

改めて考える地域資源としてのマルメロ

青木 央、清水健志

Let's Think Again, Fruits Trees ‘Marumero’ as a Regional Resource

Hiroshi Aoki, Takeshi Shimizu

要 旨

マルメロに地域資源の可能性を探った。栽培、遺伝情報、加工、機能性といった視点から果樹マルメロを地域資源として考察してみると、マルメロの最大の特徴は「香り」と改めて認識できる。気候の温暖化の影響で、道南での栽培にはリンゴやナシと同様の管理が必要になってきている。栽培コストに見合う付加価値の獲得はマルメロの普及の要となるだろう。遺伝情報の解析も可能な状況にある中、品種改良の進む他の果実と同様に、マルメロが地理的表示（GI）保護制度の認定を受ける、などのブランドを獲得する果樹として育つためには、「食の研究」とともに「品種改良」の取り組みが必要かもしれない。

マルメロ (*Cydonia oblonga* Miller) はバラ目ナシ（亜）科マルメロ属の樹木で、カリン (*Chaenomeles sinesis* Koehne) と近縁種とされている¹⁾。マルメロには食品機能性が注目できるポリフェノールや薬用サポニン類などの有用成分が含まれており、香りが良く好ましいので、地域資源としての有効利用が見込まれている。ここでいう「地域資源」とは、地域活性化へのブランドを獲得できる特徴ある素材のことで、例えば市田柿（長野県）のように、地理的表示（GI）保護制度（農林水産省）²⁾の認定を獲得できた干し柿は、間違いなく地域資源といえる。市田柿は平成28年7月に保護制度13番目の登録となった干し柿であるが、北海道では、4番目に「夕張メロン」、最近では92番目となった「檜山海鼠（ヒヤマハイシェン）」（干しなまこ）がある。また、この保護制度とは別に、柑橘類の分野ではβ-クリプトキサンチンのような機能性成分に注目しつつ、不知火や清美を親に次の世代の「デコポン（熊本）」や「せとか（愛媛）」などの品種が誕生しており、地域間

競争のなかで、ブランドを獲得し地域資源として流通、市場の獲得に成功している。マルメロもこのような例にならって、地域資源としての立場を獲得できる果樹ではないかと思っている。1990年ころは、北海道でも「マルメロわいん」や「まるめジャム」などの商品名での販売実績がある。古くは欧州で黒死病（ペスト）や天然痘が流行したとき、16世紀に医師で占い師でもあるノストラダムスが、現在で言うところの栄養補助食品として考案した「パート・ド・フリュイ」はマルメロを使っている。現在でもスイーツの分野でときおりマルメロの活用を見ることができて、原材料名の表示に記載を見かける。

道南地域のマルメロは6月上旬に花を咲かせ、10～11月ころに黄色の実をつける。5枚の花弁を持つマルメロの花は、観賞用にも適した美しさをもつと思われる。その特徴は後述するが、近縁種のカリンは盆栽になって観賞用に栽培（専門的には矮性化）されるのであるから、同様にマルメロも観賞用の資質を活用する選択もあるだろう。

工業技術センターでは、1996 年から組織培養法の研究開発を始め、マルメロの冬芽の茎頂組織から反復培養によって多くの苗木に育てるクローン増殖法を用いて、2005 年の秋には初めての果実の収穫に成功している。この際、遺伝子組換え体や細胞融合による品種改良が考えられたが、遺伝子組換え体の流通に社会的コンセンサスが得られないことを理由に計画は実行していない。「桃栗 3 年柿 8 年」といわれるが、この研究でマルメロは定植後 5 年と分かった。そして、クローン木の経過観察はその後も続けた。この間、函館地域の気候が大きく変化した。具体的にはケッペンの



図1 マルメロへの新しい危害

上段：黒星病の発生(2018)、中段：チャドクガによる葉スキ食害(2016)、下段：根腐れ病も加担し、台風による親木 M3 の倒木(2018)



図2 モモシクイガの幼虫と食害

上段：10 月と 8 月(下)のモモシクイガの幼虫(1 目盛 1mm) 中段：モモシクイガの食害の痕跡、8 月に予見できる。下段：薬剤の散布が不適切であったときの食害、マルメロの特徴の丸味形がジャガイモのように変形する。

気候区分が亜寒帯湿潤気候 (Dfb) から温暖湿潤気候 (Cfa) に分類が変更になったとされている³⁾。近年のマルメロの開花時期は前述の 6 月上旬から 5 月下旬に 1～2 週間早くなったように思われるのは、この報告と直接的な関連があると感じる。また関連すると思われる身近な事項には、北海道への台風の上陸がある。2018 年の台風 21 号は、関西空港を水没、タンカーを連絡橋に激突させたが、勢力を維持したまま来道、工業技術センターの敷地にあったマルメロの親木を倒した。(この年は、その数日後、「平成 30 年北海道胆振東部地

震」が発生して北海道は大規模な停電を経験している。) 30 年以上前の昭和後期に著者がマルメロと出会った頃は、亜寒帯の気候的条件に恵まれた栽培好適種で、病虫害への対策も軽微との話であったはずだ。しかし現在は、カビ病の一種の黒星病やチャドクガの幼虫による食害(図 1) モモシクイガ(図 2) などへの危害対策を本格的に実施しないといけなくなった。すなわち、リンゴやナシなどと同様な管理作業が発生する、というコスト問題が顕在化してきているのである。薬剤使用による防除、駆除のほか、台風は果実に枝ズレというキズをつけるので、立木栽培から棚栽培への切り替えなども考えなくては行けなくなった。さらには、規格外品が大量に発生したときに、付加価値を付けた利用方法によりリスクを回避方法も検討する必要があるだろう。

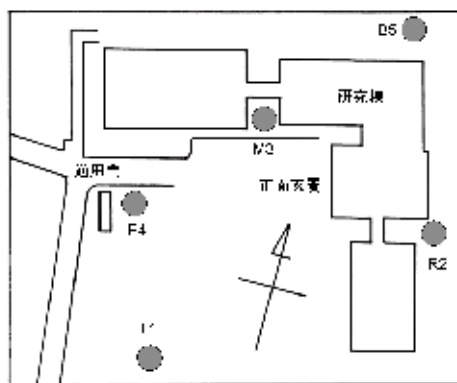


図 3 マルメロの定植地

工業技術センターの敷地の R2,E4,B5 が初代のクローン木、その親木は M3 である。親木は 2018 年に損失。期間を置いて T1 は確認試験の目的で定植した。

工業技術センターの敷地内には現在 4 本のクローン木が定植されている。果実の盗難を防止することなどを目的に分散植樹されているもので、地図を図 3 に示した。T1 のある定植地には 2001 年に R2、E4、B5 の 3 本の苗木が植えられており、その後、2011 年に現在の位置にそれぞれ移植している。現在の T1 は確認のため追試で植えた後代のクローン木になる。

近年は、食品原料の種類や産地を判別する方法に DNA 分析・解析技術が利用されている。クローン木のマルメロについても所内で DNA 分析技術の応用を試みている。この際、マルメロの全 DNA の抽出は果実から試行した。果皮の面積を定

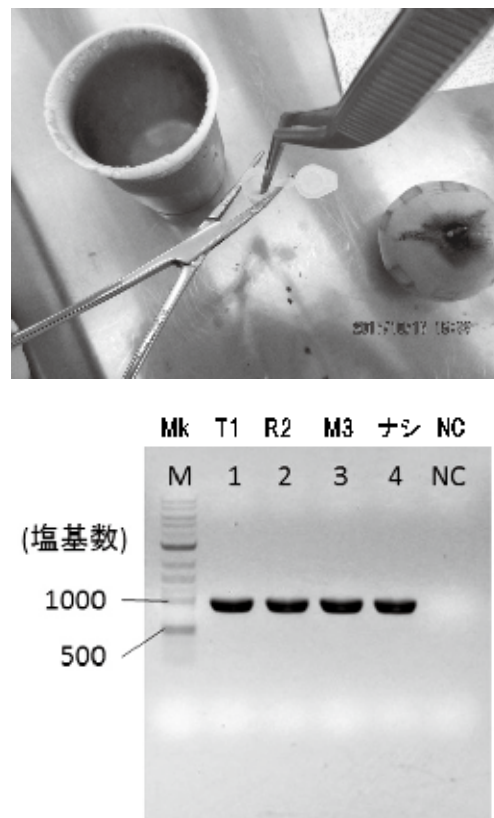


図 4 マルメロの凍結サンプルから葉緑体関連遺伝子 (*matK*) を PCR 増殖したときの電気泳動

果皮を定面積で切り出し、0.5% 塩水に浸漬した後、液体窒素で凍結、写真のようにピンセットの先で粉碎する。抽出精製キット DNeasy Plant mini Kit (QIAGEN 社) が適応できる。全 DNA 抽出後、PCR 法で注目する遺伝子 *matK* を増殖した。

量して切片を剥ぎ取り、滅菌 0.5% NaCl 溶液に浸してから、液体窒素を用いて凍結粉碎を行ない、DNeasy Plant mini Kit (QIAGEN 社) を用いて抽出を試みた。

植物試料では、ポリフェノール等による褐変反応が起こると PCR 増幅が阻害されることが知られている⁴⁾。マルメロは、ポリフェノールを多く含み、褐変しやすいことから、DNA 抽出時に褐変を抑制する必要があるため食塩を利用する。食塩水でリンゴの褐変が抑えられるのは食品加工でよく知られているが、今回、強い褐変を示すマルメロでも同様の効果があって、濃度は 0.5% 以上が必要と思われる。

親木の M3 からの果実と、そのクローン木の初代の R2、追加試験の T1 を標本とした全 DNA 抽出物から、葉緑体関連遺伝子 *matK* に着目して、遺伝子領域の一部を PCR 法により増幅を試みた

ところ、増幅への阻害は特に見られず良好な結果(図4)が得られた。植物からのDNA抽出では葉を用いることが多いが、マルメロの葉は柔毛が多く組織が堅いので破碎に適さないと判断の下、市場流通するマルメロの品種鑑別の遺伝子検査技術に繋げるため、果皮を試して図4の結果を得られたことは成果であった。

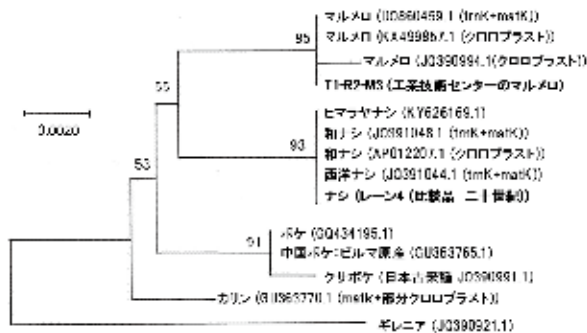


図5 葉緑体関連遺伝子(*matK*)でみるマルメロの系統樹
図は無根系統樹と呼ばれる表記方法。GeneBankにそれぞれ登録の配列のうち *matK* の部分を選択して解析している。

マルメロの *matK* 遺伝子の塩基配列を DNA シーケンサ (3130 GENETIC ANALYZER (Applied Biosystems 社)) で分析した結果、親木 (M3) とクローン木 (R2、T1) は同一であることを確認した。さらに2018年に公開された解析ソフトウェアである MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) X⁵⁾を用い、公共の塩基配列データベース (GeneBank) に登録されているマルメロ及び近縁種の *matK* 遺伝子との比較解析を行った。近隣結合法⁶⁾により作成した系統樹を図5に示した。近隣結合法はNJ法 (Neighbor-joining Method) とも呼ばれ、1987年に日本の斎藤成也と根井正利が発表した分子系統樹を作成する方法である。この葉緑体関連遺伝子 (*matK*) の系統解析では、マルメロはカリンよりもナシに近く、花卉の色と形がナシに似ているという観察所見と一致した。マルメロはカリンよりも意外に縁が遠いことが知れて、途中にボケが親戚に入る印象である。形態的に類似するナシ、カリン、ボケの仲間とマルメロをグループ仕分けできていることから、*matK* 遺伝子の塩基配列は、他の果実と同様にマルメロの識別にも利用できると考えられる。

また親木 (M3) とクローン木 (R2、T1) の遺伝的同一性は、それぞれの DNA の全塩基配列を調べることで確認できるが、解析に多くの時間を要する。そしてまた、マルメロの全ての遺伝子情報が解析されたとしても、近縁植物種に未開の部分が多いことから、今後の研究が望まれる。そこでこの度はDNA全体を対象にランダムに増幅させた DNA 断片のパターンを比較し、差異があるかを調べることができる RAPD-PCR 法⁷⁾を試みた。配列が異なる複数のプライマで比較した結果、親木とクローン木の DNA 増幅パターンは全て同じであることを確認した (図6)。マルメロクローン木の調製で「節部切片培養」という反復培養の過程があるが、後継代の T1 と先代の R2 との遺伝的な変化は避けられたものと考えている。

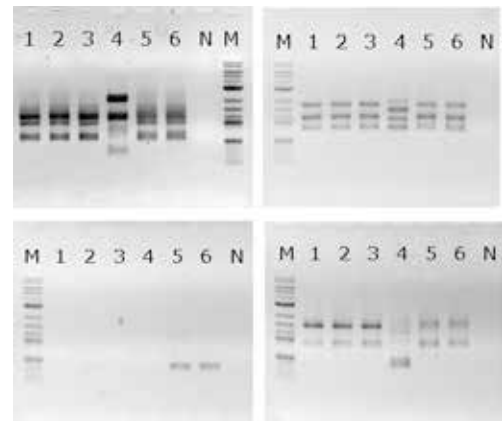


図6 RAPD-PCRによる増幅 DNA のパターン比較
泳動レーン 1:クローン木 T1、2:クローン木 R2、3:親木 M3、4: ナシ(二十世紀、市販品)、5,6: マルメロ(長野県産、市販品2種)、M: 標準用のマーカ、N: 盲検、それぞれ異なる泳動パターンを示すプライマでの検査で、1,2,3のマルメロのバンドパターンの同一性が判り易い。

地理的表示保護制度で登録となった市田柿は、間違いなく地域資源であるが、このような伝統ある加工品の特徴は、気候に恵まれ、栽培や加工に好適であることだけによるだろうか。例えば、マルメロを干し柿のつくりかたを参考に、皮むき後、塩水で褐変止めをして低温乾燥 (<15℃)で行っていても、柿のように甘みが増し、果肉の熟成のようなことは期待しがたいことが判る。この様子は図7に示した。そして、比較のために遊離アミノ酸分析した結果を図9に示した。遊離アミノ酸は定法に従い、0.02N 塩酸溶液で抽出、ろ過後、日立 amino SAAYA LA8080 (PF 法、110



図7 干しマルメロの加工

上段:干しマルメロの乾燥開始時、中段:熟成の様子、
下段:経年後の褐変

分)で分析した。この結果、市田柿は100g中にシトルリン29mgやGABA22mgを含有する高機能性食品と知れたが、干しマルメロのGABAは0.9mgと低く、市田柿のようなアミノ酸の特徴は見あたらないことが判る。この理由として、発生学的に見ると柿は真果であり、マルメロはナシと同じく花托が果実になる偽果のため(図8)と説明できる。ヘタの付き方が異なるから果実となる植物組織が異なるのである。伝統食品として長い歴史を経て生き残っている食材には、単に地理的、気候的に恵まれた特産品ということだけではなく、何か特徴的な秘密があるように思われる。

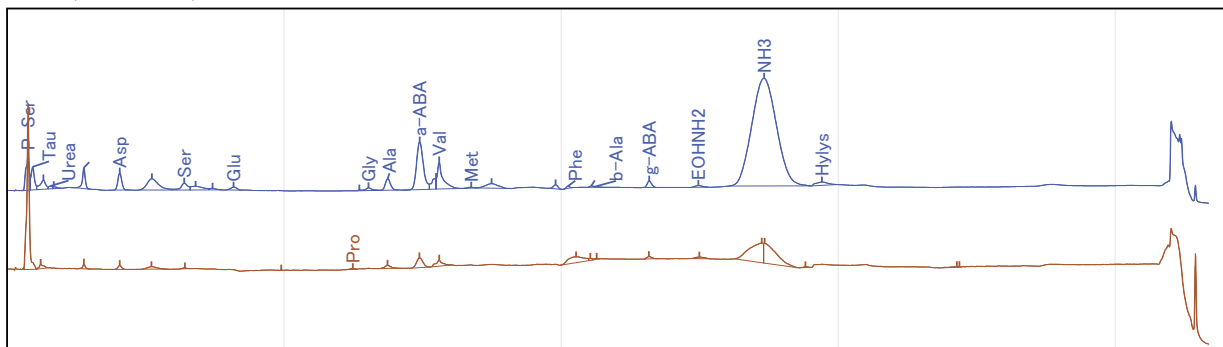
マルメロは果実の特徴として石細胞をナシより発達させている。この石細胞の多さからマルメロの果肉加工品は舌にザラツキを覚えるなど食感の低下を招く。図10に石細胞の観察像を示した。顕微鏡観察における切片は、干しマルメロからパラフィン包埋により回転式マイクロトームで得た。顕微ATR法(LUMOS(Bruker社))により赤外分光分析を行うと、石細胞の主成分はセルロースでカルシウムのような無機物の塩ではないことが判る(図11)。そして、この赤外分光分析の結果、 1735cm^{-1} 近傍にセルロースには分析されないピークが観察される特徴が判った。酸性多糖類に染色性があるアルシアン青酢酸溶液(Alcian Blue 8GX, CAS33864-99-2)には非染色性を示した。



図8 マルメロの花と偽果の特徴を示す果実

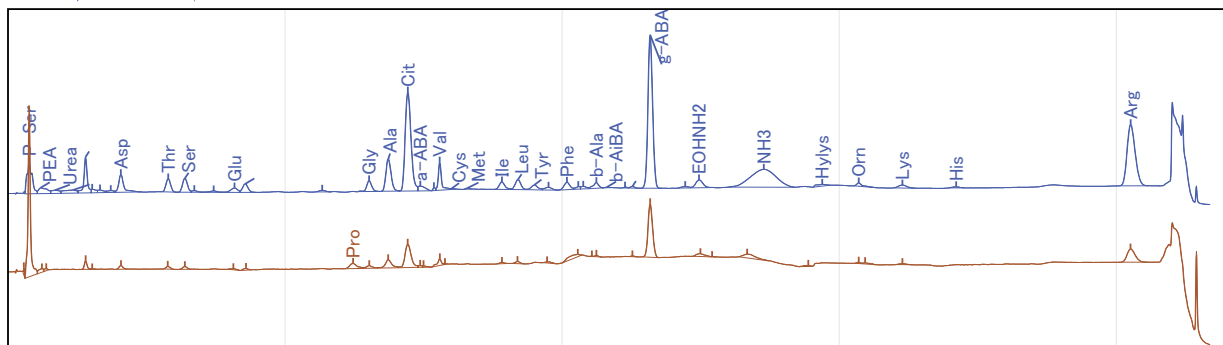
マルメロの収穫が落果や食害により被害を受けた場合、リスクヘッジの観点から高度利用の加工原料としての活用方法があるとよい。その中で注目した成分にマルメロのシードガムがある。シードガムとは種子の周りにある粘性成分のことである。シードガムは食物繊維の一種であり、そのための基礎的な機能性を持つと思わ

VWD1E,VIS 1 VWD1F,VIS 2



時間 [min]

VWD1E,VIS 1 VWD1F,VIS 2



時間 [min]

図9 干しマルメロと市田柿の遊離アミノ酸分析の比較例

上段:干しマルメロ、下段:市田柿(長野県産)、市田柿は100g中に Cit:シトルリン 29mg、g-ABA:GABA(γ-アミノ酪酸)22mg、そして Arg:アルギニン28mgを含むが、干しマルメロの GABA は0.9mgと少なく、アミノ酸バランスの違いが判る。

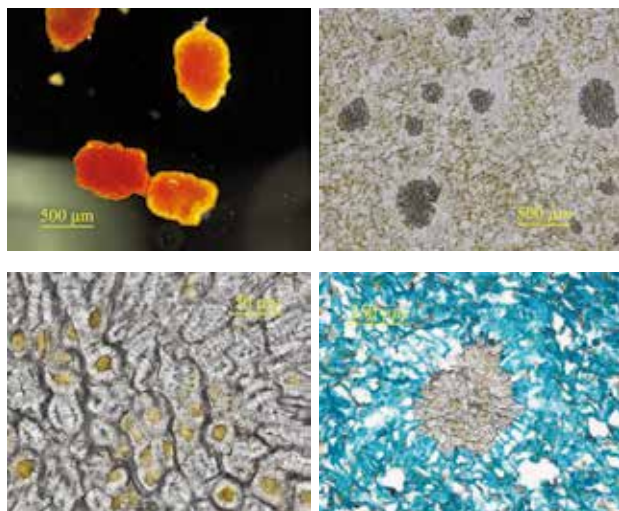


図10 マルメロの石細胞の観察

左上:分離された状態 右上:果肉中の石細胞 左下:細胞の内部観察像 右下:アルシアンブルーに非染色の特徴を示した。

れるが、コンブのアルギン酸やフコイダンのように構成糖の種類によっては特徴的な機能性を備えることが期待できる。図12に示したがマルメロ種子の周囲にある粘性成分は、20%エタノール溶液で抽出するとゲル化し、ナイロンネッ

トで絞って種子を分離できる。これを遠心分離、透析により精製し凍結乾燥後に、赤外分光分析(ATR法、Frontier Universal ATR (Perkin Elmer社))、ガスクロマトグラフ分析(メタノリシス分解、TMS 化法、GC:HP5890 (Hewlett Packard 社))⁸⁾で成分分析した。赤外分光分析の結果からは、 3351cm^{-1} に丘陵ピークと 1050cm^{-1} に最大ピークがあるので炭水化物の典型的な特徴を持ち、 1600cm^{-1} にピークがあるので酸性糖を含む成分であることがわかる。(図13)そして、GC分析の結果(図14)、主成分のピークはキシロースで

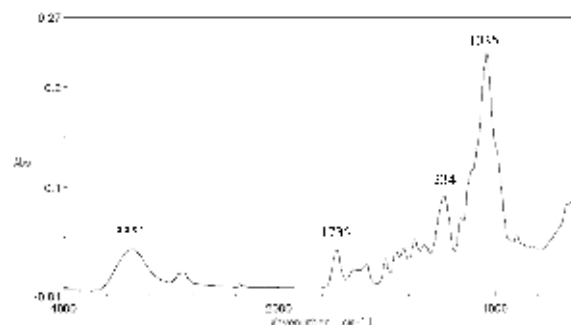


図11 マルメロ石細胞の顕微 ATR 赤外分光分析

1735cm^{-1} の吸収スペクトルに特徴がある。(Abs 表示)



図 12 マルメロシードガム

上段: 種子の周りにある白い粘着物がシードガムである。下段: 20%エタノール溶液中でゲル化する。その後、ナイロンネットで絞り取る。

あることから、マルメロシードガムは、 β -グルカンの一種のキシログルカンと知れた。このマルメロシードガムは、その他にグルコース、ガラクトースさらに微量な成分としてマンノース、アラビノース、グルクロン酸、ガラクトツロン酸を含むと思われる。キシログルカンは植物一般に存在が認められる成分で、商業的には増粘多糖類としてタマリンドガムの流通が知られる。

以上、改めて、栽培、遺伝情報、加工、機能性といった視点から、このマルメロの地域資源としての資質について考察してきた。本稿で注目

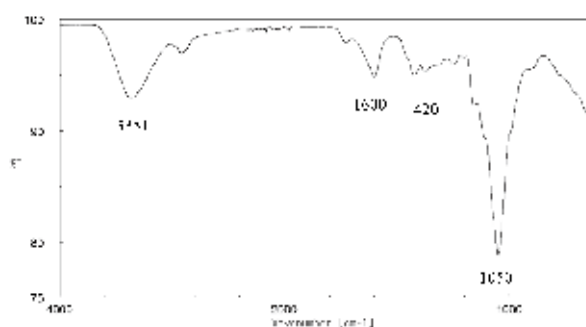


図 13 マルメロシードガムの赤外分光分析 (%T 表示)

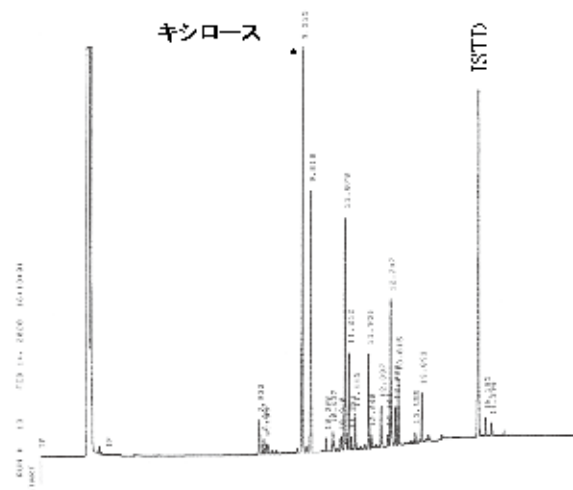


図 14 マルメロシードガムの GC 分析

カラム: J&W DB-1, 30mx0.25mmID (0.25um), FID 検出, 昇温条件: 140°C(2min)-8°C/min-240°C(5min), 分析時間 19.5min/検体, ISTD: 内部標準物質(イノシトール)

したようにマルメロは、果肉に石細胞を発達させた理由や種子をシードガムにより手厚く保護した理由などを探ることで、地域資源としての新たな魅力が発見されるかもしれない。マルメロにはエステル系の特徴的な香りがあり、他の果実に無い最も大きな魅力が備わっている。しかしながら、リンゴ、ミカン、ナシなどの主な果物は地域間の競争があって優良品種の育成が進められている。このような市場の下で、マルメロが地理的表示 (GI) 保護制度の認定を受けるなどのブランドを獲得する資質を持つ果樹として育つためには、さらに「食の研究」とともに協調して「品種改良」の取り組みが必要かもしれない。

参考文献

- 1) 松尾孝嶺監修: 植物遺伝資源集成、講談社サイエンティフィク (東京) (3) (1989) 1150-1151
- 2) 農林水産省食料産業局知的財産課: 地理的表示 (GI) 保護制度
https://www.maff.go.jp/j/shokusan/gi_act/index.html (2020.6 accessed)
- 3) Wikipedia: <https://ja.wikipedia.org/wiki/函館市>, 2.2 気候 (2020.7 accessed)
- 4) 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機

- 構果樹研究所独立行法人種苗管理センター：
SSR マーカによるニホンナシの DNA 品種識別技術、農林水産省食料産業局知的財産課品種登録 HP
http://www.hinshu2.maff.go.jp/pvr/dna_manual/san10.pdf (2019.7 accessed)
- 5) Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C. and Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Mol. Biol. Evol.* 35, (2018) 1547-1549
- 6) Saitou N. and Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4, (1987) 406-425
- 7) Williams J. G., Kubelik A. R., Livak K. J., Rafalski J. A. and Tingey S. V.: DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.*, 18, (1990) 6531-6535
- 8) Chaplin F.M. and Kennedy F.J.: Carbohydrate analysis, PRACTICAL APPROACH SERIES, IRL Press Limited, (1986) 24-33