

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月13日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22580035

研究課題名（和文） 熱帯産花木ジャカラダの種間交雑不和合性の解明と打破に関する研究

研究課題名（英文） Studies on inter-specific cross incompatibility of *Jacaranda* originated in tropical region

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）：青紫色花のジャカラダと赤紫色花とのオオバジャカラダの種内および種間交配を行なったところ、種内交配に比べて種間交配の着果率はきわめて低かった。これらの交配における花柱内での花粉管の行動を調査したところ、交配48時間後に胚珠まで到達した花粉管の数はジャカラダの種内交配では多かったが、種間交配では少なかった。このことから、ジャカラダの種間交配にみられる低い着果率は、胚珠まで到達する花粉管が少ないことが原因であると思われる。

研究成果の概要（英文）：We attempted interspecific crossing between *J. mimosifolia* and *J. cuspidifolia*. A relatively high frequency of fruit set was observed in crosses of *J. mimosifolia* x *J. cuspidifolia*, whereas very little fruit set was observed in the reciprocal cross (*J. cuspidifolia* x *J. mimosifolia*). Based on microscopic observations, pollen tubes penetrated the style and reached the ovary in crosses of *J. mimosifolia* x *J. cuspidifolia*. On the other hand, few pollen tubes reached the ovary in *J. cuspidifolia* x *J. mimosifolia* crosses. Thus, it seems that pollen tube penetration was restricted in pistils somehow in this cross combination and few fertile seeds were obtained as a result.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
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：農学、園芸・造園学

キーワード：花卉、熱帯花木、種間交雑不和合性

1. 研究開始当初の背景

ジャカラダ (*Jacaranda mimosifolia*) はアルゼンチン北部を原産とする高木性の花木で、初夏、ラベンダー色の花を枝先に房状につけ、その美しさからもっとも観賞価値が高い熱帯花木のひとつといわれている。ジャカラダは世界各地で街路樹や庭園木として

利用されているが、播種から開花までには10年前後を要し、しかも開花時には2 m以上の樹高となるため鉢物としての利用はほとんど見られない。近年では、開花年齢に達した成木から採取した穂木を接ぎ木する方法で鉢物のジャカラダを生産する場合もあるが、その数量はわずかなものにすぎない。

ところで、ブラジル南部からアルゼンチン北部にかけて自生するオオバジャカランダ(*J. cuspidifolia*)は花数が少なく、花色は赤色味が強いいため形態的にはジャカランダに劣るものの、播種後2年目に低樹高で開花するという特性をもっている。研究代表者の宮島は、樹高が60~150cm、播種から1年半で開花するジャカランダとオオバジャカランダとの雑種個体を作成したが(第1図)、雑種個体の獲得率が低いいため優良な形質をもつ個体の選抜はできていない。



第1図. ジャカランダとオオバジャカランダとの雑種個体

通常、ジャカランダの種内交雑では約90%の結果率が得られるのに対し、ジャカランダとオオバジャカランダとの種間交雑の結果率は4~5%ときわめて低いことから、これら2種間には種間交雑不和合性が存在するものと思われる。

植物の種間交雑不和合性にはそれが発現する生育段階により、受精前不和合性と受精後不和合性に大別される。すなわち、前者では柱頭上での花粉の不発芽や花柱内での花粉管の伸長不能により、また、後者では胚乳異常、胚乳崩壊、奇形胚形成によって正常な種子が得られない。ジャカランダとオオバジャカランダとの種間交雑の場合では、わずかながらも雑種を得ることができることから、これら2種間の交雑不和合性は完全なものではないが、交雑阻害の要因は明らかではない。

2. 研究の目的

本研究では、ジャカランダとオオバジャカランダとの種間交雑不和合性の要因を明らかにするとともに、その打破法を検討する。さらに、得られた結果をもとに多くの雑種個

体を獲得し、最終的にはジャカランダの優良な鉢物用品種の育成を目指す。

3. 研究の方法

(1). 形質調査

葉の形態調査(羽片数、羽片長、羽片幅、羽片あたりの小葉数など)と花色素構成を調査し、ジャカランダとオオバジャカランダのそれぞれの特性を明らかにする。特に、両種の花弁に含まれる主要なアントシアニンについては以下の方法で分析した。

J. mimosifolia および近縁種の *J. cuspidifolia* の乾燥花弁を10%ギ酸水溶液に一晩浸漬し、得られた粗抽出液をメンブランフィルターでろ過後 HPLC で分析した。HPLC 分析は LC-20AD (島津製作所製) を用い以下の条件で行った。カラム: COSMOSIL 5C₁₈-MS-II (直径4.6 mm × 長さ250 mm, ナカライテスク製), カラム温度: 40°C, 移動相: A 液 (1.5%リン酸), B 液 (1.5%リン酸, 20%酢酸, 25%アセトニトリル), 濃度勾配: B 液濃度を 20-85% (40分), 流速: 1.0 ml/min, 検出波長: 520 nm. さらに, *J. mimosifolia* および *J. cuspidifolia* のそれぞれの乾燥花弁約 30 g から 10%ギ酸水溶液により色素を抽出し, カラムクロマトグラフィー (ダイアイオン HP-20 およびセファデックス LH-20) により精製した。その後, LC-6AD (島津製作所製) を用い, 分取 HPLC により主要なアントシアニンを単離した。分取 HPLC の条件は以下の通りである。カラム: COSMOSIL 5C₁₈-AR-II (直径 20 mm × 長さ 250 mm, ナカライテスク製), カラム温度: 35°C, 移動相: A 液 (10%ギ酸), B 液 (10%ギ酸, 40%アセトニトリル), 濃度勾配: B 液濃度を 30-40% (25分), 流速: 9.0 ml/min, 検出波長: 520 nm. これらの条件で単離・精製したアントシアニン溶液を減圧下で濃縮後, 少量の 0.1%塩酸-メタノールを加えたのちエチルエーテルで沈殿させ粉末化した。得られた粉末を用いて MS および NMR 分析を行った。

(2). 交雑不和合性の要因解明

ガラス温室内で維持されているジャカランダとオオバジャカランダとの相互交配を行い(5月~6月), 柱頭上での花粉発芽, 花柱内での花粉管の行動, 受精, 胚発育を観察し, 交雑不和合性の要因が受精前不和合性か受精後不和合性のいずれかを明らかにする。

九州大学農学部無加温ガラス温室内で維持されているジャカラランダ7系統と、オオバジャカラランダ1系統を供試した。2010年5月下旬から2010年7月上旬の開花時期にガラス温室内にて、ジャカラランダの種内交配およびジャカラランダとオオバジャカラランダの種間交配を行った。交配6, 12, 24および48時間後に雌ずいを6本ずつ採取し、FAA溶液（ホルマリン：酢酸：70%エタノール＝5：5：90（V/V/V））で24時間浸漬して固定した後、70%エタノールで置換し5℃で保存した。観察時に1N水酸化ナトリウムで24時間軟化させ、0.1Nリン酸三カリウム溶液に0.1%のアニリンブルーを溶解したアニリンブルー液で1時間染色した。それらをスライドガラス上で押しつぶした後、蛍光顕微鏡で花粉管の観察を行った。

(3). 交雑不和合性の打破法の検討

前項の結果を踏まえ、受精前不和合性もしくは受精後不和合性それぞれに適した方法でジャカラランダとオオバジャカラランダの交雑不和合性の打破を試みる。すなわち、受精前不和合性であれば花柱切断受粉法やメントール法を適用し、受精後不和合性であれば胚培養法を援用する。

(4). 雑種個体の形質調査と優良個体の選抜

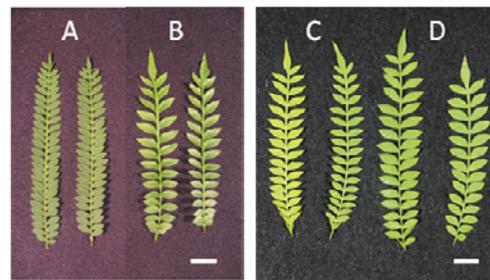
九州大学農学部無加温ガラス温室内で維持されている2009年5月に交配して同年秋に採種し、2010年4月に播種したジャカラランダ×オオバジャカラランダのF₁雑種52個体、オオバジャカラランダ×ジャカラランダのF₁雑種50個体を材料とした。また、交配親に用いたジャカラランダとオオバジャカラランダも材料とし、葉の形態調査（葉長、葉幅、小葉長、小葉幅、葉あたりの小葉数、羽片数）を行った。葉長についてはもっとも茎の近くから派生している羽片の基部から葉の先端までを計測した。

4. 研究成果

(1). 形質調査

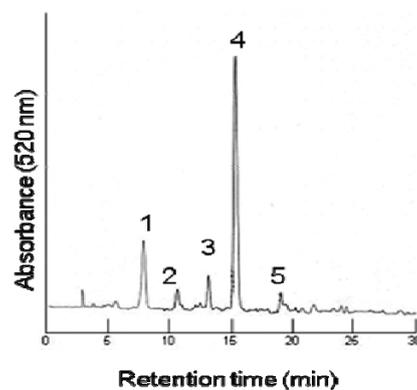
交配に用いたオオバジャカラランダとジャカラランダの葉の形態調査の結果、小葉の長さや幅はオオバジャカラランダよりもジャカラランダの方が小さな値を示していた。このことからオオバジャカラランダに比べ、ジャカラランダの小葉は小さく細かいことが明らかにな

った。また、一葉あたりの小葉数と羽片数、さらに羽片当たりの小葉数はすべてオオバジャカラランダの方が小さい値を示したことからオオバジャカラランダは小葉同士の間隔が広いのに対し、ジャカラランダは小葉が密生していることがわかった。したがって、オオバジャカラランダは小葉が大きく、葉全体が疎に見えるのに対し、ジャカラランダでは小葉が密生し、柔らかな印象を与えている事がわかった(第2図)。このことからオオバジャカラランダよりもジャカラランダの方が観賞価値は高いといえる。



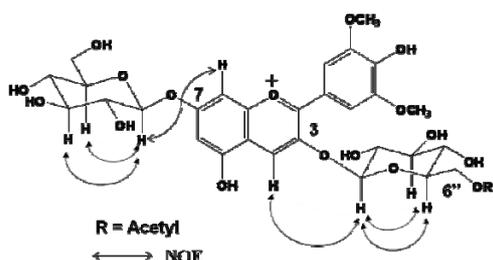
第2図. ジャカラランダとオオバジャカラランダおよび両者の種間雑種の羽片。(バーは1cm)
A; *J. mimosifolia*, B. *J. cuspidifolia*,
C; *J. mimosifolia* x *J. cuspidifolia*,
D; *J. cuspidifolia* x *J. mimosifolia*.

つぎに、*J. mimosifolia* および *J. cuspidifolia* それぞれの花弁の粗抽出液をHPLC分析したところ、いずれも5種類以上のアントシアニンが検出されたが、予備的な試験の結果、ピーク1と4は *J. mimosifolia* および *J. cuspidifolia* で同一のアントシアニンであり、特に、両種ともにピーク4が主要なアントシアニンであった(第3図)。



第3図. *J. mimosifolia* の花弁アントシアニン組成

質量分析の結果, *J. mimosifolia* および *J. cuspidifolia* の花卉の主要アントシアニン (ピーク 4) の分子量は 697 であった. このアントシアニン を酸加水分解したところ, アントシアニンジンを として malvidin が, また結合糖として glucose が検出された. これらの結果と ¹H-NMR 分析の結果から, 両種の花弁の主要なアントシアニンは, malvidin 3-*O*-(6-*O*-acetylglucoside)-7-*O*-glucoside と同定された (第 4 図). また, ピーク 1 のアントシアニンは malvidin 3-*O*-(6-*O*-acetylglucoside)-7-*O*-glucoside の加水分解物とのクロマトグラフィーの挙動や吸光スペクトルの一致により, malvidin 3, 7-diglucoside と同定した.



第 4 図. ジャカラランダおよびオオバジャカラランダの花弁に含まれる主要アントシアニン (malvidin 3-*O*-(6-*O*-acetylglucoside)-7-*O*-glucoside) の構造

(2). 交雑不和合性の要因解明

種内交配, 種間交配ともに柱頭上での花粉の発芽不良, 花粉管の伸長停止, および異常な形状をした花粉管はみられなかった. また, 交配 48 時間後には胚珠周辺まで花粉管の伸長が確認され, 一部は胚珠への侵入もみられた. ジャカラランダの種内交配およびジャカラランダ×オオバジャカラランダの交配では, 交配 6 時間後には花粉管は花柱上部もしくは花柱下部までは達していたが, 子房までは達していなかった. その後, 交配 24 時間後にはすべての交配組合せで花粉管は子房に達していた. 交配 48 時間後に子房まで到達した花粉管の数はジャカラランダの種内交配で最も多く, 次いでジャカラランダ×オオバジャカラランダの交配であり, オオバジャカラランダ×ジャカラランダの交配で最も少なかった (第 1 表).

オオバジャカラランダ×ジャカラランダの交配では, ジャカラランダの種内交配やジャカラランダ×オオバジャカラランダの交配に比べて, 着果率, 獲得種子数が少なかった. このことは, オオバジャカラランダ×ジャカラランダの交配において, 子房まで到達する花粉管数が少ないことに起因する可能性が示唆された.

第 1 表. ジャカラランダとオオバジャカラランダとの種間交配における花粉管の侵入程度

Cross combination	Hours after pollination	Average number of pollen tubes			
		Stigma surface	Upper style	Middle style	Lower style
<i>J. mim.</i> x <i>J. mim.</i>	6	68.2	31.8	0.0	0.0
	12	35.0	15.7	4.8	0.0
	24	82.8	75.5	67.3	53.7
	48	121.7	109.7	100.2	82.5
<i>J. mim.</i> x <i>J. cus.</i>	6	135.5	34.3	0.0	0.0
	12	104.2	45.2	20.8	0.0
	24	165.3	136.2	119.2	65.8
	48	175.8	134.5	107.2	76.8
<i>J. cus.</i> x <i>J. mim.</i>	6	95.3	66.2	54.5	11.2
	12	106.8	84.3	54.5	18.2
	24	86.2	60.8	47.8	36.3
	48	56.5	39.5	29.7	18.3

J. mim.; *J. mimosifolia*, *J. cus.*; *J. cuspidifolia*

ジャカラランダの自家不和合性は花粉管が胚珠周辺で停止する配偶子体型であるとされている. また, ジャカラランダと同じノウゼンカズラ科のカエンボクは, 自家交配を行った際に花粉管は子房まで到達し正常に受精するが, その後の胚発達がある段階にまで達すると何らかの不和合反応が起こり雌ずいが脱落する遅延作用型自家不和合性とされている. ジャカラランダとオオバジャカラランダの種間交配ではわずかではあるが花粉管は胚珠まで達し一部胚珠への侵入もみられることから, 配偶子体型の不和合性ではないと考えられる. しかし, ジャカラランダの種内交配に比べ, ジャカラランダとオオバジャカラランダとの種間交配では子房に到達する花粉管数が少ない. このことから, ジャカラランダとオオバジャカラランダとの種間交雑不和合性は遺伝的な要因によるものではなく, 花柱の形態的特性の違いや花柱内での花粉管の伸長能力の違いによる可能性が示唆された.

(3). 交雑不和合性の打破法の検討

これまでの研究で, ジャカラランダとオオバジャカラランダの種間交雑における低い着果率は, 花柱内で花粉管の侵入が著しく阻害されることに起因することが明らかとなった. これは受精前不和合性であり, 多くの雑種個体を獲得するためには, 花柱切断受粉法やメントール法が有効と考えられるが, 通常の交配でもある程度の交雑種子が得られ, さらに,

雑種個体の生育も正常であったことから、花柱切断受粉法やメントール法は実施しなかった。

(4). 雑種個体の形質調査と優良個体の選抜

ジャカランダとオオバジャカランダとの雑種では、すべての雑種群において小葉の大きさ・葉あたりの小葉数ともに両親の中間程度を示していた。しかし、羽片当たりの小葉数は25.9~29.8枚とオオバジャカランダに似るものの、葉あたりの羽片数は29.8~33.1枚とジャカランダに似ていた。以上のことから、ジャカランダとオオバジャカランダの雑種では交配の正逆にかかわらず、すべての雑種群において葉あたりの羽片数が多いために、小葉が密生しているように見え、その結果ジャカランダと同様に葉の観賞価値は高いと思われた(第2図)。

今後はこれら種間雑種個体の開花を待つて、花器形態や花色の調査と花色素分析を行いたい。

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)

[学会発表] (計 6件)

- ① 宮島郁夫・桂 奈央・中山真義・Soto Silvina・小林伸雄，ジャカランダ (*Jacaranda mimosifolia*) の花弁内主要アントシアニンの同定，園芸学会平成24年度秋季大会，2012年9月24日，福井県立大学。
- ② Miyajima, I., Y. Kurotani, N. Kobayashi, S. Soto and G. Facciuto, Interspecific crosses between *Jacaranda mimosifolia* and *J. cuspidifolia* (Bignoniaceae), 2nd International symposium on woody ornamentals of the temperate zone, 2012, July 3, Ghent University, Belgium.
- ③ Miyajima, I., C. Takemura, N. Kobayashi, S. Soto and G. Facciuto, Flower bud differentiation of *Jacaranda mimosifolia* (Bignoniaceae) in Japan, 7th International symposium on new floricultural crops, 2011, November 22, Buenos Aires, Argentine.
- ④ 梶原ゆき・宮島郁夫・大久保敬・中山真義・Soto Silvina・小林伸雄，ジャカランダ (*Jacaranda mimosifolia*) 花弁の青紫色発色機構，園芸学会平成23年度秋季大会，2011年9月25日，岡山大学。
- ⑤ 梶原ゆき・宮島郁夫・大久保敬・Soto

Silvina・小林伸雄，熱帯性花木ジャカランダの花弁内フラボノイド類，園芸学会平成22年度秋季大会，2010年9月19日，大分大学。

- ⑥ 宮島郁夫・竹村智佳・梶原ゆき・大久保敬・Soto Silvina・小林伸雄，熱帯性花木ジャカランダ (*Jacaranda mimosifolia*) の花弁内主要アントシアニン，園芸学会平成22年度秋季大会，2010年9月19日，大分大学。

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

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