



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Changes in carotenoid levels of novel berries produced by interspecific hybridization between <i>Lonicera gracilipes</i> var. <i>glandulosa</i> (miyama-uguisukagura) and <i>Lonicera caerulea</i> ssp. <i>edulis</i> (haskap) [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	藤田, 凌平
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	甲第15725号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/91785
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Ryohei_Fujita_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士 (環境科学)

氏 名 藤 田 凌 平

学 位 論 文 題 名

Changes in carotenoid levels of novel berries produced by interspecific hybridization between *Lonicera gracilipes* var. *glandulosa* (miyama-uguisukagura) and *Lonicera caerulea* ssp. *edulis* (haskap)
(ミヤマウグイスカグラ(*Lonicera gracilipes* var. *glandulosa*)とハスカップ(*Lonicera caerulea* ssp. *edulis*)
の種間交雑によって作出された新規果実におけるカロテノイドの成分の変化に関する研究)

種間交雑は植物の育種の手段の1つとして、改良する種にない形質を取り入れるために用いられてきた。種間交雑では元の種にない新たな遺伝子が導入されるため、実際に栽培されるまで、形質によっては期待されるものが得られるか予測が難しく、また、予想外の表現型が現れることがある。雑種の形質の予測によって、育種の加速化が期待されるが、そのためには種間雑種とその両親の形質に関する基本的な情報が必要である。果実色は果樹において重要な形質の一つで、視覚的に認識でき、色素を定量化できるため、形質を予測するための情報の一つとして適していると考えられる。しかし、種間雑種と両親の色素成分を比較した報告、特に、成熟期間の中でどのように蓄積されるかを調査した報告は限られている。色素成分は生合成によって生成・分解されることから、成熟段階ごとに解析を行うことによって、より精度の高い予測モデル構築のための基盤的情報を取得できると考えた。種間雑種の形質を予測するためのモデルとして、ハスカップとミヤマウグイスカグラの種間雑種の利用を着想した。ハスカップはスイカズラ科スイカズラ属に属し、青紫色の楕円状の果実を持つ。近縁種である同属のミヤマウグイスカグラは赤色の楕円状の果実を持つ。これらから作出された種間雑種は赤紫色で双子状の果実を持っていた。博士前期課程における研究で、果実のアントシアニン量を測定したところ、6つのアントシアニンが検出された。これらのうち、ハスカップ果実の主な色素であるcyanidin 3-glucosideを含む4つのアントシアニン量は、ハスカップで多く、ミヤマウグイスカグラで少なく、種間雑種で中間的であった。しかし、cyanidin 3,5-diglucosideおよびpeonidin 3,5-diglucosideにおいては、種間雑種において両親より量が増える雑種強勢が起こっていた。植物の果実色は主にアントシアニン、カロテノイド、クロロフィルによって構成されている。ミヤマウグイスカグラとハスカップを種間交雑したことによる果実色の変化はアントシアニンだけでは説明できなかった。ミヤマウグイスカグラの近縁種であるウグイスカグラでカロテノイドを検出した先行研究からミヤマウグイスカグラでもカロテノイドが多く含まれていることが考えられた。種間交雑による果実色の変化にはカロテノイドも関与している可能性があることから、本研究ではカロテノイドに着目し、種間雑種と両親との間のカロテノイド量が果実の成熟段階によってどのように変化するかを解析した。

カロテノイドは、イオン化が起こりにくく、分解が起こりやすいため、多くの天然物と比べてLC/MS/MSでの定量が難しい。本研究では、抽出条件、分離条件、イオン化・質量分析の条件の最適化を行った。C30カラムを使用した分離を行い、ESIとAPCIを組み合わせたDUISとして知られるイオン化法によって、4つのカロテノイド (α -carotene, β -carotene, lutein, β -cryptoxanthin) の検出、定量が可能となったため、果実の成熟段階ごとの蓄積パターンを解析した。植物材料として、ミヤマウグイスカグラ1系統、ハスカップ3系統、種間雑種4系統を用いた。それぞれの果実を5つの成熟段階に分けて収穫し、分析に供試した。

完熟期のカロテノイド含有量について調査したところ、 β -caroteneは主要なカロテノイドで、完熟期果実において種間雑種は両親のミヤマウグイスカグラおよびハスカップより高い値を示した。

β -cryptoxanthinはハスカップのすべての系統で定量限界以下だったが、種間雑種では定量が可能であり、種間交雑によって生合成のレベルが大きく変化したことが示唆された。

次に、成熟段階ごとのカロテノイド含有量について調査した。カロテノイド濃度はほとんどの種類、系統において直線的には増減しなかった。多くの果樹でlutein濃度は成熟期間中に減少することが知られており、本研究においても、成熟期間の初期段階で減少する傾向があった。また、 β -cryptoxanthinはミヤマウグイスカグラでは成熟段階の初期から完熟まで増加していたものの、種間雑種で多く β -cryptoxanthinを多く含む系統においては成熟段階の後半で増加しており、蓄積パターンが変化していることが明らかとなった。

カロテノイドは植物に共通する代謝経路を持つため、これらの結果を踏まえ、系統間のカロテノイド生合成について考察した。 β -cryptoxanthinは β -caroteneを前駆体としてLUT5もしくはCrtZによって生合成される。 β -caroteneと β -cryptoxanthinの完熟期の成分量の結果から、これらの遺伝子は β -caroteneの存在下において、特にミヤマウグイスカグラで強く発現し、種間雑種では弱く発現、ハスカップでの発現量はほとんどないことが示唆された。また、 β -cryptoxanthinの蓄積パターンがミヤマウグイスカグラと種間雑種で異なっていたことから、発現タイミングの違いもあることが考察された。また、本研究で検出したカロテノイドは δ -caroteneを由来とする α -caroteneおよびluteinと、 γ -caroteneを由来とする β -caroteneおよび β -cryptoxanthinに分けられる。ハスカップでは δ -caroteneに由来するカロテノイドが、ミヤマウグイスカグラ、種間雑種では γ -caroteneに由来するカロテノイドが多い傾向にあった。これらの経路はLUT2とLYCが関わっており、ハスカップではLUT2が、ミヤマウグイスカグラや種間雑種ではLYCが多く発現していることが示唆された。

色素全体の傾向として、ミヤマウグイスカグラではアントシアニン量が少なく、カロテノイド量が中間的、種間雑種ではアントシアニン量が中間的でカロテノイド量は多く、ハスカップではアントシアニン量が多く、カロテノイド量が少なかった。これらの結果は果実色と概ね一致しており、種間雑種果実の赤紫色はアントシアニンとカロテノイドの両方が含まれることによって呈されたものであると考えられた。

本研究では、果実に含まれるカロテノイドの定量手法を確立し、ミヤマウグイスカグラ、ハスカップおよびそれらの種間雑種の果実におけるカロテノイドの蓄積パターンの解析を行った。これらの結果から果実色の変化の要因を探るとともに、生合成経路からの考察を行った。今後、本研究で測定された成分分析の結果と生合成に関連する遺伝子発現解析やゲノム解析を組み合わせることによって、種間交雑における形質の予測に活用され、育種の加速化が期待される。