

ドリン、プソイドエフェドリンの含量変化

使用したサンプル *E. distacya* は 1999 年春に種子島、筑波、北海道、和歌山の各栽培試験場で定植した 3 年目の株を用いた。

#### 検体の採取時期

筑波 2001 年 8 月～12 月 (5 ヶ月間)

北海道 2001 年 8 月～11 月 (4 ヶ月間)

種子島 2001 年 3 月～9 月 (7 ヶ月間)

各試験場から入手したサンプルとそのサンプリング日は、表 2. に示した。

これらのサンプルのエフェドリン及びプソイドエフェドリンの含量を測定し、その経時変化と筑波に関しては 1999 年からの毎年の変化を、また、北海道及び種子島においては 1999 年 1 年生のものと 2001 年の 3 年生のものとを合わせてグラフにした。

#### 定量法 (JP14)

本品の中末をデシケーター(シリカゲル)で 24 時間乾燥し、その約 0.5g を精密に量り、共栓遠心沈殿管に入れ、薄めたメタノール(1→2) 20mL を加え、30 分間振り混ぜ、遠心分離し、上澄液を分取する。残留物は薄めたメタノール(1→2) 20ml ずつを用いて、更にこの操作を 2 回行う。全抽出液

を合わせ、薄めたメタノール (1→2) を加えて正確に 100ml とし、試料溶液とする。別に定量用塩酸エフェドリンを 105°C で 3 時間乾燥し、その約 0.05g を精密に量り、薄めたメタノール(1→2)に溶かして正確に 20mL とする。この液 2mL を正確に量り、薄めた(1→2)を加えて正確に 100mL とし、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 10mL につき、次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行う。試料溶液のエフェドリン及びプソイドエフェドリン(エフェドリンに対する相対保持時間約 0.9)のピーク面積の比 ATE 及び ATP 並びに標準溶液のエフェドリンのピーク面積 AS を測定する。

総アルカロイドの量(mg)

$$= \text{定量用塩酸エフェドリンの量(mg)} \\ \times (\text{ATE} + \text{ATP}) / \text{AS} \times 0.1 \times 0.819$$

#### 操作条件

検出器: 紫外吸収光光度計(測定波長:210nm)

カラム: 内径 4~6mm、長さ 15~25cm のステンレス管に 5~10mm の液体クロマトグラム用オクタデシルシリル化シリカゲルを充填する。

カラムの選定: 定量用塩酸エフェドリン 1mg 及び硫酸アトロピン 4mg を薄めたメタノール(1→2)に溶かして 100mL とする。この液 10mL につき、

上記の条件で操作するとき、エフェドリン、アトロピンの順に溶出し、それぞれのピークが完全に分離するものを用いる。

使用したカラム: Inertsil ODS-2

カラムの温度: 45 °C 付近の一定温度

移動相: ラウリル硫酸ナトリウム溶液 (1→128)/アセトニトリル/リン酸混液 (640 : 360 : 1)

流量: エフェドリンの保持時間が約 14 分になるように調整する (0.9 mL/min)。

試験の再現性: 上記の条件で標準溶液につき、試験を 6 回繰り返すとき、エフェドリンのピーク面積の相対標準偏差は 1.5 % 以下である。

本試験は上記試験法に準じたが、適切な  $R_t$  及び分離能が得られなかったため、移動相を以下の様に変更した。

移動相: ラウリル硫酸ナトリウム溶液 (1→620)/アセトニトリル/リン酸混液 (620 : 380 : 1)

### C. 研究結果

#### 1. ガラス化法によるジャクダンの超低温保存法の確立

保存前のジャクダン不定胚の増殖率は、改変 WP 固形培地 (10mg/L グルタミン含有)、25 °C、暗所、12 週間で新鮮重量が約 3 倍、形成不定胚数が 1 切片あたり約 12 個であった

(植え付け: 2 四方の切片)。これらの不定胚は、同培地、25 °C、14 時間照明下では発芽し、植物体に分化した。

前培養培地の種類とガラス化液処理時間が超低温保存後の根の再生率に及ぼす影響について調べた。前培養培地は、基本培地として WP 培地を用い、1) 0.1M ショ糖含有、2) 0.1M ショ糖および 0.5M グリセリン含有、3) 0.2M ショ糖および 1M グリセリン含有固形培地を用い、ガラス化液処理時間は室温 (25 °C) 20 分または 30 分間とした。

再培養開始後 2 ヶ月目に切片を新鮮培地に移植し、4 ヶ月培養を行った時の再生率を表 1 に示した。0.1M ショ糖を添加した区では、ガラス化液処理時間に関わらず、不定胚の再生が認められたが、グリセリンを添加した区では、全く再生が認められないものがあった。再生後の不定胚の生育が良好だった前培養培地—ガラス化液処理時間 (分) は、0.1M ショ糖 + 1M グリセリン—20 分であった (図 1) 超低温保存した不定胚からは、正常な植物体が分化した (図 2)。

25 °C 暗所で継代培養している不定胚および超低温保存後再生した不定胚を碎断後、エーテル冷浸抽出し、濃縮後のエキスを GC-MS 分析した。その結果、超低温保存後の不定胚エ

キスは保存前のものと同一 GC パターンを示し、MS 分析結果も同一パターンのピークが検出された (図 3)。

## 2. マオウ (*Ephedra distacya*) の栽培地及び時節変化にともなうエフェドリン、 pseudoephedrine の含量変化

マオウの 3 年生株については、いずれの地域でも秋期に成分量が低くなる傾向が認められ、個体差はみられるが、種子島の一部を除いて局方の基準値である 0.7 % を充たす結果を得た (図 4)。この結果は、国内栽培での *E. distacya* も利用できる可能性を示唆している。

## D. 考察

現在までに、熱帯性薬木の実用的な超低温保存法は報告されていない。しかし、本研究により、植物ホルモン無添加培地で良好に増殖・再分化するジャクダン不定胚は、ガラス化法による超低温保存が可能であることが判明した。

さらに、不定胚のエーテル抽出物を GC-MS 分析した結果、保存前のジャクダン不定胚が生合成していた化合物群が、超低温保存後の不定胚でも生産されていることを確認した。現在の再生率は最高で 8% である。再生率の向上が今後の課題である。

薬用植物資源の保存法として、種

子の収集と保存法、栄養体の保存法、バイオ技術による不定胚の保存法について検討した。薬用植物は、トウキ、シャクヤク等一部のものを除いて栽培の歴史は浅い。また、生薬として利用する多くのものが野生植物の採取に頼ってきたため、保存法の研究は最近までなされていなかった。しかも、植物種毎に、場合によっては個体毎に個性が際立っているため、今後、更にデータの集積が重要である。

## E. 結論

薬用植物資源の保存法として、種子の収集と保存法、栄養体の保存法、バイオ技術による不定胚の保存法について検討した。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

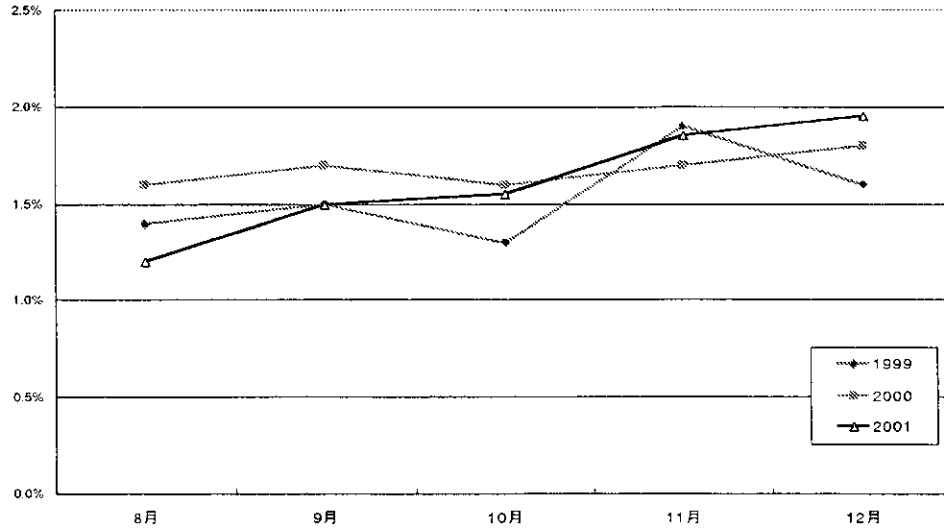
中根孝久, 関田節子, 佐竹元吉, 細川敬三, 畠山好雄, 柴田敏郎, 飯田 修, 香月茂樹: マオウ科 *Ephedraceae* 植物のエフェドリン含量 II, -国内栽培試験種及び国外野生種-, 日本生薬学会, 金沢, 9 月 (2001)

Table 1. 各試験場から入手したサンプルとそのサンプリング日

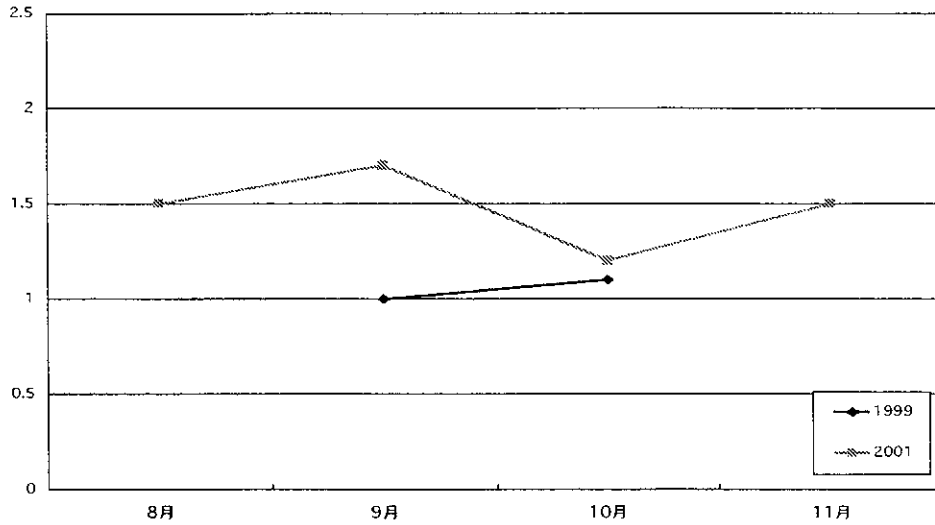
サンプリング日	筑波	北海道	種子島
	Ts	H	Tg
2001/3/23			Tg-3(1),Tg-3(2)
2001/4/24			Tg-4(1),Tg-4(2)
2001/5/24			Tg-5(1),Tg-5(2)
2001/6/25			Tg-6(1),Tg-6(2)
2001/7/24			Tg-7(1),Tg-7(2)
2001/8/24			Tg-8(1),Tg-8(2)
2001/8/14		H-8(1),H-8(2),H-8(3)	
2001/8/15	Ts-8(1),Ts-8(2)		
2001/9/25			Tg-9(1),Tg-9(2)
2001/9/14	Ts-9(1),Ts-9(2)	H-9(1),H-9(2),H-9(3)	
2001/10/15		H-10(1),H-10(2),H-10(3)	
2001/10/16	Ts-10(1),Ts-10(2)		
2001/10/22			
2001/11/2			
2001/11/14	Ts-11(1),Ts-11(2)	H-11(1),H-11(2),H-11(3),H-11(4)*	
2001/11/27			
2001/12/14	Ts-12(1),Ts-12(2)		
2002/1/21			

\*H-11(1)は大 11, H-11(2)は大 19、H-11(3)は小 3, H-11(4)は小 14 と記載

筑波における 3 年間の経時変化



北海道における 1 年生株と 3 年生株の経時変化



種子島における 1 年生株と 3 年生株の経時変化

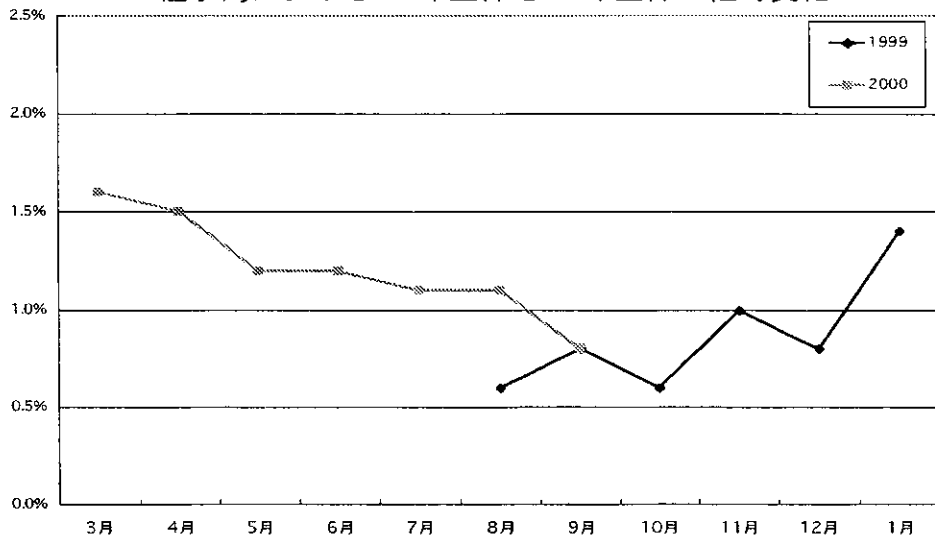


Fig.1 各試験場における1年生株と 3 年生株のエフェドリン類の含量変化

## 中国の薬用植物の導入と栽培法の研究

分担研究者 御影 雅幸 金沢大学薬学部教授

品質が優れた中国産オウレンの導入を目指し、栽培地である四川省の峨眉山市を訪問し、栽培適種、栽培方法などを調査した。その結果、栽培されている3分類群の中では *Coptis chinensis* の成長がはやく、根茎収量も高く、品質的にも優れていることがわかった。そこで、我が国で保存栽培されている本種の苗を入手し、栽培研究を開始した。また、石川、富山両県において5月と10月に自生地の調査を行なった結果、花が咲いた株の方が咲かなかった株よりも有意に根茎が長いことが明らかになった。今後は栽培オウレンについて摘花の影響を調査する必要がある。さらに、根茎と根についてアルカロイドのベルベリン含量を測定した結果、弱い正の相関があることが明らかになった。また、根茎の太さとベルベリン含量には正の相関が認められた。

### 研究目的

漢方生薬「黄連」はキンポウゲ科の *Coptis* (オウレン属植物) の根茎に由来する重要生薬である。本属植物はわが国にも分布し、古来黄連として利用されてきたが、生理活性成分の一つとされるアルカロイドのベルベリン含有量は中国産の商品の方が高く、古来日本産に比して高品質であるとされてきた。そこで、研究者は中国産黄連の導入を目指し、昨年度までに根茎による効率的な増殖法を開発した。中国産の株を導入するに際しては、栽培種として優良な株を選択する必要がある。そこで本年度は現地における栽培地の見学ならびに市場品の調査を行なうことにした。さらに、

栽培方法ならびに種内の個体変異の実情を検討する目的で、石川県および富山県におけるキクバオウレンの自生地を調査した。

### 研究方法

中国における黄連の一大栽培地である四川省の峨眉山市における栽培地を2日間にわたって訪問調査し、また省都成都の五懐石市場を調査した(平成13年8月)。さらに別の機会に、広州の清平市場で調査した(平成14年2月)。蒐集した試料を北京大学薬学院に送付し、同院の標本庫を利用して整理し、一部を同院などに寄贈し、残りを持ち帰った。帰国後は標本として番号を付して整理した。また、本研究で栽培適種と判断された *Coptis chinensis* (後

述)については、我が国に導入されていた株を入手し、栽培研究を開始した。

石川、富山両県においては、5月に自生地の予備調査を行ない、次いで黄連の採集調製時期である10月に6か所の自生地を調査し、採集した株についてそれぞれの根茎の太さ、重量、葉の枚数などを測定し、次いで根茎および根に含有されるベルベリン含有量を測定し、種々の形質間の相関を検討した。また、今後の研究のために、各株の根茎からクローン株を5~20株作成し、現在栽培中である。

#### 結果

【中国における現地調査】栽培地における主たる栽培種は「味連」と呼ばれる *Coptis chinensis* に由来するもので、収量がもっとも高いという理由で選択的に植えられていた。一方、「雅連」や「蛾眉野連」は栽培しても収量が低いので、前者はわずかに栽培されているようであるが、後者は栽培されていないことが明らかになった。市場品としては、「味連」「雅連」「雲連」などを入手した。

【石川、富山における現地調査】花が咲いた株と咲かなかった株の根茎を比較した結果、咲かなかった株の方が根茎が長いことが明らかになった。全77株を採集し、根茎および根に含有されるベルベリン含有量を測定した結果、ラフではあるが、両者の含有率に正の相関が認められた。

#### 考察

○中国から栽培種を導入するにあたっては、*Coptis chinensis* が適しているものと判断された。本種に由来する市場品「味

連」のベルベリン含有量は日本産の黄連よりも有意に高いことから、今後は本種について、わが国における環境での栽培の適否を検討する必要がある。

○我が国の野生品の調査では、花が咲いた株よりも花が咲かなかった株の方が根茎が有意に長かったことから、花を咲かさない栽培方法が適している可能性が示唆された。今後は摘花などの効果を調査する必要がある。一方、遺伝的に花が咲かないか或いは咲きにくい株が存在する可能性もあり、この点についても今後調査する必要がある。

○根茎および根に含有されるベルベリン含有量に正の相関が認められたことから、今後は根のベルベリン含有量を測定することで薬用部位である根茎のベルベリン含有量を予測することができることが明らかになった。今回は新旧混じった根を測定したために相関がラフであった可能性があり、今後は1年生の根を分析して相関を求めるなど、さらなる検討を要する。

#### 発表論文

一部の結果を金沢大学大学院自然科学研究科博士前期課程の平成13年度の修士論文として発表した。

課題：ネパール、東南アジアの薬用植物種の導入と  
栽培法の研究

分担研究者氏名：渡辺 高志 北里大学薬学部附属薬用植物園助手

植物地理・分類学的に日本との近縁種が多く、植物資源の宝庫として知られるヒマラヤでは、人々は多くの薬用植物を汎用している。地理的にヒマラヤの中央部に位置するネパールは日華区系に属し、サハリン南部から、日本、中国東部から東南部、ヒマラヤに至る地域で、植物が最も豊富で多様性に富んでいる植物区系である。ネパール・ヒマラヤには日本(約5,500種)を上回る約6,500種の高等植物が分布し、そのうち薬用植物として571種が知られていた。1984年から調査を開始し、以後16年に渡り現地調査した結果700種を超える薬用植物を確認し、絶滅危惧種を含めた薬用植物を野外探索し、分類整理を行ってきた。こうした長年に渡る植物調査を基に、ヒマラヤの貴重な植物の薬用成分とそれらの活性について詳しく検討するために薬用植物種を導入する。そして植物の原産国住民に対し研究で得られる栽培技術を成果として還元したい。

研究項目 1 :

ネパール産薬用植物種の導入に関する研究(1)新規

研究項目 2 :

ネパール産麻黄(*Ephedra*)属植物の栽培に関する研究(3)継続

1. ネパール産薬用植物種の導入に関する研究(1)新規

[目的]

ネパールは有望な薬用植物の産地であり国内外で需要があるものの、野生株の山採りに依存している為、供給が限られている。そこで日本からの栽培技術移転によりこの地域で高品質の生薬が生産できれば、国際的にも競争力があり、薬用植物の一大産地となるだろう。また原産国からの供給に常に依存する日本の



国内事情と併せて、ヒマラヤ地域からの植物資源の導入は将来的に不可欠で、現地での生産状況をきちっと把握する必要がある。

近年ヒマラヤでは、乱獲や、開発に伴う環境変化などで未知の種においては利用されないまま絶滅が危惧される状況が生まれている。そこで、ヒマラヤ地域の地元協力者らと共に未知の薬用資源の探索を行い、植物が現地でのどのように利用されているか調べる。

#### [研究内容]

①野生種の分布、現存量を調査し、重点品目については自生地環境を知る上で重要な資料となるフィールドでのさく葉標本の作成を行う。

②伝統医療機関での薬用植物の利用について聞き取り調査を行う。

③都市部の生薬市場において、現地名の調査により、同名異種生薬について比較検討する。また希少種について地元での取引価格を調査する。

#### [実験方法・結果]

(1) 本実験では、ネパールの首都カトマンドゥで最も生薬の取引が多いキラガル地区の生薬市場において、生薬を入手した。入手先について、1984年～1987年ネパール王国薬用植物局に赴任中、同局内生薬標本館の責任者であったギター・シュレスタ女史に紹介していただき長年市場価格などネパール生薬に関する詳細な情報を提供し続けてくれたのがガネッシュストア(SiddhiGaneshStore=SGS, Kilagal, Kathmandu)の店主のラトナ・サキヤ氏55歳(Mr. Yog Ratna Shakya)で本研

究の入手先とした。

入手した生薬は下記の通りで、詳しい内容については別表ネパール産生薬リスト 1-1. & 1-2. 及びネパール産生薬リスト- 2 に示した。

① ネパール産生薬リスト 1-1. & 1-2. 「生薬 SGS000727(001-145)」にある145種の生薬の中から同定確認のできたネパール生薬62検体を研究対象とした。「生薬 SGS000727(001-145)」にある145種の生薬の基源植物として主にマメ科11種、ショウガ科4種が観察された。

② ネパール産生薬リスト- 2

「生薬 SGS001108(001-041)」にある41種の生薬の中から同定確認のできたネパール生薬22検体を研究対象とした。生薬 SGS001108(001-041)」にある41種の生薬の基源植物として主にマメ科3種、クスノキ科2種が観察された。

(2) カトマンドゥ以外からも材料の一部を西ネパール・ムスタン郡の王国ロー・マントンに住む2名のアマチー(チベット僧医)にフィールドに同行し入手した。入手した生薬は下記の通りで、詳しい内容については別表ネパール産生薬リスト 3-1. & 3-2. に示した。

① ネパール産生薬リスト 3-1. & 3-2. 「生薬 NPL-CD001111(001-096) ネパール生薬」にある96種の生薬の中から同定確認のできたネパール生薬37検体を研究対象とした。

「生薬 NPL-CD001111(001-096)」にある96種の生薬の基源植物として主にマメ科11種、セリ科4種が観察された。

この2人のアムチーは兄弟で、兄のアムチー・ギャツォ・ビスタ氏 Dr. Amchi Gyatso Bista (43才) は診療所の経営と学校の運営を、弟のアムチー・テンジン・ビスタ氏 Dr. Amchi Tenzin Bista (37才) は主に診療と弟子達の教育を担当する。この診療所兼医学学校の正式な名称は、「Lo Kunphen Mentsi Khang」で直訳すると「チベット南部占星医学総合診療所」になる。診療所では、弟のアムチーが朝のプジャ(法会)を終えると患者が次々に訪れ、一日平均20人程になるという。

今回の調査では、ロー・マンタンの兄弟アムチーから薬用植物に関する知識や周辺の村についての情報提供など大変お世話になった。

(3) ネパール植物資源局の共同研究者(科学研究官)であるクベル・ジャン・マラ氏、及び王立ゴダワリ植物園のクルミ氏より入手したさく葉標本は下記の通りで、詳しい内容については別表さく葉標本(研究資料) 1. - 4.に示した。

① さく葉標本(研究資料) 1. - 4. 「NPL-SP011213 (001-147)」にある147種の標本の中から同定確認のできたネパール薬用植物を研究対象とした。「NPL-SP011213 (001-147)」にある147点の基源植物としてキク科20種、シソ科10種が多く観察された。

#### [考察]

① ネパール産生薬「生薬 SGS000727(001-145)」、② ネパール産生薬「生薬 SGS001108(001-041)」、① ネパール産生薬「生薬 NPL-CD001111(001-096)」、そして

① さく葉標本(研究資料) 1. - 4. 「NPL-SP011213 (001-147)」を合わせ327点に及ぶ植物を対象として成分研究及び活性試験を行う予定である。本植物材料はすべて生物多様性条約(CBD)の精神、乱獲防止のため慎重に入手に勤めた。また、将来おこりうる問題に対応できるよう、植物材料導入に伴う問題とCBD誕生の背景についてまとめてみた。

生物多様性条約(CBD)は、1992年5月ナイロビで開催された条約交渉会議において採択され、同年6月のリオデジャネイロにおける国際環境会議で署名、1993年12月21日発布、同年12月29日発効し、2001年7月現在で180カ国が批准している。その目的は大きく3点あり、①生物多様性の保全、②その構成要素の持続可能な利用、③遺伝資源の利用から生じる利益の公正で衡平な配分(ベネフィットシェアリング)が挙げられている。また、CBDではこれらの目的に沿って以下の3原則が掲げられ、日本の民間企業においては次のようなかたちで、それぞれへの対応が求められている。

《原則1》加盟国は遺伝資源を含む天然資源に対して、主管的管轄権を持つ ⇒ 各国国内関連法令・ガイドライン等の調査・確認(各国毎に整備状況が異なる)が必要。

《原則2》他国の遺伝情報にアクセスする場合は、事前に先方(提供国)の合意を得る(事前の情報に基づき相互に同意した条件) ⇒ 商業化の有無に関わらず、研究段階(アクセス時)から対応が必要。

《原則3》遺伝資源の利用から生じる利益は、

相互に合意する条件で提供国と利用者が公正かつ衡平に配分する

⇒ ベネフィットシェアリング(金銭・特許・技術供与・教育・研究施設・装置などの形で利益配分)が必要。

即ち、海外からの植物原料を使って医薬品等開発する場合は、生物多様性条約の精神、各国関連法令の遵守が極めて重要であるという認識を持つべきである。

もちろん昨年度の報告書(平成12年度ヒトゲノム・再生医療等研究事業\_\_実績報告書)で述べたが、我々が取り組むべき2つの課題のうち第1ステージ「基礎研究の段階」では地域住民への利益配分の問題を十分考慮しながら自らの発想で研究を進めるべきであり、むしろ次の第2ステージ「持続可能な利用」では、地方の住民が植物資源を搾取することなく人々の知的財産を守りながら植物による利益の還元が望まれている。

## 2. ネパール産麻黄(*Ephedra*)属植物の栽培に関する研究(3) 継続

### [目的]

漢方薬の主要原料で、国内で使う全量を中国に頼ってきた生薬「麻黄」が禁輸措置により国内市場の枯渇が懸念されている。そのため、日本国内において緊急に資源確保を要する生薬としてヒマラヤ産マオウ属(*Ephedra*)に関し栽培法の確立をめざす。

### [研究内容]

昨年度、ロー・モンタン地域内の経度、高度が異なる4箇所(Fig. 1 LOM1 - LOM4)で採種した種子を用い発芽試験を行った。播種後

の保存条件及び播種後の時期について発芽率に対する影響を調べたが地域による差は無く、播種後1ヶ月にはほぼ100%発芽していた。しかし、生存率が最も良かった冬季に播種した場合と比べると、明らかに生存率は落ちていた。今まで入手したロー・モンタンの*Ephedra*植物種子を使って、栽培試験を行ってきたが、余り乾燥させないように室温で採種後4ヶ月から半年まで後熟させてから、水はけの良い土壌(赤玉土:川砂:腐葉土=5:3:2)に播種し、発芽後は、霜にあてないように路地栽培すると生存率が高くなる。また、夏の暑さ対策が栽培管理する上で最も必要なことも明らかとなった。

ネパール産麻黄(*Ephedra*)属植物の増殖方法を研究する上で、生存率をあげるための栽培技術が必要であることを、本研究は示唆しており今回新たに*Ephedra gerardiana*の種子繁殖する場合の植物の特性を知る目的で、昨年西ネパールのムスタン地方4箇所(Fig. 1 LOM1 - LOM4)から導入した*Ephedra*属植物(*E. gerardiana*)の苗を試料として生育試験を行う。

昨年度は、無菌条件下で*Ephedra gerardiana*種子を発芽させた後その側芽の外植片を用いて組織培養を行ったが、今回品質の良い*Ephedra*属植物の大量繁殖技術の確立、そして発根条件を検討し再生植物体の誘導を試みる。

2.1. 土壌条件の違いが、移植後の成長に及ぼす影響およびその季節変動について

### [実験方法]

(1) 土壤条件

A 群土壤条件：混合土 - 赤玉土：川砂：堆肥  
(グリーンソイル) = 50%：30%：20%

B 群土壤条件：混合土 - 赤玉土：川砂 = 70%：  
30%

(2) 種子保存条件

Normal(N) - 室温にて種子保存。

Refrigerator(R) - 冷蔵庫内密閉容器に種子保  
存 (5℃ - 10℃)。

(3) 鉢上げ条件

8号ダ温鉢 - ダ

5号深ポリプレレン鉢 (直径 14cmφ) - プラ

(4) 材料

生育環境の異なる株から採取した種子を発  
芽させ生長した1年性苗。

(5) 方法

本研究では、新たに西ネパールのムスタン  
郡ロー・モンタンで採種した *E. gerardiana* の  
種子を発芽させたあと (1) ~ (3) の条件  
で鉢上げし、無加温条件下野外管理のもの  
と生育試験を行った。2000年7月9日~7月  
22日にムスタン地方の各々異なる4箇所  
で採取した種子{LOM1-LOM4 : LOM1 (カグベ  
ニで採種)、LOM2 (チェレで採種)、LOM3  
(ゲミで採種)、LOM4 (ロー・モンタンで  
採種)}を硬質プラ鉢を使って約1ヶ月毎に播  
種を行った。2000年8月23日に第1回目の  
播種 (Control)、2000年9月20日に第2回  
目の播種、2000年10月23日に第3回目  
の播種、そして2000年11月28日に第4回  
目の播種を行い、2001年3月下旬に播種を完了  
した。

それら播種日の異なる苗を (1) ~ (3)  
を組み合わせた条件で、栽培生育調査を行っ  
た。そして1年毎に調査し、発芽後の生育量  
と含有アルカロイド (エフェドリンなど) に  
ついて構成成分比と含有率について調べる予  
定である。なお、第1回目調査日 (2001.09.2)  
における苗の重量(g)、茎上部の直径(mm)、  
そして地上部の高さ(mm)の各々平均値と標準  
偏差を調べた。採種地の環境が異なる発芽苗  
に対し、物理環境を変えることにより得られ  
た結果を表 LOM1、表 LOM2、表 LOM3、表  
LOM4 にまとめた。

[結果]

LOM1-LOM4 移植日：2001.09.28

LOM1 = カグベニ (Kagbeni)にて採種。

(1) 試料データ 8号ダ温鉢(ダ)、  
室温にて種子保存(N) - 表 LOM1

A 群ダ-LOM1(N1 - N8)

●苗重量： 0.14 - 168.0g  
= 1株平均 16.16g

A 群ダ-LOM1(N1 - N8)

●茎上部直径： 0.8 - 2.0mm  
= 1株平均 1.43mm

A 群ダ-LOM1(N1 - N8)

●地上部高さ： 124.0 - 375.0mm  
= 1株平均 236.98mm

B 群ダ-LOM1(N1 - N8)

●苗重量： 0.15 - 87.0g  
= 1株平均 16.16g

B 群ダ-LOM1(N1 - N8)

●茎上部直径： 0.9 - 2.5mm

= 1株平均 1.43mm

B群ダ-LOM1(N1 - N8)

●地上部高さ： 128.0 - 315.0mm

= 1株平均 236.98mm

-----  
(2) 試料データ 8号ダ温鉢(ダ)、  
冷蔵庫内密閉容器(R)

A群ダ-LOM1(R1 - R8)

●苗重量： 1.33 - 14.21g

= 1株平均 4.07g

A群ダ-LOM1(R1 - R8)

●茎上部直径： 0.8 - 2.15mm

= 1株平均 1.3mm

A群ダ-LOM1(R1 - R8)

●地上部高さ： 157.0 - 309.0mm

= 1株平均 233.91mm

-----  
B群ダ-LOM1(R1 - R8)

●苗重量： 0.27 - 7.85g

= 1株平均 4.07g

B群ダ-LOM1(R1 - R8)

●茎上部直径： 0.8 - 1.6mm

= 1株平均 1.30mm

B群ダ-LOM1(R1 - R8)

●地上部高さ： 149.0 - 298.0mm

= 1株平均 233.91mm

-----  
(3) 試料データ 5号深ポリレン鉢  
(プラ)、室温にて種子保存(N)

A群プラ-LOM1(N1 - N8)

●苗重量： 0.32 - 9.4g

= 1株平均 2.23g

A群プラ-LOM1(N1 - N8)

●茎上部直径： 0.7 - 1.6mm

= 1株平均 1.25mm

A群プラ-LOM1(N1 - N8)

●地上部高さ： 63.5 - 365.5mm

= 1株平均 173.33mm

-----  
B群プラ-LOM1(N1 - N8)

●苗重量： 0.3 - 5.6g

= 1株平均 2.33

B群プラ-LOM1(N1 - N8)

●茎上部直径： 0.75 - 1.8mm

= 1株平均 1.25mm

B群プラ-LOM1(N1 - N8)

●地上部高さ： 75.0 - 248.0mm

= 1株平均 173.33mm

-----  
(4) 試料データ 8号ダ温鉢(プラ)、  
冷蔵庫内密閉容器(R)

A群プラ-LOM1(R1 - R8)

●苗重量： 0.53 - 6.0g

= 1株平均 1.91g

A群プラ-LOM1(R1 - R8)

●茎上部直径： 0.8 - 1.3mm

= 1株平均 1.02mm

A群プラ-LOM1(R1 - R8)

●地上部高さ： 73.0 - 266.0mm

= 1株平均 159.16mm

-----  
B群プラ-LOM1(R1 - R8)

●苗重量： 0.53 - 5.04g

= 1株平均 1.91g

B 群プラ-LOM1(R1 - R8)

- 茎上部直径：0.8 - 1.2mm  
= 1 株平均 1.02mm

B 群プラ-LOM1(R1 - R8)

- 地上部高さ：97.0 - 264.0mm  
= 1 株平均 159.16mm



LOM2 = チェレ(Chele)にて採種。

(1) 試料データ 8号ダ温鉢(ダ)、  
室温にて種子保存(N) - 表 LOM2

A 群ダ-LOM2(N1 - N10)

- 苗重量：0.54 - 15.15g  
= 1 株平均 4.04g

A 群ダ-LOM2(N1 - N10)

- 茎上部直径：0.6 - 2.55mm  
= 1 株平均 1.55mm

A 群ダ-LOM2(N1 - N10)

- 地上部高さ：95.0 - 332.0mm  
= 1 株平均 202.31mm

B 群ダ-LOM2(N1 - N10)

- 苗重量：0.13 - 16.73g  
= 1 株平均 4.04g

B 群ダ-LOM2(N1 - N10)

- 茎上部直径：0.6 - 6.0mm  
= 1 株平均 1.55mm

B 群ダ-LOM2(N1 - N10)

- 地上部高さ：93.0 - 241.0mm  
= 1 株平均 202.31mm

(2) 試料データ 8号ダ温鉢(ダ)、

冷蔵庫内密閉容器(R)

A 群ダ-LOM2(R1 - R10)

- 苗重量：1.1 - 25.43g  
= 1 株平均 5.76g

A 群ダ-LOM2(R1 - R10)

- 茎上部直径：0.5 - 2.4mm  
= 1 株平均 1.28mm

A 群ダ-LOM2(R1 - R10)

- 地上部高さ：117.0 - 321.0mm  
= 1 株平均 202.50mm

B 群ダ-LOM2(R1 - R10)

- 苗重量：0.5 - 9.75g  
= 1 株平均 5.76g

B 群ダ-LOM2(R1 - R10)

- 茎上部直径：0.6 - 2.3mm  
= 1 株平均 1.28mm

B 群ダ-LOM2(R1 - R10)

- 地上部高さ：129.0 - 318.0mm  
= 1 株平均 202.5mm

(3) 試料データ 5号深ポリプレン鉢  
(プラ)、室温にて種子保存(N)

A 群プラ-LOM2(N1 - N10)

- 苗重量：0.18 - 10.28g  
= 1 株平均 2.56g

A 群プラ-LOM2(N1 - N10)

- 茎上部直径：0.5 - 2.0mm  
= 1 株平均 1.08mm

A 群プラ-LOM2(N1 - N10)

- 地上部高さ：90.0 - 263.0mm  
= 1 株平均 168.9mm

-----  
B 群プラ- LOM2(N1 - N10)

- 苗重量： 0.5 - 7.83g  
= 1 株平均 2.56g

B 群プラ- LOM2(N1 - N10)

- 茎上部直径： 0.5 - 1.6mm  
= 1 株平均 1.08mm

B 群プラ- LOM2(N1 - N10)

- 地上部高さ： 96.0 - 273.0mm  
= 1 株平均 168.9mm

-----  
(4) 試料データ 8号ダ温鉢(プラ)、  
冷蔵庫内密閉容器(R)

A 群プラ- LOM2(R1 - R10)

- 苗重量： 0.6 - 8.03g  
= 1 株平均 3.93g

A 群プラ- LOM2(R1 - R10)

- 茎上部直径： 0.5 - 1.4mm  
= 1 株平均 0.99mm

A 群プラ- LOM2(R1 - R10)

- 地上部高さ： 25.0 - 217.0mm  
= 1 株平均 141.95mm

-----  
B 群プラ-- LOM2(R1 - R10)

- 苗重量： 0.2 - 20.85g  
= 1 株平均 3.93g

B 群プラ- LOM2(R1 - R10)

- 茎上部直径： 0.5 - 1.8mm  
= 1 株平均 0.99mm

B 群プラ- LOM2(R1 - R10)

- 地上部高さ： 104.0 - 250.0mm  
= 1 株平均 141.95mm

◆-◆-◆-◆-◆-◆-◆-◆-◆-◆

LOM3 = ダミ (Gemi) にて採種。

(1) 試料データ 8号ダ温鉢(ダ)、  
室温にて種子保存(N) - 表 LOM3

A 群ダ- LOM3(N1 - N10)

- 苗重量： 0.6 - 15.37g  
= 1 株平均 3.2g

A 群ダ- LOM3(N1 - N10)

- 茎上部直径： 0.5 - 1.9mm  
= 1 株平均 1.11mm

A 群ダ- LOM3(N1 - N10)

- 地上部高さ： 93.0 - 322.0mm  
= 1 株平均 189.5mm

-----  
B 群ダ- LOM3(N1 - N10)

- 苗重量： 0.4 - 11.0g  
= 1 株平均 3.2g

B 群ダ- LOM3(N1 - N10)

- 茎上部直径： 0.5 - 2.4mm  
= 1 株平均 1.11mm

B 群ダ- LOM3(N1 - N10)

- 地上部高さ： 84.0 - 246.0mm  
= 1 株平均 189.5mm

-----  
(2) 試料データ 8号ダ温鉢(ダ)、  
冷蔵庫内密閉容器(R)

A 群ダ- LOM3(R1 - R10)

- 苗重量： 0.5 - 6.2g  
= 1 株平均 2.39g

A 群ダ- LOM3(R1 - R10)

●茎上部直径：00.5 - 1.80mm  
= 1株平均 1.01mm

A 群ダ-LOM3(R1 - R10)

●地上部高さ：87.0 - 305.0mm  
= 1株平均 165.4mm

B 群ダ-LOM3(R1 - R10)

●苗重量：0.2 - 3.9g  
= 1株平均 2.39g

B 群ダ-LOM3(R1 - R10)

●茎上部直径：0.5 - 1.5mm  
= 1株平均 1.01mm

B 群ダ-LOM3(R1 - R10)

●地上部高さ：77.0 - 337.0mm  
= 1株平均 165.4mm

(3) 試料データ 5号深ポリプレン鉢  
(プラ)、室温にて種子保存(N)

A 群プラ-LOM3(N1 - N10)

●苗重量：0.2 - 28.9g  
= 1株平均 2.58g

A 群プラ-LOM3(N1 - N10)

●茎上部直径：0.6 - 2.1mm  
= 1株平均 1.00mm

A 群プラ-LOM3(N1 - N10)

●地上部高さ：56.0 - 216.0mm  
= 1株平均 152.88mm

B 群プラ-LOM3(N1 - N10)

●苗重量：0.1 - 7.17g  
= 1株平均 2.58g

B 群プラ-LOM3(N1 - N10)

●茎上部直径：0.4 - 1.4mm  
= 1株平均 1.00mm

B 群プラ-LOM3(N1 - N10)

●地上部高さ：36.0 - 280.0mm  
= 1株平均 152.88mm

◆-◆-◆-◆-◆-◆-◆-◆-◆-◆

LOM4 = ロー・モンタン(Lo-Monthang)にて採種。

(1) 試料データ 8号ダ温鉢(ダ)、  
室温にて種子保存(N) - 表 LOM4

A 群ダ-LOM4(N1 - N10)

●苗重量：0.3 - 16.7g  
= 1株平均 5.5g

A 群ダ-LOM4(N1 - N10)

●茎上部直径：0.6 - 2.4mm  
= 1株平均 1.35mm

A 群ダ-LOM4(N1 - N10)

●地上部高さ：88.0 - 239.0mm  
= 1株平均 180.54mm

B 群ダ-LOM4(N1 - N10)

●苗重量：0.1 - 11.38g  
= 1株平均 5.5g

B 群ダ-LOM4(N1 - N10)

●茎上部直径：0.7 - 2.5mm  
= 1株平均 1.35mm

B 群ダ-LOM4(N1 - N10)

●地上部高さ：56.0 - 345.0mm  
= 1株平均 180.54mm

(2) 試料データ 8号ダ温鉢(ダ)、



冷蔵庫内密閉容器(R)

A 群ダ-LOM4(R1 - R10)

●苗重量： 0.68 - 10.33g  
= 1 株平均 4.78g

A 群ダ-LOM4(R1 - R10)

●茎上部直径： 0.7 - 2.1mm  
= 1 株平均 1.21mm

A 群ダ-LOM4(R1 - R10)

●地上部高さ： 69.0 - 305.0mm  
= 1 株平均 171.15mm

B 群ダ-LOM4(R1 - R10)

●苗重量： 0.88 - 13.30g  
= 1 株平均 4.78g

B 群ダ-LOM4(R1 - R10)

●茎上部直径： 0.60 - 2.2mm  
= 1 株平均 1.21mm

B 群ダ-LOM4(R1 - R10)

●地上部高さ： 60.0 - 255.0mm  
= 1 株平均 171.15mm

(3) 試料データ 5号深ポリブレン鉢  
(プラ)、室温にて種子保存(N)

A 群プラ-LOM4(N1 - N10)

●苗重量： 1.2 - 12.4g  
= 1 株平均 3.88g

A 群プラ-LOM4(N1 - N10)

●茎上部直径： 0.7 - 2.0mm  
= 1 株平均 1.26mm

A 群プラ-LOM4(N1 - N10)

●地上部高さ： 62.0 - 265.0mm  
= 1 株平均 159.33mm

B 群プラ-LOM4(N1 - N10)

●苗重量： 0.93 - 10.5g  
= 1 株平均 3.88g

B 群プラ-LOM4(N1 - N10)

●茎上部直径： 0.7 - 2.2mm  
= 1 株平均 1.26mm

B 群プラ-LOM4(N1 - N10)

●地上部高さ： 80.0 - 305.0mm  
= 1 株平均 159.33mm

(4) 試料データ 8号ダ温鉢(プラ)、  
冷蔵庫内密閉容器(R)

A 群プラ-LOM4(R1 - R10)

●苗重量： 0.1 - 7.98g  
= 1 株平均 2.82g

A 群プラ-LOM4(R1 - R10)

●茎上部直径： 0.5 - 2.0mm  
= 1 株平均 1.13mm

A 群プラ-LOM4(R1 - R10)

●地上部高さ： 96.0 - 267.0mm  
= 1 株平均 149.8mm

B 群プラ-LOM4(R1 - R10)

●苗重量： 0.1 - 5.78g  
= 1 株平均 2.82g

B 群プラ-LOM4(R1 - R10)

●茎上部直径： 0.4 - 1.7mm  
= 1 株平均 1.13mm

B 群プラ-LOM4(R1 - R10)

●地上部高さ： 73.0 - 227.0mm  
= 1 株平均 149.8mm

## [考 察]

本年度は試験苗を鉢上げしたが初めて年であり、2001年9月28日における苗の重量(g)、茎上部の直径(mm)、そして地上部の高さ(mm)についてはほぼ大きなばらつきは認められなかった。本栽培試験では苗の条件を一定にそろえ鉢上げすることができたため、今後の成果が期待できる。

また、2000年7月9日～7月22日にムスタン地方の各々異なる4箇所採取した種子を播種し、2001.9.28に、土壌条件及び材質の異なる鉢に移植を行い、物理的条件を整えることにより環境要因による影響を測定し易くした{A群ダ-LOMI-4(N1-N10)、B群ダ-LOMI-4(N1-N10)、A群ポリ-LOMI-4(N1-N10)、B群ポリ-LOMI-4(N1-N10)、他}。今後は、植物の生長に重要な要素である光量子量の測定(積算センサー使用)、土壌水分量の測定による育種試験を試みることで栽培技術の確立を目指す予定である。栽培環境の異なる場所でヒマラヤ産麻黄属植物の環境特性について詳しく解析する必要があるが、新しい知見が得られ次第次年度に報告したい。

### 2-2. 組織培養による増殖方法に関する研究

現在まで無菌条件下で *Ephedra gerardiana* 種子を発芽させた後その側芽の外植片を用いて組織培養を行ってきたが、今回品質の良い *Ephedra* 属植物の大量繁殖技術の確立、そして発根条件を検討し再生植物体の誘導を試みた。

### [実験方法・結果]

(1) 西ネパール・ムスタン王国の各地域で採種した *Ephedra gerardiana* Wall. (マオウ科)の種子から得た栽培株の腋芽を  $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、1日16時間の光照射(3,000 - 5,000 lux)条件下、カイネチン(0.5 - 1 mg/l)添加 MS 培地上で初期培養すると、不定芽を経てシュートが得られた。シュート節片を 6-benzylaminopurine (BAP) 5 mg/l 添加 WP(WP, Lloyd & McCown)培地に移植して継代培養するとマルチプルシュートが得られたので、5～6株毎に分割してホルモン無添加 MS 培地および IBA 5 mg/l P 添加 MS (Murashige&Skoog) 培地で培養すると一部発根がみられたが、しばらくして(3週間)消失してしまった。そのためホルモン条件を変え BAP と  $\alpha$ -Naphthylacetic Acid(NAA)による濃度組み合わせ添加 WP 培地(9区画)で培養を行った。初期には良好なマルチプルシュートが得られたものの、発根は旺盛ではなく好条件を見いだせなかった。そこでホルモン組み合わせ表の濃度で、再度発根条件を検討した。

さらに、6-benzylaminopurine (BAP) 5 mg/l 0.01ppm, 0.1ppm, 1.0ppm, 3.0ppm 及び 3-indolebutyric acid (IBA) 0.1ppm, 1.0ppm, 5.0ppm, 10.0ppm の添加組み合わせ 9 区画 MS (Murashige & Skoog)培地、そしてそれぞれ単独添加した MS (Murashige & Skoog)培地(Table 1.)で培養すると一部発根がみられたが、幼弱で完全な植物体を得るに至っていない。今後さらなる検討が必要である。

## [考 察]

ネパール名ソムラタ”Som lata”は、生薬「麻

黄」の基原植物で、マオウ科マオウ属の植物全般をさす。ムスタンではジョムソンの飛行場近くの急斜面からロー・マンタンの奥地まで3種類のソムラタを観察している。

ネパール、シッキムおよびブータンのマオウ属 *Ephedra* は主に2種あり、*E. gerardiana* Wall.ex Stapf は、ネパールの乾燥地域に普通に見られる種で *E. pachyclada* Boiss.は、岩場などに大株をつくり、草質茎の直径が *E. gerardiana* より大きい傾向にある。両種の生薬はチベット名”Rasi”及び”Lug Tshe”と呼ばれているが、チベット僧医は両者を区別していない。その他に、アッパー・ロー・マンタン (Fig. 1 ロー・マンタン以北) の標高 3570 m～ 4010m の岩場で、前述の2種とは、草質茎と液果の先端にあるひげ状突出部が形態的に異なるもう1種のマオウ属植物が確認できた。チベット名で”Rasi”と呼ばれていたのも、現在種名の特定を急いでいる。2002年7月にロー・モンタンで上記麻黄を採種し、研究室に持ち帰り鉢内での発芽試験と組織培養による再生植物体の誘導を試みたい。

	BAP			
IBA		BAP 0.01pp m	BAP 0.1ppm	BAP 1.0ppm
	IBA 0.1pp m	MSIBA/ BAP①	MSIBA/ BAP②	MSIBA/B AP③
	IBA 1.0pp m	MSIBA/ BAP④	MSIBA/ BAP⑤	MSIBA/B AP⑥
	IBA 5.0pp m	MSIBA/ BAP⑦	MSIBA/ BAP⑧	MSIBA/B AP⑨

MS IBA/BAP  
⑥ = MS  
IBA · BAP

MS IBA/BAP  
⑧=MS5BA

**Table 1.**

	IBA	BAP	
MS0. 01 BAP	0 ppm	0.01pp m	-
MS0. 1 BAP	0 ppm	0.1ppm	-
MS1. 0 BAP	0 ppm	1.0 ppm	-
MS3. 0 BAP	0 ppm	3.0 ppm	-
MS0. 1 IBA	0.1ppm	0ppm	-
MS1. 0 IBA	1.0 ppm	0ppm	-
MS5. 0 IBA	5.0 ppm	0ppm	-
MS10 .0 IBA	10.0pp m	0ppm	-