

株あたり)は、A区は約178g、B区は約150g、C区は約73gであった(図21)。なお、冬期は夏期と比べて黄化葉や小型の葉が多く見られた。

4) 葉身の乾物重率は夏期には約24%、冬期は約20%であり、冬期にやや低下する傾向が見られた。一方、葉柄の乾物重率は夏期も冬期も約13.5%で変わらなかった(表5)。

5) 10aあたり通年の葉身収量を試算したところ、C区では収量が著しく少なかったが、夏期において地上部の収穫を半分にとどめていたB区では、最も収量の多いA区の約87%が確保された(表3)。

6) A～C区において根部収量はC区、B区、A区の順に有意に多くなり、根部の1株あたり平均収量はおよそA区で290g、B区で430g、C区で505gであった(図22)。

7) 10aあたりの根部収量(製品重)を試算したところ、B区ではC区の約87%が確保された(表7)。

D. 考察

A～C区の根部収量の差は夏期の地上部収穫方法の違いが反映したものと考えられる。即ち、8月14日に地上部を全部刈り取ることが収量に大きく影響したことが示唆された。B区では葉身の収量もある程度確保されることから、葉身と根部を同時に栽培する場合には、夏期の地上部収穫を部分的にとどめる作型が有望であると考えられる。地上部と根部の両者を最大限に収穫するには、夏期の地上部の刈り取る時期や量を精査する必要があることが判明した。

E. 結論

夏期に地上部を全て収穫すると1株あたりの地上部の収量は多くなるが、枯死株も多く発生し、根部収量も減少する。一方、夏期において地上部の収穫を半分にする作型では、地上部と根部の収量のある程度確保することができる。

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

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

【7】ヤマトトウキにおける地上部の収穫・調整に要する作業時間の評価(米田健一・浅尾浩史)

A. 研究目的

近年、ヤマトトウキにおいては地上部の食用利用が進められているが、地上部収穫にかかる労力については検討されていない。そこで、地上部の収穫と調整に要する作業時間について調査を行った。

B. 研究方法

1) 供試材料

圃場内に植栽されているヤマトトウキ 60株(定植は2014年4月17日)。

2) 調査方法

2014年12月2日にAとBの作業員2名(表1)が剪定鋏を用いて供試株の地上部を全て収穫した(図23)。ただし、根頭部の幼芽は刈り取らずに残した。

また、収穫作業時には記録担当者がビデオカメラを用いて作業員を追従する形で作業の様子を撮影記録し、後日再生映像を見ながらストップウォッチで各供試株の地上部収穫(刈り取り作業)に要した時間を計測した。ただし、作業員が収穫の途中で収穫物を一旦袋に入れる動作については作業時間より除外した。

さらに、収穫した地上部は直ちに3名の作業員(表9)により葉身と葉柄をハサミで分離され(図24)、黄化葉を除去したのちそれぞれの重量を測定した(なお、地上部重=葉

身重+葉柄重として集計した)。また、そのうち 32 株の供試株については、葉身と葉柄の分離に要した時間をそれぞれストップウォッチで測定した。

C. 研究結果

1) 地上部収量と作業時間の間には有意な相関があったが (pearson 検定、 $p<0.01$)、作業者 A では B と比べて収量あたりの作業時間が短くなる傾向が見られた。また、回帰直線より地上部収量 200g あたりの作業時間は作業者 A では約 30 秒、作業者 B では約 40 秒と推定され (図 25)、地上部 1kg あたり約 2.5 ～3.5 分と見込まれる。

2) 葉身と葉柄の分離作業は地上部収量と有意な相関があった (pearson 検定、 $p<0.01$)。回帰直線より地上部収量 200g あたりの 3 名での作業時間は約 300 秒と推定され (図 26)、地上部 1kg あたり約 25 分かかると見込まれる。

D. 考察

冬期における地上部の収穫にかかる時間は、個人差はあるが地上部 1kg あたり約 2.5 ～3.5 分であり、既報より冬期の 10a あたり地上部収量を約 500kg とすると、約 20～29 時間/10a を要すると見込まれる。

冬期の 10a あたり地上部の収穫量を約 500kg とすると葉身と葉柄の分離作業に約 208 時間/10a を要すると見込まれる。

E. 結論

ヤマトトウキの地上部の収穫から調整までに、約 230 時間/500kg/10a を要した。ヤマトトウキの葉を食材として販売する場合、収穫や調整の作業の効率化が今後の課題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
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

【8】異なる播種時期がミシマサイコの収量に及ぼす影響 (東井慈子・浅尾浩史)

A. 研究目的

ミシマサイコはセリ科の多年生草本で、乾燥根が生薬として利用される薬用作物である。作型には、秋まきあるいは春まきがあり、翌年あるいは翌々年の冬に収穫を行うため栽培期間は約9ヶ月～2年と開きが大きい。発芽適温は15～20℃で、県では主に南部の山間部で栽培されており、播種は11月下旬または3月に行われている。今回、平坦部で栽培を行うにあたって、播種日の差による収量への影響を調査した。

B. 研究方法

1) 供試材料

2012 年産、ミシマサイコ種子。

2) 試験区

平年の最高気温が 15℃～20℃となる時期の前後に播種日を決め、以下の 8 区に分けて播種を行った。

・秋まき：2013 年 10 月 18 日、10 月 28 日、11 月 7 日、11 月 17 日

・春まき：2014 年 3 月 12 日、3 月 22 日、4 月 1 日、4 月 11 日

3) 耕種概要

2013 年 10 月 18 日から 2014 年 4 月 11 日まで、8 回に分けて播種を行った。畝幅 80cm、畝高 20cm、天 30cm、幅 15cm の 2 条まきとし、播種量は 1kg (2L) /10a、作業は鎮圧・播種・覆土・鎮圧・籾殻被覆の順に行った。10a あたり、元肥として A801 (8-8-8) を 100kg (N 8kg、P 8kg、K 8kg)、BM ようりん (0-0-20)

を 40kg (P 8kg)、苦土石灰を 100kg、また追肥ではくみあい 464 (14-16-14) を 5、7、8、10 月に分けて 100kg (N 14kg、P 16kg、K 14kg)、綿実油かす (5-2-1) を 7、8 月に分けて 60kg (N 3kg、P 1.2kg、K 0.6kg)、過りん酸石灰 (0-17.5-0) を 8 月に 30kg (P 5.25kg) 施用した。発芽後 7cm 間隔の千鳥となるよう 3 回に分けて間引きを行った。また 6 月下旬に 30cm の高さになるよう摘芯を行い、以降 9 月下旬まで毎月、10cm ずつ高さを上げて行った。2014 年 12 月 18 日に収穫、水洗い後、風乾させて、翌 2015 年 1 月 26 日に根部乾物重を測定した。収穫は各区 0.8 m² (1m×0.8cm)・3 反復で行った。

C. 研究結果

1) 播種期間中の平均最高気温がミシマサイコの発芽適温とされている 15～20℃となったのは、秋では 2013 年 10 月 31 日～11 月 19 日、春では 2014 年 3 月 20 日～4 月 8 日であった (図 27)。

2) 発芽は、秋まき 10 月 18 日および春まき 3 月 12 日、3 月 22 日、4 月 1 日では、播種後 30 日程で見られたが、他区では遅れが見られ、特に 11 月 17 日播種では翌春 3 月まで発芽しなかった。また、他の秋まき区においても翌春に遅れて発芽するものが多数見られ、生育に遅れが見られた。冬季に発芽した株は冬場にほとんど成長せず、霜柱等によって根が浮いている株も観察された (図 28)。なお、4 月 11 日播種は他の区に比べて明らかな発芽の減少が見られた。

3) 試験区 0.8 m²あたりの収量は、秋まきおよび春まき 3 月 12 日、3 月 22 日では 30.2～37.8g であったが、4 月 1 日播種で 26.5g、4 月 11 日播種で 17.2g となり低くなった。特に 4 月 11 日播種は 3 月 22 日播種に対して

有意に低くなった (図 29)。

4) 株あたりの乾物重は、秋まき区が 1.8g～2.3g であったのに対して、春まき区で 1.3g～1.5g と軽い傾向にあった。特に 11 月 17 日播種は 3 月 12 日、3 月 22 日、4 月 11 日播種に対して有意に大きくなった (図 30)。

D. 考察

ミシマサイコは発芽適温が 15～20℃と言われているが、秋まきの場合、発芽のバラツキや冬場の霜などによって根に痛みを受けやすいため、今後の試験では 11 月 17 日 (最高気温 17.1℃、平均最低気温 4.5℃、平均気温 9.5℃) 以降に播種を行い、翌春に発芽をそろえることが適切だと考えられる。

E. 結論

ミシマサイコを 2013 年 10 月 18 日～11 月 17 日 (秋まき)、および 2014 年 3 月 12 日～4 月 1 日 (春まき) に播種して 2014 年 12 月 18 日に収穫すれば、同程度の収量が得られることが判明した。一方、株あたり乾物重は 2013 年 11 月 17 日に播種することで高くなる傾向になった。

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
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

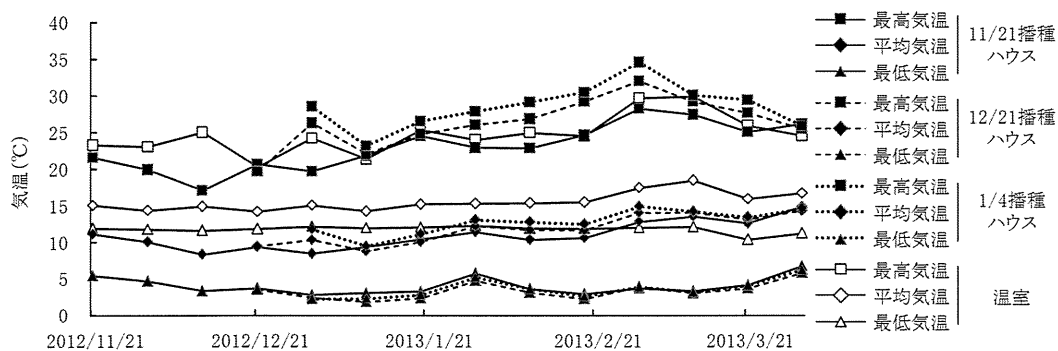


図1 育苗期間中の気温の変化

10日毎の平均値

ハウス育苗では2012/11/29～2013/3/8にトンネル被覆を行った

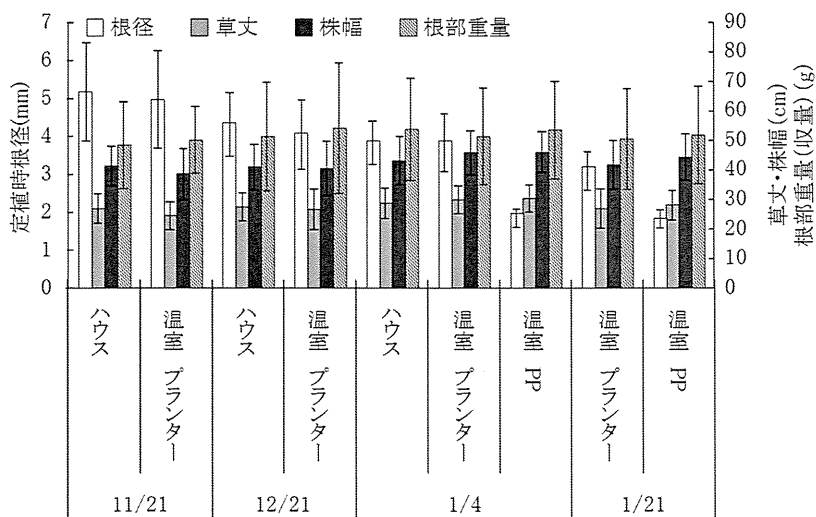


図2 ヤマトトウキの播種時期と育苗環境が、定植時の根径、生育及び収穫後の根部重量（収量）に及ぼす影響

図中の縦棒は標準偏差（n=2～21）

表1 本圃での草丈あるいは株幅と収穫後の根部重量(収量)の関係

播種日	育苗環境	R ²	
		草丈・収量	株幅・収量
11/21	ハウス	0.8597	0.7815
	温室プランター	0.9525	0.9519
12/21	ハウス	0.4815	0.1015
	温室プランター	0.1749	0.1766
1/4	ハウス	0.6970	0.2750
	温室プランター	0.7428	0.1135
	温室PP	0.9202	0.9093
1/21	温室プランター	0.8354	0.7313
	温室PP	0.3306	0.3676

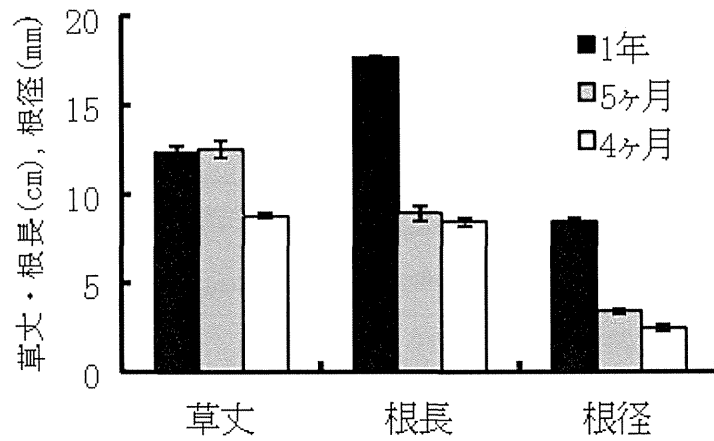


図3 ベッドを用いた育苗期間の短縮がヤマトウキの定植時の生育に及ぼす影響 (n=3)
図中のバーは標準誤差を示す

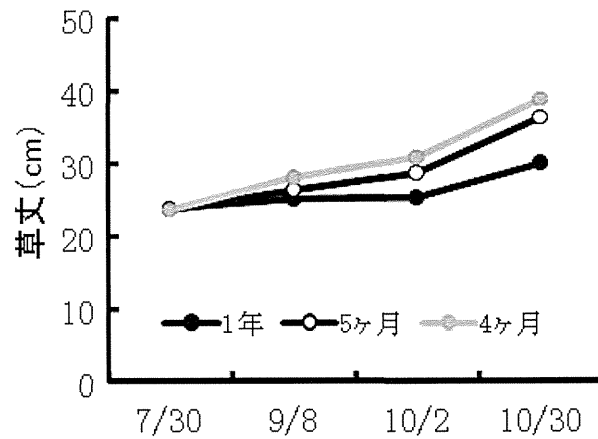


図4 ベッドを用いた育苗期間の短縮が定植後の草丈に及ぼす影響 (n=3)

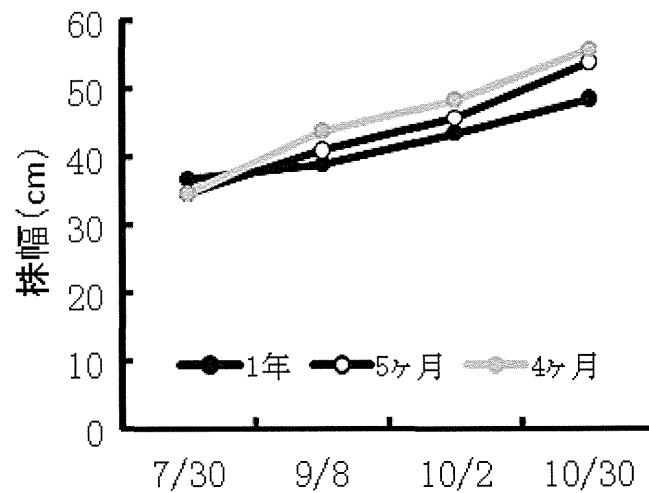


図5 ベッドでの育苗期間の短縮が定植後の株幅に及ぼす影響 (n=3)

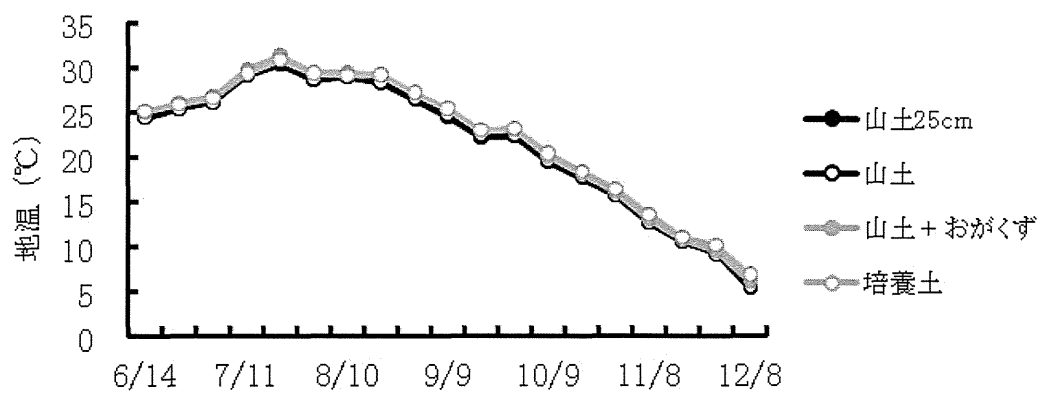


図6 ベッド育苗での各土壌における地温の推移
値は10日毎の平均値

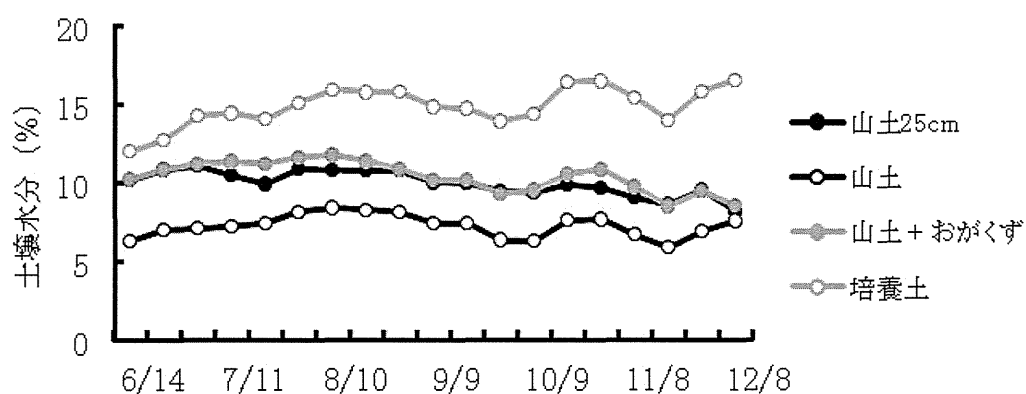


図7 ベッド育苗での各土壌における土壌水分の推移
値は10日毎の平均値

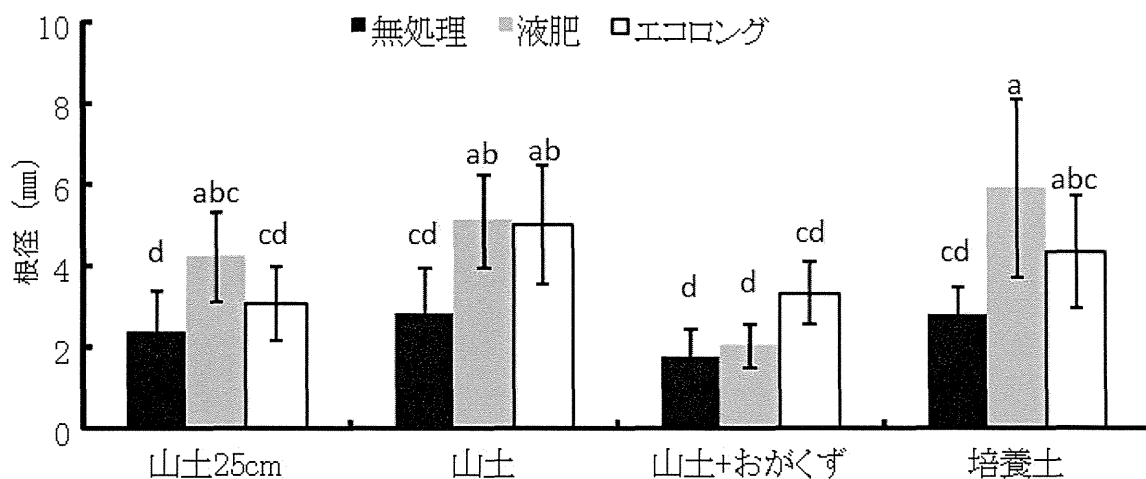


図8 ベッド育苗における土壌と施肥の違いが苗の根径に及ぼす影響 (n=15)
図中の縦棒は標準偏差を示す。異なる文字間にはTukey-Kramer法により
5%水準で有意差あり。

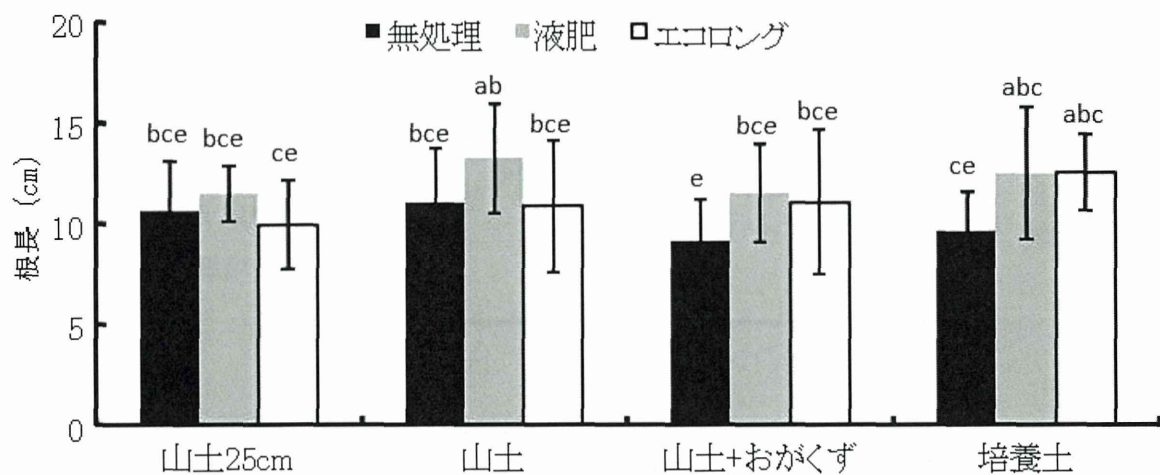


図9 ベッド育苗における土壌と施肥の違いが苗の根長に及ぼす影響 (n=15)
 図中の縦棒は標準偏差を示す。異なる文字間にはTukey-Kramer法により
 5%水準で有意差あり。

表2 夏季（7月～9月）のネットハウス内・外における気温・湿度・地温およびその差

時間帯	気温(℃)		湿度(%RH)		地温(℃)		
	無処理	2mmネット	無処理	2mmネット	無処理	2mmネット	4mmネット
00:01-06:00	21.6	21.5 (-0.1) ²	87.8	94.1 (6.3)	25.5	25.9 (0.4)	25.3 (-0.2)
06:01-12:00	26.5	27.1 (0.6)	71.9	73.3 (1.4)	25.1	25.5 (0.5)	24.9 (-0.2)
12:01-18:00	29.5	29.9 (0.4)	61.6	62.1 (0.5)	26.2	26.6 (0.4)	26.4 (0.2)
18:01-24:00	24.2	24.2 (0.0)	79.2	83.3 (4.1)	26.3	26.6 (0.3)	26.3 (0.1)
夏季全期間	25.4	25.7 (0.3)	75.1	78.2 (3.1)	25.7	26.1 (0.4)	25.7 (0)

²無処理区とネット区の差



図10 ネット栽培の風景と気象観測装置の設置

表3 ネットハウス内外における降雨量 (mm) (抜粋)

処理区	7/3	7/4	7/6	7/7	7/8	7/9	7/10	7/11	調査全期間
無処理	23.2	1.6	19.0	1.0	0.4	6.8	18.0	0.6	905.6
2mmネット	21.8	1.6	18.0	0.8	0.2	6.2	17.2	0.2	848.6
無処理/2mmネット	0.94	1.00	0.95	0.80	0.50	0.91	0.96	0.33	0.937

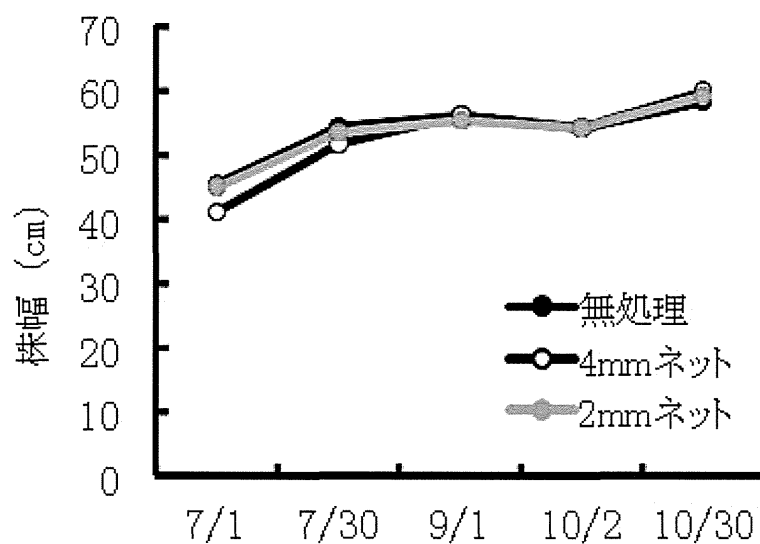


図11 ネットハウスの有無における株幅の推移

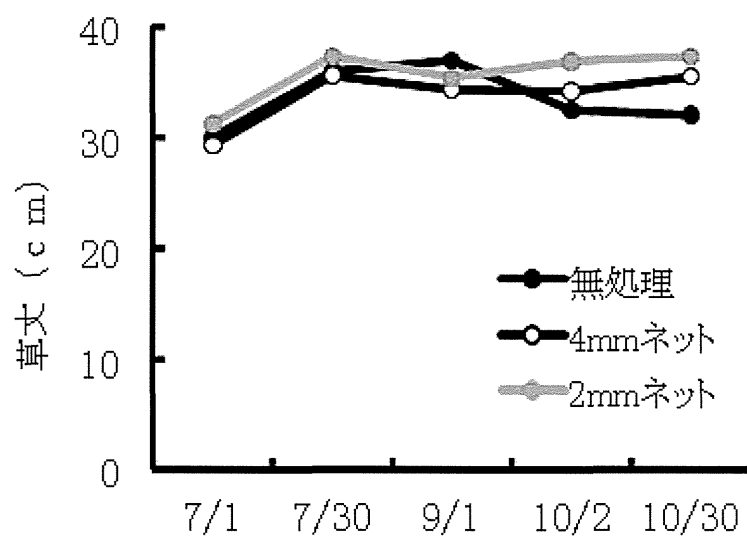


図12 ネットハウスの有無における草丈の推移

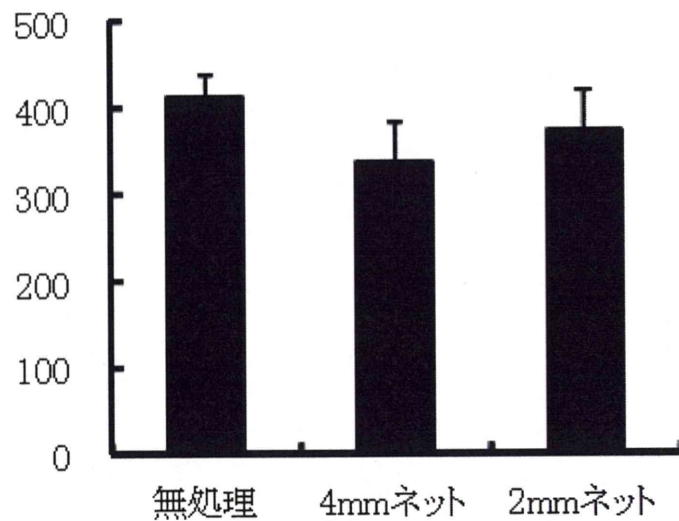


図13 ネットハウスが収穫時の根部重量に及ぼす影響
図中の縦棒は標準誤差 (n=5)

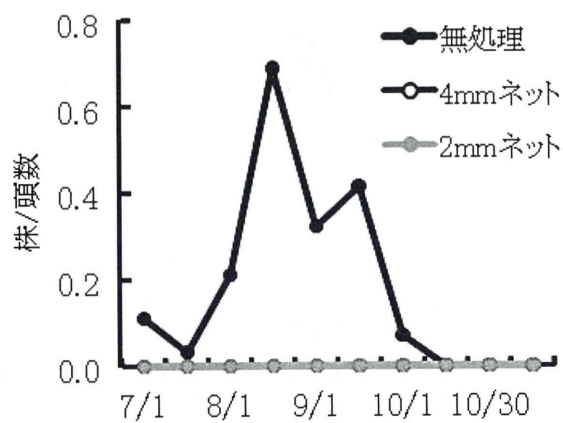


図14 ネットハウスの有無における株あたりのキアゲハ幼虫の頭数の推移

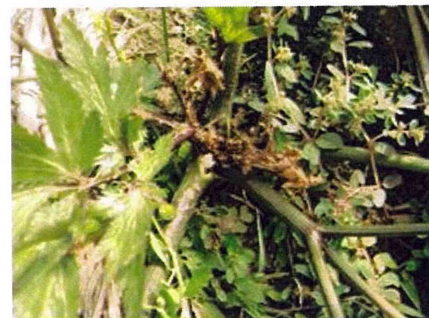
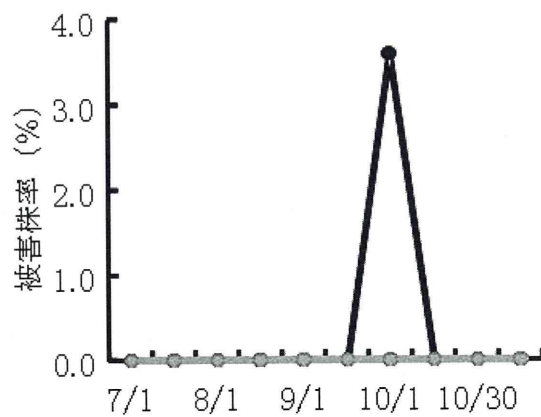


図15 ネットハウスの有無におけるクロモンシロハマキ被害の推移

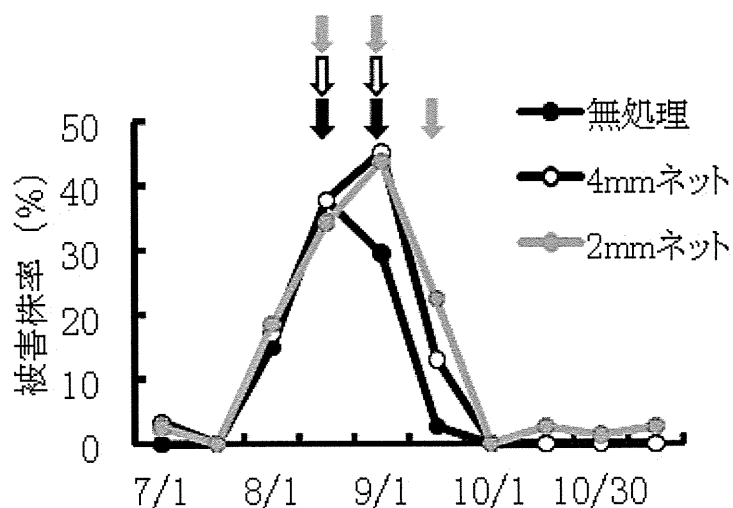


図16 ネットハウスの有無におけるハダニ被害の推移
矢印は気門封鎖剤散布を示す

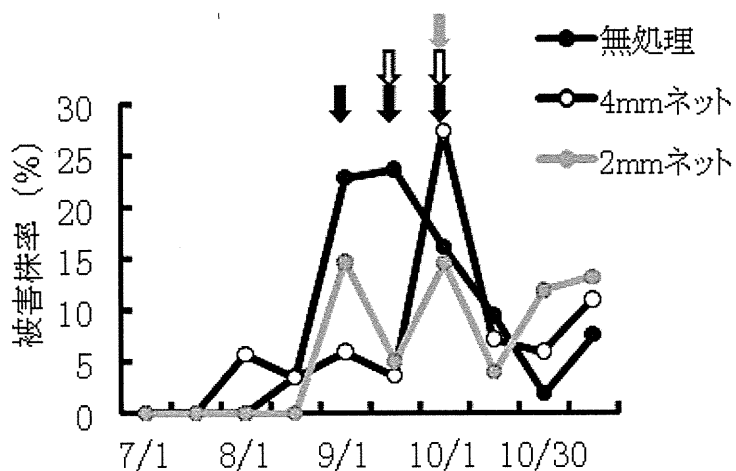


図17 ネットハウスの有無におけるアブラムシ被害の推移
矢印は気門封鎖剤散布を示す

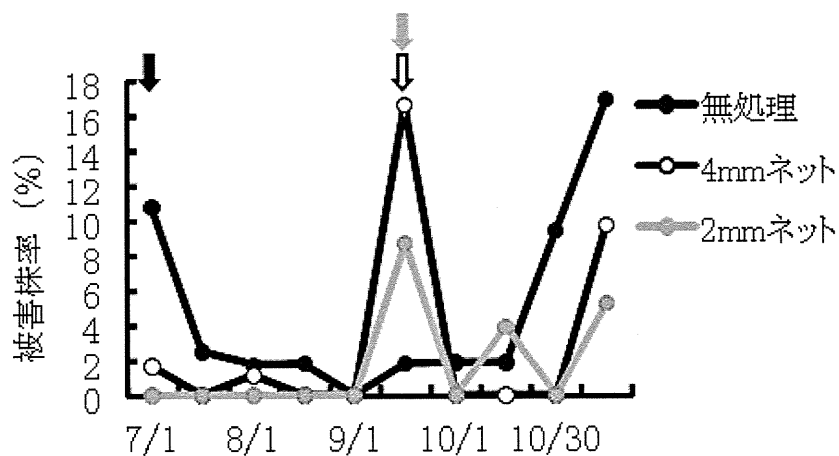


図18 ネットハウスの有無におけるネアブラムシ被害の推移
矢印は気門封鎖剤散布を示す

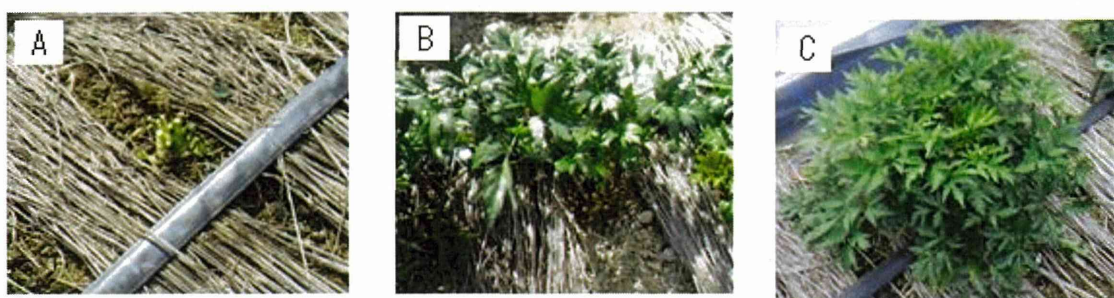


図19 各地上部収穫方法の様子（夏期収穫時）

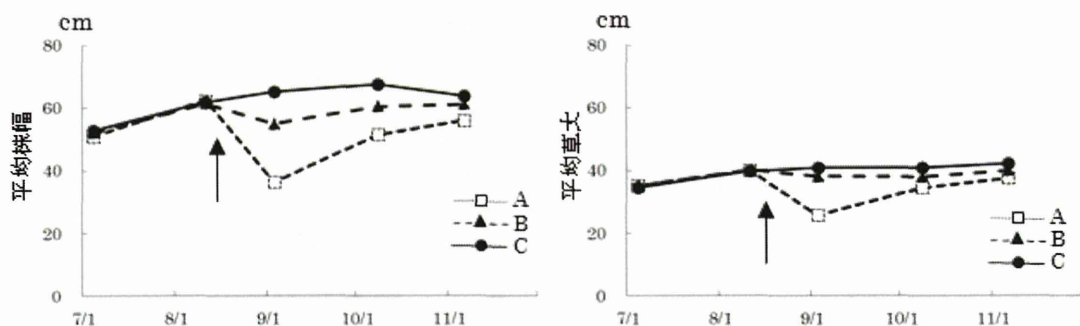


図20 各収穫方法における株幅と草丈の推移（矢印：収穫時期）

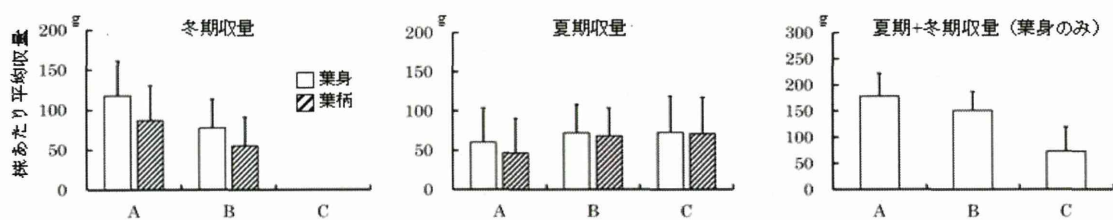


図21 各収穫方法における葉身と葉柄の収穫量（縦棒：標準偏差）

表4 各収穫方法における枯死株と抽苔株数

区	供試株数	枯死株数（率）	抽苔株数（率）
A	60	11 (18.3%)	2 (3.3%)
B	60	0 (0.0%)	5 (8.3%)
C	60	0 (0.0%)	6 (10.0%)

表5 葉身と葉柄の乾物重率

収穫時期	サンプル数	葉身の乾物重率(%)	葉柄の乾物重率(%)
夏期	18	23.9±1.9	13.6±0.6
冬期	19	19.7±1.9	13.3±1.2

* 平均±標準偏差

表6 各収穫方法における葉身収量試算

区	活着株数/10a ⁻¹	夏期平均葉身重(g/株)	枯死率(%)	抽苔率(%)	冬期残存株数/10a	冬期平均葉身重(g/株)	葉身収量(kg/10a)
A	4,000	117.8	18.3	3.3	3,136	60.2	660.0
B	4,000	77.3	0.0	8.3	3,668	72.4	574.8
C	4,000	0.0	0.0	10.0	3,600	72.7	261.7

* 1. 5,000株/10a栽植、活着率80%として試算

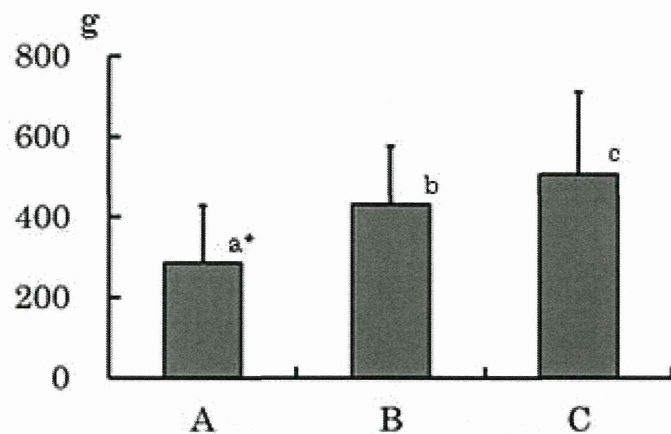


図22 A～C区における供試株の根部収穫量（生重、縦棒は標準偏差を表す）
*異なるアルファベット間ではSteel-Dwass検定により有意水準1%で有意差があることを示す。

表7 A～C区における根部収量（製品）試算

区	活着株数/10a ^{*1}	枯死率(%)	抽苔率(%)	冬期残存株数/10a	平均根重(g/株)	製品根部収量(kg/10a) ^{*2}	葉身収量(kg/10a) ^{*3}
A	4,000	18.3	3.3	3,136	286.9	296.9	660.0
B	4,000	0.0	8.3	3,668	431.3	522.1	574.8
C	4,000	0.0	10.0	3,600	506.5	601.7	261.7

* 1 5,000株/10a栽植、活着率80%として試算

* 2 湯もみ乾燥後の製品重量率を33%として試算

* 3 既報より

表8 収穫作業における作業者の概要

作業者	性別	年齢	収穫株数
A	男性	38	25
B	男性	28	35



図23 地上部収穫作業の様子

表 9 調整作業における作業者の概要

作業者	性別	年齢
1	男性	28
2	男性	38
3	男性	46



図24 葉身と葉柄の分離作業の様子

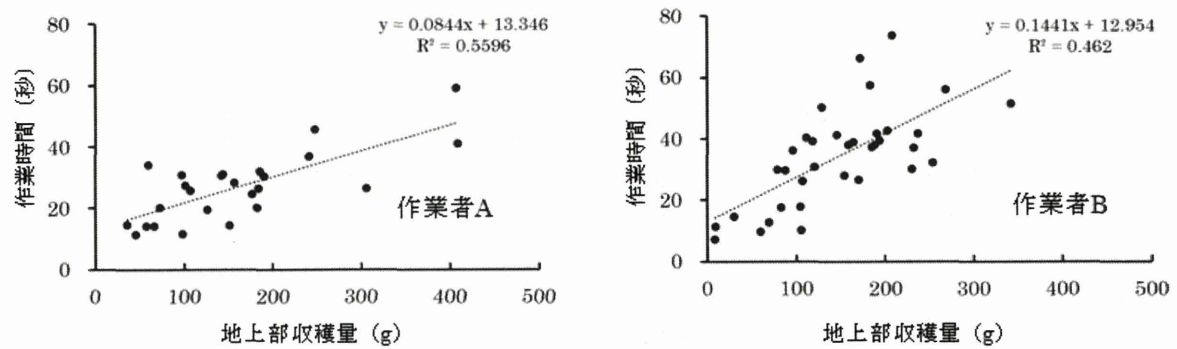


図25 各供試株における地上部の収穫量と収穫に要する時間との関係

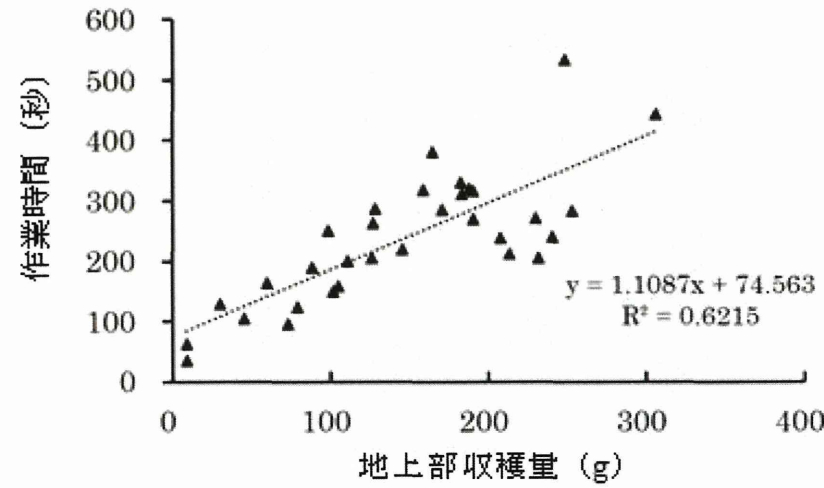


図26 各供試株における地上部の収穫量と葉身と葉柄の分離作業に要する時間の関係（3名での作業）

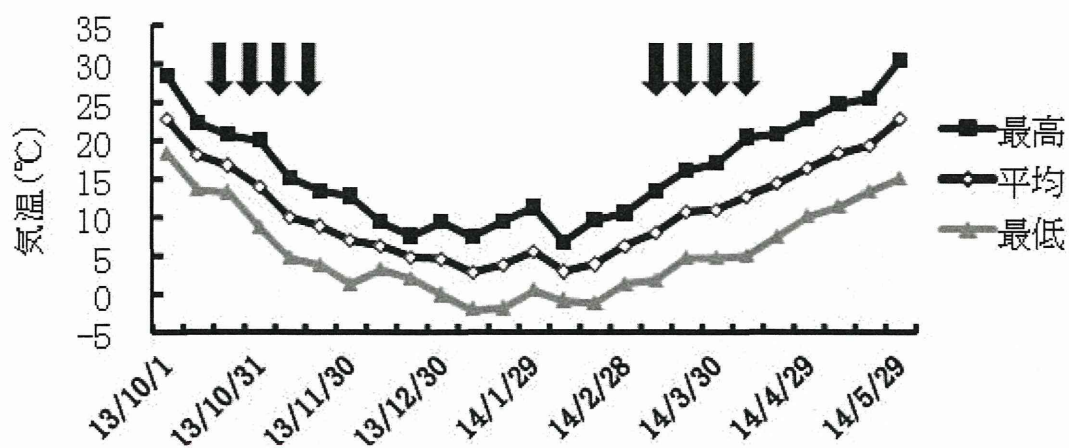


図27 ミシマサイコの播種時期の前後における気温の推移
図中の矢印は各播種時期を示す



図28 冬季におけるミシマサイコの様子
左：2013年12月26日、右：2014年1月15日撮影

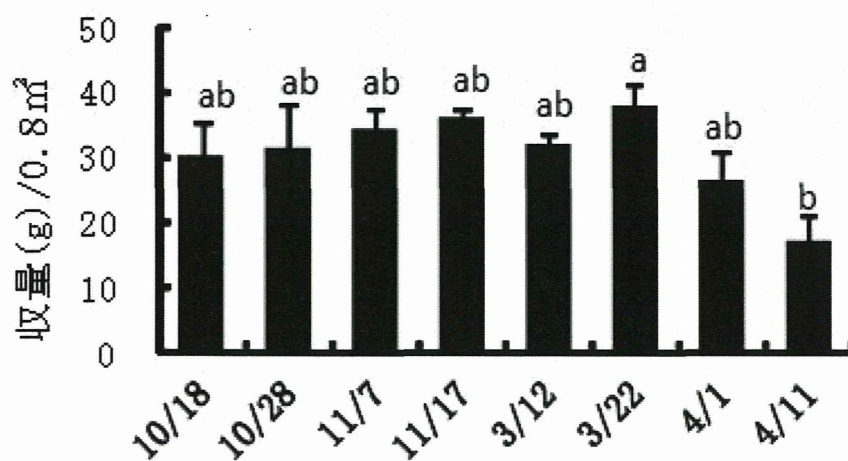


図29 異なる播種日によるミシマサイコの0.8m²あたりの収量
図中の縦棒は標準誤差を示す。Tukey-Kramer法により異なる記号間で5%水準で有意差あり (n=3)

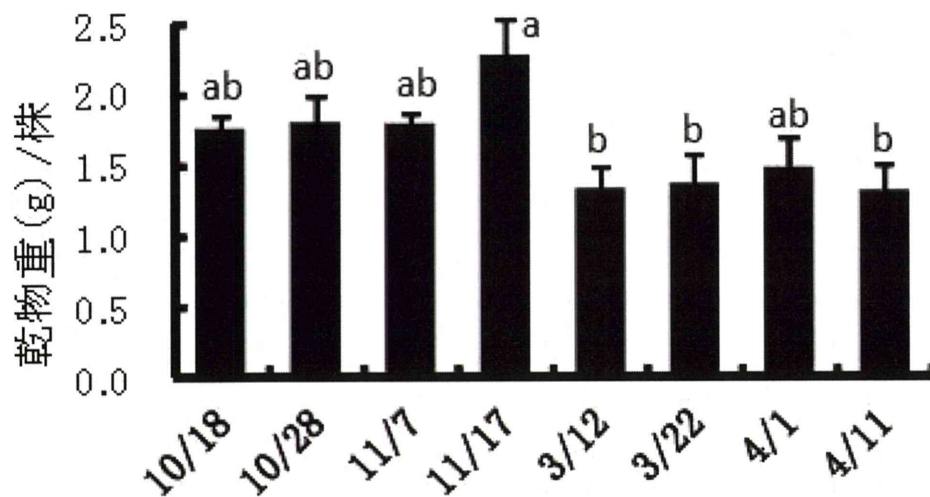


図30 異なる播種日によるミシマサイコの株あたりの乾物重
 図中の縦棒は標準誤差を示す。Tukey-Kramer法により
 異なる記号間で5%水準で有意差あり (n=3)



秋まき (2013年)



春まき (2014年)

図 31 ミシマサイコの生育の様子 (2014 年 9 月 6 日)

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）
薬用植物、生薬の持続的生産を目指した新品種育成および新規栽培技術の開発
並びにこれらの技術移転の基盤構築に関する研究（H25-創薬-一般-003）
分担研究報告書

分担研究課題：官学地域連携による薬用植物種苗生産基地構築に関する研究
－薬用植物の活用のための基礎的研究－

研究分担者 伊藤 美千穂 京都大学大学院薬学研究科 准教授
研究協力者 植山 高光 奈良県薬事研究センター 所長
研究協力者 大住 優子 奈良県薬事研究センター 統括主任研究員
研究協力者 吉川 正人 奈良県薬事研究センター 総括研究員
研究協力者 松本 卓也 奈良県薬事研究センター 主任研究員
研究協力者 桑田 幸恵 京都大学大学院薬学研究科 特定研究員

要旨 奈良県では、当県由来のヤマトトウキの栽培を推奨しているが、薬用部位である根の出荷まで2年の期間がいるため1年目の収益が入らず、栽培の継続や新規栽培者の参入が難しい。そこで今まで廃棄していた地上部の葉や茎が食用となれば新たな収益となり栽培者の不安が解消されると考えた。しかし、光接触皮膚炎の原因とされるフロクマリン類が葉や茎に含まれており、消費者の不安を払拭する必要がある。そこで、食用として利用されている同セリ科植物のハマボウフウとヤマトトウキのフロクマリン類の含量を測定することにより食用に適しているかどうかを検討した。また、医薬品以外に化粧品や食品に使用拡大を見込んでいるタチバナについて、昨年度から引き続いてDNA解析を行い、基原の確認を行った。

【1】ヤマトトウキ及びハマボウフウの葉と茎におけるフロクマリン類とリグスチリドの定量（大住優子・植山高光）

A. 研究目的

現在、日本の漢方薬に配合されている生薬の大部分は輸入に依存しているが、輸出国の土壌や水質などの環境汚染、政情、生物多様性条約などにより品質及び安定供給が問題視されている。

そこで国や地方自治体などで生薬栽培の気運が高まり、日本各地で新たな生薬栽培が実施されている。

奈良県でも、昨年報告した生薬生産増加のため、県の組織である奈良県農業総合センター（現奈良県果樹・薬草研究センター）で当県由来のヤマトトウキの栽培方法（栽培年数の短縮、トウキの花を咲かせないようにする

抽苔の抑制）に関しての研究を実施し、当薬事研究センターで、農業総合センターで検討された方法で栽培されたヤマトトウキが、日本薬局方の基準に適合しているのかを研究し報告した。

しかし、ヤマトトウキは根の出荷までに約2年の期間がかかるため苗を植えた1年目は、栽培者に収益が入らず、新たな栽培者の参入に繋がらない。

そこで今まで廃棄していた地上部の葉及び茎を食用として用いることができれば、新たな収益となり栽培者の不安が解消されると考えられる。

しかし、ヤマトトウキの葉及び茎は、今まで食経験がないことと日光や光線に当たると紅斑、色素沈着、びらん症状を呈する光接触皮膚炎を発症させる成分のフロクマリン類を含有しており、消費者の不安を払拭す

る必要がある。そこで、現在、刺身のツマや天ぷらで食されている同じセリ科植物のハマボウフウとヤマトトウキのフロクマリン類の含量を測定し、比較することによりヤマトトウキの葉及び茎が食用に適しているかどうかを検討した。

B. 研究方法（ヤマトトウキ葉）

平成26年に採取した奈良県果樹・薬草研究センター並びに県内栽培農園で栽培されたヤマトトウキの葉・茎及び平成25年に採取した県内産ヤマトトウキの葉・茎並びに徳島県で自生していたハマボウフウの葉・茎の精油成分であるリグスチリドとフロクマリン類3成分（プソラレン、キサントトキシシン、ベルガプテン）の含量測定を行った。

検体：ヤマトトウキの葉31検体と茎29検体及びハマボウフウの葉6検体と茎6検体の合計72検体で行った。（図1・表1）

1. 試験材料

ヤマトトウキ

＜試料No. Aa-LB-D-1301～1302、
Aa-LS-D-1301～1302、Aa-S-D-1301～1302＞
平成25年11月に奈良県五條市内で採取し、30℃ 100時間 温風乾燥後、乾燥剤を入れ、密閉し12ヶ月室温保管後、粉碎器で粉碎後、42号ふるい（355 μ m）を通したものを試料とした。

＜試料No. AaN-L-D-1401～1411、
AaN-S-D-1401～1411＞

平成26年8月に奈良県果樹・薬草研究センターで採取し、30℃ 100時間 温風乾燥後、粉碎器で粉碎後、42号ふるい（355 μ m）を通したものを試料とした。

＜試料No. AaP-L-D-1401～1416、
AaP-S-D-1401～1416＞

平成26年11月に奈良県五條市内で採取し、30℃ 100時間 温風乾燥後、粉碎器で粉碎後、42号ふるい（355 μ m）を通したものを試料とした。

ハマボウフウ

＜試料No. GIT-L-D-1401～1406、
GIT-S-D-1401～1406＞

平成26年9月に徳島県鳴門市内で採取し、30℃ 100時間 温風乾燥後、粉碎器で粉碎後、42号ふるい（355 μ m）を通したものを試料とした。

2. 試験方法

標準溶液：リグスチリド標準原液 0.4mL＋フロクマリン標準原液 0.8mL＋メタノール/水混液（4:1） 2.8mL

リグスチリド標準原液：（Z）-リグスチリド標準溶液※（0.1mg/mL）

※ 和光純薬工業（株）製 （Z）-リグスチリド標準溶液（0.1mg/mL メタノール溶液）
表示純度 0.097～0.103mg/mL

フロクマリン標準原液：各標準原液 1mL＋メタノール/水混液（4:1）→ 50mL

プソラレン標準原液：プソラレン 5mg＋メタノール→ 10mL

キサントトキシシン標準原液：キサントトキシシン 10mg＋メタノール→ 20mL

ベルガプテン標準原液：ベルガプテン 10mg＋メタノール→ 20mL

試料溶液：粉末にした試料を精密に量り、試料秤取量約10mgに対し、溶媒が1mLとなるように、メタノール/水混液（4:1）を正確に加える→20分間超音波処理→遠心分離→上澄液→孔径0.45 μ mのメンブランフィルターでろ過→初めのろ液1mLを捨て、次のろ液→試料溶液

3. HPLC条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：300nm）

カラム：Inertsil ODS-4 5 μ m 4.6mm×15cm

カラム温度：40.0℃

移動相：薄めたリン酸（1→100）/アセトニトリル混液（3:2）

流量：毎分1.0mL（リグスチリドの保持時間約31分）

注入量：10 μ L

4. システム適合性

システムの性能：標準溶液10 μ Lにつき、上記の条件で操作するとき、プソラレン、キサントトキシシン、ベルガプテンのピークは良好に分離した。

トトキシシ、ベルガプテン、リグスチリドの順に溶出し、プソラレンとキサントトキシシンの分離度は1.5以上である。

システムの再現性：標準溶液10μLにつき、上記の条件で試験を6回繰り返すとき、プソラレン、キサントトキシシ、ベルガプテン及びリグスチリドのピーク面積の相対標準偏差はそれぞれ3.0%以下である。

C. 研究結果（表2）

1. リグスチリド含量（図2）

ヤマトトウキ平成26年採取の葉（27検体）は0.34～1.53%（平均値0.86%）、茎（27検体）は0.22～0.92%（平均値0.63%）、ヤマトトウキ平成25年採取の葉（4検体）は0.19～0.28%（平均値0.23%）、茎（2検体）は0.24～0.25%（平均値0.25%）、及びハマボウフウの茎（6検体）からも0.00～0.03%のリグスチリドと思われるピークが観察されたが、今後確認の必要がある。

※リグスチリド含量は換算した乾燥物中の含量（%）

2. フロクマリン類

1) プソラレン含量

ヤマトトウキ平成26年採取の葉（27検体）は0.55～5.28mg（平均値1.35mg）、茎（27検体）は0.43～2.09mg（平均値0.86mg）、ヤマトトウキ平成25年採取の葉（4検体）は0.77～0.96mg（平均値0.87mg）、茎（2検体）は0.78～1.71mg（平均値1.25mg）、及びハマボウフウの葉（6検体）は0.08～0.14mg（平均値0.10mg）、茎（6検体）は0.00～0.29mg（平均値0.09mg）であった。

※プソラレン含量は換算した乾燥物100g中の含量（mg）

2) キサントトキシシ含量

ヤマトトウキ平成26年採取の葉（27検体）は2.27～145.43mg（平均値37.96mg）、茎（27検体）は2.62～73.57mg（平均値15.51mg）、ヤマトトウキ平成25年採取の葉（4検体）は9.41～22.48mg（平均値14.19mg）、茎（2検体）は5.44～13.17mg

（平均値9.31mg）、及びハマボウフウの葉（6検体）は40.23～96.92mg（平均値64.66mg）、茎（6検体）は11.26～48.03mg（平均値26.95mg）であった。

※キサントトキシシ含量は換算した乾燥物100g中の含量（mg）

3) ベルガプテン含量

ヤマトトウキ平成26年採取の葉（27検体）は2.63～43.67mg（平均値21.69mg）、茎（27検体）は0.38～22.58mg（平均値8.08mg）、ヤマトトウキ平成25年採取の葉（4検体）は1.44～4.04mg（平均値2.47mg）、茎（2検体）は1.96～2.82mg（平均値2.39mg）、及びハマボウフウの葉（6検体）は43.23～67.16mg（平均値57.71mg）、茎（6検体）は25.63～43.14mg（平均値31.44mg）であった。

※ベルガプテン含量は換算した乾燥物100g中の含量（mg）

4) フロクマリン類の総量（図3）

ヤマトトウキ平成26年採取の葉（27検体）は5.63～190.97mg（平均値61.00mg）、茎（27検体）は4.93～96.89mg（平均値24.44mg）、ヤマトトウキ平成25年採取の葉（4検体）は11.72～27.39mg（平均値17.53mg）、茎（2検体）は8.18～17.70mg（平均値12.94mg）、及びハマボウフウの葉（6検体）は87.58～162.86mg（平均値122.47mg）、茎（6検体）は36.89～89.67mg（平均値58.48mg）であった。

※フロクマリン類総量は、プソラレン並びにキサントトキシシ及びベルガプテンの各含量を足したもの

D. 考察

精油成分であるリグスチリドは、ヤマトトウキの葉及び茎の両方に含有していた。また、その含量は葉の方が茎より高かった。平成26年採取試料は、両部位とも平成25年採取試料より有意に高い含量であった。これは、リグスチリドが精油成分のため保存中に揮発して減少したと思われる。

フロクマリン類の総量において、ハマボウ

フウの方がヤマトトウキより葉及び茎において2倍近い量を含有していた。しかし、ヤマトトウキ平成26年五條市内で採取した1検体の葉及び茎において、ハマボウフウの最大総量より上であった。栽培等で何らかの影響があると考え、今後検討していく必要がある。

E. 結論

ヤマトトウキの葉に含有されているフロクマリン類は、光毒性接触皮膚炎等を発症させる成分である。現在、刺身のツマや天ぷらなどで食されている同じセリ科植物であるハマボウフウとフロクマリン類の含量測定を行ったところ、ヤマトトウキの方が葉及び茎においてハマボウフウの約1/2であることが判明した。この結果、ヤマトトウキの葉及び茎は、現在想定している摂取方法として濃縮しないお茶、料理のスパイスなどに使用する量であれば問題はないと思われる。今後はハマボウフウ以外にも幅広く食用とされているセリ科植物（セロリ・ニンジン等）においても研究を進めていく必要がある。

また、精油成分であるリグスチリドにおいては、根だけでなく葉及び茎にも含有していることが判明した。しかし、採取1年後の葉及び茎は、採取直後に比べて1/2～1/3の含量しかないことも判明した。

上記の結果から、ヤマトトウキの葉及び茎が食用として用いられる事による栽培者の収益増に繋がると考えられる。

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

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

【2】タチバナの遺伝子解析とITS領域の系統樹解析（松本卓也・桑田幸恵・植山高光・伊藤美千穂）

A. 研究目的

タチバナは古くより野生化していた日本固有の種であり、かつては不老長寿の果実とも言われていた。

その用途であるが、タチバナの果実は漢方薬だけでなく、健康食品や化粧品への応用など、今後さらなる使用が見込まれている。

しかし、タチバナの属する柑橘類は容易に交雑する種であり、奈良県に存在するタチバナの基原が明確ではない状況である。

天然物を含有する漢方薬や化粧品等の品質確保は、正しい基原の植物を使用することが大前提である。原材料である薬用植物の基原が間違っていれば、品質の保証がされないこととなり、患者及び消費者へ影響を及ぼす可能性がある。

そこで、昨年度より基原を確認する研究として、奈良県及び近隣府県から採取した複数のタチバナの葉のDNA解析を行ってきた。昨年度はmatK領域、trnL-F領域及びITS領域の一部まで解析を行ったが、未解析であった残りの試料について、引き続き解析を行った。

B. 研究方法

1. 実験試料

昨年度の研究（H25-創薬一般-003）で調製した試料（タチバナ（13試料）、ニイヒメ（1試料）、ダイダイ（1試料）、ウンシュウミカン（1試料）の葉からのDNA抽出物）を引き続いて用いた。

入手元は表3のとおり。

2. 実験方法

1) ITS領域の増幅・塩基配列解析

昨年度の研究報告において遺伝子解析ができていなかった試料（No. 5、No. 6、No. 10、No. 11、No. 12、No. 13、No. 14）のITS領域（ITS1-5.8S-ITS2-26Sの一部）について、PCRの条件を種々変更することにより増幅した。

<PCR条件>

各反応液に使用するプライマーは以下のとおりである。

ITS5: GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G

ITS4: TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC

試料No. 5、6、10

反応液の組成は、DNA template (5ng/ μ L) 1.0 μ L、10×Buffer for Blend Taq 2.0 μ L、dNTPs 4.0mM、プライマー (ITS5、ITS4 (各20pmol/ μ L)) 各0.3 μ L、DMSO 0.2 μ L、Blend Taq (東洋紡社製) 0.5Uとし、全量が20.0 μ Lになるように調製した。反応条件は、(94℃、1min) ×1cycle、(94℃、30sec ; 50℃、30sec ; 72℃、1min) ×30cycle、(72℃、1min) ×1cycle とした。

試料No. 11

反応液の組成は、DNA template (5ng/ μ L) 1.0 μ L、10×Buffer for Blend Taq 2.0 μ L、dNTPs 4.0mM、プライマー (ITS5、ITS4 (各20pmol/ μ L)) 各0.2 μ L、DMSO 0.2 μ L、Blend Taq 0.55Uとし、全量が20.0 μ Lになるように調製した。反応条件は、(94℃、3min) ×1cycle、(94℃、30sec ; 50.5℃、30sec ; 72℃、1min) ×30cycle、(72℃、1min) ×1cycle とした。

試料No. 12

反応液の組成は、試料No. 5、6と同じとした。反応条件については、アニーリング温度を52℃とした以外は、試料No. 5、6と同じとした。

試料No. 13

反応液の組成は、DNA template (5ng/ μ L) を1.5 μ Lとした以外は試料No. 5、6と同じとした。反応条件については、試料No. 12と同じとした。

試料No. 14

反応液の組成は、試料No. 5、6と同じとした。反応条件については、アニーリング温度を51℃とした以外は、試料No. 11と同じとした。

得られた増幅産物はアガロース電気泳動にて解析し、PCR clean-up Gel extraction (MACHERY-NAGEL社製)を用いてゲル精製を行い、試料No. 11はダイレクトシーケンシングにより塩基配列を決定した。

ダイレクトシーケンシングは、精製したPCR産物とプライマーを用い、株式会社ファスマックに委託して配列の解析を行った。

また、複数の配列が含まれることにより、ダイレクトシーケンシングで解析が困難であった他の試料 (No. 5、No. 6、No. 10、No. 12、No. 13、No. 14) については、別途Target Clone™及びCompetent high JM109 (東洋紡社製)を用いてクローニングを行い、NucleoSpin Plasmid QuickPure (MACHERY-NAGEL社製)を用いてプラスミド抽出を行った上で複数のクローンについて解析を行うことで塩基配列を決定した。

さらに、種内変異の多いタチバナ内での近縁種を確認するため、Neighbor-joining法 kimura 2-parameter modelにより系統樹の作成を行った。

C. 研究結果

1. ITS 領域の増幅

抽出したDNAを種々の条件でPCR増幅し、そのPCR産物をアガロースゲル電気泳動に供し(図4)、そのうち700bp程の大きさのものを単離し、クローニングを行った。

試料No. 5、No. 6、No. 10~14において、ITS全領域の塩基配列が決定された。

昨年度の報告内容も含めた結果を示す。(図5)

試料間における差異について、タチバナ内(試料No. 1~9、11~14)での比較を行ったところ、試料No. 2、No. 4、No. 8の塩基配列は100%一致し、それは試料No. 1、No. 3と相関性が高かった。試料No. 3との違いは129番目がCであり、試料No. 1はそれに加え、