO**)
島根大学生物資源科学部・教授
研究者番号: **00362426**

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号: