

雲南・四川・貴州省を中心とした中国における *Jatropha curcas L.* の取り組み

赫 宇曦・合田 真

日本植物燃料株式会社

はじめに

私共は、*Jatropha curcas L.* の収集・育種・栽培技術開発および用途開発を行ってきております。中国でも、雲南・四川・貴州省を中心にエネルギー作物としての研究および植栽が盛んになってきております。政策に触れた上で、最近の研究論文をまとめ、各研究者との意見交換について報告させていただきます。

Jatropha curcas L. とは

Jatropha curcas L. (和名：ナンヨウアブラギリ 以下「ヤトロファ」) は、トウダイグサ科の顕花植物で、カーボベルデ共和国において、降水量が全く無くても数年間生き長らえたと報告されているなど、乾燥に強いという特徴を有する。目安

としては、年間降水量 300mm 以上で生存が可能と言われている。主に利用価値があると考えられているのは、種子から搾油される油脂とその搾り粕であり、両者ともに大豆に近い性状を有している。

生産性は気象条件や土壌により左右されるが、野生種でも油脂 1 トン /ha 以上の生産性を示すことが多く、生産性はパーム以外の油脂作物に比べて高い。

ヤトロファが資源作物として世間の注目を浴びたきっかけは、食料とエネルギーとの競合問題が騒がれた際に、非食用油であることから食料との競合を起こさないと考えられたためである。しかし、食料との競合問題は、土地利用の問題であり、食用油であるか否かの観点で考えることは間違い

表 1

<油の脂肪酸組成>

脂肪酸	ヤトロファ	ダイズ
パルミチン酸	15.1%	10.7%
パルミトレイン酸	0.9%	
ステアリン酸	7.1%	3.2%
オレイン酸	44.7%	25.0%
リノール酸	31.4%	53.3%
リノレン酸	0.2%	5.4%
アラキジン酸	0.2%	0.4%

<ミールの栄養成分組成>

栄養成分	ヤトロファ	ダイズ
粗タンパク質	63.8%	45.7%
油脂	1.0%	1.8%
灰分	9.8%	6.4%
繊維 NDF	9.1%	17.2%
繊維 ADF	5.7%	12.2%
AD リグニン	0.1%	0.0%

表 2 1ha 当たりの生産性

<1ha 当たりの生産性>

(トン/ha/年)

作物種	種子/実	油	ミール
パーム※1	23.02	4.89	0.00
ダイズ	2.42	0.45	1.91
ナタネ	1.64	0.65	0.97
ヒマワリ	1.22	0.50	0.54
ヤトロファ※2	5.00	1.35	3.50

※1：パームでは、パーム核は含めない。

※1～2：パームとヤトロファは、植え付け後 5 年目以降の数値。



図1 弊社フィリピン国の栽培試験地

である。ヤトロファの価値は、乾燥に強いことから、現状耕作不適地となっている土地を新たに利用できる可能性がある点であると当社は考えている。

ヤトロファが非食用であるのは、ホルボールエステル・レクチン・トリプシンインヒビター・サポニン・フィチン酸塩などの各種毒性を持つためであるが、タンパク毒については、熱処理により不活性化が容易である。ホルボールエステルの除去については、ラボレベルでの除去は成功例があるものの、スケールアップおよび実用化については現在課題として各研究機関や企業が取り組んでいる。

中国における *Jatropha curcas* L. にかかわる政策

2005年2月の第10期全国人民代表大会常務委員会第14回会議において「中華人民共和国再生可能エネルギー法」が決議・公布され、2006年1月1日から施行されている。

当該法律は、再生可能エネルギーの開発利用の加速促進、エネルギー供給の拡大、エネルギー構造の改善、エネルギーの安全保障、環境保護、経済と社会の持続可能な発展促進の5つを目的（第1条）とし、「総則」「資源調査と発展計画」「産業指導と技術サポート」「普及と導入」「価格管理と費用分担」「経済的インセンティブと監督処置」「法的責任」「付則」の8章33条から構成されている。

バイオマスエネルギーは、再生可能エネルギー

に含まれ、特に①エネルギー問題、②環境問題、③農村農業農民の三農問題の解決に資するものとして期待されている。資源作物の導入については、農作物用地と競合しない荒廃地の利用を基本想定しており、四川省・雲南省・貴州省においては、ヤトロファが重点資源作物とされている。

中国における *Jatropha curcas* L. の研究動向および成果

2003年以後に中国国内で発表された論文の研究動向や研究成果を紹介する。

中国の主なヤトロファ研究機関や研究内容 (表3) 研究動向や成果紹介

栽培関連：繁殖技術、病害防除、優良種選抜や生理学研究
繁殖技術

ヤトロファの繁殖は主に種子繁殖や挿木などの栄養繁殖が現在の主流である。種子繁殖で得られた苗は生存率が高く、3年後に実の高産期に入る。挿木繁殖は、成長が早く、分枝が多く、1年の栽培で実の高産期に入るなどの特長がある。他方、ヤトロファの組織培養法の研究も進み、優良種の大量、快速繁殖の可能性が見えてきている。

四川大学の研究チームが温度、日照、種まきの条件を設定し、種子の発芽条件を調べた結果、25℃-35℃での栽培が高い発芽率を示し30℃が最も適した温度条件となった。一方、40℃を超えると発芽率は著しく悪くなった。日照強度や時間は発芽にあまり影響しないが、種まきの際、1cm以上の土を被せると、発芽率が低下した¹⁾。

有効な挿木繁殖法も、各地の研究者により検討されている。2-10年生の健康的な母株から半木質化した直径1.5-3.0cm、長さ12.0-15.0cmの枝を採集、消毒した後、生根剤に2時間浸す。深さ6.0cmの穴に挿し、25℃-28℃の温度条件、80%以上の湿度条件下で苗を育成する。2,3枚の葉が出た後、1%の尿素液を施肥し、植え付けの10日前から、水遣りの量を少なめにして、植え付けの1週間前に、さらに0.2%のKH₂PO₄を追加する。この方法で、翌年には3kg/株の生産量が得られると報告された²⁾。

組織培養の研究において、ヤトロファの子葉、胚軸、葉柄、葉、胚乳、花粉を材料として用い、

表3 中国の主なヤトロファ研究機関や研究内容

研究機関	研究内容
中国科学院植物研究所	光合作用メカニズム研究
中国科学院昆明植物研究所	ヤトロファ遺伝変異解析、組織培養、授粉研究
中国科学院華南植物園	花薬形成研究
中国薬科大学	活性成分研究
海口熱帯生物学技術研究所	優良種選抜
南京大学生命科学学院	優良種選抜、遺伝変異解析
雲南師範大学	優良種選抜
雲南省農業科学院	優良種選抜、
雲南省林業科学院	優良種選抜、病虫害防除、活性成分研究
四川大学生命科学学院	優良種選抜と育種、活性成分研究、組織培養、DNA鑑定技術、病虫害防除、耐寒性研究
四川大学化工学院	BDF製造技術
復旦大学生命科学学院	ホルボールエステル合成経路解析
海南師範大学生物学部	耐乾性メカニズム解析
四川省林業科学研究院	優良種選抜
貴州省林業局	優良種選抜、病虫害防除
貴州大学生命科学学院	優良種選抜と育種、BDF製造技術、活性成分研究、耐寒性研究、組織培養
貴州大学精細化工研究開発センター	BDF製造技術、活性成分研究
武漢工業学院	BDF製造技術
湘潭大学生物技術研究所	搾油技術

それぞれの最適ホルモン添加培地が検討された。子葉、胚軸、葉柄、葉の培養において、インドール酪酸 (IBA) やベンジルアデニン (BA) の添加は最も有効で、高い芽分化率や発根誘導率が得られた^{3,7)}。胚乳のカルス誘導において、2,4-D、NAA、IBA、IAAの順番で高い誘導効果を示した。花粉のカルス誘導において、花粉の発育時期、前処理時間、蔗糖濃度などが誘導率の影響因子となり、MS培地 + NAA2.0mg/L + KT0.4mg/L + 9%蔗糖が最も適した培地である²⁾。

病害防除

ヤトロファの根、茎、葉、種には数種類の毒性物質が含まれているため、ほかの植物より病害が少なく、丈夫な植物といわれている。しかし、微生物による病害や虫害、また低温による凍害の影響を受けることがある。ヤトロファの苗は、特に発病しやすく、大規模で栽培する際に無視できない問題となる。

貴州省などの研究者達が数年間の観察や研究に

より、普遍的な病虫害や凍害の発生原因及び防除方法を論文にまとめている⁴⁾ (表4)。

優良種選抜や植物生理学研究

中国では広範囲に野生のヤトロファが分布しており、生物学的特性もそれぞれの違いがあるため、中国で行われている優良種選抜試験は、現有品種からの選抜が主となっている。また、優良種の選抜を行うと同時に、最も適した生長地の考察、光合特性、花の性別分化などの植物生理学研究を行い、選抜された優良種の最適生育法を模索している。

四川大学研究者チームは、まず雲南省、貴州省、四川省の標高441m-1693mの6ヶ所から、野生の種子を収集して、サイズ、重量、水分、油含量、ヤトロファオイルの密度、酸値などの物理化学性質、ヤトロファオイルの脂肪酸組成などを詳しく測定し、各地種子の特性、標高などの植物の生長やオイル品質への影響などを評価した。その後、さらに採取地の範囲を広げ、同様の研究を行った。

表 4 病虫害

病名	発生時期	症状	病因	防除法
根くされ病	夏又は雨季	苗や幼い樹木のひげ根から腐り始め、側根や主根まで蔓延する。白い綿状ものが根にあり、落葉して、地面部分の茎が萎縮	<i>Fusarium</i> sp.による感染	発病樹木を焼却により取り除き、石灰で消毒または市販滅菌剤の散布
灰カビ病	春	苗に発生。最初に凹んだ輪状褐色斑点がり、その後褐色の色が薄くなり、カビ状ものに被られる。	<i>Botrytis cinerea</i> Pers. Ex Fr.による感染	畑の湿度を下げる。市販滅菌剤あるいは200倍希釈したCuSO ₄ を散布。病状ひどい株を焼却により取り除き。
葉斑病 (<i>Cercospora eucalypti</i> Cook et Masseec)	夏、秋	葉の表面は薄い黄色いあるいは褐色斑状物(病斑)あり、裏面は黄褐色になる。一枚の葉に病斑がいくつあり、つながりにより葉全体が枯れる。	<i>Cercospora aleuridis</i> Miyakeによる感染	発病した葉や果実を取り除き(焼却)、市販滅菌剤の散布
虫害	夏	葉の裏面には白いまゆがある、表面には黒褐色虫斑がいくつあり、つながりにより大きい虫斑になり、葉全体が枯れる。	<i>Bucculatrix thoracella</i> Thunberg (蛾の一種)による被害	殺虫剤散布または剪定の際に落葉を焼却する
虫害	夏	根、茎、葉がかじられる	<i>Maladera orientalis</i> Motschulsky(コガネムシ)による被害	殺虫剤散布
虫害	春、夏	苗の茎がかじられ、枯れ死になる	<i>Agrotis ypsilon</i> (ネキリムシ)による被害	殺虫剤散布
虫害	春、夏	葉が食べられる	<i>Buzura suppressaria</i> Guenee (蛾の一種)幼虫による被害	殺虫剤散布
虫害	春、夏	幼い樹木の根や茎がかじられる	シロアリ(主に <i>Macrotermes barneyi</i> Light 又は <i>Reticulitermes chinensis</i> Snyder)による被害	殺虫剤散布
虫害	夏	樹液が吸い取られ、枝が枯れ、若葉が巻き起こして、植物体全体が弱くなる	<i>Toxoptera odinae</i> Vande Goet(アブラムシ)による被害	殺虫剤散布
虫害	春	苗の茎がかじられる	<i>Gryllulus testaceus</i> Walker(コオロギ)による被害	殺虫剤散布
凍害	冬、春	-1℃以下になると、苗や幼い樹木の葉に赤い斑点があり、枯れ死に至る	低温	凍害が発生した枝を取り除き、滅菌剤を施用。焼、カリの施肥により、低温耐性を強める

同チームはこのような研究から得られたデータを基にして、試験栽培や交配育種により、平均油含量 63.83 % を有する「高油 63」(CSC high-oil-content 63) 品種を開発し⁵⁾、現在四川省や海南省の栽培基地で試験栽培を行っている。

雲南師範大学は、雲南省の元謀、六庫、賓川、永勝など 8ヶ所、四川省渡口、攀枝花など 3ヶ所で成長した野生ヤトロファの生長状況、種子生産量、種子油含量、種子サイズや重量などを観察や測定することで、雲南省の元謀や四川省の攀枝花地区のヤトロファの生長が早く、種子油含量も非常に高いことから、これらの地域がヤトロファの生長に最適な場所であると特定した。現在、攀枝花では栽培基地が建設され、選抜した優良種の栽培が行われている。ほかには、貴州省も同じ方法で最も生長に適した地域で栽培農園を建設し、選抜した優良種の栽培を行っている。現在、大規模に人工栽培したヤトロファから収穫した種は、50%の油含量を有すると報告されている²⁾。

同じ四川大学研究チームは、雲南省永勝(1639m)、紅河(450m)および四川省攀枝花市(1250m)の三つの標高地域から採集した種子で育った苗を 4℃-25℃の低温条件下で培養して、低温が苗生長への影響や植物生理活動の変化を観察し

た。その結果、低温環境はヤトロファを著しく傷害する一方、植物自体は、低温に反応して、生理活動を弱くすることにより、低温の傷害を低減することができ、特に、12℃以上の低温に対して強い耐性を示した。また、異なる標高地域のヤトロファ品種は、その低温耐性の差があることから(永勝>攀枝花>紅河)、耐冷性を有する品種の選抜法が示唆された⁶⁾。貴州大学は、ヤトロファ苗を乾燥(土に 6% 含水率、72 時間)、低温(10℃、72 時間)、塩(0.25M NaCl 液、120 時間)をそれぞれ処理してから、未処理の苗と一緒に 2℃の低温環境下 72 時間培養して、葉の重量変化、電解質浸透率を測った。その結果、低温などのストレス処理により、苗の低温耐性を強めたことがわかった²⁾。

中国科学院は、正常灌水や少水条件下で栽培したヤトロファの光合特性を評価した。その結果、少水栽培の試験株が正常灌水栽培の方より、光合成速率が低い、両方とも“昼休み”の現象を有することがわかった。そこで、夏などの日差しの強い季節では、適切な栽培技術の実施に加えて昼の直射日光強度や温度の管理を行うことにより、植物体の光合成強度が向上されることができると報告されている²⁾。

ヤトロファは雌雄同株の植物であり、雌花と雄花の比率は普通に1:20程度となる。雌花が多く咲くことで、実の生産量向上に導くと考えられており、これまでに中国科学院、四川省林業科学研究院、四川大学などで花の性別分化研究が行われている。これらの研究により、花の性別分化は植物ホルモンなど自身の生理環境や日照、温度、水分、栄養素、化学薬剤、機械刺激、剪定など外部環境に制約されること、また、雌花の発育早期では、両性組織を有し、発育が進むにつれ、雄性組織は退化したが、雄花の発育では、始終、単性組織しかないことが明らかとなった。雌花の発育過程中的雄花組織の退化に関するメカニズムの解明研究が、遺伝子レベルの解析により進められている。そのほか、ヤトロファの授粉生物学研究も行われている。主な自然授粉方式や授粉を行った昆虫の観察、花粉活力の測定、有効な授粉時期の評価などの研究により、高い結実率に繋がる効率的な授粉方法を検討した⁸⁾(表5)。

化学成分研究 化合物類活性物質

中国の一部地域では、昔からヤトロファの果実、葉、樹皮や樹液が薬用されることがあり、漢方では、打ち身により出血、捻挫、ハンセン病、慢性潰瘍、湿疹、水虫、瘻癰症などの治療効果があるといわれた。貴州大学、中国薬科大学そして中国以外の研究者達の研究により、種子、樹皮、葉、根また樹液からさまざまな有用な化学成分が抽出、確認された。すでに分離された活性成分は、

主にテルペン類、フラボノイド、クマリン、ステロール、アルコロイドなどである⁹⁾。

ヤトロファから分離したテルペン類化合物はほとんどジテルペンおよびトリテルパンである。ジテルペンのjatropholone A、jatropholone B、jatrophol、caniojanew および curcusones 誘導物の curculathyrans A や curculathyrans B は根や樹皮の部分から分離され、いずれも癌細胞抑制活性があることが証明された。樹皮から、トリテルパンの p-amyrin と taraxerol、3-O-coumaroyl oleanolic acid、tetradecyl-(E)-ferulat が分離された¹⁰⁾。

フラボノイドは新鮮な葉や根組織から分離され、腫れ引き、止血などの効果が証明された。葉からは、apigenin、isovitexin、5,4-dihydroxyflavon-6,7-glucoside、5-hydroxyflavon-3,7,4-rhamet が分離され、根からは、nobiletin、5 α -stigcastane-3,6-dione、pyrimidine-2,4-dione、5-hydroxypyrrrolidin-2-dionなどを確認した。

ヤトロファの根から、5種類のクマリンが分離された、fraxetin、jatrophin、tomentin および 5-hydroxy-6,7-dimethoxy coumarin、6-methoxy-7-hydroxy xourmarin である。そのほか、ステロール類の β -sitosterol、daucosterol、sterols stigmasterol、steroid sapogenins が確認され、樹液から、抗腫瘍活性を有するアルコロイドの jatrophine が分離された。

タンパク毒素

主に2種類のヤトロファのタンパク質の研究が実施されている。ひとつは carcain であり、樹液から精製され、植物体の傷口を癒合させる機能を

表5 授粉方法評価

処理方法	実の結び率(%)
control	76.42 \pm 3.148
sheathing before blooming	0.00
natural pollination after emasculation	68.28 \pm 2.923
sheathing after artificial self-pollination	51.58 \pm 2.888
sheathing after emasculation, crossing-pollination	52.64 \pm 3.422
artificial self-pollination and no sheathing	86.66 \pm 3.519
artificial crossing-pollination and no sheathing	87.93 \pm 4.033

有する酵素であることが報告された。もうひとつは、“ヤトロファ毒蛋白”と呼ばれる curcin である⁹⁾。Curcin はヒマ毒素の ricin やハズ毒素の crotinno と同じ、リボゾームを失活させることにより、タンパク質の合成を阻害する毒素、ribosome-inactivating protein (RIP) である。ちなみに、RIP はその構造や作用メカニズムにより、2種類に分けられる。Curcin は Type I に属され、凝血機能を有する lectin は Type II に属される。四川大学や復旦大学の研究グループは、ヤトロファから curcin を精製して、タンパク質構造、作用メカニズム、遺伝子のクローニングまた大腸菌での発現、毒性分析、医学また農業への応用などの研究を行った。

Curcin の分子量は 28200Da、その二次構造は 22.3% の α ヘリックスや 43.5% の β 構造また 34.2% の β ターンから構成される。アミノ酸組成は表 6 で示す。Curcin は RNA N- グリコシダーゼであり、23S rRNA の 4324 位目のアデニル酸に特異的に作用して失活させるメカニズムであることが報告された。2003 年、Curcin の N 末端アミノ

酸配列に基づき、RT-PCR のプライマをデザインして、全長 cDNA が増幅された後、大腸菌での発現も成功され、その後の更なる研究や実際応用への基盤を築いた¹¹⁾。

四川大学の研究によると、curcin は青虫への強い殺虫能力を有するほか、5 μ g/ml の curcin は植物病原菌の *Pyriculariaoryzae* Cav., *Pestalotiafunerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de bary の菌糸成長を抑制でき、50 μ g/ml の濃度では、上記菌類の孢子形成まで抑制するほどの効果がある。そのため、curcin は環境にやさしく、分解しやすい植物由来原料として、農業への応用研究が積極的に行われている¹³⁾。また、curcin は体外胃がん細胞 (SGC-7901)、ラット骨髄腫細胞 (SP2/0)、人肝臓癌細胞 (human hepatoma) の増殖を抑制する能力を有し、Hela 細胞また正常人胚肺二倍体細胞 (MRC) の生長に影響しないことが明かされた¹²⁾。現在、その癌細胞に対する選択性を利用して、がん治療への応用研究が行われている。

ヤトロファバイオディーゼルの製造

ヤトロファオイルの抽出や精製

植物の種からのオイル抽出では、低温圧搾抽出法が最も使われる方法ですが、他にも、マイクロ波抽出法、超音波抽出法また超臨界 CO₂ 抽出法などもある。湘潭大学生物技術研究所では、ヤトロファの種を用いて、マイクロ波抽出法、超音波抽出法また超臨界 CO₂ 抽出法のそれぞれ最適なオイル抽出条件を検討した上で、抽出したオイルの抽出率、酸価や過酸化物を評価した¹⁴⁾。上記方法のオイル抽出率はいずれも 37% 前後だが、超臨界 CO₂ 抽出法で抽出したオイルの酸価は KOH0.79mg/g、過酸化物 3.63meq/kg に対して、マイクロ波抽出法と超音波抽出法で抽出したオイルの酸価は KOH5.22mg/g、KOH5.91mg/g であり、過酸化物は 8.78meq/kg、8.37meq/kg であったことで、超臨界 CO₂ 抽出法はコストがより高いが、抽出したオイルの脱ガム、脱色などの精製の手間を省くことができ、有機溶媒の残留問題もなくなることから、最も効果がいい方法だと考えられた。

ヤトロファオイルの脱酸処理について、武漢工業学院の研究により、メチルアルコールを溶媒として使い、オイルとメチルアルコールの比率を 1:2 (W/V) にして、32℃ 下 10 分間抽出を 4 回行う

表 6 curcin アミノ酸組成

組成	含量 (%)	平均構成数 (個)
Asx	2.87	32.50
Glx	2.01	22.70
Ala	1.66	18.80
Gly	1.28	14.40
His	0.40	4.50
He	1.17	13.20
Leu	2.35	26.60
Lys	2.03	22.90
Met	0.16	1.80
Cys	0.21	2.30
Phe	1.03	11.60
Pro	0.62	7.00
Tyr	1.04	11.80
Trp	0.05	1.00
Thr	1.01	11.40
Ser	1.49	16.80
Val	2.14	24.20
Arg	0.94	10.30

ことで、低温圧搾法で抽出したオイルの酸価を KOH10.48mg/g から KOH0.47mg/g まで下げることができると報告した。また、無水アルコールを抽出溶媒として使う場合、脱酸効果がさらによくなると報告した¹⁵⁾。

メチルエステル化技術

従来の均相アルカリ触媒法において、メチルエステル化の効率を上げるため、使う触媒の種類や用量、アルコール/オイル比率、反応温度や反応時間の検討が行われた。武漢工業学院の研究では、オイルの0.9%のナトリウムメチルアルコールを触媒として使い、メチルアルコール：オイルは1：6（モール）、反応温度65℃、反応時間60分の反応条件下、95.09%のメチルエステル転化率が得られた¹⁶⁾。また、四川大学化工学院の研究では、オイルの1.3%の水酸化カリウムを触媒として使い、メチルアルコール：オイルは1：6（モール）、反応温度64℃、反応時間20分の反応条件下、98%以上のメチルエステル転化率が得られると報告した¹⁷⁾。

従来の反応方法では、処理後期に行われる水洗い、酸中和などの処理により、環境汚染の恐れが心配されるため、固体アルカリ触媒法、酵素触媒法また超臨界法などの新しい方法が現在研究されている。貴州大学精細化工研究開発センターでは、固体触媒による反応法を開発して、特許登録した(CN1824735A)。この方法は、メチルエステル化効率が高く、触媒が回収できる特徴があり、後期処理の水洗いなどなくなることで、廃液の排出が少なくなった。

搾り粕などの廃棄物利用

搾り粕などの廃棄物の利用に関する研究はそれほど多くないのが現状である。搾り粕の場合、燃料また肥料として利用するのが主流である。四川大学はヤトロファ種の殻を利用し、KOHを触媒として、反応温度、反応時間またKOHと炭化した殻の比率などを検討して、化学活性化法で活性炭の製造を試した。その結果、850℃の反応温度、KOHと炭化殻の比率は4：1、そして反応時間240分間の条件下、最も質がいい活性炭が作られた。比表面積（specific surface）とヨウ素吸収値（iodine adsorption）はそれぞれ1890m²/g また

2218mg/g であることと報告された¹⁸⁾。また、搾り粕をより高付加価値的に利用する目的で、ホルボールエステルに関する研究が、復旦大学により行われた。ホルボールエステルの合成経路に着目し、すでに二種類のキナーゼを確認して、その遺伝子をクローニングした。

バイオテクノロジー基礎研究

ヤトロファの遺伝子解析、タンパク質精製や解析などのバイオテクノロジー基礎研究は、四川大学などの研究グループにより積極的に行われている。

ヤトロファの遺伝的多様性を調べるため、中国科学院昆明植物研究所は雲南南部の八箇所から158のサンプルを採取して、ISSR（Inter-simple sequence repeat）分析を行った。違い地域のサンプルの間に、高い遺伝変異が存在することから、雲南省に分布されているヤトロファはそれぞれ違う起源であることが示唆された¹⁹⁾。四川大学は中国全国範囲の九箇所から135のサンプルを同じISSR分析を行ったところ、各地のサンプルの間に、高いレベルの遺伝多様性の結果となった²⁰⁾。これらの研究は、今後の交配育種実験に有用なデータが提供できると考えられる。RAPD（Random amplified polymorphic DNA）法はもう一つの遺伝多様性を調べる手法であり、反応条件に敏感なため、実験の再現性はISSR法より低い。四川大学はこの手法で四川省や雲南省七箇所のヤトロファ遺伝多様性を調べる同時に、反応バッファー、プライマまたテンプレート濃度、反応回数などのPCR増幅条件を検討して、ヤトロファを材料としたRAPD増幅の最適実験条件を確定した²¹⁾。

2006年に、四川大学はヤトロファ種子胚乳の全長cDNAライブラリを構築した。さらに、このcDNAライブラリの解析により、脂肪酸合成、転写や発現調節因子、signal transductionなどに関連する有用タンパク質が推測また確認された。また、ヤトロファの根、茎、葉から高純度、完全なRNAを抽出するため、新しいRNA抽出法が検討された。彼らの研究により、抽出バッファーに0.5%のベントナイト（bentonite）を添加することで、従来の抽出法より、実験時間が短縮され、抽出したRNAの純度が高く、RNaseによる分解も最小限に抑えられた²²⁾。

視察記録

前章での報告と重複があるが、2008年10～11月に中国の研究者を訪問した際の記録を記す。

10月24日

上海復旦大学生命科学学院 林娟助教授

林先生は主にホルボールエステル合成経路の解明及びホルボールエステル非生産の遺伝子組み換え種の育成研究を行っている。既知のテルペン類化合物合成経路に関連する酵素から、ヤトロファホルボールエステルの合成にかかる五つのキー酵素活性を確認して、遺伝子配列を明らかにした。彼らは、ホルボールエステルの合成経路に7つのキー酵素が存在していると考え、今後、特許出願をした後、論文にまとめる予定とのこと。林先生の研究目標は、この五つのキー酵素遺伝子の組み換えや破壊により、病気や害虫に強いホルボールエステル非生産品種の開発である。すなわち、ホルボールエステルを合成しないが、昆虫に毒性を有する、かつ、人間に無毒あるいは発がん性のないテルペン類化合物の生成ができるヤトロファ品種の開発である。そのため、彼らが現在集中している研究は、ヤトロファへの遺伝子形質転換法の開発である。

10月28日

中国科学院華南植物園植物研究所 呉国江教授

呉先生は1997年東京大学理学部で博士学位をとってから、2004年まで東京大学や日本国立生物資源研究所で仕事を行っていた。2004年に、

中国科学院がヤトロファプロジェクトを始動したことを機に帰国し、今までの4年間に、分子生物学基礎研究開発チームの首席研究員として、ヤトロファ遺伝子ライブラリ構成、ヤトロファ光合作用、でんぷん代謝、脂肪酸合成や貯蔵、ストレス環境下生体代謝などの分子メカニズム解明の研究により、高油含量、高生産、低温耐性、塩害耐性優良種の開発を行っている。現在、ヤトロファ遺伝子の全長配列の測定もすでに着手して(人類遺伝子配列の測定や稲などの植物全長配列の測定実績を有する中国大手 sequencing 専門会社に委託して行っている)、2009年3月までに、測定を完成する予定である。

呉先生の研究チームは研究員5人と大学院学生20人ほどを含み、すでに実験室レベルの組織培養、遺伝子組み換え法(アグロバクテリウム法)の開発をクリアして、表7の蛋白質を目標にして、遺伝子組み換え種の作成を行っている。また、広東省で地元企業と育種圃場を共有し、共同で優良種の選抜や伝統交配法により優良種の育成研究を行っている。

研究所構内では、遺伝子資源の保存目的で、この3年間で中国全土から収集した約60-70系統のヤトロファ野生種が栽培されている。中国の野生種は主に南部の広東、福建、海南、四川、貴州、雲南、広西などに分布しており、彼らは野生種の生育地域において約30km間隔で種子を採集し、研究所構内の砂地で栽培している。ほぼ野生のままの状態、給水、肥料や剪定の管理は行っていない。また、遺伝子保存が主目的だが、生産量や

表7 遺伝子組み換え品種の作成

遺伝子タイプ	蛋白質機能と改良目標
HbNHX1	Na ⁺ 逆向トランスポーター。細胞内浸透圧の調節のより、耐塩性の増強。
SaDREB1 SaDREB2 PpDREB2	低温耐性遺伝子の発現誘導。低温耐性の増強。
CCoAOMT CCoAOMTP	木質繊維合成のキー酵素。木質繊維の量を増えることで、植物のストレス耐性を増強。
ACCase oleosin caleosin	脂肪酸合成と油形成のキー酵素。活性増強により油含量の向上。
KAS FAT	脂肪酸合成に炭素数を決める酵素。酵素活性のコントロールにより、脂肪酸炭素数を調節する。
FAD	不飽和脂肪酸の形成酵素。酵素活性調節により、脂肪酸の不飽和度や油の流動性、融点を調節する。

形質のいい系統の選抜も行っている。

10月30日

貴州大学精細化工研究開発センター

王保安教授 楊松教授

貴州大学精細化工研究開発センターは7つの研

究室から構成され、植物活性成分由来の農薬開発、ヤトロファの開発利用・化学工業材料や技術の開発などの研究を行っている。

①貴州、四川、雲南省の野生ヤトロファの分布調査また油含量、生産量、脂肪酸組成の測定による、上述地域の優良種源の確定。現在、貴州と四



図2 研究所構内に栽培されている2-3年生株



図3 2-3年生株の実

川の境を接する地域にある大学の農園で人工栽培して、優良種の選抜や交配育種も行っている。育種目標は、主に低温耐性種である。貴州省でのヤトロファは普通に栽培して1年目から実を作り始め(早いものは半年目から実を作る)、毎年7月から10月が収穫の季節となる。成長期が長いため、貴州省の野生種の油含量は他の地域より高く、脂肪酸組成もよいとのこと。貴州のヤトロファ分布地域では、乾熱型気候で、降水量が少ない(平均400 - 600mm/年)、気温が高い、ガスト地形の山が多いなどの特徴がある。

②ヤトロファ BDF の精製技術の開発。彼らが

開発した固体触媒反応法は、メチルエステル化効率が高く(95%以上)、触媒が回収できる特徴がある。水洗い工程がなくなるため、廃液の排出が少ない。貴州中水エネルギー発展有限公司は、この技術を利用して、年産1万トンのBDF生産プラントを作り、生産を開始している。

③ヤトロファの高付加価値利用。ヤトロファの絞り粕、葉、茎、皮、根から活性成分を抽出、分離、精製した後、癌細胞の抑制活性の測定により、薬用前景が有する活性物質の選別を行っている。現在、癌細胞の増殖抑制活性を有する二つの抽出物(一つはジテルペンであり、もう一つはまだ構



図4 実験室で作ったヤトロファ BDF サンプル



図5 実験棟と実験室一角

造が確認されていない)が確認されている。

11月3日

雲南大学生命科学学院 許継宏教授

許継宏教授は雲南大学生物エネルギーテクノロ

ジー研究所(生物質エネルギー研究所)の所長であり、彼が開発したヤトロファ毒抜き苗木育成技術と樹を低木にして収穫を増やす栽培技術に関心を持ち、詳しく話しを聞きに行った。

ヤトロファ毒抜き苗木育成技術としては、我々



図6 雲南大学正門と新築の生物エネルギーテクノロジー研究所実験棟



図7 研究所で搾ったヤトロファ油で走る車(男性の方は許継宏教授)



図8 ヤトロファ組織培養

が当初期待したヤトロファ蛋白毒やホルボールエステル生産をしない苗木の育成ではなく、ヤトロファの成長に損害を与える植物病毒なしの苗木の育成、すなわち、組織培養のことであった。組織培養技術は、中国のほとんどの研究機構ですでに実験室レベルではクリアされた技術だが、今までの調査では、大量生産できるのはここだけであることから、コストを抑え、分化率や生存率を高くする技術を持っていると考えられる。樹を低木にして収穫を増やす栽培技術としては、植物ホルモンの散布と独特な栽培管理で、樹木の高さを抑えるとともに、分枝を増やすことで、生産量を増やす技術である。

雲南省は、東南アジアのような湿熱型気候地域や降雨量が少ない乾熱型気候地域が両方あり、ヤトロファの栽培に適する地域として知られる。雲南大学では、この数年間で中国各地の野生種を収集して、湿熱型気候地域の西双版纳や乾熱型気候地域の元謀県などに位置する農園で栽培して、耐

乾性、耐湿性、高油含量や高生産性の優良種の選抜を行い、いくつの優良品種を獲得している。さらに、中国の宇宙船にヤトロファの種子を搭載して、その中から変異した優良種を選抜した。すべての優良種は大学で組織培養により繁殖され、大学農園で栽培されている。しかし、交配育種は行われていない。

11月3日

中国科学院昆明植物研究所 龍春林教授

研究チームは中国野生種資源の調査や選抜研究(企業と共同研究で)を行っている。挿木技術の特許を持っているほか、遺伝多様性の解析また遺伝子マーカーの作成が得意な研究分野である。

龍教授と共同研究先の企業が共有する育種農園は、雲南省の元謀県にあり、乾熱型気候地域に属する地域である。

遺伝子マーカーの作成について、主に AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) 法を



図9 実験棟



図10 実験室一角

使っている。

11月6日

四川大学生命科学学院 陳放教授

優良種選抜、人工育種、栽培技術、BDF生産技術、搾り粕の高付加価値利用、毒蛋白質解析や利用、ヤトロファ遺伝子解析や遺伝子組み換え技術の開発などはほぼすべての関連研究を行っている。

優良種の選抜と育種研究において、彼らは四川省攀枝花市にある大学農園で、「高油63号」以外に、高生産性（一年生で1kg/株の生産量を有するもの）、高蛋白生産種（毒蛋白質の薬用目的）などの優良品種を選抜したほか、放射線による変異育種を行い、耐塩性や耐アルカリ性品種の開発も行っている。遺伝子解析研究においては、保有する種子のRAPDなどの遺伝多様性分析はもちろん、全長cDNAライブラリの構築はすでに完了しており、遺伝子全長配列の測定もこれから開始予定である。また、雌花の形成影響因子の遺伝子解析も進んでいる。

各国の共同研究によりヤトロファ研究を促進する目的で、中国政府は1億ドルの資金を投入して、2009年四川大学に国際ヤトロファ研究センターを建設することが決められた。

まとめ

四川大学の国際ヤトロファ研究センターも1億

ドルの予算が組まれるようであるが、民間でもBPやDloilsなどが1億ドル以上の規模で、ヤトロファの品種・用途開発に取り組んでいる。中国石油・中国海洋石油・BPなどの石油会社以外にもクライスラー・バイエルン・ADMなどの自動車・製薬・穀物メジャーや、シンガポールのTemasek Life Science Laboratoryとインドのタタケミカルなども参入しており、これからますます競争が激しくなるものと予測される。他方、今すぐ事業が成立するだけの生産性の高さもしくは付加価値の作実が実現されているわけではないだけに、各国や企業の長期的展望に基づくサポートがないと研究を行うことは難しい。また、栽培現場においては、当初期待されていたほどの収量が上がらないことから、契約栽培委託者と受託農民との間での混乱や、新植民地主義などの批判も生じている。契約上の問題は、契約主体間の問題であるので、ヤトロファと言う植物が悪いわけではないが、この問題解決のための私共が出来る第一の努力は、中国の研究者同様、ヤトロファの生産性と付加価値を上げるための研究にあると考えており、弊社としては、今後とも継続して当該分野の発展に資するよう努力していきたいと思う次第である。

参考文献

- 1) Yang L, XU Y, CHEN F. Study on seed germination of *Jatropha curcas*. *Seed*, 2007,



図11 実験室風景

- 26(5): 88-90
- 2) XU Y L, CAI N H, XU H. Research progress and breeding strategy of *Jatropha curcas* as a species of biological energy. *Journal of Fujian Forestry Science and Technology*, 2007, 34(3): 238-243
 - 3) WEI Q, LU W D, LIAO Y, et al. Plant regeneration from Epicotyl Explant of *Jatropha curcas*. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*. 2004, 30(4): 475-478
 - 4) OU G T, XU D Q, ZHOU S M. Pests and disease occurrence on *Jatropha curcas* in Luodian. *Journal of Mountain Agriculture and Biology*. 2008, 27(1):90-94
 - 5) WU J, WANG S H, TANG L, XU Y, CHEN F. Hereditary capacity of seed oil content in *Jatropha curcas* land breeding of variety, CSC High-oil 63. *Seed*, 2008, 27(5):100-102
 - 6) LUO T, DENG W Y, CHEN F. Study on cold resistance ability of *Jatropha curcas* growing in different ecological environments. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis NeiMongol*. 2006, 37(4): 446-449
 - 7) QIN H, SONG S Q, LONG C L, CHENG H Y. Tissue culture and plant regeneration of *Jatropha curcas*. *Acta Botanica Yunnanica*. 2006, 28(6): 649-652
 - 8) YANG Q, PENG D P, DUAN Z B, WANG Z L, SUN Q X. Study on pollination biology of *Jatropha curcas*. *Journal of South China Agricultural University*. 2007, 28(3): 62-66
 - 9) ZHENG K, LANG N J, PENG M J, ZHAO L X, YANG X. Advances in the studies of chemical constituents and utilization of *Jatropha curcas*. *Journal of Northwest Forestry University*. 2007, 22(5):140-144
 - 10) CAO H, SONG B A, YANG S, HU D Y, ZENG S. Chemical Constituents of the Barks of *Jatropha curcas*. *Nat Pro Research and Development*. 2007, 19: 982-985
 - 11) LIN J, CHEN Y, XU Y, et al. Cloning and expression of Curcin, a ribosome-inactivating protein from the seeds of *Jatropha curcas*. *Acta Botanica Sinica*. 2003, 45(7): 858-863
 - 12) LIN J, YAN F, TANG L, et al. Antitumor effects of Curcin from seeds of *Jatropha curcas*. *Acta Pharmacological Sinica*. 2003, 24(3): 241-246
 - 13) FAN J D, YANG S, SONG B A, LI D, ZHANG Y. research advances in pesticidal and medicinal activity of *Jatropha curcas*. *Agrichemicals*. 2006, 45(5): 299-301
 - 14) ZENG H Y, FANG F, SU J L, LI C Z, JIANG L J. Technique of extracting oils from *Jatropha curcas* seeds. *Jiangsu journal of agriculture and science*. 2005, 21(1): 69-70
 - 15) LIU D C, SHE Z H, LIU J B, YE P, ZHANG A Q. Deacidification of *Jatropha curcas* seed oil with solvent extraction. *China oils and fats*. 2005, 30(6): 26-28
 - 16) SHE J H, LIU D C, TAN P Y. Methylation of *Jatropha curcas*, L. seed oil. *China oils and fats*. 2005, 30(9): 34-36
 - 17) ZHOU H, LU H F, TANG S W, LIANG B. Study on the trans-esterification reaction of bio-diesel with *Jatropha curcas*. L oil. *Applied Chemical Industry*. 2006, 35(4): 284-287
 - 18) ZHAO R F, HUA J, CHEN F, ZHANG Z L, YIN H Q, ZHANG Z Y. Preparation of activated carbon from *jatropha curcas* shell by chemical activation. *Sichuan Environment*. 2007, 26(6): 15-18
 - 19) XIANG Z Y, SONG S Q, WANG G J, CHEN M S, YANG C Y, LONG C L. Genetic diversity of *Jatropha curcas* collected from southern yunnan, detected by inter-simple sequence repeat (ISSR). *Acta Botanica Yunnanica*. 2007, 29(6): 619-624
 - 20) HE W, GUO L, WANG L, YANG W, TANG L, CHEN F. ISSR analysis of genetic diversity of *jatropha curcas* L. *China Journal of Applied and Environment Biology*. 2007, 13(4): 466-470
 - 21) SUN Q, XU Y, YAN F, CHEN F. Factors in rapid analysis of *jatropha curcas* L. *China Journal of Applied and Environment Biology*. 2002, 8(3): 259-261
 - 22) ZHANG R, ZHENG Y F, WU Y, WANG S H, CHEN F. A simple and efficient method for preparation of plant RNAs. *Hereditas* (Beijing). 2006, 28(5): 583-586

Summary

Recent Research on *Jatropha curcas L.* in China

Yuxi He, Makoto Goda

Nippon Biodiesel Fuel Co.,Ltd.

Nippon Biodiesel Fuel has been working on variety collection, breeding and cultivation method development of *Jatropha curcas L.* This plant has been attracted a lot of attention in China, South East Asia, South Asia and Africa as a potential energy crop. In China, especially in Yunnan, Sichuan and Guishou, a lot of research is being carried out on this plant. In order to have an overview on the Chinese efforts on the production and utilization of *Jatropha curcas L.*, this report reviews the outline of biofuel policies in China, brief the new research papers on cultivation, chemical analysis, process for biodiesel fuel production and biotechnology, and put the interview reports with the authors of these research papers.