

簡易な電気刺激方法によるサフランの開花促進およびクロシン含有量の増大

西村 亮^{*,1}, 小塩 智弘^{*}, 近藤 謙介^{**}

(2017年9月11日受付; 2018年1月27日受理)

Promotion of Flowering and Increase of Crocin Content of Saffron by Simple Electric Stimulation Method

Ryo NISHIMURA^{*,1}, Chihiro KOSHIO^{*} and Kensuke KONDO^{**}

(Received September 11, 2017; Accepted January 27, 2018)

Recently, many high-voltage techniques are used to improve the productivity and growth of agricultural crops. In most of such researches, electric stimuli are given under very high electric field with very short duration time of a few nanoseconds. In this paper, we report on the effects of electric stimulus on saffron growth. We applied relatively low voltage of about 0.5-2 kV and long duration time of about 1 s directly to saffron bulbs as a pre-emergence treatment and investigated the effects on flowering and amounts of crocin, one of a medicinal properties, contained in saffron pistils. It is shown that an appropriate electric stimulus have strong possibility of promoting flower-bud formations, increasing a number of flowers and amounts of crocin content, improving the flowering concurrency and promoting early flowering.

1. はじめに

近年、高電圧や放電プラズマ、パルスパワーが農業分野で利用されており、これらを用いることにより野菜や食菌の生長が促進されることが報告されている¹⁻³⁾。植物種子に対しては吸水処理後のニンジン種子に電界を印加することで発芽率が向上する報告がある⁴⁾。球根植物に対してはグラジオラス球根にピーク電圧 20 kV、パルス幅 100 ns のパルスパワーを印加することでジベレリン処理とほぼ同程度の発芽促進効果あることが確認されている⁵⁾。これらの研究ではピーク電圧が数 10 kV 以上、ナノ秒オーダーのパルス幅が用いられている。

サフラン (*Crocus sativus* L.) は球根植物のクロッカスの一種で多年生草本である。サフランの雌ずい(雌しべ)には水溶性のカロテノイド系の黄色色素であるクロシン (crocin) や α , β , γ -カロテン (carotene) などが成分として含まれる⁶⁾。サフランの花には3本の赤い雌ずいがあり、これを乾燥させたものが香辛料、着色料、

漢方薬として利用される。この乾燥した雌ずいは1グラムあたり1,000円以上と非常に高価である。このサフランの臨床応用としては鎮静、沈痛、通経薬として用いられ⁶⁾、また Konoshima らがサフランエキスをクロシンの内服によりマウスに対する2段階発ガンを抑制することを明らかにしている⁷⁾。そのほかにも記憶学習や脳神経細胞のアポトーシスに対するサフランとクロシンの作用に関する報告がある⁸⁾。濱口、伊藤らは育成チャンバー内でのサフラン水耕栽培において遠赤色光の照射によってクロシン含有量が増加し、これが炭水化物の転流促進によることを示唆している⁹⁾。また、植物細胞がウイルスや紫外線B波(波長280-315 nm)のようなストレスにさらされると活性酸素種が過剰に生成され、酸化ストレスを引き起こすことが報告されている^{10,11)}。一般的に植物がストレスにさらされると機能性の一種である抗酸化力が高まることが知られている。クロシンも抗酸化作用の強い物質であるため¹²⁾、サフランに適度なストレスを与えることで含有量が増える可能性がある。

本研究では植え付け前のサフラン球根に0.5~数kVの電圧を印加することで開花の斉一性の向上およびクロシン含有量の増大が確認されたことを報告する。

2. 実験

2.1 電圧印加方法

電圧印加用電極は直径20 mmのステンレス球を用い、高圧電源の出力端子に電氣的に接続する。接地した厚さ1 mmのアルミニウム板の上にサフラン球根を図1のよ

キーワード: サフラン, 電気刺激, クロシン, 開花促進

^{*} 鳥取大学大学院工学研究科

(〒680-8552 鳥取県鳥取市湖山町南4-101)

Graduate School of Tottori University, Faculty of Engineering, 4-101, Koyama-minami, Tottori-shi, Tottori 680-8552, Japan

^{**} 鳥取大学農学部

(〒680-8553 鳥取県鳥取市湖山町南4-101)

Faculty of Agriculture, Tottori University, 4-101, Koyama-minami, Tottori-shi, Tottori 680-8553, Japan

¹ ryo@eecs.tottori-u.ac.jp

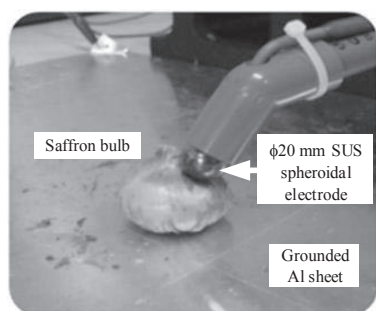


図1 ステンレス球電極によるサフラン球根への電圧印加
Fig.1 Applying voltage to saffron bulbs using SUS-spherical electrode.

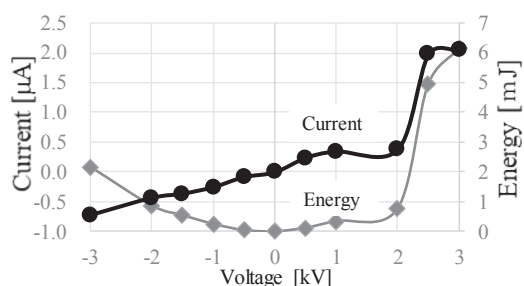


図2 重量約 30 g のサフラン球根の電流電圧特性および投入エネルギー
Fig.2 V-I characteristics and applied energy of a saffron bulb of which weight is about 30 g.

うに発根部を下にして置き、頭頂部に手で電極を約 1 秒接触させ電気刺激を与える。この際、電極は球とパイプの重みにより球根に軽く触れる程度であり、意図的な荷重は与えていない。高圧電源は正極性は AMC-50 K1.2P、負極性は AMC-50K1.2N（マクセレック（株））を用い、交流電圧はファンクションジェネレータから発生させた波形を高電圧アンプ TN-HVA（ウルトラボルト社）で増幅させて発生させた。

2.2 印加電圧の選定

重量約 30 g の発芽前のサフラン球根（熊本産）から任意に 1 個選択し、2.1 節で述べた方法で直流電圧を印加して球根に流れる電流を測定、球根 1 個あたりの投入エネルギーを計算したところ、図 2 のようになった。球根の外皮が乾燥していたためか電流は 1 μ A 程度であった。印加電圧が ± 2 kV までは電圧と電流はほぼ比例しているが、それ以上の電圧を印加すると電流が急増した。この結果より電圧印加区を表 1 のように 11 通り定めた。直流電圧印加の場合の球根 1 個あたりの投入エネルギーも図 2 に示す。このほかに電圧を印加しない区（Control）を用意し、電圧印加区と比較した。

2.3 実験手順

重量約 30 g の発芽前のサフラン球根（熊本産）を使用した。電圧印加区および Control の計 12 区に対し、1

表 1 サフラン球根への印加電圧
Table 1 Voltages applied to saffron bulbs.

+DC [kV]	-DC [kV]	AC60 Hz [kV] (sine wave rms)
0.5	-0.5	0.5
1.0	-1.0	1.0
2.0	-2.0	1.5
3.0	-3.0	



図3 植え付けたサフラン球根
Fig.3 Planted saffron bulbs.

つの区につき 40 個ずつ用意した。各区の球根 1 個あたりの重量の平均値は 30~31 g であり、Control と各電圧印加区間の球根の重量に対し t 検定（片側検定）を行った結果、95% で有意差は認められなかった。サフランは重い球根ほど多くの花を咲かせるため、もしも電圧を印加せずにこの 12 区を栽培した場合、各区間の開花数にほとんど差は無いと考えられる。

2014 年 8 月 26 日に電圧印加を行い、翌日 8 月 27 日にプランターに植え付けた。1 つのプランターにつき、図 3 のように 10 個の球根を植え付け、球根が見えなくなるまで上から土を被せた。用土はホームセンターで販売されている商品名『花と野菜の土』を使用した。プランターはビニールハウス中に区ごとに置き、室内の温度管理や日照管理などは行うことなく水道水のみを灌水し栽培した。

3. 結果

3.1 開花状況

開花は 2014 年 11 月 5 日に始まり、この時点では Control と電圧印加区の差は明確ではなかったが、各区とも 11 月 11 日に一斉に開花し、この時には Control と電圧印加区間の間に開花の差異が生じ、図 4 に示すように特に DC -0.5 ~ +1.0 kV 区においては Control と比較して開花数が多かった。図 5 および 6 に正電圧印加区での各日の開花数と累積開花数をしめす。図 5 から DC -0.5 ~ +1.0 kV 区は 11 月 11 日の開花数が Control と比較して 20 輪以上多く咲いていることがわかる。11 月 22

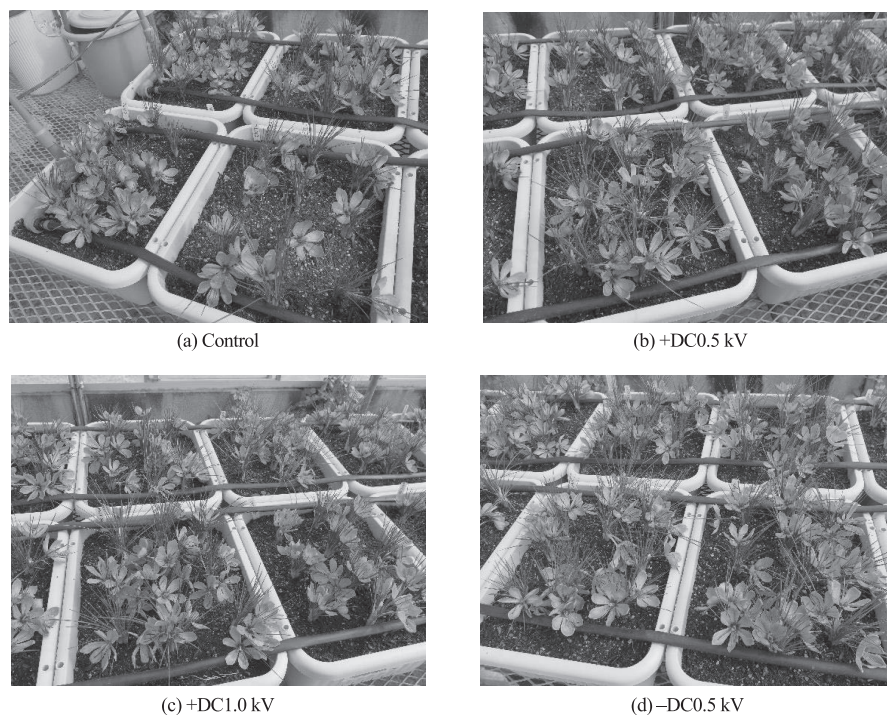


図4 2014年11月11におけるサフランの開花状況
Fig.4 Flowering situations of saffron in Nov. 11, 2014.

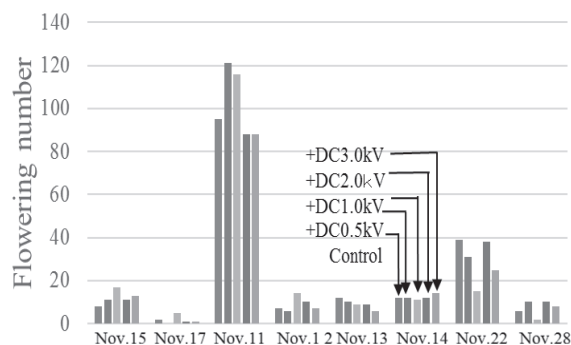


図5 正電圧印加区の2014年11月15日から11月28日までのサフラン開花数

Fig.5 Flowering number of +DC-treated saffron during Nov. 15~Nov. 22, 2014.

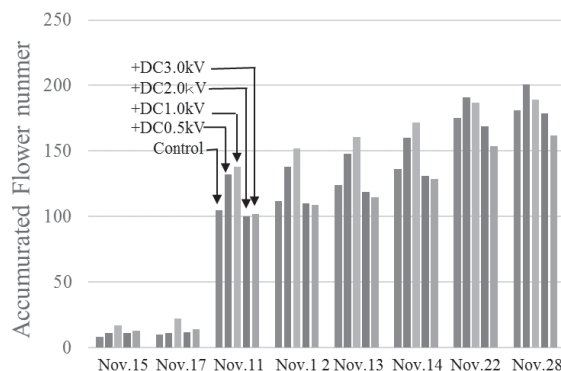


図6 正電圧印加区の2014年11月15日から11月28日までの累積開花数

Fig.6 Accumulated flowering number of +DC-treated saffron during Nov. 15~Nov. 22, 2014.

日以降はほとんどの電圧印加区で開花が見られず、Controlを含めると11月28日に開花が終了した。一般的な栽培農家では雌ずいの採取は手間の関係ですべての開花を待たずに適当なところで終了する。そこで、開花数8割を目安として収穫終了とした場合、Controlが開花数8割に達したのは11月22日（開花17日目）であった。それに対し、+DC1.0 kV区は11月12日（開花7日目）、+DC0.5 kV区、+DC3.0 kV区は11月14日（開花9日目）であった。サフランは直流の正電圧の印加により、8割程度の開花状態に達する日が1週間程度早く訪れ、開花の斉一性が改善されたと言える。+DC2.0 kV区に関してはCNTLとの変化は見られなかった。

開花したサフランから雌ずいを毎日手作業で一つずつ摘み取った。摘み取った雌ずいは区ごとに分けて凍結乾燥した。表2に各試験区の総開花数、採取した雌ずいの総乾物重、雌ずい1本あたりの乾物重を示す。必ずしもすべての区ではないが、電圧印加によって開花数が増加し、採集できる雌ずいの本数、重量が増加傾向にあった。+DC0.5 kV、+DC1.0 kV、+DC3.0 kVの電圧印加区は1区 of サフラン（40個）からとれる雌ずいの総乾物重量が10%程度増大した。しかし雌ずい1本あたりの重量は大きな変化は見られなかった。一番サフランの開花に影響を及ぼした区は、開花数や雌ずい採集量が増加し、開花速度の向上も見られた+DC0.5 kV（投入エネルギー0.12

表2 サフランの開花数と雌ずいの乾物重
Table 2 Numbers of saffron flowers and dry weights of pistils.

	Number of Flowers	Total dry weight of pistils [mg]	Average DW of a single pistil [mg]
CNTL	181	1477.4	2.7
+DC0.5kV	201	1645.5	2.7
+DC1.0kV	189	1587.6	2.8
+DC2.0kV	179	1461.0	2.7
+DC3.0kV	162	1456.0	3.0
-DC0.5kV	187	1517.2	2.7
-DC1.0kV	195	1403.3	2.4
-DC2.0kV	195	1481.1	2.5
-DC3.0kV	201	1556.3	2.6
AC0.5kV	183	1528.1	2.8
AC1.0kV	183	1653.9	3.0
AC1.5kV	189	1416.0	2.5

mJ) を印加した区だと考えられる。

3.2 電気刺激によるクロシン含有量の変化

雌ずいごとにクロシン含有量に差がある可能性を考慮して、各試験区からサフラン雌ずいを無作為に3本ずつ10組選出した。1リットルのイオン交換水に3本ずつ雌ずいを入れ、24時間暗所で常温保存して各区ごとに抽出液を10通り作成した。この抽出液を吸光分光光度計OPTIMA SP-300を用いてクロシンの吸光度が最大となる波長438 nmにおいて吸光度を測定し、濃度を測定した。表3は各試験区の10本の抽出液の平均濃度をControlを基準に規格化したものである。ほとんどの電圧印加区の濃度が高くなったことがいえる。特に効果があった電圧印加区に関しては濃度が約1.2倍に増加した。

電圧印加区の中で+DC0.5 kV区は表3に示すようにControlと比較してクロシン濃度が1.2倍に増大した。またこの区は開花の斉一性も向上していた。そこでこの区とControlのクロシン含有量の有意差検定を行った。各区10通りの抽出液の濃度を前述のように測定し、F検定およびt検定（分散が等しくないと仮定した2標本による検定）を行った結果、95%より高い信頼度を持って+DC0.5 kV（投入エネルギー0.12 mJ）印加区のサフラン抽出液の濃度が高いという結果が得られた。Szeらはwheatgrassに

表3 水溶液の規格化されたクロシン濃度
Table 3 Normalized concentration of crocin water solution.

Control	1.0				
+DC0.5kV	1.2	-DC0.5kV	1.2	AC0.5kV	1.2
+DC1.0kV	1.2	-DC1.0kV	0.9	AC1.0kV	1.1
+DC2.0kV	1.0	-DC2.0kV	1.1	AC1.5kV	1.1
+DC3.0kV	1.0	-DC3.0kV	1.1		

パルス電界を印加することで酸化ストレスが引き起こされるが、抗酸化物質量が増大し、細胞の損傷が低減されることを示している¹³⁾。本研究におけるクロシン含有量の増大もこれと同等な現象であると考えられる。

本研究では+0.5 kV印加区はControlと比較して雌ずい1本当たりのクロシン含有量が1.2倍になり、球根1個から採取できる雌ずい数が $201/181 = 1.11$ 倍になることより、電気刺激付与による球根1個あたりの平均クロシン含有量は1.33倍となった。

4. 結果の検証および考察

4.1 電気刺激による花芽形成の促進

サフランの開花数は球根の重量によってある程度決まっている。また、花芽は休眠時に形成され、電気刺激を与えた8月下旬には時期的に花芽の形成は終了している。したがって、球根の重量にほぼ差が無いのならば花の数もほぼ差が無いと考えられる。しかし実験結果からは電気刺激を与えたサフラン球根からの開花数はControlよりも多くなる傾向があった。

そこで、電気刺激付与の効果を確認するため、翌年（2015年度）に同様の実験を行った。用いた球根は30 g前後のものが入手できなかったため、16 g前後のものをを用い、印加電圧および印加時間は昨年度良好な結果が得られた正電圧とし、印加時間に差を設けて+DC0.5 kV1秒（投入エネルギー0.096 mJ）および5秒（0.48 mJ）、+DC1.0 kV3秒（0.84 mJ）、+DC2.0kV3秒（1.82 mJ）としてControlと比較した。この実験では球根の電流電圧特性は測定しなかったが、投入エネルギーは球根重量が昨年度の約1/2であることから、体積も約1/2であり、球根は重量が異なっても形状は基本的に相似なので、これから球根発根部から頭頂部までの高さは $(1/2)^{1/3} = 0.8$ 倍とし、球根の形状が相似で、内部の導電率が均一でまんべんなく電流が流れていると考えた場合、球根の抵抗値は高さに反比例するので、前年度と同一電圧・同一印加時間の電圧刺激により球根1個が受けるエネルギー $V^2/R \times t$ は前年度の0.8倍となるものとして見積もった。

各区の球根の数は40個であり、Controlと電圧印加区との球根重量の差はなかった。前年度と同様に8月下旬に電気刺激を与え、その翌日に植え付けを行った。2015年11月2日に開花が始まり、11月24日に終了した。累積開花数を図7に示す。開花が始まった11月2日はControlと電圧印加区に大きな変化がないことが分かった。サフランの開花が終了した11月24日では、+DC0.5 kV印加時間5秒区がControlに比べてトータルの開花数が増加した。電気刺激はサフランの開花に影響を及ぼして

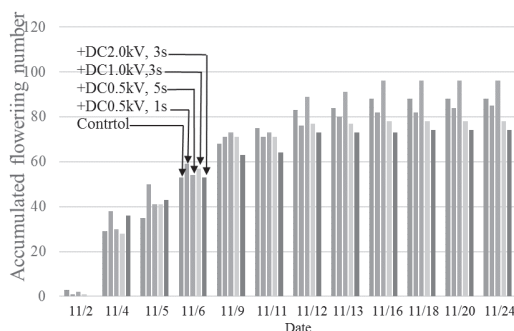


図7 正電圧印加区の2015年11月2日から11月24日までの累積開花数

Fig.7 Accumulated flowering number of +DC-treated saffron during Nov. 2~Nov. 24, 2015.

いる可能性がある。+DC0.5 kV の電圧印加に関しては印加時間を5秒程度にしても効果があると考えられる。しかし、+DC1.0 kV 印加時間3秒区、+DC2.0 kV 印加時間2秒区はControl に比べ開花数が大きく減少した。これは球根に加えられるエネルギーが多すぎて開花を抑制または花芽を損傷した可能性がある。また、2014年度の結果に比べて開花数が少なく、差異が明確ではないのは実験に使用した球根の重量が小さかったためだと考えられる。これはサフランの開花数は球根の重量によってある程度数が決まっているからである。

サフランの開花促進に良好な結果を与えた投入電気エネルギーの概算値は2014年が+0.5 kV1秒印加区で $0.12 \text{ mJ}/30\text{g} = 4.0 \text{ }\mu\text{J/g}$ 、+1.0 kV 秒印加区で $0.35 \text{ mJ}/30 \text{ g} = 11.7 \text{ }\mu\text{J/g}$ 、2015年が+0.5 kV5秒印加区で $0.48 \text{ mJ}/16 \text{ g} = 30 \text{ }\mu\text{J/g}$ となった。一方印加電圧を高くすることで投入エネルギーを大きくしすぎるとControl よりも開花状況が悪化する。例えば2014年では+2 kV1秒 ($25 \text{ }\mu\text{J/g}$)、2015年度では+DC1.0 kV3秒区 ($52.5 \text{ }\mu\text{J/g}$)、+DC2.0 kV2秒区 ($114 \text{ }\mu\text{J/g}$) である。最適な投入エネルギーは球根の重量による違いがあると思われる。

4.2 電気刺激の効果の持続性

前節で述べた検証実験と並行して、電気刺激が次世代まで影響を及ぼすかの調査を行った。サフランは多年草で、開花が終了した球根は翌年栽培を行うことができるため、電気刺激の影響が次世代にまで及ぶのであれば、一度電気刺激を与えるだけで良く、その後の手間を省くことができる。

2014年度の電圧印加実験で、最多の開花数およびクロシン濃度が最大となった+DC0.5 kV 区とControl との比較を行う。2014年度の実験終了後、地上部が枯れた各区の球根を掘り出し、乾燥させ、8月の植え付けまで室内の同一条件で保管した。各区から重量約23 gの球根を各40個選出し、区間の重量についてt検定により95%

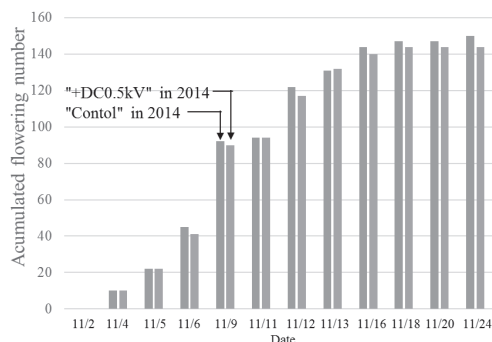


図8 電気刺激の効果は翌年には持ち越さない

Fig.8 Effects of electric stimulus do not carry over to next year.

以上の確率で統計的差異がないことを確認した。この球根を電圧印加せずに植え付け、育成した時の累積開花数を図8に示す。総開花数は前年度のControlが150個、前年度の+DC0.5 kV 区が144個であり、開花の斉性に関しても明確な差異は確認できなかった。また、雌ずいのクロシン含有量にも差が見られず、電気刺激の影響は翌年以降には持ち越されないと考えられる。

4.3 サフラン球根への複数回の電気刺激付与実験

2014年度および2015年度の球根への電圧印加実験の結果より、電気刺激がサフラン球根内の花芽形成に何らかの影響をおよぼす可能性があると思われる。そこで、球根に与える電気刺激の回数を増やすことにより、開花状態に明確な差異が生じると考えた。2015年度のControl と、+DC0.5 kV5秒区のサフラン球根を開花終了後に球根の肥大を目的として施肥を行い、翌年地上部が枯れた後に掘り出し、乾燥させ、室内の同一条件で保存した。この中から旧Control および旧電圧印加区から約22 gの球根をそれぞれ無作為に35個選出した。区間の重量についてt検定により95%以上の確率で統計的差異がないことを確認した。旧電圧印加区を2016年度の(この節での)電圧印加区とし、実験を行った。今回は生長形態や生長速度の観察を行うために土植せず、実験室内の暗所で栽培を行った。温度は最高29.1℃、最低14.5℃、平均22.3℃であった。また、各区から無作為に10個ずつ選出し、開花状態を調査用サンプルとし、残りは必要に応じて球根の内部変化などを調査するためのサンプルとした。開花調査用の10個のサフランは配置する順番を固定して一列に並べた。電圧印加区には2016年7月から10月の第1月曜日に+DC0.5 kV の電圧を球根頭頂部に1秒印加する。発芽・生長の速度は+DC0.5 kV 区が速く、11月28日には図9に示すように+DC0.5 kV 区では開花しているが、Control では開花していない。また、12月2日にControl が開花したが、+DC0.5 kV 区の開花はすべて終了していた。2014年度の実験結果と同様に、



(a) +0.5 kV Multiple electric stimulus



(b) Control

図9 球根に複数回の電気刺激を与えたサフランの開花(2016年11月28日)

Fig.9 Flowering of saffron which got multiple electric stimulus (Nov. 28, 2016).



(a) Unusual germinations from bulbs



(b) Sideways flowering

図10 複数回の電気刺激を受けたサフランからの頭頂部以外からの発芽と開花

Fig.10 Unusual germination and flowering from bulbs which got multiple electric stimulus.

電気刺激によって生育・開花のサイクルが短縮されたと考えられる。また、+DC0.5 kV 区のサフランからは頭頂部以外からも多くの発芽が確認できた。これは、電圧印加の影響の可能性がある。+DC0.5 kV 区のサフラン球根からは図10に示すように球根頭頂部以外からも発芽・開花が確認された。これにより電圧印加区の開花数が増加した可能性がある。

5. まとめ

発芽前のサフラン球根に適切な電気刺激を与えることで開花の増加、開花斉一性の改善による雌ずい採集の手間削減、雌ずいの生産効率の向上、薬効成分増大、発芽から開花終了までの期間短縮といった様々な有益な効果を得られる可能性を示すことができた。生育温度や光条

件を制御せずとも球根1個あたりの平均クロシン含有量が約1.33倍になった。文献9によると生育環境を一定条件に制御しながら遠赤色光を照射することにより球根1個あたりの平均クロシン含有量が2.5倍程度増大している。これらのことより、生育環境を設定できる植物工場において本手法を導入することで、クロシン含有量の更なる増大が期待できるとおもわれる。

参考文献

- 1) S. Dayal, K. G. Srivastava and R.P. Singh: Growth response of tomato to seed and seedling exposure to electrostatic field. *Indian J. agric. Sci.*, **53** (1983) 962-970
- 2) S. Tsukamoto, T. Maeda, M. Ikeda and H. Akiyama: Application of Pulsed Power to Mushroom Culturing. *Proc. of 14th IEEE International Pulsed power Conference*, **1 and 2** (2003) 1116-1119
- 3) K. Takaki, N. Yamazaki, S. Mukaigawa, T. Fujiwara, H. Kofujita, K. Takahashi, M. Narimatsu and K. Nagane: Effect of Pulsed High-Voltage Stimulation on Pholiota Nameko Mush-room Yield. *ACTA PHYSICA POLONICA A*, **115** (2009) 1062-1065
- 4) 松尾昌樹, 坂田智智子: 電界処理が吸水種子の発芽と初期生育に及ぼす影響. *生物環境調節*, **32** (1994) 107-111
- 5) 猪原 哲, 山口将太, 山部長兵衛: パルスパワー印加による植物発芽促進. *電気学会研究会資料パルスパワー放電合同研究会*, PPT-09-105, ED-09-149 (2009) 17-21
- 6) 伝統医薬データベース (Traditional Medical and Pharmaceutical Database, TradMPD)
http://dentomed.u-toyama.ac.jp/en/scientific_information_on_crude_drugs/Saffron/SCC000031 (2017-07-04)
- 7) T. Konoshima, M. Takasaki, H. Hokuda, S. Morimoto, H. Tanaka, E. Kawata, L.J. Xuan, H. Saito, M. Sugiura, J. Molnar and Y. Syoyama: Crocin and crocetin derivatives inhibit skin tumour promotion in mice. *Phytoterapy Research*, **12** (1998) 400-404
- 8) 正山征洋: サフラン栽培の現況とその薬理効果. *薬用植物研究*, **31** (2009) 20-26
- 9) 濱口悠紀, 伊藤博通, 宇野雄一, 黒木信一郎, 宮川沙千, 山下侑将: 植物工場におけるサフランの生育制御—光質の影響解析—, *農業食料工学会関西支部報* **118** (2015) 34
- 10) Z. Li and D.J. Burritt: The influence of Cocksfoot mottle virus on antioxidant metabolism in the leaves of *Dactylis glomerata* L. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **65** (2003) 285-295
- 11) J. L. Smith, D.J. Burritt and P. Bannister: Shoot Dry Weight, Chlorophyll and UV-B-absorbing Compounds as Indicators of a Plant's Sensitivity to UV-B Radiation. *Annals of Botany*, **86** (2000) 1057-1063
- 12) 正山征洋: 生薬学研究 40 年, *Yakugaku Zasshi*, **127** (2007) 1593-1620
- 13) Scientific Reports 6, Article number: 2506 (2016), DOI: 10.1038