

薬用植物センブリ・ミシマサイコ 生産の効率化に関する研究

2013 年 1 月

千葉大学大学院園芸学研究科
環境園芸学専攻緑地環境学コース

兼 子 ま や

(千葉大学学位申請論文)

薬用植物センブリ・ミシマサイコ
生産の効率化に関する研究

2013 年 1 月

千葉大学大学院園芸学研究科

環境園芸学専攻緑地環境学コース

兼 子 ま や

目次

序 論	1
本 論	5
第 1 章 センブリの薬効成分に及ぼす栽培地の標高，株齡， 種子の保存年数および系統の影響	
第 1 節 序 論	7
第 2 節 栽培地の標高が生育，swertiamarin 濃度に及ぼす影響	
1. 緒 言	14
2. 材料および方法	15
3. 結 果	18
4. 考 察	21
第 3 節 株齡の異なるセンブリの swertiamarin 濃度の調査	
1. 緒 言	23
2. 材料および方法	24
3. 結 果	25
4. 考 察	26
第 4 節 種子の保存年数が種子の発芽率および実生の swertiamarin 濃度に及ぼす影響	
1. 緒 言	28
2. 材料および方法	29
3. 結 果	31
4. 考 察	34

第 5 節	品 種 ・ 系 統 に よ る swertiamarin 濃 度 の 差 異	
1.	緒 言	37
2.	材 料 お よ び 方 法	38
3.	結 果	39
4.	考 察	40
第 6 節	結 論	42
第 2 章	ミシマサイコの養液栽培技術確立	
第 1 節	序 論	46
第 2 節	固 形 培 地 耕 に お け る 培 地 ・ 灌 液 頻 度 の 違 い が 生 育 ・ 品 質 に 及 ぼ す 影 響	
1.	緒 言	50
2.	材 料 お よ び 方 法	52
3.	結 果	55
4.	考 察	59
第 3 節	培 養 液 の 濃 度 が 生 育 , saikosaponin 濃 度 に 及 ぼ す 影 響	
1.	緒 言	64
2.	材 料 お よ び 方 法	65
3.	結 果	67
4.	考 察	70
第 4 節	ミシマサイコの養分吸収特性	
1.	緒 言	73

2.	材 料 お よ び 方 法	74
3.	結 果	75
4.	考 察	77
第 5 節	結 論	78
総 合 考 察		81
摘 要		85
Summary		86
謝 辞		89
引 用 文 献		90
主 要 論 文 目 録		95

序論

植物は世界各地で古くから傷病の治療に用いられてきた。我が国では、生活の中で見いだされてきた薬用植物（ゲンノショウコ、ドクダミ、センブリ）に加え、中国で見いだされてきたものが伝わったもの（マオウ、ニンジン、サイコ）が利用されており、前者は民間薬として単体で、あるいは生薬製剤の原料として用いられ、後者は主に漢方薬として用いられている。薬用となる植物などから得られる天然由来の薬物は、化学合成など人工的手段で製造される薬物に対して「生薬」と呼ばれる（奥田，2007）。

生薬は主に伝統的な薬物療法で用いられるが、近年、漢方などの薬物療法を含む東洋医学が注目されている。西洋医学では治療困難な症例が漢方では容易に治癒する事例もあり（寺澤，2006），8割以上の医師が治療に漢方を用いたことがあるという

（日本漢方生薬製剤協会，2012）。平成22年度には行政刷新委員会の事業仕分け作業で、医療用漢方製剤（漢方エキス製剤・煎じ薬）を健康保険から除外するという案が持ち上がったが、これに反対する署名が90万以上集まっており、医師・患者双方から漢方治療への期待があると考えられる。

生薬は我が国の医療に欠かせないものであるが、原料生薬の調達は80%以上を輸入に頼っている現状を考えると、今後の安定供給に不安がある。さらに近年、最大の輸入元である中国において原料生薬の価格が上昇しており、その原因は「資源の減少」に加え、「中国国内の需要増」，「人件費・栽培加工費の上昇」，「天候」等とされ、今後とも原料生薬の価格は上昇傾向を示していくと予測される（日本漢方生薬製剤協会，2011）。

これまで国内の薬用植物栽培面積は減少傾向であったが（Fig. 1），安定供給が懸念される近年では、国内での薬用植物生産が注目されている。国内産は価格の面で対外

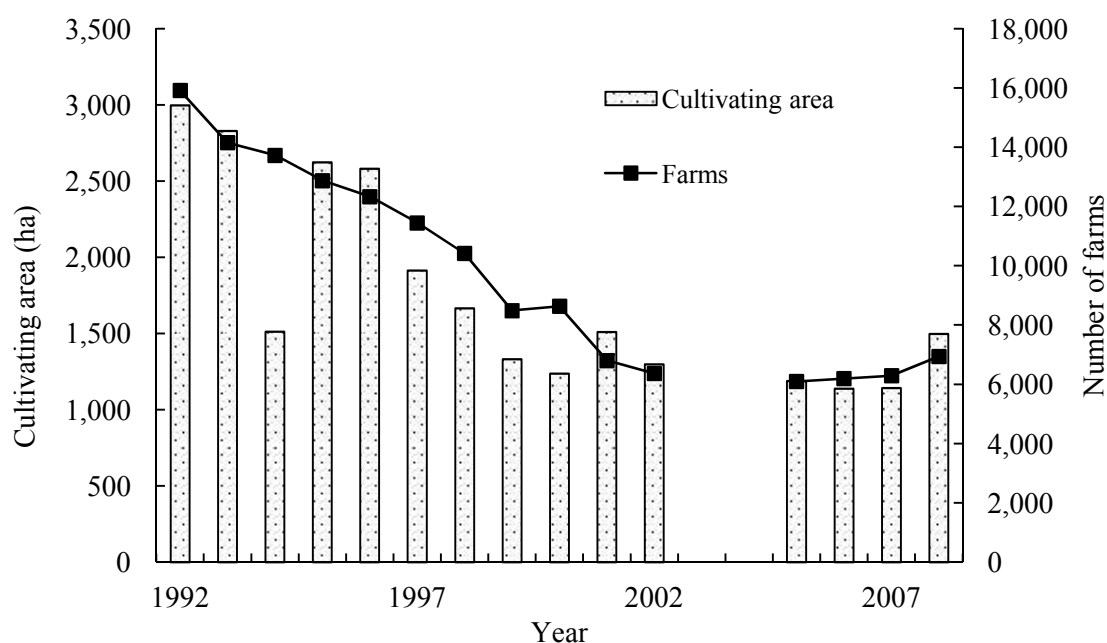


Fig. 1 Changes in cultivating area and number of farms making medicinal plant from 1992 to 2008. The figure was made from data the published by Japan speciality agriculture product association. Data of the year 2003 and 2004 were not found.

競争力に劣ってきたが、中国からの輸入が困難、価格が上昇している現在では、今後海外産と国内産の価格差は縮まると考えられる。また、薬用植物の国内生産はトレーサビリティや輸送コストなどの面で有利であり、中山間地の換金作物としても有望視されている。

薬用植物栽培が注目される一方で栽培技術に関する知見は乏しい。また栽培化されている薬用植物であっても、栽培技術は古くからの方法を継承している場合が多い。一方、園芸植物は養水分管理、苗生産等の技術開発で省力化、高品質化、土地の有効利用、多収を実現してきた。薬用植物においても、園芸生産技術は省力化や多収をもたらすと考えられる。

そこで本研究では、伝統民間薬のセンブリ (*Swertia japonica* Makino) と生薬資源のミシマサイコ (*Bupleurum falcatum* Linne) を対象植物として、効率的生産技術の確立を目指し、生育や薬効成分に影響を及ぼす要素について検討を行った。

センブリとミシマサイコは使用部位、用途が大きく異なる。センブリは日本三大民間薬の一つであり、開花期全草を生薬「当薬」として用いる。漢方には用いないが、胃腸薬などの民間薬に配合される。また脱毛症に効果があると言われており、育毛剤や化粧品などにセンブリエキスを配合されている。日本のみで使用されるセンブリの供給は日本国内で生産された栽培品で賄われている。一方、ミシマサイコの利用部位は根で、乾燥根は生薬「柴胡」と呼ばれ、主に漢方処方に用いられ、生薬の中でも使用量が多い品目である。中国や韓国などでも柴胡は使用されており、我が国での供給は主に中国からの輸入に頼っている。

異なる特徴を持った2種類の薬用植物を例に、生育や薬効成分に影響を及ぼす要素や問題点を明らかにすることで、我が国の薬用植物栽培における園芸的生産技術利用の道を拓けるものと考えられる。

本論

第 1 章 センブリの薬効成分に及ぼす栽培地の 標高，株齡，種子の保存年数 および系統の影響

第1節 序論

センブリ (*Swertia japonica* Makino, 生薬名：センブリ, 当薬^{とうやく}) は、リンドウ科センブリ属の二年生草本で、日本全国の日当たりのよい丘陵や低山の草地に自生する



Photo 1 Seedling of *S. japonica* plant (wild type)

(Photo 1) . ドクダミ, ゲンノショウコ

と並ぶ日本の三大民間薬の1つとして、全草が胃腸虚弱や下痢、腹痛などに用いられている。日本薬局方収載の生薬であるが、漢方処方には用いられていない。全草にセコイリドイド配糖体の swertiamarin, sweroside, gentiopicroside, amarogentin および amaroswerin やキサントン誘導体の swertinin および swertianolin, フラボン C-誘導体の swertisin などを含み、家庭用胃腸薬や苦味チンキ原料など苦味健胃薬として用いられる (Photo 2) . また、育毛効果があるとされ、外用では育毛剤、マスカラや眉墨などの化粧品にも配合される。



Photo 2 Drugs and cosmetics containing *S. japonica*

センブリは日本で最も身近な民間薬の一つであるが、日本全国に自生地があり手に入りやすかったことが背景にあると考えられる。しかし、昭和40年代後半から長野県で本格的な栽培が始まる50年代初頭までに、kgあたり10,000円から30,000円に値上

がりをしており生産が追いつかない状態であったことが推察される (Fig. 2) . これは宅地や道路などの造成のため山や丘陵が切り崩された結果自生地が減少したこと、採取人が少なくなったことが原因であると考えられる (小林, 1974) . 従来は、野生株の採集だけに頼ってセンブリ生産が行われてきたが、そういった状況下でセンブリ栽

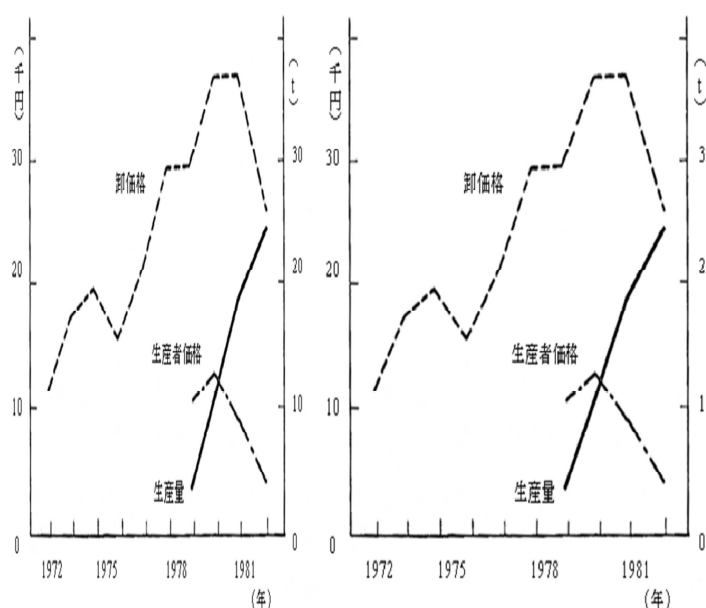


Fig. 2 Changes in price and amount of production of "Senburi (swertia herb)" from 1972 to 1981 (Kobayashi, 1982)

培の研究は始められた。

センブリの生息地は限られており好適な環境下においても、頻度・被度共に小さくなく、自生地が各地に存在する一方で、栽培は困難であると言われていた (中山, 1948) .

最も早くセンブリ産地形成がなされた長野県では、

野菜花き試験場北御牧試

験地 (現野菜花き試験場佐久支場) で 1973 年からセンブリの栽培研究に着手し、発芽条件および生育期における受光量などが明らかにされ、1976 年にセンブリの栽培法が体系化された。翌 1977 年からは農家でセンブリの栽培が始まり、1978 年から市場に出荷され、特産物として定着してきた。センブリ栽培化は詳細な生態調査、数年に及ぶ栽培試験など研究者や試験場がそれぞれ精力的な研究によって成功したもので、野生薬用植物栽培化の好例と言える (兼子ら, 2010) .

一方で、センブリの事例は薬用植物の流通上の問題点を具現している。栽培化され、生産量が急激に増えたことから、供給過剰気味となり 1980 年以降、生産者価格が急速

に低下した (Fig. 2) . センブリの 1981~2002 年の国内生産量は、年間 30t 程度が上限で (Fig. 3) , センブリの年間消費量から考えて現状では年間 30t 程度の生産で十分であり、それ以上の過剰生産は生産者価格の下落につながる可能性がある。現在、長野、高知県の現在の流通形態はともに契約栽培がほとんどであり、国内生産量や生産者価格がある程度安定しており、流通面に関しては、今後も契約栽培が主体になっていくと思われる (日本特産農産物協会, 2009 ; Fig. 4) .

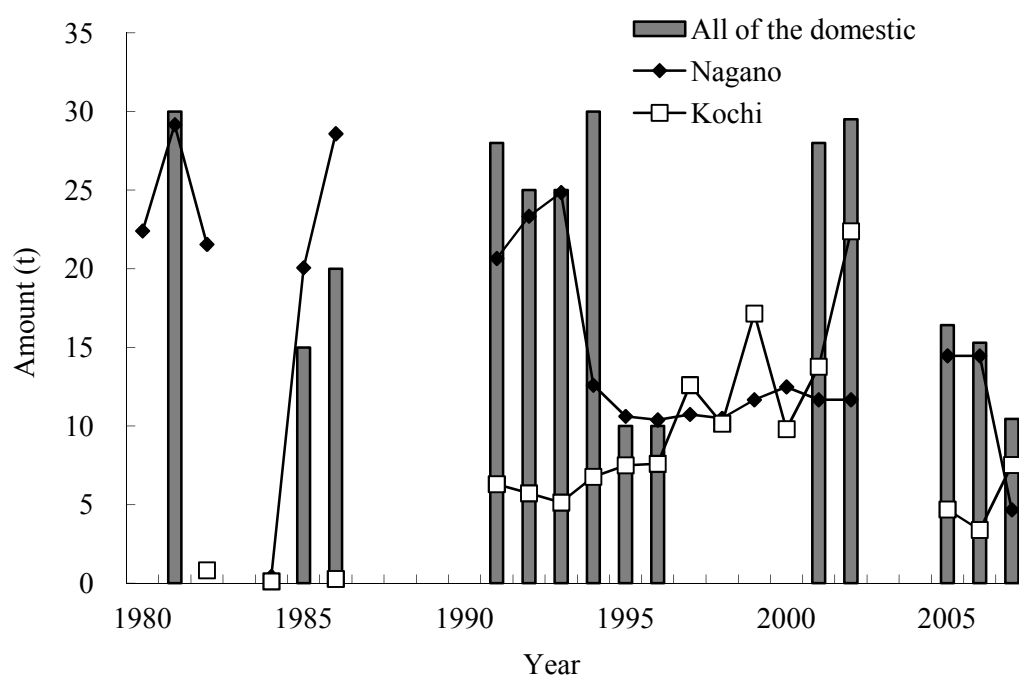


Fig. 3 Changes in amount of *S. japonica* production from 1980 to 2007. The figure was made from the data published by Japan speciality agriculture product association. Data of the year 1983, 1987~1990, 2003 and 2004 were not found.

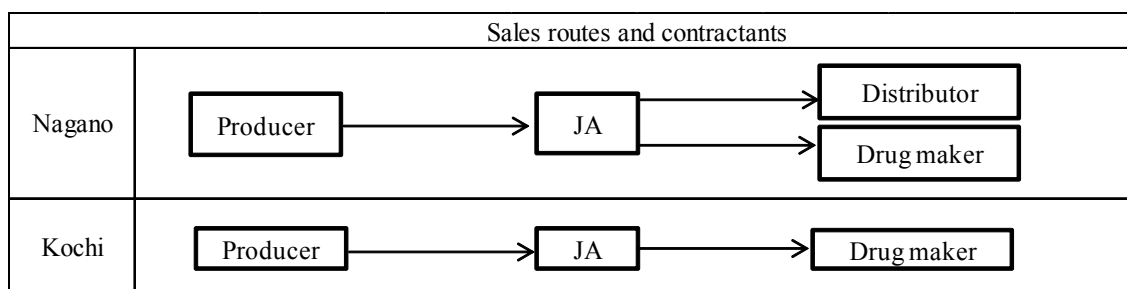


Fig. 4 Sales routes of *S. japonica* produced at Nagano and Kochi.

しかし、現状の生産量を維持していくにはいくつかの問題がある。まず栽培農家の減少である。高知県に関して、栽培農家戸数は10戸程度で安定しているが、長野県では栽培面積栽培農家戸数とも年々減少傾向が続いている（Fig. 5）。また、2005年以降は生産量が10t～16t前後であり、それまでの年とくらべ約半分程度である。高知県では2002年から2005年の間に栽培面積自体が減っており2005年、2006年度の生産量の減少はこれに起因するものと考えられる。さらに、2007年度には長野県で生産量が大幅に減っているが（Fig. 3），長野県野菜花き試験場によると、その要因は病害虫（センブリさび病やシクラメンホコリダニなど）の蔓延による不作であるという（Photo 3）。経営の不安定性は栽培農家の減少を招く恐れがあり、将来的には供給量の不足が懸念される。

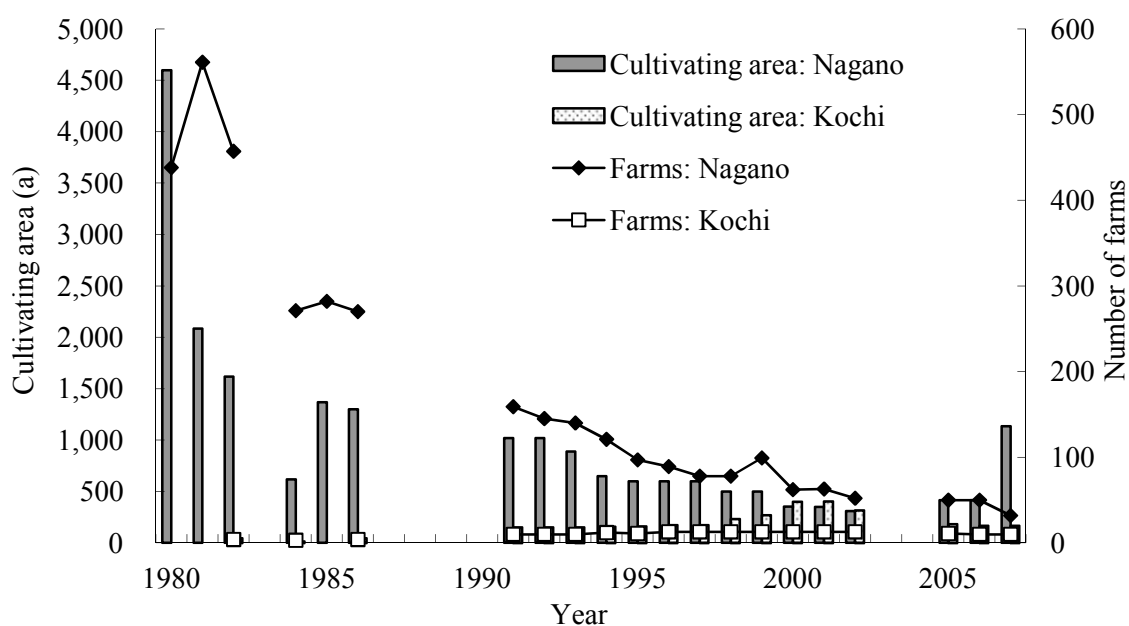


Fig. 5 Changes in cultivating area and farms of *S. japonica* from 1980 to 2007. The figure was made from the data published by Japan speciality agriculture product association. Data of the year 1983, 1987～1990, 2003 and 2004 were not found.

現在は、使用量のすべてを国内産で賄っているが、今後とも安定的にセンブリを供給するためにはセンブリ産地の拡大、収量安定、効率化は必須であると考えられる。しかし、これまで栽培に関する報告は少なく、さらにその報告のほとんどが発芽や培養など、増殖に



Photo 3 Second-year-old seedlings infected by fungal

関するものである。生育環境が異なると収量や品質、薬用成分にどのような影響を及ぼすか、薬用成分には品種・系統間差異がどの程度あるのかなど、不明な点が多い。

そこで、本研究では栽培地の標高、株齢、種子の保存年数、品種・系統がセンブリの生育や主な薬効成分に及ぼす影響を調査した。

まず、長野県の現状から産地の拡大が必要と考えられたため、第2節では栽培地の標高異なる3地点で栽培行い、生育、swertiamarin濃度に及ぼす影響を調べたが、栽培地によって生育に大きな差があった。続いて栽培期間を短縮することを目標に、第3節ではswertiamarin濃度からセンブリ1年生株の有用性を検討した。また、センブリ種子は半年以上の保存が出来ないとされており、播種期が限定されている状況であるが、生産の省力化や新たな栽培体系の導入にあたっては播種期の拡大は必須であるため、第4節ではセンブリ種子の-20℃下での保存が、発芽率と実生の生育、薬効成分濃度に及ぼす影響を調査した。以上の試験から、1年生株および凍結保存種子の有用性が明らかとなった。さらに、センブリは日本全国に自生していたことから、遺伝子資源は豊富であると考えられるため、第5節ではswertiamarinに注目し長野県で育成された3

品種，6系統について品種・系統間の差異を調査したところ，swertiamarin 高含有系統の存在が明らかとなった．

以上，本研究から，センブリの安定・効率的生産技術開発に貢献できる知見が得られた．併せて，育種によるセンブリの高品質化の可能性が示されたものである．

第2節 栽培地の標高が生育，swertiamarin 濃度に及ぼす影響

1. 緒言

センブリ栽培戸数，栽培面積は減少傾向にあるが，その原因は栽培県のうち長野県において 1980 年代より栽培戸数，面積ともに減少傾向にあるためである．今後ともセンブリを安定的に供給するためには，栽培地の拡大を視野に入れる必要があると考えられるが，センブリは長野県と高知県の一部でしか栽培が行われておらず，栽培に関するデータが乏しい．センブリは栽培化が難しいと言われてきた歴史があり，さらにセンブリの生態学的研究を行った中山（1948）は，センブリは生育に好適な環境条件が比較的狭いと予測していることから，新たな栽培地の選定は難しいものであると考えられる．

一方，現在の主要産地である長野県においては，センブリの自生地から採取してきた系統について試作試験を行い，その中から栽培に適した系統を選抜し，品種を育成してきた（宮沢，1981）．これら品種は野生種と比較して栽培に適していると考えられる．しかし，これらを産地である長野県佐久地方以外の栽培データはない．そこで，第2節では長野県で育種，選抜されたセンブリ 3 品種，2 系統について標高の異なる 3 地点，菅平（標高 1800m），小諸（標高 815m），柏（標高 20m）にて栽培を行い，生育および swertiamarin 濃度に及ぼす影響の調査を行った．

2. 材料および方法

供試品種・系統 品種‘みまき1号’，‘みまき2号’，‘みまき3号’および系統“S-117”，“寒風山”を供試した．

栽培地 長野県上田市（長野県菅平薬草栽培試験地，標高 1,800 m），長野県小諸市（長野県野菜花き試験場佐久支場，標高 815 m），千葉県柏市（千葉大学環境健康フィールド科センター，標高 20 m）の3ヶ所とした．

栽培方法 **露地栽培**：3月下旬～4月中旬に播種を行った．耕起整地後，床幅 100 cm，通路幅 50 cm，床高 10 cm 程度の短冊型の播種床をつくり（Photo 4 - A），播種前に床の乾燥を防ぐため，床土を十分鎮圧して床面を平らにならした（Photo 4 - B）．播種量は，1 m² 当たり 0.3～0.5 g 程度のよく充実した種子を標準とし，1 m² 当たり 0.5 L 程度の細土に種子をよく混合し，畝一面に均一になるように播種した（Photo 4 - C）．播種後は覆土を行わず，乾燥を防ぐためもみがらを一重に並べる程度に被覆し（Photo 4 - D），さらに1年目秋まで遮光率 50%の寒冷紗を，床の中央部の高さ 50 cm 程度にトンネル状に被覆した（Photo 4 - E, F）．基肥は施用せず，2年目春に緩効性肥料（スーパーロング 424，180 日タイプ）を施用した．**鉢栽培**：10号素焼き鉢に長野野菜花き試験場佐久支場圃場の土壌を入れ，露地栽培と単位面積当たりの種子量が同程度になるよう播種を行い，露地栽培と同じように管理を行った．

Swertiamarin の定量

(1) 分析条件 swertiamarin の定量には，紫外検出器（L - 4000，HITACHI）を備えた高速液体クロマトグラフィーを用い，波長 238 nm で測定した．カラムは ODS column（4.6 mm i. d. × 150 mm，5 μm）（GLサイエンス）とし，カラムオーブン（L - 5025，HITACHI）を用いて，カラム温度を 50℃ 一定とした．移動相溶媒には水：アセ



A: A sowing bed



B: Bed was pressed using the wood board



C: Seed was sown by broadcasting seeding



D: Bed was covered with chaff after sowing



E: Bed was shaded with cheesecloth



F: Production site of *S. japonica* in autumn

Photo 4 Pictures of sowing procedure and the production site

トニトリル=91 : 9 (v/v) を用い、カラムポンプ (L - 2130, HITACHI) にて移動相流量を溶出時間が 10 分程度になるように調整した (Fig. 6) .

(2) **試料の調製** 収穫したセンブリは、水洗後、室温で 3 週間乾燥させた。さらに、全草をミル (IMF - 650D, Iwatani) にてやや粗い粉末 (以下、中末とする) にした。

(3) **swertiamarin 抽出** 中末に 10 mL の MeOH を加え、40°C で 30 分間振とうし、上澄みを分取後、残留物にはさらに 10 mL MeOH を加え同様に操作した。また残留物にはさらに 10 mL MeOH を加え一晩静置後、再度上澄み液を採取し、減圧乾固した。残留物に MeOH を 10 mL 加え溶かし、この液 1 mL に移動相溶媒を加え 50 mL とし、試料溶液とした。

(4) **定量** swertiamarin 標準品 (和光純薬) を用いて作成した検量線により行った。

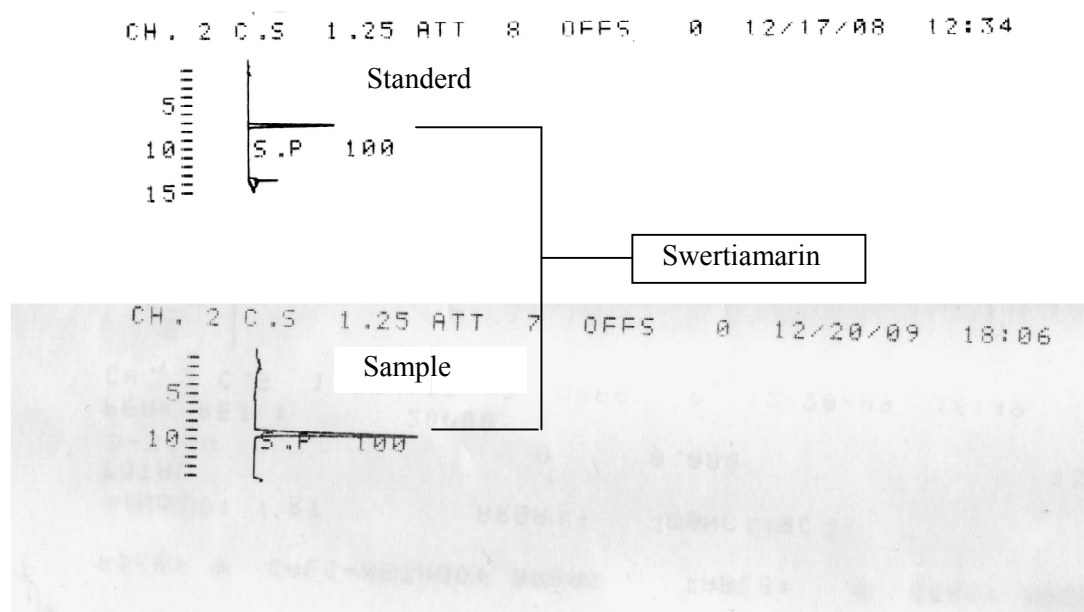


Fig. 6 HPLC chart of swertiamarin

3. 結果

露地栽培では、現在の生産地である小諸で栽培されたものと比較して他の栽培地では生育が著しく劣った。上田ではすべての品種で株重は 20%以下 (Fig. 7) , 単位面積当たりの収量は‘みまき 1 号’ , ‘みまき 2 号’ では 10%以下, ‘みまき 3 号’ では 40%以下であった (Table 1) 。 また、柏においては、1 年目夏期にすべての品種で枯死した。

鉢栽培では、すべての栽培地で正常な個体が得られた。株重について、‘みまき 1 号’ は、小諸で栽培したものについて他の 2 区より高く、上田、柏間では有意差は見られなかった (Fig. 8) 。 ‘みまき 2 号’ については、上田で栽培したものは、小諸で栽培

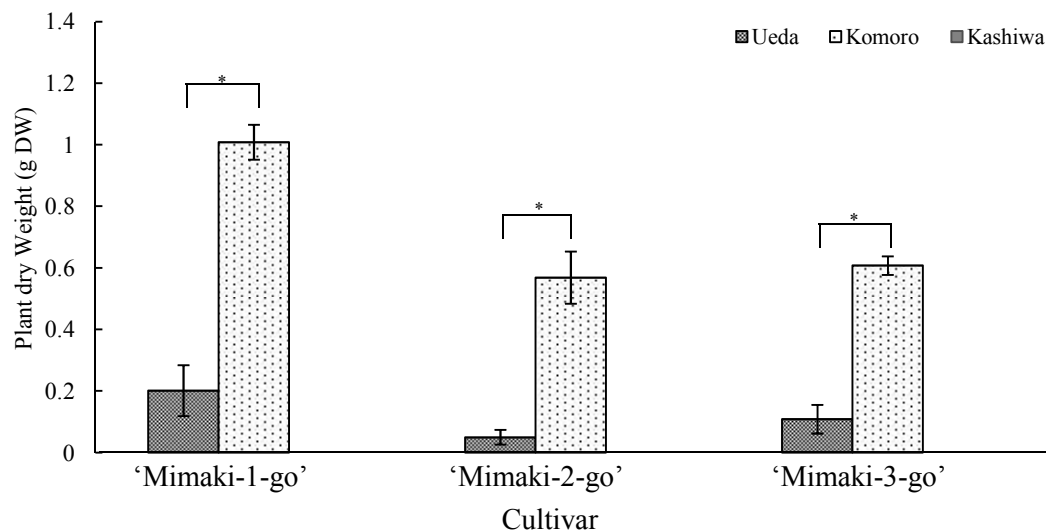


Fig. 7 Plant weight of *S. japonica* grown in different altitude (Field experiment). * represent significant difference by student's t- test at the 5% level. Bertical bar indicates SE (n = 14).

Table 1 Yield of *S. japonica* cultivated in different altitude

Site	Yield (g/100 cm ²)					
	'Mimaki-1-go'		'Mimaki-2-go'		'Mimaki-3-go'	
Ueda	2.1	± 0.1 ^z	3.1	± 0.5	29.4	± 3.5
Komoro	36.8	± 3.7	40.9	± 4.0	80.6	± 4.8

^z Mean ± SE (n=3)

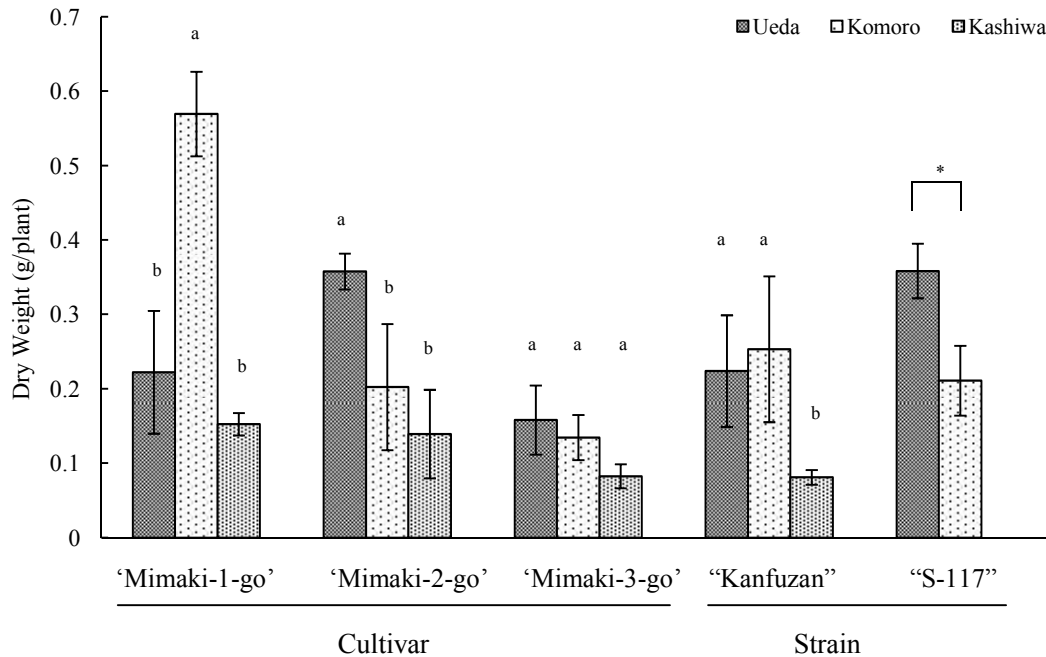


Fig. 8 Plant weight of *S. japonica* grown in different altitude (Pot experiment). Different letters within the cultivar or the strain represent significant differences by Tukey-Kramer test at the 5% level. * represent significant difference by student's t-test at the 5% level. Bertical bar indicates SE (n = 6).

したものを上回ったが、柏で栽培したものは小諸を下回った。‘みまき 3 号’は、栽培地間で株重に有意差はなかった。‘寒風山’，‘S-117’は柏において生育が劣り，‘S-117’は柏では収穫できなかった。

Swertiamarin 濃度については、露地栽培では‘みまき 1 号’では小諸で栽培されたものと上田で栽培されたものの間に有意差はなかったが，‘みまき 2 号’および‘みまき 3 号’においては小諸と比べ上田で栽培されたものが 60%程度高かった (Fig. 9) . また、鉢栽培では，‘みまき 1 号’について栽培地間で有意差はなかったが，‘みまき 2 号’については，小諸，上田，柏の順に高く，‘みまき 3 号’においては小諸，柏，上田に高かった (Fig. 10) . ‘寒風山’は柏では試料が足りず分析できなかったため，‘寒風山’，‘S-117’は上田，小諸間での比較とした。‘寒風山’は小諸でや

や高かったが“S-117”は上田が倍程度高かった。

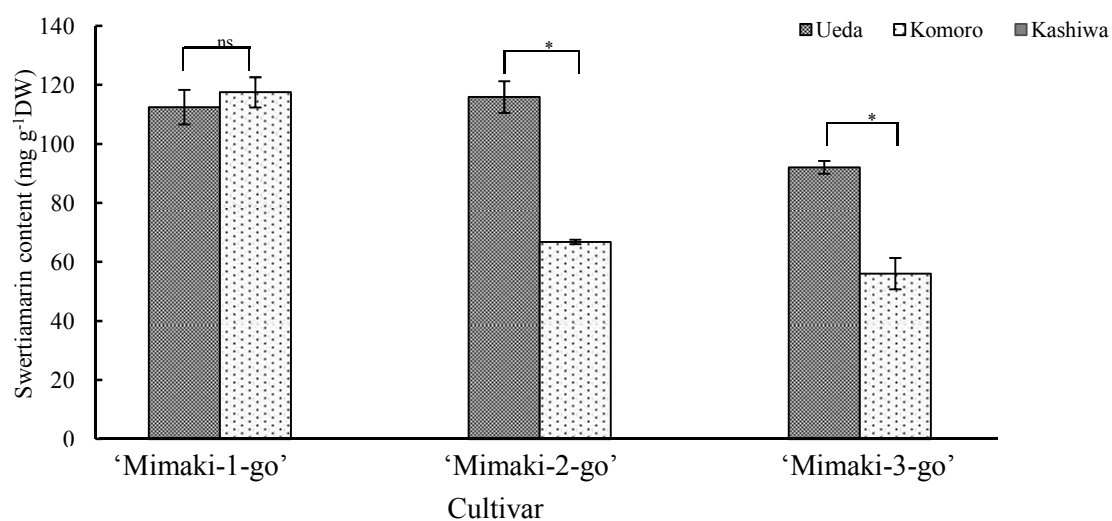


Fig. 9 Swertiamarin content of *S. japonica* grown in different altitude (Field experiment). ns and * represent non-significant or significant difference by student's t-test at the 5% level, respectively. Bertical bar indicates SE (n = 4).

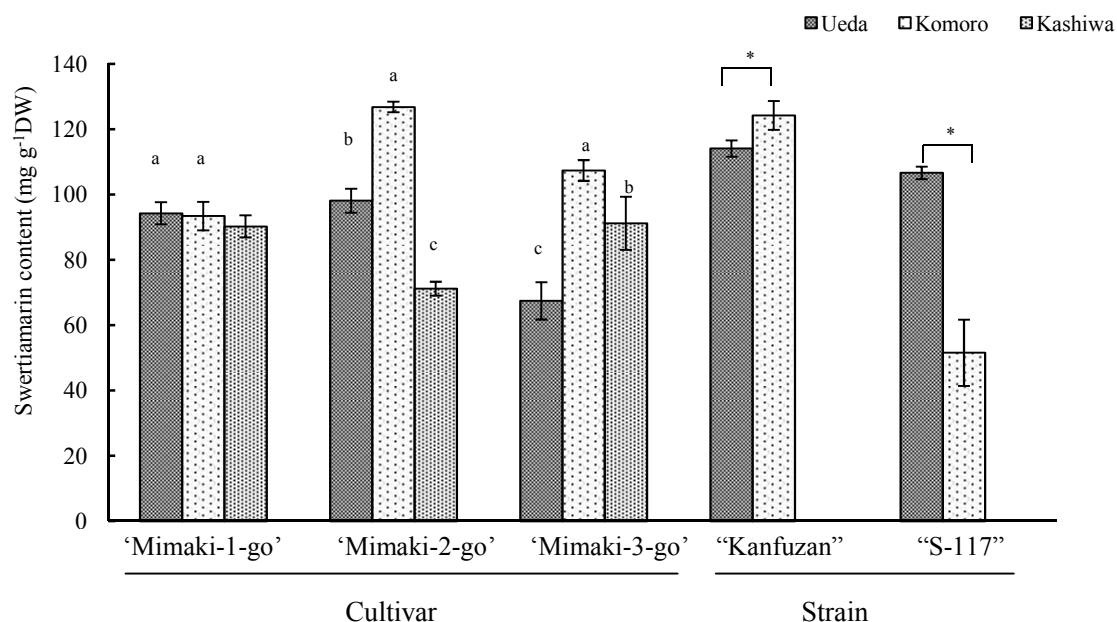


Fig. 10 Swertiamarin content of *S. japonica* grown in different altitude (Pot experiment). Different letters within the cultivar or the strain represent significant differences by Tukey-Kramer test at the 5% level. * represent significant difference by student's t-test at the 5% level. Bertical bar indicates SE (n = 4).

4. 考察

標高の異なる3ヶ所で栽培を行い、栽培地の標高は swertiamarin 濃度、生育に影響を及ぼすことが明らかとなった。特に露地栽培では生育に大幅な差異があった。既往の研究では雲仙（海拔 440 m）と長崎（海拔 30 m）で比較栽培を行っているが、長崎での栽培では生育が悪く2年目8月にはすべて枯死しており（井上, 1977 b），今回の柏区と似た結果を示している。今回の試験では swertiamarin 濃度、生育に影響を及ぼした直接的な要因は不明であるが、気象データや過去のセンブリ生育環境の報告から若干の推察を行った。

この実験では露地栽培において、柏区では1年目にすべて枯死してしまった。センブリは平地に生える場合もあるが、大体は北（西北）面傾斜地か尾根すじの、地表が多少露出した場所で、土壤の含水率が高い場所に自生するといわれる（小林, 1974）。栽培指針内でも、センブリは初期生育が緩慢で、この時期の乾燥に弱く、また雑草と競合してしまうため、一日の日照が4~5時間あり土壤水分が60%前後に保つことができ、かつ他植物があまり繁茂しない地力の低いところが適すると言及される（厚生省薬務局, 1999）。一方、柏区で栽培地に選んだ場所は一般の栽培圃場であり、栽培中雑草の繁茂が激しい上、水はけがよく表土がすぐに乾燥してしまうなどの問題があった。また、土壤の pH が佐久の土壤に比べ高かった（佐久, 5.1 ; 柏, 7.2）。雲仙と長崎間でも pH の差について言及されており、雲仙では 6.2, 長崎では 7.3 であったとしている。センブリ栽培においてリン酸の施肥は生育への影響が顕著でその効果は大きいとされるが（池永, 1995），培地の pH が4以降高くなると、植物のリン酸の吸収は低下するといわれている（佐々木, 1987）。柏区においては土壤の化学性についても小諸と異なっていたと推察され、生育不良に関係していた可能性も考えられる。一方、上田区の露地栽培では、2年生株の収穫ができた。しかし小諸に比べ著しく収量が劣

り、また、露地栽培、鉢栽培共に全草にアントシアンの蓄積が見られた (Photo 5, 6) . 上田区、露地栽培で著しく収量が減った原因について詳しいことは不明である。しかし上田区は小諸区と比べ、1 年間の日平均気温の積算値が約 2500℃ 下回り、環境が主要栽培地と大きくことなる (気象庁, 2009) . 低温ストレス下でアントシアニン生合成が誘導されることは、ソルガム (Shichijo, 1993) , トウモロコシ (Christie, 1994) , シロイヌナズナ (Leyva, 1995) で知られており、上田区のセンブリにおいても低温によるストレスがあったものと考えられる。

土壌条件を揃えた鉢栽培は、上田、小諸間で株重の差に一定の傾向は無く、柏においても、他の 2 区に比べ株重は小さかったものの、正常な個体を得られた。このことから、土壌の性質や、気象が似ている場所を選択すれば、ある程度の収量を得られると考えられる。しかし、現行の品種については、現在の産地である佐久地方と異なる環境下では、慣行の栽培方法で一定の収量を確保することは困難であり、センブリ生産においては好適な栽培地の選択が非常に重要であることが示唆された。



Photo 5 Two-year-old plant grown in Komoro



Photo 6 Two-year-old plant grown in Sugadaira

第3節 株齢の異なるセンブリの swertiamarin 濃度の調査

1. 緒言

センブリは栽培期間が約 18 ヶ月と在圃期間が長く、土地の利用効率が低い。そこでセンブリの生産の効率化には在圃期間、栽培期間の短縮が有効であると考えられるが、センブリ 1 年生株についての研究はほとんど見られない。それは、生薬としては開花期の 2 年生株を用いることが日本薬局方にて規定されていること、1 年生は数枚の根出葉を持つのみで節間が伸長せず、2 年生と比べ植物形態が全く異なること、また株重が著しく小さいためであると思われる (Photo 7, 8)。しかし、越冬できない株や病害虫リスク低減の観点から、安定生産には 1 年生株も有用であると考えられる。そこで第3節では、センブリの在圃期間、栽培期間の短縮を目標に、センブリ 1 年生株の有効性について検討を行った。第2節で得られた 1 年生株と 2 年生株について swertiamarin 濃度を薬効成分の指標とし、品質の評価を行った。



Photo 7 One-year-old plant of *S. japonica*



Photo 8 Two-year-old plant of *S. japonica*

2. 材料および方法

植物材料 第2節で小諸（長野県野菜花き試験場圃場）にて栽培されたセンブリのうち1部を1年目10月に抜き取り，swertiamarin濃度の調査に供試した．収穫したセンブリ1年生株は軽く水洗したのち，風乾したものを試料とした．得られた結果は，第2節で調査した2年生株の結果と比較した．

栽培条件

第1章，第2節に準ずる．

Swertiamarin の定量

(1) 分析条件

第1章，第2節に準ずる．

(2) 試料調製

第1章，第2節に準ずる．

(3) 抽出

第1章，第2節に準ずる．

3. 結果

swertiamarin 濃度は, “S-117” を除いたすべての品種で 1 年生株に比べ, 鉢栽培 2 年生株で高かった. “S-117”, ‘みまき 1 号’ の 1 年生株は露地 2 年生株と比べ swertiamarin 濃度が低かった. ‘みまき 3 号’ では 1 年生株の swertiamarin 濃度は露地 2 年生株に対し高かった. ‘みまき 2 号’, “寒風山” においては 1 年生株と露地 2 年生株の間に swertiamarin 濃度の差はなかった (Table 2) .

Table 2 Difference of swertiamarin content between plant ages

Varieties	Swertiamarin content (mg gDW ⁻¹)		
	One-year-old (Pot)	Two-year-old (Pot)	Two-year-old (Field)
‘Mimaki-1-go’	64.0 ± 4.2 ^z	100.2 ± 4.7 ^{*y}	117.5 ± 5.1 [*]
‘Mimaki-2-go’	64.1 ± 0.8	126.8 ± 3.6 [*]	66.8 ± 0.8
‘Mimaki-3-go’	71.9 ± 0.8	107.4 ± 3.2 [*]	56.1 ± 5.3 [*]
“Kanfuzan”	74.9 ± 2.2	124.2 ± 4.4 [*]	77.7 ± 4.7
“S-117”	72.7 ± 2.8	51.5 ± 10 [*]	120.8 ± 2.4 [*]

^z Mean ± SE (n=4)

^y * within the line represent significant differences as compared to the swertiamarin content of one-year-old plant by Dunnett's test at the 5% level.

4. 考察

本研究において、1年生株は慣行法（露地）にて栽培された2年生センブリと比べ、1部品種・系統を除き、同程度の濃度の swertiamarin を含有することが明らかとなった。また、現在の主要品種である‘みまき2号’露地栽培2年生株と比較すると、すべての品種・系統で swertiamarin 濃度は同程度か、それ以上であり、swertiamarin 濃度からセンブリ1年生株の有効が示された。

1年生株の swertiamarin 濃度は露地栽培のものと同程度であったが、一方、鉢で栽培した2年生株と比較すると、“S-117”を除き1年生株の swertiamarin 濃度は低い。2年生株同士の比較でも、露地栽培より鉢で栽培した2年生株の swertiamarin 濃度が高かったが、1株重は3割程度であった（第2節）。‘みまき2号’の株当たりの swertiamarin 量は、露地栽培で 39mg/株、鉢栽培で 36mg/株であり、10%程度露地栽培のものが多かった。また他の品種・系統でも、株当たりの swertiamarin 量は露地栽培の方が多く、鉢で栽培したセンブリの swertiamarin 濃度が高かったのは植物体が増大しなかったために swertiamarin の濃縮が起こったためと考えられる。

2年生植物であるセンブリは在圃期間が長いことが経営上の問題の1つである。センブリは古くから2年目開花期のものをを用いるのが良いとされ、また swertiamarin が花に多く含まれるという報告もある（林ら、1976）。しかし、手嶋ら（1980）の報告では、2年生株全草中の swertiamarin 濃度について、5月時点で最も高く、開花期前期に低下していることから開花期に生合成が活発になるようなものではないと考えられ、swertiamarin 濃度だけに注目するのであれば、1年生株の利用は2年生株を利用するよりも経営的に有利である可能性があることが示唆された。日本薬局方にてセンブリは2年目開花期の全草と規定されるため、1年生株を生薬として用いることはできないが、swertiamarin は、ウレアーゼ活性阻害用組成物、IGF-1 産生促進剤、HGF 産生促進剤の

原料になるため、swertiamarin の効率的生産技術は製薬に貢献できるものであると考えられる。

センブリ 1 年生株の形態は数枚の根出葉をもつのみのロゼット状態であり、人工光・閉鎖型苗生産システムを適用することで、単位面積当たりの swertiamarin 収量増が可能と考えられる。そこで、閉鎖型苗生産システムで得られる swertiamarin 収量を試算したものと、現行の栽培体系で得られる swertiamarin 収量の比較を試みた。閉鎖型苗生産システムである苗テラス（MKV ドリーム株式会社）の標準仕様は 5 坪・6 棚・4 段もしくは 5 段である。1 年目株はロゼット状で高さはあまり必要ないため、ここでは 5 段で試算する。1/2000a サイズのワグネルポットで‘みまき 2 号’1 年生株は 5.4g 収穫できた。苗テラスで栽培する際には苗の育苗箱（300mm×600mm）を使用すると、5 坪に 120 枚育苗箱が並べられる。年間通じて栽培を行うと仮定すると、露地では 4 月初旬播種、10 月中旬収穫だったため、播種から収穫まで約 6 ヶ月かかり、慣行での栽培期間で 3 回収穫が可能である。慣行法での 5 坪あたりの swertiamarin の収量は約 132.3g、苗テラスで 1 基あたりの swertiamarin の収量は約 373.8g であり、約 3 倍収穫することが可能である。さらにセンブリは初期生育が緩慢で雑草の繁茂により生育が阻害されるため、1 年目には肥料を与えないが、閉鎖型苗生産システムで栽培を行う場合、雑草の繁茂の心配はないため肥料を施用することが可能である。肥料を施用した場合の生育と swertiamarin 濃度への影響の状況にもよるが、この試算よりも実際の収量は多いものと見込める。また、今回は栽培期間を 6 ヶ月として試算したが、閉鎖型苗生産システムで栽培を行うと生育速度が速まることが予想されるので、収穫回数増も見込めるものである。

第4節 種子の保存年数が種子の発芽率および実生の swertiamarin 濃度に及ぼす影響

1. 緒言

センブリの栽培が難しい理由の1つは発芽にある（厚生省薬務局，1999）．そのため，種子の発芽率を高めるために，種子の保存条件や播種適期を選ぶことが重要とされる（小林，1987）．慣行のセンブリ栽培では，夏越しした種子は発芽能力を失うとされるため，秋に採取した種子を翌年に播き，余った種子は破棄している現状である．そのため，夏過ぎからセンブリの新たな種子が採取出来る晩秋まで貯蔵種子が無い状態であり，採取量が激減するような事態が起きた場合，翌年の種子が確保出来ないという問題がある．

種子の寿命について宮沢ら（1981）は風乾状態では翌年の5月中旬～6月下旬頃には大部分の種子が発芽力を失うと報告しているが，保存方法により発芽力が失われたのか，種子の寿命により発芽力が失われたものかは明らかではない．一方，トマト（高野，1997），キュウリ（三浦，1998），トウキ（川岡，2001）等様々な作物で，低温・低湿下であれば種子の発芽力を維持したまま貯蔵できることが知られている．そこで本研究では， -20°C 下で保存されたセンブリ種子の発芽率，および実生の生育，swertiamarin 濃度について調査を行った．

2. 材料および方法

植物材料 長野県野菜花き試験場佐久支場（佐久支場）の圃場（長野県東御市御牧ヶ原の北面緩傾斜地，標高 660 m）で栽培されたセンブリ‘みまき 2 号’の種子を，1992～2003 年の 11 月上旬に採取した．採取した種子は，目合い 300 μm のふるいで小粒種子及び花粉，砂などの夾雑物を取り除いた後チャック付きのポリ袋に入れ， -20°C に設定したメディカルフリーザー（MDF-435，三洋電機）内で，発芽試験および栽培試験まで冷凍保存した．栽培試験において対照とした種子は，播種の前年に採取し，慣行に準じて佐久支場室内に貯蔵し翌年使用した．発芽試験と栽培試験に供した種子の採取年および保存年数を Table 3 に示した．

冷凍保存年数が発芽率に及ぼす影響 2008 年 1 月 7 日に，保存種子を約 10 mL の蒸留水を入れたシャーレ（径 9 cm）に 100 粒ずつ播種し， 13°C 一定，連続明期としたグロースチャンバー（CR-14C，HITACHI）内に静置した（畠山，1981；小林，1987）．光源は植物育成用蛍光ランプ

（FL20SS・BRN/18-A，東芝ライテック）を用い，シャーレ上面の光量子束密度は約 $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ とした．種皮が破れ，幼根が伸出したものを発芽とし，試験開始後 3 日ごとに発芽数を計測した．発芽種子は，計測時にシャーレから取り除いた．なお，センブリ種子は発芽試験方法の規定がないこと，ろ紙をシャーレに敷いて種子を置床する通常の方法ではカ

Table 3 Harvest year and storage period of *S. japonica* seeds used for the experiment

Harvest Year	Storage period for the experiment (year) ^z	
	Germination	Cultivation
2003	4	2
2002	5	— ^y
2001	6	—
1999	8	6
1998	9	7
1996	11	9
1994	13	11
1993	14	12
1992	15	13

^z Harvest year is not counted for the storage period.

^y The experiment was not carried out.

ビの発生による発芽率低下が生じることから、本試験での発芽試験方法は佐久支場での慣行法に従った。発芽試験は4反復で行い、試験中は適宜、減水分程度の蒸留水を追加した。試験は最初に発芽した種子が観察できた2月1日から3月11日（40日間）まで行った。

冷凍保存年数が実生の収量及び swertiamarin 濃度に及ぼす影響

(1) **栽培条件** 前述の圃場に、基肥は施用せず、畝間 160 cm で畝幅 110 cm、高さ 10 cm の短冊型の畝を作った。畝表面を板でよく鎮圧した後、2006 年 4 月 4 日に、0.3 g（約 6,000 粒）の種子を約 1 L の水に混合して、畝 1 m² 当りにジョウロで均等に播種した。播種後は覆土を行わず、乾燥を防ぐために籾殻で畝表面を覆い、さらに遮光率 60% の黒寒冷紗でトンネル被覆した。その他の管理作業は、第 2 節露地栽培に準じた。栽培面積は各保存種子について 1 m² とし、反復は設けなかった。

(2) **生育調査** 収穫適期（厚生省薬務局，1999）とされる全体の約 20% が開花した時期に当たる 2007 年 10 月 10 日に各区 400 cm² 分の植物体を抜き取り収穫し、生体重を測定した。収穫は各区 3 ヶ所で行った。さらに、室温で 3 週間乾燥させ、乾物重を測定した。

Swertiamarin の定量

(1) 分析条件

第 1 章，第 2 節に準ずる。

(2) 試料調製

第 1 章，第 2 節に準ずる。

(3) 抽出

第 1 章，第 2 節に準ずる。

3. 結果

凍結保存種子の発芽率は、1999年区の種子で最も高く推移し、最終発芽率は74%であった。最終発芽率が最も低かったのは1992年区25%、ついで2002年区29%であった。その他のほとんどの採種年では、最終発芽率は40~50%であった（Fig. 11）。保存年数と最終発芽率との間には、一定の関係は認められなかった（Fig. 12）。

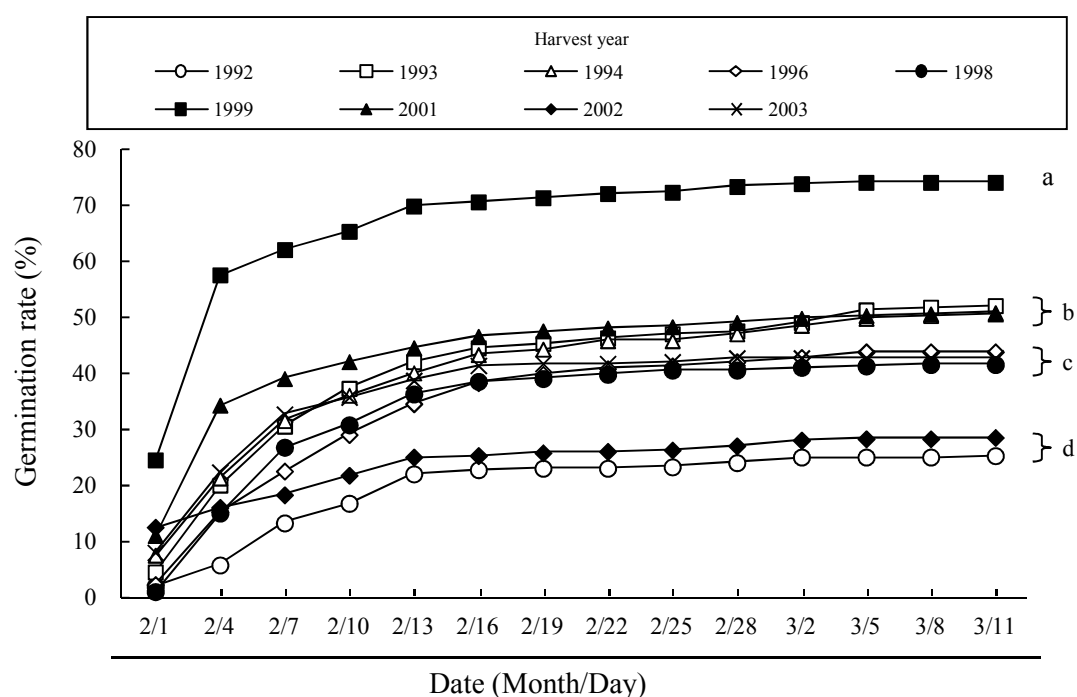


Fig. 11 Changes in germination rate of seeds harvested in different year and stored at -20°C. Different letters represent significant differences on final germination rate by Tukey-Kramer test at the 5% level.

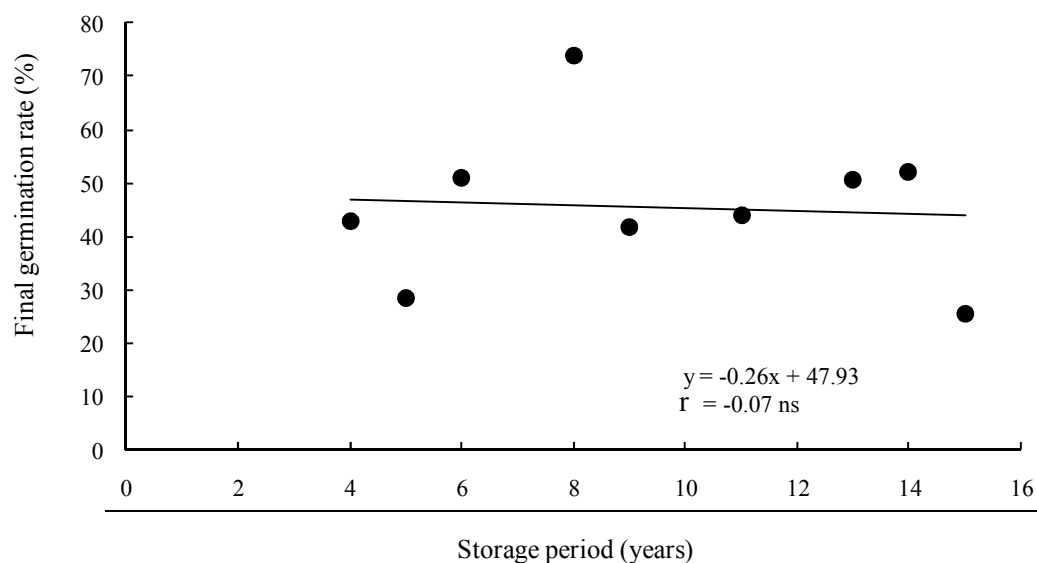


Fig. 12 Relation between seed storage period and the final germination rate. ns represent non-significant correlation at the 5% level.

また、佐久支場での2年生実生の収穫時調査では、すべての区で、全体の約20%が開花したのは10月10日であり、収穫日に保存年数の影響はなかった（データ省略）。

生体重は、1996年区以降は慣行と差がなかったが、保存年数が10年を超える1992～1994年区では慣行よりも低くなった（Table 4）。

Table 4 Effect of the plant grown from the seed which were harvested in different years and stored in different periods at -20°C on fresh weight, dry weight and swertiamarin content

Harvest year	Fresh weight (kg m ⁻²)	Dry weight (kg m ⁻²)	Swertiamarin content (mg DW ⁻¹)
1992	7.10 ± 0.20 ^z	1.71 ± 0.03	33.1 ± 10
1993	6.88 ± 0.20	1.74 ± 0.04	54.4 ± 7.8
1994	7.03 ± 0.21	1.69 ± 0.03	35.5 ± 8.9
1996	7.58 ± 0.18	1.82 ± 0.03	45.1 ± 13
1998	7.44 ± 0.21	1.72 ± 0.04	48.5 ± 12
1999	7.35 ± 0.31	1.73 ± 0.04	40.6 ± 6.3
2003	7.85 ± 0.29	1.93 ± 0.10	48.1 ± 5.3
2005 (conventional)	7.59 ± 0.24	1.78 ± 0.06	44.9 ± 14

^z Mean±SE (n=3)

乾物重には保存年数による影響は認められなかった。保存年数と生体重との間には、有意な負の相関が認められたが、回帰式の傾きはわずかで

あった。保存年数と乾物重との間には、有意な相関はなかった（Fig. 13）。保存年数9年以内（1996～2003年区）では、慣行と比べて swertiamarin 濃度に差はなかったが、

swertiamarin 濃度は 1992 年区と 1994 年区で慣行に比べて低下した。保存年数が長くなると swertiamarin 濃度が低下する傾向があったものの、統計的に有意な相関は認められなかった (Fig. 14)。

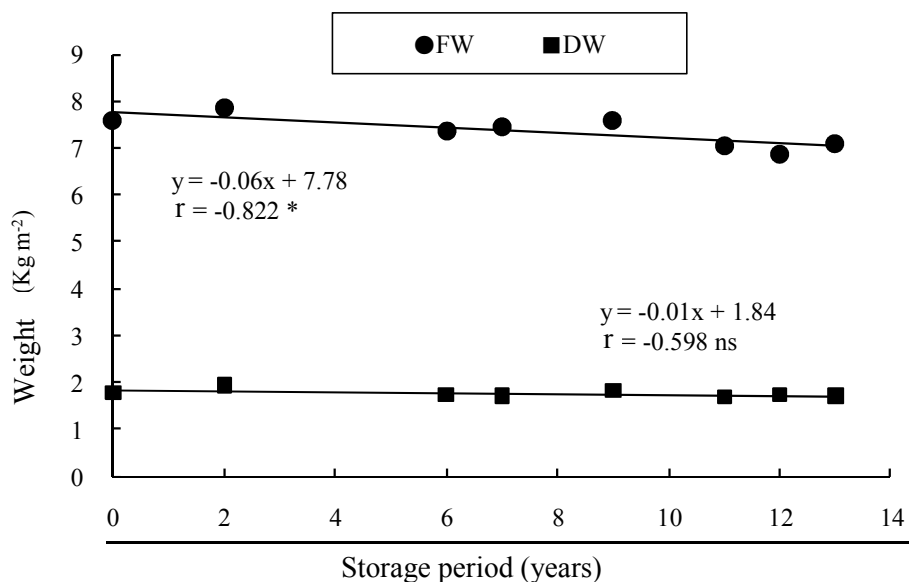


Fig. 13 Relation between seeds storage period and fresh weight and dry weight of the plants grown from those seeds. *and ns represent significant correlation at the 5% level or non-significant, respectively.

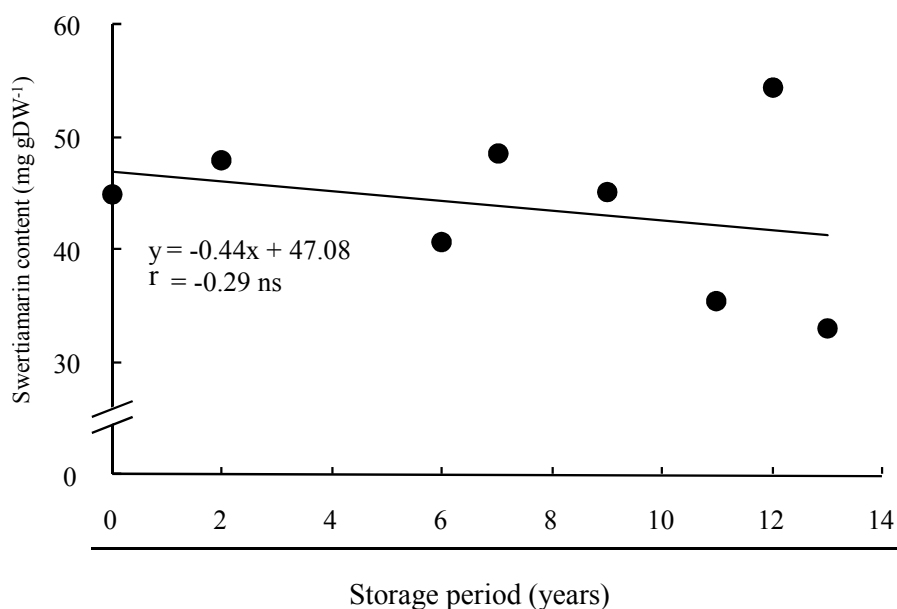


Fig. 14 Relation between seeds storage period and swertiamarin content of the plants grown from those seeds. ns represent non-significant correlation at the 5% level.

4. 考察

本試験では採種年により発芽率にばらつきがあるものの、すべての試験区において発芽が確認された。宮沢ら（1975）は保存種子の発芽力について、乾燥状態・室温で保存した種子は2年目以降発芽しないとしている。さらに、鉢に播種した状態では2年目発芽するものを確認しており、未発芽の種子は土壤水分により種子の乾燥が防止されるため、発芽力が失われないものであると考察している。この報告によると、センブリ種子は乾燥により発芽力を失う種子（レカルシトラント種子）である可能性が示唆される。しかし本試験の貯蔵温度は-20℃であり、フリーザ庫内の水蒸気密度はかなり低いと思われるが、保存年数ごとの発芽率の平均は45%であり、完全に発芽しなかった区はなかった。この結果から、センブリは一般的な種子（オーソドックス種子）と同様に低温・凍結・乾燥で保存が可能であると考えられる。宮沢らの報告では土壤水分により発芽力が保たれるとしているが、センブリ種子の発芽率向上には湿潤下での低温処理が有効であり（井上, 1977 a），また同科のリンドウでは、湿冷処理により休眠が打破されることから（佐野, 1968），2年目に発芽が見られた種子について、1年目に休眠していた種子が土壤水分と低温により休眠打破が行われた可能性が考えられる。

オーソドックス種子では低温・乾燥により発芽力を維持しつつ長期保存することが可能である（池橋, 2005）。センブリ種子においても-20℃下で発芽率に影響を与えず、10年以上の長期保存が可能であることが明らかとなった。今回の試験では湿度管理等は行わなかったが、ジーンバンク等で種子の長期保存を行う場合、保存温度を低温に保つほか、種子の含水率についても低く維持される（FAO/IPGRI, 1994）。センブリ種子についても発芽力に保存中の庫内湿度や種子含水率が与える影響を調べる必要が

あると思われるが、低湿と組み合わせることで、さらに長期間保存できる可能性が示唆される。

本研究では採種年ごとの発芽率が 74%~25%とばらつきが大きく、さらに本試験内では比較的短い保存年数であった 2002 年採取種子の最終発芽率は 29%と 1992 年に続いて低かった。今回の試験では採種時の発芽試験を行っていないため、発芽率の低さが保存前からの種子の品質によるものか、保存中に種子が劣化してしまったためのものかは不明である。しかし、発芽力について登熟期の気温が種子の休眠形成に影響を与えることがイネで確認されている（池橋，1972）。そこで、参考までに、採種年の開花期から収穫期までの気温を調べたところ、2002 年は 11 月中の気温が他の年に比べ著しく低く、特に、他の採種年では 11 月上旬の気温は 7℃以上であるのに対し、2002 年は 4.1℃であった（Fig. 15）。2002 年に関しては、このことが発芽率に何らかの影響をおよぼしている可能性が高いと考えられる。センブリの生産性向上には良質の種子の安定供給は欠かせないため、発芽力の高い種子を保存しておき適宜利用することは、栽培上有用な技術であると考えられる。

本研究ではさらに保存種子を使用して実際に栽培を行った。その結果、すべての採種年の保存種子から正常な実生が得られた。swertiamarin 濃度と保存年数の間に有意な相関は見られなかったが、単位面積あたりの収量については保存年数と生体重に有意な負の相関がみられた。10 年で 0.6kg/m²減少する程度であり、差としては小さいものである。しかし swertiamarin 濃度も保存が長くなると減少する傾向があり、センブリを生薬として使用する場合、日本薬局方にて swertiamarin を乾物あたり 2.0%以上含むことを規定されているため、収量・品質を考慮した場合、保存年数が 10 年未満の種子を栽培に用いることが望ましいと考えられる。

以上の結果から、凍結保存は発芽率に影響を及ぼさない有効な保存方法であることが明らかとなった。さらに収量や swertiamarin 濃度を考慮した場合でも、10 年程度の保存が十分可能であることが明らかとなった。これまでセンブリは種子の寿命から播種期が限られていたが、種子の周年供給が可能となり、新たな作型開発への道が拓けたものである。また、発芽率が良い年の種子を保存しておくことで、品質の良い種子の安定供給が可能となる。今回得られた保存種子に関する新知見は今後のセンブリ生産の効率化に寄与できるものと思われる。

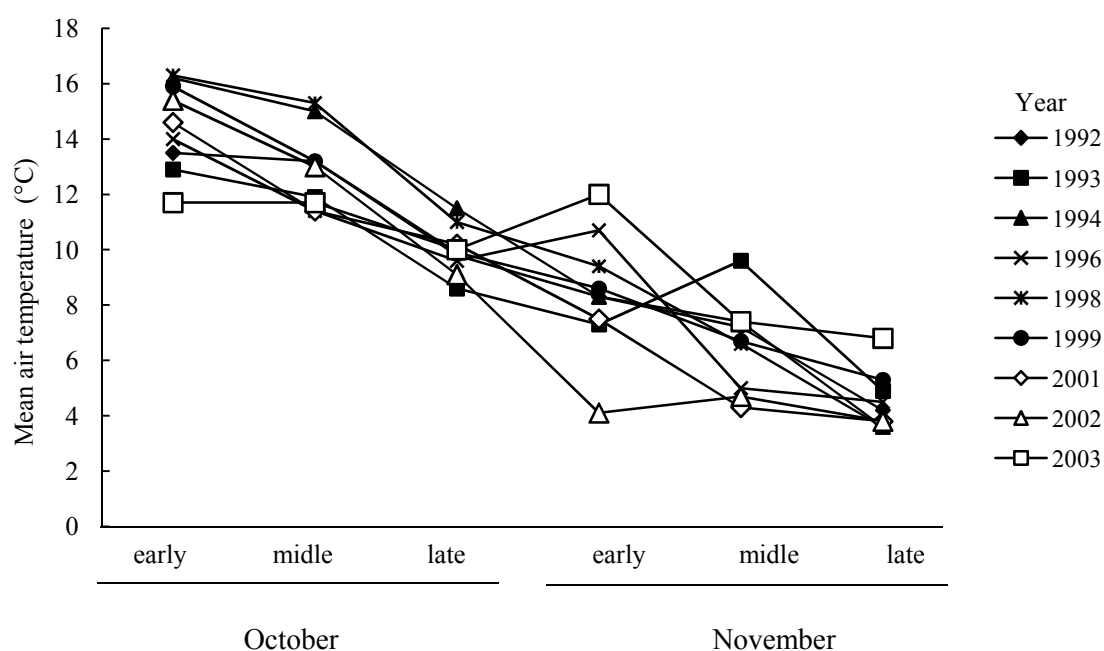


Fig. 15 Changes in mean air temperatures during ripening period of *S. japonica* seeds. The figure was made from the data published by Japan Meteorological Agency.

第5節 品種・系統による swertiamarin 濃度の差異

1. 緒言

収量や品質の向上には、それぞれの栽培地に適応した新たな品種の育成が欠かせない。長野県では、品種の育成にあたり、全国のセンブリ自生地から採集してきた系統を使って試作試験を行い、そのなかから長野県の栽培環境に適する‘みまき1号’，‘みまき2号’，‘みまき3号’の3品種が栽培されてきた（宮沢，1981）。しかし，‘みまき3号’を最後に、新たな品種は登録されていない。

一方、供給を自生種の採種に頼っている生薬では品質のばらつきが問題となっており、栽培種においても、多くは自生種を栽培化したもののみに留まることが多く、薬効を一定に保つことが困難な生薬も少なくない（田中，2009）。センブリは swertiamarin と呼ばれる苦味成分を含み、この物質がセンブリの主要な薬効成分であるといわれる。日本薬局方では swertiamarin が 2.0%以上、全草の粉末中に含まれることが、生薬として流通・使用するための条件として定められている（日本薬局方，2011）。よって、swertiamarin の含有量は、生薬としての品質を評価する上で最も重要なものであると考えられる。そこで、センブリの効率的生産に関する一連の研究のひとつとして、長野県で育成された3品種、6系統について swertiamarin 含有量を指標に系統間差異を調査した。

2. 材料および方法

植物材料 長野県で育成されたセンブリ 3 品種（‘みまき 1 号’，‘みまき 2 号’，‘みまき 3 号’），および 6 系統（“4”，“14-A”，“15-早”，“S-117”，“観賞用”，“寒風山”）の開花期および草丈と swertiamarin 含有量の調査を行った。センブリはすべて長野県野菜花き試験場佐久支場から提供していただいた。2006 年に長野県野菜花き試佐久支場の圃場（東御市御牧ヶ原，標高 660m）に播種，慣行法にて栽培し 07 年 10 月に収穫したものを供試した。

栽培条件

第 1 章，第 2 節に準じた。

Swertiamarin の定量

(1) 分析条件

第 1 章，第 2 節に準じた。

(2) 試料の調製

第 1 章，第 2 節に準じた。

(3) 抽出 日本薬局方（2011）を参考にした。中末 0.5 g を 100%MeOH 20 mL とともに遠心沈殿管に入れ，振とう機で 15 分間振とう後，遠心分離器（05PR-22，HITACHI）で遠心分離（2,500 rpm，10 分）し，上澄みを分取した。これらの操作を計 2 回繰り返し，全抽出液を合わせて，100% MeOH で 50 mL に定容した。さらにここから 5 mL を採取し，移動相溶媒で 20 mL に定容したものを分析用試料溶液とした。

3. 結果

株あたりの乾物重は“観賞用”で特に高く、1株あたり 2.43g であった。これに続き、“寒風山”，‘みまき 2 号’，‘みまき 3 号’で乾物重が高く、1株あたりおよそ 2.0g 以上であった。株あたりの乾物重が最も低かったのは“S-117”で 0.95g であった (Table 5)。

センブリ乾燥物 1 g あたりの swertiamarin 量は，“S-117”で最も高かった。また，“15-早”がこれに続いて高かった。‘みまき 2 号’，‘みまき 1 号’，“4”，“寒風山”は前出の 2 系統に比べて量が低く、19 mg～25 mg であった。最も含有量が低かった系統は“観賞用”で、14.6 mg と“S-117”の半分程度だった。しかしながら、株あたりの swertiamarin 量についてみると，“寒風山”，“15-早”が、約 47 mg と最も高く、ついで“観賞用”，‘みまき 2 号’の含有量が高かった。乾物重あたりの含有量が最も高かった“S-117”は、株あたり含有量でみると約 32 mg と、今回用いた品種・系統のなかでは中位であった。

Table 5 Difference of swertiamarin content and dry weight of the plants among varieties

Varieties	Dry weight (g/plant)	swertiamarin content (mg g DW ⁻¹)	swertiamarin content (mg/plant)
‘Mimaki-1-go’	1.4 ± 0.2 ^z b ^y	23.2 ± 1.6 abc	31.3 ± 3.6 a
‘Mimaki-2-go’	2.0 ± 0.4 ab	21.0 ± 3.8 bc	41.8 ± 12 a
‘Mimaki-3-go’	2.0 ± 0.5 ab	14.6 ± 2.1 c	26.8 ± 4.6 a
“4”	1.3 ± 0.2 b	22.5 ± 1.8 bc	28.9 ± 4.6 a
“14-A”	1.5 ± 0.2 b	18.7 ± 2.8 c	26.9 ± 4.5 a
“15-Haya”	1.5 ± 0.2 b	31.3 ± 3.3 ab	46.8 ± 8.9 a
“S-117”	1.0 ± 0.1 b	33.9 ± 1.5 ab	32.3 ± 3.5 a
“Kanshoyou”	3.0 ± 0.3 a	14.6 ± 1.7 c	43.7 ± 7.8 a
“Kanfuzan”	2.2 ± 0.2 ab	21.4 ± 0.5 bc	47.5 ± 4.5 a

^z Mean ± SE (n=4)

^y Different letters within columns represent significant differences by Tukey-Kramer test at the 5% level.

4. 考察

今回の調査結果から、swertiamarin 高含有系統として“S-117”，“15-早”，株あたり swertiamarin 量としては“15-早”，“寒風山”，“観賞用”が有望であると考えられる．これらの系統を有効に利用することで，現行の品種よりも単位面積当たりの swertiamarin 収量を増加できるとともに，育種素材としても有用であると思われる．

他の農作物と同様に，薬用植物においても収量や品質の向上には，それぞれの栽培地や目的に応じた新たな品種の育成が欠かせない．第2節において，長野県野菜花き試験場にて育成されたセンブリ品種・系統を用いたが，他の地域では生育が著しく低下したことから，センブリは生育に適当な環境条件が狭い植物であると考えられる．しかし，センブリは日本全国に自生する植物であること，長野県においては独自の品種をもちいて一定の収量を得ていることから，栽培地において適応する品種・系統の選抜や育成で，産地拡大の拡大も可能であることが示唆される．

さらに swertiamarin 濃度について明瞭な系統間差異が認められたほかに，形態的にも品種・系統間で差異が認められた．特徴的なもので，観賞用・寒風山系統は分けつが多く草丈が現行品種である‘みまき2号’と比べやや低い（Photo 9）．センブリの出荷規格では草丈 10～35 cm，3分咲き，分枝多く花蕾が多いものとされるため（日本特産農産物協会，2002），観賞用・寒風山系統は出荷に適した系統であると言える．目的に応じた品種の育成で，効率的生産や農家の所得増も見込めると考えられる．



Photo 9 Plant shapes of “Kanfuzan” (left), “Kanshoyou” (middle) and ‘Mimaki-2-go’ (right)

第6節 結論

現在、センブリの栽培は長野県の北佐久地域および上小地域と高知県の四万十町で行われている程度であるが、産地が限定されることは、センブリの安定供給における大きな問題である。1978年に長野県野菜花き試験場北御牧試験地がセンブリの栽培化に成功した後数年間は、長野県だけでなく、熊本県や長崎県、徳島県など全国で栽培が試みられた（Table 6）。一時は栽培面積が増えたものの、長野県ほどの収量を上げられておらず、ほとんどの県では定着しなかった。本研究でも現在の生産地である小諸以外では生育が著しく劣り、栽培品種であっても、環境適応性が低い植物であることが示唆された。しかし、小林ら（1975）によれば野生品を継代栽培することで平地の環境に適した系統が得られる。現在の栽培地以外でも時間はかかるが、栽培地に近い場所や環境下に自生するセンブリを継代栽培することで収量増は可能であると考えられる。

センブリ種子は-20°C 下で長期保存ができることが明らかとなり、今後は遺伝子資源の維持も今までより簡便に行える。本研究では第5項で swertiamarin 高含有系統が見いだされ、比較的簡単な選抜で優良系統が作出できる可能性が示唆された。本研究では swertiamarin 濃度に注目したが、センブリ自生地は全国に散在しており、その中から栽培地の環境に適した系統や、目標とする特性をもつ系統が得られる可能性は高い。例えば同科のトルコギキョウでは、ロゼット化の遺伝的個体間差があることが知られており、センブリにも2年生株の作期短縮に必要な特性、すなわち1年目にロゼット化しにくい特性、あるいはロゼット打破が容易な特性を有する系統が選抜できる可能性がある。目的に応じた系統選抜や品種育成が行われれば、より効率的なセンブリ生産が可能になると考える。

Table 1 Major production area of *S. japonica* from 1980 to 2007 in Japan^z

Year	Prefecture ^y					
	1st	2nd	3ed	4th	5th	6th
1980	Nagano	Kumamoto	Yamagata			
1981	Nagano	Nagasaki	Kumamoto	Iwate	Yamagata	Tochigi
1982	Nagano	Kochi	Nagasaki	Kumamoto	Tochigi	Yamagata
1983	—					
1984	Nagano	Kochi	Miyagi	Ibaraki		
1985	Nagano	Okayama	Miyagi	Nagasaki	Kumamoto	
1986	Nagano	Kochi	Okayama	Kumamoto	Iwate	
1987	—					
1988	—					
1989	—					
1990	—					
1991	Nagano	Kochi	Tokushima			
1992	Nagano	Kochi	Tokushima			
1993	Nagano	Kochi				
1994	Nagano	Kochi				
1995	Nagano	Kochi				
1996	Nagano	Kochi				
1997	Nagano	Kochi				
1998	Nagano	Kochi				
1999	Nagano	Kochi				
2000	Kochi	Nagasaki	Gifu			
2001	Kochi	Nagasaki				
2002	Kochi	Nagasaki				
2003	—					
2004	—					
2005	Nagano	Kochi				
2006	Nagano	Kochi				
2007	Nagano	Kochi				

^z The table was made from the data published by Japan speciality agriculture product association. Data of the year 1983, 1987 to 1990 and 2003 and 2004 were not found.

^y Amount of cultivating area are sorted in descending order.

本研究では保存温度を-20℃としたため、一般の生産者単位では扱いづらい温度帯であると考えられるが、山田ら（2011）の研究により 5℃以下、すなわち家庭用冷蔵庫等で発芽力を保ったまま種子を保存出来ることが明らかとなっている。種子保存技術

が開発できたことにより、今後は播種期に限定されない新たな栽培体系の確立が可能である。例えば、苗生産技術の応用はセンブリ生産においても有効であると考えられる。圃場から育苗を分離することで、雑草防除の省力化が期待できるほか、雑草繁茂を避ける必要が無くなるため、初年度からの施肥管理が可能になる。さらに在圃期間を短縮することは、圃場の利用効率の向上が期待でき、さらに病虫害の蔓延（Photo 10）などで経営的な打撃を受けるリスクの低減にもつながる。また、第3項では1年生株の有用性が明らかとなったが、1年生株の利用にあたっては、発芽力のある種子の周年供給は必須である。本研究や関連の研究で得られた種子供給に関する知見は、作期短縮を含めた新たな作型開発のための重要な基礎的知見である。

以上、本研究から、センブリの効率化、収量の安定、増収に貢献できる知見が得られた。併せて、育種によるセンブリの高品質化の可能性が示された。栽培上の問題を解決できる技術はセンブリ農家の経営安定を実現できるもので、農家戸数の増加、ひいてはセンブリの安定供給に寄与できる。



Photo 10 Rust disease spread over the field.

第 2 章 ミシマサイコの養液栽培技術確立

第1節 序論

生薬「柴胡^{さいこ}」はセリ科の多年生草本ミシマサイコ (*Bupleurum falcatum* L.) の根であり，小柴胡湯や柴胡桂枝湯のほか多数の漢方処方に用いられる (Photo 11, 12) .

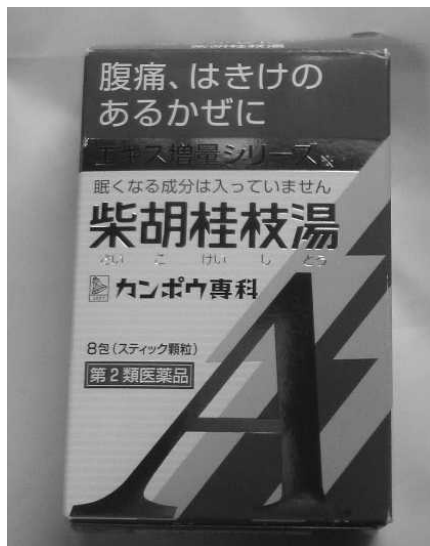


Photo 11 Drug containing *B. falcatum*



Photo 12 Roots of *B. falcatum* obtained from the market (3 from left) and soilless culture (right)

日本薬局方では総 saikosaponin (saikosaponin a および saikosaponin d) を乾物中に 0.35% 以上含むものを柴胡として使用する．日本薬局方ではミシマサイコのみを柴胡の基原植物とするが，他の国では和（北）柴胡 (*B. falcatum*) とは種が異なる植物 (*B. chinese* DC. *B. scorzonerifolium* Willd.) も柴胡の基原植物として扱う．柴胡は一般用漢方製剤 210 漢方処方中 32 処方に含まれており，使用量も比較的多い．2008 年度の調査では，原料生薬 248 品目中，使用量上位 14 位である（日本漢方生薬製剤協会，2011）．

柴胡は日本で品質の良いものが生産されると言われており，栽培も比較的古くから行われ，現在では主に高知県，愛媛県，群馬県などで生産されている．1990 年代初頭における小柴胡湯の市場拡大により国内生産量は 210 t，価格は 7000 円 /kg まで拡大したが，1996 年の小柴胡湯による副作用問題，薬価の引き下げなどで生産量は減少した（姜，2010）．現在はメーカー契約による契約栽培を主流に生産が存続されている

（日本漢方生薬製剤協会，2010；Fig. 16）．こういった経緯の中，2008 年においては，サイコの使用量約 444 t の内，日本で生産されたものは約 23 t（約 5%）で，残りの 95% は主に中国からの輸入に頼っている現状である（日本漢方生薬製剤協会，2011）．

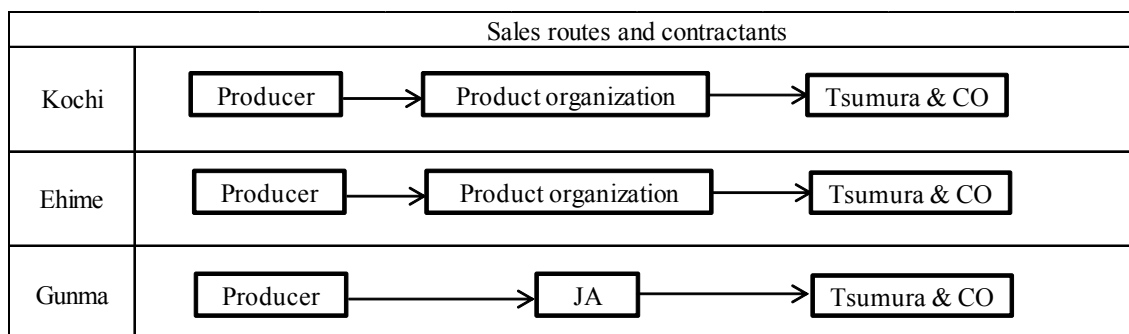


Fig. 16 Sales routes of *B. falcatum* produced at Kochi, Ehime and Gunma.

しかし近年，柴胡を含む中国産原料生薬の価格が上昇しており，ミシマサイコの国内生産の増強は急務であると考えられる．このような状況下，栽培面積は一度減少したものの，1999 年から 2008 年までで 2 倍以上に増えてきている（Fig. 17）．とくに，大手製薬メーカー指導のもと契約栽培を行っている高知県において栽培面積は順調に増加しており，メーカーと生産団体との関係も良好とみえる（日本経済新聞，2011）．さらに近年では，愛媛県や群馬県，栃木県などでも栽培面積は増加傾向であり，ミシマサイコ栽培に興味を示す自治体も増えてきている．

ミシマサイコ栽培が注目されている一方で，収量は安定していないのが現状である．最大の産地である高知県においても反収の差は年によって 3 倍近くになることもある（Fig. 18）．経営の不安定性は栽培が定着しないことにつながると考えられ，収量の安定は国内産ミシマサイコの割合を増やす上で解決すべき問題の一つである．

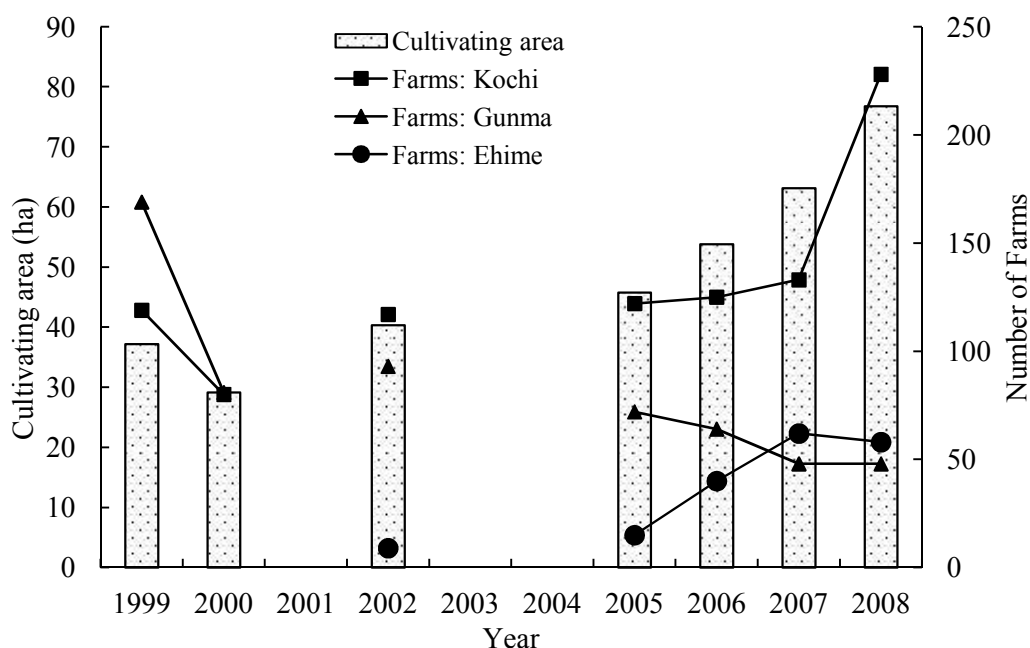


Fig. 17 Changes in cultivating area and farms of *B. falcatum* in Kochi, Gunma and Ehime from 1999 to 2008. The figure was made from data published by Japan speciality agriculture product association. Data of the year 2001, 2003 and 2004 were not found.

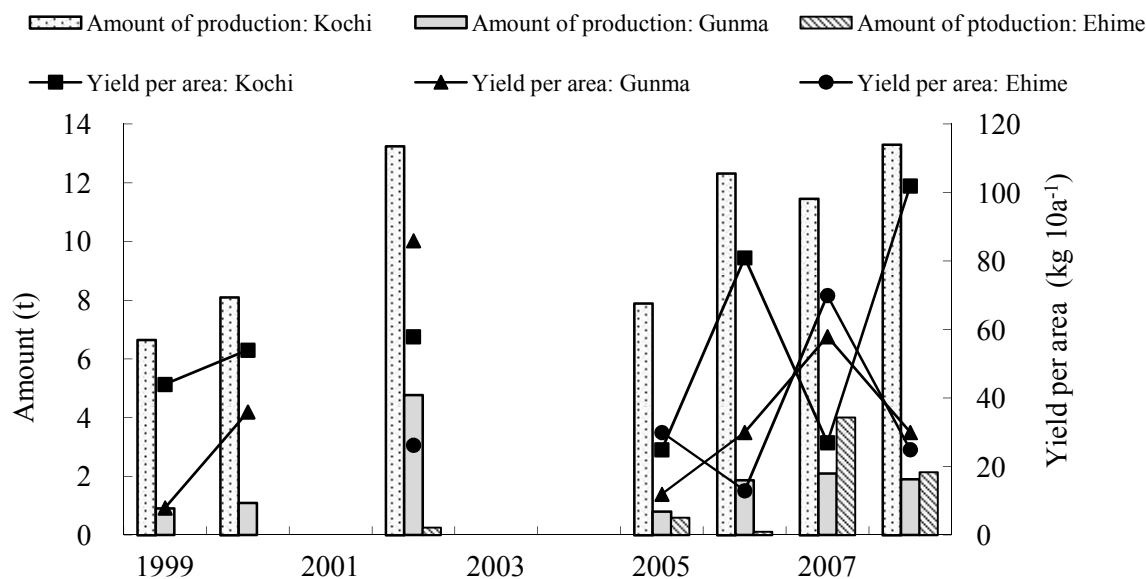


Fig. 18 Changes in amount of production and yield per area of *B. falcatum* produced at Kochi, Gunma and Ehime. The figure was made from data published by Japan speciality agriculture product association. Data of the year 2001, 2003 and 2004 were not found.

根を使用する作物の生育や品質には地下部環境の影響が大きいと考えられる。一方、培地に土を使用しない養液栽培は、根域環境を比較的容易に管理出来ることから、ミシマサイコのように根を利用部位とする薬用植物の生産においても効率化や安定化に寄与できるものと考えられる。ミシマサイコの養液栽培について、これまで Ebb&Flood 方式（南ら，1995 c）や、砂耕（南ら，1997）での栽培に関する研究があるが、根部の収量は露地で土耕栽培されたものに比べ、同じかもしくは高くなることが報告されている。養液栽培による生産が可能であることが示唆されているが、詳細な栽培技術の確立まで至っていないのが現状である。

そこで、ミシマサイコの養液栽培技術確立を目的に、本研究では固形培地耕における根域環境要素がミシマサイコの生育や根の品質に及ぼす影響を調査した。第2節では培地と灌液頻度、第3節では培養液の濃度がミシマサイコの生育、saikosaponin 濃度に与える影響について調査を行った。この結果、灌液頻度による根の収量や品質への影響は見られなかったが、培地は根の収量、saikosaponin 濃度に影響を及ぼすことが明らかとなった。また、培養液濃度について、地上部の生育には培養液濃度による影響があったが、根の収量および saikosaponin 濃度に差は見られなかった。さらに、植物体中の無機成分濃度から、ミシマサイコの養分吸収特性が明らかとなった。

以上、本研究ではミシマサイコの養液栽培技術確立のための培地、培養液管理に関する知見が得られた。これらは、養液栽培におけるミシマサイコ生産の効率化、収量増、高品質化に寄与できる。

第2節 固形培地耕における培地・灌液頻度の違いが生育・品質に及ぼす影響

1. 緒言

養液栽培において、培地は最も重要な地下部環境の一つである。特にミシマサイコは根を利用部位とする薬用植物であるので、地下部の物理性の違いが品質に影響を及ぼす可能性は高い。既往研究でも、土耕において、土壌の種類（細田ら，1990），土壌の通気性（Hosoda et al., 1992）が根の収量，品質に影響することが知られている。

細田らによると、根収量は川砂，山砂，粘土質土壌，砂質畑土，山土（粘土質）の順となり，saikosaponin 濃度は川砂，山砂で高い値を示したとしている。このことから，ミシマサイコ栽培には砂土や砂壤土などが適当であると考えられる。養液栽培ではロックウールが優れた培地であるとされ，多くの作物で用いられているが，ミシマサイコの養液栽培ではどのような培地が適しているのか評価した報告はない。

そこで，本試験では過去の研究から有望であると考えられる川砂（RS），養液栽培において汎用されるロックウール（RW），物理性が優れ，化学的に安定している培地で，近年バラ栽培などにも使用されている粒状フェノール樹脂（FP）の3培地（Photo 13）でそれぞれ栽培したミシマサイコについて，根の収量，主要な薬効成分であるsaikosaponin 濃度，さらにミシマサイコはしなやかなものが良いとされるため，しなやかさの指標として，根横断面の木化指数を調査した。

また，養液栽培においては，養分や酸素は主に培養液によって与えられるため，その量や頻度は，植物の生育に影響を及ぼすと考えられる（池田，2005）。そこで本研究では，培養液の灌液頻度についても併せて検討した。



Photo 13 Substrates used for the experiment, foam phenolic resin (left), rockwool (middle) and river sand (right)

2. 材料および方法

栽培方法 種子は、2009年にツムラ（株）から供与されたものを用いた。栽培はすべて本学環境健康フィールド科学センター内に設置されたガラス室内にて行った。2010年4月に内径4 cm、高さ50 cmの硬質塩化ビニール（PVC）パイプにロックウール微粒綿を充填し、パイプ1本あたりに10粒播種した（Fig. 19）。約1ヶ月育苗した苗を同年6月に川砂、ロックウール、粒状フェノール樹脂を充填した内径4 cm 高さ35 cmのPVCパイプに育苗に使用したパイプごと、苗を移植した。またその際、パイプ1本あたりの苗数が1本になるよう間引きを行った。PVCパイプは自作の循環式養液栽培装置に0.5 m²あたり60本程度の密度で設置した（Fig. 17）。株元に設置した灌液チューブより大塚ハウスB処方培養液1/4～1/2単位（生育段階により調整）を異なる灌液頻度（多頻度区：4L・9回～5回／株／日 少頻度区：4L・5回～3回／株／日）で与えて栽培した。灌液頻度は時季により調整した。定植7ヶ月後に株を抜き取り、生育・品質調査に供試した。

生育調査 各試験区から6株ずつ抜き取り、それぞれ葉、根、茎に分け、風乾した後、乾物重を測定した。

Saikosaponin の定量 根の乾物について、日本薬局方（2011）に従って saikosaponin a および d の抽出を行った。ただし、得られた根乾物重が低かったため、試料量、抽出溶媒量はすべて薬局方の10分の1とした。すなわち、乾物0.1 gを正確に秤量し、90%MeOHを加えて15分間振り混ぜ、遠心分離後、上澄みを分取した。さらに抽出残渣について同様の操作を2回繰り返した後、すべての上澄みを合わせ、90%MeOHで5 mLに定容したものを抽出液とした。抽出液1 mLに0.1 M NaOH 0.25 mLを加え、50℃の恒温水槽で1時間加温した。さらに0.2 M KHPO₄-NaOH 緩衝液（pH=6.9）を0.75 mLを加えたのち、固相（Cosmosil 75 C18-OPN、ナカライテスク）

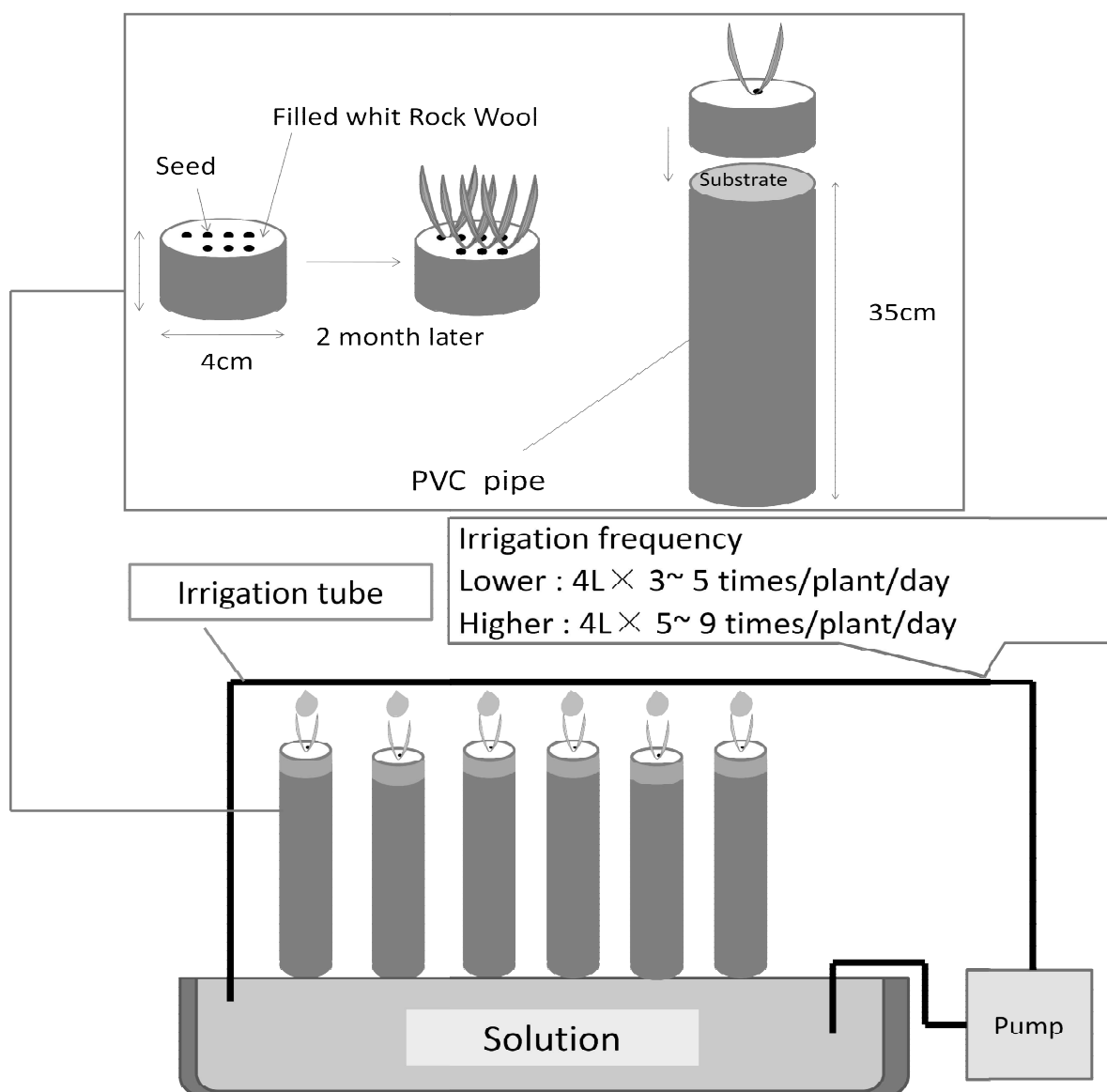


Fig. 19 Outline of the recirculating soilless culture system used for the experiment

を用いて精製したものを saikosaponin 分析用試料液とした。saikosaponin 濃度の測定にはポンプ (L-2130, HITACHI) , UV 検出器 (L-4000, HITACHI) , カラムオーブン (L-5025, HITACHI) を備えた HPLC システムを用いた。カラムは Inertsil ODS-3 (4.6 i. d. ×150 mm, 5 μ m: GL サイエンス) , カラム温度は 40°C, 波長は 206 nm とした。移動相溶媒には水 : アセトニトリル=60 : 40 (v/v) を用い, 移動相流量は 1.0 mL min⁻¹

とした (Fig. 20) . 試料液中の saikosaponin 濃度は, saikosaponin a および d 標準品 (和光純薬工業) から得られたピークとの比較により算出した.

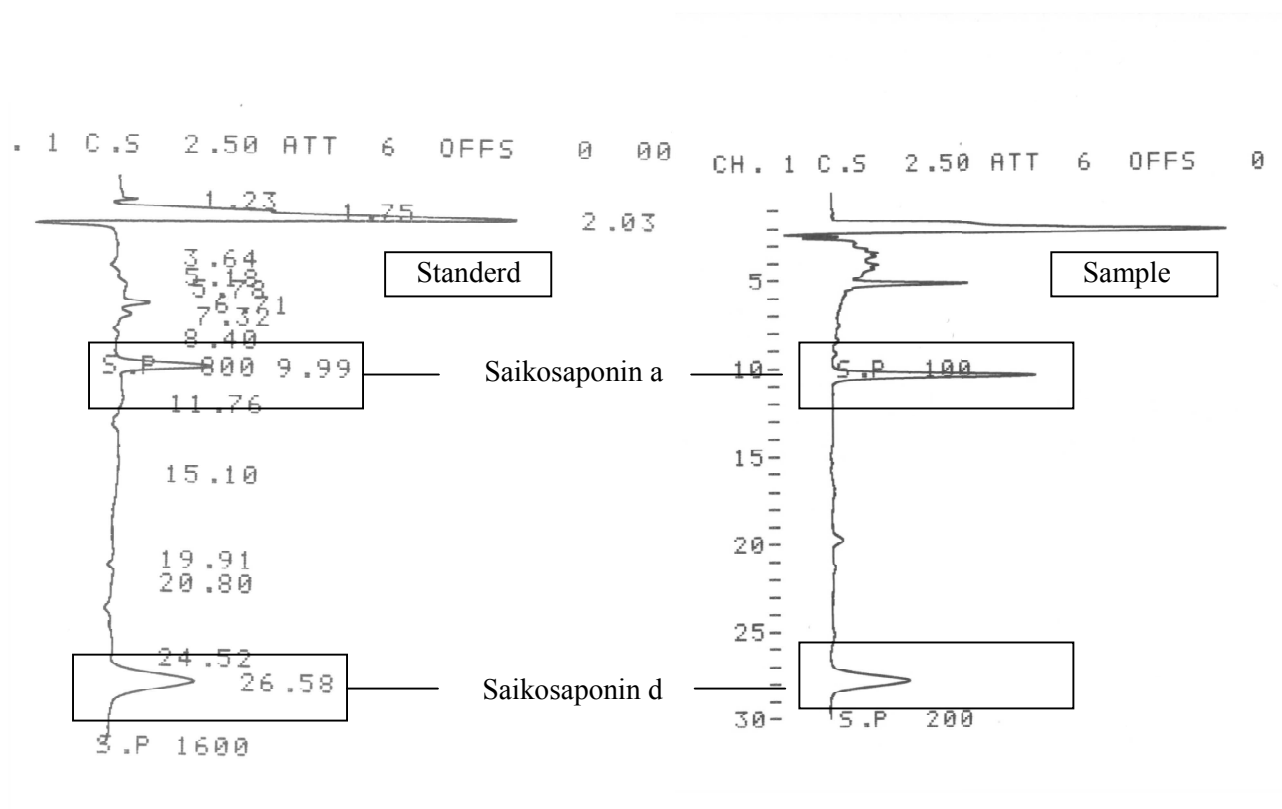


Fig. 20 HPLC chart of saikosaponin a and d

根の内部形態観察 異なる培地で栽培されたミシマサイコ根について, 細田ら (1992) の既往研究を参考に木化指数を算出した. 地際部から 1 cm 付近の根横断面の切片を 2% フロログルシン-塩酸試薬にて染色し, 染色部の面積を画像解析ソフト (Motic Images Plus 2.2S, MOTIC CHINA GROUP CO., LTD) を用いて計測した. 染色部の面積/横断面積×100 を木化指数とした.

3. 結果

地上部（葉＋茎）乾物重が最も多かったのは少頻度×RWであった（Table 7）．次いで、多頻度×RS，少頻度×RS，少頻度×FP の順に乾物重が多かった．多頻度×FP，多頻度×RW の地上部乾物重は他に比べて少なかった．根乾物重が最も多かったのは少頻度×RS であり，次いで少頻度×RW，多頻度×RS，多頻度×RW の順だった．FP は少頻度，多頻度区とも根乾物重が他に比べて少なかった．二元配置分散分析を行ったところ，交互作用はなかった．地上部乾物重には処理による差はなかったが，根乾物重では培地間に差があり，FP では他の培地で栽培したものに比べて乾物重が少なかった．

Saikosaponin a 濃度は少頻度×FP で最も高く，次いで多頻度×FP，多頻度×RW，多頻度×RS，少頻度×RS，少頻度×RW の順に高かった．saikosaponin d 濃度は少頻度×FP で最も多く，次いで多頻度×FP，少頻度×RW，少頻度×RS，多頻度×RW，多頻度×RS の順に高かった．saikosaponin a, d, a+d 濃度について二元配置分散分析を行ったところ，いずれにおいても交互作用はなかった．saikosaponin a 濃度には培地による差があり，FP で栽培したものは他の培地で栽培したものに比べて多かった．saikosaponin d, a+d 濃度には処理による差はなかった．

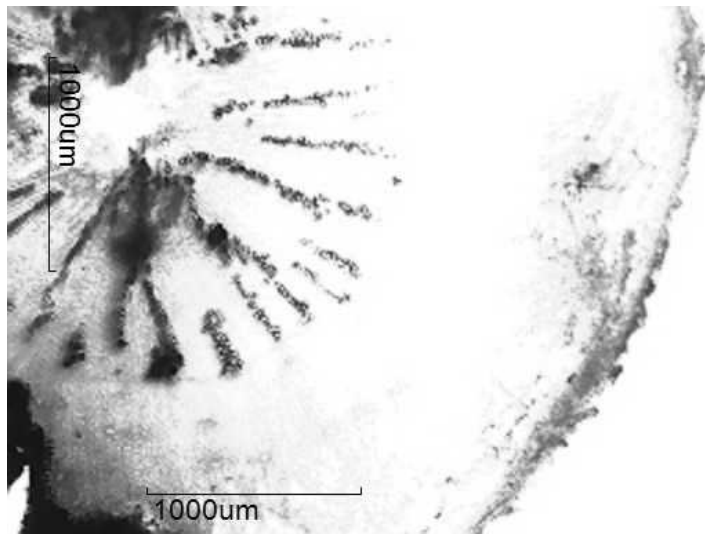
木化指数は RS 培地で低い傾向であった（Fig. 21, Photo 14）．根径と木化指数の間には有意な相関はなかったが（ $y = 0.032x + 0.094$, $r = 0.4226$ ns），培地ごとでは，FP，RW 培地では有意な正の相関があった（Fig. 22）．一方，RS では根径と木化指数の間には有意な相関はなく，根径が増大しても木化指数は低かった．

Table 7 Effect of irrigation frequency and substrate on dry weight of shoot and root of the *B. falcatum* plant and saikosaponin content of the root

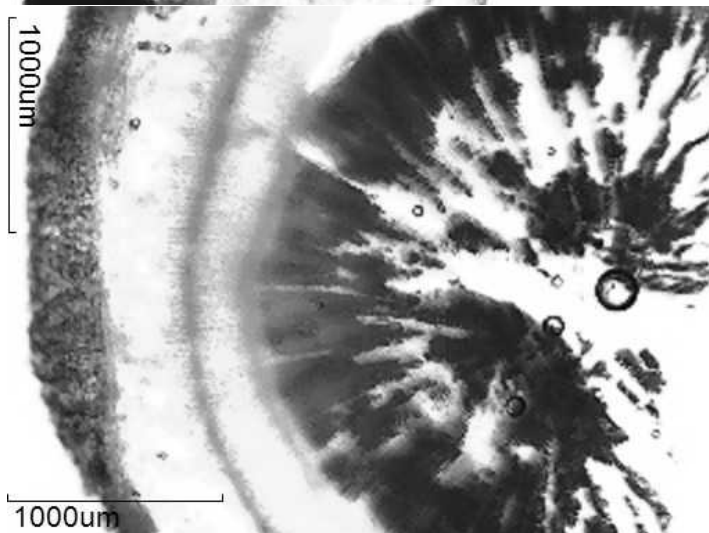
Frequency	Substrate ^z	Dry Weight (g)		Saikosaponin content (mg g ⁻¹ DW)					
		Shoot	Root	a	d	a+d			
Low	RS	4.5 ± 1.5 ^y	1.0 ± 0.2	3.0 ± 0.3	3.6 ± 0.8	6.6 ± 1.0			
	RW	5.5 ± 1.3	0.9 ± 0.2	2.8 ± 0.2	4.0 ± 0.4	6.8 ± 0.5			
	FP	3.6 ± 2.7	0.3 ± 0.2	4.3 ± 0.3	4.8 ± 0.3	9.1 ± 0.5			
High	RS	4.6 ± 3.3	0.8 ± 0.3	3.2 ± 0.5	3.3 ± 0.9	6.5 ± 1.4			
	RW	2.7 ± 0.9	0.7 ± 0.1	3.3 ± 0.2	3.5 ± 0.4	6.8 ± 0.4			
	FP	2.7 ± 1.9	0.4 ± 0.1	3.8 ± 0.4	4.1 ± 0.9	7.8 ± 1.3			
ANOVA (p-value)	Frequency	0.48	0.56	0.91	0.38	0.56			
	Substrate	0.8	0.01	0.02	0.34	0.12			
	Interaction	0.78	0.8	0.35	0.94	0.78			

^z River sand (RS), Rockwool (RW) and Foam penolic resin (FP)

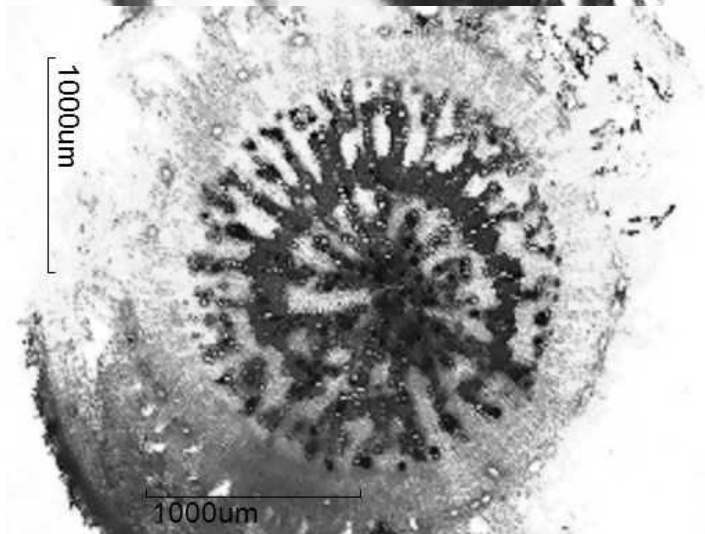
^y Mean ± SE (n=4)



River sand



Rockwool



Foam phenolic resin

Photo 14 Cross sections of *B. falcatum* root stained with 2% (w/w) ethanol solution of phloroglucinol and HCl

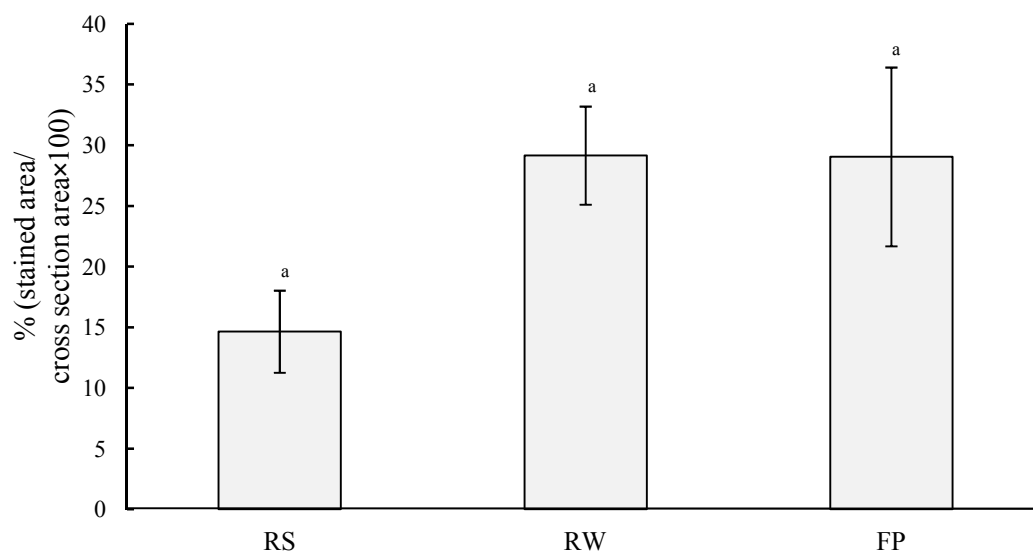


Fig.21 Lignification index of *B. falcatum* grown in river sand (RS), rockwool (RW) or foam phenolic resin (FP). Different letter represent significant differences by Tukey-Kramer test at the 5% level. Bertical bar indicates SE (n = 5)

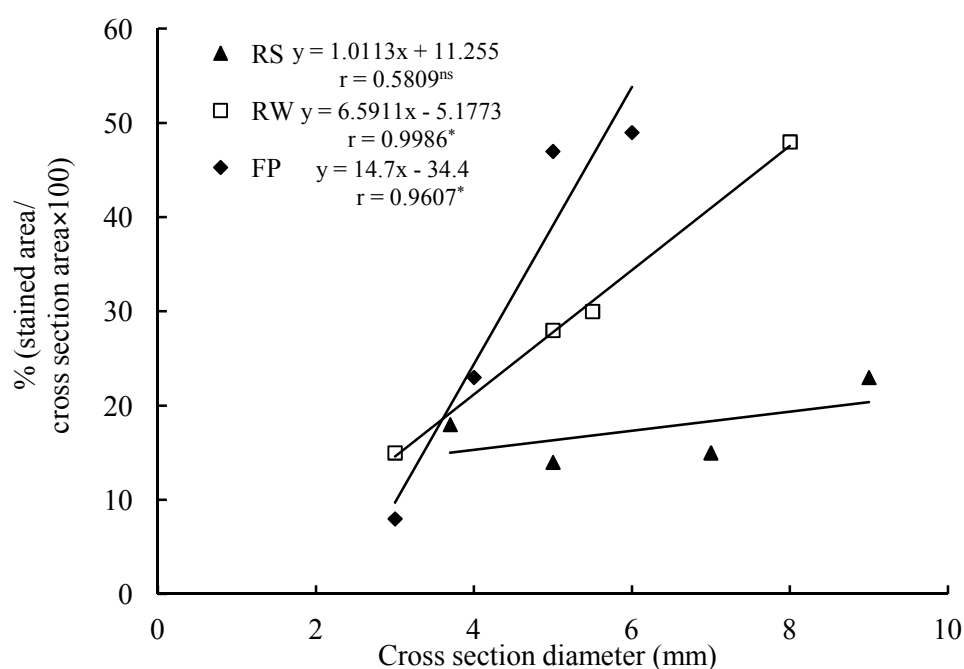


Fig. 22 Relation between cross section diameter and lignification index of *B. falcatum* grown in river sand (RS), rockwool (RW) or foam phenolic resin (FP). *and ns represent significant correlation at the 5% level or non-significant, respectively.

4. 考察

本試験においては、培地の種類は根重、saikosaponin 濃度に影響を及ぼすことが明らかとなった。細田ら（1990）は 5 種類の土壌を用いてミシマサイコを栽培したところ、川砂で栽培したものの根の乾物重、saikosaponin 濃度ともに最も高くなったと報告している。このことから川砂はミシマサイコの栽培に有望な培地であると考えられるが、本試験では RS と RW で栽培したものは根の乾物重、saikosaponin 濃度ともに差がなかった。一方、FP で栽培したミシマサイコの根の乾物重は他の区に比べ 40%程度低かった。FP で栽培されたミシマサイコ根中の saikosaponin 濃度は他の区よりも高かったが、これは同化産物が蓄積しなかったために、saikosaponin の濃縮がおこった結果であると推察される。

根の乾物重や saikosaponin 濃度は培地によって差が見られたのに対し、灌液頻度では処理区間による差は見られなかった。この理由について、本試験では、一回当たりの給液で植物に対し多めの培養液を与えていたことが関係している可能性がある。多灌液を行うことのメリットは、作物の水分吸収にあわせて頻繁に灌液することで肥料の利用効率を高めること、酸素や養分濃度の薄い層が出来るのを防ぐことができることであるが（池田，2005），ミシマサイコの初期生育は緩慢で、水や養分を多くは必要としなかった可能性がある。本研究では装置の性能上、一回あたりの灌液量を減らすことは出来なかったが、今後ミシマサイコの養水分吸収特性を明らかにし、それに合わせた灌液量と頻度を検討する必要があると考えられる。

また、本研究では、品質評価の指標の一つとして、根の断面積の形態評価も同時に行ったが、これは RS で低い傾向であった。ミシマサイコは、“しなやか”なものが良いとされており、既往研究でも根内部の木化指数を調べたものがいくつかある。ミシマサイコにおいては、生育が進むにつれて木部の木化部位が増加するといわれてい

る（細田，1993）．とくに節間の伸長開始以降は木化が進むが，同時に，節間伸長開始後は，根の増加速度も増大すると言われる．また，南ら（1995 b）は生育が進むにつれて木部において木部柔細胞の膜壁へのリグニン沈着および肥膜化が進み，これがサイコの柔軟性に影響を及ぼすと考察している．このことから根重の増大とともに木化指数も増加すると考えられるが，本研究では根乾物重が高い傾向であった RS で木化指数は低い傾向であった．また FP，RW にて栽培したミシマサイコ抽だい株の木化指数は～50 まで増加したが，RS では抽だい株でも 10～20 程度であった．RW，FP で栽培したものでは根径と木化指数との間に有意な正の相関はあったが，RS では有意な相関はなかった．このことから，RS では根の収量が多く，品質のよい柴胡が得られると考えられる．

土壌通気，土壌の通気性はミシマサイコの木部の木化に影響を及ぼすと報告されている（Hosoda et al., 1993；細田ら，1995）．また，排水の良い場所が栽培地に適する（厚生省薬務局，1999）と言われているため，今回用いた培地は，いずれも気相率，孔隙率が高いと言われる培地を選択した．ロックウール粒状，フェノール樹脂ともに気相率は 40%以上，孔隙率は 90%以上と優れた物理性をもつ．一方，川砂の孔隙率は 50%程度で，粒状フェノール樹脂やロックウールに比べ低いことが大きな違いであり，地下部環境も異なると考えられる．そこで，参考までに，土壌水分計（5TM and Em, DECAGON）を用いて，それぞれの培地の地際から 5 cm 付近の培地温，体積含水率を測定した（Fig. 23, 24）．培地温は RS，FP，RW の順に高い傾向はあったものの気温とほぼ同様に推移した．一方で体積含水率の変動は培地ごとに異なる特徴があり，培地中の通気性や排水性も培地間で異なっていた可能性がある．

本試験から培地による根の収量や品質への影響が明らかとなったが，根の乾物重が高く，かつ木化指数が低い傾向である川砂培地がミシマサイコの生産に適すると考え

られた。川砂は塩類集積や吸着があるため、精密な培養液管理という面からは扱いが難しい培地であるが、再利用可能で環境負荷の少ない培地であるという利点もあり、ミシマサイコ用の培地として期待できる。また根の収量、saikosaponin 濃度からは、ロックウールも有用であると考えられる。ロックウールは化学的に安定しており、根域環境制御のしやすさにおいて優れた培地である。

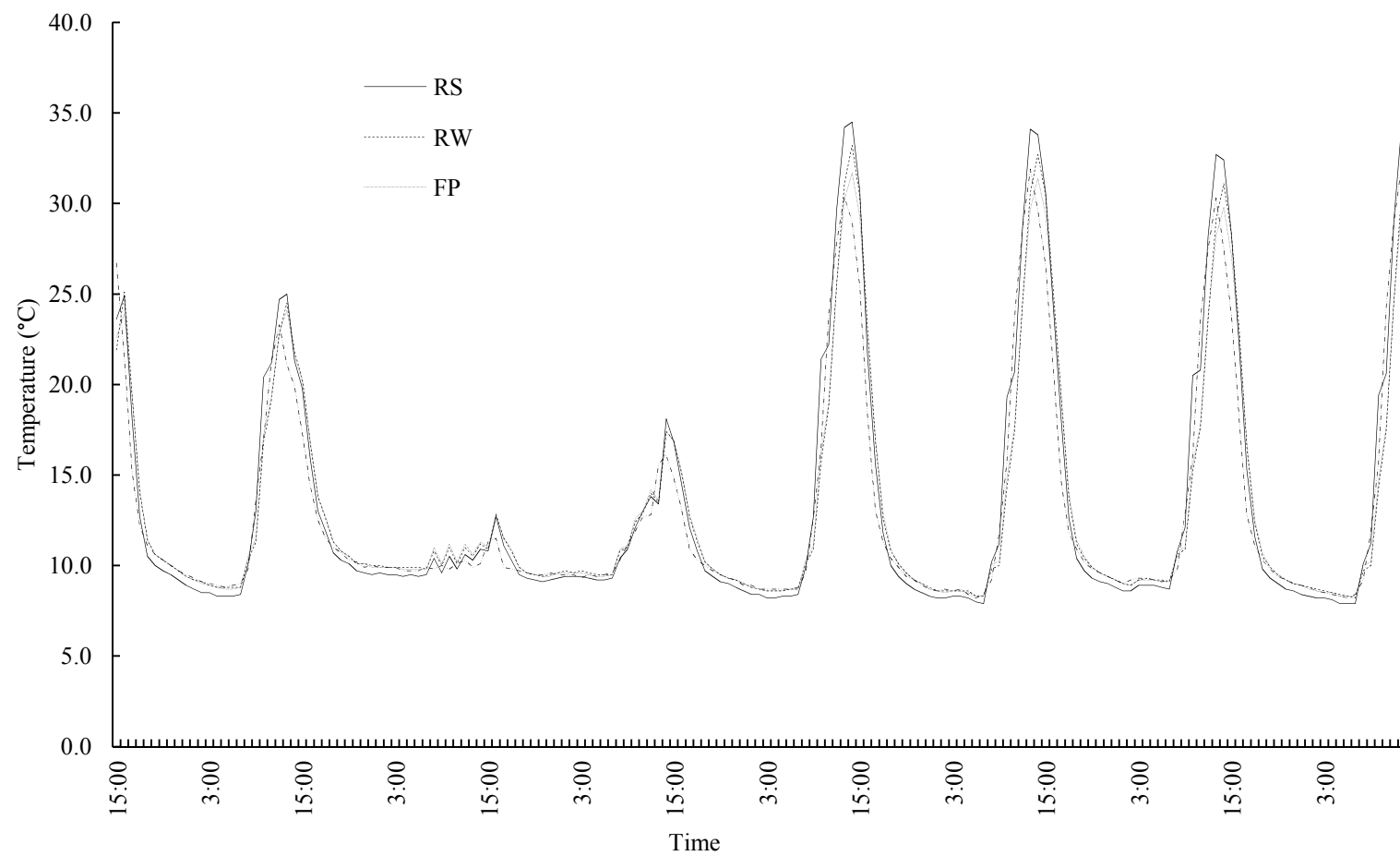


Fig. 23 Changes of temperature in the substrate. The temperature was measured on 12/21, 12/22, 12/25, 12/26 and 12/27 (sunny), and 12/23 and 12/24 (cloudy).

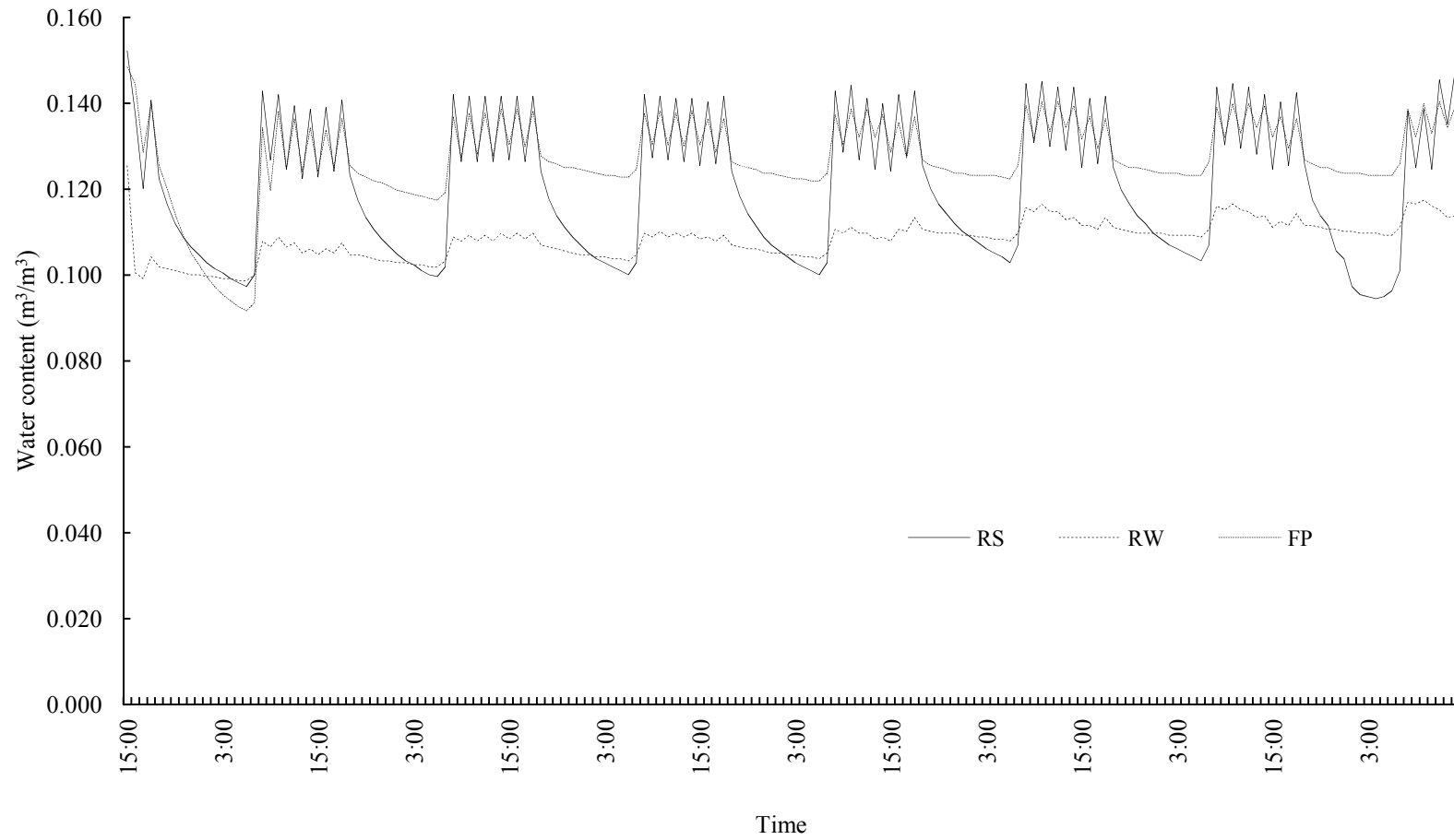


Fig. 24 Changes of volumetric water content in the substrate. Irrigation time is 6:00, 8:00, 10:00, 12:00, 14:00, and 16:00 in every day. The volumetric water content was measured on 12/21, 12/22, 12/25, 12/26 and 12/27 (sunny), and 12/23 and 12/24 (cloudy).

第3節 培養液の濃度が生育，saikosaponin 濃度に及ぼす影響

1. 緒言

ミシマサイコの養液栽培について、これまでの研究は生育特性や地下部の形態について土耕と養液栽培とを比較することが主目的であり、培養液の管理濃度、養分吸収特性の把握など、栽培技術に関連するような検討はなされていない。しかし、これまで Ebb&Flood 方式を利用したロックウール耕（南ら，1995 c）や、コンテナに川砂を充填した砂耕での研究（南ら，1997）では、地下部収量は露地栽培と同等あるいはやや上回るという結果が得られており、ミシマサイコの生産に関する養液栽培の有効性は示されている。

養液栽培では、作物の種類によって好適な培養液濃度は異なることが一般的に知られている。例えば園試処方を用いた場合の好適な培養液 EC は、トマトでは 1.2 dS m^{-1} 程度、キュウリでは $2.0 \sim 2.5 \text{ dS m}^{-1}$ とされる（糠谷，2002）。またイチゴでは、好適培養液濃度が品種によっても大きく異なることが報告されている（宇田川，2002）。したがってミシマサイコについても、養液栽培における好適な栽培管理法を確立する上で、培養液濃度の検討は非常に重要であると考えられる。

そこで本研究では、ミシマサイコの養液栽培における好適な培養液濃度を明らかにすることを第一の目的とし、ロックウール耕で灌液に用いる培養液の濃度を変えてミシマサイコを栽培し、越冬後の節間伸長期における生育、薬効成分に与える影響を調査した。

2. 材料および方法

耕種概要 試験は、千葉大学環境健康フィールド科学センターに設置されたガラス温室内で行った。2009年に北里大学から供与され、冷蔵保存しておいたミシマサイコ種子を、2011年5月26日にロックウール微粒綿を充填した200穴セルトレイへ播種し、育苗した。育苗期間中、3日に1回、大塚B処方1/4単位培養液を、その他の日は水のみを灌液した。灌液量は、トレイの底面から排液が出る程度とした。9月1日に、本葉5~6枚展開時の苗を、ロックウール微粒綿を充填した長さ400 mm×内径40 mmの硬質塩化ビニールパイプに定植した。栽培には自作の循環式システムを用いた（Photo 15）。

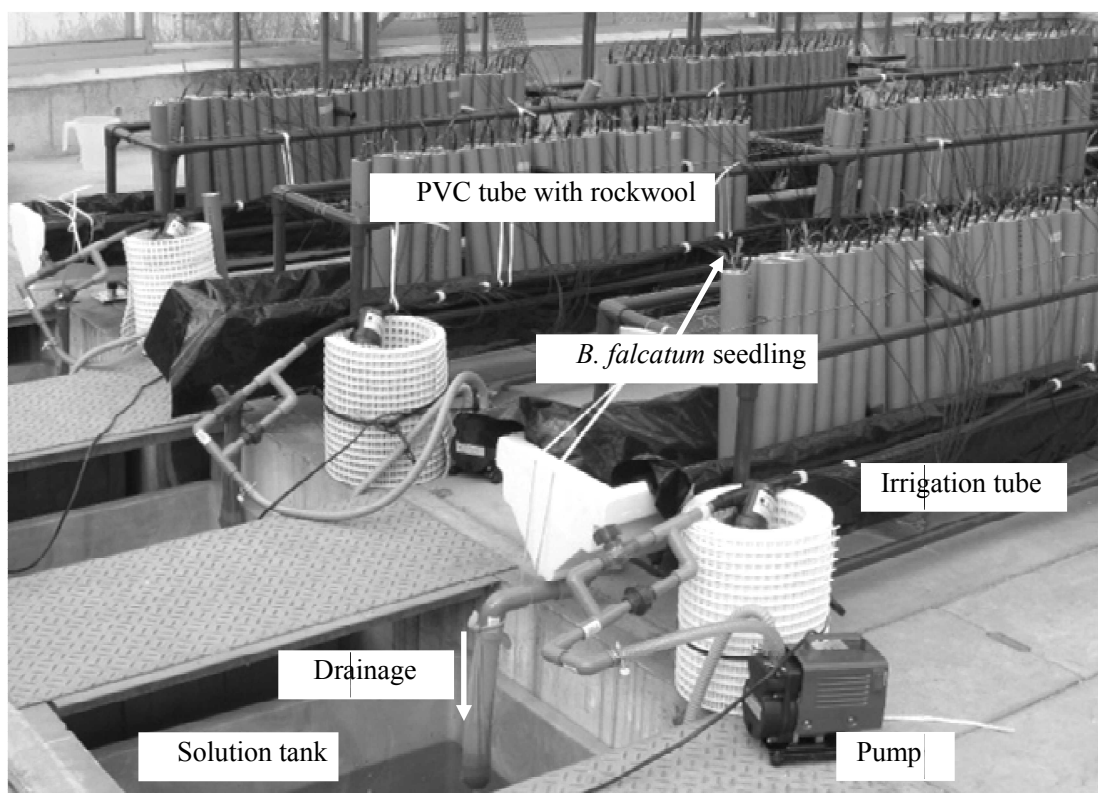


Photo 15 Recirculating soilless culture system for *B. falcatum* and the plants just after transplanting to PVC tubes

パイプは、通路を60 cm空けて南北方向に設置したベッド内に、株間、条間ともに5 cmとなるように、2列に設置した。後述の培養液処理開始までは、株元に設置した点滴灌液チューブ（テンタクルチューブ、MKV ドリーム）によって、育苗時と同様の培

養液を灌液した。栽培期間を通じて、灌液時間と回数は7時から17時まで2時間おきに、1日に6回とし、1回当たりの灌液量は70 mLとした。ガラス温室内の気温は25°Cを目安に換気窓を開閉し、夏期強光時には遮光率 60%のカーテンにより遮光した。また最低気温が10°Cを下回らないように、温風暖房機で加温した。

処理方法 処理区は、灌液する培養液のECについて0.6 dS m⁻¹ (1/4 単位区) , 1.2 dS m⁻¹ (1/2 単位区) , 2.4 dS m⁻¹ (1 単位区) の3水準とした。培養液処方は大塚B処方、供試株数は各区160株とし、10月6日から処理を開始した。なお、処理開始時の展開葉枚数は10枚程度であった(データ省略)。12月中旬頃までは1~2週間に1回、それ以降は週に1~2回、タンク内培養液のECとpHを測定した。12月頃まではタンク内ECの変動が比較的小さかったため、各処理区の設定ECとなるように培養液を別途調整し、その培養液を減水量分だけタンクに追加した。それ以降ではタンク内ECが短期間で上昇するようになったため、タンク内ECが設定値となるように補水と追肥を行った。また、培養液は栽培期間中に数回全量更新した。培養液の追加、追肥および更新時に、85%H₃PO₄を用いて、培養液pHを6.5程度に調整したが、pH調整に伴って添加されるPについて、特に処方の修正などは行わなかった。

調査・分析方法

(1) **生育** 2012年4月1日に、各処理区から生育が中庸な10株を選んで抜き取り、器官別生体重と乾物重を測定した。4月27日には、残った株から6株を選び、最大葉の面積、展開葉枚数、草丈を測定した。

(2) Saikosaponin 濃度

第2章、第2節に準じた。ただし、試料量、抽出溶媒量は日本薬局方(2011)に準じた。また、定量には標準品から作成した検量線を用いた。

3. 結果

地上部生体重には処理による影響はなく，地下部生体重は 1/4 単位区で最も高かった (Table 8) . 地上部乾物重は 1/4 単位区が最も高く，次いで 1/2 単位区，1 単位区となった． 1/4 単位区と 1/2 単位区の差は主として茎の乾物重の差によるものであり， 1/2 単位区と 1 単位区との差は，主として葉の乾物重の差によるものだった．地下部乾物重には処理区間に差はなかった．したがって，地上部乾物重が大きく低下した 1 単位区において，他の区に比べて T/R 比が低くなった．展開葉枚数には処理区間で差はなかった (Table 9) . 最大葉の面積および草丈は，1/4 単位区と 1/2 単位区では有意な差がなかったが，1 単位区ではこれら 2 区に比べて小さくなり，1/2 単位区に対して，それぞれ約 62%，56%となった．

培養液 EC について，1/4 単位区では更新または調整までにわずかに上昇する傾向が認められたものの，他の 2 区に比べ，栽培期間を通じて安定していた．しかし，1/2 単位区では 1 月以降，1 単位区では 11 月以降，培養液 EC が上昇するようになり，その傾向は 2 月以降に顕著であった (Fig. 25) .

Saikosaponin a, d, a+d の乾物重当たりの含有量には，処理区間に差が無かった (Table 10) . また，すべての区において，乾物中の saikosaponin 濃度は，日本薬局方の基準濃度である 0.35%DW を上回っていた．株当たりの saikosaponin 収量については 1 単位区が最も高く， 1/4 単位区が最も低かった．

Table 8 Effect of solution strength on fresh and dry weight, and T/R ratio of *B. falcatum* plants on April 1.

Solution strength	Fresh weight (g)		Dry weight (g)				T/R ratio ^y
	Top ^z	Root	Top ^z	Leaf	Stem	Root	
1/4	58.5 ± 4.3 ^x a ^w	7.1 ± 0.4 a	18.6 ± 1.3 a	7.5 ± 0.7 a	11.3 ± 0.7 a	2.0 ± 0.1 a	9.7 ± 0.2 a
1/2	61.6 ± 8.5 a	4.9 ± 0.6 b	15.9 ± 1.7 ab	8.0 ± 0.9 a	8.0 ± 0.8 b	1.8 ± 0.2 a	10.3 ± 1.0 a
1	46.3 ± 5.4 a	5.0 ± 0.7 ab	12.8 ± 1.0 b	5.9 ± 0.5 a	7.0 ± 0.6 b	2.1 ± 0.2 a	6.6 ± 0.3 b

^z Sum of leaf and stem weights.

^y Ratio of top to root dry weight.

^x Mean ± SE (n = 8)

^w Different letters within columns represent significant differences by Tukey-Kramer test at the 5% level.

Table 9 Effect of solution strength on number of fully expanded leaves, leaf area and plant height of *B. falcatum* plants on April 27.

Solution strength	No. of leaves	Leaf area ^z	Plant height
		(cm ²)	(cm)
1/4	179.0 ± 23.5 ^y a ^x	30.7 ± 5.7 a	104.2 ± 6.2 a
1/2	178.8 ± 49.2 a	44.7 ± 2.9 a	121.8 ± 8.6 a
1	149.5 ± 13.9 a	27.7 ± 2.8 b	67.9 ± 3.9 b

^z The largest leaf was measured.

^y Mean±SE (n = 5-6)

^x Different letters within columns represent significant differences by Tukey-Kramer test at the 5% level.

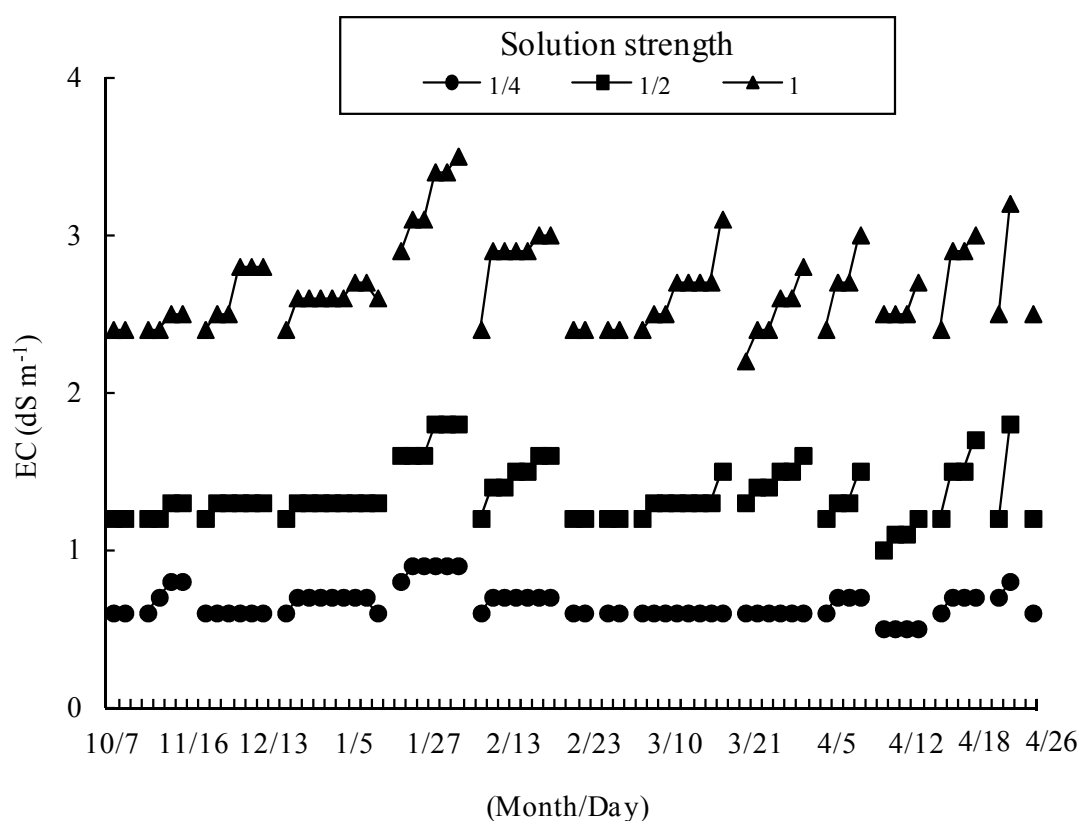


Fig. 25 Changes of solution EC in each treatment. The date when the line is disconnected indicates that the solution was renewed or replenished.

Table 10 Effect of nutrient solution strength on saikosaponin (SS) content and the yield.

Solution strength	SS a	SS d	SS a+d ^z	Yield
	(mg gDW ⁻¹)			(mg plant ⁻¹)
1/4	3.9 ± 0.3 ^y a ^x	4.5 ± 0.4 a	9.0 ± 1.0 a	16.6 ± 1.3 b
1/2	4.4 ± 0.4 a	5.7 ± 0.7 a	10.9 ± 1.3 a	19.1 ± 3.0 ab
1	4.7 ± 0.4 a	5.5 ± 0.5 a	10.9 ± 1.2 a	24.1 ± 1.6 a

^z Sum of SS a and SS d.

^y Mean ± SE (n = 6-8)

^x Different letters within columns represent significant differences by Tukey-Kramer test at the 5% level.

4. 考 察

園芸作物の養液栽培における好適な培養液の濃度は、旺盛な生育が得られる、あるいは果実収量が多いということを指標に決定される場合が多いが（榊田，1985；太田，1991；張，1997），本試験では，生育，saikosaponin 濃度から，好適な培養液濃度の推定を試みた．

ミシマサイコの生育について，本試験の範囲内では，地上部の乾物重，最大葉の葉面積，草丈，T/R 比が，1 単位区（EC 2.4 dS m⁻¹）で，1/4 単位区および 1/2 単位区よりも低下した．地上部の生育からは 0.6 -1.2 dS m⁻¹ 程度が適当であると考えられる．しかし，1 単位区では他の 2 区に比べ地上部の生育が劣っていたにもかかわらず，ミシマサイコの利用部位である根の乾物重への影響は見られなかった．一般に，植物は水分吸収が抑制されるような条件下では，水ポテンシャルの低下に対する適応の過程で茎葉の成長が抑制される（Nonami, 1990; Schuppler, 1998; 平沢，2001）．養液栽培においても，培養液濃度が高くなると培養液の浸透ポテンシャルが低下し，植物の養水分吸収が抑制され，生育も抑制される（伊達，2012）．一方，地下部へのストレスで地上部の生育が抑制されても，光合成産物は地下部へ供給され続けられるため，弱いストレス下では T/R 比が低下することが知られている（Barlow, 1977; Westgate, 1985; Hale, 2005）．1 単位区の培養液タンク内における培養液濃度の推移を見ると，処理開始後の比較的早い時期からタンク内培養液の EC が上昇するようになった．この濃度上昇により，1 単位区の植物体が軽い水分ストレスを受け，地上部生育の抑制や T/R 比の低下につながったと考えられる．これらから，培養液 EC として 0.6～1.2 dS m⁻¹ 程度でミシマサイコは旺盛な生育を示すものの，収量という見地からは 2.4 dS m⁻¹ 程度の濃度も好適であると考えられる．また，培養液 EC を 2.4 dS m⁻¹ 程度で管理すると，草丈や葉面積が抑制されることで，受光態勢が改善され，密植によって単位面積当たりの栽

培株数を増加できる可能性もあり、地上部の管理の面からも培養液濃度 $EC\ 2.4\ dS\ m^{-1}$ も有効と考えられる。しかし、1 単位区で培養液濃度が上昇したことと、地上部の生育抑制が生じたことから、好適範囲の上限は $EC\ 2.4\ dS\ m^{-1}$ 程度と推定される。

本試験において、培養液濃度が saikosaponin 濃度に及ぼす影響は小さいものであった。しかし、栄養塩（施肥）が植物の二次代謝産物に及ぼす影響について、Carbon-Nutrition Balance (CNB ; Bryant et al., 1983) や、Growth-Differentiation Balance (GDB ; Herms and Mattson, 1992) といった仮説では、施肥により二次代謝が減少すると考えられている。CNB 仮説では、栄養塩が十分にある環境下では取り込んだ炭素を生育に用い、栄養塩が不十分な環境では取り込んだ炭素を窒素を含まない二次代謝物として蓄えると予測している。また GDB 仮説においては、生育と防御はトレードオフの関係にあると考えられ、主に生育に寄与する一次代謝が促進されるような状況下（栄養塩が十分な状況下）では二次代謝が相対的に抑制されると予測されている。どちらの予測も栄養塩が豊富にある環境では二次代謝が抑制されると考えられる。

これらの仮説は主に土耕で検証されているが、Bot ら (2009) は、トマトを $0.05\sim15\ me\ L^{-1}$ の範囲の NO_3 濃度下で水耕栽培し、これらの仮説の検証を試みている。それによると、トマト葉中のフェノール類の濃度は NO_3 濃度 $0.05\sim3\ me\ L^{-1}$ 間では $20\%\sim30\%$ 程度減少するが、 $3\sim15\ me\ L^{-1}$ 間では減少率は 10% 程度か、種類によっては微増する。一般的に養液栽培において用いられる NO_3 濃度の範囲内では二次代謝物濃度に与える影響は少ないものであると考えられる。今回試験であたえた NO_3 濃度は $4\sim16\ me\ L^{-1}$ であり、ミシマサイコの saikosaponin についてもこの NO_3 濃度範囲では濃度に大きな変動はないものであると考えられる。

一方で、*B. chinense* 根において、乾燥ストレスを与えることで saikosaponin 濃度が上昇することが報告されている (Zhu et al., 2009 a) 。 Saikosaponin の生合成については、

ミシマサイコの根にジャスモン酸、アブシシン酸、エセフォンといった植物ホルモン（様物質）を処理すると saikosaponin の前駆体であるスクアレン合成酵素遺伝子が蓄積することが報告されている（Kim et al., 2011）．このうちアブシシン酸は水ストレス耐性を誘導するホルモンとしても知られる．本試験では、高濃度の培養液を施与した区においては、水ストレスがあった可能性があり、ストレスが saikosaponin 濃度に影響を及ぼしたとも考えられる．

本研究では培養液濃度が saikosaponin 濃度に影響を及ぼさないのか、あるいは影響があったが結果的に濃度差につながらなかったのかは明らかにできない．しかし、いずれにしても本試験範囲内では saikosaponin 濃度に大幅な差は見られなかった．管理培養液の EC は $0.6\sim 2.4\text{ dS m}^{-1}$ 範囲では saikosaponin 濃度に影響を及ぼさないと考えられる．

以上より、ミシマサイコの養液栽培において、根の収量、saikosaponin 濃度は比較的広い濃度範囲で影響を受けないことが明らかとなった．しかし、根の乾物重、saikosaponin 濃度とも、培養液濃度が高い区で多い傾向であったこと、地上部の生育制御などの見地からは、 $EC\ 1.2\sim 2.4\text{ dS m}^{-1}$ が好適な濃度と考えられる．

第4節 ミシマサイコの養分吸収特性

1. 緒言

養液栽培では、培養液の無機成分の組成と濃度、培養液施与量を把握することにより、施与成分量が計算できるため、作物の成分要求量に応じた肥培管理が可能となる（張ら, 1997）。しかし、ミシマサイコにおいてはこれまで土耕による施肥試験の報告（南ら, 1995 a ; Zhu et al., 2009 b）はあるものの、養分吸収特性についての報告はない。そこで、ロックウール耕におけるミシマサイコの好適培養液組成を確立するための知見を得るために、第3節で得たミシマサイコ植物体中の無機成分濃度の調査を行った。

2. 材料および方法

耕種概要

第2章，第3節に準ずる．

植物体の無機成分濃度 植物体各器官の乾物は粉末にし，サリチル硫酸－過酸化水素法（松永ら，1989）で分解し．全Nをケルダール法で測定した．また乾物を500℃で乾式灰化し，Pはバナドモリブデン法，K，Ca，Mgは原子吸光光度法で測定した．

3. 結果

無機成分濃度について、葉では全 N 濃度のみ差が認められ、1 単位区で最も高く、1/4 単位区で最も低かった (Table 11) .

Table 11 Effect of nutrient solution strength on nutrient concentration in the parts of *B. falcatum* plant

Plant part	Solution strength	N	P	K (mg gDW ⁻¹)	Ca	Mg
Leaf	1/4	16.8 ± 1.4 ^z b ^y	8.1 ± 0.6 a	36.8 ± 12.8 a	6.7 ± 0.8 a	4.6 ± 0.3 a
	1/2	20.2 ± 1.3 ab	10.6 ± 1.4 a	62.2 ± 10.6 a	7.5 ± 1.1 a	5.0 ± 0.8 a
	1	23.3 ± 1.3 a	8.7 ± 1.2 a	60.4 ± 7.9 a	4.7 ± 0.6 a	3.3 ± 0.4 a
Stem	1/4	5.0 ± 0.5 a	4.1 ± 0.4 a	26.1 ± 0.7 a	1.4 ± 0.0 a	1.8 ± 0.1 a
	1/2	5.7 ± 0.3 a	5.3 ± 0.8 a	40.6 ± 5.8 a	1.6 ± 0.2 a	2.2 ± 0.3 a
	1	6.4 ± 0.7 a	4.2 ± 0.7 a	35.1 ± 3.6 a	1.5 ± 0.2 a	1.7 ± 0.3 a
Root	1/4	10.6 ± 0.8 a	5.9 ± 0.7 a	20.1 ± 2.7 b	3.3 ± 0.4 a	3.5 ± 0.1 a
	1/2	11.4 ± 1.3 a	7.4 ± 1.0 a	29.2 ± 4.5 ab	3.6 ± 0.3 a	3.7 ± 0.2 a
	1	14.5 ± 1.1 a	6.7 ± 0.3 a	33.0 ± 2.4 a	3.9 ± 0.2 a	4.2 ± 0.3 a
Whole plant	1/4	10.2 ± 0.7 b	5.6 ± 0.3 a	35.5 ± 6.7 a	3.2 ± 0.3 ab	2.8 ± 0.2 a
	1/2	13.0 ± 0.8 ab	8.0 ± 0.7 a	50.4 ± 6.8 a	4.6 ± 0.6 a	3.7 ± 0.4 a
	1	14.1 ± 0.7 a	6.3 ± 0.8 a	44.7 ± 4.8 a	3.1 ± 0.2 b	2.7 ± 0.3 a

^z Mean±SE (n = 4-5)

^y Different letters within columns of each plant part represent significant differences by Tukey-Kramer test at the 5% level.

根では、K 濃度のみに差が認められ、1 単位区で最も高く、1/4 単位区で最も低かった。全草では、全 N 濃度が 1 単位区で最も高く、1/4 単位区で最も低かった。また、Ca 濃度が 1/2 単位区で最も高く、1 単位区で最も低かった。その他については、処理区間に差はなかった。無機成分の吸収特性を把握するために、前述の無機成分濃度をミリグラム等量単位に換算し、さらに K を 8 me gDW⁻¹ とみなして全草中の無機成分の含有比を求めると、処理区間で値の変動はあるものの差は小さく、平均すると N は 6.5, P は 4.7, Ca は 1.3, Mg は 1.8 me gDW⁻¹ であった (Table 12) . また、全草の無機成分含有比を、本試験で用いた大塚 B 処方 1 単位培養液中の無機成分濃度比と比較す

ると、Nは45%、Caは20%、Mgは50%程度と、灌液した培養液よりも低かったのに対し、Pは120%以上と灌液した培養液よりも濃度が高かった。

Table 12 Ratios^z of nutrient in the whole plant of *B. falcatum*

Solution strength	N	P	K (me gDW ⁻¹)	Ca	Mg
1/4	6.4 (39.0)	4.8 (123)	8.0	1.4 (17.9)	2.0 (50.0)
1/2	5.7 (34.8)	4.8 (123)	8.0	1.4 (17.9)	1.9 (47.5)
1	7.3 (44.5)	4.4 (113)	8.0	1.1 (14.1)	1.6 (40.0)
Average	6.5 (39.6)	4.7 (121)	8.0	1.3 (16.7)	1.8 (45.0)
(me L ⁻¹)					
Otsuka B	16.4	3.9	8.0	7.8	4.0

^z Ratios were calculated as K concentration in the whole plant was considered to be 8 me gDW⁻¹.

^y Values in parentheses indicate the percentage of nutrient concentration in Otsuka B solution.

4. 考察

植物体中の無機成分含有比から推定した培養液の無機成分組成は、N : P : K : Ca : Mg = 6.5 : 4.7 : 8 : 1.3 : 1.8 (me L⁻¹) となる。これは、園芸作物の養液栽培に広く用いられている園試処方（大塚 B 処方）や Hoagland 処方と比較すると、P の比率がやや高い。本試験では培養液の pH 調節に 85% H₃PO₄ を用いており、その影響が考えられた。概算してみたところ、処理開始から収穫までに添加した P は 1/4 単位区、1/2 単位区で約 4000 me、1 単位区で 3000 me であった。栽培期間中培養液として与えた P の総量は 1/4 単位区は 2400 me、1/2 単位区は 3600 me、1 単位区は 5900 me であった。したがって、P 施肥量のみが 1.5～2.7 倍（平均 2 倍）となっていた。この P 施与量の増加が、本試験における植物体中の P 含有比の増加につながった可能性が考えられる。

一方で、これまでに土耕で行われた研究で、*Bupleurum* 属の saikosaponin a および d 含有量やそれらの比率は、無機養分の施肥量や施肥成分の種類によって大きく影響されることが明らかとなっている（南ら, 1995 a ; Zhu et al., 2009 b）。

本試験の結果からは、saikosaponin 濃度や比率と、施肥量や培養液濃度との関係は明らかにできなかった。これらの関係を明らかにするためには、培養液の無機成分組成を変えてミシマサイコを栽培するなど、さらなる検討が必要と思われる。

第5節 結論

本研究では固形培地耕における培地、培養液濃度は根の収量、saikosaponin 濃度に影響を及ぼすことが明らかとなったが、特に、培地による根の収量の差は大きかった。過去にも、土壌の物理性がミシマサイコに及ぼす影響が報告されており（細田ら，1990），養液栽培においても適切な培地選択の重要性が示唆される。一方で，施与培養液の濃度は地上部の生育に影響を及ぼしたが，利用部位である根の収量や saikosaponin 濃度の差は小さいものであり，また灌液頻度による差も見られなかったことから，培養液はある程度広い範囲で管理しても，収量や saikosaponin 濃度に影響を及ぼさないと考えられる。また，本研究では植物体の無機成分濃度からはミシマサイコに好適であると考えられる培養液組成が提示でき，ミシマサイコ用培養液処方作成のための知見が得られた。詳細についてはまだ検討の余地はあるが，培地，培養液濃度，組成についての知見は，ミシマサイコの養液栽培技術確立に寄与できるものであると考えられる。

なお，第3節の試験では播種後約11か月の植物体を採取して分析などを行っている。一般にミシマサイコは，2～3年生の株を利用するのが望ましいとされるが，1年生株でも生育のよいものは利用しても問題ないとされる（石館，1970；厚生労働省薬務局，1999）。薬用植物には栽培期間が数年に及ぶものも多いが，在圃期間が長いことは病害虫リスクが高くなるほか，経済性の面からもデメリットであり，時代の流れと共に栽培が短期間でも使用に耐えうるものであれば，基原植物として使用できるように変遷してきた経緯がある（姜，2008）。本試験における播種後約11ヶ月のミシマサイコ株の根乾物重は約2gであり，霜川ら（1980a, 1980b）が土耕で約19か月栽培したものと同程度であった。さらに主根の saikosaponin 濃度について，南ら（1997）は，栄養成長期に高く，播種後4か月程度で最も高くなり，地上部の抽だいや根部の生育に伴

って減少したと報告している。予備試験では、本試験と同様の装置を用いて栽培したミシマサイコ 19 ヶ月株の saikosaponin 濃度を分析した結果、本試験で得られた濃度の約 1/2 であった（データ省略）。したがって、本試験で用いた植物体は、栽培期間は慣行より短かったものの、植物体の大きさ、含有成分量ともに生薬として利用可能なレベルに達していたと考えられ、養液栽培によるミシマサイコの生育期間短縮の可能性が示唆された。さらに、通常の露地栽培であれば冬期には地上部が枯死するが、温室内で行われた第 3 節の試験では、冬期も地上部は枯死せず、生育を続けた。南ら（1997）も温室栽培では冬期に枯死しなかったことを報告しており、温室内の栽培では、ミシマサイコの周年栽培が可能であることも示唆される。

栽培期間短縮に加え、周年栽培が可能であることから、養液栽培においては単位面積あたりの収量増が期待できるものと考えられる。第 3 節で使用した栽培システム 1 システムあたりの単収は 10a 当たりに換算すると約 160kg となり、これは全国の単収平均の約 4 倍にあたる。また、生薬メーカーである栃本天海堂の社内用資料に示されているミシマサイコ（2 年生株）目標収量と比べても 2 倍である。本研究では、すべての試験で PVC パイプに培地を詰めていたが、栽培ベッドの形状を変える等の工夫でさらなる収量増も見込める。

本研究では、ミシマサイコ生産の効率化において固形培地耕の有用性が示されたが、同じく根を用いるカンゾウでも水耕栽培システムが開発されている（鹿島，2010）。地下部を用いる薬用植物は多いが、それらについても養液栽培は有用であると考えられる。

総合考察

本研究では、センブリについて1年生株の有用性が示され、swertiamarinの増収が見込めることが明らかとなった。また種子保存技術が開発できたが、これは種子の安定供給、発芽率向上、新たな栽培体系の導入を可能にするものである。ミシマサイコについては、養液栽培技術確立のための培地、培養液管理、養分吸収特性に関する知見が得られ、さらに作期短縮、周年生産、単収増が見込めることが示された。本研究から得られた成果は、センブリ、ミシマサイコの栽培の効率化に寄与できるものであり、他の薬用植物についても園芸的生産技術の応用による栽培の効率化や増収が期待できると考えられる。

薬用植物栽培においては収量だけでなく、薬効成分濃度など生薬の品質に関わる要素についても注意が必要であるが、生薬の品質については古くから産地や栽培方法が重要であると考えられている。煎じ用の刻み生薬などには産出地名が記載されており、産地が変更される場合はその旨を伝える文書が公開される。また中国においては適切な自然環境、および特定・高度な技術によって育てられた生薬を「地道薬材」ということから、産地の重要性が示唆される（王，2008）。

産地による品質の差には、環境的な要因と遺伝的な要因があると考えられる。本研究において、栽培環境はセンブリやミシマサイコの生育に影響を及ぼし、収量、外観に加え、薬効成分濃度にも影響を及ぼすことが明らかとなった。薬効成分の多くは二次代謝産物であるが、他の植物でも、標高、土壌、気温等の生育環境の違いが二次代謝産物濃度に影響を及ぼすことが報告されている（Lavola et al., 2000; Spitaler et al., 2006; Ormeno et al., 2008; Albert et al., 2009; Ghasemzadeh and Jaafar, 2011）。また、栽培においては生育や収量の面から適切な施肥管理が重要であるが、施肥は二次代謝へも影響を及ぼすと考えられている（Bryant et al., 1983, Herms and Mattson, 1992）。

群落間での遺伝的変異も、産地による品質の差の要因となっている。日本産の柴胡の品質が良いとされるのは、中国大陸に自生する *B. chinese* DC. や *B. scorzonifolium* Willd. よりも日本に自生するミシマサイコ (*B. falcatum* L.) の品質が良かったためである。センブリでは品種・系統間に薬効成分濃度の差が見られることも本研究で明らかとなった。さらに、オオバコ（車前草）では、採種地の標高により、UV 保護作用をもつ成分であるフラボノイド、フェノール酸の構成が異なっていることが報告されている (Murai et al., 2009)。二次代謝物は植物の防御システムの一つであると考えられており、群落間で成分構成や濃度が変動する可能性は高く、品質に大きく影響を及ぼしているものと考えられる。

薬用植物の品質について、園芸的生産技術は薬効成分の安定という面から貢献できる。環境による影響については、粗放的な栽培環境下では制御が難しいが、施設栽培であれば、ある程度環境を制御することが可能であり、品質の安定に寄与できると考えられる。本研究や Bot ら (2009) の報告では、養液栽培において一般的な培養液管理範囲内では、植物中の二次代謝産物濃度に大きな差はなかった。また、遺伝的要因については、優良な品種を育成し栽培することで品質を担保できる。さらに、施設栽培や苗生産技術といった在圃期間を短縮できるような技術は省力化のほか、農薬使用量の低減や土壌中の重金属汚染を回避でき、異物の混入を防ぐという面から高品質化に寄与できる。

園芸的生産技術の応用は栽培の効率化、薬効成分濃度の安定に有効であると考えられる。さらに本研究で得られた栽培植物は日本薬局方に数値基準のある成分について、その規格を十分に満したことから、作期や栽培方法が従来と異なっても生薬として利用できる薬用植物が生産できると考えられる。その一方、漢方製剤メーカーは自社で使う生薬の産地や品質評価基準を独自に定めており、異なる栽培地や栽培方法で

生産された薬用植物を生薬として使用することは困難であるという意見もある

(SANKEI DIGITAL INC., 2011; QLife 漢方, 2011) .

しかし最大の輸入先である中国からの輸入が困難，価格が上昇している現在では，今後原料生薬の安定供給のために国内栽培を増やしていくことが必須であり，それに伴い薬用植物栽培効率化の必要性も高まると考えられる．薬用植物が商品特性として他の園芸作物と異なるのは，流通段階に至らない限り生産者にとって価値がほとんど生じないことである．さらに生産者自身での販売は難しく，センブリの例で示されたように需要が基本的に一定なので，値崩れを起こしやすい．これは，薬用植物全般に通じるものであり，経営面からは，必要量を確実にかつ効率的に生産できる技術への期待は高いと考えられる．

今後，原料生薬の供給は栽培品利用に移行していくものと考えられるが，薬用植物栽培の効率化技術は栽培農家の経営安定を実現し，生薬の安定供給に貢献できるものである．

摘要

本論文は序論、第 1 章センブリの薬効成分に及ぼす栽培地の標高、株齡、種子保存年数および系統の影響、第 2 章ミシマサイコの養液栽培技術確立、総合考察で構成される。序論では原料生薬の調達と国内生産における問題点を概説し、本研究の目的を提示した。近年、自生地減少、輸出国での消費の増大および人件費高騰などから原料生薬の安定供給が不安視される。原料生薬の安定確保には、国内生産に向けた基原植物の栽培技術の確立および効率化が必要である。本研究では、伝承民間薬のセンブリと漢方薬の生薬資源のミシマサイコを対象植物として効率的生産技術の確立を目標に実験を行った。

第 1 章ではセンブリについて 1. 栽培地の標高、2. 株齡、3. 種子の長期保存、4. 品種・系統、が薬効成分および生育におよぼす影響を調査した。この結果から、1 年生株の有用性、 -20°C 下で 10 年程度種子が保存可能であること、薬効成分高濃度含有系統の存在が明らかになり、センブリ生産の効率化に寄与出来る知見が得られた。

第 2 章ではミシマサイコについて養液栽培技術の確立を目的に、固形培地耕において重要な根域環境要素である地下部環境として 1. 培地と灌液頻度、2. 培養液の濃度がミシマサイコの生育、品質に及ぼす影響について調査を行い、適切な培地と培養液濃度が提示できた。さらに 3. 植物体中の無機成分濃度から、ミシマサイコの養分吸収特性を明らかにし、ミシマサイコ用培養液処方を決定するための知見が得られた。

総合考察では 2, 3 章の結果をふまえ、今後の薬用植物の栽培化、生産効率化に向けての課題について述べた。今回得られた薬用植物が生薬として使用可能かについてはさらなる検討が必要であると考えられる。しかし本研究で得られた成果は作期短縮や、新たな栽培体系の確立、栽培の効率化を可能にするものであり、原料生薬の安定供給に寄与できるものである。

Summary

The aim of this study is to establish efficient production techniques for *Swertia japonica* and *Bupleurum falcatum*. This study investigated the effect of growing environment, plant age and variety on major medicinal constituents of *S. japonica* and *B. falcatum* and on the growth of these species.

In the general introduction, the problems of medicinal plant production and the objectives of this study are described.

Over 80% on a weight basis of the crude drugs used in Japan are produced in China. Recently, it has been a matter of concern that maintaining a stable supply of crude drugs will be difficult because of increasing consumption and labour costs and decreasing habitat in China. Therefore, increasing the amount of cultivation of domestic medicinal plants is necessary to maintain a stable supply of crude drugs. However, there are few previous studies related to the cultivation or to the efficiency of the cultivation techniques of medicinal plants.

Chapter 1 of this study describes a study on the effect of the altitude of the production site, plant age, storage period of seeds, and varieties on the swertiamarin content and growth of *S. japonica*.

In experiment 1, the contents of swertiamarin in 3 varieties cultivated at altitudes of 1,800 m (Sugadaira, Nagano), 815 m (Komoro, Nagano) and 20 m (Kashiwa, Chiba) were investigated. In field culture, the swertiamarin contents of ‘Mimaki-2-go’ and ‘Mimaki-3-go’ seedlings grown at Sugadaira were significantly higher than those grown at Komoro. In pot culture, the contents of ‘Mimaki-2-go’ and ‘Mimaki-3-go’ seedlings grown at Komoro were significantly higher than those in the seedlings grown at the other altitudes. The growth of plants grown at Komoro was better than those grown at other altitudes. In experiment 2, the contents of swertiamarin in one-year-old seedlings were compared with those in two-year-old seedlings. In the case of potted seedlings, the contents of swertiamarin in two-year-old seedlings were higher than in one-year-old seedlings in all varieties except “S-117”. In a comparison between potted

seedlings and those in the field, however, the content in one-year-old potted seedlings in some varieties was in the same range or higher than that in two-year-old seedlings. In experiment 3, the seeds were successively collected in the conventional way from the year 1992 to 2003, and stored at -20°C until the experiment was begun. The germination percentage differed among the seeds that were collected in different years, but there was no significant correlation between the percentage and the storage period. In addition, no correlation between plant dry weight and seed storage period was observed. Moreover, the seed storage period had no effect on the swertiamarin content of the seedlings. In experiment 4, the effect of varietal difference on the content of swertiamarin was investigated. The contents in “S-117” and “15-Haya” were higher than those in the other varieties.

Chapter 2 describes a study of the effect of subterranean environmental conditions on plant growth and on the saikosaponin and mineral content of *B. falcatum* grown in substrate culture.

In experiment 1, the effects of the substrate and irrigation frequency of the nutrient solution on seedling growth, saikosaponin content, and internal morphology were investigated. Seedlings grown in river sand and rockwool showed significantly higher root dry weight than those grown in foam phenolic resin. The “saikosaponin a” content of seedlings grown in foam phenolic resin was significantly higher than in those grown in the other substrates. In experiment 2, the seedlings of *B. falcatum* were transplanted to PVC tubes filled with granulated rockwool and supplied with quarter-, half- and full-strength Otsuka B nutrient solution, respectively. Eleven-month-old plants were harvested, and the growth and saikosaponin contents were measured. There was no difference in the root dry weight among treatments, and the top-to-root ratio on a dry weight basis was lowest in the plants treated with full-strength solution. The saikosaponin content per 1 g of root dry matter was not affected by the solution concentration. In experiment 3, the mineral content in the seedlings obtained in experiment 2 was measured. Although the mineral concentration in the plants tended to be higher in half- and full-strength solutions than in the quarter-strength solution, a similar trend was observed in the ratios of nutrients calculated

for those concentrations. The appropriate ratio of the major elements in the nutrient solution estimated from the result was N: P: K: Ca: Mg = 6.5: 4.7: 8: 1.3: 1.8 (me L⁻¹).

This dissertation and future prospects for the cultivation of medicinal plants are described in the general conclusion.

This study showed that the techniques used for horticultural crops can be applied to medicinal plants. The use of efficient production techniques could contribute to maintaining a stable supply of crude drugs. This dissertation and future prospect for cultivating of medicinal plants are described in the general conclusion.

This study showed that the techniques used for horticultural crops can be applied to medicinal plants. The efficient production techniques make a contribution to stable supply of crude drugs.

謝辞

本研究の遂行にあたり、主指導教官である千葉大学教授池上文雄博士には、数々のご指導とご鞭撻を賜り心から感謝いたします。また千葉大学助教塚越覚博士には研究上の指導だけでなく、論文の書き方や校正の面からのご指導頂き深く感謝いたします。

本研究第1章の研究を遂行するにあたり、長野県野菜花き試験場元佐久支場長の萩原保身氏、長野県野菜花き試験場佐久支場長の松本悦夫氏、同じく佐久支場の柳澤一馬氏、元木悟博士（現明治大学准教授）にはセンブリ種子や植物試料の提供だけでなく、有益なご助言およびご協力を頂きました。また山田麻美子氏には様々な討論，協力を頂きました。ここに感謝の意を表します。

本研究第2章の研究を遂行するにあたり、ミシマサイコ種子を提供していただいた株式会社ツムラおよび北里大学に感謝いたします。

様々なご助言とご討論くださいました千葉大学助教野田勝二博士，千葉大学名誉教授大釜敏正博士に感謝いたします。また多くのご助言を頂いた千葉大学助教角野めぐみ博士に感謝いたします。

実験にあたりご協力頂いた後輩の藤瀬茜氏，下村奈緒子氏をはじめ，環境健康フィールド科学センターの学生および教職員の方々に感謝いたします。

引用文献

- Albert A, Sareedenchai V, Heller W, Seidlitz HK, Zidorn C. Temperature is the key to altitudinal variation of phenolics in *Arnica montana* L. cv. ARBO. *Oecologia*. 2009, 160: 1-8.
- Barlow EWR, Munns R, Scott NS, Reisner AH. Water potential, growth, and polyribosome content of the stressed wheat apex. *J. Exp. Bot.* 1977, 28: 909-916.
- Bot JL, Bénard C, Robin C, Bourgaud F, Adamowicz I S. The ‘trade-off’ between synthesis of primary and secondary compounds in young tomato leaves is altered by nitrate nutrition: experimental evidence and model consistency. *Journal of Experimental Botany*. 2009, 60: 4301-4314.
- Bryant JP, Chapin FS, Klein DR. Carbon nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos*. 1983, 40: 357-368.
- Christie PJ, Alfenito MR, Walbot V. Impact of low-temperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways: Enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings. *Planta*. 1994, 194: p. 541-549.
- 張 洪基, 糠谷 明. 温室メロンのロックウール栽培における培養液濃度と養分吸収の関係. *園芸学雑誌*. 1997, 66: 307-312.
- 伊達修一. 培養液の調整・管理 2 培養液の調整・管理 2) 濃度 (EC) . 日本施設園芸協会／日本養液栽培研究会共編, 養液栽培のすべて. 誠文堂新光社, 東京. 2012, p. 78-83.
- FAO/IPGRI. Genbank standards. FAO/IPGRI, 1994, 17p.
- Ghasemzadeh A, Jaffar HZE, Effect of CO₂ enrichment on synthesis of some primary and secondary metabolites in ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Int. J. Mol. Sci.* 2011, 12: 1101-1114.
- Hale BK, Herms DA, Hansen RC, Clausen TP, Arnold D. Effect of drought stress and nutrient availability on dry matter allocation, phenolic glycosides, and rapid induced resistance of poplar to two lymantriid defoliators. *J. Chem. Ecol.* 2005, 31: 2601-2620.
- 畠山好雄. センブリ種子の光発芽性. *生薬学雑誌*. 1981, 35: 326-330.
- 林 輝明, 東野正行. リンドウ科植物を基源とする生薬の研究 (第 4 報) センブリ並びに数種の苦味生薬の鑑別. *薬学雑誌*. 1976, 96: 366-369
- Herms DA, Mattson WJ. The dilemma of plants: To grow or defend. *Quarterly Review of Biology*. 1992, 67: 283-335.
- 平沢 正. 植物の体内水分調節と水輸送. *日作紀*. 2001, 70: 477-488.
- 細田勝子, 野口 衛. ミシマサイコの栽培に関する研究 (第 2 報) 土壌強制通気の生育, サポニン含量への影響. *薬学雑誌*. 1990, 110: 828-833.
- Hosoda K, Noguchi M, Hisata Y, Noro Y. Studies on the cultivation of *Bupleurum falcatum* L. III. Effect of soil ventilation on the root morphology. *Shoyakugaku zasshi*. 1992, 47: 17-21.
- Hosoda K, Noguchi M. Studies on the cultivation of *Bupleurum falcatum* L. IV. Effects of disbudding and picking flower on the root growth and root morphology. *Shoyakugaku Zassi*. 1993, 47: 39-42.
- 細田勝子, 野口 衛, 久田陽一, 野呂征男. ミシマサイコの栽培に関する研究 (第 7 報) 開花並びに根の木化と土壌物性, 土壌通気性との関連性. *Natural Medicines*. 1995, 49: 14-17.

- 池田英男. 植物の根と周辺の無機要素の分布と流れからみた根域の養水分管理. 養液土耕と液肥・培地管理. 日本土壤肥料学会編. 博友社, 2005, p. 8-27.
- 池橋 宏. 植物の遺伝と育種. 養賢堂. 東京. 2005, p. 244.
- 池橋 宏. 登熟温度による稲種子の休眠の誘起と検定. 育種学雑誌. 1972, 22: 209-216.
- 池永敏彦. 6章 身近な薬用植物の中から「当薬」を作る(II部 健康づくりとくすり). 長崎大学公開講座叢書. 1995, 7: 199-210
- 井上和秀, 池永敏彦, 大久保昇子, 大橋 裕. センブリ属植物の生態と栽培 (第4報) 低温処理・ジベレリン処理の発芽におよぼす影響について. 生薬学雑誌. 1977 a, 31: 75-81.
- 井上和秀, 池永敏彦, 大橋 裕. センブリ属植物の生態と栽培 (第6報) : 雲仙と長崎におけるは種期別の比較栽培. 生薬学雑誌. 1977 b, 31: 106-113.
- 石館守三. ミシマサイコ. 新しい薬用植物栽培法. 廣川書店, 東京, 1970, p. 354-359.
- 兼子まや, 元木 悟, 柳沢一馬, 萩原保身, 塚越 寛, 池上文雄. 薬用作物センブリ栽培の現状と展望 [2] センブリの生産および流通の課題と今後の方向性. 農業および園芸. 2011, 85: 1055-1061.
- 鹿島建設プレスリリース. “遺伝資源の国内確保・供給に向けて 日本で初めて薬用植物「甘草」の水耕栽培システム開発に成功!”. 2010-10-28. 鹿島建設. (参照 2010-12-4)
- 川岡信吾. 農業技術体系 花卉編 第5巻. 農産漁村文化協会. 東京. 2001, 330-43-6～330-43-9.
- KimYS, Cho JH, Park S, Han J-Y, Back K, Choi Y-E. Gene regulation patterns in triterpene biosynthetic pathway driven by overexpression of squalene synthase and methyl jasmonate elicitation in *Bupleurum falcatum*. Planta. 2011, 233: 343-355.
- “気象統計情報”. 気象庁. <http://www.jma.go.jp/jma/index.html>.
- 小林正夫. 薬草「センブリ」の栽培研究 (1). 農業および園芸. 1974, 49: 561-565.
- 小林正夫, 吉沢政夫, 伊吹直登, 田中孝治. センブリの試作栽培について (第2報) 継代栽培の生存, 生育におよぼす影響. 生薬学雑誌. 1975, 29: 113-117.
- 小林正夫. センブリ試作栽培. (第8報) 種子の発芽におよぼす温度の影響について. 生薬学雑誌. 1987, 41: 75-79.
- 厚生省薬務局. ミシマサイコ. 厚生省健康政策局創薬. 新医療技術研究会編著・薬用植物栽培と品質評価 Part 1. 薬事日報社, 東京, 1999, p. 53-62.
- 厚生省薬務局. センブリ. 厚生省健康政策局創薬. 新医療技術研究会編著・薬用植物栽培と品質評価 Part 8. 薬事日報社. 東京. 1999, p. 15-28.
- 厚生労働省. センブリ. 第十六改正日本薬局方. 日本公定書協会, 東京, 2011, 1535-1536.
- 厚生労働省. サイコ. 第十六改正日本薬局方. 日本公定書協会, 東京, 2011, 1498-1499.
- 姜 東考. 生薬の基礎から供給まで: 生薬資源の現状. 日本東洋医学雑誌. 2008, 59: 397-425.
- 姜 東考. 生薬の国内生産の重要性. 生物工学. 2010, 88: 392-394.

- Lavola A, Julkunen-Tiitto R, Rosa TM, Lehto T, Aphalo PJ. Allocation of carbon to growth and secondary metabolites in birch seedlings under UV-B radiation and CO₂ exposure. *Physiologia Plantarum*. 2000, 109: 260-267.
- Leyva A, arillo JA, Salinas J, Martinez-Zapater JM. Low temperature induces the accumulation of phenylalanine ammonia-lyase and chalcone synthase mRNAs of *Arabidopsis thaliana* in a light-dependent manner. *Plant Physiol*. 1995, 108: 39-46.
- 梶田正治, 瀧口 武, 松原 幸子. 培養液濃度がトマトの収量と品質および養液成分の濃度変化に及ぼす影響. 園芸学雑誌. 1989, 58: 641-648.
- 南 基泰, 杉野 守. 無機栄養分がミシマサイコの生育および saikosaponin 類の含有率に及ぼす影響について (第 1 報) 窒素, リン酸, カリウムの施与量が 1 年生ミシマサイコの生育および saikosaponin 類の含有率に及ぼす影響について. *Natural Medicines*. 1995 a, 49: 230-239.
- 南 基泰, 杉野 守, 泰 和弘, 長谷川千晃, 芦田 馨, 尾垣光治. 環境ストレスに対するミシマサイコの発育応答とその制御 (I) 乾燥ストレスが 1 年生ロゼット株の発育および saikosaponin 含量に及ぼす影響. *Natural Medicines*. 1995 b, 49: 148-157.
- 南 基泰, 四方恒生, 長谷川千晃, 大江千里, 芦田 馨, 杉野 守. 養液栽培システムによる薬用植物の生産について (第 1 報) Ebb&Flood システムを用いて栽培されたミシマサイコの根部の形態及び saikosaponin 含量について. *薬学雑誌*. 1995 c, 115: 832-842.
- 南 基泰, 四方恒生, 長谷川千晃, 大江千里, 杉野 守. 養液栽培システムによる薬用植物の生産について (第 2 報) ミシマサイコ (*Bupleurum falcatum*) の砂耕栽培 (I) 特に, 生育推移および Saikosaponin 類の含有率の消長. *植物工場学会誌*. 1997, 9: 124-131.
- Murai Y, Takemura S, Takeda K, Kitajima J, Iwashin T. Altitudinal variation of UV-absorbing compounds in *Plantago asiatica*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2009, 37: 378-384.
- 三浦周行. 農業技術体系 野菜編 第 1 巻. 農産漁村文化協会. 東京. 1998, p. 201-207
- 宮沢洋一. センブリの栽培に関する研究. 長野野菜花き試報. 1981, 1: 47-56.
- 宮沢洋一, 萩原博司. センブリ研究. (第 1 報) 発芽について. *生薬学雑誌*. 1975, 29: 152-159.
- 中山 包. センブリ発芽の生態的研究 (豫報). *生態学研究*. 1948, 11: 117-118.
- 日本漢方生薬製剤協会. “漢方薬処方実態調査 (定量)” . 2011-11-14 a. <http://www.nikkankyo.org/topix/news/111114/jittaichousa2011.pdf>, (参照 2012-12-4)
- 日本漢方生薬製剤協会. “中国産原料生薬の価格調査について” . 2011-10-1b. <http://www.nikkankyo.org/topix/news/111001/kakaku-chousa.pdf>, (参照 2012-12-4)
- 日本経済新聞社. “栽培の現場で地域に活力をもたらしてくれた生薬栽培” . 日本経済新聞電子版. <http://ps.nikkei.co.jp/kanpou/vol2.html>, (参照 2012-6-5)
- 日本特殊農産物協会. 薬用作物 (生薬) 関係資料. 日本特殊農産物協会. 東京. 1983.
- 日本特殊農産物協会. 薬用作物 (生薬) 関係資料. 日本特殊農産物協会. 東京. 1987.
- 日本特殊農産物協会. 薬用作物 (生薬) 関係資料. 日本特殊農産物協会. 東京. 1994.
- 日本特殊農産物協会. 薬用作物 (生薬) 関係資料. 日本特殊農産物協会. 東京. 1995.
- 日本特殊農産物協会. 薬用作物 (生薬) 関係資料. 日本特殊農産物協会. 東京. 1996.

- 日本特殊農産物協会. 薬用作物（生薬）関係資料. 日本特殊農産物協会. 東京. 1997.
- 日本特殊農産物協会. 薬用作物（生薬）関係資料. 日本特殊農産物協会. 東京. 1998.
- 日本特殊農産物協会. 薬用作物（生薬）関係資料. 日本特殊農産物協会. 東京. 1999.
- 日本特産農産物協会. 薬用作物（生薬）関係資料. 日本特産農産物協会. 東京. 2000.
- 日本特産農産物協会. 薬用作物（生薬）関係資料. 日本特産農産物協会. 東京. 2001.
- 日本特産農産物協会. 薬用作物（生薬）関係資料. 日本特産農産物協会. 東京. 2002.
- 日本特産農産物協会. 薬用作物（生薬）関係資料. 日本特産農産物協会. 東京. 2003.
- 日本特産農産物協会. 薬用作物（生薬）関係資料. 日本特産農産物協会. 東京. 2004.
- 日本特産農産物協会. 薬用作物（生薬）関係資料. 日本特産農産物協会. 東京. 2007.
- 日本特産農産物協会. 薬用作物（生薬）関係資料. 日本特産農産物協会. 東京. 2008.
- 日本特産農産物協会. 薬用作物（生薬）関係資料. 日本特産農産物協会. 東京. 2009.
- 日本特産農産物協会. 薬用作物（生薬）関係資料. 日本特産農産物協会. 東京. 2010.
- 西部省三. 生薬の基原と品質評価. 薬学雑誌. 2000, 122: 363-379.
- Nonami H, Boyer JS. Primary events regulating stem growth at low water potentials. *Plant Physiol.* 1990, 93: 1601-1609.
- 糠谷 明. 養液栽培の主要方式の特性と栽培法 4 ロックウール栽培. 日本施設園芸協会編, 養液栽培の新マニュアル. 誠文堂新光社, 東京, 2002, p. 90-115.
- 奥田拓男編. 最新生薬学. 廣川書店, 東京, 2007, p. 3-29.
- 太田勝巳, 伊藤憲弘, 細木高志, 東村英幸. 水耕ミニトマトの果実品質および収量に及ぼす培養液濃度と塩類処理の影響. 園芸学雑誌. 1991, 60: 89-95.
- Ormeño E, Baldy V, Ballini C, Fernandez C. Production and diversity of volatile terpenes from plants on calcareous and siliceous soils: Effect of soil nutrients. *J Chem Ecol.* 2008, 34: 1219-1229.
- SANKEI DIGITAL INC. “【イチから分かる】漢方原料の生薬 輸入 8 割 中国依存のリスク”. *SankeiBiz*. <http://www.sankeibiz.jp/econome/print/110126/ecb1101260936001-c.htm>. (参照 2012-6-18)
- 佐野 泰. リンドウ属種子の発芽に関する研究. 信州大学農学部紀要. 1968, 5: 55-64
- 佐々木泰子. 農業技術体系 土壌施肥編 第 2 巻. 農産漁村文化協会. 東京, 1987, p. 57-66.
- Schuppler U, He P-H, John PCL, Munns R. Effect of water stress on cell division and cell-division-cycle 2-like cell cycle kinase activity in wheat leaves. *Plant Physiol.* 1998, 117: 667-678.
- Shichijo C, Hamada T, Hiraoka M, Johnson CB, Hashimoto T. Enhancement of red-light-induced anthocyanin synthesis in sorghum first internodes by moderate low temperature given in the pre-irradiation culture period. *Planta.* 1993, 191: 238-244.

- 霜川由志子, 宇野典子, 牛尾直美, 大橋 裕. ミシマサイコの栽培と育種 (第3報) 2年生植物の根収量, saikosaponin 含量におよぼす摘心の効果. 生薬学雑誌. 1980 a, 34: 221-224.
- 霜川由志子, 大橋 裕. ミシマサイコの栽培と育種 (第5報) 年生, 根の大きさと saikosaponin 含量の関係. 生薬学雑誌. 1980 b, 34: 235-238.
- 生薬委員会. 原料生薬使用量等調査報告書—平成20年度の使用量—. 日本漢方生薬製材協会, 東京. 2011, p. 1-22.
- Spitaler R, Schlorhauser PD, Ellberger EP, Merfort I, Bortenschlager S, Stuppner H, Zidorn C. Altitudinal variation of secondary metabolite profiles in flowering heads of *Arunica montana* cv. ARBO. Phytochemistry. 2006, 67: 409-417.
- 高野邦治. 農業技術体系 野菜編 第2巻. 農産漁村文化協会, 東京, 1994, p. 197-198.
- 田中宏幸. アジア研究教育拠点事業 [日中における薬用植物の育種と標準化及び創薬に関する研究教育交流拠点]. 薬学雑誌. 2009, 129: 393-400.
- 手嶋大輔, 正山征洋, 西岡五夫. センブリの栽培研究 (1) 苦味成分含量の時期的変化. 生薬学雑誌. 1980, 34: 251-254.
- 寺澤捷年. 東洋医学の普遍性を如何に担保するか—異なったパラダイムの和諧を求めて—. 日本薬理雑誌. 2006, 128: 389-394.
- 宇田川雄二. 養液栽培の主要方式の特性と栽培法 3 NFT (3) イチゴ. 日本施設園芸協会編, 養液栽培の新マニュアル. 誠文堂新光社, 東京. 2002, 72-89.
- 王 岱. 中国における生薬流通業の変容と農家流通事業体の展開—河北省安国市を事例に—. 経済地理学年報. 2008, 54: 188-208.
- Westgate ME, Boyer JS. Osmotic adjustment and the inhibition of leaf, root, stem and silk growth at low water potentials in maize. Planta. 1985, 164: 540-549.
- 山田麻美子, 塚越 覚, 柳沢一馬, 兼子まや, 元木 悟, 萩原保身, 池上文雄. 保存温度および播種前のジベレリン処理がセンブリ種子の発芽に及ぼす影響. 園芸学研究. 2011, 10: 321-324.
- Zhu Z, Liang Z, Han R. Saikosaponin accumulation and antioxidative protection in drought-stressed *Bupleurum chinense* DC. plants. Environmental and Experimental Botany. 2009 a, 66: 326-333.
- Zhu Z, Liang Z, Han R, Dong J. Growth and saikosaponin production of the medicinal herb *Bupleurum chinense* DC. under different levels of nitrogen and phosphorus. Ind. Crop Prod. 2009 b, 29: 96-101.
- “「生薬の重量自給率12%」をどう捉えるべきか”. QLife 漢方. 2011-1-28. <http://www.qlife-kampo.jp/news/story1260.html>, (参照 2012-6-25)

主要論文目録

本学位論文内容は下記の発表論文による.

兼子まや・塚越 覚・柳澤一馬・山田麻美子・元木 悟・萩原保身・池上文雄：センブリ種子の冷凍保存が発芽および実生の収量と swertiamarin 含有量に及ぼす影響，生薬学雑誌，65，1，39-42，2011 年 2 月

山田麻美子・塚越 覚・柳澤一馬・兼子まや・元木 悟・萩原保身・池上文雄：保存温度および播種前のジベレリン処理がセンブリ種子の発芽に及ぼす影響，園芸学研究，10，3，321-324，2011 年 8 月

F. Ikegami, Y. Wang, M. Kaneko, M. Sumino, S. Tsukagoshi: Human health sciences-From cultivation to utilization of medicinal plants, Open Journal of Preventive Medicine, 2, 2, 214-224, May/2012

M. Kaneko, S. Tsukagoshi, F. Ikegami, K. Yanagisawa, S. Motoki and Y. Hagihara: Effect of varieties, plant age and altitude of production site on swertiamarin content in *Swertia japonica*, Acta Horticulturae (in press), 2013

兼子まや・塚越 覚・藤瀬 茜・池上文雄：ロックウール耕における培養液濃度がミシマサイコ (*Bupleurum falcatum* L.) の生育，サイコサポニン濃度と無機成分濃度に及ぼす影響，植物環境工学（印刷中），2013

本学位論文の審査は千葉大学大学院園芸学研究科で指名された下記の審査委員により行われた。

主査 千葉大学教授（園芸学研究科） 農学博士 篠原 温

副査 千葉大学教授（園芸学研究科） 農学博士 安藤昭一

副査 千葉大学教授（園芸学研究科） 薬学博士 池上文雄

副査 千葉大学教授（園芸学研究科） 農学博士 小林達明