

成分であるジアントロン類のセンノシド類 (Sennosides) について根茎と根での局在を比較した。芍薬には鎮痛・鎮痙、抗炎症、活血作用などが報告されており、その作用成分として、Paeoniflorin、Albiflorin、Paeonol、Catechin などが報告されている。そこで本研究ではこれら 4 化合物の根における組織内分布を解析した。

本手法は、免疫染色と異なり、抗体、蛍光物質を用いることなく標的成分群を可視化することができる。一枚の切片 (数十マイクロン) から複数成分の局在を明らかにできることも他の可視化技術と一線を画す。

B. 研究方法

1. ダイオウ

平成24年度に報告した根茎のイメージングMSでは、Sennosidesが髓の異常維管束部位に集中していた。そこで、材料として山梨県富士吉田市昭和大学薬用植物園から平成24年5月17日に入手したダイオウ (*R. palmatum*) を用い、根茎を維管束部位と髓 (異常維管束を含む) に分けて、液体クロマトグラフィー (HPLC) により Sennoside A 及び Sennoside B を定量し、イメージングMSデータと比較した。イメージングMSデータは、画像解析ソフト (Image J) を用いて2値化後、単位面積当たりの強度を算出した。イメージングMSによる分析方法は平成24年度の報告書参照。

HPLCによる定量方法は次のとおり：

標準品 Sennoside A 及び Sennoside B (Wako Pure Chem. Inc.)

測定条件 装置：Shimazu HPLC システム (Pump: LC-20AD, Gradient unit: CBM-20A, Auto sampler: SIL-20AC, Detector: SPD-M20A Diode array detector, Column oven: CTO-20AC) ; カラム：Cosmodil ODS-AQ, 250×4.6 mm, i. d., s-5 μm ; 移動相： A : アセトニトリル、B : 0.1%トリフルオロ酢酸水溶液。

HPLC 条件：0-50 min, 8-27% A、50-62 min, 27-33% A、62-70 min, 33-45% A、70-75 min, 45-84% A、75-90 min, 100% A; for wash、90-120 min, 100-8% A; for initial stabilization。注入量：20 μL ; 流速：0.8 ml/min ; カラム温度：45°C ; 検出波長：232 nm。

データ処理プログラム：LC-Solution。

試料溶液の調製 切断した根茎を粉碎し、得られた粉末300 mgを正確に量り取り、遠心チューブに入れ、100% エタノール10 mlを加えて、15分間超音波抽出を行った。遠心分離した (10 min、4000 rpm) 後、上澄み液を分取した。以上の抽出操作をさらに2回 (10 ml、10 ml) 繰り返した後、全上澄み液を合せて溶媒を減圧留去して、乾燥エキスとした。乾燥エキスをHPLC用MeOH・H₂O (8:1) に溶解し、10 mlにメスアップした。そのうち約1 mlをDISMIC-13 HP disposable syringe filter 0.2 μm で濾過してHPLC用バイアルに入れ、分析用の試料とした。これらについて、絶対検量線法で2成分を定量した。

2. シャクヤク

シャクヤク (*P. lactiflora* Pallas) の園芸品種「エジュリスパーバ」(富山県薬用植物指導センターから平成25年7月30日に入手、栽培6年目) の根を凍結したものから、クライオミクロトームにより厚さ20 μmの試料切片を作製した。切片を導電性透明電極であるITO (酸化インジウム・スズ) スライドガラス上に載せ、イオン化支援剤 [2,5-ジヒドロキシン安息香酸 (DHB)] を切片表面にスプレーした。質量分析装置としてマトリックス支援レーザー脱離イオン化型 (MALDI) 飛行時間 (TOF) 質量分析装置を用い、Pentagalloylglucose (PGG) はネガティブモードで、その他のAlbiflorin、Paeoniflorin、Paeonol、Catechinはポジティブモードで、各ポイントに1,000ショットパルスレーザーを照射しイオン化して測定した。画像解像度となるレーザー照射間隔は100 μm。

C. 研究結果

1. ダイオウのセンノシド類の局在解析

イメージングMSデータ (n=2) により、ダイオウ根茎の維管束部位と髄部 (異常維管束部位) におけるセンノシド類 (Sennosides A, B) の強度比は 1 : 2.5 であった。HPLC 分析の結果は、維管束部位での含量が 0.32 mg/g (Sennoside A: 0.14 mg/g、Sennoside B: 0.18 mg/g)、髄部 (異常維管束部位) での含量が 0.59 mg/g (Sennoside A: 0.13 mg/g、Sennoside B: 0.46 mg/g) であった。存在比において、イメージングMSとHPLC分析の結果がほぼ一致した。イメージングMSから視覚的に得られた情報、すなわち、異常維管束にセンノシド類が局在していることと、維管束部位との局在比率の正しさが、センノシド類の定量結果から支持された。

ダイオウの根に関して再度、センノシド類の局在を解析したところ、周皮や皮層から師部付近に局在している事が分かった (図2)。

根茎部における髄の異常維管束は地上部の茎とは連結しておらず、根茎部から直接出ている葉の維管束に連結している。高解像度イメージングMSにより局在部が師管であろうと考えられることから考察すると、この部位に存在するセンノシド類は、根茎から出ている葉の芽で産生されていることが仮説の域ではあるが考察される。

2. シャクヤク

Albiflorin、Paeoniflorin (Mw: 480.163 : $C_{23}H_{28}O_{11}$)、Paeonol (Mw: 166.063 : $C_9H_{10}O_3$)、Catechin (Mw: 290.079 : $C_{15}H_{14}O_6$) の他、PGG (MW: 940.118 : $C_{41}H_{32}O_{26}$) を新たに標的とし質量分析イメージングを行った。イオン化支援剤としてDHBを用い、ポジティブモード (PGGはネガティブモード) で分析した。AlbiflorinとPaeoniflorinは組成式が同じであるため、質量から両者を識別するのは困難であるが、Albiflorinでは m/z 197のフラグメントイオンが生じることが昨年わかっているため、プロトン付加体である m/z 481と m/z 197のイメージング像を比較した。

その結果、シャクヤクの品種「梵天」では周皮下の皮層から師部付近で m/z 481と m/z 197の局在が一致していたため、これを Albiflorinの局在と考えた (図3a)。「エジュリスパーバ」では m/z 197の局在は「梵天」と同様であったが、 m/z 481でイメージングすると、木部にも多少存在が確認できる。今後の実験が必要であるが、木部の m/z 481の物質はPaeoniflorinである可能性がある。

Paeonolではプロトン化分子 $[M+H]^+$ (m/z 167) が検出され、周皮下の皮層に局在していた (図3b)。また、Catechineでもプロトン化分子 $[M+H]^+$ (m/z 291) が検出され、全体に局在が見られるが特に皮層に多く存在していた (図3c)。本年は新たに、PGGの検出に成功した。PGGの脱プロトン化分子 $[M-H]^-$ (m/z 939) でイメージングした結果、「梵天」、「エジュリスパーバ」共に、根の全体に存在するが、特に木部に局在を確認した (図3d)。

以上のように、標品のイオン化を確認できた質量シグナルに着目することにより、シャクヤクの根の横断切片において、Albiflorin、Paeonol、Catechin及びPGGのMSイメージングを行うことができた。

D. 考察

AlbiflorinやCatechinが周皮下の皮層から師部付近に存在していることが明らかになり、シャクヤクの新鮮根を加工調製する際、竹べらで皮取り加工をすることにより、これら2成分の含量が減少するというHPLC分析の結果とよく一致した。HPLC分析の結果では、Paeonolは「エジュリスパーバ」に検出され、「梵天」には検出されなかった。しかし、今回のMSイメージングでは梵天1では少ないものの、梵天2では明らかに皮層に局在が観察された。Paeonol含量の皮取り加工による減少については現在検討中である。

今回はPGGの局在も明らかにすることができ、特に木部に局在することが分かった。PGGは湯通し加工により含量が増えることが分かっており、今後この現象をMSイメージングで捉えることも可能であろう。このよう

に、イメージングMSはシャクヤクの加工調製法を決める際、有益な知見を与えることが分かる。なお、Paeoniflorinの組織内分布については、同一質量を分離識別できるイオンモビリティ質量分析を駆使することで達成できると考えている。今後の検討課題である。

E. 結論

ダイオウの根茎に含有されるセンノシド類について、維管束部位と髄（異常維管束部位）における存在比が、イメージングMS像から得られる結果とHPLC分析の結果で一致したことから、MSイメージングによる視覚データに、定量的な信頼性を付与する事ができた。根では周皮や皮層から師部にかけて局在が見られた。

芍薬の機能性成分であるAlbiflorin、Catechin及びPaeonolはシャクヤクの根の皮層周辺に豊富に存在し、PGGは根全体で特

に木部に多いことが明らかになった。質量解析において、同一の組成式をもつ化合物（AlbiflorinとPaeoniflorin）である場合、フラグメントイオンを解析することにより化合物を特定し、そのイメージング像を取ることができるとを再度確認した。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 越村佳奈、平修、朱姝、植松宏平、片野肇、小松かつ子：生薬原料(大黄)の2次代謝物のイメージング質量分析による局在解析. 第14回日本食品工学年次大会(2014.8.8-9, つくば).

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

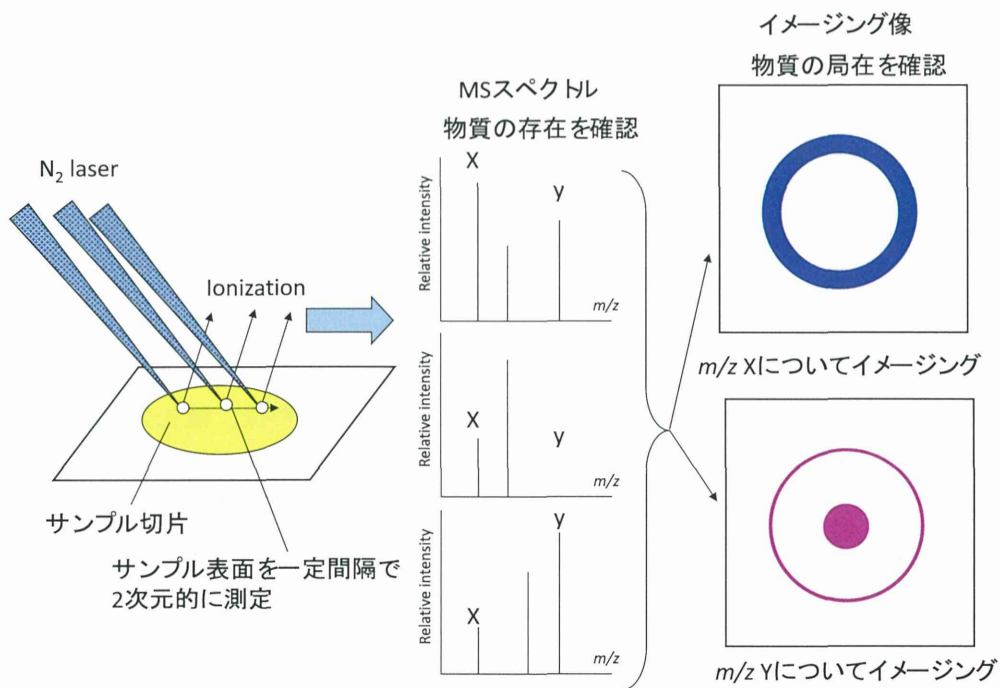


図1 イメージング質量分析の原理

切片上を2次的にMS測定後、注目したいシグナルに対してイメージすることで注目成分の2次的局在を示すことができる。

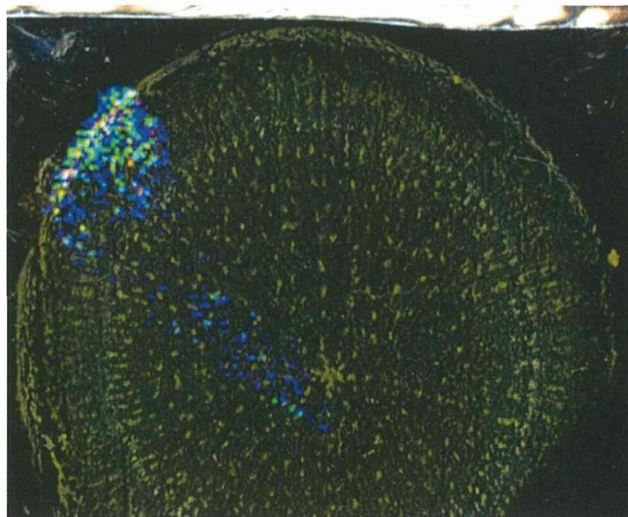


図2 ダイオウの根の切片のイメージング質量分析像と重ね合わせ像—Sennosides A, B
ダイオウについて、Sennosides A, Bの脱プロトン体 m/z 861でイメージングした。
イオン化支援剤としてCHCAを使用。

Albiflorin (Me: 480.1632) [M+H]⁺

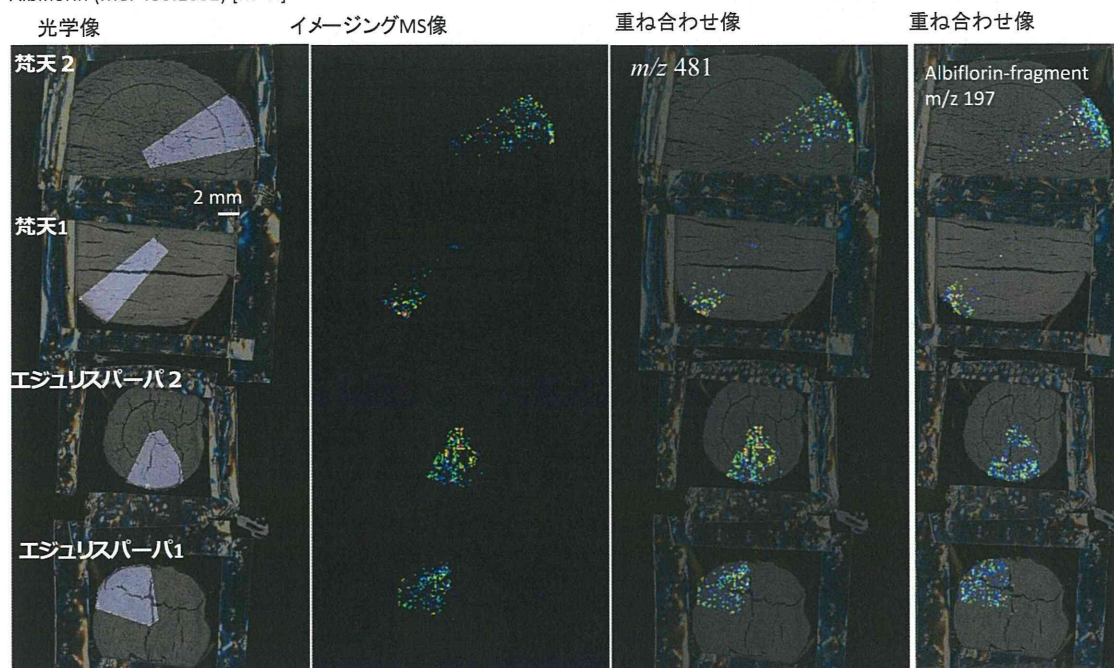


図 3a シャクヤクの根の切片のイメージング質量分析像と重ね合わせ像—Albiflorin

シャクヤクの品種「梵天」1,2及び「エジュリスパーバ」1,2について、Albiflorinのプロトン付加体 m/z 481及びフラグメントイオン m/z 197でイメージングした。イオン化支援剤としてDHBを使用。

Paeonol (Me: 166.0630) [M+H]⁺

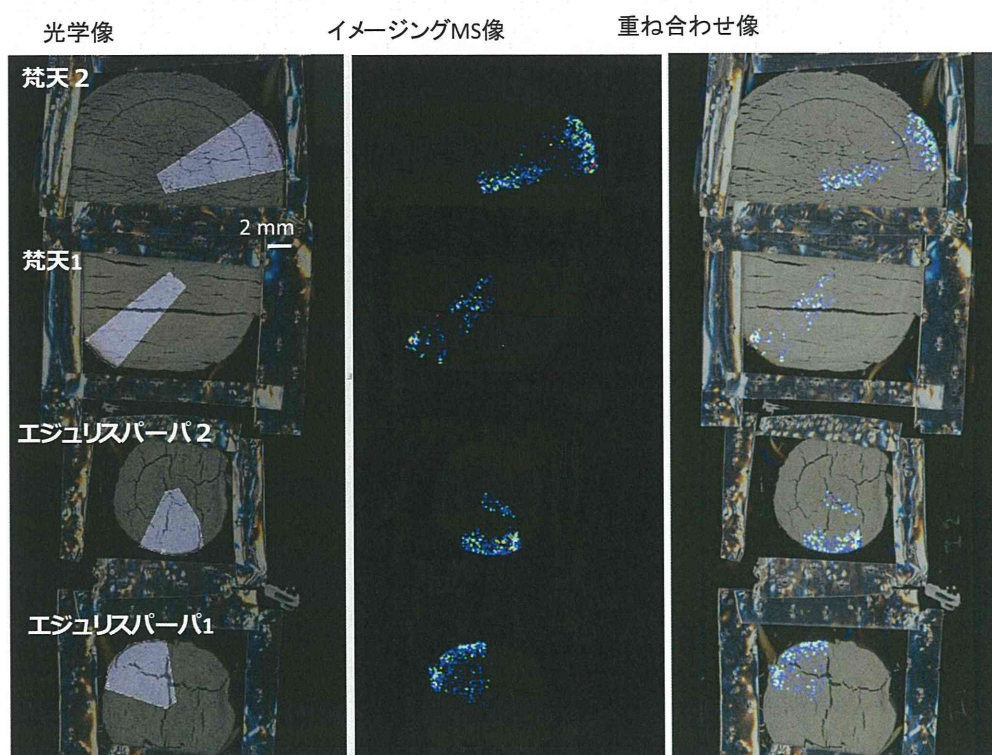


図3b シャクヤクの根の切片のイメージング質量分析像と重ね合わせ像-Paeonol
シャクヤクの品種「梵天」1,2及び「エジュリスパーバ」1,2について、Paeonolのプロトン付加体 m/z 167でイメージングした。

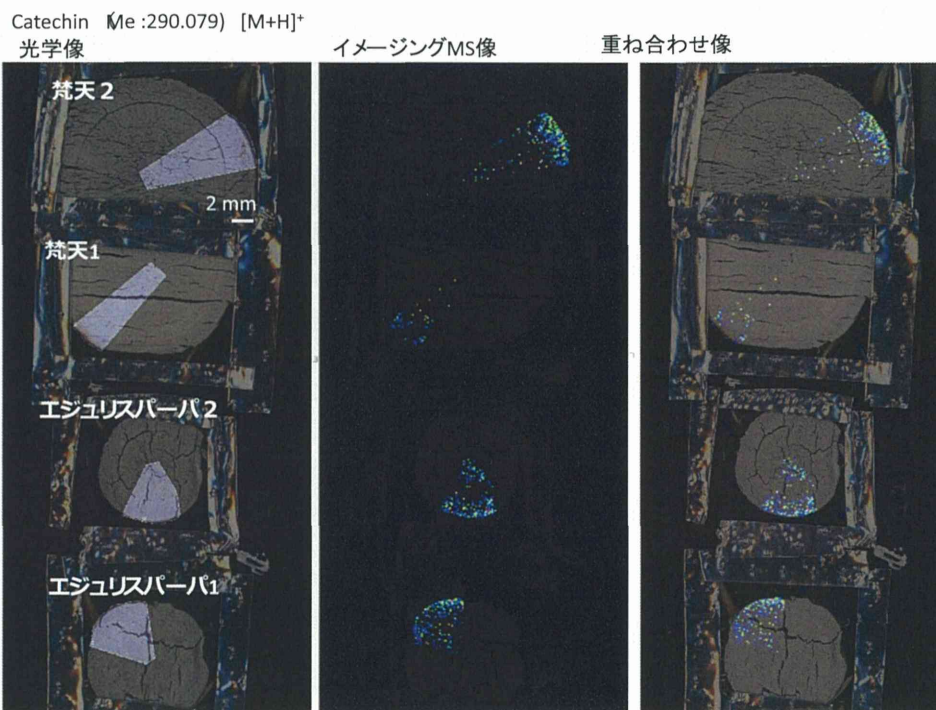


図3c シャクヤクの根の切片のイメージング質量分析像と重ね合わせ像-Catechin
 シャクヤクの品種「梵天」1,2及び「エジュリスパーバ」1,2について、Catechinのプロトン
 付加体 m/z 291でイメージングした。

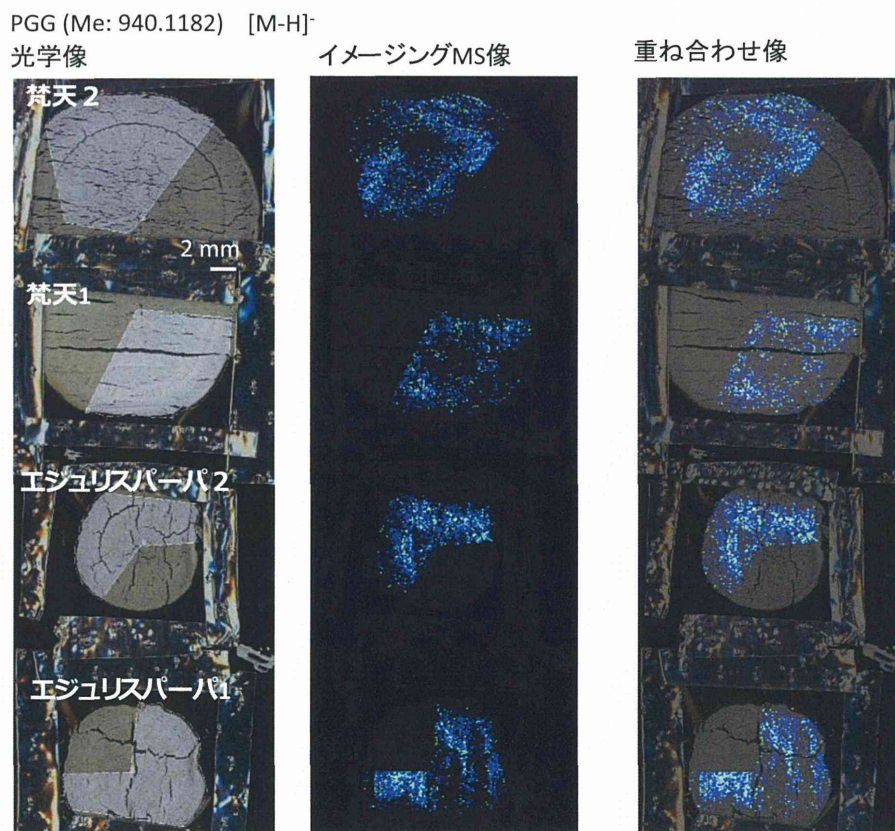


図3d シャクヤクの根の切片のイメージング質量分析像と重ね合わせ像-PGG
 シャクヤクの品種「梵天」1,2及び「エジュリスパーバ」1,2について、PGGの脱プロトン体
 m/z 939でイメージングした。

平成26年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化に向けた
実証的研究（H24-創薬総合-一般-007）

分担研究報告書

分担研究課題：地域企業との連携によるブランド生薬の開発に関する研究

—シャクヤクの地下部に含有される無機成分に関する研究—

研究分担者 小松かつ子 富山大学和漢医薬学総合研究所 教授

要旨 生薬「芍薬」及び栽培したシャクヤク2品種の根を用いて、ICP発光分析により11種類の無機元素の含有量を測定した結果、根にはカルシウムが多く、次いでカリウム、マグネシウム、ナトリウムの順であった。根を煎じた場合の水溶液中にもこれら4種類の元素が溶出していたが、特にカリウムが多かった。生薬「赤芍」では他の芍薬に比して2.1-2.6倍のカルシウム含量を示したが、煎じ液とした場合は他の芍薬の1.7-2.2倍であった。シャクヤクの1品種は、根の無機成分の組成・含量に関して赤芍以外の生薬「芍薬」と同様であったが、煎じ液への溶出量がやや少なく、栽培年数や根の大きさなどが関与する組織構造の違いが影響している可能性が考えられた。

研究協力者

伏見裕利 富山大学和漢医薬学総合研究所
准教授

A. 研究目的

薬用植物を栽培して収穫した場合、最初に品質の良し悪しを判断する点として、形、色、重さ、香りなど人間の五感に頼るものに着目して判断している。収穫物が根などの地下部である場合、その根の長さや太さ、色、つや、虫食いの状況、そして重量などが目安となる。つづいて指標となる成分が規定されている場合は、各種分析機器を用いて、特定の成分含量の測定を行うことにより、品質が決まっているのが現状である。

薬用植物は生長の過程で、一次代謝産物と二次代謝産物を合成しており、シャクヤクの根では、二次代謝産物として Paeoniflorin が知られており、芍薬としての重要な薬効成分の一つであり、芍薬の品質を左右する物質

である。

そこで今回、生薬「芍薬」及び栽培したシャクヤクの根を用いて、全体量として個体中に含有される無機成分の種類と含量について、また煎じ液を作成したときに水溶液中に溶出する無機成分の量について、ICP発光分析法により比較検討した。植物材料としては、富山県での栽培化に成功しているシャクヤクの品種の中で「梵天」及び「エジュリスパーク」を用いた。生薬材料と植物材料との間で比較検討することにより、栽培方法との関連性を検討した。

B. 研究方法

1. 実験材料

生薬材料：中国市場で購入した中国産「芍薬」市場品3点（Sample No. 1、2、3）、日本市場で購入した中国産「芍薬」市場品3点（Sample No. 4、5、6）、日本市場で購入した日本産「芍薬」市場品2点（Sample No. 7、8）、日本市

場で購入した中国産「赤芍」市場品 2 点 (Sample No. 9、10) の合計 10 点 (表 1)。植物材料: 富山県薬用植物指導センターで栽培されたシャクヤク「梵天」3 点 (Sample No. 11、12、13) 及び「エジュリスパーバ」3 点 (Sample No. 14、15、16) の合計 6 点 (表 2)。

2. 実験方法

根部の全体量としての測定では、生薬市場品またはシャクヤクの根について、粉末 4 mg に HNO_3 を 1 ml 加え、室温で 1 日放置した。抽出溶液 200 μl を取り、9.8 ml の水に加えた後、PTFE メンブランフィルター (0.22 μm) でろ過し、測定試料とした¹⁾。

煎じ液中に溶出する無機元素の測定では、生薬市場品またはシャクヤクの根について、10 g を正確に計り、超純水 500 ml を加え、煎じ器 (ウチダ和漢薬製) を用いて 40 分間加熱抽出した。抽出液を 500ml にメスアップし、PTFE メンブランフィルター (0.22 μm) でろ過し、 HNO_3 を加えて測定試料とした。

作成した測定試料は、ICP 発光分析装置 (株式会社 キンエール ジャパン Optima 7300DV) を用い、含有される無機元素の種類と量を測定した。測定元素は、ナトリウム (Na)、マグネシウム (Mg)、アルミニウム (Al)、カリウム (K)、カルシウム (Ca)、チタン (Ti)、マンガン (Mn)、鉄 (Fe)、銅 (Cu)、亜鉛 (Zn)、ストロンチウム (Sr) の 11 元素とした。

C. 研究結果

ICP 発光分析により根部の全体に含有される 11 種類の無機元素に関して、種類と量について検討した結果、生薬材料 10 点では、ナトリウム、マグネシウム、カリウム及びカルシウムの 4 種類の無機元素が確認され、これら以外の 7 種類の元素は検出されなかった。4 種類の元素の中では、カルシウムが最も多く、次いでカリウム、マグネシウム、ナトリウムの順番であった (図 1: No. 1-10)。

中国産芍薬 (白芍) 6 市場品、日本産芍薬 2 市場品及び中国産赤芍 2 市場品における 4 元素の含量の平均値は、カルシウム 1.29、

1.04、及び 2.66 ppm、カリウム 0.51、0.65、及び 0.59 ppm、マグネシウム 0.18、0.22、及び 0.25 ppm、ナトリウム 0.23、0.16、及び 0.23 ppm であった。中国産赤芍のカルシウム含量は中国産芍薬及び日本産芍薬の約 2.1-2.6 倍の値であった。シャクヤクの品種の「梵天」及び「エジュリスパーバ」では、日本産芍薬と同様の無機元素の組成を示し、品種間の差異は認められなかった (図 1: No. 11-16)。

煎じ液中に溶出する無機元素を測定するために水抽出物を作成し、ICP 発光分析により測定したところ、生薬材料と植物材料ともにカリウムが最も多く検出され、次いでカルシウム、マグネシウム、ナトリウムが検出された (図 2: No. 1-10)。

中国産芍薬 (白芍) 6 市場品、日本産芍薬 2 市場品及び中国産赤芍 2 市場品における 4 元素の煎液中の含量 (濃度) の平均値は、カリウム 71.8、93.2、及び 87.4 ppm、カルシウム 9.1、7.0、及び 15.1 ppm、マグネシウム 7.4、7.8、及び 12.9 ppm、ナトリウム 6.9、2.9、及び 2.3 ppm であった。中国産赤芍では、中国産芍薬及び日本産芍薬に比べてやや多いカルシウムの溶出が認められるに過ぎなかった (図 2: No. 9, 10)。シャクヤクの品種の「エジュリスパーバ」では、材料が 5 年生の根で直径が同じ 0.5~1 cm であり、採花の数のみが異なる株であったため、4 元素の溶出量にほとんど差がなかった。一方、「梵天」では 8 年生の株の根でカリウム濃度が 104.5 ppm と高く、4 年生の株で根の直径が 1 cm 以上のもので 85.2 ppm、0.5~1 cm のもので 65.2 ppm であった (図 2: No. 11-16)。

D. 考察

生薬「芍薬」及び栽培したシャクヤクの根を実験材料として、根の全体量、並びに煎じた場合に水溶液中に溶出する無機元素の種類と量について ICP 発光分析で明らかにした。

ICP 発光分析の結果から、生薬「芍薬」及びシャクヤクの根には、主としてカルシウムとカリウムが含有されるとともに、煎じ液中

にはカルシウムの9.1倍のカリウムが溶出することが確認できた。その他の元素については、植物体における含有量が少なかったため、煎じ液中にもそれらの溶出が検出されなかったものと考えられる。これらの結果は、蛍光X線分析によりカリウム及びカルシウムの組織内分布が確認できた内容と一致した。芍薬中に多く存在していたカルシウムが、煎じ液にした場合、水溶液中にあまり溶出されなかった理由として、カルシウムはシュウ酸塩として存在しているためであると考えられる。一方カリウムは、特に植物体内で無機化合物や有機化合物を形成せずに、カリウムイオンとして、根の発育や細胞内の浸透圧調整に関与していることが知られている。さらにカルシウムよりカリウムのイオン化傾向が大きいため、煎じ薬を作成した場合に、カリウムが多く検出されたと考えられる。栽培年数や根の直径とカリウム濃度との関連性については、材料を増やして検討する必要がある。

今回、植物材料として用いた、富山県で栽培されている品種の「梵天」及び「エジュリスパーバ」では、無機元素の含量に関しては中国産及び日本産芍薬と大きな差異が認められなかった。一方、煎じ液への溶出に関しては、「エジュリスパーバ」でやや少なく、一方8年生の「梵天」で高かった。材料を増やして検討する必要があるが、生育年数の違いや根の直径に係わるシャクヤクの根の組織構造の変化が、無機元素の溶出に関連する可能性が考えられる。

これまで生薬「芍薬」については、原子吸光度法を用いた、ナトリウム、マグネシウム、カリウム、カルシウム等13種類の無機成分の定量¹⁾や、ICP-MS分析による10種類の無機成分の定量結果が報告されているが²⁾、実際に煎じ液を作成し、水溶液中に溶出する無機元素の種類と含量を定量した報告はない。

生薬「芍薬」の無機成分の組成や含量は、

芍薬を特徴付ける一指標となり得るが、その結果が直接、煎じ液の無機成分の組成を表すとは限らない。生薬本体と、煎じ液にした場合を常に考えて、両者について分析することが不可欠である。

E. 結論

「芍薬」市場品及び栽培したシャクヤクの2品種の根について、ICP発光分析により、11種類の無機元素の含量を測定した結果、カルシウム、カリウム、マグネシウム、ナトリウムの順に多く検出された。特に「赤芍」にカルシウムが多く検出された。しかし、煎じ液を作成した場合、カリウムが最も多く溶出し、カルシウムはその一部が溶出するのみであることが明らかとなった。

F. 参考文献

- 1) 鈴木章、森本功、興津知明：生薬中の金属の溶出、生薬学雑誌、36(3)、190-195(1982)。
- 2) Shimada K, Nakamura Y, Kawase M, Komatsu K, Saito T, Takahashi K, Establishment of a methodology for identifying Paeoniae Radix based on metallomic analysis, J. Nat Med., 68(2), 407-413 (2014)。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

表1 生薬材料「芍薬」

Sample No.	生薬名	基原	産地	市場名	TMPW No.*
1	白芍	<i>Paeonia lactiflora</i>	中国安徽省亳州	中国安徽省	25071, D1
2	黑白芍	<i>P. lactiflora</i>	中国安徽省亳州	中国安徽省	25072, D2
3	白芍	<i>P. lactiflora</i>	中国浙江省	中国广西壮族自治区	25973, D18
4	芍薬	<i>P. lactiflora</i>	中国浙江省	日本大阪府	27887, D45
5	芍薬	<i>P. lactiflora</i>	中国安徽省	日本大阪府	27889, D47
6	芍薬	<i>P. lactiflora</i>	中国安徽省	日本東京都	27890, D48
7	芍薬 (梵天)	<i>P. lactiflora</i>	日本富山県	日本奈良県	25835, D51
8	芍薬	<i>P. lactiflora</i>	日本奈良県	日本大阪府	26398, D10
9	赤芍	<i>P. lactiflora</i>	中国内蒙古自治区	日本大阪府	26406, D15
10	赤芍	<i>P. lactiflora</i>	中国	日本愛知県	27893, D54

*TMPW No. : 富山大学和漢医薬学総合研究所附属民族薬物研究センター民族薬物資料館の標本番号

表2 植物材料「シャクヤク」

Sample No.	品種名	学名	栽培年数	備考
11	梵天	<i>Paeonia lactiflora</i>	8年生	No. S34-3
12	梵天	<i>P. lactiflora</i>	4年生	直径1 cm以上
13	梵天	<i>P. lactiflora</i>	4年生	直径0.5-1cm
14	エジュリスパーバ	<i>P. lactiflora</i>	5年生	直径0.5-1 cm、No. 1-1 採花無
15	エジュリスパーバ	<i>P. lactiflora</i>	5年生	直径0.5-1 cm、No. 2-1 8本温存採花
16	エジュリスパーバ	<i>P. lactiflora</i>	5年生	直径0.5-1 cm、No. 3-1 過剰採花

(ppm)

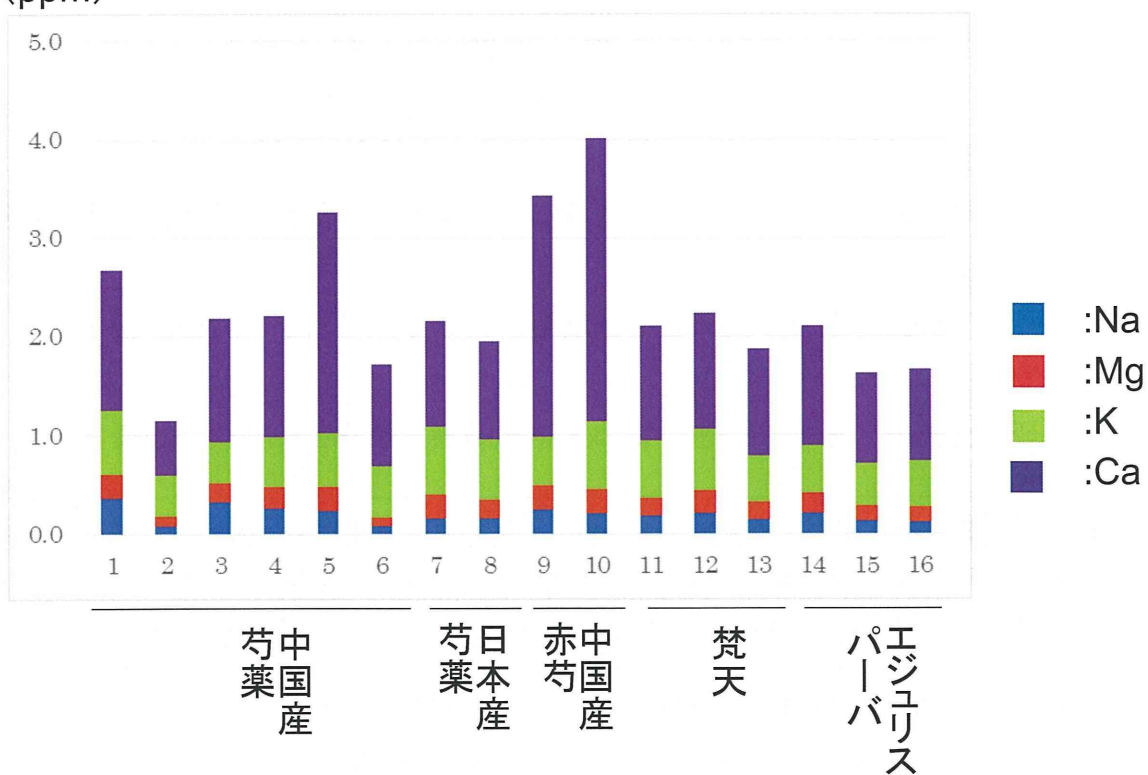


図1 芍薬またはシャクヤクの根に含有される無機元素（全体量）

(ppm)

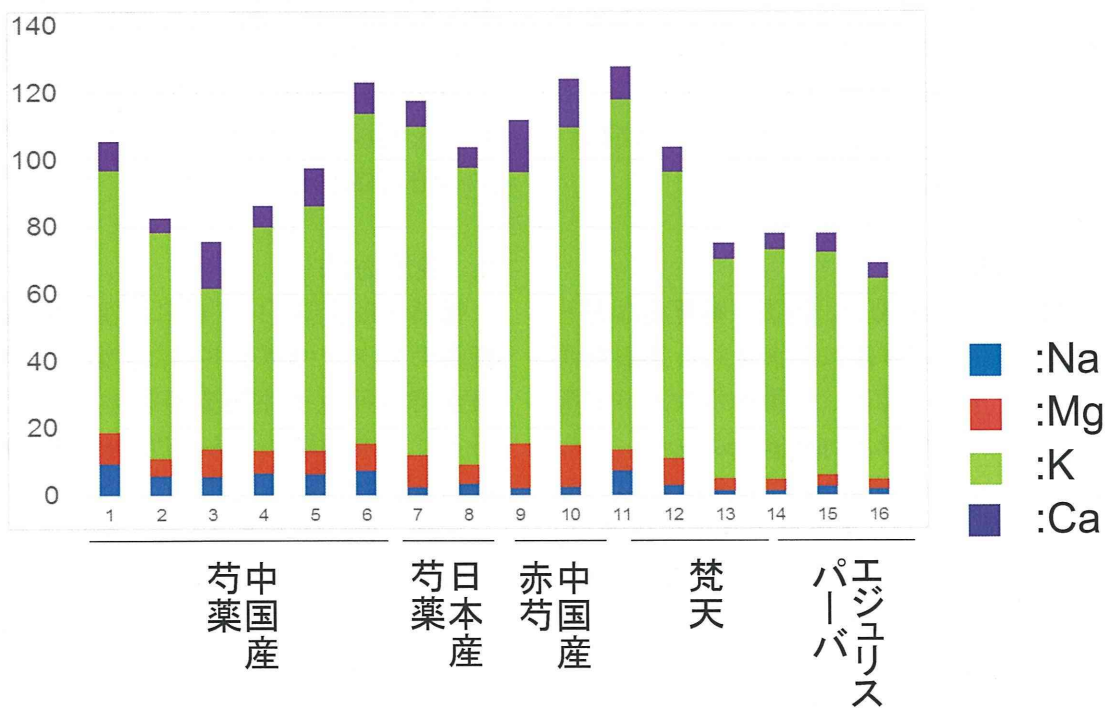


図2 芍薬またはシャクヤクの根から煎じ液中へ移行する無機元素（煎じ液中）

平成26年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化に向けた
実証的研究（H24-創薬総合-一般-007）
分担研究報告書

分担研究課題：地域企業との連携によるブランド生薬の開発に関する研究

—長野県菅平薬草栽培試験地におけるダイオウの栽培試験—

研究分担者 小松かつ子 富山大学和漢医薬学総合研究所 教授

要旨 供試されたダイオウを標高1,400mの長野県菅平薬草栽培試験地において、H23年から26年にかけて4年間栽培した。*Rheum palmatum*の系統No.29、38、41、42、A1、D5が良好な生育を示した。特に、RPI型・Rp4タイプで過去の研究で高品質と結論付けた系統38については、橙黄色の根の断面を持ち、粘液分泌を呈する良好な根茎の発達が確認され、この系統が長野県菅平で栽培できることが確認された。

研究協力者

児玉 容 長野県健康福祉部薬事管理課
主査薬剤師
村上守一 富山県薬用植物指導センター
元所長
田村隆幸 富山県薬用植物指導センター
主任研究員
葛 躍偉 富山大学和漢医薬学総合研究所
研究員

行い、11株のうち*matK*遺伝子の塩基配列がRPII型・Rp5タイプの系統が生育良好で歩留まりも高く、成分的にも優良であることを明らかにした。また、地下部の収穫は栽培3年目～5年目が適することを報告した¹⁾。この結果の検証を目的として、新たな系統も加え、H23年から26年までの4年間ダイオウの栽培試験を実施し、長野県菅平におけるダイオウの栽培可能性を検討した。

A. 研究目的

大黄は瀉下、駆瘀血、消炎、健胃薬などとして、様々な漢方方剤に配合される重要な漢薬である。その基原は、「第十六改正日本薬局方」にタデ科の*Rheum palmatum* L.、*R. tanguticum* Maxim.、*R. officinale* Baillon、*R. coreanum* Nalai. またはそれらの種間の、通例、根茎であると規定されている。

日本国内で栽培可能なダイオウの優良系統を見出すことを目的に、標高1,400mの長野県菅平薬草栽培試験地において、H20から24年にかけて11系統のダイオウを栽培し、H24年に収穫した5年目を用いて成分研究を

B. 栽培方法

播種：H22年11月6日に富山県薬用植物指導センターのポッド内に、富山大学和漢医薬学総合研究所生薬資源科学分野で保有するダイオウの種子から、*Rheum*属植物の種子を播き、苗を作った。

定植：H23年6月12日、菅平薬草栽培試験地に、新たに系統38、46、A1、D4、D5を含む、*Rheum*属16系統（*matK*遺伝子の塩基配列において5遺伝子型6タイプ）の苗を定植した（図1、表1）。なお、本栽培は無肥条件下で実施した。

収穫：H25年11月5日、H26年11月6日に栽培

中の株の一部を収穫した。

乾燥：収穫した地下部を水洗し、根茎と根に分け、さらに乾燥し易いように縦切または横切した。約1ヵ月間、室内で自然乾燥した後、2～3日間、乾燥機（30℃）で通風乾燥した。

生育環境調査：圃場（地点A）で、H25年6月からH26年10月まで気温及び地温（地表下5cm）を測定した（図1）。

C. 研究結果

1. 生育状況

16系統の4年目までの経年の生育状況を表2に示す。6月における生育率を比較すると、3年目時点で *R. palmatum* の系統38が94.4%と、試験栽培を行った種苗の中で最も高い生育率を示し、4年目も93.8%と高い生育率を維持した。また、3年目時点においては、同種の系統29、41、42、A1、D5では63.6～73.3%と良好な生育を示したが、4年目になると系統42が70%であった以外はいずれも60%以下となり、系統29では40.0%であった。

なお、*R. palmatum* の系統4、14、D4及び *R. laciniatum* の系統7の生育率は、3年目で17.6～38.9%であった。また、*R. palmatum* の系統45は全て枯死した。

3年目の生育率の月ごとの変化を見ると、8月までは6月と同様の傾向を示したものの、9月になると全体に減少傾向が認められた。特に系統38の生育率は55.6%と大きく減少したが（表3）、翌年9月は87.5%と高い生存率を維持した（表4）。

花茎の上がりには、系統4、7、11、14、27、29、41、A1、D4、D5で認められた。なお、系統7は2年目から、系統4、7、14、27、29、A1、D4、D5は3年目から連続して花茎が上がった。

圃場（地点A）における気温及び地温の測定結果を表5に示す。測定期間における気温及び地温の日平均は、それぞれ9.1℃、11.1℃であった。また、気温は-15.6～30.1℃、地温は-0.1～27.4℃で変動した。

2. 根茎及び根の形態と収量

栽培3年目で収穫した株は10系統で、すべて *R. palmatum* であり、*matK* 遺伝子の塩基配列により4遺伝子型4タイプ（RPI・Rp4、RPII・Rp5、RPII・Rp8、RPIV・Rp21）であった（表6）。また、栽培4年目で収穫した株は11系統で、いずれも *R. palmatum* であり、*matK* 遺伝子の塩基配列により4遺伝子型4タイプ（RPI・Rp4、RPII・Rp5、RPIII・Rp17、RPIV・Rp21）であった。同じ塩基配列タイプに属する株では、地下部の形態が共通した（H24年度の報告書参照）。

栽培3年目の株について、根茎が明瞭に発達しているものは少なかった。一般に根の断面は、二次皮層が黄白色、木部が黄色～濃黄色を呈したが、系統29（RPII型・Rp5タイプ）と系統38（RPI型・Rp4タイプ）では橙黄色を呈し、さらに二次皮層に粘液の分泌が見られた。系統29では根が太く、数本あるのに対し、系統38では根がやや細く、数は少なかった。系統D4またはD5（RPIV型・Rp21タイプ）においても本来不定形の根茎が見られるタイプであるが、これらでも根茎の発達が悪かった。

栽培4年目の株では、系統A1、D4、D5で根茎の発達がよかったが、断面は黄色～黄白色であった。系統38では根茎が認められるとともに、太い根が付き、断面は橙黄色を呈した。加えて、粘液の分泌が認められた。RPII型・Rp5タイプの系統ではこれまでの観察結果と同様に、短い根茎と太い根を有していた。そのうち系統29では粘液の分泌が認められた（表7、図2）。

歩留まりについては、系統14、A1、D4、D5でやや高い傾向にあり、系統38では24～29%、系統29では33%であった。

D. 考察

これまでに我々が行った大黃の遺伝的・成分多様性に関する研究では、*matK* 遺伝子の塩基配列がRPI型を示す *R. palmatum* が、薬効に関与する成分を満遍なく含むという点で高品質であると結論づけてきた。しかしながら、H20から24年にかけて実施した栽培

試験の5年目株の検討において、RPI型・Rp4タイプに属する系統37は、当初30本あった種苗が栽培5年目には1本となり、収穫時には地下部を見つけないことができなかった。栽培3年目の成分定量値において品質が良いことが伺われたものの、長野県菅平において、中国での採取時に確認した太い円筒形の太い根茎ができることはなかった。一方で、RPII型・Rp5タイプの系統である系統29が長野県菅平において栽培可能で、かつ品質が良好であることが示された。この系統は根茎が明瞭ではなく、太い根を持ち、歩留まりが高いという特徴を持っていた。この系統は花茎が上がるのが稀であるうえ、開花時期が遅いことから、花茎が上がらないことも品質を高める原因の可能性が考えられた。

H23年から26年にかけて実施した検証のための試験栽培においては、系統37と同じ遺伝子タイプに属する系統38の生育が特によいことが明らかとなった。加えて、粘液の分泌が認められるとともに、3年目では根茎が発達していなかったものの、4年目の収穫においては、根茎の発達が確認された。また、4年目に至るまで花茎が上がらない特徴を有しており、系統29と同様、品質を高めることに寄与していると考えられた。

今回の検討において、系統38を定植するにあたり、栽培場所として圃場の中でも林（自然園）に面し、西日を遮ることができる場所を選定した。H25年は猛暑であり、9月に多くの系統で生育率の低下がみられた中で、特に、系統38については著しい生育率の低下が認められた。一方、H26年には系統38は高い生育率を維持していた。地中の温度環境は、気温に比べ変動幅は小さい傾向があるが、系統38近傍の地点Aの気温及び地温を見ると、H26年に比してH25年8月の最高地温が高く、この影響が生育率に影響した可能性が考えられた。

E. 結論

長野県菅平薬草栽培試験地におけるダイオウの栽培試験では16系統を栽培し、そのうち系統38が4年目までの生存率87.5%を

示し、系統41、42、43、A1が43～57%を示した。高い生存率を示した系統は、*R. palmatum*のRPII型・Rp5タイプに属するものが多かったが、同タイプの系統29は30.0%であった。また、系統38はRPI型・Rp4タイプで、同タイプの系統37がH20から24年にかけて実施した栽培試験において5年目までの生育が難しかった系統である。系統38については生育場所を考慮した結果であり、地温の上昇抑制が優良系統を生育するに影響した可能性が示唆された。

収穫したダイオウの地下部の形態は、同じ*matK*塩基配列タイプであるものはほぼ類似した。RPII型・Rp5タイプを示す系統(17、18、29、41、43)では、根茎が短く、太い根が数本以上付くという共通した特徴が見られた。RPI型・Rp4タイプの系統38とRPIV型・Rp21タイプのA1、D4、D5において、栽培4年目に根茎の発達が良好であった。ただし、前者では断面が橙黄色であるのに対し、後者では黄色～薄黄色であった。

系統29と系統38は根の断面が橙黄色でかつ粘液の分泌が明らかであった。

これまで中国産大黃の品質評価の研究で最優良系統であると結論づけていたRPI型・Rp4タイプの系統が菅平でも栽培できることが明らかになった。今後、この系統の増殖に務めたい。

F. 参考文献

- 1) 小松かつ子, 冷正鵬, 白焱晶, 朱姝, 葛躍偉, 伏見裕利, 村上守一, 田村隆幸, 中曾根亨, 吉松嘉代: ダイオウの圃場栽培と優良系統の選抜. 日本生薬学会第60回年会講演要旨集, p. 186, 2013.

G. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表
なし

- ## H. 知的財産権の出願・登録状況
- なし

表1 栽培試験を実施したダイオウの系統

系 統	基 原		入 手 地
	遺伝子型	塩基配列 タイプ	
4	RPⅢ	Rp17	甘肅省天祝県
7	RL	R1	甘肅省夏河县
8	RL	R1	甘肅省夏河县
11	RL	R1	甘肅省夏河县
14	RPⅣ	Rp21	甘肅省碌曲県
27	RPⅡ	Rp8	四川省若爾蓋県
29	RPⅡ	Rp5	四川省若爾蓋県
38	RPⅠ	Rp4	青海省久治県
41	RPⅡ	Rp5	四川省甘孜州色達県
42	RPⅠ	Rp4	四川省甘孜州色達県
43	RPⅡ	Rp5	四川省甘孜州色達県
45	RPⅡ	Rp5	四川省甘孜州色達県
46	RPⅡ	Rp5	四川省甘孜州色達県
A1	RPⅢ	RP21	甘肅省礼県上坪郷
D4	RPⅣ	RP21	甘肅省礼県唐王村
D5	RPⅣ	RP21	甘肅省礼県唐王村

*植物の基原には*matK*遺伝子の塩基配基づく遺伝子型とタイプを示す。
 RPⅠ～Ⅳ: *Rheum palmatum*の遺伝子型, RT: *R. tanguticum*の遺伝子型,
 RL: *R. laciniatum*の遺伝子型

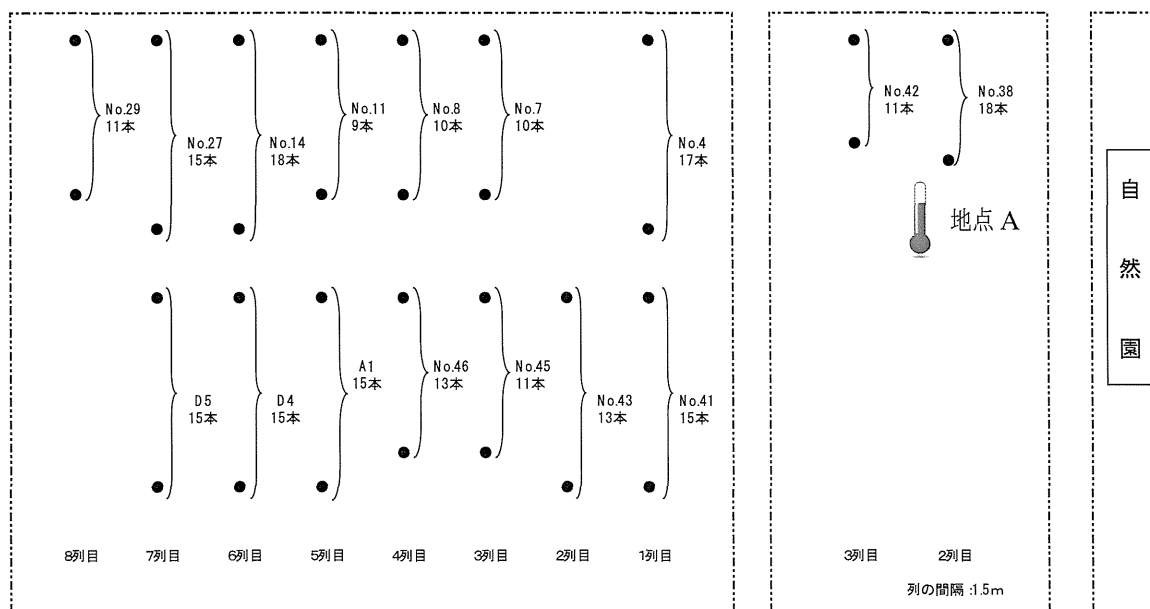


図1 菅平薬草栽培試験地のダイオウの定植配置図

表2 ダイオウの生育状況

系統	定植本数 (H23.6.12)	H24.6.28 (定植2年目)					H25.6.27 (定植3年目)					H26.6.17(定植4年目)				
		本数	生育率	葉たて (cm)	草丈 (cm)	花茎	本数	成育率	葉たて (cm)	草丈 (cm)	花茎	本数	成育率	葉たて (cm)	草丈(cm)	花茎
4	17	3	17.6%	43	45		3	17.6%	39	65	○	2	11.8%	35	41	○
7	10	4	40.0%	22	35	○	3	30.0%	31	185	○	3	30.0%	28	98	○
8	10	6	60.0%	31	35		5	50.0%	30	156		5	50.0%	25	32	
11	9	4	44.4%	27	33		4	44.4%	28	198		4	44.4%	28	125	○
14	18	10	55.6%	42	40		7	38.9%	41	59	○	6	35.3%	45	48	○
27	15	10	66.7%	30	40		6	40.0%	50	237	○	3	21.4%	28	40	○
29	11	8	72.7%	40	60		7	63.6%	35	180	○	4	40.0%	38	43	○
38	18	18	100.0%	40	60		17	94.4%	80	99		15	93.8%	56	55	
41	15	10	66.7%	43	50		10	66.7%	60	95		6	42.9%	33	50	○
42	11	9	81.8%	55	90		8	72.7%	84	137		7	70.0%	60	97	
43	13	8	61.5%	22	34		8	61.5%	65	98		7	58.3%	62	76	
45	11	0	0.0%	—	—		0	0.0%	—	—		0	0.0%	—	—	
46	13	7	53.8%	26	36		6	46.2%	53	60		5	38.5%	35	58	
A1	15	11	73.3%	45	60		10	66.7%	44	50	○	8	57.1%	50	110	○
D4	15	5	33.3%	20	30		5	33.3%	30	175	○	4	28.6%	30	40	○
D5	15	12	80.0%	33	45		11	73.3%	35	182	○	7	50.0%	30	37	○
合計	216	131	60.6%				110	50.9%				86	42.0%			

注) 葉の大きさ、草丈は各番号の最大の株の値を測定

表3 栽培3年目のダイオウの経月の生育状況

系統	定植本数 (H23.6.12)	H25.6.27				H25.8.8				H25.9.11			
		本数	成育率	葉たて (cm)	草丈 (cm)	本数	成育率	葉たて (cm)	草丈 (cm)	本数	成育率	葉たて (cm)	草丈 (cm)
4	17	3	17.6%	39	65	2	11.8%	45	71	2	11.8%	58	65
7	10	3	30.0%	31	185	3	30.0%	14	181	3	30.0%	15	181
8	10	5	50.0%	30	156	4	40.0%	13	161	4	40.0%	13	161
11	9	4	44.4%	28	198	4	44.4%	31	199	4	44.4%	25	199
14	18	7	38.9%	41	59	7	38.9%	50	69	7	38.9%	35	65
27	15	6	40.0%	50	237	5	33.3%	23	247	2	13.3%	30	247
29	11	7	63.6%	35	180	6	54.5%	40	55	5	45.5%	44	60
38	18	17	94.4%	80	99	17	94.4%	73	84	10	55.6%	60	75
41	15	10	66.7%	60	95	10	66.7%	61	74	10	66.7%	47	50
42	11	8	72.7%	84	137	8	72.7%	87	107	5	45.5%	67	70
43	13	8	61.5%	65	98	8	61.5%	57	65	7	53.8%	60	70
45	11	0	0.0%	—	—	0	0.0%	—	—	0	0.0%	—	—
46	13	6	46.2%	53	60	6	46.2%	56	80	4	30.8%	46	47
A1	15	10	66.7%	44	50	10	66.7%	56	83	10	66.7%	58	88
D4	15	5	33.3%	30	175	5	33.3%	54	126	5	33.3%	42	64
D5	15	11	73.3%	35	182	11	73.3%	39	137	11	73.3%	50	68
合計	216	110	50.9%			106	49.1%			89	41.2%		

注) 葉の大きさ、草丈は各番号の最大の株の値を測定

表4 栽培4年目のダイオウの経月の生育状況

系統	当初本数 (H23.6.12)	H26.6.17				H26.7.15				H26.9.18			
		本数	成育率	葉たて (cm)	草丈(cm)	本数	成育率	葉たて (cm)	草丈(cm)	本数	成育率	葉たて (cm)	草丈(cm)
4	17	2	11.8%	35	41	2	11.8%	38	32	2	11.8%	32	40
7	10	3	30.0%	28	98	3	30.0%	28	142	3	30.0%	32	23
8	10	5	50.0%	25	32	4	40.0%	27	36	2	20.0%	28	45
11	9	4	44.4%	28	125	4	44.4%	15	90	2	22.2%	23	44
14	18	6	35.3%	45	48	6	35.3%	40	78	6	35.3%	52	60
27	15	3	21.4%	28	40	2	14.3%	25	18	0	0.0%	—	—
29	11	4	40.0%	38	43	5	50.0%	47	55	3	30.0%	65	60
38	18	15	93.8%	56	55	15	93.8%	78	100	14	87.5%	64	74
41	15	6	42.9%	33	50	6	42.9%	44	60	6	42.9%	35	38
42	11	7	70.0%	60	97	7	70.0%	71	116	5	50.0%	52	78
43	13	7	58.3%	62	76	7	58.3%	74	270	6	50.0%	75	70
45	11	0	0.0%	—	—	0	0.0%	—	—	0	0.0%	—	—
46	13	5	38.5%	35	58	5	38.5%	37	195				
A1	15	8	57.1%	50	110	8	57.1%	42	130	8	57.1%	64	90
D4	15	4	28.6%	30	40	4	28.6%	32	70	4	28.6%	50	70
D5	15	7	50.0%	30	37	5	35.7%	33	45	4	28.6%	56	66
合計	216	86	42.0%			83	40.5%			65	31.7%		

注) 葉の大きさ、草丈は各番号の最大の株の値を測定

表5 地点Aにおける気温及び地温

月	平均気温			最高気温	最低気温	平均地温			最高地温	最低地温
	日平均	日最高	日最低			日平均	日最高	日最低		
6*	15.0	18.7	12.1	23.7	7.1	16.0	22.7	13.9	22.0	10.4
7	18.9	24.4	15.7	28.9	10.3	19.5	23.5	17.5	25.3	14.2
8	19.8	25.0	15.9	29.9	10.7	20.8	24.2	18.4	27.4	15.4
9	15.3	19.8	11.4	24.2	3.6	16.8	19.2	14.9	22.4	10.6
10	10.2	14.0	7.0	21.9	-1.0	11.9	14.2	10.2	20.7	4.5
11	2.1	6.4	-1.7	15.2	-6.8	4.5	5.9	3.4	11.4	1.4
12	-3.6	0.0	-6.8	6.3	-12.6	1.1	1.2	1.0	2.9	0.8
1	-5.9	-1.6	-10.0	6.0	-13.5	0.8	0.8	0.8	0.9	0.7
2	-6.1	-1.1	-10.2	8.1	-15.6	0.4	0.4	0.4	0.7	-0.1
3	-1.5	3.4	-5.8	14.2	-14.3	0.2	0.2	0.2	0.4	0.0
4	4.6	9.9	-0.3	18.9	-8.4	5.6	8.9	3.2	14.8	0.1
5	10.9	16.8	6.0	23.8	-0.1	11.4	15.1	8.4	19.4	4.9
6	14.8	19.0	11.4	26.1	7.4	15.6	17.8	13.6	20.7	11.6
7	18.6	23.5	14.9	30.1	11.1	18.8	20.6	17.3	24.0	14.8
8	18.9	23.1	16.0	28.6	12.3	19.2	20.6	17.9	23.3	15.2
9	13.2	18.4	9.1	23.2	4.1	15.5	18.5	13.0	22.4	9.8
10	8.9	13.7	5.2	20.3	-1.5	10.3	12.7	8.4	18.4	4.1

* 6/6～6/30の測定結果

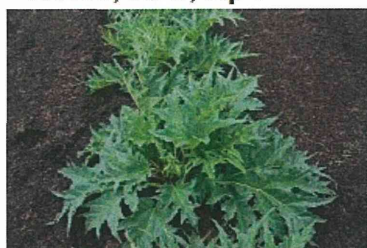
表6 栽培3年目の *Rheum palmatum* の各系統の地下部の形態と重量

系 統	検体 No.	基 原		根 茎		根			重 量		歩留まり (%)
		遺伝子型	塩基配列タイプ	直径 (cm)	長さ (cm)	直径 (cm)	長さ (cm)	本数	新鮮 (g)	乾燥後 (g)	
14	1	RPIV	Rp21			1.6-2	18-30	4	105	39	37.1%
27	1	RP II	Rp8	6	3	2.5-3	24-37	9	444	125	28.2%
29	1	RP II	Rp5			3.5	33	6	97	34	35.1%
38	1	RP I	Rp4	8	1	2-4	30	4	143	53	37.1%
	2	RP I	Rp4			3-3.5	20-40	5	348	101	29.0%
41	1	RP II	Rp5	7	3	2-3	40	8	324	88	27.2%
42	1	RP I	Rp4			3-5	26	7	350	101	28.9%
43	1	RP II	Rp5	7.5	5	4-5	20-40	8	970	333	34.3%
A1	1	RPIV	RP21			1.5-3.5	40-70	8	390	86	22.1%
D4	1	RPIV	RP21	3.5	3.5	3-3.5	27-68	4	600	158	26.3%
D5	1	RPIV	RP21	6	4.5	2.5-3	26-66	7	456	133	29.2%

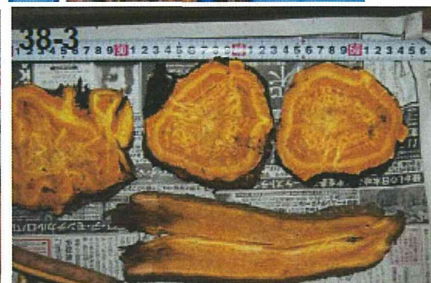
表7 栽培4年目の *Rheum palmatum* の各系統の地下部の形態と重量

系 統	基 原		検体 No.	根 茎		根			重 量		歩留まり (%)	粘液
	遺伝子型	塩基配列タイプ		直径 (cm)	長さ (cm)	直径 (cm)	長さ (cm)	本数	新鮮 (g)	乾燥 (g)		
14	RPIV	Rp21	1	13.5-14	6-7	4.0-5.5	20-90	6	2350	810	34%	-
			2	14	6	2-5	22-45	6	2030	750	37%	-
29	RPII	Rp5	1	10	2.5	2.5-5	9-39	4	1350	450	33%	++
38	RPI	Rp4	1	4	9	2.5-7	19-39	12	4080	1170	29%	++
			2	12	6.5	3-5	23-54	5	1800	480	27%	-
			3	12	4.2	1.8-4	22-46	5	2150	520	24%	++
41	RPII	Rp5	1	8.5	4	1.5-3.5	20-49	13	1790	510	28%	-
			2	5	3.5	3.5-5.0	21-40	6	1410	392	28%	-
42	RPI	Rp4	1	8	2.8	2.4-5.0	17-26	9	1810	510	28%	-
			2	8-10	5.5-14	2.5-6.5	22-42	10	4050	1310	32%	-
43	RPII	Rp5	1	12	4.5	2.6-4.8	22-56	8	2250	500	22%	-
			2	10	4	2.0-4.8	16-48	8	1360	313	23%	-
46	RPII	Rp5	1	10	6	2-4	32-57	8	2310	860	37%	-
			2	9	3	2-4.5	11-51	7	1600	500	31%	-
A1	RPIV	Rp21	1	15	13	2-5	25-40	5	2300	830	36%	-
			2	16	11	2-4.5	19-42	8	2070	730	35%	-
			3	20	17	1.5-5	24-65	13	4270	1335	31%	-
D4	RPIV	Rp21	1	8.5	13	2.5-4	22-24	5	1960	690	35%	-
D5	RPIV	Rp21	1	8	1	2-3.5	23-32	4	320	107	33%	-
			2	9	10	2-4.5	21-36	4	1180	420	36%	-
4利	RPIII	Rp17	1	13	7	2-3.5	18-47	6	1450	550	38%	-
			2	7	14	2-5	24-48	5	1970	760	39%	-

Rheum palmatum
No.38, RPI, Rp4



Jun. 12



Nov. 4

図2 栽培4年目の *R. palmatum* の系統38の地上部及び地下部の形態
*地上部はH26年6月12日、地下部は11月4日の状況

平成26年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
人工水耕栽培システムにより生産した甘草等漢方薬原料生薬の実用化に向けた
実証的研究（H24-創薬総合一般-007）

分担研究報告書

分担研究課題：地域企業との連携によるブランド生薬の開発に関する研究

—北海道におけるダイオウ自生種導入システムの栽培適性評価に関する研究—

研究分担者 小松 かつ子 富山大学 和漢医薬学総合研究所 教授

要旨 富山大学より供与されたダイオウ 19 系統について 2011 年に栽培試験を開始し、ダイオウ 4 年生株の生存率、1 株当たりの収量を調査した。本年度は、5 月下旬から 7 月まで干ばつ、さらに 8 月 5 日に豪雨が発生した。この結果、2013 年 10 月まで生存した 8 系統のうち、4 年生株として本年収穫できた系統は、富 18 系統、富 29 系統、富 38 系統、富 41 系統および富 45 系統の 5 系統であった。この中で、生存率が高い富 38 系統（生存率 30.0%）、富 45 系統（20.0%）および（富 29 系統（16.7%））の 3 系統は土壌湿害に適応性があると思われた。さらに 1 株当たりの地下部の収量は富 29 系統が 340.0～370.7 g、富 45 系統が 113.2～290.2 g、富 38 系統が 201.0 g の 3 系統が高かった。以上の結果から、生存率および地下部の収量を総合的に判断すると、北海道北部の気候に適した栽培系統は、第一に富 29 系統および富 38 系統の 2 系統を候補とし、次に富 45 系統であると思われた。

研究協力者

菱田敦之 （独）医薬基盤研究所
薬用植物資源研究センター
北海道研究部
研究サブリーダー
川原信夫 同 センター長

氏によって中国国内で収集されたダイオウ種子を用いて北海道研究部（北海道名寄市）の圃場で栽培試験を実施し、栽培に適した系統を選抜し、国内栽培化の可能性を調査することが目的である。本年度は、ダイオウ 4 年生株の生存率、生存株の 1 株当たりの収量を調査した。

A. 研究目的

ダイオウは、タデ科の多年生草本植物で中国青海省、四川省の高地に分布している。ダイオウの根や根茎は、乾燥させて生薬「大黄」として用いる。生薬「大黄」は、便秘、高血圧症、解熱、鎮痛、消炎、皮膚疾患の改善を目的とした漢方処方に配合され、また駆瘀血を目的とした処方にも配合される。大黄の国内使用量は年間約 300 トン、この内で 90 トンは北海道等で栽培されている。

本研究では、共同研究者である小松かつ子

B. 研究方法

供試材料：富山大学より供与されたダイオウ 19 系統。

播種日：北海道研究部では、2011 年 4 月 19 日にセルトレイに播種して温室内で育苗した。その後、ビニルポットに植え替えてさらに育成した。同系統の種子を富山県薬事指導センターで育苗し、北海道で同時に定植した。

定植日：2011 年 6 月 28 日