

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：種子の発芽試験・貯蔵法及び種苗増殖に関する研究

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 吉松嘉代 （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 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

要旨 栄養繁殖を主とする植物の効率的な種苗の増殖を図るため、本研究では、チョウジの挿し木及び取り木による増殖法を検討し、さらに培養苗由来再生植物体の形質への影響を検討するため、ウコン及びショウガの培養苗の馴化と育成を行った。その結果、1) チョウジの挿し木による繁殖法は発根率が1.8%と極めて低く、挿し木による繁殖は困難であった。取り木では29.8%の発根率が得られ、有用な繁殖法であった。処理枝は直径が5 mm以上の比較的太く、充実したものをを用いるのが良いことが明らかとなった。2) 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5.93 gに成長し、側根茎の形成が観察された。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1.83 gであった

A. 研究目的

植物を増殖する最も効率的な方法は種子を用いることであるが、種子が得られ難いものや種子を形成しない植物があり、それらの増殖は栄養繁殖による方法が用いられる。チョウジは蕾を薬用や香辛料に利用される重要な熱帯性植物であり、繁殖法は種子を用いる。本種は生育適地では容易に種子を形成するが、国内ではほとんど種子が得られず、また挿し木、取り木等の栄養繁殖が困難な植物でもある。一方、ウコン及びショウガは種子を形成しない代表的な植物で、繁殖法は根茎を用いる栄養繁殖による。両種はともに薬用、食用さらには香辛料として繁用されている。

栄養繁殖を主とする植物の効率的な種苗の増殖を図るため、本研究では、チョウジの挿し木及び取り木による増殖法を

検討し、さらに培養苗由来再生植物体の形質への影響を検討するため、ウコン及びショウガの培養苗の馴化と育成を行った。

B. 研究方法

1. 栄養繁殖による増殖法の検討

材料：チョウジ *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et L. M. Perry 薬用植物資源研究センター種子島研究部保存系統2株を用いた。

方法：1) 挿し木処理 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。11月と12月処理では、発根剤ルートンで粉衣処理を行った。用土は小粒の赤玉土を用い、挿し木した鉢及び育苗箱は暖房付きのガラス温室内の遮光下で管理し、灌水は午前と午後の2回、頭上

から自動噴霧を行った。2010年1月25日及び2月12日に挿し木苗を掘り起こし、発根状況を確認した。発根していないものは、再び土に戻し育成した。2011年1月24日に再度発根状況を確認した。

2) 取り木処理 2010年7月6, 9日に2株について取り木を行い、2011年1月24日に発根状況を確認した。

2. 培養苗による種苗増殖

材料：ウコン *Curcuma longa* L.

ショウガ *Zingiber officinale* Roscoe

筑波研究部で作出し、植物ホルモン無添加Murashige and Skoog固形培地 (30 ml/径4 cm×高さ13 cm培養試験管, ゲルライト2.5%で固化), 23℃, 14時間照明下での継代培養により増殖させた培養苗。方法:2010年5月18日及び7月21日の2回, 種子島研究部で培養苗を土に移し (7.5 cm, 9 cmのポリポットを使用), ガラス温室内で馴化を行った。2011年1月24日に掘り上げ, 根茎の新鮮重量を測定した。

C. 研究結果

1. 栄養繁殖による増殖法の検討

(1) 挿し木処理：挿し木による発根と増殖を検討するため、異なる処理時期と部位について、さらには発根剤（ルートン粉衣）を用いて、総数618本の挿し木を行い、11本に発根が見られた（発根率1.8%）（表1, 図1）。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。

(2) 取り木処理：2本の親木から総数86本の取り木を行い、17本に発根が見られた（発根率19.8%）（表2, 図2）。A株とB株の発根率はそれぞれ29.8%と7.7%で、A株が高かった。逆に枯死株はB株で多く発生した。A株はB株に比べ、木が成熟し大きく、取り木の処理枝は太いものが多かった。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思われた。

2. 培養苗による種苗増殖

培養苗は、ウコンでは試験管内の1株を1個体として、1回目に11個体、2回目に4個体を土に移植した。ショウガでは、1回目には培養苗4株を12個体に分割し、2回目は5株を分割せずそのままの状態、1株ごと土に移植した（図3）。培養苗の植え替え時の草丈は、2回目のウコンでは平均22.9 cm, ショウガでは平均18.7 cmであった。1回目の植え替え時の測定を行わなかったため、同株での比較は出来なかったが、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（表3）。

移植後約8ヶ月及び6ヶ月の根茎の成長は、ウコンでは個体数（根茎数）は変わらず、8ヶ月後の根茎には側根茎の形成が観察された。根茎1個当たり新鮮重量はそれぞれ平均5.93 g, 2.34 gであった。ショウガの根茎は容易に分割され、移植後約8ヶ月及び6ヶ月の根茎数はそれぞれ20個, 21個, 根茎1個当たり新鮮重量はそれぞれ平均1.83 g, 0.40 gであった（表4, 図4）。

D. 考察

1. 栄養繁殖による増殖法の検討

ショウガの挿し木による増殖は、発根率が1.8%と極めて低く、挿し木による増殖は困難であった。

取り木では、29.8%と7.7%の発根率が得られ、発根した枝は充実した、やや太い枝であり、一方、発根しなかった、あるいは枯死した株は、比較的柔らかく、細い枝が多かった。取り木を行う場合、処理枝は直径が5 mm以上の太く、充実したものをを用いるのが良いことが明らかとなった。

2. 培養苗による種苗増殖

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出来る。
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よいと思われた。

E. 結論

1. チョウジの挿し木による繁殖法は発根率が極めて低く、挿し木による繁殖は困難であった。取り木では29.8%の発根率が得られ、有用な繁殖法であった。処理枝は直径が5 mm以上の比較的太く、充実したものをを用いるのが良いことが明らかとなった。

2. 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5.93 gに成長し、側根茎の形成が観察された。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1.83 gであった

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 チョウジ挿し木処理の発根状況

処理日	処理本数 (本)	部位	発根剤	2010年1月25日確認		2010年2月12日確認		2011年1月24日確認	
				生存本数 (葉が緑色) (本)	発根数 (本)	生存本数 (葉が緑色) (本)	発根数 (本)	生存本数 (葉が緑色) (本)	発根数 (本)
09.5.15	57			4	2				
09.6.15	30	先端部		5	0				
	20	枝中間部		0	0				
小計	50			5	0				
09.7.15	30	先端部		2	0				
	10	先端・中間部		1	0				
	10	中間部		1	1				
小計	50			4	1				
09.9.15	300					105	0	4	4
09.11.16	100		ルートン粉衣			87	0	2	1
	10	新枝	ルートン粉衣			9	0	2	2
	15	基部	ルートン粉衣			8	0	0	0
	10	旧枝				10	0	0	0
小計	135					114	0	4	3
09.12.15	16		ルートン粉衣			13	0	1	1
	10					9	0	0	0
小計	26					22	0	1	1
合計	618			13	3	241	0	9	8



9月挿し木 (2009.9.15)



同左→2011.1.24



同左発根枝 (2011.1.24)



11月挿し木 (2009.11.16)



同左→2011.1.24



同左発根枝 (2011.1.24)

図1 チョウジ挿し木処理の生育状況

表2 チョウジ取り木処理の発根状況

処理株	処理日	処理枝数 (本)	発根枝数 (本)	枯死枝数 (本)
A	2010.7.6,9	47	14	4
B	2010.7.6,9	39	3	13
合計		86	17	17



取り木株 A



取り木処理 (2011.1.14)



発根 (2011.1.14)

図2 チョウジの取り木処理

表3 ウコン及びショウガの1株当たり生育状況

植物名	2010年5月18日植え替え→同年7月21日の状況			
	草丈 cm	生葉数	茎数	n
ウコン	42.9 ± 9.6	5.9 ± 1.4	1.3 ± 0.5	11
ショウガ	22.2 ± 7.7	6.1 ± 1.7*	2.5 ± 1.3	10

植物名	2回目植え替え時(2010年7月21日)				
	草丈 cm	生葉数	茎数	生重 g/植物体	n
ウコン	22.9 ± 1.3	7.5 ± 0.6	1.0	10.46 ± 1.42	4
ショウガ	18.7 ± 0.4	8.2 ± 0.4*	8.6 ± 1.5	10.98 ± 0.59	5

*最大茎1本当たり



ウコン 1回目植え替え時(2010.5.18)



ショウガ 1回目植え替え時(2010.5.18)



ウコン 2回目植え替え時(2010.7.21)



ショウガ 2回目植え替え時(2010.7.21)



ウコン同上植え替え苗(2010.7.21)



ショウガ同上植え替え苗(2010.7.21)

図3 培養で育成されたウコン及びショウガの植物体

表4 ウコン及びショウガの根茎1個当たり新鮮重量(g)

ウコン		ショウガ	
1回目植え替え	2回目植え替え	1回目植え替え	2回目植え替え
5.93 ± 3.57*	2.19 ± 0.31	1.83 ± 1.67	0.40 ± 0.19
2.34~14.80**	1.78~2.50	0.29~6.69	0.10~0.90
n=11	n=4	n=20	n=21

* 平均値±標準偏差 ** 最小値~最大値

1回目植え替え:2010年5月18日, 2回目植え替え:同年7月21日

収穫調査日:2011年1月24日



ウコン1回目植え替え株



ショウガ1回目植え替え株



ウコン2回目植え替え株



ショウガ2回目植え替え株

図4 培養で育成されたウコン及びショウガの馴化植物体の根茎(2011年1月24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：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

分担研究者 医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター筑波研究部 吉松嘉代

北海道研究部圃場で維持管理しているホソバオケラ (*Atractylodes lancea* DC. : Al) 及びオケラ (*Atractylodes japonica* Koidz.ex. Kitam : Aj) 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。根茎に形成したシュートを滅菌した土に植えて閉鎖温室内で材料植物を育成することで、雑菌の混入無しに効率良く無菌シュートを誘導することが可能となった。得られた無菌シュートの頂芽及び節切片を材料に、シュート形成条件を検討したところ、頂芽を用いた方が良好であった。増殖したシュートを材料に、植物ホルモン無添加 (HF) 培地での発根を調べた。Al は、IAA0.5 mg/l + BA 2.5 mg/l 添加培地で最も多数のシュートが増殖し、HF 培地移植後の発根率は 100%であった。一方、Aj では、ベンジルアデニン (BA) 5 mg/l を添加した培地が最も多数のシュートが形成したが、HF 培地移植後の発根率が低かった。従って、Aj では HF 培地移植後の発根率が 100%を示す BA 2.5 mg/l 添加が最良のシュート増殖条件と判断した。以上の結果より、種子がつかず栄養繁殖でしか増殖できない Al 及び交雑により含有成分が変化し易い Aj の効率的増殖が可能となり、1 頂芽より、約 3 ヶ月の培養で、Aj では 4 本、Al では 9 本の植物体が得られる条件を培養決定し、オケラ属植物の養液栽培システム構築のための基盤を確立した。

A. 研究目的

国内での増殖が困難あるいは交雑により含有成分が変化し易い漢方薬原料植物の安定的・戦略的確保のため、植物組織培養による優良系統の選抜と効率的増殖法の確立を行い、さらに人工環境制御下での生薬生産の基盤を確立する。

本研究で得られる成果は、漢方薬原料生薬の90%以上を中国等の海外からの輸入に依存している日本における漢方薬の安定的・持続的生産に貢献し、国民の健康の増進を図る上で、その意義は大きい。

B. 研究方法

1) オケラ属植物材料植物の育成と初代

培養シュート誘導

北海道研究部圃場で栽培した Al 及び Aj (表 1、表 2) を組織培養系誘導のための材料とした (図 1)。根茎を水道水で洗浄しながら株分けを行い、1 シュートずつ分離した。一部は、そのまま常法による殺菌 (75%エタノール 1 分間、滅菌水洗浄 1 回、Tween 20 1.6 µl/ml を含む有効塩素濃度 2%の次亜塩素酸溶液 10 分間、滅菌水洗浄 3 回) を行い、クリーンベンチ下で約 1 cm 長のシュートを切り出し、3%ショ糖含有植物ホルモン無添加 (HF) Murashige and Skoog (MS) 固形培地 (0.25%ゲルライトで固化) に植付け、20°C、14 時間照明下で培養 (以

下、シュート増殖、発根とも同条件)した。また一部は、わずかに根を含むシュートをコイヤポット(外径8cm×高さ8cm,赤玉土-クレハ培養土-堆肥=3:1:1)に植え、閉鎖温室(20℃、相対湿度50%、補光照明24灯の利用により14時間照明)で15日間栽培した。閉鎖温室内で再生したシュート(図2)の先端約10cmを切り取り、葉を切り落とした後、上記と同様の方法で殺菌後、約1cm長のシュートを切り出し、2%ショ糖及び0.5g/lMES含有植物ホルモン無添加

(HF)1/2MS(主要無機塩類濃度が1/2)培地に植付けて培養し、初代培養物(シュート)を誘導した。

2) オケラ属植物シュート増殖条件の検討

A1及びAj培養シュートより約1cm長の頂芽及び節切片を調製し、種々濃度のインドール酢酸(IAA)とベンジルアデニン(BA)を含むMS固形培地に植付けて9週間培養し、1切片あたりの形成シュート数、草丈、発根率及び発根数を測定した。

3) オケラ属植物シュート発根条件の検討

上記により増殖したA1及びAj培養シュートより、約1cm長の頂芽切片を調製し、HSMS固形培地に植付けて培養した。4週間後、発根率及び1頂芽切片あたりの発根数を測定した。また、シュート増殖培地でのシュート増殖数と発根培地での発根植物体数を基に、初代培養シュート1頂芽切片より増殖できた植物体数を算出した。

4) オケラ属再生植物体の養液栽培

上記により得られたA1及びAj再生植物体を、ミリオンA50g、ハイドロボール中粒1000g、ハイドロボール小粒1000gを積層させたポリポット(上径15cm、下径10.5cm、高さ30.5cm)に植

付け、養液肥料(マツザキ1号:1.5g+マツザキ2号:1.0g/8L)をポット下方より与えながら閉鎖温室内(温度20℃、相対湿度55%、補光照明4灯の使用により14時間照明)で養液栽培した。植付け後2週間は、過度の乾燥を防ぐため、植物体の上部に透明なプラカップを被せた。

C. 研究結果

1) オケラ属植物の初代培養シュートの誘導

圃場より採種して直ぐの植物材料を培養シュート誘導材料として用いた場合、ほとんどの外植片に雑菌の混入が認められ、培養シュートが誘導できたのはわずか5%のA1であった。一方、閉鎖温室内で育成した材料植物の栽培36日後のシュート再生率は100%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(3週間培養、A1:87.5%、Aj:100%)が可能であった(図3)。

2) オケラ属植物シュート増殖条件の検討

上記初代培養シュート(1試験管、4週間培養)からは、平均、A1:2.5個、Aj:3.0個の植付け材料(頂芽及び茎切片)が得られた。A1及びAjいずれも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た。A1頂芽切片では、IAA0.5mg/l+BA2.5mg/l(IAA0.5+BA2.5)添加培地が最大のシュート形成数(9本)を示し、草丈は5.2cmと生育も良好であった。一方、Aj頂芽切片は、IAA1mg/l+BA5mg/l(IAA1+BA5)添加培地が最大のシュート形成数(7本)を示し、草丈も4.4cmと生育は良好であった(図4、5及び6)。A1ではHF培地で、Ajでは、HF及びIAA0.5mg/l+BA1mg/l添加培地で、シュートの発根が認められた。

3) オケラ属植物シュート発根条件の検討

初代培養シュートの頂芽切片より増殖したシュートのHF培地移植後の発根率、1植付け頂芽切片あたりの発根数及び初代培養シュートの頂芽1切片より増殖した植物体数（シュート増殖時の培養条件毎に示す）を図7及び8に示した。AIでは、最大のシュート形成数（9本/頂芽切片）を示したIAA 0.5 + BA 2.5で増殖させたシュートのHF培地での発根率は100%を示し、1植付け片あたりの発根数も10本以上と良好であった。本条件より、AIは、1培養シュートの頂芽切片から約3カ月の培養で、9株の増殖が可能であり、1外植片（閉鎖温室育成植物のシュートより、殺菌後得た頂芽切片）より、約4ヵ月で約22本の植物体を得られることが判明した。

一方、Ajでは、最大のシュート形成数（7本/頂芽切片）を示したIAA 1 + BA 5で増殖させたシュートのHF培地での発根率は42.9%と低く、同様に2番目にシュート形成数が多かった（6本/頂芽切片）BA 5mg/l添加培地で増殖させたシュートの発根率は60%であり、5 mg/lのBA添加は発根過程に影響を与えるものと思われた。HF培地移植後の発根率が100%を示した中で、最もシュート形成数（4本/頂芽切片）が多く、発根数も多かった増殖培地は、BA 2.5 mg/l添加培地であり、本条件が最適であると判断した。以上より、Ajは、1培養シュートの頂芽切片から約3カ月の培養で、4株の増殖が可能であり、1外植片（閉鎖温室育成植物のシュートより、殺菌後得た頂芽切片）より、約4ヵ月で約12本の植物体を得られることが判明した。

4) オケラ属再生植物体の養液栽培

養液栽培に植え出したAI及びAjの活着率はいずれも100%であり、現在も良好に生育中である（図9）。

D. 考察

オケラ属植物の組織培養による増殖に関しては、九州大学の研究グループの報告がある^{1, 2)}。彼らの報告では、組織培養物誘導のための外植片調製前に、AI及びAjとも休眠打破処理がなされている。今回用いた材料は、5月初旬に土中から掘り上げたものであったので、休眠打破処理は不要であったが、雑菌の混入を防ぐため、一旦、閉鎖温室内で栽培し、材料を育成する必要があった。今回確立したAI及びAjの増殖法は、九州大学のグループの報告に記載のあるシュート増殖数（AI：培養7週間で11本のシュート、Aj：7週間の培養で12-14本のシュート）より少ないが、より低濃度の植物ホルモン組成で養液栽培への植出後の活着率100%の健全な苗が得られる有効な方法であると思われる。

E. 結論

薬用植物資源研究センター保有のホソバオケラ及びオケラを材料に、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ソウジュツ及びビャクジュツ生産技術構築のための基盤を確立した。

参考文献

- 1) Shoyama Y et al, Shoyakugaku Zasshi 41(4), 313-317 (1987).
- 2) Hatana K et al, Planta Med. 56, 131-132 (1990).

F. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

- 1) 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 (St. Louis, Missouri, 2010.6.6-11)

2) 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 (仙台 2010.9.2-3)

3) 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)

G. 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 (団体名及び弁理士事務所) 独立行政法人医薬基盤研究所 (505314022) 代理人: 木村満 (100095407) 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 (団体名及び弁理士事務所) 鹿島建設株式会社 (000001373) 代理人: 丹羽俊輔 (100129300) 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

表1. 組織培養系誘導の材料としたオケラ属植物の詳細

記号	導入番号	北海道番号	植物名	系統名	系統の由来	株の概要
Al	1024-10	11421	ホソバオケラ	長尾系	1984年、東京都薬用植物園より導入（佐渡から導入したもの）	2008.9.29 植替え（株分け）した2年目株
Aj	1023-10	5207	オケラ	長葉系	1969年、東京都大田区千鳥町55 上田光氏より（その前は不明）	

表2. ホソバオケラの品質評価結果

栽培地	基原種・系統	純度試験		乾燥減量	灰分	酸不溶性灰分	希エタエキス	精油含量
		重金属	ヒ素					
判定基準	日局 A. lancea A. chinensis	日局 10ppm以下	日局 5ppm以下		日局 7.0%以下	日局 1.5%以下		日局 0.7mL以上/50g
北海道名寄	サドオケラ 長尾系	適	適	10.13	7.50	2.55	23.11	2.22
	サドオケラ 水谷系	適	適	10.61	5.17	1.49	18.54	2.06
	サドオケラ T系	適	適	10.37	5.34	1.02	23.60	2.10
	サドオケラ 北里大系	適	適	9.92	6.00	0.68	29.25	2.02

定植：2006年10月、収穫2008年9月30日

乾燥方法：50℃送風乾燥



図1. 植付け材料としたオケラ属植物の根茎及びシュート



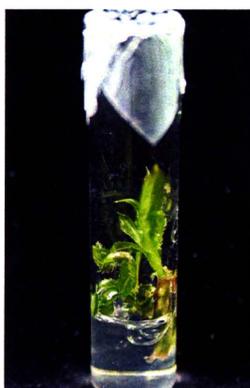
A1

Aj

図2. 閉鎖温室内で15日間栽培して育成したA1及びAj



A1 (圃場植物を材料)



A1 (閉鎖温室植物を材料)



Aj (閉鎖温室植物を材料)

図3. A1及びAjの初代培養シュート

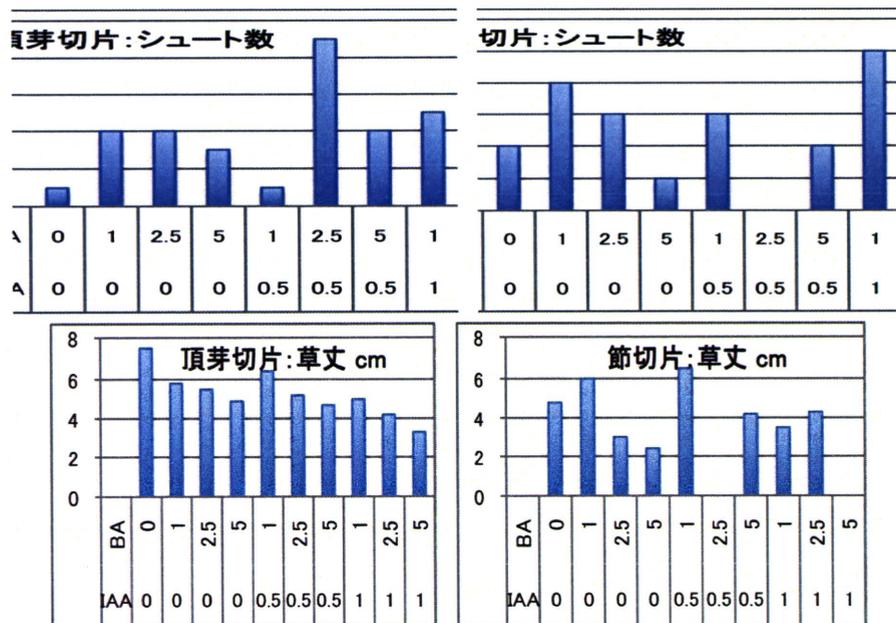


図 4. A1 形成シュート数及び草丈

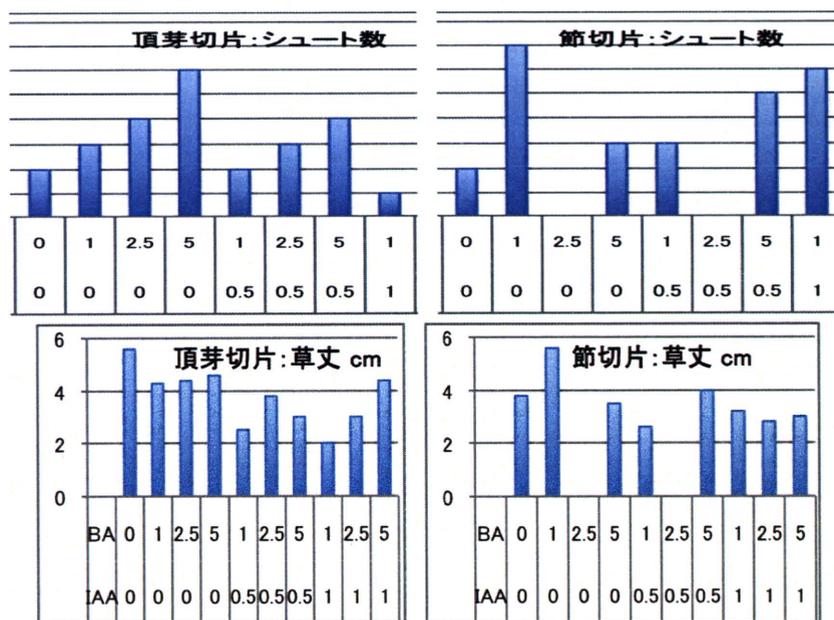
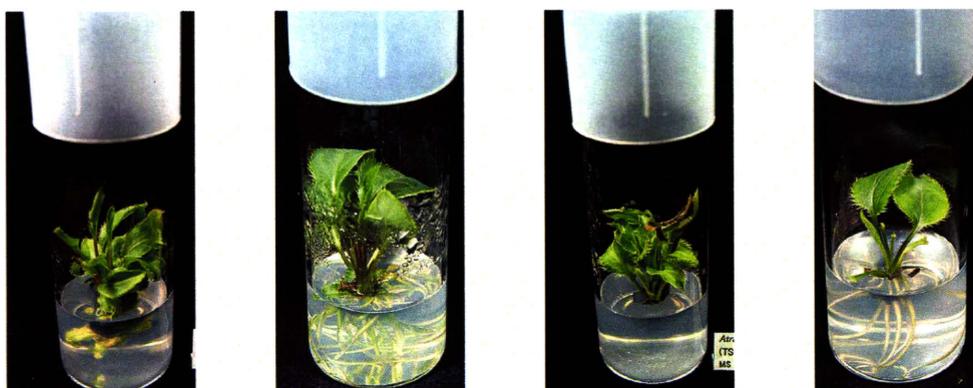


図 5. Aj 形成シュート数及び草丈



A1 多芽体

A1 培養植物体

Aj 多芽体

Aj 培養植物体

図 6. A1 及び Aj の多芽体及び培養植物体

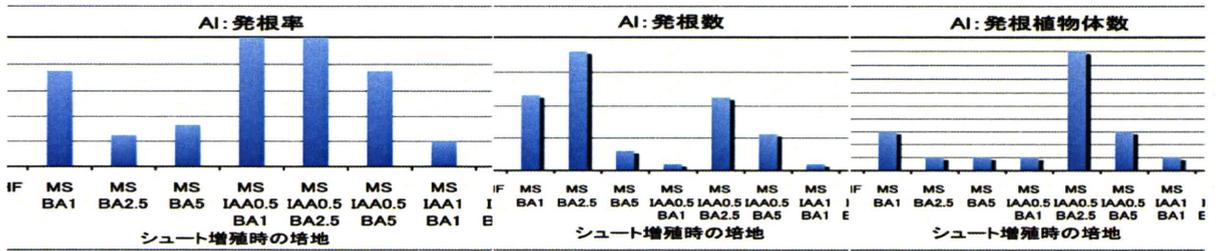


図7. AI 培養シュートの発根、植物体再生と初代培養シュートの1頂芽切片より増殖した発根植物体数

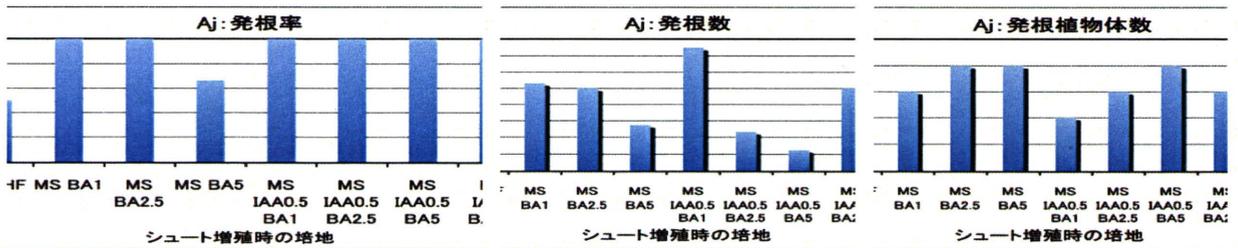


図8. Aj 培養シュートの発根、植物体再生と初代培養シュートの1頂芽切片より増殖した発根植物体数



図9. 閉鎖温室内で養液栽培29日後のA1 (左) 及びAj (右)

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およ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

分担研究者 菱田 敦之（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部 室長

要旨 現在，ケイリンサイシンおよびゲンチアナの国内栽培では，除草剤を含め登録農薬がない．これらの国内栽培を普及させるためには，登録農薬が必要であることから，除草剤の効果および薬害について基礎的な知見を得るために試験した．ケイリンサイシンの栽培におけるロロックス施用の実用性については，播種直後の秋とほう芽直前の春に2回処理する方法およびほう芽直前の春に1回処理する方法が有望であると判断したが，ロロックスの施用によるケイリンサイシンの発芽抑制の可能性があり，今後その実用性を検証する必要があると思われた．

ゲンチアナ栽培におけるロロックス施用は，ゲンチアナの発芽を抑制し，適用不可であることが示唆された．一方，出芽前9日目処理したラウンドアップの施用は，無処理区に対して約33%の抑草効果を示したが，ゲンチアナの生存率に対しても約55～70%の発芽を抑制し，加えて，生存株の生育，特に根の肥大や乾物重を低下させることが判明した．今後，ラウンドアップの施用について，散布時期およびその残留性について確認する必要があると考えた．

A. 研究目的

従来，海外の輸入品に依存していた生薬原料の一部について，製薬メーカー，地方自治体および国の研究班等で国内生産を再評価する動きがある．その背景には，生薬原料の主な生産地である中国が目覚ましい経済発展を遂げ，安価で良質な生薬の入手が難しくなり，また日本国民が農産物の安全性に高い関心を持ち，そのトレーサビリティや安全性を確保することが挙げられる．

しかし国内生産は，現時点で輸入品と比較して割高であり，薬用植物の栽培は，さらなる低コストを目指した省力化・機械化栽培を実現する必要がある．

薬用植物の栽培における課題の1つとして，種苗の消毒や病虫害予防の農薬，圃場管理における除草剤がほとんど利用できないことである．平成14年・15年に行われた

農薬取締法の改正では使用する農薬と適用作物が厳密に規定され，使用方法が明確化された．その結果，マイナー作物である薬用植物では使用できる農薬が大幅に制限され，登録農薬の種類は限られたものになった．

本研究では，薬用植物の登録農薬が極めて少ないことから，将来的な薬用植物の農薬整備を目指し，農薬散布による省力化の適否，薬効および薬害，さらに農薬の残留性について基礎的な知見を得ることが目的である．本課題では，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施用方法とその抑草効果および作物への薬害を調査した．

B. 研究方法

1.ケイリンサイシン栽培におけるロロックスの除草効果

供試材料：北海道研究部で保存している

ケイリンサイシン *Asiasarum heterotropoides* (F. Schmidt) F. Maekawa var. *mandshuricum* F. Maekawa

播種方法：幅 1 m, 長さ 10 m の苗床を成形し, 苗床に 10 cm 間隔で溝を切り種子を筋播きした。播種量は 10 m² 当り 200 g とし, 播種した後軽く覆土して鎮圧した。
施肥方法：基肥として堆肥 1500 kg/10a を施用した。

薬剤処理日：播種直後の 2009 年 9 月 30 日 (秋処理), 雪融け直後の 2010 年 5 月 4 日 (春処理)。

使用薬剤：ロロックス (主成分：リュニロン, クミアイ化学) を 100 g/10a の濃度で施用した。

試験区面積：1 区当り 2.5 m² (1.0 m x 2.5 m)。

試験区：試験区の設定は次の通り。

- ①無処理区 除草処理を行わなかった。
- ②手除草区 2010 年 4 月 28 日および 5 月 21 日に手除草を行った。
- ③秋 1 回処理区 播種直後に土壌処理を行った。
- ④春 1 回処理区 雪融け直後に土壌処理を行った。
- ⑤秋春 2 回処理区 播種直後と雪融け直後に土壌処理を行った。

調査と収穫：「野菜・花き除草剤試験実施基準」((財)日本植物調節研究協会, 2000 年)に従った。雑草調査は, 6 月 7 日に実施し, 各試験区の任意の 2 箇所 (各 2500 cm²) について発生した雑草の種類, 本数および乾燥重量を測定した。

葉害の調査は, 8 月 3 日にケイリンサイシン株数を調査した。さらに, 10 月 5 日に無処理区を除く各試験区から ケイリンサイシンの根茎を収穫して洗浄し, 細根の長さおよび乾燥重量 (50°C で 3 日間) を測定した。

2. ゲンチアナ栽培におけるロロックスおよびラウンドアップの除草効果

供試材料：北海道研究部で保存中の株 (1148-65) より 2009 年 8 月に採取したゲンチアナ *Gentiana lutea* L. 種子を用いた。

試験区の構成と方法：10a 当たり堆肥 1,000 kg, 炭酸石灰 100 kg を全層に施して耕起し, 畝幅 60 cm に準備した畝に, 水選して沈んだ種子を手押しプランターに 10 mm, 20 穴 (モッコウ用) 播種板を装着して, 2009 年 10 月 26 日に, 9 列の畝に播種した (図 4, 播種量：10 m の畝当たり平均 8.2 g, 合計量 73.6 g /54m²)。除草剤ロロックス水和剤 (主成分：リュニロン, クミアイ化学), 処理濃度 100 g/10a (100 g を 100 L に溶解) およびラウンドアップ液剤 (主成分：グリフォセート 41, 日本モンサント), 処理濃度 500 mL/10a (500 mL を 100 L に希釈) を, 雪融け直後の 2010 年 5 月 4 日に, 10m の畝各 2 列づつに全面処理 (出芽前処理) した。対照区として, 手除草区 (無処理) および無処理区 (無処理) を, 10m の畝各 2 列づつ設けた。以上の 4 試験区, 2 反復にて行なった。手除草区における除草を 2010 年 6 月 14 日に行なった後, 2010 年 7 月 21 日に全試験区一斉に手除草を実施した。

調査方法：雑草発生状況の調査を, 各畝内の任意の位置に 30 x 80 cm の枠を置き, 枠内に発生した雑草の種類, 数およびそれぞれの乾物重の調査を 2010 年 6 月 18 日に, ケイリンサイシンと同様に実施した。ゲンチアナへの葉害調査として, 同枠内に生存するゲンチアナ株数の調査を 2010 年 8 月 3 日に実施した後, 2010 年 10 月 7 日に同枠内に生育中のゲンチアナ株をすべて堀上げ, 生育調査 (草丈, 葉数, 根長, 各部位の乾物重) を行なった。

C. 研究結果

1. ケイリンサイシン栽培におけるロロックスの除草効果

雑草調査：本試験を行った圃場で発生した雑草は, 主にイネ科雑草のスズメノカタビラであり, この他にノボロギクが認められ, 極僅かにハコベ, オランダミミナグサが認められた (表 1, 図 1)。

「野菜・花き除草剤試験実施基準 (平成 12 年改訂)」に基づき雑草の発生程度と指数を求めた。無処理区に発生した雑草の乾燥

重量を100として、各処理区における雑草の乾燥重量%で比較した雑草の程度(%)と指数は、手除草区が3.4%(指数:1)、秋1回処理区が65.0%(指数:5)、春1回処理区が24.3%(指数:3)、秋春2回処理区が3.2%(指数:1)であった(図1)。

土壌処理材ロロックスは、発芽前の種子に作用してその発芽を抑制する効果があり、一方、主要な雑草であるスズメノカタビラの一部は秋に発芽して越冬する特徴がある。各処理区の雑草の発生程度を合わせて考慮すると、本圃場で発生したスズメノカタビラの24%程度は前年秋に発芽し越冬し、その65%春に発芽すると思われた。

従ってロロックスの抑草効果は、ケイリンサイシンの播種直後の秋に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。

薬害の調査: 土壌処理剤ロロックスによる薬害の影響を調査した結果、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(表2)。春1回処理区および秋春2回処理区は他の処理区に比べ株数が少ない傾向を示したが有意差は認められなかった。なお、本試験では全ての処理区において発芽株数は少なかった。これは通常9月上旬に行う播種を9月下旬に行ったことから貯蔵種子の一部が発根し、播種時に植え傷みが生じたと思われる。収穫した根茎の性状は全ての試験区で病害および薬害は認められなかった。細根の長さは4.3~5.3 cm、根茎の乾燥重量は0.0173~0.0243 gであり、各試験区の間で有意差は認められなかった(表1)。

これらの結果から、ロロックスによるケイリンサイシンの薬害は、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。従って薬害の指数は、秋1回処理区を「0」、

春1回処理区を「1」、秋春2回処理区を「1」と判定した。

2. ゲンチアナ栽培におけるロロックスおよびラウンドアップの除草効果

播種畝における雪溶けは2010年4月28日に完了し、ゲンチアナの発芽は2010年5月13日(除草剤処理後9日目)から認められ、その後、無処理区では順次発芽が進行した。

雑草発生状況調査の結果、無処理区における雑草としてスズメノカタビラ(イネ科)、オランダミミナグサ(ナデシコ科)およびノボロギク(キク科)の3種が出現した。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(調査の4日前に除草)では97%が抑制された(表3)。

生存するゲンチアナ株数を8月3日に調査した結果、無処理区に対して手除草区では約1.5倍の苗が生存していたが、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、極めて大きな影響がみられた(表3、図2)。

生育1年目の10月7日における、ゲンチアナ株の生育調査を行なった結果、草丈、根頭径、乾物重および0.24 m²当り総乾物重のすべてにおいて、手除草区が無処理区に比べて高く、一方、ラウンドアップ処理区では、上記生育形質のすべてにおいて無処理区に比べても低い結果となり、5月上旬の発芽前に処理したラウンドアップの影響は生育にも大きな抑制的な影響を与えることが明らかとなった(表4)。

D. 考察

1. ケイリンサイシン栽培におけるロロックスの除草効果

雑草調査および薬害の調査からロロックスの施用方法とその効果について、総合判定を行った結果、秋春2回処理区が「A1」、春1回処理区が「B0」、秋1回処理区が「D」と判定した。

実用性については、秋春2回処理法および春1回処理法が有望であると判断したが、本

試験結果のみでは、ロロックスの施用によるケイリンサイシンの発芽を抑制する可能性もあることから今後その実用性を検証する必要があると思われた。さらに、収穫した根茎部におけるロロックスの原体であるリニュロンの残留性を調査する必要があると思われた。

2. ゲンチアナ栽培におけるロロックスおよびラウンドアップの除草効果

元来、1年生イネ科雑草およびキク科を含む広葉雑草全般の発芽初期に殺草効果があるロロックスは、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、出芽前9日目処理したラウンドアップは、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、生存株の生育、特に根の肥大や乾物重を低下させることが判明した。

手除草区の生存株数や生存株の生育は、無処理区と比べて草丈、根頭径、乾物重および0.24m²当り総乾物重のすべてにおいて手除草区が無処理区に比べて明らかに優れ、発芽から7月下旬までの初期生育期(発芽後9週間)における除草の重要性が明らかとなった。

ラウンドアップは今後さらに、播種直後(秋)の処理など、処理時期を検討し再試験を行なう必要があると考えが、現在のところ除草剤として最も適用を受けやすく、また、適用雑草の種類も広汎にわたっていることから、当面の栽培においては、作付け前年に圃場にラウンドアップ処理を行って雑草の密度を減らしてから作付けをおこなう方法が望ましいと考えられる。また、本年得られた植物体中のサンプルにおけるラウンドアップの残留程度を調査しておく必要もあると考える。

E. 結論

現在、ケイリンサイシンおよびゲンチアナについては、除草剤を含め登録農薬がない。今後、これらの薬用植物の国内生産す

るためには、特に播種前後に散布できる除草剤の登録が必要である。そこで、除草剤散布除草効果および薬害等の基礎的な情報を得るために次の試験を実施した。

ケイリンサイシンにおける除草剤試験では、一般農作物で実績があり、薬用植物の栽培においてオウギやトウキで登録がある除草剤ロロックス水和剤を供試薬剤として試験した。

ケイリンサイシンの栽培におけるロロックス施用の実用性については、播種直後の秋とほう芽直前の春に2回処理する方法およびほう芽直前の春に1回処理する方法が有望であると判断したが、ロロックスの施用によるケイリンサイシンの発芽抑制の可能性もあることから、今後その実用性を検証する必要があると思われた。

ゲンチアナにおける除草剤試験では、「野菜」に大分類される作物に共通に使用可能なラウンドアップ液剤、および比較としてロロックスを用い、2つの無処理区(手除草、無処理)との雑草発生、ゲンチアナ生存および生育に及ぼす影響(薬害)について検討した。その結果、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、出芽前9日目処理したラウンドアップは、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、生存株の生育、特に根の肥大や乾物重を低下させることが判明し、今後、播種直後(秋)処理など、処理(散布)時期の再試験を行なう必要がある。また、ラウンドアップの残留性の確認も必要と考える。

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

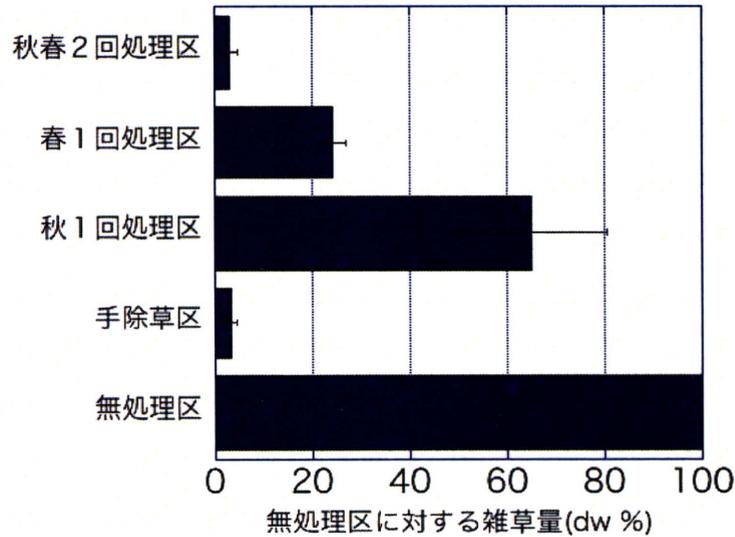


図1 無処理区に対する各試験区に発生した雑草の割合

表1 ロロックス施用によるケイリンサイシンへの影響

処理区	株数 (株)	根の性状		薬害指数
		根長 (cm)	乾燥重量 (g)	
無処理	26.5 ± 12.0 a	---	---	-
手除草	32.0 ± 0.0 a	5.3 ± 1.54 a	0.0215 ± 0.008 a	-
秋1回	27.0 ± 9.9 a	5.4 ± 1.99 a	0.0214 ± 0.008 a	0
春1回	14.5 ± 0.7 a	5.1 ± 1.99 a	0.0243 ± 0.012 a	1
秋・春2回	13.0 ± 2.8 a	4.3 ± 1.51 a	0.0173 ± 0.008 a	1

値は平均値±標準偏差。株数は2反復，その他10反復。

処理区間の比較はTukey-KramerのHSDで検定し，同じ文字でつながっていない水準は有意に異なる。

表2 ロロックスの各処理法における総合評価

処理区	雑草指数	薬害指数	評点	実用性の判定
秋1回処理	5	0	D	×
春1回処理	3	1	B0	○
秋春2回処理	1	1	A1	○