

令和 5 年 5 月 23 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06028

研究課題名(和文) 植物標本情報を利用したハスカップの自生地探索と遺伝的多様性の解明

研究課題名(英文) Investigation of native habitats and genetic diversity based on the analysis of herbarium specimens in *Lonicera caerulea*

研究代表者

星野 洋一郎 (Hoshino, Yoichiro)

北海道大学・北方生物圏フィールド科学センター・教授

研究者番号：50301875

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ベリー類の一つとして利用されているハスカップの遺伝資源に関して、これまでの研究で北海道において二倍体と四倍体が見つかったが、北海道およびその近傍地域における分布の様相は不明である。そこで、植物標本情報をもとにハスカップの分布状況を解析し、倍数性の調査を進めた。その結果、倍数体混在集団において三倍体が見つかるなどの新知見が得られた。人為的に育成した倍数体シリーズを供試し、これらがどのような後代を作るか検証したところ、DNA量が異なる異数体が得られることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ハスカップは北海道に自生する植物で、その果実はベリー類の一つとして営利栽培されている。ハスカップの野生植物遺伝資源は、今後の品種改良のために重要なものであるが、開発等によりその自生地は減少している。本研究では、ハスカップの二倍体と四倍体の分布状況の詳細な情報に加え、自生地において三倍体が生み出されていることを明らかにした。本課題の研究成果は、ハスカップの野生遺伝資源の保全を行う上で有用な情報を提供するものである。

研究成果の概要(英文)：The fruits of haskap (*Lonicera caerulea*) are used as one of the berry crops. The genetic resources of haskap have been studied in Hokkaido. Diploid and tetraploid plants have been found in Hokkaido; however, their distribution patterns are still unknown. Therefore, the distribution patterns and ploidy levels of haskap were analyzed based on herbarium specimen information. As a result, new findings were obtained, such as the discovery of triploid plants in some populations comprising diploid and tetraploid plants. Additionally, various polyploid plants were produced, and their fertility were examined. After open pollination in these polyploid plants, progeny plants were obtained, showing various DNA contents. These data suggested the factors affecting the genetic diversity in the natural habitats of haskap.

研究分野：園芸学

キーワード：ハスカップ 倍数性

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ハスカップ(学名・*Lonicera caerulea*; 和名・クロミノウグイスカグラ)は北海道に多く自生し、勇払原野の遺伝資源をもとに小果樹として栽培が行われている。申請者は北海道におけるハスカップの野生遺伝資源の探索を行い、二倍体と四倍体が存在すること、二倍体は北海道東部(道東)にのみ分布すること、を明らかにしてきた(Miyashita et al. 2011)。さらに道東を探索すると二倍体と四倍体がモザイク状に分布しており、二倍体と四倍体が同所的に自生する集団があることがわかった。しかし、北海道北東部や島嶼における分布の詳細や系統関係は不明であり、また、本州においては植物標本の記録はあるものの倍数性や分布の全体像は把握されていない。そこで、植物標本情報をもとに、ハスカップの自生集団を探索して分布状況の現状を把握し、倍数性の解析を行う研究計画を立案した。

### 2. 研究の目的

ハスカップは北ユーラシアを中心に自生するスイカズラ科スイカズラ属の植物である。北海道にはハスカップが多く自生しており、その遺伝資源をもとに営利生産が進んでいるが、その遺伝的多様性や分布の様相については不明な点が多い。ハスカップの遺伝資源の特徴として、倍数性の多様性がある。これまでに、北海道に自生するハスカップには、二倍体(染色体数18本)と四倍体(染色体数36本)が存在していることがわかっている。北海道最大の自生地である勇払原野のハスカップが四倍体であるのに対し、二倍体は北海道東部に局在しているが、その詳細は不明である。本課題では、ハスカップの二倍体と四倍体の分布パターンの詳細を明らかにするとともに、倍数体と分布域の関係を解析するために、北海道東部における二倍体と四倍体が近接した地域に焦点を絞って調査を行う。また、北海道大学に収蔵されているハスカップの標本を用い、北海道とその近傍地域のハスカップの分布パターン解析と標本の葉の調査から二倍体と四倍体の識別方法の確立を試みる。本研究は、日本におけるハスカップの遺伝的多様性を解明し、その伝播について考察するとともに、今後の保全と育種利用のための基盤を構築することを目的としている。

### 3. 研究の方法

ハスカップの標本調査は、北海道大学北方生物圏フィールド科学センター植物園および北海道大学総合博物館において実施した。標本に記載されている採取地の情報を採録した。また、葉の形態およびレプリカ法による気孔の顕微鏡観察から二倍体と四倍体を識別する手法について検討を行った。

これまでの自生地探索のデータから、二倍体と四倍体のハスカップが混在している浜中町茶内の湿原(略称 CNI-2)(図1)について、採取許可を得てフィールド調査を行った。GPSを用いてハスカップの個体毎の座標

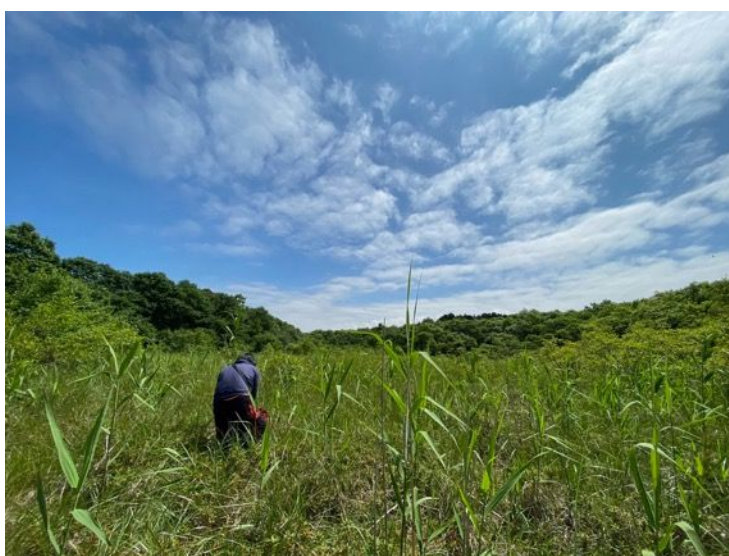


図1 浜中町茶内の湿原(略称 CNI-2)のハスカップ自生地

データを記録し、倍数性の解析のために成葉数枚を採取した。フローサイトメーターを用いて核 DNA を定量し、倍数性の調査を行った。

ハスカップの倍数体の成因を解析するために、人為的に育成したハスカップの倍数体シリーズおよび異数体 (Miyashita and Hoshino, 2015) を利用し、倍数体が示す稔性およびこれらが後代を育成できるかどうか、育成できた場合、どのような倍数性を示すかどうかを実験的に検証した。

#### 4. 研究成果

ハスカップの標本情報を収集し、北海道および北海道近傍地域のハスカップの分布状況を把握した。葉の形態情報および気孔サイズのデータから、二倍体と四倍体の識別を試みた。指標となる二倍体と四倍体の葉の形態データは、浜中町茶内の湿原 (略称 CNI-2) の二倍体と四倍体のもを用い、標本データとの比較を行った。

二倍体と四倍体のハスカップが混在している浜中町茶内の湿原 (略称 CNI-2) の調査では、ハスカップの自生個体 (図 2) の倍数性調査を進めた。フローサイトメーターを用いて核 DNA を定量したところ、二倍体と四倍体の両方が混在して自生していることがわかった。また、葉のサイズと新鮮重を測定し、二倍体と四倍体を比較し、二倍体に比べて四倍体のハスカップの葉は厚いことが示唆された。また、二倍体の葉は全体的に長細く、四倍体は丸みを帯びている傾向がある



図 2 浜中町茶内の湿原 (略称 CNI-2) の自生するハスカップの個体識別 (ラベルを付けている)

ことがわかった。この自生地ハスカップ個体を網羅的に調査したところ、三倍体のハスカップが存在していた。三倍体の存在は、二倍体と四倍体が交雑する可能性があることを示唆していた。

ハスカップの倍数体の稔性を解析するために、人為的に育成したハスカップの倍数体シリーズおよび異数体の花粉稔性を調査した。人工培地による花粉の発芽試験では、高次倍数性では発芽率は低下するものの発芽能力がある花粉を形成することがわかった。ハスカップの二倍体、四倍体、五倍体、六倍体および異数体の放任受粉により獲得したハスカップの果実から種子を取り出し、後代の育成を行った。得られた実生の DNA 量の解析から、様々な DNA 量を持つ個体が育成されることがわかった。

#### <引用文献>

Miyashita, T., Araki, H., Hoshino, Y. (2011) Ploidy distribution and DNA content variations of *Lonicera caerulea* (Caprifoliaceae) in Japan. *Journal of plant research* 124, 1-9.

Miyashita, T., Hoshino, Y. (2015) Interploidy and intraploidy hybridizations to produce polyploid Haskap (*Lonicera caerulea* var. *emphyllocalyx*) plants. *Euphytica* 201, 15-27.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Li Jixiao, Suzuki Yumeno, Hoshino Yoichiro	4. 巻 219
2. 論文標題 Phenotypic analysis of polyploid and aneuploid haskap ( <i>Lonicera caerulea</i> L. subsp. <i>edulis</i> (Turcz. ex Herder) Hulten) plants and their progeny production	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Euphytica	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10681-023-03181-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 河合智大・星野洋一郎
2. 発表標題 北海道東部におけるハスカップの二倍体と四倍体が混在する集団における三倍体の出現
3. 学会等名 園芸学会令和4年度春季大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------