

ヘラオオバコ (*Plantago lanceolata* L)
の機能性成分蓄積に及ぼす生育季節, 気象と栽培要
因の影響ならびに遺伝的変異

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2019-03-22 キーワード (Ja): キーワード (En): <i>Plantago lanceolata</i> , Bioactive compounds, Catalpo1, Aucubin, Acteoside, Seasonal changes, Air temperature, Light intensity, Nitrogen application, Genetic variation 作成者: 田村, 良文 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24514/00001158

ヘラオオバコ (*Plantago lanceolata* L.) の機能性成分蓄積に 及ぼす生育季節, 気象と栽培要因の影響ならびに遺伝的変異

田村良文*¹⁾

抄録: 安全で安心な畜産物の生産のために抗生物質や動物用医薬品の投与低減が求められている。ハーブ(生薬)の利用はこの一つの方法として注目されている。そこで、飼料用ハーブであるヘラオオバコ(*Plantago lanceolata* L.) について、ニュージーランドで育成された2品種(Ceres Tonic及びGrasslands Lancelot)と東北地域の1エコタイプを用い、主要な3種の機能性成分、すなわち、利尿や抗炎症等の作用を有するCatalpolとAucubin及び抗酸化等の作用を有するActeosideの蓄積の季節変化、蓄積に及ぼす気象要因と窒素施用の影響及び蓄積の品種・エコタイプ間内変異を検討した。その結果、季節変化についてはCatalpolはAucubinとActeosideに比較して含有率が低く変化が少ないこと、AucubinとActeosideは夏期高温時に蓄積が停滞あるいは低下し、Aucubinは9月下旬に、Acteosideは10月下旬に含有率が最も高まることを認めた。人工気象室で生育気温(昼温/夜温)を20°C/18°Cと15°C/10°Cとした結果、CatalpolとAucubinは前者の気温条件で、一方、Acteosideは後者の気温条件で含有率が高まった。Catalpol, AucubinとActeosideでは気温に対する蓄積反応が異なることが示された。遮光による光量の低下及び多窒素施用によりAucubinとActeoside含有率は顕著に低下するが、Catalpolはほとんど変化しないことを認めた。さらに、Catalpol, Aucubin, Acteoside蓄積の品種・エコタイプ間内の遺伝変異が大きく、エコタイプはAucubinとActeoside蓄積に優れた品種育成の素材として有望なことを明らかにした。

キーワード: ヘラオオバコ, 機能性成分, Catalpol, Aucubin, Acteoside, 季節変化, 気温, 光量, 窒素施肥, 遺伝変異

Environmental changes and genetic variation of accumulation of bioactive compounds in Plantain (*Plantago lanceolata* L.). : Yoshifumi TAMURA *¹⁾

Abstract : Environmental changes and genetic variations in the concentrations of the bioactive compounds catalpol, aucubin and acteoside in plantain leaves were investigated using two cultivars and one ecotype. Aucubin concentrations were the highest in mid fall when air temperature was around 20°C, whilst acteoside concentrations increased as the air temperature declined to around 10°C in the late fall. There were no clear-cut seasonal changes in catalpol. The concentrations of aucubin were higher in the plants grown under 20/18°C day/night temperatures than in the plants grown under 15/10°C, whilst acteoside fluctuated in the opposite direction in relation to these temperature regimes. The plants grown under high light intensity and low nitrogen application accumulated more bioactive compounds than those grown under low light intensity and high nitrogen application. Therefore, plants containing high amounts of bioactive compounds will be produced by low nitrogen application and harvesting in late fall. Concentrations of catalpol, aucubin and acteoside displayed large genetic variation within and between cultivars and ecotype. Aucubin content in the ecotype was significantly higher than that in the cultivars. The ecotype used in this study will be useful for breeding cultivars containing high amount of bioactive compounds.

Key Words : *Plantago lanceolata*. Bioactive compounds, Catalpol, Aucubin, Acteoside, Seasonal changes, Air temperature, Light intensity, Nitrogen application, Genetic variation

*1) 東北農業研究センター (National Agricultural Research Center for Tohoku Region, Morioka, Iwate, 020-0198, Japan)

2001年6月25日受付, 2002年3月25日受理

I 緒 言

安全で安心な食品の生産が消費者から強く求められ、農薬等を使用しない有機農産物の生産が必要となっている。特に畜産物については、家畜の病気予防や治療のために用いられている抗生物質や動物用医薬品の食肉等への残留問題から、その投与を減らすことが世界的な動きとなっている。特に欧州連合ではこの規制が厳しく、抗生物質の家畜への投与が人の病原菌に薬剤耐性を生じる恐れがあることから1999年7月以降は、抗生物質については4種を残して投与が禁止されている。また、投与が認められているものについてもその残留性や人に対する影響について厳重な調査がなされることとなっている。

このような法的規制の動向に対応して、抗生物質の使用を減らすために民間飼料メーカーを中心として抗生物質に代わりうる有機酸、生菌剤、オリゴ糖、酵素剤の利用開発研究が進められている。さらに、近代的医薬品の起源であるハーブと植物エキスを用いる“オール自然 (all-natural) 飼料添加物”が注目されている (Gill 1999)。ハーブは生薬、香料、呈味料として利用される植物の総称である。さらに、家畜の健康を維持し、医薬品や抗生物質の利用を削減することができると考えられるため、その家畜への利用研究が進んでいる。既に、民間ではハーブを飼料に添加して抗生物質の使用を抑えた飼料も開発・利用している。

ヘラオオバコ (*Plantago lanceolata* L.) は古くより生薬として利用されているオオバコ属の植物である。人間に対する薬効と安全性が認められ、主にヨーロッパで医療薬あるいは健康茶として利用されている (Blumenthal 1998, Sticher 1976)。また、ニュージーランドでは家畜を健康にすると考えられていることから飼料用の2品種が育成され、利用されている (Rumball et al. 1997, Stewart 1996)。家畜の成長及び生理代謝等との関係については、増体はマメ科牧草やチコリーに比較して劣るが (Fraser and Rowarth 1996, Robertson et al. 1995)、腎機能の向上や脂肪含量と肉臭の少ない肉生産に役立つことが明らかにされている (Deaker et al. 1994, Fraser et al. 1996, Katoch et al. 1978)。さらに、佐野ら (1998) はヘラオオバコ給与により羊のインスリン作用が高まることを報告している。著者ら (2001) も、短期間の試験ではあるが、山羊の生理

代謝の改善に効果があることを認めた。また、寄生虫に対する殺虫効果についても研究が進められている (Barry 2001, Gustine et al. 2001)。

生薬における機能性の解明と機能性成分の探索については生薬学分野で極めて多くの研究が行われている (Chang et al. 1984, 原田1989, 石黒ら1982, Recio et al. 1993, Sticher 1976)。特にオオバコ属植物については、これまでに多くの詳細な研究が行われており、利尿作用、抗炎症作用、抗酸化作用、抗菌作用、抗アレルギー作用等が明らかにされている (川村ら1998, Marchesan et al. 1998, Murai et al. 1995, 西部・村井1995, 西部ら1999, 野呂ら1991, Toda et al. 1985)。ヘラオオバコについては利尿作用を有する Catalpol, 抗炎症等の作用を持つ Aucubin, 抗酸化や抗菌作用を有する Acteoside 等を蓄積することが明らかにされている (西部・村井1995)。Catalpol は日本薬局方に収載されているキササゲに含まれる利尿成分の一つである。Aucubin は尿酸の排泄を促進することも明らかにされている (加藤1944)。また、Acteoside は抗酸化活性が特に高いことが明らかにされている (Wang et al. 1996, Zhou and Zheng 1991)。なお、Catalpol と Acteoside はイリドイド配糖体に、Acteoside はフェニルエタノイド配糖体に属し、それぞれの化学構造は Fig. 1 の通りである。

このように生薬における機能性成分の探索とその作用特性・機作に関する研究は極めて多い。しかし、いずれの生薬についても、それを利用する上で極めて重要な意味を持つと考えられる機能性成分蓄積の季節変化や気象要因あるいは栽培条件による変動に

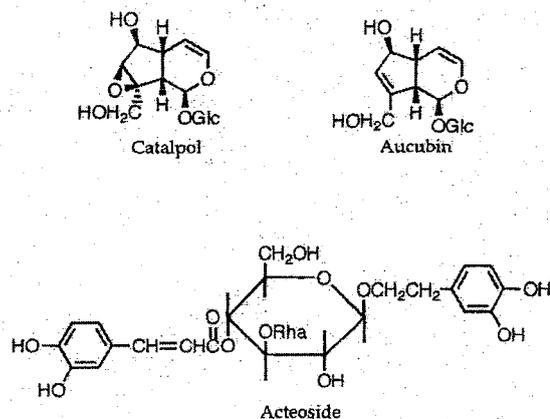


Fig. 1. The structures of catalpol, aucubin and acteoside.
Glc : glucosyl, Rha : rahnmosyl

についての農学的な研究は少ない。また、機能性成分蓄積の遺伝的な変異については、作物として栽培される生葉が少ないこともあり、ほとんど研究がなされていない。

ヘラオオバコが家畜の成長や生理代謝にどのような効果を持つかについては先に述べた報告があり、多種類の機能性成分を蓄積するヘラオオバコを家畜に給与して生理代謝を改善して健康にし、高品質で安全、安心な畜産物の生産を行うことが出来よう。

本研究では機能性の高いヘラオオバコを生産するために、本草種が蓄積する機能性成分のうち、主要な3種、即ち Catalpol, Aucubin 及び Acteoside について(西部・村井1995)、蓄積の季節変化、蓄積に及ぼす気象要因と栽培条件の影響、並びに蓄積力の遺伝的変異について検討した。得られた結果は機能性の高いヘラオオバコを生産する上で貴重な知見になると考えられるのでここに報告する。

本研究の実施に当たり、北海道医療大学の西部三省教授より有益な御助言を賜り、また、Acteosideの標準品を提供して頂いた。衷心より深く謝意を表したい。東京大学の海老原豊教授、岐阜薬科大学の井上謙一郎教授からは貴重な御教示を頂いた。東北農業研究センターの名久井忠畜産草部部長には論文取りまとめに当たり、懇切な御指導を賜った。これらの方々に、記して深謝の意を表する。また、本研究は東北農業試験場(現東北農業研究センター)の斉藤照雄氏、吉澤信行氏、高橋正行氏の協力のもとに実施したものである。心より感謝申し上げる。

II 機能性成分蓄積の季節変化

1. 目的

ヘラオオバコを家畜の生理代謝を改善し、医薬品や抗生物質の利用を低減するための機能性飼料として利用するためには、機能性成分含量の高い時期に刈り取りを行うことが必要である。そして乾燥し、粉末や固形のペレットに調製加工して利用することが考えられる。このためには、生育季節の推移に伴ってヘラオオバコの機能性成分含有率がどのように変化するかを明らかにしておく必要がある。

そこで、本試験ではこれまでに育成された2品種を供試し、主要な3種の機能性成分である Catalpol, Aucubin 及び Acteoside 蓄積の生育季節の推移にともなう変化を追跡調査した。

2. 材料と方法

ニュージーランドで育成された2品種; Ceres Tonic 及び Grasslands Lancelot (Rumball et al. 1997, Stewart 1996) を供試し、2000年4月26日に東北農業試験場試験圃場に10a 当たり1.5kgを播種した。施肥量は10a 当たりで N7.5, P₂O₅10.0, K₂O7.5kgである。試験区は1区6 m²の3反復とした。調査を各試験区の一部(20cm×20cm)につき、6月20日から10月24日まで2週間ごとに実施した。すなわち、調査期毎に試験区内の調査場所を変えてヘラオオバコを地上5cmで刈り取り、葉と花茎に分け、葉については Catalpol, Aucubin 及び Acteoside の分析のために2~3mmに切断して凍結乾燥機で乾燥した。花茎については70℃に設定した通風乾燥機で恒量に達するまで乾燥して乾物重を秤量した。草丈を刈り取り前に調査した。

Catalpol, Aucubin 及び Acteoside の分析を葉について、凍結乾燥試料を振動式粉砕器により微粉碎し、HPLCを用いて行った(原田1989, 川村ら1998)。すなわち、微粉碎試料250mgに、メタノール25mlを加えて室温で60分間振盪し、Catalpol, Aucubin 及び Acteoside を抽出した。Catalpol と Aucubin は市販の標準品を用い絶対検量線法により定量した。HPLC条件は検出波長: 204nm, カラム: YMC-pack ODS-A, 100mm×6.0mm, カラム温度: 40℃, 移動相: 2%アセトニトリル, 流速: 1.0ml/min, 注入量: 20 μl である。Acteoside はシナレンギョウ (*Forsythia viridissima* Lindl.) から単離したものを標準品として絶対検量線法により定量した。HPLC条件は検出波長: 330nm, カラム: YMC-pack ODS-A, 100mm×6.0mm, カラム温度: 40℃, 移動相: 水/メタノール/酢酸混液 (14: 6: 1), 流速: 1.0ml/min, 注入量: 10 μl である。装置は島津 SCL-10A システムコントローラとオートインジェクター, LC-10AD ポンプ, SPD-10A 検出器, CTO-10A オープン, C-R7A クロマトパックを用いた。この方法による標準品と分析試料のクロマトグラムを Fig. 2 及び Fig. 3 に示した。図に見られるように Catalpol, Aucubin 及び Acteoside の分離は良好であった。

Catalpol, Aucubin 及び Acteoside の蓄積と気象要因との関係を検討するために、東北農業試験場地域基盤研究部気象評価制御研究室測定の日平均気温及び日射量を利用した。

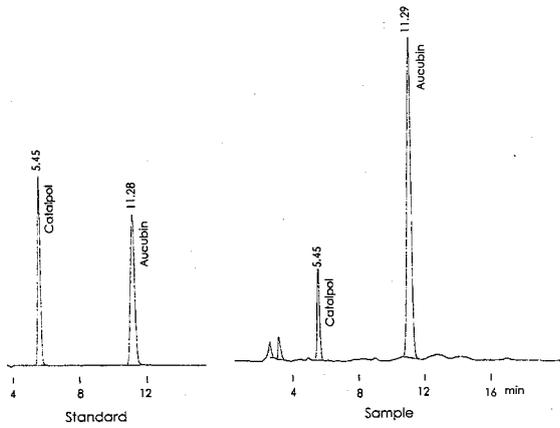


Fig. 2. High-performance liquid chromatography (HPLC) chromatograms of catalpol and aucubin for standard and a sample.

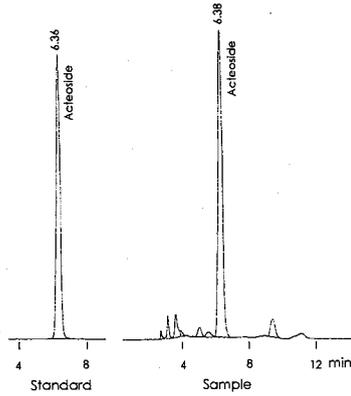


Fig. 3. High-performance liquid chromatography (HPLC) chromatograms of acteoside for standard and a sample.

3. 結果

調査日前14日間の日平均気温及び日射量を Fig. 4 に示した。日平均気温は6月20日調査時点では19℃程度であり、その後、夏季にかけて25℃程度まで上昇し、秋季に次第に低下した。最終調査時(10月24日)では10℃程度まで低下した。日射量は6月20日から盛夏期に高く、秋季に低下した。特に、8月29日調査から9月12日調査にかけて急激に低下したことが認められる。

調査期間中の草丈の推移を Fig. 5 に示した。両品種とも、6月20日では30cm程度であったが、その後、伸長を続け、8月1日には Ceres Tonic で47.7 cm, Grasslands Lancelot で52.3cm に達した。この後、10月24日を除き Ceres Tonic では41.7~51.0cm, Grasslands Lancelot では46.0~55.3cm の草丈で推移した。10月24日では、特に Ceres Tonic で草丈が

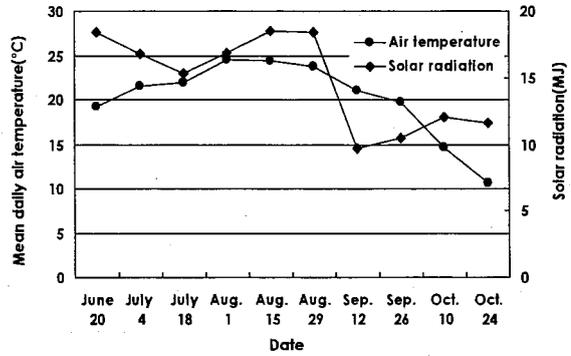


Fig. 4. Changes in mean daily air temperature during the experimental period, 2001. Means of 14 days before each harvest date are shown.

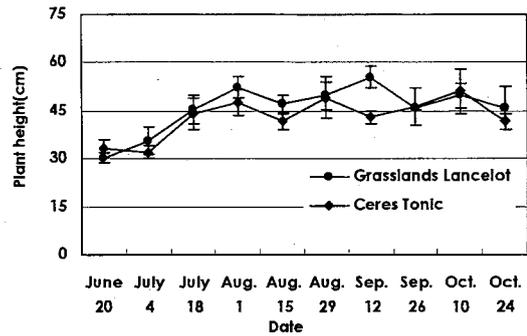


Fig. 5. Changes in plant height during the experimental period, 2001. Means of 10 plants. The vertical bars represent standard deviation of the mean.

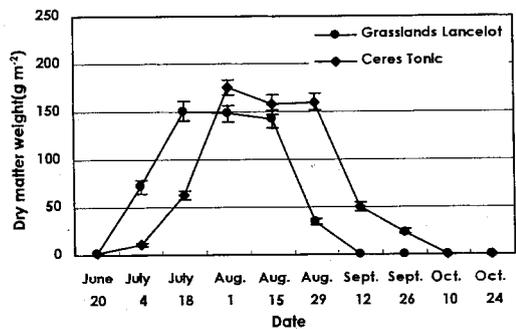


Fig. 6. Changes in dry weight of the reproductive stalks during the experimental period, 2001.

低かったが、これはこの時期の低温により葉の先端が枯死したためである。以上の草丈の推移から両品種とも8月1日には最大の生長に達したと考えられる。花茎重の調査期間中における推移を Fig. 6 に示した。両品種において、6月20日には花茎はほと

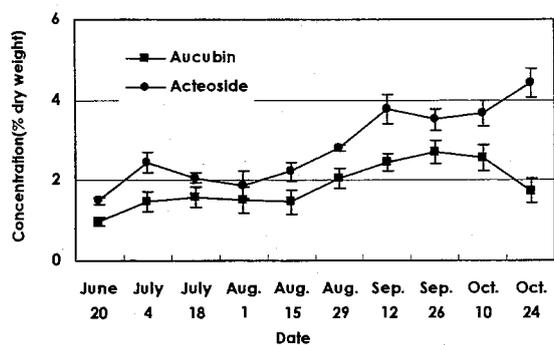


Fig. 7. Changes in the concentrations of aucubin and acteoside in leaves of *plantago lanceolata* L. cv Ceres Tonic during the experimental period, 2001. The vertical bars represent standard deviation of the mean.

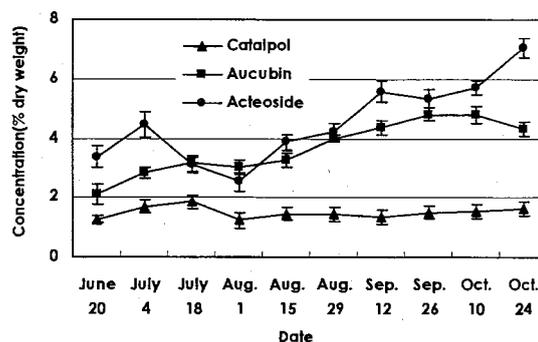


Fig. 8. Changes in the concentrations of catalpol, aucubin and acteoside in leaves of *plantago lanceolata* L. cv Grasslands Lancelot during the experimental period. The vertical bars represent standard deviation of the mean.

んど認められなかった。その後、Ceres Tonicでは急激な増加が見られ、7月18日に最大に達し、8月15日まではほぼ一定の値を示した。以後、急激に低下し、9月26日では花茎はほぼ見られなかった。Grasslands Lancelotでも同様な推移の傾向であったが、Ceres Tonicに比較して2週間程度の遅れが見られた。Ceres Tonicは早熟であり、一方、Grasslands Lancelotは晩熟の品種であることが分かった。

Catalpol, Aucubin及びActeosideの含有率をCeres TonicについてFig. 7に、Grasslands LancelotについてFig. 8に示した。Ceres TonicはCatalpolを蓄積しない特異な品種であることがこれまでの報告(Toom and Poms 1988)と同様に認められた。また、AucubinとActeosideについても、同様に、Ceres Tonicに比較してGrasslands Lancelotで含有率が高いことが認められた。

季節変化について見ると、CatalpolはAucubin及びActeosideに比較して含有率が明らかに低く、1~2%の範囲で推移した。そして、6月20日から7月18日にかけて増加、8月1日に低下し、その後10月24日にかけて僅かながら増加する傾向を示した。この季節変化はAucubinとActeosideに比較して少なかった。Aucubin含有率は6月20日から7月18日にかけて高まり、この後、8月15日まではほぼ一定の含有率を示し、8月29日から9月26日にかけて再び高まった。そして10月10日以降は減少を示し、10月24日には顕著に低下した。ActeosideはCeres Tonicでは調査期間中に1.5%から4.1%に、Grass-

lands Lancelotでは3.4%から7.1%に高まった。しかし、その増加は単調ではなく、7月18日から8月15日には明瞭に低下し、9月12日では他の調査期に比較して相対的に高い含有率を示した。この季節変化の傾向は両品種とも同様であった。

4. 考察

機能性成分含量の高いヘラオオバコを生産するためには、機能性成分蓄積の季節変化を明らかにし、その含量の高い時期に収穫することが必要である。この季節変化には作物の生育段階や気温、日射量等の環境要因が関係していると考えられる。

そこで、本研究では、ヘラオオバコにおける主要な3種の機能性成分の季節変化を気象要因との関係で検討した。その結果、Catalpolの含有率は、Aucubin及びActeosideの含有率に比較して明らかに低く、季節変化も明瞭でなかった。先に述べたが、CatalpolとAucubinはイリドイド配糖体に属する。また、CatalpolはAucubinを先駆物質として生合成されることが明らかにされている(Damtoft et al. 1983)。本研究において、Catalpolの含有率が低く、季節変化も明瞭でなかったのはこのことに起因すると考えられる。すなわち、Catalpolの生合成はAucubinが生合成されると共に進行し、低濃度で飽和に達するためと考えられる。

Aucubinの含有率はほぼ一定の値で推移した盛夏期を除き、6月20日から9月26日にかけて上昇した。一方、日平均気温が10℃程度に低下した10月10日~10月24日にかけては顕著に低下した。そして、両品種とも気温が20℃程度に低下した9月下旬に最も高

い値を示した。後節で述べるが、著者らは、人工気象室で実験を行い、昼温/夜温が20°C/18°Cで生育したヘラオオバコは、15°C/10°Cで生育したヘラオオバコと比較してより高濃度に Aucubin を蓄積すること明らかにした。これらのことから、Aucubin は気温が20°C程度の条件でより高濃度に蓄積されると考えられる。

Bowers et al. (1992) はヘラオオバコにおける Catalpol 及び Aucubin 含有率の季節変化について検討している。ヘラオオバコは7月26日、8月10日と23日、及び9月5日に調査された。その結果、高温条件で含有率が低下する盛夏期を除き、Catalpol 及び Aucubin の含有率は調査期間を通して高まったことを報告している。この試験結果は極短期間についてであるが、本研究の結果と比較的良く一致している。Catalpol と Aucubin の蓄積は高温条件では劣ることが示された。

Acteoside 含有率は、高気温条件の夏季に低下したが、調査期間を通して概ね高まる傾向を示し、特に気温が10°C程度に低下した晩秋でこの傾向が明瞭であった。後節で述べるが、著者らは人工気象室で実験を行い、昼温/夜温が15°C/10°Cの条件で生育したヘラオオバコは20°C/18°Cで生育したヘラオオバコと比較してより高濃度に Acteoside を蓄積することを明らかにした。ヘラオオバコは低気温条件でより速やかに Acteoside を蓄積すると考えられる。一方、夏季の高温条件下では蓄積が進まないことも明らかである。9月12日に Acteoside 含有率が他の調査期に比較して相対的に高い値を示したのは、この時期に日射量が急激に減少していることから、低日射がヘラオオバコの葉温の低下をもたらし、結果的に Acteoside の蓄積を促進したためと考えられる。以上から、Acteoside の蓄積は秋季低温条件下で速やかに進むこと、一方、夏季の高温条件下では蓄積が抑制されることが分かった。

花茎重の推移の差から、品種の早晚性が Ceres Tonic と Grasslands Lancelot 間で大きく異なるものと考えられた。また、この両品種間で Aucubin と Acteoside の含有率に大きな差があった。しかし、それらの季節変化には両品種間で差が見られなかった。すなわち、本研究で示された Catalpol, Aucubin 及び Acteoside 含有率の季節変化は生育段階や品種の機能性成分蓄積力に影響されないことが示される。

以上から、春播種したヘラオオバコの適切な刈り

取り時期は東北北部では9月下旬から10月下旬と考えられる。しかし、秋播種した場合や、多年生草種であるヘラオオバコの2年日以降の季節変化については未解明であり、今後検討する必要がある。

5. 摘要

飼料用ハーブとして利用されているヘラオオバコの主要な3種の機能性成分、即ち、Catalpol, Aucubin 及び Acteoside について蓄積の季節変化を検討した。得られた結果は以下の通りである。

1) Catalpol は夏季の高温時に含有率が低下し、秋季の低温条件下で増加する傾向を示したが、Aucubin と Acteoside に比較して含有率が顕著に低く、季節変化も明瞭でなかった。

2) Aucubin 含有率は6月20日から7月18日迄高まり、盛夏期には蓄積が停滞し、その後、9月下旬頃まで再び高まった。10月上旬は大きく変化せず、気温が10°C程度となった10月末に顕著に低下した。

3) Acteoside は6月20日から10月24日の調査期間を通して増加する傾向を示したが、その増加は単調でなく、夏季高温時には顕著に低下した。両品種で Acteoside 含有率は10月24日で最も高かった。

4) 以上から、Catalpol, Aucubin 及び Acteoside の3種の機能性成分含量の高いヘラオオバコの収穫適期は9月下旬から10月上旬であることが分かった。

III 機能性成分の蓄積に及ぼす気温、光量及び窒素施肥の影響

1. 目的

ヘラオオバコの機能性成分蓄積は気温や日射量等の気象要因、また、窒素施用量や栽植密度等の栽培条件の影響を受けて進むものと考えられる。即ち、機能性成分含量の高いヘラオオバコを生産するためには、それらの要因、条件と機能性成分蓄積の関係を明らかにし、機能性成分の蓄積に適した生育環境と栽培条件の下でヘラオオバコの生産を行うことが必要である。

このため、本章では、ヘラオオバコの主要な3種の機能性成分、即ち、Catalpol, Aucubin 及び Acteoside 蓄積に及ぼす気温と光量、並びに窒素施用量の影響を明らかにする。

2. 材料と方法

実験1. 気温の影響

ヘラオオバコにおける Catalpol, Aucubin 及び

Acteosideの蓄積に及ぼす気温の影響を、人工気象室で2段階の温度処理を設けて検討した。試験方法は以下の通りである。

ニュージーランド育成の2品種(Grasslands lancelet及びCeres Tonic)を用い、2000年2月10日にクレハ園芸培土(クレハ化学株式会社製)を充填した径9cmのプラスチックポットに無施肥で播種した。出芽後に間引きを行い、1ポット当たりの個体数を1個体とし、このポットを昼温を20℃、夜温18℃に設定した12時間日長の人工気象室に搬入して4月1日まで生育させた。

4月1日に各品種につき12個体を昼温15℃、夜温10℃の人工気象室に移動して生育させた。また、12個体を同一人工気象室で昼温20℃、夜温18℃の条件で生育を継続させた。ここでは前者の処理を15℃区、後者の処理を20℃区と称する。

4月19日にポットを人工気象室から搬出し、根を水洗した後に地上部(葉)と根に分けて生育調査を行った。調査項目は草丈、葉数、生重である。生育調査終了後に凍結乾燥を行い乾物重を秤量した。Catalpol, Aucubin及びActeosideの分析を葉について、乾燥試料を振動式粉碎器により微粉碎し、メタノールで抽出し、HPLCを用いて行った。分析方法は前節と同様である。なお、本実験において、生育については調査を個体毎に実施したので統計検定を行ったが、Catalpol, Aucubin及びActeosideについては試験区単位とし、分析を一括して行ったので、統計検定は行わなかった。実験2及び実験3においても同様である。

実験2. 光強度の影響

ヘラオオバコにおけるCatalpol, Aucubin及びActeosideの蓄積に及ぼす光強度の影響を人工気象室で遮光処理を行って検討した。試験方法は以下の通りである。

2000年4月14日に2品種を播種し、実験1と同様に植物体を5月21日まで生育させた。5月22日に各品種につき12個体を供試して遮光率52%の黒色寒冷沙を2枚重ねて遮光処理を開始した。遮光率は実測値で72%である。また、同一人工気象室内で各品種につき12個体を無遮光で生育させた。以下、後者の処理を対照区、前者の処理を遮光区と称する。

6月6日にポットを人工気象室から搬出し、生育調査と分析を行った。調査と分析の方法は実験1及び前節と同様である。

実験3. 施肥窒素の影響

ヘラオオバコにおけるCatalpol, Aucubin及びActeosideの蓄積におよぼす窒素施肥の影響を人工気象室で水耕液の窒素濃度を変えて検討した。試験方法は以下の通りである。

2000年12月6日に2品種を播種し、実験1と同様に植物体を12月26日まで生育させた。窒素施肥処理としては、対照区と窒素区とを設け、ヘラオオバコが生育しているポットの底部を水耕液に浸す方法で実施した。すなわち、水耕液が5リットル入るプラスチックトレーを用意し、各ポットの底部が水耕液に浸るようにポットをプラスチックラックにより保持した。そして、対照区は水道水のみを、窒素区は水耕液の窒素濃度が50mg/Lとなるように硝酸アンモニウムを定期的に補充した。処理開始は12月27日とし、各品種につき12個体を処理に供した。対照区も各品種につき12個体を供試した。

1月25日にポットを人工気象室から搬出し、地上部について生育調査と分析を行った。調査と分析の方法は実験1及び前節と同様である。

3. 結果

1) 気温の影響

Table 1に気温がヘラオオバコの生育に及ぼす影響を示した。両品種において草丈と葉数については

Table 1 Effect of air temperature on the growth of *Plantago lanceolata* L.

Cultivars	Treatment	Plant hight cm	No. of leaves /plant	Top DM wt. g /plant	Top DM cont. %	Root DM wt. g /plant
Grasslands	20℃	14.6	35.5	2.7	23.9	2.0
Lancelot	15℃	15.9	33.3	4.0	31.0	2.3
	t-test			**	**	
Ceres	20℃	24.4	22.3	3.5	21.3	2.9
Tonic	15℃	24.7	22.2	5.5	29.3	2.6
	t-test			**	**	

** : Significant at 1% level.

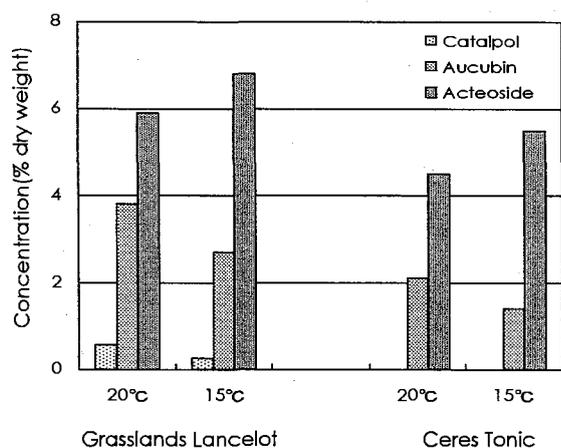


Fig. 9. Effect of air temperature on the accumulation of catalpol, aucubin and acteoside in leaves of *plantago lanceolata* L.

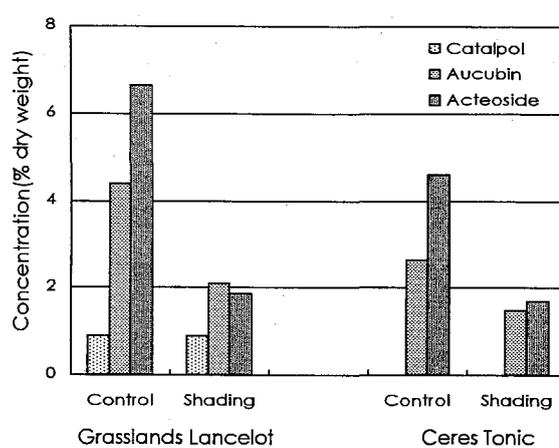


Fig. 10. Effect of shading on the accumulation of catalpol, aucubin and acteoside in leaves of *plantago lanceolata* L.

Table 2 Effect of shading on the growth of *Plantago lanceolata* L.

Cultivars	Treatment	Plant height cm	No. of leaves /plant	Top DM wt. g /plant	Top DM cont. %	Root DM wt. g /plant
Grasslands Lancelot	Control	23.3	33.2	2.4	12.7	0.9
	Shading	28.2	26.6	1.3	6.7	0.4
	t-test	**	*	**	**	
Ceres Tonic	Control	24.4	25.8	2.2	11.3	1.2
	Shading	28.4	20.7	1.0	6.0	0.6
	t-test	**	*	**	**	**

*, **: Significant at 5% and 1% level, respectively.

15°C区と20°C区間で差が見られなかった。一方、地上部の乾物重と乾物率は20°C区に比較して15°C区で有意に高かった。本試験では20°C区に比較して15°C区で両品種の生育が優れた。特に、15°C区で乾物率が高いことから、15°C区ではヘラオオバコの生長が頑健であったことが分かる。ヘラオオバコは寒冷なヨーロッパを原産としており、低温条件に対する適応性が高いためと考えられる。根重については両区間に明瞭な差は認められなかった。

気温が異なる条件下で生育したヘラオオバコの Catalpol, Aucubin, 及び Acteoside の含有率を Fig. 9 に示した。両品種において Catalpol と Aucubin の含有率は20°C区に比較して15°C区で低かった。一方、Acteoside の含有率は20°C区に比較して15°C区で高かった。本研究のII章では、ヘラオオバコにおける Catalpol, Aucubin 及び Acteoside 含有率の季節変化を検討し、Acteoside 含有率は秋季に気温が10°C程度に低下した時期に顕著に高まったことを述べた。本試験でもより低温条件の15°C区

で Acteoside 含有率が顕著に高まっており、Acteoside は低温条件で蓄積が進むことが分かった。一方、Catalpol と Aucubin は15°C区に比較して20°C区で含有率が高かった。II章でも Aucubin の含有率は日平均気温が20°C程度の9月下旬に最も高いことを認めた。これらのことから、Catalpol と Aucubin は、Acteoside に比較してより高い気温条件で蓄積が進むことが分かる。即ち、気温に対する蓄積反応が異なることが示された。

2) 遮光の影響

Table 2 に遮光処理がヘラオオバコの生育に及ぼす影響を示した。両品種において遮光処理により草丈は伸長したが、葉数及び地上部の乾物重と乾物率並びに根重は著しく減少した。すなわち、遮光処理によりヘラオオバコは軟弱に生長し、乾物重が低下した。次に、遮光処理による Catalpol, Aucubin 及び Acteoside 含有率の変化を Fig. 10 に示した。両品種において、Aucubin と Acteoside の含有率は遮光により顕著に低下した。特に、Acteoside の低

Table 3 Effect of fertilizer nitrogen application on the growth of *Plantago lanceolata* L.

Cultivars	Treatment	Plant height cm	No. of leaves /plant	Top FM wt. g/plant	Top DM wt. g/plant	Top DM cont. %
Grasslands	Control	27.0	38.9	21.3	2.4	11.1
Lancelot	Nitrogen	27.4	36.7	31.7	2.8	8.7
	t-test			*		*
Ceres	Control	29.3	32.0	25.4	2.7	10.4
Tonic	Nitrogen	31.5	32.4	43.1	3.4	7.8
	t-test			*	*	**

*, ** : Significant at 5% and 1% level, respectively.

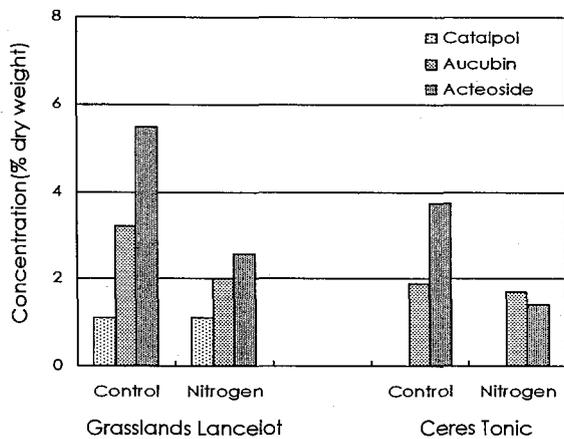


Fig. 11. Effect of fertilizer nitrogen application on the accumulation of catalpol, aucubin and acteoside in leaves of *plantago lanceolata* L.

下が著しかった。一方、Catalpolの含有率は対照区と遮光区で差が見られなかった。

3) 窒素施肥の影響

窒素施肥がヘラオオバコの生育に及ぼす影響をTable 3に示した。両品種において、草丈及び葉数は対照区と窒素区に有意な差は認められなかった。一方、地上部生重は窒素区で、地上部乾物率は対照区で有意に高かった。地上部乾物重は窒素区で高くなる傾向が認められ、Ceres Tonicでは有意な差があった。しかし、両区間の乾物重の差は僅かであった。以上から、窒素施肥により生長が促進され、生重が増加したことが明らかである。一方、水分含量の高い軟弱な生長のため、乾物生産には大きく反映されなかったことが分かる。窒素施肥によるCatalpol, Aucubin及びActeosideの含有率の変化をFig. 11に示した。両品種において、AucubinとActeosideの含有率は窒素施肥により顕著に減少した。特に、Acteosideの減少割合が高かった。一方、Catalpolの含有率については対照区と窒素区で差が見られな

かった。

4. 考察

機能性の高いヘラオオバコを生産するためには、II章で述べたように、機能性成分蓄積の季節変動を明らかにすることが必要である。さらに、生育環境を形成する個別の気象要因及び蓄積に影響を与える栽培条件と機能性成分蓄積との関係を解明し、栽培に応用することは一層重要である。このため、本章では、ヘラオオバコに蓄積される主要な機能性成分であるCatalpolとAucubin及びActeosideについて、蓄積と気温、光量及び窒素施肥量との関係を検討した。

その結果、生育気温との関係ではCatalpol, AucubinとActeoside間で蓄積反応が異なり、CatalpolとAucubinの蓄積は昼温/夜温が15℃/10℃に比較して20℃/18℃で、一方、Acteosideは20℃/18℃に比較して15℃/10℃でより高濃度に蓄積されることを明らかにした。これらの蓄積反応を栽培技術に応用することが必要である。

人工気象室内でヘラオオバコに照射する光の量を遮光により制限した場合、AucubinとActeosideの含有率が顕著に減少した。自然条件で十分な検討を行っていないので明確なことは述べられないが、日射量が低下する梅雨等では機能性成分の含有率が低下することが考えられる。長期に顕著に低日射となる時期を避けて収穫することなどが必要である。

水耕液の窒素濃度を高めた結果、AucubinとActeosideの含有率が明らかに減少した。一方、乾物重の増加は少なかった。著者らは、ヘラオオバコとチコリーについて、無窒素から極多窒素の5段階の窒素施肥試験を圃場で実施した。その結果、両草種とも乾物生産の窒素施肥反応が低いこと、即ち、窒素施肥量を高めても乾物生産の増加は少ないことを明らかにした(田村ら2000)。さらに、この傾向

はチコリーに比較してヘラオオバコで顕著であることを認めた。この原因として、ヘラオオバコは栽培の歴史が浅く、長年にわたり生産性について選抜淘汰が加えられた作物のように施肥窒素に対する高い乾物生産反応を獲得していないためと考察した。本実験でも同様な結果が得られ、ヘラオオバコの乾物生産の施肥窒素反応が低いことが明らかであった。一般に、窒素施肥により目的とする成分の含有率がある程度低下しても、乾物収量が増加することにより結果的に成分収量を高めることができるという考えがある。しかし、ヘラオオバコでは窒素を多用しても乾物収量はさほど増加せず、一方、Aucubin及びActeosideの含有率は顕著に低下した。即ち、この理論はヘラオオバコのAucubin及びActeoside蓄積には適用できない。ヘラオオバコの生産では、窒素施用量を抑え、機能性成分含有率の高まる条件で栽培することが必要である。

遮光及び窒素施肥により、Aucubin含有率は大きく変化したが、Catalpol含有率は変化しなかった。先に述べたように、CatalpolとAucubinはいずれもイリドイド配糖体に属しており、CatalpolはAucubinを前駆物質として生合成される(Damtoft et al.1983)。また、これまでに報告したが、Catalpol含有率はAucubin含有率に比較して顕著に低く、季節による変動も少ない(Tamura and Yoshida 2000, 田村ら2001a, 田村ら2001b)。これは、Catalpolは前駆物質であるAucubinの蓄積が進むに伴って生合成され、植物体中で低濃度で飽和に達するためと考えられる。

以上、ヘラオオバコにおけるCatalpol, Aucubin及びActeosideの蓄積は気象要因と栽培条件によって影響を受け、特に、気温については機能性成分の種類によって蓄積反応が異なることが分かった。すなわち、抗酸化機能の高いヘラオオバコを生産するためには、抗酸化成分であるActeosideの含有率を高めるために低温の季節での刈り取りあるいは低温条件の施設での栽培が必要である。一方、利尿効果を持つCatalpolの含有率を高め、利尿による尿酸等老廃物の排泄により家畜を健全化することを目的とした場合には、窒素の施肥を抑えて栽培し、平均気温が20℃程度で、かつ、日射量の比較的多い時期に刈り取るなどが必要と考えられる。

なお、著者らのこれまでの試験で、Acteosideは自然条件あるいは人工気象室のいずれでも、乾物当

たりで5%以上の値を示す場合が多かった。高い場合には6~7%にも達した(Tamura and Yosida 2000, 田村ら2001a, 田村ら2001b)。

5. 摘要

ヘラオオバコの主要な3種の機能性成分であるCatalpol, Aucubin及びActeosideの蓄積に及ぼす気温、光量及び窒素施肥の影響を、人工気象室内の試験により検討した。結果は以下の通りである。

1) 生育気温の影響について、CatalpolとAucubinは昼温/夜温が20℃/18℃で含有率が高まることを、一方、Acteosideは15℃/10℃で蓄積が進むことを認めた。Catalpol及びAucubinと、Acteosideでは気温に対する蓄積反応が異なることが分かった。

2) 遮光処理により、AucubinとActeosideの含有率は顕著に低下した。一方、Catalpolの含有率には大きな変化は見られなかった。

3) 窒素施肥により、AucubinとActeosideの含有率は顕著に低下した。一方、Catalpolの含有率については変化は見られなかった。

IV 機能性成分蓄積力の品種・

エコタイプ間内変異

1. 目的

ヘラオオバコについては、これまでにニュージーランドで飼料用の2品種が育成されている。これらの品種は葉幅や草型などの形態的特性ならびに低温生長性に大きな品種間差が見られる。また、早晚性についてもI章で明らかにしたように明瞭な品種間差がある。しかし、機能性成分蓄積特性の品種間差については全く検討されていない。これは、それらの品種の育成目標が収量性や環境適応性、牧草類との混播適性の向上にあったためと考えられる。即ち、ヘラオオバコの機能性についての知見はあったが、機能性以前に粗飼料としての利用に重きが置かれたためである。しかし、飼料用ハーブの機能性に着目し、抗生物質や動物用医薬品の投与を低減するためのオールナチュル機能性飼料としての利用を考える場合には機能性成分の蓄積について追究する必要がある。

本章では、機能性成分の蓄積が優れる品種育成の基礎資料を得るために、既に育成されている2品種及び東北地域の1エコタイプを用い、主要な3種の機能性成分、即ち、Catalpol, Aucubin及びActeo-

Table 4 Yield characteristics of the cultivars and the ecotype of *Plantago lanceolata* L. at June 19.

		Plant height cm	No. of leaves /Plant	Dry matter wt. (g/plat)	
				Leaf	Stalk
Ceres	Average	35.3 ^a	203 ^a	44.6 ^a	14.0 ^a
Tonic	S. D.	4.9	85	19.4	6.8
	CV (%)	13.8	42	43.4	48.8
Grasslands	Average	35.1 ^a	420 ^b	55.8 ^b	26.3 ^b
Lancelot	S. D.	5.0	122	10.5	17.1
	CV (%)	14.1	29	18.8	65.0
Ecotype	Average	30.6 ^b	446 ^b	50.4 ^b	11.6 ^a
	S. D.	5.2	127	16.3	13.6
	CV (%)	17.1	29	32.3	117.1

Note: The average values bearing the different superscript differed significantly at 5% level.

side 蓄積の遺伝変異を明らかにする。

2. 材料と方法

ニュージーランドで育成された2品種と1997年に東北農業試験場内に自生する30個体から採種したエコタイプの種子を2001年1月2日に径9cmのプラスチックポットに播種し、最低温度を15°Cに設定した温室内で個体を養成した。培養土としてはクレハ園芸培土を用い、個体が生長するに伴い径の大きいプラスチックポットに数回の移植を繰り返した。2001年4月20日に、試験圃場に畝間2m、株間50cmで移植した。施肥量を個体当たりでN3g、P₂O₅6g、K₂O6gとし、移植直後に施用した。移植個体数は1品種・エコタイプにつき72個体とし、24個体を1反復として3反復で植え付けた。

6月19日に移植後、第1回目の調査・分析を実施した。すなわち、各品種・エコタイプにつき1反復区から20個体を地上5cmで刈り取り、葉と花茎に分けた。葉については、葉数を数えた後にCatalpol, Aucubin, 及び Acteoside の分析用として生育中庸な15gを採取し、凍結乾燥した。15gを採取した残りの葉及び花茎については70°Cに設定した通風乾燥機で48時間乾燥し、恒量に達した後に乾物重を測定した。葉の乾物重は凍結乾燥した乾物重及び通風乾燥機で乾燥した乾物重の合計値とした。さらに、個体のCatalpol, Aucubin, 及び Acteoside 蓄積が遺伝的なものかどうかを検討するために6月19日に刈り取り調査したのちの再生個体について、7月27日に同様に調査・分析を行った。さらに、生育季節による変動を明らかにするために、8月28日に2反復目について、9月25日に3反復目について同様に調査・分析を行った。各刈り取り前に草丈の調査を行った。

Catalpol, Aucubin 及び Acteoside の分析は凍結乾燥試料を振動式粉碎器により微粉砕し、メタノールで抽出し、HPLCを用いて行った。分析方法は1章と同様である。

3. 結果

Table 4に、2001年6月19日の2品種及びエコタイプの生育調査結果を示した。まず、品種とエコタイプの平均値について見ると、草丈はCeres Tonic及びGrasslands Lancelotの2品種はほぼ同様であり、これに比較してエコタイプは有意に低かった。一方、個体当たりの葉数はエコタイプとGrasslands Lancelotが多く、Ceres Tonicはこれらに比較して有意に少なかった。この結果、個体当たりの葉重はGrasslands Lancelotとエコタイプが優れ、これに比較してCeres Tonicは有意に劣った。花茎重はGrasslands Lancelotが優れ、Ceres Tonicとエコタイプは同様であった。次に、品種・エコタイプ内の個体変異について述べる。変異係数が草丈を除く全ての形質について28%以上であった。また、草丈の変異係数も13.8~17.1%と比較的大きい事が認められた。即ち、ヘラオオバコにおける生長の品種・エコタイプ内における個体間変異の大きいことが明らかである。この結果は、他の3回の調査期においても同様であった。

Table 5に、2001年6月19日における2品種とエコタイプのCatalpol, Aucubin 及び Acteoside 含有率の個体平均値、標準偏差ならびに変異係数を示した。また、Fig. 12に各調査期におけるCatalpol, Aucubin 及び Acteoside 含有率の個体平均値を示した。個体平均値について見ると、Ceres TonicではCatalpolが認められず、Catalpolを蓄積しない極

Table 5 Concentrations of catalpol, aucubin and acteoside in leaves of *Plantago lanceolata* L. at June 19.

		Catalpol %DM	Aucubin %DM	Acteoside %DM
Ceres Tonic	Average	—	0.88 ^a	0.98 ^a
	S. D.	—	0.32	0.27
	CV (%)	—	36.1	27.1
Grasslands Lancelot	Average	0.75 ^a	1.35 ^b	1.54 ^b
	S. D.	0.35	0.41	0.37
	CV (%)	45.8	30.5	24.0
Ecotype	Average	0.55 ^a	2.08 ^c	1.76 ^b
	S. D.	0.24	0.63	0.38
	CV (%)	43.9	30.3	21.5

Note: The average values bearing the different superscript differed significantly at 5% level.

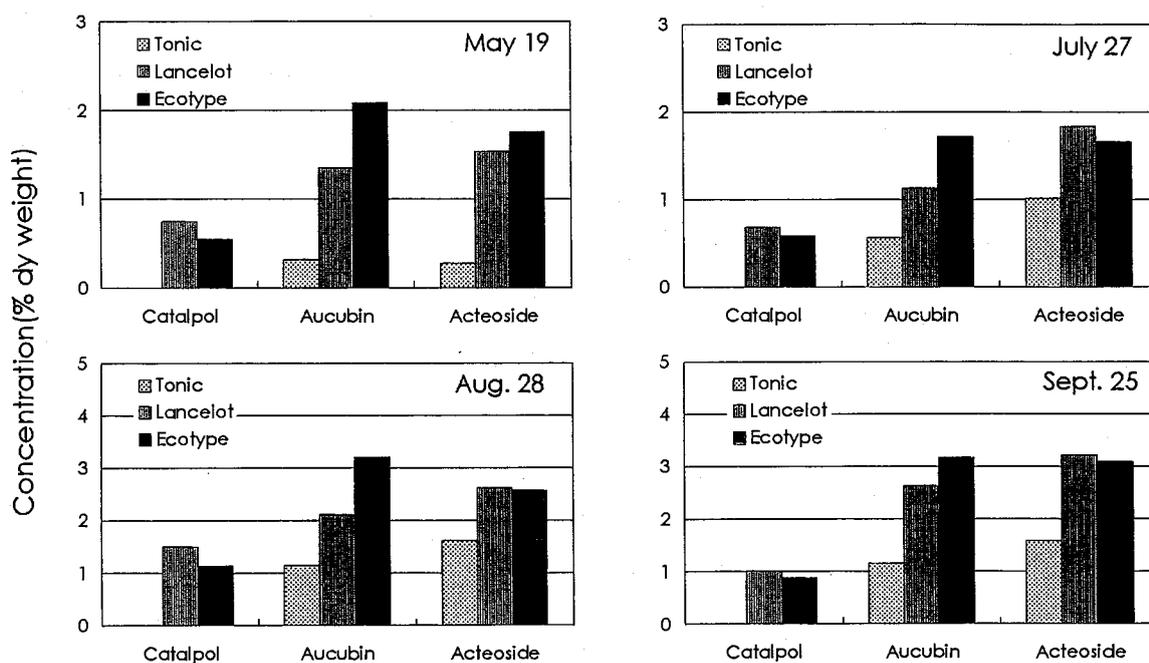


Fig. 12. Concentrations of catalpol, aucubin and acteoside in leaves of *plantago lanceolata* L. at different harvests, 2001. Columns bearing the same letter in each group are not significantly different at 5% level by Turkey's t-test.

めて特異な品種であることが分かる。CatalpolはGrasslands Lancelotとエコタイプ間で有意ではないが前者で含有率の高い傾向が認められた。Aucubin含有率については品種・エコタイプの平均値に有意差が認められ、エコタイプが有意に高く、次いでGrassland Lancelot, Ceres Tonicの順であった。Acteoside含有率はGrasslands Lancelotとエコタイプが高く、Ceres Tonicではこれらに比較して有意に低かった。この傾向は、春から秋にかけて実施した4回の各調査期で同様であった。以上から、Ceres TonicはCatalpolを蓄積せず、また、Grass-

lands Lancelot及びエコタイプに比較してAucubinとActeosideの蓄積も劣ることが分かる。また、エコタイプはニュージーランドで育成された2品種に比較してAucubinの蓄積が優れることが分かる。次に、品種・エコタイプ内における個体変異について述べる。変異係数がCatalpolで43.9%と45.8%, Aucubinで30.3~36.1%, Acteosideで21.5~27.1%であり、いずれの機能性成分についても品種・エコタイプ内における個体変異の大きいことが分かった。特に、Aucubinとこれを前駆物質として生合成されるCatalpolを比較すると、Catalpolの変異係

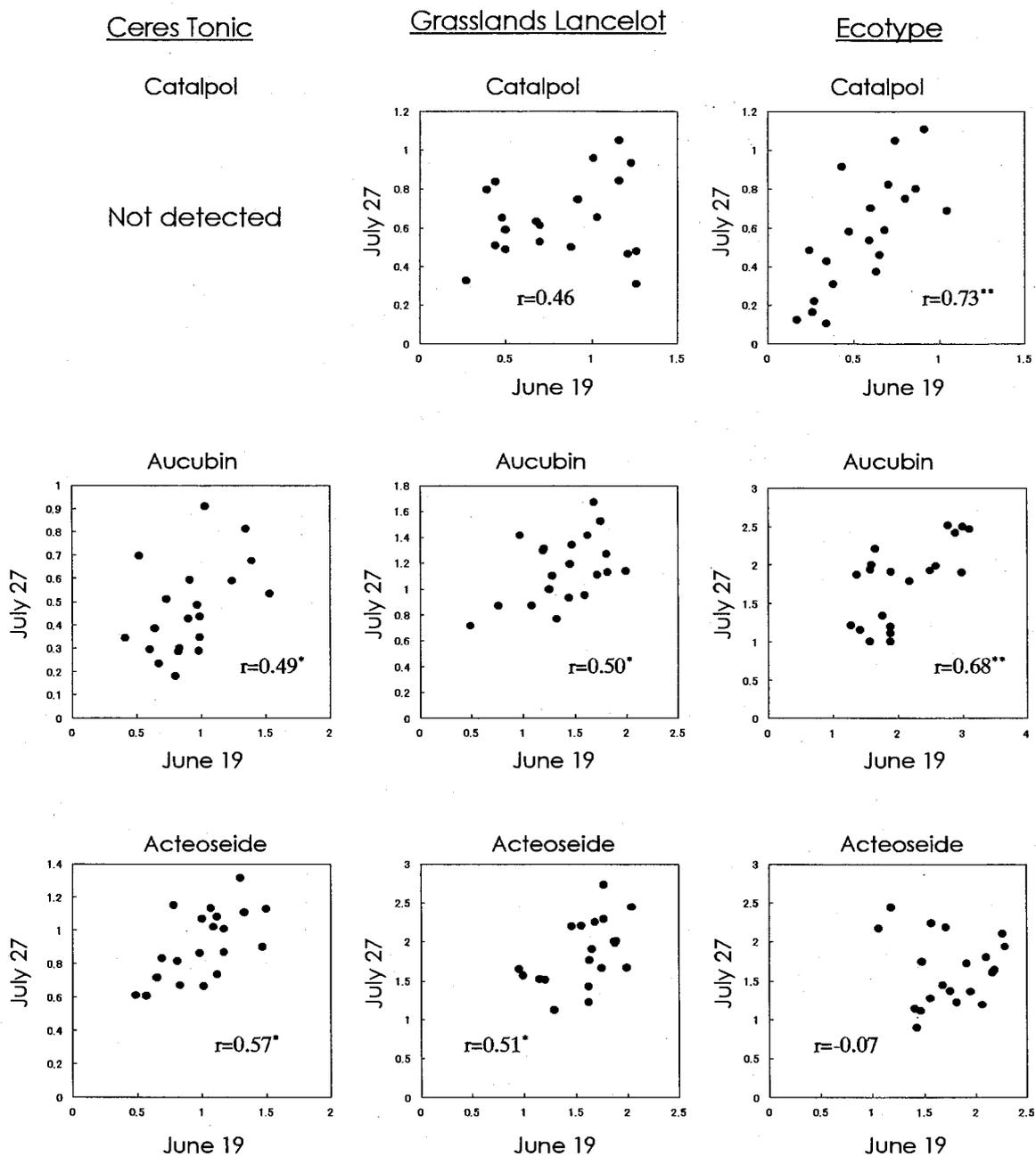


Fig. 13. Correlations of catalpol, aucubin and acteoside between harvest dates, 2001.

数が大きいことが特徴的である。

Fig. 13に品種・エコタイプ毎に、Catalpol、Aucubin及びActeoside含有率のそれぞれについて6月19日の個体分析値とこの刈取後再生個体について分析した7月27日分析値間の相関を示した。すなわち、同一個体について、異なる調査時期の分析値間相関を示したものである。その結果、ほとんどの場合に相関係数は有意であった。このことは、個体を持つCatalpol、Aucubin及びActeosideの蓄積力

が遺伝的に支配されていることを示している。なお、エコタイプのActeosideについては調査時期間に相関が認められなかったがその理由は不明である。

Table 6に、各品種・エコタイプ毎に、CatalpolとAucubin、CatalpolとActeoside及びAucubinとActeosideの含有率間相関を示した。表に見られるように、相関係数は正の値を示す場合がほとんどであり、有意な相関を示す場合もあった。一方、負の有意な相関は見られなかった。

Table 6 Correlation coefficients between bioactive components in leaves of *Plantago lanceolata* L. at different harvests.

Correlations between		Correlation coefficients			
		June 19	July 27	Aug. 28	Sept. 25
Ceres Tonic	Aucubin and Acteoside	0.42	0.59**	0.36	-0.05
Grasslands	Catalpol and Aucubin	0.27	0.14	0.46*	0.52*
Lancelot	Catalpol and Acteoside	0.39	-0.02	0.36	0.66**
	Aucubin and Acteoside	0.69**	0.38	0.14	0.41
Ecotype	Catalpol and Aucubin	0.59*	0.49*	-0.26	0.12
	Catalpol and Acteoside	0.62**	0.52*	-0.31	-0.07
	Aucubin and Acteoside	0.41	0.54*	0.2	0.55*

*, ** : Significant at 0.5 and 1 % level, respectively.

次ぎに、図表は示さなかったが品種・エコタイプについて、いずれの調査期においても個体の草丈、葉重、花茎重、地上部重（葉重と花茎重の合計）と Catalpol, Aucubin 及び Acteoside 含有率間には一定の相関が認められなかった。即ち、一般的に知られている、化学成分の蓄積に優れる個体は生長量が劣るとする概念は、ヘラオオバコにおける Catalpol, Aucubin 及び Acteoside 蓄積と生長との間では成立しないと言える。

4. 考察

機能性の高いヘラオオバコを生産するためには、その栽培に当たって機能性成分蓄積力の高い品種を選定することが必須である。しかし、ヘラオオバコにおいても、他の多くの作物と同様に機能性成分の向上に着目した品種育成はなされていない。機能性成分蓄積力の高い品種を育成するには品種・系統やエコタイプ、さらには個体間における機能性成分蓄積力の遺伝変異を明らかにすることが必要である。

既に、Tamura and Yoshida (2000) は東北地域の3カ所に自生するエコタイプを収集し、Catalpol, Aucubin 及び Acteoside 含有率のエコタイプ間差及びエコタイプ内の個体間変異が大きいことを報告した。また、Catalpol, Aucubin 及び Acteoside 含有率と地上部生長量とが一定の相関を示さないことを認めた。本章では、Catalpol, Aucubin 及び Acteoside 蓄積に優れる品種育成の知見を得るために、ニュージーランドで育成された2品種（Grasslands Lancelot 及び Ceres Tonic）と東北農業試験場内で採集した1エコタイプを用い、生長及び Catalpol, Aucubin 及び Acteoside 蓄積の品種・エコタイプ間及び同一品種・エコタイプ内における個体変異を検

討した。さらに、地上部生育量と Catalpol, Aucubin 及び Acteoside 含有率との関係についても検討を加えた。その結果、地上部生長量、Catalpol, Aucubin 及び Acteoside 含有率のいずれについても品種・エコタイプ間・内の変異が大きいことが分かった。特に、機能性成分についてはニュージーランド育成の1品種である Ceres Tonic は Catalpol を蓄積せず、Aucubin 及び Acteoside の蓄積も他の品種及びエコタイプに比較して顕著に劣ること、エコタイプはニュージーランド育成の2品種に比較して高い Aucubin の蓄積力を持つことを認めた。さらに Catalpol, Aucubin 及び Acteoside の3種の機能性成分間に正の有意な相関が認められる場合の多いこと、地上部生長量と Catalpol, Aucubin 及び Acteoside 含有率間に一定の関係がないことを明らかにした。これらの結果を総合すれば、ヘラオオバコでは生育が優れて、Catalpol, Aucubin 及び Acteoside を同時に高濃度に蓄積する品種の育成が可能であり、エコタイプはこのための素材として有望であることが示される。

Alder et al. (1995) はいくつかのエコタイプを用い、Catalpol, Aucubin 及び Acteoside 蓄積についてエコタイプ間及びエコタイプ内における遺伝変異を明らかにしている。Bower and Stamp (1992) 及び Bower et al. (1992) もエコタイプの個体間に生長量と同様に大きい Catalpol 及び Aucubin 蓄積の遺伝変異を認めている。さらに、それらのいずれの報告でも、Catalpol 及び Aucubin の含有率と地上部の生育量とが一定の相関を示さなかったことを報告している。Darrow and Bowers (1997) も地上部生長量と Catalpol 及び Aucubin 含有率間に一

定の相関がないことを認めている。これらの結果は本報告と良く一致するものである。

なお、Catalpolについては、蓄積しない品種があった。また、その個体変異が前駆物質である Aucubin に比較して極めて大きかったが、これは、Aucubin から Catalpol への生合成経路に大きな遺伝変異があることを示している。即ち、Aucubin から Catalpol への生合成のための酵素の欠如、あるいは生合成に係わる酵素の量的変異などが考えられる。

5. 摘要

ヘラオオバコにおける生育と主要な3種の機能性成分、即ち、Catalpol, Aucubin 及び Acteoside 蓄積の品種・エコタイプ間内遺伝変異を検討した。得られた結果は以下の通りである。

1) Ceres Tonic は、Grassland Lancelot 及びエコタイプに比較して Aucubin と Acteoside の蓄積が劣る、また、Catalpol を蓄積しない特異な品種である。

2) エコタイプは、Grassland Lancelot 及び Ceres Tonic に比較して Aucubin の蓄積が優れる。

3) Catalpol, Aucubin 及び Acteoside とも品種及びエコタイプ内の個体変異が大きい。

4) 生育量の変異も大きい、これと Catalpol, Aucubin 及び Acteoside 含有率との変異は相関を示さない。

5) Catalpol, Aucubin 及び Acteoside を同時に高濃度に蓄積できる品種の育成が可能である。エコタイプはこの素材として有望と考えられる。

V 総合考察

安全な農産物の消費者への供給は農業生産において最も重要なものの一つとなっている。特に、畜産においては、抗生物質や動物用医薬品を投与しないで家畜を健康に育て、安全な畜産物を生産することに対する社会的な要請が強い。

このために、緒言で紹介したように、抗生物質や動物用医薬品に代わりうるいくつかの素材について研究が進められている。なかでも、近代的医薬品の起源となったハーブを用いるオール自然飼料添加物について注目が集まっている (Gill 1999)。

ハーブはその利用特性から数種の植物に分類されるが、その一つである生薬は古代より医薬品として用いられてきており、1種の生薬でも多様な効用を

持つことが知られている。そして、近年の生薬学の研究により多様な効用に関与する機能性成分が明らかにされている。例えば、オオバコ属の1種であるオオバコ (*Plantago asiatica* L.) にはフェニルエタノイド配糖体の Plantamajoside, フラボノイドの Plantagin, イリドイド配糖体の Aucubin などが含有され、抗酸化作用、抗アレルギー作用、抗菌作用、酵素阻害作用、抗炎症作用等を有することが明らかされている。同様に、ヘラオオバコ (*Plantago lanceolata* L.) にはフェニルエタノイド配糖体の Acteoside, イリドイド配糖体の Catalpol 及び Aucubin などが含有され、抗酸化作用、抗菌作用、抗炎症作用、鎮痛作用、利尿作用等が明らかにされている (西部・村井 1995)。このように多種で、かつ、生理機能の異なる機能性成分を含む生薬の利用は人のみならず、家畜の生理代謝の改善にも効果があり、家畜を健康にして安全な畜産物の生産に貢献できると考えられる。そこで、本研究では機能性の高い飼料用ハーブ生産に必要な実用及び基礎的知見を得るために、機能性成分蓄積の季節変動、蓄積と気象要因及び栽培条件との関係、蓄積力の遺伝変異について検討することとした。

対象ハーブとしてヘラオオバコを取り上げたが、これは第1に、ヘラオオバコはヨーロッパで古くより生薬として用いられており、含有する機能性成分が明らかにされているからである (Blumenthal 1998, 西村・村井1995)。第2に、ヘラオオバコでは既に飼料用の2品種が育成されており (Rumball et al. 1997, Stewart 1996)、実験のための斉一な材料が容易に得られたからである。また、研究対象の機能性成分としては、ヘラオオバコにおいて最も重要とされている Catalpol, Aucubin 及び Acteoside (西部・村井1995) を取り上げて研究を進めた。

実験の結果、早春に播種したヘラオオバコに蓄積される Catalpol, Aucubin 及び Acteoside は気温の比較的低い秋季に高濃度となること、Catalpol, Aucubin と Acteoside では気温に対する蓄積反応が異なること、人工気象室の栽培で光量が少ない場合には Aucubin と Acteoside 蓄積が低下すること、さらに自然条件でも低日射が長期に続く場合には Aucubin と Acteoside の蓄積が低下すると考えられること、多窒素条件は Aucubin と Acteoside 蓄積を低減することなどを明らかにした。これらの成果は、Aucubin と Acteoside を高めるための栽培技術

の開発や収穫時期の決定に応用することができる。なお、ヘラオオバコの栽培についてはこれまでに放牧地における牧草との混生適性と生産性 (Fraser and Rowarth 1996, Fraser et al. 1996, Rumball et al. 1997), また、窒素施肥反応 (田村ら 2000) などについて検討が行われているが、機能性成分含量の向上に着目したものはない。

次に、Catalpol, Aucubin及びActeosideいずれの含有率についても品種、エコタイプ間及び同一品種、エコタイプの個体間における遺伝的変異の大きいことが明らかとなった。また、Catalpol, Aucubin及びActeosideの含有率間には正の相関が認められ、有意となる場合も比較的多かった。この結果は、上記3種の機能性成分を同時に高濃度に蓄積できる機能性成分蓄積力の高い品種の育成が可能であることを示している。特に、本研究で用いたエコタイプは生長及び機能性成分の蓄積力とも優れることから、このための有用な素材となろう。

このような、ハーブ(生薬)における機能性成分蓄積の農学的な研究は、生薬を生産する上で極めて重要であると考えられるにも拘わらず、これまでにほとんど行われてこなかった。本研究は生薬学分野の多くの研究蓄積の上に初めて成り立ったものである。今後、このような蓄積反応が多くの生薬で明らかにされ、機能性成分含量の高い生薬の生産に応用されることを期待したい。

引用文献

- 1) Alder, L. S. ; Schmitt, J. ; Bowers, D. 1995. Genetic variation in defensive chemistry in *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae) and its effect on the specialist herbivore *Junonia coenia* (Nymphalidae). *Oecologia*. 101 : 75-85.
- 2) Barry, T. N. ; Mcneill, D. M. ; McNabb, W. C. 2001. Plant secondary compounds ; their impact on forage nutritive value and upon animal production. *Proc. XIX Int. Grassl. Cong. Sao Pedro, Brazil*. 445-452.
- 3) Blumenthal, M. 1998. The complete german commission E monographs. Therapeutic guide to herbal medicines. Developed by a special expert committee of the German Federal Institute for Drugs and Medical Devices. Published in cooperation with integrative medicine communications Boston, Massachusetts. American Botanical Council Austin, Texas, USA.
- 4) Bowers, M. D. ; Stamp, N. E. 1992. Chemical variation within and between individuals of *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae). *J. Chem. Ecol.* 18 : 985-995.
- 5) Bowers, M. D. ; Collinge, S. K. ; Gamble, S. E. ; Schmitt, J. 1992. Effects of genotype, habitat, and seasonal variation on iridoid glycoside content of *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae) and the implications for insect herbivores. *Oecologia*. 91 : 201-207.
- 6) Chang, I. M. ; Yun, H. S. ; Kim, Y. S. ; Ahn, J. W. 1984. Aucubin : Potential antidote for Alpha-Amanitin Poisoning. *Clinical Toxicol.* 22 : 77-85.
- 7) Damtoft, S. ; Jensen S. R. ; Nielsen, B. J. 1983. The biosynthesis of iridoid glucosides from 8-epi-deoxloganin acid. *Proceedings of the Biochemical Society Transaction 603rd meeting, Liverpool, UK*. p.593-594.
- 8) Darrow, K. ; Bowers, M. D. 1997. Phenological and population variation in iridoid glycosides of *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae). *Biochemical Systematics and Ecol.* 22 : 1-11.
- 9) Deaker, J. M. ; Young, M. J. ; Fraser, T. J. ; Rowarth, J. S. 1994. Carcass, liver and kidney characteristics of lambs grazing plantain (*Plantago lanceolata*), chicory (*Cichorium intybus*), white clover (*Trifolium repens*) or perennial ryegrass (*Lolium perenne*). *Proc. New Zealand Soc. Anim. Production*. 54 : 197-200.
- 10) Fraser, T. J. ; Rowarth, J. S. 1996. Legumes, herbs or grasses for lamb performance? *Proc. New Zealand Grassl. Assoc.* 58 : 49-52.
- 11) Fraser, T. J. ; Scott, S. M. ; Rowarth, J. S. 1996. Pasture species effects on carcass and meat quality. *Proc. New Zealand Grassl. Assoc.* 58 : 63-66.

- 12) Gill, C. 1999. Herbs and plant extracts as growth enhancers. *Feed Management* 50 : 29-32.
- 13) Gustine, D.L. ; Sanderson, M. A. ; Getzie, J. ; Donner, S. ; Gueldner, R. ; Jennings, N. 2001. A strategy for detecting natural anthelmintic constituents of the grassland species *plantago lanceolata*. *Proc. XIX International Grassl. Cong. Sao pedoro, Brazil.* 464-465.
- 14) 原田正敏. 1989. 繁用生薬の成分定量-天然薬物分析データ集-. 廣川書店. 東京. 430p.
- 15) 石黒京子, 山木正枝, 高木修三. 1982. イリドイド関連化合物に関する研究 (第1報) Aucubigenin および数種の Iridoid Aglycone の抗菌作用について. *薬学雑誌* 102 : 755-759.
- 16) Katoch, B.S. ; Katoch, R. C. ; Mahajan, N. C. ; Bhowmik, K. B. D. 1978. Utilization of indian horse-chestnut (*Aesculus indica*) kernels and wild isbgol (*Plantago lanceolata*) plant meal as poultry feed ingredients. *Indian Vet. J.* 55 ; 781-787.
- 17) 加藤義雄. 1944. Aucubin の尿酸排泄機構に就きて. *日本薬物学雑誌* 39 : 37-40.
- 18) 川村智子, 久田陽一, 奥田和代, 星野哲志, 野呂征男, 田中俊弘, 児玉朝香, 西部三省. 1998. 車前草の生薬学的研究 (第13報) オオバコ属植物の種子の成分と車前子の品質について. *Natural Medicines* 52 : 5-9.
- 19) Marchesan, M. ; Paper, D. H. ; Hose, S. ; Franz, G. 1998. Investigation of the Anti-inflammatory activity of liquid extracts of *Plantago lanceolata* L. *Phytotherapy Res.* 12 : S33-S34.
- 20) Murai, M. ; Tamayama, Y. ; Nishibe, S. 1995. Phenylethanoids in the herb of *Plantago lanceolata* and inhibitory effect on Arachidonic acid-induced mouse ear edema. *Planta Med.* 61 : 479-480.
- 21) 西部三省, 村井道子. 1995. ハーブ・オオバコの生理活性成分. *Foods & Food Ingredients Journal of Japan.* 166 : 43-49.
- 22) 西部三省, 川村智子, 野呂征男, 田中俊弘, 関田節子, 佐竹元吉. 1999. シャゼンシの基原と成分. 第12回天然薬物の開発と応用シンポジウム講演要旨集. 103-106.
- 23) 野呂征男, 久田陽一, 奥田和代, 川村智子, 笹原由美, 田中俊弘, 酒井英二, 西部三省, 笹原道子. 1991. 車前草の生薬学的研究 (第7報) オオバコ属植物のフェニルエタノイド含量について. *生薬学雑誌* 45 : 24-28.
- 24) Recio, M. C. ; Giner, R. M. ; Manez, S. ; Rios, J. L. 1993. Structural considerations on the iridoids as anti-inflammatory agents. *Planta Med.* 60 : 232-234.
- 25) Robertson, H. A. ; Niezen, J. H. ; Waghorn, G. C. ; Charleston ; W. A. G. ; Jinlong, M. 1995. The effect of six herbages on liveweight gain, wool growth and faecal egg count of parasitised ewe lambs. *Proc. New Zealand Soc. Anim. Production.* 55 : 199-201.
- 26) Rumball, W. ; Keogh, R. G. ; Lane, G. E. ; Miller, J. E. ; Claydon R. B. 1997. 'Grasslands Lancelot' plantain (*Plantago lanceolata* L.). *New Zealand J. Agric. Res.* 40 : 373-377.
- 27) 佐野宏明, 有馬憲一, 篠田 浩, 田村良文, 志賀龍郎. 1998. ヒツジにおけるインスリン作用に及ぼす寒冷暴露およびヘラオオバコ給与の影響. *東北畜産学会報* 48 : 43.
- 28) Stewart, A. V. 1996. Plantain (*Plantago lanceolata*)- a potential pasture species. *Proc. New Zealand Grassl. Assoc.* 58 : 77-86.
- 29) Sticher, O. 1976. Plant mono-, di- and Sesquiterpenoids with pharmacological or therapeutical activity. *Proc. of the first international congress on medical plant research.* p.137-176.
- 30) 田村良文, 的場和弘, 伏見昭秀. 2000. 飼料用ハーブ類の窒素施肥反応, 一般飼料成分ならびに無機元素含量. *日草誌* 46(別) : 84-85.
- 31) Tamura, Y. ; Yoshida, T. 2000. Assesment of bioactive compounds in *Plantago lanceolata* L. from Northern Japan and development a plant regeneration technique for temperate grasses in order to introduce

- forage grasses with higher functional properties. Proc. 3rd Int. Crop Sci. Cong. Hamburg. 223.
- 32) 田村良文, 西部三省, 魚住 順, 伏見昭秀. 2001. a ヘラオオバコにおける機能性成分蓄積の季節変化. 日作紀 70 (別1) : 96-97.
- 33) 田村良文, 魚住 順, 伏見昭秀. 2001. b ヘラオオバコの品種・エコタイプにおける機能性成分の変異. 日草誌 47(別) : 288-289.
- 34) 田村良文, Akbar, M. A. 2001. ヘラオオバコ給与が山羊の血液成分に及ぼす影響 (予報). 日草誌 47(別) : 142-143.
- 35) 田村良文. 2001. ヘラオオバコ (*Plantago lanceolata* L.) の機能性成分蓄積に及ぼす気温, 光強度, 窒素施肥の影響. 日本作物学会紀事印刷中.
- 36) Toda, S. ; Miyasi, T. ; Arichi, H. ; Takino, Y. 1985. Natural anti-oxidants. II. Anti-oxidative components isolated from seeds of *Plantago asiatica* L. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 33 : 1270-1273.
- 37) Toon, J. V. D. ; Pons, T. J. 1988. Establishment of *Plantago lanceolata* L. and *Plantago major* L. among grass. II. Shade tolerance to seedlings and selection on time of germination. Oecologia 76 : 341-347.
- 38) Wang, P. ; Kang, J. ; Zheng, R. ; Yang, Z. ; Lu, J. ; Gao, J. ; Jia, Z. 1996. Scavenging effects of Phenylpropanoid Glycosides from *Pedicularis* on Superoxide anion and hydroxyl radical by the spin trapping method (95) 02255-4. Biochem. Pharmacol. 51 : 687-691.
- 39) Zhou, Yan-Chun ; Zheng, Rong-Liang. 1991. Phenolic compounds and an analog as superoxide anion scavengers and antioxidants. Biochem. Pharmacol. 42 : 1177-1179.