

	ツルマキ ケイイチ
氏 名	鶴巻 啓一
本籍（国籍）	山形県
学 位 の 種 類	博士（農学）
学 位 記 番 号	連研第 736 号
学位授与年月日	平成 31 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当課程博士
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物資源科学
学 位 論 文 題 目	トウガラシの重要形質に関する遺伝育種学的研究(Genetic studies on important traits in <i>Capsicum</i> )
学位審査委員	主査 山形大学准教授 笹沼 恒男 副査 大西 一光(帯広 准教授), 千田 峰生(弘前 教授), 星野 友紀 (山形 准教授)

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

第 1 章では、ベル型甘味品種としては初となる *pAMT* 変異体 ‘カラーピーマンイエロー’ を発見した。ベル型の甘味トウガラシ品種は世界中で野菜として栽培・利用されているにもかかわらず、その辛味欠失は *pun1* というたった 1 種類の劣性対立遺伝子によってもたらされていると考えられてきた。*pAMT* 変異体として ‘カラーピーマンイエロー’ が見つかったことは、以上のような ‘ベル型甘味品種の常識’ を覆す発見であり、*pAMT* 変異体が人知れず甘味品種の育種で使われてきたことを示唆している。よって、‘カラーピーマンイエロー’ のような *pAMT* 変異型のベル型甘味品種はこれまで調べられて来なかっただけで、他にも存在する可能性がある。また、本章で行った *pamt<sup>10</sup>* 特異的 DNA マーカーによる甘味品種のジェノタイプングでは、‘イエローパプリカ’ という品種が *pamt<sup>10</sup>* をヘテロで持つことが明らかになった。*Pun1* 遺伝子のアレル分析で判明したように、‘イエローパプリカ’ は *pun1* アレルをホモに持つ甘味品種であり、他の *pun1* アレルを持つ品種の中に *pAMT* 変異型アレルを持つものが今後も見つかる可能性がある。以前の研究で述べられているように、*pAMT* 変異型甘味トウガラシはカプサイシノイド類縁物質である ‘カプシノイド’ を蓄積する。カプシノイドは辛味の程度がカプサイシノイドの約 1000 分の 1 であるにもかかわらず、代謝亢進作用などカプサイシノイドと同様の生理作用を持つ。*pAMT* 変異体である ‘カラーピーマンイエロー’ もカプシノイドを蓄積している可能性が高く、‘カラーピーマンイエロー’ 自体が健康野菜としての可能性を秘めている。本章で開発した *pamt<sup>10</sup>* 特異的 DNA マーカーは *pamt<sup>10</sup>* アレルを甘味トウガラシ育種に利用する際の有用なツールとなるだろう。

第 2 章では、トウガラシの白色果実色の遺伝機構の解明を目的に、白色果実品種 ‘チェイロホワイト’ を主たる対象として、カロテノイド生合成経路遺伝子のシーケンシング、発現解析および TLC 分析を行い、この品種が *Psy* 遺伝子と *Ccs* 遺伝子の 2 重変異体であることを明らかにした。これまで分子遺伝学的な解析が行われた果実色変異品種はいずれも黄やオレンジ、クリーム色のみで、白色品種を対象として使用したのは本研究が初めてである。また第 2 章では、‘チェイロホワイト’ に加えて、もう一つの白色品種 ‘ホワイトファタリ’ の *Psy* と *Ccs*

の塩基配列を決定した。その結果、*Psy* 遺伝子の第 4 エキソンに 2 塩基 (AA) の挿入があり、フレームシフト変異によって 66bp 下流に終止コドンが生じていた。この変異型 *Psy* アリルはこれまでに報告がなかったものだったため、‘*psy<sup>3</sup>*’ と名付けた。また、‘ホワイトファタリ’の *Ccs* 遺伝子は変異型アリル ‘*ccs<sup>1</sup>*’ であり、‘チェイロホワイト’ と同じものだった。‘ホワイトファタリ’が *Psy* と *Ccs* の 2 重変異体だったことは、‘チェイロホワイト’の解析結果に基づき *Psy* と *Ccs* の 2 重変異により白色品種が生じるという仮説を裏付ける結果である。*Psy* と *Ccs* のシーケンシングの結果、‘チェイロホワイト’、‘イエローブートジョロキア’、‘ハバネロスアープオレンジ’、‘ホワイトファタリ’が持っていた *Ccs* 変異アリルは、いずれも既知の ‘*ccs<sup>1</sup>*’ だった。また、‘チェイロホワイト’が持っていた *Psy* 変異アリルは‘ハバネロレモン’と同じ ‘*psy<sup>2</sup>*’ だった。以前の研究で見つかった *Psy* と *Ccs* の変異型アリルは、いずれも系統特異的なものと考えられてきた。しかし、本章の研究で得られた結果から、*Psy* と *Ccs* の変異型アリルには複数の品種に共通して存在するものがあることが示唆された。一方で、‘ホワイトファタリ’からは、新規の変異型 *Psy* アリル ‘*psy<sup>3</sup>*’ が見つかった。この結果は、さらに多くの非赤色品種を調べることで、新規の変異型アリルが見つかる可能性を示唆している。

第 3 章では、第 2 章の結果から考えられた仮説を、より多くの *C. chinense* 非赤色系統の *Psy* と *Ccs* の多様性を調べることで検証した。その結果、*Psy* 遺伝子には、既知の ‘*psy<sup>1</sup>*’、‘*psy<sup>2</sup>*’、‘*psy<sup>3</sup>*’ と新規に発見された ‘*psy<sup>4</sup>*’ の 4 種類のアリルが見つかり、*C. chinense* では *Psy* 遺伝子のいくつかの変異型アリルが一定の頻度で複数の系統で共有され非赤色果実系統が生じていることが裏付けられた。また、*Ccs* 遺伝子については、既知の変異型アリル ‘*ccs<sup>1</sup>*’ と新規に見つかった ‘*ccs<sup>3</sup>*’、‘*ccs<sup>4</sup>*’ の 3 種類の変異型アリルが見つかり、*Ccs* 遺伝子については、*C. annuum* 同様、*C. chinense* でもそれぞれの変異型アリルはあまり高頻度で種内に共有されてはいないということが明らかになった。以上の結果は、*C. chinense* の非赤色果実系統の遺伝要因は、2 つの点で *C. annuum* と対照的であることを示している。また、第 3 章では、*Psy* と *Ccs* の既知の変異型アリル ‘*psy<sup>1</sup>*’、‘*psy<sup>2</sup>*’、‘*ccs<sup>1</sup>*’ それぞれに特異的な DNA マーカーを開発した。本章で作成した *Psy* と *Ccs* の変異型アリル特異的 DNA マーカーは、*C. annuum* にこれまでになかったクリーム色や白色の品種を作るのに有用であると考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

トウガラシ (*Capsicum* sp.) は、中南米原産のナス科植物で、世界でもっとも多く生産されている香辛料作物であり、ピーマン、パプリカなどの野菜としても広く利用されている。辛味と果実色は、トウガラシにおける商業上もっとも重要な形質であり、嗜好や用途の違いから、様々な辛味、果実色をもつ品種が世界中で育種・栽培されてきた。近年でもトウガラシの生産量は世界的に増加傾向にあり、商業上の付加価値を高めた新品種の育種には、新たな遺伝資源が求められる。本研究は、トウガラシの二大重要形質である辛味と果実色に関して、新規の有用遺伝資源の探索と新たな遺伝学的育種学的知見の獲得を目的として、トウガラシ遺伝資源を対象に遺伝育種学的手法を用いて解析を行ったものである。

辛味については、遺伝資源 26 系統のスクリーニングにより、パプリカの 1 品種であるカラーピーマンイエローが、ピーマン、パプリカと呼ばれるベル型甘味トウガラシの辛味欠失の原因と言われていたカプサイシン合成酵素遺伝子 *Pun1* の変異型アリルを持っていないことを発見し、その後の交配による遺伝分析と分子遺伝学的解析により、カラーピーマンイエローがこれまでマイナーな非ベル型甘味品種でのみ報告されていた *pAMT* 遺伝子の変異により辛味を失ったタイプであり、*pAMT* 遺伝子の新規変異型アリル *pamt<sup>10</sup>* をもつことを明らかにした。この発見は、世界中のベル型甘味トウガラシの辛味欠失は *Pun1* の変異型アリル *pun1* による一元的な起源をもつというこれまでの定説を覆すもので、ピーマン、パプリカの甘味の原因となる新たな遺伝子資源の存在を明らかにしたという観点から、学術的意義が高い。

果実色については、これまで研究がなされていなかった白色果実品種を対象とし、主要栽培種の 1 つ *C. chinense* の 1 品種チェイロ・ホワイトの果実色変異の遺伝的原因を分子遺伝学的手法により調べ、この品種の白色果実色がカロテノイド合成経路の *Psy*、*Ccs* 両遺伝子の二重変異により生じたものであることを明らかにした。さらに、チェイロ・ホワイトがもっていた変異型アリルが *Psy*、*Ccs* 両遺伝子とも他の系統で発見されていた既知のアリルであったことから、91 系統の *C. chinense* 遺伝資源を用い、*Psy*、*Ccs* 両遺伝子の変異型アリルについて CAPS 及び dCAPS マーカーを作成し、シーケンシングと合わせて多様性解析を行った。その結果、ハバネロなどの品種を含む *C. chinense* の果実色変異は *Psy* 遺伝子の変異が主たる原因であり、4 種類の変異型アリルが中程度の頻度で複数の系統間で共有されていることを明らかにした。これはピーマン、パプリカを含むもっとも主要なトウガラシ *C. annuum* では果実色変異が *Ccs* 遺伝子の変異を原因とし数多くの変異型アリルがほぼ系統特異的に見られることと対照的であり、トウガラシの主要栽培 2 種間で果実色変異の遺伝的特徴が全く異なっているという重要な知見が得られた。また、研究を通じ、*psy<sup>3</sup>*、*psy<sup>4</sup>*、*ccs<sup>3</sup>*、*ccs<sup>4</sup>* という 4 つの新規の果実色に関する変異型アリルを発見している。

本研究で得られた新規の知見は、トウガラシの遺伝育種学において重要な意義をもつものであり、新規の有用アリルの発見やマーカーの開発など今後の育種への貢献も十分期待される。よって、本審査委員会は、「岩手大学大学院連合農学研究科博士学位論文審査基準」に則り審査した結果、本論文を博士（農学）の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

#### 1. Tsurumaki K. and T. Sasanuma (2019)

Discovery of novel unfunctional *pAMT* allele *pamt<sup>10</sup>* causing loss of pungency in sweet bell pepper (*Capsicum annuum* L.). Breeding Science, in press (Accepted on November 10, 2018).