

National Institute of Fruit Tree Science



NIFTS NEWS
No.20

果樹研究所 ニュース

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構



クリ「ぼろたん」

巻頭言	2
コラム	2
<研究の紹介>	
DNA マーカーによる果樹・果実の 品種判別	3
温州萎縮ウイルスの簡易迅速検定 キットの開発	4
ブドウウイルス病診断における簡易 試料調製法の開発	5
カンキツ果実のピオラキサンチン集積 量はアブシジン酸生合成と関連する	6
<イベント報告>	
■「気候温暖化」研究成果発表会	7
■つくばちびっ子博士	
■平成 19 年度夏休み公開	
■サマー・サイエンス キャンプ 2007 など	8
<お知らせ>	8

巻頭言

果物の非破壊選果を有効に使おう

非破壊で、つまり果実を壊さないで中味の糖度を測定できる機械が多く導入されている、らしい。らしいと書いたのは、導入されてはいるが、多くの消費者には実感できていないからである。

もともとは地中深くにある鉱物や鉱脈を人工衛星から発見しようとして開発された非破壊検査技術であるが、地球を果実に置き換え、外から中にある宝物（糖度）を測定してしまおうという発想から作られてきた。

調べてみると、ミカンでは出荷されている果実の半分程度、リンゴでは3分の1程度は非破壊選果がされている。もう少し正確に言うと、非破壊選果機を導入した選果場から出荷されているミカンやリンゴが、国内の流通量の半分、あるいは3分の1あるということである。

相当な量が非破壊で糖度を調べられ、流通しているのだ。言われてよく見ると、八百屋やスーパーの店奥や果物が並べられている下に積んである空き箱には、「光センサー選果」と書いてある。しかし、店頭のカンやリンゴは、糖度〇%と表示されては売られていない。本当に選別されているのだろうか？

糖度によって分け、糖度10度は40円、11度は50円、12度70円、13度100円というような値段を設定する。消費者は、甘いものが好きな人、値段で買う人、それぞれ自分の価値観で良いと思われる値段・品質のものを買うことができるシステムを作る必要がある。

ただし、問題点はある。農産物であるから、お天道様次第で、品質・生産量のコントロールが難しい。13度以上のものが高い値段がつくから、13度以上にしようと思っても、なかなかすべて13度以上にすることはできない。また、仮に13度以上の果実ばかり多くできてしまうと、相対的に価格が下がってしまう。

結局、儲かる仕事に結びつかないために、糖度表示の導入が進まないようである。

情報公開の世の中、消費者は正しい情報を正しく判断できる知識を身につけ、生産・流通・販売業者は正当に評価できる情報をしっかり公開したいものである。

企画管理部長 長谷川 美典



コラム

"ご存じですか？栗の品種"

クリの種類は日本グリ、中国グリ、欧州グリの3種に大別されます。日本グリは渋皮がむきにくいですが、風味がよいことと果肉のやわらかさや果実の大きさなどが特徴です。中国グリは、日本グリより小形で、渋皮がむきやすく果肉はしまっていて甘味が強いです。また、欧州グリは、日本グリよりやや小さめで甘味は中程度で、品質は優良でありマロングラッセなどの加工品に利用されています。欧州が原産地ですので日本での栽培には適しておりません。

日本で栽培されているクリの品種は、「丹沢」「筑波」などの日本グリが主であり、この日本グリと中国グリのいいところ取りをして育成した新品种が「ぼろたん」です。熱を加えると渋皮がはがれやすく、実は大粒なことが特徴です。苗木の販売が始まったばかりで、皆さまの食卓に届くのはもう少し先になります。



「ぼろたん」

INTRODUCTION OF RESEARCH

研究報告



果樹ゲノム研究
チーム
山本 俊哉

DNA マーカーによる 果樹・果実の品種判別

果樹・果実の品種名、原材料や原産地の適正な表示など食の安全・安心を確保する観点から、また海外からの海賊版果実の流入や品種詐称の抑止などを目的に、信頼度の高い科学的手法により品種を判別する技術の開発が必要です。しかしながら果樹類の果実は、生食用の他に加工用果実として利用されるために果実の外観・形態での判別が困難な場合が多く、果樹生産や販売、研究に従事する専門家でも正確な品種判別や品種同定は困難です。

そこで、大学や公立研究機関と協力し、各種 DNA マーカーの開発、遺伝子地図作成やコンピュータソフトウェア開発などのゲノム解析研究の成果を利用して、主要果樹類の品種判別のための技術開発を進めてきました。現在では、SSR (図 1)、CAPS、SNP などの DNA マーカーを用いて、クリ、ナシ、リンゴ、モモ、オウトウ、スモモ、ウメ、アンズ、ビワ、カンキツ類などの主要果樹において、品種判別技術が可能になっています (表 1)。ナシでは、種苗管理センターとの共同研究により、幸水、豊水、なつしずく、二十世紀、新高、長十郎、あきづきなど約 100 品種の DNA 品種判別が可能です。モモでは、福島県農業総合センター果樹研究所と共同して、白鳳、あかつき、川中島白桃、日川白鳳、清水白桃など約 50 品種が識別できます。

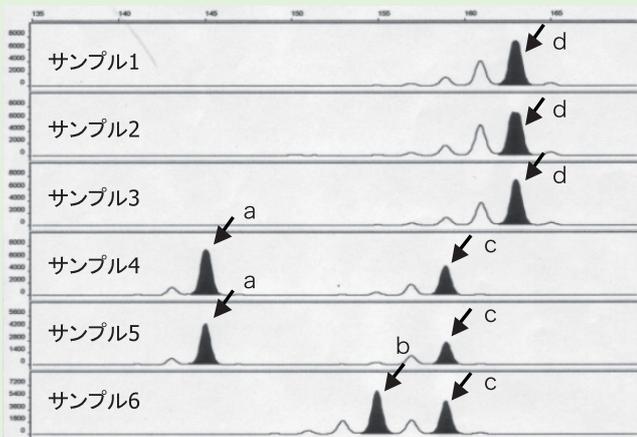


図 1 SSR マーカー分析の模式図

また、クリでは、ぼろたん、筑波、岸根、芳養玉など約 30 品種が、カンキツでは、ウンシュウミカン、スイートオレンジ、清見、はるみ、ポンカン、不知火など 40 品種以上が判別可能です。

生果実からの DNA 抽出と DNA 鑑定が可能であり、ドライフルーツや缶詰果実など一部の果実加工品でも、DNA 鑑定に成功しています。さらに、ナシ、モモなどの果樹で親子鑑定技術が確立されており、カンキツやナシで、品種同定の基盤となる DNA マーカーデータベースを作成しています。成果の概要は、果樹研究所ホームページで公開しています (URL: http://fruit.naro.affrc.go.jp/kajunoheya/dna/DNA_marker.pdf)。

本技術を利用することにより、果樹の品種名の確認や不当表示の抑制、外国からの果実の不法輸入の防止、品種登録や権利侵害でのトラブルの解決に対応が可能となっています。

表 1 DNA 品種判別が可能となった主な果樹と主要品種

樹種名	マーカータイプ	判別可能な主要品種名
クリ	SSR	ぼろたん、筑波、岸根、芳養玉など約 30 品種
ナシ	SSR	幸水、豊水、なつしずく、二十世紀、新高、長十郎、あきづきなど約 100 品種
リンゴ	SSR	ふじ、つがる、玉林、ジョナゴールド、千秋、陸奥など約 80 品種
モモ	SSR	白鳳、あかつき、川中島白桃、日川白鳳、清水白桃など約 50 品種
オウトウ	SSR	佐藤錦、ナポレオン、高砂、紅秀峰、紅さやかなど約 100 品種
スモモ	SSR	大石早生、ソルダム、太陽など約 120 品種
ウメ	SSR	南高、白加賀、豊後、小梅など約 40 品種
アンズ	SSR	信州大実、ハーコット、アーリーオレンジなど約 20 品種
ビワ	SSR	茂木、田中、長崎早生、楠、大房、房姫など約 30 品種
カンキツ	CAPS SNP	ウンシュウミカン、スイートオレンジ、清見、はるみ、ポンカン、不知火など 40 品種以上

なお、各樹種の品種識別は以下の研究機関との共同研究で得た成果である。

- ・種苗管理センター調査研究課 (ナシ)
- ・岐阜大学教育学部生物学教室 (リンゴ)
- ・福島県農業総合センター果樹研究所 (モモ)
- ・山形県農業総合研究センター農業生産技術試験場 (オウトウ)
- ・山梨県果樹試験場 (スモモ)
- ・和歌山県農林水産総合技術センター果樹試験場うめ研究所 (ウメ)
- ・長崎県果樹試験場 (ビワ)
- ・千葉県農業総合研究センター (ビワ)
- ・静岡大学農学部 (カンキツ)

INTRODUCTION

研究報告



カンキツグリーン
ング病研究チーム
岩波 徹

温州萎縮ウイルスの 簡易迅速検定キットの開発

我が国で栽培されるカンキツ類は、温州萎縮ウイルスなどの感染の危険に常にさらされています。特に温州萎縮ウイルスに感染したウンシュウミカンは葉が変形し、枝が萎縮して高品質の果実を生産することができなくなります（写真1）。一度感染すると、薬剤などで治療することは不可能で、さらに畑の中の土壌を介して、隣接する樹にも病気が広がります。土壌の汚染は半永久的に続き、新たに健全な樹を植え付けても、数年で感染します。

病気の拡大を防ぐための唯一の方法は、ウイルスに感染していない苗木を選んで植え付けることです。このため、苗木がウイルスに感染しているかどうかを確認すること（ウイルス検定）が非常に重要な意味を持ちます。温州萎縮ウイルスの検定には、エライザ法、ラテックス凝集反応、PCR法などの種々の方法が開発されていますが、いずれの方法も特別な設備や機器類が必要でした。また、検査を実施するには、ある程度の専門知識と技術が必要でした。

そこで、九州沖縄農業研究センター、福岡県農業総合試験場果樹苗木分場、佐賀県果樹試験場、株式会社ミズホメディーと果樹研究所が共同で、誰でもどこでも温州萎縮ウイルスを簡易かつ迅速に検定するキットの開発を行いました。キットは、「磨砕容器」と「テストプレート」から成り立ちます（写真2）。磨砕容器は、弾力性のある特殊プラスチック容器で、内側に溝が切り込んであるので、この

中に検定したい苗木の葉を入れて、添付の検体磨砕試液を加えて、手でもむと簡単に葉が磨砕できます。その後、磨砕した液をテストプレートに注ぎ込みます。テストプレートには、温州萎縮ウイルスに対するモノクローナル抗体（ウイルスと反応する特殊なタンパク質）が塗布されているので、磨砕液中に温州萎縮ウイルスが含まれていると反応を起こして、15分後に、「テストライン（T）」と「リファレンスライン（R）」の2本が出現し、ウイルスが含まれていない場合は、「リファレンスライン（R）」1本だけが出ます（写真3）。これにより、苗木が温州萎縮ウイルスに感染しているかどうか、簡単に検定できます。

本キットを使用することで、簡単に温州萎縮ウイルスの検定ができますが、我が国で栽培されるカンキツは、本ウイルスの他に、ネーブル斑葉モザイクウイルスと接ぎ木部異常病ウイルスの被害を受けています。そこで現在、被害の大きいこれら3種類のウイルスの同時検定キット開発を進めています。なお、本キットの開発にあたっては、農林水産省「先端技術を活用した農林水産研究高度化事業」（平成16年～平成18年）の助成を受けました。また、「3種類のカンキツ重要ウイルス同時簡易迅速検定キット」の開発にあたっては、引き続き同事業（平成19年～平成21年）から研究助成を受けています。



写真1
温州萎縮ウイルスに感染したウンシュウミカンの葉の変形



写真2
温州萎縮ウイルスの簡易迅速検定キットの「磨砕容器」と「テストプレート」



写真3
左：ウイルスが含まれている場合
2本が出現。
右：ウイルスが含まれていない場合

OF 研究報告 RESEARCH



果樹病害研究チーム
中畝 良二

ブドウウイルス病診断における 簡易試料調製法の開発

植物のウイルス病診断や各種遺伝子の解析を行うためには、核酸などを抽出しやすい状態にするため磨砕試料を調製する必要があります。葉や葉柄など比較的柔らかい材料からは、乳鉢・乳棒や試料破砕機を用いた方法で容易に磨砕試料を調製できます。しかし、枝などの堅い試料を材料とした場合には、多大な時間と労力を必要とするわりに磨砕の程度も十分でないという問題がありました。私たちの研究チームでは日常的にブドウのウイルス診断を行う機会が多く、枝からの試料調製に苦労していました。そこで何かよい方法はないかと思案し、サンドペーパーを利用して枝から磨砕試料を調製する簡便な方法を考案しましたので紹介します。

以下にブドウの枝から磨砕試料を調製する作業手順について解説します。まず、カミソリの刃を用いて枝から樹皮をそり落とし、緑色の師部組織を露出させておきます(写真1の1)。5cm四方程度にカットしたサンドペーパー(100番前後の研磨布)の上に0.2ml程度の磨砕バッファをのせ、そのバッファの中で枝組織を磨砕します(写真1の2)。枝試料のみをサンドペーパー上で擦っても目詰まりしてしまい、効率よく磨砕することができません。枝組織を前後や円を描くように20回程度擦ると「おろしわさび」状の磨砕試料が得られます(写真1の3)。ブドウのウイルス診断では、約0.2gの磨砕試料を1mlの磨砕バッファに懸濁し、遠心分離後の上清をRT-PCRに使用します。また、本法はウイルスのエライザ検定用試料

の調製にも使用することができます。使用するサンドペーパーをオートクレーブ等で処理する必要はありませんが、取り扱いの際には不必要に汚すことがないように注意が必要です。また、バッファをのせた後、時間をおくと砂粒を接着している糊がふやけ砂粒が脱落しやすくなりますし、長時間同じ箇所を擦り続けていると砂粒が剥がれ落ちますので、手早く作業することがポイントです。

サンドペーパー法の利点は、従来法(乳鉢使用)と比べて極めて容易に植物組織を細かく磨砕することができ、作業に要する時間を従来法の約1/10に短縮できることにあります。サンドペーパーは1枚150円程度で容易に入手できますし、作業には特別な機器を必要としません。サンドペーパーは使い捨てせざるを得ませんが、その反面、コンタミネーションの心配は少なく、作業後の後かたづけも省力化できることも利点の一つと考えられます。また、磨砕試料から各種市販の核酸抽出キットを利用してDNAやRNAを抽出・精製することも可能で、ブドウやカキのPCR実験などの分子生物学的研究に利用できることを確認しています(写真2)。最近、カンキツグリーニング病の迅速簡易診断法として、サンドペーパーを利用して植物体のデンブン含量を調べる方法が報告されています。今後、果樹をはじめ木本植物の成分分析などへの応用も期待でき、各種研究に大いに役立てていただきたいと思います。



写真1 サンドペーパー法によるブドウ枝磨砕試料の調製

各写真の説明は本文中に記載しました。

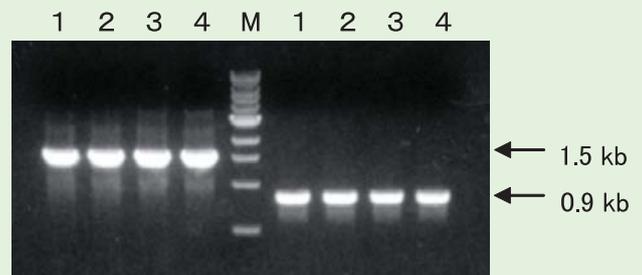
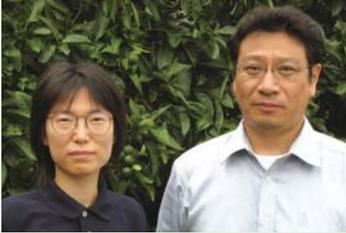


写真-2 サンドペーパー法を利用して抽出したDNAを用いたPCR実験

4種のブドウ枝からDNAを抽出し、異なる2種のプライマーペアでMyb遺伝子を増幅しました。プライマーは東暁史研究員(ブドウ・カキ研究チーム)より分譲していただきました。

INTRODUCTION OF RESEARCH

研究報告



健康機能性研究
チーム
松本 光
生駒 吉識

カンキツ果実のビオラキサンチン集積量はアブシジン酸合成と関連する

β -クリプトキサンチン (BCR) とビオラキサンチン (VIO) はカンキツ果実の主要なカロテノイドです。これまで、カロテノイドを生成する酵素遺伝子群の発現バランスが、ウンシュウミカン果肉では BCR を集積しやすく、オレンジ果肉では VIO が集積しやすくなっていることを解明しました。しかし、カロテノイドの集積量は、カロテノイドの生成過程だけでなく分解過程にも影響されます。そこで、VIO を分解してアブシジン酸 (ABA) 生成を進める酵素 NCED (9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase) に着目し、カロテノイドの分解過程がカロテノイド集積量に及ぼす影響を調査しました。

まず、ウンシュウミカン「宮川早生」とオレンジ「バレンシア」から CitNCED 2 (NCED をコードする cDNA の 1 種) を単離、組換えタンパク質を合成し、このタンパク質が確かに 9-シス-VIO (最も含量が高い VIO 異性体) を分解し、ABA の前駆物質となるキサントキシンを生成することを確認しました (図 1)。次に、果肉における CitNCED 2 の発現を調

べたところ、ウンシュウミカンでは成熟に伴って急増すること (図 2)、オレンジでは成熟期間中は低く推移すること (図 2)、NCED の基質となる 9-シス-VIO 含量は、ウンシュウミカンでは成熟期間中低く推移するのに対し、オレンジでは成熟に伴って急増することを突き止めました。さらに ABA 含量は、ウンシュウミカンで成熟時に上昇するのに対して、オレンジでは、成熟期間中低く推移し、明瞭な上昇は見られないことを明らかにしました。

この結果は、オレンジでは、CitNCED 2 の発現が低いため、VIO の分解が進まず VIO 集積量が高くなること、ウンシュウミカンでは、CitNCED 2 の発現が高くなるため、VIO の分解が進み、VIO 集積量が低くなることを示しており、ウンシュウミカン果肉における特異的な BCR の集積には、カロテノイド生成が BCR で止まりやすだけでなく、VIO が容易に ABA に分解される機構も関与するという情報を提供するものです。今後、カロテノイドの高含有化や組成の改変のための技術開発に、この結果を参考にして取り組んでいきたいと思ひます。

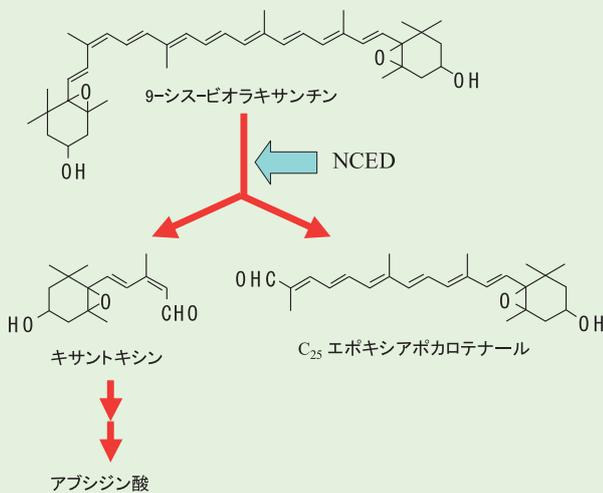


図 1 9-シスビオラキサンチンの NCED による分解過程

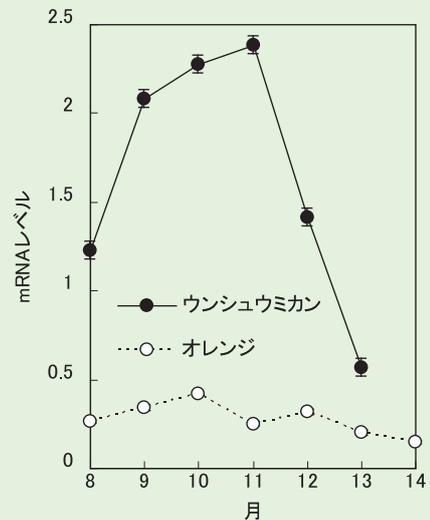


図 2 CitNCED 2 発現量の品種間差

イベント報告

「気候温暖化」研究成果発表会報告

研究管理監 吉田 幸二

果樹研究所が主査を務める機構交付金プロジェクト「作物及び家畜生産における気候温暖化の影響解明とその制御技術の開発」の研究成果発表会が、平成19年10月9日に、つくば国際会議場（エポカルつくば）で開催されました。本研究成果発表会では、堀江理事長、福元所長、長谷川企画管理部長をはじめ国・県行政、大学、農研機構、他独法、公立試験研究機関、農業関係、民間、報道機関等を含め、350名の参加者が集まりました。

当初は450人収容の大ホールが埋まるのかと心配しましたが、立ち見が出るのではと心配するくらいの大盛況となりました。その模様はNHKのお昼のニュースで流されたようです。

全体会議で、主催の農研機構を代表して堀江理事長が挨拶されたのにつき、国立環境研究所社会環境システム研究領域長の原沢氏より、「地球温暖化の影響研究の最前線」のテーマで基調講演が行われました。園芸作物、稲等の二つの分科会で、20名の発表者に話題提供をいただきましたが、どちらの分科会も満員で、気候温暖化に対する関心の高さが伺えました。

気候温暖化の成果発表会としては一昨年の中間年成果発表会と同じ場所での開催ということもあり、準備はかなり手際良く進みました。全体会議の会場は前回よりは一回り大きな大ホールとしたことから会場が分散し、移動等で混乱しないか気をもんだりもしましたが、何事もなく順調に発表会が進んだのは企画管理部をはじめ関係者の方々のおかげです。つくばエクスプレスで首都圏からのアクセスが良くなり、つくば国際会議場への便も良く、大きな成果発表会等イベント開催にはもってこいの立地条件で多くの方々にご参加頂けたものと思います。気候温暖化プロは今年度で最終年度となりますが、終了時には今回の発表課題以外にも多くの成果が公表できるものと期待しています。



■つくばちびっ子博士 7月24日(水)、8月5日(水)、8月23日(水)

今年度の内容については、果物やパネルの展示、果物に関するクイズ、果物電池で音楽を鳴らそうでした。果物にはレモンを使用して、1.5V以上の電圧を得るように工夫して電子メロディーを鳴らすような実験をしてもらいました。レモンを3個使用して、それぞれに差し込んだ銅板と亜鉛版を導線で直列につないでできあがりですが、低学年の子にはちょっと難しく、誰かの助力が必要なこともありましたが、大方の子供たちは、完成した後でメロディーが聞こえてくると大変喜んでいました。



■平成19年度夏休み公開 ふれあい食と農の科学 ～きて、みて、さわって、つくって、たべよう～

7月27日(土)

つくばリサーチギャラリーで開催された「夏休み公開」に出展しました。当所からは、「レモン電池の実験」、「アメのつかみ取り」、「ぼろたん」などの品種の紹介、β-クリプトキサンチンの健康機能性の紹介を行いました。

夏休みに入った最初の土曜日だったので、親子づれの参観者が多く訪れ、「レモン電池の実験」では、電極を確認しながらコードをつなぎ、電子メロディーが鳴り出すと、大変感激したような様子でした。また、お子さん限定のアメのつかみ取りでは、箱の中でアメをおもいきりつかんで出そうとして外にこぼれてしまうのではないかと心配そうに眺めていた親御さんの姿がほほえましかったです。



イベント報告

■サマー・サイエンスキャンプ2007 8月8日(水)~10日(金)

高校生が研究機関の研究現場に出向いて、現場の研究者と直接向き合って実験体験等を通して科学技術にふれあう機会がサイエンスキャンプです。その一環として、果樹研究所で「果物とのふれあい～果樹研究のおもしろさを体験しよう～」をテーマとして、サマーキャンプに10名の高校生が集いました。

今回の参加者は遠くは宮城県からの高校生を含め女性8名と男性2名でした。圃場でのモモの収穫や接ぎ木の実習、電気泳動を用いたウイルス病の検定試験、気候温暖化に関する二酸化炭素放出量の測定や味覚の実験など盛りだくさんのテーマを見事にこなしました。



最終日には、果樹研の若手研究者との話し合いの時間も設定されて、研究職業人としての心構えや果樹研究に対する熱い情熱などについて理解を深めていけたと思います。

高校生には短い期間ではありましたが、貴重な経験と同世代の高校生や指導にあたった研究者との絆が深まったと思います。協力いただきました皆さまに心より感謝申し上げます。



■日本全国野菜くだものフェア2007 9月8日(土)~9日(日)

東京国際フォーラムにおいて開催された日本全国野菜くだものフェア2007では、研究成果パネル、果実類、β-クリプトキサンチン入り健康機能性食品などを展示するとともに、シャインマスカットなどの試食を行いました。

中央ステージでは野菜・果物に関するトークショーも開かれ、来場者はトークショーが終わると、展示ブースのほうに人の流れが動き大変盛況でした。

試食に出したシャインマスカットの評判は大変よろしく、皮ごと食べられることが分かるといつ頃から購入できるかと聞かれ、早い時期に店頭に出回ることを期待していると話しておりました。



■アグリビジネス創出フェア2007 11月27日(火)~28日(水)

農林水産・食品分野の新技术や研究成果をキーワードに、様々な企業、大学、独法、農林漁業関係者が一堂に会する技術交流展示会として、アグリビジネス創出フェア2007が東京国際フォーラムにおいて開催されました。

当所からは、クリの新品種「ぼろたん」、「ブドウ花穂成型器」「果樹カメムシ用乾式トラップ」、「白紋羽病防除のための微生物資材」などを出展しました。

また、「カンキツの機能性成分研究とそれを利用した製品」として、育成したカンキツ「はれひめ」、温州ミカン果肉成分を含むホットケーキミックスを使用したケーキ、β-クリプトキサンチン入りアメの試食・配布を通して研究成果・技術の紹介を行いました。なお、2日間で9400人の入場者がありました。



お知らせ

平成20年度 農業技術研修生募集

果樹園を自営して、将来その地方の果樹農業の指導的立場に立ち得るような人材の養成を目指した研修制度です。

研修期間：平成20年4月～平成22年3月

研修方法：研修は2学年制で、講義は原則、学年別に行っています。実習は主に、ほ場管理に必要な各種作業に重点をおいて行っております。

* 詳細は、果樹研究所 Web サイトをご覧ください。

<http://fruit.naro.affrc.go.jp/>

イベント案内

カンキツ研究興津拠点一般公開

平成20年2月9日(土)

ふるさとの食 にっぽんの食 全国フェスティバル

平成20年3月22日(土)

～3月23日(日) (予定)



果樹研究所ニュース 第20号(平成20年1月31日)

編集・発行：独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 果樹研究所 National Institute of Fruit Tree Science

事務局：企画管理部 情報広報課 TEL 029-838-6454

住所：〒305-8605 茨城県つくば市藤本2-1 <http://fruit.naro.affrc.go.jp/>

