

薬用植物研究

The Japanese Journal of Medicinal Resources

43巻2号 (2021年2号)

令和3年12月



ゴシュユ

Tetradium ruticarpum (Juss.) T.G.Hartley

薬用植物栽培研究会

Japanese Society of Research for the Cultivation of Medicinal Plants

目 次

原報

Tube cultivation of Medicinal Plants 5

Shortening the selection period of good licorice clones suitable for the cultivation environment

Akinobu Sueoka · Hiroki Fujita · Tomofumi Nomura · Takayuki Inui

Noriaki Kawano · Nobuo Kawahara · Kayo Yoshimatsu 1

原報

地黄原植物 *Rehmannia glutinosa* の根に含まれる catalpol に関する研究

黄雨婷 · 安藤 広和 · 辻野 舞 · 吉原 司貴 · 佐々木陽平 10

原報

ウラルカンゾウの栽培研究

ストロンの植付ける方向と深度が出芽ならびに発根に及ぼす影響

尾崎 和男 · 野崎 香樹 · 西尾 基之 · 井本 洋輔 · 芝野真喜雄 21

原報

Pharmacognostical studies of *Salviarum Radices* (Part II)¹⁾.

Morphological and anatomical characteristics of crude drugs derived from various *Salvia* plants

Seiichi Yamaji · Naoyuki Yokota · Shao-Qing Ca · Katsuko Komatsu 28

原報

ハナトリカブト栽培における早期収穫の検討

小沼 実香 · 佐々木陽平 · 安藤 広和 42

資料

宮崎県におけるシソの大規模栽培法および生薬・機能性食品資源の調査

渥美 聡孝 · 横川 貴美 · 曾我部果奈 · 瀬戸 翔也 · 大塚 功 54

資料

チョウセンゴミシの栽培方法

御影 雅幸 64

書評

ウイルス感染症のパンデミックと国民生活

－食によるコロナ対策の科学的エビデンス－

水上 元 73

薬用植物栽培研究会第3回研究総会（佐賀大学）..... 75

薬用植物栽培研究会第4回研究総会ご案内（大阪医科薬科大学）

編集後記

編 集 委 員

姉帯 正樹

伊藤美千穂

伊藤 徳家

奥山 徹

草野源次郎

高上馬希重

小松かつ子

佐々木陽平

◎芝野真喜雄

西原 英治

林 宏明

菱田 敦之

松嶋 賢一

三井 裕樹

宮本 太

矢原 正治

吉岡 達文

渡邊 啓一

Tube cultivation of Medicinal Plants 5

Shortening the selection period of good licorice clones suitable for the cultivation environment

Akinobu Sueoka^{1)*}, Hiroki Fujita²⁾, Tomofumi Nomura²⁾, Takayuki Inui^{3,4)},
Noriaki Kawano³⁾, Nobuo Kawahara^{1,3)}, Kayo Yoshimatsu³⁾

¹⁾ *The Kochi Prefectural Makino Botanical Garden*
4200-6, Godaisan, Kochi-city Kochi 781-8125, Japan

²⁾ *Shinnihonseyaku Co., Ltd.*

1-4-7, Otemon, Chuo-ku, Fukuoka 810-0074, Japan

³⁾ *Tsukuba Division, Research Center for Medicinal Plant Resources, National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition*

1-2, Hachimandai, Tsukuba, Ibaraki 305-0843, Japan

⁴⁾ *Hokkaido Division, Research Center for Medicinal Plant Resources, National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition*
108-4, Ohashi, Nayoro, Hokkaido 096-0065, Japan

(受付日：2021年4月30日／受理日：2021年11月8日)

Abstract

Traditional methods for selecting good licorice plants with potentially high active ingredient contents and root yield from naturally grown plants involves selecting good plants from those already under cultivation, propagating them by cloning, and subsequently conducting cultivation studies again to confirm reproducibility. It takes 2 years for plants to mature using tube cultivation and at least 4 years to select good plants, suggesting that the process of selection is challenging to perform within a short time. To overcome this problem, this study used a method that involved sowing licorice seeds under aseptic conditions, cloning the germinated plants, cultivating them, and selecting good clones among them. By subculturing them after the start of cultivation, we secured clone seedlings after completing the selection. Because the clones were the same as those used in the cultivation study, we could skip the process of confirming reproducibility, thereby shortening the selection period, unlike conventional methods. We selected three good clones suitable for growth in short tubes in greenhouses through this 2-year cultivation study.

Key Words

selection, licorice, tissue culture, tube cultivation, glycyrrhizic acid

Introduction

Since 2006, we have grown medicinal plants and researched cultivation techniques for producing

domestically grown crude drugs. As many crude drugs require the use of roots of medicinal plants, which in many cases require many years to grow to a usable

size, we focused on a tube cultivation method¹⁾ in which roots are grown inside a tube to efficiently enable their growth to a proper size within a short time. In our first study, we reported the results of our trials with purple gromwell²⁾ (*Lithospermum erythrorhizon* Siebold et Zuccarinii), which is designated as a Category 1B endangered species.³⁾ In our second study, we reported on Chinese licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.);⁴⁾ in our third study, we reported on Spanish licorice (*Glycyrrhiza glabra* Linn.).⁵⁾

We reported on the results of cultivation trials with purple gromwell and licorice and confirmed the effectiveness of tube cultivation,^{6, 7, 8, 9)} but expanding cultivation was an issue owing to workability and production costs. In the fourth study, we reported on growing licorice in short tubes for field cultivation to overcome these problems.¹⁰⁾ However, although only the clones of selected good plants were grown, major differences were observed regarding yield and component content, depending on the field and area in which the plants were grown, and the yield of Chinese licorice grown in short tubes was lower than that of Chinese licorice grown in standard tubes.¹¹⁾ Because the study demonstrated the possibility of major differences in harvest quality when plants are grown in an environment different from that in which the parent plant was initially grown, regardless of good quality plants being selected, we surmise that it is preferable to select good quality plants from the area in which the next generation of plants will be grown.

In this study, we used Spanish licorice, which is easier to grow and has higher yields than Chinese licorice. Clones were created, and following their selection and growth, good plants suited to the cultivation method and area were selected before cultivation.

Materials

Spanish licorice used for the selection trial was a clone maintained by the Tsukuba Division of the Research Center for Medicinal Plant Resources

(RCMPR), a part of the National Institutes of Biomedical Innovation, Health, and Nutrition. The plant was sown under aseptic conditions in March 2014 using a seed harvested in 2007 from Spanish licorice plants from the Hokkaido National Agricultural Experiment Station [*G. glabra* Hokkaido, (GgHN)] or the University of Toyama [*G. glabra* Toyama, (GgToy)] that were preserved and grown in the fields of the Hokkaido Division of the RCMPR, germinated, cultivated, and proliferated. GgHN was taken from the Hokkaido National Agricultural Experiment Station Crop Division to the Hokkaido Medicinal Plant Research Station of the National Institute of Hygienic Sciences (now the Hokkaido Division of the RCMPR) on May 13, 1966. GgToy was taken from the University of Toyama Experimental Station for Medicinal Plant Research on March 31, 1989.

At the Tsukuba Division of the Research Center, 1/2 hormone-free Murashige and Skoog medium with 2% sucrose and 0.25% Gelrite was used as the growth and rooting medium and the plants were maintained at 23°C under light (white fluorescent tubes: 6,000 lux) for 14 h. On July 27, 2016, we received 3 aseptic seedlings of each of the 25 clones (GgHN1–19 and GgToy1–6) from the Tsukuba Division of the Research Center and grew them at the Iwakuni Research Institute.^{2, 4)} Subsequently, we acclimatized them before planting them out, and each clone was subcultured and maintained in the culture room inside our facility.

Methods

1) Proliferation

After obtaining the seedlings, they were kept inside the culture room at 23°C for 1 week to confirm no contamination during transit. Then, they were proliferated using tissue culture from August 3 to the end of November of the same year. From October, clones that proliferated in excessive numbers were suppressed to maintain a certain number. At the Iwakuni Research Institute, Plant culture boxes were used for a maximum number of nine seedlings in each

box. The proliferation rates of the clones for the 2 months, until October 3, were calculated using the number of clones that grew during that period. The acclimatization rate was calculated by comparing the number of acclimatized plants at the end of November with the original number of plants⁴⁾. Only rooted seedlings were deemed to be acclimatized, and unrooted seedlings were discarded. For seedlings acclimated between December 24 and January 25, we investigated the number of cultured seedlings that survived for 1 month. In total, 128-cell trays were used for acclimatization and managed under the same culture conditions as the seedlings (16 h of light at 2,500 lx and 21°C) to avoid the influence of longer hours of light, lower temperature, or disease. After 1 month, the acclimatized seedlings were transferred from 128-cell trays to 6 cm plastic pots, and the number of acclimatized seedlings was used to calculate

the seedling survival rate.

2) Cultivation

To investigate the differences due to the cultivation method on growth and active ingredient contents, we compared three cultivation methods: standard tubes inside a greenhouse^{2, 4)} (tube cultivation), short tubes inside a greenhouse (short tube cultivation), and short tubes in a field¹⁰⁾ (field cultivation) in and around the Iwakuni Research Institute. In tube cultivation, tubes were placed 20 cm longitudinally and 10 cm latitudinally apart and filled with the potting mix (Table 1). The potting mix comprised kenkonatsuchi as a base, unadjusted Canadian peat moss, vermiculite, perlite, pumice, fertilizer, and lime. Although healthy soil comprises bark compost, coconut palm peat, pumice, peat moss, perlite, decomposed granite soil, and black soil, details regarding the exact composition were not disclosed. With short tube and field cultivation, ridges

Table1. Comprised ratio of the potting mix

Product Name	Company Name (Location)	Comprised ratio(%)
Kenkonatsuchi (Gardening soil)	FOREX TORIN CO.,LTD. (Miyoshi City, Hiroshima Prefecture)	50
Main River Fine (Peat Moss)	Oji Forest & Products Co.,Ltd. (Chuo-ku, Tokyo)	15 - 20
Nenisanso 1gou (Pearlite)	MITSUI MINING & SMELTING CO.,LTD. (Shinagawa-ku, Tokyo)	10 - 15
Vermiculite large	Asahikogyo Co.,Ltd. (Okayama City, Okayama Prefecture)	10 - 15
Boratsuchi (Bora soil)	Midorisangyo Co.,Ltd. (Kurate-gun, Fukuoka Prefecture)	10 - 15
SSbōn (Fertilizer)	SANYO SANKYO YUKI CO.LTD. (Kudamatsu City, Yamaguchi Prefecture)	1.0
GAIA FIELD LINE (Egg Shell Powder)	Green Techno 21 CO.,LTD. (Saga City, Saga Prefecture)	0.5

The comprised ratio displayed as a volume ratio.



Figure1. Tube and Short Tube cultivation in greenhouse.



Figure2. Field cultivation.

that were 60 cm wide and 20–30 cm high were first made, and a single row of seedlings was planted between the ridges leaving a gap of 25 cm between the plants (Figures 1 and 2). Regarding the numbers of plants studied, 12 plants were grown using tube cultivation, 8 were grown using short tube cultivation, and 8 were grown using field cultivation. Seedlings in both tube groups were planted in a greenhouse on May 20, 2016, whereas those in the field group were planted on June 27, 2016. Out of the 25 clone types of GgHN, GgHN5, 8, and 17 were challenging to proliferate and only few seedlings were available; hence, only tube cultivation was performed for these clones. We investigated the average height of plants (from the ground to the apical bud) to compare the growth of plants above the ground.

3) Harvest and selection

Harvesting of 1-year-old plants was conducted on

October 25 in the year of planting, and harvesting of 2-year-old plants was conducted on November 2 of the following year. Each of the three clones grown under different cultivation methods was harvested. After washing, the root was dried and weighed (except for the root head), and the glycyrrhizic acid (GL) and glabridin (GB) contents were measured.

The selection of good clones was conducted in two stages. First, the initial selection was performed based on the yield and component content of 1-year-old plants. Subsequently, for the final selection, the same measurements were performed for the 2-year-old clones selected in the initial selection.

Results

1) Proliferation

At the end of October, the roots of three samples of each clone (25 ϕ test tube) had proliferated by 4.7–40.3

Table 2. The proliferation rates (2 months)

Clone Number	First Number	Proliferation Number	Proliferation Rate(%)
GgToy1	3	65	21.7
GgToy2	3	41	13.7
GgToy3	3	23	7.7
GgToy4	3	32	10.7
GgToy5	3	36	12.0
GgToy6	3	34	11.3
GgHN1	3	65	21.7
GgHN2	3	119	39.7
GgHN3	3	48	16.0
GgHN4	3	85	28.3
GgHN5	3	20	6.7
GgHN6	3	115	38.3
GgHN7	3	121	40.3
GgHN8	3	30	10.0
GgHN9	3	53	17.7
GgHN10	3	87	29.0
GgHN11	3	81	27.0
GgHN12	3	71	23.7
GgHN13	3	33	11.0
GgHN14	3	45	15.0
GgHN15	3	85	28.3
GgHN16	3	47	15.7
GgHN17	3	14	4.7
GgHN18	3	77	25.7
GgHN19	3	76	25.3

Table 3. The Acclimatization rates

Clone Number	Proliferation Number	Acclimatization Number	Acclimatization Rate (%)
GgToy1	128	123	96.1
GgToy2	77	64	83.1
GgToy3	50	41	82.0
GgToy4	68	61	89.7
GgToy5	63	57	90.5
GgToy6	70	59	84.3
GgHN1	137	128	93.4
GgHN2	155	115	74.2
GgHN3	102	93	91.2
GgHN4	184	173	94.0
GgHN5	29	24	82.8
GgHN6	250	246	98.4
GgHN7	283	275	97.2
GgHN8	57	54	94.7
GgHN9	98	81	82.7
GgHN10	231	211	91.3
GgHN11	248	247	99.6
GgHN12	134	98	73.1
GgHN13	87	63	72.4
GgHN14	135	106	78.5
GgHN15	202	172	85.1
GgHN16	119	95	79.8
GgHN17	32	18	56.3
GgHN18	149	129	86.6
GgHN19	175	155	88.6

Table 4. The seedling survival rates

Clone Number	Acclimatization Number	Number of Transplants	Seedling Survival (%)
GgToy1	53	53	100.0
GgToy2	53	50	94.3
GgToy3	47	44	93.6
GgToy4	51	51	100.0
GgToy5	59	54	91.5
GgToy6	50	49	98.0
GgHN1	50	46	92.0
GgHN2	51	47	92.2
GgHN3	38	38	100.0
GgHN4	54	52	96.3
GgHN5	56	10	17.9
GgHN6	54	52	96.3
GgHN7	50	44	88.0
GgHN8	98	1	1.0
GgHN9	49	47	95.9
GgHN10	54	53	98.1
GgHN11	53	50	94.3
GgHN12	60	56	93.3
GgHN13	72	64	88.9
GgHN14	67	62	92.5
GgHN15	43	43	100.0
GgHN16	53	52	98.1
GgHN17	34	1	2.9
GgHN18	51	47	92.2
GgHN19	54	53	98.1

times from August 3, 2016 (Table 2). There was a major difference in the proliferation rate among the clones, ranging from <10 times (GgToy3, GgHN5, and GgHN17) to the highest being 40 times (GgHN2 and GgHN7). The overall acclimatization rate was 88.6%, ranging 56.3%–99.6% (Table 3). The seedling rate of the acclimatized seedlings observed from the number of surviving seedlings was 82.6% overall, ranging 1%–100%, revealing a great difference among the

different clones (Table 4). Based on these results, we thought that it might be possible to achieve a high seedling survival rate by controlling the growth environment. However, the survival rates of some clones during acclimatization were extremely low.

2) Cultivation

As a result of performing this study using three methods – tube cultivation, short tube cultivation in greenhouses, and field cultivation – it was clear that

Table 5. Transition of plant height in each cultivation method (1st year : cm)

Clone Number	Tube			Short Tube			Field Cultivation	
	8/1	9/1	10/24	8/1	9/7	10/24	9/6	10/24
GgToy1	51	67	72	58	83	82	43	41
GgToy2	63	79	79	64	89	82	42	36
GgToy3	59	87	89	75	104	96	46	46
GgToy4	63	68	88	71	107	92	52	44
GgToy5	53	57	65	58	91	85	45	33
GgToy6	52	74	74	68	97	93	47	44
GgHN1	53	66	77	70	84	96	60	51
GgHN2	71	92	88	71	100	84	70	50
GgHN3	73	88	87	63	89	82	58	64
GgHN4	62	89	86	52	69	78	66	61
GgHN5	40	56	49	31	45	50	—	—
GgHN6	60	96	88	67	83	83	55	57
GgHN7	58	66	90	55	72	68	48	50
GgHN8	42	62	50	33	55	48	—	—
GgHN9	65	85	82	62	82	77	56	55
GgHN10	61	77	75	65	74	74	78	53
GgHN11	67	82	89	65	81	91	60	35
GgHN12	52	67	66	54	66	62	47	31
GgHN13	56	72	84	62	80	83	50	52
GgHN14	67	97	96	76	89	88	61	64
GgHN15	60	73	86	71	83	88	48	54
GgHN16	64	83	89	61	90	79	46	38
GgHN17	35	64	63	—	—	—	—	—
GgHN18	62	80	85	70	93	95	58	42
GgHN19	76	96	92	64	82	81	42	42
AVE.±SD	61.3±6.8	79.1±11.1	83.0±8.2	64.6±6.5	85.8±10.3	83.6±8.5	53.3±9.5	47.3±9.6

Table 6. Transition of plant height in each cultivation method (2nd year : cm)

Clone Number	Tube			Short Tube			Field Cultivation		
	5/1	6/1	7/1	5/1	6/1	7/1	5/1	6/1	7/1
GgToy5	41.0	97.0		40.5	122.0			52.0	91.0
GgToy6	49.5	147.0		55.5	146.0			44.0	76.0
GgHN3	55.0	156.0		43.5	142.0			67.0	105.0
GgHN4	38.0	125.0		24.5	74.0			64.5	106.0
GgHN6	37.5	135.0		39.0	98.0			67.0	114.0
GgHN9	45.5	128.0	Not measured.	53.0	113.0	Not measured.	Not measured.	68.0	105.0
GgHN11	47.0	124.0	*1	53.0	129.0	*1	*2	63.0	105.0
GgHN12	30.5	107.0		37.5	90.0			50.0	81.0
GgHN15	38.5	137.0		57.0	155.0			54.5	97.0
GgHN16	45.0	138.0		68.0	144.0			56.0	99.0
GgHN18	37.5	130.0		47.5	146.0			62.5	102.0
GgHN19	35.0	146.0		49.5	151.0			36.0	67.0
AVE.±SD	41.7±6.6	130.8±15.9		47.4±10.8	125.8±25.5			57.0±9.7	95.7±13.5

*1 Because the plant height has stopped growing

*2 Because the plant height is 10 cm or less



Figure3. The growth process of the two-year seedlings (HN15: Tube cultivation, Short Tube cultivation and Open field cultivation from left to right).

there was little difference in terms of the heights of 1-year-old plants grown in tubes or short tubes. Therefore, it was clear that field cultivation was vastly inferior to greenhouse cultivation (Table 5). Furthermore, although the height of 2-year-old plants was approximately 50 cm higher than that of 1-year-old plants, almost no difference was observed between 2-year-old plants grown in tubes or short tubes, a finding similar to that of 1-year-old plants. Germination of seedlings grown via field cultivation was later than that of seedlings grown via greenhouse cultivation. The height of plants grown via field cultivation was about 100 cm, which was 25–30 cm shorter than that of plants grown via greenhouse cultivation (Table 6). It was also clear that field cultivation for 1- and 2-year-old plants was vastly inferior to greenhouse cultivation (Figure 3).]

3) Harvest and selection

The harvest survey results for 1-year-old plants (Table 7) showed that the mean root yield was the highest for clones grown via short tube cultivation (66.2 g/plant), followed by clones grown via greenhouse cultivation (56.3 g/plant), and clones grown via field cultivation (21.2 g/plant). Further, the GL content of clones grown via short tube cultivation was the highest (1.12%), followed by those grown via tube cultivation (0.65%), and those grown via field

cultivation (0.58%). The same pattern was evident for GB content as well, with the highest being 0.142% for short tube cultivation, 0.127% for tube cultivation, and 0.059% for field cultivation. This reveals that short tube cultivation is superior in terms of yield and component content. When examined by clone type, although some produced higher yield and GB content under tube cultivation, the GL content was superior in all clones grown via short tube cultivation and lower in all clones grown via field cultivation.

Based on these results, we initially selected 12 clones, including 10 clones producing high GL content and root weight and 2 clones producing high GB content.

Next, we examined the harvest survey results for the 2-year-old plants of the 12 clones selected in the initial selection (Table 8). Compared to 1-year-old plants, the root yield for 2-year-old plants was approximately three times higher under greenhouse cultivation and two times higher under field cultivation. Also, greenhouse cultivation resulted in approximately five times greater yield than did field cultivation (Figure 4). Regarding GL content, the highest was observed for short tube cultivation produced (1.85%), followed by field cultivation (1.42%), and tube cultivation (1.19%). Only five clones grown via short tube cultivation produced >2.0% yield. The highest GB content was

Table 7. Comparison of root weight and ingredient content cultivated for 1 year

Clone Number	Dry root weight (g)			Glycyrrhizic acid contents (%)			Glabridin contents (%)		
	Tube	Short Tube	Field Cultivation	Tube	Short Tube	Field Cultivation	Tube	Short Tube	Field Cultivation
GgToy1	49.8±15.6	55.9±16.8	10.1±0.4	0.32±0.04	1.14±0.24	0.41±0.04	0.109±0.017	0.126±0.015	0.047±0.009
GgToy2	48.7±5.4	70.6±3.5	5.0±0.6	0.59±0.09	1.08±0.12	0.23±0.01	0.115±0.022	0.121±0.002	0.022±0.007
GgToy3	61.0±1.8	71.8±17.3	8.2±2.3	0.58±0.07	0.68±0.09	0.13±0.02	0.132±0.007	0.108±0.012	0.031±0.009
GgToy4	58.2±2.6	58.1±6.4	8.4±2.8	0.55±0.12	1.07±0.08	0.36±0.15	0.137±0.027	0.171±0.012	0.039±0.010
GgToy5	19.1±4.5	44.1±19.2	6.9±1.9	0.32±0.03	0.87±0.13	0.31±0.12	0.201±0.016	0.178±0.023	0.049±0.016
GgToy6	54.7±12.2	48.0±15.4	6.4±1.1	0.58±0.07	0.69±0.25	0.51±0.08	0.158±0.024	0.147±0.036	0.059±0.016
GgHN1	69.7±18.0	91.0±12.9	31.3±7.3	0.58±0.10	1.06±0.10	0.68±0.05	0.110±0.030	0.129±0.016	0.067±0.005
GgHN2	64.3±28.6	47.1±7.6	21.8±8.3	0.71±0.20	1.02±0.14	0.74±0.09	0.129±0.019	0.186±0.007	0.060±0.028
GgHN3	68.9±18.4	76.5±24.3	54.9±6.7	0.56±0.12	0.91±0.20	0.57±0.04	0.110±0.030	0.129±0.002	0.057±0.007
GgHN4	39.4±9.6	43.8±16.1	32.2±0.4	0.75±0.13	1.22±0.24	0.71±0.17	0.150±0.024	0.186±0.016	0.097±0.011
GgHN5	38.6±6.5	22.5±1.1	—	0.84±0.05	—	—	0.039±0.004	0.045±0.009	—
GgHN6	71.0±10.1	78.5±21.1	39.3±5.8	0.81±0.06	1.35±0.05	0.79±0.08	0.050±0.000	0.093±0.010	0.027±0.002
GgHN7	37.6±9.9	29.8±11.6	16.3±2.5	0.63±0.11	1.09±0.22	0.89±0.14	0.096±0.004	0.198±0.023	0.110±0.010
GgHN8	21.8±0.5	17.0±6.8	—	0.73±0.03	—	—	0.021±0.002	0.027±0.002	—
GgHN9	45.3±29.6	92.8±48.5	17.5±1.4	0.65±0.14	1.48±0.10	0.67±0.08	0.111±0.009	0.109±0.042	0.058±0.009
GgHN10	74.1±17.6	96.6±15.8	38.1±9.2	0.72±0.08	1.27±0.13	0.64±0.03	0.051±0.013	0.062±0.006	0.018±0.001
GgHN11	59.1±11.9	62.0±16.1	12.4±1.9	0.74±0.09	1.03±0.22	0.62±0.16	0.198±0.018	0.197±0.020	0.048±0.011
GgHN12	39.9±24.7	34.0±6.2	5.9±0.9	0.77±0.17	1.00±0.17	0.63±0.05	0.134±0.016	0.136±0.016	0.038±0.005
GgHN13	68.1±9.4	100.3±9.0	33.6±12.7	0.73±0.12	1.01±0.13	0.44±0.08	0.073±0.014	0.074±0.014	0.016±0.002
GgHN14	55.8±8.8	67.7±15.7	23.4±3.7	0.55±0.06	1.36±0.10	0.80±0.02	0.123±0.018	0.124±0.017	0.080±0.014
GgHN15	78.6±10.4	53.4±23.1	26.6±5.7	0.98±0.11	1.29±0.35	0.84±0.03	0.135±0.013	0.138±0.016	0.061±0.007
GgHN16	68.6±8.0	48.8±12.9	17.2±3.7	0.90±0.13	1.43±0.13	0.53±0.07	0.148±0.011	0.149±0.012	0.082±0.018
GgHN17	12.4±4.6	—	—	0.46±0.02	—	—	0.036±0.003	—	—
GgHN18	61.7±10.6	132.9±15.9	32.6±9.6	0.54±0.10	1.26±0.04	0.72±0.12	0.143±0.010	0.161±0.014	0.127±0.031
GgHN19	46.2±10.2	52.9±3.8	18.7±9.7	0.82±0.08	1.29±0.08	0.49±0.06	0.180±0.013	0.196±0.017	0.101±0.018
AVE.±SD	56.3±17.3	66.2±26.6	21.2±13.2	0.65±0.16	1.12±0.21	0.58±0.21	0.127±0.047	0.142±0.047	0.059±0.030

Each value represents the mean ± standard deviation. (n=3)

Table 8. Comparison of root weight and ingredient content cultivated for 2 years

Clone Number	Dry root weight (g)			Glycyrrhizic acid contents (%)			Glabridin contents (%)		
	Tube	Short Tube	Field Cultivation	Tube	Short Tube	Field Cultivation	Tube	Short Tube	Field Cultivation
GgToy5	53.6±8.6	98.7±22.0	13.7±1.5	0.39±0.07	1.44±0.15	1.00±0.07	0.256±0.054	0.233±0.005	0.134±0.033
GgToy6	218.5±34.3	102.8±12.8	10.4±3.2	1.08±0.07	1.50±0.08	0.80±0.07	0.238±0.006	0.202±0.030	0.097±0.030
GgHN3	305.4±7.3	250.6±54.1	79.5±41.6	1.16±0.14	1.45±0.07	1.36±0.09	0.151±0.014	0.188±0.019	0.104±0.010
GgHN4	125.3±51.3	134.8±46.1	74.5±21.5	1.06±0.13	1.84±0.13	1.72±0.04	0.185±0.031	0.213±0.029	0.144±0.010
GgHN6	258.3±26.9	120.1±45.2	72.6±9.3	1.30±0.11	1.59±0.14	1.61±0.12	0.094±0.007	0.161±0.012	0.095±0.013
GgHN9	206.6±32.7	394.0±45.2	30.0±18.0	1.58±0.22	2.35±0.10	1.84±0.43	0.150±0.022	0.149±0.014	0.104±0.016
GgHN11	122.5±44.9	90.9±24.0	38.9±7.3	1.19±0.13	1.54±0.05	1.18±0.18	0.170±0.010	0.255±0.024	0.148±0.035
GgHN12	136.7±40.6	118.1±74.0	16.5±7.1	1.18±0.14	1.72±0.18	1.77±0.32	0.171±0.023	0.178±0.028	0.078±0.012
GgHN15	193.5±44.9	177.8±84.3	36.2±11.1	1.53±0.19	2.37±0.19	1.75±0.20	0.182±0.020	0.184±0.007	0.108±0.029
GgHN16	237.7±95.5	278.5±43.4	33.1±9.3	1.11±0.17	2.14±0.19	1.37±0.26	0.157±0.031	0.160±0.013	0.126±0.026
GgHN18	223.1±15.0	393.7±128.4	67.5±10.5	1.32±0.14	2.21±0.22	1.51±0.25	0.150±0.009	0.163±0.015	0.159±0.017
GgHN19	220.7±17.4	278.2±37.1	38.8±10.1	1.35±0.14	2.02±0.04	1.15±0.27	0.215±0.038	0.227±0.014	0.103±0.020
AVE.±SD	191.8±66.8	203.2±107.7	42.6±23.8	1.19±0.29	1.85±0.34	1.42±0.32	0.177±0.042	0.193±0.032	0.117±0.024

Each value represents the mean ± standard deviation. (n=3)

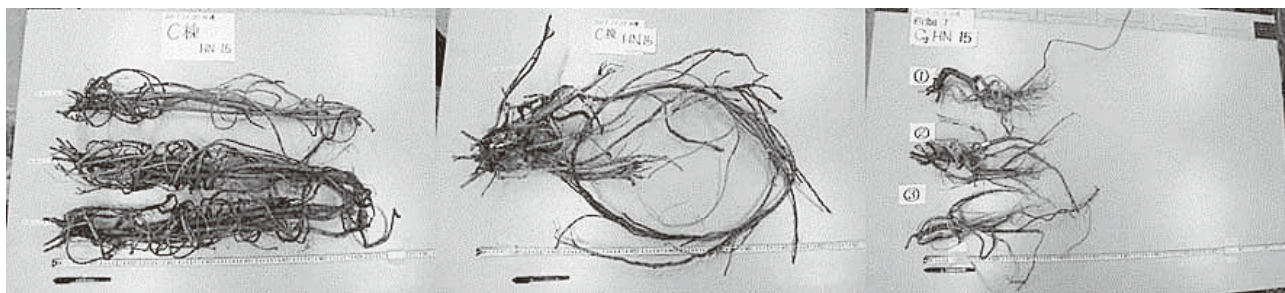


Figure4. Rhizome of the two years cultivation that I harvested. (GgHN15)
From the left, it is Tube cultivation, Short Tube cultivation, Outdoor cultivation.

observed for short tube cultivation (0.193%), followed by tube cultivation (0.177%), and field cultivation (0.117%), demonstrating that field cultivation produced the lowest yield. Based on the results of this 2-year survey, we selected three good clones (GgHN9, 15, and 18) for short tube cultivation that satisfied the 2.0% GL content yield standard of the Japanese pharmacopoeia.

Discussion

We grew 25 Spanish licorice clones maintained by Tsukuba Research Center. There was a major difference in terms of the above-ground shape of the varieties between the varieties from Hokkaido National Agricultural Experiment Station (GgHN) and the University of Toyama (GgToy). The stems were thicker and the plants grew higher in the former variety, demonstrating good proliferation. However, with the latter, there was a tendency for the stems to be narrower, the leaves to be thinner, and for proliferation to be inferior. Although it was possible to grow all clones using tissue culture, the proliferation and acclimatization rate for GgHN5, 8, and 17 was low, indicating that it would be difficult to culture them in a stable manner on a large scale. Thus, we decided that such clones should be promptly discarded.

When proliferating, acclimatizing, and growing clones, it is possible to grow them year-round in a controlled environment, which led us to consider that large-scale, efficient production of seedlings would be possible using tissue culture.

Concerning growth, although we used three methods

—tube cultivation, short tube cultivation, and field cultivation—the results of this study showed field cultivation to be vastly inferior. We assume that the reasons for this include the many differences in soil condition between greenhouses and fields and the susceptibility of fields to weather conditions, such as rainfall, which influence the growth of licorice, a plant that typically thrives in dry areas. The three selected clones could not satisfy all conditions outlined in the Japanese Pharmacopoeia Standards.¹²⁾ However, because good results were obtained using short tube cultivation, we believe that these varieties can be grown via short tube cultivation in greenhouses. Until now, when selected good clones were grown under different conditions, it was impossible to obtain stable results in yield, quality, or both, meaning that it was difficult to expand the scale of cultivation. However, if the selected varieties are grown and selected in the area where the next generation will grow, then we believe that the stability of product quality can be increased.

The methods used in this study enabled the production of clones before cultivation, thereby allowing selection on the basis of cultivation methods, cultivation areas, and the fields in which the clones would be grown. This enabled us to select clones suited to the various conditions. Following selection, we secured the seedlings, thereby shortening the selection period. It is important to continually develop good varieties rather than be satisfied after successfully developing one. We believe that using this promising selection method, which makes it possible to rapidly

select a clone suited to various conditions, will make it possible to stabilize and improve both cultivation and quality.

Acknowledgments

This paper is a report of the research conducted while one of the authors was affiliated with Shinnihonsei-yaku Co., Ltd., and the study was a part of the Research Project for Drug Development Promotion commissioned by the Japan Agency for Medical Research and Development (2015–2017) under the title “Research regarding the development of bio-nurseries for medicinal plants and the development of branded high-quality crude drugs for use in high-quality Kampo medicine that can be used safely and sustainably with full peace of mind.” We would like to express our deepest gratitude to all concerned parties.

References

- 1) Akinobu Sueoka, Tatsufumi Yosioka, Recent Progress of Medicinal Plants and Drugs-Cultivation and Quality Evaluation of Medicinal Plants and Development of Kampo Products-, Supervisor: Nobuo Kawahara, pp. 32-42 (2014), CMC Publishing CO.,LTD.
- 2) Akinobu Sueoka, Tatsufumi Yosioka, Tomofumi Nomura, Genjiro Kusano, The Japanese Journal of Medicinal Resources, **39**(1), pp. 22-36 (2017)
- 3) Ministry of the Enviroment, 2019 IUCN Red List of Threatened Species, Attached document 2, Endangered species I B
(<https://www.env.go.jp/press/files/jp/110615.pdf>)
- 4) Akinobu Sueoka, Tatsufumi Yosioka, Tomofumi Nomura, Genjiro Kusano, The Japanese Journal of Medicinal Resources, **39**(2), pp. 22-36 (2017)
- 5) Akinobu Sueoka, Tomofumi Nomura, Tatsufumi Yosioka, Genjiro Kusano, The Japanese Journal of Medicinal Resources, **40**(1), pp. 11-21 (2018)
- 6) Akinobu Sueoka, Miho Sakai, Tatsufumi Yosioka, Atsufumi Iwanaga, Hiroki Fujita, Genjiro Kusano, the 1st symposium on murasaki, abstract papers, pp. 11-15 (2013)
- 7) Akinobu Sueoka, Miho Sakai, Mariko Kimura, Tatsufumi Yosioka, The 4th Symposium on Kanzo, Abstract Papers, pp. 46-49 (2008)
- 8) Akinobu Sueoka, Tatsufumi Yosioka, Miho Sakai, Genjiro Kusano, makio shibano, The 5th Symposium on KANZO, Abstract Papers, pp. 14-19 (2011)
- 9) Akinobu Sueoka, Forum on Medicinal Plants, Abstract Papers, pp. 23-32 (2012)
- 10) Akinobu Sueoka, Kenji Nagai, Hiroki Fujita, Tomofumi Nomura, Tatsufumi Yosioka, Genjiro Kusano, The Japanese Journal of Medicinal Resources, **40**(2), pp. 17-29 (2018)
- 11) Akinobu Sueoka, Tatsufumi Yosioka, Miho Sakai, Genjiro Kusano, makio shibano, The 6th Symposium on KANZO, Abstract Papers, pp. 46-50 (2013)
- 12) Pharmaceutical and Medical Device Regulatory Science Society of Japan, The Japanese Pharmacopoeia, 17th Edition, 2016, pp. 1774-1775, Jiho

地黄原植物 *Rehmannia glutinosa* の根に含まれる catalpol に関する研究

Studies on stability of catalpol contained in the root of *Rehmannia glutinosa*

黄雨婷・安藤 広和・辻野 舞・吉原 司貴・佐々木陽平*

金沢大学医薬保健研究域薬学系分子生薬学研究室

〒920-1192 石川県金沢市角間町

Yuting Huang, Hirokazu Ando, Mai Tsujino, Kazuki Yoshihara, Yohei Sasaki*

Laboratory of Molecular Pharmacognosy, Division of Pharmaceutical Sciences

Kanazawa University, Kakuma-machi, Kanazawa City, Ishikawa 920-1192, Japan

(受付日：2021年10月25日／受理日：2021年11月26日)

要 旨

Rehmannia glutinosa の根に含有される catalpol は地黄の薬効に関与する成分と考えられている。しかし収穫直後の新鮮根に含有される catalpol は、乾燥や加熱工程により分解し減少することが知られている。そのため加工条件の違いにより地黄に含有する catalpol 含量は大きく異なり、品質に差を生じさせる原因の一つになっている。しかも製品自体の色も灰白色から黒褐色まで様々である。そこで本研究では、新鮮根に含有される catalpol が乾燥と共に減少していく推移を明らかにすることを目的とした。

まず 50℃、24 時間の前処理乾燥は catalpol 含量に影響を与えず、この条件で粉末化が可能であることを明らかにした。この条件で生薬地黄を測定することにより、地黄の断面の色（黄色）と catalpol 含量に相関を認めた。2015 年及び 2016 年の収穫直後の根を 10 ヶ月間、自然乾燥し catalpol 含量の推移を測定した。その際、根のサイズ及び部位別（直径、形成層の内外）の影響を調べた。その結果、2 年にわたる 2 回の自然乾燥時における catalpol 含量減少の推移を明らかにした。すなわち、形成層で分割した状態で自然乾燥した場合は catalpol 含量が 20～50% 減少する（2015 年の結果）一方、切断せずにそのままの状態乾燥した場合は 35～95% 近く減少する（2016 年の結果）。しかしサイズや部位別での差は認められなかった。さらにオートクレーブ処理では、4 時間の連続加熱、または 1 時間 3 回の加熱で catalpol 含量がほぼ消失することを明らかにした。

Abstract

Catalpol contained in *Rehmannia glutinosa* roots is considered one of the components contributing to the medicinal properties of the herbal medicine *Rehmanniae Radix* listed in the Japanese Pharmacopoeia (JP XVII). However, catalpol is decomposed and reduced by such processing methods as air drying or heating. Therefore, catalpol content in *Rehmanniae Radix* varies greatly depending on the processing method, which results in differences in quality. In addition, the color of roots also varies from grayish white to dark brown. The purpose of this

study was to clarify changes in catalpol content in fresh roots, which decreases upon drying. First, it was clarified that pretreatment drying at 50 °C for 24 hours had no effect on catalpol content, and pulverization was possible under these conditions. By measuring the catalpol content of *Rehmanniae Radix* under these conditions, a correlation was found between the cross-sectional color (yellow) of the root and the catalpol content. Post-harvest roots in 2015 and 2016 were air-dried for 10 months, and changes in catalpol content were measured. At the same time, the effects of root size and site (diameter, cambium inside and outside) were investigated. As a result, it was clarified that catalpol content was decreased by air drying in two trials conducted over the two-year period. Specifically, catalpol content was decreased by 20 to 50% when the roots were air-dried with the cambium of the internal tissue divided into outer and inner parts (2015), whereas it was decreased by nearly 35 to 95% when the roots were air-dried without dividing cambium (2016). However, there was no difference in root size or site. Furthermore, in the autoclaving treatment, it was clarified that catalpol almost disappeared by continuous heating for four hours or by heating three times for one hour each.

Key words: catalpol, Jio, Processing method, *Rehmannia glutinosa*, *Rehmanniae Radix*

緒言

Rehmannia glutinosa (Gaertn.) Libosch. ex Fisch. et C.A.Mey. の根の肥大部は、地黄類生薬の基源である。地黄類生薬には、新鮮な状態の「生地黄」（中国名：鮮地黄）、乾燥工程を経た「地黄」（別名：乾地黄、中国名：生地黄）、及び蒸すという加工を経た「熟地黄」（中国名：同じく熟地黄）がある。漢方薬に配合される地黄類生薬は、一般に地黄及び熟地黄の2種類である。「生地黄」には主成分としてイリドイド配糖体である catalpol が含まれている。catalpol には抗炎症作用^{1,2)}、骨芽細胞増殖促進作用³⁾、神経保護作用⁴⁾、血糖降下作用^{5,6)}などの薬理活性が報告されており、地黄類生薬の薬効成分の一つと考えられている。一方、catalpol は収穫後の乾燥や加温工程により減少することから、「熟地黄」にはほとんど含まれていない。「地黄」には、製造方法により catalpol が残存するもの（生干し乾燥品など）や、ほとんど消失しているもの（加熱乾燥品など）がある。地黄の品質を評価する指標成分として日本薬局方（第十八改正）⁷⁾ には catalpol は規定されていない一方、中華人民共和国薬典（2020年版）⁸⁾ では地黄は catalpol を0.2%以上含むと規定されている。このように catalpol

の構造的な不安定さは、指標成分としてのみならず薬効成分としての判断も困難にしている。

地黄類生薬に含有される catalpol を実験的に測定する場合、生薬を粉末にして HPLC 法により定量する方法が一般的である。しかし地黄類生薬は粘性が強いことや吸湿性が高いことから、粉末にすることが困難である。一般には、地黄を冷凍させて粉末化する方法や凍結乾燥法が採用される。しかしこれらの方法では吸湿性のために篩を通過させることが困難な場合がある。このような場合、地黄類生薬を加熱乾燥することにより粉末化することが可能になるが、同時にこの加熱により消失する catalpol も想定される。凍結乾燥法も採用されることがあるが、大量の検体に適用する場合は効率的ではない。そのため地黄類生薬に含有される catalpol 含量を正確に定量するための乾燥条件を明らかにする必要がある。

収穫物を乾燥した生薬を地黄、または乾地黄と称している。市場品の地黄は、外形の色が灰白色から黒褐色まで様々なものが流通している。筆者らが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）で生産している状況から、収穫物を乾燥する過程で色の変化が生

じていることを観察していた。すなわち加熱乾燥すると暗色系に変色すること、自然乾燥でも個体により様々な色に仕上がる。特に自然乾燥物では、切断面に形成層の内外で明らかな色調の変化が認められる。また、日本で維持されているカイケイジオウと称される系統は、一般に、直径が細い（新鮮根で 1 cm 以下）部分（以下、新鮮根で 3 cm 未満を紐状部と称する）が長く、その先に急に肥大する形状である。このような紐状部は収穫物の重量割合で 3 割を超える場合もあるものの生薬には利用されない。すなわち、日本での地黄生産において、地黄の品質を判断するための指標が確立していないと言える。

以上を踏まえ、本研究では catalpol 含量を指標に、様々な状態、品質の地黄について測定し、catalpol の安定性の面から考察することを目的とした。

材 料

1. 植物材料

いずれも金沢大学・薬用植物園栽培株 *Rehmannia glutinosa* であり、一般に「カイケイジオウ」タイプと称されているものである。3 種類の系統が維持されており、それぞれ H01（金沢大学保存系統）、H02（福田商店由来）、H03（東京都薬用植物園由来）である。同定は根の先端部が太い紡錘形を呈していることなどの外部形態及び DNA 解析法の結果を元に著者（佐々木陽平）が行なった⁹⁾。植物標本は金沢大学・薬用植物園で維持栽培されており、標本は金沢大学医薬保健研究域薬学系分子生薬学研究室に保管されている。

2. 生薬材料

日本市場品地黄（株式会社栃本天海堂、製造番号 005018011）。標本は金沢大学医薬保健研究域薬学系分子生薬学研究室に保管されている。

分析法

1. HPLC 法による catalpol 定量

地黄類生薬の乾燥粉末試料 50 mg を精密に量り、HPLC 移動相（CH₃CN/0.1% phosphoric acid (1:99)）を抽出溶媒として 1 mL 加えて 30 分間超音波抽出。懸濁液を 13,000 rpm で 5 分間遠心し、

その上清 0.3 mL を移動相で 5 倍希釈した。これを 0.45 μm のメンブランフィルターに通して HPLC 法による試料溶液とした。別に catalpol の標品（和光純薬、純度 98%）による検量線を作成し、絶対検量線法により定量した。また、乾燥試料粉末は日本薬局方生薬試験法の乾燥減量⁷⁾を行った。Catalpol 含量は、試料溶液の catalpol 濃度を乾燥減量値で乾燥物に換算し、算出した。HPLC 法による測定条件は次のとおりである。

Column: YMC-Triart C18 φ4.6 × 250 mm, Mobile phase: CH₃CN/0.1% phosphoric acid (1:99)¹⁰⁾, Column temperature: 40°C Flow rate: 0.6 mL/min, UV detection: 210 nm Injection volume: 10 μL.

Catalpol の定量において、検量線の回帰直線は $y = 4,538,225x - 11,637$, $R^2 = 0.99994$.

2. 統計解析

Student's *t* 検定, Dunnett 多重比較検定により行った。

実験方法

実験 1. 地黄類生薬の catalpol 定量のための前処理条件の検討

市場品地黄（切断）約 60 g を粉砕機でおおよそ粉末にした。十分に混合した後、測定前までデシケーター（乾燥剤入）で保存した。これを約 4 g ずつ 15 等分し、恒温乾燥機（MOV-112-PJ, パナソニックヘルスケア株式会社）に入れた。温度は 50°C, 60°C, 70°C に設定し、0（対象）、12, 24, 36, 48 時間後にそれぞれ 3 個ずつ取り出し、再びデシケーター内で十分に乾燥後、catalpol を定量した。

実験 2. 地黄の色と catalpol 含量の相関について

金沢大学・薬用植物園で収穫した H02 系統を 9 ヶ月自然乾燥した根の中から、断面の色が灰白色から黒褐色まで様々な色の個体を無作為に 10 個体、選定した（Fig. 1）。各個体をハサミまたはカッターで 5 mm 程度に細断し、恒温乾燥機で乾燥（50°C, 24 h）した。その後、粉砕機（IFM-800, 岩谷産業株式会社）で粉末にし、ふるい（300 μm）の通過物を試料とし、色差と catalpol の定量を行なった。色差は、分光測色計（コニカミノル

タ製のCM-3500d)で、粉末色の反射光を測定し標準光D65による測定値をL*a*b*表色系で数値化した。

実験3. 乾燥過程における catalpol 含量の変化

金沢大学・薬用植物園で収穫した直後の新鮮な根を使用し、乾燥と共に catalpol 含量の推移を測定した。この際、サイズ及び局在性(根の径の違い、形成層の外側と内側)の影響について調べた。それぞれの一部を凍結乾燥し、対照(0ヶ月)とした。それ以外は金沢大学・薬用植物園管理棟の屋外乾燥棚(屋根あり、直射日光が当たらない場所)で自然乾燥させ2ヶ月、4ヶ月、6ヶ月、8ヶ月、10ヶ月の各時点でサンプリングした(全て3個体以上)。検体はすべて凍結乾燥して測定に供した。

3-1 サイズの違いの影響 (H01 系統, H02 系統)

2015年の収穫物を任意の大きさに分け、その中から無作為に複数個体選ぶことにより、より均一な状態で成分変化を調査した。1個体の重量50g以上を「L」、30g以下を「S」とした。標本番号は「系統記号+収穫年(西暦)の下2桁+乾燥期間(月)+サイズ(L:50g以上, S:30g以下)」で示した(Table 1)。

3-2 局在性(根の径の違い、形成層の外側と内側)の影響 (H01 系統, H02 系統, H03 系統)

同じく2015年の収穫物から選別した個体の、根の直径が3cm以上の肥大部を、形成層の外側と内側に分割してそれぞれ自然乾燥した(Fig. 2左)。また、2016年の収穫物から選別した個体については、根の直径が3cm未満(紐状部)と3cm以上(肥大部)に分割してそれぞれ屋内で乾燥した(Fig. 2右, Table 2)。すなわち、2015年は根の肥大部を分解し、内部が露出した状態である一方、2016年は紐状部と肥大部の接続部のみの切断であり、それぞれの内部は露出していない状態である。

実験4. 加熱に伴う catalpol 含量の変化

2019年の収穫物を刻み、オートクレーブ



Fig. 1 金沢大学・薬用植物園で収穫した H02 系統を9ヶ月自然乾燥した根の中から無作為に選定した10個体。左側から右側に、色が濃く(黒褐色)なるように配置した。なお、この順番は視覚的な主観に基づくものであり、分光測色計の測定結果によるものではない。

Table 1 実験材料と標本番号

標本番号: 系統番号+収穫年(西暦)の下2桁+乾燥期間(月)+サイズ(L:50g以上, S:30g以下)

乾燥期間	H01系統 (n=3)	H02系統 (n=3)
0ヶ月(測定開始)	H011500L	H021500L
0ヶ月(測定開始)	H011500S	H021500S
2ヶ月	H011502L	H021502L
2ヶ月	H011502S	H021502S
4ヶ月	H011504L	H021504L
4ヶ月	H011504S	H021504S
6ヶ月	H011506L	H021506L
6ヶ月	H011506S	H021506S
8ヶ月	H011508L	H021508L
8ヶ月	H011508S	H021508S
10ヶ月(測定終了)	H011510L	H021510L
10ヶ月(測定終了)	H011510S	H021510S

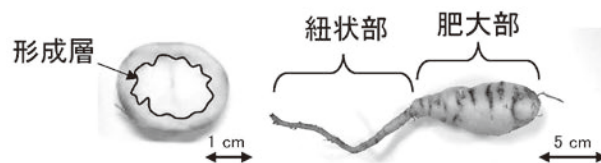


Fig. 2 *Rehmannia glutinosa* の根部断面(左)と地下部(右) 左: 形成層を境に内外では色が異なっている。 右: 根の直径3cm未満を紐状部, 3cm以上を肥大部とした。

(LBS-325, 内容積: 53 L 株式会社トミー精工)でそれぞれ0(対照), 1, 2, 4, 6, 8時間処理した。回数については、オートクレーブ1時間(121℃)を1回とし、0(対照), 1, 2, 3回目を実施した。オートクレーブ後の検体は乾燥機で50℃, 24時

間で乾燥し catalpol 含量を調べた。

結果

実験 1. 地黄類生薬の catalpol 定量のための前処理条件の検討

対照（非加熱，0時間）と比較して catalpol 含量は 70℃ で減少しており，24 時間，36 時間，48 時間では有意であった。60℃ では 48 時間で有意な減少が見られ，50℃ では有意な減少は認められなかった（Fig. 3）。次に，粉末化の可否について検討した。50℃および 60℃，12 時間では粉末化が不十分であり，24 時間では粉末化が可能であった（Fig. 4）。すなわち，50℃で 24 時間以上の乾燥条件が適していることを明らかにした。Catalpol の減少を防ぐという点では，低温で短時間が望ましいが，粉末化という点では高温で長時間が望ましい。これらを踏まえて，地黄類生薬を前処理する条件として，50℃，24 時間と決定した。

実験 2. 地黄の色と catalpol 含量の相関について

地黄原植物である *Rehmannia glutinosa* の根は，収穫時の外皮の傷や折れなども含めて乾燥状況の個体差が大きい。そのため仕上がり時の色も灰白色から黒褐色と様々であり，無作為に選定した 10 個体について $L^*a^*b^*$ 表色系と catalpol 含量の相関関係を調べた。赤／緑 a^* 系との相関は認められなかったが，明度 L^* ($r=0.756$) 及び黄／青 b^* 系 ($r=0.811$) とはやや相関関係が認められた（Fig. 5）。当初，黒色系への変化と catalpol 含量の関係性，すなわち明度 L^* との相関係数が高いこと予想していたが，実際は黄／青 b^* 系，つまり黄色が濃くなることとのより高い相関関係が認められた。このことは catalpol の分解と黄色系の着色に関係があることを意味している。

実験 3. 乾燥過程における catalpol 含量の変化

3-1 サイズの違いの影響

金沢大学・薬用植物園産の収穫直後の新鮮な地下部を材料に，自然乾燥の条件下，catalpol 含量の推移を測定した。まず，H01 系統及び H02 系統肥大部の 1 個体の重量が 50 g 以上の「L」につい

Table. 2 肥大部と紐状部に分割した標本番号

A: H01 系統 ($n=3$)

	乾燥期間	標本番号
肥大部	0ヶ月(測定開始)	H011600L
紐状部	0ヶ月(測定開始)	H011600S
肥大部	2ヶ月	H011602L
紐状部	2ヶ月	H011602S
肥大部	4ヶ月	H011604L
紐状部	4ヶ月	H011604S
肥大部	6ヶ月	H011606L
紐状部	6ヶ月	H011606S
肥大部	8ヶ月	H011608L
紐状部	8ヶ月	H011608S
肥大部	10ヶ月(測定終了)	H011610L
紐状部	10ヶ月(測定終了)	H011610S

B: H02 系統, H03 系統 ($n=3$)

肥大部	0ヶ月(測定開始)	H021600L
紐状部	0ヶ月(測定開始)	H021600S
肥大部	10ヶ月(測定終了)	H021610L
肥大部	0ヶ月(測定開始)	H031600L
紐状部	0ヶ月(測定開始)	H031600S
肥大部	10ヶ月(測定終了)	H031610L

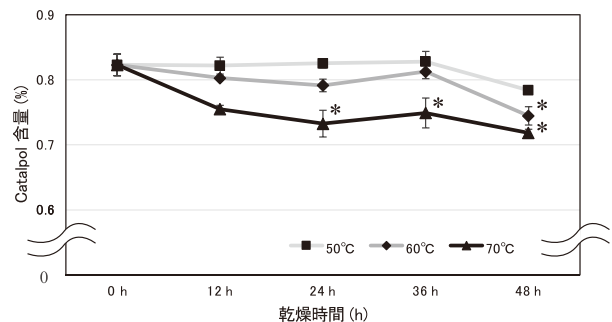


Fig. 3 加熱温度，時間による catalpol 含量の変化 $n=3$, Mean \pm S.E., Dunnett 多重比較検定, * $p < 0.05$ (vs 0 h)

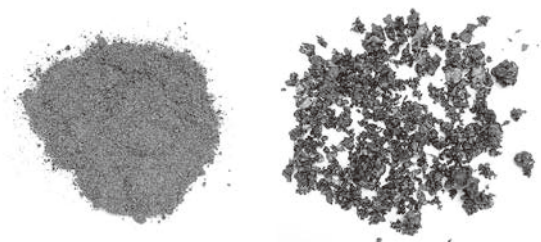


Fig. 4 地黄の粉末化について
左：粉末化が可能（50℃，24 時間），
右：粉末化が不可能（50℃，12 時間）

て時間の経過（乾燥の進行）と共に catalpol 含量も減少した (Fig. 6). H01 系統及び H02 系統とも、水分含量が 20% 前後に低下した以降、catalpol 含量に一部を除き有意差が見られた。一方、肥大部の 1 個体の重量が 30g 以下の「S」では catalpol 含量は、H01 系統で開始時 2.0% 程度、H02 系統で開始時 3.7% 程度であり、10 ヶ月後の減少率は大きくなかった (Fig. 7). 水分含量も 6 ヶ月後にはほぼ恒値となった。

3-2 局在性根（根の径の違い, 形成層の外側と内側）の影響

根の直径を 3 cm を境界に分けた肥大部と紐状部の catalpol 含量を測定した。H01 系統について、測定開始時から 2 ヶ月でやや増加が認められ、その後、4 ヶ月以降は経時的に減少した (Fig. 8A). 一方、紐状部でも 2 ヶ月まで増加を認め、その後は経時的に減少した (Fig. 8B). H01 系統及び H02 系統の肥大部と紐状部は測定開始時及び測定

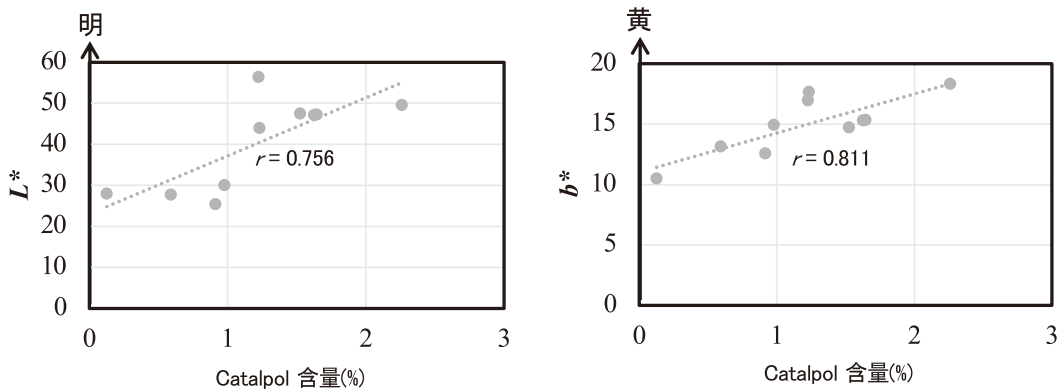


Fig. 5 金沢大学産地黄の色差と catalpol 含量の関係
左：明度 L^* と catalpol 含量，右：黄/青 b^* と catalpol 含量

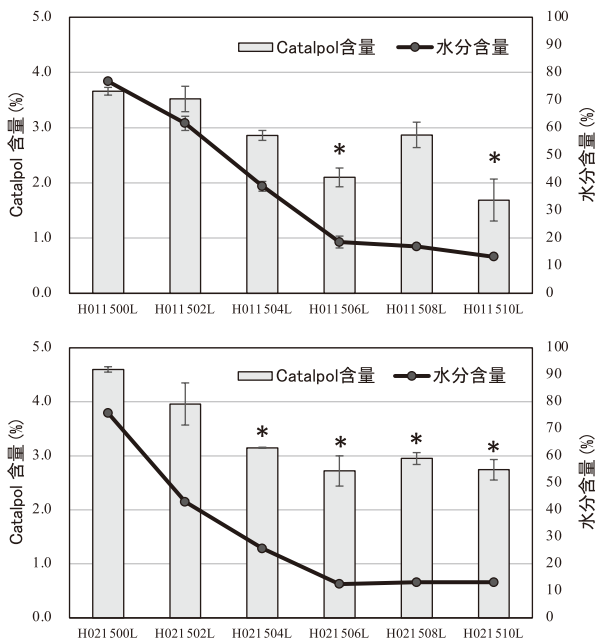


Fig. 6 収穫物の 1 個体の重量が 50 g 以上「L」の catalpol の含量と水分含量推移
上：H01 系統，下：H02 系統， $n = 3$ ，Mean \pm S.E.；Dunnnett 多重比較検定 (Catalpol 含量)，* $p < 0.05$ (vs H011500L, H021500L)

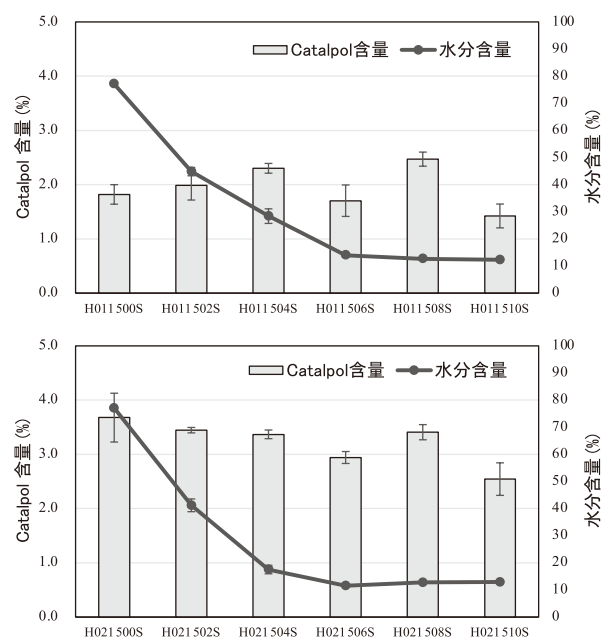


Fig. 7 収穫物の 1 個体の重量が 30 g 以下「S」の catalpol の含量と水分含量推移
上：H01 系統，下：H02 系統， $n = 3$ ，Mean \pm S.E.；Dunnnett 多重比較検定 (Catalpol 含量)，有意差なし (vs H011500S, H021500S)

終了時で有意な差はあった。H03 系統は測定開始時及び測定終了時で有意な差はないが、測定終了時には 1.98%と高い値を示した (Fig. 8C)。

根の肥大部を形成層の外側と内側で分割したもののついて重量変化 (Table 3) と catalpol 含量 (Table 4, Fig. 9) を測定した。いずれの測定時においても内側の catalpol 含量が高く、H01 系統では 10 ヶ月を除き有意差が見られ、H02 系統では 2 ヶ月と 4 ヶ月で有意差が見られた。

実験 4. 加熱に伴う catalpol 含量の変化

オートクレーブの加熱処理時間により、catalpol 含量は急激に減少し、消失した (Fig. 10)。1 時間

の加熱で既に catalpol が約 7 割減少 (3.6%→1.2%) し、その後は緩やかに減少する傾向が見られた。4 時間の加熱により catalpol はほぼ消失した一方、処理回数の実験では 3 回目 (1 時間 x 3) でほぼ消失した。

考 察

地黄類生薬は生産面においても品質評価面においても含有成分の扱いに困難が伴う品目である。生産面では、収穫物 (水分含量 80-90%) を地黄 (乾地黄, 水分含量約 10%) に仕上げるための乾燥条件である。自然乾燥の場合、まず外表面 (外皮) が先に乾燥し、それが被膜のような役割になり内部組織の乾燥が遅れる。その場合、半年以上の乾燥時間を要することになるが、表面が灰白色 (断面は淡紫色) の、いわゆる生干地黄になる。加熱乾燥すると急速に水分含量を低下させることができ、非常に効率的であるが、外表面及び内部の色が黒褐色系になる。地黄の含有成分として知られる catalpol は加熱などで減少することが知られて

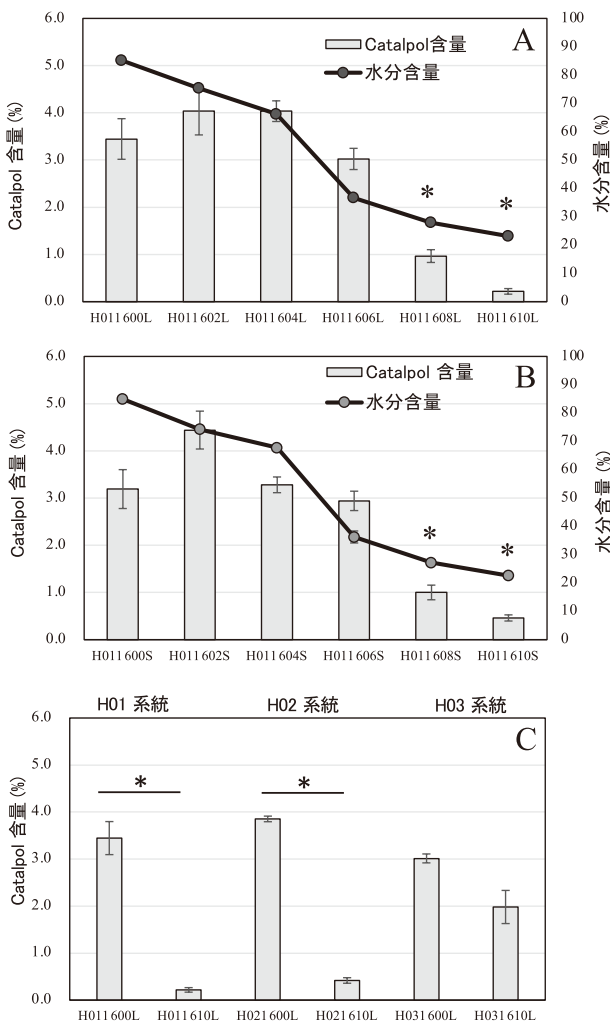


Fig. 8 収穫物の部位別 catalpol 含量と水分含量推移
 A : H01 系統の肥大部 (3 cm 以上), B : H01 系統の紐状部 (3 cm 未満), C : 3 系統の乾燥前後 (肥大部), $n=3$, Mean \pm S.E.; Dunnett 多重比較検定 (A&B, Catalpol 含量), $*p < 0.05$ (vs H011600L, H01600S), Student's t 検定 (C) により $*p < 0.05$

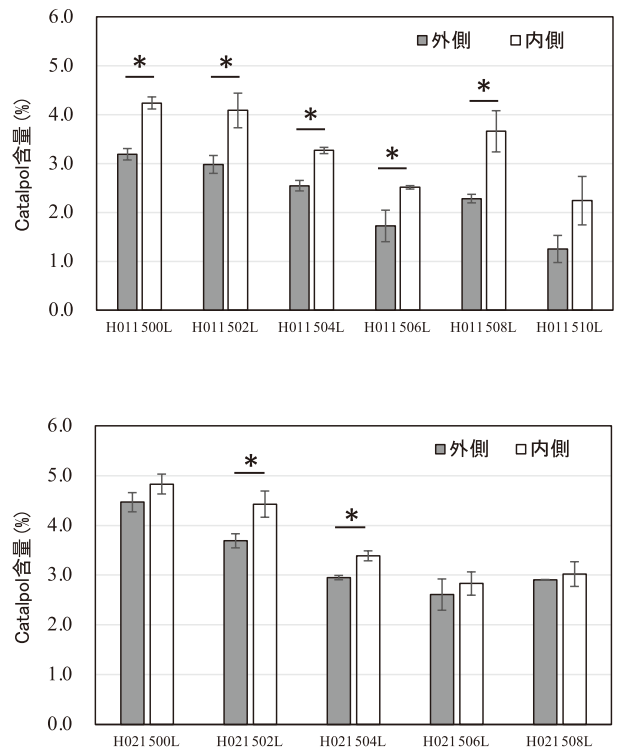


Fig. 9 収穫物の形成層内外の catalpol の定量
 上 : H01 系統, 下 : H02 系統, $n=3$, Mean \pm S.E., Student's t 検定により $*p < 0.05$

Table. 3 乾燥期間毎の形成層の外側部と内側部の重量
 標本番号：系統記号+収穫年（西暦）の下2桁+乾燥期間（月）+サイズ（L：50 g 以上）

A:H01系統

標本番号	乾燥期間	重量割合(% , w/w) , Mean \pm S.E., n=3	
		外側	内側
H011500L	0ヶ月(測定開始)	55.29 \pm 0.40	44.71 \pm 0.40
H011502L	2ヶ月	51.5 \pm 3.15	48.5 \pm 3.15
H011504L	4ヶ月	56.21 \pm 1.35	43.79 \pm 1.35
H011506L	6ヶ月	56.2 \pm 0.85	43.8 \pm 0.85
H011508L	8ヶ月	57.34 \pm 0.52	42.66 \pm 0.52
H011510L	10ヶ月(測定終了)	56.46 \pm 0.72	43.54 \pm 0.72

B:H02系統

標本番号	乾燥期間	重量割合(% , w/w) , Mean \pm S.E., n=3	
		外側	内側
H021500L	0ヶ月(測定開始)	60.54 \pm 1.57	39.46 \pm 1.57
H021502L	2ヶ月	63.71 \pm 2.07	36.29 \pm 2.07
H021504L	4ヶ月	52.13 \pm 3.48	47.87 \pm 3.48
H021506L	6ヶ月	51.27 \pm 2.80	48.73 \pm 2.80
H021508L	8ヶ月	55.75 \pm 0.62	44.25 \pm 0.62
H021510L	10ヶ月(測定終了)		

Table. 4 乾燥期間毎の形成層の外側部と内側部の乾燥に伴う catalpol 含量の変化
 標本番号：系統番号+収穫年（西暦）の下2桁+乾燥期間（月）+サイズ（L：50 g 以上）

A:H01系統

標本番号	乾燥期間	catalpol含量(% , w/w) , Mean \pm S.E., n=3		
		全部位	外側	内側
H011500L	0ヶ月	3.7 \pm 0.1	3.2 \pm 0.1	4.2 \pm 0.1
H011502L	2ヶ月	3.5 \pm 0.2	3.0 \pm 0.2	4.1 \pm 0.4
H011504L	4ヶ月	2.9 \pm 0.1	2.6 \pm 0.1	3.3 \pm 0.1
H011506L	6ヶ月	2.1 \pm 0.2	1.7 \pm 0.3	2.5 \pm 0.0
H011508L	8ヶ月	2.9 \pm 0.2	2.3 \pm 0.1	3.7 \pm 0.4
H011510L	10ヶ月	1.7 \pm 0.4	1.3 \pm 0.3	2.2 \pm 0.5

B:H02系統

標本番号	乾燥期間	catalpol含量(% , w/w) , Mean \pm S.E., n=3		
		全部位	外側	内側
H021500L	0ヶ月	4.6 \pm 0.1	4.5 \pm 0.2	4.8 \pm 0.2
H021502L	2ヶ月	4.0 \pm 0.4	3.7 \pm 0.1	4.4 \pm 0.3
H021504L	4ヶ月	3.2 \pm 0.0	3.0 \pm 0.0	3.4 \pm 0.1
H021506L	6ヶ月	2.7 \pm 0.3	2.6 \pm 0.3	2.8 \pm 0.2
H021508L	8ヶ月	3.0 \pm 0.1	2.9 \pm 0.0	3.0 \pm 0.3
H021510L	10ヶ月	2.7 \pm 0.2		

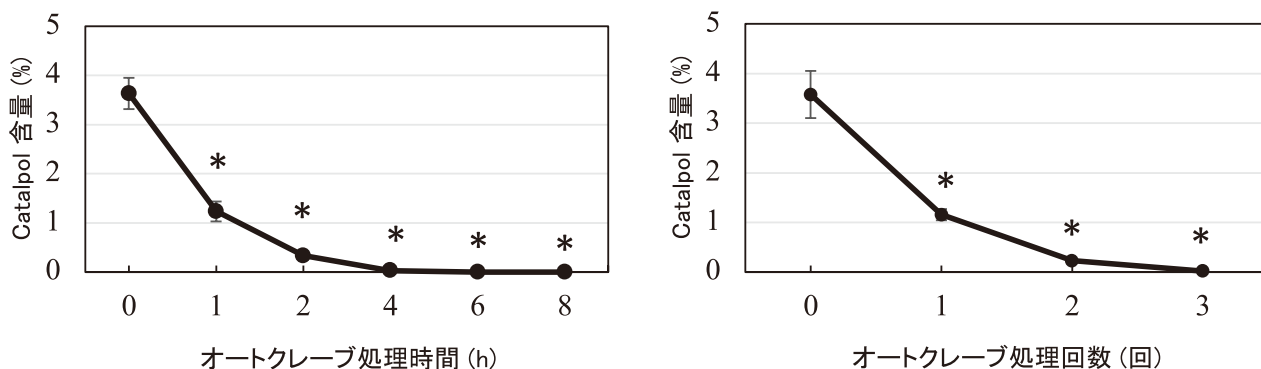


Fig. 10 収穫物（新鮮な根茎）のオートクレーブ処理による catalpol の含量変化
 左：時間 (h)，右：回数 (回)，
 n=3, Mean±S.E., Dunnett 多重比較検定 * $p < 0.05$ (vs 0h/0 回)

おり、現在の市場品は主に加熱乾燥であることを考えると品質面での疑問が生じる。一方、生薬の品質評価のために理化学試験を実施する際、正確な秤量や抽出操作のために生薬を粉末にする必要がある。しかし地黄類生薬は粘性及び吸湿性のために粉末にすることが困難である。通常は加熱乾燥により水分を除去するが、前述のとおりこの操作で catalpol が減少してしまう恐れがあり、正確な定量ができなくなる。これまでこの点を言及した報告はなく、測定結果の信頼性に疑問を持っていた。本研究ではこのような課題を解決するために地黄原植物の収穫直後の新鮮根を使用して乾燥に伴う catalpol の含量変化を調べた。

まず、地黄類生薬の正確な catalpol 含量を定量するために、乾燥条件と catalpol 含量の変化を調べ、50℃、24 時間を決定した。これは catalpol 含量の減少と粉末化の可否という点で判断した。加熱乾燥は比較的短時間、多検体の処理に適している。従来的一般法である凍結法や凍結乾燥法でも検体を粉碎することは可能であるが、水分の多いものや粘度の高いものでは吸湿性のため粉碎後に粉末同士がくっつき、篩を通過させることが困難になる場合がある。地黄類生薬の場合、加熱乾燥法では吸湿も少なく、篩に通すことも可能であることから正確な catalpol の定量が可能であると考えられる。以降の測定はこの前処理条件を採用した。

Catalpol は地黄の主成分でありながら、日本薬局方では含量の規定がない⁷⁾。この理由として、

現在の市場品は主に加熱乾燥されているため、catalpol を含有しない地黄が流通していることが考えられる。実際、流通する地黄は黒色か、またはそれに近い暗色系である。このように地黄について、経験的に加熱乾燥品は色が黒系で、catalpol 含量が低い、ということは知られていたが、実際に測定した例はなかった。今回、金沢大学・薬用植物園産で生産した地黄を材料に調べた。外表面及び断面の色が様々な個体が無作為に抽出し、catalpol 含量と分光測色計の値により相関関係を認めた。当初、黒系であることから、明度 L^* との相関を予想していたが、実際は黄 (b^* 系) との相関を認めた。一方、この色の変化は catalpol の分解と関係することは明らかにできたが、実際、catalpol の分解物による着色なのか、それとも同時並行的な別化合物によるものなのか、今後の課題である。中華人民共和国薬典では地黄の規定として catalpol 含量 0.20% 以上とされている⁸⁾。

関連して、肥大部の乾燥過程で断面を見ると形成層を境界に色の変化が見られる。この色の変化と catalpol 含量に関係があるとするれば、catalpol の組織局在性が認められることになる。実際、H01 系統では 10 ヶ月では有意差が見られなかったが、乾燥開始から 8 ヶ月までは有意に内側の catalpol 含量が高い結果となり、H02 系統においても同様の傾向が得られている。

乾燥に伴う catalpol 含量の変化として、水分含量との比較を経時的に測定した (2015 年及び

2016年). 2015年は開始時と10ヶ月後を比較すると catalpol 含量は約20~50%減少しており, 水分含量約10%まで減少している (Fig.6). 同様に2016年は, catalpol 含量は約35~95%減少している一方, 水分含量は約20%程度に留まっている (Fig.8). この2年の違いは, 2015年は根の肥大部の内部組織が切断されている状態であるのに対し, 2016年は外皮に損傷がない状態である. つまり, 2015年は急速に乾燥が進み, catalpol の減少が抑えられ, 2016年は水分含量が長期間保持されたため catalpol の分解が進んだことが考えられる. このことから catalpol の分解は水分含量が影響していることが考えられた. このことはサイズ別に乾燥した結果からも裏付けられた. 1個体の重量が30g以下の「S」というサンプルは根がそれほど肥大していないことを意味している. Fig.7の結果が示すように, この実験では catalpol 含量の分解がほとんど抑えられ, 水分含量は約10%まで減少している.

地黄を加工したものが熟地黄である. 地黄から熟地黄への加工方法は九蒸九曝¹¹⁾など知られているが, 様々な方法がある¹²⁾. いずれも複数回の加熱と乾燥を伴うものである. これにより地黄は明らかに暗黒色に変色し, catalpol が消失することが知られている. 今回, オートクレーブ加熱により経時変化と1時間加熱の繰り返しを実施し, 2~4時間でほぼ消失することを明らかにした. 地黄から熟地黄へのこのような同様な測定は複数例の報告がある¹³⁾. しかし我々は粘性が高い熟地黄をどのように粉末にしているのか, 正確な定量がなされているのか疑問に思っていた. 我々の研究は間違いなく catalpol が消失しない条件で実施した研究である.

結 論

地黄類生薬はその粘性及び吸湿性のため, 粉末化さらには正確な秤量が困難であった. 従来の加熱乾燥では主成分である catalpol が分解する可能性があり, 正確な定量値の判断ができなかった. 今回, 我々は地黄及び *Rehmannia glutinosa* の収穫根を使用した研究により, catalpol 含量に影響を

与えずに粉末化が可能な条件として50°C, 24時間を設定した. さらに新鮮根の乾燥における catalpol 含量と水分含量の推移, 及び熟地黄への加工を想定したオートクレーブによる加熱時間と catalpol 含量の推移を明らかにすることに成功した.

謝 辞

本研究で使用した *Rehmannia glutinosa* を提供いただいた福田商店の福田浩三博士, 東京都薬用植物園の皆様にお礼申し上げます. また, 本研究の一部は科研費(18K06730, 代表: 佐々木陽平)の助成を受けたものである.

著者のうち, 黄雨婷は公益財団法人小林財団奨学生として助成を受けています. ここに謝意を表します.

引用文献

- 1) Zhou J., Xu G., Ma S., Li F., Yuan M., Xu H., Huang K., Catalpol ameliorates high-fat diet-induced insulin resistance and adipose tissue inflammation by suppressing the JNK and NF- κ B pathways. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **467**(4), 853-858 (2015).
- 2) Kyoung S.P., Catalpol reduces the production of inflammatory mediators via PPAR- γ activation in human intestinal Caco-2 cells, *Journal of Natural Medicines*, **70**(3), 620-626 (2016).
- 3) Cheng J., Xu H. Y., Liu M. M., Cai J. P., Wang L., Hua Z., Lv N. N., Catalpol promotes the proliferation and differentiation of osteoblasts induced by high glucose by inhibiting KDM7A. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*, **13**, 705-712 (2020).
- 4) Zhang X., Zhang A., Jiang B., Bao Y., Wang J., An L., Further pharmacological evidence of the neuroprotective effect of catalpol from *Rehmannia glutinosa*. *Phytomedicine*, **15**(6), 484-490 (2008).
- 5) Shieh J., Cheng K., Chung H., Kerh Y., Yeh C., Cheng J., Plasma glucose lowering mechanisms of catalpol, an active principle from roots of *Rehmannia glutinosa*, in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Agricultural and Food*

- Chemistry*, **59**(8), 3747-3753 (2011).
- 6) Zhao S., Lu Y., Chen J., Duan H., Wu Z., Experimental study on the hypoglycemic activity of catalpol from *Rehmannia glutinosa* Libosch. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, **20**(1) 171-172 (2009).
 - 7) 厚生労働省編, 第十八改正日本薬局方, 医薬品各条生薬, (a) p1953 (ジオウ) (<https://www.mhlw.go.jp/content/11120000/000788459.pdf>), (b) p134-135 (生薬試験法, 乾燥減量) (<https://www.mhlw.go.jp/content/11120000/000788359.pdf>), 2021 (accessed 11Oct., 2021).
 - 8) 国家薬典委員会編, 中華人民共和国薬典 2020年版第一部, p129, 中国医薬科技出版社, 北京 (2020).
 - 9) Yoshie Y., Ando H., Yoshihara K., Fukuda K., Sasaki Y., Study on morphological and genetic diversity of *Rehmannia glutinosa* cultivated in Japan. *Journal of Natural Medicines*, Accepted for publication (doi:10.1007/s11418-021-01587-x).
 - 10) Tamura, Y., & Nishibe, S., Changes in the concentrations of bioactive compounds in plantain leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**(9), 2514-2518 (2002).
 - 11) Meng X.L., Ma J.N., Zhang S.S., Li K., Xue F.F., Zhang J., Yuan Z.C., Tian Y.F., Wang M.F., Content changes of chemical components and their effect of adjuvants during the process of *Rehmanniae Radix Praeparata* (steamed for nine times and shined for nine times). *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, **47**(5), 752-759 (2016).
 - 12) Wang B., Lv C.Z., He M.J., Xue F.F., Zhang S.S., Research Progress on *Rehmanniae Radix Praeparata*. *Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica World Science and Technology*, **20**(6), 1010-1017 (2018).
 - 13) Zhang L.J., Wang J.X., Tu W.Q., Li X.Y., Zhang J.X., Wang X.Y., Zhou Z.M., Comparison of the contents of 5 glycosides and total polysaccharides in *Rehmanniae Radix* and *Rehmanniae Radix Praeparata*. *Natural Product Research and Development*, **31**, 566-571 (2019).

ウラルカンゾウの栽培研究 ストロンの植付ける方向と深度が出芽ならびに発根に及ぼす影響

Studies on the cultivation in *Glycyrrhiza uralensis* Fischer
Effects of planting direction and depth of stolon on the bud emergence and the rooting

尾崎 和男¹⁾・野崎 香樹^{2)*}・西尾 基之²⁾・井本 洋輔³⁾・芝野真喜雄¹⁾

¹⁾ 大阪医科薬科大学薬学部 臨床漢方薬学研究室
〒569-1094 大阪府高槻市奈佐原4丁目20番1号

²⁾ 武田薬品工業(株) 京都薬用植物園
〒606-8134 京都市左京区一乗寺竹ノ内町11番地

³⁾ アリナミン製薬(株)
〒532-0024 大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号

Kazuo Ozaki¹⁾, Kouju Nozaki²⁾, Motoyuki Nishio²⁾, Yousuke Imoto³⁾, Makio Shibano¹⁾

¹⁾ *Department of Clinical Kampo Medicines, Faculty of Pharmacy,
Osaka Medical and Pharmaceutical University,
4-20-1 Nasahara, Takatsuki City, Osaka 569-1094, Japan*

²⁾ *Takeda Garden for Medicinal Plant Conservation, Kyoto,
11 Ichijoji Takenouchi-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8134, Japan*

³⁾ *Alinamin Pharmaceutical Co., Ltd.
17-85, Jusohonmachi 2-chome, yodogawa-ku, Osaka 532-0024, Japan*

(受付日：2021年10月25日／受理日：2021年11月26日)

要 旨

ウラルカンゾウ (*Glycyrrhiza uralensis* Fischer) の栽培化に向けた取り組みとして、ストロンの植付け方向ならびにその深度について検討した。ストロンの植付け条件としては、鉛直方向植えと水平方向植えのいずれにおいても得苗率80%以上の値を示した。植付け深度については、浅くなるに従って平均出芽所要日数は短くなる傾向を示し、3月植えの深度5 cm区が34.5日と最短であった。得苗率は深度5~15 cmの区において67~75%を示した。ストロンを圃場に植付ける場合の深さとしては、外的環境を考慮して10 cmを中心とした範囲(5~15 cm)が適切と考えられた。

キーワード：甘草, *Glycyrrhiza uralensis* Fischer, 植付け深度, 栄養繁殖, 不定根

Summary

The aim of this study was to investigate the planting direction and the depth of the stolon in the cultivation of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer. The percentage of the nursery plants was more than 80 % when the stolons were planted vertically or horizontally. The average number of days required for bud emergence was the shortest, 34.5 days when stolons were planted at a depth of 5 cm in March. The percentage of the nursery plants were 67 to 75 % at a depth of 5 to 15 cm. Therefore, when considering the external environment, we considered that the planting depth of stolons in the field should be in the range centered on 10 cm (5 to 15 cm).

Key word : licorice, *Glycyrrhiza uralensis* Fischer, planting depth, vegetative propagation, adventitious root

緒言

生薬「カンゾウ（甘草）」は一般用漢方製剤の70%以上に配合される最も汎用性の高い生薬の一つであり、その抽出物は医薬品原料や食品添加物などにも利用されている。その基原植物は、マメ科 (Leguminosae) の *Glycyrrhiza uralensis* Fischer (ウラルカンゾウ) および *G. glabra* Linn. (スペインカンゾウ) で、それらの根およびストロンが薬用部位として規定されている¹⁾。国内の漢方薬に使用される生薬「カンゾウ（甘草）」は、概ねウラルカンゾウを基原としたもので、現状ではすべてが中国からの輸入品であり、生薬「カンゾウ（甘草）」の国産化に向けた取組みの重要性が増大している^{2, 3)}。

武田薬品工業（株）・京都薬用植物園では、保存栽培していた *Glycyrrhiza* 属植物について、1995年より外部形態形質の比較調査を実施するとともに、栽培評価法（筒栽培法）の検討など基礎的研究を進めてきた⁴⁾。2000年以降は主成分であるグリチルリチン酸（GL）の含量を高めること、および地下部の生育量を増大させることを主な育種目標として系統選抜および交配により系統番号 C2（C2 系統）を育成した。この C2 系統はウラルカンゾウの栽培品種「都 1 号」の名称で農林水産省に出願し、わが国で初めてのウラルカンゾウ品種として 2014 年に登録された。本品種は、生育が旺盛で茎径が太く、倒伏し難い特徴を有するもので、その GL 含量は 3.0%以上（2 年間栽培品）であった^{5, 6, 7)}。

カンゾウの栽培に供する種苗としては、種子（実生苗）あるいはストロン（ストロン苗）がある。前者は発芽と同時に主根の発達が見られ順調な生育を示すが、概して GL 含量はストロン苗に比べて低い。また、本邦では種子量の確保が困難であると共に、個体間の遺伝的な均一性も確認されていないことから、現状では種苗の材料として適切ではないと考えられた。一方、ストロンはこれまで本邦の試験栽培に供試してきた材料であり、遺伝的に均一で GL 含量の結果から見て好適な材料であると考えられた^{8, 9)}。

カンゾウの本格的な生産栽培を進めるには、いかに多くの種苗を確保するかが課題となる。北海道などで展開される大規模な生産栽培においては機械化が不可欠であり、ストロンを直接圃場に植付ける方法がコスト面から適切と考えられる。その場合、植付けの深さが不均一となる可能性があり、出芽を含めてその後の生長に大きく影響することが予想される。また、ストロンを植付けると、種子の初期生育とは異なりストロンから出芽はするが、発根しないという現象がしばしば見られる。そのため、ストロンを生産栽培に用いる場合、用いるストロンの出芽に加えて、発根する力を評価する必要がある¹⁰⁾。

そこで本研究では C2 系統の増殖能としての得苗率を確認するとともに、ストロンの植付け条件として、その方向と深度が出芽ならびに発根に及ぼす影響を検討した。

1. 材料および方法

1-1. 植物材料

武田薬品工業(株)・京都薬用植物園(京都市左京区)において選抜・育成, 保存した *Glycyrrhiza uralensis* Fischer (ウラルカンゾウ) の均質なクローン系統である C2 系統⁷⁾(写真-1) のストロンを供試し, 同園の圃場ならびにハウス施設内で実験を実施した。



写真1. 系統番号C2の開花状況

1-2. ストロンの植付け方向が出芽と発根に及ぼす影響

京都薬用植物園で2年間栽培したC2系統を2010年10月19日に掘り上げ, 根部よりストロンを切り離して冷蔵庫(5℃)内で保存した。その後, 同年12月9日に畑土を充填した屋外のコンクリートポット(60×60×60cm)に埋設(地表下10cm)した。翌年2月24日に長さ約5cm(休眠芽を2芽含む)に調製したストロンを, 混合培土(赤玉土(中粒):パーミキュライト=7:3(v/v))を充填した6号(直径18cm)素焼鉢に植付け, 最低気温10℃に設定した加温ハウス内で管理した。ストロンは地中に埋めた状態とし, 鉛直方向では1鉢あたり20個を地表下1cmに, 水平方向では1鉢あたり10個を地表下2cmにそれぞれ植付け, 約1ヵ月後の3月30日に出芽ならびに発根状況を調査した。不定根の形成は図-1に示す通り, 出芽した芽の基部(A), ストロンの株基部側の切口(B)および休眠中の芽の基部(C)から見られ, それら部位別の発根数および発根した個体数の割合について調査した。また, ストロンから発根した個体数の割合を得苗率(苗の形成率)として算出した。なお, 統計処理として2つの母集団の比較にはStudentのt検定で評価した。

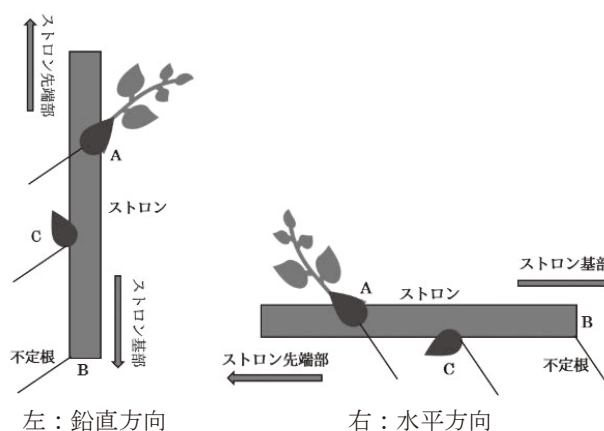


図1. ストロンからの出芽ならびに不定根の形成に関する模式図

- A: 出芽した芽の基部
- B: ストロンの株基部側の切口
- C: 休眠中の芽の基部

200gと共にチャック付きビニール袋に入れ, さらに, 気密性の高いタッパー容器に収納して5℃下の貯蔵庫に搬入した。翌年3月4日に貯蔵していたストロン(145個)について確認したところ, 白色で米粒大の大きさに生長した休眠芽をもつストロンが100個(69%), 変化がなかったものが45個(31%)であった。

1-3. ストロンの植付け深度が出芽と根の形成に及ぼす影響

北海道で2年間栽培したC2系統の地下部を根部とストロンに分け, そのストロンを切断機で長さ約7cm(休眠芽を2芽含む)に調製したものを2014年10月14日に入手した。入手したストロンは, 40mlの水道水を含有したパーミキュライト

ストロンの植付けは2014年12月4日(12月植え)と2015年3月4日(3月植え)の2度行い, 12月植えは生長する前の休眠芽をもつストロンを, 3月植えは白色で米粒大の大きさに生長した休眠芽をもつストロンを, それぞれ培養土(土太郎®:住友林業緑化(株))を充填した1/2000aワグネルポットに植付けた。植付け深度としては, 地表より1, 5, 10, 15および20cmの5区を設け,

ストロンを水平方向に植付けた。12月植えはワグネルポットあたりストロン10個を植付け、3反復とし、3月植えはストロン20個を植付け、1反復とした。なお、12月植えて供試した10個のストロンの生重量は23.6 ± 1.1 gであった。

出芽は2015年4月7日から5月25日まで経時的に調査し、それぞれの出芽率あるいは平均出芽所要日数を算出した。また、5月25日の掘り上げでは得苗率を算出すると共に、不定根の形成部位についても調査した。

2. 結果および考察

ウラルカンゾウの走出茎であるストロンは、概ね植付け2年目の春以降に根基部から伸長すると見られ、その先端部は時として出芽して地上茎に葉を展開する。伸長したストロンには数cmおきに休眠した芽が多く存在しており、この休眠芽からの「根を伴う出芽」の割合（得苗率）を効率的に高められるかが栽培化に向けた課題となっている。すなわち、出芽が不揃いで初期生育の遅れによる生存率の低下が懸念されており、出芽と発根は必ずしも一致するものではなく、得苗率には系統間差が見受けられ、系統選抜する際の指標に得苗率を加味して行うことが重要と考えられた¹⁰⁾。

2-1. ストロンの植付け方向が出芽と根の形成に及ぼす影響

植付け方向については、鉛直方向と水平方向の二通り（2区）で実施し、その結果を表-1に示す。植付けたストロンは休眠芽を2個有していたが、

出芽数は平均1.0および1.1本で、ほとんどのストロンにおいて2個の休眠芽のうちのいずれかの休眠芽から出芽した。その草丈（地上部）は、いずれも10cm程度であった。

不定根の形成部位は、出芽した芽の基部（A）、ストロンの株基部側の切口（B）および休眠中の芽の基部（C）の3か所から単独あるいは重複して確認された。すなわち、Aから発根した個体数の割合ならびに発根数は、鉛直方向区が80.0%の1.0本で、水平方向区は70.0%の0.9本であり、前者がやや高い値を示したものの有意な差は見られなかった。他方、Bにおいては鉛直方向区が78.3%の1.8本であったのに対して、水平方向区は45.0%の0.8本で、約半数の数値を示し有意な差が認められた。これは鉛直方向にストロンを植えることで極性が働き、下部の切口の発根数に影響したものと考えられた¹⁰⁾。また、Cについては区間で同程度の値を示した。なお、形成された根の長さには差が見られず、いずれも10.6~12.8 cmであった（写真-2）。

得苗率については、鉛直方向区が96.7%で、水平方向区が85.0%で若干の差はあるもののいずれも高い値を示し、植付けの方向性に問題はないものと考えられた。農業機械等を用いて圃場に直接植付ける場合、ストロンは概ね水平方向になることが多い、また、ペーパーポットあるいはビニルポットで苗を育成する場合は、その形状から鉛直方向での植付けが容易なことから、育苗手段で使い分けが可能であると考えられた。

表1. ストロンの植付け方向が出芽および発根に及ぼす影響

区	出芽数 (個)	草丈 (cm)	根数(本) (部位別の発根した個体数の割合 %)			根長 (cm)	得苗率 ** (%)
			A	B	C		
鉛直方向	1.1 ± 0.3	10.1 ± 2.8	1.0 ± 0.6 (80.0)	1.8 ± 1.6 * (78.3)	0.2 ± 0.5 (15.0)	12.8 ± 5.8	96.7
水平方向	1.0 ± 0.2	10.5 ± 4.0	0.9 ± 0.7 (70.0)	0.8 ± 1.1 * (45.0)	0.2 ± 0.4 (15.0)	10.6 ± 6.1	85.0

平均 ± 標準偏差 (鉛直方向:n=60 水平方向:n=20)

根の形成部位 (A: 出芽した芽の基部 B: ストロンの株基部側の切口 C: 休眠中の芽の基部)

* : Student t 検定により1%水準で有意差があることを示す。

** : 得苗率=発根した個体数(ストロン由来)の割合

2-2. ストロンの植付け深度が出芽と根の形成に及ぼす影響

大規模な生産栽培においては、機械化が不可欠である。機械を用いて圃場に直接種苗（ストロン）を植付ける場合、植付けの深さが不均一となる可能性があるため、その深度が出芽あるいは不定根の形成に及ぼす影響について検討した。

まず出芽に関しては、気温が上昇する4月上旬より出芽し始め、5月上旬でピークに達した（写真-3）。その出芽率は植付け深度20 cm区でやや低いものの、深度15 cmより浅い区において70～80%の値を示した（図-2）。植付け時期で比較すると3月植えが12月植えに比してやや高い値であったが、これは植付けたストロンの芽が明らかに肥大生長したものを供試したためと考えられた。平均出芽所要日数に関しては、いずれの植付け時期も3月4日を起点に算出したところ、深植えの深度15 cmおよび20 cmの2区でいずれも50日以上を要したのに対し、浅植えの深度1 cmおよび5 cmの2区では40日前後となり、特に3月植えの深度5 cm区で最短の34.5日であった（表-2）。

生産栽培において最も重要な得苗率については、12月植えの深度1 cm区で53.3%の低い値を示したが、これは冬期の凍て上がりによる乾燥等が影響したものと考えられた。また、12月植えおよび3月植えの深度20 cm区においてそれぞれ得苗



左：鉛直方向 右：水平方向

写真2. ストロンの植付け方向の違いによる発根状況



写真3. ワグネルポット栽培における系統番号C2のストロンからの出芽状況

(5月9日撮影)

12月植え（写真上から1-3行目）

3月植え（写真上から4行目）

(植付け深度：左から20 cm, 15 cm, 10 cm, 5 cm, 1 cm)

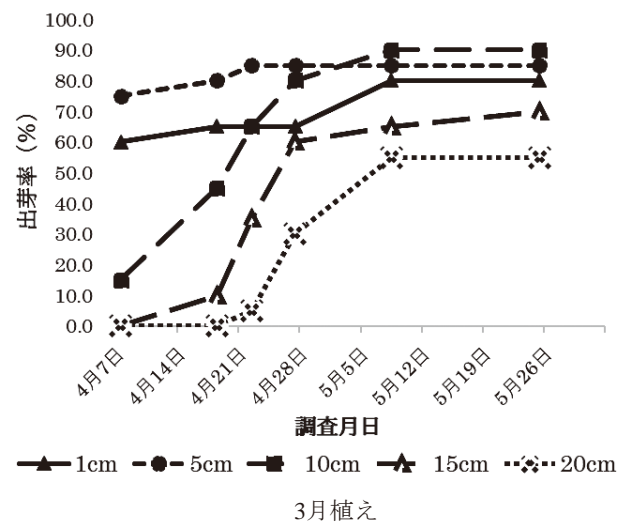
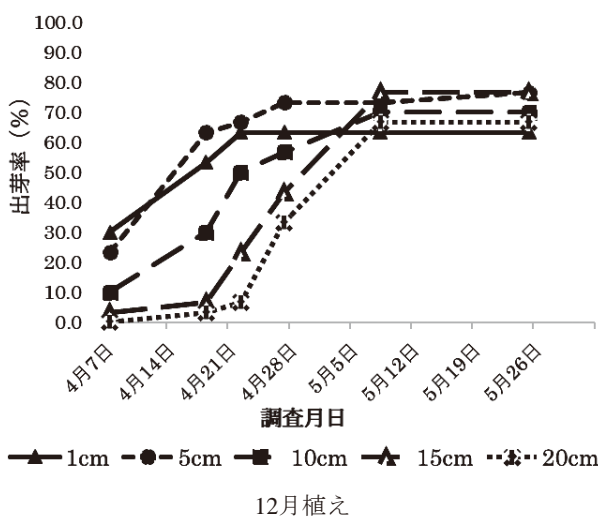


図2. ストロンの植付け深度における出芽率の推移

表 2. ストロンの植付け深度が出芽ならびに発根に及ぼす影響

植付け深度 (cm)	12月植え				3月植え			
	出芽率 (%)	平均出芽所要日数	発根した個体数 (割合%)*	地中茎から発根した個体数**	出芽率 (%)	平均出芽所要日数	発根した個体数 (割合%)*	地中茎から発根した個体数**
1	63.3	40.4	16(53.3)	0	80.0	39.1	16(80.0)	0
5	76.7	43.6	20(66.7)	3	85.0	34.5	15(75.0)	5
10	70.0	48.0	21(70.0)	8	90.0	46.6	15(75.0)	14
15	76.7	55.0	21(70.0)	16	70.0	52.4	14(70.0)	14
20	66.7	56.9	19(63.3)	11	55.0	56.6	10(50.0)	10

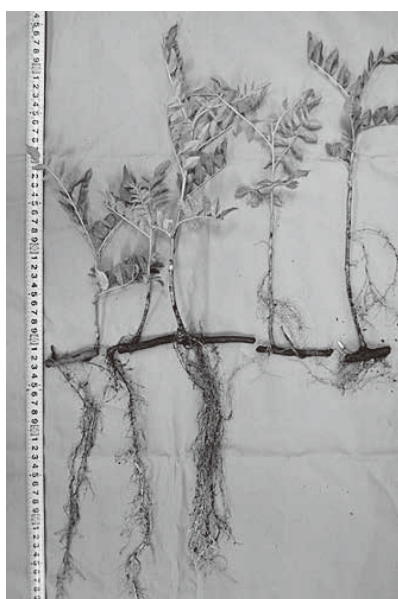
12月植えはストロン10個/ワグネルポット 3反復

3月植えはストロン20個/ワグネルポット 1反復

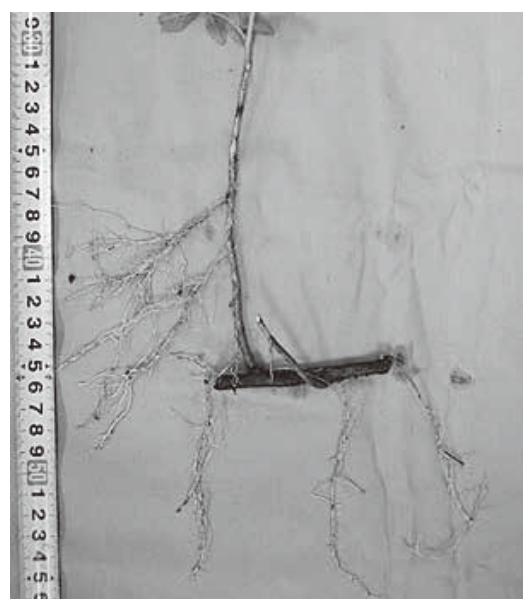
* : 得苗率=発根した個体数(ストロン由来)の割合

** : 発根した個体数(ストロン由来)の中で地中茎からも発根した個体数

平均出芽所要日数は3月4日以降の日数で換算



a: 植付け深度ごとの発根状況



b: ストロンから伸長した地中茎からの発根 (左から1cm, 5cm, 10cm, 15cm, 20cm)

写真 4. 異なる植付け深度における発根状況

率が 63.3 および 50.0% となり、やや低い値であったが、その他の深度では得苗率 70~80% の高い値を示した (表-2, 写真-4a)。なお、不定根の形成状況については、植付け深度によって特徴的な形状を示した (写真-4b)。すなわち、ストロンからの発根とともに、ストロンから出芽した茎の地中部分からの発根が深度 5 cm より深い区で認められ、特に 15 cm および 20 cm 区ではストロンか

らの発根数が少なく、地中茎からの発根数が顕著に多くなるのが観察された。

3. まとめ

ウラルカンゾウの生産を目的として栽培を実施する場合、秋口に掘り上げた株のストロンを長さ 5 cm 前後 (休眠芽を 2 芽含む) に切断・調製して低温下 (5℃) で貯蔵し、翌春 (京都地区では 3

月上旬)に米粒大に肥大した休眠芽を確認して圃場に植付ける。

ストロンの植付け方向に関しては、鉛直方向および水平方向の両区共に得苗率が 85.0%以上の高い値を示したことから、ストロンの植付け方向を気にすることはなかった。

ストロンの植付け深度については、気温が上昇する 5 月上旬に出芽のピークに達し、平均出芽所要日数は深度 10 cmより深い区において 50 日以上を要していたが、浅くなるに従って短くなり、3 月植えの深度 5 cm区が 34.5 日と最短であった。また、得苗率については深度 5~15 cmの区において 67~75%を示した。ストロンを圃場に植付ける場合の深さとしては、土壤の乾燥状況など外的環境も考慮して 10 cmを中心とした範囲 (5~15 cm) が適切と考えられた。

ストロンに形成される不定根は、種子の発芽と同時に形成される根とは形状が異なり、その形成部分が脆弱で、振動等の刺激で容易に離脱 (切断) する。そのため、ポット苗を植付ける際に切断して生育不良を呈すことがある。管理された育苗施設等で実施すれば健全な苗の育成も可能と考えられるが、生産栽培ではコスト削減を意識することが重要である。そこで一般的な育苗方法で育成したポット苗による移植栽培においては、発根が容易で根の生長が良好な系統を用いることが肝要と考えられた。なお、本実験に供試した C2 系統については、70%以上の得苗率とその根張りから見て、移植栽培あるいはストロンを直接植付ける方法のいずれの栽培にも適応する栽培品種であると判断された。

ウラルカンゾウの生産栽培に供する種苗としては、種子 (実生苗) あるいはストロンであり、わが国における種苗の素材としては、現状から見て後者のストロンが妥当と考えられた。しかし、ストロン由来の種苗は切断調製作業の煩雑さ、得苗率の維持、不定根の肥大生長の均一化などの課題がある。一方、種子由来の実生苗は概して GL 含量がストロン苗に比べて低いものの、種子は長期の保存が可能で、播種育苗の機械化など扱いやすい素材であり、発芽と同時に主根の発達が見られ

順調な生育を示す。課題である低 GL 含量や遺伝的な不均一性、さらに種子量の確保については、開花が容易な C2 系統 (写真-1) あるいはその母本株 (A19) を中心に交配親を選定 (2 系統) して、その後代の品質等を検討することで、近い将来の栽培化に向けた国内での種子量の確保も可能と考えられる。

参考文献

- 1) (独) 医薬品医療機器総合機構, 第十八改正日本薬局方, カンゾウ P.1908
<https://www.pmda.go.jp/files/000210790.pdf>
- 2) 日本漢方生薬製剤協会ホームページ, 中国産原料生薬の価格調査 (第 3 回, 2015 年実施), <https://www.nikkankyo.org/serv/sery3.htm>.
- 3) 芝野真喜雄, 川瀬さおり, 村上理恵, 喜多俊二, 草野源次郎, 柴田敏郎, 畠山好雄, 縣功, ウラルカンゾウ栽培のための基礎研究, *Natural Medicines*, **54** (2), 70-74 (2000).
- 4) 尾崎和男, 芝野真喜雄, 草野源次郎, 渡辺 斉, 甘草の国内生産を目指して (1): ウラルカンゾウ (*Glycyrrhiza uralensis* Fischer) の筒栽培について, *生薬学雑誌*, **61** (2), 89-92 (2007)
- 5) 尾崎和男, 芝野真喜雄, 草野源次郎, 渡辺 斉, 甘草の国内生産を目指して (2): ウラルカンゾウ (*Glycyrrhiza uralensis* Fischer) の優良個体の選抜について, *生薬学雑誌*, **64** (2), 76-82 (2010)
- 6) 芝野真喜雄, ウラルカンゾウ (*Glycyrrhiza uralensis* Fischer) の国内栽培を目指して, 特殊種苗, **16**, 47-49 (2013).
- 7) Kazuo OZAKI, Makio SHIBANO, Aim for production of *Glycyrrhizae Radix* in Japan (3): development of a new licorice cultivar, *Journal of Natural Medicines*, **68** (2), 358-362 (2014) .
- 8) 尾崎和男, 第 3 回甘草シンポジウム (北海道名寄市), 12-18 (2005).
- 9) 尾崎和男, 第 4 回甘草シンポジウム (大阪薬科大学), 12-15 (2008).
- 10) 照井正樹, 熊谷和幸, 和田浩志, 飯田 修, 加賀亮司, 柏木翔和, 尾崎和男, 芝野真喜雄, *薬用植物研究*, **43** (1), 10-20 (2021).
- 11) 最新植物用語辞典, 廣川書店 257-258 (1978).

Pharmacognostical studies of Salviarum Radices (Part II)1). Morphological and anatomical characteristics of crude drugs derived from various *Salvia* plants

Seiichi Yamaji ^{1)*}, Naoyuki Yokota ¹⁾, Shao-Qing Cai ²⁾, Katsuko Komatsu ³⁾

¹ Division of Kampo Medicine, Nihon Pharmaceutical University
10281 Komuro, Ina, Saitama 362-0806, Japan

² Division of Pharmacognosy, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University,
Beijing 10082, China

³ Institute of Natural Medicine, University of Toyama,
2630 Sugitani, Toyama 930-0194, Japan

(受付日：2021年10月31日／受理日：2021年12月2日)

Abstract

Comparative studies were performed to clarify the botanical origins of crude drugs, Salviarum Radices, such as Danshen (丹参, Tanjin in Japanese), Zidanshen (紫丹参, Shitanjin), Hongqinjiao (紅秦艽, Kojingyo), commercially circulated in markets of China and Japan, depending on morphological and anatomical characteristics of the underground parts as previously reported by comparison with *Salvia* plants of Lamiaceae (Labiatae), i.e., *S. miltiorrhiza*, *S. bowleyana*, *S. sinica*, *S. yunnanensis*, *S. paramiltiorrhiza*, *S. przewalskii*, and *S. deserta*. As our results, the origins of 54 samples are identified and about a half of Danshen were derived from the root of *S. miltiorrhiza*, and a quarter of them were derived from other single species, *S. bowleyana*, *S. sinica*, and so on. And the remaining quarter of Danshen are found out as the mixture with *S. miltiorrhiza* and other *Salvia* plants: *S. paramiltiorrhiza* and *S. sinica*, *S. bowleyana*. Hongqinjiao and a part of Zidanshen were derived from the root of *S. przewalskii*. Throughout our survey on the characteristics of Danshen, most of the cut surfaces were dark brown to black in color, whereas they were all grayish yellow to yellow in the plant specimens. Furthermore, intermediate structures were found out in the characteristics of mass of mechanical tissues in xylem (MTX) between *S. miltiorrhiza* and *S. paramiltiorrhiza*, i.e., radial files and fork-shaped MTX tissues and their mixtures. Their characteristics support the taxonomical view of the treatment of *S. paramiltiorrhiza* as one of the variety, *S. miltiorrhiza* var. *hupehensis*.

Keywords: Salviarum Radices, Danshen, *Salvia miltiorrhiza*, Lamiaceae (Labiatae), plant anatomy

Introduction

Salviarum Radices (丹参類生薬, hereinafter referred as **SR**) derived from the underground part of *Salvia* L. such as Danshen (丹参), Zidanshen (紫丹参), Hongqinjiao (紅秦艽), are widely used in the system of Traditional Chinese and Kampo Medicines. Among them, Danshen is well known one and pharmacopoeial both China and Japan^{2, 3)}. In the previous paper¹⁾, comparative study on external and anatomical morphologies was carried out for the root of seven species of *Salvia* plant specimens, i.e., *S. miltiorrhiza* (**M**), *S. bowleyana* (**B**), *S. sinica* (**S**), *S. paramiltiorrhiza* (**Pm**), *S. yunnanensis* (**Y**), *S. deserta* (**D**), and *S. przewalskii* (**Pr**) to perform the characteristics of *Salvia* spp. as the reference materials. As a result, they could be distinguished from each other by their characteristics, such as columnar, fusiform or conical shapes, red or brown colors, and dense or sparse textures of the root externally, and such as distinctive shapes and arrangement patterns on masses of mechanical tissues in xylem (MTXs), maximum diameter of vessels in the secondary xylem anatomically, and so on. Through our field survey in Chinese and Japanese markets, 54 samples of commercial **SR** were obtained, and it was found out that they varied in color, texture, or diameter. In **SR** from markets, Danshen is the most common crude drugs, and we have been obtained more than **40** samples in the market from 1955 to 2014. And in more than half of Danshen circulated in markets, their cut surfaces were found out to be reddish brown to blackish brown in color, whereas almost all cut surfaces of the roots of *Salvia*'s plant specimens were yellowish to white in color. And crude drugs obtained after 2014, they tended to be smaller, slimmer, and cut out into smaller pieces than those obtained during the 20th centuries. Nowadays, Danshen is one of the important crude drugs which have become domesticated mostly in China mainland and have been tried to cultivate outside Asian countries even in Australia⁴⁾ to conserve natural resources and to satisfy

the market demand. In such circumstances, botanical origins of **SR** were seemed to be complicated, and it is suggested that still more morphological and anatomical differences between plant specimens and crude drugs should be investigated from the viewpoints of regulatory science and quality controls over crude drugs, in addition to our former result on plant specimens. So, in this paper, we have performed the further morphological and anatomical studies of **SR** to clarify the origins and their variations depending on the previous result by comparison with those circulated in the markets.

Materials and methods

Crude drug materials

All **SR** samples are deposited in Museum of Materia Medica, Institute of Natural Medicine, University of Toyama (TMPW) or in Kimura Memorial Museum, Nihon Pharmaceutical University (NPU). They are 42 of "Danshen (丹参)," two of "Zidanshen (紫丹参)," one of "Chuandanshen (川丹参)," three of "Gansu danshen (甘肅丹参)," two of "Xinjiang danshen (新疆丹参)," and four of "Hongqinjiao (紅秦艽)" (Table 1).

Methods

Most of the samples obtained are whole products or cut ones. Some of them were often cut, pressed, bend or fold due to external forces during drying, transportation, preservation, and so on. For external observation, dried specimens were used. And for microscopy, dried specimens are sampled and soaked in water to reconstitute tissue structure. Samples for microscopy were carefully selected and cut out from the general ones. Sectioning position of cut out sample was selected where the root transformed enough from rhizome to root and is maximal diameter in each specimen. They were cut into sections about 10 to 20 μm thick after. Sectioned preparations were treated conventionally for ordinary microscopy as described in the previous paper¹⁾.

Results

Botanical origins of SR are composed of single species or mixture with multiple species (Table 1).

Crude drugs derived from single species

Depending on the external morphology of circulated crude drugs, they are roughly divided into two groups. One of them consists of root and sometimes with the small amount of rhizome, such as *S. miltiorrhiza*, *S. bowleyana*, *S. sinica*, and *S. paramiltiorrhiza*, and the other consists of root and rhizome sometimes with the aerial parts, *S. deserta*, *S. przewalskii*, *S. sinica*, and *S. bowleyana*. Results are shown in Table 1 in order of the number of circulated sample names. Key for identification is shown in Table 4. General morphologies and anatomies are mentioned in the previous results, therefore, detailed differences among the investigated materials are described. All samples are supposed to be produced in China (Figs. 1, 2, Tables 1-3). Anatomical photos of the sections of the crude drugs derived from *Salvia yunnanensis*, *S. przewalskii* and *S. deserta* are not shown, since these species are hardly marketable. The figures of the sections on the root of three species can be referred in the previous paper¹⁾.

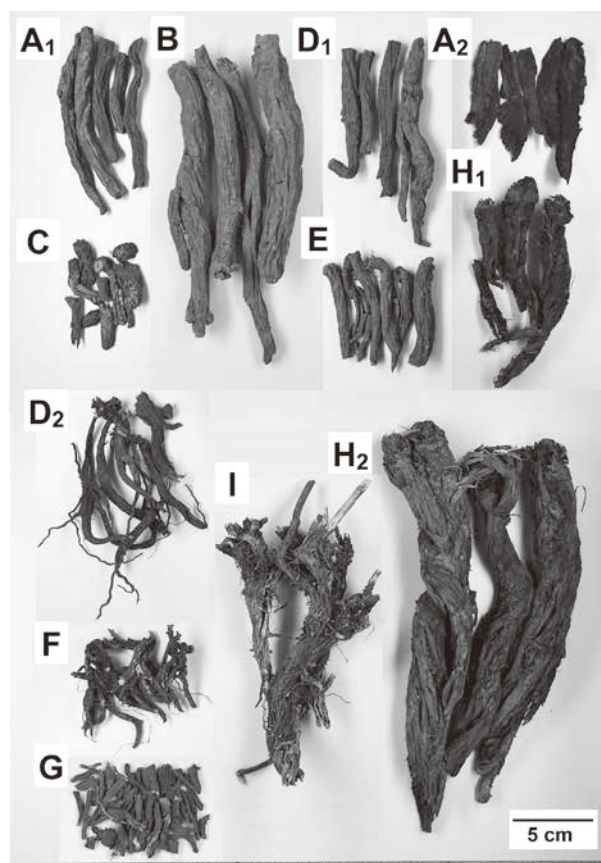


Fig. 1a **Commercial *Salvia Radices* circulated in China and Japan.**

Identified botanical origins are A: *Salvia miltiorrhiza* (1. 11420; 2. 5430(yinpian), Danshen); B: *S. bowleyana* (16301, Danshen); C: *S. sinica* (6864, Danshen); D: *S. paramiltiorrhiza* (1. 8901; 2. 17480, Danshen); E: mixture of *S. bowleyana* and *S. sinica* (16933, Danshen); F: *S. yunnanensis* (16948, Danshen); G: mixture of *S. bowleyana* and *S. paramiltiorrhiza* (17507, Gansu danshen); H: *S. przewalskii* (1. 76 (Danshen); 2. 11530 (Hongqingjiao)); I: *S. deserta* (16569, Xinjiang danshen). Sample numbers of TMPW are shown in parentheses.



Fig. 1b **Commercial "Danshen" derived from the underground and basal parts circulated in Anhui, China.**

Identified origin is *Salvia sinica* (17481).

Table 1. Collection data of commercial *Salviarum Radices* and the botanical origins according to our result.

Name of crude drug	Place and Market obtained (produced area)	Date	Sample No.	Botanical origin
	Wingtaihong medicine company Ltd., Hongkong (unknown)	Dec.,1972	4303	M
	Kiushun ginseng and pilose antler trading Ltd., Hongkong (unknown)	Nov.,1986	5430	M
	Hehuachi Chinese Materia Medica Market, Chengdu, China (Sichuan, China)	Sep.,1995	16305	M
	Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Osaka, Japan (unknown)	Feb.,1990	10801	M
	idem (unknown)	Jul., 1991	11420	M
	idem (unknown)	Dec., 1996	16950	M
	Uchida Wakan-yaku Co., Ltd. Tokyo, Japan (unknown)	Dec.,1996	16949	M
		May, 2004	2004270*	M
		May, 2008	101*	M
	idem (Sichuan, China)	Apr., 2009	102*	M
	idem (Sichuan, China)	Aug., 2003	106*	M
	idem (Sichuan, China)	Jan., 2006	107*	M
	idem (China)	Sep., 2008	108*	M
	idem (Sichuan, China)	Feb., 2009	109*	M
	idem (Sichuan, China)	Jun., 2009	110*	M
	idem (Sichuan, China)	Jul., 2014	116,117,118*	M
	idem (Shandong, China)	Jul., 2014	119*	M
	Ouguolian, Taizhung, Taiwan.	2007	2007040*	M
Danshen (丹参)	Hehuachi Chinese Materia Medica Market, Chengdu, China (Hebei, China)	Sep.,1995	16173	B
	idem (sichuan, China)	Sep.,1995	16301	B
	Xian Materia Medica Market, Xian, China (Shanxi, China)	May, 1994	13914	B
	Uchida Wakan-yaku Co., Ltd. Tokyo, Japan (Henan, China)	unknown	104*	B
	idem (Shandong, China)	Jul., 2009	111*	B
	Yangtian medicine gathering and providing company, Qingyang county, Anhui, China (Anhui, China)	Aug., 1998	17481	S
	Aksu Medicine Company, Xinjiang, China (unknown)	Jul., 1987	6864	S
	Uchida Wakan-yaku Co., Ltd. Tokyo, Japan (Shandong, China)	Jul., 2014	115*	S
	Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Osaka,	Mar.,1988	8901	Pm
	Juhua Vil. street stal, Kunming, Yunnan, China (unknown)	Oct.,1996	16948	Y
	Beijing Medical University, Beijing, China (Gansu, China)	Mar, 1981	76	Pr
	Mongolian medicine gathering and	Jul., 1994	15193	S and B

providing company, Hohhot, Inner Mongolia, Hehuachi Chinese Materia Medica Market, Chengdu, China (Sichuan, China)	Jul., 1996	16933	S and B
Uchida Wakan-yaku Co., Ltd. Tokyo, Japan (Henan, China)	Dec., 2005	105*	S and B
Mikuni Ltd., Osaka, Japan(unknown)	Oct., 1955	7509	M and Pm
Uchida Wakan-yaku Co., Ltd. Tokyo, Japan (unknown)	Apr., 2007 May, 2004	103* 2004271*	M and Pm M and Pm
idem (China)	Jul., 2014	120,121*	M and Pm
Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Osaka, Japan (unknown)	unknown	77	S and Pm
idem (unknown)	Dec., 1996	16951	S and Pm
Yulum medicine company Xinjiang, China (unknown)	Mar., 1994	15481	S and Pm
Zidanshen Tangchi medicine gathering and (紫丹参) providing logistics company, Shucheng, Anhui, China (Anhui, China)	Aug., 1997	17480	Pm
Zhengyi Chinese medicine Company, Kunming, Yunnan, China (unknown)	Nov., 1985	3107	Pr
Chuandanshen (川丹参) Wingtaihong medicine company Ltd., Hongkong, China (unknown)	Dec., 1974	55	M and Y
Gansu danshen (甘肅丹参) Imported by Alps Pharmaceutical Ind. Co.,Ltd. Gifu, Japan (China)	unknown	17505 17506 17507	Pm and B Pm and B Pm and B
Hongqinjiao (紅秦艽) Hehuachi Chinese Materia Medica Market, Chengdu, China (unknown)	May, 1990	16173	Pr
idem (unknown)	Oct., 1991	11530	Pr
idem (Sichuan, China)	Aug., 1996	16988	Pr
idem (Sichuan, China)	Mar., 1998	18267	Pr
Xinjiang danshen (新疆丹参) Circulated in Xinjiang market, Imported by Alps Pharmaceutical Ind. Co.,Ltd., Gifu Japan (unknown)	Oct., 1994	15403	D
Tianshan Pharmaceutical Ltd. and imported by Alps Pharmaceutical Ind. Co.,Ltd., Gifu, Japan (Xinjiang, China)	Sep., 1995	16569	D

Abbreviations are corresponding to, M: *S. miltiorrhiza*, B: *Salvia bowleyana*, S: *S. sinica*, Pm: *S. paramiltiorrhiza*, Y: *S. yunnanensis*, Pr: *S. przewalskii*, D: *S. deserta*.

Samples are deposited mainly in Museum of Materia Medica, Institute of Natural Medicine, University of Toyama, and partly deposited in Kimura Memorial Museum, Nihon Pharmaceutical University*.

Table 2. Morphological Characteristics of “*Salvianum Radices*” depended on the identified species.

Identified Species as the result*	<i>S. miltiorrhiza</i>	<i>S. bowleyana</i>	<i>S. sinica</i>	<i>S. paramiltiorrhiza</i>	<i>S. yunnanensis</i>	<i>S. przewalskii</i>	<i>S. deserta</i>
Part of use	root	root often with rhizome	root often with rhizome and aerial part	root rarely with rhizome	root often with rhizome	root sometimes with rhizome	root, rhizome with stem residue
Shape	columnar somewhat bent	columnar, twisted somewhat bent	columnar often curved	columnar, fusiform bent, twisted slightly	long conical or fusiform	columnar to long conical, often twisted	long conical often twisted
Whole length(cm)**	1 - 16	7 - 23	1 - 18	7 - 15	4 - 7	5 - 26	8-22
Length of root parts(cm)	1 - 16	7 - 21	1 - 14	5 - 14	3 - 6	5 - 22	5-18
Width(mm)	2 - 11	3 - 17	4 - 7	4 - 15	5 - 9	10 - 36	12-18
Number of lateral roots	0(trace)	0-5	1-12	1-2(trace)	1-3	1-3	1-2
Amount of adventitious roots	-	-	±	+	+	+	++
Surface texture	wrinkled, slightly rough	wrinkled, slightly rough	wrinkled, slightly rough	wrinkled slightly rough	wrinkled slightly rough	wrinkled, rough, torn into strings	rough, partly torn into strings
Color	red, vermilion - reddish brown	reddish brown - brown	light brown, purple red -dark purple red	vermillion red - reddish brown	red - reddish brown	brown -dark brown	dark brown- pale ash brown
Cut surface							
texture	fleshy, solid, highly dense	fleshy, somewhat sparse to dense	fleshy, somewhat sparse to dense, solid	fleshy, highly dense, solid	fleshy, dense solid	rough, right sparse	woody, somewhat sparse
color	reddish brown - dark brown, rarely yellowish white to grayish white	reddish brown - brown, or grayish white-yellowish white partially brown	grayish white, reddish brown-dark brown or yellowish white to grayish white	reddish brown-dark brown or yellowish white partially brown	yellowish white, partially brown - yellow	yellowish white	yellowish white-grayish white

* Plant species are shown in the order of the number circulated sample names and their origins. ** Values are shown in whole length including roots, rhizomes and aerial parts.

Table 3. Anatomical Characteristics of “Salvianum Radices” depended on the identified species.

Species Identified Anatomically	<i>Salvia miltiorrhiza</i>	S. <i>bowleyana</i>	S. <i>sinica</i>	S. <i>paramiltiorrhiza</i>	S. <i>yunnanensis</i>	S. <i>przewalskii</i>	S. <i>deserta</i>
Anomalous cambium	—	—	—	—	—	+	—
Secondary cortex:							
Lysigenous intercellular space	—	—	±	±	—	+	±
Sclerenchyma cells	±	—	±	±	±	—	+
Vascular bundle:							
Vascular cambium: outline	flat	flat-convex	flat	convex-flat (-concave)	flat	convex-flat	convex-flat
Secondary xylem							
Maximum number of the mass of secondary thickening (MTX* tissues)	13-25	6-10	8-24	4-30	4-20	9-11	6-10
Type of MTX tissues (shape)	radial and periodic, sometimes with tangential expansion in sec. xylem (linear)	radial and continuous united in contact with pri. xylem (wide linear, V, overlapped V)	radial and united in sec. xylem (Y, birdfoot, and V)	radial and united in sec. xylem (fork, linear)	radial and tang. connected in sec. xylem (linear)	small radial masses (forming tangential arc)	tangential masses (sector)
Interxylary cork	—	—	—	—	—	+	—(+)
Growth ring structure	—(+)	—	—	±	—	+	+
Vessels							
Arrangement of large vessels	radial	radial	tangential and radial	mostly radial	tangential and radial	tangential	mostly radial
Maximum diam.(µm)	60-90	50-90	55-130	60-120	50-60	90-140	62-128

Sec. xylem: secondary xylem, Pri. xylem: primary xylem. * MTX is the abbreviation of “mass of mechanical tissue in xylem” through this article.

20 samples of “Danshen” derived from *S. miltiorrhiza* (Figs. 1a-A, 2-A)

External morphology: Specimens examined are derived from roots. Roots are columnar and slightly bent in shape, slightly rough and axially wrinkled. Samples are snap off easily. They are one to 16 cm in length and two to 11 mm in diameter. Branched roots are mostly cut off, so it is difficult to distinguish between main and lateral roots. All roots are red or vermilion to reddish brown in color. Cut surface is reddish brown to dark brown mostly, yellowish white to grayish white rarely in color, fleshy, solid and highly dense in texture and sometimes contains fibrous tissues. In longitudinally pressed and sliced “Yinpie (飲片) samples (TMPW 5430, NPU 2007040),” secondary cortex is reddish brown in color in section, otherwise xylem is blackish brown.

Anatomical morphology: Sclerenchyma cells are sometimes observed in the secondary cortex in certain specimens. Outline of the vascular cambium is flat. In secondary xylem, certain masses of mechanical tissues, consisting of tracheary elements, thick-walled parenchyma and xylem fibers, are observed. As previously reported¹⁾, we tentatively called it MTX¹⁾, mass of mechanical tissue in xylem. MTX tissues (hereinafter referred as MTXs) form radial and periodic files with linear or broad linear shapes. They often expand tangentially in the secondary xylem sometimes forming concentric rings like growth ring structure. Maximum numbers of MTXs are 13 to 25 near the cambium. Vessels scattered within the MTXs.

5 samples of “Danshen” derived from *S. bowleyana* (Figs. 1a-B, 2-B)

External morphology: Specimens examined are derived from roots often with a small amount of rhizome. Roots are columnar, twisted and sometimes somewhat bent in shape, slightly rough and axially wrinkled. Samples are not easy to snap off due to their flexibility. They are seven to 23 cm in length with rhizome and three to 17 mm in diameter. Lateral roots

are mostly cut off with slight traces. All roots are reddish brown to brown in color. Cut surface is reddish brown to brown or grayish white to yellowish white in color, fleshy, somewhat sparse to dense, and solid in texture. Fibrous bundles and/or hollows are observed.

Anatomical morphology: Sclerenchyma cells are absent. Outline of vascular cambium is flat to convex. In secondary xylem, MTXs form radial and continuous files. They are six to 10 in number near the cambium. Each file forms wide linear to band shape. In some of the MTXs, V-shaped ones and radial ones often unite and form V- or overlapped V-shaped MTXs in contact with primary xylem.

3 samples of “Danshen” derived from *S. sinica* (Figs. 1a-C, 1b, 2-C)

External morphology: Specimens examined often contain basal and aerial parts of the plant body. Those parts are up to four cm in length. Roots are slender, columnar, and often curved in shape, slightly rough, axially wrinkled, and branch well near the base. They are one to 14 cm in length and four to seven mm in diameter. In whole specimens, branched lateral roots are well retained and are up to 12 in number, and light brown or purple red to dark purple red in color. Cut surface is and grayish to yellowish white with partially brown in color, often contains fibrous bundles, and somewhat sparse to dense and solid in texture.

Anatomical morphology: Sclerenchyma cells are sometimes observed in the secondary cortex in certain specimens. Lysigenous intercellular spaces are observed with accompanying wound cork layers, which sealed the intercellular spaces (No. 6864, 115). Moreover, there is another sample having lysigenous intercellular spaces with no cork layers (No. 17481). Outline of vascular cambium is almost flat. In secondary xylem, some files of MTXs unite together so that the MTXs are forming Y, bird foot (overlapped Y shape), or V shapes.

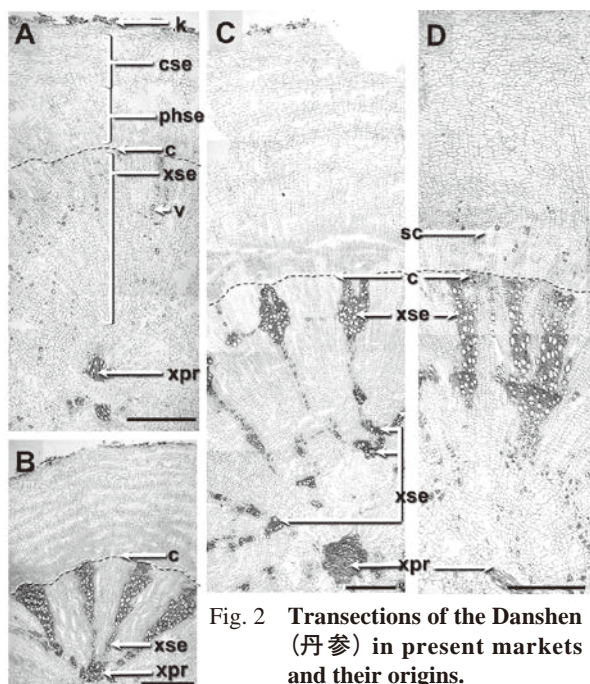


Fig. 2 Transsections of the Danshen (丹参) in present markets and their origins.

A: *Salvia miltiorrhiza* (2004270*); B: *S. bowleyana* (105*); C: *S. sinica* (105*); D: *S. paramiltiorrhiza* (2004271*). Scales corresponded to 0.5 mm in each picture. Samples are deposited in NPU*.

Abbreviations; c: cambium, cse: secondary cortex, k: cork, phse: secondary phloem, sc: sclerenchyma cell, v: vessel member, xpr: primary xylem, xse: secondary xylem.

1 sample of “Danshen,” and 1 sample of “Zidanshen,” derived from *S. paramiltiorrhiza* (Figs. 1a-D1,2, 2-D)

External morphology: Specimens examined are derived from roots, rarely with rhizome in trace amounts. Roots are columnar or long fusiform and somewhat bent, slightly and twisted in shape, slightly rough and axially wrinkled. They are five to 14 cm in length and four to 15 mm in diameter. Lateral roots are mostly cut off with slight traces. All roots are vermilion red to reddish brown in color. Cut surface is reddish brown to dark brown or yellowish white to grayish white in color, fleshy, highly dense, and solid in texture. Some fibrous bundles are observed.

Anatomical morphology: Sclerenchyma cells are sometimes observed in the secondary phloem. Outline of the vascular cambium is convex to flat or partly concave. In secondary xylem, MTX forms radially linear files to show a linear shape, and two to four files

of them united in the middle of secondary xylem to show fork-shape. In the furcal part of the fork-shaped MTXs, vessel members arranged tangentially. Some of the MTXs also unite together near the cambium. In this way in one cross section, four to 30 of MTXs arrange radially, and each MTX has large one radial mass or two to four united and fork-shaped MTXs sometimes with further branches near cambium. Larger vessels tend to be aggregated in the furcal part of the fork-shape.

1 sample of “Danshen” derived from *S. yunnanensis* (Fig. 1a-F)

External morphology: Specimens examined are derived from main roots often with some rhizome residues accompanying smaller roots. Roots are slender, long conical, fusiform, and slightly bent in shape, slightly rough and somewhat axially wrinkled. Samples are hard to snap off. They are four to seven cm in length and five to nine mm in diameter. All roots are red to reddish brown in color. Cut surface is yellowish white with partially brown in color, fleshy, dense and solid in texture. And fibrous bundles are often observed.

Anatomical morphology: Sclerenchyma cells are usually absent or are occasionally found out a certain amount. Outline of vascular cambium is almost flat. MTXs are developed in forming radial linear files, sometimes connected tangentially in secondary xylem, and partly adjacent to cambium. Vessels are small and measured as 50 to 60 μ m in diameter in secondary xylem.

1 sample of “Danshen,” 1 sample of “Zidanshen,” and 4 samples of “Hongqinjiao” derived from *S. przewalskii* (Fig. 1a-H1,2)

External morphology: Specimens examined are derived from main roots sometimes with rhizomes and smaller roots. Roots are columnar or long conical in shape, often twisted, rough and torn apart axially. Inside of the large main root, smaller root strings are

observed. Samples are relatively hard and rough, and easy to separate axially into strings, and sometimes broken into smaller root masses by external force. They are five to 26 cm in length and 10 to 36 mm in diameter. All roots are brown to dark brown in color. Cut surface is yellowish white to yellow in color, and sparse in texture with hollow and clefts.

Anatomical morphology: Within secondary cortex, ordinary cork layer arises and surround whole root in the outermost part. Sclerenchyma cells were absent. In secondary xylem, interxylary corks develop within the secondary xylem. The ordinary cork and the interxylary cork combine together and surround one or more vascular bundles forming several rings. In each xylem, xylem parenchyma tissues are relatively so thin that tracheary elements form small radial mass of MTX. In the bigger samples, separated several vascular bundles are observed in one section, and surrounded by the cork rings. And in the smaller ones, vascular bundles are separated into smaller root strands. Vascular bundles surrounded by cork rings arrange tangentially in arc form. Outside of the cork rings, hollows and lysigenous intercellular spaces are observed.

2 samples of “Xinjian danshen” derived from *S. deserta* (Fig. 1a-I)

External morphology: Specimens examined are derived from roots and rhizomes mostly with some amounts of stems and basal parts with leaf residues. Rhizomes are well developed, and stems are remained one to four cm in length. Roots are long conical in shape and often twisted. Samples are not easy to snap off due to fibers. They are eight to 22 cm in whole length and 12 to 18 mm in diameter. Root parts are five to 18 cm. All roots are dark brown to pale ash brown in color, slender and rough in texture. Periderm sometimes easily scales off. Cut surface is yellowish white to grayish white in color. Highly fibrous bundles are observed. Vessels are visible as small pits.

Anatomical morphology: Sclerenchyma cells are usually observed in the secondary cortex. Outline of

vascular cambium is convex to flat. In the secondary xylem, MTXs develop extremely. Large vessel members arrange concentrically, as they were a ring porous wood forming six to 10 of sector shaped MTXs. The increments seem annual growth rings in xylem, obviously. Vascular bundles are often torn, and wound cork and interxylary cork layers may surround MTXs in ray of the secondary xylem and xylem parenchyma.

Crude drugs of plant mixtures derived from two species of *Salvia* plants

Some of the samples are found to be the mixtures of two species of *Salvia* plants. Most of them are derived from *S. miltiorrhiza* and other species.

5 samples of “Danshen” derived from *S. miltiorrhiza* and *S. paramiltiorrhiza*

Samples are long fusiform or columnar in shape. Some of the cut surfaces are rarely fibrous and the others are highly fibrous through a magnifier. Anatomically, few MTXs are found out in the former, and radially arranged I and furcal shaped MTXs in the secondary xylem in the latter. Vessel members are in 60 to 100 μ m in diameter. Depend on these characteristics, they are found to be the mixture of the root of the *S. miltiorrhiza* and the *S. paramiltiorrhiza*. However, both furcal shaped and I shaped MTX's are also observed in some samples (NPU 120, 121).

1 of “Chuandanshen” sample derived from *S. miltiorrhiza* and *S. yunnanensis*

Sample with columnar roots are identified anatomically and derived from *S. miltiorrhiza*. But another long fusiform or long conical roots are also obtained. There are T or I shape fiber bundles through the magnifier in the cut surface. Moreover, the outlines of vascular cambia are almost flat. Vessel members are small in diameter in ca. 60 μ m. Depending on these anatomical characteristics, the origins of this crude drug are corresponded to the mixture of roots of *S. miltiorrhiza* and *S. yunnanensis*.

Table 4. Key for the identification to determine the botanical origin of commercial "Salviarum Radices."

-
1. Crude drugs consist of root, sometimes with the small amount of rhizome.
 2. Sclerenchyma cells rarely observed in the secondary cortex.
 3. MTXs (masses of mechanical tissues in xylem) are observed, but the thick-walled parenchyma is not always developed.
 4. MTXs form radial and periodic files, and sometimes expand tangentially.

S. miltiorrhiza
 4. MTXs often combine and unite each other in the secondary xylem.
 5. MTXs form fork V or Y shape

S. sinica
 5. MTXs form radial files, and sometimes combined together.

S. yunnanensis
 3. MTXs are observed together with well-developed thick-walled parenchyma
 6. MTXs form linear files and fork shaped ones in the secondary xylem.

S. paramiltiorrhiza
 6. MTXs often unite and contact with primary xylem and sometimes unite again in the secondary xylem forming V shapes.

S. bowleyana
 2. Sclerenchyma cells often disperse in the secondary cortex.
 7. MTXs often form radial files, and sometimes combined together.

S. yunnanensis
 7. MTXs develop obviously forming large mass. Large vessels arrange concentrically. Interxylary cork is rarely formed.

S. deserta
 1. Crude drugs consist of root and rhizome, and often with the residues of the aerial part.
 8. Root is often torn apart.
 9. Sclerenchyma cells often observed in the secondary cortex. MTXs develop obviously forming large mass. Large vessels arrange concentrically. Interxylary cork is rarely formed.

S. deserta
 9. Sclerenchyma cells rarely observed in the secondary cortex. MTXs develop poorly. Interxylary corks and anomalous cambia are obvious.

S. przewalskii
 8. Root is rarely torn apart. Sclerenchyma cells rarely observed.
 10. MTXs often unite and form fork V or Y shape in the secondary xylem.

S. sinica
 10. MTXs often unite and contact with primary xylem and sometimes unite again in the secondary xylem forming V shapes

S. bowleyana
-

“Danshen” samples derived from the mixture of the roots of *Salvia* spp., except *S. miltiorrhiza*

According to the external morphology, samples look similar each other. Their botanical origins are identified anatomically to be derived from *S. bowleyana*, *S. paramiltiorrhiza*, *S. sinica*. They are proved to be derived from the mixture of *S. bowleyana* and *S. sinica* (TMPW 15193, 16933(Fig. 1a-E), NPU 105), *S. bowleyana* and *S. paramiltiorrhiza* (TMPW 17505, 17506, and 17507(Fig. 1a-G)), and *S. paramiltiorrhiza* and *S. sinica* (TMPW 77, 15481, 16951).

Results and discussion

Depending on the previous results¹⁾, botanical origins of commercial samples of **SR** are proved to be derived from the root of several species of *Salvia* plants. Most of the samples are derived from single origin, but others are from multiple origins.

In detail, the botanical origins of commercial crude drugs circulated in China and Japan are clarified as described in the followings. Danshen (丹参); *S. miltiorrhiza* (20, Hereafter, a number of commercial samples are shown in parentheses), *S. bowleyana* (5), *S. paramiltiorrhiza* (1), *S. sinica* (3), and *S. yunnanensis* (1) consisting of single species. And samples derived from mixtures of multiple origins are found out, such as; *S. bowleyana* and *S. sinica* (3), *S. miltiorrhiza* and *S. paramiltiorrhiza* (5), and *S. paramiltiorrhiza* and *S. sinica* (3). Zidanshen (紫丹参); *S. przewalskii* (1) and *S. paramiltiorrhiza* (1). Chuandanshen (川丹参); the mixture of *S. miltiorrhiza* and *S. yunnanensis* (1), Gansu danshen (甘肃丹参); the mixtures of *S. paramiltiorrhiza* and *S. bowleyana* (3), Xinjiang danshen (新疆丹参); *S. deserta* (2), Hongqinjiao (紅秦艽); *S. przewalskii* (4). (Table 1). Key for identification is shown in the Table 4.

In the previous paper¹⁾, it is described that the cut surface on the root of the plant specimen is always grayish yellow white to white in the secondary cortex and light yellowish white to white in the xylem. However, more than a half of commercial “Danshen”

samples assumed reddish brown and blackish brown throughout their cut surface. Such blackening is also mentioned in the present Chinese and Japanese Pharmacopoeia^{2,3)}. It is suggested such commercial “Danshen” samples circulated in markets presumed to be chemically influenced and turned their color by conditions through preservation or drying processes.

In this paper, results are shown by comparing with crude drugs circulated in China and Japan, independent from the plant specimens. As the number of sample materials increased comparing with the previous paper, most of the measured values have a slightly wider range of values than the previous paper¹⁾. Crude drugs often cut into pieces to be able to handle them simply, so the length of the roots is shorter than the previous. In most cases, the distal ends and the rhizome parts are cut away from the whole plant of *Salvia* spp. Therefore, the results here shown in tables may reflect current and practical situations in markets. And after 2000, we found out 16.7% of Danshen derived from inappropriate origins.

Furthermore, some samples are considered to be derived from grown wild materials, while other samples are considered to be derived from cultivated ones. In addition, the other samples had both wild and cultivated properties. From the viewpoints of the regulatory science, it seems that data on crude drug materials from wild and cultivated ones are necessary to be considered separately. For example, if the MTXs are linear in crude drugs of Danshen, the origin can be correctly recognized as derived from roots of *S. miltiorrhiza*, depending on the previous result¹⁾. And MTXs in Danshen seemed to be corresponded to “vessel lines” described in Japanese pharmacopoeia.³⁾ But united vessel lines were not observed in *S. miltiorrhiza*. After further observation by comparison of crude drugs, such united vessel lines well correspond to MTXs in *S. paramiltiorrhiza*, and both radial files of MTXs and fork-shaped MTXs are observed in crude drugs derived from the root of *S. paramiltiorrhiza* in some samples of crude drugs, i.e., Nos. 120 and 121

(Table 1).

According to Li and Hedge⁵⁾, *S. miltiorrhiza* var. *hupehensis* E. Peter is classified as the synonym of *S. paramiltiorrhiza*⁵⁻⁷⁾. As our result, the morphological and anatomical characteristics of the roots of *S. paramiltiorrhiza* and the crude drug derived from this species are similar to those of *S. miltiorrhiza*. As mentioned in the previous¹⁾, the distinct difference between two species is the presence or absence of the fork-shaped MTXs in the plant specimens. Through our experiment, the mixture of roots of *S. miltiorrhiza* and *S. paramiltiorrhiza* are also found out from the circulated materials. The results probably support that *S. paramiltiorrhiza* might belong to the variety of *S. miltiorrhiza*.

Recently, Li⁸⁾ and Wang⁹⁾ analyzed the internal transcribed spacer (ITS) region of nuclear ribosomal DNA (nrDNA) and maturase K gene (*matK*) of chloroplasts in several kinds of *Salvia* spp. 14 accessions of *S. miltiorrhiza* and 4 accessions of *S. paramiltiorrhiza*, including both ITS and *matK* region registered with GenBank, were compared respectively to understand whether infraspecific and/or interspecific differences are confirmed or not. According to their results, the relationship between *S. miltiorrhiza* and *S. paramiltiorrhiza* was indicated to be closely related each other depending on the ITS sequences by differences of only two bases comparing with those accessions. On the other hand, in *matK* sequences of *S. paramiltiorrhiza*, their sequences in 2 accessions of *S. meiliensis* and part of *S. bowleyana* completely corresponded to those of *S. paramiltiorrhiza*'s. Thus, *S. miltiorrhiza* and *S. paramiltiorrhiza* could be treated as closely related species each other. But their taxonomical status as an independent species is still obscure.

Morphological and anatomical identifications can be contributed to exclude the obvious adulterants such as *S. przewalskii* and *S. deserta*, however, such methods are limited in their accuracy in evaluating the botanical origin of Danshen. So, it is also necessary to confirm

taxonomical status between *S. miltiorrhiza* and other *Salvia* species by other solutions such as identification by genetic methods.

Furthermore, from the viewpoints of Chemistry, tanshinone II-A and cryptotanshinone, which are well-known Danshen's chemical compounds, were isolated from *S. przewalskii*¹⁰⁾. However, some different abietane diterpenoids were also isolated from this species. Even in *S. miltiorrhiza*, cytotoxicity is reported from arucadiol derivatives¹¹⁾. And it is reported that the root of *S. deserta* can be mixed in Danshen in case of short supply¹²⁾. In this way, since *Salvia* plants contain many kinds of diterpenoids, steroids and other compounds, the botanical origin of Danshen have to be taken care and carefully controlled.

Salvia species are distinguishable by morphologies on flowering organs, such as colors, shapes, and clefts in petals and sepals⁵⁻⁶⁾. Therefore, correct identification of *S. miltiorrhiza* may contribute to its safety for health, and it is necessary to be careful to avoid introducing wrong species when we plant seeds and seedlings.

Acknowledgment We are thankful for providing samples in the present markets by Uchida Wakan-yaku (Tokyo) and Tochimoto Tenkaido (Osaka). And we are also grateful to Ms. Asanuma Mai for her kind assistance from the viewpoints of the plant's genetic classification.

Conflict of interest None of the authors declare any conflict of interests in this study.

References

- 1) Yamaji S., Sato T., S.-Q. Cai, Komatsu K., Pharmacognostical studies of *Salvia* Radices. Morphological and anatomical characteristics on the underground part of seven *Salvia* species (Lamiaceae), Jap. J Bot. 95(4), 220-234 (2020).
- 2) Pharmacopoeia Commission of the Ministry of Public Health of the People's Republic of China, The Chinese Pharmacopoeia Vol. 1, China Medical

- Science and Technology Press, Beijing, pp.77-79, 415-417 (2020).
- 3) The ministry of health, labour and welfare of Japan, The Japanese Pharmacopoeia eighteenth ed., Tokyo, p. 1991 (2021); *ibid.*, Seventeenth ed. of English Version, p.1971 (2016).
 - 4) S.-J.Sheng, E.C.-K.Pang, C.C.-L.Xue, C.-G. Li, Seasonal variations in bioactive marker contents in Australian-grown *Salvia miltiorrhiza* roots, *Chem. Biodiv.* 6(4), 551-560 (2009).
 - 5) X.-W Li, I. C. Hedge, In Wu Zheng-yi, Peter H. Raven (eds) *Flora of China (Lamiaceae)*, Vol. 17. Science Press and Missouri Botanical Garden, St. Louis, pp. 195-222 (1994).
 - 6) Y. -Q. Huang, Genus *Salvia* Linn. In *Agendae Academiae Sinicae* (eds) *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志), Vol. 66. Science Press, Beijing, p 71, (1977).
 - 7) X. -L. Huang, H. -W. Li, Notes on *Salvia* Linn. in China. *Acta Phytotax. Sin.*, 19(2), 245-249 (1981).
 - 8) Q.-Q.Li, M.-H.Li, Q.-J.Yuan, Z.-H. Cui, L.-Q Huang, P.-G. Xiao, Phylogenetic relationships of *Salvia* (Lamiaceae) in China, *J. System. Evol.* **51** (2), 184-195 (2013).
 - 9) M. Wang, H.-X.Zhao, L. Wang, R.-W. Yang, X.-L.Wang, Y-H.Zhou, C.-B.Ding, L. Zhang, Potential use of DNA barcoding for the identification of *Salvia* based on cpDNA and nrDNA sequences, *Gene* **528**(2): 206-215 (2013).
 - 10) W.-S. Chen, X. -M. Jia, W.-D. Zhang, Z.-Y. Lou and C.-Z. Qiao, Chemical constituents in the roots of *Salvia przewalskii* Maxim. *Acta Pharm. Sinica* **38**: 354–357 (2003).
 - 11) M.-J. Don, C.-C. Shen, W.-J. Syu, Y.-H. Ding and C.-M. Sun, Cytotoxic and aromatic constituents from *Salvia miltiorrhiza*, *Phytochemistry* **67**(5): 497–503 (2006).
 - 12) Y. Tezuka, R. Kasimu, J.-X. Li, P. Basnet, K. Tanaka, T. Namba, and S. Kadota S. Constituents of Roots of *Salvia deserta* Schang. *Chem. Pharm. Bull* **46**: 107-112 (1998).

ハナトリカブト栽培における早期収穫の検討

Study of early harvest in *Aconitum carmichaeli* Debeaux cultivation

小沼実香・佐々木陽平・安藤広和*

金沢大学医薬保健研究域薬学系分子生薬学研究室

〒920-1192 石川県金沢市角間町

Mika Konuma, Yohei Sasaki, and Hirokazu Ando*

*Laboratory of Molecular Pharmacognosy, Division of Pharmaceutical Sciences
Kanazawa University, Kakuma-machi, Kanazawa City, Ishikawa 920-1192, Japan*

(受付日：2021年11月1日／受理日：2021年12月2日)

要 旨

ハナトリカブト *Aconitum carmichaeli* Debeaux は冷涼もしくは寒冷な生育地を好み、温暖な地域で栽培すると夏季に病害やこれに伴う倒伏・枯死が発生ししやすい。本研究ではハナトリカブト栽培で発生する病害、倒伏、枯死の回避を目的として、石川県で夏季の生育状況調査を実施し、これらを回避できる収穫時期と定植する種芋の最適重量を検討した。ハナトリカブトを栽培し、病害・倒伏・枯死がみられない株を健全株として健全株数の推移を調査したところ、健全株の割合は6月中旬から7月下旬にかけて大きく低下した。また、7月上旬から8月下旬に収穫を3回に分けて行い、収穫量とブシジエステルアルカロイド (BDA) 含量3種の合計値を比較したところ、収穫量とBDAは7月に微増であり、8月下旬に増加が顕著であった。1株あたりの収穫量は8月収穫で増加するが、枯死等を回避するためには7月収穫が良いと思われる。特に、7月上旬収穫物と下旬収穫物で子根の重量変化が小さかったことから、収穫時期は7月上旬が良いと考えられる。さらに枯死等を回避するための実験として、定植する種芋重量の違いによる生育を観察したところ、5~9gの種芋を使用することで健全株の割合が増加した。以上より、定植には5~9gの種芋を使用し7月上旬に収穫することによって、枯死等のリスクを回避することが可能になると考えられる。

Abstract

Aconite (*Aconitum carmichaeli* Debeaux) prefers cool or cold growing areas, and is prone to disease, lodging, and withering when grown in warm areas. To avoid disease, lodging, and withering in aconite plants in summer, we investigated aconite growth in summer to determine the optimum harvest time and the optimum weight of mother tuberous roots for planting in Ishikawa Prefecture. The percentage of healthy plants that showed neither disease, lodging, nor withering was markedly decreased from mid-June to the end of July. In addition, we carried out three harvests from early July to late August, and found that the total yield and the contents of three kinds of aconitum diester alkaloids (BDAs) in daughter tuberous roots slightly increased in

July and significantly increased in late August. The yields of plants harvested in August increased, and harvesting in July seemed to be a good way to avoid withering. In particular, harvesting in early July was appropriate because the weight change of daughter tuberous roots was small between early and late July. Furthermore, we examined plant growth using mother tuberous roots having different weights, and found that the percentage of healthy plants improved when mother tuberous roots weighing 5–9 g were planted. The results indicated that the use of mother tuberous roots weighing 5–9 g and harvesting in early July reduced the risk of withering.

Key words: *Aconitum carmichaeli*, cultivation, plant growth, aconitum diester alkaloid, mother tuberous root

緒言

ハナトリカブト *Aconitum carmichaeli* Debeaux やオクトリカブト *Aconitum japonicum* Thunberg はキンポウゲ科の多年生草本で、全草に毒性が高いアコニチン系アルカロイドを含有し¹⁾、特に塊根部分で成分含量が高いことが知られている。減毒加工した塊根は漢方生薬「附子（ブシ）」として利用され、新陳代謝亢進作用や鎮痛作用を目的として牛車腎気丸などの漢方薬に配合される。生薬は国内自給率が低く約 8 割を海外から輸入しているが、附子は比較的国内生産が進んでおり北海道や東北を中心に原植物であるハナトリカブトやオクトリカブトが栽培されている^{2) 3)}。

トリカブト属植物の栽培上とくに困難なのは病害対策で、寒地よりも暖地の場合に難しい^{4) 5)}。病害等による栽培途中の枯死は栽培農家にとって重大な経済的損失であり、医薬品の安定供給という観点からも解決すべき課題である。近年の報告では、2016 年 9 月に岩手県のオクトリカブト栽培圃場で白絹病が多発し、立ち枯れが問題となった。聞き取り調査では 2002 年頃から同様の症状が確認されており、分離した病原菌の生育適温が 30℃ 付近であったことから、夏季の高温多湿な環境が病害の要因だと推定されている⁶⁾。病害による枯死を防ぐ方法の一つとしてまず考えられるのは、栽培地を比較的涼しい場所に選定することである。実際に、トリカブト属植物は冷涼もしくは寒冷な気候を好むことから⁴⁾、国内では北海道、岩手、山形で生産が行われている²⁾。特に、国内で生産

される附子の 99%は北海道産であり²⁾、北海道は道南の一部を除いてほぼ全域が亜寒帯気候に属する。しかし、北海道の気候でも病害の発生を防ぐことは困難で、立ち枯れによる枯死は依然として課題である⁷⁾。以上より、栽培地の気候による枯死等の回避には限界があることから、本研究では枯死等を防ぐもう一つの方法として、病害、倒伏、枯死の発生時期を避けた栽培を目指した。現在、収穫時期は 9 月～10 月が一般的だが⁷⁾、我々は枯死等の発生時期より前に収穫を実施することでこれらが回避できると考え、早期収穫を検討した。

1) まず、国内で夏季に収穫する産地がないことから、病害、倒伏、枯死が急増する時期を把握し、その時期より前に収穫時期を設定する必要がある。そこで、病害、倒伏、枯死がみられない株を健全株とし、収穫時期の選定を目的として夏季における健全株数の推移を調査した。また、早期収穫を実施するためには早期生育が必要である。早期生育には従来の栽培地域よりも暖かい場所が適切だと考えられる。実際にハナトリカブトの栽培地を比較した先行研究⁸⁾によると、5～8 月の収穫量は北海道よりも茨城県で多い。さらに、中国で生産される附子の 1/3 を占める代表的産地である四川省江油地区は比較的温暖な気候で、2 月には萌芽することから生育が早く 7 月中旬頃に収穫が実施されている^{9) 10) 11)}。一般的に早期収穫は収量の低下や成分の未発達が懸念されるが、四川省のような温暖な気候で栽培することによって早期に

生育し、収穫することが可能になると考えられる。しかし、中国の内陸部に位置する四川省と海に囲まれた日本では栽培環境が大きく異なるため、日本国内で新たに試験栽培を行う必要がある。これらの理由から、本研究では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ハナトリカブトの試験栽培を実施した。なお、これまでの栽培研究によって石川県では3月に萌芽することを確認している（北海道は5月に萌芽する）。

2) 早期収穫した場合、薬用部位である子根の肥大が不十分であることが懸念される。そこで本研究では、1) で選定した収穫時期を含む夏季の収穫量を明らかにすることを目的として夏季の3時点でハナトリカブトを収穫し、収穫量と子根数を比較検討した。なお、日本薬局方ではハナトリカブト塊根に母根や子根の区別はないが、塊根には母根と子根が存在し、両者は成分含量が異なることから⁸⁾、国内では子根のみが生薬として利用される。また、国内のトリカブト産地で既存品種と育成品種を比較した先行研究では「生薬原料に供しうる」子根の重量を約20g以上としているが¹²⁾、本研究では早期収穫における今後の可能性を考慮し、生薬原料として出荷し得る子根重量の下限値を10gに設定した。加えて、夏季は子根の形成と肥大が盛んな時期であることから、生育状況調査を目的として、夏季の3時点で収穫した子根の重量別子根数を算出した。さらに、附子の主要な成分としてブシジエステルアルカロイド（以下、BDA）のアコニチン、メサコニチン、ヒパコニチンなどが知られており、これらについて定量分析を実施し、早期収穫が附子の品質に与える影響を検討した。

3) これまでの栽培研究で、ハナトリカブトを栽培した際に小さい種芋は枯死が少ない傾向を示したことから、定植する種芋の大きさによって小さい種芋が夏季の生育状況改善に有用である可能性が考えられる。しかし、種芋の大きさは収穫できる子根の重量に影響を与えることが知られている。小さい種芋を定植することで収穫できる子根

重量が軽くなることが判明しているが¹³⁾、早期に収穫した場合の収穫量は更に検討が必要である。そこで本研究では早期収穫に適した種芋の選定を目的として、種芋重量が夏季の健全株数と子根の生育状況に与える影響を調査した。

1. 実験材料

植物試料：いずれも金沢大学・薬用植物園栽培株 *Aconitum carmichaeli* Debeaux であり、一般に「ハナトリカブト」と称されているものである。これらの株は中国栽培株由来とされる他施設保有株と同系統である。同定はこれらの事実と葉が3全裂し、側裂片がさらに2裂することで5深裂という形態的特徴を基に著者（佐々木陽平）が行なった。分析サンプルは金沢大学医薬保健研究域薬学系分子生薬学研究室に保管されている。

圃場：金沢大学医薬保健学域薬学類附属薬用植物園内（土壌タイプ：ばん土質褐色森林土）

2. 実験方法

1) 夏季における健全株数の推移

調査は2019年と2020年の夏季に実施した。1年目は畝立てした後、株間20cmで条間40cmの2条植えとし、2018年11月30日にハナトリカブトの種芋240個を定植した。基肥は10aあたりN-P-Kをそれぞれ150kg-150kg-150kg施用し、追肥として10aあたりN-P-Kをそれぞれ1kg-1kg-1kg施用した。病害・倒伏・枯死がみられない株を健全株とし、2019年6月14日、7月23日、7月31日、8月26日に圃場における健全株の割合を調査した。2年目は2019年12月10日に10～19gの種芋21個を定植し、1年目と同様の調査を2020年4月12日、5月21日、6月29日、7月16日に実施した。参考として、4月～8月における金沢市の日別最高気温と日別最低気温、日別合計降水量（2019年と2020年）¹⁴⁾を図1に示す。

2-1) 収穫時期の検討

畝立てした後、株間20cmで条間40cmの2条植えとし、2018年11月30日にハナトリカブトの種芋540個を定植した。基肥は10aあたりN-P-K

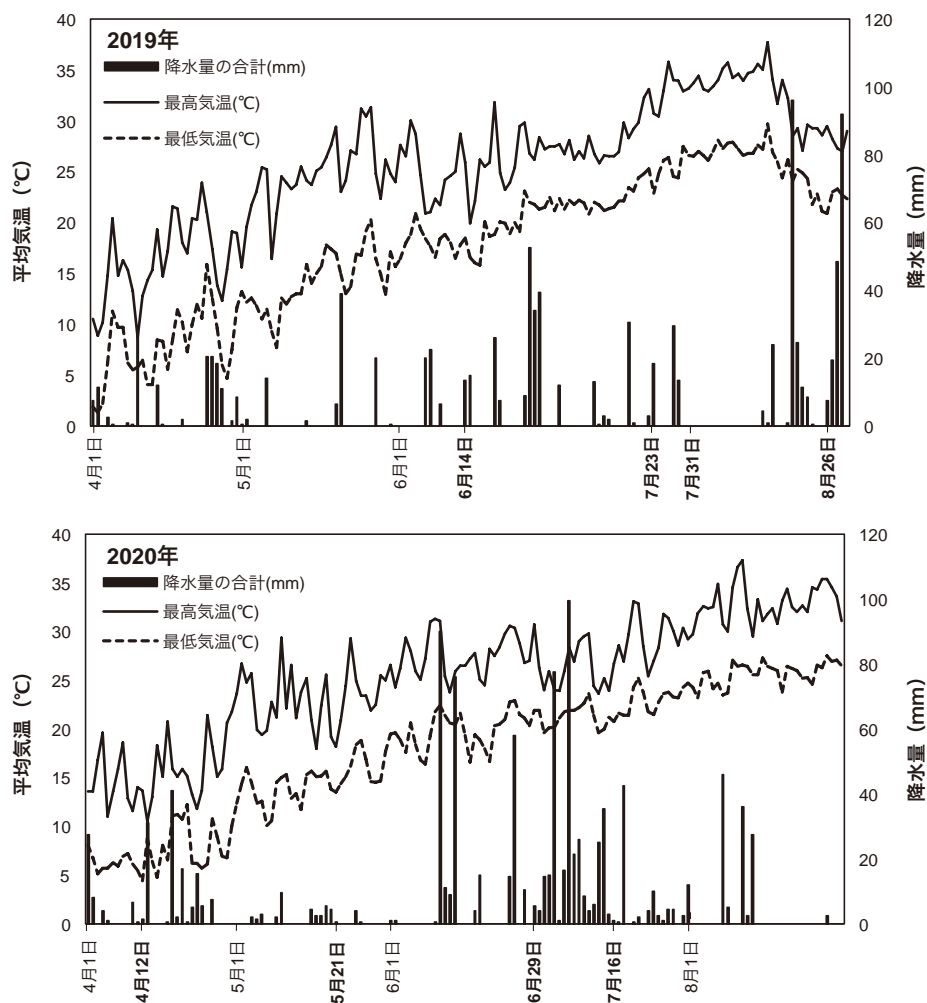


図 1. 4月～8月における金沢市の日別最高気温と日別最低気温, 日別合計降水量 (2019年と2020年). 健全株数の調査は2019年に4回(6月14日, 7月23日, 7月31日, 8月26日), 2020年に4回(4月12日, 5月21日, 6月29日, 7月16日)実施した.

をそれぞれ 150 kg-150 kg-150 kg 施用し, 追肥として 10 a あたり N-P-K をそれぞれ 1 kg-1 kg-1 kg 施用した. 病害・倒伏・枯死がみられない株を健全株とし, 夏季の3時点として2019年7月2日, 7月30日, 8月26日8月26日に健全株を無作為に15株ずつ収穫し, 子根を外して洗浄した後, ひげ根を除去した. これらについて, 株ごとに各子根を計量し, 1株あたりの収穫量と1株あたりの子根数を算出した. 子根数の測定では, 重量が2g未満の子根はひげ根や角と判別困難であるため除き, 2g以上の子根数を1株あたりの全子根数とした. 1株あたりの収穫量は10g以上の子根を対象とし, 1株あたりの子根数は2g以上, 10g以上もしくは20g以上の子根を対象として算出し

た. また, 子根を重量で2~4g, 5~9g, 10~14g, 15~19g, 20g以上の5つに区別して重量別子根数を算出し, 収穫時期で比較した.

2-2) LC-MSによるBDAの定量¹⁵⁾

2-1) で収穫, 洗浄した子根の内, サンプル間のばらつきを軽減する目的で, 分析する子根重量の範囲は14~28gとした. 試料は乾燥・粉碎した粉末250mgを精密に量り, 水1.5mLで混和した. アンモニア試液0.5mLとジエチルエーテル10mLで30分の超音波抽出を3回実施した後, 全抽出液を集めて溶媒を減圧留去した. 残留物をMeOH20mLでメスアップし, 50倍希釈した後, 希釈溶液1350μLと100μMに調製したCaffeine(和光純

薬工業株式会社) 溶液 150 μ L を混合した (誤差の補正を目的として). この溶液を 13000 rpm, 5 min 遠心分離した後, 上清を試料溶液として, UPLC-MS で BDA3 種 (アコニチン, メサコニチン, ヒパコニチン) を定量分析した. 定量分析には外部標準法を採用し, 標準物質として BDA 混合標準物質 (富士フィルム和光純薬株式会社) を希釈し, 検量線を作成した. (アコニチン: $y = 718137x - 516.01$, $r^2 = 0.9997$, メサコニチン: $y = 440389x - 509.53$, $r^2 = 0.9994$, ヒパコニチン: $y = 1061766x + 756.04$, $r^2 = 0.9995$). LC/MS 分析条件¹⁶⁾ は以下の通りである. MS 条件はエレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法 (ポジティブ) を用いてフルスキャンモード (スキャン範囲: $m/z = 100-1000$) で測定し, 各ターゲットピークを抽出した (抽出質量 ± 0.05). アコニチン m/z 646.393 $[M+H]^+$, メサコニチン m/z 632.376 $[M+H]^+$, ヒパコニチン m/z 616.380 $[M+H]^+$. Column: Unison UK-C18HT (75 \times 2.0 mm) 3 μ m, Column temperature: 40 $^{\circ}$ C, Injection volume: 2 μ L, Flow rate: 0.5 mL/min, Mobile phase A: H₂O / HCOOH = 1000 / 1, B: CH₃CN / HCOOH = 1000 / 1,

Gradient conditions: 2 % B (0-2 min), 2-5 % B (2-4 min), 5-15 % B (4-7 min), 15-35 % B (7-19 min), 2 % B (19.1-24 min)

3) 早期収穫に適した種芋の選定

2019年12月10日~12月11日に対照群として10~19gの種芋21個, 小さい種芋として5~9gの種芋 (以下, 種芋「S」) 24個を定植した. 病害・枯死・倒伏がみられない株を健全株とし, 2020年4月12日, 5月21日, 6月29日, 7月16日に圃場における健全株数を調査した. 健全株を2020年7月20日~27日に収穫し, 子根を外して洗浄した後, ひげ根を除去した. これらについて, 株ごとに各子根を計量し, 10g以上の子根について, 子根重量の合計値を1株あたりの収穫量として算出した. 最後に, 子根を重量で2~4g, 5~9g, 10~14g, 15~19g, 20g以上の5つに区別して重量別子根数を算出し, 種芋「S」を対照群と比較した.

3. 結果・考察

1) 夏季における健全株数の推移

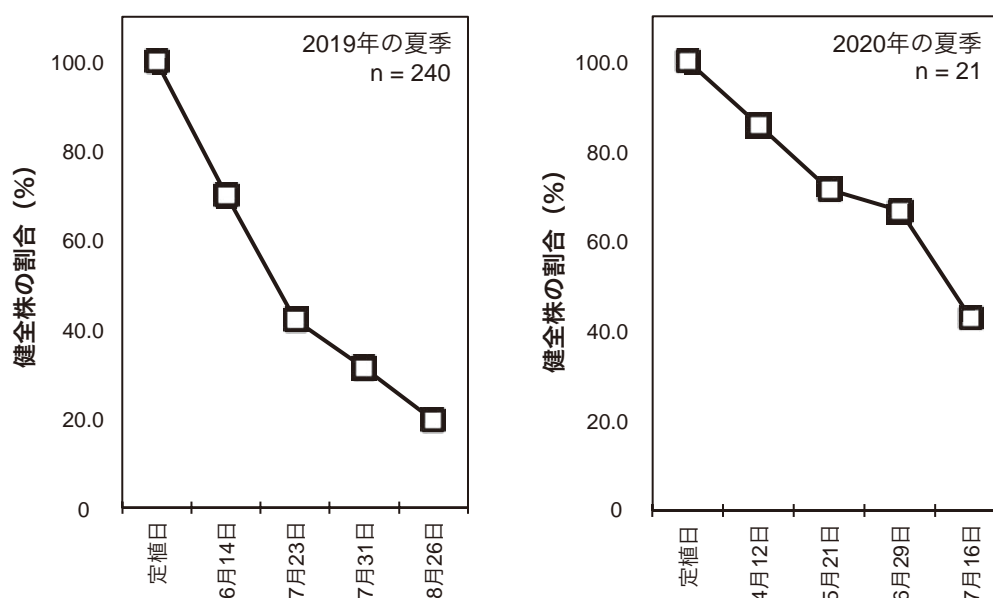


図2. 夏季における健全株数の推移.

病気, 倒伏, 枯死がみられない株を健全株として, 2019年と2020年の夏季に健全株数を調査した. 定植日は2018年11月30日と2019年12月10日, 健全株数の調査は2019年に4回 (6月14日, 7月23日, 7月31日, 8月26日), 2020年に4回 (4月12日, 5月21日, 6月29日, 7月16日) 実施した. 健全株の割合 = 健全株数 / 定植株数 $\times 100$

2019年の夏季では、健全株の割合は6月中旬で70.0%であった(図2)。そこから39日経過後の7月23日時点では6月中旬から約27%低下して42.1%となり、さらに8日後の7月31日時点では31.3%に低下した。8月26日時点では定植した240株のうち、健全株は47株となり、健全株の割合は19.6%まで低下した。また、2020年では、健全株の割合は春季の4月12日時点で85.7%であった。その後、夏季の6月29日時点で66.7%となり、6月下旬以降に大きく低下し、7月16日時点で42.9%となった。6月下旬からの18日間で、約24%の低下が認められた。2年間を通して、健全株数は6月中旬から7月下旬に減少が顕著であった。この時期は例年、梅雨が明けて最高気温が上昇する時期である。ハナトリカブトは排水不良地での栽培で病害が発生しやすいことから⁴⁾、降水量が多い梅雨に株が弱り、梅雨明けと同時に気温が急上昇することで健全株数が減少すると考えられる。従って、枯死等を回避するためには梅雨明け直後の収穫が良いと考えられる。

また、従来は収穫した子根の一部を翌年の種芋

として同時期に定植したが、梅雨明け直後に収穫する場合は定植時期の秋季に種芋を用意する必要がある。中国ではハナトリカブトが温暖で湿潤な気候を好むとされる一方で¹⁷⁾、主な産地である四川省江油は標高が低くて枯死率が高いために、種芋に使う子根は標高1000m以上の冷涼な高地で別に栽培している¹⁸⁾。日本でも、梅雨明け直後に収穫を行う場合は、種芋の保管方法や供給方法の検討が必要である。

2-1) 収穫時期の検討

2018年にハナトリカブトを定植し、2019年に夏季の3時点で収穫したところ、1株あたりの収穫量は7月2日収穫で23.8g、7月30日収穫で25.6g、8月26日収穫で66.4gであった(図3A)。1株あたりの収穫量は7月上旬と7月下旬で大きく変化しないことから、7月中旬に収穫を行う場合はより多くの株数を収穫できる7月上旬に収穫時期を設定すべきであると考えられる。

子根数の測定では、1株あたりの全子根数は7月2日収穫で6.3個、7月30日収穫で11.7個、8

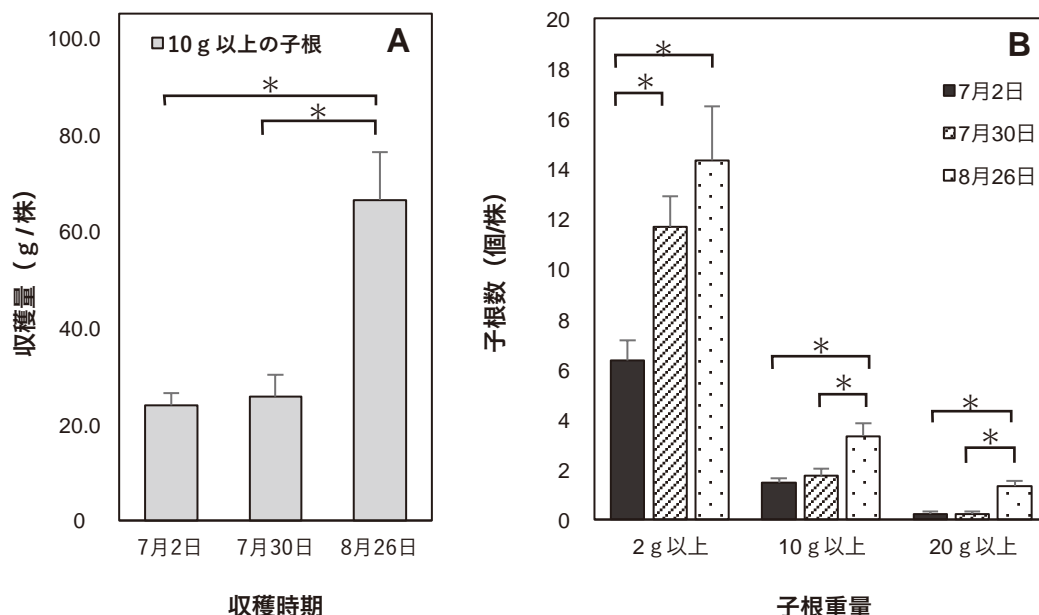


図3. 早期収穫が1株あたりの収穫量と子根数に与える影響。

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, 7月2日:2019年7月2日に収穫, 7月30日:2019年7月30日収穫, 8月26日:2019年8月26日収穫, 1株あたりの収穫量は10g以上の子根を対象とした子根重量の合計値, Mean±S.E., n=15, *: p<0.05 (Tukeyの多重比較検定)

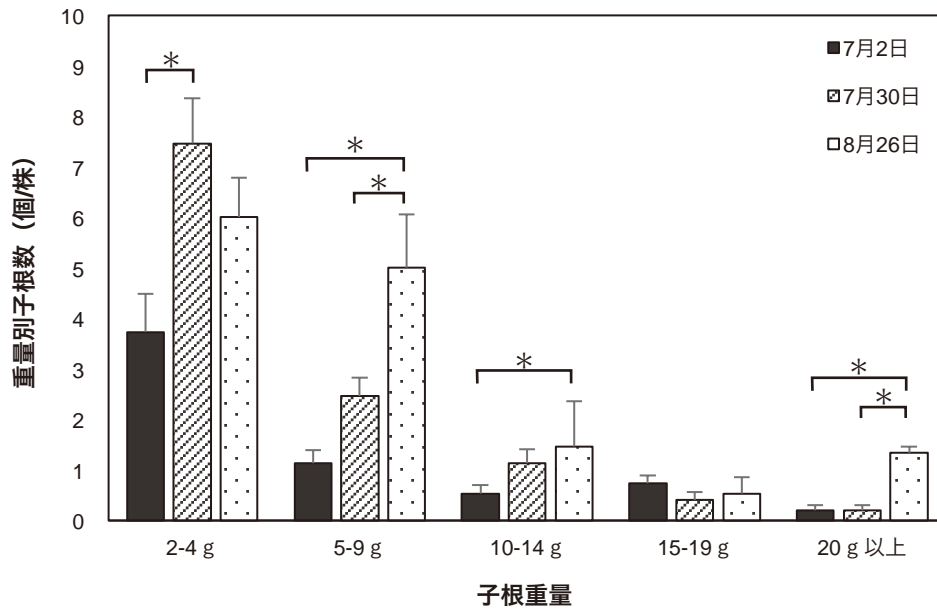


図4. 早期収穫した子根の重量別子根数.
 2018年11月30日定植, 7月2日:2019年7月2日収穫, 7月30日:2019年7月30日収穫, 8月26日:
 2019年8月26日収穫, Mean±S.E., n = 15, *: p < 0.05 (Tukeyの多重比較検定)

月26日収穫で14.3個と収穫時期の経過に伴い増加した。(図3B)これは子根形成が少なくとも8月下旬まで起きることを示している。また、10g以上の子根数は7月2日収穫で1株あたり1.5個であるのに対して7月30日収穫で1.7個と微増であり、8月26日収穫では3.3個に倍増した。20g以上の子根数も同様の傾向を示し、7月2日収穫と7月30日収穫がどちらも1株あたり0.2個で変わらず、8月26日収穫で1.3個に増加した。また、夏季における子根の生育状況を調査するため、子根数を子根重量で5つに区別し、収穫時期で比較した。その結果、2~4gの子根は7月2日収穫で1株あたり3.7個であるのに対して7月30日収穫では7.5個に増加し、8月26日収穫では6.0個に減少した(図4)。7月上旬から下旬にかけて小さい子根数が倍増することから、この時期は子根の形成が盛んである可能性が示唆された。5~9gの子根と10~14gの子根は収穫時期の経過に伴い個数が増加し、それぞれ7月2日収穫で1.1個と0.5個、7月30日収穫で2.5個と1.1個、8月26日収穫で5.0個と1.5個であった。15~19gの子根数は7月2日収穫で最も多くなり、7月2日収穫、7

月30日収穫、8月26日収穫でそれぞれ0.7個、0.4個、0.5個となった。20g以上の子根数は8月26日収穫が最も多く、7月2日収穫、7月30日収穫、8月26日収穫でそれぞれ0.2個、0.2個、1.3個となった。20g以上の大きな子根の数は7月収穫では1株あたり0.2個と少ない結果となった。以上より、子根重量および子根数はともに7月上旬から7月下旬では変化が小さく、生薬として利用し得る10g以上の子根に影響が小さいことが明らかになった。夏季における健全株数の推移を考慮すると、早期収穫を行う場合はより多くの株数を収穫できる7月上旬に収穫時期を設定すべきだと考えられる。また、本研究で使用したハナトリカブトは1株あたりの全子根数が先行研究^{19) 20)}よりも多いことから、塊根の間引きや施肥の調整等によって子根数を制限することで、さらなる収穫量の増加が期待できる。

2-2) LC-MSによるBDA含量の測定

2-1)で収穫した子根のBDA含量をLC-MSで定量したところ、アコニチン含量は7月2日収穫と7月30日収穫で0.193 mg/gと0.192 mg/gで同

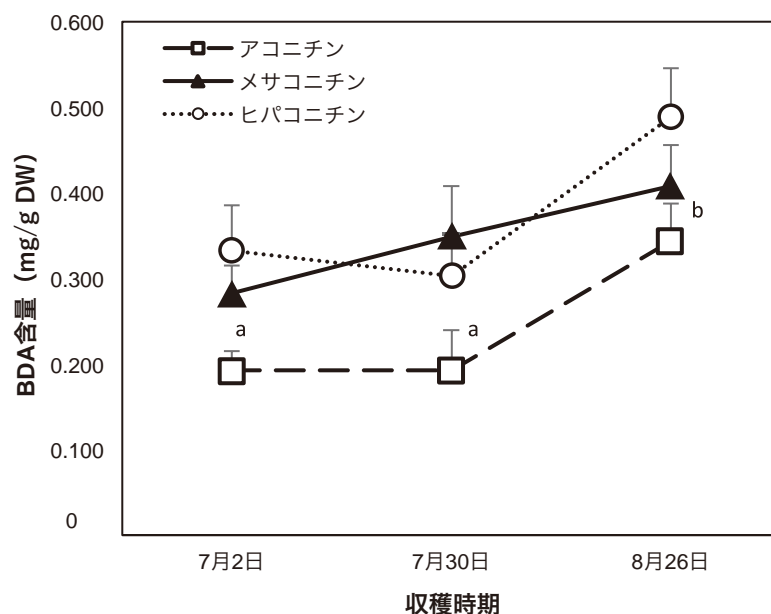


図 5. 早期収穫した子根の BDA 含量

2018年11月30日定植, 7月2日:2019年7月2日収穫, 7月30日:2019年7月30日収穫, 8月26日:2019年8月26日収穫, 分析には生重量が14~28gの子根を使用した, 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).

程度となり, 8月26日収穫で0.333 mg/gに増加した(図5). メサコニチン含量は収穫時期の経過に伴い増加し, 7月2日収穫, 7月30日収穫, 8月26日収穫でそれぞれ0.283 mg/g, 0.349 mg/g, 0.408 mg/gであった. ヒパコニチン含量は7月2日収穫で0.333 mg/gであるのに対して7月30日収穫では0.302 mg/gに低下し, 8月26日収穫では0.489 mg/gに増加した. アコニチンはメサコニチンよりも早期に含量が増加すると報告されていたが⁸⁾, 本研究の結果ではメサコニチンよりも遅い時期にアコニチン含量の増加が認められた. また, 中国産の附子はヒパコニチン含量が高い一方, 日本産の附子はメサコニチン含量が高い傾向にあり²¹⁾, この差異は収穫時期による影響が大きいとされる⁸⁾. 本研究ではBDAの中でヒパコニチン含量が最も高く, 中国産に近い傾向を示したことから, ヒパコニチン含量の高値は早期収穫の子根に特徴的であることが示唆された.

BDA 3種の合計値は7月2日収穫が0.808 mg/gであったのに対して7月30日収穫では0.843 mg/gと微増であり, 8月26日収穫では1.240 mg/gに増加した(図6A). また, BDAの成分比率は収穫時

期による大きな変化が確認されず, 全体としてアコニチンが24~28%, メサコニチンが35~41%, ヒパコニチンが36~41%であった(図6B). 以上より, 各BDA含量とBDA 3種の合計値は収穫量の検討と同様に8月収穫で増加することが明らかになった. 一方, 枯死の回避に良いと考えられる早期収穫では7月上旬と下旬で成分含量変化が小さいことから, 収穫時期は7月上旬が良いと考えられる.

さらに, 生薬原料である薬用植物は成分含量の高いものが良品とされるが, ハナトリカブトの場合は高いものが良品とは限らない. むしろ均一な減毒加工を施すために, 成分含量のばらつきが小さいことが重要である^{19) 22)}. 本研究の結果では7月に収穫した子根は8月に収穫した子根と比較してばらつきが小さかった. ハナトリカブトの早期収穫は枯死等の回避だけでなく, 成分含量のばらつきが小さい附子を生産するために有用な方法だと考えられる.

3) 早期収穫に適した種芋の選定

2019年12月に重量が異なるハナトリカブトの

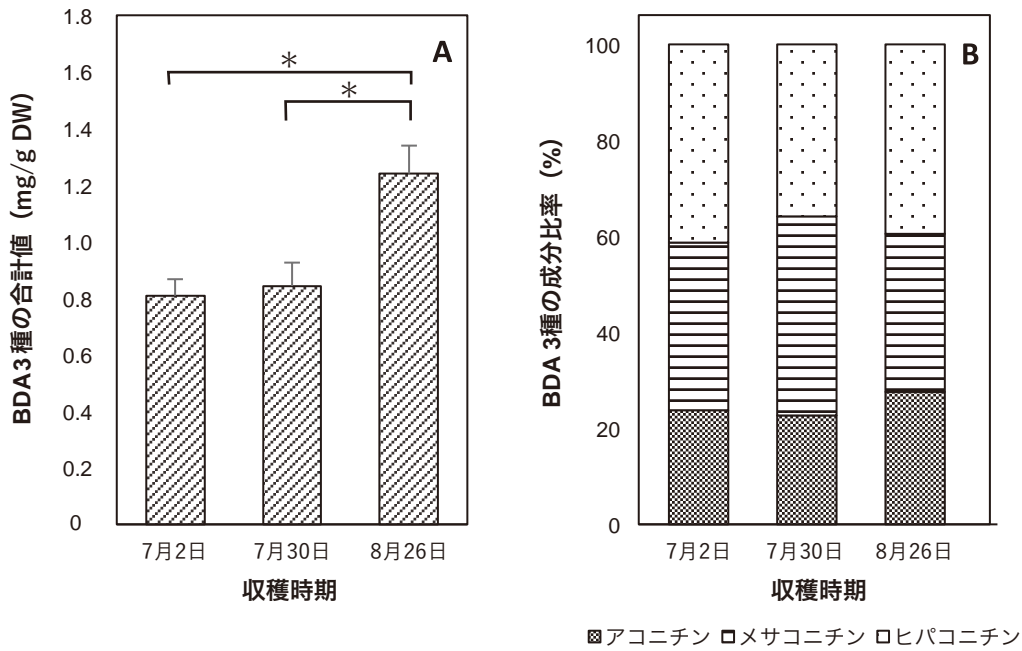


図 6. 早期収穫した子根の BDA 3 種の合計値と成分比率
 A : BDA 3 種の合計値, B : アコニチン系アルカロイドの成分比率.
 2018 年 11 月 30 日定植, 7 月 2 日 : 2019 年 7 月 2 日収穫, 7 月 30 日 : 2019 年 7 月 30 日収穫,
 8 月 26 日 : 2019 年 8 月 26 日収穫, 分析には生重量 14~28 g の子根を使用, Mean±S.E., n = 12,
 * : $p < 0.05$ (Tukey の多重比較検定)
 BDA 3 種の合計値 = アコニチン含量 + メサコニチン含量 + ヒパコニチン含量

種芋を圃場へ定植し, 2020 年の夏季に健全株数の推移を比較した. その結果, 健全株の割合は 4 月 12 日時点で対照群と種芋「S」がそれぞれ 85.7%, 95.8%であり, 6 月 29 日時点でも対照群が 66.7%であるのに対して種芋「S」が 70.8%と大きな差が確認されなかった (図 7). しかし, 6 月下旬から 7 月中旬にかけて対照群で健全株の割合が大きく減少した一方, 種芋「S」の減少幅はこれまでと同様であり, 7 月 16 日では対照群が 42.9%であるのに対して種芋「S」は 58.3%であった. また, 種芋重量が夏季の収穫量と重量別子根数に与える影響を調査した結果, 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, 小さい種芋を使用することによる収穫量の減少は 3 割程度であったが, 有意な差ではなかった (図 8A). さらに子根を重量で 5 つに区別し比較したが, 全ての区分で有意な差は認められなかった. (図 8B) ハナトリカブトの生産には主に株分けが用いられ, 定植に使用する種芋は 10~20 g 程度が良いとされている²⁾. しかし, 対照群と比較して種芋

「S」は夏季における健全株の割合が総じて高いことから, 夏季の枯死等を抑えて収穫するためには 5~10 g 程度の小さい種芋が適していることが示唆された. 小さい種芋の定植によって健全株の割合が改善した要因の一つとして, 草丈が低く倒伏しにくいことが考えられる. これまでに, 定植する種芋が小さいほど草丈, 茎の太さ, 節数の値が下がることが報告されており¹⁴⁾, 本研究においても同様の結果が得られ, 6 月 30 日時点での草丈平均値は対照群と種芋「S」がそれぞれ 96.2 cm, 84.0 cm であり, 7 月 20 日に測定した草丈平均値は対照群が 128 cm であるのに対して, 種芋「S」が 96.9 cm であった. 対照群と種芋「S」で健全株の割合が大きく異なる 7 月中旬では対照群の草丈平均値が 30 cm 以上も高いことから, 種芋重量による生育状況の違いに草丈が関与する可能性が考えられる. これまで, 種芋が不足した場合は大きい苗を使用しても増収しないことから小さい種芋を用いたほうが良いとされてきたが²³⁾, 本研究の結果によって小さい種芋の有用性が示唆された.

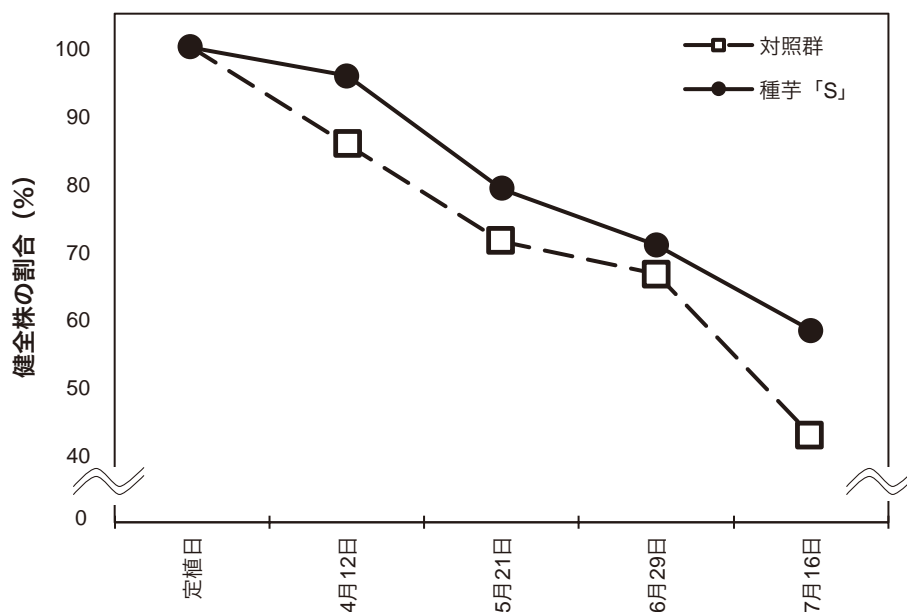


図7. 種芋重量による夏季の健全株数の推移。
 2019年12月10日～12月11日定植，病気，倒伏，枯死がみられない株を健全株として2020年夏季に健全株数を計測した。対照群：10～19 gの種芋を定植，種芋「S」：5～9 gの種芋を定植，n = 21～24，
 健全株の割合 = 健全株数 / 定植株数 × 100

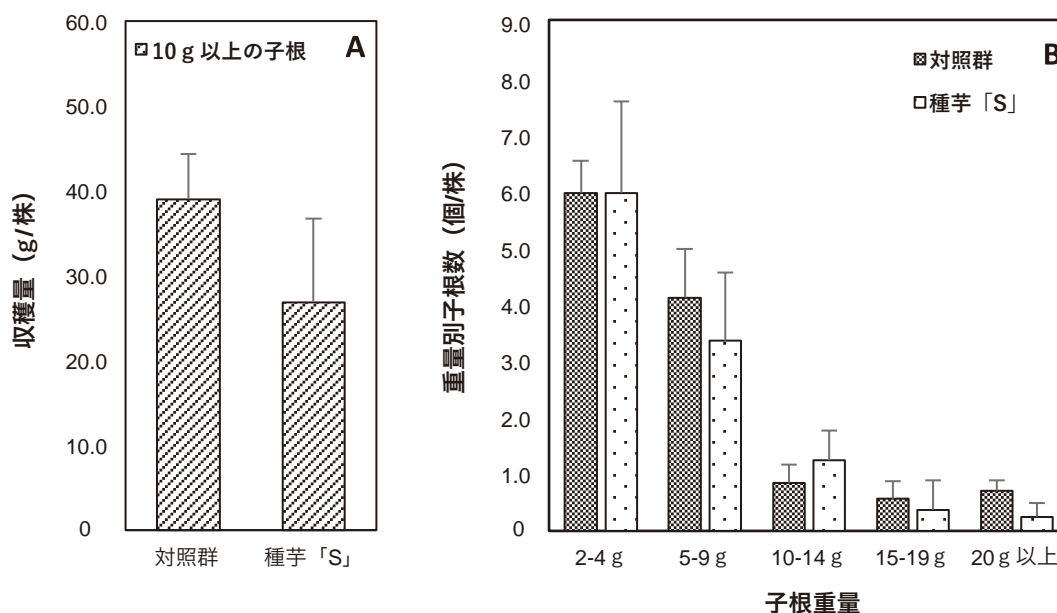


図8. 種芋重量が1株あたりの収穫量と重量別子根数に与える影響。
 A：1株あたりの収穫量，B：1株あたりの重量別子根数
 2019年12月10日～12月11日定植，2020年7月20～27日収穫，対照群：10～19 gの種芋を定植，種芋「S」：5～9 gの種芋を定植，1株あたりの収穫量は10 g以上の子根を対象とした子根重量の合計値，Mean ± S.E.，n = 7～8，全て対照群と比較して有意差なし (Studentの*t*検定)

結 論

本研究ではハナトリカブト栽培について、病害、倒伏、枯死の発生時期よりも前に収穫を行うことでこれらの被害を回避できると考え、早期収穫を検討した。高温多湿な夏季を避けた栽培方法を確立することは枯死のリスクを軽減し、また、早期時期によって栽培期間が短縮し、除草作業にかかる労力の削減や異常気象に直面するリスクの軽減に繋がる他、収穫後から定植までの期間に土壤消毒を行うことで連作障害を解決できる可能性もある。本研究では石川県で早期収穫の検討を行い、健全株数の推移を測定した。その結果、6月下旬から8月下旬までに健全株の割合が大きく低下し、特に梅雨が明けて気温が上昇する6月中旬から7月下旬に健全株数が減少することが明らかになった。次に、夏季の3時点で収穫したところ、収穫量と成分含量は8月下旬に増加が顕著であったが、7月上旬から下旬にかけての変化は僅かであることが明らかになった。最後に早期収穫に適した種芋重量の検討を行った結果、小さい種芋を使用することで夏季における健全株の割合が増加した。以上より、夏季の枯死等を防ぐ早期収穫を行うためには、5~9gの種芋を使用し、梅雨明け直後の7月上旬に収穫することが良いと考えられる。本研究の成果は石川県におけるハナトリカブト栽培の指針となるが、石川県よりも温暖な地域でより顕著に発揮されるものと考えられる。

謝 辞

本研究はJSPS 科研費 18K06730 の助成を受けたものである。

引用文献

- 1) 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
- 2) 公益財団法人日本特産農産物協会, 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, 2021
- 3) 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**(2), 89-105, 2021
- 4) 藤田苗之助, 薬用植物栽培全科, 農文協(編), 総合化学出版社, 東京, 1972
- 5) Wang W, Zhang D, Wen H, Wang Q, Peng C, Gao J, Soil fungal biodiversity and pathogen identification of rotten disease in *Aconitum carmichaelii* (Fuji) roots., PLoS ONE, **13**(10), 2018
- 6) 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
- 7) 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), 1-7, 2018
- 8) 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**(2), 55-63, 2004
- 9) 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**(7), 2018
- 10) 侯大斌, 四川農業大学学位論文, 2005
- 11) 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**(23), 5657-5664, 2018
- 12) 川口敷美, 石崎昌洋, 薬用植物トリカブトの育成種と栽培の研究, 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, **36**(1), 13-27, 2014
- 13) 岡田浩明, 川口敷美, トリカブトの栽植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**(2), 49-54, 2004.
- 14) 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)
 - 15) 厚生労働省 2021, 第十八改正日本薬局方, 2039-2040
 - 16) Ding-kun Zhang, Xue Han, Rui-yu Li, Ming Niu, Qin Dong, Ming Yang, Jia-bo Wang, Xiao-he Xiao, Investigation of the chemical markers for experiential quality evaluation of crude aconite by UHPLC-Q-TOF-MS, *J Sep Sci*, **39**(22), 4281-4289, 2016
 - 17) 謝鳳助他, 中薬原色図譜及栽培技術, 金盾出版, 中国, P188, 1995
 - 18) Ma Yu, Yu-Xia Yang, Xiao-Yan Shu, Jing Huang Da-Bin Hou, *Aconitum carmichaelii* Debeaux, cultivated as a medicinal plant in western China. *Genet Resour Crop Evol* **63**, 919-924, 2016.
 - 19) 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), 1-6, 2011
 - 20) 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 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, *薬用植物栽培*, **36**(2), 22-23, 2014
 - 21) 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**(5), 163-172, 2002
 - 22) 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**(1), 76-82, 2018
 - 23) 本間尚次郎, 南山豊, 山岸喬, 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, 1983

宮崎県におけるシソの大規模栽培法および 生薬・機能性食品資源の調査

Survey of large-scale cultivation methods of red perilla in Miyazaki Prefecture and
its investigation as crude drug and functional food resources

渥美 聡孝*・横川 貴美・曾我部果奈・瀬戸 翔也・高倉 美紅・大塚 功

九州保健福祉大学薬学部薬学科

〒882-8508 宮崎県延岡市吉野町1714-1

Toshiyuki Atsumi*, Takami Yokogawa, Kana Sogabe, Shoya Sedo, Miku Takakura, Isao Ohtsuka

School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University of Health and Welfare

1714-1 Yoshinocho, Nobeoka, Miyazaki, 882-8508, Japan.

(受付日：2021年10月8日／受理日：2021年11月18日)

要 旨

宮崎県は食用シソ(加工用)の生産量が日本一であり、大規模栽培・生産を行っている。シソは perillaldehyde (PA) や rosmarinic acid (RA) などの機能性成分を含んでおり、医薬品ソヨウや健康食品原料として活用される。近年、中国産生薬価格の高騰により、日本での生薬生産量を増加させるための取り組みとして栽培の大規模化や機械化などが求められている。我々は宮崎県で大規模に生産されるシソについて、その栽培・生産方法を調査し、生産されたシソについて生薬や機能性表示食品として転用可能か明らかにすることを目的として各種試験を実施した。

宮崎県川南町にて大規模なシソ栽培を行う生産者に聞き取り調査を行った。また、2020年に同一ほ場におけるシソを約2週間ごとに計6回収穫し、第17改正日本薬局方(JP17)ソヨウの各条における試験を実施するとともに HPLC 法にて perillaldehyde (PA) および rosmarinic acid (RA) 含量を測定した。

約20haの面積でシソを栽培するため、播種、収穫、加工調製の過程において機械の導入によって大規模化されていること、マルチの施用や追肥の種類に解決すべき問題があることが明らかとなった。当該ほ場の検体は JP17 ソヨウ各条の項目において規定内であった。PA 含量は調査期間中 JP17 の規定値を上回る値を示し、生薬資源となり得る可能性が示唆された。RA は収穫時期の後半に上昇することが明らかとなり、この時期の収穫物は健康食品への応用が可能であると考えられた。

Abstract

Miyazaki Prefecture is the highest producer of red perilla (for processing) in Japan, engaged in its large-scale cultivation. Perilla contains various functional components, including perillaldehyde (PA) and rosmarinic acid (RA). It is a source material for manufacturing crude drugs used for medicinal purposes and is also a component in healthy foods. We investigated the

methods used for the large-scale cultivation and production of red perilla in Miyazaki prefecture. To investigate the possibility of using produced red perilla as a crude drug or functional food, we conducted tests based on the Japanese Pharmacopoeia 17th edition (JP17) Perilla herb and we measured the PA and RA contents.

We interviewed a producer of large-scale red perilla in Kawaminami town, Miyazaki Prefecture. Red Perilla samples in the same field were harvested six times from May to July in 2020 and were tested in each monograph of JP17 Perilla herb, and PA and RA were measured using HPLC method.

For perilla cultivation in approximately 20 ha, agricultural machinery was used for sowing, harvesting, processing, and preparation, and there were issues to be resolved in the application of mulch and different types of fertilizer. Samples collected from the field during the study period met specifications in JP17 for Perilla herb, and their PA content was higher than the requirement specified in JP17 for Perilla herb. These results suggested that the red perilla produced in Miyazaki prefecture possesses the potential to be a crude drug source. The RA content was high in the later harvests, suggesting that these plants should be used in the manufacturing of healthy foods.

Key words: Perilla herb, Cultivation method, Large scale cultivation, Perillaldehyde, Rosmarinic acid

緒言

宮崎県は食用シソ（加工用）の生産量が日本一であり、日本全体の生産量 1,800 トンのうち 45% となる 800 トンを生産している¹⁾。さらに宮崎県内で最も生産量が多いのは川南町（78%）と高鍋町（13%）であり²⁾、これらの地域では紫紅色のシソの大規模栽培・生産を行っている。

紫紅色を呈するシソは漢方において生薬「ソヨウ」として用いられる。ソヨウは第 17 改正日本薬局方（JP17）において、シソ *Perilla frutescens* Britton var. *crispa* W. Deane (Labiatae) の葉及び枝先で、精油成分として perillaldehyde (PA) 0.08% 以上を含むと規定される³⁾。PA は抗菌作用⁴⁾ や血管拡張作用⁵⁾、抗うつ作用⁶⁾ があると報告されており、PA に由来するシソ特有のにおいが強いものほど良品とされる³⁾。ソヨウは漢方薬などの原料として年間約 100 トンが国内で使用されており、その約 8 割を中国からの輸入に依存している⁷⁾ が、中国では近年、中医薬使用量の増加、栽培従事者の減少等から原料生薬の高騰が進行している⁸⁾。そ

のためソヨウの安定的確保のためには栽培の大規模化や機械化など、日本での生産量を増加させるための取り組みが必要である。

また、シソは PA 以外にも rosmarinic acid (RA) をはじめとする各種機能性成分を含んでいる。RA は特に、花粉症の症状軽減作用⁹⁾ や記憶の精度を高める¹⁰⁾ などの効果が明らかになっており、実際にそれらの機能性表示食品が展開されている。

以上のことから我々は、宮崎県川南町および高鍋町で生産されるシソにおいて、大規模機械化栽培方法を紹介する。さらに当該地域で大規模に生産されたシソが生薬ソヨウや機能性表示食品原料として転用可能か明らかにすることを目的に、食品用収穫物に対し、JP17 ソヨウの各条に基づく試験を行うとともに、PA および RA 含量を測定した。

方法

栽培地調査

2020 年 3 月から 5 月に宮崎県児湯郡川南町の株式会社アグリトピアおすずを訪問し、シソ（アカ

ジソ)の栽培ほ場を訪問調査した。調査地では取締役専務の西村氏から直接、栽培状況、収穫状況、その他について聞き取り調査を行った。

検体の蒐集と試料採取

2020年5月13日から7月22日までの期間で、約2週間毎に宮崎県川南町内の同一ほ場(播種日:2020年3月9日)における収穫物の一部を蒐集した。蒐集した収穫物は室温にて通風乾燥させた。乾燥物は4区画に分割後、3区画から成分分析、乾燥減量、灰分、酸不溶性灰分用の試料をそれぞれ採取した。残りの1区画を用いて確認試験および純度試験を実施するとともに性状測定のため、10枚の葉を試料として採取した。本実験で使用したシソ収穫物は九州保健福祉大学薬学部薬学科生薬標本庫で保管されている。

JP17に基づくシソ乾燥物の観察および理化学試験

シソ乾燥物の形態観察では、水に浸してしわを伸ばした後、長さ・幅・葉柄を測定した。純度試験はJP17にしたがって径3mm以上の茎および異物を選別したほか、径3mm未満の茎についても選別し、選別した全体量と茎の重量からその含有率を算出した。確認試験、乾燥減量、灰分、酸不溶性灰分はJP17にしたがって実施し、確認試験における薄層クロマトグラフィーでは、TLCガラスプレートシリカゲル60F254(Merck KGaA, Darmstadt, Germany)を使用した。

PAおよびRAの定量

成分分析では、標準品としてPA(富士フィルム和光純薬株式会社、局方生薬試験用)およびRA(Sigma-Aldrich Inc.)を用い、抽出および移動相溶媒としてmethanol, acetonitrile(それぞれNacalai tesque Inc., HPLC Grade)を使用した。成分分析は、PAについてはJP17³⁾定量法の項目に、RAについてはDeguchiらの方法¹¹⁾にしたがい、測定した。HPLC機器はPAについては島津製作所のシステムコントローラー(SCL-10AVP)、ポンプ(LC-20AB)、オートサンプラー(SIL-10ADV)、カラムオープン(CTO-10AVP)、検出器(SPD-M10AVP)を、RAは島津製作所の

システムコントローラー(CBM-20A)、ポンプ(LC-20AD)、オートサンプラー(SIL-20A)、カラムオープン(CTO-20A)、検出器(SPD-M20A)をそれぞれ用いた。

Operating conditions (PA)

Column: 5C18-MS-II (4.6ID×150mm, Nacalai tesque Inc.). Column temperature: 40°C. Mobile phase: A mixture of water and acetonitrile (13:7). Flow rate: 1.0 mL per minute. Detector: An ultraviolet absorption photometer (wavelength: 230 nm for PA). Injection: 10 μL.

Operating conditions (RA)

Column: Cholestera packed column (4.6ID×150mm, Nacalai tesque Inc.). Column temperature: 40°C. Mobile phase A: 20 mM, pH 2.5 potassium phosphate buffer. Mobile phase B: acetonitrile. In isocratic mode eluent A/eluent B was 89/11, and in gradient mode the program of eluent B: 11% (0 min) → 11% (10 min) → 25% (50 min) → 45% (51 min) → 45% (56 min) → 11% (57 min) → 11% (60 min). Flow rate: 1.0 mL / min. Detector: An ultraviolet absorption photometer (wavelength: 330 nm). Injection: 5 μL.

統計解析

有意差の検定は統計解析ソフトJMP(version 13.1, SAS Institute Inc.)により、多群に対しTukey-KramerのHSD検定を用い、 $p < 0.05$ で統計的に有意とした。

結果

栽培地調査

(1) 栽培地およびほ場整備に関する内容

・アグリトピアおすずは宮崎県川南町および隣接する高鍋町内に、約20 haの管理するほ場を有し、耕うん、畝立て、播種、収穫を担う。生育期間における一般管理は土地の地権者が行っている。川南町にはアグリトピアおすずと同面積を管理する農業法人が別にあり、合わせて約60 haでシソを栽培・生産している。これらのほ場で生産されたシソは、塩もみ後に梅酢に漬けられた後、大手食品会社が買取り、赤シソを用いたふりかけの原材料

となる。

・前作はハウレンソウやダイコンなど。宮崎県川南町ではハウレンソウは冷凍食品用、ダイコンは切り干し大根としての需要が高い。シソは夏期までに収穫が終わるため、これらの野菜は冬期の作物としてよく栽培されている。

・播種作業は2月中旬～3月末までに行う。1日に可能な作業面積は約50aであり、施肥・耕うん・畝立て・マルチ張り・播種を同時に行うトラクターを用いる（図1）。播種時の基肥は発芽から初刈りまでの間に肥料効果を発揮させることを目的に投入する。

・マルチは黒色ビニルマルチを用いる。マルチを張ることで地温の上昇と水分保持効果による発芽率の向上と生育初期の雑草対策が期待できる。マルチは幅1200mm、マルチは特注品で、穴は直径約78mm、穴の間隔は株間177mm、条間208mmの4条植えである（図2）。

・マルチを張っておくのは生育初期のみであり、追肥の妨げになるため5月上旬には除去する。マルチを除去する作業は非常に作業時間を要し、経済負担が大きいと感じるが、追肥が容易になることによる作業効率や生育向上のメリットの方が大きいと考えている。

(2) 栽培管理・収穫に関する内容

・発芽後の降霜による凍霜害を避けるため、発芽のタイミングとして降霜がない時期であることを見計らって播種する。

・播種は一穴あたり十数粒（図3）。発芽後の間引きは行わない。密植状態になると赤みが弱くなるため、播種量を減らすことを検討している。しかし、播種量が少ないと欠株率が高くなる。

・播種量を少なくして植物体を大きくする方法を検討したこともあるが、播種量が多いほうが最終的な収量が多かったため、現在の方法に落ち着いた。ただし、欠株になる場所がどうしてもあるため、少量ではあるがポット育苗も同時に行っている。

・欠株を防ぐための方法として、育苗してから定植する方法もあるが、資材代や育苗する場所の確



図1. 施肥・耕うん・畝立て・マルチ張り・播種を同時に行うトラクター



図2. マルチの穴と間隔

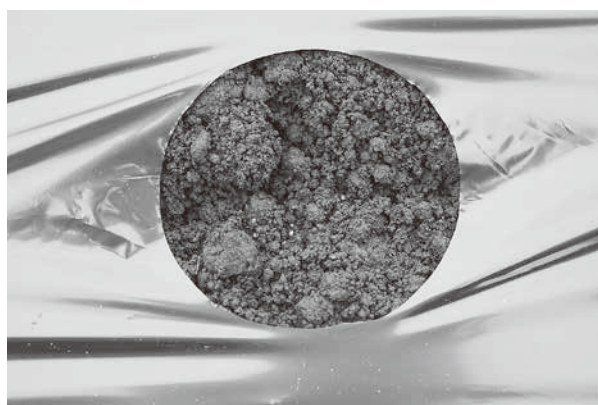


図3. 一穴あたり十数粒を播種する

保、人件費が必要になるため、直播栽培の方が効率は良い。

・水分不足は生長に著しいダメージを与えるため、梅雨あけ後に乾燥するような場合には灌水機を使用して灌水する。また、ほ場の外周は水分不足になることが多く、生育が悪い場合が多い

(図4).

・播種時期にもよるが、5月中旬頃に50cm以上の大きさになり、収穫が始まる。収穫期は乗用摘採機を用い、高さ50cmの高さで切りそろえる。摘採機には刈り取られた葉と枝先が入る10個の袋がセットされており、一袋に新鮮重で15~20kgが入る。長さ約100mの畝に対し、3~4畝で満杯(約200kg)となる(図5)。

・収穫後、肥料として硫安を追肥する。おおよそ1週間後には6cm程度伸びているので、再び刈り取る。このようにして、多いときは年に13回の刈り取り作業を行っている。

・刈り取り後の株を見ると、緑色が目立つが、枝葉が伸長すると赤色になってくる。

・硫安だけだと葉が大きくなならないような印象がある。窒素だけでなく、リンやカリウムも必要かもしれないが、現状では不明なままである。

・現在は大葉系統の赤シソを定植している。以前、様々な品種で試験を行った際、チリメンジソは4回収穫後に枯れてしまった。シソの種類によって刈り取り回数が多く収穫できる品種、できない品種があると考えている。

・収穫期に台風(強風)によって、収穫が停滞するだけでなく、風で葉が飛ばされてしまうことで生育の悪化につながる。

(3) 加工・調製

・本法人では、収穫したシソは加工食品に使用されるため、収穫後に害虫選別→水洗→塩もみ→梅酢漬けが行われる。

・害虫選別では、直径約2mの網状の回転ドラムにシソが投入される。その中ではシソが回転に伴い、何度も落下することでヨトウムシやハスモンヨトウなどの幼虫が網の下に落ちる構造になっている(図6,7)。回転ドラムには傾斜と羽がついており、水洗用ベルトコンベアの方角に進むようになっている。

・害虫選別後、ベルトコンベアによって水洗槽に進み、ジェット水流によって洗浄される(図8)。この際、洗浄された水が泡立つ。ほ場や収穫時の天候によってこの泡立ちが全く異なるが、詳細は



図4. 発芽後の様子。外周は乾燥しやすいため欠株が目立つ



図5. 乗用摘採機による収穫の様子

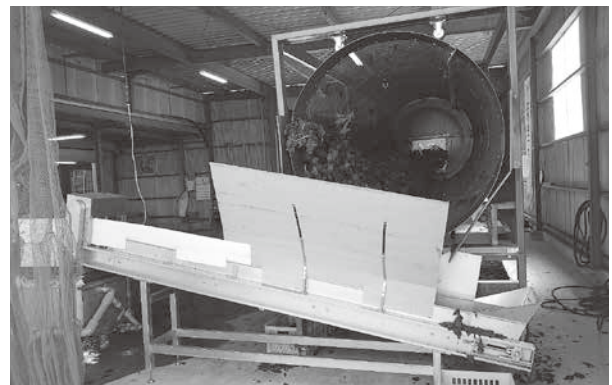


図6. 回転ドラムによる害虫選別



図7. 回転ドラム下。ここにヨトウムシなど幼虫が落ちてくる

不明である。

- ・水洗後、塩の投入、塩もみ、梅酢漬けが行われ、コンテナに封入されて出荷される（図9）。出荷量は梅酢に漬けた状態で年間約300トンである。

- ・薬用としてこの装置を使う場合は、害虫選別→水洗までの工程を行った後、乾燥作業をすることで生薬としての利用も可能と考えられるが、そのためには成分含量や性状などが日本薬局方に適合するか確認する必要がある。

(4) 害虫・雑草・農薬に関する内容

- ・本葉が出揃った頃に除草剤としてアシュラムを含有する液剤を使用している。ただし、アシュラムはシソ科には除草効果がないため、ホトケノザが繁茂する。

- ・初期生育時に雑草を抑えるために栽培管理が重要である（したがって、本法人では生育初期に限ってマルチを使用している）。

- ・ハスモンヨトウなど害虫の幼虫にはバチルス・チューリンゲンシスを用いた生物農薬（BT剤）を使用するが、幼虫期のみ効果が発揮されるため、施用するタイミングが重要である。BT剤の他にノバルロン乳剤やレピメクチン乳剤を含む農薬を使用するが、本法人では収穫の間隔が短いことから、農薬の残留を回避するため、できるだけ効果の持続期間が短いものを使用している。

- ・ほ場によって、害虫の付き方（量）が違うという実感がある。

収穫時期ごとのシソ検体の JP17 各条に基づく観察・理化学試験

生薬の性状、確認試験、純度試験（1）および（2）、乾燥減量、灰分、酸不溶性灰分について、調査した内容を表 1 に示す。性状における葉の長さ、幅はともに収穫初日の 5/13 に最大値（長さ： 9.0 ± 1.0 cm、幅： 6.7 ± 0.9 cm）を示し、長さにおいては 6/10 以降の収穫物に比べて有意に高い値を示した。葉軸の長さは調査期間を通じてほぼ一定の値を示した。純度試験において、径 3 mm 以上の茎の混入は全ての検体で見られなかったが、径 3 mm 未満の茎は収穫時期の後半に多くなった。



図 8. 水洗し、ドラムで圧をかけて脱水する



図 9. コンテナに詰め込む様子。梅酢に漬けられ、コンテナで出荷される

異物は全ての検体で見られなかった。乾燥減量は 6.5～6.9%，灰分は 9.5～11.2%，酸不溶性灰分は 0.17～0.26% であった。

収穫時期ごとの PA および RA 含量の検討

収穫時期ごとの PA 含量（%）を図 10 に示す。PA 含量は 6/10 に最大値（ $0.29 \pm 0.04\%$ ）、7/22 に最小値（ $0.12 \pm 0.02\%$ ）を示した。統計解析の結果、最大値を示した 6/10 の検体は、5/13、5/27、7/22 の検体に比べて有意に PA 含量が高いことが示された（ $p < 0.05$ ）。また、測定した全ての検体は JP17 で規定される 0.08% の値を超える含量であった。

収穫時期ごとの RA 含量（mg/g）を図 11 に示す。RA 含量は 7/22 に最大値（ 36.7 ± 2.0 mg/g）、5/13 に最小値（ 11.6 ± 1.1 mg/g）を示した。統計解析の結果、最も高い値を示した 7/22 の検体は他の収穫日に比べて有意に高い値を示したほか、2 番目に高い値を示した 7/11 の検体は 5/13～6/24 の検体に

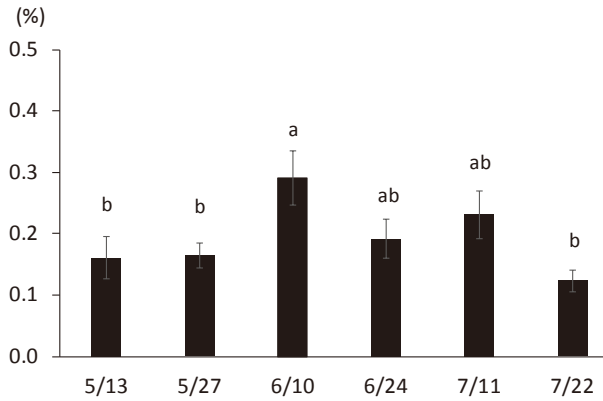


図 10. 2020年度の宮崎県川南町での栽培シソにおける収穫日毎のPA含量。カラムは $n=3$ の平均値で、カラム上部のバーは標準偏差を示す。異なる英小文字 (a, b) はそれぞれの文字間においてTukey-KramerのHSDによる有意差検定において危険率5%以下で有意な差があることを示す。

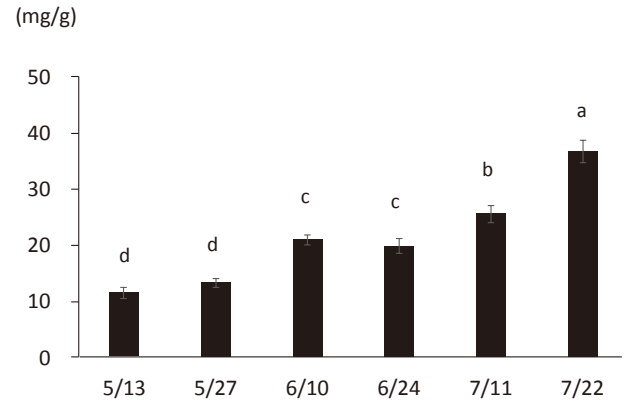


図 11. 2020年度の宮崎県川南町での栽培シソにおける収穫日毎のRA含量。カラムは $n=3$ の平均値で、カラム上部のバーは標準偏差を示す。異なる英小文字 (a, b, c, d) はそれぞれの文字間においてTukey-KramerのHSDによる有意差検定において危険率5%以下で有意な差があることを示す。

比べて有意に高い値を示した。収穫時期が後半になるにしたがって、有意に RA 含量が増加した。

考 察

栽培地調査

宮崎県川南町における大規模なシソ栽培においては、栽培面積が大きいことから、栽培・収穫・加工の効率化・自動化がなされていることが特徴的であった。播種方法について薬用シソの栽培方法に関する文献では、直播^{12,13)}とするものとセルトレイによる育苗¹⁴⁾に大別される。北海道の薬用作物栽培に関する調査報告では、シソの大規模生産者(2 ha)は3~4月にはハウスで育苗し、5~6月に植え替えをすることが示されている¹⁵⁾が、今回調査した宮崎県川南町では直播栽培であった。これは、北海道では春先に積雪があるためほ場整備が遅くなること、春先に直播をしても発芽適温に至らないことが関係しており、直播での栽培が可能であるのは、宮崎県平野部の温暖な気候が大きく関係していると考えられた。

また、今回の調査で明らかになった問題点として、初期生育後のビニルマルチの除去と追肥の最適化が挙げられる。ビニルマルチを播種から初期生育が終わるまでの間のみ使用する点については、生産者自身も「除去に作業時間を要し、経済負担が大きい」と考えながらも追肥の効率をあ

げるために除去している現状が明らかとなった。生産者自身も、初期生育が終わった後にマルチを除去しない場合の生育については未検討であるとし、今後はシソ栽培時のマルチの有無が収穫量や成分含量に与える影響について検討する必要がある。また、追肥の最適化では、生産者は硫安だけの散布では葉が大きくなれないといった印象を受けていた。初期肥料で使用する肥料の種類や追肥時の複合肥料について、生育だけでなく成分含量と合わせて検討することによって、より収穫量が多く、高品質なシソの生産方法を提示できると考えられた。

収穫時期ごとのシソ検体の JP17 各条に基づく観察・理化学試験および PA 含量

本調査によって収穫されたシソについて JP17 ソヨウにおける各条に基づいて形態学的観察、確認試験、純度試験、乾燥減量、灰分、酸不溶性灰分について試験を実施したところ、今回調査した全ての項目で JP17 ソヨウの記載に合致した。PA 含量は実験期間全体を通じて 0.08% 以上であり、JP17 の規格³⁾以上の値を示した。一方、本調査で蒐集したシソには茎の混入が見られ、特に収穫の後半に多かった。茎の精油含量は葉に比べると低いため¹⁶⁾、成分低下の一因となると考えられる。今回、茎の混入には 2 つの要因が考えられる。1.

表 1. JP17ソヨウの規格と宮崎県川南町で収穫された食用シソ収穫物の観察・試験結果

	JP17	5/13	5/27	6/10	6/24	7/11	7/22
長さ (cm)	5~12 cm	9.0 ± 1.0 ^a	6.8 ± 1.9 ^{ab}	6.2 ± 0.7 ^b	6.2 ± 1.3 ^b	6.1 ± 0.9 ^b	5.8 ± 0.5 ^b
幅 (cm)	5~8 cm	6.7 ± 0.9 ^a	5.9 ± 1.1 ^a	5.4 ± 0.3 ^a	5.5 ± 0.5 ^a	5.5 ± 0.5 ^a	5.6 ± 0.3 ^a
葉軸 (cm)	3~5 cm	3.1 ± 0.1 ^a	3.2 ± 0.2 ^a	3.1 ± 0.1 ^a	3.2 ± 0.1 ^a	3.3 ± 0.1 ^a	3.2 ± 0.1 ^a
確認試験 標準溶液との色調及びR _v 値	等しい	等しい	等しい	等しい	等しい	等しい	等しい
純度試験 (1) 径 3mm以上の茎 径 3mm未満の茎	なし (規定なし)	なし 2.2%	なし 3.2%	なし 2.2%	なし 3.4%	なし 4.1%	なし 5.4%
(2) 異物	1.0%未満	認められない	認められない	認められない	認められない	認められない	認められない
乾燥減量 (%)	13.0%以下	6.74 ± 1.21 ^a	6.63 ± 0.96 ^a	6.52 ± 0.97 ^a	6.50 ± 1.04 ^a	6.50 ± 1.16 ^a	6.94 ± 0.93 ^a
灰分 (%)	16.0%以下	9.89 ± 0.48 ^{bc}	9.46 ± 0.35 ^c	10.68 ± 0.35 ^{abc}	10.32 ± 0.20 ^{abc}	11.05 ± 0.38 ^{ab}	11.22 ± 0.45 ^a
酸不溶性灰分 (%)	2.5%以下	0.23 ± 0.11 ^a	0.17 ± 0.06 ^a	0.26 ± 0.15 ^a	0.19 ± 0.10 ^a	0.23 ± 0.07 ^a	0.20 ± 0.12 ^a

性状も項目は10検体、乾燥減量、灰分、酸不溶性灰分の項目は3検体を用い、平均値±標準偏差の値で示した。性状、乾燥減量、灰分、酸不溶性灰分はTurkey-KramerのHDS検定を行い、有意な差 (p<0.05) があるときは異なる英小文字 (a, b, c) で示している。

繰り返し収穫の際の期間が長いこと、2. 収穫時期の後半に葉が小さくなるため、相対的に茎の割合が増えることが挙げられる。特に繰り返し収穫の期間について、北海道の薬用シソ栽培では宮崎県川南町の収穫方法と同様、茶刈り機で収穫することが報告されているが、収穫回数は 20~30 回とされている¹⁵⁾。生育速度を単純に比較できないものの、宮崎県川南町では栽培期間中の収穫回数は多くて 13 回とされ、収穫の間隔が長くなることで茎の混入が多くなったことが考えられた。薬用としての応用を考えたときには、収穫回数を多くすることで茎の混入を防ぐことが可能であると考えられる。しかし、高頻度に収穫することで葉の長さ・幅・葉柄が JP17 ソヨウの性状に合致しなくなる可能性があるため、生葉生産のためには葉の大きさを考慮した収穫回数の最適化や葉の成長を促すための追肥回数や内容の検討が必要である。

収穫時期ごとの RA 含量

本調査で収穫したシソの RA 含量は、収穫時期の後半に有意な含量の増加を示し、乾燥葉 1g あたりの最高値は 35 mg 以上の含量を示した。RA は葉の生長の初期段階から蓄積されること¹¹⁾、積算光量が多くなると RA 産生が増えること¹⁷⁾が報告されている。含量が増加した 7/11 および 7/22 は日長が長く、光量が多い時期であるため、含量が増加したことが考えられた。RA は、花粉症の不快症状を軽減させる目的では 50 mg/日⁹⁾、記憶の精度を高める目的では 130.5 mg/日¹⁰⁾の摂取が必要であるが、今回最も高い RA 含量を示した 7/22 の検体であればそれぞれ約 1.5 g、約 4.0 g で充足できる量である。本調査で収穫時期の後半に蒐集したシソの RA 含量が高かったことから、健康食品への活用が可能であると考えられた。

結 論

本研究では、20 ha ものシソほ場を管理するアグリトピアおすずにて調査を行い、その大規模栽培の方法について調査した。また、この栽培方法におけるマルチの施用や追肥の種類に関する問題

点を明らかにした。さらに、当該ほ場にて収穫されるシソ検体について収穫時期毎に JP17 ソヨウ各条の試験および成分測定を実施し、今回の栽培地においては期間中の収穫物は JP17 の規格内であることを確認した。一方で、収穫物には 2.2% 以上の割合で径 3 mm 未満の茎が混入し、収穫時期の後半には葉が小さくなり茎の割合が増加していた。収穫頻度を上げることで PA 含量の減少が示唆される茎の混入を減少させることができると考えられるが、収穫頻度の向上は JP17 ソヨウの性状から逸脱する可能性もあり、本ほ場においてソヨウを生産する際には収穫の頻度や追肥を最適化する必要があると考えられた。さらに RA に着目すると、生育後期に含量が上昇することが明らかとなり、この時期のシソは健康食品への活用が可能であると考えられた。

謝 辞

シソの栽培方法について、調査にご協力頂きました株式会社アグリトピアおすずの西村佳之氏に感謝いたします。論文作成にあたり、数々のご助言を頂きました元医薬基盤健康栄養研究所 薬用植物資源研究センターの柴田敏郎博士に感謝いたします。

引用文献

- 1) 公共財団法人日本特産農産物協会：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（2019 年産），http://www.jsapa.or.jp/pdf/Acrop_Jpaper/nousakumotuchousar1.pdf, (accessed on 1 October, 2021).
- 2) e-Stat 政府統計の総合窓口，統計で見る日本，（野菜の品目別，都道府県別生産状況 品目別作付面積の主要市町村割合，しそ，2018 年）<https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&layout=datalist&toukei=00500501&tstat=000001018175&cycle=7&year=20180&month=0&tclass1=000001033588&tclass2=000001138386&tclass3val=0>, (accessed on 1 October, 2021).
- 3) 日本公定書協会編，第十七改正日本薬局方解説書，廣川書店，2016，D575-580．（現行の薬局方は第 18 改正であるが，調査実施時は第 17 改正であったので，実験や検討は第 17 改正日本薬局方に基づいて行っている）。
- 4) Sato K, Krist S, Buchbauer G. Antimicrobial effect of trans-cinnamaldehyde, (-)-perillaldehyde, (-)-citronellal, citral, eugenol and carvacrol on airborne microbes using an airwasher. *Biol Pharm Bull*, **29**(11), 2292–2294 (2006).
- 5) Takagi S, Goto H, Shimada Y, Nakagomi K, Sadakane Y, Hatanaka Y, Terasawa K. Vasodilative effect of perillaldehyde on isolated rat aorta. *Phytomedicine*, **12**(5), 333–337 (2005).
- 6) Ito N, Nagai T, Oikawa T, Yamada H, Hanawa T, Antidepressant-like effect of *l*-perillaldehyde in stress-induced depression like model mice through regulation of the olfactory nervous system. *Evid Based Complement Altern Med*, 512697 (2011).
- 7) 山本豊，笠原良二，平雅代ほか．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**(2), 89-105 (2021)．
- 8) 川原信夫．今後の日本における薬用植物の国内栽培化に関する展望．特産種苗，**16**, 1-2 (2013)．
- 9) Takano H, Osakabe N, Sanbongi C, Yanagisawa R, Inoue K, Yasuda A, Natsume M, Baba S, Ichiishi E, Yoshikawa T. Extract of *Perilla frutescens* enriched for rosmarinic acid, a polyphenolic phytochemical, inhibits seasonal allergic

- rhinoconjunctivitis in humans, *Exp Biol Med*, **229** (3), 247-254 (2004).
- 10) Paul H Falcone, Aaron C Tribby, Roxanne M Vogel, Jordan M Joy, Jordan R Moon, Chantelle A Slayton, Micah M Henigman, Joanne A Lasrado, Brandon J Lewis, Brenda A Fonseca, Kristin M Nieman, Kelli A Herrlinger. Efficacy of a nootropic spearmint extract on reactive agility: a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel trial, *J Int Soc Sports Nutr*, **15**(1):58. (2018).
 - 11) Deguchi Y., Ito M. Rosmarinic acid in *Perilla frutescens* and perilla herb analyzed by HPLC. *J Nat Med*, **74**(2), 341-352 (2020).
 - 12) 厚生省薬務局, 薬用植物 栽培と品質評価 Part 3. 薬事日報社, 東京, pp 34-42. (1994).
 - 13) 佐竹元吉, 飯田修, 川原信夫, 新しい薬用植物栽培法—採収・生薬調製 第2版, 廣川書店, 東京, pp161-163. (2002).
 - 14) 薬用作物産地支援協議会 (2020) 薬用作物栽培の手引き (4). 東京, 日本, pp 65-85.
 - 15) 石田奈菜, 北海道における薬用作物栽培の特徴, 地理学論集, **93**(1), 1-7.
 - 16) Shao P., Hong T., He J., Sun P. Analysis of essential oils from leaves and stems of *Perilla frutescens* sampling season and its drying methods. *Zhongguo Shipin Xuebao*, **12**(9), 216-221 (2012).
 - 17) Shiga T., Shoji K., Shimada H., Hashida S., Goto F., Yoshihara T. Effect of light quality on rosmarinic acid content and antioxidant activity of sweet basil, *Ocimum basilicum* L. *Plant Biotechnology*, **26**(2), 255-259 (2009).

チョウセンゴミシの栽培方法

Cultivation of *Schizandra chinensis* Baillon

御影 雅幸

東京農業大学農学部生物資源開発学科薬用資源学研究室

〒243-0034 神奈川県厚木市船子1737

Masayuki MIKAGE

Laboratory of Medicinal Plant Resources, Department of Bioresource Development,

Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture.

1737, Funako, Atsugi, Kanagawa, 243-0034 Japan

(受付日：2021年11月28日／受理日：2021年12月2日)

はじめに

マツブサ科のチョウセンゴミシ *Schizandra chinensis* Baillon の果実は、古来漢方生薬「五味子」として利用され、中国東部、朝鮮半島、ロシア東部のほか、日本にも本州中部地方以北に分布している。筆者が1970年代後半から80年代にかけて大韓民国を調査した際、全羅北道長水郡長溪里で五味子栽培に取り組んでおられる陸東基氏を訪問し調査する機会を得た。陸氏は1973年から栽培研究を始め、5年後にその成果を冊子（韓国語）にまとめられた。当時、富山大学和漢薬研究所に留学されていて帰国後忠南大学校薬学大学教授として活躍された裴基煥氏が、日本滞在中にその内容を日本語に訳してくださった。筆者は本書や陸氏から教わった内容に従い、1978年から福井県三方郡の茶葉製造業者のT氏の協力を得て五味子の試験栽培を開始した。その後、長野県茅野市内においても同様に栽培実験し、いずれにおいても陸氏の情報が正しいことが確認でき、その内容は貴重であると判断し、訳者の承諾を得てここに栽培生産に関する部分を抜粋要約して紹介することにした。同時に、日本における福井県及び長野県での試験栽培結果を簡単に報告する。なお、韓国では生薬名・原植物名ともに「五味子」である。ここでは原文通りに記した。

I. 新技術による五味子栽培法（陸昌洙・陸東基 共著，癸丑文化社，1977．裴基煥日本語訳）

1. 序（栽培前に知っておくべきこと）

著者らが現在研究を行っている所は、韓国の小白山脈中南部に位置する徳裕山と智異山との中間地帯で、野生の五味子が国内で最も多く生産される地域であり、本研究に適した条件を有している土地である。

徳裕山一帯の五味子生産量を調査してみると、1971年度に乾燥品で200袋、1972年160袋、1973年120袋、1976年は50袋程度で、年々減少している。

生産量がこのように減少していくばかりではなく、その品質も極端に低下している。その原因を調査してみると、未熟な果実を採取していることや、五味子自生地の管理が悪いことなどが挙げられる。

仲買人が生の五味子を買付ける場合には、乾燥品に換算して計算している。その例として、7月に採集した生五味子は10斤を1斤に、8月採集品は7斤を1斤に、9月採集品は5斤を1斤に、10月採集の完熟品では3斤を1斤に、それぞれ換算して買い入れしているが、1970年以前にはこうしたことは殆どなかった。

こうした状況が続けば数年後には野生五味子の

採集はほぼ不可能になり、野生品は絶滅の危機に直面するであろう。このあたりの村人たちでもこのことに気付いている人たちは同様に感じている。特に、韓国産五味子はその品質が世界的に優秀で、国外でも脚光を浴び、輸出品としてその前途が大きく期待される。にもかかわらず、五味子の開発が進んでいないことはどうしてであろうか。そこには多くの問題点がある。

- ・移植が難しいこと。
- ・結実が難しくて落果が多いこと。
- ・挿し木が難しいこと。
- ・実生も発芽が遅いので途中で放棄したこと。

著者らは上記のいくつかの問題点を重要研究課題として数カ所に研究圃場を設置し、多角的に検討しながら以下に示す根本的な問題点の解決を行うことにした。

- ・五味子の生理・生態的分析研究。
- ・蔓性木本植物の特徴研究。
- ・他の蔓性木本同属植物との比較研究。
- ・五味子生育地の環境研究。
- ・五味子の生理学的特性研究。

筆者らは事前に五味子の本質を知る必要があると考え、上記の事項を先決問題として細かな部分にまで関心を置いて研究した。その結果、所期の目的を達成することができ、五味子の実栽培における一大革新となった。

農家の所得事業としては勿論、営利の点でも良くなったと考える。また、この植物は山地を開発して栽培することも可能で、高冷地帯まで栽培可能であるので、既存の農地を利用する必要はないことも利点である。

五味子栽培は以前考えられていたように難しいものでは決してないことを付言しておく。同時に、自然保護にも積極的に協力する必要があることを強調したい。

2. 五味子の特性

- ・強い香りを有する（葉、茎、根、実など）。
- ・味は主に酸味（葉、茎、根、実など）。
- ・茎は自ら立ち上がることができないので、他のものに左巻きで成長する。

- ・茎は地上部と地下部（地下茎）にある。
- ・芽は冬芽と夏芽の2種がある。
- ・茎にはコルク組織が発達し、緻密かつ柔らかい。
- ・根はヒゲ根状で柔らかく、長く伸ばさず、寿命は短い。
- ・根は横にのみ伸び、2~3年ごとに更新される。
- ・成長速度は早い（1日5cm程度）。
- ・刺激に敏感である。
- ・障害を受けるとその部分はすぐ枯れる。
- ・神経質で独自性が強く、他物に覆われることを嫌うなど、周辺の植物や環境の影響を受けやすい。
- ・浅根性で好気性である。
- ・茎で繁殖させる際は地下茎による（根茎挿し、取り木）。

3. 五味子が好むこと

- 1) 巻きついて立ち上がるための支持体が必要である。
 - ・茎が軟弱であるので自立することができず、他物に巻きついて上がる。
 - ・カボチャのように地面に這って伸びるのではなく、巻きつくための支持体が必要である。
- 2) 適当な保湿環境
 - ・好気性植物であるので根が土に深く入らず、地下3cm内外で横に伸びるので乾燥しやすい。
 - ・落ち葉または堆肥などで根を覆っておけば乾燥時にも若干の湿度が確保される。
 - ・特に落ち葉には10余種のバクテリアがいる。土を柔らかくして酸素をも供給してくれるので、成長と落ち葉には密接な関係があることを強調したい。
 - ・被せてはいけない落ち葉もある。クルミの葉、茎、実の殻などには生育を抑制する物質 juglone が含まれ、生育を抑制する。
- 3) 豊富な有機質肥料を好む
 - ・多肥性植物であるが特に有機質肥料を好む。とは云え化学肥料が全く不要ということではない。
 - ・実験的に、定植2年目の苗に複合肥料を1合/株与えたが、障害は起きなかった。

- ・ P, K, Mg, B などを与えるのは更に効果的である。

4. 五味子が嫌うこと

1) 強風 (実を結ぶ植物の共通点)

五味子は茎が弱いので影響を受けやすい。自然の生育状況を見ても明らかで、溪谷でなければ結実が悪く、同じ溪谷でも強風が通る場所では結実が悪い。このような場所でも防風林が強風を防いでくれるような環境では結実が良い。

2) 強光

強い光が当たる場所に生える五味子を7~8月に調査すると葉の先が枯れており、日射障害を受けている現象が見られる。これにより落果し収量が落ちる。

3) 強圧 (根を踏まれること)

- ・ 好気性植物であるので周囲を踏まれることで酸素の供給が抑制され、生育・結実に大きな支障が生じる。
- ・ このことは生姜の栽培法と共通している。
- ・ 即ち、踏めば根及び生育に影響がある。

5. 五味子栽培における新たな発見

- ・ 根は2~3年ごとに更新される。即ち、古い根はなくなり、新しい根が伸びる。
- ・ 土の中の茎 (地下茎) で繁殖する
- ・ 地上茎を挿し木しても活着しないが、地下茎は可能である (根茎挿し)。
- ・ 好気性で刺激に敏感
- ・ 根は横にのみ伸びることはもとより、根先は若干地上方向に向いている。

6. 五味子の総合評価

五味子を総合評価すると、他の蔓性木本植物及び一般植物と比べて、軟弱で神経質的であると思われる。

7. 栽培適地

- ・ 気候：自然分布から推察すると海拔 500~800m の間が最適地である。但し、500m以下あるいは 800m以上でも生産できるが良い成長は望め

ない。即ち、高冷地帯に適する植物で、強風、強光を嫌う半陰性植物であり、溪谷が適している。

- ・ 土質：排水が良好な肥沃な腐植質土、壤土、砂壤土などがよく、粘土が多い通気性の悪い場所は避けるのが良い。腐植質が多い砂壤土が最も適しているが、様々な場所で栽培してみた結果、排水がよければ粘土質を除く各種土壌で栽培可能である。

8. 繁殖方法

1) 挿し木法

挿し木に関してはこれまでに、埋蔵法、芽挿し、硫黄処理など一般的な方法を毎年試みたが活着率が極めて悪かった。よって、五味子の挿し木については諦めかけていたが、ある日五味子の栽培実験圃場を管理していた際に、地下茎が多く伸びている株があり、それを除去しようかと思ったが考え直してこの地下茎で最後にもう一度挿し木 (根茎挿し) を試みたことが成功の鍵となった。

繁殖枝 (地下茎)：地上に伸ばす茎ではなくタケのように地下に伸びるものをいう。この茎は地下のみならず地上部にも変則的に伸びる (ストロン)。繁殖枝は根元に近い場所から出るのが特徴で、挿し木、取り木などが可能である。挿し木法ではこの繁殖枝を使用する。なお、植え付けた子株は2~3年成長すると結実枝を出すようになる。

結実枝 (地上茎)：一般の蔓性植物のごとく地上部に伸びて実を結ぶ茎をいう。この茎は挿し木も取り木も難しい。挿し木の成功率は1/100、取り木の場合は2年後に根を出す。

①挿し穂の採取 (図1)

- ・ 刺激に敏感であるから芽に傷がつかないようにする。地下茎を引っ張って抜くことは避けるべきである。
- ・ 現場で長さ1m程度を採取。
- ・ 採取した地下茎はビニル袋に入れて運ぶ。
- ・ 涼しい所で苔をかぶせておけば4~5日間ほど保管可能である。

②挿し穂の選択

- ・ 地下あるいは地上に伸びる前年生茎など充実

したものを選ぶ。

- ・先端部の 40～50 cmは弱いので使用しない。
- ・地上、地下茎にかかわらず芽が丈夫なものを選ぶ。
- ・芽と芽の間（節間）が短いほど良い。

③挿し穂の調整

- ・挿し穂の長さは 20～30 cmにする。
- ・節の下から 1 cmの所で 45° に切断し、また反対側は 15° に切断し、木質部が少し切断されるようにする。

④挿し木の時期

- ・季節：年 2 回。
- ・春 3～4 月，秋 10 月。

⑤挿し木の方法

- ・地上茎：芽が一つくらい見えるようにして他の部分は地下に埋める。
- ・地下茎：少し斜めにして深さ 2 cm以内で全体を埋める。

⑥挿し床

- ・清潔な土。
- ・挿し木後は落ち葉やワラで覆う。

⑦薬品処理

- ・特に必要はない。
- ・IAA（インドール酢酸），IBA（インドール酪酸），NAA（ナフタレン酢酸），ルートンなど，ホルモン剤を使用する際には説明書をよく読

んで使用すること。

⑧その他

- ・地上茎の場合：発芽抑制物質を除去するため，水に 24 時間以上浸した後に挿し木する。
- ・地下茎の場合：調整後すぐに挿し木する。
- ・刺激物質の使用を一切禁じる。

⑨挿し木後の手入れ

- ・灌水：挿し木後は十分に灌水をする。その後は地表面が乾燥しない程度に灌水する。
- ・遮光：6 割程度の遮光が適している。発根後は徐々に遮光を弱くし（4 割程度），9 月以降は遮光しない。
- ・その他：その他の管理は他の一般植物と同じで良い。

2) 取り木法

- ・前年生の茎を用いる。
- ・時期：5～6 月，または休眠芽が活動を始める春。
- ・方法：普通法，盛土法ほか種々の方法があるが，波状法が最も良い。
- ・発根：繁殖枝はその年の 9 月，結実枝では翌年の 6～7 月。

3) 実生法

- 採取した果実を陰乾した後，11 月初旬頃に乾燥した砂と混ぜて土中に埋める。
- ・場所：日当たりが良い所に 60 cm位の深さまで掘って，砂と混ぜた果実を埋める（一般の方法

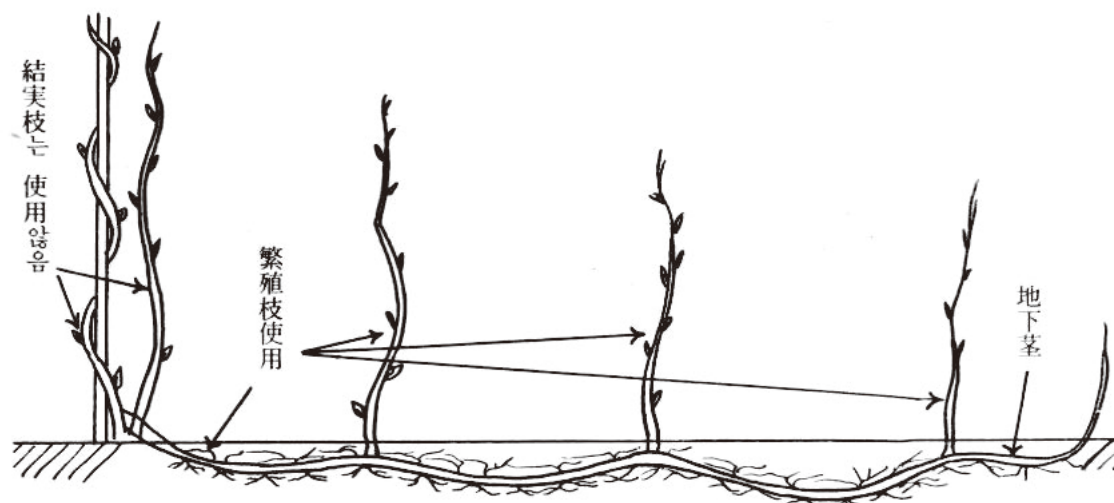


図 1. 挿し穂の取り方

と同様)。

- ・洗種：果実を4月初旬に掘り出して綺麗な水で洗い、果肉の部分及び不純物を完全に除去する。
- ・播種：よく整地した播種床に種子の大きさの約2.5倍の深さに埋め、柔らかい落ち葉を被せる。
- ・灌水：週に1回程度、播種床が乾燥しない程度に行う。
- ・発芽：7月初旬～中旬頃から始まる。
- ・生育：遅れて発芽した株も当年中に60～70cm程度に伸び、側枝も多く発生する。9月初めに複雑な枝のみ除去する。
- ・施肥管理：一般の薬草栽培法に準ずれば良いが、施肥を継続すると冬に生育枝の先が枯死するので、8月以降の施肥は禁ずる。

9. 移植

1) 予備知識

- ・五味子の根は土中深くにまで伸びず、地下茎を中心に両側に小さい根が出て15cm以内で伸びる。地下茎の長さは5～6mに達するものもある。
- ・根は軟弱であるので、引っ張るなど少しの力を加えることで傷が生じる。
- ・根端は糸状で、空気に触れたり日照下では乾燥しやすい。即ち、外界に対する抵抗力が弱い。
- ・地下茎は遠くまで(長く)伸びるので全体を移植することは困難で、適当に切って移植(根茎挿し)することになる。

2) 移植方法

- ・地下茎を採取する際は親株から延びた1～2本について長さ60cm程度に切断して数本を採る。
- ・挿木苗はそのまま掘り取って移植する。
- ・実生苗は多くの側枝が出てくるので1～2本を残して余分なものは切って取り去る。
- ・取り木したものは茎1本を中心に40～50cm程度に切断して数本に分ける。
- ・掘り取った株は根が乾燥しないように注意する。
- ・遠方に移動する際には苔で根をすっぽり覆う

などし、苗が大量ですぐに移植できない場合は仮植するか、ビニルや簞を被せて根の乾燥を防ぐ。

- ・苗はすぐに植え付けることが原則であるが、長時間を要する場合は仮植えする。
- ・移植後はスコップなどで軽く押さえて灌水し、根と土が密着するようにする。足で強く踏むことは根を傷つけるので避ける。
- ・灌水後は落ち葉や堆肥を地面が見えないくらいに被せる。
- ・植え付ける深さは4～5cmとし、細かくした土を浅くかぶせる。
- ・深植えすると活着が悪い。浅根性で好気性植物であるからである。
- ・移植は曇天で風がない日が良い。根の乾燥を防げるからで、移植株の取り扱いが成否を左右する。

以上のようにすれば活着率はほぼ100%である。

10. 圃場への定植

- ・畝立てする必要はない。畑の全体を深耕し、植え付ける深さは3cm程度の浅植えとし、植え付けの際には地下部を広げるようにする。60cm間隔で2列植えし、180cmの間隔を開けて同様に植え付ける。1アールあたり125本。定植時期は春3～4月と秋10月が適している。
- ・五味子は蔓性木本植物であるので支柱が必要である。寿命が長い植物であるので支柱はコンクリート製が適している(図2)。高さ100cm程度が適切である。1例として、300坪あたり170



図2. 五味子栽培棚(長溪里にて、1984年9月下旬)

本を立て、鉄線（16番）を概ね30cm間隔で縦横に張り巡らす。

11. 管理

- ・定植後は適宜除草するが、施肥時を含め、根の上を踏まないように注意する。五味子は多肥性植物である。化学肥料としてはリン酸カリまたは複合肥料などを使用し、窒素系肥料は液肥として散布するのが効果的である。施肥は3～4月と10～11月に行い、直接根に触れないよう地上にばら撒きし軽く覆土するのが良い。
- ・乾燥する時期（当該地では5～6月）は地面に落ち葉や堆肥を被せて乾燥を防ぐ。五味子は乾燥も過湿も嫌う。浅根性植物であるので特に注意が必要である。

12. 落果の原因と防止策

1) 土壌要因

酸性土（pH5～6以下）を好まず、中性土が適している。排水性と通気性が悪い土壌や赤土など肥料分が少ない土壌も落果の原因となる。

2) 養分の欠乏

- ・Mgの欠乏：最初の頃は気付かなかったが、Mgが不足すると着果した半分以上が大きくならず自然落果した。症状は6月下旬頃から現れ、葉には濃い黄褐色の斑点が生じる。

対策として、開花後の2～3週間に苦土石灰を地面に撒いた。また2～3年に一回、10aあたりMg5～6kg、生石灰20kgを撒いた。

- ・B（boron）の欠乏：開花しても結実が悪く、結実しても数が少なく、半分以上が落果する。葉には黄褐色の斑点が生じ、特に葉脈の発達が悪くて葉の萎縮も見られる。症状は6月中、下旬頃から現れる。

対策として、5月初めにBoron及び生石灰液を地面に撒いた。また2～3年に1回、10aあたりBoron4～5kg、生石灰10～20kgを撒いた。施肥は春を原則とするが、秋でも良い。

3) 環境（気象）要因

- ・7～8月に雨が多くて土壌湿度が高いとき。
- ・日射が強い場所あるいは陰地。

- ・強風

以上の対策として、溪谷を選んで定植する、風が強い場所では防風林を植える、陰地は周辺の木を切る、過湿な場所は排水溝を掘るなどする。

13. 剪枝方法

- ・結実習性：一般の蔓性植物は大概当年生の新梢に結実するが、五味子は前年生茎に実を結ぶ習性がある。8月頃に例外的に開花することもあるが結実はしない。ブドウのように剪枝すれば良いと考える人もいるが、ブドウは当年生新梢に結実する習性があるので、五味子の場合にはブドウのような剪定をしてはいけない。
- ・初心者場合は、複雑な枝や枯れた枝を除去し、また不要な繁殖枝を除去することを優先的に実施する程度にする。芽の状態と茎の発達または肥大生育状況を判断して弱い枝を除去し、充実した茎を残しながら複雑で込み入る状態を避ける程度に剪枝する。
- ・五味子は節毎に結実するので、管理を良くすれば野生株とは比較にならないほど多数の実を結ぶ。数年経って老木化した際にはブドウのように強剪定して若い枝に置き換え、常に活気ある樹勢を維持するよう剪枝する。
- ・剪枝する際には常に次年度以降を考慮して予備枝を残すように実施する。この枝は毎年の豊産をもたらす資産となる。
- ・その他、夏になると無数の繁殖枝が発生するので、切って樹勢を維持し、結実をよくする。

14. 病虫害の防止

5年間の栽培実験を通して観察した結果、五味子は比較的病虫害に強い植物である。但し、刺激には敏感であるので、どのような農薬でも継続使用することや指定された濃度を超えることは良くない。

1) 病害

さび病、褐斑病、うどんこ病、根腐れ病などが発生することがある。必要であればボルドー液や硫黄合剤100倍液などを適宜使用する。

2) 虫害

カイガラムシやアブラムシなどの害虫がつくことがある。必要に応じて農薬を使用する。

15. 収穫

定植後、成長が良いものは2年目から結実するが、除去することを原則とする。本格的な収穫は3年目からであるが、木が成熟して多くの実をつけるのは5年目からである(図3)。

1) 収穫の時期

7月から紅熟し始め、9月初めから10月までが成熟期である。五味子にも中生、晩生があるので、紅熟の状況を見て収穫するのが良い。但し、未成熟品は薬効もなく重量も少ない。

2) 収穫時の気象

晴れた日を選び、朝露がなくなり実から湿気が完全に除去された時に収穫すると良質品が得られる。

3) 収穫量

収量は気候、土質、管理方法などの条件により左右される。刺激に敏感であるため、管理が良くないと失敗する。五味子の性質を活かして管理すれば、これほどよく成長する植物もない。

著者らが徳裕山及び智異山一帯の野生品を歩いて調査した結果、1株に32個の実がついていたのが最高であった。通常は10個、良いもので15~16個程度である。

栽培株では最高で1株につき62個がついた。栽培により野生品に比して4~5倍の収穫を上げられる。

16. 乾燥

採取した実は薄く広げて陰干しする(図4)。雨に濡れないよう注意する。乾燥した五味子は若干黒色を帯びるが色はより鮮明になり、独特な香りが発生する。

17. 保管

乾燥した五味子は紙袋または布袋に入れ、風通しの良い場所で保管する。湿気があるとカビが発生するので、常に観察点検する。

(以上)



図3. 収穫時期の栽培五味子
(長溪里にて. 1984年9月下旬)

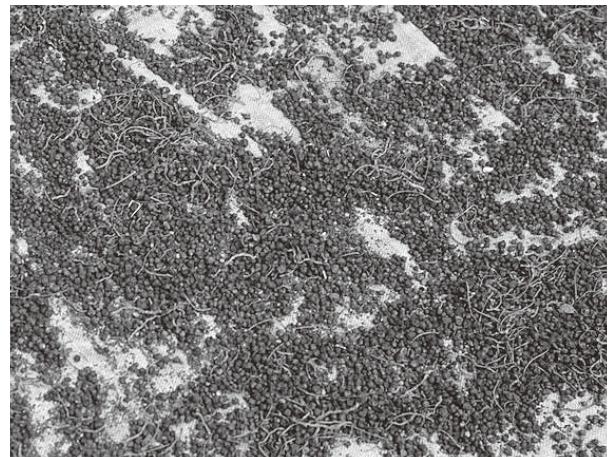


図4. 五味子の乾燥(長溪里にて. 1984年9月下旬)

II. 福井県及び長野県における栽培実験

1. 実験植物及び結果: 1978年9月下旬に、陸東基氏からの教授内容に従って長野県茅野市郊外の山地に自生するチョウセンゴミシの地下走 Out 茎を採取し、福井県三方郡三方町の畑地に植えつけた。現地は海岸に近い凹地で、強い風が直接当たらない地形である。株数は把握していないが、ほぼ全株活着した(図5)。試験的に根茎を長さ30cm, 40cm, 100cmとした結果、長さ40cmのものが次年度の成長が最も良かった。また、長さ30cmの根茎をロングポットに縦に植え付けた結果、活着しなかった。圃場株は以後順調に育ち、T氏によれば病気が発生して県の農業試験所に相談に行ったそうであるが枯死株はなく、1980年5月には多数が開花し、以後毎年開花結実した(図6, 7)。



図 5. 福井県下で根茎挿しを行った苗の翌年春の芽生え。(三方町にて、1979年5月初旬)



図 7. 福井県下での結実状況。(三方町にて、1982年9月)



図 6. 福井県下での栽培 4 年目の状況。(三方町にて、1982年8月中旬)



図 8. 長野県下における栽培の様子(茅野市内にて、1990年6月下旬)

数年後に T 氏が健康を害された時点で栽培実験を終了した。その後、茅野市内の民家の畑地で同様の実験を行い、同様に良好な結果を得た(図 8, 9)。茅野市の栽培者の話では栽培は容易であるとの評価であった。日本での栽培における結実状況は韓国の栽培畑と同様であった。

Ⅲ. まとめ

1. チョウセンゴミシは親株の移植は困難であるが、地下茎を切って移植すると容易に活着することが日本国内における試験栽培でも確認できた。その後の開花、結実などに関する生育状況も陸氏の報告と概ね一致した。根茎挿しによる増殖は、取り木法や実生法よりも簡便で効率的であると評価できる。



図 9. 長野県下における結実状況(茅野市内にて、1989年10月中旬)

2. 栽培株の方が野生株よりも大型の房が結実し、果実の収量もはるかに多いことが日本での試験栽培でも確認できた。
3. チョウセンゴミシは全国各地の薬用植物園で栽培され、開花結実している。現在、日本では生薬としての生産は行われていないが、本稿で紹介したように韓国では各地で生産され、市場には中国産と区別して出回っている（図 10）。陸氏も書かれているように、チョウセンゴミシは比較的栽培容易な作物であると評価でき、原植物は日本にも自生しており、今後日本での五味子の栽培生産も可能であると考えられ、陸氏の実験情報はたいへん参考になるものと思われる。

謝 辞

韓国における調査に便宜を図っていただいた慶熙大学校薬学大学の陸昌洙教授（当時）、現地で種々ご教示いただいた陸東基氏、日本語訳とともに今回の発表を快諾していただいた忠南大学校薬学大学元教授の裴基煥氏、並びに日本で栽培実験に協力していただいた諸氏に深謝する。



図 10. 韓国産五味子（ソウル薬令市にて、2013年3月）

ウイルス感染症のパンデミックと国民生活

— 食によるコロナ対策の科学的エビデンス —

水上 元

コロナ禍の1年半は「オーバーシュート」や「ロックダウン」に始まる耳慣れない外来語とならんで、かって勉強した免疫学の用語が身の回りにあふれる年月でもあった。ワクチンとの関連で最近の頻出ワードは「中和抗体」であろうか。記憶免疫、細胞性免疫、キラー T 細胞などなど、最近ではヘルパー T 細胞まで解説しているニュース（ショー）番組もあった。

もう 30 年近く前のことであるが、私は長崎大学から名古屋市立大学薬学部の薬草園に赴任した。当時の名市大の生薬学講座では荻原幸夫先生が漢方薬の煎じ液を病態動物に経口投与してその効果を解析するという方法論で研究を進められていた。私は、新しい知識（なにせ、当時流行のアポトーシスとネクローシスといった言葉さえ知らなかった）が得られるのと何よりも荻原先生の辛口のコメントを楽しみに研究室のセミナーに出席させてもらっていた。ある日のセミナーで大学院生の大変興味深い研究報告を聞くことができた。漢方薬の煎じ液の代わりに野菜（厚労省が摂取を推奨していた1日分の野菜で構成されていた）の熱水抽出液（すなわち野菜スープ）からエタノール沈殿によって調製した多糖体画分をマウスに経口投与し、その個体のマクロファージを採取して調べたところ、マクロファージが有意に活性化していた（いささか記憶があやしいが、NO 産生能か何かを調べたのだと思う）というものである。彼はこれまでに、色々な漢方薬の煎じ液から調製した多糖体画分が漢方薬の種類にかかわらず同じようなマクロファージ活性化能を持つ（程度の差はあったと思うが）ことを明らかにしていたので、マクロファージ活性化（とそれを通じての免疫力の増強）作用は薬用・食用という枠を超えて、要するに植物の多糖体が共通に持つ働きなのだというので、とても印象的だった。

本書の著者である林利光博士は、富山大学薬学部の生薬学講座で植物や藻類由来の多糖体の免疫増強作用を主としてインフルエンザウイルス感染症をターゲットに研究されてきた。本書でも紹介されているが、九条ネギの水溶性多糖を投与したマウスにインフルエンザウイルスを感染させると、肺と気道でのウイルスの増殖が抑えられ、中和抗体レベルが増加したという研究成果は社会的な反響を呼んだので読者の中には記憶されている方がおられるかもしれない。

本書は、新型コロナウイルス感染症の蔓延という状況下にあって、著者のこれまでの研究成果に基づいてあらためて食による自然治癒力を高めることの重要性を提起するために出版されたものである。全体で8章（プラス序章、あとがき、用語解説、参考資料）からなっているが、大きく言って4つの部分で構成されている。第1の部分は感染症の歴史から始まり新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）の特性とそれによる感染症（COVID-19）についての解説（第1章から第3章）、第2の部分は免疫システムの全体像とその中での自然治癒力の役割（第4章と第5章）、第3の部分は少し趣が変わって東洋医学や薬と食の関係について（第6章と第7章）、そして最後の部分が著者の専門である食物由来の多糖体のウイルス感染症に対する効果に対する解説（第8章）、ということになるかと思う。前半の2つの部分（ウイルス感染症と免疫学）は、毎週のように出版されている類書（日販の運営する「ホンヤクラブ」のサイトで検索すると書名に「コロナ」を含む書物は816件、「コロナウイルス」を含む書物は108件がヒットした）と重複する部分が多いが、約60ページという紙幅の中でコロナウイルス感染症のAからZまでが分かりやすくかつコンパクトにまとめられているので、全体を把握するのに便利である。しかし、本書のクライマックスは著者の研究成果を中心に解説されている最後の部分（第8章）である。ここでは、植物や藻類由来の食材に広く含まれる難消化性多糖（いわゆる食物繊維）が、その化学構造の多様性を超えてウイルス感染症予防効果を持つことが様々

なデータとともに示されているとともに、そのメカニズムが丁寧に解説されている。私には、インフルエンザワクチン接種による抗体価の上昇が「めかぶ」のフコイダンを摂食した高齢者では大きくなることを示したデータが特に興味深かった。このような食物による自然治癒力の上昇はウイルスの種類や変異型によって影響を受けない。本書はコロナウイルス感染症の予防にかかわる様々な議論で欠落している部分をおぎない、我々に新しい視点を提供してくれよう。



四六判, 128 頁 . 2021.
本の泉社. ¥1,000 + 税.
ISBN 978-4-7807-1991-8

「薬用植物研究」発行につきまして、下記の企業から協賛ならびに賛助会員によるご支援を賜りました。厚くお礼申し上げます。

————— 協賛寄付 —————
株式会社常盤植物化学研究所
株式会社前川総合研究所
宏輝株式会社
小林製薬株式会社
西田精麦株式会社

————— 協賛広告 —————
株式会社枋本天海堂

————— 賛助会員 —————
株式会社ツムラ

「薬用植物研究」では協賛・賛助会員を常時募集しています。

(アイウエオ順)

薬用植物栽培研究会第3回研究総会（佐賀大会）

令和3年（2021年）12月4日（土）オンライン開催

特別講演

チベット東部の薬用植物，特に大黄の基原植物について

ウサイエン製薬株式会社

野中 源一郎

大黄は「神農本草経」の下品に収載され、瀉下剤としてのみならず、駆瘀血、消炎、利胆、鎮痛、健胃、抗菌などを目的として多くの漢方方剤に配合される。大黄の基原植物である *Rheum* 属植物は温帯、熱帯に約 50 種が知られ、特に、中国大陸に多い。これらの内、中国で薬用とされる大黄の基原植物は掌葉大黄 *R. palmatum*、唐古特大黄 *R. tanguticum*、薬大黄 *R. officinale* とされているが、この属のものは容易に自然交雑しやすいため雑種も多い。中国の成書によれば、黄河上流域の甘肅省、青海省および四川省北部には掌葉大黄、唐古特大黄が、四川省南部、雲南省北部、貴州省、湖北省には薬大黄が生育するとされている。また、これらは産地の違いによりそれぞれ北大黄と南大黄と称される。一方、生薬として的大黄は、北大黄を基原植物とするものは重質で円錐形の西寧大黄（錦紋大黄）、涼州大黄、河州大黄や軽質、長形をした詮水大黄などの名称があり、また、南大黄は軽質の雅黄や馬蹄大黄などといった産地、集積地あるいは形状により様々な名称が付けられている。さらに、中国各地や香港では薬用として錦紋 A 級、B 級、長条、長吉、小吉、根黄など極めて多様な市場名があり基原植物が不明な点が多い。なお、日本薬局方では基原植物を上記 3 種の大黄の他に朝鮮大黄 *R. coreanum* またはこれらの種間雑種と規定している。

演者は 1998 年～2019 年、計 16 回、雲南省昆明市を起点として雲南、四川、青海省およびチベット自治区（一部）における薬用植物の資源調査の一環として、これらの地域における野生大黄の分布と生育状況の調査を行った。その結果、掌葉大黄は四川省中西部、唐古特大黄は四川省西北部、青海省およびチベット自治区、薬大黄は雲南省北部および四川省南部のいずれも海拔 3800～5200m の高地に分布していることが明らかになった。また、我国に輸入される大黄の多くは四川省雅安市で集積される雅黄とされていることから基原植物は掌葉大黄であることを確認した。また、唐古特大黄は地理的および交通の状況から青海省西寧市、薬大黄は雲南省昆明市で集荷されると考えられる。

その他、本講演ではチベット東部でみられる芍薬（川芍薬）、麻黄、甘草、雪蓮花、紅景天、丹参、冬虫夏草など多くの薬用植物について紹介する。

希少伝統植物ムラサキの研究と社会実装

九州栄養福祉大学 前佐賀大学農学部

渡邊 啓一

ムラサキ (*Lithospermum erythrorhizon*) の根 (紫根) は、シコニンと呼ばれるナフトキノン誘導体を合成し、古来より薬用、草木染の原料として用いられ、近年は化粧品原料としても需要が伸びている。ムラサキは多年生草本で、日本、中国、朝鮮半島に分布し、日本各地の山地草原に自生していたが、近年、野生種が激減し、環境省レッドブックで絶滅危惧種 IB に指定されている。本講演では、ムラサキ野生種の保存と栽培・利用を目的として、私たちが行ってきた野生種の分布状況調査、分子生物学的・生化学的な多様性と特性の解析、栽培法検討、地域活性化活動等について紹介する。

北九州市平尾台に生育しているムラサキ野生種は、2021年5月1日に条例により、指定希少野生動物植物種に指定された。許可を得て採取した平尾台野生株と長野県原産栽培株の rRNA 遺伝子 ITS1 領域の塩基配列は、登録されている *L. erythrorhizon* の配列と完全に一致した。一方、セイヨウムラサキ (*L. officinale*) とイヌムラサキ (*L. arvense*) と比較すると、一塩基多型、挿入、欠失により、それぞれとの同一性は、97.3%と 84.5%であった。したがって、ITS1 領域の配列によってムラサキ種の同定は可能であった。

次に、既報のリファレンス配列をもとに、長野県原産栽培株について全ゲノムの再シーケンシング解析を実施した結果、1,809,473 箇所に一塩基多型 (SNP) を、288,110 箇所挿入/欠失 (In/Del) を検出した。このうち、36,170 箇所の SNP、2,394 箇所の In/Del が遺伝子にコードされるタンパク質の構造に多様性をもたらし、生物個体差に関連することが示唆された。このほか、38,284 箇所に構造多型が検出され、海外株と長野県原産栽培株とではゲノム DNA に相当な差異があることが判明した。今後、平尾台や他地域の野生株についても再シーケンシング解析を実施し、在来種の判別に有用な分子マーカーの開発を行う。また、在来種の遺伝的多様性と特性 (形態や品質・生産性) との相関を明らかにしていくことで、優良品種の分子育種に役立つ知見を得ていく予定である。

第3回研究総会プログラム

一般講演〈口頭発表〉

1. 栽植密度の制御を目的としたセンブリ播種技術の開発
五十嵐元子¹, 由井秀紀², 菱田敦之^{1,3} (¹ 医薬健栄研・薬植セ, ² 長野野菜花き試佐久, ³ 東農大・農)
2. 国産キハダの栽培推進と優良な県産製品の拡大に向けた奈良県研究分野統合本部の挑戦
立本行江, 首藤明子, 林田平馬 (奈良県産業振興総合センター)
3. インテルメディアマオウ栽培において異なる施肥条件が光合成速度に及ぼす影響
野口航¹, 徳田晴香¹, 金田ひなた¹, 御影雅幸², 三宅克典¹ (¹ 東京薬科大学, ² 東京農業大学)
4. 短期栽培も踏まえた奈良県内で伐採したキハダ中のベルベリン型アルカロイド類含量
西原正和 (奈良県薬事研究センター)
5. 二回収穫による *Ephedra sinica* の資源活用について
梅本知輝, 工藤喜福, 安藤広和, 金田あい, 佐々木陽平 (金沢大院医薬保)
6. 新鮮な植物の凍結乾燥粉末を用いた緑茶カテキンの酸化
安松美保¹, 廣谷真優¹, 松尾洋介², 齋藤義紀², 田中 陸² (¹ 長崎大薬, ² 長崎大院医歯薬)
7. 大和芍薬産地再生プロジェクト：森野旧薬園からの挑戦
善利佑記¹, 高橋京子^{1,2}, 川嶋浩樹³, 関浩一⁴, 矢野孝喜³, 高浦佳代子⁵, 後藤一寿³, 森野壽子¹
(¹ 森野旧薬園, ² 大阪大学総合学術博物館, ³ 農研機構, ⁴ つくば牡丹園, ⁵ 近畿大学)

招待講演 ー佐賀の産学官研究プロジェクトー

1. 佐賀県が推進する「コスメティック構想」
北村志帆 (佐賀県コスメティック構想推進室)
2. バイオマス産業都市さが ～佐賀市二酸化炭素分離回収事業～
内藤正行 (佐賀市企画調整部バイオマス産業推進課)
3. オプティムのスマート農業への取り組み
星野祐輝 (株式会社オプティム ビジネス統括本部 農業事業部)

第3回研究総会についてのお問い合わせ

佐賀大学農学部 石丸幹二
〒840-8502 佐賀市本庄1
Tel : 0952-28-8753 e-mail : kanji@cc.saga-u.ac.jp

一般講演〈ポスターセッション〉

1. キキョウのサポニン含量の季節的変動
田中優花¹, 中尾祐士¹, 尾崎和男¹, 松田昂樹¹, ○芝野真喜雄¹, 飯田修² (¹大阪医科薬科大学薬学部, ²公益社団法人東京生薬協会)
2. 収穫前における直前施肥がジャノヒゲの根の膨大に及ぼす影響
○古平栄一¹, 松田みなみ¹, 尾崎和男², 芝野真喜雄² (¹北里大学薬学部, ²大阪医科薬科大学薬学部)
3. 挿し木条件の違いがカギカズラの発根に及ぼす影響
伊藤哲男¹, 三井友宏², 小林泰子² (¹有限会社イトウグリーン, ²三重県農業研究所)
4. カギカズラの枝へのエチレン処理による落葉効果
三井友宏¹, 岩島誠², 小林泰子¹ (¹三重県農業研究所, ²鈴鹿医療科学大学)
5. 農業機械の転用によるカギカズラの枝の切断および選別作業の省力化効果
小林泰子, 三井友宏 (三重県農業研究所)
6. 施肥条件がムラサキ根のテトラテルペノイド代謝系にもたらす影響
岡田貴裕¹, 松本雄一², 末岡昭宣³, 藤田浩基⁴, 渡邊啓一⁵ (¹佐賀大学医学部, ²佐賀大学農学部, ³高知県立牧野植物園, ⁴新日本製薬, ⁵九州栄養福祉大学)
7. キキョウの種子生産とその発芽特性について
○尾崎和男¹, 太田己翔², 西尾基之², 芝野真喜雄¹ (¹大阪医科薬科大学 薬学部, ²武田薬品・京都薬用植物園)
8. 抽出可能なフラボノイドを豊富に含む佐賀県産農作物の探索とその抽出物を利用した化粧品素材の合成
西村知花¹, 龍溪英里佳^{1, 2}, 松本雄一¹, 川口真一^{1, 2} (¹佐賀大学農学部附属アグリ創生教育研究センター, ²佐賀大学大学院先進健康科学研究科)
9. 肥効調節型被覆尿素を用いたトウキ施肥法の開発
○林茂樹¹, 五十嵐元子¹, 安食菜穂子¹, 横井直人², 由井秀紀³, 白石豊⁴, 永井賢治⁴, 川原信夫^{1, 5}, 菱田敦之^{1, 6} (¹医薬健康研・薬植セ, ²秋田農試, ³長野野菜花き試佐久, ⁴愛媛農林水産研, ⁵牧野植物園, ⁶東農大・農)
10. 国内薬用植物園が保存するケイガイ遺伝資源の系統評価
深田祐輔¹, 大場伸哉² (¹京都薬科大学 薬用植物園, ²岐阜大学 応用生物科学部)
11. オリーブ果実の成熟と成分
○石野華, 西七海, 中山愛望, 荒添愛梨佳, 古藤田信博, 石丸幹二 (佐賀大学農学部)

12. ウスギモクセイ成分の季節変動
○廣橋つづみ, 福田沙和, 古藤田信博, 石丸幹二 (佐賀大学農学部)
13. 秋田県におけるキキョウ移植栽培技術の開発 ～発芽条件と育苗方法の検討～
○横井直人¹, 林茂樹², 五十嵐元子², 菱田敦之^{2,3} (¹秋田農試, ²医薬健栄研・薬植セ, ³東農大・農)
14. キクイモ塊茎の収穫時期の違いによる塊茎中の亜鉛および総ポリフェノール含量の挙動
○駒場あすか¹, 松本雄一^{1,2} (¹佐賀大学大学院農学研究科, ²佐賀大学農学部附属アグリ創生教育研究センター)
15. *Ephedra sinica* 草質茎の形態及び糖類含量の季節変動について
○工藤喜福, 梅本知輝, 安藤広和, 金田あい, 佐々木陽平 (金沢大院医薬保)
16. 山梔子の基原及び品質に関する研究 種子島内自生クチナシのゲニポシド含量の調査
○河上恵梨子¹, 安食菜穂子², 韓立坤¹, 高橋隆二¹, 林茂樹², 川原信夫^{2,3} (¹クラシエ製薬, ²医薬健栄研・薬植セ, ³牧野植物園)
17. 寒冷地におけるハトムギ‘北のはと’栽培に適した栽培法の検討 –最適な栽植密度について–
乾貴幸¹, 五十嵐元子¹, 林茂樹¹, 菱田敦之^{1,2}, (¹医薬健栄研・薬植セ, ²東農大・農)
18. 国産マオウのアルカロイド含量及び含有比率の年次変化に関する解析
北村雅史¹, 横川貴美¹, 騎馬由佳¹, 安藤広和², 金田あい², 倪斯然³, 野村行宏³, 佐々木陽平², 御影雅幸³ (¹城西大薬, ²金沢大薬, ³東京農大農)
19. カノコソウ栽培における高畝と土壤消毒が生育に及ぼす影響
由井秀紀¹, 菱田敦之^{2,3} (¹長野野菜花き試佐久, ²医薬健栄研・薬植セ, ³東農大・農)
20. 施肥量と土壤水分含量に対するハトムギの初期生育の品種間差異
酒井康平, 松嶋賢一 (東京農業大学農学部)
21. 京都薬用植物園におけるムラサキの生育に及ぼす遮光率および遮光期間の影響
小島正明¹, 芝野真喜雄², 古平栄一³, 野崎香樹¹, 安藤匡哉¹, 西尾基之¹ (¹武田薬品・京都薬用植物園, ²大阪医薬大, ³北里大・薬)
22. 塩水を用いた比重選別および乾燥がヒロハセネガ種子の発芽率に及ぼす影響
米田健一 (奈良県農業研究開発センター)
23. 国産麻黄のアルカロイド組成に関する解析
安藤広和¹, 梅本知輝¹, 工藤喜福¹, 北村雅史², 金田あい¹, 倪斯然³, 野村行宏³, 佐々木陽平¹, 御影雅幸³ (¹金沢大薬, ²城西大薬, ³東京農大農)

チヨウセンゴミシ (本文64~72頁掲載)



五味子栽培棚 (長溪里にて)



収穫時期の栽培五味子 (長溪里にて)



五味子の乾燥 (長溪里にて)



福井県下で根茎挿しを行った苗の翌年春の芽生え。(三方町にて)



福井県下での栽培4年目の状況。(三方町にて)



福井県下での結実状況。(三方町にて)



長野県下における栽培の様子 (茅野市内にて)



長野県下における結実状況 (茅野市内にて)



韓国産五味子 (ソウル薬令市にて)

第3回 研究総会（佐賀大学）

野生のムラサキ



北九州市

Rheum tanguticum



四川西北部（甘牧—徳格，海拔 4500m）

川芍薬 *Paeonia veitchii*



四川省（巴塘—白玉，3400m）

Rheum officinale



雲南省三台（3800m，栽培）

Ephedra likiangensis



麗江麻黄（雲南省玉龍雪山）

Rheum palmatum



郷城—理塘（海拔 4000m）

Glycyrrhiza yunnaensis



雲南甘草（雲南省麗江）

大雪山（海拔 4600m）