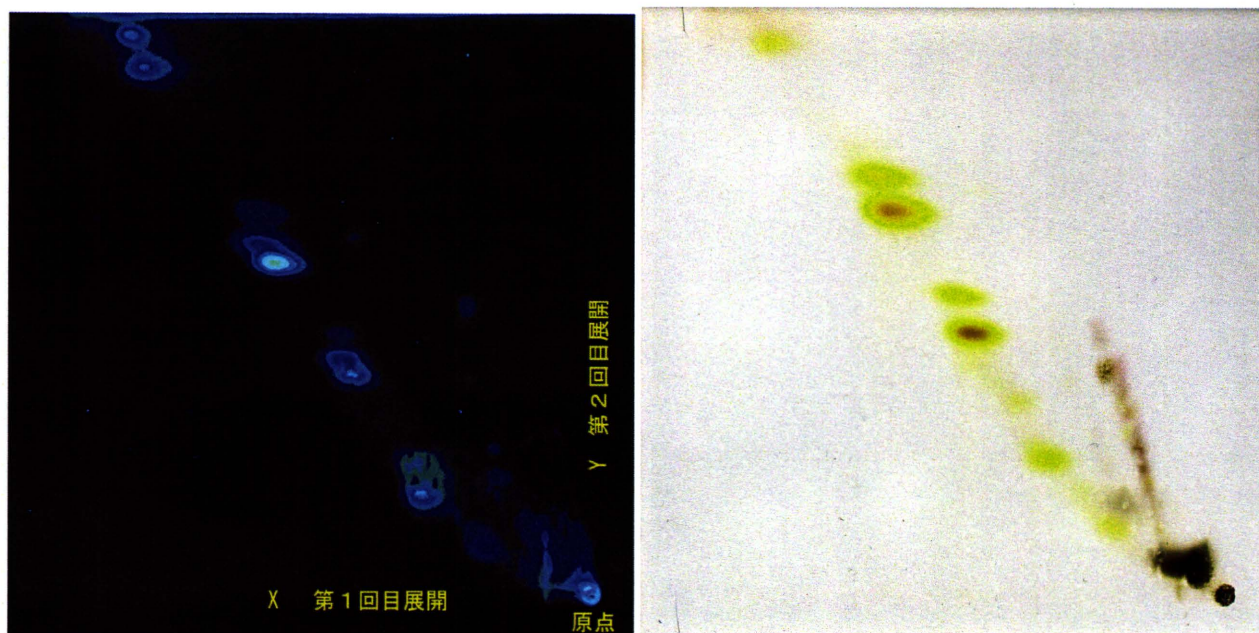


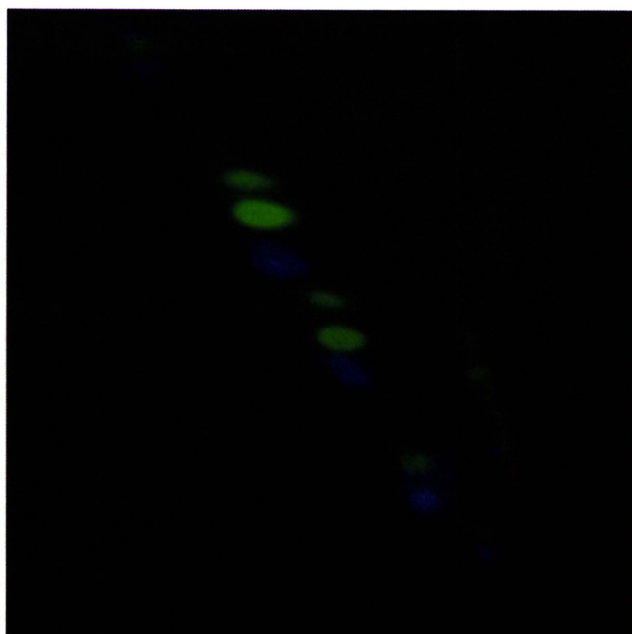
(検討1)

第1回目展開 (X軸) : BuOH-H₂O-AcOH (7:2:1)

第2回目展開 (Y軸) : AcOEt-H₂O-HCOOH (5:1:1)



左 : UV (主波長366nm) 右 : 10%硫酸噴霧後加熱

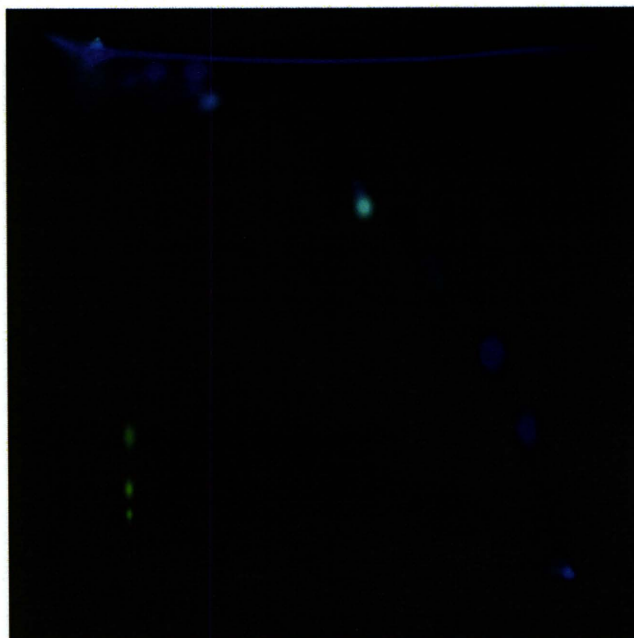
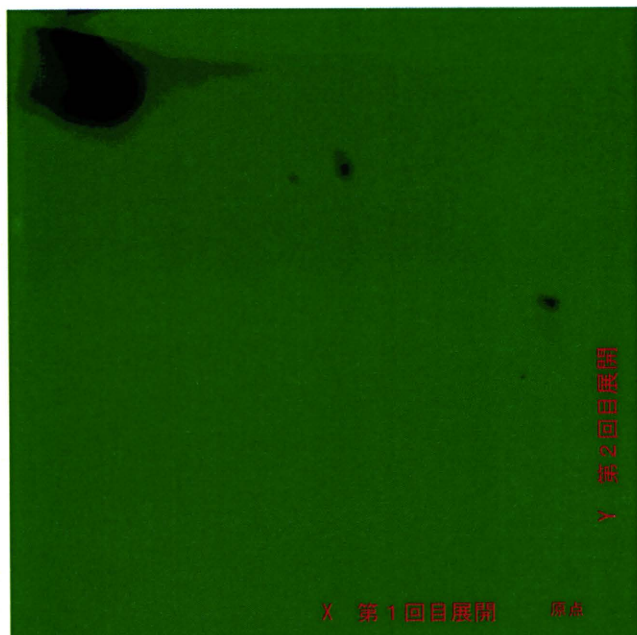


10%硫酸噴霧加熱後UV (主波長366nm)

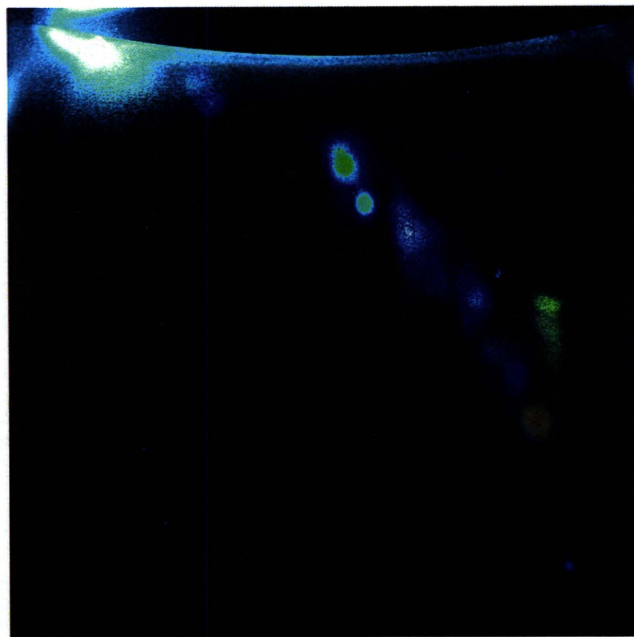
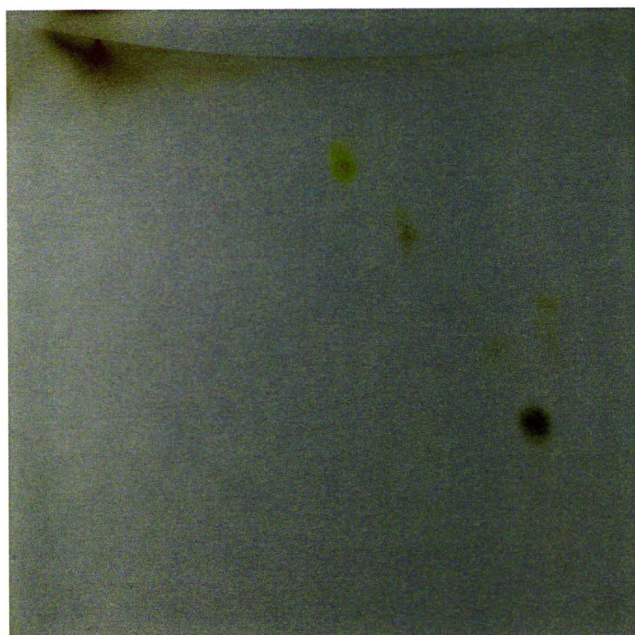
(検討2)

第1回目展開 (X軸) : AcOEt-MeOH (1:1)

第2回目展開 (Y軸) : CHCl₃-MeOH-H₂O (6:4:0.8)



左 : UV (主波長254nm) 右 : UV (主波長366nm)

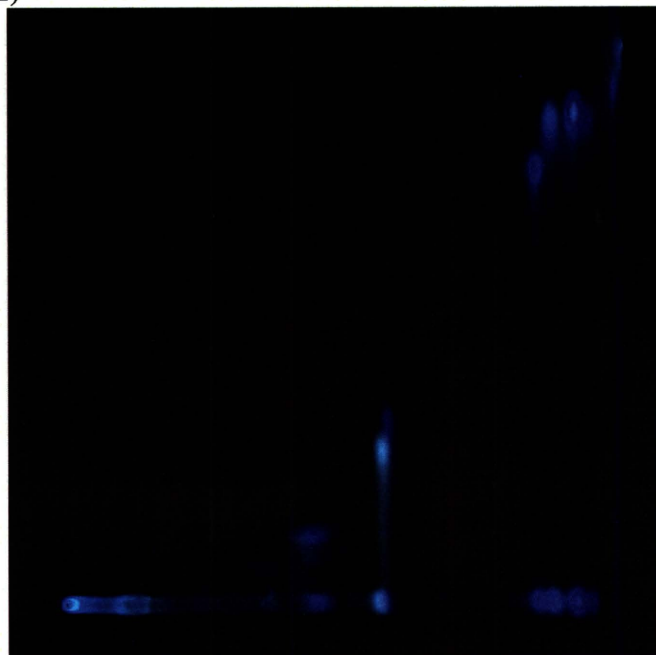
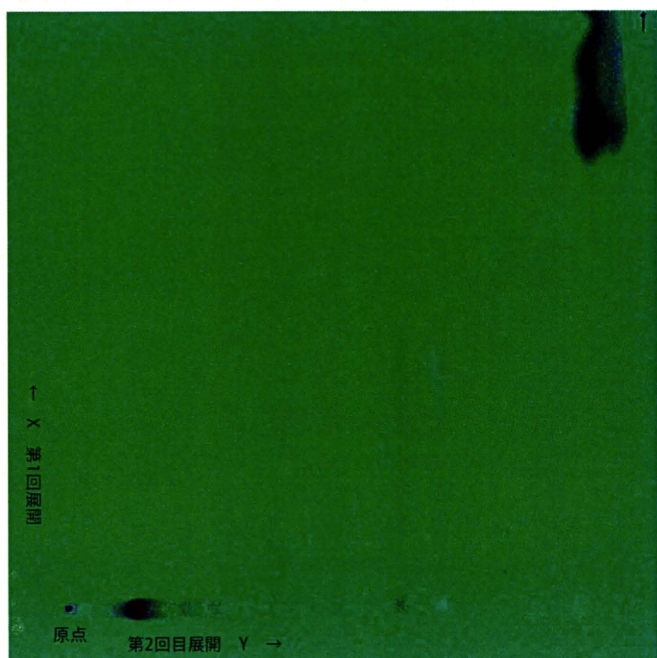


左 : 10%硫酸噴霧後加熱 右 : 10%硫酸噴霧加熱後UV (主波長366nm)

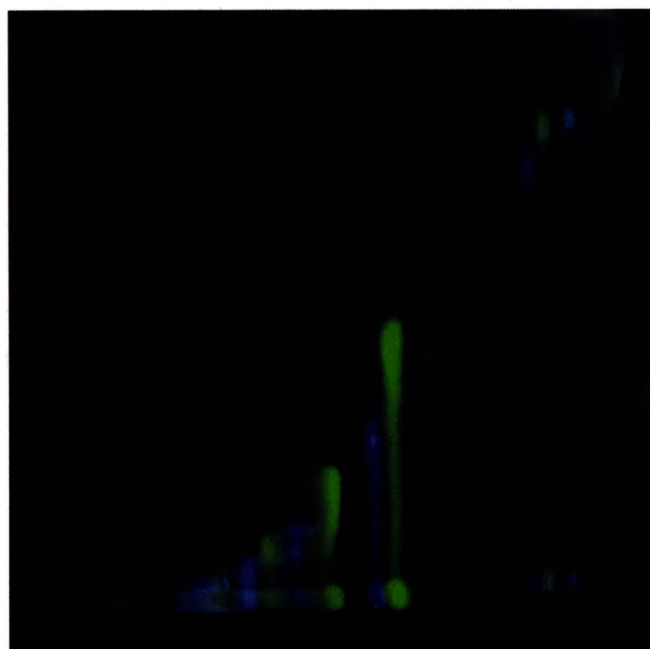
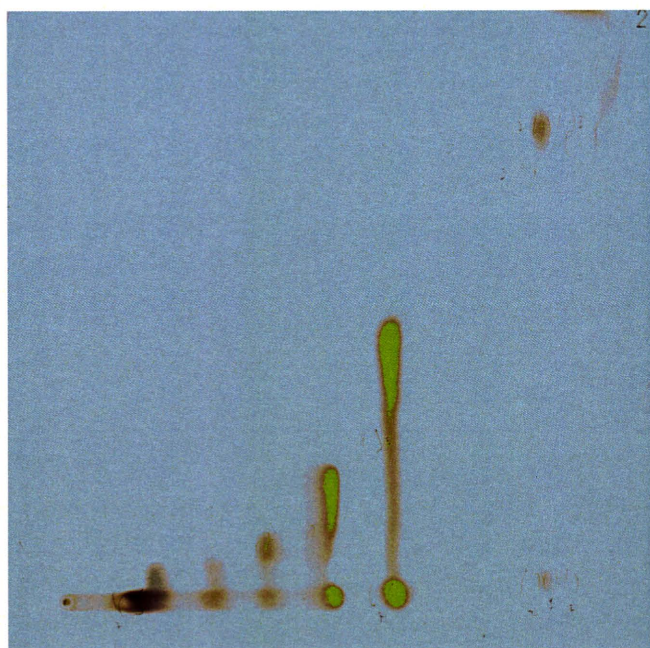
(検討3)

第1回目展開 (X軸) : $\text{CHCl}_3\text{-MeOH-H}_2\text{O}$ (65:30:5)

第2回目展開 (Y軸) : EtOAc-MeOH-AcOH (3:1:2)



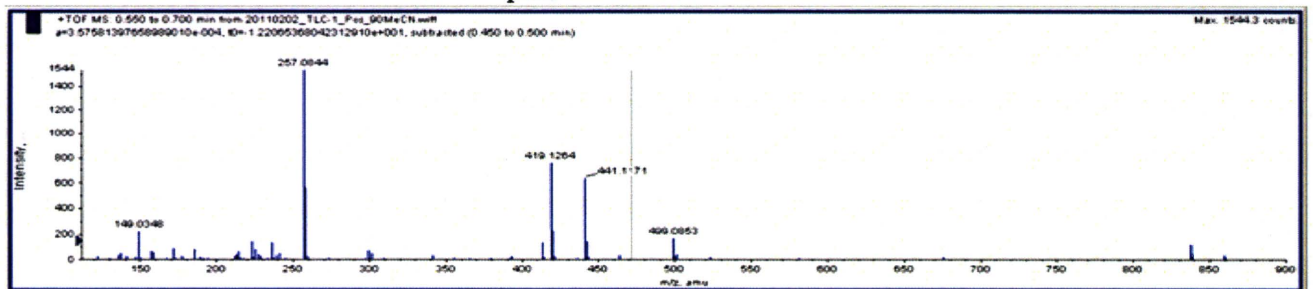
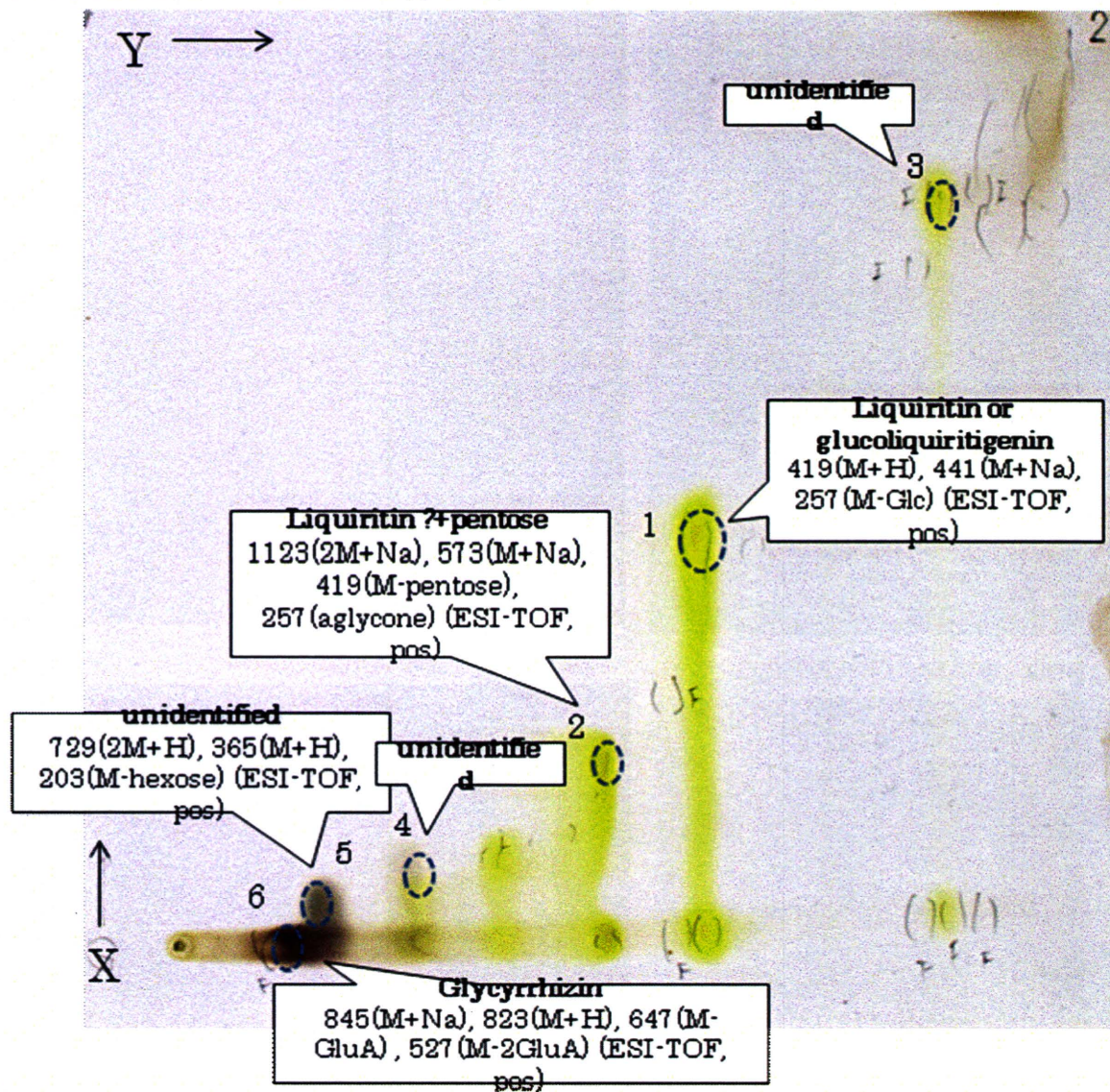
左 : UV(主波長254nm) 右 : UV (主波長366nm)



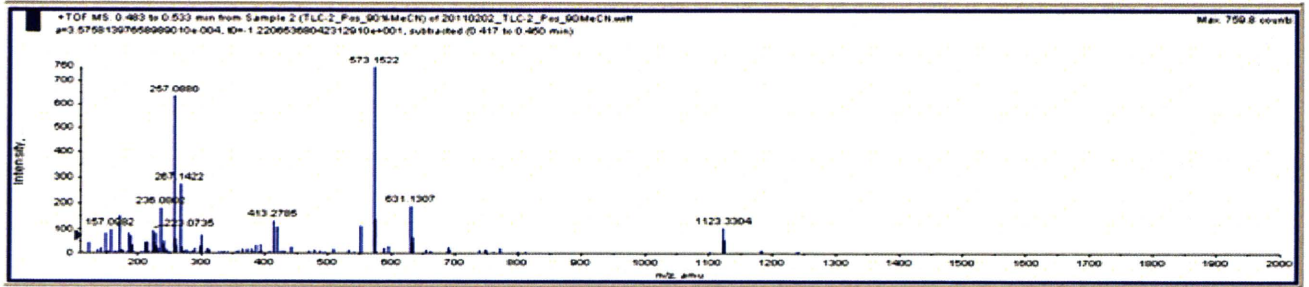
左 : 10% 硫酸噴霧後加熱 右 : 10% 硫酸噴霧加熱後UV(366nm)

TLCMS検討結果

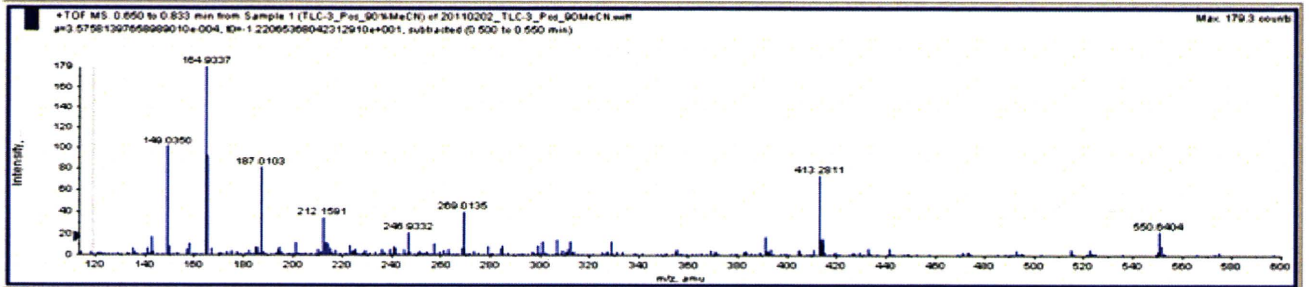
(同条件で2枚展開し、1枚に10%硫酸を噴霧加熱して呈色したスポットと同じ位置をもう1枚のTLCを用いてTLCMSを行った)



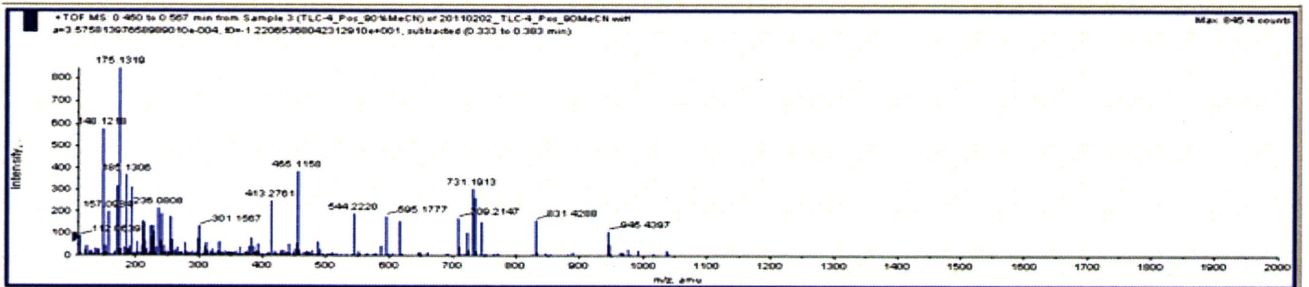
Spot1のTLC/MS



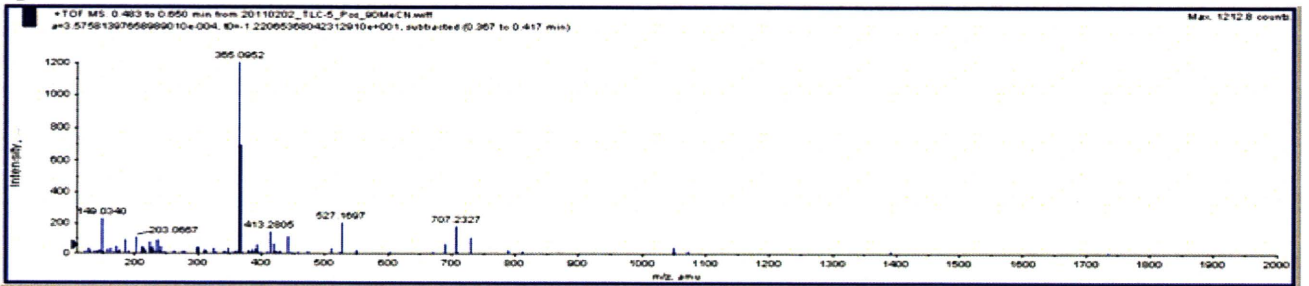
Spot2のTLC/MS



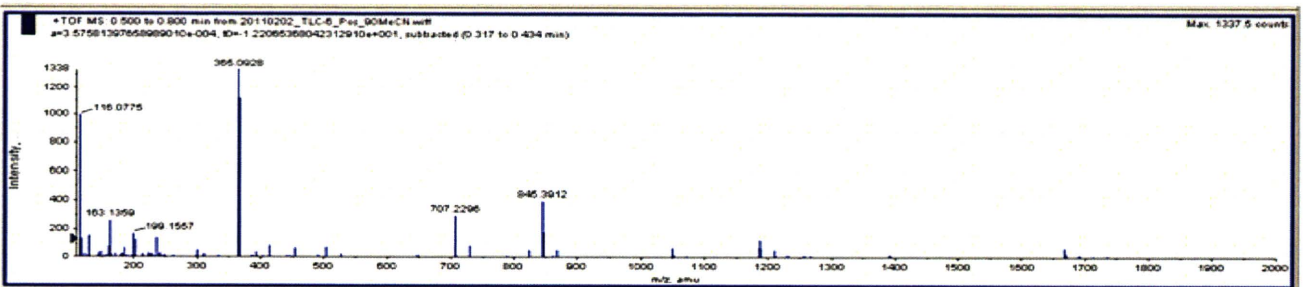
Spot3のTLC/MS



Spot4のTLC/MS



Spot5のTLC/MS



Spot6のTLC/MS

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 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—

分担研究者 川原 信夫 独立行政法人医薬基盤研薬用植物資源研究センター長
協力研究者 淵野 裕之 独立行政法人医薬基盤研薬用植物資源研究センター
筑波研究部栽培研究室長

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、シソ科植物のメハジキ収穫後の乾燥温度条件における成分の変化の検討を行った。メハジキの地上部を5段階の温度にて乾燥させた後、葉の成分に高温で消失する成分を見だし、抽出液を放置すると当該成分の明確な減少が認められたため、その後 GCMS、TLCMS にて成分の特定を行った。その結果、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が明らかとなった。当初予想されていた精油成分の揮発によるものではなく、溶媒中での化学変化によるものであったことから、当該成分と薬効との関わりを今後解明することによりメハジキ類の新品種育成の品質に関わる重要な基礎データとなると予想された。

A. 研究目的

現在日本に流通している生薬は、ほとんどが中国などの外国からの輸入品であるが、その品質は差が大きい。生薬は植物や動物などの天然物由来であるため、その品質は産地や栽培条件などにより大きく左右されてしまう。有効成分が低含量であったりする場合は用いる漢方処方薬の薬効に大きく影響する。また、生薬は特に収穫後の加工調整の段階での加熱や乾燥方法などによ

っても大きく成分が変化するため、当センターで栽培した植物の収穫直後からの各種乾燥条件などによる成分の違いなどを詳しく検討し、生薬ごとの最適な加工条件（修治条件）を検討することにより、国内流通生薬の品質保持と管理に役立つものと考えられる。

本研究においては、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

— する基盤的研究の一環として、その基礎データとするために薬用植物の収穫後の調整加工条件による含有成分パターンの変化についての検討を行った。今年度は、第十五改正日本薬局方第一追補に記載されたヤクモソウに関して検討を行った。生薬ヤクモソウ（益母草）は、シソ科（*Labiatae*）のメハジキ *Leonurus japonicus* Houttuyn または *Leonurus sibiricus* Linne の花期の地上部と規定されている。生薬ヤクモソウは駆お血、強壯、通経、止血、活血などの薬効があり、漢方処方にも配合されている。当センターではメハジキの栽培を長年行っているが、近年地上部の収穫後の乾燥条件にて成分が大きく変異することを突き止めているが、その変異する成分に関してはいまだにその構造を明らかにしていない。将来的にメハジキ新品種並びにシソ科植物の新品種の育成をするにあたり、その品質評価方法の確立の一環として、今回メハジキ地上部の乾燥温度条件による成分変化を調べたので報告する。

B. 研究方法

試料

生薬試料：筑波研究部実験圃場にて栽培を行ったメハジキ(*Leonurus sibiricus*)を用いた。収穫後直ちに各温度の乾燥条件に付し、4日後に取り出した。その後、葉、茎、花に分離し、それぞれの TLC および HPLC を確認した。

収穫日：2009年7月1日

乾燥条件：15, 40, 50, 70, 90℃の5段階、4日間。

抽出方法：約1gの本品粉末にメタノール10mLを加えて10分間振り混ぜる。その後遠心分離し、上澄み液を試料溶液とし、10 μ Lをスポットした。他の抽出溶媒の場合もこの方法に準拠。

二次元 TLC 条件

展開溶媒：一回目 CHCl₃/MeOH 混液(5:1)

二回目 *n*-hexane/ethyl acetate 混液 (1:1)

検出：254nm, 366nm, 10%H₂SO₄/Δ,

10%H₂SO₄/Δ+366nm

TLC-MS 条件

上記条件で2枚 TLC を展開後、1枚のみに10%硫酸を噴霧後、加熱し呈色させ、スポットを確認後、未噴霧のプレートの TLC-MS を行う。

QSTAR XL, APCI-TOF-MS, negative, positive mode Solvent: CH₃CN/H₂O

目的とするスポットに関しては高分解能質量分析を行い、分子式を求めた。

GCMS 条件

カラム温度 90℃ (15min) →120℃ (30min) →150℃ (35min) →220℃ (40min) →275℃ (40min)。

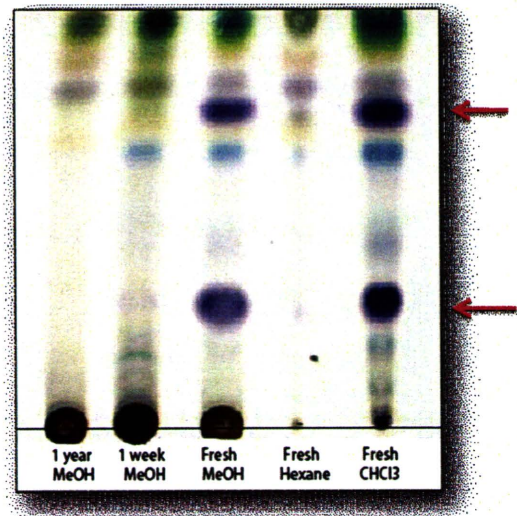
カラム SLB-5ms 0.32mm I.D.x 30m (SUPELCO)

C. 研究結果

我々の今までの検討結果により、メハジキの地上部を収穫後に B に示したような乾燥条件で乾燥させると、その成分は TLC 上で低温と高温では明確な差異がみられた。すなわち後図で示すように、低温乾燥条件

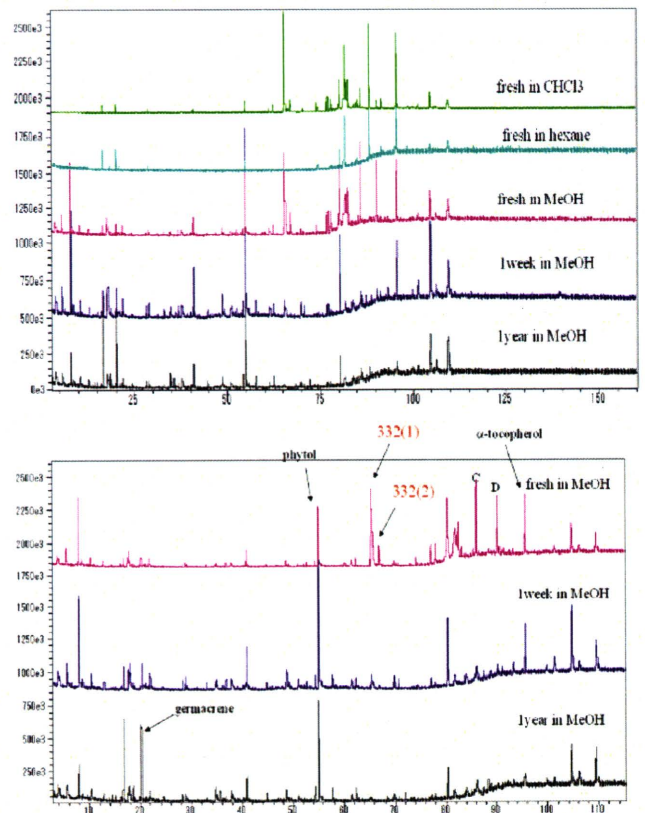
で明確にみられた2種類の青紫色のスポットは高温乾燥条件では消失する。メハジキはシソ科植物であるが、一般にシソ科植物の葉には精油を多く含むことが知られている。すなわちこの対象スポットが精油成分であるとするならば、高温乾燥条件では容易に揮発してしまうために理由づけることができる。しかしながら、その後の検討で、そのメタノール抽出エキスの GCMS においては該当すると思われるピークは分子量からモノテルペンあるいはセスキテルペンとは考えにくく、当該化合物は精油ではないと予想された。

メハジキ葉の収穫後の各種溶媒での抽出後の TLC を図1に示す。当該成分は矢印で示したが、抽出直後のメタノール抽出液とクロロホルム抽出液に明確に認められた。ヘキサン抽出液にはわずかにしか認められなかった。また、メタノールでの抽出直後と1週間後、1年後の TLC を比較すると1週間ではほぼ当該スポットは消失していることが確認された。



Develop. solv.: CHCl₃:MeOH (=5:1)
Detect: 10% H₂SO₄/Δ

図1 メハジキ葉の各種溶媒抽出後とメタノール抽出液の抽出直後、1週間後、1年後の TLC 比較



GCMSの結果

図2 各種溶媒にて抽出後のメハジキ葉の GCMS (上) メハジキ葉のメタノール抽出

液の抽出直後、1週間後、1年後の GCMS 比較 (下)

さらに図2のメタノール抽出液の GCMS において、明らかに1週間で抽出液から消失しているピークが認められ、その m/z は 332 であった。その後 2DTLC/MS を検討した。

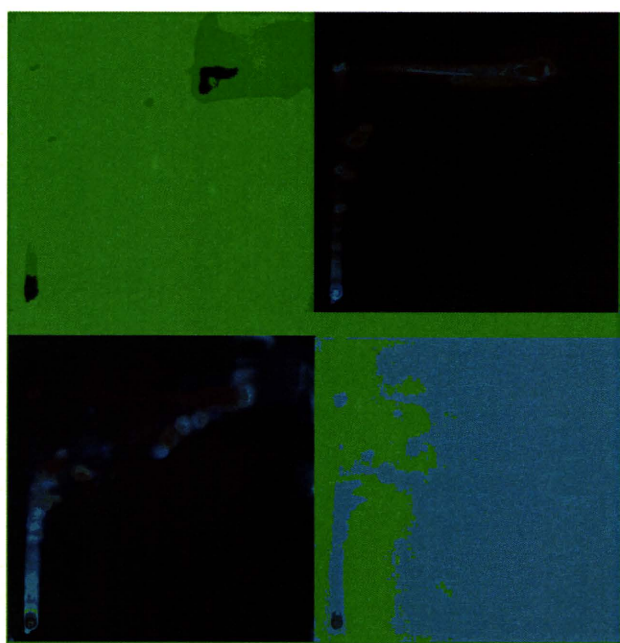


図3 メハジキ葉メタノール抽出液の2次元 TLC

左上：254nm, 右上：365nm,

左下：10% H_2SO_4 +365nm, 右下：10% H_2SO_4

一回目展開： $CHCl_3$: $MeOH$ =5:1

二回目展開：hexane: $AcOEt$ =1:1

図3にメハジキ葉のメタノール抽出液の2次元 TLC を示す。10%硫酸噴霧後加熱で当該成分である青紫色のスポットが呈色

する。本化合物は UV 吸収を有さない。そこで本化合物が先の GCMS における m/z 332 のピークによるスポットなのかを検証するため TLCMS を検討した。

図4に TLCMS による検討結果を示す。ESI-TOF-MS の negative mode と positive mode を測定し、さらに当該スポットに関しては高分解能質量分析 (High-resolution mass spectrometry) を試み、分子式の特特定を行った。図4のスポット1と3が当該成分になるが、1は $C_{20}H_{29}O_4$ 、3は $C_{20}H_{27}O_4$ と推定された。その結果、本化合物は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。TLCMS の MS 結果と GCMS の

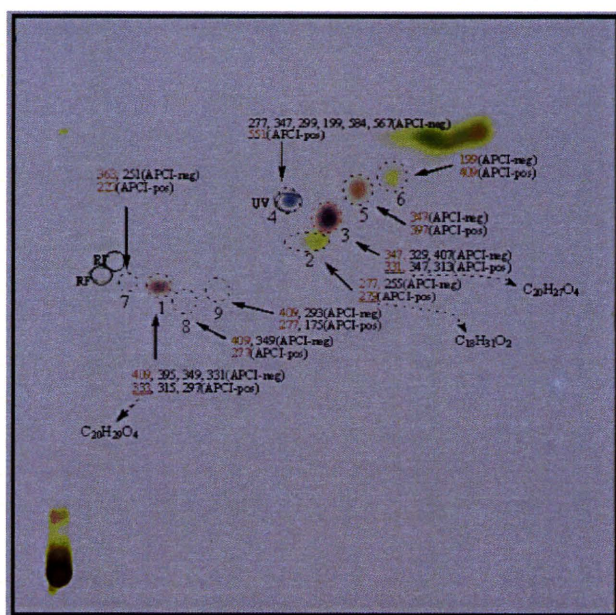


図4 TLC-MSの結果 (実際には10%硫酸による呈色をしていないプレートについて行っている)

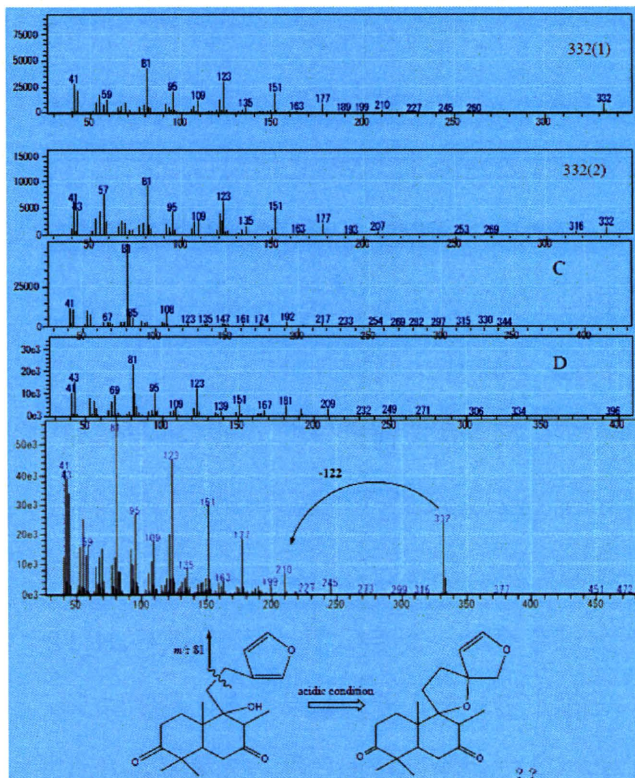


図5 GCMS のフラグメンテーションと推定構造式

結果から推定し、 m/z 81 にベースピークを示すこと、フラグメンテーションパターンと高分解能 TOFMS により、その化学構造を推定し、側鎖に furan 環を有する不安定な構造を持ち、高温下やプロテック条件において即座に環化され spiro 型になると考えられた。

D. 考察

Leonurus 属には特徴的な成分として diepoxy を有する Labdane 系ジテルペンが多く報告されている。diepoxy 体および furane 体は文献上ではともに m/z 81 のベースピークを与える。目的とするスポットに

UV 吸収は認められなかった。TLC-MS の結果から総合すると、目的とする赤紫色に呈色するスポットは diepoxy 体になる前の furane 体側鎖を有する labdane 系ジテルペンと推定された。これらの薬理活性を示す報告は極めて少ないが、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。

また、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。

E. 結論

メハジキの葉に含まれる TLC 上で紫色に呈色するスポットはクロマトグラフィーによる精製中に損失してしまうことが明らかとなり、その後 GCMS, TLCMS の検討により、Labdane 系ジテルペンであり、揮発ではなく溶液中で容易に変化するものと考えられた。最終的な化学構造の確定は質量分析のみでは行えないため、今後単離する必要がなく、直接的な構造解析が可能な LC-NMR/MS を用いた検討を行い構造決定を行う予定である。今後メハジキあるいは *Leonurus* 属の新品種育成に関してこれら

の結果は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。

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ない。

G. 研究発表

1. 論文発表

2. 学会発表

なし

H. 知的所有権の取得状況

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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： 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

分担研究者 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

薬用植物種子の種苗の保存および効率的増殖法を確立するため，以下の研究を行った．(1) 薬用植物種子の発芽条件の規格化を図るため，コガネバナ，コエンドロ，キササゲ，ゴマ，キカラスウリ，ミシマサイコ，ヒキオコシ，カワラヨモギ，ヒロハクララ，ベニバナ，エビスグサについて，最適発芽温度条件および発芽試験の調査所要日数を検討した．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と考えられた．(2) ベニバナ種子を用いて，1% TTC溶液による発芽能力検定法を試みた．30℃で20℃より，短時間で濃く染色され，0～4の5段階で評価した染色指数は20℃3時間で1.6，20℃6時間で1.9，20℃24時間で2.5，30℃3時間で3.0，30℃6時間で3.6，30℃24時間で3.9で，30℃6時間でほとんどが濃赤色に染色された．(3) カノコソウの効率的増殖法を検討するため，根収量に及ぼす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．10 a当たり根の風乾収量は稲わら処理区26.9kg，裸地区3.3kg，無摘花区2.3kgで，裸地区，無摘花区は稲わら処理区に比べて，それぞれ87%，91%根収量が減少し，カノコソウの効率的増殖のために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．

A. 研究目的

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を明らかにし，薬用植物の栽培や資源保存のための情報整備が急務である．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の薬用植物11種について発芽試験

法の至適条件の検討およびベニバナ種子のテトラゾリウム塩による発芽能力検定法を試みた．また，国内における薬用植物栽培を推進するために，カノコソウの効率的増殖法について検討を行った．カノコソウの乾燥した根茎は吉草根と呼ばれ，鎮静，鎮痙および駆風薬として婦人薬の処方に配合される．

15改正日本薬局方では、生薬カノコソウ（吉草根）の基原植物はカノコソウ *Valeriana fauriei* Briquetと規定し、国内のカノコソウ生産量は、最盛期には年間6,000kg を超えていたが、平成17年度には1,061kg、平成18年度に3,510kg、平成19年度には3,228kg、平成20年度には5,073kgに減少し、慢性的な供給不足に陥っている。本研究では、カノコソウの根収量に及ぼす圃場への稲わら被覆処理および摘花の効果について検討した。

B. 研究方法

(1) 薬用植物の発芽試験の規格化に関する研究

材料：2009年に筑波研究部で栽培している以下の植物の種子を採取し、供試した。

コガネバナ *Scutellaria baicalensis* Georgi

コエンドロ *Coriandrum sativum* L.

キササゲ *Catalpa ovata* G. Don

ゴマ *Sesamum indicum* L.

キカラスウリ *Trichosanthes kirilowii*

Maxim. var. *japonicum* (Miq.) Kitamura

ミシマサイコ *Bupleurum falcatum* L.

ヒキオコシ *Isodon japonicus* (Burm.f.) Hara

カワラヨモギ *Artemisia capillaris* Thunb.

ヒロハクララ *Sophora flavescens* Aiton

ベニバナ *Carthamus inctorius* L.

エビスグサ *Cassia obtusifolia* L.

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。2009年産キカラスウリは採種量が少なかったため、15粒3反復で行った。

発芽温度：発芽チャンバーを用い、コガネバナ、コエンドロ、キササゲ、ゴマ、キカラスウリ、ミシマサイコ、ヒキオコシ、カワラヨモギ、ヒロハクララは15, 20, 25, 30℃、ベニバナは20, 25℃、エビスグサは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。

(2) ベニバナ種子のテトラゾリウム塩による発芽能力検定法

2010年産ベニバナ種子を用いてテトラゾリウム塩による発芽能力検定法を試みた。1%TTC(2,3,5-triphenyl-2H-tetrazolium chloride) 溶液に種子を直接、浸漬する方法と種子をあらかじめ水に18時間浸漬処理した後、種子を切り、胚を含む部分を取り出して、染色する方法の比較を行った。温度は20℃、30℃、染色時間は3時間、6時間、24時間で染色し、比較を行った。種子はシャーレ (90_18mm) に各処理4粒浸漬、3反復で行った。

(3) カノコソウの効率的増殖法に関する研究

試験方法：

種苗：カノコソウ *Valeriana fauriei* Briq. 北海道研究部保存系統を筑波研究部圃場で1年間増殖した。1苗 約30g

定植日：2009年10月3日

栽植密度：畝幅80 cm, 株間30 cm

施肥(kg/10a)：基肥：苦土石灰100

化成(8-8-8)50, 追肥1：2010年4月6日

化成(8-8-8)50, ようりん (20%) 20,

追肥2：2010年7月5日 化成(8-8-8) 50,

ようりん (20%) 10

施肥成分量(kg/10a)：基肥: N 4,

P₂O₅ 4, K₂O 4, 追肥 1: N 4, P₂O₅ 8,

K₂O 4, 追肥2: N 4, P₂O₅ 6, K₂O 4

植え付け予定圃場は、2009年7月10日から8月20日までソルゴーを栽培し、緑肥として圃場にすき込んだ。

試験区：稲わら被覆区、裸地区、無摘花区

稲わら被覆区、無摘花区は稲わらを4月26日より収穫まで畝間に被覆した。稲わら被覆区、裸地区は5月中旬～6月中旬にかけて開花した個体の摘花を行い、無摘花区は摘花を行わなかった。

収穫：2010年9月29日

収穫は、収量調査用として生育中庸な連続する3m分をそれぞれの試験地内から3か所サンプリングし、水洗後、2010年9月29日～10月19日まで戸外で乾燥し、風乾重を測定した。

C. 研究結果

(1) 薬用植物の発芽試験の規格化に関する研究

発芽試験の規格化に関する研究を行い、コガネバナ、コエンドロ、キササゲ、ゴマ、キカラスウリ、ミシマサイコ、ヒキオコシ、カワラヨモギ、ヒロハクララ、ベニバナ、エビスグサの植物について発芽、子葉展開に及ぼす温度条件の影響を調査し、それぞれの植物について発芽試験法の規格化の検討を行った。コガネバナの発芽は、20℃の発芽率が高く、発根率46%、出葉率40.7%を示し、コエンドロの発芽は15、20℃で発芽率が高く、15℃の温度条件で発根率42.7%、出葉率39.3%を示した。キササゲの発芽は25℃、30℃で発芽率が高く、30℃で発根率25.3%、出葉率20.7%を示した。ゴマの発芽は20～30℃で発根率100%、出葉率97.3～99.3%を示したが、15℃では発根率34.7%、出葉率は0で、温度が高くなるほど、発根所要日数、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%、出葉率2.2%で、25℃で発根・出葉所要日数が短かった。ミシマサイコの発芽は20℃、25℃で発芽率が高く、20～25℃で発根率23.3～34.7%、出葉率20.0～29.3%を示した。ヒキオコシの発芽は15～25℃で発根率4.7～12.0%、出葉率4.7～11.3%を示したが、30℃では発根率4.7%、出葉率2.7%で低く、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、高かった。ヒロハクララの発芽は30℃で発根率42.0%、出葉

率39.3%を示し、最も高く、15℃で発根・出葉率ともに低下した。ベニバナは20℃で83.3%、25℃で85.3%の発根率を示し、エビスグサの発芽は30℃の発根率が61.3%を示したが、20℃では22.7%と低下した(表1)。

(2) ベニバナ種子のテトラゾリウム塩による発芽能力検定法

2010年産ベニバナ種子を用いて、種子を直接、1%TTC溶液に浸漬したが、染色は明確にみられなかった。種子を浸漬して、柔らかくした後、種子を切り、胚を含む部分を取り出して、1%TTC溶液に浸漬すると鮮明に染色した。染色の程度は下記のように5段階にわけて基準を設けて調査した。4: 濃赤色、3: 赤色、2: 朱色、1: 胚がわずかに染色 0: 胚が無染色。染色程度は30℃で20℃より、短時間で濃く染色された(図1)。5段階で評価した染色指数は20℃3時間で1.6、20℃6時間で1.9、20℃24時間で2.5、30℃3時間で3.0、30℃6時間で3.6、30℃24時間で3.9で、30℃6時間でほとんどが濃赤色に染色された(表2)。

(3) カノコソウの効率的増殖法に関する研究

カノコソウの効率的増殖法の検討を行い、根収量に及ぼす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結果、2009年10月植え付け、2010年9月収穫の10a当たり生根収量は稲わら処理区99.7kg、裸地区12.2kg、無摘花区4.3kg、10a当たり風乾根収量は稲わら処理区26.9kg、裸地区3.3kg、無摘花区2.3kgで、裸地区、無摘花区は稲わら処理区に比べて、それぞれ87%、91%風乾根収量が減少した(図2)。なお、稲わら被覆処理区の収量の同一方法で栽培した前年の2009年の収量に対する比は、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。

D. 考察

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。

各植物の最適温度条件での発根開始から出葉終了までの期間は、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17～31.0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日であった。

2010年産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たところ、種子の胚を含む部分を取り出して染色すると、30℃で3時間の処理ですべての個体で染色が確認された。今後は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予定である。

カノコソウの効率的増殖法の検討を行い、根収量に及ぼす圃場への稲わらの被覆処理および摘花の効果について調査した結果、10a当たりの風乾根収量は裸地区、無摘花区は稲わら処理区に比べて、それぞれ87%、91%根収量が減少し、稲わらの被覆処理および摘花は有効であることを確認した。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、気象条件による稲わら被覆の効果の程度についても検討する必要がある。また、今後、他の

マルチ資材の被覆の収量に及ぼす影響についても検討する必要がある。

E. 結論

発芽試験における温度設定は発根率、出葉率、発根および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℃、エビスグサでは25～30℃に設定するのが最適と考えられた。

ベニバナ種子を用いて、TTC溶液による発芽能力検定法を試みた。あらかじめ、種子を浸漬して、胚を含む部分を取り出して、1% TTC溶液に浸漬すると鮮明に染色し、染色程度は30℃で20℃より、短時間で濃く染色された。カノコソウの効率的増殖法の検討を行い、根収量に及ぼす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結果、稲わらの被覆処理および摘花は有効であることを確認した。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

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（徳島文理大学2010年9月25～26日）

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 発根率，出葉率と温度の関係

コガネバナ

温度 (°C)	反復	発根 開始日 (日目)	開始 発根率 (%)	発根 終了日 (日目)	最終 発根率 (%)	平均 発根所 要日数	出葉 開始日 (日目)	開始 出葉率 (%)	出葉 終了日 (日目)	最終 出葉率 (%)	平均 出葉所 要日数
15	平均	7.0	10.0	12.7	38.7	8.3	14.0	10.0	16.3	24.7	14.5
	標準偏差	0.0	7.2	2.5	9.0	0.6	1.7	7.2	1.2	6.4	0.8
20	平均	2.7	8.7	10.0	46.0	5.2	8.0	14.7	14.0	40.7	9.6
	標準偏差	0.6	4.2	3.0	7.2	0.8	0.0	3.1	1.7	9.0	0.9
25	平均	2.0	8.0	8.0	29.3	3.9	7.0	12.7	12.7	22.7	7.1
	標準偏差	0.0	2.0	5.0	5.8	1.1	0.0	2.3	2.5	6.4	0.8
30	平均	2.0	6.7	9.7	36.0	4.6	6.0	4.0	12.0	32.0	7.3
	標準偏差	0.0	3.1	3.1	11.1	0.4	0.0	2.0	1.7	10.0	0.1

コエンドロ

温度 (°C)	反復	発根 開始日 (日目)	開始 発根率 (%)	発根 終了日 (日目)	最終 発根率 (%)	平均 発根所 要日数	出葉 開始日 (日目)	開始 出葉率 (%)	出葉 終了日 (日目)	最終 出葉率 (%)	平均 出葉所 要日数
15	平均	7.7	14.0	18.3	42.7	9.9	15.0	4.0	23.0	39.3	20.2
	標準偏差	0.6	9.2	8.1	9.2	1.6	1.0	2.0	0.0	8.1	3.5
20	平均	5.0	31.3	7.3	40.7	5.4	8.0	6.7	12.7	36.7	10.1
	標準偏差	0.0	6.4	1.5	4.6	0.2	0.0	4.2	3.1	8.3	1.1
25	平均	5.0	23.3	8.7	30.7	5.5	8.7	4.7	13.3	15.3	10.9
	標準偏差	0.0	7.6	0.6	6.4	0.2	0.6	2.3	2.3	2.3	0.4
30	平均	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	標準偏差	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

キササゲ

温度 (°C)	反復	発根 開始日 (日目)	開始 発根率 (%)	発根 終了日 (日目)	最終 発根率 (%)	平均 発根所 要日数	出葉 開始日 (日目)	開始 出葉率 (%)	出葉 終了日 (日目)	最終 出葉率 (%)	平均 出葉所 要日数
15	平均	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	標準偏差	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	平均	7.0	10.0	9.3	13.3	7.8	9.0	11.3	12.7	11.3	11.6
	標準偏差	0.0	6.0	1.5	4.2	0.9	0.0	3.1	2.9	3.1	3.2
25	平均	3.7	2.0	9.3	22.7	7.1	7.3	5.3	10.7	19.3	8.9
	標準偏差	0.6	0.0	2.1	5.0	0.5	0.6	5.8	0.6	4.2	0.4
30	平均	2.7	4.7	6.3	25.3	3.5	6.0	12.0	9.0	20.7	7.3
	標準偏差	0.6	1.2	1.2	4.2	0.2	1.7	9.2	1.7	1.2	0.3

ゴマ

温度 (°C)	反復	発根 開始日 (日目)	開始 発根率 (%)	発根 終了日 (日目)	最終 発根率 (%)	平均 発根所 要日数	出葉 開始日 (日目)	開始 出葉率 (%)	出葉 終了日 (日目)	最終 出葉率 (%)	平均 出葉所 要日数
15	平均	14.0	2.7	17.7	34.7	15.7	—	—	—	—	—
	標準偏差	1.0	2.3	2.1	7.6	0.8	—	—	—	—	—
20	平均	1.0	14.7	2.3	100.0	1.9	5.0	68.0	6.0	98.7	5.9
	標準偏差	0.0	6.1	0.6	0.0	0.1	1.7	53.7	0.0	1.2	0.1
25	平均	1.0	86.7	1.1	100.0	1.1	3.0	35.3	6.0	97.3	4.4
	標準偏差	0.0	11.4	0.1	0.0	0.1	0.0	9.5	0.0	1.2	1.2
30	平均	1.0	100.0	1.0	100.0	1.0	2.0	92.0	3.0	99.3	2.1
	標準偏差	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	7.2	0.0	1.2	0.1

キカラスウリ

温度 (°C)	反復	発根 開始日 (日目)	開始 発根率 (%)	発根 終了日 (日目)	最終 発根率 (%)	平均 発根所 要日数	出葉 開始日 (日目)	開始 出葉率 (%)	出葉 終了日 (日目)	最終 出葉率 (%)	平均 出葉所 要日数
15	平均	32.5	6.7	32.5	4.4	32.5	-	-	-	-	-
	標準偏差	-	-	-	3.8	-	-	-	-	-	-
20	平均	24.0	6.7	28.3	8.9	26.2	37.0	2.2	37.0	2.2	37.0
	標準偏差	7.0	0.0	3.8	3.8	4.2	-	3.8	-	3.8	-
25	平均	17.0	6.7	17.0	8.9	18.2	5.0	2.2	31.0	2.2	31.0
	標準偏差	5.3	0.0	5.3	3.8	3.6	0.0	3.8	-	3.8	-
30	平均	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	標準偏差	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ミシマサイコ

温度 (°C)	反復	発根 開始日 (日目)	開始 発根率 (%)	発根 終了日 (日目)	最終 発根率 (%)	平均 発根所 要日数	出葉 開始日 (日目)	開始 出葉率 (%)	出葉 終了日 (日目)	最終 出葉率 (%)	平均 出葉所 要日数
15	平均	27.0	8.0	36.3	20.7	30.1	45.0	4.0	53.7	12.7	49.2
	標準偏差	2.6	2.0	6.7	6.1	4.1	3.6	2.0	2.1	4.2	3.0
20	平均	7.0	7.3	24.7	34.7	11.9	17.3	4.0	31.3	29.3	23.8
	標準偏差	2.6	5.0	5.5	4.2	1.4	0.6	3.5	3.5	1.2	2.6
25	平均	5.3	10.7	25.3	23.3	9.3	11.7	3.3	33.0	20.0	18.9
	標準偏差	2.3	4.6	9.5	7.0	2.5	2.1	2.3	8.7	8.0	3.2
30	平均	12.0	24.0	31.3	11.3	18.3	17.7	2.7	29.3	10.0	24.0
	標準偏差	2.6	5.3	3.5	9.0	3.0	5.5	1.2	6.1	9.2	1.7

ヒキオコシ

温度 (°C)	反復	発根 開始日 (日目)	開始 発根率 (%)	発根 終了日 (日目)	最終 発根率 (%)	平均 発根所 要日数	出葉 開始日 (日目)	開始 出葉率 (%)	出葉 終了日 (日目)	最終 出葉率 (%)	平均 出葉所 要日数
15	平均	5.0	2.0	13.0	12.0	8.1	8.0	5.3	16.7	11.3	12.1
	標準偏差	1.7	2.0	4.0	7.2	2.2	1.0	5.8	3.8	6.1	3.8
20	平均	6.0	4.0	6.7	4.7	3.5	6.0	4.0	6.7	4.7	6.1
	標準偏差	0.0	3.5	1.2	4.6	0.5	0.0	3.5	1.2	4.6	0.2
25	平均	2.7	8.0	5.0	12.0	3.1	4.0	3.3	6.0	11.3	5.5
	標準偏差	1.2	5.3	1.7	8.7	0.8	1.7	2.3	0.0	8.1	0.6
30	平均	3.7	2.7	5.3	4.7	4.4	6.0	2.7	7.0	2.7	6.0
	標準偏差	0.6	1.2	3.2	3.1	1.7	0.0	1.2	1.7	1.2	0.0

カワラヨモギ

温度 (°C)	反復	発根 開始日 (日目)	開始 発根率 (%)	発根 終了日 (日目)	最終 発根率 (%)	平均 発根所 要日数	出葉 開始日 (日目)	開始 出葉率 (%)	出葉 終了日 (日目)	最終 出葉率 (%)	平均 出葉所 要日数
15	平均	3.0	100.0	3.0	70.0	3.0	8.0	58.0	12.7	70.0	8.4
	標準偏差	0.0	0.0	0.0	9.2	0.0	0.0	15.1	2.3	9.2	0.3
20	平均	1.0	100.0	1.0	84.7	1.0	3.0	43.3	8.0	84.7	3.6
	標準偏差	0.0	0.0	0.0	1.2	0.0	0.0	9.5	0.0	1.2	0.1
25	平均	1.0	78.0	1.0	84.0	1.0	2.0	34.7	4.0	84.0	2.6
	標準偏差	0.0	38.1	0.0	3.5	0.0	0.0	5.0	0.0	3.5	0.1
30	平均	1.0	86.0	1.0	70.0	1.0	2.0	56.7	3.3	70.0	2.2
	標準偏差	0.0	24.2	0.0	2.0	0.0	0.0	2.3	0.6	2.0	0.1

ヒロハクララ

温度 (°C)	反復	発根 開始日 (日目)	開始 発根率 (%)	発根 終了日 (日目)	最終 発根率 (%)	平均 発根所 要日数	出葉 開始日 (日目)	開始 出葉率 (%)	出葉 終了日 (日目)	最終 出葉率 (%)	平均 出葉所 要日数
15	平均	13.0	3.3	35.0	26.7	25.9	35.7	2.7	51.3	24.0	42.9
	標準偏	0.0	1.2	0.0	7.6	0.1	1.2	1.2	3.5	6.9	1.3
20	平均	9.7	5.3	26.7	31.3	17.2	16.3	2.7	38.3	29.3	23.9
	標準偏	3.5	3.1	2.3	7.0	2.7	1.2	1.2	5.8	6.1	2.3
25	平均	7.3	3.3	25.0	30.0	14.2	9.7	3.3	37.0	28.0	19.7
	標準偏	1.2	2.3	4.4	8.7	1.4	0.6	2.3	1.0	8.7	1.8
30	平均	4.0	2.0	19.3	42.0	9.8	8.0	4.7	25.3	39.3	13.5
	標準偏	1.7	0.0	7.8	5.3	0.9	1.7	4.6	9.1	7.6	0.3

ベニバナ

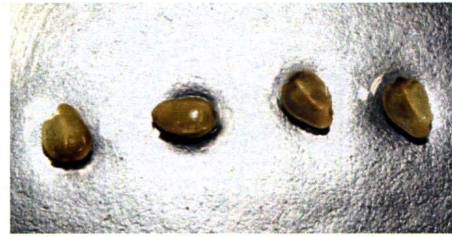
温度 (°C)	反復	発根 開始日 (日目)	開始 発根率 (%)	発根 終了日 (日目)	最終 発根率 (%)	平均 発根所 要日数	出葉 開始日 (日目)	開始 出葉率 (%)	出葉 終了日 (日目)	最終 出葉率 (%)	平均 出葉所 要日数
20	平均	2.0	24.7	3.3	83.3	2.7	5.0	7.3	19.3	18.0	7.9
	標準偏	0.0	6.1	0.6	2.3	0.1	1.7	4.2	4.2	3.5	0.4
25	平均	2.0	15.4	5.0	85.3	2.9	4.0	20.0	7.0	50.0	5.8
	標準偏	0.0	12.8	1.7	3.1	0.1	0.0	5.3	0.0	5.3	0.3

エビスグサ

温度 (°C)	反復	発根 開始日 (日目)	開始 発根率 (%)	発根 終了日 (日目)	最終 発根率 (%)	平均 発根所 要日数	出葉 開始日 (日目)	開始 出葉率 (%)	出葉 終了日 (日目)	最終 出葉率 (%)	平均 出葉所 要日数
20	平均	2.0	4.7	29.7	22.7	11.7	6.0	4.7	30.3	22.0	16.7
	標準偏	0.0	1.2	1.2	9.0	1.9	1.7	1.2	1.2	9.2	2.5
25	平均	2.0	6.7	26.7	48.7	9.5	4.0	3.3	25.0	47.3	14.0
	標準偏	0.0	2.3	7.5	6.1	1.5	0.0	2.3	0.0	7.0	1.8
30	平均	2.0	14.0	25.0	61.3	5.2	5.0	85.3	14.0	50.7	9.6
	標準偏	0.0	2.0	0.0	6.4	0.9	1.7	6.1	0.0	18.1	2.1



20℃ 3時間染色
種子を直接染色



30℃ 3時間染色
種子を直接染色



20℃ 3時間染色
種子から胚を取り出して染色



30℃ 3時間染色
種子から胚を取り出して染色



20℃ 6時間染色
種子から胚を取り出して染色



30℃ 6時間染色
種子から胚を取り出して染色

図 1 ベニバナ種子のテトラゾリウム溶液による染色

表 2 ベニバナ種子のテトラゾリウム染色の温度と染色時間の影響

温度 (°C)	染色時間	染色指数*
20	3 時間	1.6±0.3
20	6 時間	1.9±0.6
20	24 時間	2.5±0.7
30	3 時間	3.0±0.3
30	6 時間	3.6±0.1
30	24 時間	3.9±0.1

平均値±標準偏差 (n=3)

* 種子から胚を取り出して染色したものの指数

染色は4: 濃赤色, 3: 赤色, 2朱色, 1胚がわずかに染色 0: 胚が無染色の5段階で評価した.

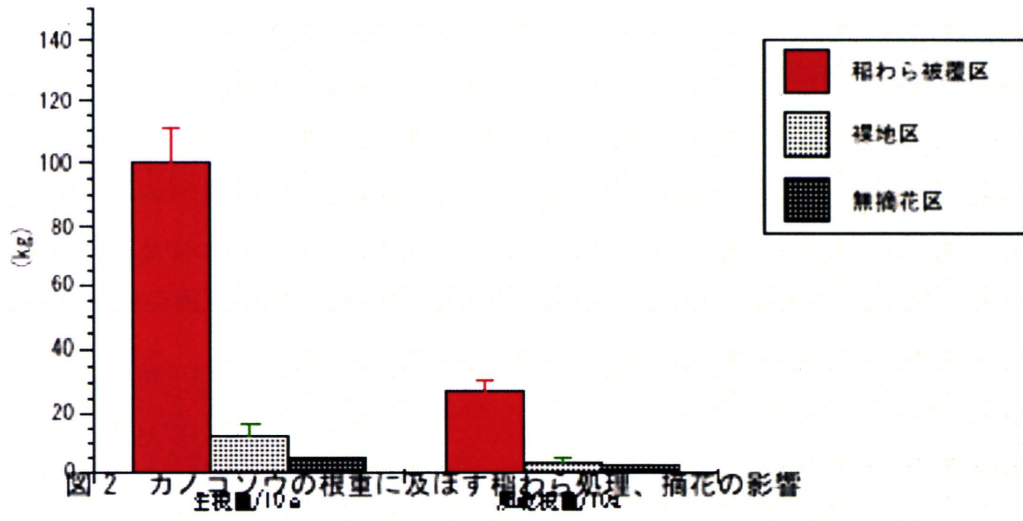


図3 カノコソウの生育期(2010. 9. 15)

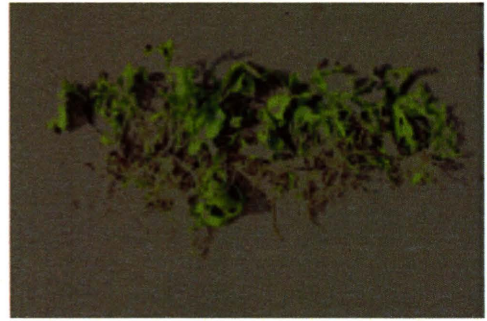


図4 カノコソウの収穫物