

原種フジバカマの茎頂培養によるウイルス除去と養液栽培システムの構築

京都府立桂高等学校 T A F S 第2研究群菊研究班

中村颯希 大垣璃空 大島悠暉 北尾佳水 中島蒼空

寺下 舞 森田羽音 宇野直道 石井聡馬

I 研究動機

フジバカマとは、キク科ヒヨドリバナ属に属し、8～10月に淡紅紫色の花を散房状に咲かせる多年草である。元号「令和」の基となった、万葉集巻五梅花歌三十二首並序の誌序に「蘭（あららぎ）」という名前でフジバカマが登場している。また、日本で唯一の渡り蝶であるアサギマダラが、その花を目当てにやってくることで有名である。

しかし、一般的に流通しているフジバカマは同じヒヨドリバナ属の近縁種と掛け合わせ品種改良されたものであるのに対し、野生種のフジバカマは、土地開発や、水路の改良などの影響で徐々に姿を減らしている。

現在フジバカマは、環境省のレッドデータブックで準絶滅危惧種に、京都府のレッドリストで絶滅寸前種に指定されている。1998年に京都市西京区大原野地区で発見されたフジバカマは地域団体「源氏藤袴会」様を中心に多くの地域住民の手によって長年にわたり守り継がれ、京都市内で「藤袴祭」を開催するなど保存と発信を継続して行われてきた。しかし、現在フジバカマには、ウイルスによるものとみられるモザイク病の症状が表れ、また、住宅地の一角で栽培が行われているため生育環境は芳しくなく、うどん粉病が蔓延している。また、土壌感染性の白絹病により、早急な土壌改善が求められている。

そこで本研究班では、茎頂培養に着目した。植物体の中で比較的ウイルスが少ない茎頂分裂組織のみを繰り返し培養することでフジバカマのウイルスフリー化と大量増殖を目指した。

また、栽培環境の改善を目的として、一般の方でも行っていただける養液栽培システムの構築を目指し活動を開始した。



第1図 草堂行願寺のフジバカマ



第2図 病斑のある葉



第3図 葉の縮れ

Ⅱ 茎頂培養によるウイルスフリー化と大量増殖

1 目的

1998年に京都市西京区大原野地区で発見されたフジバカマは地域住民の手によって長年保全が行われてきた。京都固有の品種を守るため、親株と同じ性質を受け継ぐことのできる挿し木法で増殖がおこなわれている。親株と同じ性質を受け継ぐことができる一方で、植物体内に存在するウイルスも同時に受け継いでしまう。現在保存されているフジバカマには、茎頂部の葉の縮れや、モザイク病の症状が表れており、生育状況も芳しくない。そのため、枯死する可能性も高く、植物体の保全を最優先で行う必要がある。また無菌苗を得ることができれば、大量増殖も可能である。

以上の事から、フジバカマのウイルスフリー苗と大量増殖の為の無菌苗作出を目的として活動を開始した。

2 方法

供試材料は、フジバカマの節を約4cmの大きさに切り取り、葉を切除後、70%エタノールで30秒殺菌を行った外植体を使用した。

培地は無機塩類濃度を半分に減らした Murashige & Skoog 培地(以下 1/2MS 培地)を使用し、ゲランガムを0.3%添加後、試験管に10mlずつ分注した。双眼実体顕微鏡を用いて側芽の茎頂分裂組織を約0.5mmで切り取り、1/2MS培地に置床後、温度23℃、24時間日長で生育を行った。

また、作出した茎頂培養由来の苗を用いてウイルス検定を行った。

供試材料として、ウイルス罹患疑いの元株と、茎頂培養由来の9株のフジバカマの葉をそれぞれ0.1g使用した。ウイルスはキク科植物に感染するキク茎えそウイルス(CSNV)を選び、AGPC法でRNAを抽出後、RT-PCRを行い、電気泳動で確認した。

3 結果と考察

208個の側芽から茎頂を摘出し、9株の茎頂培養由来の植物体の作出に成功した。

また、元株と得られた茎頂由来株をウイルス検定したところ発色は確認できなかった。元株からも発色が確認できなかったことから、キク茎えそウイルス(CSNV)にはもともと罹患していない可能性がある。

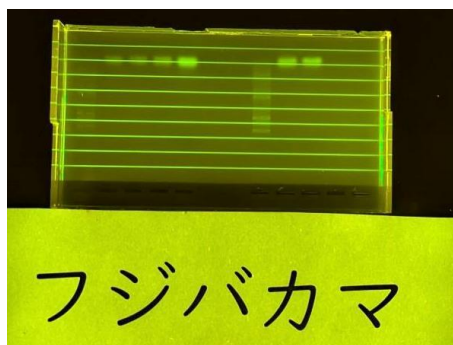
茎頂培養由来株の培養中、または順化後外環境で生育させても、葉の縮れは見られなかったため、茎頂培



第4図 実験の様子



第5図 RT-PCR



第6図 電気泳動

養をすることによるウイルスの除去や、植物の活性化が行われた可能性があると考えられる。



第 8 図 葉の縮れが見られる元株



第 7 図 健全な茎頂部(茎頂培養株)

4 今後の展望

今回のウイルス検定は、RNAの抽出やRT-PCR等、不慣れな実験操作が多く、実験手順の不備等の可能性も考えられるため、今後実験回数を増やして行う必要がある。また、キク科に感染する他のウイルスについても順次検定を行い、葉の縮れや枯れの原因の特定を進める。

Ⅲ 湛液型循環式水耕システム構築による栽培環境の改善

1 目的

地域団体「源氏藤袴会」様は、数百鉢苗をボランティアで繁殖させておられる。これらは挿し木による栄養繁殖であるが、栽培環境が住宅地であり、風通しが悪いため、うどん粉病の蔓延やアブラムシなど病虫害が多く発生している。また、土壌感染性の白絹病の発生も見られ、早急な栽培環境の改善が求められている。そこで、栽培に適切なスペースが十分に取れ、連作障害を防ぐことができる養液栽培に着目した。

湛液型循環式水耕システムは連作障害の原因の一つである土壌細菌の感染経路をなくすことができ、少ないスペースで十分な生育を得ることができることから、一般市民の方にも利用していただく事が可能である。そのため、フジバカマの生育不良を改善するために簡易的なシステム構築と、養液内の無機塩類濃度を決定するため活動を開始した。

2 方法

供試材料は茎頂培養由来の培養苗から、生育状況が近いもの3株を3組選び、園試処方を1/4倍に薄めた培養液で、温度23℃、湿度50%、明期16時間で1週間順化を行ったものを使用した。

養液栽培システムは、ホームセンターなどで販売されている熱帯魚飼育用の水槽用ろ過ポンプ装置を塩素殺菌し使用した。園試処方のストック液を作成し、園試処方4/4倍区、2/4倍区、1/4倍区の三処理区を設定した。



第 9 図 順化に適した培養苗

人工気象器内で順化時と同様の生育条件下で2ヶ月間栽培を行い、1週間ごとに生育調査を行った。調査内容は、草丈、節数、側枝数、茎径、葉身長、EC値、pHとした。また、培養液の減少量も調査し、減少分を随時補充した。

3 結果および考察

各試験区の定植0日目のデータと定植28日目のデータを基に、各項目の生育量を比較した結果、有意な差は見られなかった。(第1表)。

草丈伸長の推移を見てみると、すべての処理区で同程度の生育が確認できた(第11図)。また、どの処理区でも生育における有意な差が見られなかったため今回行った濃度よりも濃い、または薄い場合でも十分生育する可能性がある。

各試験区のpHを比較したところ、4週目には4/4倍区では4.47、2/4倍区では7.7、1/4倍区では8.03となり、4/4倍区は酸性に偏り、1/4倍区は弱アルカリ性に傾く結果となった。

EC値では4/4倍区は3.9ds/m、2/4倍区では1.57ds/m、1/4倍区では0.74ds/mとなった(第12図)。このことから、4/4倍区では養液内の無機塩類濃度が高すぎるため、吸収しきれなかった硝酸体窒素の影響で酸性に偏ったのではないかと考えられた。また、1/4倍区をみると、硝酸体窒素をほとんど吸収し、相対的にアンモニア態窒素が残ったことで、養液がアルカリ性に偏ってしまったことが考えられる。なお、0週目から1週目までは順化の為、園試処方1/4倍溶液を使用している。

各試験区のEC値を比較したところ、4/4倍区は大きく上がったが、1/4倍区に大きな変化は見られなかった(第12図参照)。一般的にキク科植物のEC値は1.8が適正とされるため、EC値でみると2/4倍区の養液濃度が適正だと考えられる。3週目の値が全体的に高いのは、計測時に溶液を十分攪拌できていないことが原因と考えられるため、今後実験の手順を全体で共有し、正確な値が出せるよう心掛ける。

4 今後の展望

この結果から、フジバカマの最適な窒素量は2/4倍区が適切であると考えられる。今後は園試処方2/4倍濃度を基準として、さらに細かい範囲での生育調査と、市販の肥料を用いた養液栽培を行いたいと考えている。

現在、開花条件を探索し、順化後2か月で開花に成功している。これらの結果を基に販売に向けた生産体系を作っていきたい。



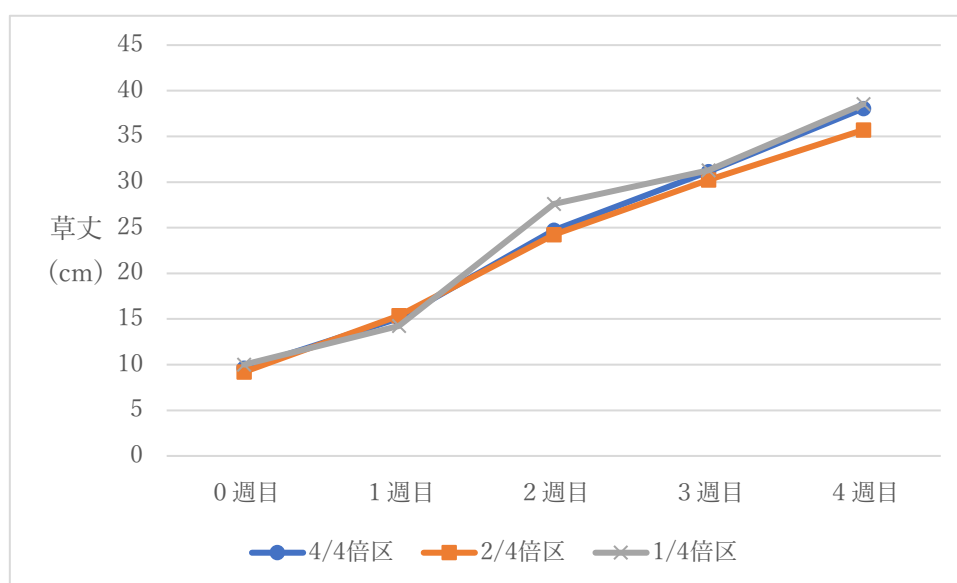
第10 短日処理後開花の様子

第 1 表 各処理区における項目ごとの増加量の平均

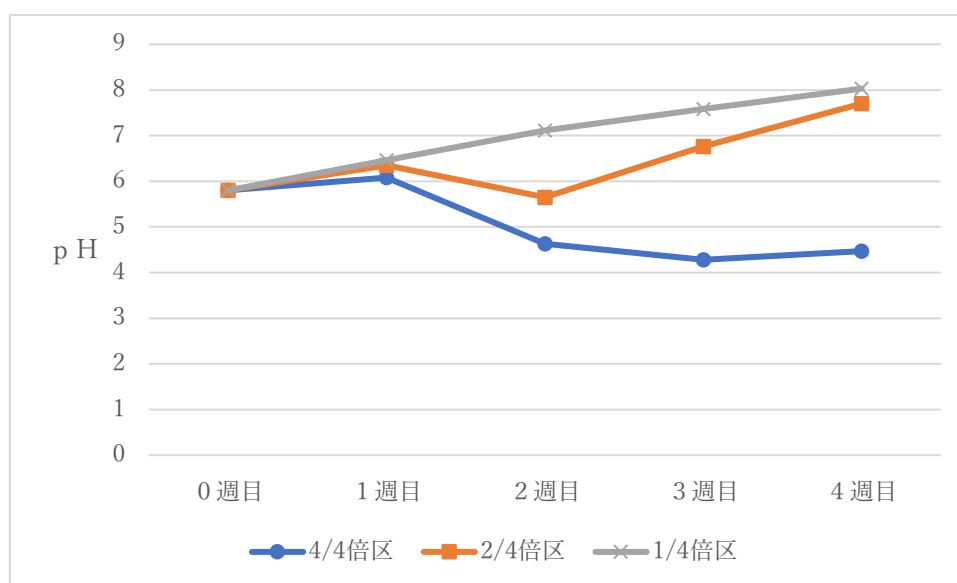
処理区	草丈 (c m)	節数 (個)	側枝数 (本)	茎径 (m m)	葉身長 (c m)
4/4 倍区	28.5 ¹ ±1.4a ²	5.3±0.5a	21.3±2.6a	5.0±0.9a	4.3±1.4a
2/4 倍区	26.5±2.3a	6.0±0.0a	18.0±0.8a	4.5±1.0a	4.7±0.5a
1/4 倍区	28.5±3.3a	6.7±0.5a	20.0±0.8a	4.0±0.3a	3.0±1.0a

¹ 平均±標準偏差 (n = 3)

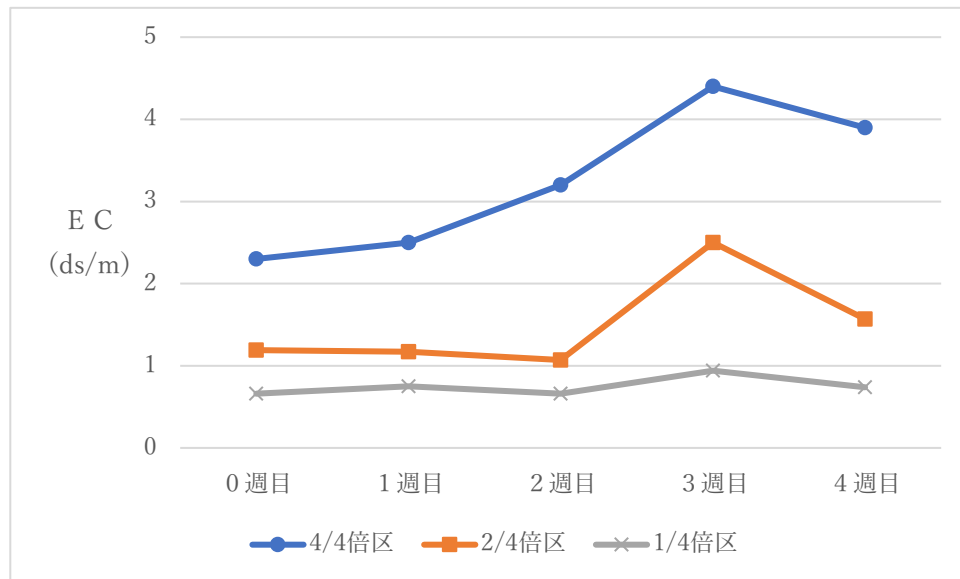
²tukey の HSD により異なる文字間に 5 % レベルで有意差あり



第 11 図 各処理区における草丈伸長の推移



第 12 図 pH の推移



第 13 図 EC 値の推移

IV 周知活動

1 蜜蝋和ろうそくの開発

フジバカマを保全するためには、多くの方に現状を知ってもらう必要があり、単純な広報活動のみでなく、何か家庭で利用できるものを実際に手に取って利用してもらう事が重要だと考えた。

本研究班では、長年養蜂活動を行っており、管理の際に出る大量の蜜蝋は廃棄している。また、フジバカマに関しても実験を行う際に使用したフジバカマの葉や茎も廃棄している。これら廃棄されるものを利用し、フジバカマ最大の特徴である芳香成分クマリンに着目して、商品開発を目指した。

①和蠟燭製造会社有限会社松本商店様との連携

令和6年8月5日（月）に、兵庫県西宮市にある和蠟燭製造販売「有限会社松本商店」様を訪問し、蜜蝋を使用した和蠟燭の製作を行った。

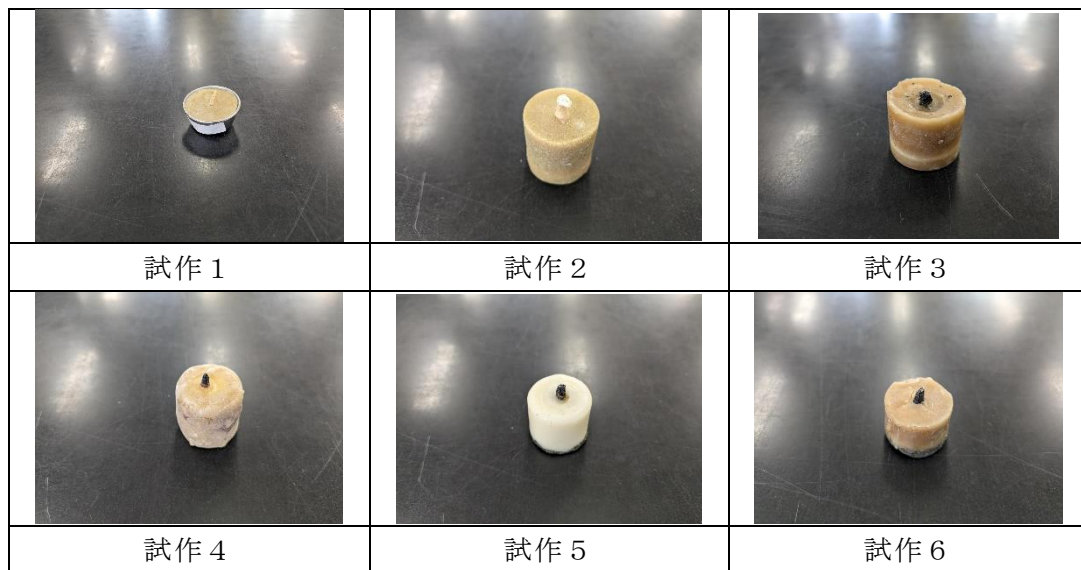
蜜蝋とフジバカマ配合方法や、香りを生かすための製作方法をアドバイスしていただき、多くの試作品が誕生した。



第 14 図 松本商店での試作

②製品の開発

フジバカマの香りを生かすために、フジバカマをすりつぶし蜜蝋に混ぜてみたが、蜜蝋の香りが強すぎて、フジバカマの芳香成分が負けてしまう事がわかった。これらを解決するため、蠟燭の芯をソイワックスで浸したフジバカマとして、蠟燭はソイワックスと蜜蝋を一対一で混ぜたものが、香りを最大限生かせるものとして完成した（第 15 図）。



③藤袴祭でのアンケート調査

令和6年10月に革堂行願寺を中心として開かれた藤袴祭で、試作した和蠟燭の展示とアンケート調査を行った。火をつけた際にフジバカマの香りを感じるかの項目では、約半数の方があまりそう思わない、そう思わないという回答結果となった。

しかし、来場いただいた方から、火をつけた時に香りは感じられないが、火を灯す前だと香りを感じられるなどの意見をいただいた。このことから、火をつけて香りをさせるのではなくおいて楽しんでいただける和蠟燭を目指すこととした。

④世界文化遺産天龍寺で蜜蠟和蠟燭の奉納

作成した和蠟燭を世界文化遺産の天龍寺にもっていったところ、その発想は素晴らしいと高評価をいただいた。

しかし、和蠟燭の燃焼時間や炎の大きさなどの指摘をいただき、和蠟燭の実用化にはまだまだ壁があると感じた。



第 15 図 点灯の様子



第 16 図 藤袴祭蠟燭アンケート



第 17 図 天龍寺での説明

⑤京都環境フェスティバル 2025 での和蠟燭づくり体験

令和7年2月1日(土)におこなわれた京都環境フェスティバル 2025 では、ブース出展を行い、小学生からご年配の方まで幅広い方々に和蠟燭の体験を行ってもらい高評価をいただくことができた。

実際に製作体験をしながら、会話や質問を重ねることでよりフジバカマの重要性や希少性を理解してもらうことができた。しかし、普段使いや火を使うことでの不安の声も多かったので、今後さらに開発を続けていく。



第 19 図 和蠟燭づくり体験

2 フジバカマ培養体験会

令和6年8月9日(金)、フジバカマのことをより多くの方に知ってもらうため、様々な世代を対象にした培養体験会を実施した。体験会は、小学生からご年配の方まで合計15名の方が参加し、様々な世代の方にお越しいただいた。参加者からは、「茎頂培養による形質の変異」「培養で生育した藤袴は正常に生育するのか」等の質問があり、関心の高さがうかがえた。



第 20 図 参加者への説明

3 各種発表会での発表

①研究交流会

場 所：広島県立西条農業高等学校

日 時：令和6年8月23日

対象者：西条農業高校生物工学科の生徒5名

内 容：交換交流会を行った。全く違う視点からのアドバイスをいただき、今後の研究につながる足がかりとなった。



第 21 図 研究交流

②フジバカマサミットでの動画発表

場 所：梅小路公園 朱雀の庭

日 時：(令和6年10月4日)

対象者：源氏藤袴会を中心としたボランティア

内 容：藤袴の保全を行う団体が集まるサミットに、研究内容をまとめた動画で発表を行った。



第 22 図 動画発表

③京都府立大学公開講座でのポスター発表

場 所：京都府立大学 稲盛記念会館

日 時：令和6年10月27日

対象者：公開講座参加者

内 容：京都府立大学、市民団体「都の福菊」、
本校の三者で開催した、公開講座でポ
スター発表を行った。



第 23 図 ポスター発表

④ 校内発表会

場 所：京都府立桂高等学校体育館

日 時：令和7年1月9日、令和7年2月6日

対象者：校内生徒1、2年生全員

内 容：2024年度に行った研究をまとめたスライドやポスターを用いた発表およ
び質疑応答を行った。

V 最後に

今後は作成したウイルスフリー苗をさらに増殖させ地元団体の方にお返しするとともに、フジバカマの養液栽培に最適な無機塩類濃度を決定するために養液の濃度をさらに細かい範囲に設定し養液栽培を行っていききたい。

また、商品開発のための試作を続け、今年10月に開催される藤袴祭で一般販売を行えるようにしたいと考えている。

今後は後輩たちを交えさらなる研究活動に取り組み、フジバカマを救うために活動を行っていききたい。

VI 謝辞

本研究は京都府立大学伊達修一先生、源氏藤袴会代表馬場備子様、有限会社松本商店松本恭和様、(公財)京都市都市緑化協会佐藤正吾様はじめ、多くの関係者にご協力をいただいております。また、バイテク情報普及会の支援を受け研究活動を行っています。ここに感謝いたします。

VII 参考文献等

農研機構 RNA抽出

https://www.naro.affrc.go.jp/org/karc/VM/RNA_chou_chu.html

農研機構 RT-PCR

<https://www.naro.affrc.go.jp/org/karc/VM/RT-PCR.html>

養液栽培のすべて 植物工場をささえる基本技術：(社)日本施設園芸協会／日本溶液栽培研究会共編

養液栽培実用ハンドブック：日本溶液栽培研究会編