

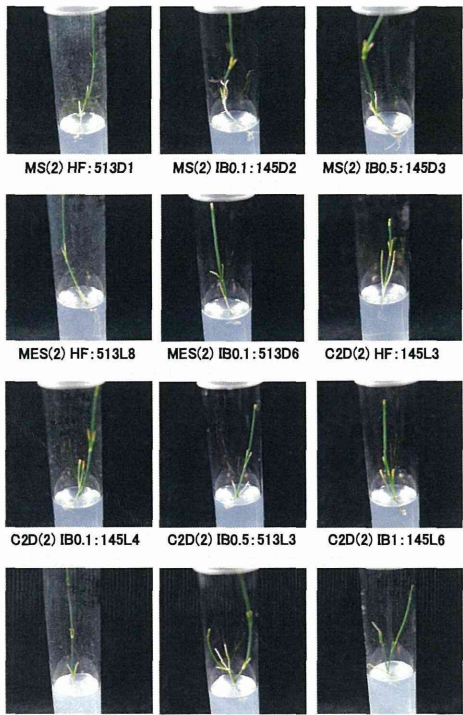
基本培地	IBA mg/l	本数	シュート数 <sup>*1</sup>	シュート長 cm <sup>*1</sup>	発根率	発根数 <sup>*1</sup>	カルス形成 <sup>*2</sup>
MS(2) <sup>*3</sup>	0	3	1.3±0.6	8.9±1.2	66.7%	3.0±1.4	-
	0.1	3	1.0±0.0	7.3±3.2	100.0%	3.0±1.0	-~ +
	0.5	3	1.7±1.2	8.8±8.0	100.0%	2.0±1.7	+~ +++
	1	3	1.0±0.0	5.5±4.8	0.0%	0.0	+++
MES(2) <sup>*4</sup>	0	3	1.0±0.0	9.8±1.9	100.0%	2.0±1.0	-
	0.1	2	2.0±1.4	5.3±2.5	100.0%	3.5±0.7	+
	0.5	2	1.5±0.7	10.2±7.6	0.0%	0.0	+~ +++
	1	2	1.0±0.0	7.2±4.2	0.0%	0.0	+++
C2D(2) <sup>*5</sup>	0	2	1.0±0.0	3.9±1.8	100.0%	1.5±0.7	-
	0.1	2	1.0±0.0	8.2±0.5	100.0%	3.5±0.7	+~ ++
	0.5	2	1.0±0.0	6.2±0.9	50.0%	2.0	+~ ++
	1	2	1.0±0.0	6.8±0.4	50.0%	2.0	+~ ++
DKW(2) <sup>*6</sup>	0	2	1.0±0.0	12.3±3.8	50.0%	3.0	-
	0.1	2	1.5±0.7	17.9±0.2	100.0%	3.5±0.7	+~ ++
	0.5	2	4.0±1.4	8.1±7.0	0.0%	0.0	+~ ++
	1	2	1.5±0.7	5.4±1.6	0.0%	0.0	+~ +++
基本培地	本数	シュート数 <sup>*1</sup>	シュート長 cm <sup>*1</sup>	発根率	発根数 <sup>*1</sup>	カルス形成 <sup>*2</sup>	
MS(2) <sup>*3</sup>	12	1.3±0.6	7.6±4.5	66.7%	2.6±1.3	-~ +++	
MES(2) <sup>*4</sup>	9	1.3±0.7	8.3±3.9	55.6%	2.6±1.1	-~ +++	
C2D(2) <sup>*5</sup>	8	1.0±0.0	6.2±1.8	75.0%	2.3±1.0	-~ ++	
DKW(2) <sup>*6</sup>	8	2.0±1.4	10.9±5.9	50.0%	3.3±0.5	-~ +++	

基本培地	本数	シュート数 <sup>*1</sup>	シュート長 cm <sup>*1</sup>	発根率	発根数 <sup>*1</sup>	カルス形成 <sup>*2</sup>
MS(2) <sup>*3</sup>	3	1.3±0.6	8.9±1.2	66.7%	3.0±1.4	-
MES(2) <sup>*4</sup>	2	2.0±1.4	5.3±2.5	100.0%	3.5±0.7	+
C2D(2) <sup>*5</sup>	2	1.0±0.0	8.2±0.5	100.0%	3.5±0.7	+~ ++
DKW(2) <sup>*6</sup>	2	1.5±0.7	17.9±0.2	100.0%	3.5±0.7	+~ ++

培養条件: 2節を含むシュート切片を各培地に植え付け, 23°C, 14時間照明(白色LED)下で46日間培養  
<sup>\*1</sup>: 平均±標準偏差  
<sup>\*2</sup>: - カルス未形成 + カルス形成が認められる ++ カルスの増殖が認められる  
+++ カルスの著しい増殖が認められる  
<sup>\*3</sup>: 2%ショ糖含有, Murashige and Skoog (MS)  
<sup>\*4</sup>: 2%ショ糖, 0.5 g/l MES含有MS  
<sup>\*5</sup>: 2%ショ糖含有, Choe & Pool (C2D) Vitis  
<sup>\*6</sup>: 2%ショ糖含有, DKW/Juglans



MS(2) HF: 513D1    MS(2) IB0.1: 145D2    MS(2) IB0.5: 145D3  
MES(2) HF: 513L8    MES(2) IB0.1: 513D6    C2D(2) HF: 145L3  
C2D(2) IB0.1: 145L4    C2D(2) IB0.5: 513L3    C2D(2) IB1: 145L6  
DKW(2) HF: 513L5    DKW(2) IB0.1: 611D2    DKW(2) IB1: 513L9

513D1: Darkで発芽したEs513実生クローン1(D1)  
以下同様

図7. シナマオウシュートの増殖と植物体再生 (培養46日後: 移植一代目, 培地別)



系統名	発芽条件 <sup>*1</sup>	本数	シュート数 <sup>*2</sup>	シュート長 cm <sup>*2</sup>	発根率	発根数 <sup>*2</sup>	カルス形成 <sup>*3</sup>
Es145	Dark	6	1.5±0.8	8.7±5.5	66.7%	3.0±1.4	-~ +++
	Light	6	1.2±0.4	5.9±1.6	50.0%	2.7±1.2	-~ +++
	全体	12	1.3±0.7	7.3±4.1	58.3%	2.9±1.2	-~ +++
Es513	Dark	8	1.3±0.7	9.0±3.5	62.5%	2.8±1.3	-~ +++
	Light	9	1.6±1.3	8.1±4.6	77.8%	2.7±1.0	-~ ++
	全体	17	1.4±1.1	8.5±4.0	70.6%	2.8±1.1	-~ +++
Es611	Dark	5	1.6±0.9	12.1±5.2	40.0%	2.5±0.7	-~ +++
	Light	3	1.0±0.0	3.8±1.5	66.7%	1.5±0.7	+~ +++
	全体	8	1.4±0.7	9.0±5.9	50.0%	2.0±0.8	-~ +++

培養条件: 2節を含むシュート切片を各培地に植え付け, 23°C, 14時間照明(白色LED)下で46日間培養  
<sup>\*1</sup>: Dark 23°C, 暗所 Light 23°C, 14時間照明(白色蛍光灯)  
<sup>\*2</sup>: 平均±標準偏差  
<sup>\*3</sup>: - カルス未形成 + カルス形成が認められる ++ カルスの増殖が認められる +++ カルスの著しい増殖が認められる

図8. シナマオウシュートの増殖と植物体再生 (培養46日後: 系統、発芽条件別)



基本培地	IBA mg/l	本数	シュート数 <sup>*1</sup>	シュート長 cm <sup>*1</sup>	発根率	発根数 <sup>*1</sup>	カルス形成 <sup>*2</sup>	
MS(2) <sup>*3</sup>	0	3	1.7±1.2	8.1±4.7	0.0%	0.0	-	
	0.1	3	2.3±2.3	5.1±3.4	66.7%	2.0±1.4	+	
	0.5	3	1.7±1.2	3.9±4.6	0.0%	0.0	-	
	1	3	1.0±0.0	3.5±3.0	66.7%	2.5±0.7	+	
MES(2) <sup>*4</sup>	0	3	1.0±0.0	9.4±7.9	0.0%	0.0	-	
	0.1	2	1.5±0.7	2.7±2.4	0.0%	0.0	-	
	0.5	2	1.0±0.0	15.4±10.7	100.0%	2.0±1.4	~ +	
	1	2	1.0±0.0	5.1±2.2	100.0%	2.0±0.0	+	
C2D(2) <sup>*5</sup>	0	2	1.5±0.7	2.2±1.3	0.0%	0.0	-	
	0.1	2	1.5±0.7	6.7±2.2	50.0%	8.0	-	
	0.5	2	1.0±0.0	4.8±1.1	50.0%	2.0	+	
	1	2	1.0±0.0	4.0±0.7	0.0%	0.0	+	
DKW(2) <sup>*6</sup>	0	2	3.5±0.7	10.1±3.4	0.0%	0.0	-	
	0.1	2	3.5±2.1	15.5±4.9	0.0%	0.0	-	
	0.5	3	1.7±1.2	6.4±0.2	0.0%	0.0	-	
	1	2	2.0±1.4	3.4±2.0	50.0%	1.0	+~ ++	
基本培地		本数	シュート数 <sup>*1</sup>	シュート長 cm <sup>*1</sup>	発根率	発根数 <sup>*1</sup>	カルス形成 <sup>*2</sup>	
MS(2) <sup>*3</sup>		12	1.7±1.3	5.2±3.9	33.3%	2.3±1.0	~ +	
MES(2) <sup>*4</sup>		9	1.1±0.3	8.3±7.4	44.4%	2.0±0.8	~ +	
C2D(2) <sup>*5</sup>		8	1.3±0.5	4.4±2.0	25.0%	5.0±4.2	~ +	
DKW(2) <sup>*6</sup>		8	2.6±1.4	8.6±5.1	11.1%	1.0	~ ++	

培養条件: 2節を含むシュート切片を各培地に植え付け, 23°C, 14時間照明(白色LED)下で59日間培養  
<sup>\*1</sup>: 平均±標準偏差  
<sup>\*2</sup>: - カルス未形成 + カルス形成が認められる ++ カルスの増殖が認められる  
+++ カルスの著しい増殖が認められる  
<sup>\*3</sup>: 2%シヨ糖含有, Murashige and Skoog (MS)  
<sup>\*4</sup>: 2%シヨ糖, 0.5 g/l MES含有MS  
<sup>\*5</sup>: 2%シヨ糖含有, Ché & Pool (C2D) Vitis  
<sup>\*6</sup>: 2%シヨ糖含有, DKW/Juglans

513D1: Darkで発芽したEs513実生クローン(D1) 以下同様

図9. シナマオウシュートの増殖と植物体再生 (培養59日後: 移植二代目、培地別)

系統名	発芽条件 <sup>*1</sup>	本数	シュート数 <sup>*2</sup>	シュート長 cm <sup>*2</sup>	発根率	発根数 <sup>*2</sup>	カルス形成 <sup>*3</sup>
Es145	Dark	6	1.0±0.0	7.7±7.3	33.3%	3.0±0.0	~ +
	Light	6	1.2±0.4	8.0±7.6	66.7%	3.3±3.2	~ +
	全体	12	1.1±0.3	7.8±7.1	50.0%	3.2±2.5	~ +
Es513	Dark	8	1.4±0.7	4.9±2.1	50.0%	2.0±0.8	~ +
	Light	9	1.9±1.4	6.2±3.6	10.0%	1.0	~ +
	全体	17	1.7±1.1	5.6±3.0	27.8%	1.8±0.8	~ +
Es611	Dark	5	2.6±1.1	8.1±6.5	0.0%	0.0	~ ++
	Light	3	2.3±2.3	4.4±4.2	0.0%	0.0	~ +
	全体	8	2.5±1.5	6.7±5.7	0.0%	0.0	~ ++

培養条件: 2節を含むシュート切片を各培地に植え付け, 23°C, 14時間照明(白色LED)下で59日間培養  
<sup>\*1</sup>: 平均±標準偏差  
<sup>\*2</sup>: 平均±標準偏差  
<sup>\*3</sup>: - カルス未形成 + カルス形成が認められる ++ カルスの増殖が認められる +++ カルスの著しい増殖が認められる

図10. シナマオウシュートの増殖と植物体再生 (培養59日後: 移植二代目、系統、発芽条件別)



前培地*1	本数	シュート数*2	シュート長 cm*2	発根率	発根数*2
MS(2)	2	1.5±0.7	3.6±1.3	0.0%	0.0
MS(2)IB0.1	7	5.4±3.3	13.9±11.4	14.3%	1.0
MES(2)IB0.5	2	1.0±0.0	4.5±4.5	0.0%	0.0
C2D(2)IB0.1	1	2.0	1.7	100.0%	1.0
DKW(2)	7	1.1±0.4	4.2±2.2	0.0%	0.0
DKW(2)IB0.1	6	2.0±0.9	8.1±10.3	16.7%	1.0
DKW(2)IB0.5	4	1.5±0.6	5.2±4.0	0.0%	0.0
全体	29	2.4±2.4	7.4±8.2	10.3%	1.0±0.0

\*1: MS(2) 2%シヨ糖含有Murashige and Skoog  
MES(2) 2%シヨ糖, 0.5 g/l MES含有MS  
C2D(2) 2%シヨ糖含有Chée & Pool (C2D) Vitis  
DKW(2) 2%シヨ糖含有DKW/Juglans  
IB0.1 IBA 0.1 mg/l含有  
IB0.5 IBA 0.5 mg/l含有

\*2: 平均±標準偏差  
培養条件: 2節を含むシュート切片を各培地に植え付け, 23°C, 14時間照明(白色LED)下で56日間培養

クローン	前培地*1	本数	シュート数*2	シュート長 cm*2	発根率	発根数*2
Es145D1	MS(2)	1	1.0	4.5	0.0%	0.0
Es145L1	MES(2)IB0.5	2	1.0±0.0	4.5±4.5	0.0%	0.0
Es145L4	C2D(2)IB0.1	1	2.0	1.7	100.0%	1.0
Es513L5	DKW(2)	3	1.0±0.0	5.7±2.6	0.0%	0.0
Es513L6	DKW(2)IB0.1	5	1.8±0.8	3.9±1.6	20.0%	1.0
Es513L7	DKW(2)IB0.5	3	1.3±0.6	3.2±0.2	0.0%	0.0
Es611D1	DKW(2)	4	1.3±0.5	3.1±1.1	0.0%	0.0
Es611D2	DKW(2)IB0.1	1	3.0	29.0	0.0%	0.0
Es611D3	DKW(2)IB0.5	1	2.0	11.2	0.0%	0.0
Es611D8	MS(2)	1	2.0	2.6	0.0%	0.0
Es611L1	MS(2)IB0.1	7	5.4±3.3	13.9±11.4	14.3%	1.0

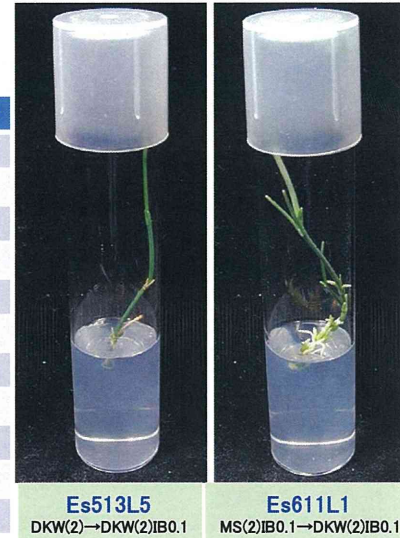


図11. シナマオウシュートの増殖と植物体再生 [シュート切片, 培養56日後: 移植三代目, 培地: DKW(2)IB0.1]

前培地*1	本数	シュート数*2	シュート長 cm*2	発根率	発根数*2
MS(2)IB0.1	1	2.0	1.2	0.0%	0.0
MES(2)IB0.5	1	6.0	7.0	0.0%	0.0
C2D(2)IB0.1	1	3.0	5.6	100.0%	1.0
DKW(2)	1	1.0	0.2	0.0%	0.0
DKW(2)IB0.1	5	5.6±2.1	6.1±5.2	0.0%	0.0
DKW(2)IB0.5	1	1.0	0.8	0.0%	0.0
全体	10	4.1±2.5	4.5±4.4	10.0%	1.0±0.0

クローン	前培地*1	本数	シュート数*2	シュート長 cm*2	発根率	発根数*2
Es145L1	MES(2)IB0.5	1	6.0	7.0	0.0%	0.0
Es145L4	C2D(2)IB0.1	1	3.0	5.6	100.0%	1.0
Es513L5	DKW(2)	1	1.0	0.2	0.0%	0.0
Es513L6	DKW(2)IB0.1	1	6.0	0.8	0.0%	0.0
Es611D2	DKW(2)IB0.1	4	4.4±3.2	5.9±5.4	25.0%	1.0
Es611D3	DKW(2)IB0.5	1	1.0	0.8	0.0%	0.0
Es611L1	MS(2)IB0.1	1	2.0	1.2	0.0%	0.0

\*1: MS(2) 2%シヨ糖含有Murashige and Skoog  
MES(2) 2%シヨ糖, 0.5 g/l MES含有MS  
C2D(2) 2%シヨ糖含有Chée & Pool (C2D) Vitis  
DKW(2) 2%シヨ糖含有DKW/Juglans  
IB0.1 IBA 0.1 mg/l含有  
IB0.5 IBA 0.5 mg/l含有

\*2: 平均±標準偏差(但しシュート長は茎切片からの長さを計測)  
培養条件: 2節を含む茎切片を各培地に植え付け, 23°C, 14時間照明(白色LED)下で56日間培養

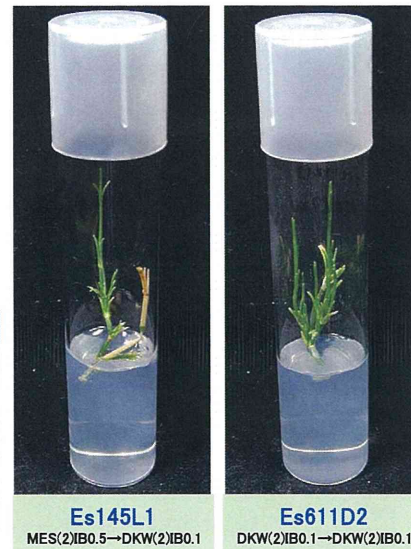


図12. シナマオウシュートの増殖と植物体再生 [茎切片, 培養56日後: 移植三代目, 培地: DKW(2)IB0.1]



クローン	培地*1	本数	シュート数*2	シュート長 cm*2	発根率	発根数*2
Es611D2	MS(1)IB0.1	3	1.0±0.0	17.2±4.9	66.7%	2.0±0.0
	MS(1)IB0.1+NaCl	3	1.3±0.6	10.1±2.1	33.3%	1.0
	MES(1)IB0.1	4	2.8±2.4	18.8±7.9	50.0%	1.5±0.7
	MES(1)IB0.1+NaCl	3	1.3±0.6	8.7±3.7	0.0%	0.0
	DKW(1)IB0.1	4	3.5±2.6	13.7±5.6	0.0%	0.0
Es611L1	MS(1)IB0.1	3	2.0±1.0	15.3±9.0	66.7%	1.5±0.7
	MS(1)IB0.1+NaCl	2	1.0±0.0	4.9±3.7	0.0%	0.0
	MES(1)IB0.1	3	1.7±1.2	5.6±3.0	33.3%	1.0
	MES(1)IB0.1+NaCl	2	2.5±2.1	6.1±6.9	0.0%	0.0
	DKW(1)IB0.1	3	2.7±0.6	18.6±11.1	33.3%	2.0
Es611D2 +Es611L1	MS(1)IB0.1	6	1.5±0.8	16.3±6.5	66.7%	1.8±0.5
	MS(1)IB0.1+NaCl	5	1.2±0.4	8.0±3.7	20.0%	1.0
	MES(1)IB0.1	7	2.3±1.9	13.1±9.2	42.9%	1.3±0.6
	MES(1)IB0.1+NaCl	5	1.8±1.3	7.7±4.6	0.0%	0.0
	DKW(1)IB0.1	7	3.1±2.0	15.8±8.0	14.3%	2.0



Es611D2  
MS(1)IB0.1



Es611D2  
MS(1)IB0.1+NaCl



Es611L1  
MES(1)IB0.1



Es611L1  
MES(1)IB0.1+NaCl

\*1: MS(1)IB0.1 1%シヨ糖, IBA 0.1 mg/l含有Murashige and Skoog  
 MS(1)IB0.1+NaCl 100 mM NaCl含有MS(1)IB0.1  
 MES(1)IB0.1 1%シヨ糖, 0.5 g/l MES, IBA 0.1 mg/l含有MS  
 MES(1)IB0.1+NaCl 100 mM NaCl含有MES(1)IB0.1  
 DKW(1)IB0.1 1%シヨ糖, IBA 0.1 mg/l含有DKW/Juglans

\*2: 平均±標準偏差

培養条件: 2節を含むシュート切片を各培地に植え付け, 23°C, 14時間照明(白色LED)下で43日間培養

図13. シナマオウシュートEs611D2及びEs611L1の増殖と生育に対するNaClの影響(シュート切片, 培養43日後)

クローン	培地*1	本数	シュート数*2	シュート長 cm*2	発根率	発根数*2
Es611D2	MS(1)IB0.1	2	2.5±0.7	2.7±0.8	50.0%	1.0
	MS(1)IB0.1+NaCl	1	2.0	9.0	0.0%	0.0
	MES(1)IB0.1	1	2.0	3.0	0.0%	0.0
	MES(1)IB0.1+NaCl	1	2.0	3.0	0.0%	0.0
	DKW(1)IB0.1	2	3.5±0.7	5.1±0.8	0.0%	0.0
Es611L1	MS(1)IB0.1	3	3.0±1.0	7.3±8.1	0.0%	0.0
	MS(1)IB0.1+NaCl	3	2.3±2.3	2.1±2.9	0.0%	0.0
	MES(1)IB0.1	3	2.3±1.2	5.6±7.3	66.7%	1.5±0.7
	MES(1)IB0.1+NaCl	3	2.0±1.0	3.7±5.5	0.0%	0.0
	DKW(1)IB0.1	3	2.3±1.5	6.2±7.6	33.3%	1.0
Es611D2 +Es611L1	MS(1)IB0.1	5	2.8±0.8	5.4±6.3	20.0%	1.0
	MS(1)IB0.1+NaCl	3	2.3±2.3	2.1±2.9	0.0%	0.0
	MES(1)IB0.1	4	2.3±1.0	6.5±6.2	50.0%	1.5±0.7
	MES(1)IB0.1+NaCl	4	2.0±0.8	3.5±4.5	0.0%	0.0
	DKW(1)IB0.1	5	2.8±1.3	5.8±5.4	20.0%	1.0

\*1: MS(1)IB0.1 1%シヨ糖, IBA 0.1 mg/l含有Murashige and Skoog  
 MS(1)IB0.1+NaCl 100 mM NaCl含有MS(1)IB0.1  
 MES(1)IB0.1 1%シヨ糖, 0.5 g/l MES, IBA 0.1 mg/l含有MS  
 MES(1)IB0.1+NaCl 100 mM NaCl含有MES(1)IB0.1  
 DKW(1)IB0.1 1%シヨ糖, IBA 0.1 mg/l含有DKW/Juglans

\*2: 平均±標準偏差(但し、シュート長は茎切片からの長さを計測)

培養条件: 2節を含む茎切片を各培地に植え付け, 23°C, 14時間照明(白色LED)下で43日間培養



Es611D2  
MS(1)IB0.1



Es611D2  
MS(1)IB0.1+NaCl



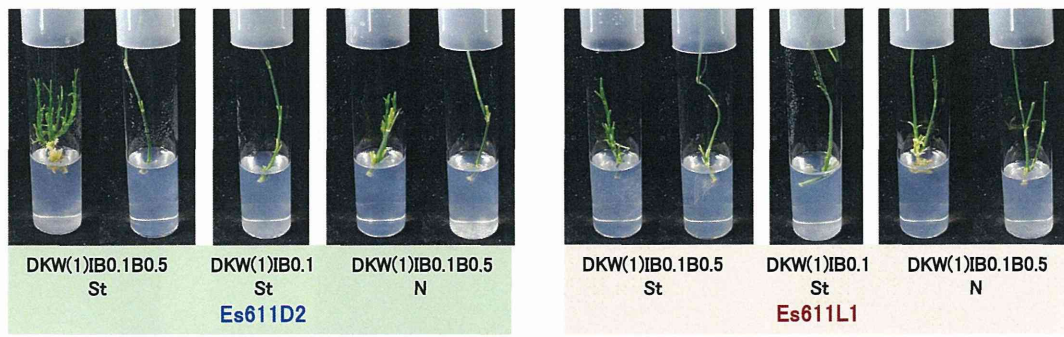
Es611L1  
MES(1)IB0.1



Es611L1  
MES(1)IB0.1+NaCl

図14. シナマオウシュートEs611D2及びEs611L1の増殖と生育に対するNaClの影響(茎切片, 培養43日後)





クローン	培地*1	植付け片*2	本数	シュート数*3	シュート長 cm*3
Es611D2	DKW(1)IB0.1B0.5	St	10	2.7±2.9	12.7±10.7
	DKW(1)IB0.1	St	2	1.0±0.0	17.3±3.2
Es611L1	DKW(1)IB0.1B0.5	St	9	2.3±1.5	12.7±9.0
	DKW(1)IB0.1	St	1	4.0	26.5
Es611D2+Es611L1	DKW(1)IB0.1B0.5	St	19	2.5±2.3	12.7±9.7
	DKW(1)IB0.1	St	3	2.0±1.7	20.3±5.8
Es611D2	DKW(1)IB0.1B0.5	N	9	2.2±1.2	3.9±5.5
Es611L1	DKW(1)IB0.1B0.5	N	9	2.0±0.7	5.4±9.3
Es611D2+Es611L1	DKW(1)IB0.1B0.5	N	18	2.1±1.0	4.7±7.4

\*1 DKW(1)IB0.1B0.5:1%ショ糖, IBA 0.1 mg/l, BA 0.5 mg/l含有DKW/Juglans  
 DKW(1)IB0.1:1%ショ糖, IBA 0.1 mg/l含有DKW/Juglans  
 \*2 St:2節を含むシュート切片, N:2節を含む茎切片  
 \*3 平均±標準偏差(但し、シュート長は茎切片からの長さを計測)  
 培養条件:各切片を各培地に植え付け、23°C、14時間照明(白色LED)下で42日間培養

図15. シナマオウシュートEs611D2及びEs611L1の増殖と生育に対するサイトカイニンの効果(培養42日後)

クローン	切片*1	本数	シュート数*2	シュート長 cm*2	発根率	発根数*2	備考
Es145L1	St	8	2.3±1.0	11.6±5.5	0.0%	0.0	継代培養中
	N	2	2.5±0.7	8.3±0.4	0.0%	0.0	
Es145L4	St	1	3.0	5.3	0.0%	0.0	継代培養中
	N	1	3.0	1.2	0.0%	0.0	
Es513D1	St	3	1.0±0.0	3.3±0.9	0.0%	0.0	枯死
Es513D3	St	4	5.0±3.3	4.9±2.2	0.0%	0.0	継代培養中
	N	3	2.7±0.6	5.3±0.7	0.0%	0.0	
Es513L5	St	3	2.0±1.0	10.2±4.1	0.0%	0.0	継代培養中
	N	1	2.0	0.7	0.0%	0.0	
Es513L6	St	4	1.8±1.0	11.1±6.0	50.0%	1.5±0.7	継代培養中
	N	1	1.0	9.0	0.0%	0.0	
Es513L7	St	3	1.7±0.6	13.1±2.5	0.0%	0.0	継代培養中
	N	3	2.3±0.6	4.8±0.5	33.3%	2.0	
Es611D2	St	7	3.3±2.4	13.2±7.7	0.0%	0.0	枯死
Es611D2	N	11	2.8±1.1	3.9±2.8	0.0%	0.0	枯死
Es611D3	St	7	2.7±1.7	10.1±3.8	0.0%	0.0	継代培養中
	N	1	1.0	7.4	0.0%	0.0	
Es611D4	St	1	5.0	5.1	0.0%	0.0	継代培養中
	N	1	4.0	3.7	100.0%	1.0	
Es611L1	St	12	2.0±1.2	14.2±9.1	8.3%	2.0	継代培養中
	N	8	2.5±1.6	4.3±5.1	100.0%	0.0	

\*1 St:2節を含むシュート切片  
 N:2節を含む茎切片  
 \*2 平均±標準偏差(但し、シュート長は茎切片からの長さを計測)  
 培養条件:各切片をDKW(1)IB0.1に植え付け、23°C、14時間照明(白色LED)下で32日間培養

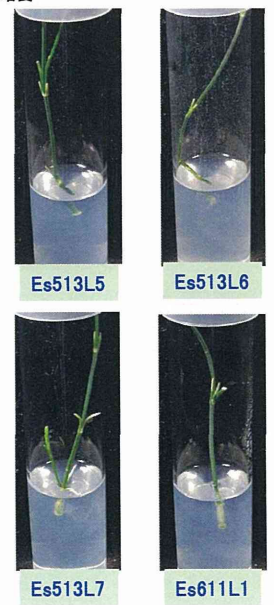
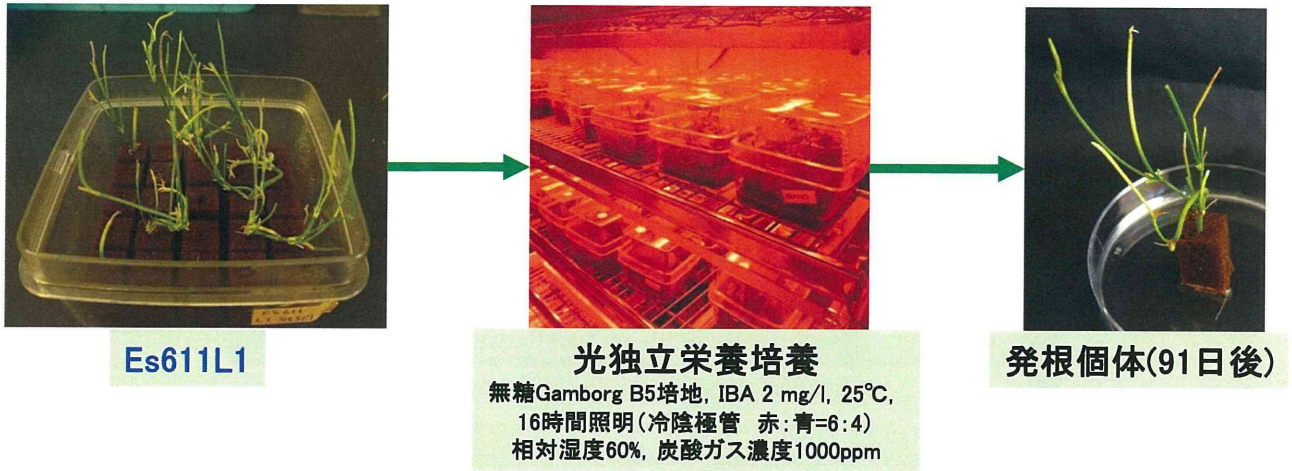


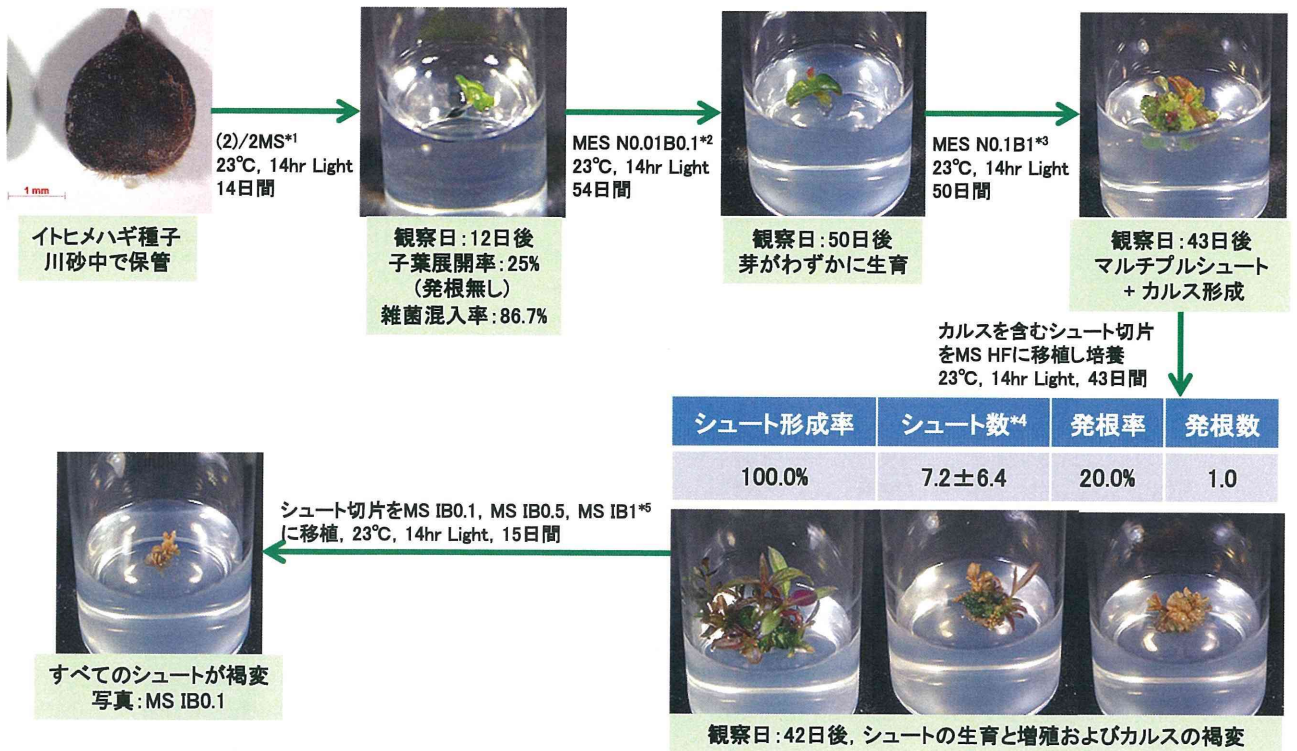
図16. DKW(1)IB0.1で継代培養したシナマオウ各クローンの増殖、生育及び植物体再生(培養32日後)





クローン	挿し穂数	発根数	発根率
Es611L1	22	8	36.4%

図17. 光独立栄養培養によるEs611L1の発根と挿し木苗の育成



\*1 ショ糖2%含有, 1/2MS固形培地  
 \*2 ショ糖3%, MES 0.5 g/l, NAA 0.01 mg/l, BA 0.1 mg/l含有MS固形培地  
 \*3 ショ糖3%, MES 0.5 g/l, NAA 0.1 mg/l, BA 1 mg/l含有MS固形培地  
 \*4 平均±標準偏差  
 \*5 MS IB 0.1, IMS B0.5, MS IB1:それぞれIBA 0.1, 0.5, 1 mg/l添加MS固形培地

図18. イトヒメハギ種子の発芽と培養 (1回目)



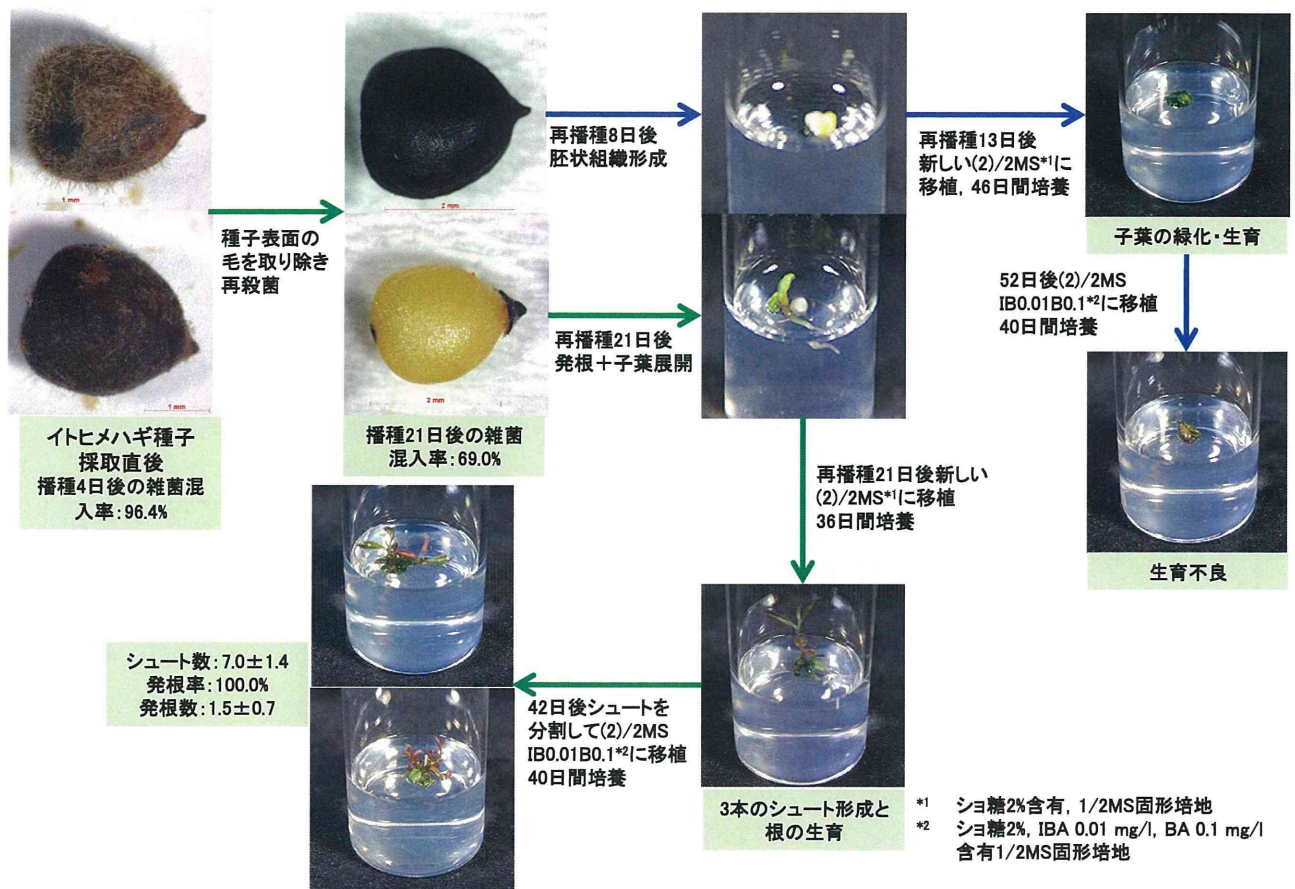


図19. イトヒメハギ種子の発芽と培養 (2回目)



平成24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

研究分担者 菱田 敦之 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 研究フリーダー  
研究協力者 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 研究員

**要旨** カノコソウ栽培における登録農薬除草剤の適用拡大のため、ロロックス水和剤、トレファノサイド乳剤およびレナパック水和剤3種の土壌処理型除草剤の効果、薬害、一部の薬剤について残留値を試験した。除草（抑草）は、レナパック2回処理（雑草の発生程度：6%）が手除草と同等であり、次にロロックス2回処理（20.9%）、トレファノサイド2回処理（21.0%）、トレファノサイド1回処理（31.5%）であった。レナパック水和剤の残留値は、レナパック1回処理のクロリダゾンの残留値が0.01～0.02ppm、2回処理では0.03～0.04ppmであった。この値は、野菜類の残留基準値以下であった。なおレナシルは何れの試験区でも検出されなかった。試験結果を踏まえて、除草効果、薬害の程度および農薬の残留性からレナパック水和剤がカノコソウの除草剤に適していると判断したが、平成25年度からレナパック水和剤をカノコソウ（野菜類）に適用する場合の残留基準値が0.01ppm（一律基準）に変更になるとのことであり、北海道、生産者協議会（名寄市）等と協議して候補薬剤をトレファノサイド乳剤とした。

#### 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。

平成24年度の研究では、カノコソウ栽培に適した除草剤のスクリーニング試験を実施した。カノコソウは、その根と根



茎が生薬「吉草根」として利用され市販薬の原料となっている。吉草根は、事実上、国産品しか利用できず、近年、その主産地である北海道では不作が続く、深刻な原料不足になっている。生産を阻む要因の1つとし除草作業があり、多くの生産者からカノコソウへの登録農薬（除草剤）の適用拡大が望まれている。

## B. 研究方法

**供試材料：**カノコソウ（北海吉草）  
*Valeriana fauriei* Briq.

**定植日：**2011年10月5日。**栽植密度：**畝幅 60 cm X 株間 25 cm。**施肥方法：**基肥堆肥 2,000kg/10a, 炭カル 100 kg/10a, 化成 S121 50 kg/10a, IB 化成 50 kg/10a

### 除草剤試験方法：

**薬剤処理日：**2011年11月4日（秋処理）、2012年5月8日（春処理）。

### 使用薬剤と施用量：

薬剤1（土壌処理剤）	ロロックス (100g/10a)
薬剤2（土壌処理剤）	トレファノサイド乳剤 (300 mL/10a)
薬剤3（土壌処理剤）	レナバック水和剤 (200g/10a)

### 試験区の設定：

試験区面積：1区当り 8.1 m<sup>2</sup> (1.8 m x 4.5 m)

- ・無処理区 除草処理を行わない。
- ・手除草区 適宜、手除草を行った。
- ・秋春処理区 土壌処理を秋、春に各1回処理した。
- ・春処理区 土壌処理を春に1回処理した。
- ・茎葉処理区 茎葉処理剤を雑草生育期に処理した。

\*試験は野菜・花き除草剤試験実施基準（平成12年改訂）に準じた。

### 調査と収穫：

雑草調査は、6月12、13日に実施し、各処理区の任意の箇所について発生した雑草の種類、本数及び乾燥重量を測定し

た。薬害の調査は、6月に地上部の状態を調査する。さらに、9月25日に根茎を収穫して乾燥し、収量を測定した。

残留農薬の調査収量調査に用いた根茎の一部は、薬剤の残留濃度を測定した。

## C. 研究結果

1) 除草（抑草）は、レナバック2回処理（雑草の発生程度：6%）が手除草と同等であり、次にロロックス2回処理（20.9%）、トレファノサイド2回処理（21.0%）、トレファノサイド1回処理（31.5%）であった（図1～3、表1）。

2) 薬害については、各除草剤の施用区において薬剤の影響による萎縮、黄変、褐変および枯死は認められなかった（図4～6）。収量調査において無処理区が153.7g/m<sup>2</sup>、手除草区が143.0g/m<sup>2</sup>であり、各処理区では87.9～149.8g/m<sup>2</sup>の範囲にあることから、薬害による収量減少は認められないと判断した（図7）。

3) 除草剤レナバックを施用した試験区の薬剤残留値は、レナバック1回処理のクロリダゾンの残留値が0.01～0.02ppm、2回処理では0.03～0.04ppmであった。この値は、野菜類の残留基準値以下であった。なおレナシルは何れの試験区でも検出されなかった。

## D. 考察

北海道研究部の所在地（北海道名寄市）の上川北部地域では、イネ科雑草のスズメノカタビラが春の主な雑草である。スズメノカタビラは、春に発芽して発生する他、秋に発芽して越冬する性質もあり、発芽して越冬した株は、春に土壌処理型除草剤を施用してもほとんど枯死しない。

ロロックス水和剤、トレファノサイド乳剤およびレナバック水和剤3種の土壌処理型除草剤は、圃場10aあたりに100Lの液量を散布すると土壌表土から深さ1cm程度に浸透し、その範囲にある雑草等の種子の発芽を抑制する。

本年度の試験結果から、各薬剤に共通

して秋に定植した後施用する秋処理と春に萌芽前施用する春処理を組み合わせた秋春2回処理の抑草効果が高く、特にレナパック秋春2回処理の抑草効果が極めて高かった。これは、春1回処理では、秋に発芽して越冬する雑草を抑草することができず、秋春2回処理によって、秋および春に発芽する雑草の発芽を防ぐことに起因する。さらに、レナパック水和剤は、茎葉処理剤（生育中の雑草に薬剤が付着して枯死させる）の効果があり、薬剤の施用前に発芽した雑草を枯死させたことが推察され、高い抑草効果が示されたと思われる。3番目に効果が高かったトレファノサイド乳剤の春1回処理は、この薬剤が主にイネ科雑草に対する効果が高いことに起因すると思われた。

試験結果を踏まえて、除草効果、薬害の程度および農薬の残留性からレナパック水和剤がカノコソウの除草剤に適していると判断した。そこで、カノコソウへのレナパック水和剤の適用拡大を行うため、北海道が実施しているマイナー作物登録農薬の適用拡大事業を利用して北海道から独立行政法人農林水産消費安全技術センター（FAMIC）に照会したところ、平成25年度からレナパック水和剤の原体（薬剤）の「その他野菜類」の残留基準値が一律基準（0.01ppm）に変更されることが判明した。

本年度の試験結果では原体の1つであるクロリダゾンの残留値は0.01～0.04ppmであることから、カノコソウ栽培におけるレナパック水和剤の使用は、残留基準値を満たすことができないと思われた。

カノコソウへの登録農薬（除草剤）の適用拡大については、生産者協議会（名寄市）北海道および農薬メーカーと協議した結果、平成25年度からトレファノサイド乳剤を候補薬剤として適用拡大のための試験を実施することになり、引き続き独立行政法人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も試験の実

施協力を行う予定である。

## E. 結論

カノコソウ栽培における登録農薬除草剤の適用拡大のため、ロロックス水和剤、トレファノサイド乳剤およびレナパック水和剤3種の土壌処理型除草剤の効果、薬害、一部の薬剤について残留値などの基礎的な試験を行った。各薬剤に共通して秋に定植した後施用する秋処理と春に萌芽前施用する春処理を組み合わせた秋春2回処理の抑草効果が高く、特にレナパック秋春2回処理の抑草効果が極めて高かった。レナパック水和剤の残留値は、レナパック1回処理のクロリダゾンの残留値が0.01～0.02ppm、2回処理では0.03～0.04ppmであった。この値は、野菜類の残留基準値以下であった。なおレナシルは何れの試験区でも検出されなかった。

試験結果を踏まえて、除草効果、薬害の程度および農薬の残留性からレナパック水和剤がカノコソウの除草剤に適していると判断したが、平成25年度からレナパック水和剤をカノコソウ（野菜類）に適用する場合の残留基準値が0.01ppm（一律基準）に変更になるとのを受け、北海道、生産者協議会（名寄市）等と協議して候補薬剤をトレファノサイド乳剤とした。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 菱田敦之：アルテミシニンの生産を目的としたクソニンジン栽培、道薬誌、29（2）、17-20（2012）。
- 2) 生薬「吉草根」の生産とその課題、道薬誌、29（4）、25-28（2012）。
- 3) 生薬「半夏」の生産とその課題、道薬誌、29（6）、23-26（2012）。

### 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





① 無処理区の一例



③ ロロックス春1回処理の一例



② 手除草区の一例



④ ロロックス秋春2回処理の一例

図1 カノコソウ栽培におけるロロックス散布の除草効果と薬害の程度(2012年6月11日)



① 無処理区の一例



③ トレファノサイド春1回処理の一例



② 手除草区の一例



④ トレファノサイド秋春2回処理の一例

図2 カノコソウ栽培におけるトレファノサイド散布の除草効果と薬害の程度(2012年6月11日)





① 無処理区の一例



③ レナパック春1回処理の一例



② 手除草区の一例



④ レナパック秋春2回処理の一例

図3 カノコソウ栽培におけるレナパック散布の除草効果と薬害の程度(2012年6月11日)



① 無処理区の一例



③ ロロックス春1回処理の一例



② 手除草区の一例



④ ロロックス秋春2回処理の一例

図4 カノコソウ栽培におけるロロックス散布の薬害の程度(2012年9月24日)





① 無処理区の一例



③ トレファノサイド春1回処理の一例



② 手除草区の一例



④ トレファノサイド秋春2回処理の一例

図5 カノコソウ栽培におけるトレファノサイド散布の薬害の程度(2012年9月24日)



① 無処理区の一例



③ レナバック春1回処理の一例



② 手除草区の一例



④ レナバック秋春2回処理の一例

図6 カノコソウ栽培におけるレナバック散布の薬害の程度(2012年9月24日)



表1 カノコソウの除草剤試験における雑草調査

薬剤名	施用回数	株数	薬害	調査面積	雑草										総計		発生の程度 (%)	発生の程度 平均 (%)	
					イネ科雑草		非イネ科雑草				その他		1㎡当たり						
					スズメカビラ	ハコベ	オランダミナグサ	ノロキク	種類	発生数, 重量	発生数, 重量	発生数, 重量							
無処理	(1)	14	無	0.6	858	18.69	15	0.3047					マメ科	2	0.0079	1458.3	31.67	100.0	100.0
	(2)	16	無	0.6	1000	21.55	3	0.0432					ナデシコ科	1	0.005	1673.3	36.00		
手除草	(1)	16	無	0.6	174	0.73										290.0	1.22	3.6	7.7
	(2)	15	無	0.6	210	2.38										350.0	3.97	11.7	
ロロックス 100g/10a	春1回(1)	14	無	0.6	1125	8.20				1	0.0012					1876.7	13.67	40.4	58.9
	春1回(2)	13	無	1.2	1469	31.38						キク科	1	0.0149	1225.0	26.16	77.3		
	秋春2回(1)	15	無	0.6	325	6.01	1	0.0047							543.3	10.02	29.6	20.9	
	秋春2回(2)	14	無	0.6	300	2.45	1	0.0027			1	0.004			503.3	4.09	12.1		
トレフアノサイド 300 mL/10a	春1回(1)	15	無	0.6	408	6.11					2	0.0888			683.3	10.33	30.5	31.5	
	春1回(2)	15	無	0.6	1305	6.56	3	0.0167				キク科	1		2181.7	10.96	32.4		
	秋春2回(1)	15	無	0.6	140	3.69						キク科	1	0.0031	235.0	6.16	18.2	21.0	
	秋春2回(2)	14	無	0.6	52	4.83					1	0.0044	ナズナ	1	0.0109	90.0	8.06	23.8	
レナパック 200g/10a	春1回(1)	15	無	0.6	730	12.39	1	0.0282			1	0.006	セイヨウタンポポ	1	0.0106	1221.7	20.72	61.3	50.2
	春1回(2)	16	無	0.6	643	7.65						キク科	1	0.2826	1073.3	13.22	39.1		
	秋春2回(1)	16	無	0.6	26	1.07									43.3	1.78	5.3	6.0	
	秋春2回(2)	13	無	0.6	38	4.02									63.3	6.70	6.7		

調査日:2012年6月12, 13日. 調査面積,株数 4.5 m<sup>2</sup>. 雑草 0.6 m<sup>2</sup>

雑草調査は, 各試験区8.1㎡(1.8x4.5m)より, 雑草の発生が平均的な箇所0.6㎡(0.6x1m)を調査した.



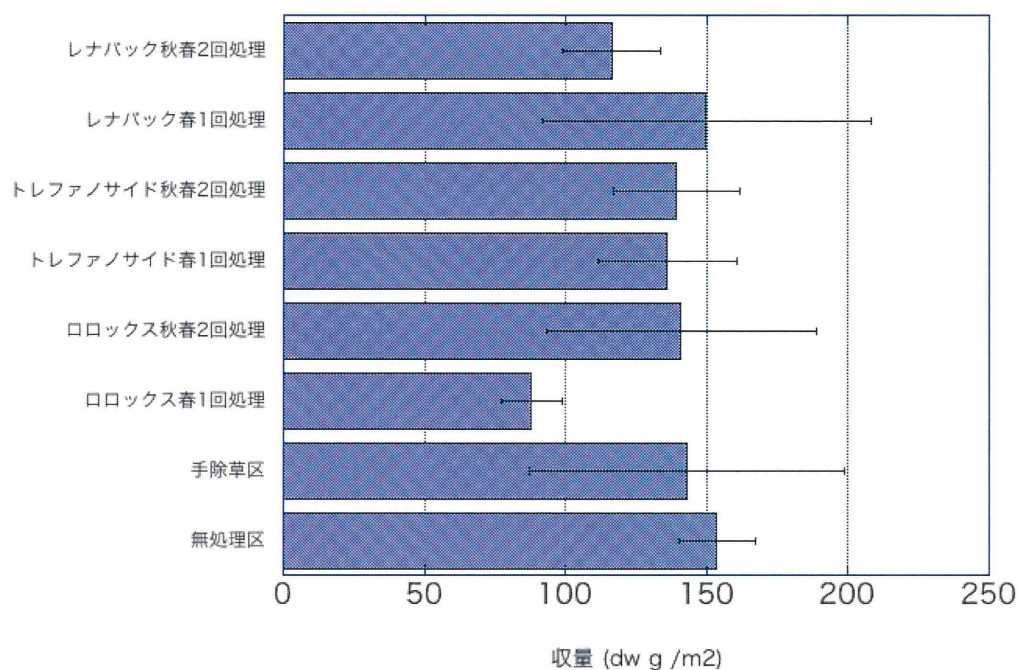


図7 無処理区および各除草剤処理区の根茎部の根茎部の収量

表2 除草剤レナバックを施用した収穫物の農薬の残留値

試験区名	クロリダゾンの 残留値(ppm)	レナシルの 残留値(ppm)
無処理区(1)	ND	ND
無処理区(2)	ND	ND
レナバック春1回処理(1)	0.01	ND
レナバック春1回処理(2)	0.02	ND
レナバック秋春2回処理(1)	0.04	ND
レナバック秋春2回処理(2)	0.03	ND
野菜類の残留基準値	0.1	0.3

クロリダゾンは、LC-MS法により測定した。検出限界は、0.01 ppm.

レナシルは、GC-MS法により測定した。検出限界は、0.01 ppm.

野菜類の残留基準値は、2013年1月30日現在の値.

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

#### 原著論文

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻, 号	ページ	出版年
菱田敦之	アルテミシニンの生産を目的としたクソニンジンの栽培	道薬誌	29 (2)	17-20	2012
菱田敦之	生薬「吉草根」の生産とその課題	道薬誌	29 (4)	25-28	2012
菱田敦之	生薬「半夏」の生産とその課題	道薬誌	29 (6)	23-26	2012
菱田敦之	薬用植物の栽培と今後の展望	農家の友	64 (12)	22-25	2012
吉松嘉代	薬用植物組織培養物コレクションについて	日経バイオテクオンライン Green Innovation	219		2012
吉松嘉代、 河野徳昭、 乾 貴幸	植物工場での甘草栽培に適したウラルカンゾウの選抜と育成	ブレインテク ノニュース	149	1-9	2012
吉松嘉代	甘草の水耕栽培 薬用植物資源の保護と確保	ファルマシア	49	141-146	2013
吉松嘉代	植物工場における薬用植物優良苗の育成と生産	SHITA REPORT	30	13-21	2013
林 茂樹	甘草の栽培について (前編)	道薬誌	30 (2)	17-19	2013



