



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_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士 (環境科学)

氏 名 藤田 凌平

審査委員	主査	教授	星野 洋一郎
	副査	教授	後藤 貴文
	副査	教授	内海 俊介
	副査	准教授	中村 剛
	副査	助教	平田 聡之
	副査	講師	神 繁樹 (大学院医学研究院)

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)

植物の種間交雑は、変異拡大の効果が大きいいため植物育種の有効な手段として広く用いられている。特に、野生植物が持つ有用形質を既存の作物種に導入する上で種間交雑は重要な手法であるが、両親のゲノムを引き継ぐため、どのような表現型のものが作出されるか、栽培されまで予測が困難であり、栽培品種として成立させるためには、栽培試験と系統選抜、戻し交雑など多くの段階が必要である。本研究では、北海道の特産果樹であるハスカップの育種プログラムの中で、ミヤマウグイスカグラとの種間雑種に着目し、両親と種間雑種の果実の成分比較から形質発現の予測モデルの構築を目指した。果実の発達段階毎のカロテノイド成分の網羅的解析から種間交雑で生じる成分の生合成を精緻に調べ、それらの発現量を両親と比較することで、予測モデルに向けた基盤情報の整理を進めた。

対象植物のハスカップは、和名クロミノウグイスカグラであり、スイカズラ科スイカズラ属の灌木である。その果実は小果樹として利用される。ハスカップは青紫色の楕円状の果実を持つ。近縁種であるミヤマウグイスカグラは赤色の楕円状の果実を持ち、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。特徴的な青紫色のハスカップの果実については、アントシアニンの分析が進んでいるが、カロテノイドの分析について解析手法が確立されておらず、どのようなカロテノイドをどの程度含むかほとんどわかっていない。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での定量が難しいことから、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進め、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、定量する手法を確立した。この分析手法をミヤマウグイスカ

グラ1系統，ハスカップ3系統，種間雑種4系統に適用し，それぞれの果実を5つの成熟段階に分けて分析に供試した。

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することが明らかとなった。成熟段階ごとのカロテノイド含有量については，各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いた。

カロテノイドは植物に共通する代謝経路を持つため，系統間のカロテノイド生合成について考察を加えた。 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。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可能性がある。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起因していると考えられた。

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は新規性が高く，極めてユニークなものであり，高い研究水準にある。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ている。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，本研究の果実成分の発現メカニズムが解明されることが期待される。

審査委員一同は，これらの成果を高く評価し，また研究者として誠実かつ熱心であり，大学院博士課程における研鑽や修得単位などもあわせ，申請者が博士（環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。