

図1 洗浄処理したトウキ種子の低温(5°C)貯蔵1年後の発根率(%:左)および出葉率(%:右)の推移

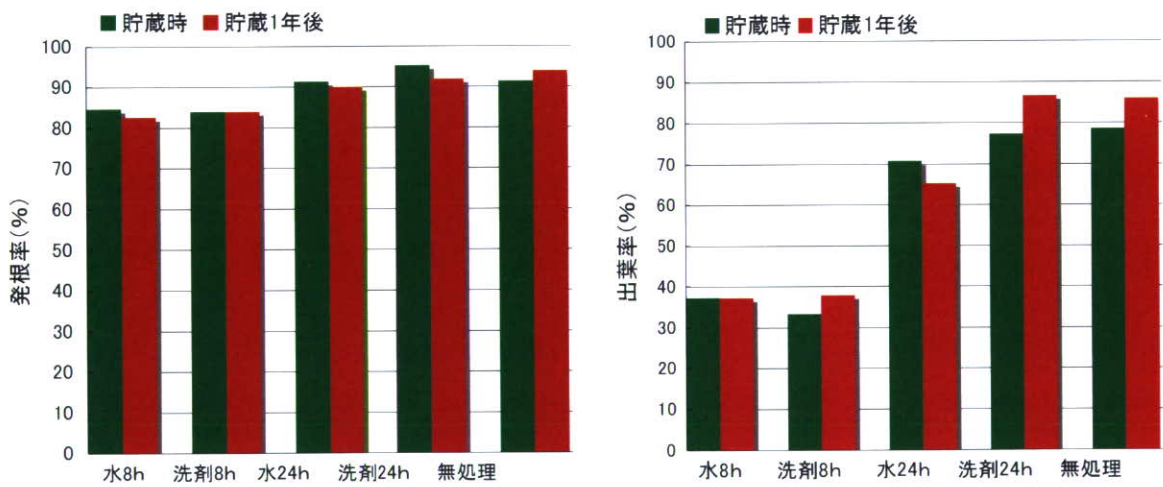


図2 洗浄処理したトウキ種子の貯蔵時および低温(5°C)貯蔵1年後の発根率(%:左)と出葉率(%:右)

薬用植物種子の発芽試験法に関する研究

分担研究者 木内文之 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター・センター長
協力研究者 菱田敦之 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター筑波研究部・主任研究員
協力研究者 熊谷健夫 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター筑波研究部・主任研究員

要旨 薬用植物における種子の発芽条件および保存法の情報を整備する目的で、10品目の薬用植物について発芽試験の条件を検討し、発芽試験に適した条件として次の結果を得た。ハトムギ（つくば）は、温度条件が25℃、発芽の調査期間は、置床後7日目から35日目。ハトムギ‘北のはと’は、25℃、3日目～28日目。ベニバナ（つくば）は、20℃、3日目～28日目。トウキは、25℃、10日目から42日目。エビスグサは、25℃、10日目～70日目。ヒナタイノコズチおよびトウイノコズチは、25℃、5日目～16日目。チョウジソウは、種子を切傷処理、25℃、3日目～28日目。

また、トウイノコズチおよびヒナタイノコズチの種子は、保存容器をポリ瓶とし-1℃の種子保存庫で保管する方法が有効であると思われた。

A. 研究目的

種子の生存や寿命を知るためには、種子の発芽（率）を確認することが不可欠である。現在、種子の低温長期保存を行うに当たり、貯蔵前の発芽率を確認し、発芽率の高い、生存が確認された種子を貯蔵対象にしている。さらに、貯蔵中の生存状況を定期的に確認し、生存率が低下してきた場合には速やかに種子を更新・再生産する必要がある。一連の発芽率確認の過程で、発芽まで長期間を要するもの、全く発芽しないものなど多々確認されている。薬用植物は、野生あるいは野生に近いものが多く、種子の休眠性や発芽条件等の情報が充分整備されていないことから、これらの情報を整備し、薬用植物の生産や資源保存技術の研究の基盤を整備することが急務である。

本研究では、薬用植物の発芽試験に必要な温度、試験期間等を設定するため、

薬用植物10品目について発芽試験法の至適条件を検討した。さらに難発芽性種子について発芽促進処理法を検討した。また、薬用植物種子の発芽試験に関する既存情報の収集の一環として、国際種子検査規定の中から薬用植物に関する規定を抜粋し、整理した。

B. 研究方法

供試材料：

対象とした植物は、1. 使用頻度が高い生薬の基原植物、2. 日本で栽培できる植物を対象とした。また、センター内で種子が容易に再生産できるもの、種子の入手が容易であることを考慮した。平成19年度の対象植物は次の通りである。

・ ハトムギ（つくば）

2006年筑波研究部生産種子

Coix lacryma-jobi L. var. *ma-yuen*
(Roman.) Stapf

- ・ ハトムギ ‘北のはと’
2006年北海道研究部生産種子
Coix lacryma-jobi L. var. *ma-yuen*
(Roman.) Stapf
 - ・ ベニバナ (つくば)
2006年筑波研究部生産種子
Carthamus tinctorius L.
 - ・ トウキ (富山薬事指導所系)
2007年筑波研究部生産種子
Angelica acutiloba (Siebold et
Zucc.) Kitagawa
 - ・ ホッカイトウキ (北大系)
2007年筑波研究部生産種子
Angelica acutiloba (Siebold et
Zucc.) Kitagawa. var. *sugiyamae*
Hikino
 - ・ エビスグサ
2006年筑波研究部生産種子
Cassia obtusifolia L.
 - ・ ヒナタイノコズチ
2006年筑波研究部産種子
Achyranthes fauriei Lév. et Vaniot
 - ・ トウイノコズチ
2001年筑波研究部産種子
Achyranthes bidentata Blume
 - ・ チョウジソウ
2006年筑波研究部生産種子
Amsonia elliptica (Thunb.) Roem. et
Schult
 - ・ セリバオウレン
2007年筑波研究部生産種子
Coptis japonica (Thunb.) Makino var.
dissecta (Yatabe) Nakai
- 発芽試験：**
蓋付きプラスチックケースにろ紙を2枚敷き、発芽床 (78 x 142 mm) とした。発芽床は、10~12 mLの蒸留水で湿潤させた。50粒 (ハトムギは30粒) の種子を置床し、温度15~30℃ (一定) に設定したインキュベーター内で発芽試験を行った。発芽試験時の照明条件は、12時間の明暗サイクルで行った。
- 種子の処理法：**
発芽試験で著しく発芽が遅い植物、

発芽率が低い植物については、催芽処理法を検討した。

1. 次亜塩素酸を用いた種子の洗浄 (次亜塩素酸処理)

種子をエタノールに浸漬して5分間攪拌した後、種子を蒸留水でよく洗浄した。次に、種子を、次亜塩素酸溶液 (有効塩素濃度1%) に浸漬して15分間攪拌し、その後種子を蒸留水でよく洗浄した。

2. 切傷処理法

切傷処理は、チョウジソウのみ行った。チョウジソウの種子は、円柱状で、その両端は中心部よりもやや細い形状であるが、この一端の表皮を鋭利な刃物で除去し、種子内部の胚乳がわずかに露出するようにした。このとき種子の胚および胚乳を損傷しないように極めて慎重に処理した。

薬用植物種子の発芽試験に関する既存情報の収集：

国際種子検査規定 (農林水産省種苗管理センター平成3年3月版) の中から主な薬用植物に関する規定を抜粋し、整理した。

C. 研究結果

- ・ ハトムギ (つくば) は、温度25~35℃の範囲で発芽率が高く、至適温度は30℃付近と推定した。この温度域では、発芽は、置床後10日目から始まり30日ではほぼ終了した (表1)。
- ・ ハトムギ ‘北のはと’ は、温度の増加に伴い発芽率が増加したが、温度20~30℃の範囲で最終発芽率が高かった。この温度域では、発芽は、置床後、5~11日目から始まり26~30日で終了した (表2)。
- ・ ベニバナ (つくば) は、15~25℃の範囲で発芽率が高く、至適温度は20℃付近と推定された。この温度域では、発芽は、置床後4~6日目から始まり22~28日で終了した (表3)。
- ・ トウキ (富山県薬事指導所系) は、

温度15～25℃の範囲で最終発芽率が高かった。この温度域では、発芽は、置床後14～21日目に始まり42日目で終了した(表4)。次亜塩素酸を用いた種子の洗浄法には、明確な効果が認められなかった。

- ・ ホッカイトウキ(北大系)は、温度15～25℃の範囲で最終発芽率が2.0～4.7%であった(表5)。

- ・ エビスグサは、温度の増加に伴い発芽率が増加し、至適温度は30～35℃付近と推定した。この温度域では、発芽は置床後、4～6日目から始まり68日目で終了した(表6)。

- ・ ヒナタイノコズチは、温度20～25℃の範囲で最終発芽率が高かった(表7)。この温度域では、発芽が置床後6日目に始まり16日目にほぼ終了した。

- ・ トウイノコズチは、温度20～25℃の範囲で最終発芽率が高かった(表8)。この温度域では、発芽は、置床後6日目に始まり16日目にほぼ終了した。

- ・ チョウジソウは、未処理の種子では発芽が認められず、種子の表皮の一部を切傷すると発芽した。切傷した種子を用いた試験では、温度の増加に伴い発芽率が増加し、25～30℃もしくはそれ以上の温度域に至適温度があると推定された。この温度域では、発芽は、置床後7日目から始まり61日で終了した(表9)。

- ・ セリバオウレンでは、全ての温度域で発根、発芽が認められなかった。

- ・ 国際種子検査規定(農林水産省種苗管理センター平成3年3月版)の中に収載されている主な薬用植物の発芽試験条件を、表10に、また、同属植物の発芽試験が収載されている薬用植物をその同属植物の発芽試験条件とともに表11にまとめた。

D. 考察

ハトムギ(つくば)、ハトムギ‘北のはと’、エビスグサおよびチョウジソウ

は、発芽温度の至適域が30℃付近もしくはそれ以上と推定された。現在行っている発芽試験の方法では、30℃以上の温度で長期間の試験を行うと、発芽試験を行うプラスチックケース内に蒸れが生じ、発根、発芽した植物体が障害を受ける場合がある。従って、発芽試験における温度設定は、これらの植物についても可能であれば20～25℃に設定する方がよいと思われた。

ホッカイトウキは、本試験で著しく発芽率が低かった。これは、発芽試験に供した種子の充実度が低かったことによると思われる。

エビスグサの種子は、硬実種子であり、種子に水分が吸収されるまでに時間を要し、その結果、発芽試験に日数を要したことが推察される。今後、切傷したエビスグサの種子を用いて試験を行う必要があると思われる。

トウイノコズチは、2001年に筑波研究部で収穫してポリ瓶に入れ、-1℃の種子保存庫で保管した種子を実験材料とした。この種子は、保存期間6年を経過していたが、至適温度域で95%以上の非常に高い発芽力を保っていた。従って、トウイノコズチまた同属植物のヒナイノコズチの種子保存条件として、種子の保存容器にポリ瓶を用い-1℃の種子保存庫内で保管することが有効であると思われた。

セリバオウレンは発芽が認められなかったことから、今後、種子の後熟および休眠打破法を検討する必要がある。

国際種子検査規定は、農作物、園芸種子、花卉、香辛料等の種子の取引の際に、その品質を検査するための国際的な統一検査法として国際種子検査協会(International Seed Testing Association)が定めているものであり、栽培植物種子の発芽試験法として信頼性の高いものである。この中には、野菜として使われるものや西洋ハーブを中心にいくつかの薬用植物の発芽試験

条件が収載されているが、これらはいずれも栽培化されているものであり、品質の揃った種子を対象に設定されている。また、試験期間については、必要ならば7日或は長い試験期間を要するものについては規定された期間の半分の期間までの延長が認められている。今回実際に試験を行った植物の内、ハトムギとベニバナは、国際種子検査規定に収載されているが、今回得られた結果は、発芽に要する期間がやや長かったものの、期間の延長規定を考慮するとほぼこの規定の範囲内にあり、妥当なものと思われた。しかし、薬用植物の中には、栽培化されていないものも多く、野生からの採集種子は、品質のばらつきが大きいことから、調査期間の設定については、実用的な範囲内で長めに設定する必要があるものと思われる。

E. 結論

本年度は、ハトムギ(2系統)、ベニバナ、トウキ(2系統)、エビスグサ、ヒナタイノコズチ、トウイノコズチ、チョウジソウ等10品目の薬用植物について発芽試験の条件を検討し、次の植

物について発芽試験に相当と思われる条件を得た。ハトムギ(つくば)は、温度条件が25℃、発芽の調査期間は、置床後7日目から30日目。ハトムギ‘北のはと’は、25℃、3日目～26日目。ベニバナ(つくば)は、20℃、3日目～22日目。トウキは、25℃、10日目から42日目。エビスグサは、25℃、10日目～70日目。ヒナタイノコズチおよびトウイノコズチは、25℃、5日目～16日目。チョウジソウは、種子を切傷処理、25℃、3日目～28日目。

またトウイノコズチおよびヒナタイノコズチの種子の保存条件として保存容器をポリ瓶とし、-1℃の種子保存庫で保管することが有効であると思われた。

F. 研究発表

1. 論文発表
該当なし
2. 学会発表
該当なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

表1 ハトムギ(つくば)における発芽温度と発芽率の関係

植物名	置床数	処理法	温度	発根				発芽					
				開始日 (日目)	発根率 (%)	調査締切日 (日目)	最終発根率 (%)	開始日 (日目)	発芽率 (%)	観察日 (日目)	発芽率 (%)	調査締切日 (日目)	最終発芽率 (%)
ハトムギ(つくば)	30	無処理	15	19.7	6.7	36.0	33.3	32.0	6.7	12	0.0	53.7	23.3
			20	4.3	10.0	19.0	72.2	13.7	10.0	12	5.6	38.3	61.1
			25	3.0	14.4	17.7	70.0	10.7	16.7	12	26.7	31.7	60.0
			30	3.0	25.6	13.7	81.1	9.7	22.2	12	44.4	31.7	65.6
			35	3.0	25.6	12.3	80.0	9.3	21.1	12	36.7	21.0	61.1

値は3反復の平均値

表2 ハトムギ‘北のはと’における発芽温度と発芽率の関係

植物名	置床数	処理法	温度	発根				発芽					
				開始日 (日目)	発根率 (%)	調査締切日 (日目)	最終発根率 (%)	開始日 (日目)	発芽率 (%)	観察日 (日目)	発芽率 (%)	調査締切日 (日目)	最終発芽率 (%)
ハトムギ‘北のはと’	30	無処理	15	9.0	14.4	17.3	32.2	25.0	16.7	6	0.0	33.0	32.2
			20	4.0	12.2	10.0	86.7	11.0	6.7	6	0.0	33.0	86.7
			25	3.0	43.3	6.7	92.2	7.0	7.8	6	0.0	26.0	92.2
			30	3.0	55.6	6.0	88.9	5.0	11.1	6	30.0	33.0	88.9
			35	3.0	54.4	5.7	78.9	4.7	10.0	6	42.2	33.0	78.9

値は3反復の平均値

表3 ベニバナ(つくば)における発芽温度と発芽率の関係

植物名	置床数	処理法	温度	発根				発芽					
				開始日 (日目)	発根率 (%)	調査締切日 (日目)	最終発根率 (%)	開始日 (日目)	発芽率 (%)	観察日 (日目)	発芽率 (%)	調査締切日 (日目)	最終発芽率 (%)
ベニバナ(つくば)	50	無処理	15	3.0	38.7	6.3	94.0	6.0	22.7	6	22.7	27.3	93.3
			20	3.0	70.7	4.7	94.7	4.7	16.7	6	78.0	22.7	94.0
			25	3.0	26.0	8.0	84.0	4.0	10.7	6	46.7	27.3	81.3
			30	3.0	6.0	19.7	56.7	4.7	2.7	6	4.7	27.3	50.0

値は3反復の平均値

表4 トウキ(富山県薬事指導所系)における発芽温度と発芽率の関係

植物名	置床数	処理法	温度	発根				発芽					
				開始日 (日目)	発根率 (%)	調査締切日 (日目)	最終発根率 (%)	開始日 (日目)	発芽率 (%)	観察日 (日目)	発芽率 (%)	調査締切日 (日目)	最終発芽率 (%)
トウキ(富山県薬事指導所系)	50	無処理	15	15.0	18.0	26.3	89.3	21.0	4.0	16	0.0	42.0	82.7
			20	9.0	4.0	20.0	92.7	15.3	4.7	16	0.7	42.0	82.7
			25	8.3	6.0	20.0	89.3	14.0	8.7	16	44.7	42.0	77.3
			30	9.0	3.3	29.3	72.7	14.3	2.7	16	8.7	42.0	57.3
	次亜塩素酸	15	12.3	13.3	28.3	92.7	21.0	11.3	16	0.0	42.0	83.3	
		20	9.0	6.0	17.7	94.0	15.3	8.7	16	14.7	42.0	90.0	
		25	8.0	14.0	16.0	89.3	14.0	15.3	16	44.0	32.0	75.3	
		30	9.0	4.7	33.3	76.0	17.0	5.3	16	0.0	42.0	45.3	

値は3反復の平均値

表5 ホッカイトウキ(北大系)における発芽温度と発芽率の関係

植物名	置床数	処理法	温度	発根				発芽					
				開始日 (日目)	発根率 (%)	調査締切日 (日目)	最終発根率 (%)	開始日 (日目)	発芽率 (%)	観察日 (日目)	発芽率 (%)	調査締切日 (日目)	最終発芽率 (%)
ホッカイトウキ	50	無処理	15	25.0	5.3	68.3	11.3	36.7	5.3	-	-	82.0	5.3
			20	15.0	5.3	20.7	8.7	25.3	4.7	-	-	82.0	4.7
			25	12.7	3.3	33.3	8.7	30.0	1.3	-	-	82.0	2.0
			30	16.3	4.7	22.7	7.3	-	0.0	-	-	82.0	0.0
	次亜塩素酸	15	25.0	7.3	31.7	10.7	33.0	2.7	-	-	82.0	4.7	
		20	13.0	2.7	18.7	6.0	18.7	2.0	-	-	82.0	2.0	
		25	11.7	4.0	17.0	6.0	15.0	0.7	-	-	82.0	0.7	
		30	14.0	2.7	21.3	6.7	#DIV/0!	0.0	-	-	53.7	23.3	

値は3反復の平均値

表6 エビスグサにおける発芽温度と発芽率の関係

植物名	置床数	処理法	温度	発根				発芽					
				開始日 (日目)	発根率 (%)	調査締切日 (日目)	最終発根率 (%)	開始日 (日目)	発芽率 (%)	観察日 (日目)	発芽率 (%)	調査締切日 (日目)	最終発芽率 (%)
エビスグサ	50	無処理	15	6.3	2.0	43.0	4.0	17.7	2.7	21	2.7	68.0	3.3
			20	14.7	4.0	41.5	5.3	17.7	2.0	21	3.3	68.0	5.3
			25	12.3	2.7	52.3	14.7	13.7	2.7	21	2.7	68.0	14.7
			30	1.0	4.0	61.0	66.0	4.0	4.0	21	47.3	68.0	66.0
			35	4.0	2.7	59.3	82.7	6.0	2.7	21	48.0	68.0	82.7

値は3反復の平均値

表7 ヒナタイノコズチにおける発芽温度と発芽率の関係

植物名	置床数	処理法	温度	発根				発芽					
				開始日 (日目)	発根率 (%)	調査締切日 (日目)	最終発根率 (%)	開始日 (日目)	発芽率 (%)	観察日 (日目)	発芽率 (%)	調査締切日 (日目)	最終発芽率 (%)
ヒナタイノコズチ	50	無処理	15	6.0	59.3	16.0	97.3	9.7	12.0	6	0.0	16.0	91.3
			20	2.0	8.0	16.0	99.3	6.0	12.0	6	12.0	16.0	97.3
			25	2.0	39.3	16.0	94.7	6.0	82.7	6	82.7	16.0	94.0
			30	1.3	17.3	16.0	90.7	3.0	10.0	6	85.3	16.0	88.7

値は3反復の平均値

表8 トウイノコズチにおける発芽温度と発芽率の関係

植物名	置床数	処理法	温度	発根				発芽					
				開始日 (日目)	発根率 (%)	調査締切日 (日目)	最終発根率 (%)	開始日 (日目)	発芽率 (%)	観察日 (日目)	発芽率 (%)	調査締切日 (日目)	最終発芽率 (%)
トウイノコズチ	50	無処理	15	6.0	8.0	16.0	96.7	13.0	22.7	7	0.0	16.0	74.0
			20	6.0	72.0	16.0	97.3	7.3	2.0	7	1.3	16.0	96.0
			25	3.0	16.7	16.0	96.7	6.0	12.7	7	40.0	16.0	95.3
			30	2.7	13.3	16.0	92.0	6.0	28.0	7	49.3	16.0	90.7

値は3反復の平均値

表9 チョウジソウにおける発芽温度と発芽率の関係

植物名	置床数	処理法	温度	発根				発芽						
				開始日 (日目)	発根率 (%)	調査締切日 (日目)	最終発根率 (%)	開始日 (日目)	発芽率 (%)	観察日 (日目)	発芽率 (%)	調査締切日 (日目)	最終発芽率 (%)	
チョウジソウ	50	無処理	15	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	
			20	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	
			25	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	
			30	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	
	切傷処理	50	切傷処理	15	4.0	14.0	23.0	47.3	28.3	2.7	11	0.0	61.0	18.7
				20	4.0	14.7	10.0	42.0	14.0	4.7	11	0.0	61.0	33.3
				25	3.0	23.3	10.0	58.0	7.7	5.3	11	31.3	61.0	48.0
				30	3.0	39.3	10.0	72.0	7.0	12.0	11	51.3	61.0	63.3

値は3反復の平均値

表10 国際種子検査規定¹⁾に記載されている主な薬用植物

植物名	学名	生薬名	国際種子検査規定 ²⁾
セイヨウノコギリソウ	<i>Achillea millefolium</i>		TP, 20-30, 5, 14, -
ニガヨモギ	<i>Artemisia absinthium</i>		TP, 20-30, 4-7, 21, -
ミブヨモギ	<i>Artemisia maritima</i>		TP, 20-30, 4-7, 21, -
ペラドンナ	<i>Atropa bella-donna</i>	ペラドンナ根	TP;BP, 20-30, 10, 28, 予冷
ルリジサ	<i>Borago officinalis</i>		TP;BP, 20-30;20, 5, 14, -
アサ	<i>Cannabis sativa</i>	マシニン	TP;BP, 20-30;20, 3, 7, -
トウガラシ属	<i>Capsicum spp.</i>	パンシヨウ	TP;BP, 20-30, 7, 14, KNO3
ベニバナ	<i>Carthamus tinctorius</i>	コウカ	TP;BP;S, 20-30;25, 4, 14, -
ハトムギ	<i>Coix lacryma-jobi</i>	ヨクイニン	BP, 20-30, 4-10, 21, -
コエンドロ	<i>Coriandrum sativum</i>		TP;BP, 20-30;20, 7, 21, -
ケジギタリス	<i>Digitalis lanata</i>	ジギタリス	TP, 20-30;20, 4-7, 14, 予冷
ジギタリス	<i>Digitalis purpurea</i>	ジギタリス	TP, 20-30;20, 4-7, 14, 予冷
ムラサキバレンギク	<i>Echinacea purpurea</i>		TP;BP, 20-30;20, 4-7, 21, 光; 予冷
ウイキョウ	<i>Foeniculum vulgare</i>	ウイキョウ	TP;BP, 20-30, 7, 14, -
セイヨウトドリソウ	<i>Hypericum perforatum</i>		TP, 20-30;20, 4-7, 21, -
オオグルマ	<i>Inula helenium</i>	ドモッコウ	TP, 20-30;20, 7-10, 28, -
ラベンダー	<i>Lavandula angustifolia</i>		TP;BP;S, 20-30;20, 7-10, 21, 予冷; GA3
アマ	<i>Linum usitatissimum</i>		TP;BP, 20-30;20, 3, 7, 予冷
セイヨウハッカ	<i>Mentha x piperita</i>		TP, 20-30, 7-14, 21, 予冷; KNO3
ニガウリ	<i>Momordica charantia</i>		BP;S, 20-30;30, 4, 14, -
メボウキ	<i>Ocimum basilicum</i>		TP, 20-30, 4, 14, -
マヨナラ	<i>Origanum majonara</i>		TP, 20-30;20, 7, 21, -
オレガノ	<i>Origanum vulgare</i>		TP, 20-30;20, 7, 21, -
ケシ	<i>Papaver somniferum</i>	アヘン	TP, 20, 5, 10, 予冷
シソ	<i>Perilla frutescens var. acuta</i>	ソヨウ	TP;BP, 20-30;20, 5-7, 21, 予冷
アニス	<i>Pimpinella anisum</i>		TP;BP, 20-30, 7, 21, -
クズ	<i>Pueraria lobata</i>	カッコン	BP, 20-30, 5, 14, -
	<i>Rheum palmatum</i>	ダイオウ	TP;BP, 20-30;20, 7, 21, -
トウゴマ	<i>Ricinus communis</i>	ヒマシ	BP;S, 20-30, 7, 14, -
ローズマリー	<i>Rosmarium officinalis</i>		TP, 20-30;20, 7, 28, -
ヘンルーダ	<i>Ruta graveolens</i>		TP;BP, 20-30, 7, 28, 予冷
セージ	<i>Salvia officinalis</i>		TP, 20-30;20, 4-7, 21, 予冷
タイム	<i>Thymus vulgaris</i>		TP, 20-30;20, 7, 21, -

1) 国際種子検査規定: 農林水産省種苗管理センター平成3年3月版

2) 発芽床, 温度, 算定開始日, 算定締切日, 休眠打破勧告法その他の指示事項の順。

表11 国際種子検査規定¹⁾に同属植物が記載されている主な薬用植物

植物名	学名	生薬名	国際種子検査規定 ²⁾
トウキ	<i>Angelica acutiloba</i>	トウキ	(TP;BP, 20-30, 7-10, 28, 光; 予冷)
ホツカイトウキ	<i>Angelica acutiloba var. sugiyamae</i>	トウキ	(TP;BP, 20-30, 7-10, 28, 光; 予冷)
ヨロイグサ	<i>Angelica dahurica</i>	ビャクシ	(TP;BP, 20-30, 7-10, 28, 光; 予冷)
クソニンジン	<i>Artemisia annua</i>	クソニンジン	(TP, 20-30, 4-7, 21, -)
カワラヨモギ	<i>Artemisia capillaris</i>	インチンコウ	(TP, 20-30, 4-7, 21, -)
キバナオウギ	<i>Astragalus membranaceus</i>	オウギ	(BP;TP, 15-25;20, 10, 21, -)
ホソバセンナ	<i>Cassia angustifolia</i>	センナ	(TP, 20-30, 4, 14, -)
エビスグサ	<i>Cassia obtusifolia</i>	ケツメイシ	(TP, 20-30, 4, 14, -)
サンシュユ	<i>Cornus officinalis</i>	サンシュユ	(-, -, -, TT使用)
ゲンチアナ	<i>Gentiana lutea</i>	ゲンチアナ	(TP, 20-30;20, 4-17, 28, 予冷)
ゲンノショウコ	<i>Geranium thunbergii</i>	ゲンノショウコ	(TP;BP, 20-30, 7, 28, 種子に針で穴を開けるか又は外種皮を切るか削る)
メハジキ	<i>Leonurus japonicus</i>	ヤクモソウ	(TP, 20-30;20, 5-14, 予冷)
カミツレ	<i>Matricaria chamomilla</i>	カミツレ	(TP, 20-30;20, 4-7, 14, 予冷)
アサガオ	<i>Pharbitis nil</i>	ケンゴシ	(TP;BP;S, 20-30;20, 4-7, 21, 種子に針で穴を開ける又は外種皮を切るか削る)
オオバコ	<i>Plantago asiatica</i>	シャゼンシ	(TP;BP, 20-30;20, 4-7, 14, -)
ワレモコウ	<i>Sanguisorba officinalis</i>	ジュ	(TP;BP, 20-30;20, 7, 28, -)
カノコソウ	<i>Valeriana fauriei</i>	カノコソウ	(TP, 20-30;20, 5-7, 21, 予冷)

1) 国際種子検査規定: 農林水産省種苗管理センター平成3年3月版

2) 発芽床, 温度, 算定開始日, 算定締切日, 休眠打破勧告法その他の指示事項の順。 ()内は同属植物の規定

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

分担研究報告書

薬用植物培養物の長期保存法に関する研究

分担研究者 吉松嘉代 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター筑波研究部・
育種生理研究室長

オウレン属、オニゲシ、ケシーオニゲシ種間雑種及びニチニチソウカルスを材料にガラス化法による超低温保存条件のうち、ガラス化液（PVS2）処理時間を検討した。セリバオウレン非形質転換カルスは、PVS2処理30分の時、29%が再生した。しかし同形質転換カルスでは、CjGUSII627-7-2のみ同条件で再生が認められた。中国産オウレン属植物カルスでは、PVS2処理30分で4.2-9.4%が再生した。オニゲシはPVS2処理20分で9.1%が再生し、ケシーオニゲシ種間雑種は7系統中4系統で再生が認められた。ニチニチソウカルスは、いずれの条件でも再生は認められなかった。保存法開発のための優良クローン選抜のため、9系統のニチニチソウ及び2系統のウラルカンゾウ培養植物体を土壌に移植して栽培し、形質を調べるとともに、組織培養時の形態形成能を調査した。ニチニチソウでは、栽培植物体の葉のアルカロイド含量が高いCr、シュート培養の葉でのアルカロイド含量が高いCrI2及びCrI3、未熟果実からの不定胚形成が高い矮生のCrI4が特に保存に適した植物であると判断した。ウラルカンゾウでは、Guが地上部の生育、根の収量、グリチルリチン含量及び収量が優れていた。そこでGuシュートをクローン化後、ストロン様組織を誘導し、生育及び増殖能の高いクローンGu2を得た。Gu2由来培養苗を材料に2種の水耕栽培を行ったところ、ハイドロボールを培養土とするハイドロカルチャー8ヶ月後のGu2は、主根の肥大が観察され、その収量は2年間鉢栽培したGuの約1.7倍であり、そのグリチルリチン含量は2年生主根と同程度であった。従って、Gu2は保存に適したウラルカンゾウクローンであり、甘草生産にも適したものであることを確認した。

A. 研究目的

熱帯多雨林地帯をはじめ地球上に分布する多様性に富んだ植物資源は、現代医療でも完治が難しいとされるアレルギー等の各種疾患や新興感染症等に有効な次世代の新薬開発原料として重要であり、欧州、米国等の先進国で特に注目されている。しかしながら、アジア、アフリカ地域での急激な人口増加、大気汚染、森林伐採の継続ならびに大気中二酸化炭素

の増加による地球温暖化にともなう世界的な環境破壊および砂漠化により、地球上の植物の遺伝的多様性が失われつつある現状にあり、これらの多様性の維持および保存技術の確立は緊急性の高い課題である。本研究では、最新技術によるこれらの多様性の保存法の構築を行う。この研究で得られた技術により、現在、需要が増しながらも絶滅の危機にさらされている貴重な薬用植物資源の迅速な保護

及び将来に渡っての活用が期待できる。

また、現在、活発に研究が進められている宇宙開発においても、人類にとって重要である植物多様性の宇宙空間および地球外惑星への搬出が可能となる。

B. 研究方法

1) 薬用植物カルスの超低温保存

材料植物 ショ糖3%、ナフタレン酢酸(NAA)1mg/l、カイネチン(Kin)1mg/l及びグルタミン1mg/l含有Woody Plant (WPG)培地(WPGN1K2)で継代中(20°C、暗所)のセリバオウレン(形質転換及び非形質転換)及びオウレン属植物のカルス、ショ糖3%、NAA 1mg/l及びKin 1mg/l含有Murashige and Skoog (MS)培地(MSN1K2)で継代中(20°C暗所ただしニチニチソウは25°C暗所)のオニゲシ、ケシ-オニゲシ種間雑種、ニチニチソウカルスを材料とした。

超低温保存(図1) 径約2-3mmに調製したカルスを0.2Mショ糖と1Mグリセリンを含有するGamborgB5(B5)液体培地に植付け、20°C(ニチニチソウは25°C)、暗所で1日間前培養した。切片を2ml容のクライオチューブに入れ、ガラス化液(PVS2液)1.8mlを加え、室温(22°C)で10-30分間処理後、PVS2液1mlを取り、液体窒素中に保存した(PVS2液1ml内で保存)。再培養は、クライオチューブを解凍(40°C、1分間)後、1Mショ糖含有B5液体培地で10分間洗浄し、保存前と同条件で培養した。

2) 新規導入ニチニチソウの育成とインドールアルカロイド含量

材料植物 シュート培養として継代維持中のニチニチソウ[Cr:植物ホルモン無添加(HF)MS培地、3%ショ糖、23°C/14時間明]および新規導入種子(表2)を用いた。

発芽条件 常法により殺菌後、HF1/2MS培地(2%ショ糖)、24°C/14時間明 20°C/10時間暗、後に暗所(24時間)で培養した。発芽後のシュートは、Crと同様にHFMS培地で継代維持し、同クローンを植木鉢に植出し、グロースチャンバー(GC)内で栽培した。一部(CrMW2、CrMP2)は殺菌後の種子を直接植木鉢に播種し、同様に栽培した。

栽培条件 3寸鉢(赤玉土-クレハ培養土-堆肥=3:1:1)、24°C/12時間明 20°C/12時間暗、湿度60%、GC2室

アルカロイド抽出 栽培植物の上部の葉あるいはシュートの葉及び茎を凍結乾燥後粉末にし、ケシ果殻と同様に固相抽出を行った。

HPLC条件 Column: TOSOH TSKgel ODS-100V 5 μ m 4.6 i.d. \times 250mm、Solv.A: 10 mM Sodium 1-heptanesulfonate pH 3.5、Solv.B: MeCN、Gradient (B%): 0-20 min 36%、27 min 43%、32-34 min 63%、35 min 36%、Column temp: 28°C、Flow: 0.8 ml/min、Detection UV 254 nm (定量)、

200 nm-400 nm (定性) Ajmaline、Vincamine、Ajmalicine、Catharanthine、Serpentine、Vindoline、Vincristine、Vinblastineを同時分析

形態形成 無菌発芽したCrMW1、CrMW2、CrMP2から、子葉、葉、胚軸及び幼根切片を調整し、また、CrI1、Crシュート培養から葉および根切片を調整し、インドール酢酸(IAA): 0-0.1mg/l及びベンジルアデニン(BA): 0.5-10mg/l、2%ショ糖を含む1/2MS固形培地に植付け、25°C暗または24°C/14時間明20°C/10時間暗で培養した。植付け約40日後、1部はHF培地に植え替え培養した。さらにGC2室で開花したCrI4、CrMW2の未熟果実、未熟種子を上記培地またはHF培地に植え付け24°C暗所で培養した。

3) ウラルカンゾウ苗の大量増殖と養液栽培法の確立

材料植物 ウラルカンゾウ種子 (北海道医療大学系統HK13905-96) 無菌発芽個体より誘導した培養植物体 (GuH、TS291-04) 及び筑波研究部栽培圃場保存植物 (北海道医療大学系) シュートより誘導した培養植物体 (Gu、TS301-07) (培地: HFWPG) を優良系統選抜のため、植木鉢に植出し、生育とグリチルリチン含量を調査した。

栽培条件 閉鎖温室: 温度20°C、湿度60%、日長16時間 (補光照明を使用)、土: ベラボン土 (赤玉土-クレハ培養土-

堆肥=3:1:1)=1:1、鉢: 径15cm×高さ30cm ポリエチレンポット、肥料: ハイポネックス(NPK6-10-5)500倍液または1000倍液を適宜散布

グリチルリチン分析 植物体を収穫して各部位に分割し50°Cで数日間温風乾燥後粉末にし、その約100mgを精密に秤量後、50%エタノール7mlを正確に加え、超音波洗浄機で30分間、ボルテックスミキサーで1分間抽出した。抽出液を遠心分離 (4,500rpm、3分間) 後、上清300 μ lをウルトラフリーMCに入れ、15,000rpm、20°Cで1分間遠心濾過し、上清をHPLCに注入した。

HPLC条件: カラム TSKgel ODS-100V (TOSOH、径4.6mm×250mm、5 μ m)、移動相 アセトニトリル (溶媒A) -2%酢酸 (溶媒B) =2:3、流速: 1.0 ml/分、カラム温度 20°C、検出 UV 254 nm (定量)、200-400 nm (定性)

ストロン様組織の誘導による苗の増殖 (高上馬ら: 特開2005-137291)

継代培養を行っているGuシュートをクローン化 (Gu1-Gu5、1本から継代したそれぞれに番号付け) し、それぞれのクローンシュートから節切片 (2節茎) を調製し、6%ショ糖とNAA0.01mg/l添加MS液体培地(MS(6)N0.01、20ml/100mlフラスコ)に植付け、20°C、暗所、60-100rpmで培養しストロン様培養物を得た。約2ヶ月後、生育調査およびシュート長測定を行

い、Gu2を同様に上記培地に継代し、増殖率を調べた。また、ストロン様培養物の節あるいは頂芽切片をNAA 0.1mg/l、Kin 0.5mg/l、1%ショ糖を含むWPG液体培地（WPG(1)N0.1K0.5）（20ml/40φ培養試験管、支持体としてフロリアライトを使用）に移植して、20°C、14時間照明下で培養し、再生植物体を得た。

ウラルカンゾウ培養苗の養液栽培 ストロン様組織の培養により増殖させたウラルカンゾウ再生植物体（Gu2）をフィールド式水耕栽培（エスペックミック、培養土：ココピート、養液：マツザキ1号0.19 g/l+マツザキ2号0.13 g/l、EC 0.383 mS/cm、pH 6.25）あるいはハイドロカルチャー（径15cm×長さ30cmのポリエチレンポットの底面にシリカ肥料：ミリオンAを敷き、ハイドロボール中玉、ハイドロボール小玉を詰め、フィールド式水耕栽培装置と同組成同濃度の肥料養液をコンテナに入れ、鉢を入れて栽培、EC 1.332、pH 7.39）を行った。栽培開始約8ヶ月後収穫し、生育及びグリチルリチン含量を調査した。

C. 研究結果

1) 薬用植物カルスの超低温保存

継代維持中のセリバオウレン（形質転換及び非形質転換）、オウレン属植物、オニゲシ、ケシーオニゲシ種間雑種、ニチニチソウカルスを材料にガラス化法による超低温保存条件のうち、特にPVS2処理時間を検討した（図1）。各カルスにおいて検討した条件及び結果の概要を表1に示

す。また、再生後のカルスを図2に示す。

セリバオウレン非形質転換カルスは、PVS2処理30分の時、28.6%が再生した。しかし、形質転換カルスで同条件での再生が認められたものはCjGUSII627-7-2のみであった。オウレン属植物（中国産）カルスでは、セリバオウレンより再生率は低いものの、PVS2処理30分で再生が認められた。オニゲシではPVS2処理20分で9.1%が再生した。ケシーオニゲシ種間雑種は7系統中4系統で再生が認められた。ニチニチソウカルスはPVS2処理時間を変えて実験を行ったが、いずれの条件でも再生は認められなかった。

2) 新規導入ニチニチソウの育成とインドールアルカロイド含量

新規導入ニチニチソウ種子の特徴と発芽率を表2に示した。はじめにCrI、CrMP1、CrMW1を無菌播種し、14時間照明下で培養したところ、CrIのみが発芽した。そこで暗所へ移動させて培養を続けたところ、CrMW1も発芽した。以後の無菌播種・発芽は、暗所で行った。その結果、CrMP1以外は全てシュート培養が確立できた。

新規導入ニチニチソウシュート及び以前から継代維持中のニチニチソウシュート（Cr）の葉、茎中のインドールアルカロイド含量を図3に示す。同時分析を行った8種のアルカロイドのうち、シュート培養からは、Catharanthine、Vindoline、Vinblastineの3種のアルカロイドが検出され、主アルカロイドはVindolineであり、茎よりも葉の方が高含量であった（図3）。シュート培養の葉の中では、CrI2および

CrI3が高アルカロイドであった。GC2室栽培植物体CrMW1、CrMW2およびCrMP2は、個体によりアルカロイド含量に大きな差が認められた(図4)。今回分析したGC2栽培植物体の中では、Crが最も高アルカロイド含量であり、花の色とアルカロイド含量の間に相関は認められなかった(図4、5)。

子葉、葉、胚軸、幼根、根を材料に、形態形成実験を行った結果、今回試験した条件でカルスは形成するものの、不定芽及び不定胚の分化には至らなかった。そこで、CrI4およびCrMW2の未熟果実をHF培地に植え付け24℃暗所で培養した結果、CrI4では果実の表面に不定胚が形成し、同培地で継代可能であることが判明した(図6)。一方CrMW2ではCrI4と同様にカルスは形成するものの、不定胚形成には至らなかった。

以上より、シュート培養ではCrI2、CrI3、栽培した植物体ではCrが高アルカロイド含量であり、不定胚形性能はCrI4が高いことが判明した。今回GC室で栽培した植物のうち、CrI4のみが矮性植物であった。

3) ウラルカンゾウ苗の大量増殖と養液栽培法の確立

培養植物体として継代維持中の2種のウラルカンゾウ(GuH及びGu)のうち、より優れた形質を持つものを選抜するため、それぞれの植物体を土壌へ移植し閉鎖温室内で栽培し、2年間に渡り生育及びグリチルリチン含量を調査した(表3、4)。

1年生株の生育は、主根長以外の全ての項目においてGuの方が優っていた。2年

生株は、GuH、Guとも古い地上部が枯れ、新しい茎が地面から形成する現象が見られたため、地上部の生育(草丈、節数)比較は困難であったが、葉の形質(最大葉長、最大葉幅、最大頂小葉長、最大頂小葉幅、最大側小葉長、最大側小葉幅)は、Guの方が大きく、主根長、主根幅は、GuHが、主根収量、細根収量はGuの方が大きかった。2年生株は、1年生株と同様、茎、主根、細根、根茎にグリチルリチンが検出され、主根および根茎において高含量であった。2年生株主根のグリチルリチン含量は、GuH、Guとも約2.1%であり、栽培1年後に認められた含量差は観察されなかった。しかしながら、2年生においても根の収量はGuの方が多いため、根のグリチルリチン収量はGuの方が高く、GuHの1.4倍であった。

Guを材料に、WPG固形培地で継代培養を行っているシュートをクローン化後、節切片(2節茎)を調製し、ストロン様組織誘導培地MS(6)N0.01に植付け、20℃、暗所、60-80rpmで2ヶ月間培養した結果、それぞれのクローンの生存率およびシュート長は、Gu2:35.7% 15.66±8.50cm、Gu3:28.6% 17.00±4.24cm、Gu4:50.0% 11.65±11.81cm、Gu5:37.5% 7.67±5.69cmであった。そこで、クローン作製時(WPG固形培地、20℃、14時間照明下)の生育が良く、ストロン様組織誘導でも生長が良かったGu2について、生育良好なサブクローンを選択して継代を繰り返し、増殖率を調べた結果、培養8週間で増殖率6.0倍のストロン様培養物を得た(図7)。このストロン様組織を茎(2節)、茎基

部（根を含む）に分割して植物体育成培地 WPG(1)N0.1K0.5、20℃、14 時間照明下で 12 週間培養した結果、植物体形成率は茎（2 節）を材料とした場合の方が高く、76%であった。

上記培養苗を材料に、2 種の水耕栽培を試みたところ、それぞれの活着率は、ともに 66.7%であったが、植物の生育はハイドロカルチャーの方が旺盛であった（表 5）。さらに得られた培養苗を材料にハイドロカルチャーを行い、4 ヶ月後の活着率を調べた結果、70%で予試験と同様旺盛な生育が観察された（図 8）。

ハイドロカルチャー 8 ヶ月後の Gu2 は、主根の肥大が観察され（図 9）、その収量は 2 年間鉢栽培した Gu の約 1.7 倍であったが、そのグリチルリチン含量は約 1.8%と 2 年生主根と同程度であった（図 10）。ハイドロボールで 8 ヶ月間養液栽培した Gu2 の細根のグリチルリチン含量は、1 年間鉢栽培した植物体と同程度であった（表 4、5）。

以上より、今回確立したウラルカンゾウハイドロカルチャーは、わずか 8 ヶ月間の栽培で、2 年間鉢栽培した植物の約 1.6 倍のグリチルリチン収量が得られる有効な栽培方法であることが判明した。

D. 考察

継代維持中の薬用植物カルスを材料に、PVS2 処理時間を検討したが、今回用いた材料の中で、比較的良好な再生が認められたのは、セリバオウレン非形質転換カルスのみであった。同じセリバオウレン由来であっても、形質転換体では非形

質転換体ほどの再生率が得られず、個々に詳細な条件検討が必要と思われる。

新規にニチニチソウ種子を導入し、形態とインドールアルカロイドを調べた結果、培養シュートの葉と栽培した再生植物体の葉では、高アルカロイド含量を示す植物体の系統が異なっていた（シュート培養:Cr12 及び Cr13、再生植物体:Cr）。また、形質転換体の育成に有効な不定胚が誘導できたのは、再生植物体が矮性を示した Cr14 のみであった。それぞれに優れた形質を持つクローンは、今後、継代維持・保存・超低温保存を行う上で特に重要と思われる。

現在継代維持中の GuH 及び Gu はいずれも北海道研究部の同じ系統に由来するものであるが、再生植物体の形質は異なっており、生育及びグリチルリチン収量は、Gu の方が良好であった。GuH は北海道において種子で更新されているため、種子がつかず栄養繁殖で維持されてきた筑波の Gu とは形質が異なってしまったものと思われる。Gu2 培養苗のハイドロカルチャーでは、8 ヶ月間の栽培でグリチルリチン含量 1.8%の根が得られた。今後、局方値 2.5%に達するまでの栽培期間の確認が必要と思われる。また、今回得られた Gu2 の中長期保存法の確立が必要である。

E. 結論

継代維持中のオウレン属、オニゲシ、ケシ-オニゲシ種間雑種及びニチニチソウカルスを材料にガラス化法による超低温保存条件のうち、ガラス化液（PVS2）

処理時間を検討した結果、比較的良好な再生植物体を得られたのは、セリバオウレン非形質転換カルスのみであり、その他のカルスについてはさらに詳細な条件検討が必要であることが判明した。優良クローン選抜のため、9系統のニチニチソウ及び2系統のウラルカンゾウ培養植物体を土壌に移植して栽培し、形質を調べるとともに、組織培養時の形態形成能を調査した。ニチニチソウでは、Cr、Cr12及びCr13が高アルカロイド系統であり、矮生のCr14が高不定胚形成能で有ることが判明した。ウラルカンゾウでは、Guがグリチルリチン含量及び収量ともに優れていたため、さらにクローン化し、ストロン様組織を介した増殖で、生育及び増殖能の高いクローンGu2を得た。得られたGu2由来培養苗を材料に水耕栽培条

件を検討した結果、ハイドロボールを培養土とするハイドロカルチャーは、わずか8ヶ月間の栽培で、鉢栽培2年間の主根の1.6倍グリチルリチン収量を得られる優れた栽培方法であることが判明した。

F. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

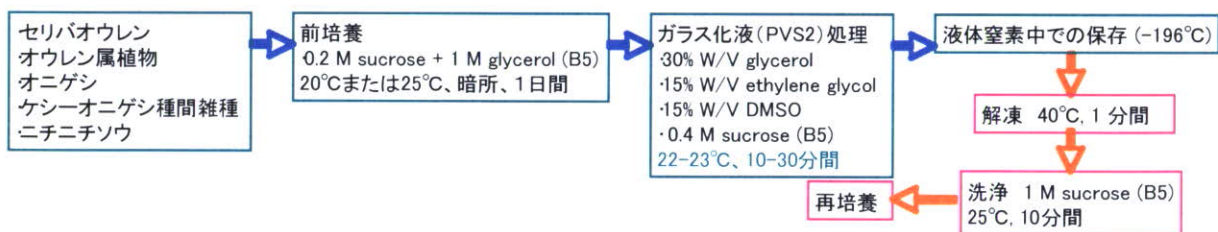


図1. ガラス化法による超低温保存の手順

表1. ガラス化法による薬用植物カルスの超低温保存結果の概要

植物名	種類	記号	PVS2処理	再生率%	観察期間 (日)
セリバオウレン	非形質転換体	Cj	30分	28.6	87
	Cjmdr1アンチセンス導入体	CjAntiIII701-9-2	10分	0	122
	sGFP導入体	CjsGFPC525-5	30分	0	122
	GUS導入体	CjGUSI423-8-1	30分	0	122
	GUS導入体	CjGUSII627-7-1	30分	0	122
	GUS導入体	CjGUSII627-7-2	30分	4.2	122
オウレン属植物	非形質転換体：ミレン	M(0.5/1P1)	10、30分	0	87
	非形質転換体：ミレン	M(MS0.5/1L)	10、30分	0	87
	非形質転換体：ミレン	M(MS0.5/1P)	10、30分	5.6 (30分)	87
	非形質転換体：ガレン	G(0.5\1P)	10、30分	9.4 (30分)	87
	非形質転換体：中国産	ComP(1/2)	10、30分	5.0 (30分)	87
オニゲシ	非形質転換体	POL2 1-1	20分	9.1	75
ケシーオニゲシ種間雑種	非形質転換体	PSN11K4♀×POL2♂ 2-8	20分	5.0	75
	非形質転換体	PSN51K4♀×POL2♂ 1-5	20分	0	75
	非形質転換体	PSN51K4♀×POL2♂ 2-2	20分	0	75
	非形質転換体	PSN81K2♀×POL2♂ 1-1	5、10、15、20分	10 (20分)	38
	非形質転換体	PSN81K2♀×POL2♂ 2-7	5、10、15、20分	3.7 (15分)	38
	非形質転換体	POL2-3♀×PSIK♂ 2	5、10、15、20分	0	34
	非形質転換体	POL2-3♀×PSIK♂2-6	5、10、15、20分	9.1 (20分)	33
ニチニチソウ	非形質転換体：インド桃	Cr11	10、20、30分	0	63
	非形質転換体：インド桃	Cr12	10、20、30分	0	63
	非形質転換体：インド桃	Cr13	10、20、30分	0	63
	非形質転換体：インド桃	Cr14	10、20、30分	0	59

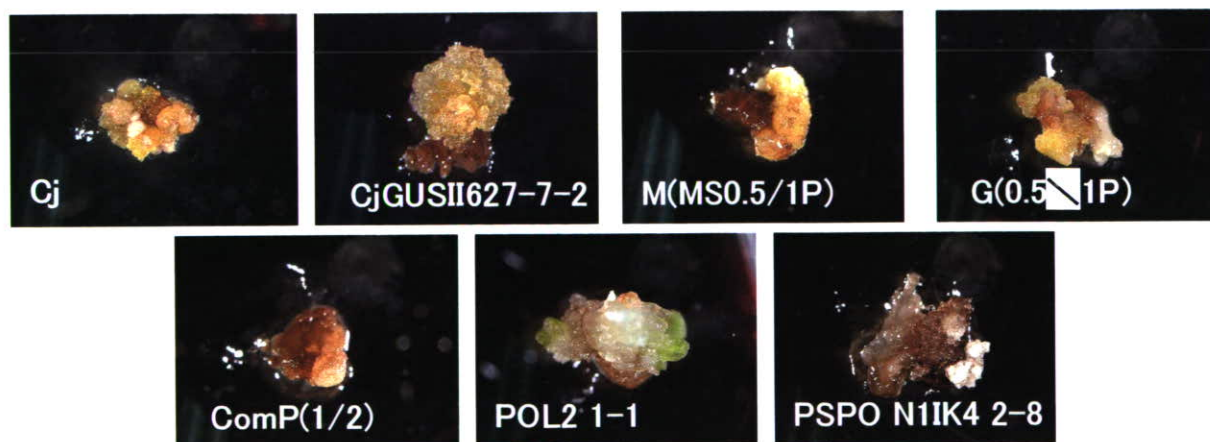


図2. 超低温保存後再生した薬用植物カルス・不定胚

表2. 新規導入ニチニチソウ種子の特徴と発芽率

記号	導入番号	特徴	導入国名	Wild/Cultivated	導入日	発芽率	観察日数
Cr1	001-06	Mixture	India	Cultivated	2006.1.23	10.0% (5/50)	125
CrMP1	051-06	Pink flower	Madagascar	Wild	2006.4.22	0.0% (0/50)	125
CrMW1	052-06	White flower	Madagascar	Wild	2006.4.22	10.0% (5/50)	125
CrMW2	341-06	White flower	Madagascar	Wild	2006.8.15	14.0% (7/50)	27
CrMP2	342-06	Pink flower	Madagascar	Wild	2006.8.15	32.0% (16/50)	27
CrIP2	394-06	Pink flower, 1 plant	India	Cultivated	2006.10.23	72.0% (36/50)	84
CrIW	401-06	White flower, 1 plant	India	Wild	2006.12.25	23.1% (3/13)	84
CrIW2	003-07	White flower, 1 plant	India	Wild	2007.2.7	73.3% (22/30)	47

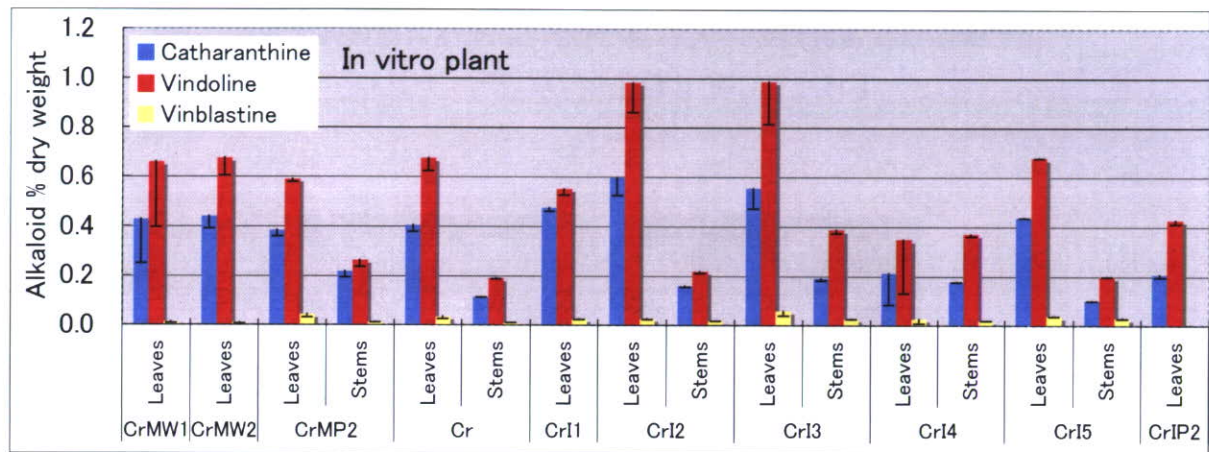


図3. ニチニチソウシュート培養のインドールアルカロイド含量

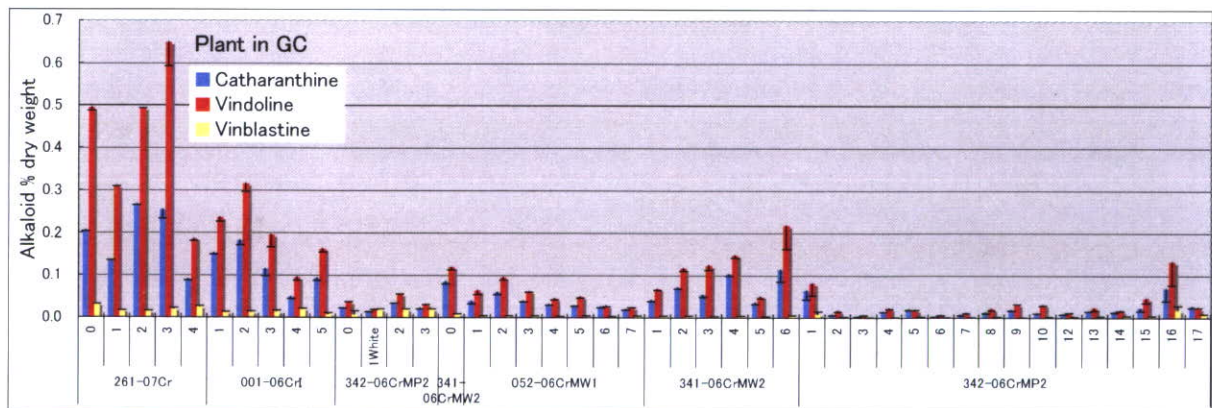


図4. 閉鎖温室で栽培したニチニチソウシュートの葉中のアルカロイド含量

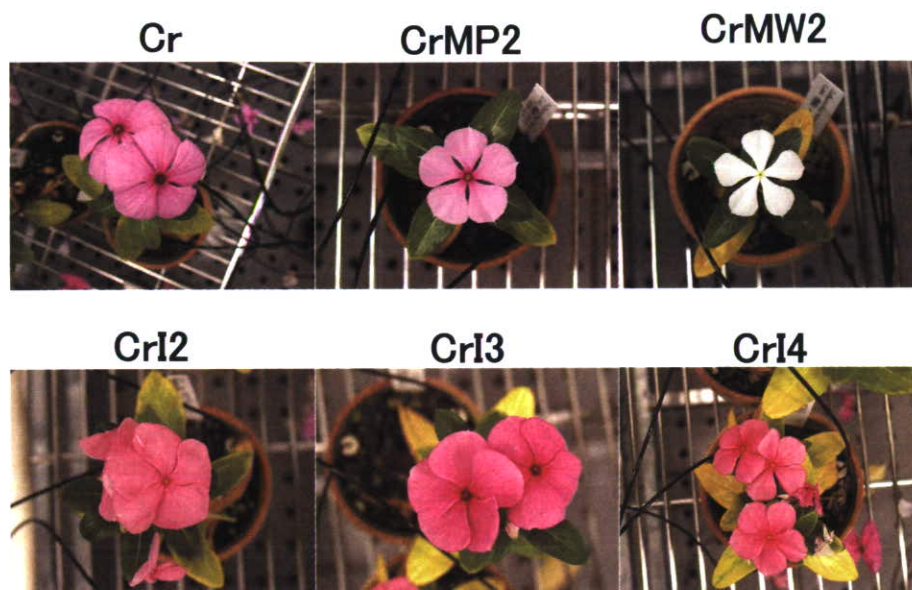


図5. GC室で開花中のニチニチソウ

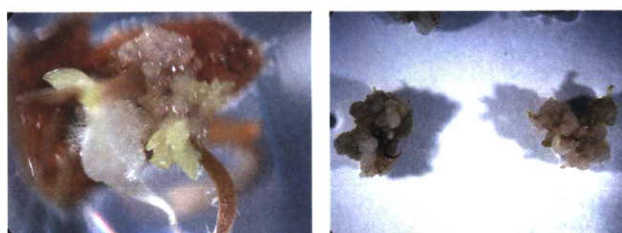


図6. CrI4未熟果実からの不定胚形成（左）及び継代維持中の不定胚（右）

表3. 1年生ウラルカンゾウ再生植物体の生育とグリチルリチン含量・収量 (鉢栽培)

		GuH			Gu		
		平均	SD	%CV	平均	SD	%CV
生育調査(長さ cm)	草丈	77.10	2.52	3.3	97.80	3.84	3.9
	節数	34.00	2.65	7.8	37.33	7.57	20.3
	最大葉長	11.39	0.26	2.3	13.25	0.53	4.0
	最大葉幅	6.20	0.88	14.2	8.05	0.68	8.4
	最大頂小葉長	4.08	0.27	6.6	5.16	0.77	15.0
	最大頂小葉幅	3.41	0.23	6.9	3.94	0.81	20.6
	最大側小葉長	3.35	0.35	10.5	3.85	0.26	6.8
	最大側小葉幅	2.47	0.23	9.2	2.74	0.39	14.2
	主根長	33.67	1.53	4.5	30.33	5.51	18.2
	最大主根幅	0.44	0.05	11.1	0.70	0.07	10.3
収量 (乾燥重g)	小葉	0.52	0.03	5.1	1.42	0.36	25.1
	葉軸	0.08	0.01	13.9	0.20	0.06	29.8
	茎	1.22	0.31	25.4	2.35	0.72	30.8
	主根	1.22	0.13	10.7	2.83	0.79	28.0
	細根	0.27	0.11	40.8	0.71	0.17	24.1
	根茎	-	-	-	0.15	-	-
Glycyrrhizin % dry weight	茎	0.097	0.012	12.8	0.098	0.052	53.7
	主根	0.909	0.120	13.2	1.405	0.084	6.0
	細根	0.099	0.054	54.6	0.265	0.127	48.0
	根茎	-	-	-	1.515	0.004	0.2
Glycyrrhizin harvest mg/plant	茎	1.344	0.352	26.2	2.043	0.518	25.3
	主根	11.119	2.043	18.4	40.302	11.977	29.7
	細根	0.282	0.168	59.5	2.018	1.192	59.1
	根茎	-	-	-	2.272	0.005	0.2