

# 学位論文審査の結果の要旨

## Summary of Doctoral Dissertation Examination

氏名/Name	MEANCHAIPIBOON SUNISA
審査委員 Examining Committee	Chief Examiner 主査 中務 明 (印)
	Assistant Examiner 副査 小林 伸雄 (印)
	Assistant Examiner 副査 執行 正義 (印)
	Assistant Examiner 副査 竹村 圭弘 (印)
	Assistant Examiner 副査 江角 智也 (印)
題目 Title	Flower color and anthocyanin biosynthesis genes analysis in Hirado azalea ( <i>Rhododendron</i> × <i>pulchrum</i> Sweet) (ヒラドツツジの花色およびアントシアニン合成遺伝子の解析)
審査結果の要旨 (2,000字以内) / Summary of Doctoral Dissertation Examination (Within 1200 words)	
<p>「ヒラドツツジ」(<i>Rhododendron</i> × <i>pulchrum</i>)は、赤色、紫色、ピンク色から白色まで幅広い花色を有する大輪系の代表的なツツジ園芸品種群である。これまでに行われた花色や花形、雌蕊や雄蕊の数などの広範な形態調査の結果に基づいて、赤花のケラマツツジ (<i>R. scabrum</i> G. Don), 紫花のキシツツジ (<i>R. ripense</i> Makino), 白花のリュウキュウツツジ ‘白琉球’ (<i>R. × mucronatum</i> (Blume) G. Don) などが「ヒラドツツジ」品種の成立に関与した植物種と推定されている。しかしながら、花色発現に関与する遺伝子の配列等はほとんど知られておらず、分子生物学的手法を用いた系統発生的研究の進展が期待される。本論文では、アントシアニジン色素構成、アントシアニン合成関連遺伝子の発現とフラボノイド3'5'水酸化酵素遺伝子 (<i>F3'5'H</i>) のDNA構造解析を行ない、「ヒラドツツジ」品種における花色の多様化の仕組みと推定親との遺伝的関係を考察した。</p>	
<p>1. 「ヒラドツツジ」品種における色素構成とアントシアニン合成遺伝子の発現解析。</p> <p>「ヒラドツツジ」は長崎県平戸市を中心に発達した大輪系の園芸品種群で、その成立にはケラマツツジ、キシツツジ、リュウキュウツツジ ‘白琉球’などの野生種や園芸品種が関与したと考えられている。本論文では、「ヒラドツツジ」品種と野生種について、花色とアントシアニン組成およびアントシアニン合成関連遺伝子発現を比較した。「ヒラドツツジ」品種は色素構成により大きく4つのグループに分類された。赤花の園芸品種とケラマツツジはシアニジン系色素のみを有していた。紫花の園芸品種とキシツツジやモチツツジは、シアニジン系色素とデルフィニジン系色素およびフラボノール</p>	

色素を有していた。白花の園芸品種とリュウキュウツツジ‘白琉球’はフラボノール色素のみを有していた。野生種と異なる花色のピンク色から赤紫色を示す「ヒラドツツジ」品種の色素は、シアニジン系色素およびフラボノールであった。すべての調査個体はリアルタイム定量 RT-PCR 法によりフラボノイド 3'水酸化酵素、ジヒドロフラバノール還元酵素およびアントシアニン合成酵素の遺伝子発現が検出されたが、デルフィニジン系色素を有する野生種および品種のみが *F3'5'H* を発現した。加えて白花個体も全ての遺伝子を発現していた。これらの結果は赤花のケラマツツジに紫花のキシツツジ、モチツツジや白花のリュウキュウツツジ‘白琉球’などから *F3'5'H* が導入され、「ヒラドツツジ」の紫・赤紫およびピンクなどの多様な花色が作られたことを示唆した。

## 2. 「ヒラドツツジ」品種とその成立に関連するツツジにおける *F3'5'H* に基づく遺伝的關係。

「ヒラドツツジ」品種群は大輪赤花のケラマツツジをもとに、キシツツジやリュウキュウツツジ‘白琉球’などの野生種や園芸品種が関与することによって花色が多様化したと推定されるが、その遺伝的關係は不明な点が多い。本論文では、「ヒラドツツジ」品種とその成立に関連する野生種・園芸品種について、花色の多様化に重要な *F3'5'H* のゲノム構造および塩基配列を調査し、遺伝的關係を評価した。*F3'5'H* のコード領域 (CDS) については、デルフィニジン系色素を有しないケラマツツジと「ヒラドツツジ」品種では、第 2 エキソン領域のみが PCR 増幅されたことから、ケラマツツジとこれらの「ヒラドツツジ」品種において第 1 エキソン領域の構造変異の可能性が示唆された。一方、デルフィニジン系色素を有するキシツツジやモチツツジ、チョウセンヤマツツジの *F3'5'H* は正常な DNA 構造であり、単離した遺伝子の CDS 配列は 1533bp (510 アミノ酸)、リュウキュウツツジ‘白琉球’では 1533bp (510 アミノ酸) と 1551bp (516 アミノ酸) であることが確認できた。*F3'5'H* 配列に基づいて系統樹を作成したところ、今回調査した紫花品種‘艶紫’と‘平和の光’、白花品種の‘白峰’と‘白孔雀’は、キシツツジやリュウキュウツツジ‘白琉球’と同じグループを形成した。また *F3'5'H* の CDS 配列は‘艶紫’と‘白峰’では終始コドンの近くに 5bp の挿入がある 1551bp であったが、‘平和の光’と‘白孔雀’では挿入がない 1533bp であった。5bp の挿入を識別するために PCR 増幅したところ、ケラマツツジやモチツツジになく、一部のキシツツジとリュウキュウツツジ‘白琉球’に確認された。これらの結果は、「ヒラドツツジ」の花色多様性は、ケラマツツジに対してキシツツジやリュウキュウツツジ‘白琉球’が交雑することによる *F3'5'H* 構成の多様化が原因であることを示唆した。

本論文では、特にデルフィニジン系色素の有無に着目して、その合成に重要な *F3'5'H* の発現や DNA 構造解析を行い、「ヒラドツツジ」品種群における花色の多様化の仕組みとともに推定親について遺伝的背景を示すことができた。これらの知見は、遺伝子情報に基づいたツツジ花色の創出に貢献することが期待される。