

平成26年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）  
人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化に向けた  
実証的研究（H24-創薬総合-一般-007）  
分担研究報告書

分担研究課題：人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方原料生薬の実用化  
に向けた実証的研究

－人工水耕栽培システムにより生産したカンゾウ苗の圃場栽培試験  
（圃場定植2年目）－

研究分担者 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 育種生理研究室長

要旨 人工水耕栽培システムにより生産した、ウラルカンゾウのグリチルリチン酸（GL）高含量株（GuIV1、GuIV2、Gu#11）の挿し木苗の圃場栽培を行った。GLを定量した結果、定植後2年目11月時点でGuIV1、Gu#11が平均2.5%以上を示し、高含量の性質が圃場栽培でも再現されていた。しかし定植2年目に年間を通して出芽しない個体があった他に、生育や含量のばらつきも大きく、今後安定した苗大量生産方法および栽培体系の改良が課題であると考えられた。

#### 研究協力者

吉岡拓磨 東京生薬協会  
武田修己 同  
乾 貴幸（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 特任研究員  
河野徳昭 同 筑波研究部 主任研究員

#### A. 研究目的

人工水耕栽培システムにより生産した、ウラルカンゾウのグリチルリチン酸（GL）高含量株3種（GuIV1、GuIV2、Gu#11）の挿し木苗について、圃場栽培を組み合わせることにより、従来の植物工場による栽培法に比べて、安価で汎用性の高い栽培法（ハイブリッド栽培）について検証した。今年度は、水耕栽培した挿し木苗の圃場定植後2年目の個体の評価を行った。

#### B. 研究方法

##### 1. 材料

（独）医薬基盤研究所 薬用植物資源センター保有ウラルカンゾウ高含量株3種（*Glycyrrhiza uralensis* GuIV1、GuIV2、Gu#11）圃場2年目を用いた。なお3株の1年目（2013年11月）に収穫した個体の根のGL含量はGuIV1:1.84±0.42%（最大値2.28%）、GuIV2が1.53±0.39%（最大値2.09%）、Gu#11が2.29%であった。

##### 2. 2年目圃場栽培条件

圃場栽培試験は茨城県稲敷郡にて行った。2013年4月25日に定植した。各株の1年目（2013年9月24日）の生存個体数はGuIV1:14個体、GuIV2:33個体、Gu#11:2個体であった。

### (1) 追肥

2014年4月2日に緩行性化成肥料 IBS1号 (N:P:K:Mg=10:10:10:1) を40kg/10a、2014年7月8日および10月3日にMMB 燐加安14号 (N:P:K:Mg:Mn:B=14:10:13:3:0.38:0.18) を40kg/10a 施肥した。

### (2) 収穫

2014年6月3日、7月8日、11月8日に株ごとに収穫した。

### (3) その他栽培管理

除草、中耕は適宜行った。

## 3. 形質調査項目

### (1) 生育期

出芽後に生存株数及び、越冬率（前年度生存株数に対する今年度生存株数）を調査した。

### (2) 収穫物形質

各時期の収穫後、ストロン発生の有無を観察した。その後根頭部及びストロンを切除した根を50℃で2日間乾燥を行ない、根の乾燥重、最大径、GL含量を測定した。

### (3) GL 含量

収穫後、直ちに個体別に根を細かく裁断し、50℃で1日間追加乾燥、その後ロッドミルで粉砕を行ない、GL含量を定量した。

定量は以下に示す日本薬局方（日局）カンゾウ定量法の2分の1スケールにて実施した。すなわち、粉末約0.25gを精密に量り、共栓遠心沈殿管に入れ、希エタノール35mLを加えて15分間振り混ぜ、遠心分離し、上澄液を分取した。残留物は更にエタノール12.5mLを加え、同様に操作した。全抽出液を合わせ、希エタノールを加えて正確に50mLとし試料溶液とした。

定量値の算出には乾燥減量値（各々について約2gもしくはそれに満たない試料については全量を用い、日局〈5.01 生薬試験法〉に準じて測定）を用いて換算した。

分析機器：Agilent 1200 (Agilent), フォトダイオードアレイ検出器：G1315B (Agilent), カラム：TSKGEL ODS-80Ts 5  $\mu$ m, 4.6mm $\times$ 250mm (Tosoh), カラム温度：20℃, 流速：1.0mL/min, 移動相：薄めた酢酸(31) (1 $\rightarrow$ 15)/アセトニトリル混液(3:2), 標準化合物：日局標準品 GL標準品

### (4) 統計処理

エクセルを用いてt検定を行った。

## C. 研究結果

### (1) 出芽数

出芽は5月初～中旬頃から見られ始めた。しかし定植2年目は、生育期間を通して出芽しない個体があった（表1）。これらの根の切面は黄色のままであり、枯死せず生存していると推定された。

### (2) 越冬率

出芽しないものも含めて各株の越冬率は、GuIV1:71.4%、GuIV2:69.7%、Gu#11:100%であった（表1）。

### (3) 収穫物の形質

形質ごとの測定値を表2に示した。出芽の有無によらず、どの形質でもばらつきは大きかった。ストロンは出芽した個体でのみ見られた。

### (4) 時期別 GL 含量

個体別 GL 含量および株平均含量について表2に示した。すべての株で11月収穫品のGL含量が最も高い傾向にあった。各株の11月GL含量はGuIV1:2.92 $\pm$ 0.90%(最大3.70%)、GuIV2:2.23 $\pm$ 0.55%(最大3.06%)、Gu#11:2.76 $\pm$ 0.32%(最大3.01%)であり、ばらつきが大きかった。また11月に収穫した18個体中8個体がGL含量2.5%以上を示した。

### (5) 11月収穫品における出芽の有無とGL含量の関係

各株について、出芽が無い場合でも根のGL含量が2.5%以上を示すものがあり（表1）、

また各株の平均 GL 含量は、栽培 1 年目より増加していた。出芽の有無と GL 含量の関係性は、今回の結果からは見出だせなかった(図 1)。

(6) 11 月収穫品におけるストロンの有無と GL 含量の関係

11 月収穫品で出芽した 7 個体(GuIV1 と GuIV2 系統混合)について、ストロンが形成した個体は 5%水準で有意に GL 含量が増加していた (t 検定  $p=0.03$ )。

#### D. 考察

##### (1) 出芽について

圃場栽培 2 年目では生存しているが、出芽しない個体が確認された。出芽しなかった要因として、前年度から今春にかけて土中で芽が形成されなかったことが可能性として考えられた。

今回地上茎挿し木苗は、ストロンを抑制し GL 含量を増加させることを目的としており、苗の腋芽部分を地上に出して定植を行った。しかし 1 年目冬季に地上部が枯れた後、苗は新芽形成ができない状態にあり、これが今回の不出芽の原因であると考えられた。

これより今年出芽した個体は①前年度定植時に腋芽が覆土されストロンが発生していた、もしくは②前年の生育期間中に中耕などの要因で腋芽部分が覆土されたなど、冬季に芽の部分が土中で形成できた個体である可能性が考えられた。

##### (2) GL 含量について

圃場栽培 2 年目の各株の GL 含量は、年間を通じて 11 月収穫品が高い値を示した。これにより茨城県での栽培では秋季の収穫が良い可能性が考えられた。

また GuIV1 や Gu#11 の 11 月収穫品の GL 含量は、日本薬局方の GL の規格値 2.5%以上を示した。GuIV2 においても平均 GL 含量が 2.0%を超えていることから、3 株とも圃場において高含量性が再現されているものと考えられた(表 2)。

ただし、遺伝的に均一なクローン苗である

が、GL 含量は安定していなかった。これは育苗期間の違いや、圃場に定植し活着までの期間がばらついていたりなど、環境要因に影響されていることが考えられた。このため安定的に高 GL 含量確保を行うためには、一度に多量の苗生産を行い、苗を安定化させること、本試験開始時のような低い活着率(3割程度)を改善するなどの必要があると考えられた。

##### (3) 栽培方法について

昨年度、圃場栽培 1 年目の GL 含量が 2.5%以下であったため、ハイブリッド栽培においても 2 年以上の栽培期間が必要であると考えられた。

今回の出芽の有無や GL 含量の結果から、ハイブリッド栽培方法として 2 つの栽培体系が考えられた。一つは栽培 2 年目に出芽させない状態を続け圃場を管理する方法、二つ目は 1 年目栽培後期に腋芽に覆土し、翌春出芽かつストロンを発生させる方法である。しかし、栽培 2 年目に出芽させ光合成を行なわせることで、収量を増加できることは容易に予想されるため、後者の栽培方法が望ましいと考えられる。今回の結果からは、収量については明言することができなかったため、この栽培体系についても今後更なる検証が課題である。

#### E. 結論

ハイブリッド栽培 2 年目 11 月収穫品で、日局規格値 GL 2.5%以上となる個体が、18 個体中 8 個体確認された。また GuIV1、Gu#11 は、2 年目 11 月収穫品の平均 GL 含量が 2.5%以上を示しており、高含量の性質が圃場でも再現されていると考えられた。

しかし、遺伝的に均一であるが、生育や出芽、GL 含量などばらつきが大きかった。今後ハイブリッド栽培方法を確立するため、安定した苗の大量生産方法や栽培体系を改良検討することが課題である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

無し。

## 2. 学会発表

- 1) 吉松嘉代、乾貴幸、河野徳昭、北澤尚、林茂樹、菱田敦之、杉村康司、中村理恵、吉岡拓磨、山路弘樹、武田修己、川原信夫：ウラルカンゾウの人工水耕-圃場ハ

イブリッド栽培システムの構築  
日本薬学会第 135 年会（神戸）  
(2015. 3. 25-28) .

- G. 知的財産権の出願，登録状況  
無し。

表 1. 2 年目出芽率および越冬率

系統	2013年度秋季 確認個体数 (個体)	2014年度生存株数		出芽率 (%)	越冬率 (%)
		出芽			
		有	無		
GuV1	14	6	4	60.0	71.4
GuV2	33	11	12	47.8	69.7
Gu#11	2	0	2	0.0	100.0

出芽率：生存個体数に対する出芽個体数

越冬率：2013 年 9 月時点の個体数に対する生存率

表 2. 圃場栽培 2 年目の個体別形質値

系統	収穫日	出芽	個体 番号	根数	生葉重 (g)	根頭部 最大径 (mm)	ストロンの 発生有無 無:0、有1	GL含量(%)	
								個体別	系統平均±SD
GuV1	2014/6/3	有	1	1	1.05	2.16	0	1.07	1.43 ± 0.36
			2	4	2.37	8.07	1	1.80	
	2014/7/1	有	1	-	-	-	0	1.90	2.03 ± 0.13
			2	-	-	-	1	2.17	
	2014/11/13	無	1	1	1.71	2.7	0	3.63	2.92 ± 0.90
			2	1	1.7	4	0	3.70	
			3	1	0.93	2.9	0	2.28	
			4	3	5.86	10.2	0	3.10	
		有	1	2	0.64	5.6	0	1.23	
			2	4	44.63	15.4	1	3.60	
GuV2	2014/6/3	無	1	1	2.59	3.52	0	1.74	1.88 ± 0.56
			2	8	10.46	4.56	0	2.21	
			3	7	12.15	7.3	0	1.90	
			4	1	4.43	4.87	0	3.13	
			5	2	1.93	6.51	0	1.26	
		有	1	2	5.34	6.54	0	1.62	
			2	2	3.86	5.65	0	1.10	
			3	2	9.32	7.6	0	2.04	
			4	1	2.81	4.16	1	1.95	
	2014/7/1	無	1	-	-	-	0	2.51	2.13 ± 0.59
			2	-	-	-	0	1.54	
			3	-	-	-	0	2.89	
	2014/11/13	無	1	1	4.36	6.6	0	2.93	2.23 ± 0.55
			2	4	10.56	9.2	0	2.07	
			3	2	2.57	5.2	0	1.73	
			4	1	0.9	2.8	0	1.75	
			5	2	8.28	6.5	0	2.94	
		有	1	4	8.43	6.7	0	1.93	
			2	1	8.94	7.5	0	1.38	
3			6	14.42	11.9	1	2.26		
4			3	24.85	15.5	1	2.23		
5			1	11.74	12.9	1	3.06		
Gu#11	2014/11/13	無	1	3	3.72	9.1	0	2.44	2.76 ± 0.32
			2	3	8.72	13	0	3.09	

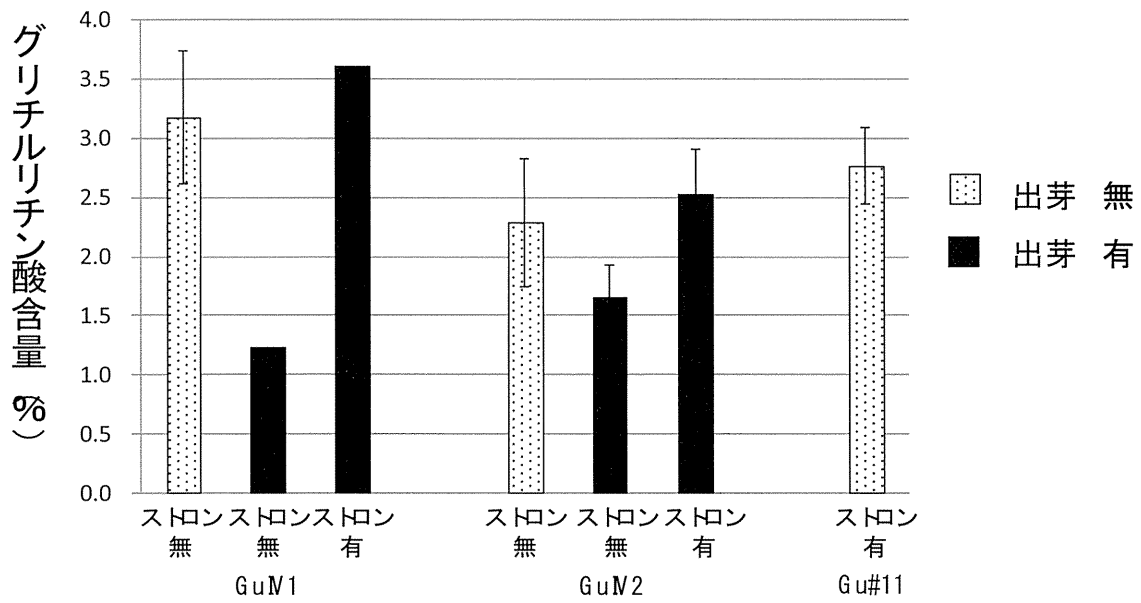


図1. 挿し木苗定植2年目における出芽の有無及びストロン発生とGL含量の関係  
2014年4月定植、2014年11月収穫、エラーバーは標準偏差(SD)を示す

平成26年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）  
人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化に向けた  
実証的研究（H24-創薬総合-一般-007）  
分担研究報告書

分担研究課題：人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化  
に向けた実証的研究

－ウラルカンゾウの筒栽培及び圃場栽培に関する研究－

研究分担者 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 育種生理研究室長

要旨 水耕栽培植物の地上茎を挿し穂とする大量増殖法で増殖させた、ウラルカンゾウ優良株3種、GuIV1、GuIV2及びGu#11を、2013年4月22日に丸善製薬（株）総合研究所内圃場で筒栽培し、2014年10月17日まで生育状態を観察した。2013年10月に生存が確認できたGuIV1：11株、GuIV2：11株及びGu#11：9株のうち、5月に萌芽した、越冬生存株がGuIV1、GuIV2及びGu#11いずれも1株であった。2014年10月17日に収穫したGu#11株は、根頭部の根径が20mm以上で、乾燥重量122 g、グリチルリチン酸含量が2.09%であった。また、前記3種を含む6種のウラルカンゾウ優良株68株を圃場に定植し、栽培を行った。11月12日に生育を観察したところ、26株の生育が確認できた。栽培初期は良好な生育を示したが、生育期間中にコオロギによる食害を受け、枯死する株が多かった。

研究協力者

田村幸吉 丸善製薬株式会社研究開発本部  
甘草生薬研究グループ  
グループ長

新穂大介 同 甘草研究グループ 主任  
乾 貴幸（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 特任研究員

河野徳昭 同 筑波研究部 主任研究員

A. 研究目的

生薬甘草は、漢方処方70%以上に配合され、漢方薬原料として最も重要であり、また、食品、食品添加物、医薬部外品及び化粧品としても汎用されている。しかし、その供給は100%海外に依存し、主生産国の中国の物価・人件費上昇、需要増加、採取・輸出規

制、生物多様性条約の「遺伝子資源へのアクセスと利益配分」のルールづくり等により、レアアースと同様に、今後益々その確保が困難になると予想されている。

我々はこれまでに、最も汎用され重要な漢方薬原料である甘草について、人工水耕栽培環境下で、短期間で安定的に生薬を生産するシステムを世界で初めて開発した。

本研究では、人工水耕栽培により生産した甘草等の生薬の確実な実用化の推進のため、経済性・汎用性の高い栽培システムの構築を行っており、ウラルカンゾウ新規優良株の育成、水耕栽培植物の地上茎を挿し穂とする大量増殖法の確立、簡便な新規水耕栽培装置の開発に成功している。今年度は、ウラルカンゾウ優良株の特性と有用性（適応の範囲）の確認のため、丸善製薬株式会社にて、圃場筒

栽培の 2 年目の観察及び圃場栽培試験を実施した。また、2014 年に前期 3 種を含む 6 種のウラルカンゾウ優良株 68 株を圃場に定植して栽培を行い生育状況を調査した。

## B. 研究方法

### 1) ウラルカンゾウ優良株の筒栽培

i) 材料植物：医薬基盤研究所から提供された GuIV1、GuIV2、Gu#11 の 3 クローンの挿し木苗を、2013 年 4 月 22 日に定植。

ii) 栽培方法：特別な管理をしないで実施。

iii) 観察日：6 月 2 日、9 月 11 日、10 月 17 日

### 2) 成分分析

グリチルリチン酸、リクイリチン、イソリクイリチン及びグリシクマリンの分析は、以下の条件で実施した。

#### <抽出液・分析試料液 調製法>

##### a) グリチルリチン酸、リクイリチン、イソリクイリチンの定量分析

粉碎した甘草根の 20 倍量の 50%EtOH で室温抽出した。さらに抽出液 1mL を 50%EtOH で 10mL にメスアップし、メンブランフィルター (0.2  $\mu$ m) でろ過したものを分析試料溶液とした。グリチルリチン酸の標準養液として、1.0、0.1、0.01mg/mL 溶液を調製した。リクイリチン、イソリクイリチンの基準品として R21 の 1.0mg/mL 溶液を調製した。

##### b) グリシクマリンの定量分析

粉碎した甘草根の 10 倍量の EtOH で室温抽出した。EtOH 抽出液をメンブランフィルター (0.2  $\mu$ m) でろ過したものを分析試料溶液とした。グリシクマリンの標準養液として、0.1mg/mL 溶液を調製した。

#### <HPLC 分析条件 (a、b 共通) >

装置：ACQUITY UPLC (Waters)

カラム：ACQUITY UPLC BEHC18 (1.7  $\mu$ m、50 mm x 2.0 mm i.d.)

移動相：A) 0.1%ギ酸水溶液；B) MeCN、

0-0.45 min A:B=80:20、0.45-6.5 min A:B=80:20→30:70、6.5-6.75 min A:B=30:70→0:100、6.75-7 min A:B=80:20

流速：0.8 mL/min

検出：PDA  $\lambda$  (254nm：グリチルリチン酸、316nm：リクイリチン、イソリクイリチン、350nm：グリシクマリン)

カラム温度：40°C

サンプル管理温度：25°C

分析サンプル注入量：2.0  $\mu$ L

### 3) ウラルカンゾウ優良株の圃場栽培

医薬基盤研究所から提供されたウラルカンゾウ優良株 (GuIV1、GuIV2、Gu#11、Gu71#1、Gu71#12、Gu71#22) 挿し木苗を圃場に定植した。

## C. 研究結果

### 1) ウラルカンゾウ優良株の野外筒栽培

ウラルカンゾウ優良株 3 種の 1 年目及び 2 年目の生存数を表 1 に示した。生育数は、3 種いずれも 1 株しか認められなかった。越冬時に冷害を受け枯死したため、春の萌芽が生じなかったためと考えられる。定植した挿し木苗の根頭部が地上に露出していたため、越冬時に低温に曝され、根頭部が凍結し、シュート形成する節が損害を受け、春の萌芽が生じなかったのが原因と考えられる。

生存した 3 株の 1 年目及び 2 年目の地上部の生育状況及び収穫時の地下部の測定結果を表 2 及び図 1 に示した。地上部の 2 年目の生育は、いずれの株も 1 年目以上の生育を示し、特に Gu#11 株の地上部の生育は旺盛であった。地上部の生育は、Gu#11 > GuIV2 > GuIV1 の順に良好であった。一方地下部の生育は、地上部の生育と比例して、Gu#11 > GuIV2 > GuIV1 の順に良好であった。特に Gu#11 株は、乾燥重量が 122.3g と非常に良好であった。

乾燥根中の二次代謝物含量を測定した結果、木部に含まれ 50%EtOH 抽出成分であるグリチルリチン酸、リクイリチン、イソリクイリチンは、乾燥根重量と比例して、含量が増加していた。



特に乾燥根重量が 122.3g と良好であった Gu#11 株は、2%以上のグリチルリチン酸含量を示した。

一方、皮部に含有され EtOH 抽出成分であるグリシクマリンは、地下部の生育量とは無関係であった (表 3)。

## 2) ウラルカンゾウ優良株の圃場栽培

医薬基盤研究所から提供されたウラルカンゾウ優良株 (GuIV1、GuIV2、Gu#11、Gu71#1、Gu71#12、Gu71#22) 挿し木苗を 2014 年 6 月 2 日に圃場に定植した。生育状況を表 4 及び図 2 に示した。生育期間中に枯死した株は、7 月 7 日及び 11 月 12 日に改めて補植した。2014 年には 6 種の優良株を総数 68 株定植したところ、11 月 12 日現在の生存数は、26 株であった。生育中の枯死する原因としては、ワラを敷いたことによる、過湿によるカビ発生及びコオロギによる虫害と思われた (図 3)。コオロギは、夏以降発生しており、活動の盛んな秋以降の障害が大きい傾向が認められた。

## D. 考察

地上茎挿し木で増殖させたウラルカンゾウ優良株は、越冬性に問題があり、ほとんどの株の春の萌芽が認められなかった。挿し木増殖した株を定植した場合、1 年目のシュート発生した基部が根頭部として存在し、それ以外の部位からシュートを発生できないため、根頭部が越冬時に低温障害を受けると、萌芽できなくなると考えられた。この現象を防ぐ

には、挿し木苗の野外栽培の場合は、シュートを形成する根頭部を地下に埋めるように定植するか、冬の前に株元に土寄せをして、根頭部が露出しないようにすることが重要と思われた。

生育状況及び成分含有に関しては、地上部の生育に比例して、地下部の収量及び成分含量が高くなる傾向が認められた。

野外栽培においては、コオロギによる食害が発生し、優良株の生存率と生育に影響を及ぼし、生存率低下の主因と思われた。今後の実用化推進の上で、食害害虫に関する知見は重要であると思われる。

## E. 結論

地上部挿し木で増殖したウラルカンゾウ優良株の 2 年目の栽培の結果、越冬時の低温対策が重要と考えられた。生存株のうち、特に生育が良好であった Gu#11 株においては、乾燥根重量 122.3g、グリチルリチン酸含量 2.03%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 ウラルカンゾウ優良株の筒栽培試験の生育状況

甘草種	詳細	2013年				2014年	
		4月22日		10月2日		6月2日、10月17日	
		定植数	系統別	生育数	系統別	生育数	系統別
GuIV1	GuIV1S8-1	4	20	2	11	0	1
	GuIV1S8-2	4		3		0	
	GuIV1S8-4	3		2		0	
	GuIV1S8-5	5		2		1	
	GuIV1S8-6	2		1		0	
	GuIV1S8-7	2		1		0	
GuIV2	GuIV2H4③St1	8	19	8	13	1	1
	GuIV2H4③St2	11		5		0	
Gu#11	Gu#11-1-2	18	18	9	9	1	1
計		57	57	33	33	3	3

表2 ウラルカンゾウ優良株の収穫時（2014年10月17日）の地上部及び地下部の測定値

甘草種	記号	草丈 (cm)	根径 (mm)	根長 (cm)	新鮮重 (g)	乾燥重 (g)
GuIV1	No. 42	51	6.6	81	22.0	4.6
GuIV2	No. 8	30, 59	8.5	129	53.2	23.9
Gu#11	No. 29	60, 70, 61, 68	23.6	122	203.6	122.3

表3 ウラルカンゾウ優良株の二次代謝物含量（定植543日後）

甘草種	記号	サポニン	水溶性フラボノイド		脂溶性フラボノイド
		グリチルリチン酸	リクイリチン	イソリクイリチン	グリシクマリン
GuIV1	No. 42	1.36	0.35	0.10	0.04
GuIV2	No. 8	1.29	0.23	0.08	0.04
Gu#11	No. 29	2.09	0.76	0.17	0.04

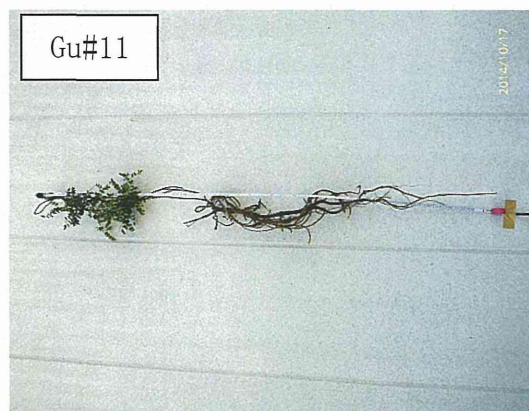
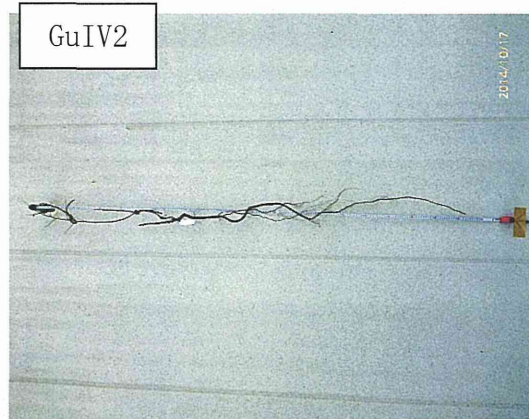
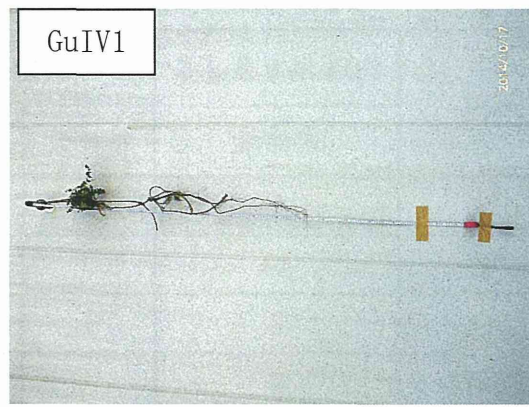
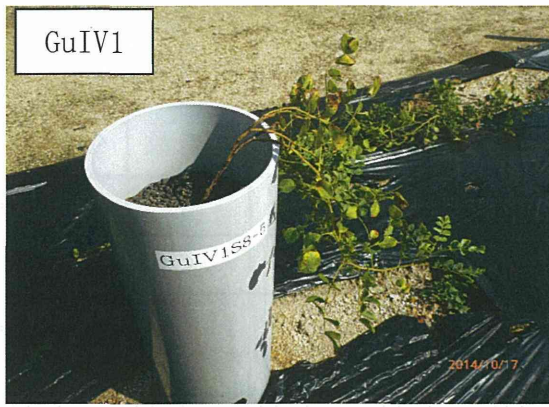


図1 2014年10月17日（定植後543日後）に収穫したウラルカンゾウ優良株

表4 ウラルカンゾウ優良株の圃場栽培生育状況

甘草種	2014年6月2日	2014年7月7日			2014年11月12日		
	定植数	枯死数	補植数	生育数	枯死数	補植数	生育数
GuIV1	0	-	-	-	5	5	0
GuIV2	16	3	1	14	7	8	15
Gu#11	6	1	0	5	7	7	5
Gu71#1	6	3	2	5	1	0	4
Gu71#12	6	4	0	2	2	0	0
Gu71#22	6	5	5	6	4	0	2
計	40	16	8	32	26	20	26



2014年6月2日（定植時）

2014年8月18日

図2 ウラルカンゾウ優良株の圃場試験状況



カビ発生株



コオロギによる虫害

図3 ウラルカンゾウ優良株の圃場試験 2014年7月7日の状況

平成26年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）  
人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化に向けた  
実証的研究（H24-創薬総合-一般-007）  
分担研究報告書

分担研究課題：人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化  
に向けた実証的研究

—水耕栽培で育成したウラルカンゾウ優良株の地上茎挿し木苗を用いた露地栽培の  
実証試験について—

研究分担者 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 育種生理研究室長

要旨 2014年に前年露地への移植試験により定着した17個体を継続して栽培した結果、Gu71#31②の1個体、Gu1V1④、⑤、⑥の3個体、Gu#11⑦の1個体、Gu71#1⑩、⑫の2個体計7個体が地上部と地下部ともに旺盛な生育を示した。また、グリチルリチン酸含量も日本薬局方規格値を満たす個体も見られたことから、水耕栽培で得られた地上茎挿し木苗の露地栽培への実用化の可能性が示唆された。

#### 研究協力者

福田達男 北里大学薬学部附属薬用植物園  
准教授

石川 寛 同 助教

乾 貴幸 （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 特任研究員

河野徳昭 同 筑波研究部 主任研究員

武田修己 東京生薬協会

#### A. 研究目的

2013年水耕栽培で育成されたウラルカンゾウ優良株の地上茎挿し木苗を、露地栽培に移行させるための移植試験を行った結果、18個体中17個体が定着した。2014年は、定着した苗の露地栽培を継続し、生育調査と生薬部分である根のグリチルリチン酸の定量分析を行い、地上茎挿し木苗の露地栽培への実用化を検討した。

#### B. 研究方法

2014年は前年北里大学薬学部附属薬用植物園研究圃場において、ウラルカンゾウ優良株6種の地上茎挿し木苗（医薬基盤研薬用植物資源研究センター育成）の露地への移植試験の結果得られた17個体を調査個体とした。

2014年3月から17個体の萌芽調査を行い、調査後は昨年と同様の灌水装置とビニールマルチを取り外した。萌芽した個体については月1回草丈、葉数、個体の大きさ（長さ×幅）を測定した。10月7日には生育した個体の地下部を掘り上げ、乾燥後、第16改正日本薬局方に記載されるカンゾウの定量法に従い、グリチルリチン酸の定量を行った。

なお、施肥については、元肥追肥とも行わなかった。

#### C. 研究結果

##### 1. 生育状況

図1にウラルカンゾウ6系統の定植位置

及び 2014 年の生育個体の位置を示した。3 月下旬から 4 月上旬にかけて、17 個体中 Gu71#31 定植位置②（以後クローン No. と定植位置の No. のみで表す。）の 1 個体、Gu1V1 ④、⑤、⑥の 3 個体、Gu#11⑦の 1 個体、Gu71#1 ⑩、⑫の 2 個体計 7 個体の萌芽を認めた。（表 1、2）。しかし、萌芽を認めなかった個体を掘り上げた結果、根は生きた状態であったが根頭部にある直立根茎が枯死しており、そのため新たな茎が形成されなかったと思われる。

萌芽個体ははじめ茎が直立し、草丈は 8 月 26 日 Gu71#1⑩の 56cm が最長で、その後は全体的に倒伏し低くなった（表 3）。葉数も 8 月 26 日 Gu71#1⑩の 401 枚が最大で、その後は全体に落葉し減少した（表 4）。10 月 7 日収穫時の個体の大きさは、Gu#11⑦の 111cm×幅 69cm が最大で、これに近い値の個体が 2 個体あった。Gu71#1⑫は個体の大きさが 58cm×45cm であったが、8 月 26 日時点でストロンを 1m 以上伸ばし先端に地上茎を形成した（表 5）。

## 2. 栽培 2 年目の根とグリチルリチン酸含量

10 月 7 日収穫したウラルカンゾウの根の形態を図 2 に示した。根は定植時にひげ根の状態であったが、収穫時には太い根を直下に伸ばす個体が多く、中には 1m の位置でも太さが 1cm 近い個体があった。Gu71#31②、Gu71#11⑦及び Gu71#1⑩はストロンを形成したが、Gu71#1⑫のように地上茎の形成するまで至っていなかった。

グリチルリチン酸含量は GuIV1⑤が根の直径が 5mm 以上と 5mm 未満の部分で、日局規格

値の 2.5%を超えたが、他の個体は两部分で超える個体はなかった（表 6）。

## D. 考察

2014 年に生育した 7 個体は、グリチルリチン酸含量が日局規格値を満たす個体も見られ、地上部と地下部ともに旺盛な生育を示したことから、水耕栽培で得られた地上茎挿し木苗の露地栽培への実用化の可能性が示唆された。しかし、2013 年には 17 個体が定着したのに対し、2014 年の生育個体が 7 個のみであることから、初年度定着した個体が越年する時、根頭部の直立根茎が低温による被害を受けないようにする方法を確立する必要があると思われる。

## E. 結論

2014 年に前年露地への移植試験により定着した個体を継続して栽培した結果、地上部と地下部ともに旺盛な生育を示し、グリチルリチン酸含量が日局規格値を満たす個体も見られたことから、水耕栽培で得られた地上茎挿し木苗の露地栽培への実用化の可能性が示唆された。

## 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。

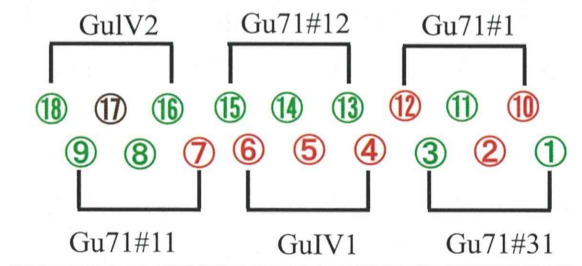


図 1. ウラルカンゾウ6クローンの定植位置と生育個体  
 ①から⑱は定植位置を示す。○:2013年及び  
 2014年に生育した個体, ○:2013年に生育  
 した個体, ○:2013年に枯死した個体。  
 ➤:71#1⑫から伸びたストロンに形成した地上  
 部。スケールは50cm。(2014年10月)

表 1. 2014年に生育した個体の萌芽日

クローンNo.	位置No.	萌芽日
Gu71#31	②	4月4日
GuIV1	④	4月4日
GuIV1	⑤	3月19日
GuIV1	⑥	4月4日
Gu#11	⑦	3月19日
Gu71#1	⑩	3月19日
Gu71#1	⑫	3月19日

表 2. 2013年から2014年にかけて生育した個体数

クローンNo.	定植苗数	個体数	
		2013.12	2014.10*
Gu71#31	3	3	1
GuIV1	3	3	3
Gu#11	3	3	1
Gu71#1	3	3	2
Gu71#12	3	3	0
GuIV2	3	2	0
計	18	17	7

\*地上部を形成しない個体も根は枯死していない。



表 3. 2014年に生育した個体の草丈の推移

クローンNo.	位置No.	調査日と草丈(cm)				
		5月28日	6月25日	7月29日	8月26日	10月7日
Gu71#31	②	28	31	34	56	21
GuIV1	④	32	49	42	31	27
GuIV1	⑤	36	46	27	38	20
GuIV1	⑥	30	42	27	30	28
Gu#11	⑦	26	40	43	41	18
Gu71#1	⑩	26	21	34	56	41
Gu71#1	⑫	23	27	29	21	11

表 4. 2014年に生育した個体の葉数の推移

クローンNo.	位置No.	調査日と枚数				
		5月28日	6月25日	7月29日	8月26日	10月7日
Gu71#31	②	25	77	180	273	271
GuIV1	④	36	105	249	366	391
GuIV1	⑤	19	79	158	208	180
GuIV1	⑥	12	45	121	206	234
Gu#11	⑦	16	57	131	253	212
Gu71#1	⑩	41	150	310	401	351
Gu71#1	⑫	36	72	118	153	114

表5. 2014年10月7日に収穫した個体の大きさ

クローンNo.	位置No.	個体の大きさ
		長さ×幅(cm)
Gu71#31	②	113×51
GuIV1	④	91×80
GuIV1	⑤	79×61
GuIV1	⑥	118×53
Gu#11	⑦	111×69
Gu71#1	⑩	73×76
Gu71#1	⑫	58×45

表6. 各クローンの乾燥根のグリチルリチン酸含量

クローンNo.	位置No.	グリチルリチン酸含量(%)	
		Φ0.5cm以上	Φ0.5cm未満
Gu71#31	②	2.51	2.22
GuIV1	⑤	2.58	2.54
Gu#11	⑦	2.26	3.24
Gu71#1	⑩	1.69	2.04

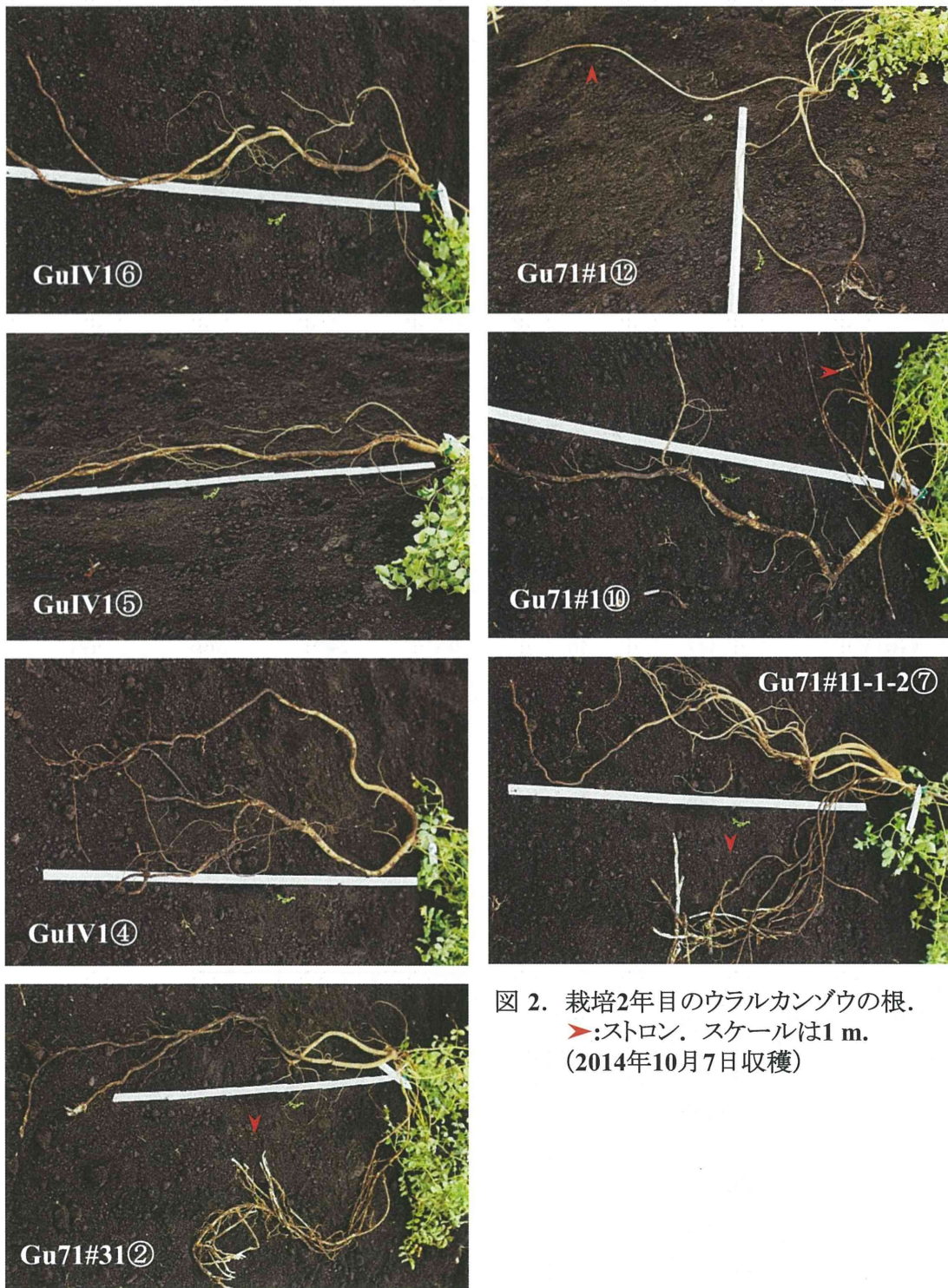


図 2. 栽培2年目のウラルカンゾウの根.  
 >:ストロン. スケールは1 m.  
 (2014年10月7日収穫)

平成26年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）  
人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化に向けた  
実証的研究（H24-創薬総合-一般-007）  
分担研究報告書

分担研究課題：人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化  
に向けた実証的研究

－西表島におけるウラルカンゾウ優良株の栽培に関する研究－

研究分担者 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 育種生理研究室長

要旨 沖縄県八重山郡竹富町の西表島にある琉球大学熱帯生物圏研究センター西表研究施設において、ウラルカンゾウの粗放的栽培の実証試験を行った。最終的にGuIV1：4個体とGu#11：1個体を収穫し、収穫された根の乾燥重量はGuIV1平均3.84g、Gu#11 2.25gであった。栽培期間一年を要した結果としては乏しく、西表島におけるカンゾウの粗放的栽培は困難であることが示唆された。GuIV1のグリチルリチン酸含量は、2.5%には満たないものの、径0.5 cm以上では2.23%、径0.5 cm未満では2.10%を示した。

研究協力者

渡辺 信 琉球大学熱帯生物圏  
研究センター西表研究施設  
准教授  
乾 貴幸（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 特任研究員  
河野徳昭 同 筑波研究部 主任研究員  
武田修己 東京生薬協会

り等により、レアアースと同様に、今後益々その確保が困難になると予想されている。また、他の多くの生薬も同様に安定供給が危惧されている。

我々はこれまでに、最も汎用され重要な漢方薬原料生薬である甘草について、人工水耕栽培環境下で、短期間で安定的に生薬を生産するシステムを世界で初めて開発した。

本研究は、人工水耕栽培により生産した甘草等の生薬の確実な実用化の推進のため、経済性・汎用性の高い栽培システムの構築を行うことを目的とする。

我々は昨年度までに、人工水耕栽培システムにおいて、短期間で日本薬局方規格を満たす甘草が生産可能な、複数のウラルカンゾウ優良株を育成し、水耕栽培植物の地上茎を挿し穂とする簡便で高効率な種苗増産方法を確立した<sup>1)</sup>。これらのウラルカンゾウ優良株の、国内栽培推進のための種苗としての有用性評価、より経済性・汎用性の高い生薬生産

A. 研究目的

超高齢社会の日本では漢方薬を処方される例が増え漢方薬市場は急成長している。生薬「甘草」は、漢方処方70%以上に配合され、漢方薬原料として最も重要であり、また、食品及び食品添加物としても重要である。しかし、その供給はほぼ100%海外に依存し、主生産国の中国の物価・人件費上昇、需要増加、採取・輸出規制、生物多様性条約の「遺伝子資源へのアクセスと利益配分」のルールづく

システムの構築及び国内栽培基盤構築のため、人工水耕栽培した植物より育成した挿し木苗の西表島での栽培試験を行ったので報告する。

## B. 研究方法

沖縄県八重山郡竹富町の西表島にある琉球大学熱帯生物圏研究センター西表研究施設において、ウラルカンゾウの実証試験栽培を行った。供試苗は、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筑波研究部で、人工水耕栽培植物の地上茎の挿し木により増殖・育成したウラルカンゾウ優良株4種（GuIV1、GuIV2、Gu#11及びGu71#1）の苗を用いた。

苗は2013年11月5日に筑波研究部から宅配便で発送され、11月11日に西表研究施設に配達された。配送に日数を要したため、全てのクローン苗が黄変し、衰弱、10個体程度は枯死していた（図1）。苗の根の傷みを考慮し、数日間養生した後、2013年11月15日に4クローンを7個体ずつ、ビニールポットに計28株を定植した（図1）。培養土壌は将来的な粗放栽培を想定し、西表研究施設圃場の赤土、国頭マーヅ9割にバーミキュライト1割を混合したものをを用いた。2013年11月～3月までは西表研究施設のガラス室内で、4月から10月の間は高温のためガラス室外で栽培を行い、灌水はポット表面の土壌が適時湿るようにこまめに行った。施肥は大塚ハウス1号3.0g + 大塚ハウス2号2.0g / 8L溶液を作成し、灌水時に適時与えた。収穫は2014年11月4日に行い、その際に草丈、根の長さ、根の太い部分の長さ、根の最大直径、根の生重量、根の乾燥重量を計測した。乾燥重量は恒温器で50℃72時間乾燥した後測定した。

乾燥根試料は、東京生薬協会において、日本薬局方に従ったグリチルリチン酸定量を行った。

## C. 研究結果

栽培開始から2ヶ月の間にGuIV1とGu#11を除くGuIV2、Cu71#1は全個体が衰弱して枯

死した。その後、害虫による被害がGu#11で多く認められた。西表島は昆虫の多様性が極めて高い為、ダニ、アブラムシ以外にもバッタ、蛾の幼虫の食害が認められた。スミチオンとイオウフロアブルを使用して防除を行ったが、草勢が弱まる影響が若干認められた。また、近隣の放牧ヤギによる食害が2度あった。最終的に生存したGuIV1:4個体とGu#11:1個体を収穫した。収穫された根の乾燥重量はGuIV1平均3.84g、Gu#11は2.25gであった（表1、図1）。

最も乾燥重量が高かったGuIV1 1個体の根を径0.5cm以上と0.5cm未満に分割してグリチルリチン酸を定量した結果、それぞれ2.23%、2.10%であった。

## D. 考察

収穫時まで生存した2クローン以外のクローンが早期に枯死したのは、輸送時のダメージが大きかった可能性がある。石垣空港から西表島までは船のコンテナで輸送されるが、今回の苗は時化の影響で港に数日間置かれ、高温ストレスに晒された可能性が否めず、クローン間の高温ストレス耐性の差が、栽培初期段階の生存率に表れた可能性がある。最終目的産物である根の乾燥重量に着目した場合、一年を要した栽培実験で得られた結果としては乏しいと言わざるを得ない。その要因として光合成器官の食害被害と培養土が適さなかったことが考えられる。本栽培試験では国頭マーヅを9割の割合で使用したことにより保水性は高いが通気性は低い土壌条件であった。

カンゾウのクローン順化苗は軟弱で長距離、長時間輸送に適さないため、南西諸島の離島で実用化栽培を進める際には種苗生産拠点の設置を検討する必要がある。

今回の粗放栽培試験では害虫やヤギによる食害が多く、科学的な植物成長を検証するのに適した環境とは言い難い。一般に西表島は昆虫の多様性が極めて高く、ダニ、アブラムシ以外にもバッタ、蛾の幼虫の食害が夏期に特に多い。そのため夏期にはサトウキビ、パイナップル以外の作物は殆ど栽培されてい