

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：17102
 研究種目：基盤研究(C) (一般)
 研究期間：2017～2019
 課題番号：17K08021
 研究課題名(和文) 薬用植物カラスビシャクの国産化を目指した至適栽培条件の探索と結実制御法の開発

研究課題名(英文) Studies on an elucidation of an optimal condition for the medicinal plant *Pinellia ternata* and a development of a sure method for seed setting of the plant aimed for domestication

研究代表者
 江口 壽彦 (EGUCHI, Toshihiko)

九州大学・生物環境利用推進センター・准教授

研究者番号：40213540

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、カラスビシャクの栽培植物化・国内生産を目指し、1) 効率的生産のための至適栽培条件の探索、2) 交雑育種による優良系統作出、を目的に次の成果を得た。

1) 品種登録申請中の超多収系統を用いた。培養液はpH4-6、EC 1.2-2.3mS/cmの範囲では生育に影響なし。一定の温湿度、光条件下で塊茎肥大と塊茎への有用成分蓄積の経時的様相を調べ、至適栽培条件探索のための比較基準を確立。同温湿度条件下で、赤緑青3種の単色光が本種に及ぼす影響を調査し、青色光下で塊茎および珠芽がより肥大した。2) 北海道から沖縄県にかけての多くの系統を調べ、日本自生系統には倍数性の変異と葉緑体DNAの変異がある

研究成果の学術的意義や社会的意義

1) 農業上未開発の植物である薬用植物(カラスビシャク)に適した栽培条件の解明を目的として、栽培試験の結果に高い再現性が得られる制御環境を活用して、簡便・高感度なELISA法による品質評価法を援用して、収量・品質について科学的な根拠に基づいたカラスビシャク塊茎の至適栽培条件の確立が、短期間で効率的に行える方法を示した。

2) カラスビシャク育種系の確立を行なうため、結実が稀な本種に人為的な結実の誘導、および様々な生産場面に対応できるよう優良系統を作出するための育種系の確立に必要な、国内自生のカラスビシャクの形態的・遺伝的変異の存在を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In this study, the following results were obtained with the aim of 1) searching for optimal cultivation conditions for efficient production and 2) producing excellent strains by crossbreeding of *Pinellia ternata*.

1) EC and pH of nutrient solution didn't affect the plant growth within EC 1.2-2.3mS/cm and pH 4-6. We established a comparison criteria for searching optimal cultivation conditions by investigating the time course of tuber enlargement and accumulation of useful ingredients in tubers under constant temperature, humidity and light conditions for an ultra-high-yielding line under cultivar registration. Under the same temperature and humidity conditions, we investigated the effect of three kinds of monochromatic light of red, green and blue on *P. ternata* and found that tubers and cormlets grew larger under blue light. 2) Many lines collected from Hokkaido to Okinawa were appeared to have polyploidy mutations and chloroplast DNA mutations in Japanese native strains.

研究分野：生物環境調節学

キーワード：環境制御 薬用植物 生産性 遺伝的変異 育種

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生薬「半夏(ハンゲ)」原料のカラスビシャク (*Pinellia ternata*) は日本に広く自生するが、全てを中国からの輸入に頼っており、栽培型の確立も優良系統の選抜もなされていない農業上未開発の植物である。一方、輸入生薬の価格高騰・輸入量減少・品質低下等を背景に、薬用植物の国内生産体制の構築が求められている。この状況を踏まえ、農林水産省は、平成28年度産地活性化総合対策事業として薬用作物等地域特産作物産地確立支援事業を開始しており、日本生薬漢方製剤協会生薬委員会(「原料生薬使用量等調査報告書」, 2011) は、カントリーリスク等の点からカンキョウ、カンゾウ、トウニン、タクシャ、ハンゲ、ソウジュツを重点的な生薬とし、その原料植物の栽培研究が必要であると報告している。そこで我々は、「国内生産量ゼロのカラスビシャク」を「効率的かつ高品質な生産品目」として展開するために必要不可欠な栽培法および優良系統作出法の確立を目指すこととした。

2. 研究の目的

生薬「半夏」は、日本で使用されている漢方薬の約23%に配合される重要生薬であり、カラスビシャクの塊茎を原料とする。本種は国内全域に自生しているにもかかわらず、半夏の供給は全て中国からの輸入に頼っており、しかもそのほとんどが野生植物の採取による。本研究では、カラスビシャクの栽培植物化・国内生産を目指し、1) 効率的生産のための至適栽培条件の探索、2) 交雑育種による優良系統作出のための結実制御法の開発を行う。本成果を総合して半夏原料カラスビシャクの効率的生産システムを構築し、国内生産化への道筋を付けるとともに、本研究をモデルとした他の主要生薬の持続的国内生産体系の構築に資する。

3. 研究の方法

【カラスビシャク至適栽培条件の探索】

栽培には、これまでの研究でカラスビシャクの良い生育が認められた通気性・保水性に優れた灰白色の多孔質火成岩(商品名「パミス」)を培地とする固形培地式水耕装置を用い、九州大学生物環境利用推進センター(以降、生環セ)の有する気温・湿度が高度に制御された装置内で栽培を行ない、結果に高い再現性が期待できる試験栽培を行なった。培養液タンクの水位を一定に維持して培地水分状態を安定させた。材料には主として品種登録申請中の超多収系統を用い、培養液のECおよびpH、光源(自然光あるいは人工光)がカラスビシャクの生育・収量・塊茎有用成分含量に及ぼす影響を調査した。品質の評価には、共同研究者の田中が開発したカラスビシャク由来水溶性生理活性多糖類を特異的に定量できるELISA法を用いた。また、光環境(光質・光量)が収量・品質に及ぼす光環境の影響を調査するための実験装置の準備を行なった。

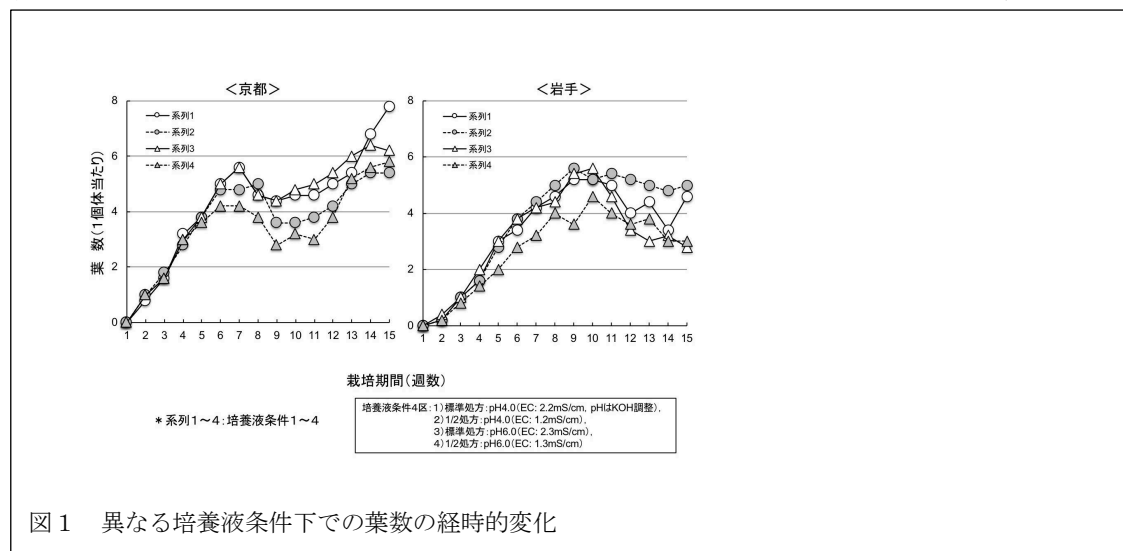
【育種系構築のためのカラスビシャク結実の人為制御法の確立、および国内自生カラスビシャクの形態・倍数性変異の解明】

形態および倍数性の変異: 本研究実施の場である生環セでは、北海道から沖縄県にかけての約40地区から多数の系統(180個体以上)を収集しており、日本各地から収集したこれら多数の系統を、生環セの環境制御施設において同条件で栽培し、花粉の稔性、大きさ、遺伝的変異(倍数性、葉緑体DNA)の地理的変異を調査した。また、種子の保存性についても調査した。

4. 研究成果

【カラスビシャク至適栽培条件の探索】

本研究で用いたカラスビシャク超多収系統は人工光下でも自然光下と遜色のない生育を示した。また、培養液はpH4-6、およびEC1.2-2.3mS/cmの範囲では本系統の生育に影響しなかった(図1-3)。人工光下でも自然光下と遜色ない生育を示したので、この超多



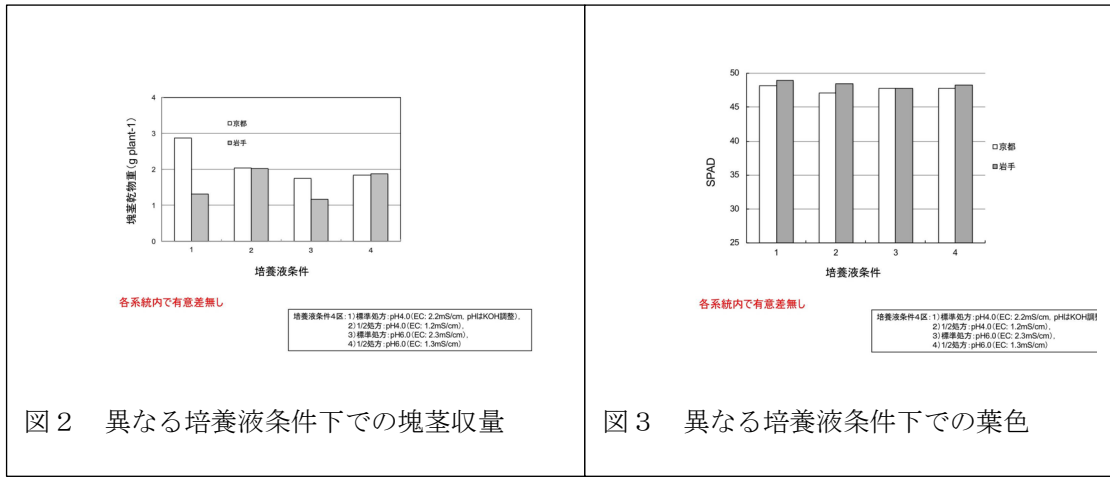


図2 異なる培養液条件下での塊茎収量

図3 異なる培養液条件下での葉色

収系統の至適栽培条件を探索するため、その比較対象となる特定の気温 (25℃), 湿度 (70% RH), 光条件 (植物域の PPF_D 約 250 μmol photon · m⁻² · s⁻¹, 12 時間日長) 下での植物の生育, 塊茎の肥大と塊茎への有用成分蓄積の経時的な様相を明らかにした (図4—6). 次に, 前述の比較対象と同じ気温, 湿度, 日長で, LED パネルを用いて赤 (660 nm), 緑 (520 nm), 青 (450 nm) の3種の単色光がカラスビシヤクの生育・品質に及ぼす影響を調査した. その結果, 光質はカラスビシヤクの生育に影響し, 青色光下で塊茎およびム芽がより肥大することが示唆されたが, 確認を要する.

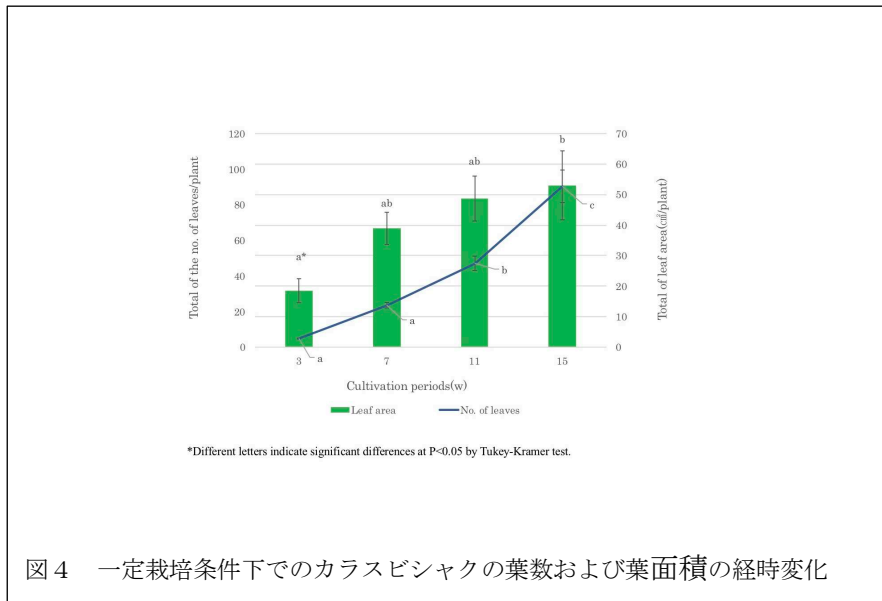


図4 一定栽培条件下でのカラスビシヤクの葉数および葉面積の経時変化

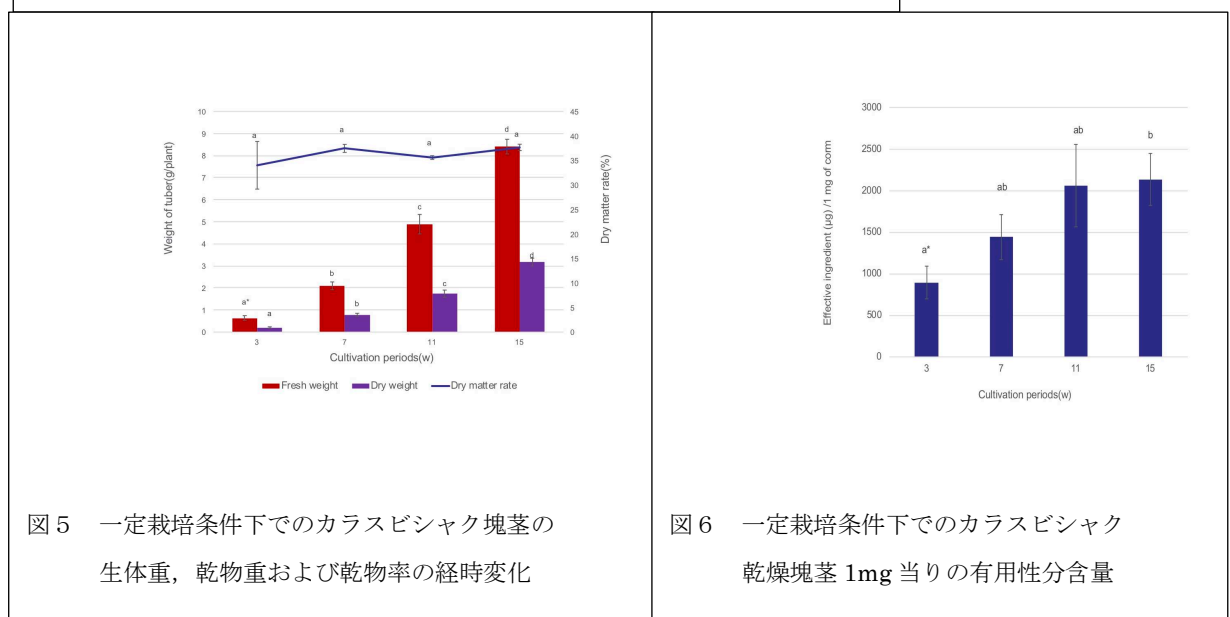


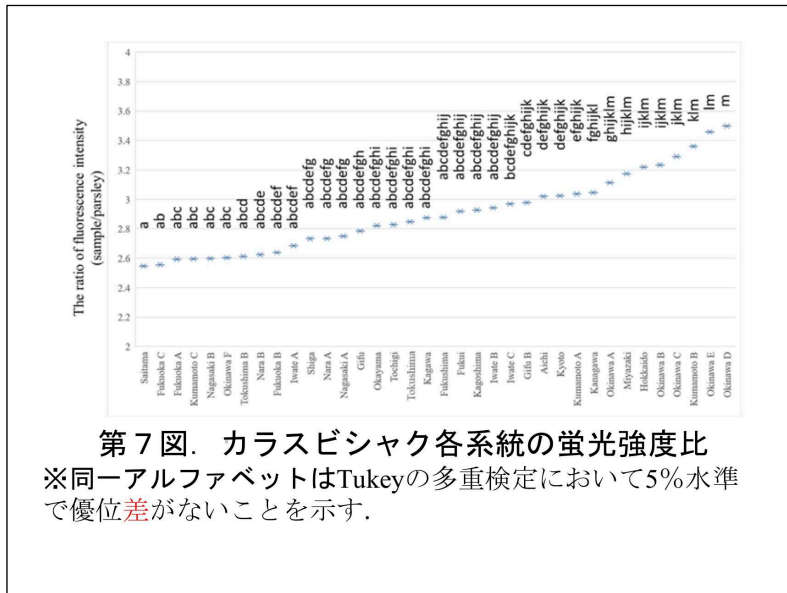
図5 一定栽培条件下でのカラスビシヤク塊茎の生体重, 乾物重および乾物率の経時変化

図6 一定栽培条件下でのカラスビシヤク乾燥塊茎 1mg 当りの有用性分量

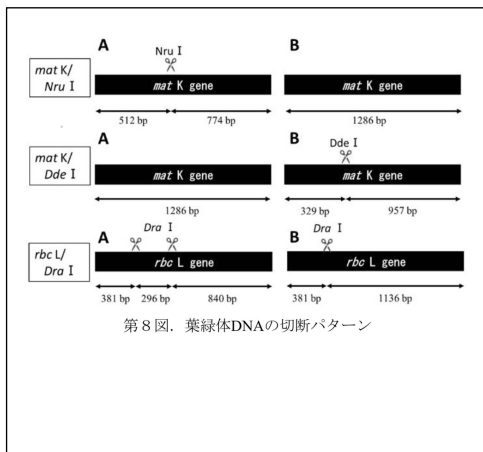
【育種系構築のためのカラスビシャク結実の人為制御法の確立，および国内自生カラスビシャクの形態・倍数性変異の解明】

本研究実施の場である生環セでは，北海道から沖縄県にかけての約 40 地区から多数の系統（180 個体以上）を収集しており，これらの系統を用いて，花粉稔性，花粉サイズ等の調査を試み，また，サイトフローメーターでの分析を行なった．その結果，日本に自生するカラスビシャクには，花粉稔性，花粉サイズには顕著な違いが認められなかったが，倍数性の変異があることがより強く示唆された（図 7）．また，同時に日本自生の系統を用いて葉緑体 DNA を調査したところ，変異を有することが明らかになった（図 8，表 1）．

種子の保存性について，市販の冷蔵庫（庫内気温約 2℃）で 0 日，4 週間，12 週間，あるいは 25 週間貯蔵した種子を播種した．貯蔵期間が 0 日のものが他に比べてやや高い発芽率を示したが，4 週間，12 週間および 25 週間貯蔵した種子はほぼ同じ発芽率を示した．今回用いた系統では，0～25 週間の貯蔵期間による発芽率への明確な影響は認められなかった．



第 7 図. カラスビシャク各系統の蛍光強度比
 ※同一アルファベットはTukeyの多重検定において5%水準で優位差がないことを示す.



第 8 図. 葉緑体DNAの切断パターン

第 1 表. 系統名およびハプロタイプ

Species	Accession	mat K ²		rbc L	Haplotype
		Nru I ³	Dde I	Dra I	
<i>P. ternata</i>	Hokkaido	A ^x	A	A	I
	Iwate A	A	A	B	II
	Saitama	A	A	B	II
	Gifu B	A	A	A	I
	Kyoto	A	A	A	I
	Nara B	A	A	A	I
	Kagawa	A	A	A	I
	Tokushima	A	A	A	I
	Nagasaki A	A	A	A	I
	Kumamoto C	A	A	A	I
<i>P. tripartita</i>		B	B	B	III
		B	B	B	III
<i>P. pedatisecta</i>		B	B	B	III
<i>P. cordata</i>		B	B	B	III

アルファベットは第 8 図参照
² Gene
³ Restriction enzyme
^x Band pattern

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Toshihiko EGUCHI, Hiroyuki TANAKA, Satoshi YOSHIDA and Ken MATSUOKA	4. 巻 57
2. 論文標題 Temperature Effects on the Yield and Quality of the Medicinal Plant <i>Pinellia ternata</i> Breit.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Environmental Control in Biology	6. 最初と最後の頁 83-85
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2525/ecb.57.83	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Toshihiko EGUCHI, Hiroyuki TANAKA, Daichi MORIUCHI, Satoshi YOSHIDA and Ken MATSUOKA	4. 巻 58
2. 論文標題 Temperature Effects on the Photosynthesis of the Medicinal Plant <i>Pinellia ternata</i> Breit.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Environmental Control in Biology	6. 最初と最後の頁 49-50
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2525/ecb.58.49	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 田中宏幸、楠瀬直喜、江口壽彦、吉田敏、松岡健	4. 巻 3
2. 論文標題 水溶性多糖高含有カラスビシャク（九大たまゆたか）の鎮嘔吐作用の評価	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 山陽小野田市立山口東京理科大学紀要	6. 最初と最後の頁 37-39
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 井上幸祐、水ノ江雄輝、尾崎行生、田中宏幸、松岡健、吉田敏、江口壽彦
2. 発表標題 薬用植物カラスビシャクの日本自生系統における葉緑体DNA変異
3. 学会等名 園芸学会令和元年度秋季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上幸祐, 尾崎行生, 水ノ江雄輝, 松岡健, 吉田敏, 江口壽彦
2. 発表標題 薬用植物カラスビシャクの日本自生系統における倍数性変異
3. 学会等名 日本生物環境工学会2019年千葉大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 江口壽彦, 田中宏幸, 佐川茉由稀, 吉田 敏, 松岡 健
2. 発表標題 人工光下での薬用植物カラスビシャクの生育と有用成分蓄積の様相
3. 学会等名 日本生物環境工学会2019年千葉大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中宏幸, 楠瀬直喜, 江口壽彦, 吉田敏, 松岡健
2. 発表標題 免疫化学的ハング品質評価法の開発
3. 学会等名 日本生薬学会第66回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中宏幸, 楠瀬直喜, 江口壽彦, 吉田敏, 松岡健
2. 発表標題 「九大たまゆたか」(カラスビシャク品種)の鎮嘔吐作用
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 江口壽彦
2. 発表標題 植物地下貯蔵器官の形成制御，環境制御および成長計測
3. 学会等名 日本生物環境工学会2018年東京大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井上幸祐，尾崎行生，水ノ江雄輝，田中宏幸，吉田敏，松岡健，江口壽彦
2. 発表標題 日本産薬用植物カラスビシャクの倍数性の変異について
3. 学会等名 平成30年日本生物環境工学会・日本農業気象学会九州支部合同都城大会（第12回）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐川菜由稀，下川響，田中宏幸，吉田敏，松岡健，江口壽彦
2. 発表標題 薬用植物カラスビシャクの塊茎肥大と有用成分の蓄積
3. 学会等名 平成30年日本生物環境工学会・日本農業気象学会九州支部合同都城大会（第12回）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 江口 壽彦，田中 宏幸，吉田 敏，松岡 健
2. 発表標題 薬用植物カラスビシャクの人工光下での栽培
3. 学会等名 平成29年日本生物環境工学会・日本農業気象学会九州支部合同北九州大会（第11回）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 江口 壽彦, 田中 宏幸, 吉田 敏, 松岡 健
2. 発表標題 カラスビシャク種子の貯蔵期間と発芽率
3. 学会等名 日本生物環境工学会2017年松山大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 江口 壽彦, 田中 宏幸, 吉田 敏, 松岡 健
2. 発表標題 薬用植物カラスビシャクの生育に及ぼす培養液の影響
3. 学会等名 日本生物環境工学会2017年松山大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	田中 宏幸 (TANAKA Hiroyuki) (30253470)	九州大学・薬学研究院・准教授 (17102)	
研究分担者	尾崎 行生 (OZAKI Yukio) (60253514)	九州大学・農学研究院・教授 (17102)	