

200811012A

厚生労働科学研究費補助金

創薬基盤推進研究事業（生物資源・創薬モデル動物研究事業）

薬用植物資源の安定確保と有効活用のための
基盤的技術の研究

平成20年度 総括・分担研究報告書

（H19-資源-指定-001）

主任研究者 木内 文之

平成21（2009）年 3月

目 次

I. 総括研究報告

薬用植物資源の安定確保と有効活用のための基盤的技術の研究	1
木内文之	

II. 分担・協力研究報告

1. 薬用植物種子の発芽条件および長期保存に関する研究	13
飯田 修, 杉村康司, 淵野裕之, 熊谷健夫, 香月茂樹	
2. シソ種子(分果)の保存に関する研究	23
木内文之, 伊藤美千穂	
3. 薬用植物培養物の長期保存法に関する研究	27
吉松嘉代	
4. 大規模機械化栽培による薬用植物の低コスト栽培法の確立	41
柴田敏郎	
5. 薬用植物への新規遺伝子導入法の開発	47
河野徳昭, 千田浩隆	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	57
---------------------	----

薬用植物資源の安定確保と有効活用のための基盤的技術の研究

(H19-生物資源-指定-001)

主任研究者 木内文之 (独)医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター センター長

薬用植物資源を将来に亘って安定して確保するための基盤の整備を目的として、生薬等として重要な薬用植物の種子並びに培養物の長期保存条件を検討するとともに、薬用植物栽培の低コスト化を目指し、既存の農業機械を活用した薬用植物の栽培技術の検討を行った。また、薬用植物の生理活性物質生産能を最大限に利用する基盤の整備を目的として、薬用植物に適用できる迅速な遺伝子導入法としての種子に対する直接遺伝子導入法等を検討した。

薬用植物種子の発芽条件に関しては、通常の保存条件では種子寿命が短いトウキの種子の保存試験を昨年度に続き継続するとともに、乾燥に弱い12種の種子のアルミ袋を用いた保存試験を行い、アカメガシワの種子で良好な結果を得た。また、アイ、アマ、カワラケツメイ、ジギタリス、メハジキについて発芽試験に適切な条件を見出した。過去に保存した種子を用いてシソ種子の発芽能力の推移を調べた結果、4℃で保存した場合系統によらず7-8年で発芽能力が急激に減少することが明らかとなった。更に、オウレン、オニゲシ、ケシーオニゲシ種間雑種の超低温保存条件を検討するとともに、ニチニチソウとウラルカンゾウについて、保存のための優良クローンを選抜を行った。

薬用植物の機械化栽培では、野菜用に開発され、現在農家に普及している農業用機械の薬用植物栽培への応用を検討し、ニンジンやサトイモの収穫用に開発された収穫機が、トウキの苗の掘り取りに、ゴボウ用に開発された根切断機が、トウキの残茎部の切り取り作業に応用可能であることを示した。

薬用植物への遺伝子導入法に関しては、ケシを材料にして種子への直接遺伝子導入法を検討し、9M硫酸で種子を前処理することにより、マーカー遺伝子(GFP)の一過的発現を10.8%にまで改善するとともに、ハトムギ種子への遺伝子の導入にも成功した。

分担研究者

飯田 修

(独)医薬基盤研究所薬用植物資源研究
センター 室長

河野 徳昭

(独)医薬基盤研究所薬用植物資源研究
センター 研究員

柴田 敏郎

(独)医薬基盤研究所薬用植物資源研究
センター 北海道研究リーダー

吉松 嘉代

(独)医薬基盤研究所薬用植物資源研究
センター 室長

協力研究者

伊藤美千穂

京都大学大学院薬学研究所 准教授

香月 茂樹

(独)医薬基盤研究所薬用植物資源研究
センター 客員研究員

熊谷 健夫

(独)医薬基盤研究所薬用植物資源研究
センター 主任研究員

杉村 康司

(独)医薬基盤研究所薬用植物資源研究
センター 研究員

千田 浩隆

(独)医薬基盤研究所薬用植物資源研究
センター リサーチレジデント

菱田 敦之

(独)医薬基盤研究所薬用植物資源研究
センター 主任研究員

A. 研究目的

現在日本で使用される生薬の国内自給率は10%以下にまで低下しており、国内の在来薬用植物栽培種も急速に失われつつある。一方、日本が生薬供給を依存している中国では、急激な経済の発展に伴い農村部の衰退傾向が見え、更に野生薬用植物資源の枯渇、農薬汚染等の問題、更には、生薬のような資源を外交的に利用しようとする動きもあり、これまでのように生薬の供給の大部分を中国に依存する状況は修正を余儀無くされている。このような状況において海外からの生薬の供給不安に対処し、創薬資源としての薬用植物を安定的に確保するためには、まず薬用植物の種・系統を種子等の形で長期保存する体制を整え、必要に応じてこれらの資源が利用でき、国内での栽培が可能となるような技術基盤を整備することが重要である。本研究では、代表的な薬用植物について発芽能力の検定法を確立し、種子保存条件を検討すると

もに、培養物を超低温で長期保存する技術の開発を目指し、研究を行なった。また、高い栽培コストが日本国内での薬用植物栽培の衰退の原因の一つであることから、低コスト栽培の実現を目指し、既存の農業機械を活用した薬用植物の機械化栽培のための技術基盤を整備するための研究を行なった。

このような研究により、薬用植物資源の長期保存が可能になるとともに、絶滅の危機にさらされている貴重な薬用植物資源の保護及び将来にわたっての安定した利用が可能となる。また、本研究により得られた機械化栽培技術を企業へ移転し、農家との契約栽培により普及や活用を図ることにより、低コスト・大規模機械化栽培の実用化が可能になり、国内での薬用植物栽培の振興に貢献するとともに、生産履歴の明確な生薬の安定確保に貢献することが期待される。

薬用植物の有用物質生産能の医薬品開発への活用には、今後遺伝子組換え技術が重要となると考えられるが、遺伝子導入細胞等から植物体を再生する段階が必要な従来の方法は、薬用植物への適用が困難な場合が多い。そこで、この再生段階を必要としない種子への遺伝子導入を中心に、薬用植物への効率的かつ迅速な遺伝子導入法の研究を行なった。このような技術の確立により、薬用植物の効率的かつ迅速な遺伝子組換えラインの作成並びに成分評価が可能となり、薬用植物におけるアクティベーションタグラインなどの構築により、有効成分の生合成機構の遺伝子レベルでの解明や遺伝子組換えによる新たな薬用植物資源の開発に大きく貢献することが期待される。

B. 研究方法

【薬用植物種子並びに培養物の保存法の研究】

(1) 薬用植物種子の発芽条件および長期保存

2007年度筑波研究部で採取した6種の薬用植物種子について、恒温条件(15, 20, 25, 30℃)に於ける発芽率を検討し、発芽試験の最適条件を設定した。

トウキの種子は、2-3年で発芽率が急速に落ちることが知られているが、一昨年度水及び洗剤で洗浄処理して貯蔵したトウキ種子の貯蔵2年後の発芽率を調査した。

2007年度種子島研究部で採取した、乾燥に弱いことが知られている12種の種子を、採種後直ちにチャック付きポリ袋並びにラミジップアルミチャック袋(AL-D:生産日本社)に入れ、5℃並びに室温にて貯蔵し、経時的に発芽率を測定した。尚、アルミチャック袋は、脱気して種子を封入した。(飯田, 杉村, 香月, 澁野, 熊谷)

(2) シソ種子の発芽率の経年変化

1986年から2007年に収穫し、シリカゲルを入れた密閉容器に入れ、4℃で保存していたシソ(*Perilla frutescens*)の純系3系統のタネ(分果)を各100粒ずつ無作為に選び、水で湿らせたろ紙を敷いたガラスシャーレに広げ、乾燥させないように注意しながら2週間4℃で低温処理し、翌日から3週間にわたり、発根、発芽の状態を記録した。(伊藤, 木内)

(3) 薬用植物培養物の長期保存法

オウレン属植物、オニゲシ、ケシーオニゲシ種間雑種のカルスを用い、超低温保存のためのPV2処理時間等を検討した。また、保存のための優良クローンの選抜のため、8系統

のニチニチソウ並びに2系統のウラルカンゾウ培養植物体の育成、クローン化並びに成分含量調査を行った。(吉松)

【薬用植物栽培の機械化に関する研究】

(1) 根菜用掘取機を用いたトウキ苗の掘取作業の機械化

ニンジン等根菜類収穫に開発されたパイロスーパーソイラーII型(カワベ)を30馬力トラクターに装着し、トウキ、ホッカイトウキの苗床での苗掘り取り調査を行い、作業時間を計測した。(柴田)

(2) アスパラ選別機を用いたトウキ類苗の選別作業の機械化

昨年と同様にアスパラ選別機(AS-Iin, オギワラ精機)を用い、トウキとホッカイトウキの苗を選別し、各ランクに仕分けられた苗の根頭径を測定して、苗の重量との相関を調べるとともに、機械選別作業に必要な時間を測定した。(柴田)

(3) 野菜移植機を使った苗の機械定植

トウキとホッカイトウキの苗およびセンキュウ(種イモ)について、半自動野菜移植機(ベジータキッドKP-1K, クボタ製)を用いて定植作業を行い、作業効率並びにトウキ類の活着率とセンキュウでのソロバン根の発生状況を調査した。(柴田)

(4) 根切機を使った根頭部の切断作業

連続ごぼう自動根切機(GCB-195A型, 岡山農栄社製)を用い、ウラルカンゾウ, トウキ, ミシマサイコの切断状況および作業時間を測定した。(柴田)

(5) 自動洗浄機による数種の薬用植物の収穫物の洗浄

回転ブラシと高圧水の組み合わせによる自動洗浄機(CSS-15-AR型, 佐藤農機)によ

る洗浄について、カンゾウ及びトウキの各半乾燥根、センキュウ、キバナオウギ、カラスビシャク及びピカノコソウの各新鮮根を材料にして予備試験を実施した。

【薬用植物種子への直接遺伝子導入法】

(1) 薬用植物種子への外来遺伝子の導入法の検討

遺伝子の導入効率の向上およびGFP遺伝子の安定的な発現を目的に、昨年度構築したpWI-sGFPベクターを用いて、ケシ種子への遺伝子の直接導入条件を改良するとともに、ハトムギ種子への遺伝子導入も検討した。(河野, 千田)

(2) 花粉への遺伝子導入の検討

ケシを材料にして、花粉への遺伝子導入を介した薬用植物の形質転換法に関する基礎実験を行った。(河野, 千田)

C. 研究結果

【薬用植物種子並びに培養物の保存法の研究】

(1) 薬用植物種子の発芽条件および長期保存

1) 乾燥に弱い種子の貯蔵法の検討

試験した12種の種子のうち、貯蔵1年後も高い発芽率を示したものは、ヤマモガシ、ハマビワ、タカクマムラサキ、カンラン、アカメガシワ、ニガキ、クスノキ、マルパニックイ、ムベであった。また、ラミジップアルミチャック袋に比べチャック付きポリ袋の方が全体的に高い発芽率を示したが、アカメガシワはアルミ袋を用い低温で貯蔵した種子のみが発芽した。

2) 洗浄処理したトウキ種子の貯蔵2年後の発芽率

洗浄処理したトウキ種子の5℃貯蔵2年後の発芽率は、a) 水8h：発芽90.0%→出葉34.7%、b) 洗剤8h：88.0%→22.7%、c) 水24h：91.3%→63.3%、d) 洗剤24h：94.0%→78.7%、e) 無処理：90.0%→81.3%であった。発芽はいずれの区ともに良好で、発芽率は90%前後であった。無処理区は水や洗剤の処理区に比べて発芽開始が遅いものの、最終的には高い発芽率を示した。

3) 薬用植物の発芽条件の検討

メハジキは25-30℃で高い発根・出葉率を示した。アマは15-30℃の広い温度域で高い発根・出葉率を示し、15-25℃でより良好であった。アイは15-20℃の低温域で、カワラケツメイは25-30℃の高温域での発根・出葉率が高かった。ジギタリスはアマ同様15-30℃の広い温度域で、ほぼ同程度の発根・出葉率を示し、15℃での発芽が最も良好であった。

(2) シソ種子の発芽率の経年変化

貯蔵期間が1-2年の種子の発芽率はほぼ100%、7-8年のものでも80%程度であったが、貯蔵期間が10年を超過したものの発芽率はほぼ0%であった。

種子の発芽力の強弱の指標となる発芽勢(播種後10日以内に発芽した分果の割合)を求めると、保存期間が1-2年では80%以上、同7-8年では60%程度であったが、それ以上の保存期間のものでは、ほぼ0%となった。

また、発芽のタイミングのばらつきも保存期間によって差がみられ、No. 5343系統では2007年に収穫した種子が発芽までに要した日数の標準偏差が±0.818日だったのに対し、2004年収穫の種子では±1.90日、2003年収穫

の種子では±4.18日と、保存期間が長いほど発芽に要する日数のばらつきが大きくなった。

(3) 薬用植物培養物の長期保存法

1) 薬用植物カルスの超低温保存

継代維持中のセリパオウレン(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を材料にガラス化法による超低温保存条件を検討した。セリパオウレンカルス9種のうち、検討条件下で再生が認められたのは、Cj, CjAntiII627-6-1, CjGUSII627-7-2の3種であり、最も再生率が高かったのは、0.2Mショ糖+1Mグリセロール含有B5培地で1日間前培養し、前処理なし、室温(24℃)でPVS2液で30分間処理後保存したCjであった(再生率36.3%)。また、5種のオウレン属植物(中国産)カルスは、セリパオウレンより再生率は低いものの、Cjで良好な再生が認められたのと同条件の処理により、3種に再生が認められた。

オニゲシは、0.2Mショ糖+1Mグリセロール含有B5培地で1日間前培養し、前処理なし、室温(24℃)、PVS2液で20分間処理後保存したカルスで9.1%再生した。ケシーオニゲシ種間雑種カルスは、7系統のうち4系統で再生が認められ、最も再生率が高かったのは、オニゲシカルスと同条件で保存したPO♀×PSIK♂2-6Mの17.3%であった。

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

分析を行った7種のアルカロイドのうち、葉からはcatharanthine, vindoline, vinblastineの3種のアルカロイドが検出された。同ロッ

トの種子由来植物であっても個体間のアルカロイド含量の差は大きかったが、概してCr, CrI, CrIW1, CrIW2, CrIP2由来植物の含量が高い傾向を示した。この結果及びシュート形成能の高さより、11系統をシュート培養で維持する系統とした。

選抜植物は、5号鉢に植え替え、非閉鎖温室でさらに栽培を継続し、形態観察、葉中のアルカロイド含量及び1葉あたりのアルカロイド収量を調べた。葉中のアルカロイド含量は、CrI2が最も高く、乾燥重量あたりcatharanthine: 0.25%, vindoline: 0.43%, vinblastine: 0.0015%であった。1葉あたりのアルカロイド収量は、CrIW1①が最も高く、catharanthine: 134.45mg, vindoline: 167.0mg, vinblastine: 2.4mg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での栽培を継続した。また、Guよりクローン化したGu2-2-1, Gu2-3-2の養液栽培を継続し、根及び根茎の収量、地下部のグリチルリチン含量とグリチルリチン収量を調査した。GuH及びGu鉢栽培の2.7年生株では、1, 2年生株での結果と同様に、Guの方が根の収量、根のグリチルリチン含量ともに高く、Gu根のグリチルリチン含量は局方の規定(2.5%以上)を満たした。養液栽培のGu2-2-1及びGu2-3-2の1.1年生株の生育は、Gu鉢栽培2.7年生株の生育を上回り、根のグリチルリチン含量は局方の規定値2.5%以上であった。また、

サブクローンのうち、特にGu2-3-2の生育が優れていた。

【薬用植物栽培の機械化に関する研究】

(1) 根菜類用掘取機を用いたトウキ苗の掘取りに関する研究

根菜類用掘取機を用いることにより、トウキ、ホッカイトウキともに9-10人の人数で10m²当たり50分程度で終了することが判明した。

(2) アスパラ選別機を用いたトウキ類苗の選別作業機械化に関する研究

6つのランクに選別された苗の内、ランク3が従来の基準の「大一中」に、ランク4が「中一小」に、ランク5が「小一極小」に相当することが明らかになり、栽培用にはランク4及び5のものを用いるべきであることが判った。ランク3-5の苗の範囲で抽苔に敏感なトウキについて抽苔率を調査した結果、ランク3では50%以上が抽苔し、苗サイズの割合と良く一致した。また、ランク4でも7-8%の抽苔率であったことから、栽培用にはランク5サイズのもの望ましいと考えられた。苗選別の作業効率は、10m²の苗床から得られる約3,300本の苗の仕分けに1本当たり10.74-13.09秒/人を要した。

(3) 野菜移植機を使った苗の機械定植に関する研究

トウキ類苗の機械定植では、完全に成功する率は62.5-63.5%で、補植が必要な場合や根の上部が露出している又は埋もれて葉を露出させる必要があるなど、人為的サポートが必要なケースが36.5-37.5%みられた。作業時間は、7人の人員配置で手植え2時間48分-3時間7分/10aに対して機械植えは2時間18分-2時間41分/10aと推定された。定植した苗の活着率はトウキ、ホッカイトウキともに手植えと差は認められず、93-97%であった。一方、前年秋に種イモを機械定植したセンキュウの生育を見ると、50%萌芽日は手植えが4月14日に対して機械植えは7日遅れ、また、5月13日における萌芽率は

手植えが98.3%に対して機械植え78%と有意差が認められた。また、秋に掘り上げて根茎のソロバン根の発生割合を調べた結果、機械植えでは94%に認められ(手植え:22%)、機械植えで著しく劣ることが明らかとなった。

(4) 根切機を使った根頭部の残茎切断作業に関する研究

自然乾燥したトウキにおいては成功率83.4%、作業効率は1本当たり4.14秒/人(手切り:9.55秒)と良好な結果が得られた。一方、カンゾウの場合、成功率88.3%、作業効率は1本当たり8.01秒/人(手切り:12.13秒)であったが、切断されたストロンが機械の回転部に巻き付き機械を停止せざるを得ないトラブルが発生した。また、ミシマサイコでは、成功率85.7%、作業効率は4.1秒/本・人であったが、廃棄される残茎側へ根が多く付着し重量換算で18.6%に達し、ロスが大きいことが判明した。

(5) 自動洗浄機による数種の薬用植物の収穫物の洗浄に関する研究(予備調査)

トウキの各半乾燥根、センキュウ、キバナオウギ及びカラスビシャクの各新鮮根についてはきれいに洗浄された。一方、カンゾウでは洗浄中にストロンが回転ブラシに巻き込まれるなどのトラブルが発生し、応用は困難であることが判明した。

【薬用植物遺伝子組換え体作出技術の確立】

(1) ケシ種子における一過的遺伝子発現効率の向上と安定的に遺伝子が発現する条件の検討

形質転換ベクターは、遺伝子の導入効率の向上および安定的な発現を目的に、pUC-EL2 Ω -sGFPおよびpUC-EL2 Ω -GUSベクターを用い、催芽前処理として硫酸処理、催芽後処理としてウイスキー処理を行う条件を検討した。まず、硫酸処理を行った後、エレクトロポレーションを行い、遺伝子導入効率を調べた結果、遺伝子導入効率は、5.0%(無処理区)、4.0%(1.8M硫酸処理区)、7.0%(3.6M

硫酸処理区) および10.8% (9.0 M硫酸処理区) であった。次に、催芽後処理として、ウィスカー処理を行ったが、無処理時の遺伝子導入効率と同じであった。結局、エレクトロポレーションによるケシ種子への遺伝子導入では、催芽前に9.0 M硫酸で2分間処理を行う事により遺伝子導入効率を10.8%まで向上させることができた。

(2) 他の薬用植物種子への遺伝子導入

導入対象をハトムギの種子とし、遺伝子導入用ベクターには、pWI-sGFP, pWI-GUS, pWI-H5Kを用いてGFPの一過的発現解析を行ったが、ハトムギの自家蛍光が強く判断が出来なかった。そこで、GUS assayで遺伝子導入の可否を判断した結果、種皮でGUS活性が確認され、そのときの形質転換効率は12% (催芽16時間) および14% (催芽40時間) であった。更に、導入遺伝子が安定的に発現しているハトムギ形質転換体を得るために、ジェネティシン耐性遺伝子を保有するpWI-H5Kベクターを用い、同条件で遺伝子導入を行い、ジェネティシンを用いて耐性株を選抜し、生き残った植物体をポットに移植し、育成した。ジェネティシン選抜完了時の耐性植物体数は200株中57株であり、これらが全て遺伝子組換え体であると仮定すると遺伝子導入効率は28.5%であった。これらジェネティシン耐性株は現在育成中である。

(3) 他の形質転換法によるケシへの遺伝子導入法の検討

エレクトロポレーション以外の遺伝子導入法で高効率かつ簡便な遺伝子導入法を検討するため、花粉形質転換法が適用出来るか否かを検討した。

まず、至適スクロース濃度を決定するため、ケシから未裂開の葯を取り出し、0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4および0.5 Mのスクロースを添加し、3分間放置後、蛍光顕微鏡で観察した結果、上記スクロース濃度においてケシ葯および花粉の形状に変化は見られなかった。次に、至適超音波処理条件を検討したが、超音波処理

後の花粉をTTC法で活性測定した結果、花粉が死滅している事が明らかになり、超音波を用いた花粉への直接遺伝子導入のためには、超音波処理の条件を詳細に検討する必要があることが明らかとなった。

次に、アグロバクテリウムを用いた花粉形質転換を試みた。葯および花粉をアグロバクテリウム(pBI-sGFP保有)菌液と混和し減圧処理 (Vacuum法) またはアグロバクテリウムを直接柱頭に塗布 (Drop法) により花粉への遺伝子導入→受粉によって遺伝子組換えを試みた。現在までに、Vacuum法3個体、Drop法10個体から種子を得た。得られた種子の平均値は203粒 (Vacuum法)、681粒 (Drop法) で、同条件で育成していた野生株5個体から得られた種子の平均662粒と比較すると、Vacuum法では約1/3、Drop法ではほぼ同量の種子が得られた。

(4) 新規蛍光タンパク質発現ベクターの構築

DsRed2遺伝子を、多種の制限酵素サイトをもつpT7blue vector, アグロバクテリウムを用いたバイナリーベクター法用のpBI121 vector, pUC18ベクターを基本骨格としてEL2 Ω エンハンサー配列をもつpUC EL2 Ω vector, 単子葉植物への遺伝子導入に実績のあるpWI vector にそれぞれ組み込み、pT7blue-DsRed2, pBI-DsRed2, pUC-EL2 Ω -DsRed2, pWI-DsRed2 vectorの4種のDsRed2ベクターを構築した。

D. 考察

乾燥に弱い種子の貯蔵中の乾燥を防ぐため、ラミジップアルミチャック袋の効果を検討したが、良好な結果が得られず、従来から用いているチャック式ポリ袋さらには湿砂の併用が有用であった。アルミチャック袋での貯蔵は、新鮮な果実や種子をそのまま脱気

状態で封印したため、袋内で発酵し、袋が膨張するものがあり、それらの種子は窒息状態になっていた可能性がある。一方、チャック式ポリ袋は密閉性に劣り、その結果適度に換気がなされ、発酵や袋の膨張が抑えられ、良好な状態が保てると思われる。

洗浄処理したトウキ種子の低温貯蔵2年後の発芽は、1年後の結果とほぼ同様で、全体的に発芽率は低下の傾向にあるが、無処理区の発根率および出葉率が高く、洗浄処理の顕著な効果が確認できなかった。しかしながら、水および洗剤24時間処理区の発芽開始が早く、旺盛で、いわゆる発芽勢が高く、洗浄処理の効果が期待される。

種子の発芽は、15℃の低温や、逆に30℃の高温で短期間に高い発芽率を示す種類がある。前者では発芽所要日数が長くなること、後者では発根後高温による損傷が大きいなど、調査に不適な場合が観察される。発芽試験における設定温度は高い発芽率、短期間で発芽を確認できること、根や葉に損傷が出ない等の条件が求められる。これらの要件をふまえ、今年度の結果から発芽試験における設定温度はメハジキでは25～30℃、アマでは20℃、アイでは20℃、カワラケツメイでは25℃、ジギタリスでは15℃が最適と考えられた。

乾燥状態4℃で保存したシソの種子の発芽能力の経年変化を調べ、この条件で発芽率の大きな低下を伴わずにシソ種子を保存できる年数は概ね7-8年であることを明らかにした。このデータは、世代交代を必要最小限にするとともに保存コストを抑える上で重要なものである。また、保存期間が10年を超えると通常の条件ではほとんどの種子が発芽しな

くなるが、これが種子死んでしまったためか深い休眠に入ってしまったためかは今後確認する必要がある。一方、保存期間が長くなると、発芽率が大きく低下する前に、発芽までに要する時間が長くなるとともに、必要とする期間のばらつきが大きくなることが明らかになった。これを利用することにより、種子の更新時期の管理を効率的に行うことが可能ではないかと思われる。

継代維持中の薬用植物カルスを材料に、保存前の培養状態(固形/液体)、前培養、PVS2処理温度及び時間、洗浄方法を検討した。セリバオウレン非形質転換カルスでは、比較的良好な再生が認められたが、形質転換体で再生が認められたのは8系統中2系統であった。オニゲシカルスでは超低温保存後の再生が認められ、ケシーオニゲシ種間雑種植物カルスでは7系統中5系統で再生が認められた。いずれの培養物も、保存後の再生が認められたカルスは、いくつかの処理条件で再生が認められており、確実な再生が認められる超低温保存のためには、植物材料の生育状態が重要であると思われた。

ニチニチソウでは、特にインドから導入した植物の中から、高アルカロイド含量、高アルカロイド収量、高形態形性能等の優れた形質を持つクローン植物が得られた。これらはアルカロイド生産研究の材料として優れており、また、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。

シュート培養として維持しているカンゾウ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、鉢栽培での栽培を継

続しても、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。植物組織培養によるクローン化と選抜により、Guから、さらに根の収量・グリチルリチン含量の高いクローンGu2-3-2が得られた。このことは植物組織培養による培養変異体の作成が、優良個体の育成に有効であることを示している。また、栽培初期（1年目）での形質調査は、閉鎖温室における高収量・高グリチルリチン含量株の選抜に有効であることが確認できた。

薬用植物栽培の機械化では、従来のスコップ等を利用した掘取り作業では9～10人で約2時間半/10m² 要したトウキ苗の掘取り作業を、パイプロスーパーソイラーII型を使用することにより同一人数で50分程度に短縮できることが判明し、大量の苗を扱う場合には作業効率の向上に極めて効果的と考えられた。また、トウキ類苗の選別作業へのアスパラ選別機の応用を2年間検討した結果、手作業での仕分けと同程度の選別精度が得られ、能力的に応用可能であることが判明し、特にランク5サイズのもの栽培用の苗として望ましいと考えられた。コンペアー1回転25秒の設定において、10m²の苗床から得られる約3,300本の苗の仕分け効率の結果より、苗選別の作業効率は1本当たり10.74～13.09秒/人（昨年結果：10.3～11.0秒/人）と考えられた。この結果に基づくと、10a定植に必要な苗（8,333本）の確保には10人の作業員で2時間29分～3時間2分要すると推定さ

れた。

野菜移植機を使ったトウキ、ホッカイトウキ苗の機械定植では、5a規模の4回反覆試験の結果、従来の手植え作業と比べていずれもほぼ同様の活着率が得られ、また、作業員の疲労度が低下し、作業時間もやや低下する結果が得られたが、移植の失敗から人為的なサポートが必要なケースが約37%みられることが判明した。この原因は、葉の展開の程度により苗の落下が妨げられ、その結果成功率が低下するためであり、実用化にあたってはさらに工夫が必要である。一方、センキュウ種イモの定植に応用した結果、種イモの芽が上向きに定植されなかったこと及び深植えにより生ずる萌芽の遅れ、及び秋に収穫された根茎のソロバン根割合が極めて高くなることが判明し、手植えと比べて著しく劣ることが明らかとなり、現状では応用不可能と判断した。

一方、連続ごぼう自動根切機を使った根頭部残茎の切断作業では、ごぼうに形状が類似のオウギ類には十分応用可能であり、また、今回トウキにも応用可能であることが判明したが、ミシマサイコのように根が比較的短い試料では切断時に試料が固定されずにロスが多くなり、機械の改良が必要である。

薬用植物への直接遺伝子導入法の検討では、硫酸処理を行う事によりケシ種子への遺伝子導入効率の向上、ケシ以外の薬用植物としてハトムギ種子への遺伝子導入、これまで行ってきたエレクトロポレーション法以外での簡便で迅速な遺伝子組換え法の開発、および新規蛍光マーカーを保有する種々ベクターの作製をほぼ達成できた。今後の改善点

として、ケシ種子への遺伝子導入に関しては一過的遺伝子発現を指標とした時の遺伝子導入効率は向上しているが、恒常的に導入遺伝子が発現する条件を今後検討していく必要がある。ハトムギ種子への遺伝子導入に関しては、抗生物質耐性による一時スクリーニングが完了した段階であるため、育成を続け、ゲノムDNAに遺伝子が組み込まれているか、キメラになっていないか等、調べていく必要がある。花粉を介した形質転換に関しては、超音波の出力等を詳細に検討し、まず花粉への遺伝子導入に成功しているか否かを検討する必要がある。アグロバクテリウム法では、実験を行ったケシから種子が得られているので、これらの種子を育成し、形質転換体を選抜する必要がある。新規マーカー遺伝子に関しては、全てのベクター構築が完了しているので、今後の実験で使用し、マーカーとして有用であるか否かを調べる必要があると考えられた。

E. 結論

乾燥に弱い種子の貯蔵法を検討するため、12種類の植物について、チャック式ポリ袋とラミジップアルミチャック袋を用い、低温と室温下で貯蔵した果実と種子の貯蔵6ヶ月後および1年後の発芽率を調査した。全体的にポリ袋による貯蔵種子の発芽率が高かったが、アカメガシワの貯蔵1年後種子の発芽は、アルミ袋での貯蔵が良好であった。

洗浄処理したトウキ種子について、貯蔵2年後の発芽率を調査した結果、いずれの処理区ともに発根率は高く、水および洗剤24時間処理さらに無処理では、昨年に比べやや低下したものの依然高い出葉率を示した。

発芽試験における設定温度はメハジキでは25-30°C、アマでは20°C、アイでは20°C、カワラケツメイでは25°C、ジギタリスでは15°Cが最適と考えられた。

薬用植物培養物の長期保存に関しては、ガラス化法による超低温保存条件を検討し、セリバオウレンカルスでは、非形質転換カルス及び形質転換カルス 3 種で超低温保存後の再生が認められ、非形質転換カルス Cj が最も高い再生率 36.3%を示した。オウレン属植物カルスでは、Cj より再生率は低いものの、5 種中 3 種に再生が認められた。オニゲシは、超低温保存後、9.1%が再生した。ケシ-オニゲシ種間雑種カルスは7系統中4系統で再生が認められ、PO♀×PSIK♂2-6M が最も高い再生率 17.3%を示した。

保存のための優良クローン選抜では、ニチニチソウで、シュート培養の葉およびその再生植物体の葉で高アルカロイド含量を示す CrI2、土壌で栽培した再生植物体の葉のアルカロイド収量が高い CrIW1①、シュート培養の葉でのアルカロイド収量が高い CrIP2⑨、未熟果実からの不定胚形成が高い矮生の CrI4 を得、特にシュート培養での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、1年目の鉢栽培でグリチルリチン含量、収量ともに高かった Gu が根の収量、グリチルリチン含量及び収量が優れ、2.7年の栽培で、主根のグリチルリチン含量が2.6%に達した。また、Guサブクローンの養液栽培のうち、特にGu2-3-2の生育が優れ、1.1年栽培株の根のグリチルリチン含量は約3%に達した。

薬用植物栽培の機械化に於いては、根菜類用掘取機によるトウキ苗の堀上げ作業を検討し、これまでの手作業では約3,000本の掘り上げに約2時間半要したが、本機の使用により同一人数で約50分程度に短縮されることが明らかになった。また、アスパラ収穫物選別用の選別機を用いてトウキ類の苗の選別作業の機械化を昨年に引き続いて検討した結果、手作業での仕分けと同程度の選別精度が得られ、能力的に応用可能であり、特にランク5サイズのものが栽培用の苗として望ましいと考えられた。作業効率は10.7-13.1秒/1本と考えられ、10a定植に必要な苗選別に要する時間を作業員10名で2時間29分-3時間2分と推定した。

苗の定植作業について、野菜用定植機の応用を検討した結果、トウキ類苗の定植は従来の手植えの場合とほぼ同じ活着率が得られ、作業時間もやや短縮する結果が得られたが、移植の失敗から人為的サポートが必要なケースが約37%みられることが判明し、実用化にはさらに工夫が必要である。また、センキュウ種イモの定植に応用した結果、萌芽の遅れや秋に収穫された根茎のソロバン根割合が極めて高くなり、現状では応用不可能と判断した。

根を利用する種類におけるゴボウ用根切断機を用いた残茎の切り取り作業について検討した結果、形状が類似のオウギやトウキ半乾燥物には応用可能であったが、ミシマサイコなど根が比較的短い試料や、強い繊維質のストロンを有するカンゾウでは改良が必要であることが判明した。更に、野菜用自動洗浄機による洗浄について、トウキの半乾燥根、直根状のキバナオウギ、塊状のセンキュウ及

びカラスビシャクの各新鮮根については応用可能であったが、細い根が密生しているカノコソウや強い繊維質のストロンを有したカンゾウでは改良が必要なが判明した。

薬用植物への新規遺伝子導入法の開発のため、ケシおよびハトムギを材料とした種子への遺伝子導入法、ケシ花粉形質転換法、および新規蛍光マーカー遺伝子を保有する形質転換ベクターの作成を行った。その結果、ケシ種子への遺伝子導入は、催芽前に9M硫酸で処理する事により遺伝子導入効率を10.5%まで向上させる事に成功した。ハトムギ種子への遺伝子導入を行い、抗生物質を用いて形質転換体を選抜した結果、約3割の個体で耐性を示すことが明らかになった。花粉形質転換に関しては、アグロバクテリウム法により遺伝子導入を試みた個体から野生株とほぼ同量の種子を得ることに成功した

(Drop法)。赤色蛍光タンパク質DsRed2を今後の選抜マーカーとして利用するために、各種遺伝子組換え用ベクターを構築した。

本法の利点は、種子植物全般への遺伝子導入が短期間に完了する点にあり、昨年度のケシに引き続き、今年度はハトムギへの適用を検討した結果、催芽16時間、減圧浸透処理3時間の実質19時間で導入操作は完了し、その後、約2週間後の発芽の段階で遺伝子導入の成否を評価可能であった。以上のように、ハトムギに対し本法が適用可能であることが示されたことから、今後、他の薬用植物についても、各植物に応じた遺伝子導入条件の最適化により適用が可能と考えられ、従来法では遺伝子導入が困難であった薬用植物への新規遺伝子導入法として本法は有望である

と期待される。

また、花粉を介した遺伝子導入法など、薬用植物への新しい遺伝子導入法を確立する事で、より簡便な薬用植物の形質転換が可能になるものと期待される。更に、新規の蛍光マーカーを保有する遺伝子導入ベクターを構築できた事で、遺伝子が導入された個体を迅速に選抜できるようになると考えられ、本年度行った全ての研究を組み合わせる事で、これまで遺伝子組換え体を得るまでに数ヶ月～数年かかっていたものを大幅に短縮できると考えられる。

F. 健康危機管理情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 大津英子, 村上則幸, 柴田敏郎: 生薬オ

ウギの収穫作業機械化による作業改善の可能性, 日本農作業学会春季大会, 2008年5月16日. (埼玉市).

- 2) 増本直子, 伊藤美千穂, 木内文之, 4℃保存したシソ分果の発芽率, 日本生薬学会第55回年会 (2008年9月, 長崎).
- 3) 柴田敏郎: 国内自給率向上を目指した薬用植物の大規模機械化栽培研究, BioJapan 2008 (World Business Forum) セミナー, 2008年10月15日 (横浜市).
- 4) 千田浩隆, 河野徳昭, 吉松嘉代, 木内文之: 薬用植物への新規遺伝子導入の開発, 日本薬学会第128年会 (横浜) 2008年3月26日
- 5) 吉松嘉代, Mondher El JAZIRI, Christian RABEMANANTSOA, Prakash Kumar TEWARY, 木内文之: ニチニチソウの形態形成能とアルカロイド生産能, 日本薬学会第129年会 (京都), 2009年3月27日

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業（生物資源・創薬モデル動物研究事業））
薬用植物資源の安定確保と有効活用のための基盤的技術の研究（H19-生物資源-指定-001）
分担研究報告書

薬用植物種子の発芽条件および長期保存法に関する研究

分担研究者 飯田 修 (独) 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター種子島研究部リーダー
協力研究者 杉村康司 (独) 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター種子島研究部研究員
協力研究者 淵野裕之 (独) 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター筑波研究部室長
協力研究者 熊谷健夫 (独) 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 香月茂樹 (独) 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター客員研究員

要旨 薬用植物種子の発芽条件および長期保存法を確立するため、以下の研究を行った。(1) 乾燥に弱い種子の貯蔵法を検討するため、12種類の植物について、チャック式ポリ袋とラミジップアルミチャック袋を用い、低温と室温下で貯蔵した果実と種子の貯蔵6ヶ月後および1年後の発芽率を調査した。全体的にポリ袋を用いた貯蔵による種子の発芽率が高かったが、アカメガシワの貯蔵1年後種子の発芽は、アルミ袋での貯蔵が良好であった。(2) 水およびアルカリ性洗剤液で洗浄処理したトウキ種子について、貯蔵2年後の発芽率を調査した結果、いずれの処理区ともに発根率は高かったが、水および洗剤8時間処理区では根が褐変枯死するものが多く、出葉率が大きく低下した。一方、水および洗剤24時間処理さらに無処理では、昨年に比べやや低下したものの依然高い出葉率を示した。(3) 発芽試験における設定温度を確定するため、6種類の栽培種について、異なる温度条件下で発芽試験を行い、最適発芽温度および発芽所要日数を調査、検討した。

A. 研究目的

地球的規模の環境の変化により、動植物をはじめとする生物資源は急速に減少し、その保護・保存が求められている。遺伝子資源を保存するために、植物では種子および栄養体での貯蔵行われるが、貯蔵方法は植物種により異なり、遺伝的

情報を損なうことなく、かつ長期にわたり貯蔵可能な方法が求められる。そこで薬用植物種子の発芽条件および長期保存法を確立するため、(1) 乾燥により発芽が急激に低下すると思われる種子について、乾燥防止を目的としてチャック式ポリ袋とラミジップアルミ袋を用いて貯蔵

効果を検討した。今年度は一部、貯蔵6ヶ月後の種子と全種類について、1年後の発芽試験を行った。(2)水およびアルカリ性洗剤液で洗浄処理したトウキ種子について、貯蔵2年後の発芽率を調査した。

(3)薬用植物の発芽条件の規格化を図る一環として、発芽試験における設定温度を確定するため、6種類の栽培種について採種後間もない新鮮な種子を用い、異なる温度条件下で発芽試験を行い、最適発芽温度および各温度における発芽所要日数を調査、検討した。

B. 研究方法

(1) 乾燥に弱い種子の貯蔵法の検討

材料：平成19年(2007年)に種子島研究部で採取した以下の種子(一部果実)を供試した。ピロウ(*Livistona chinensis* (Jacq.) R. Br. ex Mart. var. *subglobosa* (Hassk.) Becc.) (果実, 種子), ハマビワ(*Litsea japonica* (Thunb.) Juss.), タカクマムラサキ(*Callicarpa longissima* (Hemsl.) Merr.), ヤマモガシ(*Helicia cochinchinensis* Lour.), カンラン(*Canarium album* (Lour.)

Raeusch.), ヤマモモ(*Myrica rubra* Siebold et Zucc.), ニガキ(*Picrasma quassioides* (D. Don) Benn.), アカメガシワ(*Mallotus japonicus* (Thunb.) Müll. Arg.), ヤマコンニャク

(*Amorphophalus hirtus* N. E. Br.

var. *kiusianus* (Makino) M. Hotta), クスノキ(*Cinnamomum camphora* (L.) Siebold) (果実, 種子), マルバニッケイ(*Cinnamomum daphnoides* Siebold et

Zucc.) (果実, 種子), ムベ(*Stauntonia hexaphylla* (Thunb.) Decne.) .

方法：採種後、果実および種子を直ちにチャック付きポリ袋およびラミジップアルミチャック袋(AL-D：生産日本社)に入れ、5℃および室内・室温下にて貯蔵した。アルミチャック袋には、脱気して種子を封入した。播種床は野外では鉢、室内では蓋付きスチロール角形ケース(152×72×25 mm)を用いた。

(2) 洗浄処理したトウキ種子の貯蔵2年後の発芽率の確認

材料：トウキ(*Angelica acutiloba*) 平成18年(2006年)産種子 100粒重 0.235~0.245 g

洗浄液および洗浄方法：上記種子と蒸留水又はアルカリ性洗剤(シカクリーン LX-3 関東化学)1%濃度液を用い、種子を a) 蒸留水中8時間振とう, b) 1%洗剤液中8時間振とう, c) 蒸留水中8時間振とう後、新しい蒸留水中で更に16時間振とう(水24時間), d) 1%洗剤液中8時間振とう後、新しい1%洗剤液中で更に16時間振とう(洗剤24時間)の各処理およびe) 無処理区を設けた。処理後、除湿した室内の室温下で乾燥した種子約1.5 g, 脱酸素剤およびシリカゲル各1個をラミジップアルミチャック袋(0.089×85×120 mm AL-D 生産日本社)に入れ、脱気後密封し貯蔵した。

貯蔵温度：5℃, -1℃, -20℃で貯蔵した。5℃貯蔵は種子島研究部で、-1℃と-20℃貯蔵は筑波研究部で行い、それぞれの種子の発芽試験は各研究部で行った。

種子封入日は平成18年12月26日，低温貯蔵開始日は平成19年1月4日，貯蔵2年後の発芽試験開始日は，種子島と筑波研究部ともに平成21年1月15日であった。

発芽試験：蓋付きスチロール角形ケース（152×72×25 mm）1個に種子50粒置床。3反復。

発芽温度：20℃（恒温）

照明条件：明暗各12時間

発芽チャンパー：種子島研究部ではMTI-201（EYELA）を，筑波研究部ではTD-28CCFL-3LD（日本医化器械製作所）を用いた。両機器は照明が異なり，前者は直管蛍光灯40W，4本，後者はCCFL（冷陰極蛍光ランプ）6w，5本仕様であったが，照明時間は同一とした。

発芽の確認：発根時および子葉の展開時（出葉）の2段階で確認した。

（3）薬用植物の発芽条件の規格化に関する研究

材料：平成19年（2007）に筑波研究部で採取した以下の栽培種の種子を供試した。メハジキ（*Leonurus sibiricus* L.），ケイガイ（*Schizonepeta tenuifolia* Briq.），アマ（*Linum usitatissimum* L.），アイ（*Polygonum tinctorium* Aiton），カワラケツメイ（*Cassia nomame* (Siebold) Honda），ジギタリス（*Digitalis purpurea* L.）

発芽試験：蓋付きスチロール角形ケース（152×72×25 mm）1個に種子50粒置床。下記温度条件下でそれぞれ3反復で実施。発芽温度：発芽チャンパーを用い，15，20，25，30℃の恒温条件で行った。

照明条件：明暗各12時間

発芽の確認：発根時および出葉時の2段階で確認した。

C. 研究結果

（1）乾燥に弱い種子の貯蔵法の検討

発芽の結果を表1に示した。貯蔵1年後も高い発芽率を示したものは，ヤマモガシ，ハマビワ，タカクマムラサキ，カンラン，アカメガシワ，ニガキ，クスノキ，マルバニッケイ種子，ムベであった。貯蔵袋の比較では，ラミジップアルミチャック袋に比べチャック付きポリ袋の方が全体的に高い発芽率を示したが，アカメガシワはアルミ袋・低温貯蔵の種子のみが発芽した。一方，ピロウ果実，ヤマコンニャクは貯蔵温度や袋の種類にかかわらず，貯蔵中の生存期間が短く，1～3ヶ月であった。

（2）洗浄処理したトウキ種子の貯蔵2年後の発芽率の確認

洗浄処理したトウキ種子における，5℃貯蔵2年後の発芽率の推移を図1に示した。最終的な発芽率は，a) 水8h：発根90.0%→出葉34.7%，b) 洗剤8h：88.0%→22.7%，c) 水24h：91.3%→63.3%，d) 洗剤24h：94.0%→78.7%，e) 無処理：90.0%→81.3%であった。発根はいずれの区ともに良好で，発根率は90%前後であった。一方，出葉は水と洗剤の24時間処理および無処理が良好であったが，水および洗剤の8時間処理では根が褐変枯死するものが多く，出葉率は大きく低下した。無処理区は水や洗剤の処理区に比べ，発芽開始が遅いものの最終的には高

い発芽率を示した。なお、供試した保存種子の水分含量は5.33-6.21%であった。

種子の貯蔵温度と発芽率の関係については、水および洗剤24時間処理さらに無処理では貯蔵温度にかかわらず、高い発根率と出葉率を示した。一方、水8時間と洗剤8時間処理では、出根率と出葉率はともに5°Cでやや高く、-1°Cで低い傾向が見られた。(表2)。

(3) 薬用植物の発芽条件の規格化に関する研究

メハジキは25-30°Cで高い発根・出葉率を示した。アマは15-30°Cの広い温度域で高い発根・出葉率を示し、15-25°Cでより良好であった。アイは15-20°Cの低温域で、カワラケツメイは25-30°Cの高温域での発根・出葉率が高かった。ジギタリスはアマ同様15-30°Cの広い温度域で、ほぼ同程度の発根・出葉率を示した。15°Cでの発芽が最も良好であったが、発芽所要日数が最も長かった。

ケイガイはいずれの温度においても発芽率は低く、発根率は0.7-4.0%であった。これは種子の充実度が低かったためによるものと思われた。

D. 考察

乾燥に弱い種子の貯蔵中の乾燥を防ぐため、ラミジップアルミチャック袋の効果を検討したが、良好な結果が得られず、従来から用いているチャック式ポリ袋さらには湿砂の併用が有用であった。アルミチャック袋での貯蔵は、新鮮な果実や種子をそのまま脱気状態で封印したため、袋内で発酵し、袋が膨張するものがあり、

それらの種子は窒息状態になっていた可能性がある。一方、チャック式ポリ袋は密閉性に劣り、その結果適度に換気がなされ、発酵や袋の膨張が抑えられ、良好な状態が保てると思われる。アルミ袋は高い密封性のため、乾燥種子の保存に有用と思われるため、今後検討したい。次年度は貯蔵2年後の発芽を調査する予定である。

洗浄処理したトウキ種子の低温貯蔵2年後の発芽は、1年後の結果とほぼ同様な様相を示した。全体的に発芽率は、1年後に比べ低下の傾向にあるが、無処理区の発根率および出葉率が高く、洗浄処理の顕著な効果が確認できなかった。しかしながら、水および洗剤24時間処理区の発芽開始が早く、旺盛で、いわゆる発芽勢が高く、洗浄処理の効果が期待される。

貯蔵温度の影響は、水と洗剤24時間処理および無処理ではほとんどみられなかったが、水・洗剤8時間処理の発芽率は昨年1年後の結果と大きく異なり、貯蔵温度の明確な影響は把握できなかった。次年度、貯蔵3年後の発芽率を確認する予定である。

種子の発芽は、15°Cの低温や、逆に30°Cの高温で短期間に高い発芽率を示す種類がある。前者では発芽所要日数が長くなること、後者では発根後高温による損傷が大きいなど、調査に不適な場合が観察される。発芽試験における設定温度は高い発芽率、短期間で発芽を確認できること、根や葉に損傷が出ない等の条件が求められる。これらの要件をふまえ、今年度の結果から発芽試験における設定温度

はメハジキでは25-30℃, アマでは20℃, アイでは20℃, カワラケツメイでは25℃, ジギタリスでは15℃が最適と考えられた。

E. 結論

(1)乾燥に弱い種子の貯蔵法を検討するため、12種類の植物について、チャック式ポリ袋とラミジップアルミチャック袋を用い、低温と室温下で貯蔵した果実と種子の貯蔵6ヶ月後および1年後の発芽率を調査した。全体的にポリ袋による貯蔵種子の発芽率が高かったが、アカメガシワの貯蔵1年後種子の発芽は、アルミ袋での貯蔵が良好であった。

(2)水およびアルカリ性洗剤液で洗浄処理したトウキ種子について、貯蔵2年後の発芽率を調査した結果、いずれの処理区ともに発根率は高かったが、水および洗剤8時間処理区では根が褐変枯死する

ものが多く、出葉率が大きく低下した。一方、水および洗剤24時間処理さらに無処理では、昨年に比べやや低下したものの依然高い出葉率を示した。

(3)発芽試験における設定温度はメハジキでは25-30℃, アマでは20℃, アイでは20℃, カワラケツメイでは25℃, ジギタリスでは15℃が最適と考えられた。

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

表1 乾燥に弱い種子の貯蔵条件と発芽

植物名	取り置き		貯蔵条件		貯蔵1ヶ月後		貯蔵3ヶ月後		貯蔵6ヶ月後		貯蔵1年後	
	播種数	発芽数	播種数	発芽数	播種数	発芽数	播種数	発芽数	播種数	発芽数	播種数	発芽数
ビロウ	果実	25	13	室温・ポリ袋	10	5	10	0	10	0	—	—
				室温・アルミ袋	10	4	10	0	10	0	—	—
				低温・ポリ袋	10	4	10	0	10	0	—	—
				低温・アルミ袋	10	5	10	0	10	0	—	—
ヤママゴシ	種子	25	25	室温・ポリ袋	10	10	10	3	10	0	—	—
				室温・アルミ袋	10	10	10	6	10	0	—	—
				低温・ポリ袋	10	10	10	10	9	—	—	
				低温・アルミ袋	10	8	10	9	10	5	—	—
ハマビワ	種子	25	25	室温・ポリ袋	10	10	25	25	25	25	22	0
				室温・アルミ袋	10	0	25	0	25	0	22	0
				低温・ポリ袋	10	20	25	25	25	25	22	0
				低温・アルミ袋	10	20	25	25	25	25	22	0
タカクマムラサキ	種子	50	50	室温・ポリ袋	50	50	50	50	50	50	50	0
				室温・アルミ袋	50	50	50	50	50	50	50	0
				低温・ポリ袋	50	50	50	50	50	50	50	0
				低温・アルミ袋	50	50	50	50	50	50	50	0
カンラン	種子	25	23	室温・ポリ袋	10	10	10	2粒(2本)	10	0	0	
				室温・アルミ袋	10	5	10	0	10	0	0	
				低温・ポリ袋	10	8	10	8粒(11本)	10	7	10粒(16本)	
				低温・アルミ袋	10	6	10	4粒(5本)	10	7	10	
ヤママモ	種子	25	14	室温・ポリ袋	25	16	25	5	25	8	—	
				室温・アルミ袋	25	1	25	0	25	0	—	
				低温・ポリ袋	25	18	25	23	25	2	—	
				低温・アルミ袋	25	0	25	12	25	0	—	
アカメガシワ	種子	50	50	室温・ポリ袋	50	50	50	50	50	50	50	
				室温・アルミ袋	50	50	50	50	50	50	50	
				低温・ポリ袋	50	50	50	50	50	50	50	
				低温・アルミ袋	50	50	50	50	50	50	50	