

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月15日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21580028

研究課題名（和文） フキ葉身の栄養学的解析と育種的利用に関する研究

研究課題名（英文） Studies on the nutritional analysis and breeding utilization of the leaf of Japanese butterbur

研究代表者

岩本 嗣 (IWAMOTO YUZURI)

新潟大学・自然科学系・准教授

研究者番号：10333428

研究成果の概要（和文）：佐渡島に自生するフキの葉身に含まれる主要なフェノール成分は、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であった。65地点から採集したサンプルの含有量の差は、クロロゲン酸4.41倍、フキノール酸1.95倍、3,5-ジカフェオイルキナ酸4.65倍、3,4,5-トリカフェオイルキナ酸4.72倍であった。標高と雄株率、雄株率と3,5-ジカフェオイルキナ酸含有量との間に強い相関が認められた。

研究成果の概要（英文）：Major phenolic compounds contained in the leaf of wild Japanese butterbur collected on Sado island were chlorogenic acid, fukinolic acid, 3,5-dicaffeoylquinic acid, and 3,4,5-tricaffeoylquinic acid. The difference between the phenylpropanoid content of the leaf samples collected from 65 locations, chlorogenic acid was 4.41 times, fukinolic acid was 1.95 times, 3,5-dicaffeoylquinic acid was 4.65 times, and 3,4,5-tricaffeoylquinic acid was 4.72 times. A strong correlation was observed between the elevation of points collected samples and the percentage of male plants. A strong correlation was also observed between the percentage of male plants and the content of 3,5-dicaffeoylquinic acid

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学、園芸学・造園学

キーワード：野菜、フキ、栄養成分、育種

1. 研究開始当初の背景

フキ (*Petasites japonicus*) は、ウド、ミツバ、セリなどとともに、今日では数少ない日本原産の野菜である。食用の歴史は奈良時代にさかのぼり、和食には欠かせない食材である。ところが、食生活の洋風化にともない、下ごしらえを要し、調理に手間のかかるフキ、

ウド、サトイモ等の和食用食材は、若い世代に敬遠されている。さらに、生産者の高齢化や価格低迷により、生産現場も疲弊し、日本特有の風習や食文化が失われる危機に瀕している。このような中、近年の行き過ぎた食生活に警笛が鳴らされ、伝統野菜への回帰、食育等の運動が広がりつつある。また、野菜

や果物に含まれる成分は、生活習慣病の予防効果があるとの研究成果が報告され、野菜や果物の摂取によるガン発症リスクの疫学的調査の結果は、野菜や果物が人の健康に重要な役割を担うことを示唆している。加えて日本は世界屈指の長寿国であり、和食やその食材は世界から注目されている。一方、フキの形態、生態、細胞学的研究は、今津らによって1960年代に行われているが、成分に基づく分類の知見はない。

フキの食用以外の利用は、ヨーロッパで取り組まれている。バターバー（西洋フキ：*P. hybridus*）の地下茎は、疫病や熱、咳に効くハーブとして長年使用され、近年、根抽出エキスのアレルギー性鼻炎に対する症状改善効果が報告されている。また、地下茎に含まれる「ペタシン」は、マスト細胞からの脱顆粒抑制作用、毛細血管や気管支拡張作用、ロイコトリエン合成阻害作用が明らかになっている。一方、愛知県のオリザ油化は、フキ（*P. japonicus*）からエキスを抽出し、アレルギー症状を抑える素材開発を進めており、フキの生体調節機能が注目されている。このようにフキを見直す流れが生じつつあるが、摂取量の減少は依然として歯止めがかかっていない。このような社会的、学術的背景を考えると、フキの栄養成分含量や生体調節機能を明らかにし、魅力ある食材としてフキの評価を高める必要があると考える。

2. 研究の目的

フキは和食の食材として重要であり、また、山菜として採集され、葉柄部位は調理に用いられている。一方、葉身は下ごしらえの過程で廃棄され、食用に利用されない。本研究は、未利用資源であるフキの葉身部位に着目し、抗酸化、抗アレルギー活性の高いフェノール成分に関する育種を行う上での基礎知見を得ようとしたものである。すなわち、本州と地理的に隔離された佐渡島各地に自生するフキの地下茎を収集し、同一条件（新潟大学農学部附属フィールド科学教育研究センター新通ステーション圃場：標高 -1m）で栽培し、雌雄比、形態、フェノール成分に関する多様性を明らかにしようとするものである。さらに、収集した地点の環境要因と調査項目（雌雄比、形態、フェノール成分）との相関、調査項目間の相関を明らかにし、フェノール成分高含有系統の選抜育種の可能性を明らかにしようとする目的で実施した。

3. 研究の方法

(1) 佐渡島に自生するフキ地下茎の収集

佐渡島に自生するフキの生育環境が多様であることを考慮し、佐渡島北部の新潟大学農学部附属フィールド科学教育研究センター佐渡ステーション演習林（標高 274~807

m）、大佐渡スカイライン~金北山（標高 263~1,156m）、県道 81 号線（標高 8~889m）、石名和木林道（標高 39~828m）など、大佐渡を横断する林道を重点的に採集ポイントに設定した。さらに、佐渡島沿岸部と小佐渡に自生するフキ、水田の畦や民家の軒先で栽培されているフキを採集し、合計 65 地点からフキの地下茎を雄株と雌株に分けて採集した。採集した地下茎は、新潟市西区の新潟大学農学部附属フィールド科学教育研究センター新通ステーションの圃場に定植した。

(2) 雌雄比調査

65 地点の採集ポイントの内、100 花以上の群落が認められた 43 地点について雌雄比の調査を行った。無作為に 100 花を計測し、地点により 1~5 反復行い、雄花と雌花の割合を求め、雌雄比とした。また、収集した雄株と雌株の地下茎は、新潟市西区の新潟大学農学部附属フィールド科学教育研究センター新通ステーションの圃場に定植して 1 年以上栽培した後、雌雄の確認を行った。

(3) 形態調査

株当たりの葉数、葉身展開度、葉形、葉身の大きさ（葉身長・葉身幅）、葉縁の欠刻、葉身の SPAD 値、浪打、葉脈の太さ、葉柄中位の太さ、葉柄長、葉柄の毛茸量、葉柄中位の緑色度、葉柄中位のアントシアニン着色度などの形態調査を採集地で実施した。

収集した雄株と雌株の地下茎は、新潟市西区の新潟大学農学部附属フィールド科学教育研究センター新通ステーションの圃場に定植して 2 年間栽培した後、同様に形態調査を実施した。

(4) フェノール成分分析

標高差が大きく、また、標高以外の要因を除く目的で、大佐渡スカイライン~金北山のルートの標高の異なる 9 地点（標高 25m、280m、458m、605m、704m、809m、824m、1,002m、1,156m）から採集した 9 系統の雌株の地下茎を新潟市西区の新潟大学農学部附属フィールド科学教育研究センター新通ステーションの圃場で 2 年間栽培した後、植物体の葉身を供試材料とした。

葉身を採集後、直ちにフリーザーに入れて凍結し、順次凍結乾燥機を用いて乾燥処理した。その後、乳鉢と乳棒を用いて粉末を作成し、抽出までフリーザーで保存した。

葉身凍結乾燥粉末 50mg を測り取り、10ml の 60%メタノールを分注して抽出した。抽出処理後、12,000rpm、5 分間の遠心分離を行い、上澄を固相抽出用カラム Bond Elut C18 オクタデル（500mg/3ml 用、バリアン社製）で固相抽出したろ過液を HPLC 分析に供試した。島津製作所製の HPLC システム（ポンプ

LC-10ADvp、デガッサ DGU-12A、UV-Vis 検出器 SPD-10Avp、カラムオープン CTO-10Avp、インテグレータ C-R8A) を用い、検出波長は UV 254nm とした。分析カラムはダイソー株式会社製の SP-120-5-ODS-BP 6φ×250mm を用い、分析温度は 40℃ とした。移動相はアセトニトリルと水 (超純水) を 1:3 に混合し、0.1% のギ酸を加えた溶液を用い、流速 1ml/min. で分析した。なお、サンプルの分析については、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の標品をメタノールに溶解して 10、20、50、100、200、500ppm 溶液を作成し、検量線を作成した外部標準法によって定量分析を行った。

4. 研究成果

(1) 雌雄比

43 地点における雌雄比調査の結果、雄花率は採集地点により 0~99.2% まで大きなばらつきが認められた。採集した地域別に分類すると、沿岸部の雄花率は 0.0~38.0% と低く、9 地点中、0~20% が 5 地点、20~40% が 4 地点と雄花率が低く、雌花率が高い結果となった。一方、演習林とスカイライン~金北山の地域では、雄花率がそれぞれ 69.4~94.4% と 67.6~99.2% と高く、80~100% の雄花率を示す地点が多いことが明らかとなった。残りの 2 地点、石名和木林道と県道 81 号では、雄花率がそれぞれ 30.5~91.8% と 4.0~96.0% と低い地点から高い地点まで認められた。特に、県道 81 号沿線で採集した地点のばらつきは大きく、0~20% が 2 地点、20~40% が 3 地点、40~60% が 1 地点、60~80% が 4 地点、80~100% が 3 地点と、雌花率が高い地点から雄花率が高い地点まで万遍なく広がっていた (図 1)。

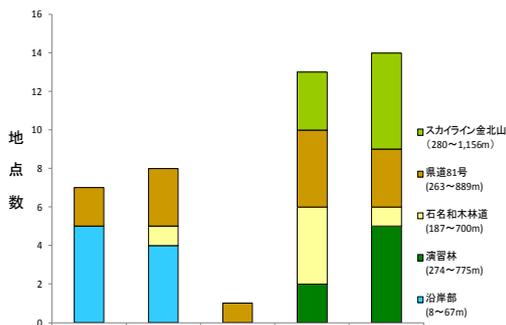


図 1 フキの雌雄比と採集地域との関係

以上の結果から、標高の低い沿岸部では、雄花率が低く、雌花率が高い。一方、中山間地では、雄花率が高い傾向が認められたため、佐渡島全土に自生するフキの雄花率と標高との関係を散布図にプロットし、対数近似曲線を求めた。その結果、雄花率と標高の間には、 $r=0.767$ の相関が認められ、標高がフキの雌雄比に影響を及ぼしていることが示

唆された。しかし、図 1 で示したように、石名和木林道と県道 81 号沿線で採集した地点の中には、標高が高い地点においても、雄花率が 40% 未満の地点が認められた。県道 81 号沿線では、その傾向が顕著であった。そこで、県道 81 号沿線で採集した地点のデータを除外したところ、雄花率と標高の間には、 $r=0.932$ の極めて高い相関が認められ (図 2)、標高が高くなるに従い、雄花率が高まることが強く示唆された。

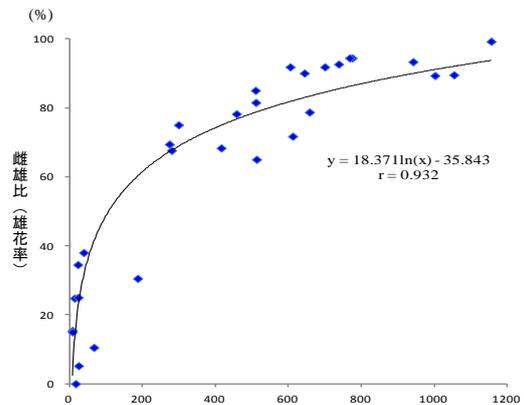


図 2 フキの雌雄比と標高との相関

なお、県道 81 号沿線には 3 倍体と思われる草丈の高いフキが多く認められた。県道 81 号は、眺望に優れた観光スポットであるドンデン山頂に続く国道であり、車の行き来の多い国道である。そのため、人によって 3 倍体のフキが持ち込まれて定着し、自生している可能性がある。3 倍体のフキは雌株のみであり、結果として、雄株率が低くなったことが考えられる。

(2) 形態特性

① 葉柄長と葉柄中位の太さの多様性

佐渡に自生する野生フキの葉柄長は、8.4cm から 69.3cm まで、8.4 倍の差が認められ、変異の幅が極めて大きく、多様性に富んでいた。また、葉柄中位の太さも 4.6mm から 11.6mm まで、2.52 倍の変異の幅が認められた。このことから、可食部である葉柄が太い系統や長い系統を選抜できる可能性が示唆された。しかし、葉柄長と葉柄中位の太さの間には相関が認められないことや 3 倍体の個体が含まれている可能性があり、倍数性の差によって多様性が広がっていることも考えられるので、今後、染色体数の観察やフローサイトメーターによる核 DNA 量を調査し、倍数性を明らかにする必要がある。

② 葉身長と葉身幅の相関

佐渡島に自生するフキ葉身の葉身長は 14.5cm から 42.0cm まで、2.90 倍の差が認められ、葉身幅は 9.0cm から 25.9cm まで、2.88 倍の差が認められ、多様性に富んでいること

が明らかになった（図3）。葉身長と葉身幅には相関が認められ、葉身が長いほど葉身幅が広い傾向が認められた。葉身長、葉身幅ともに小さい葉身を展開する系統から、葉身長、葉身幅ともに大きい葉身を展開する系統まで多様性に富んでいた。また、葉身幅が狭いが葉身長が長い細長い葉身の系統、やや幅広の葉身の系統も認められた。

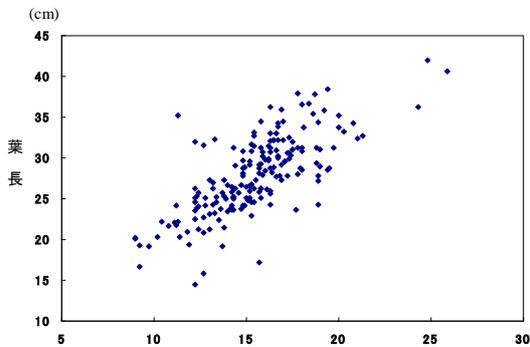


図3 フキの葉身長と葉身幅の多様性

葉形についても、倍数性の差によって多様性が広がっていることも考えられるので、今後、染色体数の観察やフローサイトメーターによる核DNA量を調査し、倍数性を明らかにする必要がある。

(3) フェノール成分

佐渡島に自生するフキを同一条件で栽培したにも関わらず、葉身の凍結乾燥粉末 1g 中に含まれるクロロゲン酸の含有量は、3.27~14.41mg、フキノール酸は 24.27~47.22mg、3,5-ジカフェオイルキナ酸は 30.16~140.28mg、3,4,5-トリカフェオイルキナ酸は 5.63~26.57mg と系統間で 1.95~4.72 倍の差が生じていた。また、4成分とも含有量が低い 17♀、フキノール酸、3,5-ジカフェオイルキナ酸の含有量が多く、クロロゲン酸と 3,4,5-トリカフェオイルキナ酸の少ない 78♀、クロロゲン酸、フキノール酸、3,5-ジカフェオイルキナ酸の含有量が多いが、3,4,5-トリカフェオイルキナ酸含有量が低い 20♀、フキノール酸、3,5-ジカフェオイルキナ酸の含有量が多く、特に 3,4,5-トリカフェオイルキナ酸の含有量が際だって多いが、クロロゲン酸の含有量が少ない 84♀など、成分構成に大きな差が認められた。

そこで、含有量と採集した標高との相関を調べたところ、クロロゲン酸と標高との間に相関は認められなかったが、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と標高との間に $r=0.412\sim0.776$ の相関が認められ、最も強い相関が認められた 3,5-ジカフェオイルキナ酸では、標高 70m 以下の地点で採集した系統の含有量 30.16mg/g に対し、標高 280m を超える地点で

採集した系統の含有量は 78.02~140.28 mg/g で、2.59~4.65 倍と大きな差が認められた。

さらに、3,5-ジカフェオイルキナ酸の含有量と雌雄比との相関を調べたところ、雄花率と含有量の間には $r=0.876$ （金北山山頂の系統のデータを除くと $r=0.9584$ ）の高い相関があり（図4）、雄花率が高い系統ほど 3,5-ジカフェオイルキナ酸の含有量が高く、その中でも、標高 1,156m の金北山山頂という厳しい環境で自生する系統は 140.28mg/g とずば抜けて高い含有量であった。

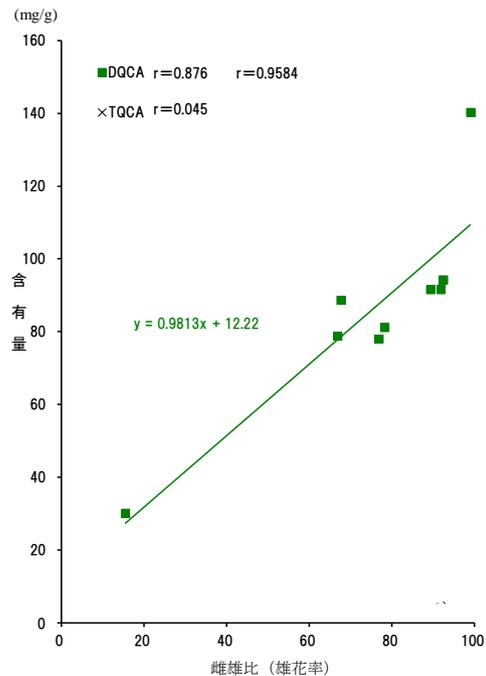


図4 3,5-ジカフェオイルキナ酸と含有量と雌雄比との相関

対照として、3倍体の栽培品種‘大阪農技育成1号’の葉身に含まれる4種類のフェノール成分の含有量を測定したところ、クロロゲン酸の含有量は 6.3~7.3mg/g、フキノール酸は 46.8~47.9mg/g、3,5-ジカフェオイルキナ酸は 41.6~44.8 mg/g、3,4,5-トリカフェオイルキナ酸は 16.2~18.4mg/g であった。以上の結果から、佐渡島に自生するフキ葉身に含まれるフェノール成分の含有量は、栽培品種に対し、フキノール酸は同程度であるが、クロロゲン酸は 1.97 倍、3,5-ジカフェオイルキナ酸 3.13 倍、3,4,5-トリカフェオイルキナ酸 1.44 倍の含有量の個体があることが明らかとなった。この含有量は、標高 -1m の地点で2年間栽培した植物体の葉身サンプルを用いた分析結果であり、厳しい環境で育ったフキの地下茎を掘り上げ、平地で栽培することにより、付加価値の高いフキの栽培が可能になることを示唆している。さらに、分析した成分含量を指標にして選抜を行えば、機能性を有するフェノール成分含有量の高い系統を育成できることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

- ① 岩本 嗣、バイオテクノロジーを利用した3倍体フキの育種、新潟大学農学部研究報告、査読無、62巻、2010、41-48
- ② Yuzuri Iwamoto、Breeding of Japanese butterbur (*Petasites japonicus*) by using flowerhead culture、Plant Biotechnology、査読有、26巻、2009、189-196

[学会発表] (計2件)

- ① 浅井 遥、坂牧光恵、岩本 嗣、高橋能彦、濱登尚徳、佐渡に自生するフキの多様性調査、日本農業教育学会、2011年9月11日、島根大学
- ② 坂牧光恵、岩本 嗣、高橋能彦、耕作放棄地から見た佐渡農業の実態調査、日本農業教育学会、2011年9月11日、島根大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩本 嗣 (IWAMOTO YUZURI)
新潟大学・自然科学系・准教授
研究者番号：10333428

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし