

201008032A

厚生労働科学研究費補助金
創薬基盤推進研究事業

優良形質を持った薬用植物新品種の育成
及びそれら種苗の安定供給体制構築のための保存、
増殖に関する基盤的研究

平成22年度 総括・分担研究報告書
(H22-創薬総合-指定-015)

研究代表者 柴田 敏郎

平成23(2011)年3月

目次

I. 総括研究報告	
優良形質を持った薬用植物新品種の育成及びそれら種苗の安定供給体制構築のための保存, 増殖に関する基盤的研究	1
柴田敏郎	
II. 分担・協力研究報告	
1. 選抜育種による新品種育成と普及および種苗増殖に関する研究	13
柴田敏郎, 林 茂樹, 高上馬 希重	
2. 新品種育成及び種苗増殖に関する研究	
－ハトムギ4系統の栽培比較試験研究－	21
杉村康司, 飯田 修, 香月茂樹	
3. 新品種育成及び種苗増殖に関する研究	
－高コデイン含有ケシ品種の育成栽培－	27
杉村康司, 飯田 修, 吉松嘉代, 河野徳昭	
4. 外来遺伝子導入による品種作出を目指した基盤的技術の研究	31
河野徳昭, 乾 貴幸	
5. 遺伝子マーカーの解明による品種識別技術の確立	36
河野徳昭, 乾 貴幸	
6. DNA塩基配列情報に基づく薬用植物の品種識別法の開発に関する研究	49
菱田敦之, 林 茂樹	
7. カンゾウの新規品質評価手法に関する検討	55
渕野裕之, 大根谷 章浩	
8. 新品種育成のための評価法の検討	
－メハジキの温度変化に伴う成分変異と品質評価法の検討－	64
川原信夫, 渕野裕之	
9. 薬用植物の発芽試験法および効率的増殖法に関する研究	70
熊谷健夫	
10. 種子の発芽試験・貯蔵法及び種苗増殖に関する研究	79
飯田 修, 吉松嘉代, 杉村康司	
11. 人工環境制御下での種苗の保存と効率的増殖に関する研究	86
吉松嘉代	
12. 薬用植物栽培における農薬の適正使用に関する研究	
-ケイリンサイシンおよびゲンチアナの栽培における除草剤の除草効果-	94
菱田敦之	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	101

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

平成22年度総括研究報告書

優良形質を持った薬用植物新品種の育成及びそれら種苗の安定供給体制構築のための保存、増殖に関する基盤的研究 (H22-創薬総合-指定-015)

主任研究者

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

薬用植物の国内栽培を推進するためには、各地域の環境に適した収量性の高い、日本薬局方の品質基準を満たす品種の育成と、それらの種苗の安定供給が必要である。そこで、本研究では、選抜育種法による新品種育成、遺伝子導入など先端的な品種育成技術や品質評価法の確立、育成品種のDNAマーカーに関する研究を行なうとともに、種子の発芽能力の簡易検定法の確立、発芽試験の規格化並びに長期保存の影響、培養苗由来再生植物体の形質への影響及び種苗の効率的増殖方法や圃場栽培時の農薬の適正使用について検討した。

新品種の育成に関する基盤的研究では、選抜育種法によるカンゾウ、シャクヤク、ハトムギ及びケシの新品種育成、育成品種の諸形質及び普及について検討した。また、ナイモウオウギ種子への遺伝子導入操作に適した種子の催芽条件、並びにsGFP及びRFP遺伝子は導入マーカーとして利用可能であることを明らかにした。グリチルリチン生合成経路のスクアレン合成酵素遺伝子及びβ-アミリン11位酸化酵素遺伝子の各ゲノムDNAの塩基配列情報は、カンゾウ属植物の種間識別に有用であることを明らかにした。ハトムギのDNAマーカーによる品種識別法確立のため、合計17系統を収集して検討した。育成品種の化学的品質評価法の確立研究として、カンゾウ熱水抽出物の2次元TLC展開後のスポットのTLCMSによる検討を行い、2次元TLCの展開溶媒の確立、及びTLCMSインターフェースによるグリチルリチン酸等の検出を確認し、また、メハジキ収穫後の乾燥温度条件による成分変化を検討し、Labdane系ジテルペンが溶液中で容易に化学変化を起こすことを明らかにした。

種苗の保存に関する基盤的研究では、種子の発芽試験の規格化を図るため、コガネバナ等11種について15、20、25、30℃恒温条件下にて発芽試験を行い、発根率、出葉率及び発根と出葉の所要日数から発芽試験の最適設定温度を明らかにした。テトラゾリウム塩による簡易発芽能力検定法を検討し、ベニバナ種子の最適操作条件を明らかにした。ウコン及びショウガの培養苗由来再生植物体の生育を検討した。

種苗の効率的増殖法に関する研究では、ホソバオケラ及びオケラの植物組織培養による効率的増殖法、人工環境制御下での生産技術構築のための基盤的技術を確立した。チョウジ及びカノコソウの効率的増殖法を検討し、チョウジの挿し木繁殖は困難であるが取り木繁殖が可能なること、カノコソウ根収量に及ぼす圃場への稲わら被覆処理及び摘花は有効であることを確認した。また、ケイリンサイシン及びゲンチアナ栽培における除草剤ロロックス及びラウンドアップの適正使用方法を検討し、それぞれの除草効果及び薬害の程度について明らかにした。

分担研究者

川原信夫

(独) 医薬基盤研薬用植物資源研究
センター・センター長

飯田 修

(独) 医薬基盤研究所薬用植物資源研究
センター 種子島リーダー

瀧野裕之

(独) 医薬基盤研薬用植物資源研究
センター 研究室長

吉松嘉代

(独) 医薬基盤研薬用植物資源研究
センター 研究室長

菱田敦之

(独) 医薬基盤研薬用植物資源研究
センター 研究室長

熊谷健夫

(独) 医薬基盤研薬用植物資源研究
センター 主任研究員

河野徳昭

(独) 医薬基盤研薬用植物資源研究
センター 研究員

杉村康司

(独) 医薬基盤研薬用植物資源研究
センター 研究員

協力研究者

高上馬 希重

北海道医療大学薬学部 准教授

香月 茂樹

(独) 医薬基盤研薬用植物資源研究
センター 客員研究員

林 茂樹

(独) 医薬基盤研薬用植物資源研究
センター 特任研究員

乾 貴幸

(独) 医薬基盤研薬用植物資源研究

センター リサーチレジデント

大根谷 章浩

(独) 医薬基盤研薬用植物資源研究
センター

A. 研究目的

長寿社会で重要な役割が期待される漢方薬やサプリメントの原料生薬や薬用植物は、現在国内使用量の80%以上が低価格な中国やアジア諸国など海外からの輸入に依存している。しかし、それらの国々の経済発展並びに乱獲等による資源枯渇にともない価格が高騰しつつある。一方、中国における土壌汚染及び農薬問題等、安全性の面から生産履歴の明確な国内生産品を求める意見が業界からも高まっており、品質の一定した安全な生薬を医療の場へ安定的に供給することは、国民の健康を保証する立場からも必要となっている。国内栽培を推進するためには、栽培技術の改良研究とともに、各地域の気象条件や環境に適した収量性の高い、日本薬局方の品質基準を満たす品種の育成が必要であるが、それらの組織的な研究は行われておらず新品種の育成は急務である。新品種の育成には、従来の選抜育種法とともに、組織培養や外来遺伝子の導入による短期間での育成技術の確立や、育成品種の知的財産権保護のためのDNAマーカーの解明が必要であり、一部の農産物では既に実用化されている。

このような状況に対処するために、薬用植物の選抜育種法による新品種育成、遺伝子導入など先端的な品種育成技術や品質評価法の研究、及び育成品種の権利保護のためのDNAマーカーに関する研究を行ない品種の育成を促進するとともに、種子の発芽能力の簡易検定法の確立や長期保存の影響、培養苗由来再生植物体の形質への影響及び種苗の効率的増殖方法を明らかにし、育成された品種の種苗を安定して供給可能とする体制を構築

することを目的として研究を行なった。

本研究の結果は国内での薬用植物栽培生産を促進し、生産履歴の明確な生薬や薬用植物の安定確保に貢献できるものであり、品質が均一で安全な原料生薬を将来にわたって医療の場へ安定的に供給することによって医療の安心や国民の健康に大きく貢献することが期待される。

B. 研究方法

【新品種の育成に関する基盤的研究】

(1) 選抜育種による品種育成と種苗の増殖、普及

カンゾウ優良系統の特性調査と増殖について、ウラルカンゾウ実生5年生株から生育等を指標として一次選抜した100個体(系統)を材料にしてリクイリチン(以下LQ)の系統間変異、ならびに前年度に特許出願した高グリチルリチン酸(以下GL)含有6系統を含む11系統を材料にして、品種登録に向けた特性調査及び自殖性に関する調査を行なった。

シャクヤク新品種「べにしずか」の特性調査と新品種候補系統の探索について、前年度品種登録出願した「べにしずか」の摘蕾作業時間の調査、及び北海道研究部でこれまでに選抜した新品種候補6系統を材料にして栽培5年目の収量調査を行った。

ハトムギについて、品種「北のはと」の北海道内における生産栽培(合計10.2ha)の普及指導を行なうとともに、リン酸肥料の施用量が生育・収量に及ぼす影響について6試験区(0~28kg/10a)を設定して検討した。また、種子島など九州南部地域で生産栽培可能な系統を検討するため、種子島在来種、前年度品種登録出願した「はとろまん」、岡山在来種、「北のはと」の4系統の栽培比較試験を行った。

ケシについて、高コデイン含量品種の育成を目指し、自殖二世代の隔離採種と選抜を行った(杉村、柴田、飯田、香月、

吉松、河野、林、高上馬)。

(2) 外来遺伝子導入による品種作出を目指した基盤的技術の研究

ナイモウオウギ種子への直接遺伝子導入のため、遺伝子導入に必要な種子催芽条件の検討、及び遺伝子導入形質転換体の選抜に必要な可視的選抜マーカーの使用の可否について検討するべく、ナイモウオウギの芽生えを、実体蛍光顕微鏡(VG-05シリーズ(キーエンス)、バンドパスフィルター sGFP: FF01-513/17-25 及び RFP: FF01-593/40-25 (Semrock))を用いて蛍光観察を行った(河野、乾)。

(3) DNAマーカーによる品種識別技術の確立

二次代謝酵素遺伝子ゲノムDNA塩基配列の多型情報を使用したカンゾウ属植物の遺伝子識別法を確立するために、GLの生合成経路上で機能すると考えられる2種の酵素遺伝子、スクアレン合成酵素(SQS)及び β -amyrin 11位酸化酵素(CYP88D6)遺伝子について、3種1変種17系統のカンゾウ属植物を材料にして、ゲノムDNAのイントロン領域を中心に多型情報を収集・解析することにより、優良系統の識別の可能性を検討した。また、ハトムギについて、玄穀による品種識別法を開発する目的で、「北のはと」及び国内外の市場流通品を収集し、種子からのDNA抽出法を検討するとともに、得られたDNA試料の中から8系統を実験材料として、葉緑体DNAの5領域での遺伝子および遺伝子間配列による識別を検討した(河野、乾、菱田、林)。

(4) 育成品種の成分的品質評価法確立研究

カンゾウの微量成分などの新規成分分析法の開発を目的として、内モンゴル産カンゾウ(東北1号)を材料にして、2次元展開法薄層クロマトグラフィーによる展開後のスポットのTLCMSによる検討を行なった。また、メハジキの品質評価方法の確立の一環として、地上部を収穫後直

ちに15, 40, 50, 70及び 90°Cの5段階の温度にて4日間乾燥させた後, 葉, 茎, 花に分離し, メタノール抽出エキスの TLC上に増減する成分を見だし, その後, GCMS, TLCMSにてそれらの成分の特定を行った(瀧野, 川原, 大根谷).

【種苗の保存に関する基盤的研究】

(1) 種子の簡易発芽能力検定法の確立

1%TTC (2,3,5-triphenyl-2H-tetrazolium chloride)溶液による発芽能力検定法を, ベニバナ種子を用いて検討した. 温度を 20°C, 30°Cの 2 段階, 染色時間を 3, 6 及び 24 時間の 3 段階にて比較を行った(熊谷).

(2) 発芽試験法の体系化

コガネバナ, キササゲ, ゴマ, キカラスウリ, ヒキオコシ, カワラヨモギ, ヒロハクララ等11種について15, 20, 25, 30°Cの恒温条件下, 明期12時間, 3反復にて発芽試験を行い, 発根及び出葉までの日数を調査した(熊谷).

(3) 培養苗由来の再生植物体形質変異に関する実証試験

植物ホルモン無添加 MS 固形培地(ゲルライト 0.25%で固化), 23°C, 14 時間照明下での継代培養により増殖させたウコン及びショウガを材料にして, 2010年5月18日及び7月21日に, 種子島研究部でガラス温室内で馴化を行った. 2011年1月24日に掘り上げ, 根茎の生育状況を調査した(飯田, 吉松, 杉村).

【種苗の効率的増殖法に関する研究】

(1) 薬用植物ファクトリー構築に関する研究

圃場栽培したホソバオケラ及びオケラ株分け2年目秋の根茎に形成したシュートを材料に, 無菌培養物の作製, シュート増殖条件の検討, 発根条件の検討を行った. 得られた再生植物体を用いて, 閉鎖温室内(温度 20°C, 相対湿度 55%, 補光照明 4 灯の使用により 14 時間照明)にて, それぞれの養液栽培条件の検討を

行った(吉松).

(2) 種子繁殖が困難な植物の効率的増殖法に関する研究

チョウジの挿し木及び取り木による増殖法を検討した. 即ち, 2009年5月15日, 6月15日, 7月15日, 9月15日, 11月16日及び12月15日に挿し木を行った後, 2010年1月25日, 2月12日及び2011年1月24日に発根状況を調査した. 取り木処理を2010年7月6~9日に行い, 2011年1月24日に発根状況を調査した. また, カノコソウの効率的増殖法を検討するため, 圃場への稲わら被覆処理および摘花の効果について調査した(飯田, 熊谷, 杉村).

(3) 薬用植物栽培における農薬の適正使用についての検討

ケイリンサイシン栽培における生育初期の除草剤ロロックスの処理効果と薬害について, 無処理区及び手除草区との比較試験を 3 (合計 5) 試験区を設定して検討した. また, ゲンチアナアについて, 除草剤ロロックス及びラウンドアップの処理効果と薬害について明らかにするべく, 同様に合計 4 試験区を設定して検討した(菱田).

C. 研究結果

【新品種の育成に関する基盤的研究】

(1) 選抜育種による品種育成と種苗の増殖, 普及

カンゾウ優良系統の特性調査の結果, 5年生株100個体(系統)のLQ含量は, 最小0.11%, 最大2.65%, 平均値が $1.00 \pm 0.49\%$ となり, 個体間で大きな変異が認められ, また, GL含量とLQ含量の間には強い正の相関関係 ($r=0.743$, $p<0.001$, $n=100$) が認められた. 高GL系統No.5の2年生根におけるGL含量は2.83%, 低GL系統No.21は0.85%となり, 遺伝性が認められた. 自殖性に関して明らかにするべく, 人工受粉花と無受粉花の結莢率(莢数/小花数)を検討した結果, 無受粉花の結莢率は3%であっ

たのに対し、人工受粉花では80%となり、自殖性が低いことが判明した。

シャクヤク新品種「べにしずか」の特性調査と新品種候補系統の探索を行なった結果、10a当たりの蕾（花）数と摘蕾作業の所要時間は、「北宰相」の蕾数が32,756個、7.8時間/人であるのに対し、「べにしずか」は219個、0.5時間/人であった。新品種候補6系統の栽培5年目の収量調査を行った結果、No.513系統の収量が最も高く、また、各系統の5年株の収量と3年株の平均収量との間に強い正の相関関係が認められたことから ($r=0.951, p<0.001, n=7$)、収量特性の再現性が確認できた。

ハトムギ品種「北のはと」の商業栽培生産普及および栽培試験の結果、生産栽培における収量は、士別市では 7.7t/3.2ha、八雲町では 14.1t/6.3ha、その他の地区では 1.7t/7.5a と極めて良好な収量が得られ、全体で 23.5t の生産量となった。例年に比べて完熟となる時期が早く、北海道研究部における試験栽培では自然落下が観察された。病虫害の発生はいずれの地区でも全く見られず、また、6年連作でも大きな障害は認められなかった。リン酸の施用効果について、最も多量に施した区において有意に高い草丈、子実数及び乾物重が得られたが、茎数には効果が認められず、草丈を除いて12kg/10a区と統計的に有意差は認められなかった。

九州南部地域で生産栽培可能なハトムギ品種を育成するため、種子島在来種、前年度品種登録出願した「はとろまん」、 「岡山在来」及び「北のはと」の4系統の比較試験を種子島にて行った結果、種子島在来種は、発芽率が最も高い、出穂期及び開花盛期が北のはとに次いで早い、稔実果実数が最も多い、穂発芽数が少ない、種子と果実の100粒重と100ml容積重ともに他3系統に比べて高い等々の特徴を示した。一方、筑波で育成された「はとろまん」や「岡山在来」は、草丈高く、

茎数も多く大型になるが、稔実率が最も低い傾向が見られ、また、「北のはと」は、草丈が低く、稔実率は高いが、稔実果実数が少なく、穂発芽数が最も高い結果が得られた。

ケシについて、高コデイン含有品種の育成を目指し、自殖二世代の隔離採種と選抜を行った結果、選抜系統C×I 2-10のあへん採取量は、3回目まで採取できたものが少なく総量は0.2gに満たない株が多いが種子量は全体的に多いこと、あへん中のモルヒネ含量は4.3～11.6%と一貫種より低く、一方、コデイン含量は2.2～12.1%で一貫種より高い株が多いことが明らかとなった。

(2) 外来遺伝子導入による品種作出を目指した基盤的技術の研究

生薬オウギの基原植物で、硬実性のあるナイモウオウギ種子への直接的な遺伝子導入に必要な催芽条件の検討を市販精米機を用いて行なった結果、置床数時間で吸水した精米機処理種子は、子葉や幼根が傷ついた個体が多く、その後の生育過程で正常に生育しない個体が多く、催芽処理に用いた種子当たりの発芽率は低い結果となったが、一方、置床1日目以降に吸水した種子は、初期吸水種子に比べて正常に発芽する割合が高かった。また、遺伝子導入形質転換体の選抜に必要な可視的選抜マーカーの使用の可否について検討するべく、幼植物を用いて sGFP及びRFP遺伝子の蛍光観察における自家蛍光の強さの検討を行った結果、sGFP、RFPいずれに対しても、導入遺伝子の蛍光観察を阻害するような顕著な自家蛍光は認められなかった。

(3) DNAマーカーによる品種識別技術の確立

ウラルカンゾウの優良系統をモデルとして、GL生合成経路の鍵酵素のゲノムDNA配列の多型情報をもとに系統間の識別を試みた結果、スクアレン合成酵素遺伝子、 β -アミリン11位酸化酵素

遺伝子の各ゲノムDNAの塩基配列情報を用いることにより、PCR法ならびにPCR-RFLP法により優良系統を他系統と識別できることが示された。

ハトムギ「北のはと」及び収集したハトムギ7系統を選び、これらのDNA溶液を鋳型とし、葉緑体DNAの5領域の増幅を試みた結果、*rpl16*および*rpl16-rpl14*介在配列領域、*atpF-atpA*介在配列領域および*trnS-trnT*領域では全ての試料で増幅が確認され、*trnL* (UAA) 5'exo-*trnL* (UAA) 3'exonでは「北のはと」を含む5系統で増幅が確認されたが、*trnD-trnT*領域では増幅が認められなかった。

(4) 育成品種の成分的品質評価法確立研究

カンゾウに含有される微量成分の新規分析法を確立するため、2次元展開法薄層クロマトグラフィーによるTLC展開後のスポットのTLCMSによる検討を行なった結果、第1回目の展開をCHCl₃-MeOH-H₂O (65:30:5)、第2回目の展開をEtOAc-MeOH-AcOH (3:1:2)とすることにより、各種配糖体の成分スポットを展開することができ、また、TLCMSインターフェースによるTLC上のスポットのMSの測定を行い、フラボノイド配糖体のほか、GLの検出が可能であった。

メハジキ地上部を収穫後直ちに15℃～90℃間の5段階の温度にて乾燥させ増減する成分を部位別に調べた結果、葉において高温条件で乾燥した場合にTLC上で消失する成分が見いだされた。この成分をGCMS、TLCMSにて特定を試みた結果、本化合物はLabdane系ジテルペン化合物と考えられ、スポットの消失は揮発によるものではなく分解に起因するものと推定された。

【種苗の保存に関する基盤的研究】

(1) 種子の簡易発芽能力検定法の確立

TTC溶液による簡易発芽能力検定法を、ベニバナ種子を用いて検討した結果、種

子をあらかじめ水に18時間浸漬処理した後、胚を含む部分を取り出して、1%TTC溶液に30℃3時間以上浸漬すると鮮明に濃赤色に染色することが判明した。

(2) 発芽試験法の体系化

コガネバナの発芽率は、20℃で高く、発根率46%、コエンドロでは15、20℃で高く、15℃で発根率42.7%、キササゲでは25℃、30℃で発芽率が高く、30℃で発根率25.3%、ゴマは20～30℃で発芽率が高く、発根率100%で、温度が高くなるほど、発根所要日数及び出葉所要日数は短くなった。キカラスウリの発芽は20～25℃で発根率8.9%、ミシマサイコでは20℃、25℃で発芽率が高く、20～25℃で発根率23.3～34.7%、ヒキオコシでは15～25℃で発根率4.7～12.0%、30℃では発根率4.7%と低く、発根・出葉所要日数は20～25℃で短かった。カワラヨモギの発芽は20～25℃で発根・出葉率が84.0～84.7%を示し、ヒロハクララの発芽は30℃で発根率42.0%と最も高く、15℃では発根・出葉率ともに低下した。ベニバナは20℃、25℃で83.3～85.3%の発根率を示し、エビスグサの発芽は30℃で61.3%を示したが、20℃では22.7%と低下した。

(3) 培養苗由来の再生植物体形質変異に関する実証試験

継代培養により増殖させたウコン及びショウガをガラス温室内で馴化を行ない、土耕栽培して根茎の生育状況を調査した結果、移植後約2ヶ月後の草丈は、ウコンでは平均42.9 cm、ショウガでは平均22.2 cmであった。移植後約8ヶ月の根茎の成長は、ウコンでは根茎には側根茎の形成が観察され、根茎1個当たり新鮮重は平均5.93 g、ショウガでは根茎は容易に分割され根茎数は20個となり、根茎1個当たり新鮮重は平均1.83 gであった。

【種苗の効率的増殖法に関する研究】

(1) 薬用植物ファクトリー構築に関する研究

オケラ属植物の初代培養シュートの誘導似について検討した結果、閉鎖温室内で育成した材料植物のシュート再生率は100%（栽培36日後）で、本シュートを培養シュート誘導材料として用いた場合、雑菌の混入率は0%で高効率な誘導が可能であった。次に、シュート増殖条件を検討した結果、頂芽切片の方がシュート増殖及び生育ともに良好な傾向が認められ、ホソバオケラでは IAA 0.5 mg/l + BA 2.5 mg/l 添加培地が最大のシュート形成数（9本）を示し、草丈は 5.2 cm と良好な生育を示し、オケラでは IAA 1 mg/l + BA 5 mg/l 添加培地で最大のシュート形成数（7本）を示し、草丈も 4.4 cm と良好な生育であった。このようにして増殖させたシュートを材料にして発根条件を検討した結果、ホソバオケラでは HF 培地での発根率は 100%を示したが、一方、オケラの発根率は 42.9%と低く、BA 2.5 mg/l 添加培地で増殖させたシュートの発根率は 100%を示し、5 mg/l の BA 添加が発根に影響を与えるものと考えられた。以上の条件で得られた再生植物体を養液栽培した結果、ホソバオケラ、オケラ共に活着率は100%であり、現在良好に生育中である。

(2) 種子繁殖が困難な植物の効率的増殖法に関する研究

チョウジの挿し木繁殖について、異なる処理時期、部位及び発根促進剤（ルートン粉衣）の効果について、総数618本の挿し木を行い検討した結果、11本に発根が見られた（発根率1.8%）のみでいずれの処理も発根率は低く、挿し木による増殖は困難であった。一方、取り木による増殖法を2本の親木から総数86本の取り木を行い検討した結果、17本に発根が認められ（発根率19.8%）、処理枝の状態や太さが発根率と枯死率に大きく影響すると考えられた。

カノコソウの効率的増殖法を稲わら被覆および摘花処理により検討した結果、1年後の10a当たり風乾根収量は稲わら処

理・摘花区26.9kg、裸地・摘花区3.3kg、稲わら処理・無摘花区2.3kgで、裸地区、無摘花区は稲わら処理・摘花区に比べて、それぞれ87%、91%風乾根収量が減少した。稲わら・摘花処理区の収量について、同一方法で栽培した2009年における収量に対する比は16.2で、2010年の夏の高温が根収量に大きく影響を及ぼしたと考えられた。

(3) 薬用植物栽培における農薬の適正使用についての検討

ケイリンサイシン栽培における除草剤ロロックスの処理効果と薬害について検討した結果、各処理区における雑草の乾燥重量%で比較した雑草の残存程度（%）は、雑草抑制効果は手除草区が3.4%、秋1回処理区が65.0%、春1回処理区が24.3%、秋春2回処理区が3.2%となり、播種直後の秋に1回施用し、さらに春に1回施用する方法が最も効果的であり、1回だけ施用する場合は秋よりも春に行う方がよいことが明らかになった。薬害を調査した結果、2500 cm² 当りの発芽株数は無処理区が 26.5 株、手除草区が 32.0 株、秋1回処理区が 27.0 株、春1回処理区が 14.5 株、秋春2回処理区が 13.0 株であった。春1回処理および秋春2回処理で発芽株数がやや低い傾向が認められたことから発芽を阻害する可能性はあるが、全般的な生育に対する薬害はほとんど皆無もしくは微度であると判定した。

ゲンチアナについて、除草剤ロロックス及びラウンドアップの処理効果と薬害について検討した結果、ロロックス処理区ではほぼ完全に雑草は抑制されたが、ラウンドアップ処理区では雑草乾物重で約 33% が、手除草区では 97% が抑制された。薬害について、生存するゲンチアナ株数を調査した結果、無処理区に対してラウンドアップ処理区では約 45% に抑制され、生育に影響が認められた。また、ロロックス処理区ではほぼ完全に死滅し、極めて大きな薬害が認められ適用不可であることが判明した。

D. 考察

【新品種の育成に関する基盤的研究】

選抜育種による品種育成について、ウラルカンゾウにおいてGL含量とLQ含量間には高い正の相関が認められ、高GL含有系統はLQ含量も高い傾向にあることが判明した。両成分は生合成経路が異なるために直接的な因果関係は現在のところ明確ではないが、生合成関連遺伝子の解析による個体間変異や両成分の関連性の解明が今後望まれる。カンゾウは自然条件下では、昆虫の媒介により受粉が行われることが推測され、多雨条件下では訪花昆虫の活動低下により結莢率の低下が生ずる可能性が示された。

シャクヤク新品種「べにしずか」は開花率が低い上に、開花した1株当たりの蕾(花)数も少なく(「北宰相」の0.7%程度)、このことが、摘蕾作業に要する時間の大幅な削減に貢献していることが判明した。「北宰相」,「べにしずか」に次ぐ次期品種登録候補を検討し、品質面と収量性から系統No.513が有望と考えられた。

ハトムギ品種「北のはと」の2010年度北海道における生産栽培全体では、この3年間で最高となる23.5tの収穫物が得られ、この原因は6~8月期が高温多湿条件であったことによることが判明した。本種は連作に強い植物であること、リン酸肥料は不足すると減収となるが12kg~16kg/10a程度施せば子実収量への影響は小さい事等が判明し、今後の生産栽培に重要な知見が得られた。

また、ハトムギ種子島在来種は、3月の低温下での発芽率が高く成長が比較的早いこと、一株当たりの稔実果実数がやや多く安定していることに加えて、稔実率が高く穂発芽数が少ないこと、病虫害の影響をあまり受けないこと、など多くの利点を有しており、種子島や九州南部地域において生産栽培の可能性が高い系統と考えられた。

高コデイン含有ケシ選抜系統C×I2-

10は、果実が大きいため折れ易く、果皮が薄く、あへん採取量が少ない等、本系統自体の実用性は低いものの、コデイン含量は高く、また、世代間の相関関係は比較的高いことから、選抜効果は認められている。

種子へ直接外来遺伝子を導入して形質転換体を作成するための基盤技術を確立する目的で、硬実性を有するナイモウオウギ種子の硬実を打破する処理法を検討し、精米機処理種子に対して約1日吸水処理した傷の少ない種子を用いるのが適当であると考えられた。また、芽生えのGFP及びRFP蛍光の観察を行った結果、顕著な自家蛍光は認められず、いずれも可視的選抜マーカーとして使用可能であることが明らかとなった。

DNAマーカーによる品種識別技術の確立を目指し、カンゾウ属植物のSQSゲノムDNA特異的なプライマーにより、2系統のウラルカンゾウのPCRによる識別が可能なが示されたが、本プライマーセットで他のカンゾウ属植物を含む他の系統の識別が可能か否かは、他の試料についてもPCRを試み交叉反応性を確認する必要がある、今後の課題である。また、CYP88D6イントロン領域を用いたカンゾウ属植物の迅速かつ容易な遺伝子識別を検討し、イントロン7の配列のPCR増幅産物をHincII処理した際に得られる断片長の多型により、ウラルカンゾウの優良2系統の簡便な識別法の開発に成功した。イントロン7配列の多型は、3種のカンゾウ属植物及び数系統のウラルカンゾウの識別が可能であることを示したが、より簡便かつ迅速な識別を行うためには、他のイントロン配列等においてさらなる多型を見出し、その多型を用いた識別法の確立が必要である。

ハトムギ「北のはと」の玄穀から抽出

された鋳型DNAを出発材料として、*rpl16* および *rpl16-rpl14* 介在配列領域、*atpF-atpA* 介在配列領域および *trnS-trnT* 領域の塩基配列が決定されたことから、今後、玄穀を材料としたハトムギ市場品の品種識別技術の開発が可能であると思われる。一方、*trnL* (UAA) 5' *exo-trnL* (UAA) 3' *exon* 領域の塩基長は 1,000 ~ 1,500 bp 程度と予測されていたが、今回、アガロースゲル電気泳動法の結果からハトムギでは約 3,000 bp と推定された。従来、この領域は6種類のプライマーを用いて塩基配列の決定を行っているが、ハトムギのそれは塩基長が長いことから、ハトムギの同領域の塩基配列を決定するためには、さらに複数のプライマーを設計する必要があり今後の課題となった。

育成品種の成分的品質評価法を確立するため、カンゾウに含有される微量成分の新規分析法について、2DTLCMSの展開溶媒など各種条件検討を行い、フラボノイド配糖体およびGLのスポットは今回の条件で定性が可能であることが判明し、今後、北海道研究部で増殖中の高GL含有カンゾウの可視的な比較が可能となった。

異なる乾燥条件により増減したメハジキ葉中の成分は *labdane* 系ジテルペンと推定され、薬理活性に大きな差がある場合、収穫後の調製法に大きな重要性が生じる。市販品にはこれらのスポットは認められないことから、今後のこれら化合物を含む生薬の薬効の検討が期待される。今回の結果は今後メハジキあるいは *Leonurus* 属の新品種育成に関して化学的評価の上で重要となり、加工調製法と薬効などとのデータを絡めた比較の上では有益な情報となると考えられる。

【種苗の保存に関する基盤的研究】

種子の簡易発芽能力検定法を確立すべく、新しいベニバナ種子を用いて、テトラゾリウム塩による発芽力検定法を試

み、種子の胚を含む部分を取り出して1% TTC溶液30℃ 3時間以上の処理で発芽力のある個体で染色が確認された。今後、長期保存種子を用いて、発芽試験による方法との相関を調査する。

発芽試験における温度設定は発根率、出葉率、発根と出葉の所要日数から判断して、コガネバナは20℃、コエンドロは15~20℃、キササゲは25~30℃、ゴマは25~30℃、キカラスウリは25℃、ミシマサイコは20~25℃、ヒキオコシは20~25℃、カワラヨモギは20~25℃、ヒロハクララは25~30℃、ベニバナは25℃、エビスグサは25~30℃に設定するのが最適と考えられた。

試験管内で育成された培養苗は、ウコンでは移植後8ヶ月で側根茎の形成が観察され、側根茎を育成することにより、さらに多くの根茎の増殖が期待できる。一方、ショウガの根茎は容易に分割され、多数の根茎が得られるが、その後の成長を考慮し、過度に細かく分割せずに育成するのが良いと思われた。

【種苗の効率的増殖法に関する研究】

薬用植物ファクトリー構築に関する研究の一環として、オケラ属植物の組織培養による効率的な増殖条件を明らかにし、本条件によりホソバオケラは、1培養シュートの頂芽切片から約3ヶ月の培養で、9株の増殖が可能であり、1外植片より約4ヶ月で約22本の植物体を得られることが判明した。一方、オケラでは、1培養シュートの頂芽切片から約3ヶ月の培養で4株の増殖が可能であり、1外植片より約4ヶ月で約12本の植物体を得られることが判明した。今回確立した増殖法は、より低濃度の植物ホルモン組成で、養液栽培への植出後に活着率100%の割合で健全な苗が得られる有効な方法である。

チョウジの挿し木繁殖は、発根率が1.8%と極めて低く、増殖は困難であったが、取り木繁殖では直径が5 mm以上

の太く、充実した枝を用いることにより、可能であることが明らかとなった。また、カノコソウの効率的な増殖には、株元の稲わらによる被覆処理と摘花が有効な方法であることを確認できた。今後、気象条件による稲わら被覆の効果の程度や、他のマルチ資材の被覆の効果についても検討する必要がある。

ケイリンサイシン栽培における除草剤ロロックスの適正使用方法を確立するため、除草効果及び葉害の調査を行い、秋春2回処理法または春1回処理法が有望であるとの結果を得たが、今後その実用性の検証、及び根茎部における残留性を調査する必要があると考えられた。また、ゲンチアナ栽培における除草剤ロロックス及びラウンドアップの適正使用方法を確立するため、同様に調査した結果、ロロックスは雑草とともにゲンチアナをもほぼ完全に死滅させ、適用不可であることが判明した。一方、ラウンドアップは、雑草に対して約33%の抑制効果を示したが、ゲンチアナの生存率に対しても約55~70%の抑制を示し、加えて、生存株の特に根の肥大や乾物重を低下させることが判明し、今後、処理時期を再検討する必要があると考えられた。本年得られた植物体中における残留程度も調査しておく必要もあると考える。

E. 結論

新品種の育成に関する基盤的研究では、選抜育種法による新品種の育成と各品種の諸形質について検討した結果、ウラルカンゾウでは、選抜した高 GL 含有系統は LQ 含量も相対的に高くなることを明らかにし、また、自然条件下においては昆虫の媒介により受粉が行われることを明らかにし、優良系統の人工授粉の結果、合計 217 粒の自殖第一代種子を得た。シヤクヤクでは、新品種「べにしずか」は既存品種と比較して、着生する蕾や花数が著しく少なく、摘蕾作業に要する時間

が大きく削減されることを明らかにするとともに、「北宰相」、「べにしずか」に次ぐ品種登録候補を検討し、品質面と収量性から有望系統 No.513 を選抜した。北海道におけるハトムギ品種「北のはと」の普及を行い、5 市町村 10.2ha での生産栽培により、これまで最高の 23.5t の収穫物を得るとともに、無農薬栽培の可能性を確認し、今後、より温暖な道南地域での栽培の推進を指摘した。また、ハトムギ種子島在来種は、九州南部地域の環境に適した栽培特性を有し、品質と収量の面から同地域における生産栽培の可能性をもった優良系統であることを明らかにした。ケシでは、コデイン含量が高い選抜系統 C×I 2-10 群は、育種素材として有用であることを明らかにした。

種子への遺伝子導入操作に適したナイモウオウギの催芽条件を明らかにするとともに、萌芽期の根及び芽には sGFP 及び RFP に干渉するような自家蛍光はなく、これらを遺伝子導入マーカーとして利用可能であることを明らかにした。

ウラルカンゾウの優良系統をモデルとして、GL 生合成経路の鍵酵素のゲノム DNA 配列に着目し、それらの多型情報をもとに系統間の識別を試みた結果、スクアレン合成酵素遺伝子、 β -アミリン 11 位酸化酵素遺伝子の各ゲノム DNA の塩基配列情報を用いることにより、PCR 法ならびに PCR-RFLP 法により優良系統を他系統と識別できることを明らかにした。また、本手法はカンゾウ属植物の種間識別にも有用であることが判明した。

ハトムギ「北のはと」の品種識別法確立のため、合計 17 系統を収集して検討した結果、ハトムギ玄穀から調製された鋳型 DNA 溶液は、PCR 法による目的領域の増幅や塩基配列の決定に使用できる高品質な試料であることが示され、また、PCR 法による結果から、目的領域および系統による増幅の適否が異なり、*trnL* (UAA) 5'exo-*trnL* (UAA) 3'exon 領域に系統間の多型配列が存在する可能性が示唆

された。

新品種育成に関する化学的品質評価法の検討の一環として、カンゾウ熱水抽出エキスの2次元TLC展開後のスポットのTLCMSによる検討を行い、2次元TLCの展開溶媒の確立、及びTLCMSインターフェースによるTLC上のスポットのMSの測定を行いフラボノイド配糖体やGL等の検出を確認した。また、メハジキ収穫後の乾燥温度条件における成分の変化を検討し、Labdane系ジテルペンが溶液中で容易に化学変化を起こすことを明らかにした。

種苗の保存に関する基盤的研究では、種子の発芽条件の規格化を図るため、コガネバナ、キササゲ、キカラスウリ、ヒキオコシ、カワラヨモギ等11種について15、20、25、30℃の恒温条件下、明期12時間、3反復にて発芽試験を行い、発根及び出葉までの日数を調査した結果、発芽試験における温度設定は発根率、出葉率および発根と出葉の所要日数から判断して、コガネバナは20℃で2.7~14.0日、コエンドロは15℃で7.7~23.0日、20℃で5.0~12.7日、キササゲは25℃で3.7~10.7日、30℃で2.7~9.0日、ゴマは25℃で1.0~6.0日、30℃で1.0~3.0日、キカラスウリは25℃で17.0~31.0日、ミシマサイコは20℃で7.0~31.3日、25℃で5.3~33.0日、ヒキオコシは25℃で2.7~6.0日、カワラヨモギは20℃で1.0~8.0日、25℃で1.0~4.0日、ヒロハクララは30℃で4.0~25.3日、ベニバナは25℃で2.0~7.0日、エビスグサは30℃で2.0~14.0日の調査日数を要する事を明らかにした。ベニバナ種子を用いて、テトラゾリウム塩による簡易発芽力検定法を試み、種子の胚を含む部分を取り出して1%TTC溶液30℃3時間以上の処理により、発芽力のある個体では染色が確認できることを明らかにした。

培養苗由来の再生植物体について、ウコンの移植後8ヶ月の根茎1個当たり新

鮮重量は平均5.93gに成長し、側根茎の形成が観察されること、ショウガでは根茎の分割が容易なため多数の根茎が得られ、移植後8ヶ月の根茎1個当たり新鮮重量は平均1.83gとなることを明らかにした。

種苗の効率的増殖法に関する研究では、ホソバオケラ及びオケラについて、植物組織培養による効率的増殖法を確立し、人工環境制御下での生産技術構築のための基盤を確立した。

チョウジの挿し木繁殖は発根率が極めて低く繁殖は困難であったが、取り木では29.8%の発根率が得られ、有用な繁殖法であることを明らかにした。また、カノコソウの効率的増殖法を検討し、根収量に及ぼす圃場への稲わら被覆処理および摘花は有効であることを確認した。

ケイリンサイシン及びゲンチアナ栽培における除草剤ロックス及びラウンドアップの適正使用方法を検討し、それぞれの除草効果及び薬害の程度について明らかにした。

F. 健康危険情報

本研究において健康に危険を及ぼすような情報は無い。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 林茂樹, 姉帯正樹, 佐藤正幸, 柴田敏郎: 北海道北部地域におけるシャクヤク収穫後の調製方法が生薬の品質へ及ぼす影響., 生薬学雑誌, **64** (2):68-75 (2010).
- 2) 林茂樹, 菱田敦之, 熊谷健夫, 佐藤正幸, 青柳光敏, 林隆章, 姉帯正樹, 柴田敏郎: 摘花作業が省力可能な低開花率の薬用シャクヤク品種の育成., 生薬学雑誌 (投稿中).

2. 学会発表

- 1) 高上馬希重, 関崎春雄, 林茂樹, 柴田敏郎, 山本豊: 甘草 (Candaria officinalis) の高品質系統の育成

研究：リクイリチン含有率の個体間変異について., 日本薬学会第131回年会 (2011. 3. 28-31, 静岡).

2) 乾貴幸, 河野徳昭, 柴田敏郎, 川原信夫, 吉松嘉代: 薬用植物優良品種育成を指向した遺伝子鑑別法の開発., 日本薬学会第131年会 (2011.3.31, 静岡).

3) 飯田修, 杉村康司, 吉松嘉代, 河野徳昭, 千田浩隆, 川原信夫: ケシ (*Papaver somniferum* L.) の早熟・矮性系統及び高コデイン含量系統の育成., 日本薬学会131年会 (2011.3.31, 静岡)

4) 林茂樹, 柴田敏郎: カンゾウの国内生産を目指した栽培と育種に関する取り組み., 第5回甘草に関するシンポジウム, 講演要旨集pp6-13, (2011. 2. 18, 京都).

5) 吉松嘉代: 閉鎖型植物生産施設における薬用植物の生産., 第18回天然物の開発と応用シンポジウム「薬学における生薬・漢方の未来を考える (2010.11.11).

6) 林茂樹, 菱田敦之, 熊谷健夫, 柴田敏郎, 佐藤正幸, 青柳光敏, 林隆章, 姉帯正樹: 摘花作業の短縮が可能なシャクヤク新品種の育成., 日本生薬学会第57回年会講演要旨集, p.291, (2010. 9. 24-26, 徳島).

7) 熊谷健夫, 柴田敏郎, 澤井清道, 福田達男, 酒井英二, 磯田進, 姉帯正樹, 川原信夫: シシウドの栽培に関する研究—採種地の異なる野生系統の生育, 収量および成分含量, 日本生薬学会第57回年会 (2010. 9. 24-26, 徳島) .

8) 吉松嘉代, 河野徳昭, 乾貴幸, 佐藤文彦, 土反伸和, 矢崎一史, 木内文之, 川原信夫: ガラス化法による薬用植物カリスの超低温保存 (2) ., 第28回日本植物細胞分子生物学会 (仙台) 大会・シンポジウム (2010.9.2-3, 仙台).

9) Kayo Yoshimatsu, Hiroataka Chida, Noriaki Kawano, Takayuki Inui, Toshiro Shibata, Takashi Hagio, Nobuo Kawahara: Efficient glycyrrhizin production by non-transgenic and transgenic Chinese licorice; *Glycyrrhiza uralensis*., 12th World Congress

of the IAPB (International Association for Plant Biotechnology) and 2010 In Vitro Biology Meeting of the SIVB (2010.6.6-11, St. Louis, Missouri,).

10) 林茂樹, 菱田敦之, 熊谷健夫, 澤井清道, 中西大樹, 佐藤正幸, 青柳光敏, 林隆章, 姉帯正樹, 柴田敏郎: シャクヤク新品種「べにしずか」について., 日本生薬学会北海道支部第34会例会要旨集, p.47, (2010. 5. 8, 札幌).

H. 知的財産権の出願・登録状況

1) 出願番号：特願2010-107530. 発明者：河野徳昭, 吉松嘉代, 千田浩隆. 特許出願人, 識別番号：独立行政法人医薬基盤研究所 (505314022). 発明の名称：植物形質転換体の作出方法, 及び, 植物形質転換体. 出願日：平成22年5月7日.

2) 出願番号：特願2010-250700. 発明者：吉松嘉代, 河野徳昭, 乾貴幸, 千田浩隆. 特許出願人, 識別番号：鹿島建設 (株) (000001373). 発明の名称：カンゾウ属植物株及びカンゾウ属植物増殖方法. 出願日：平成22年11月9日.

平成22年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
優良形質を持った薬用植物新品種の育成及びそれら種苗の安定供給体制構築のため
の保存，増殖に関する基盤的研究（H22-創薬総合-指定-015）

分担研究報告書

分担研究課題：選抜育種による新品種育成と普及および種苗増殖に関する研究

分担研究者 柴田 敏郎 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター北海道研究部リーダー
協力研究者 林 茂樹 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター北海道研究部特任研究員
協力研究者 高上馬 希重 北海道医療大学薬学部 准教授

薬用植物の国内栽培を推進するためには、栽培技術の改良とともに、各地域の気象条件や環境に適した収量性の高い、日本薬局方の品質基準を満たす品種の育成が必要であり、今回、カンゾウ、シャクヤク及びハトムギについて、選抜育種法による新品種の育成と、育成品種の普及をはかるための各品種の諸形質について検討した。その結果、カンゾウについては、これまで選抜した高グリチルリチン（GL）含有および高収量系統はリクイリチン含量も相対的に高いことが判明するとともに、花や茎葉に関する特性評価により系統間の区別性を示すことができた。カンゾウは自然条件下において、昆虫の媒介により受粉が行われることが推測され、選抜した高 GL 系統の人工授粉の結果、合計 217 粒の自殖第一代種子が得られた。また、シャクヤク「べにしずか」は、既存品種と比較して着生する蕾や花数が著しく少なく、摘蕾作業に要する時間が大きく削減されることを実証できた。5 年株の収量調査の結果、収量性が極めて高く、既存薬用品種「北宰相」の品質上の弱点を克服しうる系統 No.513 が、次期品種登録候補として選抜された。さらに、ハトムギ品種「北のはと」の北海道における普及について、5 市町村 10.2ha での生産栽培の結果、23.5t の収穫物が得られ、病虫害の発生はいずれの地区でも全く見られず、無農薬栽培の可能性が確認できた。ここ 3 年間の結果より、道北地域における経済栽培は、夏期が高温多湿となる年では十分可能であるが、生育・収量は天候の影響を強く受け、著しく不作となる可能性もあり、今後、リスク回避のためのリン酸肥料の多用など栽培方法の再検討が必要であり、また、より温暖な道南地域での栽培を推進すべきと考えられた。

A. 研究目的

薬用植物の国内栽培を推進するためには、栽培技術の改良とともに、各地域の気象条件や環境に適した収量性の高い、日本薬局方の品質基準を満たす品種の育成が必要であるが、現在、それらについて組織的な研究は行われておらず、新品種の育成は急務である。そこで、カンゾウ、シャクヤク及びハトムギについて、選抜育種法による新品種の育成と、育成品種の普及をはかるための各品種の諸形

質について検討するとともに、育成した品種の普及状況を調査した。

B. 研究方法

1) カンゾウ優良系統の特性調査と増殖：
ウラルカンゾウ実生 5 年生株から生育等を指標として一次選抜した 100 個体（系統）を材料にしてリクイリチンの系統間変異、ならびに前年度に特許出願した高グリチルリチン酸（以下 GL）含有 6 系

統を含む 11 系統を材料にして、種苗法に基づく品種登録に向けた特性調査、及び自殖性に関する調査を行なった。

2) シャクヤク新品種「べにしずか」の特性調査と新品種候補系統の探索：前年度品種登録出願した「べにしずか」の摘蕾作業軽減効果を実証するための摘蕾作業時間の調査、及び北海道研究部でこれまでに選抜した新品種候補6系統を材料にして栽培5年目の収量調査を行った。

3) ハトムギ品種「北のはと」の商業栽培生産普及および栽培試験：北海道内での生産栽培を士別市、二海郡八雲町を中心に上川郡東川町、有珠郡壮瞥町、虻田郡豊浦町にて実施（合計 10.2ha）するとともに、北海道研究部にて特にリン酸肥料の施用量が生育・収量に及ぼす影響について 6 試験区（0～28kg/10a）を設定して検討した。

C. 研究結果

1) カンゾウ優良系統の特性調査と増殖：5年生株100個体（系統）のリクイリチン含量は、最小値0.11%、最大値2.65%、平均値が $1.00 \pm 0.49\%$ となり、個体間で大きな変異が認められた（図1）。また、高GL系統のリクイリチン含量は1.29～2.40%、高収量系統は1.15%および2.65%であった。さらに、GL含量とリクイリチン含量の間には強い正の相関関係（ $r=0.743$, $p<0.001$, $n=100$ ）が認められた（図2）。

一次選抜系統した100系統をストロン繁殖した2年生株について特性調査した結果、葉の長さ・幅・数、草丈、茎の太さ、分枝数において系統間で有意差が認められた（表1）。さらに、系統No.5（高GL系統）の2年生根におけるGL含量は2.83%、系統No.21（低GL系統）は0.85%となり（表2）、遺伝性が認められた。

自殖性の程度を明らかにするべく、人工受粉が結莢率（莢数/小花数）へ及

ぼす影響を検討した結果、人工受粉を行わなかった花の結莢率は3%であったのに対し、人工受粉を行った花では80%となり、自殖性が低いことが判明した。高GL3系統の人工受粉により合計217粒の自殖第一代（ S_1 ）種子が得ら（表3）、現在それらの実生個体を育成して遺伝性を調査中である。

2) シャクヤク新品種「べにしずか」の特性調査と新品種候補系統の探索：10a当たりの蕾（花）数と摘蕾作業の所要時間を調査した結果、北宰相」の蕾（花）数が32,756個であるのに対し、「べにしずか」は219個であった。また、10a当たりの摘蕾作業の所要時間は、「北宰相」が7.8時間/人であるのに対し、「518」は0.5時間/人であった（表4）。

新品種候補6系統を材料にして栽培5年目の収量調査を行った結果、No.513系統の収量が最も高く（表5）、また、各系統の5年株の収量を3年株の収量平均値との間には、強い正の相関関係が認められたことから（ $r=0.951$, $p<0.001$, $n=7$ ）、収量特性の再現性が確認できた。

3) ハトムギ品種「北のはと」の商業栽培生産普及および栽培試験：生産栽培における収量は、士別市では 3.2ha 作付けで 7.72t（10a 当たり収量 241.3kg）、道南の八雲町では 6.3ha の作付けで 14.1t（10a 当たり収量 223.6kg）、その他の地区では 7.5a の作付けで 1.73t（10a 当たり収量 230.9kg）と極めて良好な収量が得られ、全体で 23.5t の生産量となった（表 6）。病虫害の発生はいずれの地区でも全く見られなかった。

北海道研究部における試験栽培の結果、10a当たり換算収量は、新規直播栽培畑：191.3kg、連作直播栽培畑：214.2kg、連作移植栽培畑：195.8kg、荒地：62.1kg、全体で実質500kgの生産量が得られた（表7）。また、例年に比べて完熟となる時期が早く、新規直播畑や連作移植栽培畑では自然落下が観察された。さらに、6年連作でも大きな障害は認められないこと

も判明した。

リン酸の施用効果について、最も多量に施した区において有意に高い草丈、子実数及び乾物重が得られ、効果は極めて高いと考えられたが、茎数には効果が認められず、また、草丈を除いて12kg/10a区と統計的に有意差は認められなかった(表8)。

D. 考察

1) カンゾウ優良個体の特性調査と増殖：リクイリチン含量は個体(系統)間で大きな変異が認められ、GL含量が高い系統は他の活性成分であるリクイリチン含量も高い傾向にあることが判明した。両成分は生合成経路が異なるために直接的な因果関係は現在のところ明確ではないが、生合成関連遺伝子の解析による個体間変異や両成分の関連性の解明が今後望まれる。

花や茎葉に関するいくつかの形質で系統間に明確な差が認められたことから、カンゾウの特性評価における有用な形質が明らかとなった。

人工受粉を行わなかった花では極めて低い結莢率となったことから、カンゾウの受精には人工受粉を要することが明らかとなった。即ち、カンゾウは自然条件下において、昆虫の媒介により受粉が行われることが推測され、多雨条件下では訪花昆虫の活動低下により、結莢率の低下が引き起こされる可能性が示された。

2) シャクヤク新品種「べにしずか」の特性調査と新品種候補系統の探索：

「べにしずか」は開花率が低い上に、開花した1株当たりの蕾または花の数も少ないことから、10a当たりの蕾(花)数は「北宰相」の0.7%程度となり、このことが、摘蕾作業に要する時間の大幅な削減に貢献していることが判明した。

次期品種登録候補については、「北宰相」の品質上の問題点(albiflorin低含量、根の内部が赤い)を克服し、かつ「北宰相」をも上回る収量性を示す系統No.513

が有望であると考えられた。

3) ハトムギ品種「北のはと」の商業栽培生産普及および栽培試験：2010年度6～8月期はここ6年間で最高の降水量を記録し、高温多湿条件であったため、道北の士別市における収量は道南地域を上回る結果となり、また、上川郡東川町で最高収量(335.7kg/10a)を記録した。そして、生産栽培全体ではこの3年間で最高となる23.5tの収穫物が得られた。一方、北海道研究部における試験栽培において、これまでになく早い完熟期を迎えたが、他の作業との関係で収穫作業が対応できず、子実の自然落下による減収を回避できなかった。

北海道研究部における6年の連作試験において、生育、収量及び得られた子実の充実度に影響は認められず、連作に強い植物であることが判明し、今後の生産栽培に重要な結果が得られた。

リン酸は不足すると減収となるが、経済性を考慮すると、12kg～16kg/10a程度施せば、子実収量への影響は小さいと考えられた。

E. 結論

カンゾウについて、選抜した高GL系統および高収量系統はリクイリチン含量も相対的に高くなることが判明し、花や茎葉に関する特性評価により系統間の区別性を示すことができた。また、カンゾウは自然条件下において、昆虫の媒介により受粉が行われることが推測され、選抜系統の人工授粉の結果、合計217粒の自殖第一代種子が得られた。

シャクヤク「べにしずか」は既存品種と比較して、着生する蕾や花数が著しく少なく、摘蕾作業に要する時間が大きく削減されることが判明した。また、収量性が突出して高く、「北宰相」の品質上の問題点を克服しうる系統No.513が、次期品種登録候補として選抜された。

ハトムギ品種「北のはと」の北海道における普及について、5市町村10.2haで

の生産栽培により、これまで最高の 23.5t の収穫物を得、病虫害の発生はいずれの地区でも全く見られず、無農薬栽培の可能性が確認できた。道北地域における経済栽培は、夏期が高温多湿となる年では十分可能であるが、生育・収量は天候の影響を強く受け、著しく不作となる可能性もあり、今後、リスク回避のためのリン酸肥料の多用など栽培方法の再検討が必要であり、また、安定供給を考えると、より温暖な道南地域での栽培を推進すべきと考えられた。

F. 研究発表

2. 論文発表

- 1) 林茂樹，姉帯正樹，佐藤正幸，柴田敏郎，北海道北部地域におけるシヤクヤク収穫後の調製方法が生薬の品質へ及ぼす影響，生薬学雑誌，**64** (2):68-75 (2010).
- 2) 林茂樹，菱田敦之，熊谷健夫，佐藤正幸，青柳光敏，林隆章，姉帯正樹，柴田敏郎：摘花作業が省力可能な低開花率の薬用シヤクヤク品種の育成.，生薬学雑誌（投稿中）.

2. 学会発表

- 1) 高上馬希重，関崎春雄，林茂樹，柴田敏郎，山本豊：甘草 (*Glycyrrhiza uralensis*) の高品質系統の育成研究：リクイリチン含有率の個体間変異について.，日本薬学会第131回年会 (2011. 3. 28-31，静岡).
- 2) 林茂樹，柴田敏郎：カンゾウの国内生産を目指した栽培と育種に関する取り組み.，第5回甘草に関するシンポジウム，講演要旨集pp6-13，(2011. 2. 18，京都).
- 3) 林茂樹，菱田敦之，熊谷健夫，澤井清道，中西大樹，佐藤正幸，青柳光敏，林隆章，姉帯正樹，柴田敏郎：シヤクヤク新品种「べにしずか」について.，日本生薬学会北海道支部第34会例会要旨集，p.47，(2010. 5. 8，札幌).
- 4) 林茂樹，菱田敦之，熊谷健夫，柴田敏郎，佐藤正幸，青柳光敏，林隆章，姉帯正樹：摘花作業の短縮が可能なシヤ

クヤク新品种の育成.，日本生薬学会第57回年会講演要旨集，p.291，(2010. 9. 24-26，徳島).

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

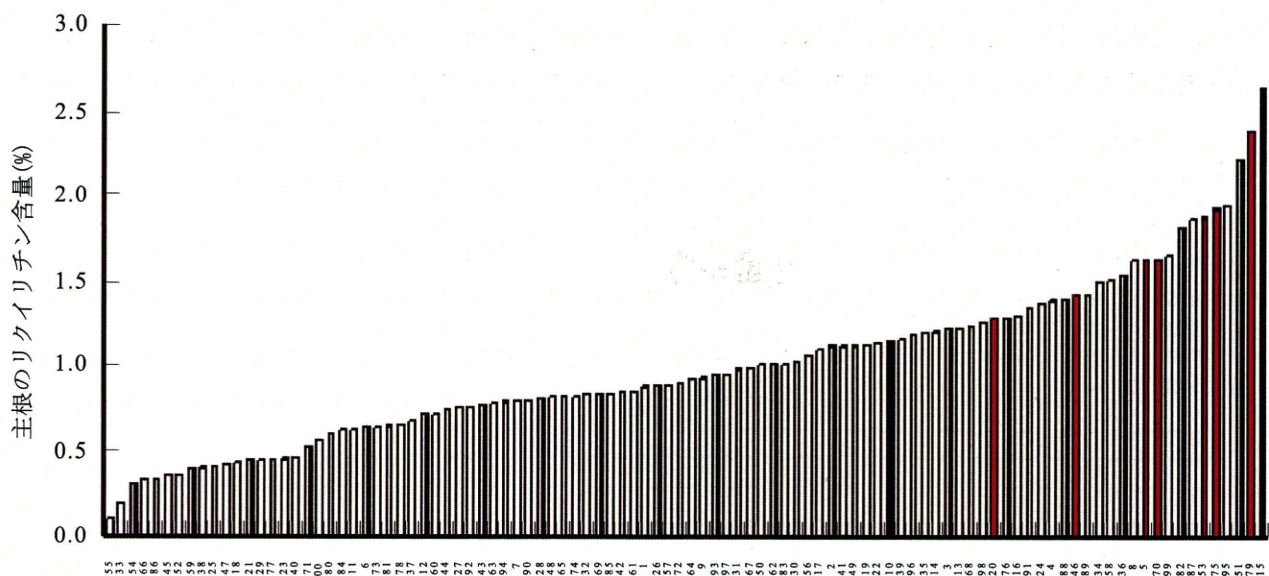


図1 実生5年生カンゾウ100系統における主根のリクイリチン含量の個体間変異. 青棒グラフ, 高収量系統. 赤棒グラフ, 高GL系統.

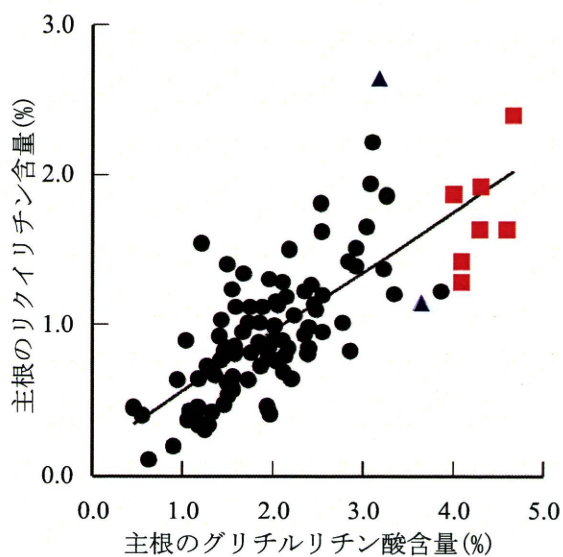


図2 5年生カンゾウ主根のグリチルリチン酸含量とリクイリチン含量の関係. ***は0.1%水準で有意 (n=100). 青プロット, 高収量系統. 赤プロット, 高GL系統.

表3 カンゾウ高GL, 高収量系統におけるS₁種子の採取量 (2010年)

	系統 No.	採種数	1000粒重(g)
高GL	20	13	13.3
高収量	10	122	11.8
高収量	15	82	10.6

表1 カンゾウ高GL, 高収量, 低GL系統における2年生株の生育特性調査

系統 No.	葉の黄化程度 ^{※1}	葉長(cm) ^{※2}	葉幅(cm) ^{※3}	小葉長(cm) ^{※4}	小葉幅(cm) ^{※5}	小葉数 ^{※6}	n
高GL 5	2.1 ± 0.9 ^a	13.5 ± 1.1 ^{ab}	6.0 ± 0.5 ^{abc}	3.5 ± 0.2 ^{ab}	2.1 ± 0.3 ^{bcd}	8.6 ± 0.9 ^{ab}	9
高GL 20	3.8 ± 0.5 ^{ab}	14.6 ± 0.7 ^{bc}	6.8 ± 0.3 ^{cde}	3.6 ± 0.1 ^{abc}	2.0 ± 0.1 ^{abcd}	9.0 ± 0.0 ^{abc}	4
高GL 70	1.6 ± 0.5 ^a	15.5 ± 1.2 ^{bc}	8.1 ± 0.6 ^c	4.4 ± 0.5 ^c	2.4 ± 0.3 ^d	7.8 ± 1.1 ^a	5
高GL 75	5.6 ± 2.7 ^{bc}	12.1 ± 1.0 ^a	5.3 ± 0.7 ^{ab}	2.8 ± 0.2 ^a	2.1 ± 0.2 ^{bcd}	7.8 ± 1.1 ^a	5
高収量 10	3.0 ± 0.6 ^a	13.4 ± 1.5 ^{ab}	6.5 ± 0.8 ^{bcd}	3.2 ± 0.5 ^{ab}	2.3 ± 0.3 ^{cd}	9.0 ± 0.0 ^{abc}	6
高収量 15	7.8 ± 0.5 ^c	11.6 ± 1.3 ^a	5.0 ± 1.2 ^a	3.1 ± 0.9 ^{ab}	1.5 ± 0.4 ^a	8.0 ± 1.2 ^a	4
低GL 21	3.0 ± 0.5 ^a	14.5 ± 1.4 ^b	5.5 ± 0.6 ^{ab}	3.1 ± 0.5 ^{ab}	1.7 ± 0.2 ^{ab}	10.3 ± 1.0 ^c	9
低GL 33	5.6 ± 1.5 ^{bc}	14.1 ± 1.7 ^{ab}	7.2 ± 0.7 ^{de}	3.7 ± 0.3 ^{bc}	2.1 ± 0.2 ^{bcd}	8.7 ± 0.8 ^{ab}	7
低GL 55	2.3 ± 0.5 ^a	17.2 ± 0.9 ^{cd}	7.7 ± 0.3 ^{de}	3.7 ± 0.4 ^{bc}	2.0 ± 0.2 ^{abcd}	10.7 ± 0.8 ^c	6
低GL 59	1.7 ± 0.8 ^a	15.1 ± 1.0 ^{bc}	6.5 ± 0.3 ^{bcd}	3.4 ± 0.4 ^{ab}	1.8 ± 0.2 ^{abc}	10.0 ± 1.1 ^{bc}	6
低GL 84	2.5 ± 0.6 ^a	18.4 ± 1.2 ^d	7.6 ± 0.5 ^{de}	3.9 ± 0.2 ^{bc}	2.4 ± 0.3 ^d	9.5 ± 1.0 ^{abc}	4
調査日	2010.07.28	2010.08.12	2010.08.12	2010.08.12	2010.08.12	2010.08.12	

系統 No.	茎数 ^{※7}	草丈(cm) ^{※8}	茎の太さ(mm) ^{※9}	節数 ^{※10}	立毛角 ^{°C}	分枝数	n
高GL 5	3.2 ± 1.5 ^a	62.8 ± 9.5 ^{ab}	3.7 ± 0.5 ^{ab}	32.1 ± 4.6 ^a	42.6 ± 15.2 ^a	0.1 ± 0.3 ^a	9
高GL 20	2.3 ± 0.5 ^a	62.5 ± 2.5 ^{ab}	3.6 ± 0.4 ^{ab}	32.3 ± 1.3 ^a	26.4 ± 9.9 ^a	9.8 ± 3.5 ^c	4
高GL 70	2.8 ± 1.3 ^a	75.0 ± 8.5 ^{bc}	3.9 ± 0.6 ^{abc}	29.0 ± 2.5 ^a	63.1 ± 29.0 ^a	3.6 ± 3.6 ^{ab}	5
高GL 75	4.0 ± 2.8 ^a	52.8 ± 8.7 ^a	3.0 ± 0.5 ^a	29.6 ± 4.5 ^a	27.1 ± 16.6 ^a	1.0 ± 2.2 ^{ab}	5
高収量 10	3.0 ± 1.8 ^a	68.8 ± 9.4 ^{abc}	4.7 ± 0.7 ^{bc}	29.8 ± 2.8 ^a	50.8 ± 8.8 ^a	2.8 ± 4.0 ^{ab}	6
高収量 15	2.8 ± 1.0 ^a	54.1 ± 8.8 ^a	4.1 ± 0.2 ^{abc}	33.0 ± 9.1 ^a	60.8 ± 11.2 ^a	1.5 ± 1.9 ^{ab}	4
低GL 21	3.7 ± 1.1 ^a	74.6 ± 7.5 ^{bc}	4.3 ± 0.5 ^{bc}	35.7 ± 2.5 ^a	30.2 ± 24.5 ^a	0.8 ± 2.3 ^{ab}	9
低GL 33	3.7 ± 1.7 ^a	75.9 ± 8.4 ^{bc}	4.1 ± 0.9 ^{abc}	33.1 ± 4.4 ^a	54.3 ± 19.4 ^a	4.7 ± 4.2 ^{bc}	7
低GL 55	3.0 ± 1.3 ^a	84.6 ± 10.3 ^c	4.8 ± 0.8 ^{bc}	34.8 ± 4.3 ^a	31.2 ± 14.4 ^a	0.3 ± 0.8 ^{ab}	6
低GL 59	3.8 ± 1.5 ^a	73.5 ± 6.2 ^{bc}	4.5 ± 0.5 ^{bc}	36.0 ± 2.0 ^a	56.9 ± 27.4 ^a	1.8 ± 1.6 ^{ab}	6
低GL 84	2.5 ± 1.0 ^a	82.5 ± 10.4 ^{bc}	5.3 ± 0.9 ^c	30.3 ± 2.8 ^a	64.6 ± 20.2 ^a	1.5 ± 1.9 ^{ab}	4
調査日	2010.08.12	2010.08.17	2010.08.17	2010.08.17	2010.08.17	2010.08.17	

異なるアルファベット間に5%水準で有意差あり(チューキー・クレーマーの多重比較検定) . ±は標準偏差.

※1 全葉に占める黄化様の割合: 0,0%; 5,50%; 10,100%

※2 主茎の最新展開葉から10葉目の葉長

※3 主茎の最新展開葉から10葉目の最大葉幅

※4 主茎の最新展開葉から10葉目の頂小葉の長さ

※5 主茎の最新展開葉から10葉目の頂小葉の最大小葉幅

※6 主茎の最新展開葉から10葉目の小葉の数

※7 2節以上の茎の数

※8 主茎の成長点までの高さ

※9 主茎の地際から3節目の茎の太さ

※10 主茎の節の数

※11 主茎の根元と最新展開葉の成長点を結んだ線が水平線となす角度

※12 主茎において2つ以上の節を有する分枝の数

表2 系統 No.5, 21の栄養繁殖 1, 2年生株における乾物重とグリチルリチン酸含量

系統 No.	部位	乾物重 (g/plant)		根のグリチルリチン酸含量 %	
		1年生	2年生	1年生	2年生
5 (高GL)	種ストロン	1.0	3.8	1.88	2.94
	新ストロン	1.2	0.9	1.98	1.18
	根	5.2	10.9	3.28	2.83
21 (低GL)	種ストロン	2.4	7.3	0.46	0.43
	新ストロン	2.3	12.6	0.37	0.53
	根	3.9	7.2	0.64	0.85

1年生は2009年10月26日, 2年生は2010年10月27日に各1個体を収穫.