

バイオテクノロジーを利用した3倍体フキの育種

岩本 嗣

(平成22年1月25日受付)

要 約

フキはキク科の永年性草本植物で、主に葉柄を食材として用いている。我が国で最も広く栽培されている‘愛知早生フキ’は、栄養繁殖性の3倍体植物であり、大阪府下では、3種類のウイルスが蔓延し、生育障害を引き起こしていた。そこで、効率的なウイルスフリー株の増殖法として、頭花培養系を開発した。さらに、収量に関連したソマクローナル変異を誘導する培養系として、頭花培養系が有効であることを明らかにした。頭花培養系を利用したソマクローナル変異選抜法によって誘導された、最も収量の高い変異体は、オリジナル品種の129.8%の収量であった。この変異体は、‘大阪農技育成1号’の名称で、2002年に品種登録され、大阪府下では、多収性品種の‘大阪農技育成1号’が100%栽培されている。

新大農研報, 62(2):41-48, 2010

キーワード：ウイルスフリー、ソマクローナル変異、頭花培養、フキ

1. はじめに

大阪は難波津とよばれ、淀川と大和川が合流する所に位置し、古来より水運に恵まれてきた。そのため、国内はもとより中国大陸、朝鮮半島からの船が行き交い、日本の玄関口として大きな役割を担い、流通・外交・交通・交易の拠点として栄華を極めてきた。古くは飛鳥から遷都した難波宮がおかれ、その後も藤原京、平城京、長岡京の副都としての機能を維持してきた。

江戸時代になると、全国の藩が堂島や中之島付近に蔵屋敷を構え、米相場の中心として栄え、天保年間(1830-1834)には、125もの蔵屋敷があったと伝えられている。これらの蔵屋敷の名残は、阿波座、土佐堀、信濃橋といった地名として残っている。そのころから、大阪は「天下の台所」と呼ばれるようになり、米相場の中心としてだけでなく、人や文化の交流拠点として大きな役割を担い、多様な食材が全国各地から集まり、「食い倒れ」の食文化が育まれてきた。また、淀川と大和川が運んだ肥沃な土壌や豊富な水資源は、野菜の栽培に好適で、大阪の気候と風土に適合した野菜が、独自の分化をとげながら品種となり今日に至っている。

たとえば、小さいが味の良い勝間南瓜、深い紅色で色麗しく正月用に欠かせない金時人参、きめこまやかで甘みのある田辺大根、歯切れ良く漬物に適する玉造黒門越瓜と毛馬胡瓜、源八ものよばれる芽じそ、天満菜ともよばれ煮物や漬物に適する大阪白菜、野沢菜や広島菜のルーツといわれる天王寺蕪などがあり、これら「なにわの伝統野菜」から、大阪に定着した野菜の多様性がうかがわれる。その中で、フキも古くから大阪に定着した伝統野菜のひとつである。

フキ (*Petasites japonicus*) は北海道から九州まで広く自生する多年生のキク科植物(北村, 1977; Takagi, 1994)で、アシタバ (*Angelica keisukei*)、ウド (*Aralia cordata*)、セリ (*Oenanthe javanica*)、ミツバ (*Cryptotaenia japonica*) などとともに、今日では数少ない我が国原産の野菜である。フキの食用の歴史は古く、平城宮から出土した長屋王家木簡に「山背菌進 蔞六 東知佐四東」(図1)との記載が最古の記録である(奈

良国立文化財研究所, 1993)。天武天皇の孫にあたる長屋王(684-729)は、御園(菜園)でフキを作らせ、皇宮まで木簡(荷札)を付けて運ばせていた。以来、独特な香りとほろ苦い食味や長く伸びる特性から、祝い事に欠かせない食材として尊ばれ、正月や雛祭りにはフキを味わい、家族の成長を祈願する風習がある。また、早春にいち早く清々しい姿をみせるため、春の訪れを伝える野菜として珍重されてきた。元禄時代の農業全書に、「市町近きところは、是を売りて利潤多き物なり。わづかのせばき畠にても、他の菜のおよぶことあらず」とあり、昔から有利な野菜として販売されてきたことがうかがえる。

フキには2倍体と3倍体があるが、主要な栽培品種の‘愛知早生フキ’と‘水フキ’は3倍体品種とされてきた(今津と藤下, 1962; Takagi, 1994)。これまで、4倍体の個体は確認されて



図1. 平城宮から出土した長屋王家木簡(奈良国立文化財研究所蔵)。「山背菌進 蔞六 東知佐四東」と記載。

おらず、4倍体と2倍体間の交雑種とは考えにくい。また、フキ属は北半球の温帯に20種ほど分布し(北村, 1977)、地中海沿岸原産の‘ニオイカントウ (*P. fragrans*)’が、昭和の初期に園芸植物として渡来(北村, 1977)しているが、我が国に自生するフキ属はフキ1種しかなく、種間交雑によるものとも考えにくい。今津と藤下(1962)の調査によると、3倍体は低緯度地方ほど増える傾向があり、南九州では特に高い頻度で分布していた。低緯度では冬季の気温がフキにとって高すぎるため、非減数性の配偶子が生じ、さらに正常配偶子との受精によって3倍体植物が出現したと考察している。‘愛知早生フキ’や‘水フキ’の育成経過は不明であるが、3倍体のフキは萌芽が早く、草勢が強く、高温や乾燥ストレスに強い特性を持つため(今津と藤下, 1962)、自然淘汰や人為的に淘汰された3倍体植物の中から、栽培特性に優れた‘愛知早生フキ’や‘水フキ’が選抜育成されたと推測される。

大阪府におけるフキの栽培歴は古く、室町時代(1336-1573)にさかのぼるが、戦災によって多くの記録が焼失し、現有する作付け記録によると、1911年には大阪市内を中心に17.2ha、1915年には27.5haの面積で栽培されていたとされる。現在の主産地である大阪府南部の泉州地域では、1910年代に‘河内フキ(水フキ)’を木島村(現:貝塚市)に導入したのが始まりで、現在栽培されている品種の‘愛知早生フキ’は、1926年頃に愛知県から木島村に導入されたものである(増井, 1984; 田中, 1993)。その後、1940年頃までは門外不出とされ、一部の生産者に栽培が限定されていたが、収益性の利点から徐々に広がっていった(田中, 1993)。近畿農政局大阪統計事務所所発刊の「大阪の園芸」によると、1960年代から1973年までは、全国一の生産量を誇っていた。その後、宅地化や生産者の高齢化、需要の低迷などにより、生産量は徐々に低下していったが、愛知県、群馬県、徳島県とともに四大産地の一角を占めていた。また、柔らかさとみずみずしさで定評があり、‘大阪フキ’のブランドで高値で取引され、11月から6月までの長期出荷により、高収益を上げていた。

ところが1980年頃から、泉州各地で生産性や品質の低下が認められ、10a当たりの収量も低下し、1985年に16.06t得られていた収量が、10年後の1995年には、13.78tまで激減し、「いいフキが作れなくなったので、フキづくりをやめたい。」との声があちこちで聞かれるようになっていた。生産現場では、生

産意欲の低下による生産者戸数と作付面積の減少といった悪循環に陥り、わずか10年間で作付面積は1/4の25.8%に、収穫量は22.2%まで激減し、産地存亡の危機を迎えていた。

ところで、‘愛知早生フキ’が導入されて以来、80年以上栽培が続けられてきた。その間、現地では生産者レベルで、地下茎の選抜や交換を行い、生産性の維持を図ってきたが、施設栽培の導入により、生産圃場が固定し、長年にわたる連作によって、株の老化が進んでいることが明らかとなった。また、アブラムシ伝搬と地下茎の株分けにより、ウイルスの蔓延が生じており、フキモザイクウイルス(BuMV)、キュウリモザイクウイルス(CMV)、アラビシモザイクウイルス(ArMV)に重複感染していた。そのため、萌芽後間もない時期にウイルスによる明瞭なモザイク症状(図2-A)を呈し、生産性や品質の低下(図2-B)が、年々深刻な問題となっていた。

栄養繁殖性野菜のウイルス病防除には、ウイルスフリー株の配布による種苗の更新が有効で、イチゴ(藤本ら, 1987; 庄子, 1990)をはじめ多くの栄養繁殖性野菜で実用化が図られている。フキのウイルスフリー化の研究は、茎頂培養(松原と益田, 1980; 森下と山田, 1979)やカルス培養(森下と山田, 1979; 森下ら, 1980; 矢部ら, 1986)が報告されているが、茎頂組織は雑菌による汚染率が高い(松原と益田, 1980; 森下と山田, 1979; 村上ら, 1988)欠点があり、また、カルス培養ではウイルスフリー化するには長期間の継代培養が必要(矢部ら, 1986)なことから、茎葉再生率の低下や再生植物体に形質変異が生じる(森下と山田, 1981)といった問題があった。そのため、生産現場からは、対策法の確立ならびに産地を維持するための新品種育成の要望が上げられていた。

2. 頭花培養によるフキウイルスフリー株の大量増殖

松原と田村(1976)は、広島、石川、千葉の各県の栽培ほ場から採集したフキの調査を行い、84%からCMVが、77%からBuMVが分離され、その多くはCMVとBuMVに重複感染していた。また、ArMVとアルファルファモザイクウイルス(AIMV)もそれぞれ35%と12%分離され、ウイルスフリーの株は見当たらなかったと報告している。中曾根(私信)は大阪府におけるフキのウイルス病発生調査を行い、CMV60%、

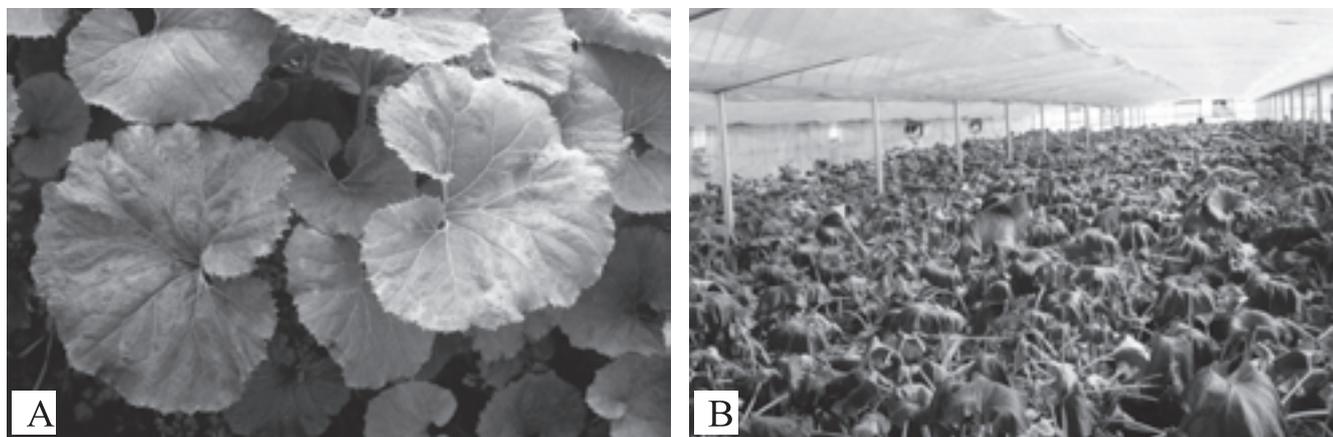


図2. ウイルスによるフキの被害。(A) BuMVとCMVの重複感染による典型的なモザイク病徴。(B) BuMVとCMVの重複感染による萎凋症状。

ArMV80%、BuMVは100%の株から分離され、3種類同時に分離された株は50%、2種類のウイルスに重複感染した株は90%に達し、ウイルスに感染していない株はなかったと報告している。

これまで、ウイルスフリー株を育成する目的で、茎頂培養が行われてきたが、地下茎や地際に茎頂部があるため、雑菌の発生が高い(松原と益田、1980; 森下と山田、1979; 村上ら、1988)ことが報告されている。森下と山田(1979)によると放線菌の1種が70-87%と高率に発生し、生き残った茎頂の生育も遅く、シュートを再生するのに最も早いもので34日、遅い個体では10ヶ月要すると報告している。松原と益田(1980)、松本ら(2002)の報告によると雑菌の汚染を免れた組織も強い殺菌の影響で褐変するものが多く、また生物検定と電子顕微鏡観察の結果から、茎頂培養によるウイルスフリー化率は極めて低く(松本ら、2002)、茎頂培養には残された問題点も少なくない。一方、森下ら(1980)や矢部ら(1986)は1年中採取可能で、雑菌の発生が少ない葉柄や葉身を外植体として用い、いったんカルスを形成し、そのカルスから植物体を再生させる手法を報告している。ところが、カルス培養ではArMVの除去が困難なことやBuMVにおいてもウイルスフリー化するには1年以上の長期間の継代培養(60-80日ごとに5回継代培養)が必要(矢部ら、1986)なことから、茎葉再生率の低下や再生植物体に形質変異が生じる(森下と山田、1981)という問題がある。

そこで、カルスを經由せずに、ウイルスフリー株を効率的に作出することを目的として、花芽分化初期の未熟な花蕾の中から、0.2-0.3mmの頭花組織(図3-A)を摘出して培養する頭花培養系(図3-B)を開発した。頭花培養系は、茎頂培養より植物体再生が早く、再生率が高い(岩本と嘉儀、1995)。また、生長点の摘出のように熟練を必要とせず、容易に無菌の頭花を摘出できるため、コンタミネーションが少なく、確実にウイルスフリー化できる培養法であり、兵庫県津名郡一宮町(現:淡路市)のウイルスフリー苗育成にも利用されている(松本ら、2002)。さらに増殖効率を高める目的で、0.01mg l⁻¹ NAAと3.0mg l⁻¹ BAを組合せて添加したMS液体培地(Murashige and Skoog, 1962)に、頭花から再生したシュートを入れて振とう培養する腋芽増殖系(図3-C)を開発した。この増殖系により、腋芽が増殖を繰り返して、8週間で80.9倍に増殖させることに成功した(岩本と嘉儀、1995)。フキは地下茎の株分けによって繁殖する植物であるが、地下茎の増殖率が低いことが栽培状の問題となっており、ウイルスフリー苗を現地に供給する上で、効果的な増殖法を開発することができたといえる。

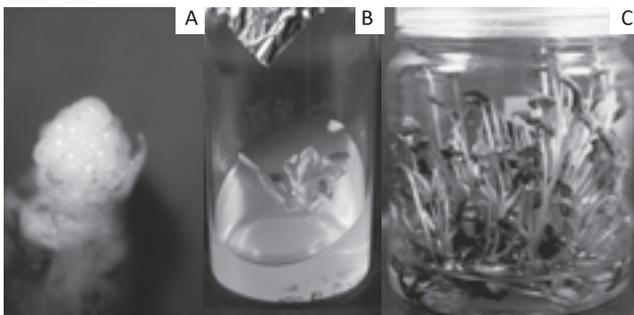


図3. 頭花培養によるフキの増殖。

(A) 花芽分化初期の未熟な頭花。(B) 培養70日後の頭花からの不定芽形成。(C) 腋芽増殖によるフキの大量増殖。

3. 在来系統の収集とウイルスフリー株を利用した優良系統の選定

木島村(現:貝塚市)のフキ栽培農家であった田中利兵衛氏と田中権一氏は、1926年に愛知県を視察した際に、トロ箱(魚を入れる木箱)1箱の地下茎を持ち帰った。このフキは、当時大阪で栽培されていた‘河内フキ(水フキ)’より萌芽が早く、葉柄の伸長も優れて収量が増加することから評判となり、その後、泉州全域に広がっていった。これが‘愛知早生フキ’大阪在来系統である(田中、1993)。

一方、1959年の伊勢湾台風による、愛知県のフキ産地の被害は甚大で、塩害によって作付けが大幅に減少した(石黒、1981)。その時、被害を耳にした木島の生産者は、トラック数十台分の地下茎を運び、昔の恩に報いたという(田中、1993)。その後、大阪から里帰りしたフキは、出来がすこぶる良いとの評判が広まり、その後も愛知県への導入が続き、被害の少なかった地域まで置き換わっていった(石黒、1981)。さらに、定植後に余った地下茎は、冷蔵会社を通じて北海道から九州まで販売されて行き、四大産地の一つである徳島や中規模産地の兵庫(津名郡一宮町;現:淡路市)、福岡など、数多くの産地形成にも貢献している。

このように、木島村に導入された系統が、大阪の泉州全域に広がり、その後、全国に広がっていったという歴史的背景、また現地では、生産者間で地下茎の選抜や交換を行ってきたことから、フキは系統選抜が進んだ野菜で、系統間差は小さく、ウイルスフリー化すれば、ほぼ同じとの考え方が当時一般的であった。しかし、これまでフキの系統間差については、十分な検討が行われていなかった。さらに、大阪在来の‘愛知早生フキ’は、全てウイルスに感染しており、ウイルス感染の影響を除いた系統間差は調査されていなかった。そこで、在来系統の収集と比較栽培、さらにウイルスフリー株を用いた比較栽培を行い、育種素材となる優良系統の選定を実施した。

JA大阪泉州フキ生産出荷部会の協力を得て、大阪在来の20系統を収集し、予備調査により5系統に絞り込んだ。これらA、B、C、D、Eの5系統の地下茎を泉南市のビニルハウス内に定植し、ハウス抑制栽培作型の慣行法で栽培した。さらに、5系統のウイルスフリー苗由来の地下茎を養生・調整し、同様に比較栽培した。

その結果、在来5系統の総収量は、A系統が17.4kg m⁻²で最も高く、B系統、C系統、E系統の順に低くなり、D系統は10.5kg m⁻²で最も低く、A系統とD系統の間には、1.66倍の収量差が認められた。また、A系統は他の4系統に対して有意に収量が高く、D系統は他の4系統に対して有意に収量が低い結果となった(岩本、1999)。続いて、ウイルスフリー苗を栽培して得られた地下茎を用いて、系統間差を調べたところ、ウイルスフリー化により、全ての系統の収量は増加し、系統間差は小さくなった。しかし、ウイルスフリー株を用いて比較した場合においても、A系統が18.3kg m⁻²で最も収量が高く、B系統、C系統、E系統の順に低くなり、D系統は14.9kg m⁻²で、A系統とD系統の間には、1.23倍の有意な収量差が生じていた(岩本、1999)。

このように、在来の優良5系統とそのウイルスフリー株を用いた収量試験において、系統間の収量差の傾向が一致した点やウイルスフリー株を用いた結果が、ウイルス感染や株の老化などの影響を除き、系統そのものの遺伝的特性を表していると考えられることから、大阪府内で栽培されているフキには、収量

性の異なる遺伝的な差が生じていることが明らかとなった。すなわち、フキは自然界において、芽条変異が生じやすい植物であり、生産者による独自の選抜と相まって、知らず知らずのうちに、系統間差が拡大していったと推測された。そこで、A系統を有望な育種素材として選定し、ソマクローナル変異選抜による品種育成を試みた。

4. フキの育種におけるソマクローナル変異選抜法の問題点

植物は、挿し木、株分け、小芋などの方法で、栄養繁殖を行うことができ、自然界のごく普通の営みとしてクローンが生み出されている。先代の研究者らは、この能力を巧みに利用し、植物の細胞やプロトプラストを無菌条件下で分離、培養し、完全な植物体まで再生することに成功してきた(Nagata and Takebe, 1971)。研究の当初は、再生した植物体は皆、遺伝的に均一なクローンと考え、クローン増殖の研究が盛んに行われたが、実際には様々な形質変異が生じることも明らかとなり(Heinz and Mee, 1971)、変異を積極的に育種に活用する研究も進んでいった。

Carlson (1973) は、タバコの半数体植物のプロトプラスト培養培地に、野火病菌の毒素類似物質(メチオニンスルフォキシミン)を添加し、生き残ったプロトプラストから、野火病菌抵抗性のタバコを再生したと報告した。この先駆的な研究がきっかけとなり、病原菌の毒素や各種のストレスが細胞に与えられ、病害抵抗性や耐塩性などの細胞が多くの植物種で獲得された。しかし、耐性細胞から再生した植物体は耐性を示さないという例も相次ぎ、さらに、好ましくない変異の発生が増えることも明らかとなった。そのため、再生した植物体レベルの選抜に関心が向けられるようになっていった。即ち、細胞レベルでの選抜はあえて行わず、再生植物に生じる変異を目印に選抜する方法である(Larkin and Scowcroft, 1981)。この選抜法は、選抜する母数に限りがあるが、目的とする育種素材を確実に得ようとする方法で、ソマクローナル変異選抜法と呼ばれている。

フキのソマクローナル変異については、森下と山田(1981)によって詳細な研究が行われ、葉柄組織由来のカルスから再生した植物体の中に、葉柄長、葉幅、葉長、葉柄の毛茸量、葉柄色に関する形質変異が生じた個体が出現したと報告されている。また、培養系統間の変異の幅が大きく、その多くは在来系統より劣るが、収量、葉柄長、総葉柄数、葉柄色などの量的・質的形質に優れた優良系統(培養系統No.1)が見いだされ、ソマクローナル変異選抜法をフキの育種に利用できると述べている(森下と山田, 1981)。

その後、培養系統No.1を含む5系統が現地に導入され、現地適応性検定が行われたが、4系統では葉柄が赤く着色する赤フキの発生が3.5-6倍に増加し、在来系統より商品価値が下がっていた(森下, 1991)。一方、培養系統No.1は、赤フキの発生率が在来系統の半分以下で、収量も7.0%増収となり、大きな期待が寄せられたが、栽培条件によっては、葉柄に褐色小斑が生じ、秀品率が大幅に低下した(森下, 1991)。このような予期せぬ変異の出現が、現地適応性試験において明らかとなり、普及するまでには至らなかった。

著者は、上記の点を考慮に入れ、カルスを経ないで不定芽を形成する頭花培養系(岩本と嘉儀, 1995)をソマクローナル変異選抜に用いることにした。

5. 頭花培養系を利用したフキ多収性系統の効率的な選抜

‘愛知早生フキ’大阪在来系統の中から選抜したA系統(岩本, 1999)を育種母本に用いた。花芽分化初期の未熟な花蕾の中から0.2-0.4mmの頭花組織(図3-A)を摘出し、岩本と嘉儀(1995)の方法で培養した。収量性と相関の高い選抜項目を調べる目的で、培養期間中の4項目(培養開始後不定芽形成までに要する期間、培養開始後第3本葉が分化するまでの期間、3ヶ月培養後の葉数、3ヶ月培養後の最も長い本葉の葉柄長)を記録した。その後、順化・鉢上げを経て再生した個体は、地下茎を養生・調整後、ハウス抑制栽培の慣行法で栽培し、収量調査を行った。その結果、育種素材に用いた‘愛知早生フキ’大阪在来の優良系統であるA系統の収量は16.4kg m²であったが、頭花培養によって再生した個体の収量は、13.8kg m²から21.6kg m²まで大きくなればつきが認められた。そこで、調査した4項目と収量との相関を調べたところ、収量と不定芽形成までに要する期間($r = -0.492^c$)および収量と第3本葉が分化するまでの期間($r = -0.869^a$)との間に負の相関が認められた。一方、収量と3ヶ月培養後の葉数($r = 0.618^b$)および収量と3ヶ月培養後の最も長い本葉の葉柄長($r = 0.556^{bc}$)との間にも正の相関が認められたが、収量と第3本葉が分化するまでの期間との相関に比べると低い相関係数であった(Iwamoto *et al.*, 2007)。以上の結果から、培養期間中においては、第3本葉が分化するまでの期間が短い系統を、*in vitro*で1次選抜すると多収性系統を効率的に選抜できることが明らかとなった。

続いて、頭花培養期間中において、70日以内に第3本葉が分化した21系統を材料に用い、2次選抜を検討した。収量性と相関の高い選抜項目を調べる目的で、ガラス室内で3ヶ月育苗した苗の3項目(葉数、最も長い本葉の葉柄長、地下茎の生体重)を記録した。その後、順化・鉢上げを経て再生した個体は、地下茎を養生・調整後、ハウス抑制栽培の慣行法で栽培し、収量調査を行った。その結果、収量と葉数($r = 0.661^b$)および収量と最も長い本葉の葉柄長($r = 0.627^b$)との間に正の相関が認められたが、あまり高い相関ではなかった。一方、地下茎の生体重は96gから198gまで大きな差が認められたが、収量と地下茎の生体重との間には、正の相関が認められ、相関係数は、 $r = 0.923^a$ と極めて高い相関を示した(Iwamoto *et al.*, 2007)。

ソマクローナル変異法の利用は、栄養繁殖性作物の育種にとって有効な手段である(Heinz and Mee, 1971)。これまでに、イチゴ(Swarts *et al.*, 1981; Toyoda *et al.*, 1991; Takahashi *et al.*, 1992; Hammerschlag *et al.*, 2006)、ニンニク(Novak *et al.*, 1982)、トマト(Evans and Sharp, 1983; Barden *et al.*, 1986)、レタス(Engler and Grogan, 1984)、セロリー(Heath-Pagliuso *et al.*, 1988)、モモ(Hammerschlag, 1990)、バナナ(Cote *et al.*, 1993)、リンゴ(Donovan *et al.*, 1994)、メロン(Ezura *et al.*, 1995)、キュウリ(Burza and Malepszy, 1995; Filipecki *et al.*, 2005)など、多くの作物でソマクローナル変異体が得られている。

ソマクローナル変異選抜法を行う場合、変異出現頻度の高い培養系を用いることが多い(Ezura *et al.*, 1995)。しかし、フキの場合は、培養変異が起こりやすい植物で、変異の制御が難しい。そのため、カルス経由で再生した植物体には、好ましくない変異が多く出現し、カルス培養系は適した培養系ではなかった(森下, 1991)。そこで、カルスを経由しない方法として、花芽分化初期の花蕾の中から、0.2-0.4mmの頭花組織を摘出して培養する頭花培養系を開発した(岩本と嘉儀, 1995)。頭花培養系によって再生した植物体の収量における変異の幅は

1.57倍であり (Iwamoto *et al.*, 2007)、森下と山田 (1981) の 2.42倍より変異の幅は小さいが、78%の変異体が、育種母本の在来系統 A の収量を上回った。この結果は、変異出現率の高いカルス培養系より、ゆるやかな変異の生じる頭花培養系の方が、フキの育種に適していることを示唆している (Iwamoto, 2009)。

ところで、ほ場栽培にける葉数ならびに葉柄の長さは、収量に影響する重要な要因である。しかし、*in vitro* における選抜においては、収量と葉数ならびに収量と葉柄の長さの相関係数は、それぞれ 0.618^b と 0.556^{bc} で、高い相関は認められなかった。一方、収量と第3本葉が分化するまでの期間との間の相関係数は、-0.869^a と高い負の相関が認められ、第3本葉が分化するのが早い系統の選抜が、*in vitro* 選抜において有効であった (Iwamoto *et al.*, 2007)。加えて、70日以内に第3本葉が分化した1次選抜系統について、ガラス室内で育苗した苗の地下茎生体重と収量との相関を調べたところ、相関係数は 0.923^a まで上昇し (Iwamoto *et al.*, 2007)、1次選抜と2次選抜を組み合わせることにより、多収性系統を効率的に選抜できることが実証できた。

6. フキの新品種‘大阪農技育成1号’の育成経過と品種特性

生産現場において、現地適応性試験を実施したところ、標準的なフキ大阪在来系統の収量は 13.8kg m²、育種母本として選定した A 系統の収量は 16.4kg m² に対し、最も収量の高いソマクローナル変異体は、21.6kg m² に達した。また、この多収性変異体は、生育が旺盛で葉柄の緑色も鮮やかでみずみずしい特性を兼ね備えていたため、大阪府の奨励品種に指定された。ここで、育成経過と品種特性について紹介する。

6.1 育成経過

大阪府内で収集した 20 系統の‘愛知早生フキ’在来系統について、立毛品評会を実施して 5 系統に絞り込んだ。ハウス抑制栽培作型で優良 5 系統の生産力検定を行い、収量と品質に優れた在来優良系統の A 系統を選抜し、育種母本に選定した。次に、A 系統の頭花組織を培養し、再分化した培養植物の第3本葉が 70 日までに生じた個体を *in vitro* で 1 次選抜し、その後、ガラス室内で育苗した苗の地下茎の生体重の重い個体を 2 次選



図4. ハウス抑制栽培慣行法で実施した現地適応性検定。

抜した。選抜した系統は、地下茎の養生・調整後に、ハウス抑制栽培作型で生産力検定を行い、収量と品質の確認を行った。さらに、野菜品種特性分類調査基準に従い、特性調査と現地適応性検定を実施し (図4)、目標とする特性を有しているのを確認して育成を終了した (Iwamoto and Nakasone, 2007)。

6.2 品種特性の概要

‘大阪農技育成1号’の萌芽数は 5.7 個で‘愛知早生フキ’より 1.1 個、‘青軸水フキ’より 3.3 個多い。生育は旺盛で、葉柄の伸びが早く、第5葉出葉期の最大葉の葉柄長は 71.0cm で‘愛知早生フキ’より 10.7cm、‘青軸水フキ’より 35.3cm 長く、葉柄中位の太さは 11.5mm で‘愛知早生フキ’より 1.0mm、‘青軸水フキ’より 5.4mm 太い。節当たりの出葉数は 5.8 枚で‘愛知早生フキ’より 0.7 枚、‘青軸水フキ’より 1.7 枚多い (Iwamoto and Nakasone, 2007)。

ハウス抑制栽培作型での収量は 10a 当たり 20.89 t で‘愛知早生フキ’に対して 29.8%の増収となる。また、葉柄の緑色は鮮やかで冴えがあり、赤色の着色は少なく、秀品率は 5.8% 向上し、秀品収量は 38.6% の増収となる (Iwamoto and Nakasone, 2007)。

‘愛知早生フキ’では、年に 2 - 3 回収穫されるが、3 回目になると地下茎の勢いが悪くなり、赤くて短いフキ (図5) が増える。一方、‘大阪農技育成1号’の地下茎の張りは旺盛で、3 回目の収穫時においても、緑色が鮮やかな長いフキ (図5) が収穫できるだけでなく、4 回目の収穫も可能である。また、葉柄の水分含量が高く、柔らかくてみずみずしく、あくも少ない (Iwamoto, 2009)。



図5. 6月収穫における‘大阪農技育成1号’ (左) と‘愛知早生フキ’在来系統 (右) の生育比較

7. まとめ

本研究で育成したソマクローナル変異体は、生育が旺盛で収量が多く、葉柄の緑色が鮮やかでみずみずしい特性を有し、生産現場における実証試験においても高い実用性が確認できたため、1999年9月13日に「のびすぎでんねん」(仮称)の名称で農林水産省に品種登録出願し、2002年9月30日に「大阪農技育成1号」の名称で農林水産省に品種登録(第10632号)された。また、「大阪農技育成1号」は、大阪府優良健全種苗供給事業により、府内のフキ生産者に毎年原々種苗が配布されている。その結果、1998年産の大阪府中央卸売市場、大阪市中央卸売市場本場、大阪市中央卸売市場東部市場における大阪産のフキの取扱量は、3市場合計で580.2tであったが、「大阪農技育成1号」の普及とともに、2001年度産は643.3tまで増加した。また、2005年以降、大阪産のフキは100%新品種「大阪農技育成1号」に更新されている(Iwamoto, 2009)。加えて、「大阪農技育成1号」の普及が進むとともに、流通時の品質劣化が少なく、日持ちに優れた品種特性が脚光を浴びるようになった。この性質は食材としても好都合で、歯切れが良く、定番の煮炊きものが美味しくなるだけでなく、これまでは考えられなかったフキサラダやフキごはんなどの新しいメニューにも適応できることが明らかとなった(Iwamoto, 2009)。さらに、フキの葉身は堅くてえぐみがきつくと、ほとんど廃棄されてきたが、「大阪農技育成1号」の葉身は柔らかくてえぐみが少ない。さらに、緑色の濃い葉身は、クロロゲン酸、フキノール酸、3,5-ジカフェオイルキナ酸、3,4,5-トリカフェオイルキナ酸などの生理活性を有するフェノール成分を豊富に含み(Watanabe *et al.*, 2007)、筋は柔らかくて新鮮な大根の葉の食感に似ており、煮炊き物や炒め物の素材としても高い評価を得ている(Iwamoto, 2009)。今後は、機能性食品素材としての利用が、大いに期待される。

フキは、今日では数少ない我が国原産の野菜であるが、主な栽培品種は3倍体で不稔とされ、ほとんど育種の手が加えられて来なかった。本研究により、頭花培養系を利用したソマクローナル変異選抜法が、フキの育種に有効であり、本選抜法を用いることにより、品質に優れた多収性品種を育成できることが実証された。「大阪農技育成1号」の成功事例は、他府県にも波及し、兵庫県津名郡一宮町(現:淡路市)におけるフキウイルスフリー株の育成手法として利用されているだけでなく、フキ最大の産地である愛知県においては、頭花培養系を用いた育種が2002年から取り組みられ、日持ち性の良いフキの新品種「愛経2号」の育成に成功している(大藪, 2009)。今後、本選抜法が広く利用され、優れた品種が育成されることを期待したい。

ところで、国内における主なフキの栽培品種は、「愛知早生フキ」と「水フキ」であるが、いずれも3倍体で不稔とされてきた(今津と藤下, 1962)。近年、フローサイトメトリーを用いることにより、群馬県在来の「水フキ」の中に、稔性を有する2倍体の系統が存在し(小泉ら, 2004)、同じく2倍体品種の「八頭」と交雑することにより、花穂(ふきのとう)収穫用品種「春いぶき」が育成されている(小泉と池田, 2006)。さらに、3倍体品種の「愛知早生フキ」と2倍体の群馬県在来の「水フキ」を交雑することにより、低率ながら発芽能を有する種子を獲得し、2倍体の個体と異数体の個体を得ている(小泉ら, 2008)。この中で、2倍体の個体は早生性で収穫期が早く、葉柄部のアントシアニンの発生が少なく、収量も多いことから、有望な系統とされている(小泉ら, 2008)。フキは我が国原産

の野菜であるが、育種に関する取り組みは遅れている。今後、交雑育種とバイオ育種を組み合わせることにより、需要の低迷を打破する新たな品種が育成されることを期待したい。

引用文献

- Barden, K. A., S. S. Smith and H. H. Murakishi. 1986. Regeneration and screening of tomato somaclones for resistance to tobacco mosaic virus. *Plant Sci.*, **45**: 209-213.
- Burza, W. and S. Malepszy. 1995. Direct plant regeneration from leaf explants in cucumber (*Cucumis sativus* L.) is free of stable genetic variation. *Plant Breed.*, **114**: 341-345.
- Carlson, P. S. 1973. Methionine sulfoximine-resistant mutants of tobacco. *Science*, **180**: 1366-1368.
- Cote, F. X., J. Sandoval, P. Marie and E. Auboiron. 1993. Variations in micropropagated bananas and plantains: literature survey. *Fruits*, **48**: 15-23.
- Donovan, A. M., R. Morgan, C. Valobra-Piagnani, M. S. Ridout, D. J. James and C. M. Garrett. 1994. Assessment of somaclonal variation in apple. I. Resistance to the fire blight pathogen *Erwinia amylovora*. *J. Hort. Sci.*, **69**: 105-113.
- Engler, D. E. and R. G. Grogan. 1984. Variation in lettuce plants regenerated from protoplasts. *J. Hered.*, **75**: 426-430.
- Evans, D. A. and W. R. Sharp. 1983. Single gene mutations in tomato plants regenerated from tissue culture. *Science*, **221**: 949-951.
- Ezura, H., H. Amagai, I. Kikuta, M. Kubota and K. Oosawa. 1995. Selection of somaclonal variants with low-temperature germinability in melon (*Cucumis melo* L.). *Plant Cell Rep.*, **14**: 684-688.
- Filipecki, M., A. Wisniewska, Z. Yin and S. Malepszy. 2005. The heritable changes in metabolic profiles of plants regenerants in different types of *in vitro* culture. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, **82**: 349-356.
- 藤本まなみ・浅尾浩史・小島博文・小玉孝司. 1987. 茎頂部の腋芽増殖によるイチゴの効率的大量増殖. *奈良農試研報*, **18**: 65-71.
- Hammerschlag, F. A. 1990. Resistance responses of plants regenerated from peach callus cultures to *Xanthomonas campestris* pv. *pruni*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **115**: 1034-1037.
- Hammerschlag, F. A., S. Garces, M. Koch-Dean, S. Ray, K. Lewers, J. Maas and B. J. Smith. 2006. *In vitro* response of strawberry cultivars and regenerants to *Colletorichum acutatum*. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, **84**: 255-261.
- Heath-Pagliuso, S., J. Pullman and L. Rappaport. 1988. Somaclonal variation in celery: Screening for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii*, race 2. *Theor. Appl. Genet.*, **76**: 976-981.
- Heinz, D. J. and G. W. P. Mee. 1971. Morphologic, cytogenetic, and enzymatic variation in *Saccharum* species hybrid clones derived from callus tissue. *Amer. J. Bot.*, **58**: 257-262.
- 今津 正・藤下典之. 1962. 栽培および野生フキの形態、生態

- ならびに細胞学的研究（第4報）染色体数について。園学雑, **31**:293-302.
- 石黒嘉門. 1981. フキ. pp. 294-297. 鈴木智博編著. 愛知県園芸発達史. 愛知県園芸発達史編さん会, 愛知.
- 岩本 嗣. 1999. *in vitro* 選抜を利用したフキの優良系統の育成. 近畿作育研究, **44**: 73-76.
- Iwamoto, Y. 2009. Breeding of Japanese butterbur (*Petasites japonicus*) by using flowerhead culture. *Plant Biotechnol.*, **26**: 189-196.
- 岩本 嗣・嘉儀 隆. 1995. 組織培養によるフキ (*Petasites japonicus* Fr. Schmidt) ウイルスフリー株の大量増殖. 園学雑, **64**: 103-111.
- Iwamoto, Y. and W. Nakasone. 2007. New Japanese butterbur variety with high yield and high quality, 'Osaka-Nougi-Ikusei No.1'. *Breed Sci.*, **57**: 249-251.
- Iwamoto, Y., W. Nakasone and H. Ezura. 2007. Efficient selection of a high-yield line by using somaclonal variation in Japanese butterbur (*Petasites japonicus*). *Plant Biotechnol.*, **24**: 289-293.
- 北村四郎. 1977. フキ. pp. 119-120. 週刊朝日百科世界の植物. 朝日新聞社, 東京.
- 小泉丈晴・池田 洋. 2006. フキ交雑種 'MY-20' の育成経過と特性. 園学研, **5**: 85-89.
- 小泉丈晴・池田 洋・工藤暢宏. 2004. フキ栽培種における2倍体の検索と花穂収穫用交雑実生の作出. 園学研, **3**: 261-265.
- 小泉丈晴・工藤暢宏・立石 亮・野村和成・井上弘明. 2008. フキ三倍体と二倍体品種の交雑による実生作出と得られた実生の特性. 園学研, **7**: 11-16.
- Larkin, P. J. and W. R. Scowcroft. 1981. Somaclonal variation—a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. *Theor. Appl. Genet.*, **60**: 197-214.
- 増井貞雄. 1984. 野菜の生産と栽培技術. 大阪府農業会議編. pp.308-310. 大阪府農業史. 大阪府, 大阪.
- 松原幸子・益田忠雄. 1980. フキのウイルスフリー株育成のための茎頂培養. 岡山大農学報, **56**:21-28.
- 松本純一・塩飽邦子・大谷良逸. 2002. 組織培養によるフキのウイルスフリー化. 兵庫農技研報 (農業), **50**: 1-4.
- 森下正博. 1991. フキの組織培養とその由来株の実用化に関する研究. 神戸大学学位論文, pp. 1-114.
- 森下正博・嘉儀 隆・山田貴義. 1980. フキの花茎および葉柄組織からのウイルスフリー株大量育成. 大阪農技セ研報, **17**:1-6.
- 森下正博・山田貴義. 1979. フキの茎頂およびカルスからの器官分化について. 近畿作育会報, **24**:25-30.
- 森下正博・山田貴義. 1981. フキの組織培養株の形質変異について. 大阪農技セ研報, **18**:9-18.
- 村上 章・田中隆荘・谷口研至. 1988. フキ (*Petasites japonicus*) の苗条原基法による大量クローン増殖. 育雑, **38** (別2) :86-87.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, **15**: 473-497.
- Nagata, T. and I. Takebe. 1971. Planting of isolated tobacco mesophyll protoplasts on agar medium. *Planta*, **99**: 12-20.
- 奈良国立文化財研究所. 1993. 出土木簡概報—長屋王家木簡四—. 平城宮発掘調査, **27**:5.
- Novak, F. J., L. Havel, and J. Dolezel. 1982. *In vitro* breeding system of *Allium*. In: Fujiwara A (ed) *Plant Tis. Cult.* Maruzen, Tokyo, pp 273-298.
- 大藪哲也. 2009. 日持ち性の良いフキ新品種「愛経2号」. 農耕と園芸, **64**: 54-56.
- 庄子孝一. 1990. フリー苗を使ったイチゴ栽培. バイオホルティ, **1**: 94-96.
- Swartz, H. J., G. J. Galletta and R. H. Zimmerman. 1981. Field performance and phenotypic stability of tissue-culture-propagated strawberries. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **106**: 667-673
- Takagi, H., 1994. Japanese Butterbur, Fuki. In: Konishi K, Iwahori S, Kitagawa H, Yakuwa T (eds) *Horticult. Jpn.* Asakura Publishing, Tokyo, pp 63-66
- Takahashi, H., T. Takai and T. Matsumoto. 1992. Resistant plants to *Alternaria alternata* strawberry pathotype selected from calliclones of strawberry cultivar Morioka-16 and their characteristics. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **61**: 323-329.
- 田中博一. 1993. ふるさときのしま探訪. 摂河泉文庫, 貝塚.
- 栃原比呂志・田村 実. 1976. フキのウイルス. 日植病報, **42**:533-539.
- Toyoda, H., K. Horikoshi K, Y. Yamano and S. Ouchi. 1991. Selection for *Fusarium* wilt disease resistance from regenerants derived from leaf callus of strawberry. *Plant Cell. Rep.*, **10**: 167-170.
- 矢部和則・桜井雍三・飯田孝則・鷺田純彦. 1986. 葉身及び葉柄培養によるフキ (*Petasites japonicus* Fr. Schmidt) 無病苗の作出. 愛知農総試研報, **18**:102-109.
- Watanabe, S., K. Hashimoto, H. Tazaki, Y. Iwamoto, N. Shinohara, K. Satoh and H. Sakagami. 2007. Radical scavenging activity and inhibition of macrophage NO production by fukinolic acid, a main phenolic constituent in Japanese butterbur (*Petasites japonicus*). *Food Sci. Technol. Res.*, **13**: 366-371.

Breeding of triploid Japanese butterbur by using biotechnology

Yuzuri IWAMOTO

(Received January 25, 2010)

Summary

Japanese butterbur (*Petasites japonicus*) is a perennial herbaceous plant belonging to the Compositae. The petioles are used mainly as a human food source, and 'Aichi-Wase-Fuki,' the most widely grown cultivar, is triploid and propagated vegetatively. Growth problems have been caused by three types of wide-spreading virus, arabis mosaic virus, butterbur mosaic virus and cucumber mosaic virus in Osaka Prefecture. To establish efficient mass propagation of virus-free plants, adventitious buds were regenerated directly from immature flowerheads of Japanese butterbur. Osaka native lines of Japanese butterbur were collected from the production field, and the highest yielding clonal line was selected by comparison cultivation using virus-free plants regenerated from the collections. To induce somaclonal variation related to plant yield, adventitious buds were regenerated directly from immature flowerheads of Japanese butterbur. The total yield of the highest yielding variant induced by somaclonal variation was 20.89 t/ha, which was 129.8% that of 'Aichi-Wase-Fuki'. Subsequently, the highest yielding variant was registered in 2002 as 'Osaka-Nougi-Ikusei No.1.' Currently, all farmers in Osaka Prefecture cultivate this high-yield cultivar 'Osaka-Nougi-Ikusei No.1.'

Bull.Facul.Agric.Niigata Univ., 62(2):41-48, 2010

Key words : virus-free, somaclonal variation, flowerhead culture, *Petasites japonicus*