

2003.0373

平成15年度厚生労働科学研究費補助金
(ヒトゲノム・再生医療等研究事業)

薬用植物の保存と遺伝子組み換え薬用植物 の環境に与える影響に関する研究

平成15年度総合・分担研究報告書

平成16年3月

主任研究者 関田節子

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）

（総合）研究報告書

薬用植物の保存と遺伝子組み換え薬用植物の環境に与える影響に関する研究

主任研究者 関田 節子 国立医薬品食品衛生研究所 筑波薬用植物栽培試験場

薬用資源は様々な要因による環境変化の影響で急速に減少していて、これら資源の確保は緊急な課題となっている。そこで、国内に保存すべき薬用植物の導入、保存法の研究を行った。

また、世界的にこのような傾向が強まっている中で、薬剤耐性等を目標とした農作物の遺伝子組換え体の研究・開発が進んでいて、国際的な取り決めとしてカルタヘナ条約が発効された。薬用植物にとって、作出された組み換え植物が実用化され市場にでる前に想定されるリスクの回避法を研究しバイオセーフティーに基づいた利用を図ることは極めて重要である。本研究では、研究期間を通じてモデルの作出、作出した組換え植物の特性に関する研究、意図的な新機能（薬剤耐性、生長促進等）、非意図的な新機能（アレロパシー等）の創出による環境生物への影響等について検討する。今年度は候補となる植物の特性に関する研究、花粉や昆虫による拡散の環境生物への影響、導入を予定している遺伝子の単離と機能解析等を検討した。

分担研究者

飯田 修

国立医薬品食品衛生研究所

筑波薬用植物栽培試験場室長

柴田 敏郎

国立医薬品食品衛生研究所

北海道薬用植物栽培試験場場長

香月 茂樹

国立医薬品食品衛生研究所

種子島薬用植物栽培試験場場長

神田 博史

広島大学助教授

水上 元

名古屋市立大学教授

協力研究者

御影 雅幸

金沢大学教授

高野 昭人

昭和薬科大学講師

分担研究者

木内 文之

国立医薬品食品衛生研究所

筑波薬用植物栽培試験場室長

淵野 裕之

同上、主任研究官
酒井 英二
岐阜薬科大学助手
佐竹 元吉
お茶の水女子大学教授

協力研究者

後藤勝実
京都薬科大学講師

分担研究者

野口 博司
静岡県立大学教授
吉松 嘉代
国立医薬品食品衛生研究所
筑波薬用植物栽培試験場主任研究官
大塚 謙
お茶の水女子大学教授
正山征洋
九州大学大学院薬学研究院
鎌田 博
筑波大学教授

A. 目的

麻黄、甘草の中国からの輸入が環境保全を理由に禁止され、生物多様性条約により野生遺伝資源の国境を越える移動に厳しい制限が加えられつつある。その一方、生物遺伝資源は環境の変化による影響で減少の一途にあり、保存・保護の対応が必須である。このような状況下で、薬用植物遺伝資源の確保とその保存法の開発が重要な課題とされている。主任研究者の所属する機関では約 80 年の歴史を通じて資源の導入と種の特性に応じた保存法の研究並びに野生薬用植物の栽培化の研究を継続しており、絶滅危惧種、減少種の保護・保存を図っている。

農作物の栽培では遺伝子組み換え技術

が発展し、薬剤耐性作物や機能性改変作物が開発されている。薬用植物の栽培においても農作物と同様な技術の導入が行なわれると予想され、既に研究段階では各種の薬効に関与する二次代謝産物の遺伝子の分離、解析が進められている。また、海外では薬剤耐性薬用エンジンの作出が報告されている。遺伝子操作技術が薬用植物で実用化されるには人間の健康に及ぼす悪影響はもとより環境全体に及ぼす有害性を排除することが必要不可欠な条件である。組み換え生物の輸出入の手続きを定める生物多様性条約カルタヘナ議定書の批准に備えて本年 3 月 18 日に「遺伝子組み換え生物使用規制生物多様性確保法案」が閣議決定された。遺伝子組み換え技術に伴う諸問題は、作出過程におけるマーカー遺伝子、作出された薬用植物の特性の変化同種及び近縁種への影響とその変化による生態系全体への影響、栽培時の管理の可能性、組換え体と非組み換え体の区別の可能性等々が挙げられている。そこで、生物の多様性の保全及び持続可能な利用を遂行するため、危険を防止し又は減少させるための方策を検討することを目的に、材料植物の生育特性に関する基礎的研究、生態系の把握、遺伝子組換え技術の植物体への影響と特性変化、閉鎖系、半閉鎖系、半開放系、開放系の条件検討とその環境における組み換え植物の挙動等を検討する。

今年度は候補となる植物の特性に関する研究、花粉や昆虫による拡散の環境生物への影響、導入を予定している遺伝子の単離と機能解析等を検討した。

B. 研究方法

【薬用植物資源の保存】

国内外の研究機関との種子交換、野生薬用植物の採取等により薬用植物資源の充実を推進し、それぞれの化学、遺伝学的特性の解明を行い、保存法について検討した。貯蔵温度は -20°C を基本とし、 -1°C 、 10°C 区も設置している。容器は、スチロール製缶、特殊ポリエチレン袋を用い、種子とともに脱酸素剤及び生石灰を入れて封入した。更にポリエチレン袋野場合は封入の際に脱気した。長期保存条件は国際種子検査規定に準拠した発芽試験で評価している。試験時には、種毎に休眠打破処理法を検討した。

海外の植物種の栽培は、シナマオウ、アサイヤシ、アンジローバ、ジュア、*Tabebuia* 属植物、トコン、オオイナゴマメ、ルリジシャ、トチバニンジン
国内の植物種は、オウレン、ヨロイグサ、ウイキョウを検討した（関田、飯田、柴田、香月、神田、水上、御影、高野）。

【遺伝子組み換え薬用植物の環境に与える影響】

カルタヘナ議定書により求められている検討事項は、遺伝子組み換え生物の人体を含む環境に及ぼす影響である。そこで、以下の方法により研究を行った。

(1) 組み換え植物の特性に関する研究の基礎として、今後検討されると考えられる非組み換え薬用植物の含有成分、外部形態、内部形態等の測定を行った。試料は筑波薬用植物栽培試験場に植栽しているマルバダイオウ、トリカブト (No.1 2003年北海道産、 10°C 3ヶ月間保存 No.2 2003年北海道産、 40°C 5日間通風乾燥、No.3 2002年北海道産 天日乾燥、No.4 2003年筑波産 天日乾燥で、分析は、LCMS: PDA 検出器付き Agilent 1100 HPLC システムを接続した API 3000 TOF-MS 装置 LC-MS システム、

モニターは吸光度、マルバダイオウの LC の条件は、カラム: Mightysil ODS RP-18, $150 \times 3 \text{ mm}$ ($3 \mu\text{m}$)、溶媒: 0.1% 酢酸一アセトニトリル・グラジエント。ハナトリカブトの LC の条件は、カラム: Waters symmetry, $2.1 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}$ 、溶媒: THF, /0.1% TFA・グラジエント。(木内、瀏野)

(2) 遺伝子組換え薬用植物が流通するようになった場合を想定して、形態からその区別が可能であるかについて検討を行うための予備実験として、オウゴンの栽培植物と野生植物の形態の比較を試みた。栽培、野生の明らかなサンプルについて、同程度の太さの根を約 1 cm 切り取り、ぬるま湯に 1 時間浸漬した後、氷結法により厚さ約 $20 \mu\text{m}$ の横切片を作成しプレパラートとした(酒井)。

(3) 遺伝子組み換え薬用植物の生態系モデルへの影響調査は、花粉の飛散、昆虫の挙動、同類植物、近縁植物への交雑性等について調査した(佐竹、後藤)。

(4) ①大黃 *Rheum palmatum* 苗の葉及び根より抽出した total RNA を出発に、カルコン合成酵素 (CHS) スーパーファミリーを形成する III 型ポリケチド合成酵素のひとつである新規 CHS 様クローンの機能を解析するため、出現した 600 bp のバンドを精製し、pT7Blue にサブクローニングし、塩基配列の解析を行った。その結果、異なる配列を持つ 5 種の cDNA コア配列を得た。これらクローンを順に leaf 1, leaf 2, root 3, root 4, root 5 と名付け、どのような活性を持つ酵素をコードしているか不分明な root 5 について検討した。

② *Rhizobium rhizogenes* MAFF03-01724 株により形質転換したトウキ

(*Angelica acutiloba* Kitagewa) 毛状根およびケシ (*Papaver somniferum* L. var. *Ikkanshu*) 形質転換不定胚からの再生植物体を組換え体モデルに、組織培養、土壌への移植と栽培、ケシアルカロイドの分析を行った。

③Protein Disulfide Isomerase (PDI) の遺伝子のクローニングされた cDNA を植物に導入するための基礎研究を行った。

④オウレンの berberine、オウゴンの baicalin の免疫原を作製した。得られた免疫原をマウス腹腔に投与した後、脾細胞とミエロマの細胞融合を行った。続いて、目的の抗体産生ハイブリドーマをクローニングし、培地中に分泌された MAb を精製し、これを ELISA 用一次抗体として用いた。ELISA としては、イムノプレート上での固相化抗原と遊離抗原との競合による競合的 ELISA を採用した。

(野口、吉松、大塚、正山、鎌田)。

C. 研究結果

【薬用植物資源の保存】

2004年2月現在、-20°Cの貯蔵種子は609種、-1°Cに294種、-20°Cに291種である。

ウイキョウの栽培時の窒素施肥は主茎の分枝及び分けつ茎の分枝の乾物重、種子の重量を増加した。精油含量と登熟日数の相関性は認められなかったが、量的には JP14 の規定値を十分満たすものであった。一方、ヨロイグサの生育及び活性成分に及ぼす肥料条件の影響は殆ど認められなかった。

黄連の植え付け時期の検討により秋期よりも春期に植え付けた方が出芽率が優れていることが明らかになった。発芽後の生長は、葉面積が大きな株ほど速いことが明らかになった。ベルベリンの定量に関しては、色彩計を利用することによ

り HPLC 法に比してより簡便かつ少量 (100mg) で定量出来ることが明らかになった。また、HPLC 法においてもアルカロイドの抽出をメタノールではなく酢酸水で抽出することにより、有機溶剤を使用することなく環境に負担なく定量できることを明らかにした。

国内でのマオウの栽培化について継続して実験を行い成分、植物特性の経年変化を測定した。

日本薬局方「マオウ」の基原植物のうち *E. sinica* と *E. intermedia* については明確な判別を可能にしてきた。し残されていた *E. equisetina* においても、生薬の Ch1B 遺伝子の全領域の遺伝子配列を解読することにより鑑定が可能となった。

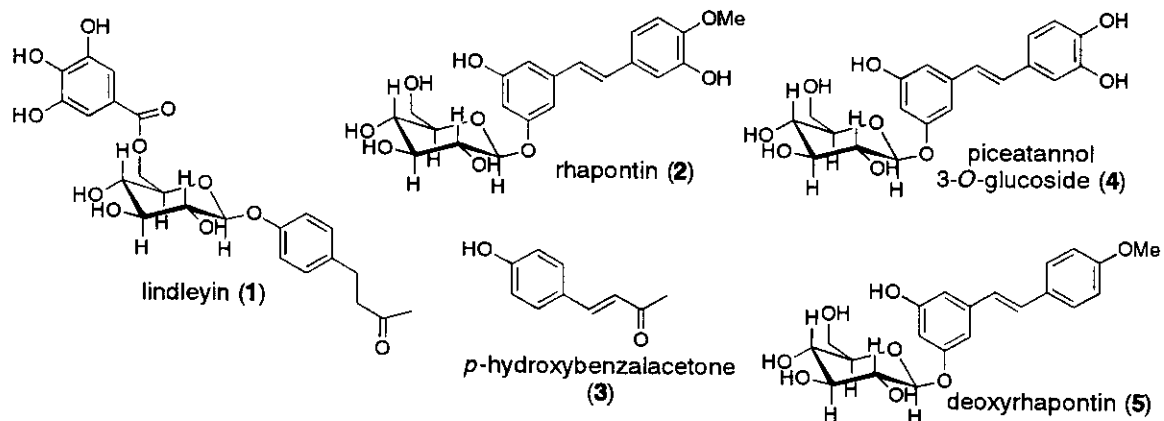
シナマオウは、発芽時の耐塩性については、ハマヨモギよりも強く、ハマダイコンと同程度であることが明らかになった。また、中国の栽培地で採集した主要な雑草は、アカザ科、キク科、イネ科およびマメ科の4科に属する植物であり、引き抜いて絶やすことが困難な雑草は、キク科のハチジョウナやノガリヤス属植物のような根茎を引いて繁殖するイネ科植物であることが明らかになった。栽培地の管理が悪く、除草を怠って雑草が大きくなると、マオウを覆って日照を妨げ、水分を含む栄養を奪い、風通しを悪くする等して、マオウの生長を妨害することが明らかになった。

アサイヤシは、株分けによる栄養繁殖(クローン増殖)の可能性が認められた。

アンジローバは、順調に生育し、高さは4mを超え、胸高直径は31.3mmに達した。また、本年夏に初めてナツメとよく似た花をつけたが、結実にはいたらなかった。

地植えした *Tabebuia* 属植物 2 種のうち、*T. chrysotricha* イペー・アマレーロは相変わらず成長が遅く、高さはまだ約 85cm である。一方、*T. impetiginosa* はやや成長が良く、高さ 3 m 弱、胸高直径 24.7 mm に達した。

ヤボランジは、鉢では極めて成長が遅く、枯死する個体もみられた。そこで、温室内に地植えしたところ、成長はいま



だに遅いが個体自体は元気になった。一方トコンは地植えよりも鉢植えが適していた。

ルリジシャの種子はエライオソーム*を有しているため、落下した種子はアリ（本園ではクロヤマアリ）にその巣穴に運ばれほとんど採種が不可能であった。これを防ぐために、種子が形成されまだ完熟していない未熟な状態で萼筒内の花盤に着床している状態の時に採種し、室内で後熟させそれを保存している。それらの種子の発芽能力は完熟後に採種し播種したものとその発芽率には大きな差異はみられなかった。この採種方法で毎年採種することができ、所定の栽培箇所での展示栽培が可能になった。

ミャンマー産ニンジンには、chikusetsusaponin- との両方が存在したという結果から竹節系ニンジンであると推定され、外部形態の特徴も一致した。

また、チクセツニンジンの中で比較すると 20(S)-protopanaxadiol 系サポニンの組成と、20(S)-protopanaxatriol 系サポニンのパターンから、ブータン産ニンジンに近く湖北産 A, B, 秋田産チクセツニンジン、サツマニンジンとは異なっていた。

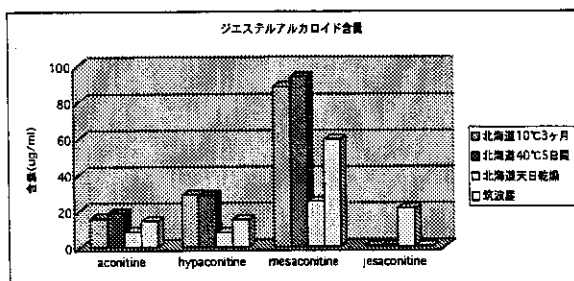
【遺伝子組み換え薬用植物の環境に与える影響】

(1) マルバダイオウ根茎のメタノー

ル抽出物のクロマトグラムは比較的単純で、3つのスチルベン配糖体：piceatannol 3-O-glucoside、rhapontin、deoxyrhapontin が検出された。しかし、lindleyin (m/z 479 $[M+1]^+$) および今回導入を予定しているベンザルアセトン合成酵素の直接の産物である p-hydroxybenzalacetone (m/z 163 $[M+1]^+$) のピークは全く検出されなかった。一方、葉柄のメタノール抽出物のクロマトグラムは多数のピークを示したが、p-hydroxybenzalacetoneをはじめ根茎で主成分であった3種のスチルベン配糖体及びlindleyinのピークは検出されなかった。

トリカブトに関しては、2003年度北海道産の乾燥条件の異なる2種(10℃ 3ヶ月および40℃ 5日間)ではほとんど違いは見られなかった。また、筑波産に関しても大きな差は見られなかったが、2002年度北海道産のパターンのみ大き

く他と異なることがわかった。すなわち、含量的には、2003 年度産はすべて mesaconitine が最も含量が高く、次いで aconitine、hyaconitine となっており、jesaconitine に関してはほとんど検出されていない。しかしながら 2002 年度北海道産は jesaconitine が最も高



含量であった。

TOFMS-四重極ハイブリッドマスによる LCMSMS において高分解能質量分析を行い、報告成分との比較を行った。*A. carmichaeli* および *A. japonicum* の報告成分を参考に、擬似イオンピーク $[M+H]^+$ の質量数をエクストラクトし、検出されたその TOFMS 高分解能マスピークにおける実測値を元に組成分析を行った。Error を 20ppm までに設定し、ヒットした組成式に目的の分子式があるかを検討した結果、*A. carmichaeli* の成分に関しては 2 化合物のみがヒットしたのに対し、*A. japonicum* の成分では 5 化合物がヒットした。(ただし、前述の 4 種類のジエステルアルカロイドを除く)。以上により、試料 No.3 の 2002 年度北海道産トリカブトはハナトリカブトではなくオクトリカブト(*A. japonicum*)である可能性が高い。

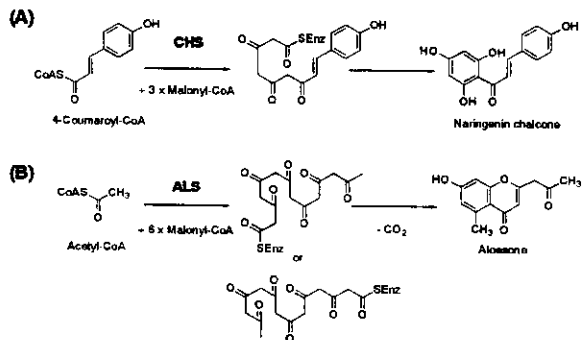
(2) オウレンは、最外にコルク層があり、繊維や石細胞が点在する点では栽培品、野生品ともに共通しているが、導管の配列について相違が観察された。栽培品では、導管は放射状に配列して

いるのに対して、野生品では環状に連なる傾向があり、複数の環が観察された。この特徴をもとに、市場品を観察したところ、野生品、栽培品が確認できた。また、野生品と思われる中心部に穴のあいたものについては、内部にもコルク層が形成されていた。

(3) 花の寿命は遺伝的に決まっているようであるが、受粉が花を閉じるのに重要な因子であることが指摘されている。受粉様式については、風媒花は世界の植物種の約 2-30% で、残りのほとんどが虫媒花である。虫媒花以外に鳥や哺乳動物も花粉を運ぶことがある。被子植物では胚珠は心皮で覆われているので、柱頭で受粉する。柱頭の形態は多様性がある。葯が柱頭の上にある花は花粉が落下するので自家受粉しやすい。自家受粉は高山、高原砂漠などの厳しい環境条件では多く見られる。風媒花は花粉が軽く空中を浮遊するので、柱頭への受粉率は悪いので、柱頭が受精可能な胚珠は 1 個に退化したものがあがる(シラカバ属、アカザ科、カヤツリグサ科、ブナノキ科、イネ科、タデ科、ガマ科、ヤナギ科)。風媒花は花粉が花に達するのが偶発的なこととは逆に、動物が目的を持って行動することによって花粉が運ばれる点が異なる。動物は蜜や花粉を栄養素として求めてくる。昆虫に媒介される例をあげると、ルリジシャの種子はエライオソーム*を有している。このエライオソームの付いた種子をアリが見つけて巣へ運ぶ。運ばれた種子は、巣の中でエライオソームの部分だけが食べられ、そのあとの種子は、巣の中のゴミ捨て場に捨てられたり、巣の外へ土と一緒に捨てられたりする。いずれにしても種子は発芽能力を失うことなく、運ばれたことになり、アリにとっ

でも、栄養に富むエライオソームを獲得できるので、双方が利益を得ることになり、アリと植物は双利共生の関係にあるといえる。このような方法で、種子を散布する植物をアリ散布植物と呼ぶ。

(4) ①先ずLC-ESIMSによる詳細な分析を行ったところ、アロエの成分である aloesone (ca 0.5 mg) と思われる結果を得た。



②ケシ（一貫種）の非形質転換体及び形質転換体は、ファイトロンで正常に生育したが、開花までの日数が前者は移植後 47 日後で草丈が 60cm であったのに対し後者は 71 日目に開花し草丈 38cm であった。さらに、アヘン中のアルカロイド成分の構成及び含量は、前者の主アルカロイドはモルヒネ（10.9%乾燥重量）であったのに対し、後者はテバイン（16.3%乾燥重量）であった。

一方、トウキの形質転換体及び非形質転換体は、地上部の生育と葉の形態が著しく異なっており、形質転換体の生育の方が旺盛であった。

③酵母 PDI は、pGEM-T easy ベクターに組み、JM109 菌にトランスフォーメーションした結果、3 個のホワイトコロニーを得た。目的とする 1 個をプラスミド単離し、PCR 法と制限酵素処理により確認を行った。更に制限酵素処理したインサート断片と pNAN8142 ベクター断片をライゲーションし、JM109 菌に

トランスフォーメーションした。このプラスミドをクロロプラストにしたコウジカビにカルシウム法によりトランスフォーメーションし、PDI 遺伝子をコウジカビに導入した。この株は親株との差はほとんど見られず、抗酵母 PDI タンパク質を用いたウェスタンブロットティング(直接染色法)を行いタンパクの発現を確認した。

オウレンの berberine, coptisine, parmatine に対して親和性を有する MAb が得られた。本 MAb を用いて競合的 ELISA を確立した結果、1.56 $\mu\text{g/ml}$ ~ 50 $\mu\text{g/ml}$ の範囲で正確な分析が可能なが判明した。

D. 考察

現在の環境条件が継続すると、開発、荒廃等では熱帯生物が、気温の上昇によると特に影響を大きく受けるのは温帯生物で約40%が50年後には絶滅すると言われている。このような環境条件の対策として、植物種の収集・栽培化による保存が求められているが、その一方生物多様性条約により海外種の導入は年々困難になっている。約楡植物の中核機関とされている筑波薬用植物栽培試験場では、その対策として国内外の機関との研究情報の交換により相互理解を深めることが重要と考え、機会をとらえては緊密な連絡に務めている。このような結果、保存種は着実に増加しているので収集した貴重な資源の保存方法の改良に取り組んでいる。

栽培による保存の場合の窒素肥料施用方法を検討したが画一的な方法では成果をあげることは困難で、今年度検討したウイキョウ、ヨロイグサでは施肥効果に差が認められた。個々の植物種についての研究が必要である。

オウレンは春期に小さく切った根茎を植え付けることによりクローン増殖が可能であることを明らかにした。今回開発した色彩計を用いる方法によりオウレンの根茎の少量を用いてベルベリン含量を定量し、国内の植物園から品質的な優良株を見いだすことが可能になった。

E. equisetina の配列には2つの type が存在していた。これらの2つの type は基原植物の産地と良く対応しており、*E. equisetina* には地理的分布の異なる少なくとも2つの系統が存在していることが推定される。*E. equisetina* の2つの配列タイプはいずれも他の3種とは明確に異なっており、*E. sinica* と同様に *chlB* 遺伝子の塩基配列から容易に同定可能である。本研究によって得られた成果は、麻黄の遺伝子鑑別を実現するための基礎資料を提供するものである。

中国における麻黄栽培においては、灌水と雑草対策がもっとも重要であることが明らかになった。しかし、多雨なわが国での栽培では灌水には問題がなく、却って雑草対策が中国における栽培以上に問題となることが予想される。本研究である程度の耐塩性があることが明らかになったことから、今後、雑草が少ない海岸砂地での栽培を試みることも必要である。マオウ栽培に対する雑草被害を防ぐための効果的な対策は植物の生活型と関係させて研究する必要がある。

アンジローバとジュアは、温室内（あるいは暖地）であれば、栽培は比較的容易で、ジュアは開花が確認された。今後は、屋外での栽培試験を実施し、その適応性をさらに検討する予定である。

アサイヤシは、株立ちの特性を示し、株分けによる栄養繁殖ができる可能性が示された。今後は、本学の温室の環境条

件で開花・結実までに要する期間を確認する予定である。

ヤボランジ、トコン、オオイナゴマメ、パラゴムノキには高温条件が必要である。

ミャンマー産ニンジンに存在するサポニンの種類は、他のチクセツニンジンに比べて遜色なくサツマニンジン、湖北産チクセツニンジン、秋田産チクセツニンジンよりも多いので、薬用植物としての有用性は高いと推定できる。しかしながら、今回は量的に極少量で定性のみなので、今後は定量を行いサポニンの含有量を決定する予定である。

今回用いたマルバダイオウの根茎の主成分はスチルベン配糖体であり、生合成遺伝子の導入を予定している *p*-hydroxy-benzalacetone およびこれから誘導される *lindleyin* は検出されなかった。根茎ではスチルベン誘導体が主成分であることから、同じ原料を生合成前駆体とするベンザルアセトンの合成酵素を導入し、その発現を調べるのには非常によい材料であることがわかった。一方、葉柄にも *lindleyin* 等は含まれていなかったが、スチルベン配糖体の含量も少ないため、ベンザルアセトン合成酵素が葉柄で発現しても、フェニルブタノイドの蓄積がほとんど見られない可能性も考えられた。

トリカブトは、保存方法、乾燥方法の違いから大きくジエステルアルカロイドの含量比が異なるということはないことが確認された。HPLC と TOFMS による高分解能質量分析により、その成分を分析した結果、短時間に基原植物の特定が可能であった。他の試料についても高分解能質量分析を行い、成分の特定をしていくとともに、未確認のメジャーピークについては一部単離精製も行い確定するこ

とにより、今後の実験の基礎データとする。

野生植物を栽培化することにより、意図的あるいは意に反して、トウキ、ムラサキのように外観が顕著に変化する場合がある。今回観察をおこなったオウゴンについては、外観上の違いはあまり認められないが、内部構造に大きな違いが観察された。この相違は、直径が同程度でも生育年数が異なることに基因しているものと考えられる。今後、栽培品について経時的に内部形態を調査する必要がある。今回、栽培植物と野生植物由来の生薬の内部形態について相違点を明らかにできた。多くの薬用植物は野生品由来であり、遺伝子組み換え薬用植物は栽培品となることから形態で区別できる可能性が示唆された。

植物の変異は周辺の動物を巻き込みながら進化している。種の進化は新しい遺伝子の配列が見つけ出されると考えられる。遺伝子組み換え植物体を保存し、自然界との交配を防ぐためには、今まで述べてきたような植物の特徴を正確にとらえることが大切である。個々の植物の注意深い観察から交配方法、隔離方法や保存方法が見出されると思われる。

日本におけるアリ散布植物としては、スマレ属、イチリンソウ属、フクジュソフクジュソフクジュソウ属、ミスミソウ属、キケマン属、クサノオウ属、エンレイソウ属、カタクリ属などに200種類存在する。今後、組替え体の交雑等環境に与える影響を測定するにはアリの行動範囲等を特定することが必要である。

ダイオウにおけるaloesoneの生合成は検討されたことはない。しかしダイオウの成分としては顕著なものではないものの、既に微量単離されたという報告もあ

り（西岡、柏田私信）、本植物の成分の構成全体を勘案して、この生合成活性は本遺伝子の生理的な機能として考える上でかなり高い蓋然性を有しているといっても良いと思われる。

Rhizobium 属細菌による DNA の植物ゲノム中への挿入は、自然界でも起こる現象として認知されており、組換え生物の規制を受けないが、植物の遺伝子に細菌由来の外来遺伝子が挿入される点は遺伝子組換え現象と同一である。今年度は、*Rhizobium* 属により形質転換された植物体と非形質転換体との比較を行った。ケシ形質転換体のアルカロイド生合成能の改変は、挿入された T-DNA の影響によるものと推察される。今回の改変した性質及び T-DNA の伝搬を精査することにより、非形質転換体との交配時に生じる影響のモニタリングが可能と考えられる。

E. 研究発表

1. 論文発表

○Ikuro Abe, Yoriko Utsumi, Satoshi Oguro and Hiroshi Noguchi; The first plant type III polyketide synthase that catalyzes formation of aromatic heptaketide, *FEBS Letters*, 562, Issues 1-3, 171-176 (2004)

○Masayuki MIKAGE, Akira TAKAHASHI, Hu-Biao CHEN and Quan-Song LI, Studies of *Ephedra* Plants in Asia. Part 1. On the resources of *Ephedra* plants in China, *Natural Medicines*, 57(5), 202-208 (2003).

○Masayuki Mikage, Naoko Kondo, Michiyo Yoshimitsu, Ikumi Nakajima and Shao-qing Cai, Studies of

Ephedra Plants in Asia. Part 2. On the Current situation of the Cultivation of *Ephedra* Plants in China, *Natural Medicines*, 58, (2004) 投稿中.

G. 知的財産権の出願・登録状況
なし

2. 学会発表

○関田節子, 麻黄の試験栽培, 薬用植物フォーラム2003, 筑波研究交流センター (2003年7月)

○御影雅幸, 日本生薬学会第50年会 (2003年9月, 東京) で次の2報を発表。中国産マオウ属植物の研究(4), 核内DNAの解析; 中国産マオウ属植物の研究(5), 1栽培地における草質茎のアルカロイド含量と形態の変異。

○御影雅幸, 日本薬学会第124年会 (2004年4月, 大阪) で次の6報を発表する。中国産マオウ属植物の研究(6), 栽培状況について; 中国産マオウ属植物の研究(7), 麻黄栽培地の雑草について; 中国産マオウ属植物の研究(8), 種子発芽時の耐塩性; 中国産マオウ属植物の研究(9), 四川省産「麻黄」の原植物; 中国産マオウ属植物の研究(10), 核及び葉緑体 non-coding DNA の解析; 中国産マオウ属植物の研究(11), 漢薬「麻黄」の古来の原植物に関する考証研究。

○御影雅幸, 中国の麻黄資源と栽培問題, 薬用植物フォーラム2003 (2003年7月18日, つくば市)

○御影雅幸, 日本東洋医学会・ランチョンセミナー (2003年5月18日, 福岡市)

○阿部郁朗, 内海依子, 佐野幸恵, 小黒聡, 野口博司, 大黄由来新規III型ポリケタイド合成酵素の機能解析 日本薬学会第124年会 (大阪) 31-P2-440 (2004)

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
遺伝子組み換え薬用植物の環境に与える影響に関する研究
分担研究報告書

ハトムギの種苗特性と交雑について

分担研究者 飯田 修 国立医薬品食品衛生研究所
筑波薬用植物栽培試験場栽培研究室長

ハトムギ *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf は風媒花であり、花粉は容易に飛散する。野外におけるこれらの系統の維持・保存には、目的外遺伝子の交雑が起こらないよう十分な注意が必要である。ハトムギの新品種の育成に当たり、種苗特性表を作成し、質的形質である葉身色、葉鞘色及び柱頭の色が種子の混入や交雑の確認に有用な指標となることを認めた。種苗特性表の作成は、遺伝子組み換え薬用植物の環境に与える影響を研究する上で、指標となる形質の確認等有用な情報を提供する。

A. 研究目的

ハトムギ *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf は風媒花であり、花粉は容易に飛散する。また、自殖も他殖も可能であるため、野外に於ける系統の維持・保存には、目的外遺伝子の交雑が起こらないよう十分な注意が必要である。

筑波及び北海道薬用植物栽培試験場ではハトムギの新系統を育成しており、その一貫として種苗の特性を調査してきた。各形質の植物種特有の特性、特に外部形態的な特異点や他者との区別点は、種を特定する上での指標となるとともに種の交雑に関するマーカーとしての活用が期待できる。

ここでは、3系統のハトムギについて種苗特性調査を行い、系統識別が可能な指標形質についての知見を得る。また、ハトムギにおける葉緑体 DNA の塩基配列情報について、基礎的な検討を行った。

B. 研究方法

1. 種苗特性調査に用いたハトムギ系統は、1) 岡山在来種（基準種）、2) 国立衛研筑波試験場育成系統、3) 同北海道試験場育成系統であった。

2003年5月6日、条間75cm、株間30cmの間隔で播種し、1株1本植えとした。畝の長さ10mを1畝として、各系統2畝を供した。施肥量等肥培管理は慣行法に従い、特性調査は特性審査基準に準じて行った。

2. DNA 塩基配列に基づく系統比較には、8系統のハトムギを用いた。以下の葉緑体 DNA 領域をダイレクトシーケンス法で配列を決定し、系統間の比較を行った。

(1) *rpl16* 及び *rpl16-rpl14* 介在配列領域、(2) *atpF-atpA* 介在配列領域、(3) *trnL*(UAA)5'exo-*trnL*(UAA)3'exon 領域、(4) *trnL*(UAA)3'exo-*trnF*(GAA)領域

C. 研究結果

1. 種苗特性調査

表 1 に種苗特性表 (一部) を示す。質的形質は栽培条件や栽培環境に拘わらず、安定した明瞭な識別点となる。供試 3 系統中、質的に明瞭な形質は葉身色、葉鞘色、柱頭色であった。葉身色及び葉鞘色は黄緑色と赤紫色に、柱頭色は白色と赤紫色にそれぞれ 2 分された。種子 (果実) の色は個体毎に微妙に異なり、連続性のある変異を示した。

北海道育成系統は短稈で、開花が早く早熟性を示した。草丈や開花日は極めて重要な形質であるが、これらは地理的条件や気候の影響を強く受けると思われる。

2. 葉緑体 DNA 塩基配列情報

ハトムギにおける下記各領域の塩基配列を決定した。塩基長は以下のとおりであった。

- (1) *rpl16* 及び *rpl16-rpl14* 介在配列領域では前者が 398bp, 後者が 108bp.
- (2) *atpF-atpA* 介在配列領域では 90bp.
- (3) *trnL(UAA)5'exo-trnL(UAA)3'exon* 領域では 524bp.
- (4) *trnL(UAA)3'exo-trnF(GAA)* 領域では 427bp.

供試 8 系統のハトムギでは、塩基配列に差がなかった。

D. 考察

ハトムギの葉身色、葉鞘色、柱頭色は、それぞれ連動し、識別が極めて明瞭な形質である。その情報のみから系統を特定できないが、種子の混入或いは交雑の確認には容易で有用な指標となる。

過去の知見から、葉身、葉鞘及び

柱頭の色は、赤紫色が優性であること、交配雑種 F2 世代では赤紫色と白色 (黄緑色) の比が 3:1 に分離すること等が判明している。

これらの情報もまた、遺伝子組み換え薬用植物の環境に与える影響を確認する上で有用と思われる。

植物の属種及び変種間の識別に用いる葉緑体 DNA の 4 種の領域では塩基配列に差が見られず、ハトムギの系統間を識別できなかった。今後他の手法を検討する必要がある。

E. 結論

1. ハトムギにおける質的に明瞭な形質は葉身色、葉鞘色、柱頭色に見られ、葉身色及び葉鞘色は黄緑色と赤紫色に、柱頭色は白色と赤紫色にそれぞれ 2 分された。これらの形質は種子の混入或いは交雑の確認の為の、容易で有用な指標と思われた。
2. ハトムギでは、葉緑体 DNA に関する 4 種類の領域における塩基配列には差が見られず、各系統を識別することが出来なかった。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

遺伝子組み換え薬用植物の環境に与える影響に関する研究

分担研究者 国立医薬品食品衛生研究所 北海道薬用植物栽培試験場 柴田敏郎

新しい機能を有した遺伝子組み換え体創出による環境生物への影響、即ち、花粉の拡散による環境生物への影響等、想定されるリスクの回避法の研究にあたり、セリ科の多年草ヨロイグサとウイキョウを材料として、それらの生育特性に関する基礎的研究を行った。ウイキョウについて、窒素肥料施用方法が生育に及ぼす影響を検討した結果、春期の窒素肥料の施用は茎葉の生育及び種子重量の増加に貢献することが判明したが、茎の倒伏による種子への土砂の付着等生薬の品質や収穫の作業性を考慮すると、窒素肥料施用は春期には控え、夏期に 1 株当たり 5～10g 程度施す方法が適当と考えられた。また、種子の採取時期について検討した結果、精油含量や外観からみて、開花後 44～50 日目程度が好ましく、遅くとも 55 日目までには収穫を終了することが望ましいと考えられた。ヨロイグサの生育及び活性成分に及ぼす肥料条件の影響を検討した結果、秋の収穫期における根乾物重には試験区間に有意な差は認められず、10a 当たり窒素 7.5～10kg、リン酸 9～12kg、カリ 7.5～10kg を標準として施用すればよいと考えられた。

A. 研究目的

薬用植物資源の供給の現状はほぼ 80% が野生植物の採取に依存している状態であり、麻黄、甘草の中国からの輸入が制限されている現状の中、これらの生薬はじめ薬用植物資源の確保は緊急な課題となっており、バンク化にむけての国内外からの資源の導入、保存法の確立と利用の研究が重要となってきた。

一方、資源の活用において、生物多様性条約による国際的な問題がからみ、現在カルタヘナ議定書が検討されている。

また、薬剤耐性や環境の変化に対応した薬用植物や、薬用成分の増量を目指した遺伝子組み換え体の研究・開発が求められているが、新しい機能を有した遺伝子組み換え体創出による環境生物への影響、昆虫等を媒介した花粉の拡散による環境生物への影響等、想定されるリスクの回避法を研究することは極めて重要である。そのためには、材料植物の生育特性に関する基礎的な研究や遺伝子組み換え植物の生態系モデルへの影響の調査は不可欠である。

以上のような薬用植物資源をとりまく状

況から、今年度は、材料植物としてセリ科の多年草であるヨロイグサとウイキョウをとりあげ、それらの生育特性ならびに活性成分に及ぼす栽培条件等の要因の影響について検討を行った。

B. 研究方法

1) ウイキョウ (*Foeniculum vulgale* Mill.) の栽培について：①窒素肥料施用方法が生育に及ぼす影響；窒素肥料の施用量を1株当たりN分で、0, 5g, 10g, 15gの4水準、施用方法を、春期(5月下旬)及び夏期(8月上旬)に、各々全量施用の場合と半量づつに分与する場合の組み合わせ(9試験区)を設定した。昨年は、1年目の生育や種子収量に及ぼす窒素の施用量や施用時期の影響について検討し、1株当たり10g程度が適量であり、施用方法として基肥と夏期の追肥とに半量づつに分与する方法が効率的と考えられることを明かにしてきた。今年度は2年目の生育について検討を行なった。②精油含量に及ぼす種子の登熟期間の影響；3年生株を用い2003年7月18日から8月7日まで20日間、600株を対象にして開花した20以上の花房をランダムにマークした。果実の採取可能な状態となった同年9月16日から25日まで採取作業を行い、開花日から起算して41～65日目までの24種類の種子サンプルについて精油含量及び外観の比較を行った。

2) ヨロイグサ (*Angelica dahurica* Benth. et Hook.) の生育及び活性成分に及ぼす肥料条件の影響：昨年までに、セル苗を利用した1年栽培における栽植密度の違いが生育に及ぼす影響について検討し、根重は9月から10月下旬にかけて急速に増加率が高まること、株間が広がるほど根数は増

加し、10月下旬における1個体当りの乾燥根重は株間20cm区で36g, 30cm区で47g, 40cm区で67gを示すことを明かにした。

今年度は、1年栽培における施肥量が生育及び収量に及ぼす影響について検討を行なった。窒素 5～15kg/10a, リン酸 6～18kg/10a, カリ 5～15kg/10a の範囲で4つの試験区を設定し、夏から秋の生育を経時的に比較した。

C. 研究結果

1) ウイキョウの栽培について：①窒素肥料施用方法が生育に及ぼす影響；1株当たり茎葉乾物重は、春期に施したグループで高く、これは主茎の分枝及び分けつ茎の分枝の乾物重の増加によるものであることが判明し、無窒素区では著しく劣る結果であった(Table 1)。また、種子の重量は、茎葉乾物重同様に春期に施したグループで高く、有意差が認められ、これは分けつ茎の分枝に着生する種子の重量の増加によるものであった(Table 2)。草丈は、春期に施したグループがやや高まる結果となったが、施さなかったグループ間との差は少なく、窒素肥料による草丈の制御は限界があるものと考えられた。分けつ数も、草丈とほぼ同様の傾向が認められた。②精油含量に及ぼす種子の登熟期間の影響；精油含量は、登熟日数の経過とともにゆるやかに低下する傾向であったが、統計的には相関性が低く、本設定の範囲(41～65日目)では含量に及ぼす登熟日数の影響は少ないと考えられた。すべてのサンプルの含量は、JP14の規定値を十分満たすものであった。また、分果の状態は、44～50日目までは鮮やかな緑色を呈すが、登熟日数の経過にともない順次褐色を帯び、51日から55日目では約

50%の分果が褐色となり、60日目以降ほぼ完全に褐色となった。61日目以降では分果は完熟状態となり、軽く触れただけで果柄から落下する状態であった。

2) ヨロイグサの生育及び活性成分に及ぼす肥料条件の影響：根径、根数、乾物重ともに N: P: K=5:6:5 kg/10a 与えた区に対し、N: P: K=7.5~15:9~18:7.5~15 kg/10a 施用した区が大きくなる結果であったが、統計的な有意差ではなかった。フロクマリン類、希エタノールエキス量は試験区間に差は認められなかった。10a 当りの窒素吸収量は 11 月の収穫期において、根で 12.5~15.4kg、地上部で 2.4~3.3kg を示した。

D. 考察

1) ウイキョウの栽培について：①窒素肥料施用方法が生育に及ぼす影響；春期の施用は茎葉の生育及び種子重量の増加に貢献することが判明したが、多量に施した場合、茎葉が過繁茂状態となり、茎の倒伏が発生しやすい状況となり、種子への土砂の付着による品質の低下や収穫作業が困難な状況を招く。従って、茎の倒伏が発生しにくい、効率的な栽培には、窒素肥料は春期には控え、夏期に 1 株当たり 5~10g 程度施す方法が、適当と考えられた。②精油含量に及ぼす種子の登熟期間の影響；精油含量や外観からみて、生薬を目的とした分果の収穫は開花後 44~50 日目程度が好ましく、遅くとも 55 日目までには収穫を終了することが望ましいと考えられた。一方、増殖を目的とした果実の採取には、完熟状態となる 60 日目以降が適当と考えられた。以上の結果は前年度と同様であり、再現性が認められた。

E. 結論

1) ウイキョウの栽培について：春期の窒素肥料の施用は茎葉の生育及び種子重量の増加に貢献することが判明したが、多量に施した場合、茎葉が過繁茂状態となり、茎の倒伏が発生しやすい状況を招くため、生薬の品質や作業性を考慮すると、窒素肥料は春期には控え、夏期に 1 株当たり 5~10g 程度施す方法が適当と考えられた。また、種子の採取時期について、精油含量や外観からみて、生薬を目的とした分果の収穫は開花後 44~50 日目程度が好ましく、遅くとも 55 日目までには収穫を終了することが望ましいと考えられ、本結果は再現性が認められた。

2) ヨロイグサの生育及び活性成分に及ぼす肥料条件の影響：今年度の試験では秋の収穫期における根乾物重には試験区間に有意な差は認められず、従って、10a 当たり窒素 7.5~10kg、リン酸 9~12kg、カリ 7.5~10kg の施肥を標準として施用すればよいものと考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 柴田敏郎，成瀬ひとみ，沢井清道，中根孝久，関田節子：寒冷地におけるマオウ (*Ephedra distachya*) の生育，アルカロイド及び無機成分含量について
日本生薬学会北海道支部第 27 回例会，講演要旨集 p28 (2003. 5, 札幌) .

2) 熊谷健夫，柴田敏郎，姉帯正樹：ヨロイグサの栽培に関する研究 (第 1 報) 1 年生栽培における栽植密度が生育，収量及び成分含量に及ぼす影響

日本生薬学会北海道支部第28回例会(2003.
5, 札幌) 発表予定.

G. 別添資料

・ウイキョウの乾物重比較結果 (Table 1,
2).

Table 1 Effect of nitrogen fertilizer application on dry weight of stems and branches in 2-year-old plants of *Foeniculum vulgale* Mill..

Plot No.	Treatment	Stems		Branches		Total
		Main stem	All tillers	On main stem	On all tillers	
Non-basal(non-spring) dressing group						
1	0--0	70.4	146.0 d	35.3	57.0 bcde	308.6 cd
2	0--5	60.5	167.4 cd	27.3	37.8 de	293.0 cd
3	0--10	63.6	151.8 d	19.8	33.0 e	268.2 d
4	0--15	68.0	213.6 abc	37.3	69.2 abc	388.2 ab
Basal(spring) dressing group						
5	2.5--2.5	67.2	197.1 bcd	38.0	60.1 bcd	362.4 bc
6	5--0	59.7	190.7 bcd	33.5	51.3 cde	335.2 bcd
7	5--5	83.4	216.5 abc	51.4	87.5 a	438.9 a
8	10--0	78.4	246.9 ab	50.6	78.5 ab	454.5 a
9	7.5--7.5	65.9	260.1 a	41.7	86.2 a	453.9 a
Significant level		NS	**	NS	**	**
LSD (0.05)			60.5		24.9	75.6
Non-basal(non-spring) dressing group						
	Mean	65.6	169.7	29.9	49.2	314.5
Basal(spring) dressing group						
	Mean	70.9	222.3	43.0	72.7	409.0
t -test		NS	*	*	NS	*

Values are the mean of 6 plants. Values with different small letters are significant different from each other at the 5 % level. NS represents not significant.

Table 2 Effect of nitrogen fertilizer application on dry weight of seeds.

Plot No.	Treatment	Terminal flower clusters on		Flower clusters of branches on		Total
		main stem	all tillers	main stem	all tillers	
Non-basal(non-spring) dressing group						
1	0--0	3.6	11.6	12.1 b	17.7	45.0
2	0--5	2.1	15.0	13.5 b	23.0	53.6
3	0--10	2.7	15.0	14.2 b	24.8	56.7
4	0--15	2.8	17.4	15.1 b	21.4	56.7
Basal(spring) dressing group						
5	2.5--2.5	2.2	12.3	15.4 b	30.8	60.7
6	5--0	2.8	14.5	13.7 b	28.8	59.8
7	5--5	2.7	19.3	16.2 b	22.1	60.3
8	10--0	4.3	15.5	26.8 a	38.5	85.4
9	7.5--7.5	4.0	19.7	10.0 b	25.3	59.0
Significant level		NS	NS	*	NS	NS
LSD (0.05)				8.50		
Non-basal(non-spring) dressing group						
	Mean	2.8	14.7	13.7	21.7	53.0
Basal(spring) dressing group						
	Mean	3.2	16.2	16.4	29.1	65.0
t -test		NS	NS	NS	*	*

Notes are the same as Table 1.

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療など研究事業）

分担研究報告書

薬用生物資源の種子保存法確立における研究基盤整備に関する総合的研究

分担研究者 香月茂樹 国立医薬品食品衛生研究所
種子島薬用植物栽培試験場長

中国が麻黄の輸出禁止措置を 1999 年 1 月に講じ、緊急の対策が必要となったため、同年 5 月から栽培試験の実施に踏み切った。筑波保存の麻黄の優良系統であるフタマタマオウ (*Ephedra distachya* Vill. 系統番号：Ep-13) の栽培試験を、北海道・筑波とともに、5 年間実施した。法規定値の総アルカロイド含量 0.7% 以上は定植 1 年目以降はすべて適合していた。生育期間が長く、生育旺盛なため、栽培には適していると思われる。

種子島での植物種子の採種を実施し、448 点〔野生種：268 点、栽培種：180 点（露地：172 点、温室：8 点）〕を達成した。種子島は気候的・地史的に特異的なため、狭隘なこの地に南北の植物が混生できる希有な地域であることが、この採集した種子からも裏付けられた。

A. 研究目的

かつては生薬の多くを諸外国から自由に輸入出来た時代もあったが、近年は 90% 以上を輸入しなければならない事態になっているにもかかわらず、環境保全や国家戦略の一環として輸出禁止・制限措置を講ずる国も出現している。漢方生薬のほとんどを中国に依存している現状の中、その要薬であるカンゾウやマオウの輸出禁止措置が取られる事態となった。このような状況の下、生薬の入手を国内外から図るべく、その栽培の可否・技術確立基礎のデータ取得に乗り出した。薬用植物栽培試験場では設立当初から、国内・諸外国より積極的に遺伝子資源として有用植物の蒐集にあたり、多くの種・系統の蓄積があり、この

マオウに関しては幸いにも春日部試験場時代に入手していた優秀な系統の保存株があり、これを用いて栽培試験を実施することとした。

今日における種苗の入手は、一方的にできる時代ではなく、Give and Take の時代となっている。このため、多くの種の種子を保有していれば、多くの地域の諸機関との種苗の交換も可能となり、囑望している種苗の入手の可能性も高くなる。このことから、多くの氏の採種を行い、保存しておく必要がある。しかし、野生種の種子の保存法が確立されている種は少なく、多くは今後の研究にかかっている状態である。

B. 研究方法

1. マオウの種子島での生育

1999年5月11日定植：筑波試験場の保存系統 (*Ephedra distachya* Vill. フタマタマオウで春日部試験場時代からの保存株 Ep-13 で高成分含量の個体) 大株 70 株 (1株ずつ) と小株 70 株 (2株ずつ) を栽植密度 70cm × 40cm で、終日十分な日照がある砂壤土を定植した。肥料は基肥を 1 a 当たり堆肥 100kg・油粕 10kg・苦土 石灰 10kg とし、追肥はしなかった。毎月定日に調査・収穫した。

2. 種子島での採種

国内外の試験研究機関との種苗交換事業の一環として、採種は長年に亘って実施し、採種記録 (時期・場所など) を行っているため、それに基づいて採種する。

日

C. 研究結果

に

1. マオウの種子島での生育

冬季の一時期を除き生育した。2002年1月以降、走出茎の生育により、隣接株との区別が不明瞭となった。定植3年目

(2001年)に開花が見られた。成株の草丈は 65cm 前後であった。株毎の生育の差

が大であった。成株の乾燥歩留まりは約 37.4%で、特に季節による目立った差異は認められなかった。地上部全部の収穫では、季節によっては株の枯死が生じるように思われた。第十四改正日本薬局方での総アルカロイド量は 0.7%以上と規定されている

種類には種々の変化が生じた。種子島は降霜・無霜の両地域を包含するため、下記のような温帯地域の植物、亜熱帯・熱帯地域の植物の双方を採種できた。

温帯地域の植物：オニグルミ、ムクノキ、ヤマザクラ、タラノキ、コガネバナ、オミナエシ、オオバナオケラ、ハナスゲ、アミガサユリ等

亜熱帯・熱帯地域の植物：ツルソバ、フウトウカズラ、ハカマカズラ、クスノハガシワ、センダン、オオハマボウ、バンジロウ、キバナ

キョウチクトウ、インドジャボク、モンパノキ、クミスクチン、キダチトウガラシ、サンピロート、クロツグ、クワズイモ、ゴクラク

また、地史的には生物分布の境界線である渡瀬線 (奄美大島と屋久島・種子島の間に位置し、インド・マレー植物区系区と中国・

本植物区系区の境界と考えられている。)

隣接する位置にあるため、北限・南限の種を得ることが出来た。

北限：シマグワ、コンロンカ、タシロルリミノキ、イボタクサギ、タンゲブ、クサ

ベラ、テッポウユリ等

南限：アカガシ、ハマナデシコ、タケ

グサ、カワラサイコ、クララ、ネジキ、ウツボグサ、ヤクシソウ、トダシバ、ケカモノハシ、シバ等

希少種として、タチバナ、タカクマムラサキ、オオハマギキョウ等

総数 448 点、そのうち野生種が 268 点、