

漢方生薬「附子」原植物Aconitum carmichaeliの栽培に関する研究

著者	小沼 実香
著者別表示	KONUMA Mika
雑誌名	博士論文本文Full
学位授与番号	13301甲第5646号
学位名	博士(薬学)
学位授与年月日	2023-03-22
URL	http://hdl.handle.net/2297/00069995



学 位 論 文

漢方生薬「附子」原植物 *Aconitum carmichaeli* の栽培に関する研究

金沢大学大学院 医薬保健学総合研究科 薬学専攻

生薬学研究室

学籍番号 1928052002

学生氏名 小沼 実香

主任指導教員名 佐々木 陽平

論文提出 令和5年1月

目次

序論	1
本論	
第一章 ハナトリカブト <i>A. carmichaeli</i> の早期収穫および早期収穫のための栽培処理に関する研究	
第一節 夏季の枯死リスクを軽減する早期収穫法の開発	
第一項 緒言	5
第二項 実験材料・方法	8
第三項 実験結果	13
第四項 考察	22
第二節 栽培処理法としての子根の間引きと摘心処理の検討	
第一項 緒言	27
第二項 実験材料・方法	28
第三項 実験結果	30
第四項 考察	43
小括	46
第二章 ハナトリカブトの冬季育苗法と種芋の長期保管に関する研究	
第一節 冬季育苗法の開発	
第一項 緒言	48
第二項 実験材料・方法	49
第三項 実験結果	51
第四項 考察	66
第二節 種芋の長期保管が生育に及ぼす影響	
第一項 緒言	70
第二項 実験材料・方法	71
第三項 実験結果	74
第四項 考察	82
小括	84
総括	85
実験の部	86
引用文献	94
謝辞	99

序論

「附子（ブシ）」は日本や中国で使用される漢方生薬である^{1),2),3)}。附子が配合される八味地黄丸や麻黄附子細辛湯などの漢方薬は高齢者の諸症状緩和に処方され^{4),5)}、超高齢社会である日本において、健康寿命を延ばすために附子配合漢方処方ofのさらなる利用が期待されている⁶⁾。実際、平成22年から令和2年までの10年間で国内における附子の年間使用量は約1.2倍に増加している⁷⁾。国内使用量増加に伴い、2008年から2018年の10年間で附子の国内生産量も約3倍に増加した^{8),9)}。しかし、生薬全体の国内自給率は低く約8割を海外から輸入しており⁹⁾、附子の国内自給率も依然として低い状態が続いている。国内自給率を高めることは医薬品の安定供給を守るために大きな課題である。最近是中国国内の生薬の需要が日本と同様に高まる一方で、中国国内の附子生産量が病害等の原因によって減少している^{10), 11)}。甘草や麻黄のように中国国内の資源を守るために輸出が制限されている生薬が存在することから、近い将来、附子の輸出が制限される可能性も考えられる。このように、附子は日本によって大事な生薬であるにも関わらず、今後、海外からの供給が不安定になる恐れがある。日本国内で附子の安定した供給体制を作ることが重要であり、様々な視点から生産体制の強化を図ることが必要である。そこで筆者は附子原植物の栽培技術を向上させることで生産体制の強化を図ることを目指し、附子原植物の栽培研究を実施した。

薬用部位について

日本では、附子の基源はキンポウゲ科の多年性草本であるハナトリカブト *Aconitum carmichaeli* Debeaux もしくはオクトリカブト *Aconitum japonicum* Thunb. subsp. *subcuneatum* (Nakai) Kadota の塊根であり、日本では塊根を減毒加工したものが利用される。第十八改正日本薬局方では「加工ブシ」の基原に「塊根」と記載されており母根と子根の区別はされていない。しかし実際は子根に由来する生薬のみが利用されている。

母根と子根は含有成分が異なることが報告されていることから¹²⁾、子根のみを利用することは適切だと考えられる。本研究では母根と子根を区別し、子根のみを収穫すべき薬用部位として扱った。

含有成分と生薬の品質について

A. japonicu は全草にアコニチン系アルカロイドを含有し、特に塊根部分で含量が高いことが報告されている¹³⁾。*A. carmichaeli* はブシジエステルアルカロイドとして3種 (Aconitine, Mesaconitine, Hypaconitine) を含有し、*A. japonicum* は4種 (Aconitine, Mesaconitine, Hypaconitine, Jesaconitine) を含有することが知られている¹⁴⁾。また、ブシジエステルアルカロイドの Aconitine, Mesaconitine, Hypaconitine, Jesaconitine は減毒加工の過程で加水分解され、毒性が100分の1以下のブシモノエステルアルカロイドの Benzoylaconine, Benzoylmesaconine, Benzoylhypaconine, 14-Anisoylaconine になり^{15),16)}、さらに加水分解が進むと非エステルアルカロイドの Aconine, Mesaconine, Hypaconine (14-Anisoylaconine も Aconine) になる。本研究では植物材料として *A. carmichaeli* を使用しており、研究対象が減毒加工前の子根であることから、含有成分として Aconitine, Mesaconitine, Hypaconitine の定量を行った。(図1)

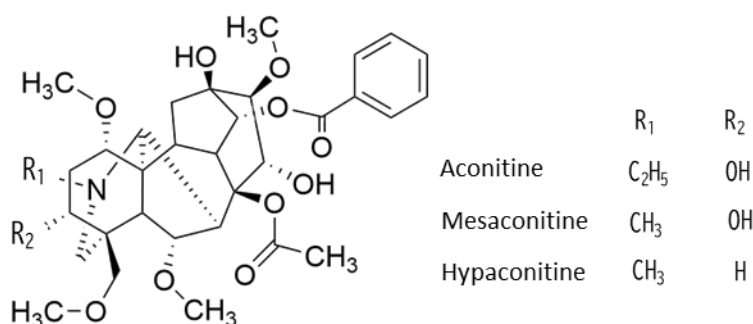


図1. ブシジエステルアルカロイドの構造式

生薬の品質について

アコニチン系アルカロイドのブシジエステラルカロイド (Aconitine, Mesaconitine, Hypaconitine, Jesaconitine) は毒性が高いことから日本薬局方の「加工ブシ」の純度試験で下限値ではなく上限値が規定されており、「加工ブシ」の乾燥物 1 g あたり、それぞれ 60 μg , 60 μg , 280 μg , 140 μg 以下で、さらにこの 4 成分の総量が 450 μg 以下であることが定められている¹⁾。含有成分の下限値が設定されている一般的な生薬とは異なり、附子は高含量であることが必ずしも高品質ではない生薬だといえる。加えて、本草考証を行った大井らの研究では、古来、良品とされたのは大型の附子であり、その理由は毒性が低かったからだと考察しており、少なくとも古来の良品質な附子はブシジエステラルカロイド含量が低く安定していたことを報告している¹⁷⁾。現代においても生産農家では一定重量以上の子根のみを生薬として出荷していることから、本研究でも大型子根の栽培を目指して検討を行った。

栽培地について

現在、生産を目的とした附子原植物である *Aconitum* 属植物の国内栽培は 9 割以上が北海道で行われている^{7), 18)}。*A. carmichaeli* の栽培適地は寒冷な場所だといわれており^{19), 20)}、この理由として *Aconitum* 属植物の栽培は病害の発生が課題であり、病害対策は寒冷地よりも暖地で困難だとされることが挙げられる^{21), 22)}。北海道は南の一部地域を除いて亜寒帯気候であり^{23), 24)}、日本全国の気候の中でも *Aconitum* 属植物を栽培しやすい地域である一方、国内の他地域で *Aconitum* 属植物を栽培する技術はいまだ確立していない。栽培地拡大の動きとして平成 28 年から山形県で *Aconitum* 属植物の栽培が試みられているが、現状、安定した栽培には至っていない⁷⁾。北海道の栽培地でも病害による立ち枯れの発生を防ぐことが課題とされていることから²⁵⁾。新たな栽培方法を開発し *Aconitum* 属植物の栽培適地を今よりも拡大することは病害や異常気象による収量減少のリスクの回避に繋がることが期待される。

これまでに、北海道と茨城県で栽培を比較した研究があり、気候が温暖な場所の方が薬用部位である子根が早く肥大されることが報告された²²⁾。この論文から、従来よりも気候が温暖な地域であれば早期収穫が可能であり、早期収穫を行うことで今までの栽培環境と異なるより温暖な環境でも生薬生産を目的とした *Aconitum* 属植物の栽培が可能であると筆者は考えた。そこで本研究では、附子の生産実績がない石川県に所在する金沢大学医薬保健学域薬学類附属薬用植物園で *A. carmichaeli* の試験栽培を実施した。

本論

第一章 ハナトリカブト *A. carmichaeli* の早期収穫および早期収穫のための栽培処理に関する研究

第一章 第一節 夏季の枯死リスクを軽減する早期収穫法の開発

第一項 緒言

第一節では、従来の生産地よりも温暖な環境下で *A. carmichaeli* を栽培する方法として、早期収穫法の確立を目指す。日本の従来の主な生産地である北海道では9月～10月に収穫を実施しているが、北海道より夏季の平均気温が高い地域でも夏季より前に早期収穫することで、安定した栽培が可能になると考えた。すでに中国の一部では、夏季に *A. carmichaeli* の収穫が実施されている。中国四川省江油地区は中国国内における附子収穫量の3割以上を占める代表的な附子産地であり、江油では夏季に手作業で *A. carmichaeli* の根が掘り出される³⁾。江油地区で栽培すると2月に *A. carmichaeli* が萌芽することから²⁶⁾、5月に萌芽する北海道と比較して²²⁾、生育が早く夏季の収穫が可能だと思われる。収穫時期を前倒しにすることは収穫量や成分含量の低下が懸念されるものの、日本においても江油地区のように比較的温暖な気候で栽培することで、これまでより短期間で *A. carmichaeli* が収穫可能になると考えられる。中国四川省で *A. carmichaeli* の栽培研究を行った報告はいくつか存在するが^{26), 27), 28)}、島国である日本は中国の大陸内部とは栽培環境が異なる(図2)。降水量や気温の季節変動に加えて土壌も異なるため、比較的温暖な場所での栽培研究を日本で実施することが重要である。第一節では、早期収穫方法を確立するために、下記の3点について検討を行った。

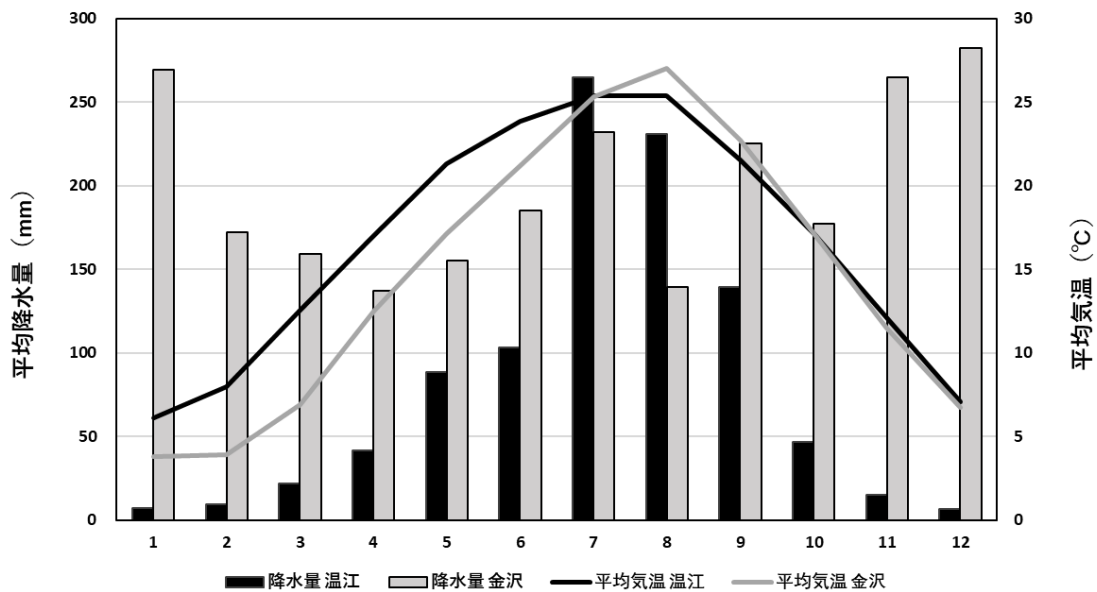


図2. 金沢と四川省（温江）の平均気温と平均降水量²⁹⁾

中国の主要な *A. carmichaeli* 栽培地である江油から最も近い場所のデータ。江油から温江までの直線距離は約 180 km。温江は 2006 年 11 月から 2020 年 10 月までの平均値。金沢は 1981 年から 2010 年までの 30 年間の平均値

1) 生存状況の調査

日本の *A. carmichaeli* 栽培地は主に北海道であり，東北地方以南で *A. carmichaeli* を栽培した場合の報告は少ない。*A. carmichaeli* を北海道（緯度 44.3）と茨城県（緯度 36.0）で栽培して比較した研究では 5～8 月の 1 株あたりの収穫量は北海道よりも茨城県で多いと報告しているが，試験栽培場での枯死率については明らかにされていない²²⁾。また，金沢大学（緯度 36.5）で栽培試験を行ったところ，従来の収穫時期である秋季までにはほぼ全ての株が枯死してしまった。収穫時期が遅いほど 1 株あたりの収穫量は増加する一方，経時的に枯死率は増加し，収穫可能な株数は減少すると考えられる。したがって，試験栽培場全体での収穫量が最大となる適切な収穫時期を設定するためには，夏季

の生育状況を経時的に明らかにすることが必要である。そこで本研究では収穫時期の設定を目的とし、試験栽培場における定植から収穫までの生存状況を調査した。

2) 収穫時期と収穫量およびブシジエステルアルカロイド含量の関係

子根の収穫量を評価するためには試験栽培場全体での収穫量と株あたりの収穫量を把握することが必要である。特に、薬用部位である *A. carmichaeli* の子根は春から夏に形成され、夏季に肥大成長する。故に、収穫時期を高温な夏の終わりから、より前に早めた場合、子根の生長が不十分で収穫量が減少し、栽培試験場全体での収穫量が低下することが懸念された。そこで本研究では、試験栽培場での収穫量が最大となる収穫時期を明らかにすることを目的として、7月上旬、7月下旬、8月下旬の3時点で収穫量と子根数を比較した。収穫量の算出にあたり、生薬として利用可能な子根は1個20g以上のものとされているが³⁰⁾、本研究では将来的に土壌改良や肥料の検討を行うことで株全体の子根重量が増加すると考え、今回は1個10g以上でも生薬として利用し得る子根として扱った。また、子根数の算出にあたり、子根の生育状況を調査するために子根1個の重量で5段階に区別し、それぞれ子根数を算出した。また、1個2g以上の子根を1株から収穫できる子根の数を全子根数、1個10g以上の子根の数を生薬として利用し得る子根数、20g以上の子根の数をすでにすでに生薬として利用可能な子根数としてそれぞれ算出した。

最後に、附子の含有成分であるアコニチン系アルカロイドの内、3種のブシジエステルアルカロイド (Aconite, Mesaconitine, Hypaconitine) を LC/MS で定量し、収穫時期の違いが生薬の品質に与える影響を調査した。

3) 早期収穫に適した種芋サイズの検討

従来の *A. carmichaeli* 栽培では10~20gの種芋が使用されてきた¹⁹⁾。しかし、石川県

で栽培試験をしたところ、比較的小さい種芋でも定植後に確実に萌芽し、萌芽後も枯れにくい傾向が確認された。そこで、石川県を含む、従来よりも夏季の平均気温が高く、栽培途中の枯死が心配される栽培地では、定植する種芋のサイズを変えることで生育状況が改善する可能性がある。そこで本研究では、種芋のサイズを変えて栽培試験を実施し、種芋サイズが株の生育状況に与える影響を調査した。また、種芋のサイズは子根の収穫量に影響を与えることが知られており、小さい種芋を定植することで収穫量は減少することが報告されている³¹⁾。そこで、生育状況を計測した各実験区の *A. carmichaeli* を収穫し、子根の重量を比較した。

第二項 実験材料・方法

植物材料はハナトリカブト *A. carmichaeli* であり、金沢大学医薬保健学域薬学類附属薬用植物園（以下、金沢大学・薬用植物園）で系統維持している株である。他施設で保有されている中国栽培株由来の *A. carmichaeli* と同じ系統であることと、葉が3全裂し、側裂片がさらに2裂することで5深裂しているという形態的な特徴の2点によって佐々木陽平教授が同定した。試験栽培場は金沢大学医薬保健学域薬学類薬用植物園内にあり^{32), 33)}、土壌タイプはばん土質褐色森林土である。

1) 生存状況の調査

2019年と2020年に栽培中の生育状況を調査した。2018年11月、試験栽培場に基肥として10a (1,000 m²) あたり N-P-K (窒素-リン酸-カリウム) を各 150 kg-150 kg-150 kg を施用した後、畝幅 160 cm で畝を立て、白黒マルチを設置した。2018年11月に株間 20 cm、条間 40 cm の2条植えて白黒マルチに穴をあけ、*A. carmichaeli* の種芋を 240 株定植した。追肥は 10a あたり N-P-K を各 1 kg-1 kg-1 kg 施用した。基肥と追肥は国産化成肥料 14-14-14 (共同企業株式会社) を使用した。2019年6月14日、7月23日、7

月 31 日，8 月 26 日に生育良好とみられる株（枯れておらず，病害や倒伏の症状がない株）のみを健全株として計測し，健全株の割合の推移を調査した．同様の検討を翌年も行い，2019 年 12 月 10 日に 10～19 g の種芋を 21 株定植し，2020 年 4 月 12 日，5 月 21 日，6 月 29 日，7 月 16 日に健全株の計測を実施した．

なお，栽培試験を実施した 2019 年と 2020 年の 4 月～8 月における気象状況について，参考として栽培試験場がある金沢市の気温と降水量を図 3 に示す²⁹⁾．

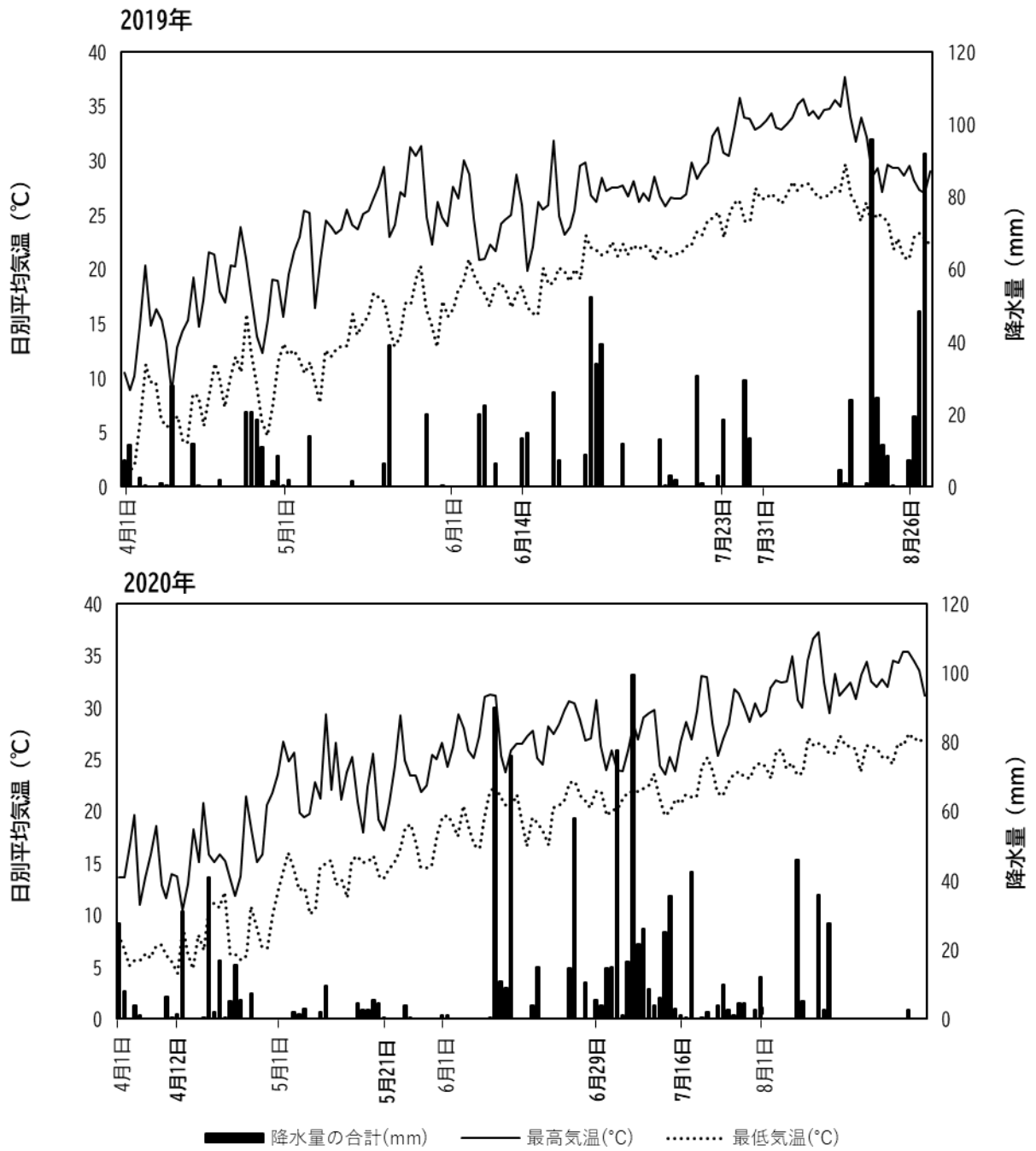


図3. 栽培試験期間における金沢市の最高気温と最低気温，合計降水量（日別）²⁹⁾

2019年では生存状況の計測を6月14日，7月23日，7月31日，8月26日に実施し，2020年では同様の検討を4月12日，5月21日，6月29日，7月16日に実施した。

2) 収穫時期と収穫量の関係

試験栽培場の準備と定植，栽培条件

2018年11月に試験栽培場へ基肥として10aあたりN-P-Kを各150kg-150kg-150kg施用した後，畝幅160cmで畝を立て，白黒マルチを設置した．株間20cm，条間40cmの2条植えで白黒マルチに穴をあけた後，2018年11月30日に*A. carmichaeli*の種芋を540株定植した．追肥は10aあたりN-P-Kを各1kg-1kg-1kg施用した．2019年7月2日，7月30日，8月26日にそれぞれ15株ずつ収穫した．生育良好とみられる株（枯れておらず，病害や倒伏の症状がない株）を健全株とし，収穫は健全株のみを対象として各日ごとに15株ずつ収穫した．

収穫後の処理と計量方法

収穫した株の泥を落とした後，子根を母根からすべて外し，ひげ根を除去しながら丁寧に水道水で洗浄した．全ての子根を1個ずつ計量し，以下の方法で①～③を算出した．

①1株あたりの収穫量：1個10gの子根のみを対象とし，1株から収穫した子根の重量を合計した．②1株あたりの子根数：1個2g以上の子根を1株から収穫できる子根の数を全子根数，1個10g以上の子根の数を生薬として利用し得る子根数，20g以上の子根の数をすでにすでに生薬として利用可能な子根数として，1株から収穫した子根の数をそれぞれ算出した．③重量別子根数：1株から収穫した子根を子根重量で5段階（2～4g，5～9g，10～14g，15～19g，20g以上）に区別し，各段階の子根数を算出した．以上のデータについて，3つの収穫時期で比較した．

ブシジエステルアルカロイドの定量方法

サンプル調製³⁴⁾

生の状態で重量が14～28gの子根を収穫時期ごとに選別した．これらを乾燥室で十

分に乾燥させた後、1個ずつ粉砕してデシケータでさらに乾燥させ、分析用試料とした。分析用試料 250 mg を精密に秤量し、精製水 1.5 mL を添加した。アンモニア試液 0.5 mL を加えて軽く混和させた後、ジエチルエーテル 10 mL を添加して適度に振り混ぜた。超音波抽出を 30 分行った後に 4000 rpm で 5 分間遠心分離し、上清を回収した。アンモニア試液から上清回収までの操作を合計 3 回行った後、全ての上清を集めて溶媒を減圧除去した。残留物に MeOH 20 mL を添加し、MeOH でさらに 50 倍に希釈した。希釈溶液 1350 μ L に LC/MS 補正用として 100 μ M の Caffeine (和光純薬工業株式会社) 溶液 150 μ L を添加してよく混和させ、13000 rpm、5 分間遠心分離した後、上清を回収して試料溶液とした。この試料溶液を UPLC-MS で分析し、ブシジエステルアルカロイドである Aconitine, Mesaconitine, Hypaconitine を定量した。

LC/MS の分析条件³⁵⁾

外部標準法を用いて定量分析を実施した。標準物質としてブシジエステルアルカロイド混合標準物質 (富士フィルム和光純薬株式会社) を段階希釈し、Aconitine, Mesaconitine, Hypaconitine の検量線を作成した。(Aconitine : $y = 718137x - 516.01$, $r^2 = 0.9997$, Mesaconitine : $y = 440389x - 509.53$, $r^2 = 0.9994$, Hypaconitine : $y = 1061766x + 756.04$, $r^2 = 0.9995$)。MS の条件 : エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法 (ポジティブ) のフルスキャンモード (スキャン範囲 : $m/z = 100-1000$) で測定し、それぞれのターゲットピークを抽出した (抽出質量 \pm 0.05)。Aconitine m/z 646.393 $[M+H]^+$, Mesaconitine m/z 632.376 $[M+H]^+$, Hypaconitine m/z 616.380 $[M+H]^+$ 。カラム条件 : Unison UK-C18HT (75 \times 2.0 mm) 3 μ m, カラム温度 : 40 $^{\circ}$ C, 注入量 : 2 μ L, 流速 : 0.5 mL/min, 移動相 A : H₂O / HCOOH = 1000 / 1, B : CH₃CN / HCOOH = 1000 / 1, グラジエント条件 : 2% B (0-2 分), 2-5% B (2-4 分), 5-15% B (4-7 分), 15-35% B (7-19 分), 2% B (19.1-24 分)

3) 早期収穫に適した種芋サイズの検討

10～19 g の種芋を対照群，5～9 g の種芋を種芋「S」として，定植後の生育状況を対照群と種芋「S」で比較した。

2019年12月10日～12月11日に対照群の種芋21株と種芋「S」の種芋24株を試験栽培場に定植した。2020年4月12日，5月21日，6月29日，7月16日に生育良好とみられる株（枯れておらず，病害や倒伏の症状がない株）を健全株として計測した。

健全株を2020年7月20日～27日に収穫し，泥を落とした後に子根を母根からすべて外し，ひげ根を除去しながら丁寧に洗浄した。全ての子根を1個ずつ計量し，10g以上の子根のみを対象として1株あたりの収穫量を算出した。最後に，子根を各重量で2～4g，5～9g，10～14g，15～19g，20g以上の5段階に区別し，各段階で子根数を算出した。

第三項 実験結果

1) 生存状況の調査

2018年に *A. carmichaeli* を定植し，2019年8月に収穫するまでの健全株の割合を示す（図4）。240株を試験栽培場に定植（2018年11月）したところ，健全株の割合は6月14日で70%となり，7月23日で42.1%，7月31日で31.3%，8月26日で19.6%に低下した。翌年の2019年12月に *A. carmichaeli* 21株を定植して同様の検討を行ったところ，健全株の割合は4月12日で85.7%と高い値であったが，その後は5月21日で71.4%，6月29日で66.7%，7月16日で42.9%に低下した。

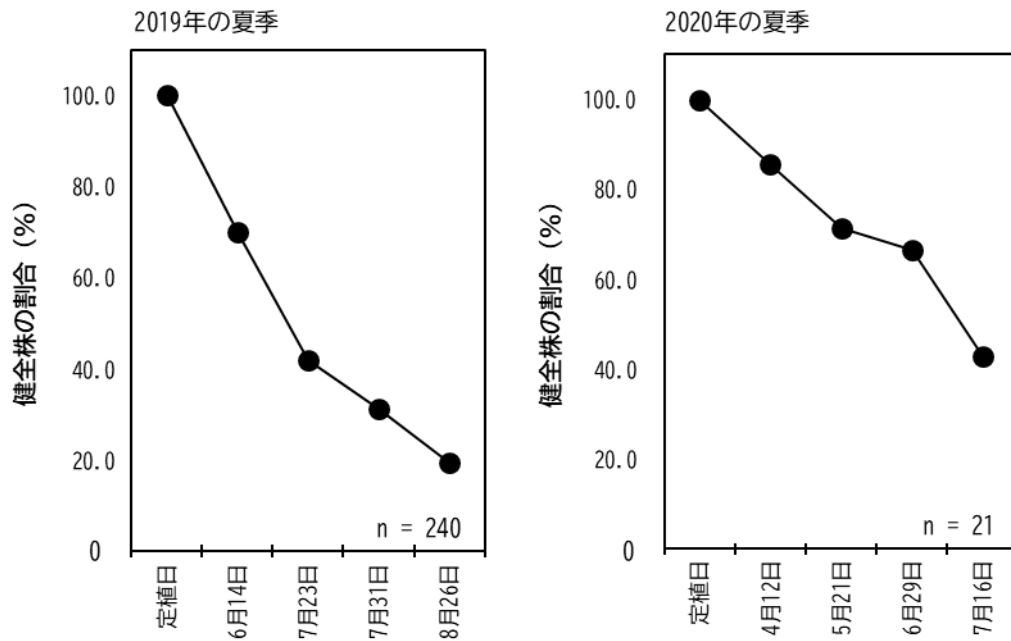


図 4. *A. carmichaeli* 栽培における生育状況の推移.

2018年11月30日と2019年12月10日に *A. carmichaeli* を定植し、2019年と2020年に健全株（枯れておらず、病害や倒伏の症状がない株）の数を計測した。計測日は2019年6月14日、7月23日、7月31日、8月26日と、2020年4月12日、5月21日、6月29日、7月16日。

$$\text{健全株の割合} = \text{健全株数} / \text{定植株数} \times 100$$

2) 収穫時期と収穫量の関係

子根の収穫量と数

2018年に *A. carmichaeli* を定植し、2019年7月2日、7月30日、8月26日の3回に分けて収穫した。収穫した子根について、1株あたりの収穫量と子根数を示す（図5）。1株あたりの収穫量は7月2日が23.8gであるのに対して、7月30日は25.6gと微増であった。8月26日の収穫量は66.4gと大幅に増加し、7月2日や7月30日の収穫量と

は有意な差が認められた, (図 5A). 1 株あたりの子根数は 2 g 以上の子根のみを対象としたとき, 7 月 2 日が 6.3 個であるのに対して 7 月 30 日収穫で 11.7 個と有意に増加し, 8 月 26 日で 14.3 個とさらに増加した (図 5B). 10 g 以上の子根のみを対象とした子根数は 7 月 2 日で 1.5 個, 7 月 30 日で 1.7 個であるのに対し, 8 月 26 日で 3.3 個と大幅に増加した. 20 g 以上の子根のみを対象とした子根数も 10 g 以上の子根を対象にしたときと同様の傾向を示し, 7 月 2 日で 0.2 個, 7 月 30 日で 0.2 個, 8 月 26 日で 1.3 個となった.

また, 子根の生育状況を調査するために, 1 株から収穫した子根を子根重量で 5 段階 (2~4 g, 5~9 g, 10~14 g, 15~19 g, 20 g 以上) に区別し, 各段階の子根数を算出した (図 6). その結果, 2~4 g の子根の数は 7 月 2 日で 1 株あたり 3.7 個であるのに対し, 7 月 30 日で 7.5 個と有意に増加し, 8 月 26 日では 6.0 個であった. 5~9 g の子根の数は 7 月 2 日で 1.1 個, 7 月 30 日で 2.5 個, 8 月 26 日で 5.0 個と経時的に増加し, 特に 8 月 26 日の子根数は 7 月 2 日や 7 月 30 日に対して有意な差が認められた. 10~14 g の子根の数も 5~9 g と同様の傾向を示し, 7 月 2 日で 0.5 個, 7 月 30 日で 1.1 個, 8 月 26 日で 1.5 個であった. 15~19 g の子根の数は 7 月 2 日が 1 株あたり 0.7 個と最も多く, 7 月 30 日は 0.4 個, 8 月 26 日は 0.5 個であった. 20 g 以上の子根の数は 7 月 2 日と 7 月 30 日がどちらも 1 株あたり 0.2 個であり, 8 月 26 日では 1.3 個と有意に増加した.

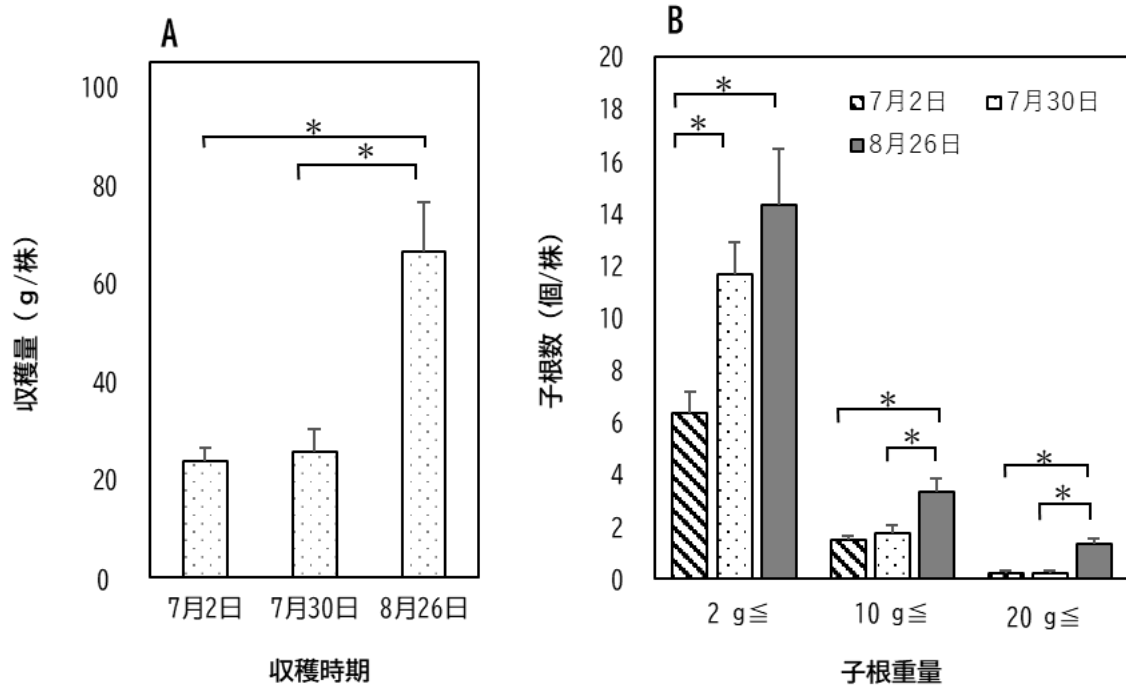


図 5. 異なる収穫時期が収穫量と子根数に与える影響.

A : 1 株あたりの収穫量, B : 1 株あたりの子根数.

2018 年 11 月 30 日定植し, 2019 年 7 月 2 日, 7 月 30 日, 8 月 26 日に収穫した.

A は 10 g 以上の子根のみを対象として, 1 株から収穫した子根の重量を合計した.

B は一定重量以上の子根のみを対象として, 1 株から収穫した子根の数を算出し

た. Mean \pm S.E., n = 15, * : $p < 0.05$ (Tukey の多重比較検定).

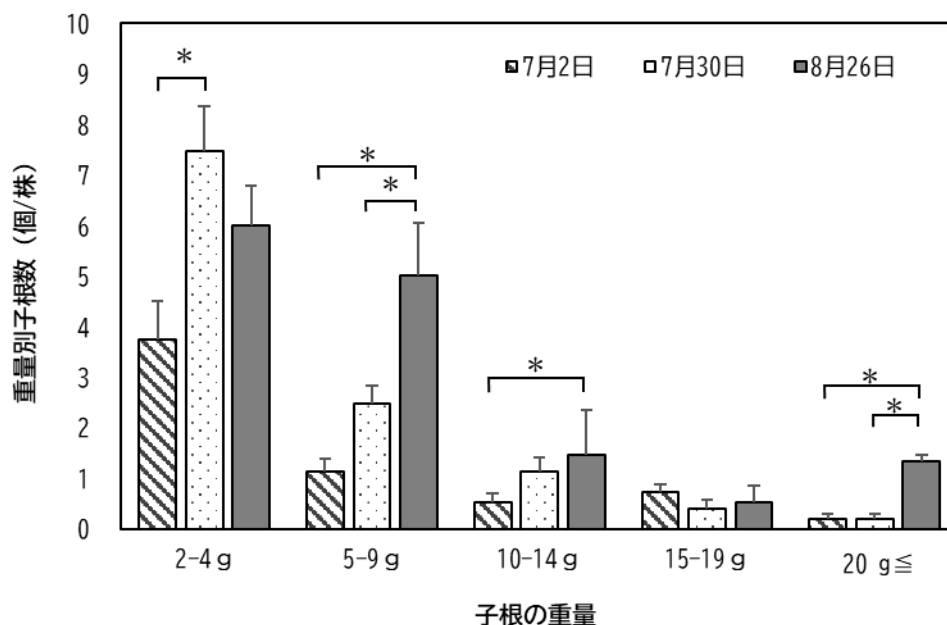


図 6. 異なる収穫時期が子根の重量別子根数に与える影響.

2018年11月30日に定植し, 2019年7月2日, 7月30日, 8月26日に収穫した.

Mean ± S.E., n = 15, * : $p < 0.05$ (Tukey の多重比較検定).

ブシジエステルアルカロイド含量

2018年に *A. carmichaeli* を定植し, 2019年7月2日, 7月30日, 8月26日の3回にわたって収穫した子根について, LC/MS でブシジエステルアルカロイドを定量した結果を示す (図7). 収穫した子根の Aconitine 含量は7月2日が 0.193 mg/g, 7月30日が 0.192 mg/g であるのに対し, 8月26日が 0.333 mg/g と有意に増加した. Mesaconitine 含量は経時的に増加し, 7月2日が 0.283 mg/g, 7月30日が 0.349 mg/g, 8月26日が 0.408 mg/g であった. Hypaconitine 含量は7月2日が 0.333 mg/g, 7月30日が 0.302 mg/g であるのに対し, 8月26日では 0.489 mg/g に増加した.

次に, ブシジエステルアルカロイド (Aconitine, Mesaconitine, Hypaconitine) の合計

値と3種の成分比率を示す(図8)。ブシジエステルアルカロイドの合計値は7月2日が0.808 mg/g, 7月30日が0.843 mg/gであるのに対し, 8月26日では1.240 mg/gと有意に増加した(図8A)。一方で, ブシジエステルアルカロイドの成分比率は夏季の3時点で変化が確認されず, Aconitineが24~28%, Mesaconitineが35~41%, Hypaconitineが36~41%であった(図8B)。

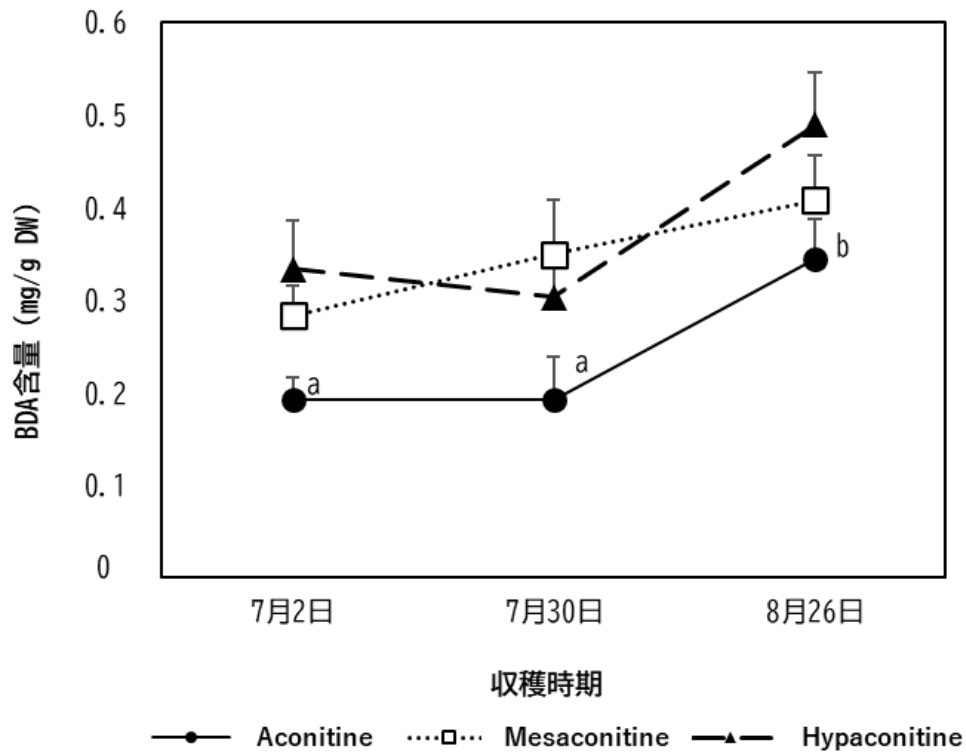


図7. 早期収穫した子根のブシジエステルアルカロイド含量.

BDA: ブシジエステルアルカロイド

2018年11月30日に定植し, 2019年7月2日, 7月30日, 8月26日に収穫した。

Mean ± S.E., n = 12, 異なるアルファベット間に5%水準で有意差あり (Tukeyの多重比較検定)。分析には生重量が14~28gの子根を使用した。

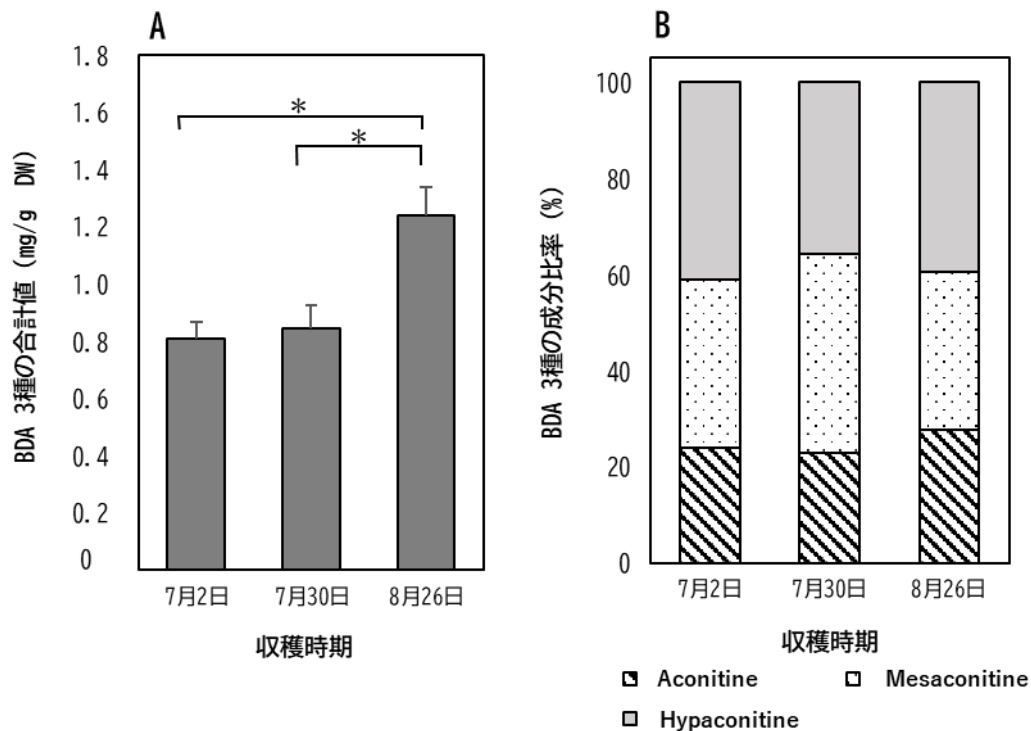


図 8. 早期収穫した子根のブシジエステルアルカロイド 3 種の合計値と成分比率.

A : ブシジエステルアルカロイド 3 種の合計値,

B : ブシジエステルアルカロイド 3 種の成分比率.

BDA : ブシジエステルアルカロイド

2018 年 11 月 30 日に定植し, 2019 年 7 月 2 日, 7 月 30 日, 8 月 26 日に収穫した.

Mean ± S.E., n = 12, * : $p < 0.05$ (Tukey の多重比較検定). 分析には生重量が 14 ~ 28 g の子根を使用した.

BDA 3 種の合計値 = Aconitine 含量 + Mesaconitine 含量 + Hypaconitine 含量

3) 早期収穫に適した種芋サイズの検討

10~19 g の種芋を対照群, 5~9 g の種芋を種芋「S」として, *A. carmichaeli* の種芋を 2019 年 12 月に試験栽培場へ定植し, 定植してから収穫までの生育状況を比較した (図

9). その結果, 健全株の割合は対照群と種芋「S」で 2020 年 4 月 12 日が 85.7%と 95.8%, 5 月 21 日で 71.4%と 79.2%, 6 月 29 日で 66.7%と 70.8%であり, どちらも減少しているが, 対照群と種芋「S」で大きな違いは確認されなかった. しかし, 7 月 16 日の健全株の割合は対照群と種芋「S」が 42.9%と 58.0%であり, 対照群が 6 月 29 日と比べて 12.5%低下したのに対し, 種芋「S」は 23.8%の低下が確認された.

また, 対照群と種芋「S」から収穫した子根について, 収穫量と子根数それぞれ算出した (図 10). その結果, 10 g 以上の子根のみを対象として 1 株あたりの収穫量は対照群が 39.0 g, 種芋「S」が 26.9 g であり, 有意差が認められなかったが 5~9 g の種芋を用いることで収穫量が減少することが示唆された (図 10A). 最後に, 子根を各重量で 2~4 g, 5~9 g, 10~14 g, 15~19 g, 20 g 以上の 5 段階に区別し, 各段階で子根数を算出した (図 10B). その結果, 全ての群で有意差は認められなかったが, 対照群と種芋「S」について, 1 株あたりの子根数は 2~4 g が 6.0 個と 6.0 個, 5~9 g が 4.1 個と 3.4 個, 10 g~14 g が 0.9 個と 1.3 個, 15~19 g が 0.6 個と 0.4 個, 20 g 以上が 0.7 個と 0.3 個であった.

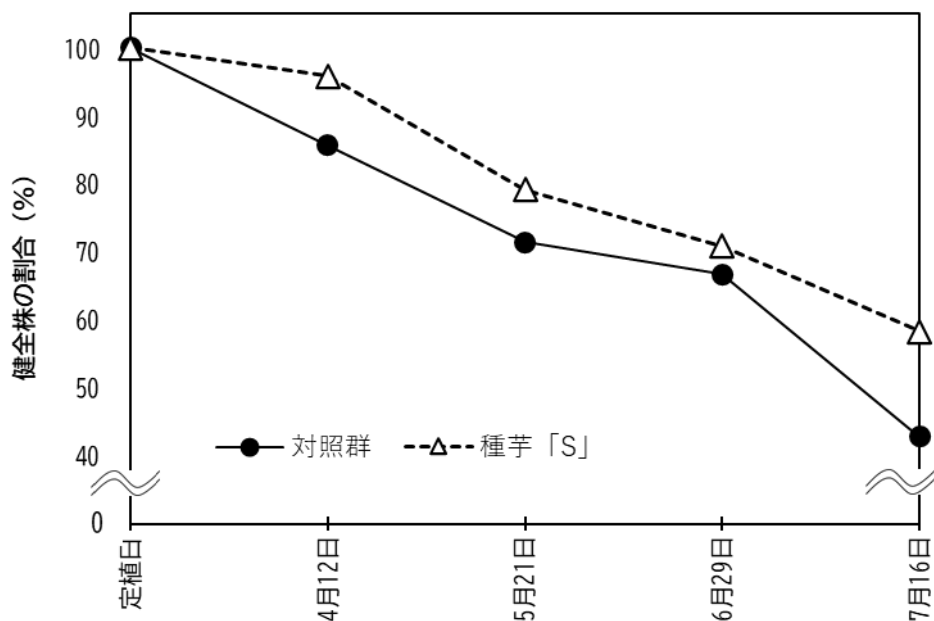


図9. 種芋重量による夏季の健全株数の推移.

2019年12月10日～12月11日に *A. carmichaeli* を定植し、2020年に健全株（枯れておらず、病害や倒伏の症状がない株）の数を計測した。対照群は10～19gの種芋を使用し、種芋「S」は5～9gの種芋を使用した。n=21～24。計測日は2019年4月12日、5月21日、6月29日、7月16日。

$$\text{健全株の割合} = \text{健全株数} / \text{定植株数} \times 100$$

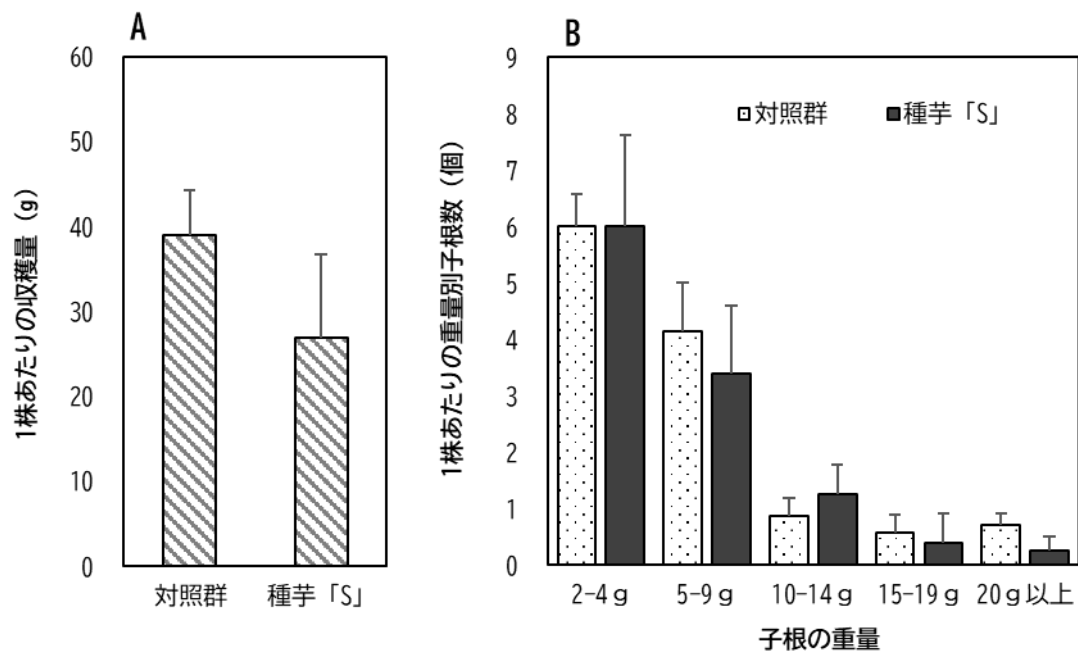


図 10. 種芋重量が 1 株あたりの収穫量と重量別子根数に与える影響.

A : 1 株あたりの収穫量, B : 1 株あたりの重量別子根数.

2019 年 12 月 10 日～12 月 11 日に *A. carmichaeli* を定植し, 2020 年 7 月 20～27 日収穫した. 対照群は 10～19 g の種芋を使用し, 種芋「S」は 5～9g の種芋を使用した. 1 株あたりの収穫量は 10 g 以上の子根を対象とした子根重量の合計値, Mean±S.E., n = 7～8, 全て対照群と比較して有意差なし (Student の *t* 検定)

第四項 考察

1) 生存状況の調査

2018 年と 2019 年に *A. carmichaeli* を定植して収穫までの生育状況を経時的に計測した結果, 健全株の割合は 8 月までに大きく低下し, 特に 6 月中旬から 7 月下旬にかけて顕著に低下した. 栽培試験中の降水量を確認すると 6 月中旬頃は降水量が多く梅雨であ

り（図 2），*A. carmichaeli* は排水不良の土地で栽培を行うと病害が発生しやすいと報告されていることから¹⁹⁾，多雨による排水不良で病害が発生し，梅雨明けの気温が上昇する時期に枯死や倒伏等の症状が多発すると考えられる．また，子根よりも先に母根が腐敗すると考えられることから，健全株の割合が急激に減少する梅雨明け直後の時期に収穫を行うことで，枯死等の影響を抑えて子根を収穫することが出来ると思われる．

国内の主な附子生産地である北海道では通年栽培をしており，収穫した種芋の一部を同じ時期に翌年分の種芋として定植することが可能である，しかし，今回筆者が試みたように，梅雨明け直後に収穫を実施する場合，高温多湿な夏季を避けるため秋季まで種芋を保管する必要がある．中国ではすでに，気候が比較的温暖な四川省江油など一部の地域で *A. carmichaeli* が夏季に収穫されている．これらの地域では標高が異なる二か所で *A. carmichaeli* を栽培し，標高が 1000 m 以上と高く比較的冷涼な高地で栽培し収穫した *A. carmichaeli* の子根を標高が低い地域に輸送し，種芋として利用している³⁾．今回の結果から，日本でも収穫時期を定植時期とずらすことを提案する．しかし，梅雨明け直後に収穫を実施する場合は，種芋の安定供給方法を確立すること必要であり，これについては第二章で述べる．

2) 収穫時期と収穫量の関係

子根の収穫

1 株あたりの収穫量は 7 月 2 日と 7 月 30 日で大きな差が認めない一方，健全株の割合は 7 月下旬で低下することから，7 月に収穫を行う場合は収穫株数が多くなる 7 月上旬の収穫が良いと思われる．また，収穫部位である子根について夏季の生育状況を調査する目的で子根数を子根 1 個の重量で 5 段階に区別し，収穫時期で比較した．その結果，7 月上旬から下旬にかけて 2~4 g の小さい子根が約 2 倍増加したことから，この時期に子根が多く形成されることが示唆された．さらに，1 個 2 g 以上の子根のみを対象

にして算出した1株あたりの全子根数は収穫時期の経過にしたがって増加した。したがって、萌芽後に始まった子根の形成が少なくとも8月下旬まで続いていることが示唆された。特に、本研究で使用した *A. carmichaeli* は従来よりも1株あたりの全子根数が多いことから^{36),37)}、子根の物理的な除去(間引き)などを検討することで、成長させる子根を厳選し、さらに大きい子根を収穫することが期待できる。これらの栽培処理については第二章で述べる。

加えて、10g以上の子根のみを対象とした、生薬として利用し得る子根の数は7月上旬から7月下旬で増加が少なく、8月に大きく増加することが明らかとなった。この傾向は20g以上の子根のみを対象とした、生薬として利用できる子根数でも確認された。したがって、夏季における健全株の割合の推移を考慮すると収穫時期は7月が良く、7月上旬と下旬で子根数に大きな差がないことから、やはり7月上旬の収穫が適していると考えられる。

ブシジエステルアルカロイド含量

Aconitine と Mesaconitine はどちらも夏季に含量が増加する化合物であり、Aconitine は Mesaconitine よりも含量の増加時期が早いことが報告されていたが²²⁾、今回の定量結果では Aconitine よりも Mesaconitine で含量が早く増加した。これは使用した品種の違いの他、気候条件や土壌などの栽培環境も影響した可能性がある。また、中国と日本の附子を比較した研究では、中国産の附子で Hypaconitine の含量が高く、日本産の附子は Mesaconitine の含量が高い傾向が高いことが報告されている³⁸⁾。成分含量は夏季に経時的に変化することが報告され²²⁾、日本と異なり中国産の附子の一部は夏季に収穫をしていることから、中国と日本の成分含量の違いは収穫時期の違いが大きいと考えられる。今回の定量結果では、ブシジエステルアルカロイドの中で Hypaconitine の含量が最も高かった。これは中国産の附子と同じ傾向であることから、Hypaconitine の含量が高い

ことは夏季収穫の子根の特徴であることが考えられる。

さらに、ブシジエステルアルカロイドである Aconitine, Mesaconitine, Hypaconitine の各含量とその合計値は7月収穫よりも8月収穫で増加することが明らかとなった。しかし、健全株の割合を維持できるのは7月であるという結果が得られている。7月に収穫を実施する場合は7月2日と7月30日で成分含量に大きな差が認められなかったことから、収穫量と同様、成分含量を考慮した場合に収穫時期は7月上旬が適していると思われる。加えて、一般的に生薬原料は成分含量が高いほど良品とされる場合が多いが、附子は薬用成分と毒性成分が同一であり、子根に減毒加工を施してから生薬として使用されることから、均一な減毒加工を行うためには成分含量のばらつきが小さいことが重要とされる^{36), 39)}。今回の定量結果では、7月収穫の子根は8月収穫の子根と比較して、ブシジエステルアルカロイド含量のばらつきが小さかった。*A. carmichaeli* を夏季に収穫する栽培方法は枯死リスクの軽減だけでなく、収穫する子根の成分含量を均一にするために有用だと考えられる。

3) 早期収穫に適した種芋サイズの検討

生薬生産を目的とした *A. carmichaeli* の栽培では株分けで増やす方法が一般的であり、株分けして定植する種芋は10~20 g 程度の子根が良いとされる¹⁸⁾。しかし、種芋の重量を変えて生育状況を比較した結果、収穫時期である7月の健全株の割合は対照群と比べて種芋「S」で高かった。特に、対照群で健全株の割合の低下は6月中旬(80%)から7月下旬(50%)にかけて顕著に減少し、種芋「S」では健全株の割合は低下が抑えられたことから、夏季の枯死リスクを軽減して *A. carmichaeli* を栽培するためには5~10 g 程度の従来よりも小さい種芋が良いと考えられる。従来よりも小さい種芋を使用した場合に健全株の割合の減少が抑えられた要因として、草丈が低いために強風の影響を受けにくかったこと、また、株分け時に傷がつく面積が小さいために株が弱りにくかったこと

が想定される。これまでの報告で、定植した種芋が小さいほど草丈や茎径、節数が小さくなる³¹⁾とされている。今回の栽培試験でも、6月30日に計測した株の草丈は対照群と種芋「S」がそれぞれ96.2 cm, 84.0 cm, 7月20日に計測した株の草丈は対照群と種芋「S」がそれぞれ128 cm, 96.9 cmであり、岡田らの研究と同様の傾向が確認された。対照群と種芋「S」について、健全株の割合に最も大きな差が生じた一方で草丈の平均値も30 cm以上の差が開いていることから、種芋重量の違いによる草丈の差が株全体の生育状況に影響した可能性がある。これまでの栽培指針では標準的な重量の種芋が不足した場合は大きい種芋を使用しても増収が見込めないことから小さい種芋を使用して良いとされており¹⁸⁾、本研究でもこれを支持する結果が得られた。

第一章 第二節 栽培処理法としての子根の間引きと摘心処理の検討

第一項 緒言

第一節では、夏季の枯死リスクを軽減させる方法として、早期収穫方法を提案した。早期収穫は高温多湿な環境で発生する枯死のリスクや、台風や強風による倒伏のリスクを軽減するために効果的な方法だと考えられる。しかし、*A. carmichaeli* の早期収穫を行うと栽培期間が短くなることから、早期収穫を実用化させるためには薬用部位である子根を早く肥大させる必要がある。そこで筆者は収穫時まで子根をさらに肥大させる方法として、子根の間引きと摘心処理に着目した。子根の間引きと摘心処理はどちらも定植から収穫までの間に実施する処理である。子根の間引き処理は地下部を半分掘り起こして塊根の一部を手で除去する方法であり、摘心処理は地面から一定の高さで茎を切断する方法である。Yu M らの報告によると、子根の間引きと摘心処理は1株あたりの子根の収量を増加させる目的で、中国の *A. carmichaeli* 産地の一部で行われている³⁾。子根の間引きと摘心処理を日本の早期収穫でも導入することで、現在よりもさらに子根を肥大させることが出来ると思われる。現在、日本の *A. carmichaeli* 産地では子根の間引きや茎の切断は行われていない²⁵⁾。処理を実施すると人件費が高くなるためだと思われる。試験的に日本で子根の間引きと摘心処理を検討した研究があり^{36), 40)}、この論文では子根数と子根サイズの両方を増加させるためには摘心処理が最も効果的だと結論づけていた。しかし、この報告では早期収穫を想定しておらず、収穫時期は夏が終わり涼しくなった10月と11月に実施していた。さらに、半日陰の場所で栽培試験したため、夏季の枯死についても言及していなかった。

第二節では、子根の早期肥大に有用な方法を見つけることを目的として、子根の間引きや摘心処理が *A. carmichaeli* の生育に与える影響を調査した。子根の間引きや摘心処理は塊根や茎を傷つける処理であり、植物へのダメージが大きく、枯死率が高くなる可

能性がある。本研究では、これらの処理を *A. carmichaeli* に適用し、筆者が早期収穫の時期として設定した7月の枯死率および倒伏率を算出することで生育状況を調査した。また、収穫した子根の個数と重量を計測し、子根の間引きと摘心処理が早期収穫時の子根を肥大させるか検討した。さらに、塊根の内、母根重量と茎径および草丈の相関を調査することで、地下部と地上部の関係を検討した。塊根の品質はブシジエステルアルカロイドの組成および含量で評価した。

第二項 実験材料・方法

栽培と収穫

2019年と2020年の4月に5~73 g（種芋「大」：20 g \leq ，種芋「小」：5~9 g）の種芋を栽培試験場へ定植した。基肥として10 aあたりN-P-Kを各150 kg-150 kg-150 kg施用し、追肥として10 aあたりN-P-Kを各1 kg-1 kg-1 kg施用した。

子根の間引き処理と摘心処理

子根の間引き処理として、定植した *A. carmichaeli* の株を根元から半分ほど掘り起こし、株の中で最も大きい子根2~3個を残してそれ以外の小さい子根を取り除いた。掘り起こすときはひげ根をなるべく傷つけないように実施した。また、摘心処理として、地上から一定の高さで *A. carmichaeli* の茎を切断した（図11）。

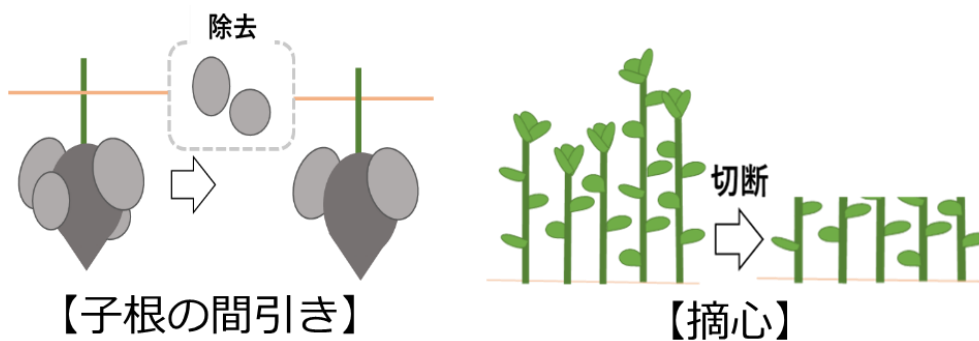


図 11. 子根の間引きと摘心処理のイメージ

栽培試験は 2020 年と 2021 年に実施し、2020 年では 4 つの実験区を設けた：対照群 (C)、子根の間引き群 (TT)、摘心群 (CS)、子根の間引きと摘心の併用群 (TS)。TT、SC、TS はそれぞれ二つのグループを設け、処理を 1 回行うグループ (TT1、SC1、TS1) と処理を 2 回行うグループ (TT2、SC2、TS2) を設けた。

TT1 は 6 月下旬に子根の間引き処理を行い、TT2 は 5 月下旬と 6 月下旬に子根の間引き処理を実施した。SC1 は 5 月中旬に摘心処理を行い、SC2 は 5 月中旬と 6 月下旬に摘心処理を実施した。5 月中旬の摘心処理では地面から 20 cm の位置で茎を切断し、6 月下旬の摘心処理では地面から 40 cm の位置で茎を切断した。2 回目の摘心処理のとき、草丈が 40 cm 以下の植物は茎の頭頂部を少しだけ摘み取った。

2021 年は 3 つの実験区を設けた：対照群 (C)、子根の間引き群 (TT)、摘心群 (CS)。TT は 6 月中旬に子根の間引き処理を行い、2020 年と同様に、株の中で最も大きい子根 2~3 個を残してそれ以外の小さい子根を取り除いた。SC は 6 月中旬に摘心処理を行い、草丈が 1 m になったとき、茎の頭頂部を切断した。

草丈と茎径

草丈として、地面から頂芽までの高さを測定した。茎径として、地面から 5cm の位置にある茎の直径を計測した。

収穫

2020年と2021年の7月に栽培試験場の倒伏数と枯死数、草丈、茎径を計測した後、実験区の全ての株を収穫した。

収穫後の処理と計量方法

第一章 第一節 第二項、収穫後の処理と計量方法と同様

ブシジエステルアルカロイドの定量方法

第一章 第一節 第二項のブシジエステルアルカロイドの定量方法と同様

第三項 実験結果

処理による枯死率と倒伏率の変動

対照群 (C)、子根の間引き群 (TT)、摘心群 (CS)、併用群 (TS) について、2020年と2021年における7月の枯死率と倒伏率を比較した (図12)。2020年の枯死率はCが38.1%であるのに対して、塊根の間引き群 TT1 で38.1%、TT2 で28.6%、SC1 で28.6%、SC2 で28.6%、TS1 で9.5%、TS2 で19.0%であった。TTとSCは処理の回数が増えても枯死率が増加しなかった。TSの枯死率はTS1よりTS2で高かったが、TS2はCよりも枯死率が低かった。2021年の枯死率はCが24.1%であるのに対して、TTで24.1%、SCで14.8%であった。倒伏率は2020年と2021年において、すべての群が10%以下であった。

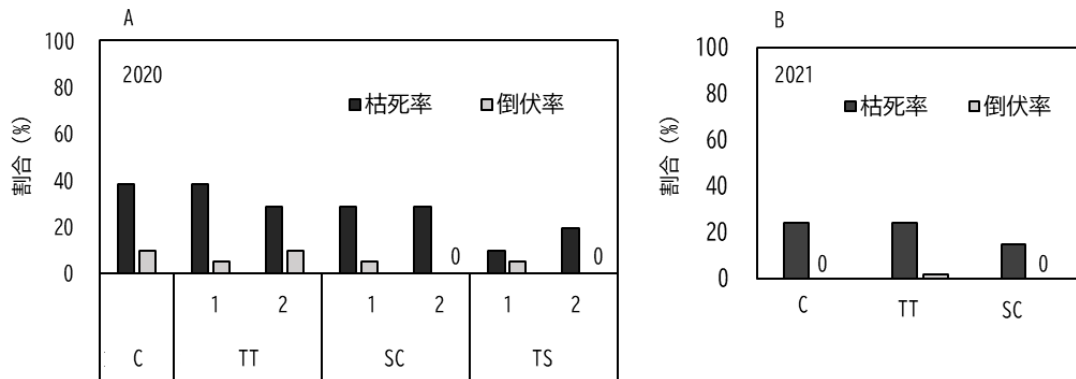


図 12. 子根の間引きと摘心処理が枯死率と倒伏率に与える影響

C: 対照群, TT: 子根の間引き群, SC: 摘心群, TS: 子根の間引きと摘心処理の併用群

A: 2020 年の栽培結果, B: 2021 年の栽培結果

A: 2020 年 7 月 20 日に測定, 種芋は 8~19 g, n = 21

B: 2021 年 7 月 25 日に測定, 種芋は 8~13 g, n = 54

枯死率 = 枯死数 / 定植株数 × 100

倒伏率 = 倒伏数 / 定植株数 × 100

収穫時の草丈と茎径

2020 年と 2021 年に収穫時の草丈と茎径を計測した (図 13). 草丈の平均値について, 2020 年で C が 128 cm であるのに対し, TT1 で 119 cm, TT2 で 79 cm, SC1 で 78 cm, SC2 で 41 cm, TS1 で 68 cm, TS2 で 35 cm であった (図 13①). TT1 の草丈は C の草丈と同等であったが, その他の群は C の草丈よりも低かった. 2021 年では, C の草丈が 89 cm であるのに対して TT は 91 cm, SC は 80 cm であった (図 13②). また, 茎径の平均値は 2020 年が 5.2 mm~7.5 mm, 2021 が 6.0 mm~6.4 mm であった (図 13③と図 13④).

さらに, 2020 年に種芋の重量を変えて収穫時の草丈と茎径を計測した (図 14). 種芋「大」と種芋「小」を定植した結果, これまでの結果と同様に TT1 の草丈は C の草丈と同等であり, TT1 以外の草丈は C の草丈よりも低くなった (図 14①と図 14②). 茎径

は種芋「大」が 5.0 mm～10.2 mm, 種芋「小」が 4.6 mm～5.6 mm であった (図 14③と 図 14④).

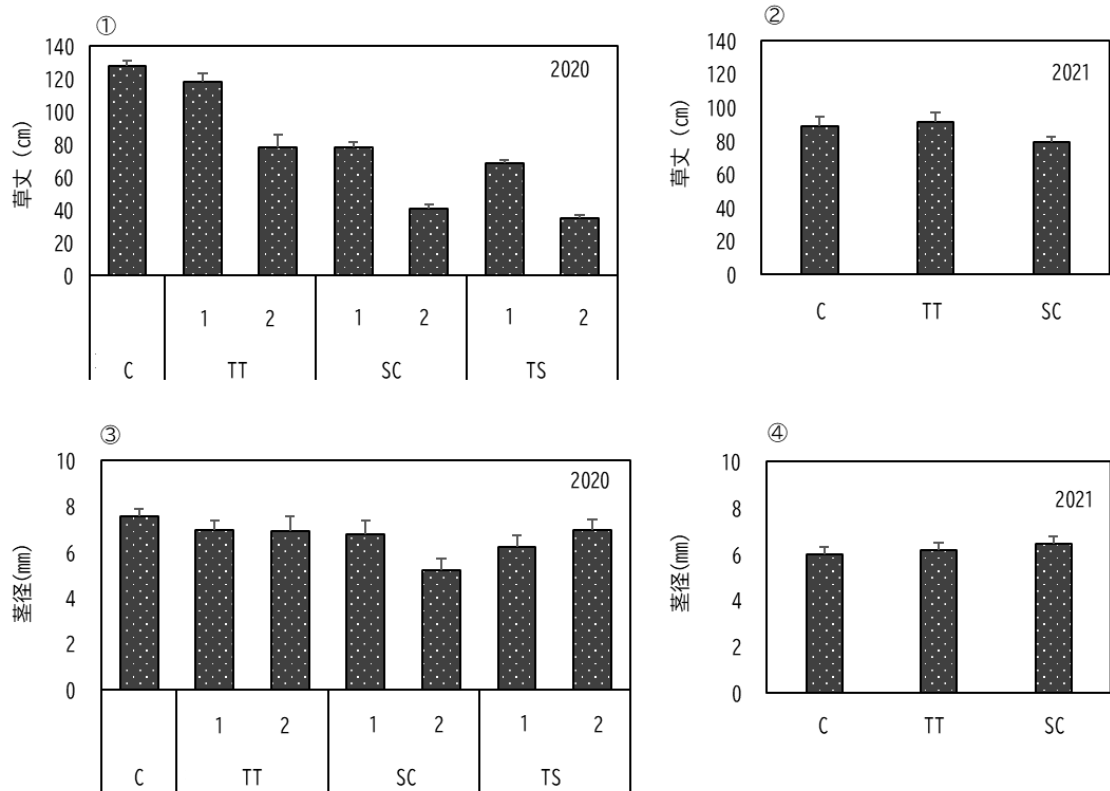


図 13. 子根の間引きと摘心処理が草丈と茎径に与える影響

2020 年の栽培結果: ①と③, 2020 年 7 月 20 日に測定, 種芋は 8~19 g, n = 7~12

2021 年の栽培結果: ②と④, 2021 年: 7 月 25 日に測定, 種芋は 8~13 g, n = 41~46

草丈: ①と②, 茎径: ③と④.

C: 対照群, TT: 子根の間引き群, SC: 摘心群, TS: 子根の間引きと摘心処理の併用群

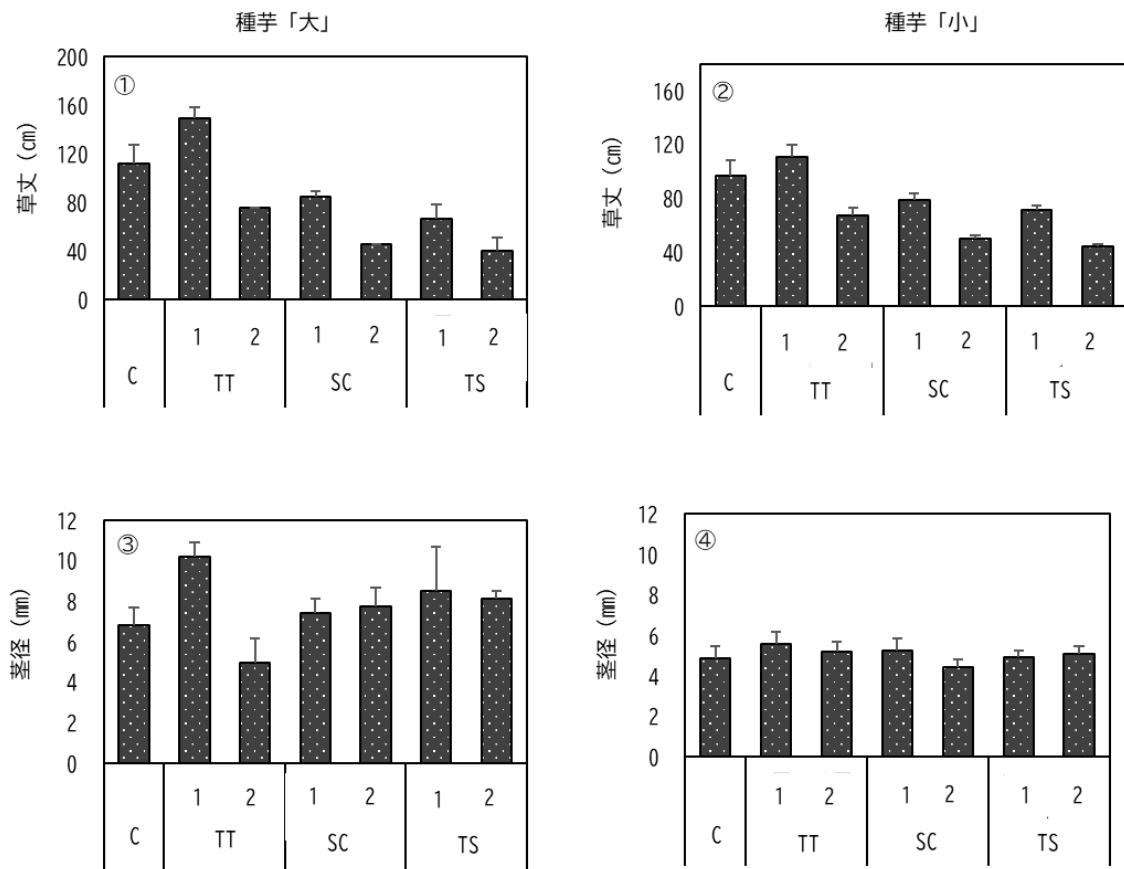


図 14. 種芋重量が異なる場合の草丈と莖径 (2020 年)

種芋「大」: ①と③, 1 個 20 g 以上の種芋を使用, n = 2~4

種芋「小」: ②と④, 1 個 3~7 g の種芋を使用, n = 7~14

草丈: ①と②, 莖径: ③と④

C: 対照群, TT: 子根の間引き群, SC: 摘心群, TS: 子根の間引きと摘心処理の併用群

2020 年: 7 月 20 日に測定

1 株あたりの子根数

2020年と2021年の7月に収穫したハナトリカブトについて、株あたりの子根数を重量別に比較した(図15~図17)。2020年では2~4gの小さい子根はTT1が2.5個、TT2が2.8個、TS1が2.4個、TS2が1.5個となり、Cの6.0個と比較して少なかった。一方、SCはCと比較してSC1で7.1個と多く、SC2で4.9個と少なかった。5~9g、10~14gの子根数はSC1以外の全ての群がCと比較して少なく、SC1のみ多かった。15~19g、20g以上の子根は全ての群でCよりも少なくなった。SC1では2~4g、5~9g、10~14gの塊根の数がCより多くなったが、15~19g、20g以上の子根の数はCより少なくなった。次に、種芋の重量を変えて同様の検討を行い(種芋「大」と種芋「小」)、子根を重さで5つに区別して子根数を算出した(図16)。その結果、種芋「大」は収穫した子根数が種芋「小」と比較して全体的に多くなった。

2021年7月に2020年と同様の実験を行った結果、2~4g、5~9g、10~14g、15~19gの子根数はCと比較してTTで少なくなったが、20g \leq の子根数はTTで多くなった(図17A)。また、2~4g、5~9g、10~14g、15~19g、20g以上の全てで、SCの子根数がCよりも増加した。特に、20g以上の子根数はCが0.4個であるのに対して、TTとSCは0.7個と0.5個に増加した。

加えて、子根の数を重量別ではなく1株あたりの総数で算出した(図17B)。総数は3段階で算出し、2g以上の子根の総数を1株から収穫できる全子根数、10g以上の子根の総数を種芋として利用可能な子根数、20g以上の子根の総数を生薬として利用可能な子根数とした。この結果、2g以上の子根の総数はTTで減少し、SCで増加した。さらに、10g以上の子根の総数はSCで増加し、20g以上の子根の総数はSCとTTの両方で増加した。

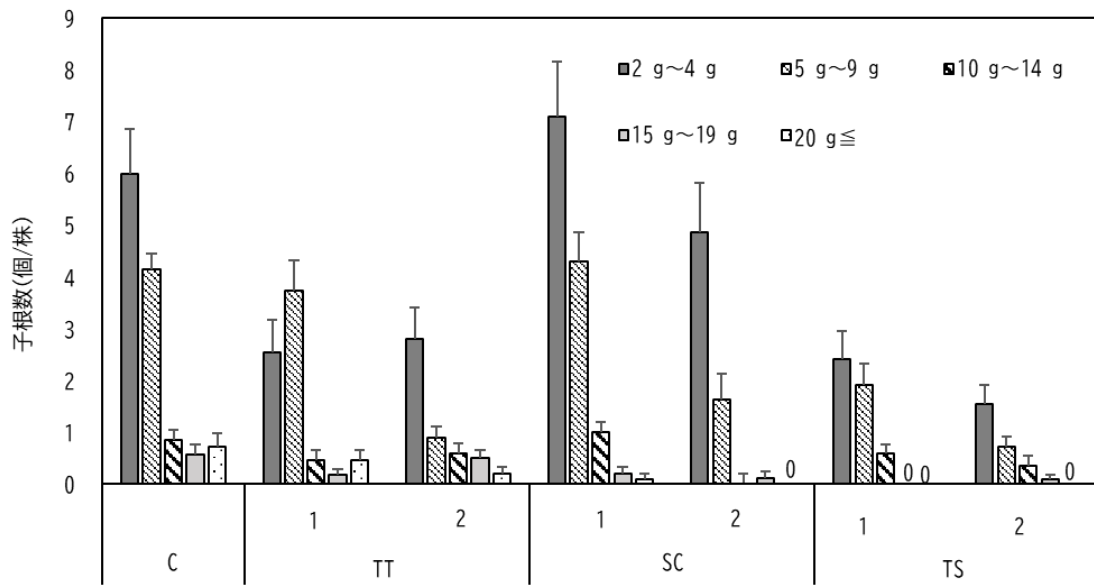


図 15. 子根の間引きと摘心処理が子根数に与える影響 (2020 年)

C: 対照群, TT: 子根の間引き群, SC: 摘心群, TS: 子根の間引きと摘心処理の併用群

2020 年 7 月 21 日収穫, n = 7~12, 種芋は 8~19 g

処理日は TT1 が 6 月 27 日, TT2 が 5 月 22 日と 6 月 27 日,

SC1 が 5 月 12 日, SC2 が 5 月 12 日と 6 月 29 日

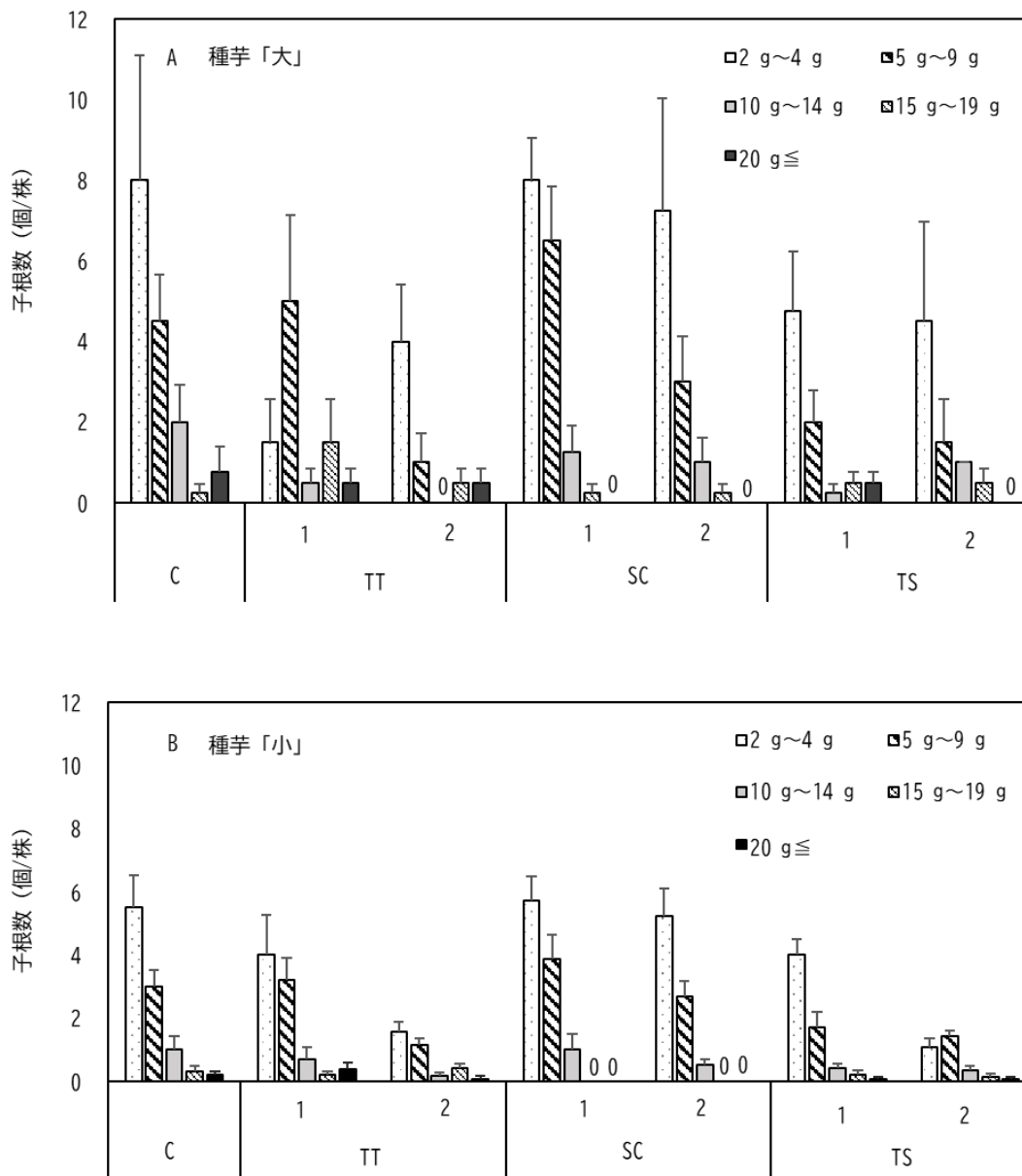


図 16. 重量が異なる種芋を使用したときの子根数 (2020 年)

C: 対照群, TT: 子根の間引き群, SC: 摘心群, TS: 子根の間引きと摘心処理の併用群

2020 年 7 月 21 日と 26 日に収穫,

処理日は TT1 が 6 月 27 日, TT2 が 5 月 22 日と 6 月 27 日,

SC1 が 5 月 12 日, SC2 が 5 月 12 日と 6 月 29 日

種芋「大」: 1 個 20 g 以上の子根を種芋として使用した. n = 2~4

種芋「小」: 1 個 3~7 g の子根を種芋として使用した. n = 7~14

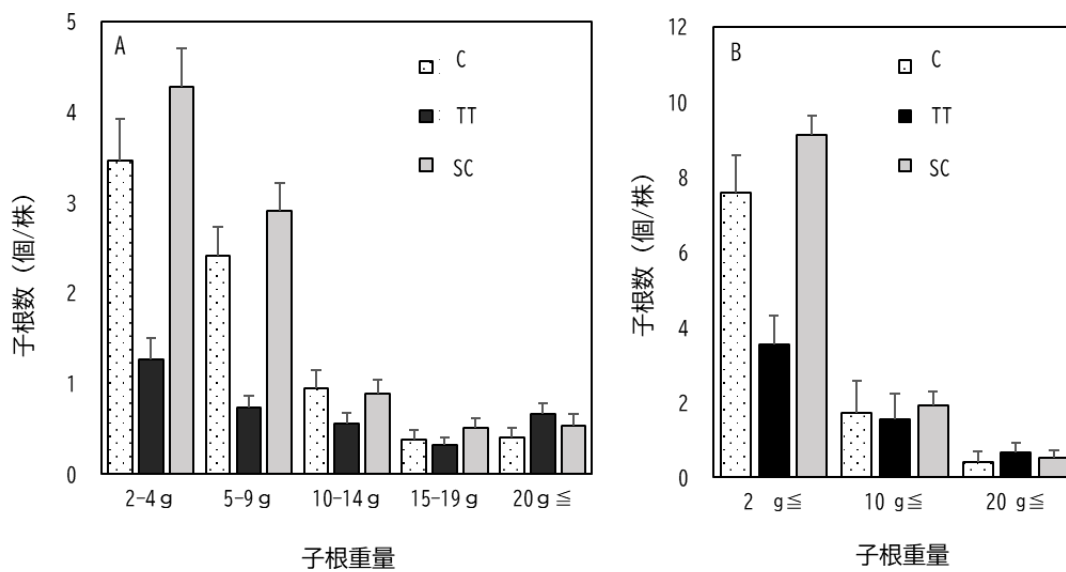


図 17. 子根の間引きと摘心処理が子根数に与える影響 (2021 年)

A: 子根重量別の子根数, B: 一定重量以上の子根のみで算出した子根総数

C: 対照群, TT: 子根の間引き群, SC: 摘心群

子根の間引き処理は 6 月 17 日に実施し, 摘心処理は草丈 100 cm の時に実施した. 摘心処理では出てきた脇芽を何度か切り落とした.

2021 年 7 月 26 日収穫, n = 37~43

子根の総重量

2021年に収穫した子根について、1株あたりの総重量を算出した(図18)。5g以上の子根だけで総重量を算出した結果、CよりもTTで総重量が軽くなった一方、SCで重くなった。10g以上の子根だけで総重量を算出した結果、Cが29.6gであるのに対して、TTで32.4g、SCで34.5gと増加した。また、20g以上の塊根だけで総重量を算出した結果、Cが12.0gであるのに対して、TTで20.4g、SCで15.2gと増加した。総重量が最も増加した実験群は10g以上の子根ではSC、20g以上の子根ではTTであった。

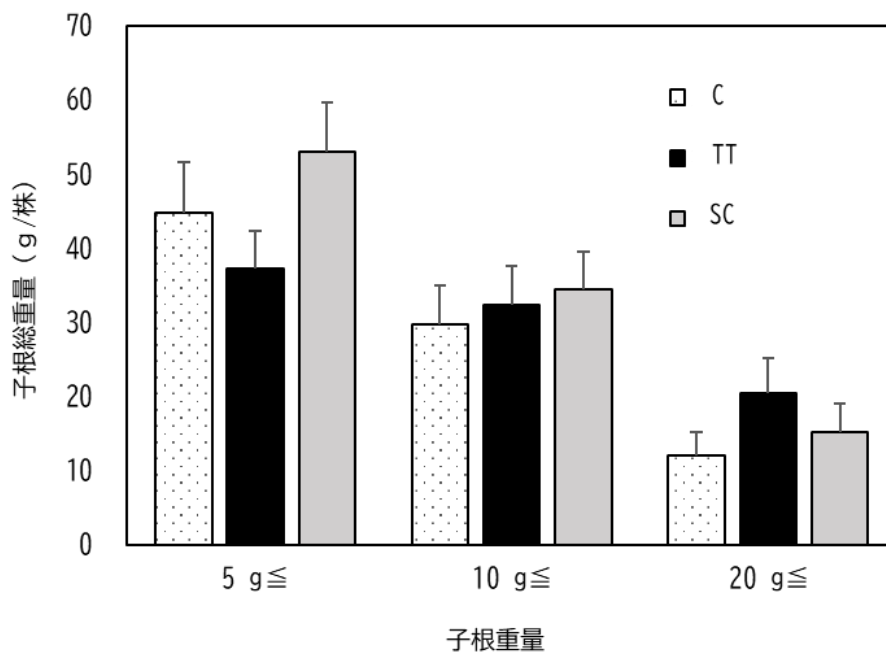


図18. 子根の間引きもしくは摘心処理による植物あたりの子根総重量

C: 対照群, TT: 子根の間引き群, SC: 摘心

2021年7月26日収穫, n = 37-43

子根の間引き処理は6月17日に実施し、摘心処理は草丈100cmの時に実施した。摘心処理では出てきた脇芽を何度か切り落とした。

地上部の生育と母根の関係

2021年に計測した茎径と草丈、茎径と母根重量の分布を示す(図19)。Cについて、草丈と茎径の相関係数は0.89、母根重量と茎径の相関係数は0.88であった(図19①と②)。TTについて、草丈と茎径の相関係数は0.85、母根と茎径の相関係数は0.86であった(図19③と④)。SCについて、草丈と茎径の相関係数は0.83、母根と茎径の相関は0.87であった(図19⑤と⑥)。全体として、母根の重量と地上部の茎径は相関係数0.86~0.88であり、正の相関を示した。また、草丈と茎径も相関係数が0.83~0.89と正の相関を示した。SCは草丈が1mのときに茎を切除したため、今回の分布図でも草丈が1m付近で頭打ちになっている。一方で、SCの茎径はCと同等の範囲に分布することが確認され、茎の直径が10mmを超える太い個体も存在した。

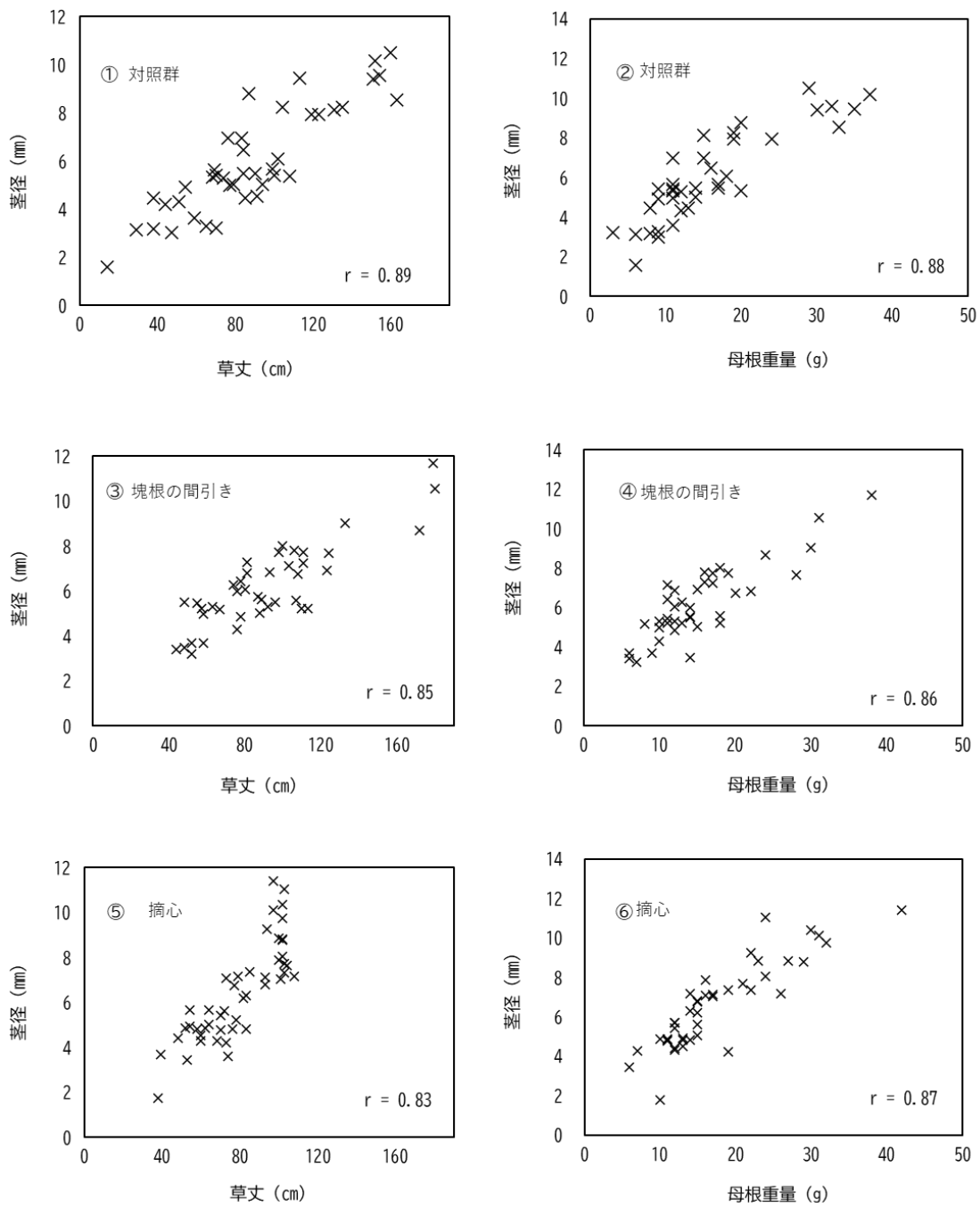


図 19. 収穫時の草丈と茎径と母根重量の分布

対照群: ①と②, 子根の間引き群: ③と④, 摘心群: ⑤と⑥.

草丈と茎径の分布: ①と③と⑤, 母根重量と茎径の分布: ②と④と⑥

2021年7月25日測定.

子根のブシジエステルアルカロイド含量

2020年と2021年にブシジエステルアルカロイドを定量した結果を示す(図20). 2020年では, Aconitine 含量はCが 0.397 ± 0.029 mg/g (平均値 \pm S.E.) であるのに対して, TT1 では 0.215 ± 0.056 mg/g に減少し, SC1 では 0.367 ± 0.040 mg/g とCと同等であった(図20A) Meseaconitine 含量も Aconitine 含量と同様と結果を示し, Cが 0.532 ± 0.055 mg/g であるのに対して, TT1 で 0.260 ± 0.055 mg/g に減少し, SC1 ではCと同等の 0.562 ± 0.060 mg/g であった(図20B). Hypaconitine 含量は $0.386 \sim 0.526$ mg/g であり, すべての群でCと同等であった(図20C). 子根の間引きと摘心処理を行ったTT, SC, TSでは, 処理を2回行った群よりも処理を1回行った群でAconitine と Meseaconitine 含量が高かった. また, 2021年の収穫物では Aconitine と Meseaconitine 含量がCで 0.230 ± 0.107 mg/g であるのに対して, TT で 0.392 ± 0.120 mg/g に増加し, SC で 0.139 ± 0.037 mg/g に減少した. Hypaconitine 含量はTTとSCの両方でCよりも減少した(図21).

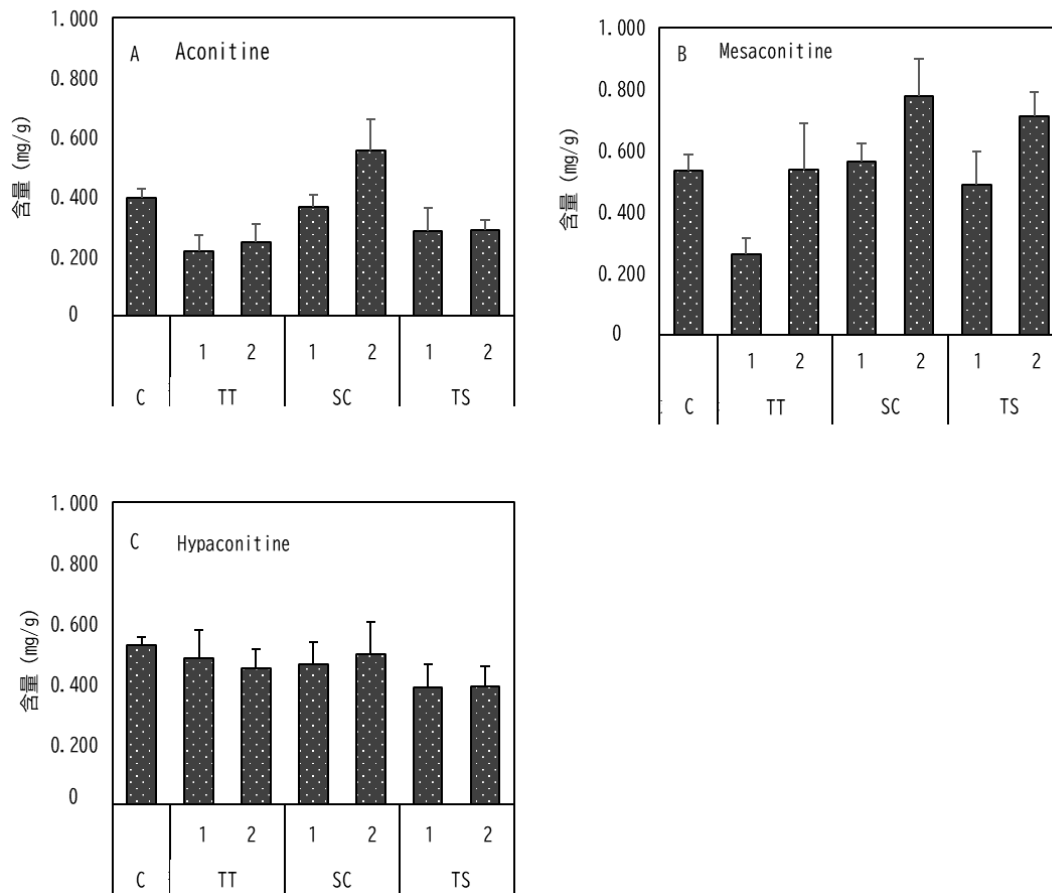


図 20. 子根の間引きと摘心回数の違いによる成分含量変化 (2020 年)

A : Aconitine 含量, B : Mesaconitine 含量, C : Hypaconitine 含量

C: 対照群, TT: 子根の間引き群, SC: 摘心群, TS: 子根の間引きと摘心処理の併用群

処理日は TT1 が 6 月 27 日, TT2 が 5 月 22 日と 6 月 27 日,

SC1 が 5 月 12 日, SC2 が 5 月 12 日と 6 月 29 日

2020 年 7 月 21 日と 27 日に収穫, n = 6

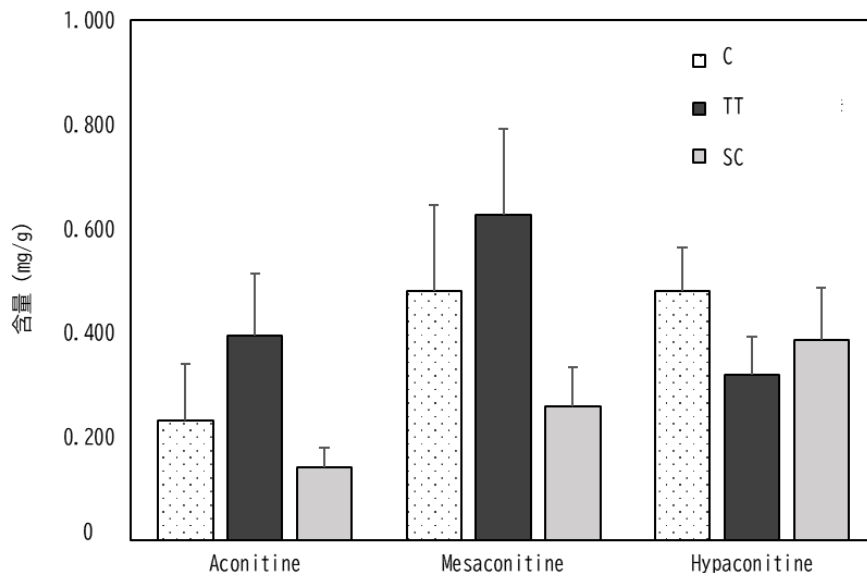


図 21. 塊根の間引き処理と摘心処理による成分含量変化 (2021 年)

C: 対照群, TT: 塊根の間引き群, SC: 摘心群

2021 年 7 月 26 日収穫, n = 4

塊根の間引き処理は 6 月 17 日に実施し, 摘心処理は草丈 100 cm の時に実施した. 摘心処理では出てきた脇芽を何度か切り落とした.

第四項 考察

処理による枯死率と倒伏率の変動

2020 年と 2021 年に収穫時期である 7 月の枯死率を算出した結果, TT の枯死率は C と同等であり, SC の枯死率は C よりも低くなった. 枯死は植物の地下部から地上部まで全てが枯れた状態である. 枯死した株からは子根の収穫が不可能であることから, 枯死率の低下によって収穫量増加が期待される. また, TT と SC で処理の回数が増えても枯死率が増加しなかったことと, 二つの処理を併用した TS で最も枯死率が低かった

ことから、子根の間引きや摘心処理が原因で枯死率が増加することはないと考えられる。

次に、枯死率と同様に 2020 年と 2021 年の倒伏率を算出した結果、すべての群の倒伏率は 10%以下であった。特に TT では子根を間引くことで根が損傷し倒伏率が増加することが懸念されたが、今回の結果では影響は認められなかった。倒伏は地上部の茎が地面に倒れている状態であり、強風によって物理的に押し倒されたときか、母根の腐敗によって地上部を支えることが出来なくなったときに発生すると考えられる。どちらの要因による倒伏であっても倒伏してすぐであれば子根の収穫が可能だが、時間経過によって枯死にいたる可能性が高い。したがって、子根の間引きや摘心処理を実施した場合においても、倒伏率を低く保つことは *A. carmichaeli* 栽培で子根の収穫量を維持するために重要だと考えられる。

子根の総重量

2021 年に、収穫した 20 g 以上の子根だけを対象にして 1 株あたり子根総重量を算出した結果、TT と SC で子根総重量がどちらも C より増加した。御影らは生薬として利用できる子根は重量 20 g 以上が良いとしていることから³⁶⁾、塊根の間引きや摘心処理は薬用利用できる子根の収量増加に効果的であることが確認された。1 株あたりの子根数もこの結果と同様の傾向を示していることから、収量増加は子根数増加に起因していると思われる。また、今回の結果で総重量が最も増加したのは 10 g 以上の塊根では SC、20 g 以上の塊根では TT であったことから、SC よりも TT で大型塊根の増収効果が高いことが示唆された。中国で *A. carmichaeli* の摘心時期を検討した報告では²⁷⁾、4 月上旬、中旬、下旬で比較した結果、4 月中旬の子根収量が最も高く、その収量は 4 月下旬の 1.7 倍であった。しかし石川県で栽培試験を行ったところ、4 月下旬時点で子根の十分な形成は認められなかった。中国と日本では子根の形成時期が異なると考えられるため、同じ時期に摘心を実施することは適切でないと思われる。日本の栽培に適した摘心条件を

検討することで、大型塊根のさらなる増収が期待できると考えている。

茎径と草丈，母根重量の分布

母根の重量と地上部の茎径は正の相関を示した。これまでに、*A. carmichaeli*と同様に附子原植物である *A. japonicum* において、種芋が小さいほど草丈、茎径、節数が小さくなることが報告されている³⁾。我々が計量した塊根は種芋ではなく収穫時の母根だが、*A. carmichaeli* は生長しても種芋が定植時に近い状態に残る植物である。この残った部分を母根と称していることから、今回の計測は先行研究を支持する結果だといえる。

また、SCの草丈が摘心処理により1 m付近で頭打ちになったことを除き、TTとSCの分布はCの分布と変わらなかった。特にTTは草丈の平均値もCと同等であったことから(図11)、子根の間引き処理は処理回数が1回であれば地上部に影響を与えないことが再度示された。加えて、今回の摘心処理では草丈が1 mの時点で茎を切断し、1 mに届かない株は頂芽を切断した。SCの分布図で草丈の頭打ちが1 m付近に来ていることから、茎切断後は草丈が伸びないことが示唆された。さらに、1 mに届かない株の分布において草丈と茎径のバランスがCと変わらなかったことから、頂芽の切断を行うことで草丈だけでなく茎径の成長も止まることが示唆された。

子根のブシジエステルアルカロイド含量

2021年の収穫物ではAconitineとMesaconitine含量がCに対して、TTで増加し、SCで減少した。Hypaconitine含量は子根の間引き群と摘心群の両方で対象群よりも減少した。前年の定量結果とは異なる傾向を示したことから、処理の方法や時期によって処理が含量に与える影響が異なる可能性が示された。

第一章 小括

第一節では夏季の枯死リスクを軽減させる方法として、*A. carmichaeli* の早期収穫方法を提案した。早期収穫は高温多湿な環境で発生する枯死のリスクや、台風や強風による倒伏のリスクを軽減するために効果的な方法だと考えられる。早期収穫を検討するために金沢大学で6月から8月における栽培試験場の生育状況を計測したところ、倒伏や枯死の状態ではない健全株の割合は特に6月中旬から7月下旬に低下することが明らかとなった。また、夏季の3時点で薬用部位である子根の収穫を実施したところ、収穫量と成分含量は7月上旬から下旬にかけての変化が僅かである一方、8月下旬に増加が顕著であることが明らかになった。さらに、同数の株を定植した場合の収穫量を算出し夏季の3時点で比較したところ、7月上旬が最も多くなることが示された。したがって、*A. carmichaeli* の枯死のリスクを抑えるためには7月上旬の収穫が適していると考えられる。

早期収穫は1株あたりの収穫量や子根の成分含量が少ないことが課題であり、早期収穫を前提とした栽培で附子の生産を行うためには、子根を早く肥大させることが必要である。そこで第二節では、子根の早期肥大に有用な方法を見つけることを目的として、子根の間引きや摘心処理が*A. carmichaeli* の生育に与える影響を調査した。子根の間引きと摘心処理を*A. carmichaeli* に実施し、筆者が早期収穫の時期として設定した7月の枯死率および倒伏率を算出することで生育状況を調査した。その結果、子根の間引き処理を行った実験区の枯死率は対照群と同等であり、摘心処理を行った実験区の枯死率は対照群より低くなった。また、生育状況を調査した株を収穫して子根の重量を計測したところ、子根の間引きや摘心処理を1回実施した株で20 g以上の子根の数と総重量が増加した。したがって、子根の間引きと摘心処理は植物に負荷を与えず、子根の肥大に効果があることを明らかにした。石川県を代表する暖地での栽培に適した子根の間引き

や間引き条件の検討を進めることで、日本での大形子根の収量のさらなる増加が期待される。

第二章 ハナトリカブトの冬季育苗法と種芋の長期保管に関する研究

第一節 冬季育苗法の開発

第一項 緒言

第一章では *A. carmichaeli* の早期収穫方法を提案し、当地での収穫時期は梅雨明け後の7月上旬が適していること、子根の間引きと摘心処理を行うことで増収が見込めることを明らかにした。しかし、附子の有用成分の一つであるブシジエステルアルカロイドの Aconitine と Mesaconitine は子根中で春以降に含量が増加する成分であることから²²⁾、⁴¹⁾、早期収穫では子根の成分含量が低いことが課題である。そこで筆者は越冬中の種芋に着目し、早期収穫を含む新たな栽培方法における成分含量の増加とさらなる増収を期待して冬季育苗法の開発を目指した。従来の栽培方法では冬前に種芋を栽培場に定植し、春の萌芽まで土の中で越冬させる²⁵⁾。これまで冬季の種芋は休眠状態にあり、成長しないと筆者は考えていた。しかし、予備試験で種芋を冷蔵保管したときに種芋から芽や根が伸びていたことを確認した。そこで冬季に育苗することで春以降の生育を早めることができると考え、第二章第一節では冬季の育苗方法について以下2つの検討を試みた。

1) まず、育苗に適した種芋の検討を行った。第一章第一節では従来よりも重量が軽い種芋を使用することで夏季の枯死リスクが軽減する結果を示していた。早期収穫を行う栽培では重量の軽い種芋が適していると筆者は考えていることから、育苗後に定植した場合でも夏季の枯死リスクを軽減する効果が示されるか検討を行った。

2) 次に、育苗条件の検討を行った。場所と器材が異なる条件で育苗を実施し、育苗した株を翌年に試験栽培場で定植・栽培・収穫することで、育苗が子根の重量と成分含量に与える影響を調査した。さらに、附子の品質を評価するために収穫した子根の含有成分であるブシジエステルアルカロイド3種 (Aconitine, Mesaconitine, Hypaconitine)

を LC/MS で定量した.

第二項 実験材料・方法

植物材料：第一章，第二節，第一項と同じ

1) 育苗に適した種芋重量の検討

育苗方法

2019 年 10 月にハナトリカブトの塊根を収穫し，子根の重量を測定した．この子根を種芋として使用し，育苗用土としてスーパーミックス A（株式会社 サカタのタネ）を入れたロングポットに植えて 2019 年 10 月から 2020 年 4 月まで屋外で育苗した．

定植方法

2020 年 4 月まで育苗した株について，2019 年 10 月時点での種芋重量をもとにして 3 段階（大：20～73 g，中：8～19 g，小：3～7 g）に仕分けた．それぞれ以下の株数を 2020 年 4 月に栽培試験場へ定植した（大：6 株，中：21 株，小：24 株）．

生存状況の調査と収穫時の計測方法

2020 年 4 月 21 日，5 月 21 日，6 月 27 日，7 月 16 日に栽培試験場での生存数を計測し，生存率を大中小の 3 段階で比較した．生存数の計測後に栽培試験場の全ての株を収穫し，草丈と茎径を計測した．さらに，収穫した株は洗浄してひげ根を除去し，1 つずつ重量を計測した．このデータをもとにして株あたりの子根数と子根の総重量を算出した．この際，子根数は子根重量で 4 段階（2～4 g，5～9 g，10～19 g，20 g \leq ）に分けて算出し，子根の総重量は 3 段階（5 g \leq ，10 g \leq ，20 g \leq ，）に分けて算出した．

2) 育苗条件の検討

実験区の設定

栽培試験場に4つの実験区を設定し、対照群（C）と3つの育苗群に分けた。育苗群は屋外でビニルポットを用いて育苗する群（PC）、屋外でペーパーポット（ニッテン）を使用して育苗する群（PP）、非加温のビニルハウスでビニルポットを用いて育苗する群（GH）とした。ビニルポットは直径10 cmのものを使用し、各実験区の定植数は60株とした。また、ビニルハウスの非加温について、筆者が利用可能な施設として限定されたものであり、加温の有無については特に意味はない。

育苗方法

2020年11月に*A. carmichaeli*の子根を収穫し、子根の重量を測定した。この内、重量が6 gもしくは7 gの子根のみを種芋として使用した。対照群は育苗を行わず、2020年12月に種芋60株を試験栽培場へ定植した。育苗群はスーパーミックスA（株式会社 サカタのタネ）：種まき培土（有限会社 廣田商店）=1：1の土を使用してビニルポットもしくはペーパーポットに種芋70株を植えつけた。PCとGHは直径10 cmのビニルポットに種芋を70株ずつ植え付け、屋外もしくはビニルハウスに置いて育苗を開始した。PPは70穴のペーパーポット1冊を用いて70株の種芋を植えつけた後、屋外に置いて育苗を開始した。

栽培管理と生存状況の調査

2020年12月から2021年3月まで育苗群を各育苗場所で栽培した。2021年3月に生育状況として生存率と草丈を計測した後、60株ずつ栽培試験場へ定植した。定植後は収穫までに8回、液肥を施用した。2021年5月7日、6月9日、6月30日、7月7日に生存数を計測し、生存率の推移を各実験区で比較した。

収穫と計測

2021年7月に試験栽培場の生育状況（生存率と草丈，茎径）を測定した後，全ての株を収穫した．収穫した株は洗浄し，母根から子根を外してひげ根を除去した．株ごとに子根の重量を一つずつ計量し，株ごとの子根数と子根重量の分布を算出した．また，これらのデータを実験区ごとに集計し，栽培試験場における収量の算出と収穫した子根重量の分布図作成を行った．

生存率，草丈，茎径の測定方法

生存率として健全株の割合を算出した．健全株は茎の倒伏や枯死が見られない株とした．また，草丈として，地面から頂芽までの高さを測定した．茎径として，地面から5cmの位置にある茎の直径を計測した．

成分分析用サンプルの調製方法³⁴⁾

第一章，第二節，第二項 実験材料・方法（2-2）と同じ

LC/MS の分析条件

第一章，第二節，第二項 実験材料・方法（2-2）と同じ

第三項 実験結果

1) 育苗に適した種芋重量の検討

健全株の割合

倒伏せず生育良好な株を健全株とし，2020年4月から7月中旬までに4回，栽培試験場における健全株の割合を計測し，種芋「大，中，小」の3段階で比較した（図22）．その結果，6月末の生存率は種芋「大」が67%，種芋「中」が75%，種芋「小」が70%

であり、種芋重量に寄らず7割程度であった。しかし、7月中旬になると種芋「大」と種芋「中」の生存率は種芋「小」と比べて急激に減少し、それぞれの生存率は17%、35%、52%であった。

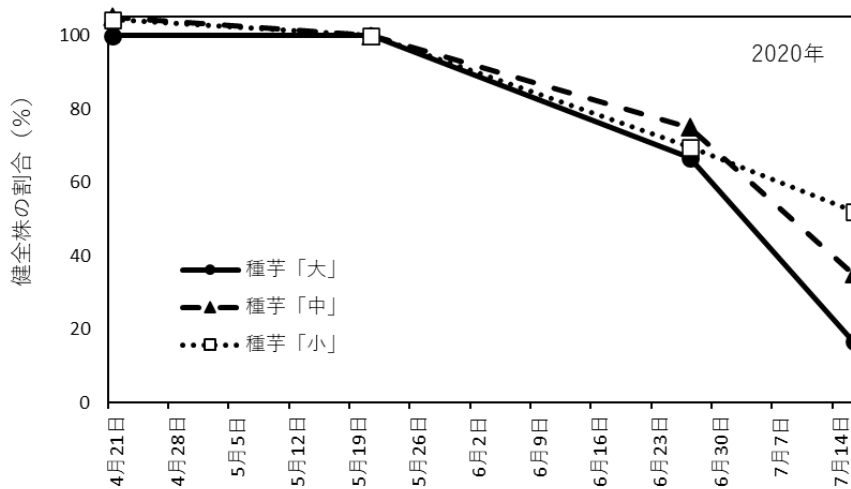


図 22. 種芋重量の違いが春定植後の生育状況に与える影響

2020年4月21日、5月21日、6月27日、7月16日に栽培試験場での生存数を計測した。種芋「大」：重量が1個20~73gの種芋を定植した，種芋「中」：重量が1個8~19gの種芋を定植した，種芋「小」：重量が1個3~7gの種芋を定植した。

収穫時の生育評価

草丈と茎径

2020年7月収穫時の草丈と茎径を種芋「大，中，小」の3段階で比較した（表1）。その結果，種芋「大，中，小」の草丈はそれぞれ111.0cm，92.0cm，75.8cm，茎径はそれ

ぞれ 8.4 mm, 6.5 mm, 4.5 mm であり, 種芋重量が大きいほど草丈と茎径の値は大きくなった.

子根数と子根重量

種芋「大, 中, 小」の収穫時の子根について, 株ごとの子根数を 4 つの重量区分, 子根の総重量を 3 つの重量区分で比較した (表 2). その結果, 子根数は 1 個 2~4 g および 5~9 g の区分で種芋重量が大きいほど値が増加した. 1 個 10~19 g の子根数は種芋「中」が平均 0.7 個であるのに対して種芋「小」が 1.0 個であったが, 種芋「大」は 4.0 個と最も大きい値であった. 1 個 20 g 以上の子根の数は種芋「大, 中, 小」がそれぞれ 0 個, 0.7 個, 0.3 個であった. 子根の総重量は 1 個 5 g 以上および 10 g 以上の区分で種芋重量が大きいほど値が増加した. 1 個 20 g 以上の子根の総重量は種芋「大, 中, 小」がそれぞれ 0 g, 15.0 g, 8.8 g であった. 最後に, 収穫した子根それぞれの数と重量について, 実験区ごとに全ての株の情報を示す (図 23). 1 つの株から収穫したすべての子根の数を表す横幅が種芋「大」, 種芋「中」, 種芋「小」の順の順に全体として長い傾向を示した.

表 1. 種芋重量の違いが春定植後の生育状況に与える影響

	n数	草丈平均	茎径平均
種芋「大」	1	111	8.4
種芋「中」	3	92.0 (±2.1)	6.5 (±0.5)
種芋「小」	9	75.8 (±9.1)	4.5 (±0.5)

種芋「大」は種芋重量が 1 個 20~73 g, 種芋「中」は種芋重量が 1 個 8~19 g, 種芋「小」は種芋重量が 1 個 3~7 g

表 2. 収穫した子根の重量と個数(種芋「大」～「小」)

		種芋「大」	種芋「中」	種芋「小」
n 数		1	3	8
子根数	2-4 g	13.0	7.3 (±1.9)	4.3 (±0.8)
	5-9 g	10.0	2.0 (±0.5)	1.3 (±0.4)
	10-19 g	4.0	0.7 (±0.3)	1.0 (±0.3)
	20 g ≦	0	0.7 (±0.3)	0.3 (±0.2)
子根の総重量	5g ≦	122.0	35.7 (±8.7)	29.8 (±7.0)
	10g ≦	59.0	22.7 (±6.2)	21.3 (±6.6)
	20g ≦	0	15.0 (±6.2)	8.8 (±5.4)

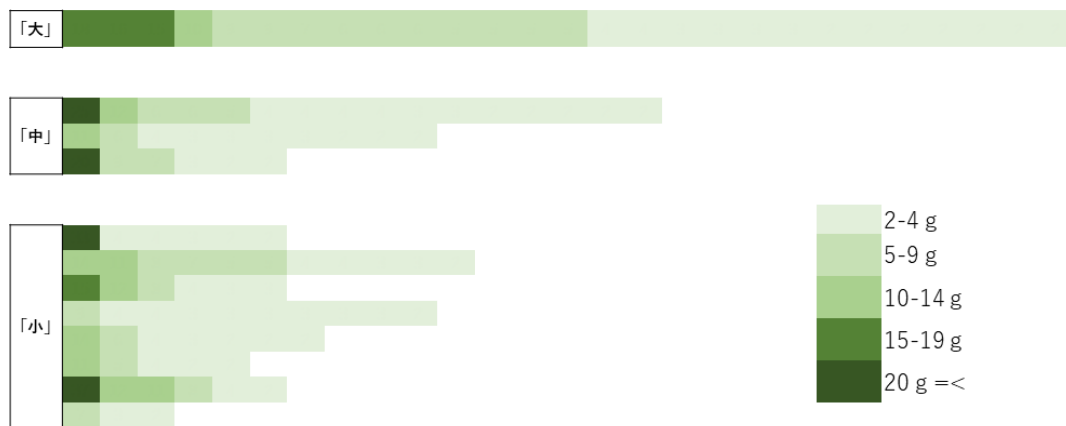


図 23. 収穫した子根の数と重量の分布(種芋「大」～「小」)

縦は株数を表し，母根重量が重いほど上位に位置する．横は子根数を表し，各子根は重量で色分けした．重量は種芋「大」が 20~73 g，種芋「中」が 8~19 g，種芋「小」が 3~7 g

2) 育苗条件の検討

定植直前の株

3 条件の育苗群における定植直前の生存率を示す (表 3). 生存率は PC, PP, GH がそれぞれ 84.3%, 97.8%, 95.7%であり, 全ての群が高い生存率を保っていた. また, 定植直前の様子を示す (図 24). GH の葉が PC や PP の葉よりも大きく, 濃い緑色であった.

表 3. 定植直前の生存率

	PC	PP	GH
枯死数	11	2	3
生存数	59	89	67
全体数	70	91	70
生存率 (%)	84.3	97.8	95.7

定植直前：PP群は n = 91, 他群は n = 70

PC: 屋外でビニルポットを用いて育苗した群, PP: 屋外でペーパーポットを使用して育苗した群, GH: 非加温のビニルハウスでビニルポットを用いて育苗した群. n = 70~91.

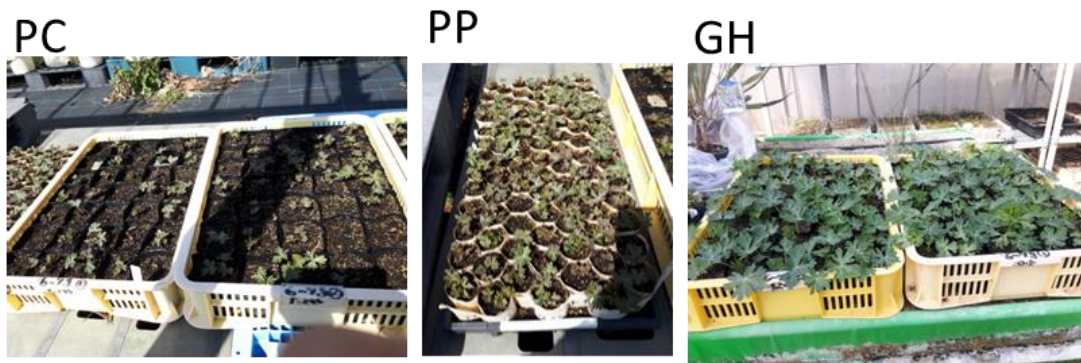


図 24. 定植直前の様子（2021.03.09 撮影）

PC：屋外でビニルポットを用いて育苗した，PP：屋外でペーパーポットを使用して育苗した，GH：非加温のビニルハウスでビニルポットを用いて育苗した． $n = 70 \sim 91$ ．

定植から収穫時までの生存状況

2020年5月から7月上旬までに4回，栽培試験場で生存状態を記録し，茎の倒伏や枯死が見られない健全株の割合を育苗条件で比較した（図 25）．その結果，6月下旬までは各実験区における健全株の割合が68%～80%であった．しかし，7月上旬になるとC，PC，PP，GHの健全株の割合はそれぞれ72%，57%，28%，67%であり，12月定植のCと比較してPCとPPが低く，GHはC群と同等であった．7月の健全株の割合はPPで顕著に低下し，Cと比べて44%低い値になった．

また，収穫時における株の生育状況を示す（図 26）．定植した60株のうち，C，PC，PP，GHにおいて倒伏した株数がそれぞれ3株，18株，26株，7株であり，枯死した株数がそれぞれ13株，10株，17株，12株であった．Cと比較してPPは枯死数が高く，PCとGHは枯死数が低かった．

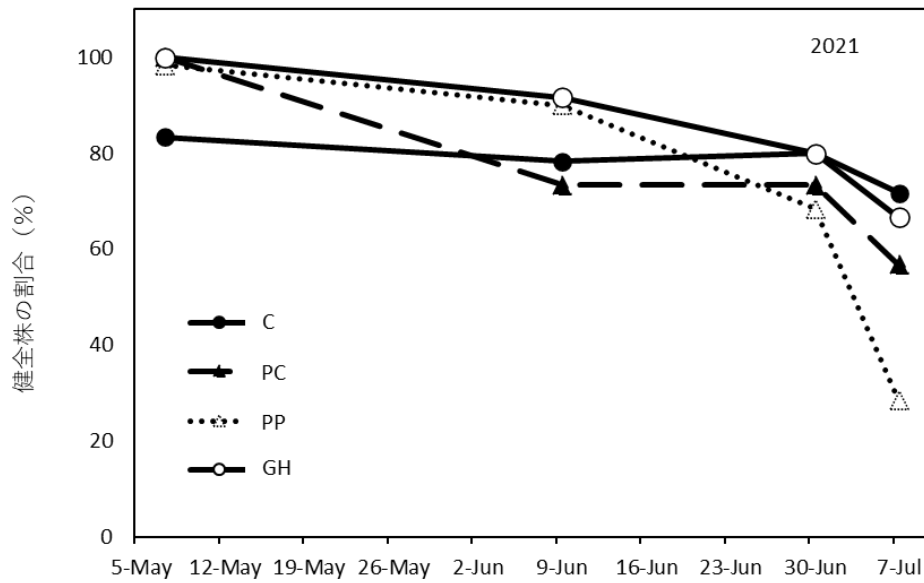


図 25. 育苗条件の違いが春定植後の生育状況に与える影響

枯死と茎の倒伏がない株を健全株とした。C：対照群，PC：屋外でビニルポットを用いて育苗した群，PP：屋外でペーパーポットを使用して育苗した群，GH：ビニルハウスでビニルポットを用いて育苗した群。n = 60

$$\text{健全株の割合} = \text{健全株数} / \text{定植株数} \times 100$$

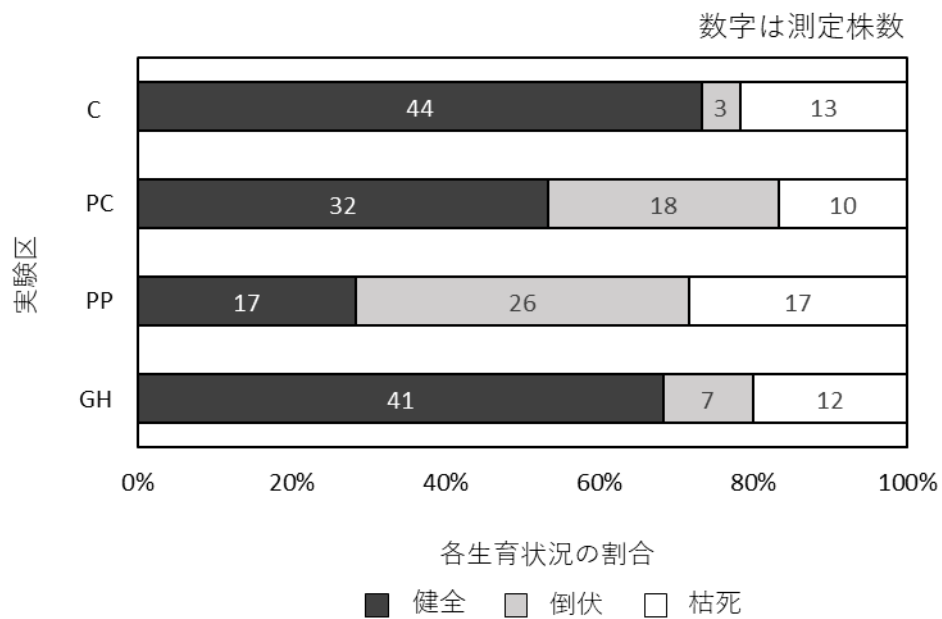


図 26. 収穫時における株の生育状況(%)

C : 対照群, PC : 育苗群は屋外でビニルポットを用いて育苗した群, PP : 屋外でペーパーポットを使用して育苗した群, GH : ビニルハウスでビニルポットを用いて育苗した群. n = 60

健全株の割合 + 倒伏株の割合 + 枯死株の割合 = 100%

草丈と茎径

定植直前と収穫時の草丈を示す (表 4). GH は他条件で育苗した群に比べ, 定植直前と収穫時の草丈が有意に高かった. さらに, 収穫時の草丈と茎径の関係を示した (図 27). 茎径と草丈の分布は C と比較して, GH だけがグラフの右上に移動していた.

表 4. *A. carmichaeli* の草丈

	C	PC	PP	GH
定植直前	-	2.1 ^a (±0.1)	1.9 ^a (±0.1)	6.2 ^b (±0.2)
収穫時	83.9 ^A (±3.6)	87.2 ^A (±4.4)	84.0 ^A (±6.3)	107.5 ^B (±3.0)

ab, ABは異なる文字間で有意差あり (Tukeyの多重比較検定)

定植直前: n = 59~89, 収穫時: n = 17~41

C: 対照群, PC: 屋外でビニルポットを用いて育苗した群, PP: 屋外でペーパーポットを使用して育苗した, GH: ビニルハウスでビニルポットを用いて育苗した群.

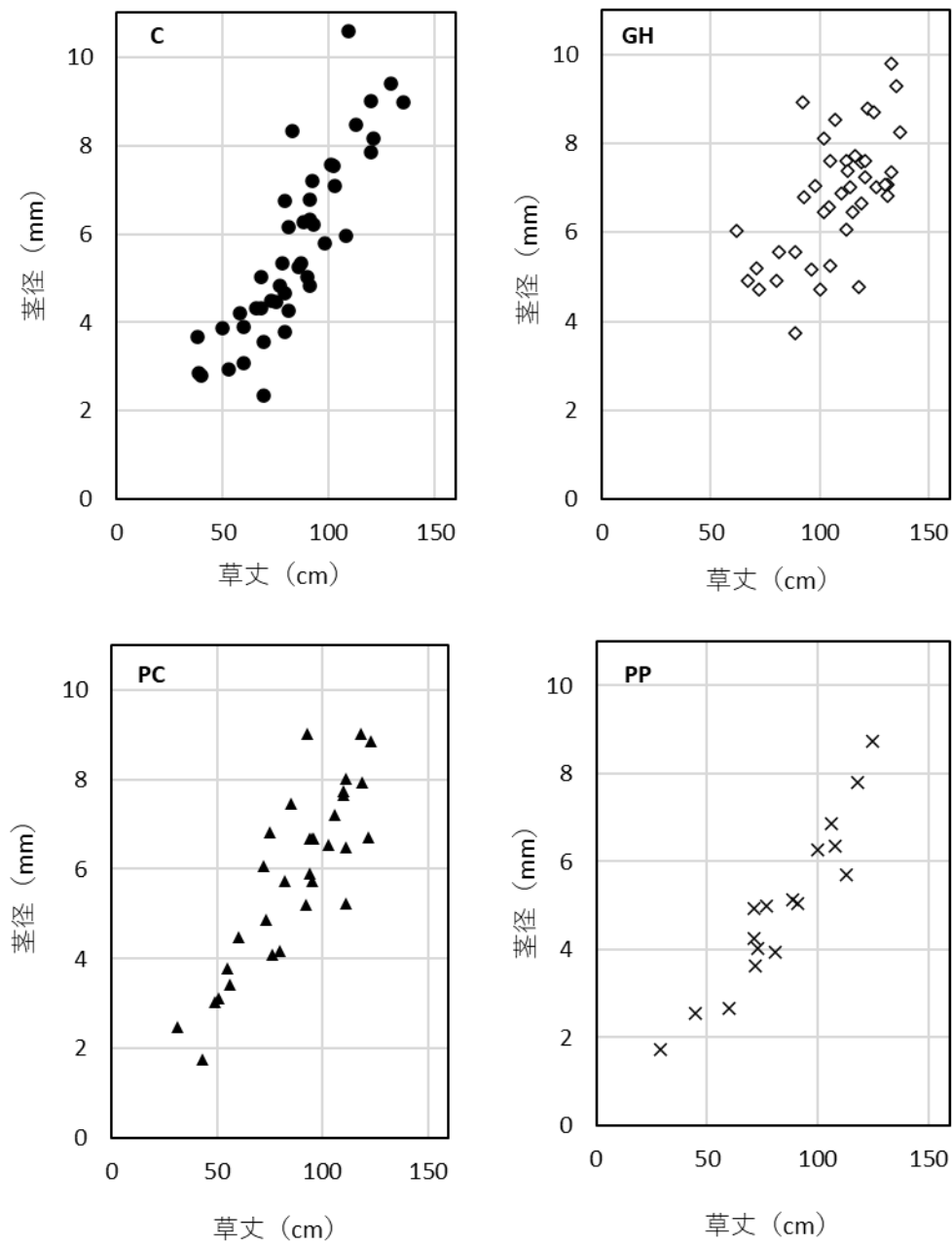


図 27. 収穫時の草丈と茎径

C : 対照群, PC : 屋外でビニルポットを用いて育苗した群, PP : 屋外でペーパーポットを使用して育苗した群, GH : ビニルハウスでビニルポットを用いて育苗した群. n=17~41.

子根数と子根重量

収穫時の子根を子根 1 個の重量で 5 つに分類し、株ごとに子根数を計測した (図 28). その結果, 2~4 g の子根数は C と比較して GH が多く, PP が少なかった. 5~9 g, 10~14 g の子根数は GH が多く, PC と PP が少なかった. また, 15~19 g と 20 g 以上の子根数は C よりも GH もしくは PC で増加し, GH は C に対して有意差が認められた C と比較して, 5 つのどの重量においても GH の子根数が多かった.

また, 収穫した子根それぞれの数と重量について, 実験区ごとに全ての株の情報を示す (図 29). C と比較して分布図の大きさが PP で小さく, GH で大きいことが確認された. このデータを集計し, 実験区全体の収穫量として算出した表を示す (表 5). 20g 以上の子根の数は C と比較して PC と GH で増加した.

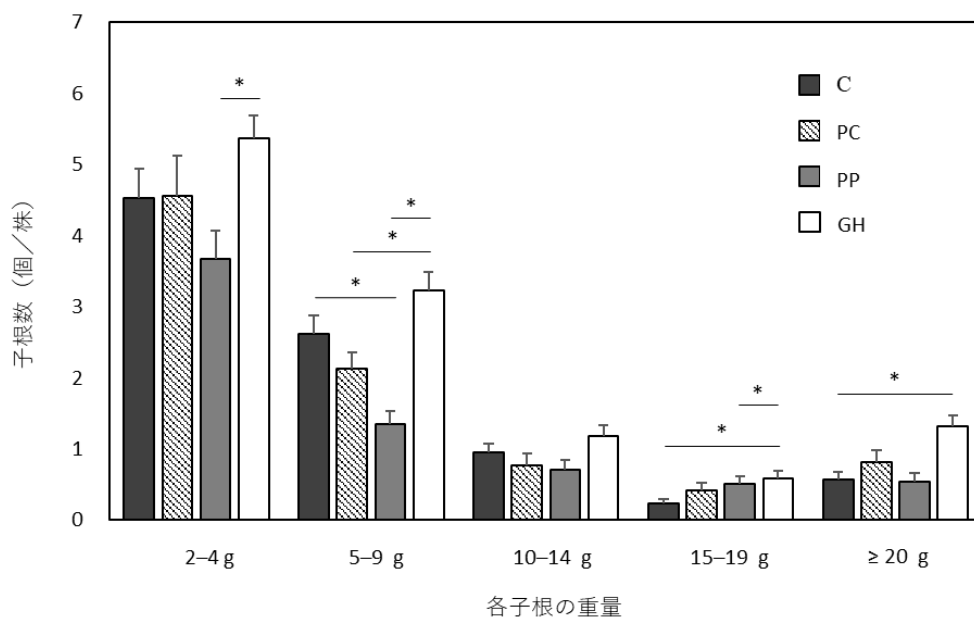


図 28. 収穫時の子根数

C : 対照群, PC : 屋外でビニルポットを用いて育苗した群, PP : 屋外でペーパーポットを使用して育苗した群, GH : ビニルハウスでビニルポットを用いて育苗した群. n=37~48. *: $p < 0.05$ (各重量区分で Tukey の多重比較検定)

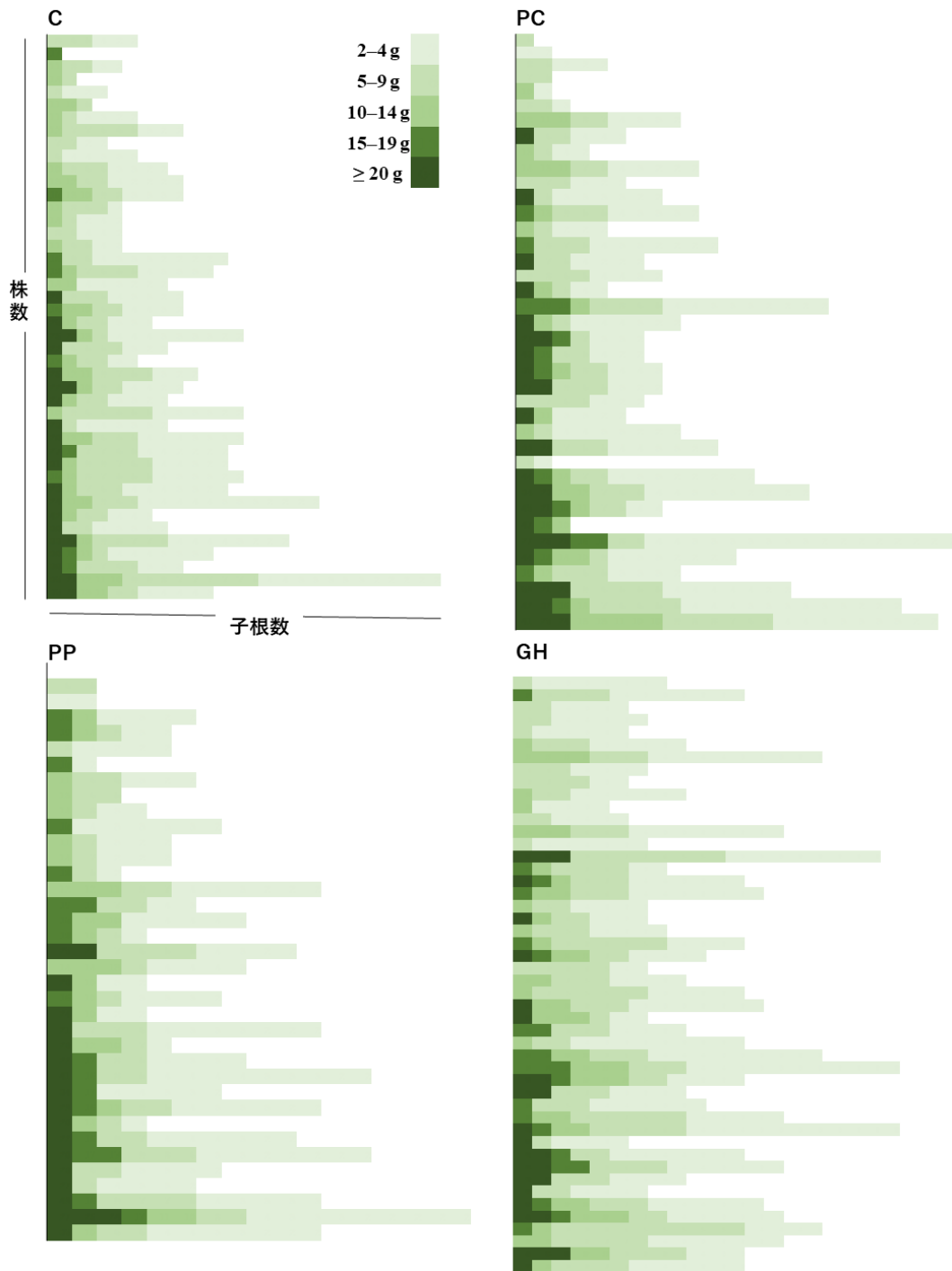


図 29. 収穫時した子根の分布

C : 対照群, PC : 屋外でビニルポットを用いて育苗した群, PP : 屋外でペーパーポットを使用して育苗した群, GH : ビニルハウスでビニルポットを用いて育苗した群. n=37

~48

表 5. 60 株定植し,収穫した子根数

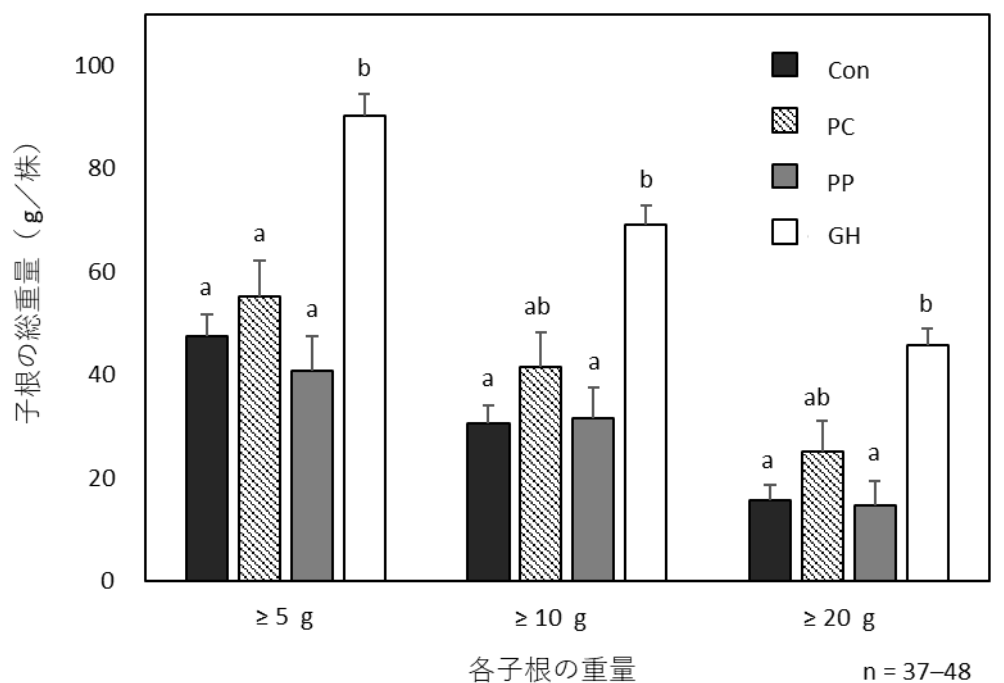
		C	PC	PP	GH
収穫株数		44	41	39	48
子根数	2-4 g	199	178	136	258
	5-9 g	115	83	50	155
	10-14 g	42	30	26	57
	15-19 g	10	16	19	28
	≥ 20 g	25	32	20	63

C : 対照群, PC : 屋外でビニルポットを用いて育苗した群, PP : 屋外でペーパーポットを使用して育苗した群, GH : ビニルハウスでビニルポットを用いて育苗した群. n=37

~48

子根の総重量

収穫した子根の総重量を示す (図 30). GH は 5 g 以上, 10 g 以上, 20 g 以上の重さの子根を対象とした総重量で C に対して有意差が認められた. また, PC は 10 g 以上と 20 g 以上の重さの子根を対象とした総重量で C 群に対して有意差が認められた. PP に有意な差は認められなかった.



ab, ABは異なる文字間で有意差あり (Tukeyの多重比較検定)

図 30. 収穫時における子根の総重量

C : 対照群, PC : 屋外でビニルポットを用いて育苗した群, PP : 屋外でペーパーポットを使用して育苗した群, GH : 非加温のビニルハウスでビニルポットを用いて育苗した群.

ブシジエステルアルカロイド含量

育苗条件が異なる株を収穫し、子根の含有成分を定量した (図 31)。その結果、全ての群について有意差は認められなかった。Aconitine は育苗した 3 群の値がすべて C より高く、特に GH で高値であった。Mesaconitine は Aconitine と同様の傾向を示し、C に対して GH が最も高値であった。Hypaconitine は PC, PP が Con と同等であった一方、GH が低下した。

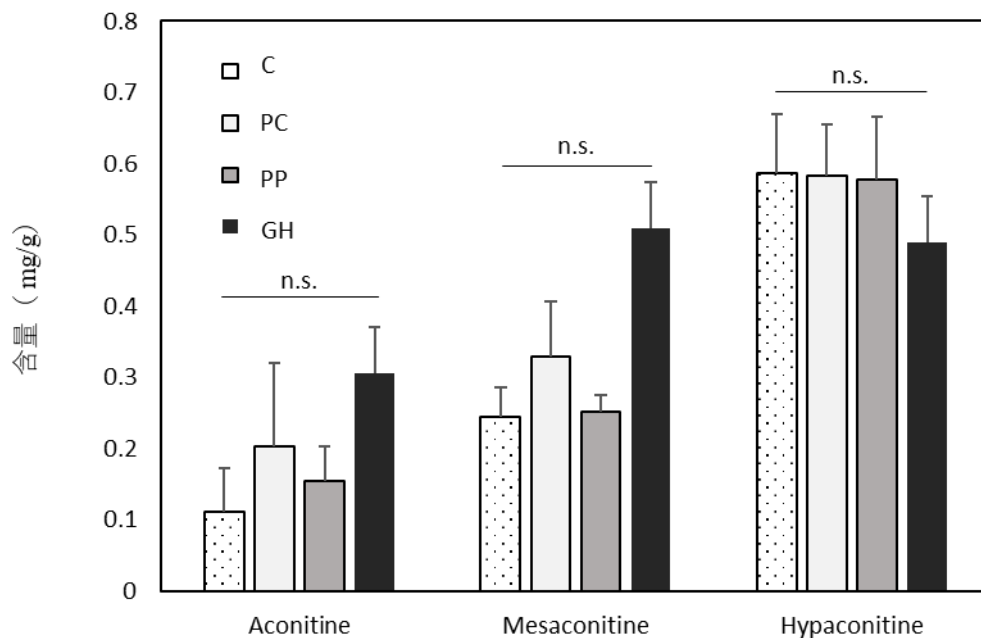


図 31. 子根のブシジエステルアルカロイド含量

C : 対照群, PC : 屋外でビニルポットを用いて育苗した群, PP : 屋外でペーパーポットを使用して育苗した群, GH : 非加温のビニルハウスでビニルポットを用いて育苗した群. n = 3. n.s.: Tukey の多重比較検定で有意差なし

第四項 考察

1) 育苗に適した種芋重量の検討

育苗した *A. carmichaeli* を 3 月に定植し、倒伏がない生育良好な株として健全株の割合を経時的に調査した結果、種芋重量が小さいほど 7 月収穫時の健全株の割合が高かった。附子生産を目的としたトリカブト属植物の栽培において、連作栽培や高温などの条件下で土壌伝染病に起因して生じる立ち枯れは収量が大幅に低下する原因だとされ、この立ち枯れを防除するために農薬の適用拡大やその他の防除手法について検討が必要だとされている²¹⁾。今回の検討によって、農薬の適用拡大よりも簡便な方法で立ち枯れを防除できる可能性が示された。また、第一章の第一項では、夏季の早期収穫に適した種芋重量を検討した際に、種芋重量が小さいほど夏季に倒伏や枯死がない健全株の割合が高いという結果が出ている。今回の試験結果は第一項の結論を裏付ける結果であり、小さい種芋を使用することによる夏季の枯死リスクの軽減は育苗を行った株でも効果が表れることが明らかとなった。

ただし、一般的に種芋重量が小さいほど株あたりの収穫量は小さくなると考えられ、他のトリカブト属植物や³¹⁾、*A. carmichaeli* と同様に種芋を使用して生産するジャガイモでこの傾向が報告されている⁴²⁾。種芋重量が異なる株を収穫して比較した今回の結果でも、先行研究と同様に種芋重量が小さいほど子根数や子根の総重量の値が小さくなった。したがって小さい種芋を使用する場合は、第一章で検討した塊根の間引きや摘心処理など、増収が期待される栽培方法を併用して実施することが必要だと思われる。

2) 育苗条件の検討

定植直前の株

定植直前の生存率は PC, PP, GH で 84%~98%と総じて高く、多くの株が定植時まで育苗可能であることが示された。冬前に定植する従来の栽培方法では越冬で生じた欠株

が収穫時まで放置されるために栽培試験場の中で栽培しない箇所が生じてしまうが、冬季に育苗した株を春に定植する冬季育苗法を実施することで冬に発生する欠株を解消することが可能である。また、定植直前である3月上旬の時点で多くの株が萌芽していたが、特にGHは地上部の成長が早く、葉の大きさと色がPCやPPとは異なっていた。北海道と茨城県で同時に *A. carmichaeli* を栽培し生育を比較した報告では、栽培期間の平均気温が高い茨城県で栽培した *A. carmichaeli* は同時期に北海道で栽培した株よりも萌芽や草丈が大きくなることが報告されている²²⁾。今回の検討でGHを配置した非加温のビニルハウスは屋外よりも気温が高かったことから、屋外で育苗したPCおよびPPと比較してGHの生育が良好だったと思われる。

また、種芋の状態では種芋重量が同じ場合に翌年の萌芽や生育状態が良い株を予測することが困難である。しかし育苗によって萌芽後に定植を実施することで、萌芽が早く生育良好な株を選択して定植することが可能になると考えられる。

定植から収穫時までの生存状況

茎の倒伏や枯死が見られない健全株の割合を育苗条件で比較した結果、健全株の割合は6月下旬から7月上旬にかけて顕著に低下し、特にPPでこの時期に大きく低下した。第一章 第一節で2019年および2020年に生育状況を経時的に計測した結果では、6月中旬から7月上旬の梅雨に健全株の割合が大きく低下することが確認されている。今回の結果はこれを支持するものであり、育苗時の器材としてペーパーポットを使用すると夏季の枯死リスクが上がる可能性が示された。7月収穫時のPPは枯死数だけでなく倒伏数もCより増加していることから、器材として使用したペーパーポットが定植時まで残っていたことで、地上の成長に対して根が十分に張れず、倒伏が増加したのではないかとと思われる。また、7月収穫時の健全株の割合は育苗群の中でGHが最も高く、Cと同等であったことから、育苗条件はGHが適していることが示唆された。

収穫時の草丈と茎径

GHはCや他条件で育苗したPC、PPと比較して、収穫時の草丈と茎径が有意に高かった。定植から収穫までは全ての群を同条件で栽培していたことから、育苗環境の違いが試験栽培場へ定植後の成長に影響を与えることが示唆された。

子根数と子根重量

収穫時の子根を子根1個の重量で5つに分類し、株ごとに子根数を計測した結果、1個20g以上の大きな子根はCと比較してPCとGHで数が多く、GHは全ての重量区分で子根数がCより多かった。したがって、器材としてポリポットを使用した育苗は株あたりの子根数増加に有用であることが示唆された。また、子根の総重量は設定した全ての重量区分でCよりPCとGHが増加し、特にGHで大きな増加が認められた。GHの健全株の割合がCと同等であったことから、試験栽培場全体の収量もGHで大きくなると想定されるため、非加温のビニルハウスを使用した冬季の育苗が*A. carmichaeli*の収量増加に効果的であることが示された。

ブシジエステルアルカロイド含量

附子の品質を評価するために育苗条件が異なる*A. carmichaeli*を収穫しブシジエステルアルカロイドを定量した結果、有意差は認められなかったがAconitineとMesaconitineは育苗した3群の値がすべてCより高く、特にGHで高値であった。このことから、早期収穫時の成分含量増加に冬季の育苗が効果的であることが示唆された。

*A. carmichaeli*におけるブシジエステルアルカロイドの相対成分比率についてMesaconitine : Hypaconitine : Aconitineが常に2 : 1 : 1だとする報告がある一方¹⁴⁾、夏季にAconitineとMesaconitineが増加傾向を示し、Hypaconitineが低下傾向を示すという報告もあることから^{22), 43)}、同じ*A. carmichaeli*でも系統によって成分組成の傾向が異なる

と思われる。本研究で植物材料として使用した *A. carmichaeli* は後者の報告と同じく夏季に、Aconitine と Mesaconitine が増加し、Hypaconitine が夏季に低下する傾向を示すことから、冬季の育苗によって定植後の株の成長が促進され、Aconitine と Mesaconitine 含量がより増加したと考えられる。

第二章 第二節 種芋の長期保管が生育に及ぼす影響

第一項 緒言

これまでに筆者は *A. carmichaeli* の早期収穫を提案し、早期収穫を前提とした栽培で課題となる子根重量や成分含量の減少を改善させるために栽培中の処理や冬季の育苗方法を検討した。これにより 12 月に育苗を開始してから 7 月に収穫するまでの栽培方法が開発され、後は 7 月の収穫から 12 月の定植までの栽培歴を補完することで早期収穫を行う栽培方法が確立する。収穫から定植までの工程について、日本の *A. carmichaeli* 栽培地である北海道では 9 月に収穫と定植が実施されており²⁵⁾、この方法は最も簡便だと考えられるが、早期収穫を検討した栽培地の気候では 9 月まで安定して栽培を行うことが出来ないため実施は困難である。さらに、収穫した子根の一部を種芋としてすぐ定植するために種芋を長期保管する必要がなく、*A. carmichaeli* の種芋保管に関する情報が限られている。筆者が提案した栽培法では収穫時期と定植時期が異なることから、収穫した種芋を定植時期まで保管する必要がある。また、中国四川省の一部では夏季に *A. carmichaeli* 収穫を実施している^{3), 28), 44)}。中国の *A. carmichaeli* 栽培地では標高が異なる 2 か所で *A. carmichaeli* を栽培しており、秋に標高が高く冷涼な山間部で栽培し収穫した子根を標高が低い場所に種芋として輸送して定植し、栽培を実施している³⁾。この方法は種芋を準備するための場所と栽培を行うための場所で離れた場所を設定し管理する必要があり、手間やコスト面で負担が大きいと思われる。そこで第二章 第二節では、これまで夏季の枯死が問題であった場所でも 1 か所で定植から翌年の定植までを行うために、種芋の保管に関する基礎データの収集と、夏季から翌年春まで種芋を長期保管する技術の確立を目的として *A. carmichaeli* 子根の保管方法を検討した。

1) 長期保管に適した条件を探るため、まずは保管温度、保管場所、保管方法の検討を試みた。

2) 冷所条件を前提とした保管方法について、緩衝材の種類、草木灰の有無、ひげ根の有無について検討を行った。草木灰はジャガイモを小さく切断して定植する際の、切断面の保護剤として一般的に販売されている。*A. carmichaeli* の子根を外すときに生じる切断面に保護剤として転用可能であるか検討をした。また、*A. carmichaeli* の子根には多数のひげ根が存在する。ひげ根があると体積が増えるので保管場所が圧迫されることが想定される一方、根を取ることで傷口から腐敗する可能性や、根を残すことで表面積が増えて保管中に乾燥しやすくなる可能性が考えられる。ひげ根の有無が保管状態や定植後の成長に影響を与えるか検討を行った。

第二項 実験材料・方法

材料：金沢大学・薬用植物園で収穫した *A. carmichaeli* 子根

1) 保管温度の検討

実験区の設定

2019年7月2日に試験栽培場で *A. carmichaeli* を収穫し、軽く洗浄した後に子根を外した。収穫した子根を8等分し、保管温度、保管場所、保管方法が異なる下記の実験条件で2019年7月22日まで保管した（表6）。

保管温度：常温条件（条件1から条件6）と冷所条件（条件7と条件8）を設け、冷所条件は金沢大学・薬用植物園管理棟内にある4℃の冷蔵庫に入れた。

保管場所：屋外保管を実施した条件1から条件4までは金沢大学・薬用植物園内の試験栽培場に静置した。屋内保管を実施した条件5から条件8までは同園の管理棟内に静置し、条件条件7と条件8は同園管理棟内の冷蔵庫に入れた。

保管方法：培養土に埋めた条件 1, 条件 2, 条件 5, 条件 6 は用土としてガーデニング培養土（株式会社かんでんエルファーム）20 L を使用し，条件 1 と条件 2 は直径 10.5 cm のビニルポット，条件 5 と条件 6 は 10 L のバケツに培養土を入れて子根を埋めた．新聞に包んだ条件 1, 条件 2. 条件 7, 条件 8 は新聞紙 2 枚を重ねて子根を包んだ後に，乾燥防止を目的として新聞紙を湿らせた．

表 6. 実験条件

	保管温度	保管場所	保管方法	ひげ根
条件 1	常温	屋外	ビニルポット内の培養土に埋めた	有
条件 2				無
条件 3			湿らせた新聞紙に包んだ	有
条件 4				無
条件 5	冷所 (4℃)	屋内	バケツ容器内の培養土に埋めた	有
条件 6				無
条件 7			湿らせた新聞紙に包み，発泡スチロール容器に入れた	有
条件 8				無

2) 冷蔵保管条件の検討

実験区の設定

2019 年 8 月 26 日に栽培試験場でハナトリカブトを収穫し，軽く洗浄した後に子根を外した．子根を 8 つの群に分け，下記の条件で 2020 年 4 月まで冷蔵保管し，子根の状況を観察した（表 7，図 32 参照）．これらの苗を 2020 年 4 月に定植し，萌芽率と 7 月の

生育状況として草丈を計測した。

保管温度と保管場所：4個の発泡スチロール容器を使用し，金沢大学・薬用植物園管理棟内にある4℃の冷蔵庫に保管した。

緩衝材と草木灰：条件1から条件4まではもみ殻（株式会社タカショー）を使用し，条件5から条件8まではバーミキュライト（株式会社プロトリーフ）を使用した。また条件1，2，5，6は子根の切断面に草木灰（朝日工業株式会社）をつけた。

表 7. 実験条件

	保管温度	保管場所	緩衝材	草木灰	ひげ根	
条件 1	冷所 (4℃)	発泡スチロール 容器①	もみ殻	有	有	
条件 2					無	
条件 3		発泡スチロール 容器②		無	有	
条件 4					無	
条件 5		発泡スチロール 容器③	バーミキュラ イト	有	有	
条件 6					無	
条件 7			発泡スチロール 容器④	無	無	有
条件 8						無



図 32. 使用した発泡スチロール容器

萌芽率と生存率，草丈の計測方法

2019年8月26日から2019年4月16日まで保管した子根を試験栽培場に定植し，一か月後に芽が確認できた数を萌芽株数として萌芽率を算出した．また，2020年7月21日に試験栽培場で地上部が確認でき，軽く引いても茎が抜けない株数を生存株数とし，生存率を算出した．草丈は地面から茎頂までの高さとした．

$$\text{萌芽率 (\%)} = \text{萌芽株数} / \text{定植株数} \times 100$$

$$\text{生存率 (\%)} = \text{生存株数} / \text{定植株数} \times 100$$

第三項 実験結果

1) 保管温度の検討

異なる気温と場所で子根を20日間保管した結果を示す(図33)．

条件1と条件2

屋外の培養土内に保管した条件1と条件2は全ての株が腐敗し，ポットの中に子根を確認することが出来なかった．

条件 3 と条件 4

屋外に新聞紙を置いて保管した条件 3 と条件 4 は子根が腐敗せず形を保っており外見に問題は見られなかったが、新聞紙の下にムカデやダンゴムシが多く発生していた。条件 3 と条件 4 で変化はなく、ひげ根の有無による違いは確認されなかった。

条件 5 と条件 6

屋内の培養土内に保管した条件 5 と条件 6 では確認できる子根の数が減少し、柔らかく腐敗し始めている子根もいくつか確認された。

条件 7 と条件 8

4℃の冷蔵庫で新聞紙に包んで保管した条件 7 と条件 8 は保管開始時から外見が変わらず、保管状態が良好であった。条件 7 と条件 8 で変化は確認されなかった。

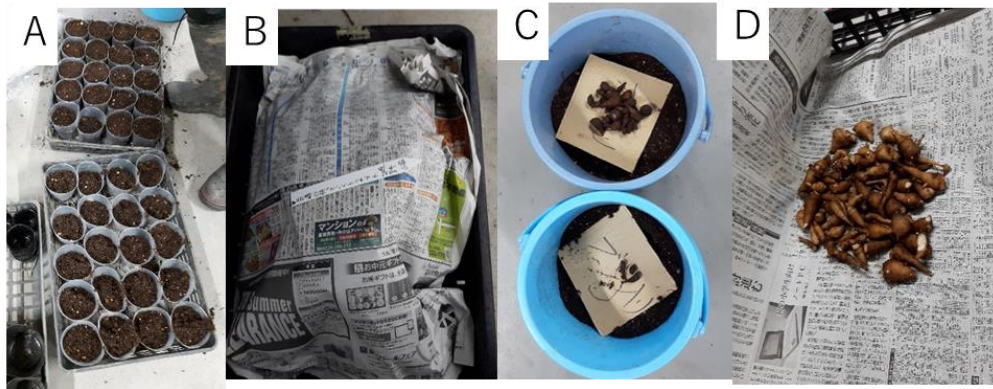


図 33. 各条件の様子

A : 条件 1 と条件 2, B : 条件 3 と条件 4, C : 条件 5 と条件 6, D : 条件 7 と条件 8

2) 冷所保管条件の検討

保存状態の経時変化

保管開始時点から 40 日後の 2019 年 10 月 4 日に経過観察を実施したときの子根の様子を示す (図 34)。もみ殻を使用した条件 1 から条件 4 は収穫直後の子根と比較して、種芋の表面にしわが入っていた一方、バーミキュライトを使用した条件 4 から条件 8 は種芋の表面が保管開始時と変わらなかった。また、草木灰をつけた条件 1、条件 2、条件 5、条件 6 は表面全体に草木灰が掛かっているために乾燥具合を表面から判断することが出来なかったが、種芋は硬く、カビの発生は確認されなかった。

次に保管開始から約 100 日後の 2019 年 12 月 4 日に 2 度目の経過観察を実施した。100 日経過後は草木灰の有無によらず、1 個を除きほぼ全ての子根で腐敗はカビが確認されなかった。しかし、もみ殻を使用して保管した条件 1 から条件 4 でもみ殻にカビが散見された (図 35)。また、条件 1 の子根で新芽が出始めていたが、他の条件では子根に動きが見られなかった。



図 34. 草木灰をつけていない群の子根の様子 (2019 年 10 月 4 日撮影)

もみ殻使用群：条件 3 と条件 4，バーミキュライト使用群：条件 7 と条件 8

子根のひげ根ありの群：条件 3 と条件 7，子根のひげ根を除去した群：条件 4 と条件 8

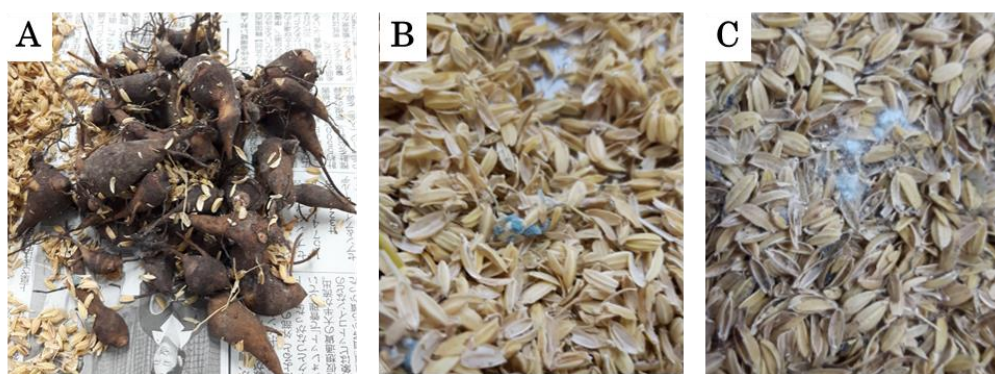


図 35. もみ殻で保管した条件 4 の様子

A：子根，B, C：もみ殻に発生したカビ

定植後から約一ヵ月後の生育

生育状況

2019年4月16日の栽培試験場の様子を示す(図36)。条件7は定植した20株が全て萌芽し、他群と比較して生育良好であった。

萌芽率と草丈

2019年8月26日から2020年4月16日まで4℃で保管した子根を試験栽培場へ定植し、約一ヵ月後の5月22日に萌芽率と草丈平均を計測した(表8)。その結果、萌芽率はもみ殻を使用した条件1と2、条件3と4と比較して、バーミキュライトを使用した条件5と6、条件7と8で高くなった。特に、萌芽率と平均草丈はどちらも緩衝材としてバーミキュライトを使用し、灰をつけなかった条件7および条件8で最も高くなった。

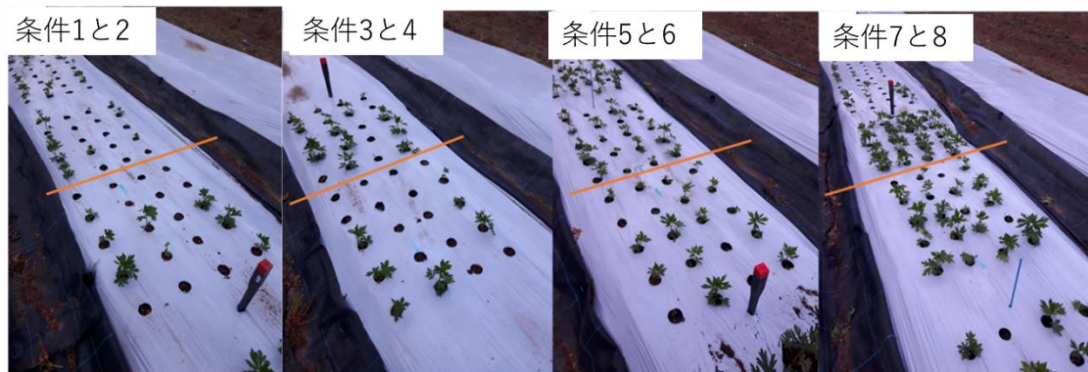


図36. 定植から一ヵ月後の試験栽培場の様子(2020年5月22日撮影)

もみ殻使用群：条件1と2と3と4，バーミキュライト使用群：条件5と6と7と8，
草木灰有：条件1と2と5と6，草木灰無：条件3と4と7と8，子根のひげ根ありの
群：条件1と3と5と7，子根のひげ根を除去した群：条件2と4と6と8，
赤線の手前はひげ根有の条件1と3と5と7，赤線の奥はひげ根無の条件2と4と6と
8. 各20株ずつ定植した。

表 8. 定植から一ヵ月後の萌芽率と草丈

	条件1と2	条件3と4	条件5と6	条件7と8
萌芽率 (%)	42.5	57.5	92.5	92.5
草丈平均 (cm)	7.0	7.1	8.5	10.5

もみ殻使用群：条件 1 と 2 と 3 と 4, バーミキュライト使用群：条件 5 と 6 と 7 と 8,
 草木灰有：条件 1 と 2 と 5 と 6, 草木灰無：条件 3 と 4 と 7 と 8, 子根のひげ根ありの
 群：条件 1 と 3 と 5 と 7, 子根のひげ根を除去した群：条件 2 と 4 と 6 と 8,

収穫時期の生育

生育状況

2020 年 7 月 21 日の試験栽培場の様子を示す (図 37). もみ殻を使用した条件 1, 条件 2, 条件 3, 条件 4 は欠株が目立ち, 残っている株も葉の色が一部黄色に変色している一方で, バーミキュライトを使用した条件 5, 条件 6, 条件 7, 条件 8 は葉が生い茂り生育良好であった.

生存率

2020 年 7 月 21 日における試験栽培場の生存率を示す (図 38). もみ殻を使用した条件 1, 条件 2, 条件 3, 条件 4 の生存率はそれぞれ 35%, 45%, 25%, 70%であり, バーミキュライトを使用した条件 5, 条件 6, 条件 7, 条件 8 の生存率 85%, 75%, 90%, 90%と比較して低かった.

草丈

2020年6月29日に計測した草丈の結果を示す(図39)。もみ殻を使用した条件1, 条件2, 条件3, 条件4の草丈はそれぞれ27.7 cm, 18.6 cm, 27.0 cm, 24.2 cmであり, バーミキュライトを使用した条件5, 条件6, 条件7, 条件8の草丈30.1 cm, 34.0 cm, 41.7 cm, 50.0 cmと比較して低かった。草丈が最も大きい群は条件8であった。



図37. 収穫時期の試験栽培場の様子(2020年7月21日撮影)

もみ殻使用群: 条件1と2と3と4, バーミキュライト使用群: 条件5と6と7と8,
草木灰有: 条件1と2と5と6, 草木灰無: 条件3と4と7と8, 子根のひげ根ありの群: 条件1と3と5と7, 子根のひげ根を除去した群: 条件2と4と6と8,
赤線の手前はひげ根有の条件1と3と5と7, 赤線の奥はひげ根無の条件2と4と6と8.
8. 各20株ずつ定植した。

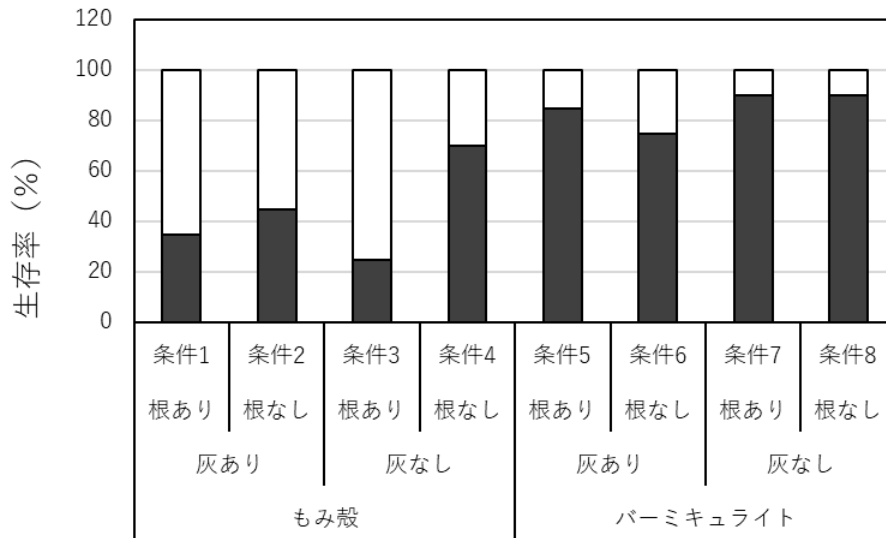


図 38. 収穫時期の生存率

測定日は 2020.07.16. n = 20.

生存率 = 地上部が確認でき、かつ、根が張っている株数 / 定植した株数 × 100

灰あり：子根の切断面に草木灰をつけた群，灰なし：子根の切断面に草木灰をつけなかった群，根あり：子根のひげ根を残した群，根なし：子根のひげ根を除去した群

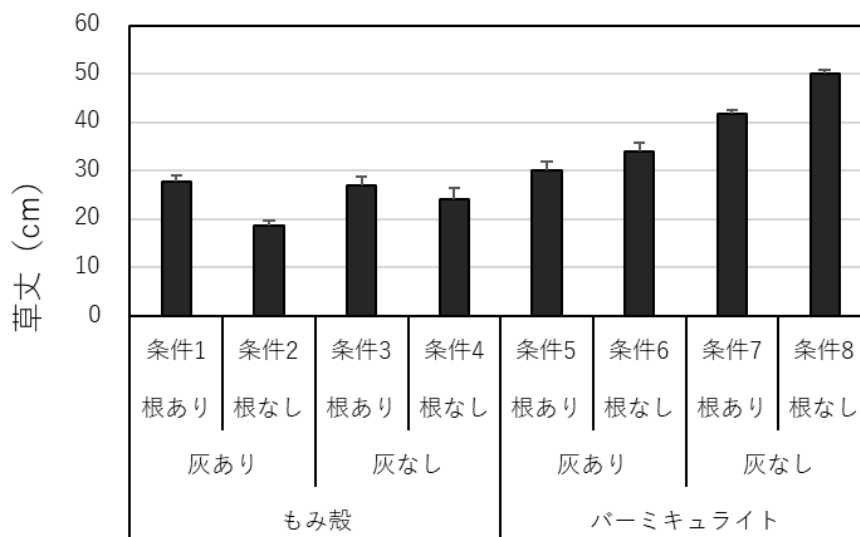


図 39. 収穫時期の草丈

地上から一番新しい葉の起始部までの高さを計測した。測定日は 2020.6.29. n = 20

第四項 考察

1) 異なる気温と場所で子根を 20 日間保管したところ、屋外の培養土内に 20 日間保管した条件 1 と条件 2 は全ての株が腐敗した。今回実験を行った 2020 年 7 月上旬は第一章第一節で最も枯死が発生しやすい時期にあたることを確認している。保管時期による枯死リスクの高さと、雨が当たる屋外に静置したことによる湿度が腐敗の原因と考えられる。また、屋外に新聞紙を置いて保管した条件 3 と条件 4 は新聞紙下にムカデとダンゴムシなどの害虫が多く発生していたことから、保管を続けることでダンゴムシによる食害が生じることが示唆された。条件 1 から条件 4 までの結果により、子根の屋外保管は不適だと思われる。さらに、屋内の培養土内に保管した条件 5 と条件 6 では複数の腐敗した子根が確認された。外形が残っていたことから条件 1 や条件 2 より腐敗の進行は遅いが、保管期間が今回の 20 日間より長くなることで腐敗する株が増加することが想定される。したがって、屋内保管でも培養土の使用は子根の保管に適していないと考えられる。

一方、冷蔵保管した条件 7 と条件 8 は全ての株が保管開始時から外見が変わらず、保管状態が良好であった。条件 1 から条件 6 までの常温環境が子根の保管に不適であったことから、早期収穫を前提とした *A. carmichaeli* 栽培において、数ヵ月以上の長期保管を行う場合は冷所保管が必要であることが示唆された。また、4℃の冷所で保管を続けると天候に左右されずに種芋となる子根を管理できることから、リスク回避としても有用だと思われる。

2) 冷所保管条件の検討

保管状態の経時変化

2020 年 4 月 16 日に経過観察を行った結果、もみ殻を使用した群は収穫直後の子根と比較して種芋の表面にしわが入っていた一方、バーミキュライトを使用した群は種芋の表

面が保管開始時と変わらなかったことから、もみ殻群で子根の乾燥が進んでいることが示唆された。使用したバーミキュライトともみ殻は未開封の製品だったため、実験開始時にもみ殻自体が乾燥しており、種芋の水分が吸われてしまったのだと思われる。

定植から一ヵ月後の生育

2020年5月22日に萌芽率と草丈を計測したところ、もみ殻を使用した群で萌芽率と草丈が低かった。萌芽率が低かったもみ殻群は保管時に子根が乾燥していることが示唆されていたため、これが定植後の萌芽に影響したと思われる。また、バーミキュライトを使用した群は草木灰の有無によらず萌芽率が92.5%と高い値であったことから、バーミキュライトを使用することで子根の萌芽能力を抑制させずに長期保管することが可能であると示唆された。

収穫時期の生育

2020年7月21日に試験栽培場の生存率を計測したところ、もみ殻を使用した群はバーミキュライトを使用した群と比較して生存率が低かった。これは定植から一ヵ月後の萌芽率と同じ傾向であることから、定植一ヵ月後に萌芽しない株はその後も成長しないことが示唆された。また、バーミキュライトを使用した群において、収穫時期の草丈は草木灰有の群よりも草木灰無の群で高く、子根のひげ根有の群よりもひげ根無の群で高かったことから、保管条件として草木灰をつけず、子根のひげ根を除去する方法が適していると考えられる。

第二章 小括

第二章では定植前のハナトリカブトについて、冬季の育苗方法と、収穫後の種芋の長期保管方法に関する検討を行った。第一節では、冬季の育苗方法を検討した。種芋重量は小さいほうが、育苗後の生存状況が良いことが示唆された。また、冬季の育苗が塊根の早期肥大に効果的であることが明らかとなった。特に、冬季にビニルハウスで育苗すると夏季により大きな塊根を収穫できた。さらに、育苗した子根の成分を定量した結果、一般的なハナトリカブトの栽培では冬季に成分含量は変化しないとされていたが、育苗によって含量が変化する可能性が示唆された。

第二節では、ハナトリカブト栽培に使用する種芋の長期保管方法について検討を行った。その結果、収穫した子根は洗浄してひげ根を除去した後、パーミキュライトを使用し、草木灰をつけず、ひげ根を除去して冷蔵保管することで、定植後の生育を妨げずにハナトリカブト苗を長期保管できることが明らかとなった。

総括

本研究では国内で使用量が増加している漢方生薬「附子」について、生産体制を強化するための栽培技術向上を目的とし、附子原植物である *Aconitum* 属植物の試験栽培を実施した。特に、これまで夏季の栽培が困難であった環境で *A. carmichaeli* を安定して栽培する方法の確立を目指した。

第一章では *A. carmichaeli* を早期収穫方法の確立を目的とし、夏季の生育状況と収穫量および早期収穫に伴う栽培処理方法を検討した。その結果、梅雨明け直後の早期収穫を実施することで夏季の枯死リスクが軽減した。また栽培中の子根の間引きや摘心処理によって早期収穫時の子根の収穫量が増加することも明らかにした。

第二章では第一章で提案した早期収穫を含む新たな栽培法を完成させることを目的とし、*A. carmichaeli* の栽培時期以外に着目した。冬季の育苗方法と、収穫から定植までの保管方法の検討を試みた。その結果、冬季に育苗すること定植後の生育が早まり、早期収穫した場合に成分含量と収穫量が増加した。また、冷所保管することで種芋の長期保管が可能であった。これにより早期収穫を前提とした 1 年間の新たな栽培歴が完成し、これまで夏季の枯死リスクが高く栽培が困難であった環境で *A. carmichaeli* を安定して栽培できる方法が明らかとなった。附子生産を目的とした *Aconitum* 属植物の国内栽培はこれまで北海道や東北地方等の比較的寒冷的な場所に限られていたが、本研究で提案した早期収穫を実施することで、今回試験栽培を実施した石川県を含む東北地方以南に栽培地を広げられる可能性が示された。

以上、これらの成果は国内における *A. carmichaeli* の栽培適地拡大に貢献し、生薬附子の国内自給率向上に寄与する。

実験の部

使用試薬

Ultrapure Water (富士フィルム和光純薬株式会社 Lot: TPP2174)

Methanol LC/MS 用 (和光純薬工業株式会社 Lot: APP0189)

Methanol HPLC 用 (富士フィルム和光純薬株式会社 Lot: TPG3781)

Acetonitrile (EMD Millipore Corporation Lot: I1138629 111)

di-Sodium Hydrogenphosphate 12-Water (ナカライテスク株式会社 Lot: M6B6449)

Formic Acid (富士フィルム和光純薬株式会社 Lot: DLM3176)

Phosphoric Acid (富士フィルム和光純薬株式会社 Lot: V9T1801)

25% Ammonia Solution (富士フィルム和光純薬株式会社 Lot: CAR1533)

Diethyl Ether (和光純薬工業株式会社 Lot: TMN4823)

分析機器

遠心機 Centrifuge 5417R (Eppendorf Co., Ltd.)

小型卓上遠心機 (株式会社コクサン H-18F)

恒温乾燥機 (Panasonic MOV-112-PJ)

超音波洗浄器 (アズワン株式会社 MCS-13 Lot: 121116-0016)

LC/MS

超高速高分離液体クロマトグラフィー (UPLC)

システム : (Waters ACOQUITY CLASS H)

MS : Xevo G2SQTOF

データ解析 : MassLynx (Waters)

エバポレーター

ロータリー：N-N SERIES（東京理化工機株式会社）

ポンプ：FTP-10A（KNF Japan）

冷却器：CLU-34（株式会社 IWAKI）

標品の調整と検量線

表 9. 使用した標品

商品名	購入会社	含有成分
ブシジエステルアルカロイド混合標準物質	富士フィルム和光 純薬(株) Lot: APK4632	• Mesaconitine 0.1 mg • Hypaconitine 0.15 mg • Aconitine 0.05 mg • Jesaconitine 0.05 mg
ブシモノエステルアルカロイド混合標準物質	富士フィルム和光 純薬(株) Lot: KCJ5842	• Benzoylmesaconine Hydrochloride 0.1 mg • Benzoylhypaconine Hydrochloride 0.05 mg • 14-Anisoylaconine Hydrochloride 0.1 mg
Benzoylaconine	Cayman Chemical	• Benzoylaconine 1 mg
Aconine	Cayman Chemical	• Aconine 1 mg

調製方法

ブシジエステルアルカロイド混合標準物質とブシモノエステルアルカロイド混合標準物質に MeOH を各 5 mL、Benzoylaconine 標準品と Aconine 標準品に MeOH を各 2.5 mL 加え、Aconitine と Benzoylmesaconine Hydrochloride 濃度が各 $10\ \mu\text{g/mL}$ 、Benzoylaconine と Aconine が各 $400\ \mu\text{g/mL}$ になる溶液 (BDA 混合液、BMA 混合液、BA 溶液、A 溶液) を調製した。BA 溶液を 9 倍、A 溶液を 10 倍希釈した後にそれぞれ 2 mL ずつ混和させ、BA・A 混合溶液とした。この BA・A 混合溶液を段階希釈して Aconine 濃度が 0.02、0.01、 $0.005\ \mu\text{g/mL}$ となる BA・A 混合溶液を調製した。

5mL チューブに MeOH 2 mL と 2 倍希釈した BDA 混合液、2 倍希釈した BMA 混合液、Aconine 濃度 $0.005\ \mu\text{g/mL}$ の BA・A 溶液を各 1mL ずつ加えて全量 5 mL とし、Aconitine、Benzoylmesaconine Hydrochloride、Aconine 濃度が各 $1\ \mu\text{g/mL}$ 、Benzoylaconine 濃度が $1.1\ \mu\text{g/mL}$ となるアコニチン系アルカロイド混合溶液を調製した。この混合溶液を段階希釈し、Aconitine が 0.5、0.25、 $0.05\ \mu\text{g/mL}$ 溶液を作成した。これらをフィルター (Syringe fltr PTFE-HI 13 mm $0.45\ \mu\text{m}$, Agilent Technologies) でろ過したのち、HPLC で測定した。

次に、フィルターに通す前の Aconitine 濃度 $0.25\ \mu\text{g/mL}$ アコニチン系アルカロイド混合溶液を段階希釈し、Aconitine 濃度が 0.225、0.1125、0.0225、0.0045、0.0009、0.00018、 $0.00009\ \mu\text{g/mL}$ となる混合溶液を調製した。これら混合溶液と内標準物質 (Caffeine) を 9:1 で混和させた後、13000 rpm で 5 分間遠心分離し、上清を回収して LC/MS で分析した。上記で調製した溶液の各濃度に対するピーク面積を使用し、検量線を作成した。

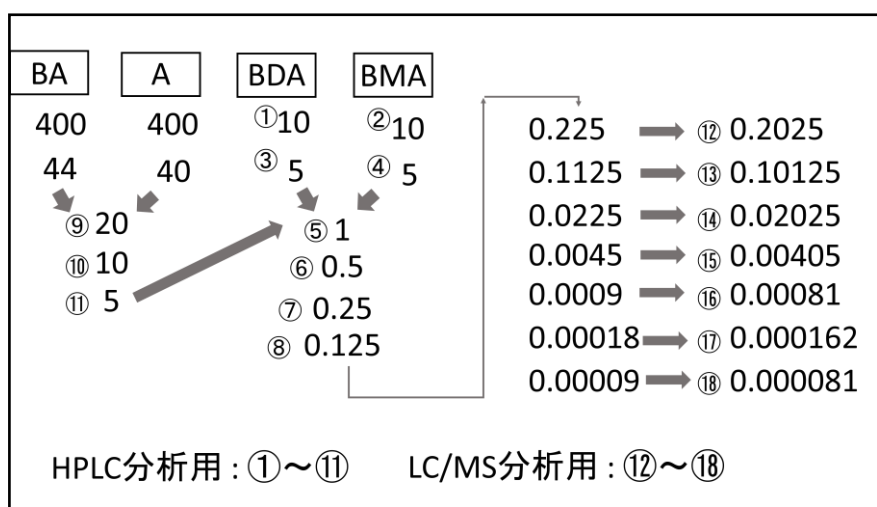


図 40. 調製したサンプルの濃度一覧 (μg/mL)

〈LC/MS 条件〉

Unison UK-C18HT, 75 x 2 mm, Column temperature: 40°C, Injection volume: 2 μL, Mobile phase :(solvent A), 0.3% Formic acid, (solvent B), acetonitrile, Gradient condition: 2% B (0–2 min), 2–5% B (2–4 min), 5–15% B (4–7 min), 15–35 % (7–19 min), 2% (19.1–24 min), Flow rate: 0.5 mL/min

- 現在の抽出方法を用いた場合の濃度概算

子根中の化合物含量が 1000 μg/g のとき

【LC/MS】

〈抽出方法〉³⁴⁾ 附子粉末 250 mg を水 1.5 mL で混和. アンモニア試液とジエチルエーテルで 3 回抽出した後、全抽出液を集めて溶媒を減圧留去. 残留物を MeOH 20 mL でメスアップし、50 倍希釈. 希釈した溶液 1350 μL と Caffeine 150 μL を混和させ、遠心 (12000 rpm, 5 min). 上清を回収してサンプルとする.

$$1000 \mu\text{g/g} \times 0.25 \text{ g} \times 1/20 \text{ mL} \times 1/50 \times 0.9 = 0.225 \mu\text{g/mL}$$

【LC/MS】

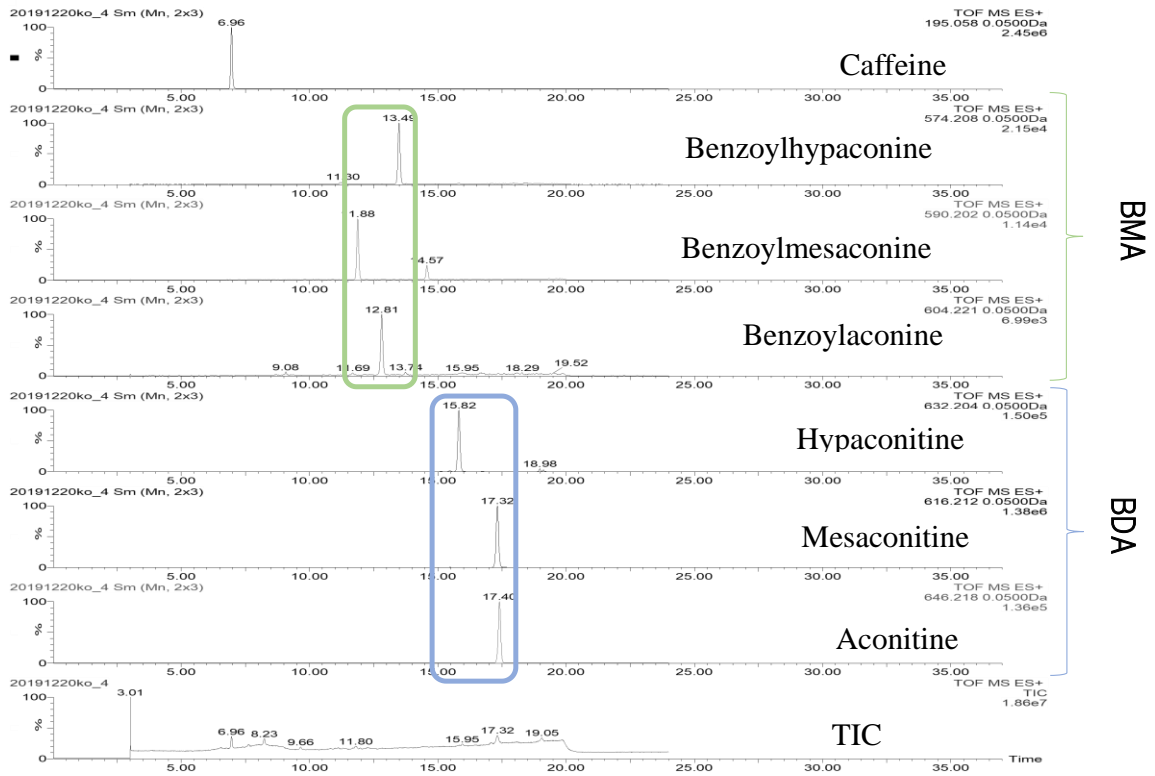


図 41. LC/MS のプロファイル

【LC/MS】

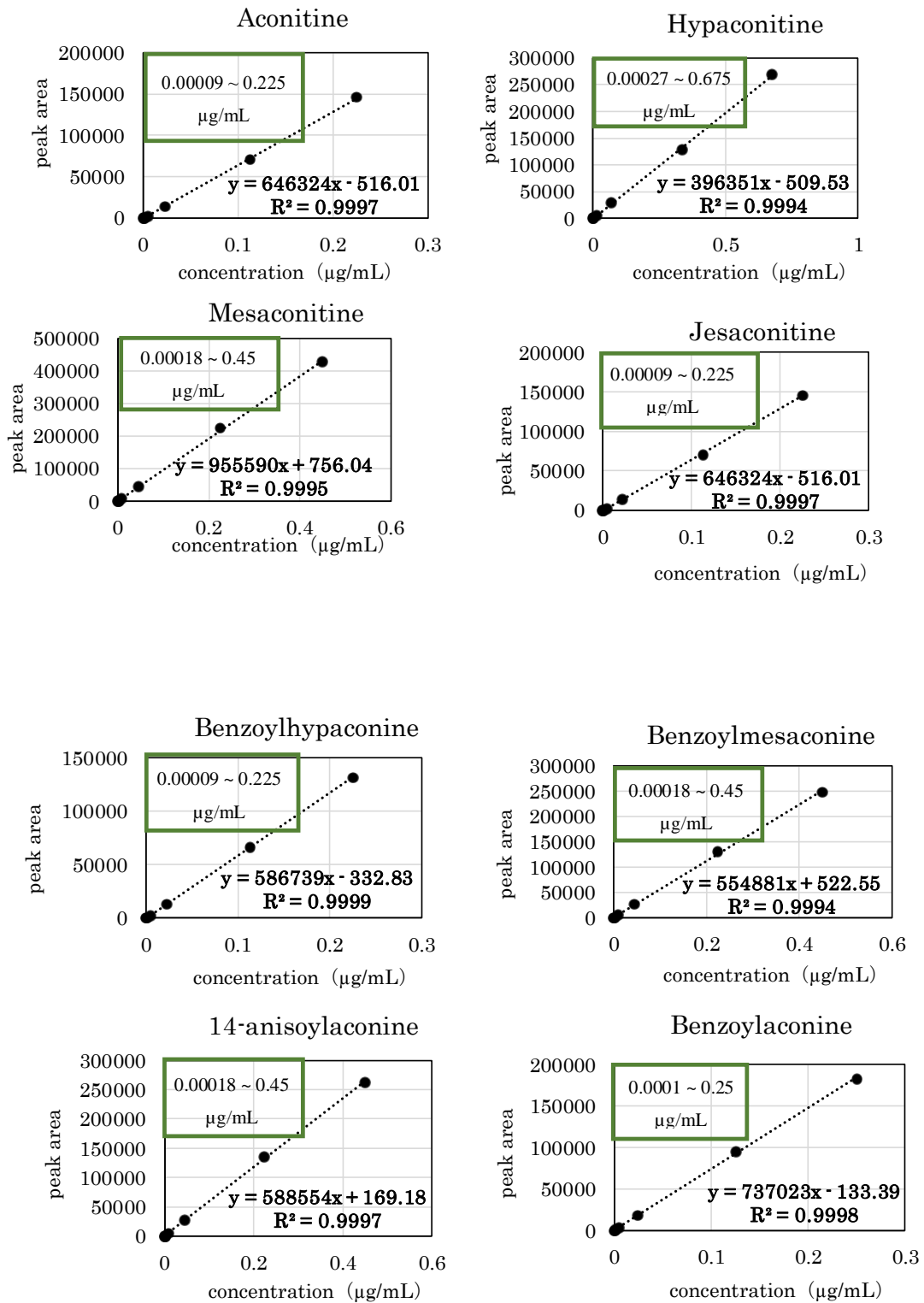


図 42. アコニチン系アルカロイドの検量線

第一章 第二節



図 43. 「大」に分類した子根



図 44. 「中」に分類した子根

表 10. 栽培試験場の割り付け (2020 年収穫)

定植時期	実験区	子根の間引き回数	摘心回数	収穫時期	株数
秋 (12月)	A	×	×	7月	51
	B	1回	×		51
	C	2回	×		51
	D	×	1回		51
	E	×	2回		51
	F	2回	2回		51
	G	1回	1回		51

	摘心 0 回			摘心 1 回		摘心 2 回		
他実験用	A	C	B	G	D	E	F	他実験用

引用文献

- 1) 厚生労働省 (2021) 第十八改正日本薬局方, 2039-2040
(<https://www.mhlw.go.jp/content/11120000/000788459.pdf>)
- 2) 謝鳳 = 他 (1995) 中藥原色図譜及栽培技術. 金盾出版, 中国, P188
- 3) Yu M, Yang YX, Shu XY, Huang J, Hou DB, *Aconitum carmichaelii* Debeaux, cultivated as a medicinal plant in western China. *Genet Resour Crop Evol* **63**:919–924 (2016)
- 4) 嶋田豊, 藤永洋, 引網宏彰, 後藤博三, 伊藤隆, 古田一史, 三瀨忠道, 寺澤捷年, 高齢者の手足腰の痛み・脱力感・しびれ・冷えに対する八味地黄丸の効果. *日本東洋医学雑誌*, **48**:437–443 (1998)
- 5) 関口由紀, 畔越陽子, 河路かおる, 長崎直美, 永井美江, 金子容子, 吉田実, 窪田吉信, 腹圧性尿失禁に対する麻黄附子細辛湯の効果の検討. *日本東洋医学雑誌*, **64**:340–343, (2013)
- 6) 岸田友紀(2014) 骨関節疾患に対する漢方薬の利益性効果. *漢方薬理学* 143:69–72
- 7) 公益財団法人日本特産農産物協会 (2022) 地域特産作物 (工芸作物, 薬用作物及び和紙原料等) に関する資料 (令和2年産), 東京
- 8) 公益財団法人日本特産農産物協会 (2012) 特産農産物に関する生産情報調査結果 (平成24年), 東京
- 9) 山本豊, 笠原良二, 平雅代, 武田修己, 樋口剛央, 山口能宏, 白鳥誠, 佐々木博, 日本における原料生薬の使用量に関する調査報告 (2), *生薬学雑誌*, **75**:89–105 (2021)
- 10) Wang W, Zhang D, Wen H, Wang Q, Peng C, Gao J, Soil fungal biodiversity and pathogen identification of rotten disease in *Aconitum carmichaelii* (Fuzi) roots., *PLoS ONE*, **13** (2018)
- 11) 苏泽春, 和建英, 杨丽云, 和桂花, 李兆光, 和桂青, 云南省迪庆州附子母根与子根表型性状的相关性分析. *中国农学通报*, **34**:71–77 (2018)

- 12) Kawasaki R, Motoya W, Atsumi T, Mouri C, Kakiuchi N, Mikage M, The relationship between growth of the aerial part and alkaloid content variation in cultivated *Aconitum carmichaeli* Debeaux, *J Nat Med*, **65**:111-115 (2011)
- 13) 高山清子, 上原直美, 寺山晃司, 西村幸江, 鈴木郷, 野口翔, 竹原瑛梨奈, 野口辰美, トリカブトに含まれるアコニチン系アルカロイドの定量及び PCR を用いたトリカブトの鑑別, *宮崎県衛生環境研究所年報*, **30**:107-111 (2018)
- 14) 川口敷美, 石崎昌洋, 薬用植物トリカブトの育種と栽培の研究, 1 成分に関わる育種目標の設定, *薬用植物研究*, **33**:14-20 (2011)
- 15) 能勢充彦, 新井哲也, 趙長崎, ブシ及びブシ含有漢方製剤, 生薬製剤中のアコニチン系アルカロイドの定量. *生薬学雑誌* **55**: 124-133 (2001)
- 16) 高橋真太, 郎治療剤としての附子の諸問題. *日本東洋医学雑誌*, **19**: 95-98 (1968)
- 17) 大井逸輝, 河崎亮一, 田中健太郎, 御影雅幸, 附子の品質と毒性に関する史的考察, *日本東洋医学雑誌*, **63**:305-312 (2012)
- 18) 公益財団法人日本特産農産物協会 (2021) 薬用作物および和紙原料等に関する資料令和 02 年調査報告書 (令和元年産), 東京, P33-34
- 19) 藤田苗之助 (1972) 薬用植物栽培全科. 農文協(編). 総合化学出版社. 東京, p157-161
- 20) 本間尚次郎, 南山豊, 山岸喬 (1983) 生薬原料作物栽培の手引き, 三橋博監修, 株式会社ケー・ユー出版, 東京, P41-45
- 21) 岩館康哉, 佐々木陽菜, 菅広和, 千田裕, 館田知佳, 藤崎恒喜, 薬用植物オクトリカブトに発生した白絹病. *北日本病虫研報*, **69**:55-59 (2018)
- 22) 滝昌則, 松葉知浩, 福地幹男, 油田正樹, 岡田稔, 北海道と茨城県で栽培したハナトリカブト(*Aconitum carmichaeli* DEBX.)の生育及び塊根成分の季節変動比較, *生薬学雑誌*, **58**:55-63 (2004)
- 23) Inoue S, Okumura K, Makino T, Hirota T, Classifying Hokkaido climate by cluster analysis

- and hythergraph. *Climate in Biosphere*, **17**:64–68 (2017)
- 24) 葛西光希, 木村圭司, 1km メッシュデータによる北海道の気候変動解析, *地理学論集*, **88**:37–48 (2013)
- 25) 石田奈菜, 北海道における薬用植物栽培の特徴, *地理学論集*, **93**:1–7 (2018)
- 26) 侯大斌 (2005) 川乌 (*Aconitum carmichaeli* Debx.) 生物学与遗传多样性研究. 四川农业大学, 中国
(https://kns.cnki.net/kcms/detail/detail.aspx?dbcode=CDFD&dbname=CDFD9908&filename=2005140795.nh&uniplatform=NZKPT&v=98FcEYAeyY3vTWG9p2Aml5-uzgukgmmH5lp37cnoRVtbF0qsJY4WMqHUQvMJg_-)
- 27) 赵利华, 罗霞;余马, 杨玉霞, 黄晶, 侯大斌, 打顶对附子的产量及有效成分的影响, *时珍国医国药*, **29**:1732–1734 (2018)
- 28) 杨正明, 刘哲, 邓秋林, 陈雨, 张亚琴, 刘圆, 王少军, 章卉, 陈兴福, 四川道地产区江油附子和川乌中 4 种核苷类成分含量测定及多元统计分析, *中草药*, **49**:5657–5664 (2018)
- 29) 気象庁, 過去の気象データ検索, <https://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/>, (参照 2021 年 9 月 16 日)
- 30) 川口敷美, 石崎昌洋, 薬用植物トリカブトの育種と栽培の研究, 育成系統と対照品種の地上部, 地下部及び成分特性の比較とそれらの特性間の相関関係, *薬用植物栽培研究* **36**:13–27 (2014)
- 31) 岡田浩明, 川口敷美, トリカブトの栽種子根の大きさが生育及び成分含量に及ぼす影響について, *Natural Medicines*, **58**:49–54 (2004)
- 32) Kudo Y, Hirokazu Ando H, Yohei Sasaki Y, Studies on cultivation of *Angelica acutiloba* using paper pot (Part 2): Effect of difference in taproot base diameter of seedlings on growth after planting and quality of toki produced from paper pot seedlings. *J Nat Med*, **75**:565–576

(2021)

- 33) Yoshie Y, Ando H, Yoshihara K, Fukuda K, Sasaki Y, Study on morphological and genetic diversity of *Rehmannia glutinosa* cultivated in Japan. *J Nat Med*, **76**:352–366 (2021)
- 34) Minami M, Yasueda M, Shirako T, Murakami T, Mori T, Fujii T, Atsumi T, Shibata T, Kadota Y (2019) Ecological, phylogenetical, and pharmacognostical characteristics of *Aconitum kiyomiense* endemic to Hida highlands, Takayama city, Gifu Prefecture, Japan. *J Nat Med* **73**:523–532 (2019)
- 35) Zhang DK, Han X, Li RY, Niu M, Dong Q, Yang M, Wang JB, Xiao XH, Investigation of the chemical markers for experiential quality evaluation of crude aconite by UHPLC–Q-TOF-MS. *J Sep Sci* **39**:4281–4289 (2016)
- 36) 御影雅幸, 松山和寛, 川崎亮一, 垣内信子, 附子の栽培研究—アルカロイド含量が安定した附子製造原料作出のための条件—, *薬用植物研究*, **33**:1–6 (2011)
- 37) 川口敷美, 石崎昌洋, 薬用植物トリカブトの育種と栽培の研究 (13) 収量と成分含有量に及ぼす施肥量の影響およびそれら特性間の相関関係, *薬用植物研究*, **36**:22–23 (2014)
- 38) 滝昌則, 寺林進, 松葉知浩, 佐々木博, 福地幹男, 岡田稔, 中国及び日本における「ブシ」の品質評価, *Natural medicines*. **56**:163–172 (2002)
- 39) 石崎昌洋, 川口敷美, 高橋行継, 和田義春, トリカブトの塊根の大きさとアコニチン系アルカロイド成分含有率との関係および塊根内での成分の分布について, *日本作物学会紀事*, **87**:76–82 (2018)
- 40) Matsuyama K, Tatsukawa S, Kakiuchi N, Mikage M The effect of planting depth, disbudding, and root pruning on root weight and aconite alkaloid content of the tuberous root of aconite. *J Nat Med*, **61**:127–130 (2007)
- 41) 岡田浩明, 川口敷美, トリカブトにおける成分特性の年次内と年次間変化, *Natural*

Medicines, **59**:36–41 (2005)

- 42) Sadik Ebrahim, Hussien Mohammed, Tewodros Ayalew Effects of seed tuber size on growth and yield performance of potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties under field conditions. *Afr. J. Agric. Res.* **13**:2077–2086 (2018)
- 43) 秦利芬, 杨玉琴, 不同采收期的附子中 3 种乌头碱的含量比较. *微量元素与健康研究*, **29**:31–32 (2012)
- 44) 侯大斌, 任正隆, 川乌(附子)块根质量与摘心留叶数对附子产量的影响. *中国中药杂志* **7**:594–596 (2006)

謝辞

本研究を遂行するにあたり、終始丁寧なご指導と薬用植物に関わる多くのご機会を賜りました金沢大学大学院 医薬保健学総合研究科薬学系 佐々木陽平教授に心から感謝申し上げます。研究計画の立案から投稿論文の受理にいたるまで多大なるご指導を賜りました金沢大学大学院 医薬保健学総合研究科薬学系 安藤広和助教に深くお礼申し上げます。大学の学部生であった私に研究の基本となる多くの手技や心構えを教えてくださいました日本薬科大学漢方分野 高野文英教授に深く感謝いたします。

同じ植物を研究テーマとする先輩や後輩として、大変なときにいつも傍でご支援いただきました拉太加さんと沈致睿さんに心からお礼申し上げます。栽培研究を進めるにあたり多くのご協力とご助言をいただきました生薬学研究室の皆さま、金沢大学・薬用植物園の皆さまに深く感謝申し上げます。