

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 1 日現在

機関番号：34419

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2012

課題番号：22658077

研究課題名（和文）紀州在来薬用紫蘇の機能性に関する遺伝的改良と機能性強化のための生産技術の開発

研究課題名（英文）Genetic improvement of a medicinal perilla native to Wakayama prefecture, and development of production techniques for the enhance the functionality.

研究代表者

堀端 章 (HORIBATA AKIRA)

近畿大学・生物理工学部・講師

研究者番号：70258060

研究成果の概要（和文）：紀の川流域の地域遺伝資源である薬用紫蘇の 1 系統について、外観特性および機能性成分含有量に関する遺伝を調査した結果、本系統は形態的特徴および機能性成分含有量に関して固定していると考えられた。一方、この高機能性シソの機能性向上と周年生産技術の確立を目指して、単色光補光による生育調節を試みたところ、青色光補光が花成を顕著に抑制し、ペリラルデヒド含有量が高く維持する効果をもつことが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：In this study, we described one line of Perilla herb, as a local genetic resource in the Kinokawa plain. First, we observed morphological and aromatic characteristics of the line and evaluated the genetic variation for perillaldehyde content. As a result, this line has been fixed genetically for these characteristics. And then, we have begun to develop the cultivation method for year round production and for enrichment of the functionality of the perilla. Supplemental lighting by blue LEDs significantly inhibited the flower formation of perilla, and allowed the continuous differentiation of young leaves related to higher content of perillaldehyde.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,100,000	0	1,100,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
2012 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	2,800,000	510,000	3,310,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農業工学・農業環境工学

キーワード：紫蘇・施設園芸・成分育種・補光技術・ペリラルデヒド・花成制御

## 1. 研究開始当初の背景

(1) シソ (*Perilla frutescens*) の茎葉を乾燥した「ソヨウ」は、解熱、鎮静、健胃などの効用をもち、魏晋の古くから漢方薬として利用されてきた。これらの効能は、ペリラル

デヒド (perillaldehyde)、ロスマリン酸 (rosmarinic acid)、リモネン (limonene)、シソニン (shisonin) など、シソに含まれる多様な機能性成分の複合作用によるものと推察される。近年では、個々の機能性物質

がもつ作用も次第に明らかにされつつある。例えば、ペリルアルデヒドには、中枢神経抑制作用、抗鬱作用および血管拡張作用が、また、ロスマリン酸には、血糖値上昇抑制作用、抗鬱作用およびアトピー性皮膚炎の軽減作用が報告されている。このように、シソは、現代病とも言える「花粉症」や「不眠症」にも著効を現すことが期待されている。

(2) 和歌山県の紀の川流域では、古くから薬用植物としてのシソが栽培されてきたが、安価なソヨウが輸入されるようになるにつれて生産量が減少し、遺伝資源もほとんど散逸してしまった。我々は、失われつつある紀州在来の薬用紫蘇の遺伝資源を入手してこれを地域の特産品に育てようと考えた。

(3) 探索の結果、紀州在来薬用紫蘇と推定される1系統を見出したが、まず、この系統は薬用紫蘇と認めるのに十分な機能性成分を含有するか否かを明らかにする必要があると考えられた。

(4) シソは他殖性の比較的強い植物であり、入手した系統の遺伝的純度を評価する必要もあった。もし、遺伝的純度が低い場合には純系分離による育種を試みる必要もあると考えられた。

(5) このシソ系統が薬用紫蘇に相当するものであったとしても、従前の生薬としての利用のみに頼ってはいない生産の拡大を望めない。このため、生薬とは異なる利用法の開発も必要と考えた。具体的には、高い機能性を活かした食品、化粧品、香料などを想定した。このような工業的利用では、原料の安定供給と品質保証、特に機能性成分含有量の保証が重要となる。そのため、栽培時の光環境を制御することによって、周年生産体制を確立すると同時に機能性成分含有量を向上させることを考えた。

## 2. 研究の目的

(1) 入手した紀州在来薬用紫蘇系統の遺伝的純度を、形態的変異および機能性香り成分ペリルアルデヒドの含有量を基準にして評価し、必要であれば集団選抜を行って機能性成分生産性の高い優良系統を選抜する。

(2) 紀州在来薬用紫蘇への単色光照射が、その生育や機能性成分含有量に及ぼす効果を明らかにし、効率的に高機能性薬用紫蘇を生産する方法を確立する。

## 3. 研究の方法

(1) 紀州在来薬用紫蘇と比較品種‘赤ちりめんしそ’（株式会社サカタのタネ）を近畿大学生物理工学部のガラスハウス内に栽植し、その形態的特徴や開花期などの生理的特徴に関する変異を調査した。同時に、機能性香り成分のペリルアルデヒドの含有量に関する変異を調査した。

(2) シソの機能性香り成分は、葉の裏に存在する腺鱗に蓄積される。そこで、腺鱗の密度とペリルアルデヒド含有量の関連を調査した。さらに、葉の生長過程における腺鱗密度の変化を経時的に調査した。腺鱗密度の調査にはポータブルデジタル顕微鏡（ソリッドアライアンス社、X-Loupe-A）を用いた。

(3) 紀州在来薬用紫蘇の葉の形態的特徴およびGLCで検出される香り成分の組成を、市販されている既存品種と比較して、この系統の特徴を評価した。

(4) 近畿大学生物理工学部のガラスハウス内の自然光条件下で栽培されている紀州在来薬用紫蘇に青色LED（470nm）による24時間補光（およそ $10\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ）を行い、この補光処理にともなう生育の変化およびペリルアルデヒド含有量の変化を調査した。この実験で、青色光補光によってペリルアルデヒド含有量画像化することが示されたため、さらに、生育相のさまざまな時期に短期間（5日間）の青色光補光を行って、ペリルアルデヒド含有量を増加させるための補光技術の最適化を図った。

(5) 前項の実験によって青色光補光がシソの花成を抑制することが明らかになった。シソの周年生産技術を確立するためには、花成を促進する技術も同時に保有していることが望ましい。シソなどの短日植物では、遠赤色光（730nm）の夜間照射によって花成促進が期待される。そこで、暗期前半2時間の遠赤色光補光による花成調節を試みた。

## 4. 研究成果

(1) 紀州在来薬用紫蘇の形態的変異は、比較品種‘赤ちりめんしそ’における変異に比べて大きくはなく、また、開花時期も斉一であった。一方、紀州在来薬用紫蘇のペリルアルデヒド含有量は、‘赤ちりめんしそ’の5倍に達するため、その変動幅は‘赤ちりめんしそ’よりも大きかった。しかし、変動係数は‘赤ちりめんしそ’よりも小さく、ペリルアルデヒド含有量に関しても概ね固定しているのではないかと考えられた（図1）。この点については、紀州在来薬用紫蘇では、ペリルアルデヒド含有量が互いに異なる親個体と

その個体別次代系統との間でペリラルデヒド含有量に関する親子相関が見られない( ) ことによっても確認された。

これらの結果から、紀州在来薬用紫蘇は(適切な種子管理を行う範囲において)純系と見なし得ると考えられた。したがって、優良系統の選抜を行う必要はなく、現在の系統の特性を維持することに努めるべきであると判断した。

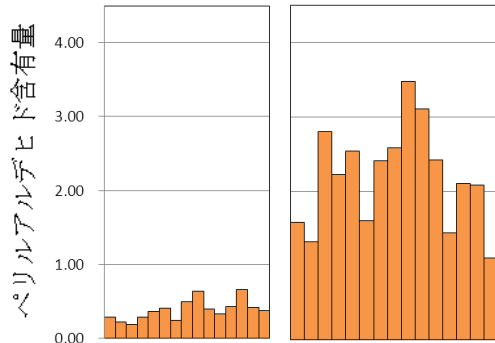


図1 ‘赤ちりめんしそ’ 15 個体 (左) および紀州在来薬用紫蘇 15 個体 (右) におけるペリラルデヒド含有量 (µl/g) の個体間変異

(2) 収穫期の紀州在来薬用紫蘇では、葉の裏の腺鱗の密度とペリラルデヒド含有量の間に関係が認められた(図2)。少なくとも、腺鱗密度はシソの機能性成分含有量を支配する1要因であることが明らかになった。しかし、上述のように、ペリラルデヒド含有量に関する遺伝的分離が認められないので、この腺鱗密度の変異も遺伝的変異ではなく生育環境によるのではないかと推察された。同時に、腺鱗密度は機能性成分含有量に関する簡易指標となり得ることも示された。

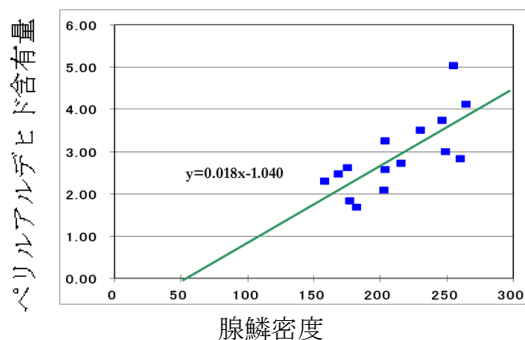


図2 紀州在来薬用紫蘇 15 個体における腺鱗密度 (count/cm<sup>2</sup>) とペリラルデヒド含有量 (µl/g) との関係

そこで、葉の生長の過程における腺鱗の形成を経時的に調査した。腺鱗密度は、葉面積の拡大ともなって減少し、葉面積と腺鱗密度の積はほぼ一定であった(図3)。この結果は、腺鱗が葉の分化の初期に形成されるものであり、葉の生長ともなって新たに形成されないことを示している。また、この観察において、成熟期の少し前に腺鱗内への精油の蓄積が始まり、腺鱗が肥大することも明らかになった。以上のことから、腺鱗の観察所見は成熟の指標とはなるが、腺鱗密度はペリラルデヒド含有量の潜在的ポテンシャルを示す指標でしかないと考えられた。

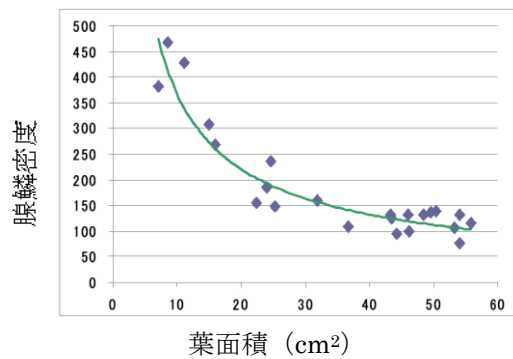


図3 紀州在来薬用紫蘇の個葉の生長と腺鱗密度 (count/cm<sup>2</sup>) との関係

(3) 紀州在来薬用紫蘇の葉は、表裏とも赤紫色で、卵形で、縮緬状の凹凸のない平葉であって、アカジソ (*P. frutescens* var. *crispa* f. *purpurea*) の特徴を備えていた(図4)。これに対して、広く栽培されているアカチリメンジソ (*P. frutescens* var. *crispa* f. *crispa*) は、同様に表裏とも赤紫色であるものの、ほぼ等幅の円形であって、顕著な縮緬状の起伏を示した。両者は明瞭に異なっており、紀州在来薬用紫蘇はアカジソに分類されると考えられた。一方、香り成分に関しては、近縁のチリメンアカジソ2品種の数倍以上の香り成分を含有し、同様に強い香気の特徴とするチリメンアオジソやカタメンジソと比べると、ペリラルデヒドとリモネンの比率が顕著に高く、このことが本種の特異な香りを特徴付けていると考えられた(図5)。



紀州在来薬用紫蘇 ‘赤ちりめんしそ’ (クラギ株式会社)

図4 葉の外観

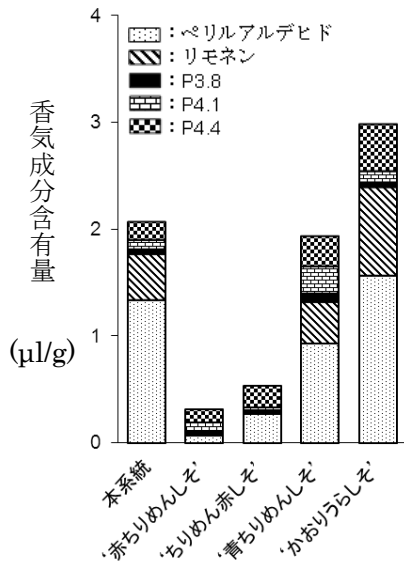


図5 供試したシソ品種・系統の生葉から抽出した香り成分の組成および含有量

(4) 青色LED (470nm) による24時間補光は、紀州在来薬用紫蘇の草丈を、生育期間の前半ではより伸長させ、後半では抑制した。この時、青色光補光区において花成の顕著な抑制が見られた。一方、収穫時期のペリラルデヒド含有量は、青色光補光区で 3.52 (µl/g)、対照区で 2.19 (µl/g) であり、青色光補光によって 61%増加していた。この結果は、青色光補光が花成の制御と機能性の向上に役立つ可能性を示唆した。

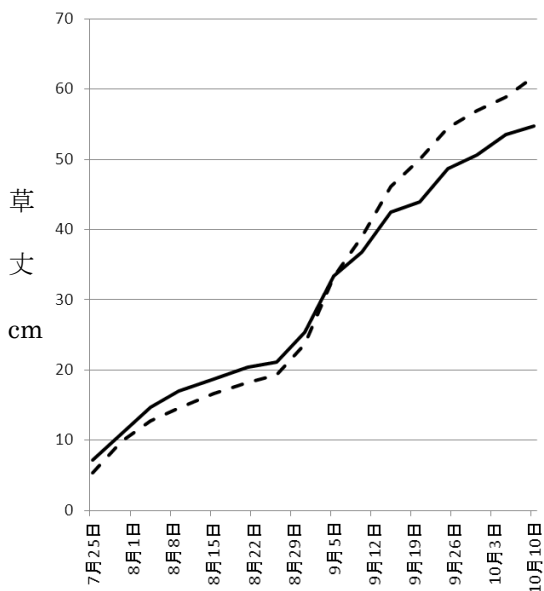


図6 紀州在来薬用紫蘇への青色光補光が草丈に及ぼす作用  
 — 青色光補光区  
 - - - 対照区

そこで、生育相のさまざまな時期に短期間(5日間)の青色光補光を行って、その処理がペリラルデヒド含有量と花成に及ぼす作用を調査した。生殖生長相にある紀州在来薬用紫蘇への青色光補光はペリラルデヒド含有量をわずかに増加させたものの、有意水準には達しなかった。栄養生長相での補光は全く効果を示さなかった(図7)。この結果は、青色光補光が花成抑制を介してペリラルデヒド含有量を増加させていることを示唆した。一方、花成の遅延作用に関しては、生殖生長相への転換期だけでなく、生殖生長相に入ってから効果を示すことが明らかになった。

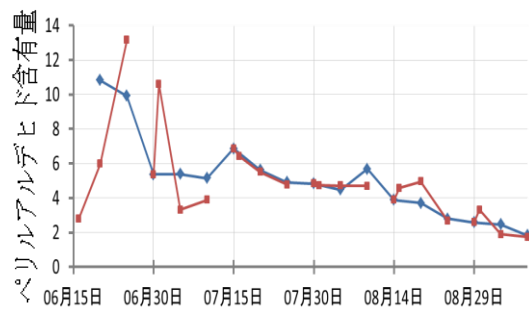


図7 紀州在来薬用紫蘇における青色光補光の時期とペリラルデヒド含有量(µl/g)の関係  
 — 青色光補光区  
 — 対照区

(5) 暗期前半の2時間、異なる強度の遠赤色光補光を行ったところ、想定に反して、照射強度が  $2.3\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  以上の試験区において、照射強度依存的に最大2週間程度花成が遅れた。シソでは、栄養生長から生殖生長への転換期にペリラルデヒド含有量が高くなることが知られているので、この実験においてもペリラルデヒド含有量の変動を調査した。無照射区のペリラルデヒド含有量は、想定通りの時期にピークを迎えたが、2週間以上も花成が遅れた遠赤色光補光区(補光区1および2)でも、ペリラルデヒド含有量のピークは対照区と変わらなかった(図8)。このことは、ペリラルデヒドの産生を促すシステムと花成を促すシステムとの間に乖離があり、花成の制御のみでは高機能性を維持することができない可能性があることを示唆している。

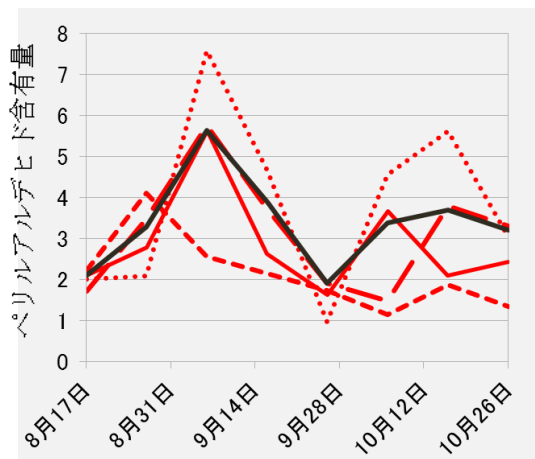
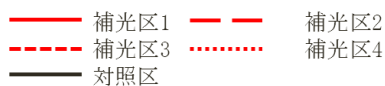


図 8 紀州在来薬用紫蘇への遠赤色光補光がペリラルデヒド含有量 ( $\mu\text{l/g}$ ) に及ぼす作用



## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

- ① 堀端章、伊東卓爾、渡辺俊明、松本俊郎、作物生産における太陽エネルギーの分割利用—単色光補光による薬用紫蘇の花成制御と機能性香り成分—、太陽/風力エネルギー講演論文集2012、査読無、2012、393-396
- ② 堀端章、矢田清、薬用紫蘇への青色光補光がペリラルデヒド含有量に及ぼす効果、第29回日本植物細胞分子生物学会(福岡)大会・シンポジウム講演要旨集、査読無、2011、237
- ③ 堀端章、松川哲也、矢田清、青色LEDによる補光が'紀州在来薬用紫蘇'の生育および機能性成分含有量に及ぼす作用、近畿大学生物理工学部紀要、査読有、28、2011、13-20

[学会発表] (計 5 件)

- ① 堀端章、紀州在来の薬用紫蘇遺伝資源を利用した機能性素材の開発、ヘルスケアビジネスフェア2013、2013年2月26日、大阪産業創館(大阪府)
- ② 堀端章、矢田清、松川哲也、和歌山県在来の薬用紫蘇系統の特徴および単色光補光による生育調節、近畿作物・育種研究会第174回講演会、2012年12月8日、京都

大学農学部(京都府)

- ③ 堀端章、伊東卓爾、渡辺俊明、松本俊郎、作物生産における太陽エネルギーの分割利用—単色光補光による薬用紫蘇の花成制御と機能性香り成分—、日本太陽エネルギー学会・日本風力エネルギー学会、2012年11月9日、北九州国際会議場(福岡県)
- ④ 堀端章、紀州在来の薬用紫蘇遺伝資源を利用した機能性素材の開発、イノベーションジャパン2012、2012年9月27-28日、東京国際フォーラム(東京都)
- ⑤ 堀端章、薬用紫蘇への青色光補光がペリラルデヒド含有量に及ぼす効果、日本植物細胞分子生物学会、2011年9月8日、九州大学箱崎キャンパス(福岡県)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

堀端章 (HORIBATA AKIRA)

近畿大学・生物理工学部・講師

研究者番号：70258060

### (2)研究分担者

該当なし

### (3)連携研究者

松川哲也 (MATSUKAWA TETSUYA)

近畿大学・生物理工学部・講師

研究者番号：20351653