

平成30年6月18日現在

機関番号：24201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07297

研究課題名(和文) 伊豆諸島のガクアジサイ遺伝資源からの強光耐性系統の選抜並びに耐性機構の解明

研究課題名(英文) Identification of wild *Hydrangea macrophylla* germplasm with tolerance to the excessive solar radiation from Izu Islands and study on mechanism of the tolerance

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) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：都市緑化に用いられる植物は、厳しい環境ストレス条件下で生育する必要があるため、利用できる植物種が限られている。ガクアジサイは日本の固有種であり、日本には未利用のアジサイ遺伝資源が豊富に存在する。本研究では、アジサイの都市緑化植物としての利用場面の拡大を目的に、伊豆諸島において強光ストレス耐性をもつ遺伝資源の探索を行った。栽培試験の結果、八丈島や新島などの伊豆諸島から導入されたいくつかの系統で強い強光耐性が認められた。また三宅島において、自生地の環境から強い強光ストレス耐性に加えて、貧栄養ストレスや乾燥ストレスなどの環境ストレス耐性を持つことが予想される個体が合計7箇所で発見された。

研究成果の概要(英文)：Plant species for urban greening are limited because of severe growth condition. There are abundant unutilized genetic resources of *Hydrangea macrophylla* in Japan. In this study, we explored novel hydrangea germplasm with tolerance to the excessive solar radiation from Izu Islands in order to develop suitable hydrangea cultivars to urban greening. Some wild plants introduced from Izu Islands including Hachijojima Island and Niijima Island showed remarkable tolerance to the excessive solar radiation in screening tests. We found wild *Hydrangea macrophylla* plants growing under severe environmental stress including excessive solar radiation, oligotrophic soil and desiccation in seven areas in Miyakejima Island.

研究分野：園芸学

キーワード：強光耐性 遺伝資源 伊豆諸島 アジサイ クロロフィル蛍光 都市緑化植物

1. 研究開始当初の背景

世界には 1000 を超えるアジサイ園芸品種が存在するが、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、日照や土壌水分などの生育環境に対するアジサイ園芸品種の適応範囲は極めて狭い。多くのアジサイ園芸品種では、直射日光が日中当たり続ける環境下で栽培した場合、葉が褐変して著しく観賞価値が損なわれるため、アジサイを都市緑化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主に日本固有種のカクアジサイ (*Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser.) をもとに作出されたと考えられてきた。しかし筆者らは、核 DNA の ITS 配列をもとにした解析を行い、多くのアジサイ園芸品種においてカクアジサイだけでなくヤマアジサイ (*H. serrata*)、特に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) が品種の成立に深く関与している可能性が高いことを明らかにした (文献)。

東アジアに分布するヤマアジサイが日本の西日本から東日本へと分布域を広げる過程で、東北・北陸の多雪地帯に適応したエゾアジサイと、伊豆半島、房総半島、伊豆諸島などの沿岸部の温暖な地域に適応したカクアジサイが誕生したことが、葉緑体 DNA や核 DNA の ITS 領域をもとにした系統解析の結果や、形態的特徴、地理的分布パターンなどから推定されている (文献 , 文献)。比較的平地の沿岸部付近に自生するカクアジサイは、山間部に自生するヤマアジサイやエゾアジサイに比べて、強光や乾燥などに対する耐性が高いことが予想される。アジサイ園芸品種の育成の柱となるカクアジサイは日本固有種であり、日本の豊富なカクアジサイ遺伝資源を育種に有効に活用すれば、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、低コストの生産や都市緑化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。

2. 研究の目的

(1) 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強光耐性をもつ品種が作出され、低コストの生産や都市緑化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。本研究では、強光耐性をもつ育種素材の探索を行う。これまでに収集したカクアジサイ野生株を中心に無遮光下での栽培試験を行い、強光耐性を評価する。また三宅島などの伊豆諸島を調査し、強い強光耐性をもつ可能性の高い遺伝資源を探索する。

(2) 強光により生じる障害として、葉における霧状褐変変化障害の発生が挙げられる。霧状褐変変化障害が発生すると著しく観賞価値が損なわれることから、この障害の発生によりアジサイの都市緑化植物としての利用場面が著しく制限されている。本研究では、耐性系統と感受性品種を用いて、強光による霧状褐変変化障害の発生メカニズムの解明を行う。

(3) 強光により生じる別の症状の障害として、葉における斑点状の褐変の発生が挙げられる。斑点状褐変変化障害は炭疽病、褐斑病、輪紋病などの症状に似ており、強光ストレス条件化で症状が顕在化する病害ではないかと考えられる。本研究では、強光条件化で誘導される斑点状褐変変化障害と病害との関係性を解明する。

3. 研究の方法

(1) 強光耐性をもつカクアジサイ遺伝資源の探索

挿し木後 3 年以上のカクアジサイ 33 系統・品種、ヤマアジサイ 4 系統・品種、エゾアジサイ 3 系統、園芸品種 13 品種を、2014 年 6 月 12 日に滋賀県立大学実験圃場の畑地に定植し、無遮光条件下で栽培を行った。これらの露地植え株について、2015 年に霧状褐変変化障害の発生程度を調査した。また 2015 年の調査において、霧状褐変変化障害への耐性が示された品種・系統と感受性品種・系統をいくつか供試し、2016 年にも霧状褐変変化障害の発生程度を調査した。霧状褐変変化障害の評価は、葉をスキャナーで読み込み、ImageJ を用いて葉面積における障害部面積を算出することにより行った。

伊豆諸島のカクアジサイ自生地を調査し、自生地の環境から強光条件に強いことが予想される個体の探索を行った。これまでに、伊豆諸島において人が住む島々のうち最南端に位置する青ヶ島と八丈島について調査を行った。しかしこれらの島から採取した枝の挿し木繁殖株を滋賀県で栽培した場合、強光に対する耐性は強いが、冬芽を作れないために冬の低温により茎葉が甚大な障害を受けることが明らかとなっている。そこで本研究では、青ヶ島と八丈島に次いで南に位置する御蔵島と三宅島において 2017 年に自生地の調査を行った。

(2) 霧状褐変変化障害の発生メカニズムの解明

上述の圃場の畑地に定植し、無遮光条件下で栽培している 53 品種・系統を供試した。2015 年 8 月 3, 4, 6, 11 日にクロロフィル蛍光測定装置を用いて、光化学系 活性的の最大量子収率の指標である F_v/F_m を測定した。

遮光を行った雨除けハウス内 (遮光率 88%) で栽培しているカクアジサイとヤマアジサイ各 2 系統を供試した。2015 年 8 月 24 日に

遮光条件から無遮光条件に移して栽培し、光化学系 活性 (Fv/Fm) と熱放散の指標である NPQ の経時的变化を調査した。

霧状褐変変化障害に強い耐性をもつガクアジサイ系統 '八丈島' と低い耐性のヤマアジサイ品種 '七段花' を供試した。遮光及び無遮光条件下で栽培し、各株から葉を採取した。葉をカミソリで切断し、断面を走査型電子顕微鏡で観察した。

2015 年と 2016 年の研究では、栄養枝の上位葉を中心に強光障害の発生の解析を行ってきた。しかし一部の系統において、花房の着生した着花枝の葉で障害が深刻化する傾向が観察された。2017 年は、着花枝と栄養枝の強光感受性の比較を中心に解析を行った。強光感受性の高いヤマアジサイ系園芸品種を 1 品種、強光耐性の高いガクアジサイ野生種を 2 系統、強光感受性が比較的高い園芸品種を 1 品種供試した。花芽・頂芽の除去の有無について処理区を設け、障害の発生に及ぼす影響を調査した。

(3) 強光による斑点状褐変変化障害の発生のメカニズムの解明

無遮光条件下における斑点状褐変変化障害の発生状況の調査を行った。遮光条件下(遮光率 88%)で栽培しているガクアジサイ 5 系統と園芸品種 1 品種 'の挿し木株' を各 5 株供試した。7 月 24 日から 8 月 4 日の 11 日間、無遮光条件下に移して栽培した。処理後、斑点状褐変変化障害の発生状況を調査した。

遮光条件から無遮光条件に移した時に誘導される斑点状褐変変化障害の発生への病原菌の関与を確かめるために、殺菌剤処理を行い、その効果を調査した。

いくつかの品種・系統から斑点状褐変変化障害の発生している葉を採取した。障害の発生した葉より切片を作成して PDA 培地で培養し、分離された菌の ITS 配列を解析した。

4. 研究成果

(1) 強光耐性をもつガクアジサイ遺伝資源の探索

無遮光条件下での露地栽培試験

2015 年の調査において、ヤマアジサイ品種・系統はいずれも著しい霧状褐変変化障害が発生した。エゾアジサイについてもヤマアジサイよりは軽度であるが、霧状褐変変化障害の発生が認められた。一方、ガクアジサイ野生種は霧状褐変変化障害に対する耐性が強かった。伊豆諸島の八丈島、青ヶ島、新島から導入したガクアジサイ系統では霧状褐変変化障害の発生が認められなかった。伊豆大島と三宅島から各 2 系統のガクアジサイを供試したが、障害が認められない系統とわずかに障害が発生した系統に分けられた。伊豆半島に自生するガクアジサイ野生種は、障害が全く認められない系統と少し障害が発生する系統に分けられた。これまでに核 DAN の ITS 配列を解析した結果、伊豆半島のガクアジサイ自

生群落では高い割合で内陸部のヤマアジサイとの自然交雑が生じていることが明らかとなっている(文献)。伊豆半島のガクアジサイ野生種において、霧状褐変変化障害の感受性にばらつきがあるのは、ヤマアジサイとの自然交雑が生じた個体が混入しているためではないかと考えられる。園芸品種の多くでは、霧状褐変変化障害の発生が認められた。しかし一部の品種では障害の発生がほとんど認められなかった。これまでの ITS 配列解析によりアジサイ園芸品種は、ガクアジサイとエゾアジサイの雑種と純粋なガクアジサイ品種に大別されることが示唆されているが、強光耐性を示した園芸品種はいずれも純粋なガクアジサイであることが示唆されている品種であった(文献)。

2015 年に強い霧状障害耐性を示したガクアジサイ野生系統のうち、八丈島、新島、三宅島、伊豆大島由来の各 1 系統について 2016 年にも調査を行ったが、いずれもほとんど霧状障害が認められなかった。これらの系統は霧状褐変変化障害に対する強い耐性をもつものと考えられる。

三宅島と御蔵島でのガクアジサイ自生地における強光耐性遺伝資源の探索

2016 年に三宅島と御蔵島において強光耐性をもつ遺伝資源の探索を行った。御蔵島では、日中に直射光を浴び続ける環境下で生育している個体は見つからなかった。しかし三宅島では、直射光を浴び続ける環境下で自生している個体が合計 7 か所で見つかった。これらの自生個体は霧状褐変変化障害と斑点状褐変変化障害の発生がほとんど認められなかったため、強い強光耐性を有することが予想される。またこれらのうちのいくつかは、自生地の環境から乾燥耐性、耐塩性、貧栄養耐性を有している可能性もある。これらの個体については、枝を採取し、挿し木繁殖を行っている。これらの挿し木株はいずれも冬に冬芽を形成する能力を持ち、耐寒性を有することが確認された。今後、圃場への栽植試験に耐えうる大きさの株が揃い次第、強光ストレスを含めた環境ストレスに対する耐性試験を行っていく予定である。

(2) 霧状褐変変化障害の発生メカニズムの解明

クロロフィル蛍光分析によるガクアジサイおよびヤマアジサイの強光耐性の評価

圃場の畑地において無遮光条件下で栽培されている 53 品種・系統について、光化学系活性の指標である Fv/Fm を調査した結果、ガクアジサイ系統・品種で平均 0.57、ヤマアジサイ系統・品種で 0.45、エゾアジサイ系統で 0.50、園芸品種で 0.52 であった。これらの結果から、ヤマアジサイは強い光阻害を受けていることが示唆された。また伊豆諸島や小笠原諸島のガクアジサイ系統は比較的に光阻害が小さかった。遮光条件下では、ガク

アジサイとヤマアジサイとの間において光化学活性に大きな違いはみられなかった。しかし熱放散に関しては、ヤマアジサイはガクアジサイと異なり遮光条件下でも積極的に熱放散を行っていることが示唆された。無遮光条件に移した場合、ガクアジサイは熱放散を高めることと、一時的に光阻害を受けるがその後回復することが示唆された。一方、ヤマアジサイに関しては、長期にわたって光阻害を受け続けることが示唆された。

光環境に伴う葉の形態変化と強光耐性との関係

ガクアジサイ系統‘八丈島’では、遮光条件下よりも無遮光条件下で葉の断面の細胞層数が多く、柵状組織は遮光条件と無遮光条件でともに2層見られた。ヤマアジサイ品種の‘七段花’では、遮光条件下よりも無遮光条件下で葉の断面の細胞層数がわずかに多かった。柵状組織は無遮光条件下で2層あったが、遮光条件下では1層に減少し、更に柵状組織を持たない葉も認められた。光条件の違いに伴う葉の断面の細胞層数や柵状組織の細胞層数の変化について、ガクアジサイとヤマアジサイ両系統間で違いが認められたが、これらの違いは強光耐性の違いの直接的な要因ではないものと考えられる。

栄養枝と着花枝における霧状褐変変化障害に対する感受性の比較

強光耐性をもつ品種・系統では、栄養枝と着花枝のいずれにおいても障害の発生はわずかであった。しかしガクアジサイ野生系統の1本の着花枝において、葉面積全体の50%以上が褐変した重度の障害が発生した。強光感受性品種では、栄養枝に比べて着花枝で重度の障害が発生する傾向が認められた。着花枝において花芽の摘除を行った処理区では、障害の発生が栄養枝と同程度に抑制された。光化学系の最大量子収率(Fv/Fm)について5月に計3回の測定を行った結果、5月下旬の2回の測定においていずれも栄養枝に比べて着花枝で有意に値が低かった。6月中旬の障害程度の調査において最も障害が著しく、葉面積の8割が褐変していた着花枝の葉では、5月下旬において最大量子収率(Fv/Fm)の著しい低下が認められた。以上の結果から、栄養枝に比べて着花枝で強光障害の感受性が高いことが明らかとなった。栄養枝に比べて着花枝で障害が強くなる原因として、同化産物の供給や無機養分の競合などの花芽の着生による直接的な影響と、枝の頂部に花芽が着生するとともに新たな葉の形成が止まり、花芽直下の葉は最上位葉として長期にわたって日光にさらされ続けることになる影響が考えられる。しかし栄養枝の花芽摘除処理や栄養枝の頂芽摘除処理の結果から、日光に対する露出の長期化が、着花枝における強光障害発生の原因ではないことが示唆された。

(3) 強光による斑点状褐変変化障害の発生のメカニズムの解明

無遮光条件下での栽培により誘導される斑点状障害に対する耐性の評価

無遮光条件下での栽培4日目において、全ての供試品種・系統で斑点状障害の発生が認められた。無遮光下条件での栽培11日目では、伊豆大島産のガクアジサイ1系統を除く品種・系統において、全ての株で斑点状障害が発生した。しかし伊豆大島産の1系統では、供試した5株中2株で斑点状障害の発生が全くみられなかった。一方、別の伊豆大島産の系統では、いずれの株においても重度の斑点状褐変変化障害が発生した。このことから、ガクアジサイ系統間において斑点状褐変変化障害の感受性に顕著な差があることが明らかとなった。

殺菌剤による斑点状褐変変化障害の抑制効果の検証

強光条件下で誘導される斑点状褐変変化障害が病害であることを確認するために、4種類の殺菌剤の効果を調査した。その結果、殺菌剤ゲッターを処理することにより斑点状褐変変化障害の発生が抑制され、斑点状褐変変化障害は病害であることが示唆された。

ITS配列解析による病原体の同定

斑点状褐変変化障害の発生している葉を採取し、葉切片を培養した。菌分離株についてITS配列を解析した結果、アジサイの斑点状障害に関与している可能性があるアジサイ炭疽病の病原体の可能性のある*Colletotrichum* sp. や *Nigrospora sphaerica* を含む7種類の糸状菌が同定された。

<引用文献>

文献 : 上町達也・橋井望・樹下真人 .2013 . ITS配列に基づいたアジサイ古品種の系統解析 . 園芸学研究 12 (別 2): 461 .
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 .
文献 : 上町達也・樹下真人・柴田彩佳 .2014 . 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 . 園芸学研究 13 (別 2): 512 .

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 2件)

片山千絵, 札埜高志, 北村嘉邦, 上町達也
Kesmawati, Elly, 細川宗孝. 核 SSR マーカ
ーおよび ITS 領域によるインドネシア産アジ
サイの系統解析. 園芸学会平成 29 年度秋期
大会, 2017 年 9 月 3 日). 酪農学園大学 (北
海道・江別市).

上町達也, 小室安津実, 杉本諭紀. クロロ
フィル蛍光分析によるガクアジサイおよび
ヤマアジサイの強光耐性の評価. 園芸学会
平成 28 年度秋期大会, 2016 年 9 月 11 日).
名城大学 (愛知県・名古屋市).

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: 4 0 2 4 3 0 7 6