

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 23 日現在

機関番号：24201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580049

研究課題名(和文) アジサイ属日本固有種の未利用遺伝資源を活用した耐候性育種素材の開発

研究課題名(英文) Exploration of breeding materials with resistance to environmental stress in the genetic resources of endemic Hydrangea species

研究代表者

上町 達也 (UEMACHI, Tatsuya)

滋賀県立大学・環境科学部・准教授

研究者番号：40243076

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、日本の豊富なアジサイ遺伝資源を利用して環境耐性をもつ園芸品種を育成するために、これらの系統学的な解析を行うとともに、強光耐性並びに乾燥耐性を持つ育種素材の探索を行った。ガクアジサイとエゾアジサイの分布境界域が、頸城山塊であること、伊豆半島ではガクアジサイとヤマアジサイの自然交雑が生じていること、アジサイ園芸品種の中にはガクアジサイとエゾアジサイの種間交雑品種が多く含まれること、八丈島と青ヶ島のガクアジサイ野生系統において乾燥耐性が認められること、強光障害には2タイプあり、いくつかの耐性系統が認められること、が明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：In this study, we analyzed phylogenetic relationships of *Hydrangea macrophylla* and *H. serrata* distributed in Japan and assessed their tolerances to the excessive solar radiation and drought for breeding of hydrangea cultivars with strong resistance to environmental stress. This study revealed the following; 1) Kubiki Mountains are one of the borders of geographical distribution between *H. serrata* var. *serrata* and var. *yesoensis*.; 2) Natural crossing between *H. macrophylla* and *H. serrata* occurs in Izu Peninsula; 3) *H. serrata* var. *yesoensis* as well as *H. macrophylla* were deeply involved in development of old hydrangea cultivars; 4) Some wild *H. macrophylla* plants from Hachijojima Island and Aogashima Island showed tolerance to the excessive solar radiation; There are two types of symptom on the leaves induced by the excessive solar radiation and some wild *H. macrophylla* plants showed tolerance to intensive radiation.

研究分野：園芸学

キーワード：アジサイ 遺伝資源 強光耐性 乾燥耐性 系統解析 レトロトランスポゾン

### 1. 研究開始当初の背景

世界には 1000 を超えるアジサイ品種が存在するが、その多くが 18 世紀以降にシーボルトらによって西欧に渡った十数系統のガクアジサイとヤマアジサイをもとに育成されたものであり遺伝的多様性が低い。またこれまでアジサイの育種は観賞価値の向上のみを目的に行われてきた。これらのことから、いずれの品種も乾燥や高温などの環境ストレスに対する耐性が低く、そのためアジサイを景観植物として利用できる場面は限られている。アジサイ園芸品種はガクアジサイを基本に、ヤマアジサイとヤマアジサイの変種であるエゾアジサイをもとに作出されたと考えられているが、これらのいずれも日本に分布しており、特に育種の柱となるガクアジサイとエゾアジサイは日本固有種である。日本に存在する豊富なアジサイ遺伝資源を育種に有効に利用すれば、これまでの園芸品種にない生育特性や環境耐性をもつ品種が作出され、低コストの生産や景観植物としての利用の場面の拡大に貢献しうるものと期待される。

筆者らはこれまでに、日本に自生するガクアジサイ (*Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser.), ヤマアジサイ (*H. serrata* (Thunb.) Ser.) とヤマアジサイの変種であるエゾアジサイ (*H. serrata* var. *yesoensis* (Koidz.) H. Ohba) の野生系統を収集して系統解析を行ってきた。葉緑体 DNA の *matK*, *rbcl* 配列や核の ITS 領域を解析した結果、1) 日本に自生するヤマアジサイは鈴鹿山脈を境に、東部系統群と西部系統群に分けられ、西部系統は更に四国地方系統群とそれ以外の系統群に分けられること、2) ヤマアジサイの日本西部系統と韓国系統が近縁であること、3) ヤマアジサイの一部の系統からエゾアジサイとガクアジサイが生じた可能性が高いこと、を明らかにした(文献 , 文献)。筆者らが行ったアジサイ、ヤマアジサイ、エゾアジサイの系統解析結果をもとに、江戸時代後期以降に西欧に渡った、アジサイ品種の育種母本の系統解析を行えば、現在のアジサイ品種の誕生には、日本のどのアジサイ系統が関与しているかが特定され、今後の育種を行う上で重要な情報となる。

文献 : Uemachi, T, Y. Mizuhara, K. Deguchi, Y. Shinjo, E. Kajino and H. Ohba. 2014. Phylogenetic relationship of *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. and *H. serrata* (Thunb.) Ser. evaluated using RAPD markers and plastid DNA sequences. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 83: 163-171.

文献 : 上町達也・東條夏芽・林祐里子 . 2011 . ITS 領域の塩基配列に基づいたガクアジサイ、ヤマアジサイおよびエゾアジサイの類縁関係の解析 . 園芸学研究 10 (別 2) : 523 .

### 2. 研究の目的

(1) 日本のアジサイ遺伝資源を効率的に育種

に活用していく上で、日本各地に自生するアジサイ系統群の地理的分布状況や系統学的な類縁関係についての情報が必要となる。これまでに著者らが行ってきた系統解析の継続研究として、系統間の分布境界域を中心に詳細なサンプリングを行い、ガクアジサイ、ヤマアジサイ、エゾアジサイ系統の分布状況と系統間の類縁関係を明らかにする。

(2) 現在のアジサイ品種の誕生には、日本のどのアジサイ系統が関与しているかが特定されれば、今後の育種を行う上で重要な情報となる。江戸時代後期以降に欧米に渡りアジサイ園芸品種の育種母本となった系統について ITS 配列の解析を行い、ガクアジサイ、ヤマアジサイ、エゾアジサイ系統がアジサイ園芸品種の作出にそれぞれどの程度関与したのかを推定する。

(3) 筆者らのこれまでの研究により、アジサイのいくつかの品種・系統でレトロトランスポゾンの活性が高いことが示唆されている。自然突然変異を利用したアジサイ耐候性品種の作出のための基礎的知見を得るために、アジサイにおける潜在的な変異発生能を調査する。

(4) 日本に存在する豊富なアジサイ遺伝資源を育種に有効に利用すれば、これまでの園芸品種にない生育特性や環境耐性をもつ品種が作出され、低コストの生産や景観植物としての利用の場面の拡大に貢献しうるものと期待される。これまで育種に利用されていない伊豆諸島のガクアジサイ系統について、自生地の生育環境をもとに耐候性を示す可能性のある系統を選抜する。これらの採取系統を中心に栽培試験を行い、乾燥耐性及び強光耐性を有する育種素材を発掘する。

### 3. 研究の方法

(1) フォッサマグナ東端に位置する頸城山塊(妙高連峰)を中心に、ヤマアジサイの自生群落を調査し、花色などの形態的特徴と核 DNA の ITS 配列を解析した。伊豆半島においてガクアジサイとヤマアジサイ(アマギアマチャ)の自生群落を調査し、形態的特徴と核 DNA の ITS 配列を解析した。日本に自生するガクアジサイ、ヤマアジサイ、エゾアジサイをいくつか供試し、フローサイトメーターによる核 DNA 含量の比較を行った。

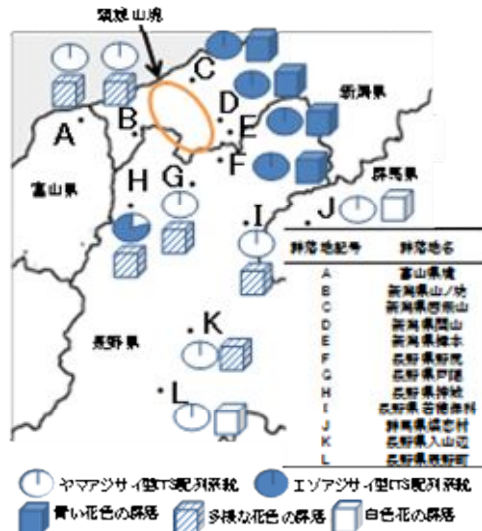
(2) 日本の 4 つの古品種、日本や中国から西欧に渡り園芸品種の育種母本となった 7 品種、交雑により誕生した 13 品種を供試し、ITS 配列の解析を行った。

(3) アジサイの花芽から RNA を抽出し、トランスクリプトーム解析を行った。この解析データと、既に公開されている葉の RNA-seq データをもとに作成した 29,270 種類の EST について、転移因子関連のアミノ酸配列を検索した。また園芸品種並びにガクアジサイとヤマアジサイの葉から RNA を抽出し、いくつかのレトロトランスポゾン配列の転写活性を RT-PCR 法により解析した。

(4) 伊豆諸島の八丈島、青ヶ島、伊豆大島において、自生ガクアジサイ群落の調査と、耐候性育種素材の発掘のためのサンプリングを行った。これらの挿し木繁殖系統、及びこれまで滋賀県立大学で維持されているガクアジサイ野生系統、アジサイ園芸品種をいくつか用いて、灌水制限処理を行い、乾燥耐性を評価した。また無遮光条件下で栽培試験を行い、強光耐性を評価した。

#### 4. 研究成果

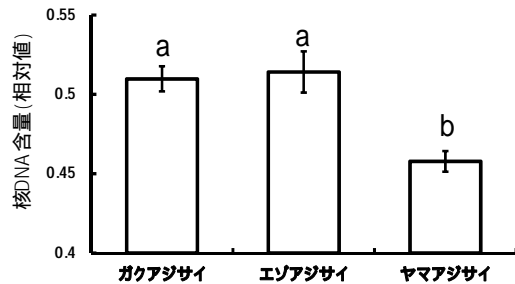
(1) これまでの北陸地域に分布するヤマアジサイの調査結果と、今回の新潟、群馬、長野の自生群落についての ITS 配列と形態的特徴の調査結果から、これまで不明であったエゾアジサイの日本海側の連続分布域の西限は、新潟県の頸城山塊であることが示された(第1図)。



第1図 頸城山塊周辺に自生するヤマアジサイまたはエゾアジサイの花色及びITS配列

ガクアジサイとヤマアジサイの分布域が重なる地域である伊豆半島の自生群落を調査した結果、伊豆半島の比較的沿岸部及びやや内陸部に自生するガクアジサイ群落の多くで、ガクアジサイとヤマアジサイの自然交雑が生じている可能性が示唆された。ガクアジサイとヤマアジサイの変種であるアマギアマチャ(*H. serrata* var. *angustata*)との自然交雑は伊豆半島の広い範囲で認められたのに対し、富士山自生個体と同じ ITS 型配列をもつヤマアジサイとガクアジサイとの交雑は、半島の北部の群落でのみ認められた。フローサイトメーターによる核 DNA 含量の比較を行った結果、ガクアジサイ、エゾアジサイの核 DNA 含量はヤマアジサイに比べて有意に大きかった(第2図)。以上の結果により、日本に自生するヤマアジサイ、エゾアジサイ、ガクアジサイの分布境界域と境界域における自然交雑の状況が明らかとなった。またヤマアジサイ系統から比較的最近(氷河期以降)に日本固有種のエゾアジサイとガクアジ

サイが誕生したと推定されているが、その後において、ゲノム量の急激な増大が生じたものと考えられた。これには後述するレトロトランスポソンの活性化が関与している可能性があるものと考えられる。



第2図 フローサイトメーターによるガクアジサイ、エゾアジサイ、ヤマアジサイの核DNA含量の比較。エンドウの核DNA含量を1とした場合の相対的核DNA含量を求めた。グラフ上のアルファベットは、異なる文字間においてTukeyの多重検定(5%水準)により有意差があることを示す。バーは標準誤差。

(2) ITS 配列に基づいた系統解析を行った結果、アジサイ園芸品種はガクアジサイ型の ITS 配列を持つグループと、ガクアジサイ型とエゾアジサイ型のゲノム内多型の ITS 配列をもつグループに大別されることが明らかとなった(第1表)。また、一部の品種でガクアジサイ型とヤマアジサイ型のゲノム内多型の ITS 配列が認められた。これらの結果から、アジサイ園芸品種はガクアジサイを基本に作出されているが、エゾアジサイが品種の成立に関与しているものが高い割合で存在することが明らかとなった。アジサイ園芸品種がガクアジサイ野生種に比べて、強光条件や乾燥に弱い要因の一つとして、園芸品種の育成に関与したエゾアジサイの影響があるものと考えられる。

第1表 アジサイ園芸品種におけるITS配列のタイプ

品種	ゲノム内多型の有無	ITS配列のタイプ
ヒメアジサイ	有	ガクアジサイ型、エゾアジサイ型
日本の古品種		
ホムアジサイ	無	ガクアジサイ型
廣田の花火	無	ガクアジサイ型
Joseph Banks	無	ガクアジサイ型
Otaloa	無	ガクアジサイ型
園芸品種の		
育種母本		
Rosea	有	ガクアジサイ型、エゾアジサイ型
Veitchii	有	ガクアジサイ型、ヤマアジサイ型
Thomas Hobbs	有	ガクアジサイ型、ヤマアジサイ型
Marlene F. Mouilleux	無	ガクアジサイ型
初期に欧州で		
育成された品種		
Mariesii	無	ガクアジサイ型
Enziandom	有	ガクアジサイ型、エゾアジサイ型
Miss Hepburn	有	ガクアジサイ型、エゾアジサイ型

(3) 29,270 種類の EST について、転移因子関連のアミノ酸配列を検索したところ、約 4.2% の配列が該当した。これらには 441 種類のレトロトランスポゾン様 isotig 配列が含まれており、このレトロトランスポゾン配列は大きく 5 つの系統群に分別されることが示唆された。また RT-PCR 解析の結果、これらのいくつかの配列は品種 'Blue Sky' 及びガクアジサイとヤマアジサイ野生種において転写していることが明らかとなった。アジサイの育種における自然突然変異の効率的な誘導

や育種マーカーの開発のために、今後、特に転移活性の高いレトロトランスポゾン系統を特定するとともに、レトロトランスポゾンの転移の頻度について解析していく必要がある。

(4)ガクアジサイ野生種、エゾアジサイ野生種、園芸品種を供試し、乾燥ストレス耐性を評価した。1/5000 a ワグネルポットで栽培し、断水処理を行い、萎凋開始から2,3,4日目に灌水を再開した。これらの乾燥ストレス試験において、八丈島と青ヶ島で採取したガクアジサイ系統において乾燥耐性が認められた。次に、灌水間隔を1~3日おきにする灌水制限試験を行った。この場合においても、ガクアジサイ野生種のうち八丈島や青ヶ島のいくつかの系統が乾燥耐性を示した。これらの耐性系統では、乾燥ストレス条件において下位のいくつかの葉を落葉させ、株全体の枯死を防ぐ傾向が認められた。これらのガクアジサイ野生系統を育種素材として活用すれば、低コストの苗生産、アジサイの景観植物としての利用場面の拡大や低コストの維持管理が可能となるものと考えられる。

(5)ガクアジサイ野生系統において、飽和光合成速度が比較的高い系統が認められた。無遮光下での栽培試験の結果、アジサイの強光条件により誘導される障害には、霧・帯状に褐色化が広がるタイプと、斑点条に褐変が広がるタイプが存在することが明らかとなった。霧・帯状障害についてはガクアジサイのいくつかの系統で強い耐性を有することが示唆された(第2表)。これらの系統を育種に活用すれば、低コストの苗生産や景観植物としてのアジサイの利用場面の拡大につながるものと期待される。一方、斑点状障害に関しても、ガクアジサイ及びヤマアジサイのいくつかの系統で耐性が見られた。斑点状障害の発症には炭疽病や褐斑病などの病害と光条件との相互作用の関与も考えられた。安定した斑点状障害の抑制のためには、今後、障害発生メカニズムについて更に詳細に解析する必要がある。

第2表 無遮光条件で栽培したアジサイにおける葉の障害程度

障害程度0	障害程度1	障害程度2	障害程度3
ガクアジサイ北碓島1	ミカンバガクアジサイ	ガクアジサイ新島1	三宅島ガクアジサイ
ガクアジサイ伊豆大島1	ガクアジサイ城ヶ崎2	ガクアジサイ柿崎1	七段花
ガクアジサイ青ヶ島1	エゾアジサイ北上市1	Rosea	Grayswood
ガクアジサイ青ヶ島4	ヒメアジサイ	ホンアジサイ	紅ガク
ガクアジサイ八丈島4	Enziandom	Otaksa	Thomas Hogg
	Joseph Banks	Veitchii	
		Miss Hepburn	
		Mariesii	

## 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6件)

上町達也、柴田彩佳、竹内俊輝、フローサイトメトリーによるガクアジサイとヤマアジサイの核DNA含量の比較。園芸学会平成27

年度春期大会。2015年3月29日。千葉大学(千葉県千葉市)。

上町達也、樹下真人、柴田彩佳。伊豆半島に自生するガクアジサイ及びヤマアジサイのITS配列に基づいた系統解析。園芸学会平成26年度秋季大会。2014年9月28日。佐賀大学(佐賀県佐賀市)。

Uemachi, T., M. Kinoshita, N. Hashii. The origin of old hydrangea cultivars inferred by ITS sequences data. 29th International Horticultural Congress. August 22, 2014. Brisbane (Australia).

上町達也、橋井望、樹下真人。ガクアジサイおよびヤマアジサイの光合成特性と強光耐性。園芸学会平成26年度春期大会。2014年3月29日。筑波大学(茨城県つくば市)。

上町達也、樹下真人、千頭航。頸城山塊周辺に自生するヤマアジサイ及びエゾアジサイの系統解析。園芸学会平成25年度秋季大会。2013年9月21日。岩手大学(岩手県盛岡市)。

上町達也、橋井望、樹下真人。ITS配列に基づいたアジサイ古品種の系統解析。園芸学会平成25年度秋季大会。2013年9月22日。岩手大学(岩手県盛岡市)。

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

上町 達也 (UEMACHI, Tatsuya )  
滋賀県立大学・環境科学部・准教授  
研究者番号：40243076

### (2)研究分担者

( )

研究者番号：

(3)連携研究者

( )

研究者番号：