ラズベリー ‘インディアンサマー’ と在来野生種ナワシロイチゴとの 種間雑種の生育特性と果実品質

登島早紀¹・岡本（中村）理恵¹・阿部健一¹・坂岸 潮²・小松春喜³・國武久登^{4*}

¹宮崎大学大学院農学工学総合研究科 889-2192 宮崎市学園木花台西

²（有）フローラトゥエンティワン 522-0041 滋賀県彦根市平田町

³東海大学農学部 869-1404 阿蘇郡南阿蘇村河陽

⁴宮崎大学農学部 889-2192 宮崎市学園木花台西

Growth Characteristics and Fruit Qualities of Interspecific Hybrid between ‘Indian Summer’ Raspberry and *Rubus parvifolius* L.

Saki Toshima¹, Rie Okamoto-Nakamura¹, Kenichi Abe¹, Ushio Sakazaki²,
Haruki Komatsu³ and Hisato Kunitake^{4*}

¹Interdisciplinary Graduate School of Agriculture and Engineering, University of Miyazaki, Miyazaki 889-2192

²Flora twenty-one Ltd., Hikone, Shiga 522-0041

³School of Agriculture, Tokai University, Minamiaso, Kumamoto 869-1404

⁴Faculty of Agriculture, University of Miyazaki, Miyazaki 889-2192

Abstract

In order to develop new raspberry varieties adaptable to Japan with high quality and functionality, we aimed to produce interspecific hybrids between *Rubus parvifolius* L., a wild species native to Japan, and the ‘Indian Summer’ raspberry (*R. idaeus* L.). The morphological characteristics, such as the leaf, flower, and fruit, and random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis revealed that ‘07RUBIXP01’ was an interspecific hybrid. Although ‘07RUBIXP01’ had small thorns, it showed vigorous growth in the warm environment and had a significantly larger fruit compared with the parents. Also, ‘07RUBIXP01’ showed values intermediate between those of the parents for total polyphenol, anthocyanin, and ellagitannin contents. In particular, it showed an ellagitannin content that was about four times higher than that of ‘Indian Summer’. In sugar and organic acid analyses, a higher sugar acid ratio was noted compared with the parents. ‘07RUBIXP01’ was registered as a new variety in 2012 (variety registration no. 21801), and it would be a useful raspberry for growing in warm regions of Japan.

Key Words : anthocyanin, ellagitannin, polyphenol, sugar acid ratio, thorn

キーワード : アントシアニン, エラジタンニン, ポリフェノール, 刺, 糖酸比

緒 言

キイチゴはバラ科 (*Rosaceae*) キイチゴ属 (*Rubus*) に属する低木性落葉果樹である。キイチゴの果実にはポリフェノールであるアントシアニンやフラボノイド、エラジタンニンなどの機能性成分が豊富に含まれており (Chen ら, 2014; Veberic ら, 2015; Vrhovsek ら, 2008), 近年注目され始めている果樹のひとつである。特に、エラジタンニンは Hexahydroxydiphenoyl (HHDP) 基をもつ加水分解性タンニンであり (第1図), 高い抗酸化能を有している (Gil ら, 2000; Mullen ら, 2002a; Okuda ら, 1989)。ラズベリーには約 20 種ものエラジタンニンが確認されており, 主なエラジタンニン (Galloyl-bis-HHDP-glucose) として

sanguin H-6 および lambertianin C が知られている (Borges ら, 2007; Tanaka ら, 1993)。

最近ではラズベリーおよびブラックベリーの国内需要が高まり, これらの輸入量も増加傾向にあり (財務省貿易統計, 2015), 国内でのラズベリー生産が切望されている。しかしながら, ラズベリーは冷涼な地域での栽培に適しており, 南九州地域のような暖地での経済栽培は困難である。

ナワシロイチゴ (*R. parvifolius* L.) は日本各地に自生しており, ほふく性で繁殖力の高いキイチゴ属植物である。最近では都心部での緑化植物としても利用されており (黒木ら, 2012), 観賞植物の育種素材としても注目されている。また, ナワシロイチゴは4種のアントシアニンが同定されており (Harborne・Hall, 1964; Määtä-Riihinen ら, 2004), 執行ら (2013) は日本在来野生種7種においてナワシロイチゴの成熟果実において最もアントシアニン含量が高いこ

2016年10月14日 受付. 2016年12月15日 受理.

* Corresponding author. E-mail: hkuni@cc.miyazaki-u.ac.jp

第1図 エラジタンニン (Galloyl-bis-HHDP-glucose) 化合物模式図

とを報告している。さらに、國武ら（2008）は、ナワシロイチゴが5種の在来野生種において前述したエラジタンニンを最も豊富に含有していることを報告している。またGaoら（2011）は、ナワシロイチゴの成熟果実は抗酸化活性が高く、肝臓保護作用を有していると報告している。

そこで本研究では、ラズベリー‘インディアンサマー’と在来野生種ナワシロイチゴとの種間雑種‘07RUBIXP01’を育成し、その生育特性および成熟果実の成分分析を行った。

材料および方法

1. ラズベリー‘インディアンサマー’と在来野生種ナワシロイチゴとの種間雑種の育成経過

‘07RUBIXP01’は、宮崎大学農学部圃場において、ラズベリー‘インディアンサマー’(*R. idaeus* L.) ((株)山陽農園、岡山県赤磐市)とナワシロイチゴ(*R. parvifolius*, 宮崎大学内で採取)を2004年に種間交雑を行って育成された品種である。つまり、宮崎大学圃場において種間雑種7系統を栽培し、集合果の着果性、果実重、耐暑性、樹勢および刺の多少などで最終選抜し、‘07RUBIXP01’と命名し、品種登録を行った。なお、特性評価は宮崎大学農学部圃場と(有)フローラトゥエンティワン圃場(滋賀県彦根市)で行い、2010年12月28日に農林水産省に品種登録出願を行い、2012年4月25日に登録番号第21801号として品種登録を完了している。

2. ‘07RUBIXP01’の形態的調査とDNA解析による雑種性評価

植物材料には‘07RUBIXP01’とその両親であるラズベリー‘インディアンサマー’とナワシロイチゴを供試した。いずれも1品種・系統当たり3株を供試した。試験栽培は宮崎大学農学部圃場で実施し、幅1.0m、高さ30cmの畝を作成し、株間1.0mで挿し木(株分け)1年生苗を2007

年9月に定植した。畝には1株当たり赤玉土(小粒)約20L、腐葉土約10L、堆肥約20Lを入れ、よく混合した。また、約2mの支柱を立て、針金を張り、垣根仕立てにより栽培を行った。施肥は3月と9月に化成肥料(N:P:K=10:10:10)をそれぞれの時期に約50gずつ施用した。

それぞれの株の生育相の調査は翌年から1か年行い、萌芽、開花、成熟および落葉の時期を調査した。また、形態調査項目として葉(葉数、葉長)、刺の有無、花(開花期、花色、花径)、花粉稔性、果実(結実期、果実重)を評価した。調査する葉、果実および花はそれぞれ10個を供試し、農林水産省植物種類別審査基準ラズベリー(農林水産省、2012)に基づき、葉は枝の中心部1/3の十分に展開したものを、花は完全に展開した中心花を、果実は適熟期に2～3回目に収穫した果実を用いた。花粉稔性は1%アセトカーミン液に花粉を浸漬後、生物顕微鏡(BX51, オリンパス(株))を用い、花粉粒300以上について観察を行った。

次に、雑種性を確認するためのDNA解析では全DNAをQIAGEN DNeasy® Plant Mini Kit((株)キアゲン)を用いて抽出し、Random amplified polymorphic DNA(RAPD)分析を行った。精製した全DNAを鋳型として行い、使用したプライマーはA-01～20、およびH-01～20(ユーロフィンジェノミクス(株))を使用した。PCR反応液は20mM Tris-HCl pH 8.0、100mM KCl、1.5mM MgCl₂、100μM dNTPs、0.5μMプライマー、5units TaKaRa Ex Taq™ DNA Polymerase(タカラバイオ(株))を用いた。反応条件は、最初に95℃で3分間の前処理を行った後、熱変性95℃・30秒間、アニーリング35℃・1分間、伸長反応72℃・1分30秒間を30サイクル繰り返し、最後に72℃で5分間の伸長反応を行った。得られた増幅産物は0.5μg・mL⁻¹ ethidium bromideを含む1.2%アガロースゲルで電気泳動を行い、紫外線照射下(360nm)で泳動結果を観察した。

3. 成熟果実のアントシアニンとエラジタンニンの分析

それぞれの株から成熟果実を適期に収穫し、すぐに -40°C にて冷凍保存した。その後、真空凍結乾燥機 (FTS SYSTEM Dura-Top MP&Dura-DRY MP, John Morris Scientific) を用いて凍結乾燥粉末を作成した。その試料は、超遠心粉碎器 (MX-301, (株)トミー精工) で 0.5 mm のスクリーンを通して粉碎し、サンプルとした。

アントシアニンおよびエラジタンニン含量の測定は、約 1 g を秤量した果実の凍結乾燥粉末に 80% メタノールを加え、ボルテックスミキサーを用いて 30 秒攪拌した。攪拌後、ろ紙 (No. 5A, アドバンテック (株)) で吸引ろ過を行い、抽出試料とした。得られた抽出物はロータリーエバポレーター (N-1000S-W, 東京理化器械 (株)) を用いて濃縮し、濃縮したものを凍結乾燥処理した。その抽出物を約 5 mg 秤量し、 100% メタノールを 1 mL 加えて溶解し、遠心分離 ($1,000\text{ rpm}$, 5 min) した後の上清をサンプルとした。

アントシアニン含量の測定は、逆相カラム: Atlantis® T3 (Waters, $4.6\text{ mm I.D.} \times 150\text{ mm}$), 検出器: LC-PDA (ESI-MS, (株)島津製作所) を用い、移動相として、A液: 0.1% トリフルオロ酢酸, B液: 100% メタノールを用いた。グラジエント条件は $0 \sim 35$ 分 (B液: 25%), $35 \sim 45$ 分 (B液: $25\% \rightarrow 100\%$), $45 \sim 50$ 分 (B液: 100%), $50 \sim 60$ 分 (B液: 25%) とし、分析時間は1サンプル当たり 60 分とした。また、流速 $0.7\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, インジェクト量: $10\text{ }\mu\text{L}$, カラム温度 40°C とし、 540 nm で解析を行った。分析結果より、アントシアニン含量はCyanidin-3-glucoside当量で算出した。また、アントシアニンの同定はCyanidin-3-glucosideを標品として用い、それ以外はChenら (2013), Deightonら (2000) およびMullenら (2002b) の報告に従って推測した。

エラジタンニン含量の測定は、逆相カラム: Atlantis® T3, 検出器: LC-PDAを用い、移動相として、A液: 0.5% 蟻酸, B液: 100% アセトニトリルを用いた。グラジエント条件は $0 \sim 27$ 分 (B液: $10\% \rightarrow 25\%$), $27 \sim 32$ 分 (B液: $25\% \rightarrow 100\%$), $32 \sim 40$ 分 (B液: 100%), $40 \sim 50$ 分 (B液: 10%) とし、分析時間は 50 分とした。また、流量 $0.7\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, インジェクト量: $10\text{ }\mu\text{L}$, カラム温度 40°C とし、 280 nm で分析を行った。エラジタンニン含量は、Galloyl-bis-HHDP-glucose当量で算出した。

総ポリフェノール含量はポリフェノールの比色定量法 (フォーリンチオカルト法) により求めた。抽出操作は、精秤した約 0.1 g の果実の凍結乾燥粉末に 80% メタノール 25 mL を加え、超音波洗浄器で攪拌、溶解した後、ろ紙 (No. 5A) を用いて不溶性画分を取り除くことにより行った。その後、蒸留水、標準溶液および抽出試料、蒸留水および 2 倍希釈したフェノール試薬 (F9252, シグマアルドリッチジャパン (株)) を混合したものに飽和炭酸ナトリウム試薬を添加した。室温で 30 分間静置後、分光光度計 (Smartspec Plus, バイオラッド (株)) を用いて 760 nm の吸

光度を測定し、没食子酸当量として評価した。なお、標準溶液は没食子酸を溶解し、 25 , 50 , 75 および $100\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ としたものをを用いた。

すべての分析において、1品種・系統につき3反復、統計処理はチューキーの多重検定を用いて行った。

4. 成熟果実の糖および有機酸含量分析

凍結乾燥しておいた果実約 5 g を秤量し、メスで細かく刻んだ後、ビーカーに移して蒸留水 30 mL を加えた。 30 分間静置した後、葉さじで軽く粉碎し、さらにホモジナイザー (DIAX 100, Heidolph Instruments) で粉碎した。粉碎した果実に蒸留水を加えて、 50 mL にフィルアップし、 $3,500\text{ rpm}$ にて 15 分間遠心分離を行った。上澄み液を適当な濃度に希釈し、フィルター ($0.22\text{ }\mu\text{L}$) でろ過したものを抽出試料として、イオンクロマトグラフを用いて糖および有機酸を分析した。

糖分析では、カラム: CarboPac PA-10/PA-10Guard (日本ダイオネクス (株)), 検出器: パルスドアンペロメトリ検出器 (SPD-M20A, (株)島津製作所) を用い、溶離液としてA液: $0.2\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH, B液: 蒸留水, 再生液として $0.3\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOHを用いた。グラジエント条件は $0 \sim 20$ 分 (B液: $0\% \rightarrow 82\%$) とし、分析時間は1サンプル当たり 20 分とした。また、流速: $1.5\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, カラム温度: 30°C , インジェクト量: $25\text{ }\mu\text{L}$ の条件下で検出を行った。

有機酸分析では、カラム: Dionex IonPac AS11-HC/AG11-HC (日本ダイオネクス (株)), 検出器: 電気伝導度検出器 (ICS-3000, 日本ダイオネクス (株)) を用い、溶離液としてA液: $0.1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH, B液: 100% メタノール, C液: 蒸留水, 再生液として $0.025\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_2SO_4 を用いた。グラジエント条件は $0 \sim 5$ 分 (A液: $0.1\% \rightarrow 5\%$, B液: 15% , C液: $84.9\% \rightarrow 80\%$), $5 \sim 10$ 分 (A液: $5\% \rightarrow 7.7\%$, B液: $15\% \rightarrow 20\%$, C液: $80\% \rightarrow 72.3\%$), $10 \sim 20$ 分 (A液: $7.7\% \rightarrow 13\%$, B液: 20% , C液: $72.3\% \rightarrow 67\%$), $20 \sim 30$ 分 (A液: $13\% \rightarrow 36.5\%$, B液: $20\% \rightarrow 5\%$, C液: $67\% \rightarrow 58.5\%$), $30 \sim 35$ 分 (A液: 36.5% , B液: 5% , C液: 58.5%) とし、分析時間は1サンプル当たり 35 分とした。また、流速: $1.5\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, カラム温度: 30°C , インジェクト量: $25\text{ }\mu\text{L}$ の条件下で検出を行った。

すべての分析において、1品種・系統につき3反復、統計処理はチューキーの多重検定を用いて行った。

結 果

1. ‘07RUBIXP01’ の形態的調査とDNA解析による雑種性評価

ラズベリー ‘インディアンサマー’ とナワシロイチゴの雑種である ‘07RUBIXP01’ の生育相について調査し、葉、花および果実の形態を第1表と第2図に示した。

形態的特徴として、種間雑種 ‘07RUBIXP01’ は両親と比較して樹勢が強く、成株になるにつれてナワシロイチゴのほふく性の性質が現れた。開花は4月下旬～5月中

第1表 ラズベリー ‘インディアンサマー’、ナワシロイチゴおよびその種間雑種 ‘07RUBIXP01’ の開花期、成熟期および形態的特徴

植物材料	開花期 (月)	成熟期 (月)	刺の有無	葉数 (枚)	葉長 (cm)	花色	花径 (mm)	花粉稔性 (%)	果実色	果実重 (g)	種子数 (個)
‘インディアンサマー’	4下～5下	5中～7中	有	3.0 b ²	18.7 a	白	11.5 a	89.3 a	紅	2.28 b	40.1 a
‘07RUBIXP01’	4下～5中	5中～7上	有	4.0 a	14.4 b	淡桃	8.5 b	33.8 c	紅	2.95 a	28.3 ab
ナワシロイチゴ	4中～5中	5中～7中	有	3.0 b	7.6 c	桃	6.6 c	67.3 b	深赤	0.96 c	16.7 b

² Tukey の多重検定により、同一列中の異なる英文字間に有意差 ($p=0.01$) があることを示す ($n=3$)

第2図 ラズベリー栽培品種 ‘インディアンサマー’、ナワシロイチゴおよびその雑種 ‘07RUBIXP01’ における葉、花および果実の形態

旬にかけて観察され、両親に比べて開花時期がやや短かった。葉は両親ともに小葉が3枚であったのに対し、‘07RUBIXP01’は4～5枚であり、葉長は両親の中間的な形態を示した。刺は両親と同様に小さなものが観察され

た。花色は‘インディアンサマー’が白色、ナワシロイチゴが桃色であるのに対し、‘07RUBIXP01’は淡桃色を示し、中間色が観察された。花径は両親の中間であり、‘インディアンサマー’とナワシロイチゴがそれぞれ11.5 mmと6.6 mmであったのに対し、‘07RUBIXP01’は8.5 mmであった。また、‘07RUBIXP01’の花粉稔性は両親と比較して有意に低かったものの30%以上の稔性を示した。さらに、果実は5月中旬～7月上旬の間に成熟し、果実の色は紅色であり‘インディアンサマー’とほぼ変わらなかった。果実重は両親よりも‘07RUBIXP01’が有意に重く、‘インディアンサマー’とナワシロイチゴがそれぞれ2.28 gと0.96 gだったのに対し、‘07RUBIXP01’は2.95 gであった。また、‘07RUBIXP01’の完熟種子数は、両親の中間の値であり、‘インディアンサマー’とナワシロイチゴがそれぞれ40.1個と16.7個であったのに対し、28.3個であった。

次に、RAPD分析により全DNAの雑種性を解析したところ、プライマーOPA-18, OPH-07, OPH-08, OPH-12およびOPH-14においてそれぞれ両親に特異的なバンドが観察され、分子レベルにおいても種間雑種であることが確認された(第3図)。

以上のように、種間雑種‘07RUBIXP01’は、分子レベルでも雑種性が確認され、形態的な特徴として、小さな刺があり、両親よりも樹勢が強く、果実が大きいことが観察されたが、ほとんどの項目において両親の中間的な結果となった。

第3図 ラズベリー栽培品種 ‘インディアンサマー’、ナワシロイチゴおよびその雑種 ‘07RUBIXP01’ における RAPD 法による雑種性評価

M: サイズマーカー, I: ‘インディアンサマー’, IP-1: ‘07RUBIXP01’, P: ナワシロイチゴ

▶: 特異的なバンドを示す

第2表 ラズベリー ‘インディアンサマー’, ナワシロイチゴおよびその種間雑種 ‘07RUBIXP01’ における総ポリフェノール, アントシアニンおよびエラジタンニン含量

植物材料	総ポリフェノール含量 (mg as gallic acid • gDW ⁻¹)	アントシアニン含量 (mg as Cyanidin-3-glucoside • gDW ⁻¹)					エラジタンニン含量 (mg as galloyl-bis-HHDP-glucose • gDW ⁻¹)
		Cyanidin-3-glucoside	Cyanidin-3-rutinoside	Cyanidin-3,5-diglucoside	Cyanidin-3-sophoroside	総アントシアニン	
‘インディアンサマー’	31.12 b ^z	0.12 b	0.30 b	0.67 b	1.22 b	2.31 c	3.01 c
‘07RUBIXP01’	32.67 b	0.17 b	0.27 b	1.49 a	1.40 a	3.33 b	12.70 b
ナワシロイチゴ	50.80 a	1.24 a	3.75 a	0	0	4.99 a	14.75 a

^z Tukeyの多重検定により, 同一列中の異なる英文字間に有意差 (p=0.01) があることを示す (n=3)

2. 成熟果実のアントシアニンとポリフェノール分析

‘07RUBIXP01’ とその両親における成熟果実中のアントシアニン組成およびその含量を測定した (第2表). ‘インディアンサマー’ および ‘07RUBIXP01’ はCyanidin (Cy)-3-glucoside, Cy-3-rutinoside, Cy-3,5-diglucoside および Cy-3-sophoroside から構成され, 両品種は類似していたが, ‘インディアンサマー’ はCy-3-sophoroside, ‘07RUBIXP01’ はCy-3,5-diglucoside が最も多く含まれていた. 一方, ナワシロイチゴはCy-3-glucoside および Cy-3-rutinoside のみで構成されており, それぞれ 1.24, 3.73 mg as Cy-3-glucoside • gDW⁻¹ と高い値であった. 次に, 総アントシアニン含量は ‘インディアンサマー’ が 2.31 mg as Cy-3-glucoside • gDW⁻¹, ナワシロイチゴが 4.99 mg as Cy-3-glucoside • gDW⁻¹ であった. ‘07RUBIXP01’ の含量は 3.33 mg as Cy-3-glucoside • gDW⁻¹ と両親の中間的な値を示した.

エラジタンニン含量は, ‘インディアンサマー’, ナワシロイチゴおよび ‘07RUBIXP01’ がそれぞれ, 3.01, 14.75 および 12.70 mg as galloyl-bis-HHDP-glucose • gDW⁻¹ であった (第2表). 特に, 種間雑種 ‘07RUBIXP01’ はナワシロイチゴよりもエラジタンニン含量は低いものの, 栽培種である ‘インディアンサマー’ より4倍ものエラジタンニンが

含まれていた.

次に, 総ポリフェノール含量は, ‘インディアンサマー’ が 31.12 mg as gallic acid • gDW⁻¹, ナワシロイチゴが 50.80 mg as gallic acid • gDW⁻¹ であったのに対し, ‘07RUBIXP01’ は 32.67 mg as gallic acid • gDW⁻¹ と, ‘インディアンサマー’ と同等であった (第2表).

3. 成熟果実の糖および有機酸含量

‘インディアンサマー’, ナワシロイチゴおよび種間雑種 ‘07RUBIXP01’ の果実に含まれる糖はグルコース, フルクトースおよびスクロースから構成されており, それらを合わせた糖含量はそれぞれ 3.39, 2.96 および 3.21 g • 100 gFW⁻¹ であり, ‘07RUBIXP01’ はナワシロイチゴに比べ有意に高かった (第4図).

有機酸はいずれも大部分がクエン酸であり, リンゴ酸とキナ酸は少量であった. クエン酸を主とする有機酸含量は ‘インディアンサマー’, ナワシロイチゴおよびその種間雑種 ‘07RUBIXP01’ においてそれぞれ 3.17, 2.83 および 2.11 g • 100 gFW⁻¹ であり, ‘07RUBIXP01’ は ‘インディアンサマー’ より有意に低くなった.

以上のように, 種間雑種 ‘07RUBIXP01’ の糖含量は ‘インディアンサマー’ と同等であるものの, クエン酸を

第4図 種間雑種 ‘07RUBIXP01’ とその両親の糖および有機酸含量とその組成

^z Tukeyの多重検定により, それぞれの分析の中で異なる英文字間に有意差 (p=0.05) があることを示す (n=3)

主とする有機酸含量が低くなり、‘07RUBIXP01’の糖酸比が両親と比べて約1.5倍の1.52と高い値であった。このことから食味のよい果実となっていることが明らかとなった。

考 察

本研究では、環境適応性の高い在来野生種ナワシロイチゴを材料として、ラズベリー‘インディアンサマー’との種間雑種‘07RUBIXP01’を育成した。本種間雑種は暖地において旺盛な成長を示し、ほとんどの形態的な指標は中間的な値を示すものの、機能性成分であるエラジタンニンが栽培品種よりも高く、有望な新品種と考えられた。

ナワシロイチゴは主に日本（北海道稚内市～沖縄県与那国島）や中国、朝鮮半島の広い範囲に自生しており、環境適応性が高いことが知られている。特にナワシロイチゴの雑種に関しては、米国ノースカロライナ州にてナワシロイチゴとラズベリー栽培品種との種間交雑が行われ、 F_1 世代では確認されなかったものの、 BC_1 および BC_2 では気温変動に対する抵抗性の高い系統が確認された（Ballington・Fernandez, 2008）。また、ナワシロイチゴを祖先に持つラズベリー品種‘Dormanred’や‘Dorsett’とナワシロイチゴの F_1 がラズベリー品種と暖地性野生種トックリイチゴ（*R. coreanus* Miq.）の F_1 に比較して、35°C環境下での生育状態を示す同化率の値が5.73, 6.42と高く、アメリカ南部の高温多湿の環境に適していることが報告された（Stafneら, 2000）。本研究でも同様に種間雑種‘07RUBIXP01’は暖地で良好な生育を示し、ナワシロイチゴだけでなくその雑種も環境適応性が高いことが示された。

次に、‘07RUBIXP01’は異種のゲノムから構成されているにも関わらず、比較的高い花粉稔性を有し、正常な集合果を着果した。Yangら（2012）は花芽形成や葉の成長に関与する *LEAFY* 遺伝子のイントロンのシーケンズから、野生種15種を含むキイチゴ属植物の系統樹を作成したところ、トックリイチゴとならびナワシロイチゴがラズベリーと最も近縁であることを明らかにした。また、ナワシロイチゴを含む日本在来野生種15種および栽培種6品種を用いて Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) マーカーにて分類を行ったところ、在来野生種であるオオバライチゴ（*R. croceacanthus* H. Lévl.）、フユイチゴ（*R. buergeri* Miq.）およびカジイチゴ（*R. trifidus* Thunb.）に比べ、ナワシロイチゴがラズベリー栽培種と近縁であることも報告されている（Miyashitaら, 2015）。一般的に、遠縁雑種の花粉は不稔になることが知られているが、本研究で得られたラズベリー栽培品種とナワシロイチゴの種間雑種‘07RUBIXP01’の花粉稔性は33.8%と比較的高く、また両親に比べ果実が有意に大きかった。この理由として、両親がキイチゴ属の中では近縁であり、染色体対合が比較的正常に行われ、生殖に関する不和合が低い可能性が高い。今後、減数分裂などを調査する必要がある。

種間雑種‘07RUBIXP01’にはナワシロイチゴと同様の小さな刺が確認された。経済的に重要な果樹においては刺の発現は好まれない。キイチゴ属植物の刺の遺伝についてはいくつか報告されており、現在刺に関する遺伝子として *S* 遺伝子が報告されている（Hallら, 1986; Rosatiら, 1986, 1988）。Molina-Bravoら（2014）は刺に関する Quantitative trait locus (QTL) 解析を行い、SSR (Simple Sequence Repeat) マーカーである *Rub103* と *Rub116a* 近辺に刺の密度に関する *S* 遺伝子が存在することを示唆した。今後、これらのマーカーを利用することにより、効率的に刺なし品種を育成できることが期待される。

また、ポリフェノールに関する分析において、‘07RUBIXP01’は総アントシアニン、エラジタンニンおよび総ポリフェノール含量のいずれも両親の中間的な値を示していたが、‘07RUBIXP01’のエラジタンニン含量はラズベリー‘インディアンサマー’の4倍もの含量を有していた。ラズベリーやナワシロイチゴに含まれるエラジタンニンは主に sanguin H-6 および lambertianin C が含まれている（Sangiovanniら, 2013; Tanakaら, 1993）。ナワシロイチゴにおいて、國武ら（2008）は、日本在来野生種5種の中ではナワシロイチゴが最も豊富にエラジタンニンを含有していることを報告している。特に、キイチゴ属植物に含まれるエラジタンニンは抗酸化活性の寄与率が高く、抗ウイルス性を有し（Corthoutら, 1991; Mullenら, 2002a）、さらに肺、食道および前立腺のガン腫瘍の増殖を抑える可能性があることが報告されている（Krestyら, 2001; Seeramら, 2007）。また、*in vitro* および *in vivo* 試験において消化性腫瘍や胃炎を抑える働きがあり、特にラットにおいて、ラズベリーやブラックベリーのエラジタンニンによる胃炎保護効果がコントロールに比べそれぞれ75%, 88%であったことが報告されている（Gasperottiら, 2010; Sangiovanniら, 2013）。このことからキイチゴ属植物に含まれるエラジタンニンは重要な生理活性物質のひとつであり、ラズベリー栽培品種と比較して有意にその含量が多い‘07RUBIXP01’は有望な品種であると考えられる。

第5図 種間雑種‘07RUBIXP01’の栽培風景（滋賀県彦根市）

ラズベリー ‘インディアンサマー’ と日本の在来野生種ナワシロイチゴの種間雑種である ‘07RUBIXP01’ は2007年から宮崎大学圃場内で栽培を行い、2012年には ‘07RUBIXP01’ として品種登録を完了した (第21801号)。現在、既に滋賀県彦根市で無農薬栽培が行われており (第5図)、暖地でのラズベリー生産を可能にする新たな品種として期待されている。今後は、 ‘07RUBIXP01’ に刺なしの栽培品種を戻し交雑し、機能性成分が高く、暖地でも栽培しやすいラズベリー品種の育成を行う予定である。

摘 要

温暖な日本の気候に適し、健康機能性を有するラズベリー品種の作出のため、環境適応性の高い在来野生種ナワシロイチゴ (*Rubus parvifolius* L.) とラズベリー ‘インディアンサマー’ (*R. idaeus* L.) の種間交雑を行った。葉、花および果実の形態的調査において、 ‘07RUBIXP01’ は両親の中間的な値を示し、RAPD分析によるDNA評価でも雑種性が確認された。 ‘07RUBIXP01’ は小さな刺が見られるものの、暖地環境下でも旺盛な生育を示し、両親に比べ果実重が有意に高いことが確認された。総ポリフェノール、アントシアニンおよびエラジタンニン含量測定において、 ‘07RUBIXP01’ は両親の中間的な値を示した。特にエラジタンニン含量において ‘インディアンサマー’ と比べ約4倍高い値を示した。さらに、糖と有機酸含量の測定では、両親に比べ糖酸比が高く、食味に優れていた。2012年に ‘07RUBIXP01’ として品種登録し (農林水産省品種登録第21801号)、今後日本の温暖地域において有望なラズベリー品種として期待できる。

引用文献

Ballington, J. R. and G. E. Fernandez. 2008. Breeding raspberries adapted to warm humid climates with fluctuating winter temperatures. *Acta Hort.* 777: 87–90.

Borges, G., S. Roowi, J. M. Rouanet, G. G. Duthie, M. E. J. Lean and A. Crozier. 2007. The bioavailability of raspberry anthocyanins and ellagitannins in rats. *Mol. Nutr. Food Res.* 51: 714–725.

Chen, L., X. Xin, Q. Yuan, D. Su and W. Liu. 2014. Phytochemical properties and antioxidant capacities of various colored berries. *J. Sci. Food Agric.* 94: 180–188.

Chen, L., X. Xin, H. Zhang and Q. Yuan. 2013. Phytochemical properties and antioxidant capacities of commercial raspberry varieties. *J. Fun. Foods* 5: 508–515.

Corthout, J., L. A. Pieters, M. Claeys, D. A. V. Berghe and A. J. Vlietinck. 1991. Antiviral ellagitannins from *Spondias mombin*. *Phytochemistry* 30: 1129–1130.

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.

Gao, J., C. R. Sun, J. H. Yang, J. M. Shi, Y. G. Du, Y. Y. Zhang, J. H. Li and H. T. Wan. 2011. Evaluation of the hepatoprotective and antioxidant activities of *Rubus parvifolius* L. *J. Zhejiang Univ. Sci. B* 12: 135–142.

Gasperotti, M., D. Masuero, U. Vrhovsek, G. Guella and F. Mattivi. 2010. Profiling and accurate quantification of *Rubus* ellagitannins and ellagic acid conjugates using direct UPLC-Q-TOF HDMS and HPLC-DAD analysis. *J. Agric. Food Chem.* 58: 4602–4616.

Gil, M., F. A. Tomás-Barberán, B. Hess-Pierce, D. M. Holcroft and A. A. Kader. 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J. Agric. Food Chem.* 48: 4581–4589.

Hall, H. K., M. H. Quazi and R. M. Skirvin. 1986. Isolation of a pure thornless loganberry by meristem tip culture. *Euphytica* 35: 1039–1044.

Harborne, J. B. and E. Hall. 1964. Plant polyphenols-XIII. The systematic distribution and origin of anthocyanins containing branched trisaccharides. *Phytochemistry* 3: 453–463.

Kresty, L. A., M. A. Morse, C. Morgan, P. S. Carlton, J. Lu, A. Gupta, M. Blackwood and G. D. Stoner. 2001. Chemoprevention of esophageal tumorigenesis by dietary administration of lyophilized black raspberries. *Cancer Res.* 61: 6112–6119.

國武久登・渡邊美紀・中村理恵・坂寄 潮・竹下正彦・小松春喜. 2008. キイチゴ属植物におけるがん細胞増殖抑制に及ぼす果実中のポリフェノール成分の影響. 園学研. 7 別2: 242.

黒木貴綱・渡辺原野・菅沼拓也・勝野武彦. 2012. 屋上緑化植物としてのナワシロイチゴの初期成育に関する研究. 日本緑化工学会. 38: 224–227.

Määttä-Riihinen, K. R., A. Kamal-Eldin and A. R. Törrönen. 2004. Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* species (Family Rosaceae). *J. Agric. Food Chem.* 52: 6178–6187.

Miyashita, T., H. Kunitake, N. Yotsukura and Y. Hoshino. 2015. Assessment of genetic relationships among cultivated and wild *Rubus* accessions using AFLP markers. *Sci. Hortic.* 193: 165–173.

Molina-Bravo, R., G. E. Fernandez and B. R. Sosinski. 2014. Quantitative trait locus analysis of tolerance to temperature fluctuations in winter, fruit characteristics, flower color, and prickly-free canes in raspberry. *Mol. Breeding* 33: 267–280.

Mullen, W., J. McGinn, M. E. J. Lean, M. R. MacLean, P. Gardner, G. G. Duthie, T. Yokota and A. Crozier. 2002a. Ellagitannins, flavonoids, and other phenolics in red raspberries and their contribution to antioxidant capacity and vasorelaxation properties. *J. Agric. Food Chem.* 50: 5191–5196.

- Mullen, W., M. E. J. Lean and A. Crozier. 2002b. Rapid characterization of anthocyanins in red raspberry fruit by high-performance liquid chromatography coupled to single quadrupole mass spectrometry. *J. Chromatogr. B.* 966: 63–70.
- 農林水産省. 2012. 農林水産植物種類別審査基準ラズベリー. <<http://www.hinsyu.maff.go.jp/info/sinsakijun/kijun/1548-2.pdf>>.
- Okuda, T., T. Yoshida and T. Hatano. 1989. Ellagitannins as active constituents of medicinal plants. *Planta Medica* 55: 117–122.
- Rosati, P., D. Gaggioli and L. Giunchi. 1986. Genetic stability of micropropagated loganberry plants. *J. Hort. Sci.* 61: 33–41.
- Rosati, P., H. K. Hall, D. L. Jennings and D. Gaggioli. 1988. A dominant gene for thornlessness obtained from the chimeral thornless loganberry. *HortScience* 23: 899–902.
- Sangiovanni, E., U. Vrhovsek, G. Rossoni, E. Colombo, C. Brunelli, L. Brembati, S. Trivulzoi, M. Gasperotti, F. Mattivi, E. Bosisio and M. Dell’Agli. 2013. Ellagitannins from *Rubus* berries for the control of gastric inflammation: *in vitro* and *in vivo* studies. *PloS One* 8: e71762.
- Seeram, N. P., W. J. Aronson, Y. Zhang, S. M. Henning, A. Moro, R. P. Lee, M. Sartippour, D. M. Harris, M. Rettig, M. A. Suchard, A. J. Pantuck, A. Beldegrun and D. Heber. 2007. Pomegranate ellagitannin-derived metabolites inhibit prostate cancer growth and localize to the mouse prostate gland. *J. Agric. Food Chem.* 55: 7732–7737.
- 執行みさと・竹馬昂平・國武久登・小松春喜. 2013. 日本原生キイチゴ属植物数種の育種素材としての評価. *園学研.* 12: 335–342.
- Stafne, E. T., J. R. Clark and C. R. Rom. 2000. Leaf gas exchange characteristics of red raspberry germplasm in a hot environment. *HortScience* 35: 278–280.
- Tanaka, T., H. Tachibana, G. I. Nonaka, I. Nishioka, F. L. Hsu, H. Kohda and O. Tanaka. 1993. Tannins and related compounds. CXXII. New dimeric, trimeric and tetrameric ellagitannins, lambertianins AD, from *Rubus lambertianus* Seringe. *Chem. Pharm. Bull.* 41: 1214–1220.
- Veberic, R., A. Slatnar, J. Bizjak, F. Stampar and M. Mikulic-Petkovsek. 2015. Anthocyanin composition of different wild and cultivated berry species. *LWT-Food Sci. Technol.* 60: 509–517.
- Vrhovsek, U., L. Giongo, F. Mattivi and R. Viola. 2008. A survey of ellagitannin content in raspberry and blackberry cultivars grown in Trentino (Italy). *Eur. Food Res. Technol.* 226: 817–824.
- Yang, J., H. S. Yoon and J. H. Pak. 2012. Phylogeny of Korean *Rubus* (Rosaceae) based on the second intron of the *LEAFY* gene. *Can. J. Plant Sci.* 92: 461–472.
- 財務省貿易統計. 2015. ラズベリー, ブラックベリー, 桑の実, ローガンベリー, 生鮮品輸入価格の推移. <<http://jp.gdfreak.com/public/detail/jp010090001210161qik/4>>.