

宮城県における在来イチジクの品種同定

誌名	宮城県農業・園芸総合研究所研究報告
ISSN	13472232
著者名	大坂,正明 板橋,建 柴田,昌人
発行元	宮城県農業・園芸総合研究所
巻/号	86号
巻号補足	
掲載ページ	p. 1-5
発行年月	2018年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



宮城県における在来イチジクの品種同定

大坂正明・板橋建・柴田昌人

Identifying varieties of local figs in Miyagi Prefecture

Masaaki OSAKA, Takeru ITABASHI and Masato SHIBATA

抄 録

本県においてイチジクは明治以降から薬用植物として栽培され、現在では生食用や甘露煮用として県内全域で栽培されている。しかし、栽培されているイチジクの品種名は明らかにされておらず、多くが在来種として扱われている。そこで、SSR マーカーを利用したイチジク品種識別法を確立し、SSR マーカーと形態的特徴により在来イチジクの品種同定を行った。その結果、7 種の SSR マーカーを用いることで既存のイチジク 12 品種の識別が可能であった。これらの SSR マーカーおよび形態的特徴をもとに県内 14 か所で栽培されている在来イチジクの品種同定を行ったところ、「ブルンスウィック」であることが明らかとなった。

〔キーワード〕 イチジク、品種同定、DNA マーカー

緒 言

イチジク栽培の歴史は約 11,000 年前に遡り、世界最古の栽培植物とされている¹²⁾。その原産地は、アラビア半島南部あるいは野生イチジクが植生する地中海沿岸と推定されており¹⁶⁾、現在では地中海諸国を中心に全世界で栽培されている¹⁷⁾。

日本にイチジクが導入されたのは、原産地から東進し中国を経て渡来したとされる説と江戸時代初期に長崎に持ち込まれたとされる説がある⁸⁾。日本で最初に導入された品種は「蓬萊柿」であり、その後、本格的な栽培が開始されたのは戦後に「榊井ドーフィン」が導入されてからと言われている¹³⁾。これら 2 品種は、主に西日本の暖地において栽培されてきた。その後、福岡農業試験場において「姫蓬萊」や「とよみつひめ」が育成され、栽培面積が拡大し経済品種として確立している^{1,14)}。

本県においてイチジクは、明治以降に薬用植物として栽培され、また、古くから未熟なイチジクを甘露煮にして食べる全国的に珍しい風習がある。これは、本県が寒冷地に位置することから、西南日本における主力品種である「榊井ドーフィン」の果実の

ほとんどが本県においては秋の収穫期に成熟せず、生食用品種としては定着しなかったことが理由の一つとして挙げられている。現在、県内のイチジク栽培は、丸森町や村田町、蔵王町、南三陸町など県内全域で約 60ha 栽培されている。県内で栽培されているイチジクの多くは、寒さに強いことや外観形質の特徴などから「榊井ドーフィン」などの生食用の主力品種とは異なった品種であり、導入の経緯によると「ブルンスウィック」もしくは「ホワイトゼノア」のいずれかと考えられている。しかし、その品種は現在まで明らかにされておらず、「在来種」として扱われたままである。

イチジクは、クワ科に属するイチジク属の低木落葉果樹であり⁴⁾、700 もの種類が存在している²⁾。また、世界中で 100 種以上の品種が存在していることから、品種同定に関する報告は多い。これらは、外観形質から同定を行うもの、アイソザイムマーカーを用いたもの、DNA マーカーのうち、RAPD、AFLP、SSR を利用したものなど、様々な技術が開発され品種同定や育種

に活用されている 3, 5, 9, 10, 11, 15)。その中でも SSR マーカーはゲノム中の保存領域を利用していること、ゲノム中に多く存在していること、品種間多型が多く得られることなどから品種同定において非常に有効なツールとして活用されている⁷⁾。

イチジクは果樹の中でも植栽後比較的早期から収穫できることなどから、震災以降新たに導入される事例が増加している。今後の生産・消費振興を図るためには、本県に適した栽培体系や加工適性など品種としての特徴を把握することが重要であり、そのためには品種名を明らかにする必要がある。

そこで、県内で栽培されている在来イチジクの品種名を明らかにすることを目的に、既存の品種群と SSR マーカーを利用した品種同定法を検討し、SSR マーカーと外観形質により県内で栽培されているイチジクの品種同定を行った。

材料と方法

I 植物材料

イチジクの品種識別用マーカーの選抜には、宮城県農業・園芸総合研究所栽培部保存株であるイチジク品種「ネグローネ」、「カドタ」、「ホワイトマルセイユ」、「バナーネ」、「ザ・キング」、「セレスト」、「ネグロラルゴ」、「アーティナ」、「ゼブラスイート」、「ビオレソリエス」、「日本早生（蓬萊柿）」、「柊井ドーフィン」に加え、農研機構果樹研究所か



第1図 県内における在来イチジクの採取地点
表記:市町村(サンプル数)(地名)

ら分譲いただいた「ホワイトゼノア」および「ブルンスウィック」の合計 14 品種を用いた。

県内で栽培されている在来イチジクの品種同定には、石巻市、仙台市、亶理町（2か所）、山元町、丸森町、南三陸町（戸倉、歌津）、栗原市（金成、志波姫、高清水）、登米市（豊里町、米山町）、村田町の計 14 か所から採取した葉を用いた（第1図）。

II 品種識別用マーカーの選抜と在来イチジクの品種同定

第1表 供試プライマーの塩基配列およびPCR反応条件

プライマー名	プライマーの塩基配列		PCR反応条件※	報告文献
	フォワード(5'-3')	リバース(5'-3')		
MFC1	ACTAGACTGAAAAACATTGC	TGAGATTGAAAGGAAACGAG	A	Khadari et al. (2001)
MFC2	GCTTCGATGCTGCTCTTA	TCGGAGACTTTTGTTCAT	A	
MFC3	GATATTTTCATGTTTAGITTG	GAGGATAGACCAACAACAAC	A, B	
MFC4	CCAAACTTTTAGATACAACCTT	TTTCTCAACATATTAACAGG	B	
MFC5	ACCAATCCAAATAATAATCC	ACACGCTTACTAGAATTACC	A	
MFC6	AGGCTACTTCAGTGCTACA	GCCATAAGTAATAAAACC	A	
MFC7	CACAATCAAAATAGTTACCG	AGCGAAGACAGTTACAAAGC	A	
MFC8	GTGGCGTCTCTCTAATAAT	TATTCTATGCTGATTATGTCA	B	
LMFC11	TGAAGGACTAGGGGACTTA	CATGGTAGGGTGACAAGTAATA	B	Giraldo et al. (2005)
LMFC12	TTAAACCTACTTTCAACAAT	GTAATCCCCGAGATATAGT	B	
LMFC13	CCTCTTTCTCTCTTAATTTT	TTTATCAAAACCACTGATTC	B	
LMFC14	CAAACTCACACCAATAATC	TAATCTGCAAAAAGATGACTA	B	
LMFC15	CGGAGAAAGATTAGAAATTG	ATTCCAGAGACGAAAGGTCT	A	
LMFC17	TTAAGAATACGTCCTTGGTAT	GAGATTTCGTTGACTTCATT	B	
LMFC18	CACATCCACACCAAAAGAG	TACCACAGACTCACCATTAT	B	
LMFC19	CTTATGAAAACCGTAGAAG	AATGAATGGAAATGATCTTG	A	
LMFC20	ATGGAGGCTTAGATAGAAAT	ACAACACAAAAGAAATATCA	A	
LMFC21	ATGTCAAAACACCACTCTA	AAGAATAGAAAACCTGAAAAAG	B	
LMFC22	ATCAGCATATAGGTGTTTAAAT	AGACTTGTAATTTTGATTCTCT	B	
LMFC23	TTTCGTGTCTAACGATCAAAAA	CTCCATCTCCAACCTCCATC	A	
LMFC24	ACTTCTTCATATTGATAGG	TTCATAAACTGGTCTAAAAGA	B	
LMFC25	GATTCTGATTAAAGGTATTT	GCTTTCCAAATCTAAAGTAAC	A	
LMFC26	ATGTTATAGTTGAGTGAGGATAA	AAATAGTGGATCTTGCATGT	A	
LMFC27	ATTCTTCAACTTTTGTAAATGA	CCTTTTGTCTACATATACCTTT	A	
LMFC28	TGATTCCTTTTACTTGTAGATT	AAGACATTGAGACATACCAG	A	
LMFC30	TTGTCCGTTTCTTATACAAT	TCTTTTAGGCAGATGTTAG	A, B	
LMFC38	CTCAACGTCCGTACTAATA	CTAAGGAATAAAAGGAGAAAA	B	

※ 各プライマーによってA及びBの反応条件で行った

第2表 イチジク品種におけるSSRマーカーの遺伝子型

マーカー名	品種名																増幅産物長と遺伝子型
	ネグローネ	カドタ	ホワイトマルセイユ	パナーネ	ザ・キング	セレスト	ネグロラルゴ	アーティナ	ゼブラスイート	ピオレンソリエス	蓬萊柿	ホワイトゼノア	ブルンスウィック	柘井ドーフィン			
MFC4	A	AB	A	AB	A	A	A	A	AB	AB	A	A	A	A			220bp=「A」, 220/240bp=「AB」
MFC5	AB	B	B	B	B	B	AB	AB	AB	B	AB	AB	B	B			300bp=「B」, 290/300bp=「AB」
MFC7	CD	AB	AB	AB	AB	AB	CD	C	C	CD	AB	C	C	AB			200/220bp=「AB」, 250bp=「C」, 250/275bp=「CD」
LMFC13	AB	B	AB	B	B	AB	AB	AB	AB	B	AB	B	B	AB			260bp/300bp=「AB」, 300bp=「B」
LMFC15	B	AB	B	B	B	B	B	B	B	B	AB	B	AB	B			300bp=「B」, 260/300bp=「AB」
LMFC19	AB	AB	A	A	AB	AB	AB	A	AB	A	A	A	A	A			170bp=「A」, 170/190bp=「AB」
LMFC27	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	B	AB	B	A	A	A			280/290bp=「AB」, 280bp=「A」, 290bp=「B」

イチジクの葉約 0.1g を用いて Nucleon
Phytopure (GE Healthcare) もしくは、DNeasy
Plant mini Kit (Qiagen) により付属のマニュアル
に従い DNA 抽出を行った。品種識別用マーカーの
選抜には、Khadari et al.⁹⁾ および Giraldo et al.⁵⁾に
よって報告のある DNA マーカーのうち、MFC1～
8, LMFC11～15, 17～28, 30 および 38 の 27 種の
SSR マーカーを用いた (第1表)。また、プライマ
ーにより下記 (A) もしくは (B) の酵素およびPCR
反応条件を適用した (第1表)。PCR 反応条件は、反
応液量 20μl 当たり、鋳型 DNA 約 10ng, 500nM プ
ライマー, 250nM dNTP 1x バッファーとし、(A)
0.25U AmpliTaq Gold DNA ポリメラーゼ (ABI),
反応サイクル 94℃ 5 分, (94℃30 秒, 50℃30 秒,
72℃30 秒) ×35 回, 72℃ 5 分, (B) 0.25U KOD
FX-Neo DNA ポリメラーゼ (TOYOBO), 反応サイ
クル 94℃ 2 分, (94℃30 秒, 50℃30 秒, 68℃30 秒)
×35 回, 72℃ 5 分の反応条件とした。PCR 反応後、
10%ポリアクリルアミドゲルで電気泳動 (PAGE)
し、SYBR Gold (TaKaRa) で染色した。その後、
LAS-1000 トランスイルミネーター (FUJIFILM) を
用いて、増幅産物長を基に遺伝子型を判定した。

Ⅲ 形態的特徴からの品種比較

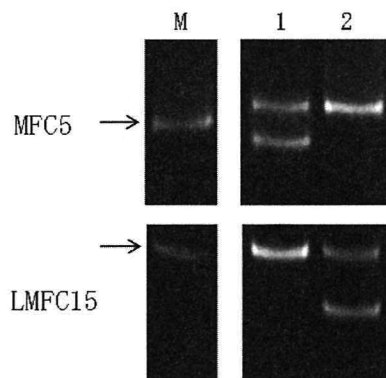
品種識別用マーカーにより「ブルンスウィック」と
同定された在来イチジクについて、「ホワイトゼノア」
を対照に葉の形や果実の着生角度について調査した。

結果と考察

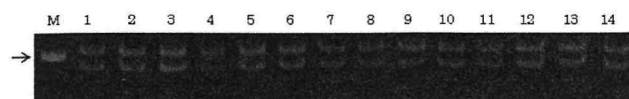
Ⅰ 品種識別用マーカーの選抜

県内におけるイチジク在来系統の品種識別を行
うため、栽培部保存品種を用いた SSR マーカーに
よる多型分析を行った。その結果、供試した 27 種
の SSR マーカーのうち、MFC4, MFC5, MFC7,
LMFC13, LMFC15, LMFC19 および LMFC27 の 7

種を用いることで、14 品種中 12 品種の識別が
可能であった (第2表)。「ネグローネ」と「ネ
グロラルゴ」の 2 品種においては、供試したす
べての SSR マーカーで同一の遺伝子型であり、
本研究で用いた PAGE 解析では、この 2 品種
の DNA 多型は検出できなかった。これら 2 品
種においては、数塩基の多型を解析すること
ができるフラグメント解析等を用いることで
識別が可能と考えられ、さらに、後藤ら¹⁰⁾は、
果実の果皮や小果、花托の色などの形態的特
徴から「ネグローネ」と「ネグロラルゴ」間の
差を見出ししており、より詳細な DNA 解析と形
態的特徴によって供試品種すべての品種識別
が可能と考えられた。なお、県内のイチジク生
産地に導入されている「在来種」は、導入の経
緯と形態的特徴から、「ブルンスウィック」ま
たは「ホワイトゼノア」と考えられているが、
この 2 品種は、27 種の SSR マーカーのうち、
MFC5, MFC15 の 2 種の最小セットを用いる
ことで識別することが可能であった (第2図)。



第2図 イチジクの県内主要品種における
SSRマーカーの泳動結果
レーン1は「ホワイトゼノア」,
レーン2は「ブルンスウィック」
を示す。Mは100bpラダーマーカー
で、矢印は200bpを示す。



第3図 県内在来イチジクにおけるLMFC15マーカーの泳動結果

レーン1~13はそれぞれ、1:石巻市、2:仙台市、3:亶理町①、4:亶理②、5:山元町、6:丸森町、7:南三陸(戸倉)、8:南三陸(歌津)、9:栗原市(金成)、10:栗原市(志波姫)、11:栗原市(高清水)、12:登米市(豊里町)、13:登米市(米山町)および14:村田町を示す。Mは100bpラダーマーカーで、矢印は、200bpを示す。

II SSR マーカーによる在来イチジクの品種同定

県内の主なイチジク産地における「在来種」について、それぞれの品種を明らかにするため上述のSSRマーカーを用いて解析を行った。その結果、供試個体すべてにおいて、遺伝子型は「ブルンスウィック」と一致した(第3図, 第3表)。本試験で供試した在来イチジクは、県内の北部(南三陸町)から南部(丸森町)に至るまで県内全域でサンプリングを行っており、県内主産地を網羅できていると考えられる(第1図)。なお、品種同定のために持ち込まれたある品種に対して、今回供試した7種のSSRマーカーを用いた場合、本試験で識別可能であった12品種中に1品種以上の同一遺伝子型をもつ確率は、

$$P_1 = 1 - (1 - po^k)^n = 0.069$$

(po = 同一アレルの頻度

$$= 0.083 \sim 1.0$$

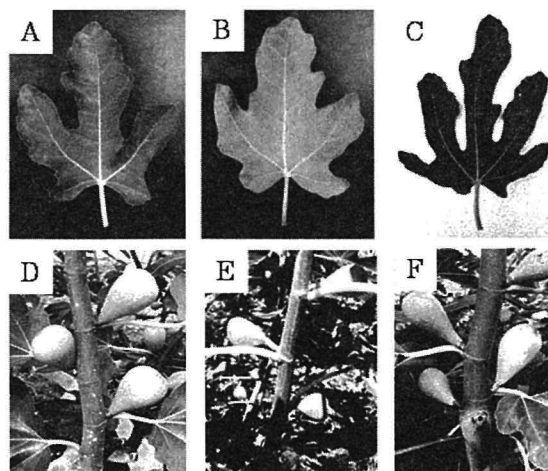
$$n = \text{品種数} = 12$$

$$k = \text{ローカス数} = 7)$$

となり、十分に低い確率であったことから判定結果の信頼性は高いと考えられた。

III 形態的特徴からの品種同定

形態的特徴からの品種同定を行うため、「ブルンスウィック」と「ホワイトゼノア」の葉および果実の着生角度について調査を行ったところ、葉の形態



第4図 「ブルンスウィック」、「ホワイトゼノア」および在来イチジクの葉の形態と果実の着生形態

A, B, Cは葉の形態, D, E, Fは果実の着生形態を示し, A, Dは「ブルンスウィック」、B, Eは「ホワイトゼノア」、C, Fは「在来種」の形態を示す。

について「ブルンスウィック」は、「ホワイトゼノア」の形態に比べて切り込みが深い傾向があり(第4図A, B)、果実の着生角度について「ブルンスウィック」は、結果枝に対して直角からやや上向きに着生しているものが多い傾向がみられた(第4図D, E)。これに対して、県内で栽培されている「在来種」は、葉の切り込みが深く、果実の着生角度が上向きの特徴が見出された(第4図C, F)。このことから、形態的特徴からも在来イチジクは「ブルンスウィック」である可能性が高いと考えられた。しかし、外観形質については、外的環境要因によって変動する可能性を考慮する必要がある。このことから、形態的特徴による調査に加えて、DNAマーカーによる品種識別を併せることでより確実に品種同定作業ができると考えられた。

以上のことから、本研究では、既存イチジク品種のDNAマーカーによる品種識別技術を確認し、DNAマーカー及び形態的特徴から県内

第3表 県内在来イチジクにおけるSSRマーカーの遺伝子型

「在来種」															対照		増幅産物長と遺伝子型
マーカー名	石巻市	仙台市	亶理町①	亶理町②	山元町	丸森町	南三陸町（戸倉）	南三陸町（歌津）	栗原市（金成）	栗原市（志波姫）	栗原市（高清水）	登米市（豊里町）	登米市（米山町）	村田町	ブルンスウィック	ホワイトゼノア	
MFC4	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	220bp=「A」，220/240bp=「AB」
MFC5	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	AB	B	300bp=「B」，290/300bp=「AB」
MFC7	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	200/220bp=「AB」，250bp=「C」，250/275bp=「CD」
LMFC13	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	260bp/300bp=「AB」，300bp=「B」
LMFC15	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	B	AB	300bp=「B」，260/300bp=「AB」
LMFC19	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	170bp=「A」，170/190bp=「AB」
LMFC27	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	280/290bp=「AB」，280bp=「A」，290bp=「B」

で栽培されている在来イチジクが「ブルンスウィック」であることを明らかにした。今後は、品種特性に合った栽培技術が確立されるとともに、本県におけるイチジクの高収量栽培技術の開発が期待される。

引用文献

- 1) 栗村光男・矢羽田第二郎・野方仁・正田耕二・金房和己 (1998) イチジク新品種‘姫蓬萊’の育成. 福岡農総試研報 17: 115-118.
- 2) Berg, C. C. (2003) Flora malesiana precursor for the treatment of Moraceae 1: the main subdivision of Ficus: the subgenera. Blumea 48: 167-178
- 3) Cabrita, L. F., Aksoy, U., Hepaksoy, S. and Leitao, J. M. (2001) Suitability of isozyme, RAPD and AFLP markers to assess genetic differences and relatedness among fig (*Ficus carica* L.) clones. Scientia Horticulturae 87:261-73.
- 4) Datwyler, S. L. and G. D. Weiblen (2004) On the origin of the fig: phylogenetic relationships of Moraceae from *ndhF* sequences. Am. J. Bot. 91: 767-777.
- 5) Giraldo, E., Viruel, M. A., Lopez-Corrales, M. and Hormaza, J. I. (2005) Characterisation and cross-species transferability of microsatellites in the common fig (*Ficus carica* L.). J. Hortic. Sci. Biotechnol. 80: 217-224.
- 6) 後藤隆子, 高橋徹 (2009) イチジク果実における形態および糖含量の品種特性. 東洋食品研報. 27: 9-19.
- 7) 池上英利, 野方仁, 栗村光男, 平島敬太 (2010) DNA マーカーによるイチジク品種「とよみつひめ」の識別技術. 福岡農研報. 29: 65-69.
- 8) 河瀬憲次 (1983) XI イチジク (無花果). 果樹品種名雑考 東京 農業技術協会
- 9) Khadari, B., Hochu, I., Santoni, S. and Kjellberg, F. (2001) Identification and characterization of microsatellite loci in the common fig (*Ficus carica* L.) and representative species of the genus *Ficus*. Molecular Ecology Notes 1:191-3.
- 10) Khadari, B., Lashermes, P. and Kjellberg, F. (1995) RAPD fingerprints for identification and genetic characterization of fig (*Ficus carica* L.) genotypes. Journal of Genetics and Breeding 49:77-86.
- 11) Khosbakht, K. and K. Hammer (2006) Savadkouh (Iran) – an evolutionary center for fruit trees and shrubs. Genet. Resour. Crop Evol. 53: 641-651.
- 12) Kislev, M. E., Hartmann, A. and Bar-Yosef, O. (2006) Early domesticated fig in the Jordan Valley. Science 312:1372-1374.
- 13) 榊井農場 (1993) 榊井ドーフィン物語 榊井農場 85 年史 広島 中国新聞社.
- 14) 野方仁・栗村光男 (2005) イチジク新品種‘H156-70’の育成. 福岡農総試研報 24: 104-107.
- 15) Papadopoulou, K., Ehaliotis, C., Tourna, M., Kastanis, P., Karydis, I. and Zervakis, G. (2002) Genetic relatedness among dioecious *Ficus carica* L. cultivars by random amplified polymorphic DNA analysis, and evaluation of agronomic and morphological characters. Genetics 114:183-94.
- 16) Storey, W. B. (1975) Figs in Advances in Fruit Breeding. Indiana. Purdue University Press. Hortscience 568-589.
- 17) Stover, E., Aradhya, M., Ferguson, L. and Crisosto, C. H. (2007) The fig: overview of an ancient fruit. Hortscience 42: 1083-1087.

Summary

In Miyagi Prefecture, figs have been produced since the Meiji era as medicinal plants. Today, they are cultivated throughout the entire prefecture for raw consumption or use in ‘kanroni’ (food simmered in sweet syrup). However, the specific fig type was never identified, and they have been treated as ‘local varieties’ up until now. Thus, we established a method of identifying varieties of fig using SSR markers and identified local fig varieties based on the SSR marker and phenotypic traits. As a result, it was possible to discriminate 12 existing fig varieties by using 7 SSR markers. By using these discrimination methods, we identified the varieties of the figs cultivated in 14 places within Miyagi Prefecture and discovered that they were of the ‘Brunswick’ variety.