

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

堀端 章^{1,2}, 松川哲也¹, 矢田 清³

要旨

本研究は、機能性成分含有量の高い‘紀州在来薬用紫蘇’の自然光併用型植物工場での高効率生産を目的とする。自然光下（ガラスハウス内）で栽培している‘紀州在来薬用紫蘇’および‘赤ちりめんしそ’に青色 LED の光を 24 時間連続照射し、草丈、主茎節数および機能性成分の一種であるペリラルデヒドの含有量の変化を調査した。青色光補光による草丈の減少と主茎節数の増加が観察されたが、これらの変化は同時に観察された青色光補光による花成阻害に起因すると考えられた。一方、収穫された葉におけるペリラルデヒド含有量は青色光照射によって有意に増加した。

1. 緒論

紀の川流域では、生薬原料として古くからシソを栽培してきたが、この十数年の間に作付面積が減少して絶滅状態となっていた。矢田農園（和歌山県海南市）では、富山県で系統保存されていた‘紀州在来薬用紫蘇’の分譲を受け、紀北地域における産地の再生に取り組んでいる。

シソ（*Perilla frutescens*）の葉には、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）などの機能性成分が含まれており、漢方では生薬として解熱、鎮静、健胃などに適用される。近年、主要成分であるペリラルデヒドには、中枢神経抑制作用^①、抗鬱作用^② および血管拡張作用^③ が、またロスマリン酸には血糖値上昇抑制作用^④、抗鬱作用^⑤ およびアトピー性皮膚炎の軽減作用^⑥ などがあることも示されてきた。このようにシソは、現代において多くの患者を抱える不眠症、高血圧症、糖尿病、抑鬱症などの疾病に効果を顕すと期待される。しかも、元来食品であるため重篤な副作用は報告されていない。

しかしながら、これらの機能性成分は全てのシソにおいて一様に豊富に含まれるわけではない。薬用紫蘇と呼ばれる品種群では、一般に栽培されている食用のアオシソ（大葉、*Perilla frutescens* var. *crispa* f. *viridis*）や梅漬け用のチリメンシソ（*Perilla frutescens* var. *crispa* f. *crispa*）に比べて、これらの機能性成分の含有量が顕著に高い。2008 年、‘紀州在来薬用紫蘇’を和歌山県海南市内の 2 圃場で試作し、和歌山県工業技術センターに委託して精油含有量を分析したところ、同一圃場で栽培されたチリメンシソの 2 ないし 3 倍の精油を含むことが明らかになった（未公表データ）。そこで矢田農園では、この‘紀州在来薬用紫蘇’（アカシソ（*Perilla frutescens* var. *crispa* f. *purpurea*）に属する）を「蘇王」として商標登録を行い、その普及に努めている。

生薬としての「蘇葉」では、乾燥重量の 0.08%以上のペリラルデヒドを含むことが規定されている（第 16 改正日本薬局方）が、民間薬や保健食品に関する規定はなく、生薬と同等の高い濃度のペリラルデヒドを含む商品と、ほとんど含まない商品が混在して流通している。そこで筆者らは、機能性成分含有量の高い‘紀州在来薬用紫蘇’を大量に生産し、ジュースやサプリメントなどの保健食品として上市することを考えた。また、「健康増進」をキーワードにして市場展開するには、「無農薬であること」が強く求められると考えた。しかし、シソは病虫害に弱く薬剤散布が欠かせない。この点、植物工場のような施設内でシソを生産すれば、薬剤散布

原稿受付 2010 年 6 月 16 日

本研究は日本学術振興会科学研究費補助金 22658077 および近畿大学生物理工学部戦略的研究 No.09-IV-1, 2010 の助成を受けた。

1. 近畿大学生物理工学部 生物工学科, 〒649-6493 和歌山県紀の川市西三谷 930
2. 近畿大学先端技術総合研究所, 〒642-0017 和歌山県海南市南赤坂 14-1
3. 矢田農園, 〒640-0541 和歌山県海南市高津 4

の必要もなく、安全な生産物を安定的に供給することが可能になる。植物工場によるシソの生産を考えると、シソの精油が生殖生長期に入ってから急激に蓄積される⁽⁷⁾ことが問題となる。シソの通常栽培では、播種から収穫期まで数ヶ月を要する上、短日植物であるため年に1作しかできない。また、収穫期のシソの草丈は1m以上に達し、旺盛な分枝によってその幅も50cm以上になる。このような長い栽培期間と大きな植物体は、植物工場での生産効率を著しく低下させる。

一方、筆者らは、自然光条件下で栽培されている園芸作物に可視単色光補光を行うことで、その植物の特性を改善し得ることを示してきた。エンドウ (*Pisum sativum*) では、青色光照射によって生育量と生育速度が増加すること⁽⁸⁾および赤色光照射によって花成が促進されること⁽⁹⁾を明らかにした。また一般に、青色光照射は植物の二次代謝に影響を及ぼし、着色や有用成分の増加をもたらす⁽¹⁰⁾とされている。アカシソ (*Perilla frutescens* var. *crispa* f. *purpurea*) ではアントシアンの生成⁽¹¹⁾が、スイートバジル (*Ocimum basilicum*) では香り成分の増加⁽¹²⁾、レモンバーム (*Melissa officinalis*)、アオジソなどではロスマリン酸の増加⁽¹³⁾がそれぞれ報告されている。‘紀州在来薬用紫蘇’においても、青色光を照射することによって、二次代謝産物である機能性成分の増加が期待される。この観点から本研究では、自然光条件下で栽培されているシソに高輝度LEDによる青色光補光を行って、シソの生育と機能性成分の蓄積に与える効果を観察した。

2. 材料と方法

2. 1 照射装置

補光用光源として、W 1200 mm×D 600 mm のスチールメッシュに 230 個の高輝度青色 LED (CH-HB3B、460 nm、3.3 V、30 mA、2000-3000 mcd、株式会社ピースコーポレーション) を配した LED パネル 2 枚を製作した。パネル上の LED の間隔は 50 mm、5 個の LED を直列につないだユニット、合計 46 ユニットの 15 V 直流電源に並列に接続した。製作したパネル 1 枚あたりの消費電力はおおよそ 20 W になる。前述のように、シソでは虫害が著しいため青色光補光区および対照区の各々を W 1300 mm×D 1300 mm×H 1500 mm の木骨枠で囲い、防虫ネットで覆った。青色光補光区では、上述の LED パネルを 1400 mm の高さに設置した。図 1 は製作した LED パネルならびに照射装置の外観である。LED パネル中央部直下の 600 mm および 1200 mm の位置における青色光強度を測定したところ、600 mm では $14.7 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、1200 mm では $9.5 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ であった。LED の光は拡散しにくいいため、光源からの距離による光強度の変化は小さく、栽培期間を通じてシソの草冠部には $10 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 程度の青色光が継続的に照射されたと考えてよい。



図 1 作成した LED パネル(左)と照射装置の外観(右)

2. 2 栽培試験

‘紀州在来薬用紫蘇’および対照品種として‘ちりめん赤しそ’（株式会社サカタのタネ）を供試した。6月18日に両系統160粒を5cm×5cmの育苗ポットに1粒ずつ播種した。出芽が揃った7月5日、平均的な80個体を選抜して、青色光補光区および対照区に40個体ずつを配置し、青色光補光区では青色光の連続照射を開始した。シソが生長するにつれてより大きなポットに移植し、最終的には処理区ごとに平均的な16個体を選んで直径24cmの菊鉢に移植した。栽培期間中は、青色光の照射光量を均等にするため、定期的にポットの位置を入れ替えた。また、ヨトウムシ防除のため7月11日および8月20日にプレオフロアブル（住友化学株式会社）を散布した。

7月20日から10月10日までの間、5日ごとに各区16個体について草丈（地際から最上位葉の基部まで）および主茎節数を調査した。葉に含まれる機能性成分の含有量を調査するため、10月12日以降の数日にかけて主茎の葉を個体別かつ節位別に採取した。採取した葉は、室温で風乾した後、10℃、湿度30%の保冷庫内で保管した。

2. 3 機能性成分の抽出と定量

シソの主な機能性香り成分であるペリラルデヒド、ペリラルコールおよびリモネンの3種について、メタノールに溶解した標品をガスクロマトグラフにかけて検量線を作成した。ガスクロマトグラフの分析条件は表1に示すとおりである。

ミキサーミルを用いて粉碎した乾燥葉の粉末200mgをマイクロチューブに入れ、HPLC用のメタノール1mlを加えてよく攪拌した後、冷蔵庫内で24時間静置してメタノール可溶性成分を抽出した。粉末の重量が200mgに満たない場合には、加えるメタノールの量をサンプルの重量に応じて減らした。静置後、3000rpmで5分間遠心分離し、上澄みを0.2μmシリンジフィルターで濾過した。濾液2μlを直接ガスクロマトグラフに導入して分析した。分析は1サンプルにつき2回行った。

表1 シソの機能性成分のGC分析条件

ガスクロマトグラフ	GC-14B（島津製作所）
カラム	Quadrex 23（50m、0.25mmI.D、0.25μm Film）
キャリアガス	ヘリウム
インジェクションポート温度	280℃
ディテクションポート温度	280℃
カラム温度	100℃から250℃に15分かけて昇温

3. 結果

3. 1 青色光補光がシソの生育に及ぼす影響

図2は、各試験区における‘紀州在来薬用紫蘇’および‘ちりめん赤しそ’の草丈および主茎節数の推移（16個体の平均値）を示している。供試両系統ともに、栽培期間の前半では青色光補光区の草丈は対照区よりも高く、9月上旬を境とする後半では逆に対照区の方が高くなった。一方、主茎節数については、9月中旬から対照区では増加がみられなくなったのに対して、青色光補光区ではゆっくりと増加し続けた。このように、青色光補光によってシソ植物の形態的变化が生じた。図3は、栽培試験終了時（10月12日）における‘紀州在来薬用紫蘇’の写真である。対照区では、主茎および側枝の先端に大きな花穂が形成されているが、青色光補光区では全ての個体で大きな花穂は認められず、第4節よりも下位の側枝の先端に

著しく小さな花芽を認めるのみであった。このことから、対照区では、頂芽の花芽への転換、すなわち、栄養生長から生殖生長への転換が起こったため、新たな節の形成が停止するとともに、上位節における節間伸長が誘導されて草丈が急伸し、一方、青色光補光区では、茎頂に花芽の代わりに新たな節が形成され続けたために節数の増加が続き、また花芽による節間伸長の誘導が行われなかったために草丈の伸長がゆるやかになったと考えられた。同様の青色光補光による花成阻害は‘ちりめん赤しそ’にも認められた。このように、青色光の連続照射は‘紀州在来薬用紫蘇’および‘ちりめん赤しそ’の花成を著しく阻害することが明らかになった。

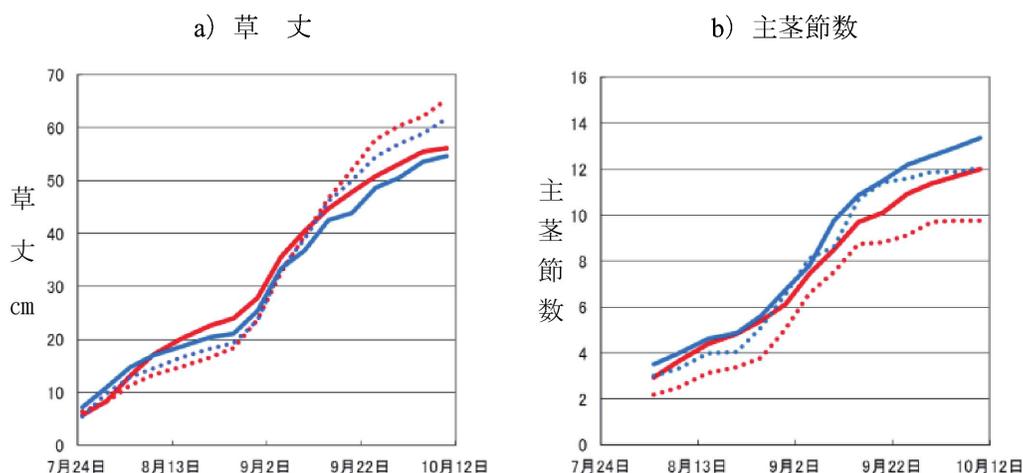


図2 ‘紀州在来薬用紫蘇’および‘ちりめん赤しそ’における草丈および主茎節数の推移 (16個体の平均値)

‘紀州在来薬用紫蘇’ : ——— 青色光補光区 対照区
 ‘ちりめん赤しそ’ : ——— 青色光補光区 対照区

3. 2 青色光補光がシソの機能性成分含有量に及ぼす影響

予備試験として、‘紀州在来薬用紫蘇’および‘ちりめん赤しそ’のメタノール抽出液をガスクロマトグラフにかけ、得られたピークとペリラルデヒド、ペリラルコールおよびリモネンの標品のピークを比較したところ、両系統ともに、ペリラルコールおよびリモネンをほとんど含まないことが明らかになった。したがって、本研究では機能性成分としてペリラルデヒド（以下 PA）のみを調査対象とした。クロマトグラムには、この PA の他に PA と同程度に大きなピークが認められたが、その物質の同定は行わなかった。

図4は、青色光補光区および対照区の‘紀州在来薬用紫蘇’および‘ちりめん赤しそ’の主枝について、節位ごとに採取した葉における PA 含有量（青色光補光区については無作為に選んだ6個体、対照区については15個体の平均値）を示している。青色光補光区の‘紀州在来薬用紫蘇’における第7節から第9節の葉、および‘ちりめん赤しそ’における第7節の葉は、既に枯れていてデータを得ることができなかった。まず、対照区の第8節から第11節について‘紀州在来薬用紫蘇’と‘ちりめん赤しそ’の PA 含有量の違いをみると、‘紀州在来薬用紫蘇’の PA 含有量はおよそ $1.5 \mu\text{l/g}$ であるのに対して、‘ちりめん赤しそ’は $0.5 \mu\text{l/g}$ に満たなかった。‘紀州在来薬用紫蘇’では‘ちりめん赤しそ’よりも2節多く葉が展開する（図2-b）ことを考慮すると、‘紀州在来薬用紫蘇’の全体としての PA 含有量は‘ちりめん赤しそ’の5倍以上と推定される。ここで PA の生産性に関する‘紀州在来薬用紫蘇’の優位性が改めて示された。なお、蘇葉の PA 含有量に関する規定値「0.08%以上」を換算すると「 $0.84 \mu\text{l/g}$ 以上」となる。



図3 ‘紀州在来薬用紫蘇’に形成された花穂（10月12日撮影）

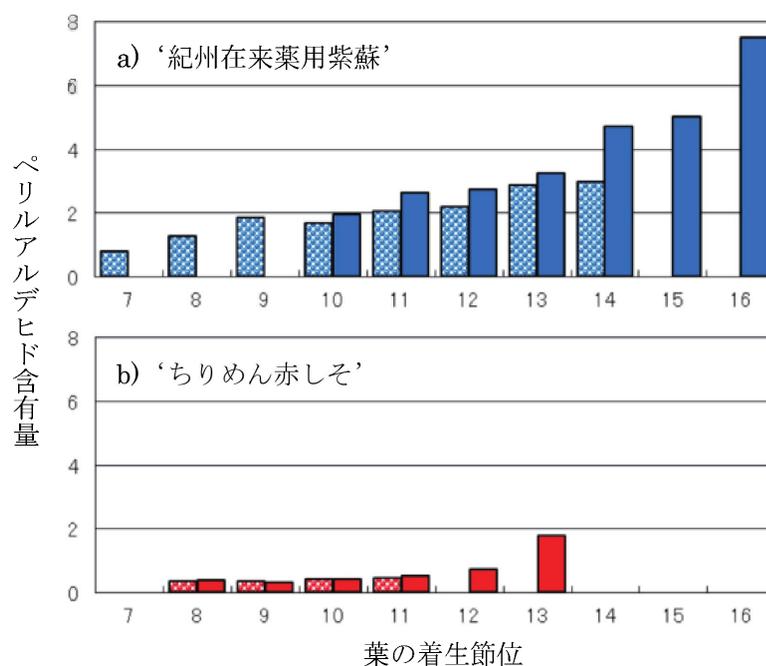


図4 各節位の葉におけるペリラルデヒド含有量 ($\mu\text{l/g}$ 乾燥葉)
(青色光補光区については6個体、対照区については15個体の平均値)

青色光照射区：■、■
対照区：■、■

ついで、青色光補光区と対照区とを比較した。‘紀州在来薬用紫蘇’では、同じ節位の葉（第10節から第14節）におけるPA含有量は青色光補光区が対照区よりもわずかに高い程度であったが、花芽形成のため対照区には存在しない第15節および第16節の葉においては、平均6 μg を超える高いPA含有量が示された。一方‘ちりめん赤しそ’では、同じ節位の葉（第8節から第11節）におけるPA含有量は青色光補光によってほとんど変化しなかった。青色光補光区の第12節および第13節のPA含有量は、第11節以下の葉よりも増えており、‘紀州在来薬用紫蘇’と同様の傾向が認められたが、その量は2 μg を超えなかった。このように、青色光補光は‘紀州在来薬用紫蘇’および‘ちりめん赤しそ’のPA含有量を増加させることが明らかになった。

4. 考察

本実験の結果、自然光下で栽培されているシソに青色光の連続照射を行うと、花成が著しく阻害されるほか、機能性成分の一つであるPAの含有量が増加することが示された。

まず、青色光による花成の阻害に関して、青色光補光下で栽培した‘紀州在来薬用紫蘇’および‘ちりめん赤しそ’の一部個体について12月中旬まで同条件下で栽培を継続したが、頂芽における花成は認められなかった。この結果から、シソの花成に関して青色光照射は決定的な作用をもつと考えられる。一般に、シソのような短日植物の花成は赤色光受容体であるフィトクロムを介して制御されており、白色光や赤色光による長日処理は花成を遅延させることが知られている。このフィトクロムの第1吸収ピークは赤色域（Prで670 nm、Pfrで730 nm）にあるが、紫外から青色域にも第2吸収ピーク（Prで410 nm、Pfrで380 nm）があり⁽¹⁴⁾、本実験で用いた460 nm付近ではPrの吸光度がPfrよりも高い。したがって、照射した青色光はフィトクロムに受容され、赤色光と同様の作用をもたらす可能性がある。また、シロイヌナズナにおける青色光受容体CRY1やCRY2の機能欠損型変異体では長日条件下で花成が遅延する⁽¹⁵⁾ことから、青色光も日長反応に関わると考えられている。概日時計の下流に位置するCONSTANSの発現は、シロイヌナズナのような長日植物では花成促進に、イネのような短日植物では花成抑制にはたらく⁽¹⁶⁾ため、短日植物であるシソでも青色光照射による長日条件は花成抑制にはたらくことも考えられる。

一方、青色光によるPA含有量の増加に関しては、これが青色光の直接的作用であるか否かについて議論の余地がある。すなわち、シソの香りの主成分であるPAは揮発性であるため、葉が成熟・老化するにつれて減少する。対照区では茎頂部に花穂が形成されたため、採取された葉は比較的成熟しているのに対して、青色光補光区では花穂が形成されずに葉を生じ続けたため、高節位の葉は若く、多量のPAを含むことになる。図4において、同じ節位の葉の間ではPA含有量がそれほど変化しなかったことから、この可能性は支持される。

また、シソの精油は幼植物にも含まれているが、その蓄積が顕著になるのは生殖生長期に入ってからである。本実験では、青色光の作用によって生殖生長期に入らなかったにもかかわらず、特に‘紀州在来薬用紫蘇’では高いPA含有量が観察されている。上述のように議論の余地があるものの、青色光補光によって栄養生長期のPA含有量が増加するならば、植物工場における‘紀州在来薬用紫蘇’の栽培期間を大幅に短縮することが可能になる。この点については、栄養生長期の青色光補光がPA含有量に及ぼす短期的な効果、および、生殖生長期の青色光補光がPA含有量に及ぼす短期的な効果を各々調査することによって明らかにする必要がある。

5. 結論

自然光下で栽培されているシソへの青色光連続照射はシソの花成を顕著に阻害した。シソの植物工場による周年栽培を考えると、短日条件となる冬季には植物体が小さいまま開花に至るため十分な収量が得

られない可能性がある。青色光補光は、このような場合の花成抑制法として利用できる。一方、青色光補光によって PA 含有量は増加するが、その機作については検討を要する。

6. 参考文献

- (1) 菅谷愛子、津田整、小淵忠 (1981) 蘇葉の薬理学的研究(第 1 報)水性エキスおよび Perillaldehyde の神経系に対する作用、薬学雑誌 101(7), 642-648.
- (2) Takagi, S., H. Goto, Y. Shimada, K. Nakagomi, Y. Sadakane, Y. Hatanaka and K. Terasawa (2005) Vasodilative effect of perillaldehyde on isolated rat aorta. *Phytomedicine* 12(5), 333-337.
- (3) Ito, N., T. Nagai, T. Oikawa, H. Yamada and T. Hanawa (2008) Antidepressant-like effect of l-perillaldehyde in stress-induced depression-like model mice through regulation of the olfactory nervous system. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2011*, Article ID 512697, 5 pages.
- (4) 東野英明、木下孝昭、栗田隆、濱田寛、江藤浩市、福永裕三 (2011) ロスマリン酸を多く含むシソ抽出物のラットでの血糖値上昇抑制作用、日本食品化学工学会誌 58, 164-169.
- (5) Takeda, H., M. Tsuji, M. Inazu, T. Egashira and T. Matsumiya (2002) Rosmarinic acid and caffeic acid produce antidepressant-like effect in the forced swimming test in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 449(3), 261-267.
- (6) 三本木千秋、越阪部奈緒美、佐々直子、夏目みどり、高野裕久、吉川 敏一 (2002) アトピー性皮膚炎モデルを用いた赤シソ抽出物の抗アレルギー効果の検討、アレルギー 51(9,10), 949.
- (7) 吉田照雄、森定聡、亀岡和雄 (1969) 香料用青シソの腺鱗分布と精油蓄積について、日本作物学会紀事 38, 333-337.
- (8) 堀端章、伊東卓爾、渡辺俊明、松本俊郎 (2004) 未明の青色光短時間照射がエンドウの生育に及ぼす影響、近畿大学生物理工学部紀要 14, 17-22.
- (9) 堀端章、小谷真主、加藤恒雄、伊東卓爾、辻和良、神藤宏、谷口輝樹、渡辺俊明、松本俊郎 (2010) 作物生産における太陽エネルギーの分割利用—単色光照射がエンドウの生産性に及ぼす影響—、太陽/風力エネルギー講演論文集 2010, 509-512.
- (10) 後藤英司 (2008) 高品質作物生産のための光環境制御、日本農業気象学会大会講演要旨 08sp, 118-125.
- (11) 岩井万祐子、太田万理、土屋広司、鈴木鐵也 (2009) 幼植物期のアカシソにおけるアントシアニン生成向上への青色と蛍光灯の同時照射効果、植物環境工学 21(2), 51-58.
- (12) 武市真吾、秋間和広 (2008) 高付加価値植物栽培用光源としての LED の可能性、アグリフォトニクス—LED を利用した植物工場をめざして—(後藤英司 監修)、pp.215-227、シーエムシー出版
- (13) 中部電力株式会社、財団法人電力中央研究所 (2007) シソ科植物の栽培方法、特開 2007-68512.
- (14) 徳富哲 (2001) フィトクロム分子と光反応、植物の光センシング—光情報の受容とシグナル伝達—(和田正三、徳富哲、長谷あきら、長谷部光泰 監修)、pp.46-57、秀潤社
- (15) Bernier, G. and C. Périlleux (2005) A physiological overview of the genetics of flowering time control. *Plant Biotechnology Journal* 3, 3-16.
- (16) 井澤毅 (2001) 光シグナルによる花成誘導—植物はいかに日の長さを測るのか—、植物の光センシング—光情報の受容とシグナル伝達—(和田正三、徳富哲、長谷あきら、長谷部光泰 監修)、pp.124-133、秀潤社

英文抄録

The Effect of the Blue LED Supplemental-lighting on Growth and the Content of Functional Chemical Components of the Native Medicinal Perilla (*Perilla frutescens*), 'Kishu-zairai'Akira Horibata^{1,2}, Tetsuya Matsukawa¹, Kiyoshi Yata³

Two cultivars of perilla, 'Kishu-zairai' (*Perilla frutescens* var. *crispa* f. *purpurea*, red smooth leaf) and 'Aka-chirimen-shiso' (*Perilla frutescens* var. *crispa* f. *crispa*, red wrinkled leaf), were grown in a greenhouse and were lighted continuously by blue LEDs (460 nm, approximately 10 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$). As a result, it was revealed that the blue supplemental-lighting reduced the plant height and increased the number of nodes on main stem in both kind of perilla. These two phenomena were thought to be associated with the inhibition of flower formation by the blue supplemental-lighting. While, the content of perillaldehyde (a kind of functional chemical component) in harvested leaves was increased by the blue supplemental-lighting.

1. Department of Biomedical Engineering, Kinki University, Wakayama 649-6493, Japan

2. Institute of Advanced Technology, Kinki University, Wakayama 624-0017, Japan

3. Yata Nursery, Wakayama 640-0541, Japan