

***Cistanche* 属植物の栽培研究 (第 2 報)¹⁾**
***Cistanche deserticola* Y. C. MA の栽培宿主への寄生**

泊 信義^{*,a}, 石塚康弘^a, 守屋 明^a, 小島 暁^a, 出山 武^a, 屠 鵬飛^b

^a 養命酒製造(株)中央研究所

^b 北京大学薬学部

Studies on the Cultivation of *Cistanche* Plant (II)
Parasitism by *Cistanche deserticola* Y. C. MA of Cultivated Host

Nobuyoshi TOMARI^{*,a}, Yasuhiro ISHIZUKA^a, Akira MORIYA^a,
 Satoru KOJIMA^a, Takeshi DEYAMA^a and Pengfei TU^b

^a Central Research Laboratories, Yomeishu Seizo Co., Ltd.,

2132-37 Nakaminowa, Minowa-machi, Kamiina-gun, Nagano 399-4601, Japan

^b Department of Natural Medicines, School of Pharmaceutical Sciences,
 Beijing University, Beijing 100083, China

(Received May 23, 2003)

Cistanche deserticola Y. C. MA (Orobanchaceae) is a desert living holoparasitic plant, and is the source of Chinese crude drug called "Roucongrong (肉苁蓉)". We planted *Haloxylon ammodendron* BUNGE which is the host plant of *C. deserticola* and sowed the seeds of *C. deserticola* near the roots of host plant in the experimental sand field in Nagano in Japan. The results were as follows; *H. ammodendron* grew and *C. deserticola* was parasitic to this host. The flowers of *C. deserticola* were observed in the 2nd or 3rd spring after sowing. The appearance of both plants resembled those of habitat. At the place where parasitism occurred, the tracheids of both plants were connected directly. The amount of phenylethanoid glycosides in the cultivated *C. deserticola* was higher than those in the commercial crude drugs.

Keywords: *Cistanche deserticola*; Chinese crude drug; *Haloxylon ammodendron*; Cultivation; phenylethanoid glycoside

生薬肉苁蓉は、強壮目的に漢方処方、薬酒およびドリンク剤に使用されている。「中華人民共和国薬典」²⁾には、補腎陽、益精血、潤腸通便などの効能が記されている。含有成分の phenylethanoid glycoside (PeG) には肝臓保護作用³⁾、抗酸化作用⁴⁾およびストレスにより低下した性行動や学習能力を回復する作用⁵⁾など多面的な薬効が報告されている。基原植物である *Cistanche deserticola* Y. C. MA (中国名「肉苁蓉」)^{2,6)}は、アカザ科の *Haloxylon ammodendron* BUNGE (中国名「梭梭」) および *H. persicum* BUNGE (中国名「白梭梭」) の根に寄生す

る完全寄生植物で、中国の内蒙古自治区、寧夏回族自治区、甘肅省および新疆ウイグル自治区などの砂漠地帯に分布している⁷⁾。

最大の産地は内蒙古自治区の阿拉善盟とされているが、乱獲により野生資源が減少し、国家 2 級保護植物とされている⁸⁾。現在、中国では阿拉善盟⁸⁾および寧夏回族自治区の永寧県⁹⁾において試験栽培が行なわれているが、その方法については不明な点が多い。前報¹⁾において、著者らは *C. tubulosa* WIGHT の栽培および宿主寄生部との剖見および PeG 含量について報告した。

本報では、長野県の圃場において栽培した宿主植物への *C. deserticola* の寄生を試み、寄生から開花までの生育を観察したので報告する。また、本実験で得られた寄生個体の含有成分を調べ、中国で栽培された試料との比較を行なった。

実験材料および方法

1. 実験材料

宿主植物である *Haloxylon ammodendron* BUNGE および *Cistanche deserticola* Y. C. MA の種子は、1991 年および 1993 年にいずれも内蒙古自治区阿拉善盟で採種したものをを用いた。

2. 栽培圃場

H. ammodendron および *C. deserticola* の栽培は、長野県上伊那郡箕輪町の栽培試験圃場（標高約 800 m）に、砂漠を模した砂地試験圃場（L 5 m, W 3 m, D 1.2 m）を造成して行なった。用土は川砂（容積比重 1.72, pH 7.07, 粗砂が 85.3 % を占める）とし、地上部にパイプハウスを設け、天井部分のみビニールを張り雨避けを行なった。試験地は内陸性気候であり、気温の年較差は大きく（最高約 33 °C, 最低約 -12 °C）、少雨（年間降雨量約 1,500 ~ 2,000 mm）、低湿度であることが特徴である。

3. 宿主植物 (*H. ammodendron*) の栽培

栽培は 1994 年から開始した。蓋付きのプラスチック容器（φ 80 mm, H 70 mm）にロックウールを入れ、大塚 A 処方液肥（アンモニア態窒素 23 ppm, 硝酸態窒素 233 ppm, P_2O_5 120 ppm, K_2O_3 60 ppm, CaO 230 ppm, MgO 75 ppm, MnO 1.5 ppm, B_2O_3 1.5 ppm, Fe 2.7 ppm）を 100 mL 添加し、無菌的に播種した。育苗は、人工気象器（明期：3,000 Lux 16 時間、温度 27 °C, 湿度 60 %。暗期：8 時間 全暗黒、温度 15 °C, 湿度 80 %）で行ない、1 カ月後に容器の蓋を外して順化を始め、2 カ月後に川砂：バーク堆肥：軽石（5: 3: 2）の混合土に移植した。6 ヶ月後から最低気温 17 °C のガラス温室に移した。灌水は用土の乾燥状態を見ながら適宜行なった。その後、幹基部の径が約 5 mm に達した苗から順に 14 株を 4 (2) の試験に供するため砂地試験圃場に移植した。

4. *C. deserticola* の栽培

1) 籠状ポットで栽培した宿主への寄生試験

金網（2.5 mm×2.5 mm 目）を円筒形（φ 165 mm, H 250 mm）の籠状ポットに加工し、側面をポリスチレンフォーム保温材（アディア株）で覆い、川砂を入れて宿主の

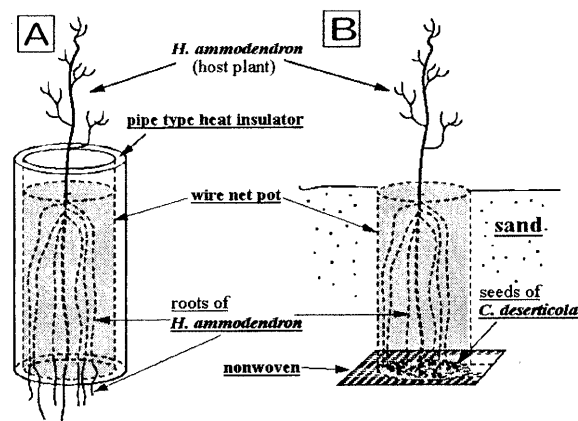


Fig. 1. Sowing procedure of *Cistanche deserticola* seeds in the wire net pot

A: host preparation : the host plant was planted in the wire net pot covered with pipe type heat insulator until the roots appear from the underside of the pot in the greenhouse.

B: method of sowing : seeds of *C. deserticola* were sown in the experimental sand field using the nonwoven.

苗（幹基部の直径が約 5 mm）を移植した（Fig. 1A）。宿主の根と *C. deserticola* の種子とが接触しやすくするため、多数の根が籠状ポットの下方向に伸長するまでガラス温室内で栽培した。1996 年 7 月に保温材を外した籠状ポットの底に *C. deserticola* の種子 2,000 粒を置いた不織布（25 cm×25 cm: ユニチカ株）を敷き、そのまま砂地試験圃場に埋設した（Fig. 1B）。

寄生を効率良く誘導する要因を探るため、種子に a. 無処理, b. 種皮の除去, c. 1 mM ジベレリン (GA_3) 溶液に 2 時間浸漬後風乾, d. 宿主の根の乾燥粉末と混和、の処理を行なった（各 n=6）。寄生状況の観察は 120 日後に籠状ポットと資材を取り出して行なった。観察後籠状ポットを外し、1 株あたり 2~3 個の寄生個体を残した宿主を砂地試験圃場に定植し、その後の生育を観察した。

2) 砂地試験圃場での寄生試験

寄生試験は 1996 年 6 月（試験 I）と 1998 年 7 月（試験 II）の 2 回実施した。

試験 I には、砂地試験圃場で育苗後 1 年間栽培した 2 年生宿主（幹基部の直径約 10 mm）12 株を用いた。宿主の真下、深さ約 30 cm の位置に外側から斜めに穴を掘り、*C. deserticola* の種子を 4,000 粒ずつ載せた播種床資材を埋設した。種子への宿主の根の伸長を促す検討を行なうため、播種床資材には a. 赤土を 1,000 °C で 5 時間焼いた厚さ 3 cm の円形レンガ（φ 15 cm）、b. a のレンガを Hyponex (N: P: K=5: 10: 5) 100 倍液に浸漬して吸水させたもの、c. 赤土に牛糞堆肥を 20 % (v/v) 混入して 180 °C で 2 時間焼いた a と同形のレンガ、d. 円形不織布（φ 12 cm）を用いた（各 n=3）。2 年後に掘り起こし、寄生個体数

を測定して埋め戻した。

試験Ⅱは、試験Ⅰの結果をもとに圃場での寄生を再確認するために行なったものである。3株の宿主（幹基部の直径は30～40 mm）に対し、コンクリートブロック（20×20×2.5 cm）の播種床資材2枚ずつを用い、播種数を1,000粒／播種床資材、播種位置を深さ20 cmに変更した以外は試験Ⅰに準じて行なった。調査期間は4年とし、毎年10月に3株の宿主の根元を掘り、寄生状況を観察した。

5. 寄生部の内部形態の観察

材料には、籠状ポットによる寄生試験で得られた10～20 mmの寄生個体を用いた。維管束の走行状態は、宿主の根の中心と寄生個体の中心を通る面で縦断した厚さ約0.5 mmの切片を、塩素系漂白剤で脱色後、塩基性フクシン溶液で染色し、グリセリンで透明化して観察した。寄生部の詳細は、寄生個体をFAA液（50 % エタノール：フォルムアルデヒド：酢酸=9: 0.5: 0.5）で固定し、脱水後パラフィン包埋して厚さ10 μmの連続切片としたものを、ファーストグリーンとサフラニンによる二重染色を施して検鏡した。

6. フェニルエタノイド配糖体の定量

1) 供試試料

寧夏回族自治区で栽培された新鮮個体（Cd-N: 長さ22 cm, 最大径4 cm, 重量236.7 g, 2001年12月に入手）および本試験の砂地試験圃場で2002年11月に採取したY02（Table 2）を用いた。

2) 乾燥方法

Cd-Nは、採取後温風乾燥機（45℃）により30日間乾燥した。

Y02は、乾燥を容易にするため縦に4分割し、直ちに50℃の温風で5日間機械乾燥した。

3) 試料の調製およびHPLC分析

守屋ら¹⁰⁾に準じ、6種のPeG, echinacoside (1), cistanoside A (2), acteoside (3), acteoside isomer (isoacteoside) (4), cistanoside C (5), 2'-acetylacteoside (6)を定量した。

結果および考察

1. *H. ammodendron* の生育

H. ammodendron の種子は、直径2.0～3.5 mm, 厚さ1 mm前後の円盤状で、吸水後一晩で発芽した。当年枝は長さ10～20 mm, 径約1 mmの円柱状の肉質な節が連なったものであり、伸長開始時は鮮緑色であるが2～3ヶ月後には基部側から木化して灰褐色となった。育苗8ヶ月後には樹高50～55 cm, 幹基部の直径は3.6～4.4 mmに生長した。砂地試験圃場に移植したものは、翌年4月頃から新梢がさかんに伸長し、11月頃から休眠状態となった。根は地表付近で5～7本に分岐するが主根と側根の区別は見られず、いずれもほとんど分岐することなくまっすぐ伸びていた。栽培7年後の最も生育の良い株で、樹高約130 cm, 幹基部の直径は約5 cmとなり、長野県の砂地試験圃場においても中国砂漠植物志¹¹⁾の記載と同様に生育することがわかった。

2. *C. deserticola* の栽培

1) 籠状ポットで栽培した宿主への寄生試験

播種121日後の時点で、宿主1株あたり3～44個体、宿主24株の合計では331個体の*C. deserticola*が寄生していた。寄生植物は淡黄ないし乳白色、長さ1.1～71.2 mmで、88%が20 mm以下であった。10 mm以下の個体は表面に凸凹がある未分化な粒状であったが、大きなものは卵状楕円形のバルブを形成し、表面には光沢のある鱗片葉が形成されていた。基部から2～4本に分岐した個体もあった。

各試験区の寄生数は、無処理のa区が最も多く、次いでb, d, c区の順となった（Table 1）。寄生植物における種子の発芽促進効果は、種皮の除去およびGA₃の添加により*Cistanche tubulosa* WIGHT.¹²⁾で、宿主根の抽出物とGA類との併用処理により*Orobancha crenata* FORSK.¹³⁾で報告されている。しかし、*C. deserticola*ではこれらの処理による寄生率の向上効果は認められなかった。

Table 1. Numbers of *Cistanche deserticola* which were Parasitic on *Haloxylon ammodendron* Planted in the Pot Made of Wire Net (n=6)

| | Treatment of the seed | Total Nos. | Mean±S.D.* |
|---|--|------------|------------|
| a | none treatment | 111 | 18.5±14.0 |
| b | removed the seed coat | 87 | 14.5±8.9 |
| c | pre-soaked in gibberellin(GA ₃) solution (1mM) | 58 | 9.7±6.2 |
| d | sowed the seeds with the host root powder | 75 | 12.5±7.2 |

*Standard Deviation

2) 砂地試験圃場の宿主への寄生試験

試験Ⅰでは、c区に3個、他の区には各1個の合計6個の寄生個体が確認された。寄生個体の長さは50~450 mmであり、基部から2~6本に分岐した個体もみられた。埋め戻した寄生個体のうち5個体は枯死したが、1個体は開花に至った。

試験Ⅱでは、4年間に7株の宿主に対し15個体の *C. deserticola* が寄生し、1個体が開花に至った。

3) 寄生した *C. deserticola* の生育

各試験において、調査後埋め戻した寄生個体は13個体が枯死したが、8個体はその後にも生育し続けた。地下部の茎は白ないし淡黄色の肉質円柱形で、表面は鱗片葉で覆われており、鱗片葉は基部側では幅広く先端では細長くなっていた (Table 2)。得られた最大個体 (Y02) は、長さ302 mm、径60 mmに生長した (Fig. 2A)。

4月下旬から5月上旬にかけて4個体が開花した。5~20 cmの花茎に16~38個の小花をつけ、下方から時計回りで螺旋状に開花が進んだ (Fig. 2B)。抽苔茎の鱗片葉の表面は白ないし淡い褐色の長さ1~2 mmの短毛に覆われていた。小花は円筒状で先端の縁は淡い紫色、他の部分は白ないし淡黄色であった。小花は開花後2~3日で枯れ、全ての小花が開花した1週間後には花穂が、また1ヵ月後には地下部も枯死した。播種から開花に至るまでの年数は、Y98-1, 2およびY00は2年、Y99は3年であった。開花個体は筆を用いて人工授粉を行なったが結実しなかった。自生地でも小さい個体は結実しないことから、個体が小さく生殖器官が未熟であったことが原因として考えられる。

また、栽培中に寄生個体が枯死した原因は不明であるが、寧夏回族自治区の栽培試験地では灌水を行うと *C.*

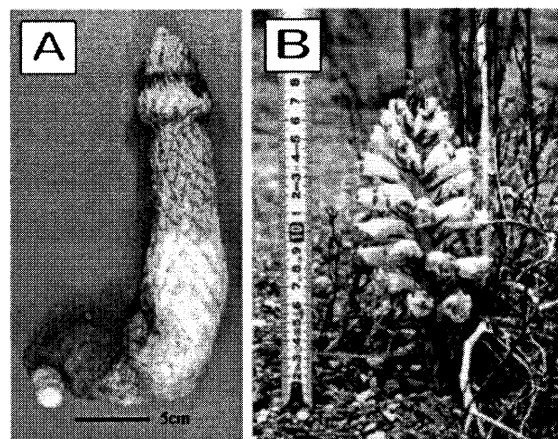


Fig. 2. *Cistanche deserticola* parasitic on *Haloxylon ammodendron* in the experimental sand field

A: the maximum sized plant harvested at 1,560 days after sowing (Y02).

B: flowering stage at 677 days after sowing (Y98-2).

deserticola が地中で腐敗していると考えられているため⁹⁾、本実験においても湿度が関与している可能性が考えられる。

以上から、当地においても栽培した宿主に対して *C. deserticola* を人為的に寄生させ、開花まで生育させ得ることができた。腐敗させずに結実させるためには宿主と *C. deserticola* にとっての好適環境を解明する必要がある。

3. 寄生部の内部形態の観察

C. deserticola の維管束は宿主の根の中心を通る維管束に集合して接しており、ここから上部に向かい分岐を繰り返しながら縦走していた (Fig. 3A)。

接合部付近の柔組織細胞はどちらの植物のものも類似し、境界は不明瞭であったが、接合部から離れた場所の柔組織細胞は *C. deserticola* のものは球状で核が大き

Table 2. Size and Stage of *Cistanche deserticola* Observed in the Experimental Sand Field

| Place of sowed seeds | Date of sowing | Code | Date of dug | Stage | Term of flowering | External morphologies and weight | | | | Note |
|-------------------------|----------------|-------|---------------|------------|-------------------|----------------------------------|------------|-------------|--------------------|---------------------------------|
| | | | | | | Length (mm) | Width (mm) | Weight* (g) | Number of branches | |
| Wire net pot | Jul. 2, 1996 | Y97-1 | Sep. 9, 1997 | elongation | - | 95 | 48 | - | none | Withered after investigation |
| | Jul. 2, 1996 | Y97-2 | Sep. 9, 1997 | elongation | - | 155 | 35 | 58.5 | none | Harvested to measure the weight |
| | Jul. 2, 1996 | Y98-1 | Jun. 23, 1998 | flowering | Apr. 26-May 3 | 230 | 33 | - | none | Withered after flowering |
| | Jul. 2, 1996 | Y99 | Jul. 7, 1999 | flowering | Apr. 26-May 6 | 260 | 40 | - | none | Withered after flowering |
| Experimental sand field | | | | | | | | | | |
| Examination I | Jun. 26, 1996 | Y98-2 | Jun. 23, 1998 | flowering | May 5-May 15 | 420 | 30 | - | 6 | Withered after flowering |
| Examination II | Jul. 16, 1998 | Y00 | Jun. 17, 2000 | flowering | May 13-May 19 | 430 | 40 | - | none | Withered after flowering |
| | Jul. 16, 1998 | Y01 | Sep. 26, 2001 | elongation | - | 150 | 60 | 381.6 | 10 | Host was dead |
| | Jul. 16, 1998 | Y02 | Nov. 12, 2002 | elongation | - | 302 | 60 | 512.4 | 2 | Harvested to measure the PcG |

* withered individuals were not measured.

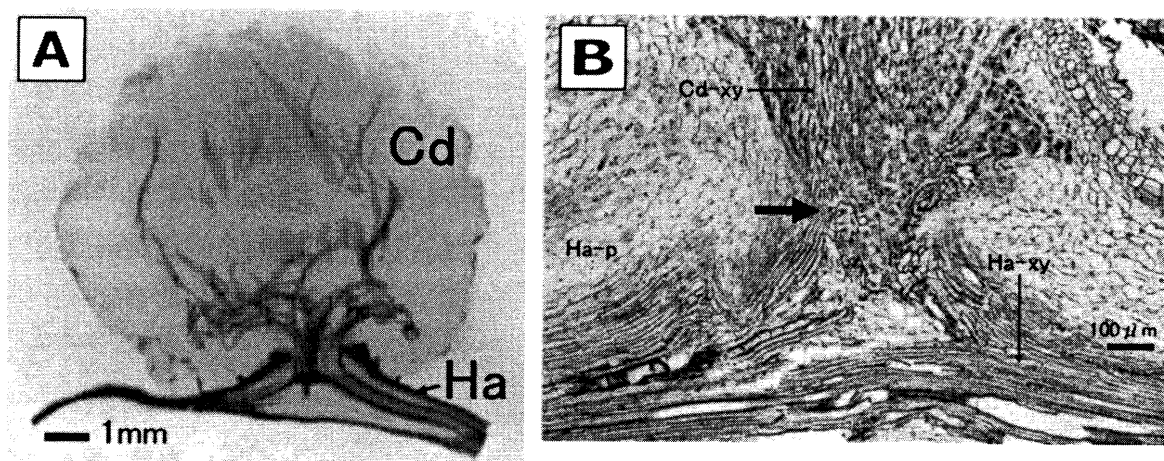


Fig. 3. Longitudinal Sections through the interface of *Haloxylon ammodendron* and *Cistanche deserticola*

A : Thick section (about 0.5 mm thick) stained with basic fuchsin solution. B : Thin section (10 μ m thick) double stained with safranin and fast green. Bold arrow indicates the direct connection of the tracheids between the two plants. Cd : *C. deserticola*, Ha : *H. ammodendron*, xy : xylem, p : parenchyma.

いのに対し, *H. ammodendron* のものは長細く核が不明瞭であった. *C. deserticola* では, 維管束は周囲より濃い緑色に染まり, まばらに存在する仮導管はらせん紋状で赤紫色に染まったのに対し, 宿主では孔紋状で濃い赤紫色に染まった仮導管および導管からなる通道組織が発達しており, 両者は容易に区別できた. 維管束の接合部分では, 両者の仮導管が所々で直接接続していた (Fig. 3B).

同属植物の *C. tubulosa* では, 接合部付近で宿主の根が大きく肥大し, *C. tubulosa* の組織が包まれる状態で寄生関係が成立していたが¹⁾, *C. deserticola* の組織は宿主の根にくさび型に収束しながら侵入しており, 両者の寄生部の状況は明らかに異なっていた.

4. フェニルエタノイド配糖体の定量

供試試料のエキス量と 6 種の PeG 量を Table 3 に示し

た. Y02 はエキス量が 825 mg/g, 総 PeG 量が 13.06 mg/g, PeG の構成比は echinacoside が 77.7 % と最も多く, 次いで cistanoside A (17.5 %), acteoside (2.7 %) であった. Cd-N は, エキス量が 781 mg/g, 総 PeG 量が 23.29 mg/g で, PeG の構成比は acteoside が 14% と Y02 の約 5 倍である他は概ね類似していた.

以上のことから, 長野県栽培品 *C. deserticola* と中国栽培品は成分的にはほぼ同じであることが分かった.

著者ら¹⁰⁾ が報告した肉蓯蓉の市場品は, 今回分析した Y02 および Cd-N と比べ, エキス量および総 PeG 量が少なく, PeG の構成比も異なっていた. 今回の栽培品は収穫後速やかに乾燥し表面は淡黄色であるが, 市場品は収穫後 1~数ヶ月かけ自然風乾して調製しており表面は黒褐色である¹⁴⁾. 両者の成分的差異は加工・調製法の差と考える¹⁰⁾.

Table 3. Phenylethanoid Glycosides (PeG) Contents of *Cistanche deserticola* (n=3, mg/g)

| Samples ^{b)} | Phenylethanoid glycosides ^{a)} | | | | | | Total | Extract |
|-----------------------|---|--------|--------|-------|-------|-------|-------|---------|
| | (1) | (2) | (3) | (4) | (5) | (6) | | |
| Y02 | 10.15 | 2.29 | 0.35 | 0.20 | 0.05 | 0.02 | 13.06 | 825 |
| (%) ^{c)} | (77.6) | (17.5) | (2.7) | (1.5) | (0.4) | (0.2) | (100) | |
| Cd-N | 15.52 | 3.47 | 3.26 | 0.32 | 0.28 | 0.18 | 23.29 | 781 |
| (%) | (66.6) | (14.9) | (14.0) | (1.4) | (1.2) | (0.8) | (100) | |

a) (1) echinacoside, (2) cistanoside A, (3) acteoside, (4) acteoside isomer (isoacteoside), (5) cistanoside C, (6) 2'-acetyl acteoside.

b) Y02 : harvested in our experimental sand field at Nov. 12, 2002. Cd-N : harvested in Ningxia of China and we obtained it on Dec. 18, 2001.

c) Each PeG content / total PeG content \times 100

まとめ

長野県の砂地試験圃場において、宿主植物の根に *C. deserticola* の種子を人為的に寄生、開花させることができた。寄生植物の外観は野生品と同様であった。また、得られた寄生個体は市場品¹⁰⁾よりフェニルエタノイド配糖体が多くその構成比も異なっていた。この点については、調製・加工法が成分含量に影響を及ぼしている可能性が考えられる。

謝辞：本研究を行なうにあたり、中国産 *C. deserticola* をご提供下さいました松浦薬業株式会社に深謝いたします。

References and Notes

- 1) Part I : Moriya A., Karasawa D., Arima H., Deyama T., Kegasawa K., Usmanhani K., *Natural Medicines*, **50**, 34-40 (1996).
- 2) Chinese Pharmacopeia Committee, Ministry of Public Health, the People's Republic of China, "The Chinese Pharmacopeia 2000 Part I", Chemical Industry Publishing House, Beijing, 2000, pp. 103-104.
- 3) Xiong Q., Hase K., Tezuka Y., Tani T., Namba T., Kadota S., *Planta Med.*, **64**, 120-125 (1998).
- 4) Xiong Q., Kadota S., Tani T., Namba T., *Biol. Pharm. Bull.*, **19**, 1580-1585 (1996).
- 5) Sato T., Kojima S., Kobayashi K., Kobayashi H., *Yakugaku Zasshi*, **105**, 1131-1144 (1985).
- 6) The standard of "Nihon Shoyaku Rengokai".
- 7) Wang W., *et al.* (eds.) "Flora Reipublicae Popularis Sinicae", Tomus 69, Science Press, Beijing, 1990, pp. 86-87.
- 8) Tu P., He Y., Lou Z., *Chin. Tradit. Herb. Drugs*, **25**, 205-208 (1994).
- 9) One of authors (Moriya A.) has visited to the experimental farm of Guangxia Natural Products Co., Ltd. in May, 2000.
- 10) Moriya A., Tu P., Karasawa D., Arima H., Deyama T., Hayashi K., Ibe N., Kegasawa K., *Natural Medicines*, **49**, 394-400 (1995).
- 11) Liou Y., *et al.* (eds.) "Flora In Desertis Reipublicae Populorum Sinarum", Tomus 1, Science Press, Beijing, 1985, pp. 342-343.
- 12) Moriya A., Karasawa D., Arima H., Deyama T., Ibe N., Kegasawa K., Usmanhani K., *Plant Tissue Culture Letters*, **12**, 46-54 (1995).
- 13) Garas N. A., Karssen C. M., Bruinsma J., *Zettschrift für Pflanzenphysiologie*, **71**, 108-114 (1974).
- 14) Li S., Han L., "Zhong-guo yao-yong zhi-wu zai-pei xue", Agricultural Press, Beijing, 1991, pp. 1023-1026.