日本原生キイチゴ属植物数種の育種素材としての評価

執行みさと¹・竹馬昂平²・國武久登³・小松春喜^{2*}¹ 東海大学大学院生物科学研究科 869-1404 熊本県阿蘇郡南阿蘇村河陽² 東海大学農学部 869-1404 熊本県阿蘇郡南阿蘇村河陽³ 宮崎大学農学部 889-2192 宮崎市学園木花台西Evaluation of Some Wild Species of *Rubus* Native to Japan as Breeding MaterialsMisato Shigyo¹, Kouhei Chikuma², Hisato Kunitake³ and Haruki Komatsu^{2*}¹Graduate School of Bioscience, Tokai University, Kawayou, Minamiaso-mura, Aso, Kumamoto 869-1404²Faculty of Agriculture, Tokai University, Kawayou, Minamiaso-mura, Aso, Kumamoto 869-1404³Faculty of Agriculture, Miyazaki University, Kibanadai, Gakuen, Miyazaki 889-2192

Abstract

There is increasing interest in fruits of bramble crops (*Rubus* spp.) because of the possible beneficial health effects associated with their phenolic content. Almost all cultivars are from Europe and the United States, although there are many wild *Rubus* species native to Japan. In order to obtain basic knowledge for the horticultural application of those wild species, we collected and evaluated some wild species native to Kyusyu Island as genetic resources. All raspberry cultivars were diploid, but almost all wild species were diploid with a different genome size, except for a few hexaploids. The aggregate fruit weights of wild species were not smaller than cultivars except for *Rubus lambertianus* Seringe. The ripening fruits of some wild species, *R. crataegifolius* Bubge., *R. trifidus* Thunb., and *R. palmatus* Thunb., were higher than the fruits of raspberry cultivars regarding total sugar contents and lower in total organic acid contents. The fruits of *R. crataegifolius* Bubge., *R. palmatus* Thunb., and *R. lambertianus* Seringe also showed a higher total polyphenol content and antioxidant activity than the cultivars. Some wild species native to Japan may be useful as breeding material to establish some new cultivars adaptable to Japan with high quality and functionality.

Key Words : breeding material, fruit quality, functional foods**キーワード** : 育種素材, 果実品質, 機能性食品

緒 言

キイチゴは、バラ科 (Rosaceae) キイチゴ属 (*Rubus*) に属する落葉または常緑性の低木性果樹であり、野生種は南極大陸を除くすべての大陸でみられ (Gustafsson, 1942, 1943; Hummer, 1996), 北半球の亜寒帯から温帯を中心に分布している。大きな被害をもたらす病害虫が少なく、家庭果樹向きの小果樹であり、生果はもちろん、ジャムやジュースなどの加工原料としても利用されている。果実 (難波ら, 1986) や葉 (鶏飼, 1997; 中原, 1998) に高い健康機能性を有しており、特に果実に含まれるアントシアニンやプロアントシアニジンを含むポリフェノール類やフェノール酸には、細胞のフリーラジカルによる酸化ダメージを抑制する抗酸化作用などの機能性があることが明らかにされ

(Wada・Ou, 2002), 病気の予防や健康維持に有効な機能性食品として注目されつつある果樹である。

現在の栽培種は、収穫時に花托が花盤に残り、集合果が中空になるラズベリーと花托が集合果に付着して花盤より分離するブラックベリーに大別される。いずれも地上部の茎は二年生であり、地下部の根は永年生である。すなわち、その年に発育した新茎 (プライモケン) が年を越して結果母枝 (フロリケン) となり、この結果母枝より発生した新梢上に開花・結実する。ラズベリーの栽培は 16 世紀にイギリスで始まり、18 世紀の終わりには欧州から米国へ導入され、19 世紀の後半から栽培が盛んになった。また、ブラックベリーについては 17 世紀にヨーロッパで、19 世紀に北米で栽培化されるようになり、20 世紀に入って現在の経済品種の多数が育成された (小松, 2008)。このように現在のキイチゴ栽培種は、いずれも欧米で改良されたものである。

一方、我が国にも 50 種内外のキイチゴ属植物が分布し (北村・岡本, 1959), 本学の位置する九州地方にも相当数の分布が知られている。しかし、これまで我が国では、こ

2012 年 10 月 16 日 受付. 2013 年 5 月 14 日 受理.

本研究の一部は文部科学省の科学研究費 (10660038) および東海大学総合研究機構の助成を受けて行われたものである。

* Corresponding author. E-mail: hkomatsu@agri.u-tokai.ac.jp

れらを栽培化はもちろん、育種素材としても利用してこなかった。そこで本研究では、これまで顧みられなかった我が国自生のキイチゴ属植物に着目し、それらの育種素材としての可能性を検討した。

材料および方法

本学周辺（阿蘇郡南阿蘇村）に自生するクサイチゴ（*R. hirsutus* Thunb.），ヒメバライチゴ（*R. minusculus* Lev. et Vaniot.），クマイチゴ（*R. crataegifolius* Bubge.），ナワシロイチゴ（*R. parvifolius* L.），ナガバモミジイチゴ（*R. palmatus* Thunb.），フユイチゴ（*R. buergeri* Miq.）および徳島県および長崎県にそれぞれ自生するカジイチゴ（*R. trifidus* Thunb.）およびシマバライチゴ（*R. lambertianus* Seringe.）の野生種8種を収集し、実験に用いた。また、比較の対照としてラズベリーの栽培種（*R. idaeus* L.）‘サマーフェスティバル’（‘Summer Festival’）およびタキイ種苗より導入した‘キューティーレッド’，‘ワインダーイエロー’および‘ワインダーベイレッド’の計4品種を供試した。すなわち、調査の1～2年前にいずれも13号鉢に用土を培養土：腐葉土：堆肥＝6：3：1（v/v/v）として植え付け、カジイチゴおよびシマバライチゴを除く6種4品種については本学（標高：約450 m）で栽培し、前記2種については本研究室第2圃場（熊本県菊池郡大津町、標高：約150 m）で栽培を行った。

1. 野生種の形態および生態学的特性

野生種8種および栽培品種4品種について樹姿、刺の有無、葉および花の形態、花色、開花期、果実の成熟期などを調査した。葉の形態は、それぞれの野生種および品種の3個体からプライモケーンの葉10枚ずつを8～9月に採取し調査を行い、花の形態は葉と同様にそれぞれ10花を開花期（4～5月あるいは9～10月）に採取し調査を行った。

花粉稔性については、シマバライチゴを除く野生種7種と栽培種4品種を調査したが、いずれもそれぞれ3個体から開花直前の蕾各5花を採取し、開花後の花粉を採集して混合し、 -80°C で約1年間保存したものをを用いた。これらの花粉をスライドグラスに置床し、1%アセトカーミン溶液で染色後、光学顕微鏡下で観察し、赤く染まった花粉を稔性花粉とした。また、花粉の発芽率については、10%ショ糖と1%寒天を添加した発芽培地に花粉を置床し、 25°C の暗黒下で12時間インキュベートして花粉管を伸長させた後、光学顕微鏡下で観察した。なお、調査は花粉約300粒の3反復とし、発芽花粉は花粉管が花粉の直径よりも長く伸びたものとした。

倍数性の解析には、フローサイトメーター（FCM, EPICS XL SYSTEM II, Beckman Coulter）を用い、細胞核の抽出にはMeng・Finn（2002）の方法を一部改変した方法を用いた。すなわち、各個体から2枚ずつ幼葉を採取し、1枚につき約40 mgを切り取りサンプルとした。そこにchopping buffer [buffer stock I (10 mM MgSO_4 , 50 mM KCl, 5 mM HEPES, pH 8.0) 10 mL, buffer stock II (10% TritonX-100) 0.28 mL,

PVP-10 0.2 g, dithiothreitol 0.01 g] を1 mL加え、シャーレ上で100回程度細かく刻み、ミラクロス（Calbiochem）でろ過した。ろ液にRNAを除去する目的で1% DNAase-free RNAase（R4642, Sigma-Aldrich）64 μL を加えよく攪拌し、小型精密恒温槽チルヒート（CHT-100, IWAKI 旭テクノグラス）を用いて 37°C で15分間加温した。その後、0.05%ヨウ化プロピジウム（PI）溶液（buffer stock I 10 mL, PI 0.005 g）を54 μL 加え、混合し、前述の恒温槽を用いて 37°C で15分間加温した後、FCMで核の蛍光強度を測定して倍数性を解析した。また、指標としてカンキツのタヒチライム（ $1.17 \text{ pg} \cdot 2 \text{ C}^{-1}$ ）（Ollitrault ら, 1994）を用い、Meng・Finn（2002）の方法を参考に核DNA含量を算出した。

2. 野生種と栽培種の果実品質の比較

フユイチゴを除く7種の野生種と栽培種4品種について、各3個体から成熟期（5～7月あるいは11～12月）にそれぞれ10果以上を採取した。各個体の10果について目視によって果色を調査した後、果実（集合果）の縦径、横径、重さおよび小果数を測定した。

果実の糖および有機酸の分析には各個体の冷凍果3個以上から2～5 gを秤取し、80%エタノールを加えて摩砕し、沸騰湯煎中で1時間温浴した。これらの抽出液は吸引濾過後、一定量に定容し、孔径0.2 μm のシリンジフィルターで濾過して、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）の分析試料とした。なお、実験は3反復とした。

糖の分析には、HPLC [ポンプ：LC-9A（島津製作所），カラム：SCR-101N（島津製作所），流速0.5 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ，カラムオーブン：CTO-6A（島津製作所），カラム温度： 40°C ，検出器：示差屈折計検出器RID-6A，移動相：水]を用いた。なお、試料の注入量は100 μL とし、ブドウ糖、果糖およびショ糖の標品よりそれぞれ作成した検量線をもとに、3種の糖含量を求め、それらの和を全糖含量とした。

有機酸の分析には、糖の分析と同様のHPLC [ポンプおよびカラムオーブンは糖分析と同様のものを使用，カラム：SCR-101H（島津製作所），流速（移動相および緩衝液）：0.8 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ，カラム温度： 45°C ，検出器：電気伝導度検出器CDD-6A（島津製作所），移動相：5 mM p-トルエンスルホン酸水溶液，緩衝液：5 mM p-トルエンスルホン酸および100 μM EDTAを含む20 mM Bis-Tris水溶液]を用いた。なお、試料の注入量は100 μL とし、クエン酸、キナ酸、リンゴ酸およびコハク酸の標品よりそれぞれ作成した検量線をもとに、4種の有機酸含量を求め、それらの和を全有機酸含量とした。

3. 野生種と栽培種における果実のポリフェノール成分

および抗酸化能の比較

実験2と同様に7種4品種の果実を供試した。いずれも各個体から冷凍果2～5 gを秤取し、4%酢酸含有50%メタノール水溶液を加えて磨砕した後、高速冷却遠心機（ 4°C ，20 min., 15,000 rpm, Suprema21, トミー精工）にかけ、上澄み液を抽出した。この操作を3回繰り返した後、それら

の抽出液を合わせて 25 mL に定容したものを抽出試料とした。これらの抽出試料を用いて果実中のアントシアニン、総ポリフェノール含量および抗酸化活性を測定した。

アントシアニンの分析には、定容した抽出試料をシリンジフィルター (0.2 μm) で濾過し分析に供した。分析には、HPLC [ポンプ : PU-2080 plus pump (日本分光), カラム : Inertsil ODS-2 (ジールサイエンス), 流速 : 1 mL $\cdot$ min⁻¹, カラム温度 : 35°C, 検出器 : マルチチャンネル検出器 MD-2010 (日本分光), 検出波長 : 525 nm, 移動相 A 液 : 1.5% リン酸水溶液, B 液 : 25% アセトニトリル, 1.5% リン酸, 20% 酢酸の水溶液, グラジエント条件 : 0 ~ 30 分 ; 15% B 液 → 60% B 液, 30 ~ 55 分 ; 60% B 液, 55 ~ 60 分 ; 60% B 液 → 15% B 液] を用い, 試料の注入量は 20 μL とした。なお, 各ピークについては, 吸収スペクトルと別にそれぞれのピークを分取用カラム (Inertsil ODS-2, 10 $\times$ 250 mm, ジールサイエンス) で分取し, 武田・林 (1991) の方法に従い 18% 塩酸で加水分解を行い, 得られたアグリコンを再度 HPLC で分析し, それぞれの標品と比較することにより, アグリコンの同定を行った。これらの結果と Barritt・Torre (1975) および Versari ら (1997) の報告を基に各アントシアニンを推定した。また, それぞれのアントシアニン含量については, 簡便法としてシアニジン-3-グルコシド (Cy-Glu) を標品として検量線を作成し, 各アントシアニンのピーク面積より新鮮重 100 g 当たりの Cy-Glu 当量として算出した。なお, 標品として用いた Cy-Glu は熊本大学理学部の吉玉國二郎博士によってキクより抽出, 精製されたものである。実験はいずれも 3 反復とした。

総ポリフェノール含量の測定には Folin-Ciocalteu 法 (Singleton・Rossi, 1965) を参考に以下のように行った。抽出試料 200 μL , 蒸留水 800 μL , 0.2 N Folin-Ciocalteu 試薬 [2 N Folin-Ciocalteu's phenol reagent (Sigma-Aldrich) を 10 倍希釈] 5 mL, 飽和炭酸ナトリウム 4 mL を試験管に入れ, ボルテッ

クスミキサーでミキシングした。これを室温で 2 時間以上放置した後, 765 nm の吸光度を測定した。標品には没食子酸を用い, 新鮮重 100 g 当たりの没食子酸当量として算出した。実験は 3 反復とした。

抗酸化活性の測定には, DPPH ラジカル消去活性法 (DPPH 法) を用いた。抽出試料 300 μL を量り取ってマイクロチューブに移し, 遠心式濃縮機 (RD-31, ヤマト科学) にて乾固させ, 同量の 80% エタノールで溶解したものを供試した。1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ラジカル消去活性の測定には, 須田 (2000) の方法を改変したものを用いた。すなわち, 測定にはマイクロプレートリーダー (MODEL680, 日本バイオラッド・ラボラトリーズ) を使用し, 新鮮重 100 g 当たりの Trolox 当量として算出した。実験は 3 反復とした。

結 果

1. 野生種の形態および生態学的特性

野生種の葉および花の形態, 開花期, 花粉稔性, 成熟期などの調査結果は第 1 表に示したとおりである。すなわち, 樹姿はナワシロイチゴ, フユイチゴおよびシマバライチゴが匍匐性, その他の種はすべて直立性であった。なお, 刺の有無については, 栽培種では刺がないかあっても栽培上問題にならない程度の刺であった。しかし, 野生種では庭園樹として利用されているカジイチゴには全く刺がなかったが, 他種にはいずれも刺があり, クマイチゴとナガバモミジイチゴの刺は大きく数も多かった。また, 葉の形態は, 栽培種はすべて奇数羽状複葉であったが, 野生種ではクサイチゴのように奇数羽状複葉を示すものとカジイチゴのように単葉を示すものに分かれた。花序は, 栽培種ではいずれも単一であったが, 野生種では単一, 集散および円錐の 3 つのタイプに分けられ, 花色は, ナワシロイチゴが赤紫色であった以外は栽培種, 野生種ともにすべて白色であっ

第 1 表 キイチゴの野生種および栽培種における形態的特徴, 開花期, 花粉稔性および果実の成熟期

種および品種	樹姿	刺の有無	葉の形態	花序	花色	花弁数	がく片数	開花期 (月)	花粉稔性 (%)		成熟期 (月)
									稔実率	発芽率	
野生種											
クサイチゴ	直立性	有	奇数羽状複葉	単一	白	5	5	4 ~ 5	96.4	42.9	5 中 ~ 6 上
ヒメバライチゴ	直立性	有	奇数羽状複葉	単一	白	5	5	5 上 ~ 6 中	87.9	22.7	5 下 ~ 6 上
クマイチゴ	直立性	有	心形単葉	集散	白	5	5	5	97.4	48.8	6 中 ~ 6 下
ナワシロイチゴ	ほふく性	有	奇数羽状複葉	集散	赤紫	5	5	5 ~ 6	96.6	7.2	6 下 ~ 7 中
カジイチゴ	直立性	無	掌状 3-7 中裂単葉	集散	白	5	5	4 ~ 5 ²	97.1	54.4	5 中 ~ 6 上 ²
ナガバモミジイチゴ	直立性	有	心形単葉	単一	白	5	5	4 上 ~ 4 中	99.6	85.1	5 下 ~ 6 下
シマバライチゴ	ほふく性	有	広卵形単葉	円錐	白	5	5	10 ²	89.3	4.4	11 ~ 12 ²
フユイチゴ	ほふく性	有	心形単葉	円錐	白	5	5	9 ~ 10	—	—	11 ~ 12
栽培種											
サマーフェスティバル	直立性	有 ³	奇数羽状複葉	集散	白	5	5	5	69.8	5.4	6 中 ~ 7 上
キューティーレッド	直立性	無	奇数羽状複葉	集散	白	5	5	5	87.4	62.2	6 中 ~ 7 上
ワインダーイエロー	直立性	有 ³	奇数羽状複葉	集散	白	5	5	5	76.4	6.8	6 中 ~ 7 上
ワインダーベイレッド	直立性	無	奇数羽状複葉	集散	白	5	5	5	97.8	1.6	6 中 ~ 7 上

² 熊本県菊池郡大津町における期間

³ 栽培上問題にならない程度の柔らかい刺

た。栽培種の開花期は5月であり、果実の成熟期は6月中旬～7月上旬であったが、ほとんどの野生種の開花期は4～6月であり、果実の成熟期は5月中旬～7月中旬であった。また、フユイチゴとシマバライチゴは他種と異なり、それぞれ開花期が9～10月と10～11月、成熟期が11月と12月であった。

花粉稔実率はいずれも88%以上と高かったものの、花粉発芽率は、ナガバモミジイチゴ他4種では20%以上の高い値を示したが、ナワシロイチゴおよびシマバライチゴでは10%以下で、種間差が大きかった。一方、栽培種についても花粉稔実率は70%以上と高かったものの、花粉発芽率は、62.2%の‘キューティーレッド’を除き、10%以下と比較的低い値を示した。

野生種の倍数性をFCMで解析した結果(第2表)、相対蛍光強度のピークは、シマバライチゴおよびフユイチゴが六倍体の位置に認められた以外、いずれも二倍体の位置に認められた。一方、栽培種はいずれも二倍体の位置に相対蛍光強度のピークが認められた。1ゲノム当たりの核DNA

含量($\text{pg} \cdot \text{C}^{-1}$)は、二倍体野生種の中でも変異が大きく、小さいものでヒメバライチゴの0.23 pg、大きいものでカジイチゴの0.37 pgであった。一方、栽培種でも‘キューティーレッド’の0.26 pgから‘サマーフェスティバル’の0.33 pgまで有意な差が認められた。六倍体野生種のシマバライチゴおよびフユイチゴではそれぞれ0.35 pgおよび0.34 pgで有意な差は認められなかった。

2. 果実品質の比較

成熟期の果色および果実の大きさを比較した結果を第3表に示した。成熟期の果色は、栽培種、野生種ともに赤色あるいは黄色系であったが、野生種は栽培種と比較して多彩であった。集合果の重さの比較では、野生種の果実は小さいものでシマバライチゴの0.27 g、大きいものでクサイチゴの1.83 gと種により変異が大きかったが、初冬に成熟するシマバライチゴを除き、いずれも栽培種の‘サマーフェスティバル’(1.53 g)と‘ワインダーイエロー’(0.93 g)と同程度かそれ以上の重さであった。

成熟果の糖含量および有機酸含量とそれらの組成を第1

第2表 FCMによるキイチゴの野生種および栽培種における倍数性の解析と核DNA含量

種および品種	相対蛍光強度	倍数性	核 DNA 含量	
			[pg・(2C, 6C) ⁻¹]	(pg・C ⁻¹)
野生種				
クサイチゴ	79 ± 3.0 ab ²	2X	0.50 ± 0.02 ab	0.25 ± 0.01 ab
ヒメバライチゴ	73 ± 3.0 a	2X	0.46 ± 0.02 a	0.23 ± 0.01 a
クマイチゴ	74 ± 0.0 a	2X	0.47 ± 0.00 a	0.24 ± 0.00 a
ナワシロイチゴ	105 ± 0.0 cd	2X	0.67 ± 0.00 cd	0.33 ± 0.00 cd
カジイチゴ	117 ± 3.3 d	2X	0.75 ± 0.02 d	0.37 ± 0.01 d
ナガバモミジイチゴ	82 ± 6.3 ab	2X	0.52 ± 0.04 ab	0.26 ± 0.02 ab
シマバライチゴ	330 ± 3.3 e	6X	2.10 ± 0.02 e	0.35 ± 0.00 cd
フユイチゴ	323 ± 5.8 e	6X	2.06 ± 0.04 e	0.34 ± 0.01 cd
栽培種				
サマーフェスティバル	105 ± 0.0 cd	2X	0.67 ± 0.00 cd	0.33 ± 0.00 cd
キューティーレッド ⁶	83 ± 3.3 ab	2X	0.53 ± 0.02 ab	0.26 ± 0.01 ab
ワインダーイエロー	89 ± 3.0 a-c	2X	0.57 ± 0.02 a-c	0.28 ± 0.01 b
ワインダーベイレッド ⁶	95 ± 0.0 bc	2X	0.61 ± 0.20 bc	0.30 ± 0.00 bc

²Tukeyの多重検定により、異なる英文字間に有意差(5%)があることを示す

第3表 キイチゴの野生種と栽培種における成熟果(集合果)の果色、大きさおよび小果数

種および品種	果色	果実重(g)	縦径(mm)	横径(mm)	小果数
野生種					
クサイチゴ	赤	1.83 ± 0.13 d ²	16.9 ± 0.8 e	16.7 ± 0.6 de	205.5 ± 15.0 e
ヒメバライチゴ	赤	1.17 ± 0.07 bc	10.9 ± 0.3 b	14.7 ± 0.4 cd	93.1 ± 8.9 d
クマイチゴ	深紅	1.00 ± 0.06 b	14.5 ± 0.5 d	14.3 ± 0.8 c	76.3 ± 9.2 cd
ナワシロイチゴ	深紅	0.76 ± 0.04 ab	11.7 ± 0.5 bc	11.3 ± 0.5 ab	13.1 ± 1.1 a
カジイチゴ	淡黄	1.13 ± 0.07 bc	12.3 ± 0.4 b-d	16.1 ± 0.5 c-e	56.3 ± 6.8 bc
ナガバモミジイチゴ	橙黄	1.06 ± 0.04 bc	11.1 ± 0.2 b	14.8 ± 0.1 cd	47.0 ± 2.6 bc
シマバライチゴ	深紅	0.27 ± 0.01 a	6.0 ± 0.2 a	9.8 ± 0.2 a	5.6 ± 0.3 a
栽培種					
サマーフェスティバル	赤	1.53 ± 0.07 cd	13.5 ± 0.3 cd	15.8 ± 0.3 cd	33.4 ± 0.8 ab
キューティーレッド	赤	2.90 ± 0.14 e	18.2 ± 0.5 e	18.7 ± 0.4 e	35.8 ± 2.2 ab
ワインダーイエロー	黄	0.93 ± 0.10 b	12.2 ± 0.3 bc	13.7 ± 0.4 bc	41.6 ± 1.3 ab
ワインダーベイレッド	赤	3.29 ± 0.21 e	18.6 ± 0.5 e	18.6 ± 0.6 e	57.5 ± 2.1 bc

²Tukeyの多重検定により、異なる英文字間に有意差(5%)があることを示す

第1図 キイチゴの野生種および栽培種における成熟果の糖含量、有機酸含量およびその組成

^a Tukey の多重検定により、異なる英文字間に有意差 (5%) があることを示す

図に示した。いずれもショ糖、ブドウ糖および果糖の3種の糖が検出されたが、栽培種ではショ糖含量が高く、3種の糖がほぼ等量ずつであった。一方、野生種ではいずれもショ糖含量が低く、ブドウ糖と果糖がほぼ等量であった。また、これら糖含量の和として示した全糖含量 ($\text{g} \cdot 100 \text{g}^{-1} \text{F.W.}$) は、栽培種ではいずれの品種も 8 g 以下であったのに対し、野生種ではクマイチゴが 10.2 g、カジイチゴが 10.2 g、ナガバモミジイチゴが 9.1 g と有意に高い値を示した。

有機酸組成については、栽培種、野生種ともにクエン酸、リンゴ酸およびコハク酸の3種が検出されたが、3種の酸の中ではクエン酸含量が最も高く、コハク酸含量はいずれも極めて低かった。また、キナ酸は、‘ワインダーイエロー’を除く栽培種にのみ検出された。野生種では栽培種と比較して全有機酸中に占めるリンゴ酸の割合が高く、特にカジイチゴで 45% と高い値を示した。次に、これら有機酸含量の和として示した全有機酸含量 ($\text{g} \cdot 100 \text{g}^{-1} \text{F.W.}$) は、栽培種で総じて高く、いずれの品種も 1.8 g 以上であった。これらに対し、野生種の全有機酸含量は、シマバライチゴで 3.3 g と極めて高かったが、他の野生種ではいずれも栽培種より低く、中でもカジイチゴは 0.4 g と極めて低かった。

3. 果実のポリフェノール成分および抗酸化能の比較

成熟果のアントシアニン含量を分析した結果 (第2図)、黄色果を着生するカジイチゴおよびナガバモミジイチゴでは、ペラルゴニジン -3- グルコシド (Pg-Glu) のみが検出されたが、同様に黄色果を着生する‘ワインダーイエロー’ではシアニジン -3- ソフォロシド (Cy-Sop)、Cy-Glu およびシアニジン -3- ルチノシド (Cy-Rut) の3種類のアントシアニンが検出された。また、赤色果を着生するものについてもその組成に違いがみられ、栽培種では野生種で検知されなかった Cy-Sop およびシアニジン -3- グルコシルルチノシド (Cy-GlRu) の割合が高かった。また、検知されたア

ントシアニンの種類は野生種では 1 ~ 4 種であったのに対し、栽培種では 4 ~ 5 種と多かった。全アントシアニン含量 ($\text{mg} \cdot 100 \text{g}^{-1} \text{F.W.}$) は、黄色果を着生するものでは平均 4.0 mg と低く、赤色果を着生するものでは平均 47.9 mg と前者に比べて高かった。なお、赤色果を着生するものでもクサイチゴの 35.1 mg から‘サマーフェスティバル’の 74.9 mg まで含量に違いがみられ、野生種の中ではナワシロイチゴが‘サマーフェスティバル’と同程度の高い値を示した。

第2図 キイチゴの野生種および栽培種における成熟果のアントシアニン含量およびその組成

Pg-Glu: ペラルゴニジン -3- グルコシド, Cy-Rut: シアニジン -3- ルチノシド, Cy-Glu: シアニジン -3- グルコシド, Cy-Sop: シアニジン -3- ソフォロシド, Cy-GlRu: シアニジン -3- グルコシルルチノシド

^a Tukey の多重検定により、異なる英文字間に有意差 (5%) があることを示す

第3図 キイチゴの野生種および栽培種における成熟果の総ポリフェノール含量および抗酸化活性

^a Tukey の多重検定により、異なる英文字間に有意差 (5%) があることを示す

成熟果の総ポリフェノール含量および抗酸化活性を第3図に示した。総ポリフェノール含量は野生種のクマイチゴで $685 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ F.W.}$ 、次いでナガバモミジイチゴの $552 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ F.W.}$ 、シマバライチゴの $439 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ F.W.}$ と栽培種に比べ有意に高かった。なお、抗酸化活性は、ポリフェノール含量が高いほど高い傾向がみられ、クマイチゴ ($3,159 \mu\text{mol trolox 当量} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ F.W.}$) およびシマバライチゴ ($2,221 \mu\text{mol trolox 当量} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ F.W.}$) で高い値を示した。

考 察

栽培種の中には刺がない、もしくは柔らかく、‘サマーフェスティバル’や‘ワインダーイエロー’のような二期成りの特長を有しているものもあるが、夏に冷涼な気候を好むため九州のような西南暖地では栽培が困難である。一方、本研究に用いた野生種はいずれも西南暖地に自生しており、自生地環境に適応していると考えられる。我が国の野生種については、鳴橋らが植物分類学の立場から日本原産キイチゴ属の分布(鳴橋・里見, 1972, 1973; Naruhashi, 1982; Naruhashi・Sato, 1983)や形態学的差異(Naruhashi, 1980; 鳴橋, 1984; 鳴橋・豊島, 1979; Naruhashi・Tawan, 1985)、自然発生の種間雑種(鳴橋, 1976)などについて調査、報告しているが、我が国の野生キイチゴを栽培あるいは園芸学的立場から調査した報告はほとんどない。

本研究では、野生種を育種素材として活用することを目的として、西南暖地に自生する野生種数種を供試して樹姿、刺の有無、開花期、成熟期、倍数性、果実品質などを調査した。その結果、樹姿はほとんどが直立性であったが、ナワシロイチゴ、フユイチゴおよびシマバライチゴは匍匐性であった。また、草地に自生するクマイチゴやナワシロイチゴ(佐竹ら, 1989)のように非常に樹勢が強いものもみられた。果実の成熟期はほとんどが5～6月であったが、フユイチゴおよびシマバライチゴのように冬期に成熟するものもあった。キイチゴの最大の欠点は刺があることであり、我が国の野生種も刺を有するものがほとんどであったが、カジイチゴのように刺のないものもみられた。

このように、我が国の野生種には育種素材として極めて興味あるものも存在することが明らかとなった。また、本研究に用いた野生種の花粉は1年間 -80°C で貯蔵した後でもいずれも寒天培地上で発芽が確認され、花粉親として十分に交雑に用いることが可能と考えられた。

成熟果の品質やポリフェノール成分および抗酸化能について分析したところ、野生種の中には果実が小さいものの、糖含量が高く、有機酸含量が比較的低く、生食に向くものなどがあり、それらは育種親として十分に価値があるものと考えられた。また、野生種的全アントシアニン含量は栽培種と同程度であったが、総ポリフェノール含量や抗酸化活性は栽培種よりも高く、特にクマイチゴ、ナガバモミジイチゴおよびシマバライチゴで高い値を示した。

本研究で総ポリフェノール含量の測定に用いたFolin-Ciocalteu法は、試料液中に含まれる還元物質の影響を受け、アスコルビン酸を豊富に含む食品のポリフェノールを定量する場合にはその影響を考慮する必要があることが指摘されている(Singleton・Rossi, 1965)。本研究ではアスコルビン酸含量を測定していないが、Deightonら(2000)はキイチゴ属野生種11種およびラズベリー1品種について抗酸化活性、アスコルビン酸含量、総ポリフェノール含量およびアントシアニン含量を調査しており、総ポリフェノール含量に対するアスコルビン酸の割合は種および品種により2.4～25.5%の範囲であったが、平均7.1%と低かったため、キイチゴ属においてアスコルビン酸含量は総ポリフェノール含量に対して大きな影響を与えないとしている。

果実や野菜には異なる多くの抗酸化物質が含まれており(Caoら, 1996; Veliogluら, 1998; Wangら, 1996)、それらには、カロチノイド、抗酸化ビタミン、フェノール化合物、フラボノイド、グルタチオンなどが含まれている。これらの物質は、活性酸素の消去、フリーラジカルの除去および過酸化水素を分解する機能を持ち(Larson, 1988)、癌(Amesら, 1993; Dragstedら, 1993; Willett, 1994)や心臓疾患(Verlangieriら, 1985)の発生を抑制し、死亡率を低下させる効果があることが報告されている。Wang・Shan(2000)は、ブラックベリー3品種、レッドラズベリー4品種、ブラックラズベリー1品種およびイチゴ8品種の品種間と発育段階における果実と葉の抗酸化活性の変化を調査し、ブラックベリー、ラズベリーおよびイチゴに含まれるアントシアニンやフェノール化合物には高い抗酸化活性がみられ、これらの果実が様々な病気を予防する機能性成分を含んでいることを報告している。さらに、Wada・Ou(2002)は、*R. laciniatus* Willd., *R. ursinus* Cham. & Schltdl., *R. ursinus* × *R. idaeus*, *R. idaeus* L. および *R. occidentalis* L. についてORAC(Oxygen Radical Absorption Capacity)、全フェノール、アントシアニン、プロシアニジンおよびエラグ酸含量を分析し、キイチゴはいずれもアントシアニンとフェノール化合物に富み、高いORAC値を示すが、レッドラズベリーはブラックベリーよりもORAC値が低いことを示している。本研究における抗酸化活性の測定はDPPH法であり、測定法が異なるため単純に比較はできないが、著者らのこれまでの調査ではDPPH法における抗酸化活性も総じてレッドラズベリーはブラックベリーに比べ活性が低いことが示されている(データ略)。

いずれにしても、我が国の野生種の中にはナワシロイチゴのように樹勢の強いもの、カジイチゴのように刺がないだけでなく、糖含量が高く酸含量の低いもの、クマイチゴやナガバモミジイチゴのように糖含量が高く酸含量が低い生食向きで、ポリフェノール含量や抗酸化活性も高いものなどが存在し、これらは我が国の西南暖地に適した機能性の高い品種の育成にとって貴重な育種素材になると考えられた。

摘 要

キイチゴ (*Rubus* spp.) は、果実中に含有されるフェノール化合物が健康維持に効果的と考えられることから注目されつつある果樹である。我が国にも多くの野生種が自生しているが、栽培されている品種のほとんどは欧米で改良されたものである。本研究では、野生種を園芸的に利用するための基礎的な知見を得るため、九州地方に自生するいくつかの野生種を収集し、育種素材としての評価を行った。栽培種はいずれも二倍体であったが、野生種はゲノムサイズの異なる二倍体と少数の六倍体であった。シマバライチゴを除く野生種の集合果は、栽培種と比較して小さくなかった。野生種の中にはクマイチゴ、カジイチゴおよびナガバモミジイチゴのように栽培種に比べ果実中の糖含量が高く、有機酸含量が低いものがあった。また、クマイチゴ、ナガバモミジイチゴおよびシマバライチゴは栽培種に比べ果実中の総ポリフェノール含量あるいは抗酸化活性が高かった。我が国自生の野生種のいくつかは、栽培し易く、果実品質が優れかつ機能性の高い品種を育成するための育種素材となり得るものと思われた。

引用文献

- Ames, B. N., M. K. Shigenaga and T. M. Hagen. 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 7915–7922.
- Barritt, B. L. and L. C. Torre. 1975. Fruit anthocyanin pigments of red raspberry cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 100: 98–100.
- Cao, G., E. Sofic and R. L. Prior. 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 44: 3426–3441.
- Deighton, N., R. Brennan, C. Finn and H. V. Davies. 2000. Antioxidant properties of domesticated and wild *Rubus* species. *J. Sci. Food Agric.* 80: 1307–1313.
- Dragsted, L. O., M. Strubeand and J. C. Larsen. 1993. Cancer-protective factors in fruits and vegetables: biochemical and biological background. *Pharmacol. Toxicol.* 72: 116–135.
- Gustafsson, A. 1942. The origin and properties of the European blackberry flora. *Hereditas* 28: 249–277.
- Gustafsson, A. 1943. The genesis of the European blackberry flora. *Lunds Universitets Arsskrift* 39: 1–200.
- Hummer, K. E. 1996. *Rubus* diversity. *HortScience* 31: 182–183.
- 北村四郎・岡村省吾. 1959. 原色日本植物図鑑. p. 91–94. 保育社. 東京.
- 小松春喜. 2008. キイチゴ類. p. 242–248. 杉浦 明・宇都宮直樹・片岡郁雄・久保田尚浩・米森敬三. 果実の辞典. 朝倉書店. 東京.
- Larson, R. A. 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry* 27: 969–978.
- Meng, R. and C. Finn. 2002. Determining ploidy level and nuclear DNA content in *Rubus* by flow cytometry. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 127: 767–775.
- 中原光一. 1998. 甜茶・ウーロン茶ポリフェノールの生理作用. *FOOD Style* 21. 2: 45–49.
- 難波恒雄・小松かつ子・小野淳子・鳴橋直弘・御影雅幸. 1986. 「覆盆子」の生薬学的研究 (第1報) 韓国産「覆盆子」の基源 (I). *生薬学雑誌*. 40: 44–53.
- 鳴橋直弘. 1976. カジイチゴとクサイチゴの雑種についての分類学的報告 (1) 形態. *北陸の植物*. 24: 26–34.
- Naruhashi, N. 1980. Morphology of 34 Japanese *Rubus* species. *Acta Hort.* 112: 177–181.
- Naruhashi, N. 1982. Notes on the taxonomy of *Rubus* in Indonesia 1. *Tukar-Menukar*. 1: 25–36.
- 鳴橋直弘. 1984. *Rubus japonicus* として発表された植物について. *植物地理・分類研究*. 32: 55–58.
- Naruhashi, N. and T. Sato. 1983. A Preliminary report of *Rubus* (Rosaceae) in Sabah, Malaysia. *Tukar-Menukar*. 2: 9–33.
- 鳴橋直弘・里見信生. 1972. 日本原産キイチゴ属植物の分布 1. 分布図. *金沢大学理学部附属植物園年報*. 5: 1–21.
- 鳴橋直弘・里見信生. 1973. 日本原産キイチゴ属植物の分布 2. 分布考察. *金沢大学理学部附属植物園年報*. 6: 1–12.
- Naruhashi, N. and C. Tawan. 1985. Taxonomical notes of *Rubus satotakashii* and related species in Mt. Kinabalu, Borneo I. seed. *Tukar-Menukar*. 4: 31–37.
- 鳴橋直弘・豊島義明. 1979. 日本産バラ科植物の花粉形態. *植物地理・分類研究*. 27: 46–50.
- Ollitrault, P., D. Dambier, F. Luro and C. Duperray. 1994. Nuclear genome size variations in Citrus. *Fruits* 49: 390–393.
- 佐竹義輔・原 寛・亘理俊次・富成忠夫. 1989. 日本の野生植物木本 I. p. 204–215. 平凡社. 東京.
- Singleton, V. L. and J. A. Rossi. Jr. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Vitic.* 16: 144–158.
- 須田隋夫. 2000. 抗酸化機能. P. 218–223. 篠原和毅他編. 食品機能研究法. 光琳. 東京.
- 武田幸作・林 孝三. 1991. VI色素群の定性・定量分析各論—実験上の留意点 A. フラボノイド. p. 151–201. 林孝三編著. 植物色素—実験・研究への手引—. 養賢堂. 東京.
- 鶴飼幸太郎. 1997. 健康茶 甜茶の抗アレルギー作用について. *食品工業*. 40: 52–59.
- Velioglu, Y. S., G. Mazza, L. Gao and B. D. Oomah. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem.* 46: 4113–4117.
- Verlangieri, A. J., J. C. Kapeghian., S. el-Dean and M. Bush.

1985. Fruit and vegetable consumption and cardiovascular mortality. *Med. Hypotheses* 16: 7–15.
- Versari, A., D. Barbanti, S. Biesenbruch and P. J. Farnell. 1997. Analysis of anthocyanins in red fruits by use of HPLC/spectral array detection. *Ital. J. Food Sci.* 9: 141–147.
- Wada, L. and B. Ou. 2002. Antioxidant activity and phenolic content of oregon caneberries. *J. Agric. Food Chem.* 50: 3495–3500.
- Wang, H., G. Cao and R. L. Prior. 1996. Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem.* 44: 701–705.
- Wang, S. Y. and H. Shan. 2000. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *J. Agric. Food Chem.* 48: 140–146.
- Willett, C. W. 1994. Micronutrients and cancer risk. *Am. J. Clin. Nutr.* 59: 162–165.