

26 番目と 498 番目が異なっていた。

試料 No. 7 と No. 9 の塩基配列は相同性が高かった。

試料 No. 13 と No. 14 の塩基配列も相同性が高く、他のタチバナと異なる箇所は、28 番目、33 番目、225 番目 (No. 14 のみ)、306 番目 (No. 14 のみ)、436 番目 (No. 13 のみ)、523 番目 (No. 13 のみ) であった。

タチバナとそれ以外の比較について、まずタチバナとニイヒメ (試料 No. 10) で比較したところ、異なる塩基配列は、124 番目、514 番目、523 番目であった。

タチバナとダイダイ (試料 No. 15) の比較では、63 番目、74 番目、218 番目、230 番目、457 番目、514 番目、594 番目、599 番目の塩基配列が異なっており、タチバナとウンシュウミカン (試料 No. 16) では、63 番目、74 番目、190 番目、196 番目、422 番目、448 番目、494 番目、514 番目、594 番目、599 番目、608 番目の塩基配列が異なっていた。

また、タチバナにおける 560 番目がダイダイ、ウンシュウミカンともに欠損していた。

この 560 番目の欠損は、クローニングを行った試料 No. 6、No. 10、No. 13、No. 14 の一部でも見受けられた。

2. 系統樹解析

得られた ITS 領域の塩基配列について、MEGA5 ソフトウェアを使用し、Neighbor-joining 法、Kimura 2-parameter model により系統樹解析を行った。

参考として、試料 No. 15 (ダイダイ)、No. 16 (ウンシュウミカン) についても同時に系統樹の作成を行ったが、試料 No. 10 (ニイヒメ) はタチバナとマンダリンの交配実生と推定されているものであり、タチバナ内での近縁種解析に適さないため、解析対象からは除外した。

解析結果は図 6 のとおりであり、参考として解析したダイダイ、ウンシュウミカンはタチバナとは別系統となった。タチバナの中でも近縁である試料 No. 7 と No. 9 は他と大きく異なった。また、試料 No. 1 と No. 11 も近縁であり、試料 No. 2、No. 4、No. 8 と No. 3、No. 5、

No. 12 も比較的近縁であった。

D. 考察

同じタチバナであっても、ITS 領域については、様々な配列があり、以下のような傾向から、塩基配列の類似性を見ることで系統を推測できることがわかった。

明日香村で採取した試料 (No. 7 を除く) については、試料 No. 2、No. 4、No. 8 の ITS 領域の塩基配列は 100% 一致し、試料 No. 1、No. 3 も相同性が高かった。

試料 No. 5 と No. 6 はともに三重県熊野市の神社から採取したものであるが、試料間で ITS 領域の塩基配列に異なる箇所が何点か見られた。

試料 No. 7 と No. 9 のタチバナについては、ITS 領域の塩基配列の相同性が高い結果となった。昨年度に報告を行った trnL-trnF 領域の塩基配列においても、他のタチバナと同じ箇所塩基配列が異なっており、同じ系統から派生したものと推測される。

試料 No. 13 と No. 14 は、採取地が徳島県と高知県と、どちらも四国であり、ITS 領域の塩基配列の相同性が高かった。

タチバナ以外との比較であるが、ダイダイ (試料 No. 15) とウンシュウミカン (試料 No. 16) の塩基配列は相同性が高く、類似する箇所、タチバナとは異なる塩基配列をしていた。

系統樹解析の結果から見ると、試料 No. 7 と No. 9 は近縁であった。また、No. 1 と No. 11 も近縁であり、試料 No. 2、No. 4、No. 8 と No. 3、No. 5、No. 12 も比較的近縁であった。ただし、これらの Bootstrap 値は低いため、信頼性の高い結果とはならなかった。

これら試料の葉の形状については、近縁であると推定された試料 No. 7 と No. 9 が楕円形であり、それ以外は全て卵円形であったことから、一部ではあるが、前述の結果を裏付けることができた。(図 7)

E. 結論

これらの結果から、橘の基原を確認するには、trnL-trnF 領域だけではなく、ITS 領域

も併せて確認する必要がある。

ITS 領域については、交雑が多く、さらに多くの試料を用いて、地域性も含めた研究を行う必要があると思われる。

また、系統樹解析については、試料 No. 7 と No. 9 が葉の形状からも近縁であることが確認できたことなどから、基原を確認するのに有効な手段となり得ることがわかった。

地域活性の一環としてタチバナの食品や化粧品への応用を別途検討しており、今後は果皮中の成分含量の経時的変化をも含めた比較をしたいと考える。

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



ヤマトトウキ



ヤマトトウキの葉及び茎



ハマボウフウ



ハマボウフウの葉及び茎

図1 ヤマトトウキ及びハマボウフウ（葉・茎）

表 1 試験材料

試料No	基原			試料No	基原		
AaN-L-D-1401	果樹・薬草研究センター	M-4-東-3-半	葉	AaP-S-D-1401	パンドラファーム	1赤(茎)	茎
AaN-L-D-1402	果樹・薬草研究センター	S-4-西-4-半	葉	AaP-S-D-1402	パンドラファーム	1緑(茎)	茎
AaN-L-D-1403	果樹・薬草研究センター	M-4-東-8-全	葉	AaP-S-D-1403	パンドラファーム	2	茎
AaN-L-D-1404	果樹・薬草研究センター	S-4-西-10-全	葉	AaP-S-D-1404	パンドラファーム	3	茎
AaN-L-D-1405	果樹・薬草研究センター	S-4-西-22-半	葉	AaP-S-D-1405	パンドラファーム	4	茎
AaN-L-D-1406	果樹・薬草研究センター	M-4-東-12-半	葉	AaP-S-D-1406	パンドラファーム	5	茎
AaN-L-D-1407	果樹・薬草研究センター	S-4-西-13-全	葉	AaP-S-D-1407	パンドラファーム	6	茎
AaN-L-D-1408	果樹・薬草研究センター	S-4-西-11-半	葉	AaP-S-D-1408	パンドラファーム	7	茎
AaN-L-D-1409	果樹・薬草研究センター	S-4-西-3-全	葉	AaP-S-D-1409	パンドラファーム	8	茎
AaN-L-D-1410	果樹・薬草研究センター	S-4-西-17-半	葉	AaP-S-D-1410	パンドラファーム	9	茎
AaN-L-D-1411	果樹・薬草研究センター	M-4-西-12-全	葉	AaP-S-D-1411	パンドラファーム	10 茎ほぼ赤	茎
AaN-S-D-1401	果樹・薬草研究センター	M-4-東-3-半	茎	AaP-S-D-1412	パンドラファーム	11	茎
AaN-S-D-1402	果樹・薬草研究センター	S-4-西-4-半	茎	AaP-S-D-1413	パンドラファーム	若葉 茎赤のみ	茎
AaN-S-D-1403	果樹・薬草研究センター	M-4-東-8-全	茎	AaP-S-D-1414	パンドラファーム	3年目1 葉きれい	茎
AaN-S-D-1404	果樹・薬草研究センター	S-4-西-10-全	茎	AaP-S-D-1415	パンドラファーム	3年目2	茎
AaN-S-D-1405	果樹・薬草研究センター	S-4-西-22-半	茎	AaP-S-D-1416	パンドラファーム	3年目3 葉きれい(緑)	茎
AaN-S-D-1406	果樹・薬草研究センター	M-4-東-12-半	茎	Aa-LB-D-1301	五條産	-84℃冷凍後乾燥	葉
AaN-S-D-1407	果樹・薬草研究センター	S-4-西-13-全	茎	Aa-LB-D-1302	五條産	30℃x100hr乾燥	葉
AaN-S-D-1408	果樹・薬草研究センター	S-4-西-11-半	茎	Aa-LS-D-1301	五條産	-84℃冷凍後乾燥	葉
AaN-S-D-1409	果樹・薬草研究センター	S-4-西-3-全	茎	Aa-LS-D-1302	五條産	30℃x100hr乾燥	葉
AaN-S-D-1410	果樹・薬草研究センター	S-4-西-17-半	茎	Aa-S-D-1301	五條産	-84℃冷凍後乾燥	茎
AaN-S-D-1411	果樹・薬草研究センター	M-4-西-12-全	茎	Aa-S-D-1302	五條産	30℃x100hr乾燥	茎
AaP-L-D-1401	パンドラファーム	1赤(茎)	葉	GIT-L-D-1401	徳島県自生ハマボウフウ	1	葉
AaP-L-D-1402	パンドラファーム	1緑(茎)	葉	GIT-L-D-1402	徳島県自生ハマボウフウ	2	葉
AaP-L-D-1403	パンドラファーム	2	葉	GIT-L-D-1403	徳島県自生ハマボウフウ	3	葉
AaP-L-D-1404	パンドラファーム	3	葉	GIT-L-D-1404	徳島県自生ハマボウフウ	4	葉
AaP-L-D-1405	パンドラファーム	4	葉	GIT-L-D-1405	徳島県自生ハマボウフウ	5	葉
AaP-L-D-1406	パンドラファーム	5	葉	GIT-L-D-1406	徳島県自生ハマボウフウ	6	葉
AaP-L-D-1407	パンドラファーム	6	葉	GIT-S-D-1401	徳島県自生ハマボウフウ	1	茎
AaP-L-D-1408	パンドラファーム	7	葉	GIT-S-D-1402	徳島県自生ハマボウフウ	2	茎
AaP-L-D-1409	パンドラファーム	8	葉	GIT-S-D-1403	徳島県自生ハマボウフウ	3	茎
AaP-L-D-1410	パンドラファーム	9	葉	GIT-S-D-1404	徳島県自生ハマボウフウ	4	茎
AaP-L-D-1411	パンドラファーム	10 茎ほぼ赤	葉	GIT-S-D-1405	徳島県自生ハマボウフウ	5	茎
AaP-L-D-1412	パンドラファーム	11	葉	GIT-S-D-1406	徳島県自生ハマボウフウ	6	茎
AaP-L-D-1413	パンドラファーム	若葉 茎赤のみ	葉				
AaP-L-D-1414	パンドラファーム	3年目1 葉きれい	葉				
AaP-L-D-1415	パンドラファーム	3年目2	葉				
AaP-L-D-1416	パンドラファーム	3年目3 葉きれい(緑)	葉				

表 2-1 リグスチリドとフロクマリン 3 成分 (プソラレン、キサントトキシシ、ベルガプテン)

試料 No	プソラレン 含量 (mg/100g)	キサントトキシシ 含量 (mg/100g)	ベルガプテン 含量 (mg/100g)	フロクマリン類 含量 (mg/100g)	リグスチリド 含量 (%)
AaN-L-D-1401	0.80	11.29	6.41	18.50	0.80
AaN-L-D-1402	0.70	15.31	15.66	31.67	0.83
AaN-L-D-1403	1.01	43.98	27.75	72.74	0.91
AaN-L-D-1404	1.59	42.18	36.31	80.08	1.11
AaN-L-D-1405	0.70	13.68	16.80	31.18	0.96
AaN-L-D-1406	1.09	19.90	18.33	39.32	1.12
AaN-L-D-1407	1.13	46.41	19.43	66.97	0.90
AaN-L-D-1408	1.02	17.90	9.70	28.62	0.88
AaN-L-D-1409	0.99	23.98	27.46	52.43	0.97
AaN-L-D-1410	0.80	10.61	22.04	33.45	1.08
AaN-L-D-1411	0.90	29.45	21.42	51.77	0.82
AaP-L-D-1401	0.55	11.03	14.73	26.31	0.74
AaP-L-D-1402	0.98	33.37	24.38	58.73	0.34
AaP-L-D-1403	1.09	44.82	38.71	84.62	0.75
AaP-L-D-1404	1.13	41.91	24.77	67.81	0.59
AaP-L-D-1405	2.37	73.97	27.68	104.02	0.79
AaP-L-D-1406	0.90	37.09	30.93	68.92	0.91
AaP-L-D-1407	1.09	28.22	9.74	39.05	0.98
AaP-L-D-1408	3.22	83.39	43.67	130.28	0.95
AaP-L-D-1409	0.60	26.10	24.13	50.83	0.57
AaP-L-D-1410	1.23	22.18	8.81	32.22	0.75
AaP-L-D-1411	0.99	33.18	18.08	52.25	0.73
AaP-L-D-1412	1.79	70.03	28.08	99.90	0.80
AaP-L-D-1413	0.73	2.27	2.63	5.63	1.53
AaP-L-D-1414	2.60	75.26	19.57	97.43	0.81
AaP-L-D-1415	5.28	145.43	40.26	190.97	0.65
AaP-L-D-1416	1.20	22.03	8.17	31.40	1.01
AaN-S-D-1401	1.03	14.87	4.74	20.64	0.57
AaN-S-D-1402	0.48	3.75	3.40	7.63	0.61
AaN-S-D-1403	0.77	18.47	9.42	28.66	0.40
AaN-S-D-1404	1.05	14.37	7.97	23.39	0.88
AaN-S-D-1405	0.84	3.55	7.81	12.20	0.90
AaN-S-D-1406	1.26	8.82	0.38	10.46	0.84
AaN-S-D-1407	0.94	6.42	3.53	10.89	0.61
AaN-S-D-1408	0.97	6.77	3.99	11.73	0.76
AaN-S-D-1409	0.70	9.96	9.79	20.45	0.69
AaN-S-D-1410	0.97	4.40	9.58	14.95	0.77
AaN-S-D-1411	1.02	11.75	6.99	19.76	0.55

表 2-2 リグスチリドとフロクマリン 3 成分 (プソラレン、キサントトキシン、ベルガプテン)

試料 No	プソラレン 含量 (mg/100g)	キサントトキシン 含量 (mg/100g)	ベルガプテン 含量 (mg/100g)	フロクマリン類 含量 (mg/100g)	リグスチリド 含量 (%)
AaP-S-D-1401	0.48	2.62	3.94	7.04	0.57
AaP-S-D-1402	0.53	8.92	9.43	18.88	0.22
AaP-S-D-1403	0.77	14.39	11.91	27.07	0.45
AaP-S-D-1404	0.53	11.45	5.81	17.79	0.48
AaP-S-D-1405	1.04	13.51	5.96	20.51	0.66
AaP-S-D-1406	0.89	37.32	22.58	60.79	0.57
AaP-S-D-1407	0.92	13.87	5.09	19.88	0.89
AaP-S-D-1408	0.69	22.95	14.90	38.54	0.54
AaP-S-D-1409	0.43	9.71	7.13	17.27	0.46
AaP-S-D-1410	0.90	18.32	4.14	23.36	0.83
AaP-S-D-1411	0.45	2.68	1.80	4.93	0.50
AaP-S-D-1412	0.80	19.21	6.97	26.98	0.42
AaP-S-D-1413	0.67	3.62	4.12	8.41	0.92
AaP-S-D-1414	1.46	55.47	17.59	74.52	0.72
AaP-S-D-1415	2.09	73.57	21.23	96.89	0.40
AaP-S-D-1416	0.56	7.93	7.86	16.35	0.91
Aa-LB-D-1301	0.96	11.08	1.85	13.89	0.19
Aa-LB-D-1302	0.87	22.48	4.04	27.39	0.25
Aa-LS-D-1301	0.87	9.41	1.44	11.72	0.19
Aa-LS-D-1302	0.77	13.80	2.56	17.13	0.28
Aa-S-D-1301	1.71	13.17	2.82	17.70	0.24
Aa-S-D-1302	0.78	5.44	1.96	8.18	0.25
GIT-L-D-1401	0.13	96.92	65.81	162.86	N.D.
GIT-L-D-1402	0.10	44.56	67.16	111.82	N.D.
GIT-L-D-1403	0.09	44.26	43.23	87.58	N.D.
GIT-L-D-1404	0.08	40.23	62.97	103.28	N.D.
GIT-L-D-1405	0.08	79.39	56.33	135.80	N.D.
GIT-L-D-1406	0.14	82.59	50.77	133.50	N.D.
GIT-S-D-1401	0.29	46.24	43.14	89.67	N.D.
GIT-S-D-1402	0.20	12.06	26.73	38.99	N.D.
GIT-S-D-1403	0.00	17.48	28.94	46.42	0.00
GIT-S-D-1404	0.00	11.26	25.63	36.89	N.D.
GIT-S-D-1405	0.07	48.03	31.28	79.38	0.03
GIT-S-D-1406	0.00	26.62	32.90	59.52	0.02

表 2-3 リグスチリドとフロクマリン 3 成分 (プソラレン、キサントトキシシ、ベルガプテン)

		プソラレン 含量 (mg/100g)	キサントトキシシ 含量 (mg/100g)	ベルガプテン 含量 (mg/100g)	フロクマリン類 含量 (mg/100g)	リグスチリド 含量 (%)
全 72 検体	MEAN	0.929	28.731	18.795	48.455	0.664
	MAX	5.280	145.430	67.160	190.970	1.530
	MIN	0.000	2.270	0.380	4.930	0.000
	SD	0.782	26.949	16.517	40.712	0.302
	CV	84.2	93.8	87.9	84.0	45.4
ヤマトウキ 葉 H26 年採取	MEAN	1.351	37.962	21.691	61.004	0.862
	MAX	5.280	145.430	43.670	190.970	1.530
	MIN	0.550	2.270	2.630	5.630	0.340
	SD	1.004	30.293	10.672	39.331	0.219
	CV	74.3	79.8	49.2	64.5	25.4
ハマボウフウ 葉 H26 年採取	MEAN	0.103	64.658	57.712	122.473	—
	MAX	0.140	96.920	67.160	162.860	0.000
	MIN	0.080	40.230	43.230	87.580	0.000
	SD	0.026	24.479	9.406	26.943	—
	CV	25.0	37.9	16.3	22.0	—
ヤマトウキ 茎 H26 年採取	MEAN	0.861	15.506	8.076	24.443	0.634
	MAX	2.090	73.570	22.580	96.890	0.920
	MIN	0.430	2.620	0.380	4.930	0.220
	SD	0.354	16.190	5.488	21.117	0.190
	CV	41.1	104.4	68.0	86.4	30.0
ハマボウフウ 茎 H26 年採取	MEAN	0.093	26.948	31.437	58.478	0.017
	MAX	0.290	48.030	43.140	89.670	0.030
	MIN	0.000	11.260	25.630	36.890	0.000
	SD	0.124	16.578	6.344	21.919	0.015
	CV	132.7	61.5	20.2	37.5	91.7
ヤマトウキ 葉 H25 年採取	MEAN	0.868	14.193	2.473	17.533	0.228
	MAX	0.960	22.480	4.040	27.390	0.280
	MIN	0.770	9.410	1.440	11.720	0.190
	SD	0.078	5.814	1.143	6.937	0.045
	CV	8.9	41.0	46.2	39.6	19.8
ヤマトウキ 茎 H25 年採取	MEAN	1.245	9.305	2.390	12.940	0.245
	MAX	1.710	13.170	2.820	17.700	0.250
	MIN	0.780	5.440	1.960	8.180	0.240
	SD	0.658	5.466	0.608	6.732	0.007
	CV	52.8	58.7	25.4	52.0	2.9

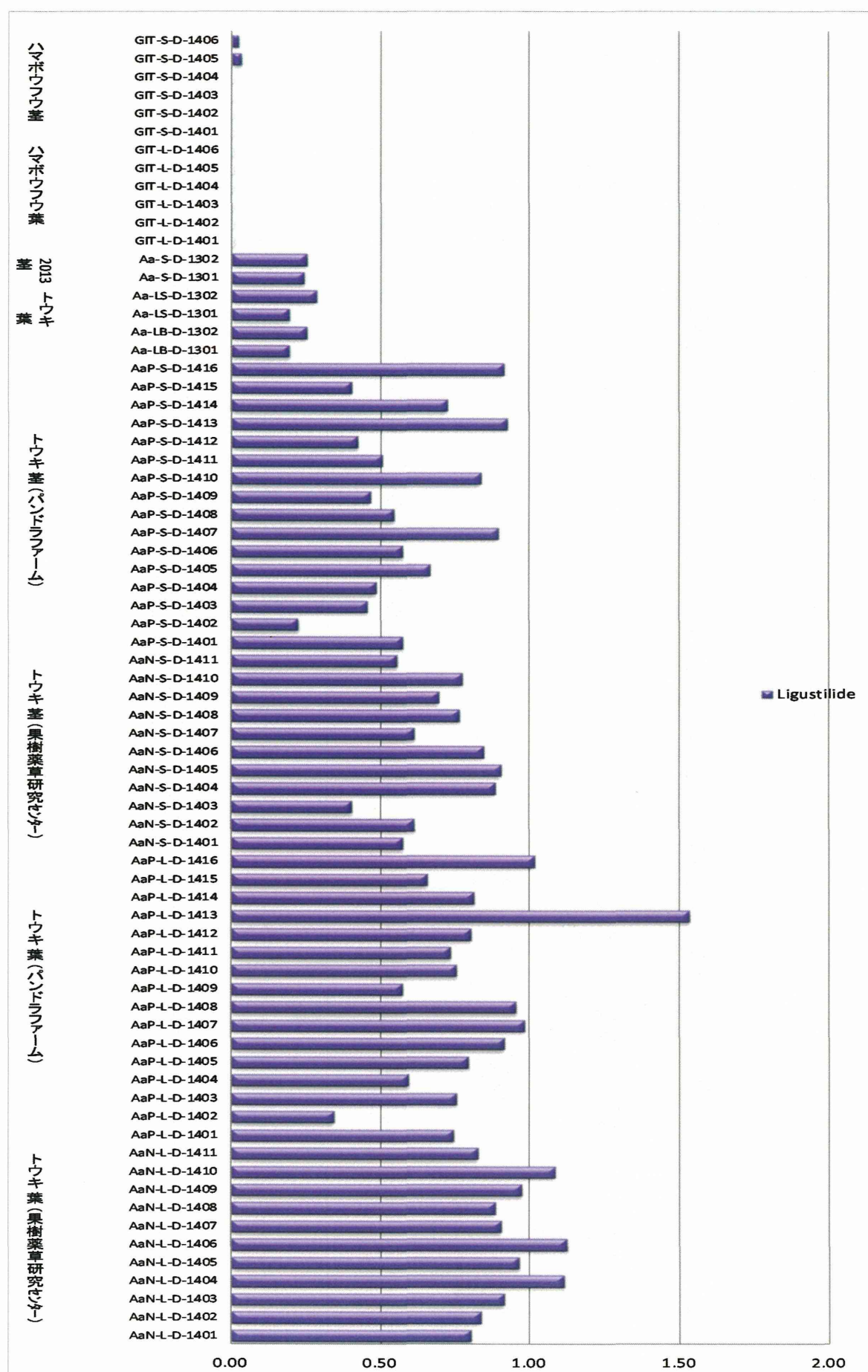
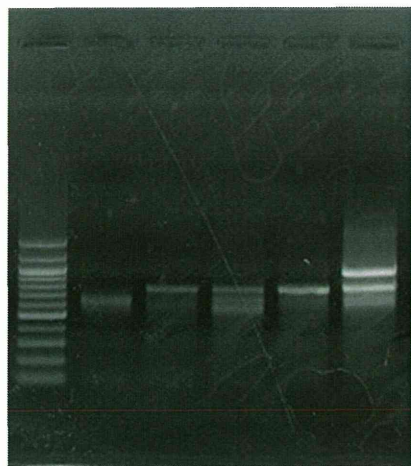


図2 リグスチリドの含量

表 3 実験試料

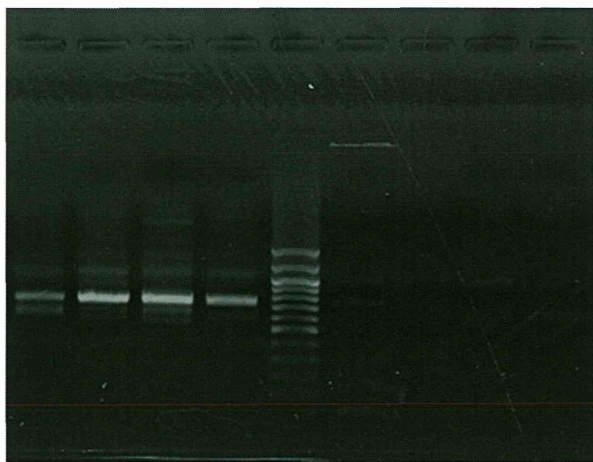
試料No.	植物名	入手元	採取地情報他
1	タチバナ	明日香村役場	明日香村役場
2	タチバナ	明日香村役場	聖徳太子生誕地の石碑
3	タチバナ	橘寺	南側の巨木
4	タチバナ	橘寺	プランターのもの
5	タチバナ	三重県農業研究所紀南果樹研究室	花窟神社(三重県熊野市)
6	タチバナ	三重県農業研究所紀南果樹研究室	深山神社(三重県熊野市)
7	タチバナ	橘寺	平成21年晋山記念植樹
8	タチバナ	明日香村役場	近鉄飛鳥駅
9	タチバナ	興福寺	南円堂前
10	ニイヒメ	三重県農業研究所紀南果樹研究室	
11	タチバナ	京都御所	右近の橘
12	タチバナ	武田薬品工業株式会社京都薬用植物園	和歌山県採取のもの
13	タチバナ	武田薬品工業株式会社京都薬用植物園	徳島県採取のもの
14	タチバナ	日本新薬株式会社山科植物資料館	高知県採取のもの
15	ダイダイ	武田薬品工業株式会社京都薬用植物園	
16	ウンシュウ ミカン	武田薬品工業株式会社京都薬用植物園	

試料No.6、No.10



M1 14 13 12 10 6

試料No.11



14 13 12 11 M1 10 9 6 5

試料No.12



14 13 12 M1

試料No.13



M1 14 13 12 10 6

試料No.14



14-1 14-2 M1 14-3 14-4

※ 4 サンプル作成し、同時にPCRを行った。

そのうち14-4のPCR産物について、クローニングを行った。

図4 試料からの DNA 抽出結果. エチジウムブロマイド染色をした 1%アガロースゲルにより電気泳動. 各レーン下の数字は表 1 の試料 No.と対応している. M1 は 100bp の DNA ladder

図5-1 ITS領域(ITS1-5.8S-ITS2-26Sの一部)の塩基配列(昨年度解析したものを含む)
各行左端の数字は表1の試料No.と対応している(1→試料No.1)
AB456095、AB456096、AB456097は、Genbankに登録されているタチバナのITS配列

	490	500	510	520	530	540		610	620	630	640	650
AB456095	CCCGTGCCT	GACCCCTGC	GGTTGCCCA	AACTGAGTC	CTCGCGACC	GAAGCTCCG	AB456095	GACTCTGCH	CCCTGAAGCT	CCGCGCAAG	GGCGCTCGA	TTCCGACCC A
AB456096	CCCGTGCCT	GACCCCTGC	GGTTGCCCA	AACTGAGTC	CTCGCGACC	GAAGCTCCG	AB456096	GACTCTGCH	CCCTGAAGCT	CCGCGCAAG	GGCGCTCGA	TTCCGACCC A
AB456097	CCCGTGCCT	GACCCCTGC	GGTTGCCCA	AACTGAGTC	CTCGCGACC	GAAGCTCCG	AB456097	GACTCTGCH	CCCTGAAGCT	CCGCGCAAG	GGCGCTCGA	TTCCGACCC A
1	CCCGTGCCT	GACCCCTGC	GGTTGCCCA	AACTGAGTC	CTCGCGACC	GAAGCTCCG	1	GACTCTGCH	CCCTGAAGCT	CCGCGCAAG	GGCGCTCGA	TTCCGACCC A
2	CCCGTGCCT	GACCCCTGC	GGTTGCCCA	AACTGAGTC	CTCGCGACC	GAAGCTCCG	2	GACTCTGCH	CCCTGAAGCT	CCGCGCAAG	GGCGCTCGA	TTCCGACCC A
3	CCCGTGCCT	GACCCCTGC	GGTTGCCCA	AACTGAGTC	CTCGCGACC	GAAGCTCCG	3	GACTCTGCH	CCCTGAAGCT	CCGCGCAAG	GGCGCTCGA	TTCCGACCC A
4	CCCGTGCCT	GACCCCTGC	GGTTGCCCA	AACTGAGTC	CTCGCGACC	GAAGCTCCG	4	GACTCTGCH	CCCTGAAGCT	CCGCGCAAG	GGCGCTCGA	TTCCGACCC A
5	CCCGTGCCT	GACCCCTGC	GGTTGCCCA	AACTGAGTC	CTCGCGACC	GAAGCTCCG	5	GACTCTGCH	CCCTGAAGCT	CCGCGCAAG	GGCGCTCGA	TTCCGACCC A
6	CCCGTGCCT	GACCCCTGC	GGTTGCCCA	AACTGAGTC	CTCGCGACC	GAAGCTCCG	6	GACTCTGCH	CCCTGAAGCT	CCGCGCAAG	GGCGCTCGA	TTCCGACCC A
7	CCCGTGCCT	GACCCCTGC	GGTTGCCCA	AACTGAGTC	CTCGCGACC	GAAGCTCCG	7	GACTCTGCH	CCCTGAAGCT	CCGCGCAAG	GGCGCTCGA	TTCCGACCC A
8	CCCGTGCCT	GACCCCTGC	GGTTGCCCA	AACTGAGTC	CTCGCGACC	GAAGCTCCG	8	GACTCTGCH	CCCTGAAGCT	CCGCGCAAG	GGCGCTCGA	TTCCGACCC A
9	CCCGTGCCT	GACCCCTGC	GGTTGCCCA	AACTGAGTC	CTCGCGACC	GAAGCTCCG	9	GACTCTGCH	CCCTGAAGCT	CCGCGCAAG	GGCGCTCGA	TTCCGACCC A
10	CCCGTGCCT	GACCCCTGC	GGTTGCCCA	AACTGAGTC	CTCGCGACC	GAAGCTCCG	10	GACTCTGCH	CCCTGAAGCT	CCGCGCAAG	GGCGCTCGA	TTCCGACCC A
11	CCCGTGCCT	GACCCCTGC	GGTTGCCCA	AACTGAGTC	CTCGCGACC	GAAGCTCCG	11	GACTCTGCH	CCCTGAAGCT	CCGCGCAAG	GGCGCTCGA	TTCCGACCC A
12	CCCGTGCCT	GACCCCTGC	GGTTGCCCA	AACTGAGTC	CTCGCGACC	GAAGCTCCG	12	GACTCTGCH	CCCTGAAGCT	CCGCGCAAG	GGCGCTCGA	TTCCGACCC A
13	CCCGTGCCT	GACCCCTGC	GGTTGCCCA	AACTGAGTC	CTCGCGACC	GAAGCTCCG	13	GACTCTGCH	CCCTGAAGCT	CCGCGCAAG	GGCGCTCGA	TTCCGACCC A
14	CCCGTGCCT	GACCCCTGC	GGTTGCCCA	AACTGAGTC	CTCGCGACC	GAAGCTCCG	14	GACTCTGCH	CCCTGAAGCT	CCGCGCAAG	GGCGCTCGA	TTCCGACCC A
15	CCCGTGCCT	GACCCCTGC	GGTTGCCCA	AACTGAGTC	CTCGCGACC	GAAGCTCCG	15	GACTCTGCH	CCCTGAAGCT	CCGCGCAAG	GGCGCTCGA	TTCCGACCC A
16	CCCGTGCCT	GACCCCTGC	GGTTGCCCA	AACTGAGTC	CTCGCGACC	GAAGCTCCG	16	GACTCTGCH	CCCTGAAGCT	CCGCGCAAG	GGCGCTCGA	TTCCGACCC A

	550	560	570	580	590	600
AB456095	CGATCGGTGG	TAAACAAAA	GCCTCTCGAG	CTCCGCCGC	GCGCCGATC	TCCGAGTGG
AB456096	CGATCGGTGG	TAAACAAAA	GCCTCTCGAG	CTCCGCCGC	GCGCCGATC	TCCGAGTGG
AB456097	CGATCGGTGG	TAAACAAAA	GCCTCTCGAG	CTCCGCCGC	GCGCCGATC	TCCGAGTGG
1	CGATCGGTGG	TAAACAAAA	GCCTCTCGAG	CTCCGCCGC	GCGCCGATC	TCCGAGTGG
2	CGATCGGTGG	TAAACAAAA	GCCTCTCGAG	CTCCGCCGC	GCGCCGATC	TCCGAGTGG
3	CGATCGGTGG	TAAACAAAA	GCCTCTCGAG	CTCCGCCGC	GCGCCGATC	TCCGAGTGG
4	CGATCGGTGG	TAAACAAAA	GCCTCTCGAG	CTCCGCCGC	GCGCCGATC	TCCGAGTGG
5	CGATCGGTGG	TAAACAAAA	GCCTCTCGAG	CTCCGCCGC	GCGCCGATC	TCCGAGTGG
6	CGATCGGTGG	TAAACAAAA	GCCTCTCGAG	CTCCGCCGC	GCGCCGATC	TCCGAGTGG
7	CGATCGGTGG	TAAACAAAA	GCCTCTCGAG	CTCCGCCGC	GCGCCGATC	TCCGAGTGG
8	CGATCGGTGG	TAAACAAAA	GCCTCTCGAG	CTCCGCCGC	GCGCCGATC	TCCGAGTGG
9	CGATCGGTGG	TAAACAAAA	GCCTCTCGAG	CTCCGCCGC	GCGCCGATC	TCCGAGTGG
10	CGATCGGTGG	TAAACAAAA	GCCTCTCGAG	CTCCGCCGC	GCGCCGATC	TCCGAGTGG
11	CGATCGGTGG	TAAACAAAA	GCCTCTCGAG	CTCCGCCGC	GCGCCGATC	TCCGAGTGG
12	CGATCGGTGG	TAAACAAAA	GCCTCTCGAG	CTCCGCCGC	GCGCCGATC	TCCGAGTGG
13	CGATCGGTGG	TAAACAAAA	GCCTCTCGAG	CTCCGCCGC	GCGCCGATC	TCCGAGTGG
14	CGATCGGTGG	TAAACAAAA	GCCTCTCGAG	CTCCGCCGC	GCGCCGATC	TCCGAGTGG
15	CGATCGGTGG	TAAACAAAA	GCCTCTCGAG	CTCCGCCGC	GCGCCGATC	TCCGAGTGG
16	CGATCGGTGG	TAAACAAAA	GCCTCTCGAG	CTCCGCCGC	GCGCCGATC	TCCGAGTGG

図5 - 2 ITS領域 (ITS1-5.8S-ITS2-26Sの一部) の塩基配列 (昨年度解析したものを含む)
 各行左端の数字は表1の試料No.と対応している (1→試料No.1)
 AB456095、AB456096、AB456097は、Genbankに登録されているタチバナのITS配列

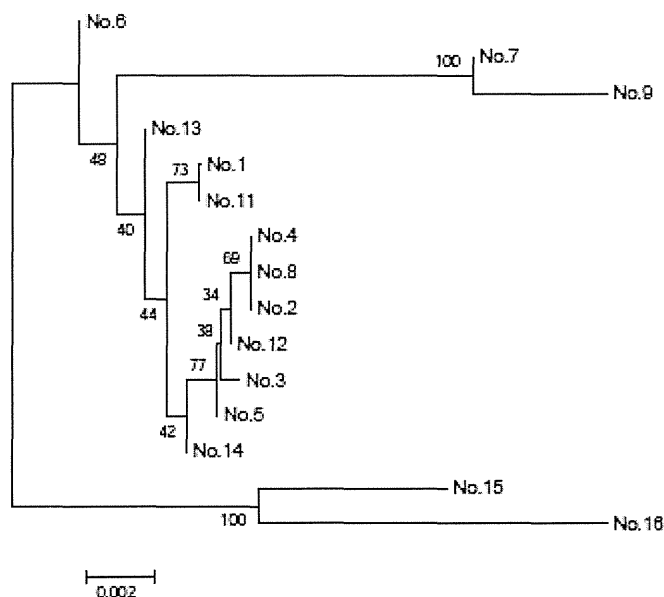


図6 系統樹解析 (Neighbor-joining法、Kimura 2-parameter model)



試料No. 1 明日香村役場



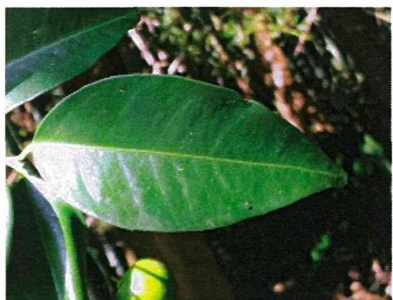
試料No. 2 聖徳太子生誕地の石碑



試料No. 3 橘寺（南の巨木）



試料No. 4 橘寺（プランターのもの）



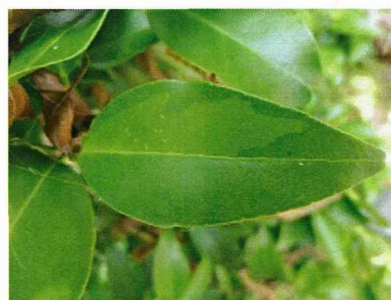
試料No. 5 花窟神社



試料No. 6 深山神社



試料No. 7 橘寺（晋山記念のもの）

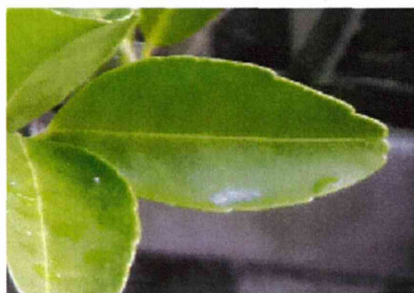


試料No. 8 近鉄飛鳥駅

図 7 - 1 試料No. 1～8の葉の形状



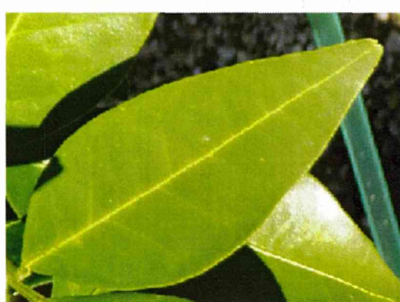
試料No. 9 興福寺



試料No. 11 京都御所



試料No. 12 武田薬品 (和歌山)



試料No. 13 武田薬品 (徳島)



試料No. 14 日本新薬



試料No. 15 ダイダイ



試料No. 16 ウンシュウミカン

図 7 - 2 試料No. 9~16葉の形状

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
－西南暖地「四国・徳島」においての薬用植物栽培と
系統農協における薬草産地育成・事業化に向けて－

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 田中 耕治 全国農業協同組合連合会徳島県本部園芸部直販・戦略課

研究協力者 高木 一文 徳島県農林水産総合支援センター農産園芸研究課 上席研究員

研究協力者 竹治 孝義 ミシマサイコ・トウキ生産農家

研究協力者 徳島県薬草協会

要旨 徳島県では薬用植物を栽培・事業化を目指している。現在、薬草産地の創出・育成コーディネーターとしての役割をJA全農徳島県本部が担い、種子生産から収穫・調整・保存・出荷までを理解すると共に、「薬草栽培マニュアル」の作成を目指している。まず、県下の産官学と民間の薬草に関する情報を集め、県の薬草事情を理解した。次に、産地化ならびに経済栽培を行う為に必要な種苗確保と、本県の気候と土壌条件に合った栽培方法の確立を目指し、少量でも入手可能な品目を採取し、種子の観察と増殖試験栽培を行った。その結果、これらの品目の特徴を理解するとともに、県内で栽培可能か精査した。県内では薬草栽培の成功例がないため、今後はさらに試験栽培が必要であると思われた。

A. 研究目的

徳島県は京阪神の台所であると自負する農業県であるが、近年はかなり力が失われつつある。特に中山間地は耕地面積が狭く、一般の農産物では収益が上がりにくいというのにタバコが廃作となり、代替え品目の模索が必要とされている。

薬用作物は品質や価格面での条件次第で、中山間地域においては有望な作物になりうる。全農とくしまは、産地コーディネーターとして、栽培や流通を調査・研究しながら、安定的生産と流通のしくみを作っていく事が期待されている。

しかし、一般農作物にはない困難さや、試行錯誤する必要があると思われる。

まず、県内の薬草事情を知り、作り易く育種された園芸品種栽培に慣れた生産者の為に、薬用植物と園芸植物と違いが認識できる、

「薬用植物の栽培マニュアル」を作成することが急務である。その為には、試験栽培に至る以前に多くの課題がある。

第一は、種子や苗の確保であり、それらは自前で調達しなくてはならならず、増殖栽培を行わなければならない。また、発芽率が低く、多量の種子を確保する必要があると予想される為、効率的な種子生産方法を確立する必要がある。

次に、産地創出の第一歩の対応策として、薬用植物と園芸植物の種子の違いを理解し、さらに発芽率向上を目指す為の採種方法と貯蔵方法を模索する。現在、より多くの試験用種子を集めて観察し、各品目の特性を見極める為の、播き付け試験を行い、適地適作可能な品目を求めて増殖栽培試験を行っている。

B. 研究方法

最初に、徳島県下の産官学と民間の薬草に関する情報を集め、産地化に向けての基礎情報を収集した。徳島県の研究機関や団体と連携して指導と援助を受けた。特に徳島県農林水産総合技術支援センターの技術及び研究機材を活用した。

県下での薬用植物事情の調査結果から、少量でも入手可能な品目を採取または増殖試験栽培を行い、採種方法や種子の観察を行った。

◆研究すべきと思われる品目選定は、下記の項目を中心としながら、その他入手可能なものとした。

- ① 県内に自生する薬用植物（含民間薬）
- ② 農林水産省の「第3回薬用作物に関する情報交換会」で挙げられた7品目（ミヤマサイコ・シャクヤク・トウキ・ボウフウ・カノコソウ・センブリ・オタネニンジン）

C. 研究結果

1) 徳島県内の薬草に関する機関と団体の調査について

① 大学および薬用植物園

- ・徳島大学薬学部付属薬用植物園…徳島市国府町
- ・徳島文理大学薬学部付属薬用植物園（徳島キャンパス）…徳島市山城町
- ・徳島県立保健製薬環境センター薬用植物園（製薬衛生担当「薬草教室」）…徳島市庄町
- ・美村が丘薬草園…美馬市脇町
- ・川島薬草園…吉野川市川島町
- ・山川町薬草園…吉野川市山川町
- ・上板町薬草園…板野郡上板町
- ・月ヶ谷温泉薬草園…勝浦郡上勝町

② 薬草・生薬会社

- ・池田薬草（株）…三好市池田町
- ・（株）小川生薬…三好郡東みよし町
- ・（有）日本漢方医薬研究所…徳島市川内町（鳴門工場 鳴門市北灘町）
- ・栄生薬…三好市三野町

③ 徳島県および地方行政

- ・徳島県立農林水産総合技術センター

イ；薬用植物の栽培に関する研究会
ロ；藍研究プロジェクトチーム会議

- ・美馬市 経済産業課
- ・三好郡東みよし町 地域雇用創造協議会「薬用植物講座」

・美馬郡つるぎ町 商工観光課

- ・勝浦郡上勝町 月ヶ谷温泉

イ；「薬用植物活用講座」

ロ；「全国薬草サミット・シンポジウム」

④ 民間機関

・徳島県薬草教会（県内の各支部）「身近な薬草展、ミニ展示会」

- ・阿波学会 「研究紀要」

2) 各品目について

※詳細は、別紙資料（写真）を参照。

◆薬用植物が園芸品目と大きく違った思われた項目

- ① 栽培が容易なものと困難なものとの差が大きかった。
- ② 種子は販売されておらず、極端に小さく、扱いが困難なものにも種子コーティングされたものなどがなかった。さらに手間がかかった。
- ③ 種子ができる時期については、全体的にバラツキが大きく、一斉収穫には適さないものが多かった。採種に手間がかかるものが多かった。
- ④ 発芽までには時間がかかり、バラツキが大きかった。さらに、硬実処理を要するものもあった。
- ⑤ 採種から、播種までの保存方法において、低温湿潤状態を必要とするものがあつた。
- ⑥ 園芸品目では、通常土壌 pH を中性にするのが一般的であるが、薬草では稀に強酸性を好むものがあつた。

◆品目別特徴について

1) セネガ

種子の硬実処理を行った。種子を入手してから適切な保存をしないと発芽しないことが分かった。現在、保存法として、硬い殻をサンドペーパーで軽く傷を付けて、砂の中で湿潤として冷蔵庫で保冷処理をする「層積法」を試みている。

2) ミシマサイコ

増殖試験栽培を行い、採種した。鳴門市で試験栽培を行い県下2か所での栽培事例を観察した結果では、県北部の鳴門市と南部の阿南市とではほぼ同じ生育ステージであったが、西部の美馬市ではおよそ1か月ずれがあり遅かった。美馬市でも山間部においてはもう少し遅かった。しかし、いずれの所でも栽培可能であった。また、旧式の脱穀機の使用が有効であった。

3) トウキ

試験栽培して種子を採取した。セルトレイに播種して発芽させ、それをプランターに移植して試験栽培した。また、阿南市羽ノ浦町での露地栽培での採種試験は継続中であるが、1年目に咲いた花には実ができなかった事を確認した。

結実させるには2年目の株を大きく育ててから、花を咲かせる必要がある事が分かり、試験栽培を継続している。

雑草対策として透水性のある防草シートを使用する試験栽培は有効である事を期待する。

4) ゲンノショウコ

県内にも自生地があり赤と白の花の両方がある事を確認した。また、試験栽培して種を採取した。栽培は比較的に容易であった。花は次々と咲き、莢が出来て実を着けるが莢の中では種子は無く、元の部分にあった。種を採取するには、株を決め、順次採種していけば良いと思われる。種子は追熟し、採種が遅れると弾けることを確認した。

5) ハトムギ

試験栽培して採種した。栽培は比較的に容易であるが、収穫・脱穀・選別は人手では困難であると思われた。

6) ハマボウフウ

根はごぼうのように太くて長かった。種の採取は容易であり、鳴門の砂地畑で栽培可能と思われる。

7) エビスグサ

試験栽培して採種した。栽培は比較的に容易であるが、収穫・脱穀・選別は人手では困難であろうと思われた。

8) センブリ

自生地にて観察し、採種した。絶滅危惧種に指定されている都道府県もある為、一部を保護したが枯死した。毎年種を採って播種するのは困難であると思われる。種子が極めて小さかった。薬草に詳しい農家でも栽培は難しいという認識であった。土壌pHを5.0~5.5にするのは困難であるが、「なると金時」栽培圃場でのアルカリ矯正に使用するイオウ末を用いる方法が期待される。

9) カワラヨモギ

自生地にて観察し、種子を採取した。絶滅危惧種に指定されている都道府県もある為、一部を保護した。鳴門の砂地畑で栽培可能と思われる。

10) その他品目

①赤シソ

試験栽培して種を採取した。栽培は比較的容易であった。種の大きさは、1mm程度であった。

②トウオオバコ

試験栽培して種を採取した。栽培は比較的容易であった。トウは50cmから60cmあり極めて大きく長かった。種はトウに着いている中に複数の小さな実があった。大きさは、極めて小さかった。

③タンポポ

大阪の老舗の製茶店から在庫の問い合わせがあったので、自生するものの根を採取して洗浄し乾燥を試みた。掘り取りには予想以上に手間を要した。

④ステビア

試験栽培して種子を採取した。増殖は挿芽による方法が一般的であるという知見を後々に得た。

⑤ジュズダマ

入手して観察した。大きさは約1cm程度であった。

⑥クララ

入手して観察した。種子はマメ科植物らしい形状であった。

⑦ショウガ

試験栽培し、根を収穫した。出来が良くなかった原因として、適当な日陰を作らなかった

た事と土壌が良くなかったことが予想された。土壌を選ぶようだが田んぼ地で栽培可能であると思われる。

⑧クコ

かつて徳島はクコの有数の産地であったとされ、吉野川沿いに多く自生していたが護岸工事により消失した。栽培は比較的容易であると思われたが、栽培初期に枯死した。そのため、漢方薬局で大きくて甘い品種を購入して播種を行った。一週間程冷蔵庫で保管してから播種したところ、発芽が確認された。今後は、薬用以外に食品としての需要を見込みたいと考えている。

11) 県との連携品目

①チョウセンゴミシ

実生増殖促進に寄与する発芽率向上技術の確立を図った。その結果、15分間砂揉みした種子の発芽率が高かった。

②フキ

フキを促成物以外に薬用植物としての栽培の普及促進をした。効率的な苗生産のための「根挿しセル育苗法」を開発した。今後は生産現場に普及させていく予定である。

③ゲンノショウコ

限定された地域にしか自生していない株から採種を行い、効率的な種苗供給手段としての実生苗生産を試みる予定である。

D. 考察

薬草栽培の方向性を探るために徳島県関係の文献を調査したところ、「徳島県薬草図鑑（徳島新聞社）」（現在絶版）、「阿波学会紀要（阿波学会調査）」が見つかった。それによると、地形は東西 107 kmで、標高は 0m から 1,000m を越える範囲までであった。県内には南北に分ける四国山地と北端の阿賛山脈、この間を縫って吉野川が流れ、四国山地の南には那賀川がある。急峻な地形が個性ある地域気候を生み出しており、その地域の個性豊さは、多様な自生植物を育み、薬草を多く産出したという。

現在、高度な医療が容易に受けられるようになった為、かつては必要とされた民間薬医療が不必要なものとなりつつある。しかし、

一部地域では民間薬医療の風習が残っており、何らかの形で残すことが可能であると考えられ、そのための情報を収集する必要があると思われた。

情報収集の結果、「ヒキオコシ」などの現物と情報が発見された。しかし、薬用植物のなかには絶滅危惧種に指定されている品種もあり、環境の変化に敏感であるので、すでに無くなりつつあるものもある。そのため、いくつかの品目は保護しておかなければならない。

今後、産地作りを始めるにあたり、県内の民間を含めた各機関との連携をとりつつ、種苗の確保や有用情報の収集と交換をする必要がある。

特に連携すべき先は、育苗業者であると考えられる。県内では信頼性の高い業者が 1 社見つかった。農業者の高齢化が進むなかで、薬用作物の安定生産と収穫期間の短縮化するために、「苗」が不可欠であるゆえ、薬草の育苗業者の存在意義というのは、生産効率を上げ、生産された薬草の品質を上げる事を可能にすると思われる。

E. 結論

薬草栽培は中山間地においては、有望品目になり得ることが分かった。しかし、栽培するにはそれなりの覚悟とリスクが求められる。まずは小規模な試験栽培から始め、各地域の気候条件や土壌条件との適合性を検討し、栽培品目を選定する必要がある。また、栽培希望の品目より栽培可能な品目を模索し、栽培のための面積を確保してから出口対策を行うことが必要と思われる。

指導体制については、現在、JA や県の農業支援センターにも、薬用作物の指導が可能な職員がいない状況である。

県内の生薬会社は 4 社あるが、健康茶やコスメなどの取り扱いが中心であり、自前で種苗を供給し、栽培指導をするのは困難である。さらに、県内需要だけを見てはいけなと思われる。需要が少なすぎると産地には成り難い。過去に、栽培が軌道に乗るとブレーキがすぐにかかった経験がある。

試験栽培を行った結果、薬用作物栽培に適している農家の条件は、細かい作業に慣れ、少量多品目の野菜や花卉などを扱い、その栽培技術を応用できるような農家で、元タバコ農家は適していると考えられる。しかし、その多くは高齢であることが課題である。

その他に薬草栽培農家における課題は、一般農作物と同様に除草にかかる負担であり、当面は手除草に頼らなければならないと思われる。また、園芸種と違い、発芽率の低く、生育にバラツキがあることも課題となる。

今後は、県内では、薬草栽培の成功例がないため、試験栽培をしなければならないと思われる。

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

【チョウセンゴミシの実生増殖における種子の砂揉み試験】(田中耕治・高木一文)

A. 研究目的

チョウセンゴミシは、マツブサ科のつる性落葉木本植物で、果実を咳止めや強壮薬として主に中国から輸入されており、国内における営利栽培はない。このため、チョウセンゴミシの国内自給を目指し、栽培技術を確立する。チョウセンゴミシを大量に増殖する手段のひとつとして実生増殖があるが、発芽率が極めて低い。それは、種子の種皮が硬く、吸水を阻害していることが原因のひとつと考えられる。そこで本試験では、チョウセンゴミシの実生増殖において、種子の表面を砂で

揉み、種皮を傷つける時間が発芽率に及ぼす影響について検討する。

B. 研究方法

供試材料：徳島県三好市池田町シンヤマで栽培していたチョウセンゴミシから2013年9月10日に採取した果実を追熟、ポリエチレン袋内で戸外常温貯蔵後、2月19日に水洗して得られた種子と、研磨材として吉野川の川砂（建材用）。

播種培地：フェノール樹脂吸水スポンジ（オアシス）162穴セルトレイ

試験規模：1区27粒×6区

種子の傷付け方法：厚手のポリ袋に川砂と種子とを入れ、両手で強く揉んだ。

試験区：揉み時間30秒、1分、3分、15分及び皮むき、無処理の6区

播種：2014年2月19日

試験場所：徳島農技センターE-26硬質プラスチックフィルムハウス内

管理：無加温、側窓及び天窓による換気を行なった。遮光は無し。また灌水はオアシス培地が乾く直前にジョロで手灌水した。

C. 研究結果

1. 播種後の気温の推移は第1図のとおり。試験期間中の平均気温は16.5℃、発芽が始まるまでの播種後30日間の平均気温は11.8℃であった。

2. 発芽が最も早かったのは皮むき区で、播種後33日の3月24日であった。

3. 発芽率が最も高かったのは皮むき区の25.9%で、次いで砂揉み15分、1分、30秒＝無処理の順となり、3分区が7.4%と最も低かった。

4. 皮むき区の発芽7株のうち、2株は子葉や胚軸が奇形となり生育が停滞し、後に枯死した。

D. 考察

チョウセンゴミシの種皮は硬く、人為的に破ってやることで発芽率が高まる。今回の試験では、種子を15分間砂で揉んだ区が、皮むき区に最も近い発芽率22.2%となった。