

ない。また西表島を含めた南西諸島ではこれ以外にもイノシシの農業被害があり、粗放栽培による低コスト生産を実施するのに解決しなければならない障壁は多い。施設栽培も一つの選択肢ではあるが、夏期の高温を緩和し、最大瞬間風速 70m/s 超の台風に耐えうる規格の栽培施設となると、生産コストの初期投資が高額になることが懸念され、商業ベースの栽培が困難である。

E. 結論

西表島におけるウラルカンゾウの粗放的栽培は困難であることが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

無し。

2. 学会発表

無し。

G. 知的財産権の出願，登録状況

無し

H. 参考文献

- 1) 吉松嘉代他、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」、平成 24 年度総括・分担研究報告書、18-44、2013 年 3 月。



図1. 西表島栽培のウラルカンゾウ（上左から到着直後の苗、定植直後、2014/6/2の様子、中左から収穫後の GuIV1-1～4、下左から収穫後の Gu#11、収穫後の根）

表1. 西表島でのウラルカンゾウの生育（定植：2013/11/12、収穫：2014/11/4、357日間）

クローン	株番号	草丈 cm	根長 cm	最大根径 cm	生重量 g	乾燥重量 g
GuIV1	1	59.5	35.0	1.00	15.18	8.38
	2	49.0	31.0	0.65	5.65	2.87
	3	80.0	51.0	0.75	5.05	2.27
	4	36.0	27.0	0.65	3.24	1.85
	平均±SD	56.1 ± 18.6	36.0 ± 10.5	0.76 ± 0.17	7.30 ± 5.40	3.84 ± 3.05
Gu#11	1	18.5	50.0	0.80	5.31	2.25

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

—オタネニンジン実生苗の水耕栽培に関する研究—

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 強精、健胃整腸等を目的に多種の漢方処方に配合されるほか、多くの健康食品にも利用される一方で、その生産の多くを輸入に依存しているオタネニンジンについて、芽切り種子をバーミキュライトに播種し、純水もしくは養液を供給しながら、144日間育苗した後、水耕栽培装置に移植し、バーミキュライトを支持体とする「底面灌水」、養液中に空気を供給する「バブリング」、養液を根に直接噴霧する「ミスト」の3方式で207日間栽培し、その生育及びギンセノシド含量を比較した。育苗の結果、養液を供給した実生は、水のみで育成した実生と比べ、播種後約1ヶ月から生育が促進され、根の基部が肥大化した。また、その後の水耕栽培においても、播種後約100日から養液を供給した実生（水育苗）と比較し、播種後約1ヶ月から養液で育苗した実生（養液育苗）の方が、生育が良い傾向が認められた。特に、底面灌水方式と比較し、バブリング方式では根の肥大が、ミスト方式では根の伸長が促進される傾向が認められ、養液育苗区において両栽培方式とも、207日間の水耕栽培により、最大径0.5 cm以上の根を得た。さらにギンセノシド含量を測定した結果、いずれの試験区でも、ギンセノシド Rg1含量は0.25%以上、ギンセノシド Rb1含量は0.37%以上に達し、各試験区間で明瞭な含量差は認められなかった。以上、播種約1ヶ月後に養液供給を開始し、バブリング、もしくは、ミスト方式で水耕栽培することにより、播種から約1年の短期間で、日本薬局方記載の性状（主根の径：0.5-3 cm）に合致し、薬用成分の規格値（Rg1：0.10%以上、Rb1：0.20%以上）を満たす人参を得ることに成功した。

研究協力者

上月さやか 同上

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 主任研究員

矢野 宏 パナソニック株式会社
エコソリューションズ社
コア技術開発センター

酒井あゆみ 同上

A. 研究目的

オタネニンジンには、様々な薬理活性を示すギンセノシド類を含有し、強精、健胃整腸、鎮吐などを目的として多数の漢方処方に配合される他、健康食品にも使用されている。しかし、オタネニンジンには病害虫に弱く、その栽培は困難であり、4～6年と長い栽培期

間を要すること、農業従事者の高齢化、薬価の低下などから、国内栽培は衰退している。そこで我々は、オタネニンジンの国内における安定供給系の基盤確立を目的に、重金属による汚染や天候等、自然環境の影響を受けず、高品質な薬用植物を安定的に供給可能な閉鎖型植物生産施設に着目し、水耕栽培を用いた効率的生産法について検討した。

B. 研究方法

1) 育苗

湿らせたキムタオルに包んで 4℃の保冷庫で 5 ヶ月以上保存したオタネニンジン芽切り種子(長野県 2011 年産)より、雑菌に汚染された、あるいは、損傷したものを除いた。なお、この時点でほとんどの種子は、保冷庫内で発根・発芽、もしくは、発根していた(図 1)。

アラシシステム(株式会社バイオメディカルサイエンス)のバスケットにバーミキュライトを半分程度詰め、水でよく湿らせた後、主に発芽・発根、あるいは、発根した種子を播種し、さらにバーミキュライトを被せた。次いで、播種後の種子は、温度:20℃、相対湿度:60%、14 時間明期(太陽光+補光照明で 6:00 から 20:00 まで、ただし、最大 5000 lux 以下になるように遮光)に調整した閉鎖温室にて育成した。

育苗には、養液の供給期間が異なる 2 試験区を設けた。すなわち、播種から 102 日目まで水のみを供給し、102 日目から 144 日目まで養液を供給する区を水育苗区とし、播種から 28 日目まで水のみを供給し、28 日目から 144 日目まで養液を供給する区を養液育苗区とした(表 1)。この際、給水は、水の場合は、自動灌水装置 EY4100(National)を用いて、純水を一日 1 回 10 分間供給し、養液の場合は、大塚 A 処方(標準濃度:大塚ハウス 1 号 1.5 g + 2 号 1.0 g/L、OAT アグリオ株式会社)の 1/8 濃度の養液を自動水やりタイマー EY4200P-H(Panasonic)を用いて、一日 1 回、アラシシステム 1 トレイあたり約 500 mL 供給した。また、すでに本葉が伸長しはじめている種子は、そのまま植付けると

地上部が枯死する株が多かったため、ラップをかぶせて加湿しながら 1~2 週間馴化処理した(図 1)。

[生育調査①]

播種後 1 ヶ月前後に実生苗を移植し、一部株には養液供給を開始し(養液育苗区)、養液を供給せず、そのまま水のみで育成した株(水育苗区)と、移植時及び移植後約 2 週間後の地上部の生育(草丈、葉身長、葉身幅等)を比較した。さらに、播種後 70 日目まで育成を継続し、収穫実生苗の生育(草丈、葉伸長、葉身幅、最大根長、最大根幅)を各育苗区間で比較した。また、これら収穫した苗は、地上部と地下部に分けてサンプリングを行い、新鮮重を測定後、ミルロック凍結乾燥真空乾燥機 TEMPO 85 を用いて 2 日間凍結乾燥し、乾燥重を測定した。

[成分分析①]

凍結乾燥物の全量をビーズ破碎装置 MS-100(トミー精工)を用いて破碎し、60%メタノール 2 mL を加えて、15 分間振り混ぜた。これを遠心分離し、上清を新しいプラスチック遠沈管へ取り、残留物には 60%メタノールを 2 mL 加えて同様の操作を繰り返した。遠心分離した上清を混合し、60%メタノールを加えて正確に 5 mL にメスアップした。そのうち 2.5 mL を正確にとり、0.1 mol/L の水酸化ナトリウム溶液 750 μ L を加えて 30 分間放置し、マロニル体のギンセノシド等を加水分解した後、750 μ L の 0.1 mol/L 塩酸を加えて中和した。中和後、60%メタノールを加えて正確に 5 mL にメスアップし、このうち 500 μ L を Ultrafree-MC Centrifugal Filter Devices(ミリポア)にアプライし、12,000 \times g で 1~2 分間遠心分離し、溶出液を別容器に取った。得られた溶出液のうち 200 μ L をポリプロピレンバイアル(Waters)に移し、このうち、25 μ L(地下部)あるいは 50 μ L(地上部)を下記条件の HPLC 分析に供した。

(HPLC 分析条件)

「共通条件」

装置：Waters Alliance HPLC system (2795 separation module, 2996 photodiode array detector)
カラム：TSKgel ODS-100V (TOSOH, 4.6 mm × 15 cm, I.D. 5 μm)
測定波長：203 nm

「ギンセノシド Rg1、Re の分析」

カラム温度：30 °C、流速：1.2 mL/min
移動相：アイソクラティック条件
水/アセトニトリル混液 (4:1)

「ギンセノシド Rb1、Rc、Rd の分析」

カラム温度：40°C、
流速：0.6-0.8 mL/min
移動相：

- 条件① アイソクラティック
水/アセトニトリル混液 (7:3)
条件② 下記 A 及び B のグラジエント
(A) 水/アセトニトリル混液 (4:1),
(B) アセトニトリル
0-20 min : 0-100% B,
20-22 min : 100% B,
22-23 min : 100-0% B,
23-25 min : 0% B

2) 水耕栽培

1)において 144 日間 育苗して得られた実生苗を水耕栽培装置へ移植し、207 日間水耕栽培し(表 1)、その生育及び成分含量を解析した。この際、水耕栽培条件としては、下記 (a)~(c) の 3 試験区を設けた (図 9)。

(a) 底面灌水方式：コイヤポット (トミタテクノロジー株式会社) に充填したバーミキュライト上に移植し、ポットの底面約 1 cm が養液に浸かるように液面を調整して栽培。

(b) バブリング方式：実生苗の根を、約 3 cm × 9 cm に切った底面給水マット (アクアサプライヤ f マット SR180:ふじもと農材企画) で包み込み、スポンジで挟んで、発泡スチロ

ール板に固定し、on : 15 min、off : 30 min の条件でポンプを運転して養液に空気を送り込みながら栽培。なお、この際、根の基部は養液に浸からず、気層にある。特に、養液育苗区の苗は根が短く、植出時、養液には先端のみが浸かっている状態。

(c) ミスト方式：実生苗をスポンジで挟んで、発泡スチロール板に固定し、on : 2 min、off : 5 min の条件でポンプを運転して養液を噴霧しながら栽培。

(a)、(b)、(c) とともに養液循環ポンプの運転条件は、on : 15 min、off : 15 min とした。その他、共通の栽培条件は下記のとおりである。

- 「温度」：20°C
「CO₂濃度」：800-1000 ppm
「光条件」：16 時間明期 (約 1200 lux)
「養液」：標準の 1/8~1/4 濃度の 大塚 A 処方
(播種後 144-277 日目 = 移植後 0-133 日目)
1/8 濃度の 大塚 A 処方
(播種後 277-351 日目 = 移植後 133-207 日目)
1/4 濃度の 大塚 A 処方

* 水耕装置内の養液は、1/2~3/4 量を 1~2 ヶ月ごとに交換した。

[生育調査②]

144 日間育苗した実生苗を水耕装置へ移植し、さらに 207 日間水耕栽培を行い、薬用部位である根の生育について、新鮮状態での最大根長、肥大根長 (根幅 5 mm 以上の根の長さ) 等について測定した。また、50°C の乾燥機で 2 日間程度乾燥した後 (恒量になるまで)、最大根幅及び乾燥重について測定を行った。

[成分分析②]

上記にて得られた根乾燥物の全量を 2,500 rpm、30 sec × 3 回の条件でビーズ破碎し、破碎物のうち、100 mg (満たない場合は全量使用) について、[成分分析①] と同様の方法

によりギンセノシド類の抽出を行い、20 μ L を下記条件にて HPLC 分析に供した。

(HPLC 分析条件)

「共通条件」

装置：Waters Alliance HPLC system
(2795 separation module, 2996 photodiode array detector)

カラム：TSKgel ODS-100V (TOSOH, 4.6 mm \times 25 cm, I.D. 5 μ m)

測定波長：203 nm、カラム温度：40 $^{\circ}$ C、
流速：0.6 mL/min

移動相：(A) アセトニトリル、(B) 水の
下記グラジエント

条件①

0-10 min : 68% B,
10-12 min : 68-63% B,
12-20 min : 63% B,
20-29 min : 63-51% B,
29-33 min : 51-50% B,
33-34 min : 50-68% B,
34-40 min : 68% B

条件②

0-10 min : 68% B,
10-11 min : 68-65% B,
11-25 min : 65-63% B,
25-29 min : 63-51% B,
29-33 min : 51-50% B,
33-35 min : 50% B,
35-37 min : 50-45% B,
37-38 min : 45-68% B,
38-45 min : 68% B

C. 研究結果

1. 育苗

a) 播種した種子の活着等

播種 約1ヶ月後 (28/31/40 日目) の実生を観察したところ、播種時に発根のみの株、発根・発芽している株、いずれも良好に生育した。また、一度活着して本葉が展開した株でも、一部は根腐れを起こして枯死し、播種約1ヶ月後における平均活着率は67%であった (図2)。

播種時に既に発芽している株は、そのまま、

植出した場合、すぐに本葉が枯れてしまうことが多かったが、地下部及び新芽が生存していれば、播種直後であれば休眠することなく、本葉が枯れてから1ヶ月前後で新たな葉が展開した。そこで、ここでは、地上部の生死に関係なく地下部が生存しているものを活着株とした。また、頻度は少ないが、まれに2芽が同時に展開する株も認められたが、いずれもの株も、小葉数は3枚であり、その形態は初出葉と同様であった (図1)。

b) 育苗実生の生育

図2の播種後31日目と28日目の実生から、それぞれ生育の良好な51株ずつを移植して、養液、あるいは、水のみを供給して、約2週間栽培した際の地上部の生育を、それぞれの移植前の生育と比較した結果、播種後31日目に移植した株では、養液供給の場合 (養液育苗区)、水供給の場合 (水育苗区)、ともに約2週間後における地上部の大きさに顕著な変化は認められなかった。一方、上記播種後31日目の実生よりやや小さい播種後28日目に移植した実生では、その後の約2週間の栽培で成長が認められ、その度合いは養液育苗区の方が大きかった (図3)。

上記播種後31日目に移植した水育苗区の実生、及び、養液育苗区の実生について、さらに播種後70日目まで同条件で栽培を継続し、それぞれ5株ずつをサンプリングし、葉及び根の大きさ、新鮮重量などを指標に生育を比較した。その結果、葉の大きさ、草丈等、地上部の生育に顕著な違いは認められなかった。また、葉色に関しては、養液育苗区では緑色であるのに対し、水育苗区では播種約1ヶ月後より葉の緑が抜けはじめ、黄緑から黄色へと変化した。これら株では、特に葉脈間の緑色が抜け、ところどころ、赤の斑紋が認められた (図4)。

一方、根の生育は、養液育苗区と水育苗区で大きく異なり、養液育苗区では、根の先端が褐変化し、主根の伸長が止まり、側根が発達していた。また、根の基部が水育苗区と比べ有意に肥大化していた (最大根幅：水育苗区の1.9倍、t検定：p < 0.01)。一方、水

育苗区では、主根の伸長が続き（最大根長：養液育苗区の 1.5 倍、t 検定： $p < 0.01$ ）、養液育苗と比べて基部はあまり肥大しなかった。すなわち、最大根長は水育苗区で、最大根幅は養液育苗区で大型化していた（図 5）。また、新鮮重量、及び、乾燥重は、水育苗区に比して養液育苗区で有意に増加し（水育苗区の 1.7 倍、t 検定： $p < 0.05$ ）、特に地下部でその傾向は顕著であった（水育苗区の 2.2 倍、t 検定： $p < 0.01$ ）（図 5 及び 6）。

c) 育苗実生の成分分析（播種後 70 日目時点）

b) において生育比較した株について、地上部と地下部の凍結乾燥物（図 6）より、ギンセノシド類を抽出し、HPLC 分析を行った。まず、ギンセノシド Rg1 及び Re について、第 16 改正日本薬局方（日局）に準拠した方法により、HPLC 分析を行った結果、両者を分離することが可能であり、流速 1.2 mL/min の条件で Rg1 及び Re は、30 分付近に溶出した（図 7 中のクロマトグラム）。

そこで、本条件にてギンセノシド Rg1 の標品を用いて作成した検量線をもとに、育苗実生のギンセノシド Rg1 含量を定量した。その結果、水育苗区、養液育苗区、いずれの地下部のギンセノシド Rg1 含量も日局の規格値 0.1% 程度であった（図 7 中の表及び棒グラフ）。

次いでギンセノシド Rb1、Rc、Rd 含量に関して分析条件の検討を行った結果、日局の分析条件では、流速 0.8 mL/min の時、ギンセノシド Rb1 は 22.5 分に溶出し、Rc、及び、Rd と明確に分離されたが、Rd が溶出されるまでに約 1 時間を要したため（図 8 中のクロマトグラム①）、日局の条件をもとに改変したグラジエント条件により分析を行った。その結果、ギンセノシド Rb1 は 11.5 分付近に溶出し、20 分程度の分析でギンセノシド Rb1、Rc、Rd を分離することに成功した（図 8 中のクロマトグラム②）。そこで、本条件にて、それぞれの標品を用いて作成した検量線をもとに含量を定量した結果、日局において含量の規格値が定められているギンセノシド Rb1 の含量は、播種後 70 日目の実生の地下

部において、約 0.08% と規格値 0.2% の半分程度であった（図 8 中の表及び棒グラフ）。

また、播種後 70 日目の実生においては、各ギンセノシド含量は、全般的に、地上部よりも地下部で高く、特に、ギンセノシド Rd 含量は、地下部で顕著に高まる傾向が認められた。また、地下部のギンセノシド含量は、養液育苗区と水育苗区で顕著な差は認められなかったが、地上部におけるギンセノシド含量は、水育苗区よりも養液育苗区の方が高い傾向が認められた（図 7、図 8 中の表及び棒グラフ）。

2. 水耕栽培

播種後 28 日目から養液を供給した養液育苗区と播種後 102 日目から養液を供給した水育苗区について、播種後 144 日目まで育苗した実生を水耕栽培装置に移植し、それぞれ、底面灌水方式、バブリング方式、ミスト方式で 207 日間水耕栽培を行い（図 9）、育苗法、及び、水耕栽培方式の違いの生育、及び、ギンセノシド含量への影響について検討した。

a) 水耕栽培実生苗の生育比較

水耕装置移植後 207 日目時点で既に全株の地上部（葉）は枯死し、新たな芽の伸長は認められない休眠状態にあった（図 10）。薬用部位である根の生育について、新鮮状態で比較すると、最大根長は、播種後 102 日目まで水供給で育成した水育苗区では、底面灌水方式、バブリング方式、ミスト方式のいずれの方式で水耕栽培しても、総じて最大根長が長い傾向であった（平均±SD: 73.0 ± 5.6 mm、97.0 ± 55.5 mm、84.9 ± 38.8 mm）が、播種後 28 日目より養液供給を開始した養液育苗区では、底面灌水方式、又は、バブリング方式の場合、根がほとんど伸長しなかったのに対し（それぞれ、平均±SD: 41.3 ± 7.6 mm、49.3 ± 6.3 mm）、ミスト方式の場合にのみ、96.2 ± 32.9 mm と水育苗区と同程度にまで成長していた（図 10、図 11 左上）。

一方、最大根幅は、水育苗区の場合は、底面灌水方式だけでなく、バブリング方式、及び、ミスト方式でも、5.0~6.5 mm 程度であ

ったが、養液育苗区の場合は、底面灌水方式では、 7.6 ± 0.6 mm、バブリング方式では、 9.4 ± 0.6 mm、ミスト方式では、 10.6 ± 1.6 mm と、水育苗と比較し、総じて最大根幅が大きくなっていた（図 10）。また、肥大した（新鮮状態で根幅 5.0 mm 以上）根の長さについては、水育苗区では、底面灌水方式で、 3.1 ± 1.6 mm、バブリング方式で、 8.6 ± 0.8 mm、ミスト方式で、 9.3 ± 4.4 mm と、底面灌水方式と比べて、ミスト方式、及び、バブリング方式による水耕栽培の方が、顕著に長いとの結果を得た。一方、養液育苗区では、底面灌水方式で、 11.6 ± 0.6 mm、バブリング方式で、 17.0 ± 2.2 mm、ミスト方式で、 12.5 ± 3.4 mm と水育苗区と比較し肥大根長が長い傾向が認められ、特にバブリング方式の肥大根長が、底面灌水方式、あるいは、ミスト方式と比較し、顕著に長かった（図 10、図 11 右上）。

次いで 50°C で乾燥した根について比較すると、最大根幅は、水育苗区の場合は、底面灌水方式で 3.7 ± 0.3 mm、バブリング方式で 4.3 ± 0.8 mm、ミスト方式で 4.3 ± 0.7 mm と、日局のニンジン性状の項の記載（0.5~3 cm）よりもやや小さいが、養液育苗区では、底面灌水方式で 4.9 ± 0.4 mm、バブリング方式で 6.1 ± 0.5 mm、ミスト方式で 6.7 ± 1.3 mm と、バブリング方式、あるいは、ミスト方式にて水耕栽培することで日局の性状の項の記載範囲に合致するまでの根の肥大化に成功した（図 11 左下）。

また、根の乾燥重量については、水育苗区で、底面灌水方式の 67 ± 22 mg と比較して、バブリング方式、及び、ミスト方式では、それぞれ、 97 ± 20 mg、 108 ± 28 mg と増加した。さらに、養液育苗区では、底面灌水方式の 98 ± 20 mg と比較して、バブリング方式、及び、ミスト方式では、それぞれ、 188 ± 31 mg、 184 ± 56 mg と約 2 倍に増加し、水育苗区よりもさらに根の生育が促進された（図 11 右下）。

b) 水耕栽培実生苗のギンセノシド含量比較 水耕栽培オタネニンジン（播種 351 日間栽培

培）、あるいは、圃場栽培オタネニンジン（長野県産 2、3、5、6 年生及び茨城県産 2 年生）の根乾燥品、及び、人参市場品生薬試料 16 検体の 60%メタノール抽出物について、ギンセノシド類の分析を行った。まず、『B. 研究方法の「成分分析②」の条件①』に記載のグラジエント条件で、ギンセノシド標品 12 種（Rb1、Rb2、Rb3、Rc、Rd、Re、Rf、Rg1、Rg2、Rg1、F1、F2）の混合物を分析した結果、本条件では、Rb2 と Rg2 及び Rb3 を分離することができなかったが、人参の主ギンセノシド 5 種（Rb1、Rc、Rd、Rg1、Re）は、40 分以内の分析である程度分離可能であったため（図 12 上 2 段）、これら主ギンセノシド 5 種について、本条件で標品をもとに検量線を作成し、含量の定量を行った。なお、分析条件については、さらなる条件検討を加え、『B. 研究方法の「成分分析②」の条件②』に記載のグラジエント条件を用いることにより、上記ギンセノシド 12 種を含むピークを 45 分以内に良好に分離可能であった（図 12 下 2 段）。

水耕栽培ニンジン根の 60%メタノール抽出物について分析を行った結果、水育苗区では、Rg1 含量が $0.31 \pm 0.14\%$ 、Rb1 含量が $0.47 \pm 0.23\%$ 、養液育苗区では、Rg1 含量が $0.36 \pm 0.09\%$ 、Rb1 含量が $0.54 \pm 0.23\%$ と、育苗法の違いに関わらず、水耕栽培品は、播種後わずか約 1 年という短期間の栽培で、日局記載の薬用成分規格値（ギンセノシド Rg1 : 0.1% 以上、ギンセノシド Rb1 : 0.20% 以上）を達成した。また、この際、底面灌水方式、バブリング方式、ミスト方式の各栽培法による顕著な含量の違いは認められなかったが、バブリング方式では全体的に含量が高く、底面灌水方式では含量が低い傾向が認められた（図 13）。

これら水耕栽培品のギンセノシド含量を圃場で 2~6 年栽培したオタネニンジンや人参市場品生薬試料の含量と比較すると、概ね市場品生薬試料の含量のばらつきの範囲内におさまっていた。圃場栽培品では、栽培年数を経るにしたがって、Rc、Rd、Re 含量が減少し、逆に Rg1 含量が増加し、Rb1 は年生に依存しない傾向が認められたが、水耕栽培

品は、Re 含量が特に高く、2 年生根のギンセノシド組成に最も近い傾向にあった(図 13)。

Re、Rg1、Rb1、Rc、Rd の個体あたりの収量に関しては、水育苗区、養液育苗区ともに、底面灌水方式より、バブリング方式、ミスト方式の栽培の方がより高い収量を示した。また、水育苗区と養液育苗区とを比較すると、養液育苗区が全体的に高い収量を示し、特に、バブリング方式、ミスト方式での収量の増大が顕著であった(図 14)。

D. 考察

育苗に関して、バーミキュライトに発芽あるいは発根した種子を播種し、水を供給して育成したところ、播種約 1 ヶ月後における活着率は 67%であったが、本葉展開後も根腐れ等により枯死する株が認められたことから、水条件や支持体等について検討を加えることで活着率をより高めることができる可能性が考えられた。また、養液供給の開始時期については、播種約 1 ヶ月後より開始することで生育を促進することが可能であり、育苗時のみならず、その後の水耕栽培においても、初期より養液で育苗した株の方が総じて優れた生育を示したことから、本葉展開後もまもなくの地上部がまだ成長しきっていない時期、遅くとも播種 1 ヶ月後までに養液供給を開始することが適当であると考えられた。一方、養液育苗区では、主根の先端が褐変し、伸長が止まっている株が確認されたことから、根の先端が養液に触れることにより、傷害を受けている可能性が考えられ、発芽初期における最適な養液濃度に関しては 検討の余地があると考えられた。

オタネニンジンの芽切り種子を播種し、播種後 351 日目(アラシシステムによる育苗 144 日 + 水耕装置による栽培 207 日)まで育成した結果、栽培方式や育苗方法によらず、日局の含量の規格値を播種後約 1 年間と短期間の栽培で超えることが可能であることが明らかとなった。また、播種約 1 ヶ月後より養液で育苗を行い、バブリング方式、あるいは、ミスト方式で水耕栽培を行うことにより、径 5 mm 以上の乾燥根を得ることができ、底

面灌水方式や水育苗区と比べて収量の増加に成功した。

以上より、環境を人為的に制御できる閉鎖系栽培施設を利用して、養液を播種後比較的初期に加えて育苗したオタネニンジン苗を、バブリング方式あるいはミスト方式により水耕栽培することで、気象条件や自然災害の影響を受けることなく、また、病害虫、農薬、重金属等の汚染の少ない、安心・安全な人参を、従来の 1/5 以下の短期間の栽培で効率的に生産できる可能性が示された。

今後の課題としては、発芽および活着率を高める育苗条件、あるいは、組織培養等による増殖について検討することでより効率的な苗の供給条件を見出す必要がある。また、今回の栽培では、地上部が枯死後、休眠状態に入り、生育が止まったことから、より短期間で収量を高めるためには、簡便な新芽の萌芽条件について検討する必要があると考えられる。

E. 結論

オタネニンジンの水耕栽培による生産について検討した結果、育苗時に比較的初期より養液を供給することで、苗の生育が促進されることが明らかとなった。また、その後の水耕栽培では、底面灌水方式と比較し、バブリング方式では根の肥大が、ミスト方式では根の伸長が促進される傾向が認められた。これら結果より、播種後約 1 ヶ月から養液を供給し、ミスト方式、もしくは、バブリング方式で水耕栽培することにより、播種から約 1 年の短期間で、最大径が 0.5 cm 以上、かつ、ギンセノシド Rg1 含量が 0.25% 以上、ギンセノシド Rb1 含量が 0.37% 以上と日局の成分含量規格を満たす根を得ることに成功した。以上、水耕栽培法により、土耕栽培と比較し、短期間で効率的にオタネニンジンを生産できる可能性が示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 乾貴幸、矢野宏、酒井あゆみ、加藤さやか、河野徳昭、川原信夫、吉松嘉代：オタネニンジン実生苗の水耕栽培. 日本薬学会 第 134 年会 (2014. 3. 28-30, 熊本)
 - 2) 乾貴幸、矢野宏、酒井あゆみ、加藤さやか、河野徳昭、川原信夫、吉松嘉代：オタネニンジン実生苗の水耕栽培及びギンセノシド含量の比較. 日本生薬学会 第 61 年会 (2014. 9. 13-14, 福岡)
- G. 知的財産権の出願, 登録状況
- 1) 特願2013-263365、発明者：乾貴幸、吉松嘉代、河野徳昭、発明の名称：ウコギ科薬用植物の栽培方法、出願日 平成25年12月20日
 - 2) 出願番号PCT/JP2014/083781、発明者：乾貴幸、吉松嘉代、河野徳昭、発明の名称、ウコギ科薬用植物の栽培方法 出願日 2014年12月19日.

表 1 オタネニンジン実生苗の水耕栽培経過

栽培経過	栽培装置	温度 (°C)	CO ₂ 濃度 (ppm)	日長 (h)/照度 (lux)	水/養液	養液育苗区			水育苗区			
						播種後 日数	養液追加 後日数	水耕栽培 装置栽培	播種後 日数	養液追加 後日数	水耕栽培 装置栽培	
育苗	芽切り 種子播種	アラシステム (パーミキュライト)	20	-	14 h / ≤5000 lux	水	0	-	-	0	-	-
	養液供給 開始	アラシステム (パーミキュライト)	20	-	14 h / ≤5000 lux	大塚 A処方 1/8濃度	28	0	-	102	0	-
水耕栽培	栽培装置 へ移植	水耕栽培装置 (底面灌水(パーミ)/パブリング/ミスト)	20	800-1000	16 h / 1200 lux 前後	大塚 A処方 1/8濃度	144	116	0	144	42	0
	養液濃度 変更	水耕栽培装置 (底面灌水(パーミ)/パブリング/ミスト)	20	800-1000	16 h / 1200 lux 前後	大塚 A処方 1/4濃度	277	249	133	277	175	133
	収穫	水耕栽培装置 (底面灌水(パーミ)/パブリング/ミスト)	20	800-1000	16 h / 1200 lux 前後	大塚 A処方 1/4濃度	351	323	207	351	249	207



図 1 オタネニンジン実生苗の育苗概要

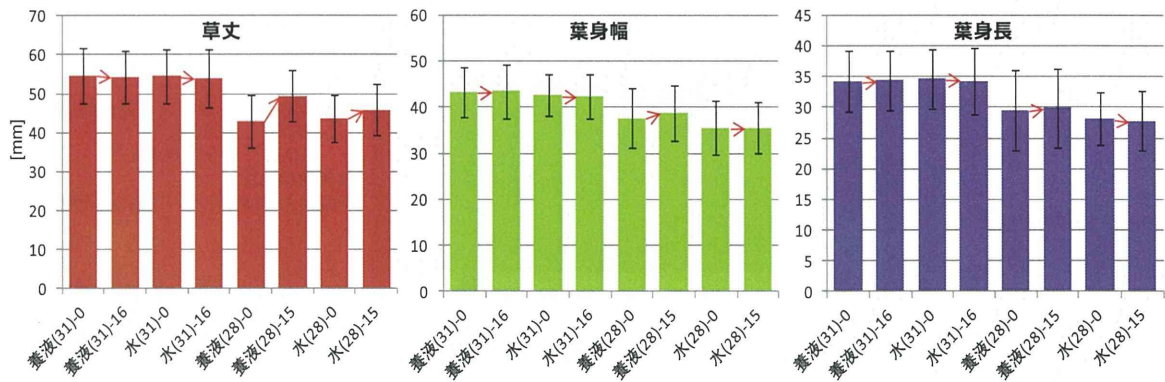
	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩
播種後日数	40	31	31	31	31	28	28	28	28	28
本葉展開	20	17	34	32	29	29	33	21	19	15
本葉枯れ	20	2	5	6	0	4	8	8	4	6
本葉未伸長	0	0	0	5	5	7	4	3	3	1
枯死	11	32	12	8	17	11	6	19	25	29
活着率(%)	78	37	77	84	67	78	88	63	51	43
播種時の主な種子の状態	発芽 発根	発根	発芽 発根	発芽 発根	発根	発芽 発根	発根	発根	発根	発芽 発根 /発根



*①, ②, ⑤, ⑦, ⑧, ⑨は、
播種時ラップで馴化処理せず
*③, ④, ⑥, ⑩は、
播種時ラップで馴化処理

$$\text{活着率} = \frac{\text{播種株数}(51 \text{ 株}) - \text{枯死株数}}{\text{播種株数}(51 \text{ 株})} \times 100$$

図2 播種後約1ヶ月後のオタネニンジン実生の生育



移植後の栽培日数 n = 51	養液(31)			水(31)			養液(28)			水(28)		
	草丈	葉身幅	葉身長	草丈	葉身幅	葉身長	草丈	葉身幅	葉身長	草丈	葉身幅	葉身長
0 mean	54.7	43.3	34.2	54.5	42.6	34.6	42.9	37.7	29.6	43.8	35.6	28.1
SD	7.0	5.5	5.0	7.0	4.5	4.8	6.7	6.4	6.6	6.1	6.0	4.3
15/16 mean	54.3	43.5	34.4	54.1	42.5	34.4	49.4	38.9	29.9	45.9	35.6	27.8
SD	6.8	5.8	4.8	7.4	4.9	5.4	6.6	6.0	6.5	6.6	5.6	4.9

[mm]

図3 移植時及びその後約2週間(15/16日間)栽培したオタネニンジン実生苗の地上部の生育比較

図中で、養液(31)、養液(28)、水(31)、水(28)は、播種後31日目、又は28日目に実生の移植を行い、養液、又は、水のみを供給して栽培したことを示す。また、0、15、16はその移植後の栽培日数を示す。

例：「水(28)-15」は、播種後28日目に移植して、水のみ供給で15日間栽培した時の生育を示す。

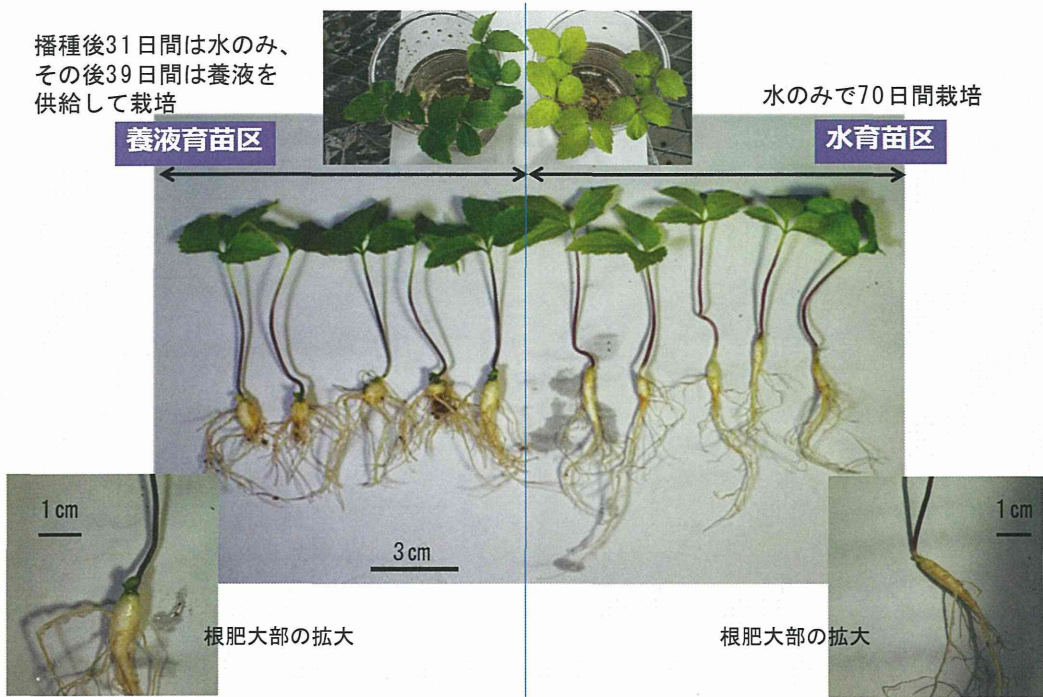


図 4 播種 70 日後まで育成したオタネニンジン実生

草丈及び葉、根の大きさの比較 (水育苗区=1)

新鮮重量の比較 (水育苗区=1)

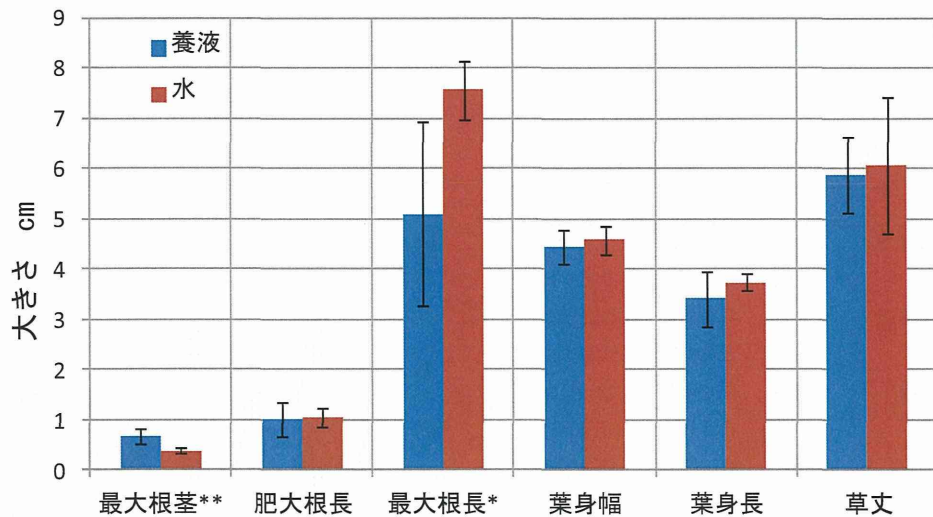
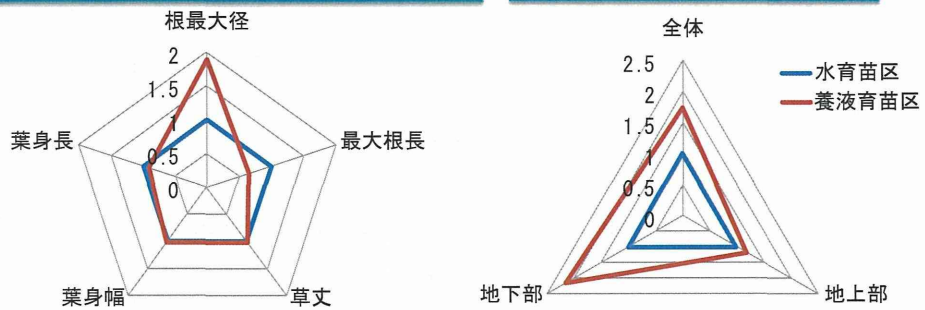
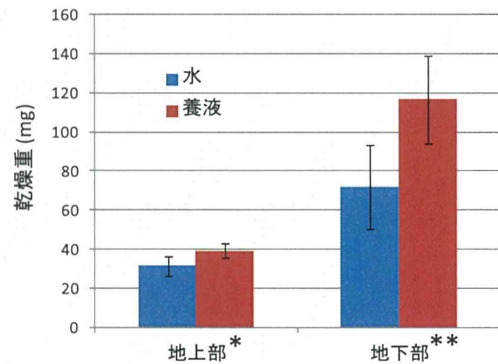
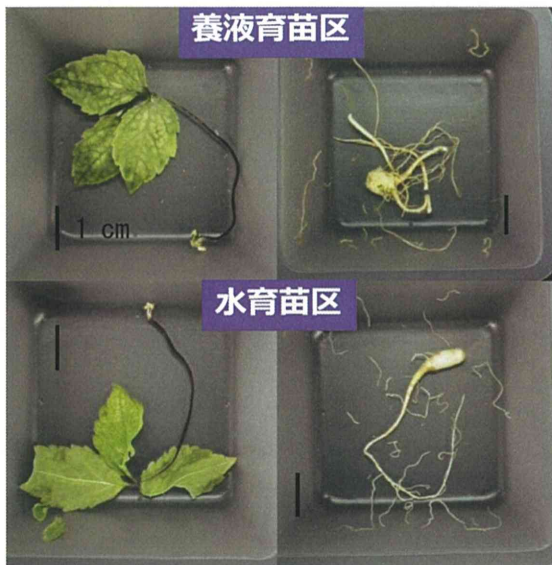


図 5 播種 70 日後まで育成したオタネニンジン実生の生育比較 (育苗法の違い)

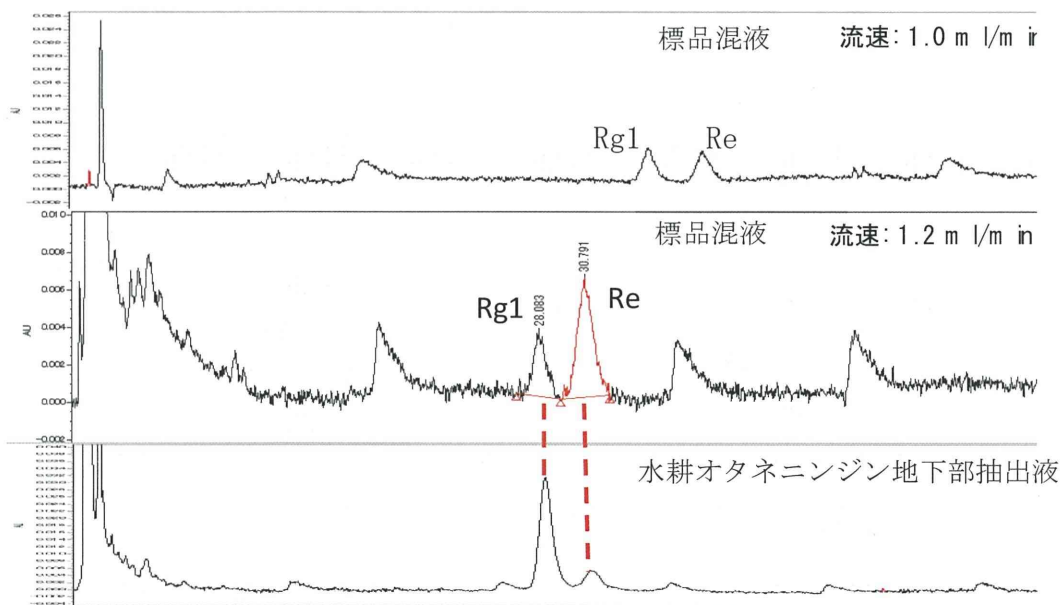
*t 検定にて危険率 5%で有意差あり、** t 検定にて危険率 1%で有意差あり



* t検定にて危険率5% で有意差あり
** t検定にて危険率1% で有意差あり

	地上部		地下部	
	養液	水	養液	水
mean	39.2	31.4	116.6	71.8
SD	3.9	4.9	22.4	21.3

図 6 70 日間育成したオタネニンジン実生の凍結乾燥物及び乾燥



ギンセノシド含量 [% D.W.]		
	Rg1	Re
地上部(養液)	mean 0.082	0.150
	SD 0.044	0.064
地下部(養液)	mean 0.103	0.131
	SD 0.082	0.063
地上部(水)	mean 0.043	0.051
	SD 0.019	0.023
地下部(水)	mean 0.103	0.132
	SD 0.070	0.082

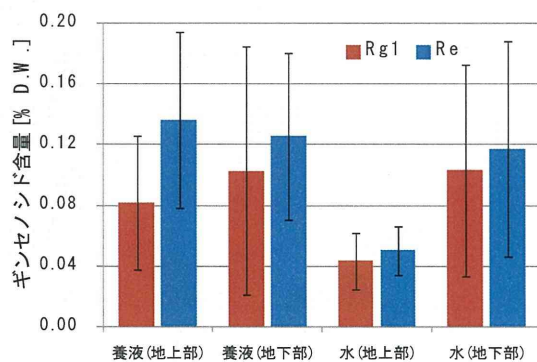
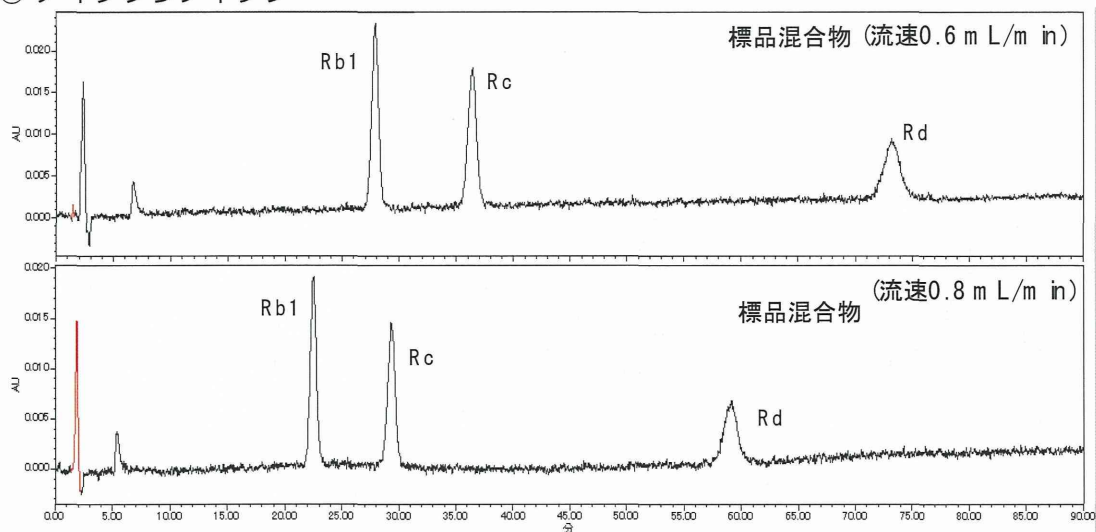


図 7 ギンセノシド Rg1、Re の HPLC 分析条件の検討及び 70 日間育成したオタネニンジン実生のギンセノシド Rg1、Re 含量の分析

① アイソクラティック



② グラジエント

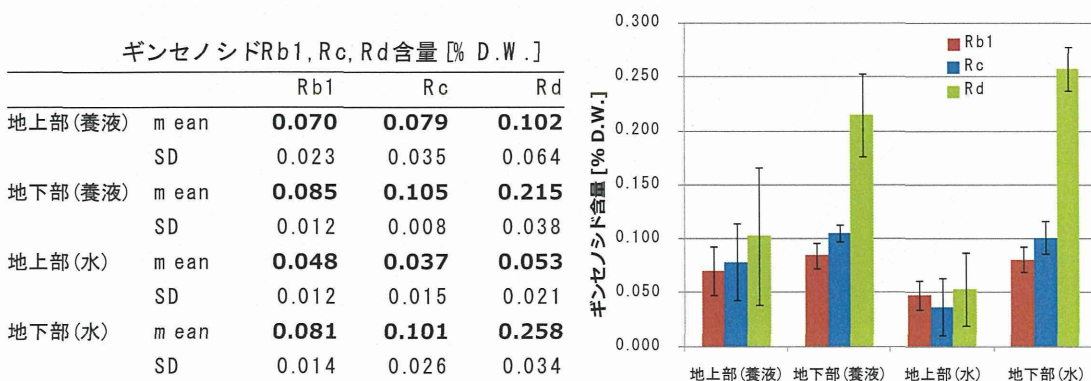
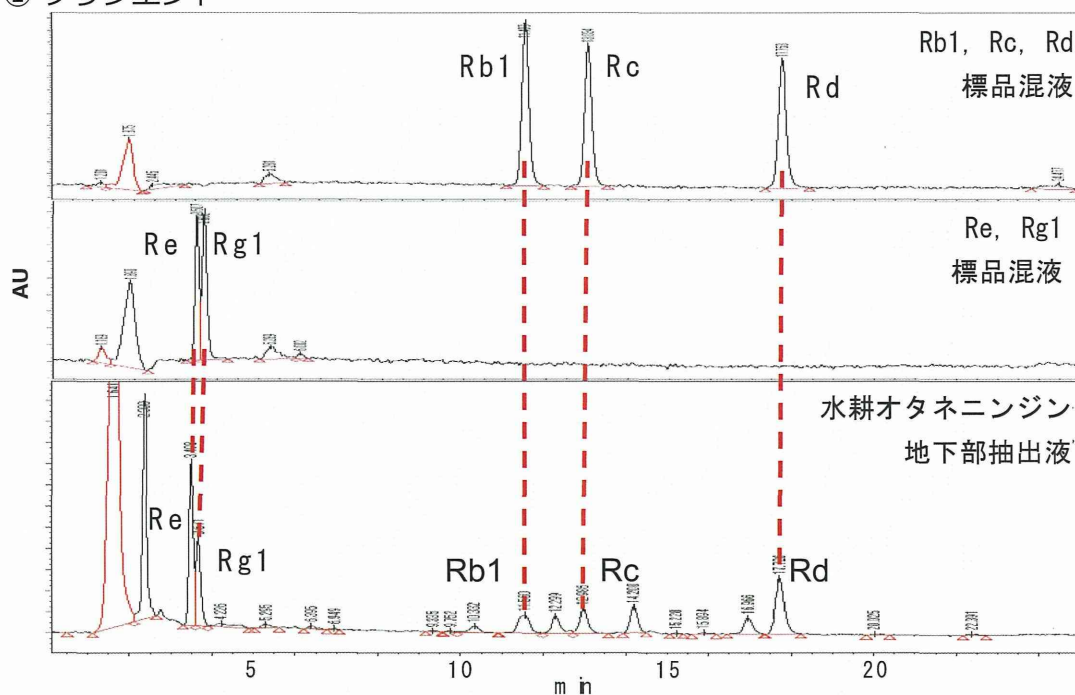


図 8 ギンセノシド Rb1、Rc、Rd の HPLC 分析条件の検討及び 70 日間育成したオタネニンジン実生のギンセノシド Rb1、Rc、Rd 含量の分析

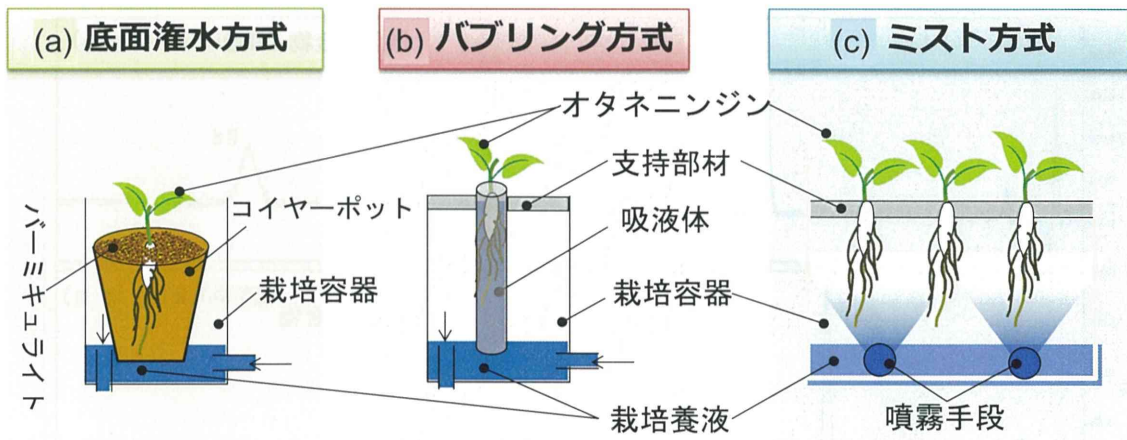


図9 オタネニンジン実生苗の水耕栽培方式の概要

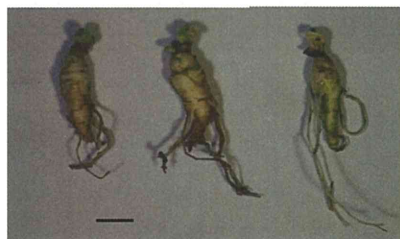
1. 養液-底面灌水



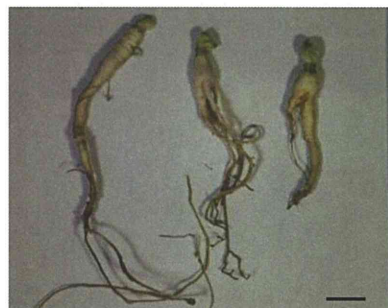
4. 水-底面灌水



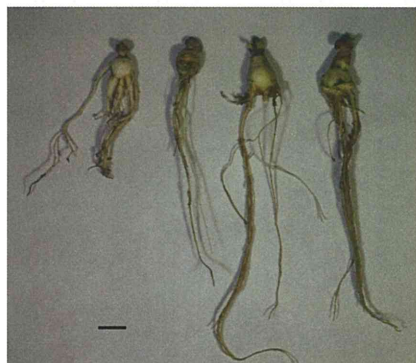
2. 養液-バブリング



5. 水-バブリング



3. 養液-ミスト

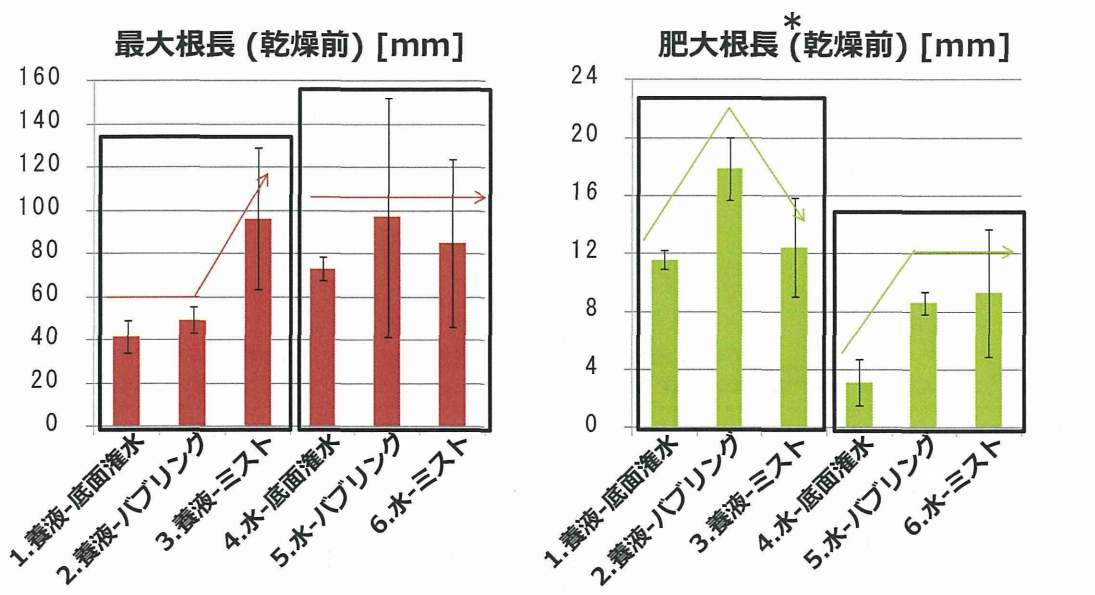


6. 水-ミスト



図10 207日間水耕栽培したオタネニンジン実生苗の生育比較
(育苗法/栽培法による違い)

* 収穫時、いずれの株も地上部はすでに枯死。 — : 1cm



* 乾燥前の状態で径が 5 mm 以上の根の長さ

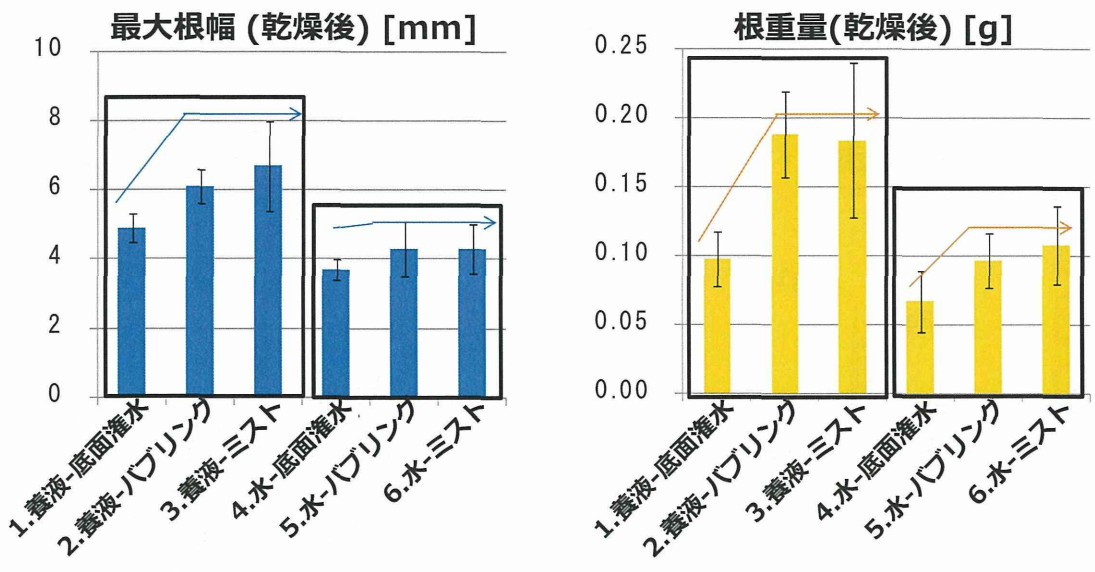


図 11 207 日間水耕栽培したオタネニンジン実生苗の生育比較 (育苗法/栽培法による違い)

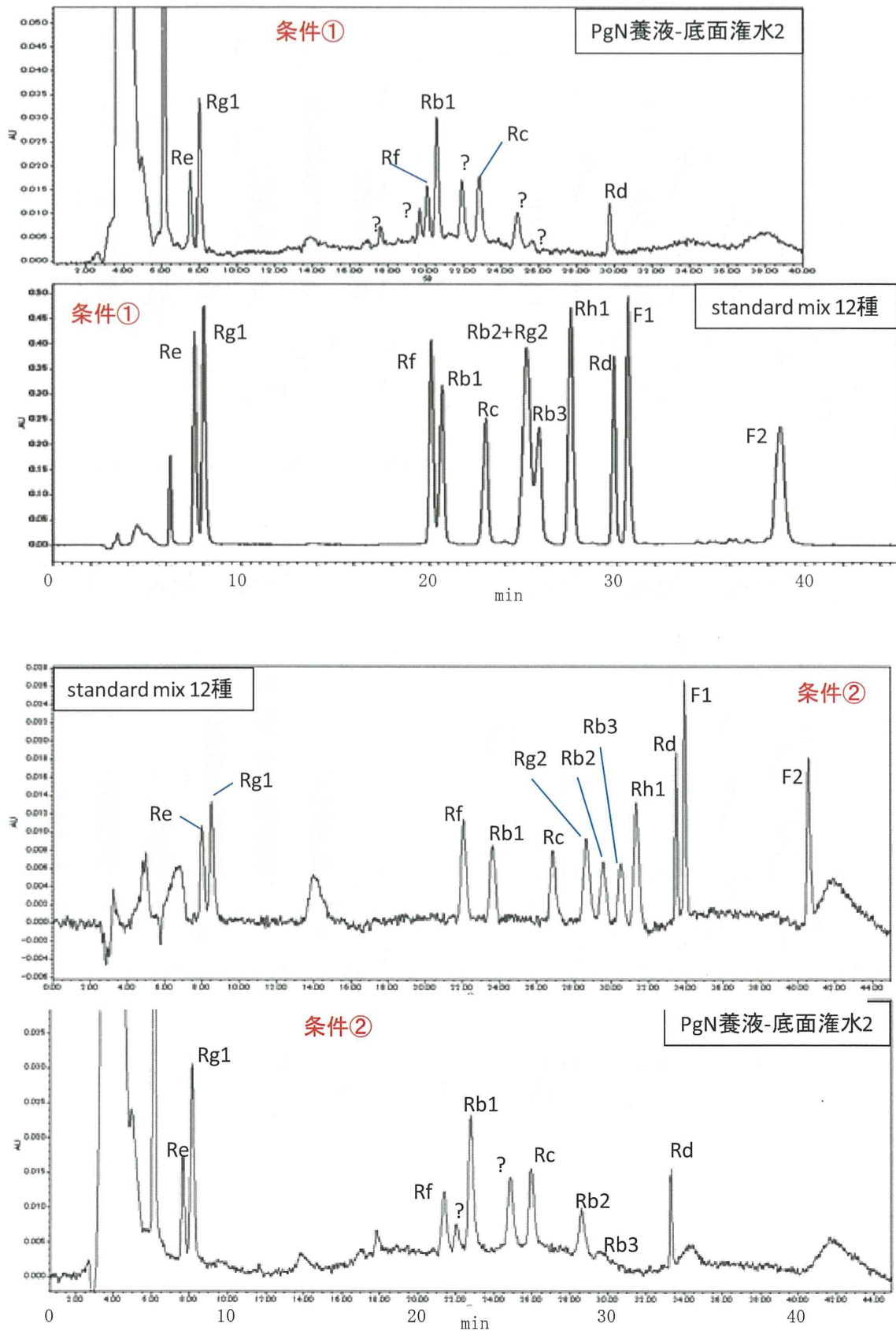


図 12 207 日間水耕栽培したオタネニンジン実生苗の乾燥根中に含まれるギンセノシド類の分析

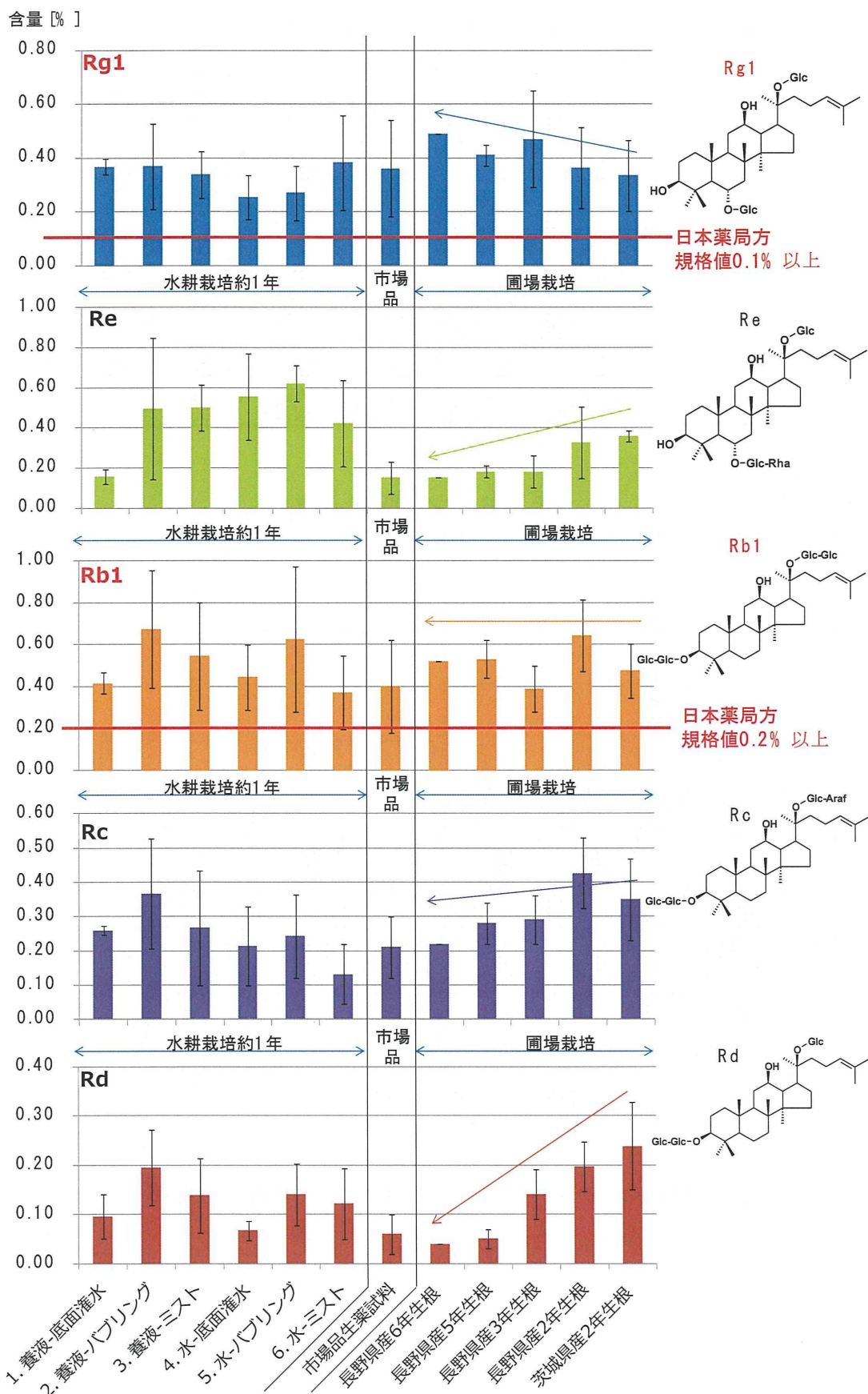


図 13 水耕栽培、圃場栽培オタネニンジン乾燥根及び人参市場品生薬試料中の主要ギンセノシド含量の比較

育苗法	栽培法	ジンセノシド収量 [m g]					
		Re	Rg1	Rb1	Rc	Rd	
養液	底面灌水	mean SD	0.157 0.072	0.362 0.103	0.412 0.139	0.255 0.064	0.099 0.067
	バブリング	mean SD	0.946 0.652	0.661 0.209	1.259 0.499	0.680 0.274	0.368 0.152
	ミスト	mean SD	0.869 0.083	0.585 0.056	0.894 0.177	0.421 0.142	0.223 0.055
	全体	mean SD	0.678 0.478	0.541 0.172	0.859 0.436	0.449 0.234	0.229 0.139
	水	底面灌水	mean SD	0.341 0.036	0.160 0.045	0.274 0.022	0.126 0.022
水	バブリング	mean SD	0.609 0.206	0.260 0.102	0.608 0.328	0.240 0.131	0.136 0.060
	ミスト	mean SD	0.471 0.245	0.378 0.110	0.371 0.140	0.128 0.074	0.126 0.069
	全体	mean SD	0.473 0.204	0.277 0.127	0.413 0.225	0.161 0.093	0.104 0.065

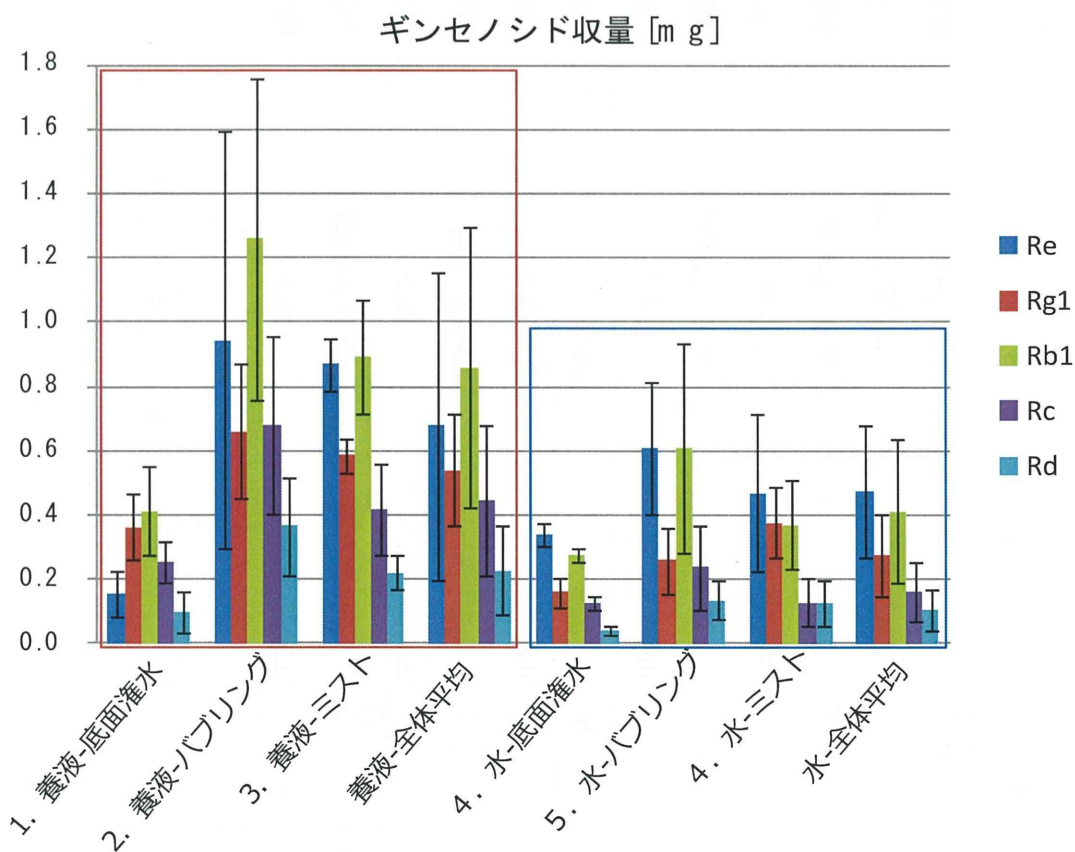


図 14 水耕栽培方式の違いによるオタネニンジン根の主要ジンセノシド (Re、Rg1、Rb1、Rc、Rd) 収量の比較