

# 窒素種類ならびに窒素施肥量の相違が生育、生理、 収量並びに各エキス,Ligustilide, Butylidene phthalide 含量に及ぼす影響

賴 宏亮, 林 文音, 元田義春, 玉井富士雄, 田邊猛, 李 相來,

東京農業大學\*

Effects of various kind and amount of nitrogen fertilizers on the plant growth, physiological, yield and extracts, ligustilide, butylidene phthalide contents of crude drug 'Tou-ki' (*Angelica acutiloba* Kitagawa).

HORNG LIANG LAY, WEN YIN LIN, YOSHIHARU MOTODA, FUJIO TAMAI, TAKESHI TANABE,  
SANG RAE LEE

Tokyo University of Agriculture, Sakuragaoka 1-1-1, Setagaya-ku, Tokyo, 156, Japan

## Abstract

The effects of various kind and amount of nitrogen fertilizers on the plant growth, physiological, yield and extracts, ligustilide, butylidene phthalide contents of crude drug "Tou-ki" (*Angelica acutiloba* Kitagawa) were investigated in 1989. Five plots various kind of nitrogen fertilizers. Namely, no nitrogen, urea, ammonium nitrate, ammonium chloride and control plot of ammonium sulfate. The other, by providing five plots different composed ratio of nitrogenous fertilizers, containing no nitrogen (No.0), 0.5-fold nitrogen (No.5), control plot of 1.0-fold nitrogen(N<sub>1.0</sub>), 1.5-fold nitrogen(N<sub>1.5</sub>) and 2.0-fold nitrogen N<sub>2.0</sub>), but nitrogen was used the ammonium sulfate. The results showed that the crude drug "Tou-ki" can ammonium chloride be produced in good yield, displaying both good plant growth and remarkable physiologically-active conditions, and it can be produced such that the extracts is maximized. Additionally, using methods of gas chromatography (GC), it was established that ligustilide and butylidene phthalide, major components in the crude drug was recovered in a good yield from the fully grown plants. The other, the plant growth, the physiologically-active, the weight of whole plant, the yield of extracts and ligustilide, butylidene phthalide were seen to be best at the plot of 2.0-fold nitrogen and according to the increase or decrease of nitrogen decreased gradually. Therefore, about 2 fold of standard quantity seems to be the most suitable quantity of nitrogen for "Tou-ki" cultivation.

Keyword : nitrogen fertilizer, physiologically-active, ligustilide, butylidene phthalide, *Angelica acutiloba*, urea, ammonium chloride, ammonium sulfate, gas chromatography (GC).

肥料三要素試験<sup>1)</sup>の結果から、トウキの生育、収量、品質に重大な影響を及ぼす成分の一つは窒素であることが認められた。窒素質肥料には各種の種類があり、その成分量、土壤反応、肥效などに各々その趣きを異にしている。トウキの栽培においていずれの性質の窒素質肥料が最も適しているか、その選擇、配合施用量などが最も重要な問題となってくる。すなわち、異なった窒素質肥料及び窒素施用量の比率がトウキの生育に與える影響を調査し、併せて施肥上及び肥料配合の基礎となる資料を得ることがきわめて重要な事項であると考えられた。そこで、本報では窒素質肥料の種類及び窒素施用量相違がトウキ生育生産及び品質に與える影響を追求した。

## 材料及び方法

### 1. 栽培條件

本實驗は三重縣熊野市産の大深トウキ種子を用い、本學構内の網室で育苗し、草丈 15cm. 本葉 3.5葉、根頭部の直徑 8mm くらいの苗を供示した。ポット (1/2000a) 土耕試験の要領で 1ポット 1株立てとして 1989年4月に移植實験を行った。試験區分は窒素種類の相違から、成分量を 2.06g とし硫安區 (9.8g) を對照區として、無窒素區、尿素區 (4.68g)、硝安區 (5.86g)、鹽安區 (7.72g) の處理區を設けた。窒素量の相違から、N<sub>1.0</sub>P<sub>1</sub>K<sub>1</sub>區 (N<sub>1.0</sub>區) を對照區として、N<sub>0.0</sub>P<sub>1</sub>K<sub>1</sub>區 (N<sub>0.0</sub>區)、N<sub>0.5</sub>P<sub>1</sub>K<sub>1</sub>區 (N<sub>0.5</sub>區)、N<sub>1.5</sub>P<sub>1</sub>K<sub>1</sub>區 (N<sub>1.5</sub>區)、N<sub>2.0</sub>P<sub>1</sub>K<sub>1</sub>區 (N<sub>2.0</sub>區) の處理區を設けた。窒素として硫安を使用した。年間總施肥量(對照區)はポット當り窒素 2.06g、磷酸として過磷酸石灰 16.80g、加里として鹽酸加里 3.7g を用いた。なお、試験期間中の諸管理は畑作試験一般慣行法に準じた。

定植より隔週ごとに所定の項目について生育調査を行った。蒸散量、クロロフィル含有量、エチレン発生量などは4週間調査を行った。統計による解析は分散分析法を用いた。11月に水洗調査を行い、收穫物を乾燥し、生藥試験法によるエキスの含有率測定およびエキス中の有效成分と考えられる Ligustilide, Butylidene phthalide の分離・定量を行った。

### 2. 測定裝置

エチレン発生量測定法は上位第3位葉を飽和状態にした試験管にいれて密封したのち、30°C暗所で24時間経過させたのち、ガスクロマトグラフィ (Shimadzu 14A, 島津製作所) より検定した。クロロフィル含有量測定には Arnon 法<sup>2)</sup>要領で生葉 80% アセトンで充分に抽出し、ダブルビーム分光光度計 (UV -202型, 島津製作所製) による吸光度 (663nm, 645nm) からクロロフィル含有量を求めた。蒸散抵抗測定はオ-トボロメータ- (ライカ-社製) を用いて、一定の蒸散量に達するまでの時間を元に蒸散抵抗値を求めた。

### 3. エキス抽出法

希エタノール、水、エーテルの各エキス含有率は改正日本藥局方解説書 (第 11 版)<sup>3)</sup> に規定する定量法によった。

### 4. Ligustilide, Butylidene phthalide の分離、定量法

#### a. Ligustilide 及び Butylidene phthalide の単離・精製

乾燥した大深トウキ根 1143g を粉碎し、2000ml のヘキサンで 80°C、5時間、3回抽出を繰り返した後、ヘキサンを留去し、黄褐色の油状エキス 16.7g を得た。黄褐色の油状エキスをシリカゲルのカラムクロマトグラフィ (CC) (ワコ-ゲル C-200, 溶媒ヘキサン : 酢酸エチル = 9 : 1) を行い、Phthalide 含有割分 7.13g を得た、さらに、Sephadex (LH-20, 溶媒クロロホルム), シリカゲル (ワ

コ-ゲル C-200, 溶媒ヘキサン : 酢酸エチル = 100:0, 25:1, 20:1, クロロフィルム:メタノル = 10:1, 50:50) の CC を繰り返し, Ligustilide 及び Butylidene phthalide 700mg を得た。

さらに分取 HPLC [條件：カラム LiChrosorb Si 60 ( $7\mu\text{m}$ ) 25mm  $\phi \times 250\text{mm}$  (メルク), 溶媒ヘキサン:酢酸エチル (25:1), 流速 10ml/min, 検出波長 UV 280nm, 注入量 75 $\mu\text{l}$ /回, 分散回収 8回]を行い, Ligustilide 57mg 及び Butylidene phthalide 35mg を得た。質量分析 (MS) 及び核磁気共鳴 (NMR) のデータは山岸ら<sup>4-8)</sup>の報告と比較したところ一致したので, 本品を Ligustilide, Butylidene phthalide と固定した。

b. GC 装置 : VARIAN 3600 を用いた。

c. キャピラリ - GC による Ligustilide 及び Butylidene phthalide の定量

①. キャリア-ガス He 1.4ml/分 (28.7 PSI), 注入口温度 280°C, カラム: ピュ-レ-ドバッカ- HP-1 (0.2mm ID  $\times$  25mm), カラム温度 : 80-300 °C, 20°C/分 昇 温, Splitless, 注入量 1 $\mu\text{l}$ , 検出器 FID, 検出器槽温度 320°C ATT. 4  $\times$  10<sup>-11</sup> AUFS, 内部標準法 (ピ-ク面積), 内部標準物質は menthol.

②. 検量線の作成 : 内部標準物質として menthol を用い, 10mg/1000ml の濃度の内部標準物質を含む酢酸エチル溶液 (IS) を作った。Ligustilide 17.1mg 及び Butylidene phthalide 3.5mg をとり, 酢酸エチルで 100ml とし, 定量用の標準物質溶液 (STD) とした。

STD 5ml をとり, 溶媒を減圧留去後, IS 5ml を加えた。GC に 1 $\mu\text{l}$  注入し, 定量用ファクタ-を求めた(ピ-ク面積法による検量法)。

③. 試料溶液調製 : 乾燥したトウキを粉碎し, 第十一改正日本薬局方解説書の生葉試験法にしたがってエ-テルエキスを得た。これを IS 5ml に溶かし, 0.45 $\mu\text{m}$  のフィルタ-濾過後, GC の試料溶液とした。

## 結果 及び 考察

### 1. 異なる窒素種類の影響

#### ①. 地上部の生育に及ぼす影響

窒素種類の相違が地上部生育に及ぼす影響は極めて明かな差異が認められた。すなわち, 草丈の伸長は, 生育中期から, 流安區に對し鹽安區において最も旺盛となり, 終始維持され, 次いで硝安區ないし尿素區にはやや抑制に推移したが, 無窒素區で全般を通して抑制的であったことが認められた (Fig.1)。このことは葉長, 葉柄長, 葉柄徑においても同様な傾向が認められた。生葉数の変化は生育前半は硝安區において最も多かったが, 生育後半からの生葉数の増加により鹽安區でやや大となつた(Fig.2)。

從つて, 地上部の生育は鹽安ないし硫安の施與が最も有效であることが判明した。

#### ②. 生理に及ぼす影響

蒸散抵抗への影響は, 硫安區において最も高く, 次いで鹽安區であり, ほかの處理區で低く推移した。クロロフィル含有量への影響は硫安區に對し, 鹽安區において最も高められ, 硝安區及び尿素區でやや低かった。エチレンの発生量の推移は硫安區において最も高く, 次いて鹽安區, 硝安區及び尿素區の順で低く推移した。無窒素區はいずれも最も低下した(Table 1)。

以上のことから鹽安ないし硫安區生理機能が最も圓滑であることが判明した。

### ③. 収量に及ぼす影響

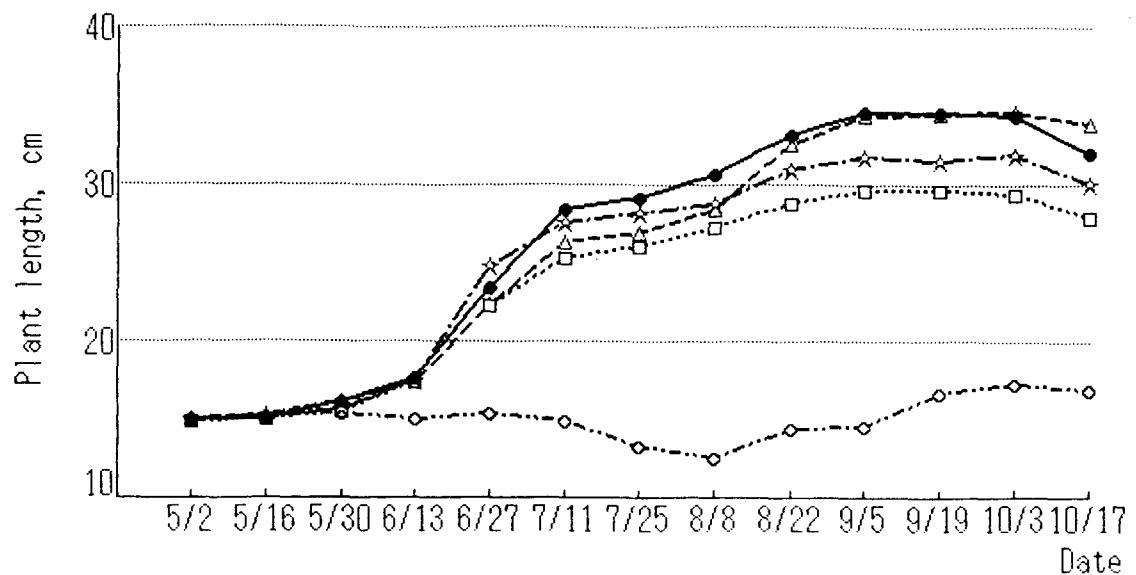


Fig. 1. Effects of various nitrogen fertilizers on plant length.  
○--- : No nitrogen; △--- : Ammonium sulfate; □--- : Urea;  
☆--- : Ammonium nitrate; ●--- : Ammonium chloride.

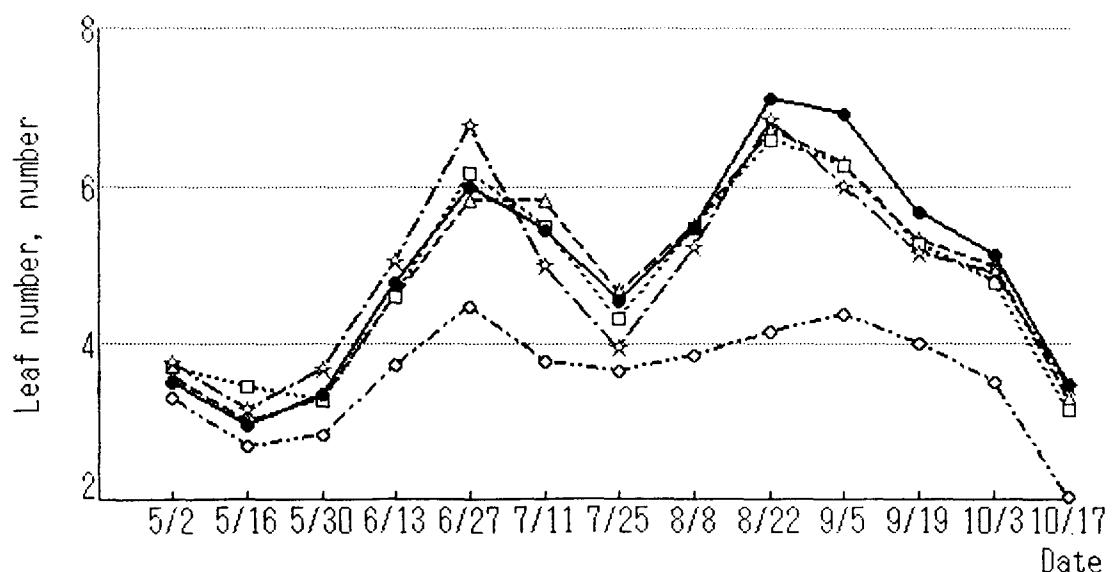


Fig. 2. Effects of various nitrogen fertilizers on leaf number.  
○--- : No nitrogen; △--- : Ammonium sulfate; □--- : Urea;  
☆--- : Ammonium nitrate; ●--- : Ammonium chloride.

Table 1. Comparison of physiologically-active of the leaves under various nitrogen fertilizers.

		6/ 1	6/27	7/25	8/22	9/19	10/17
Transpiration rate (s/cm)	A	8.76 <sup>b</sup>	9.68 <sup>a</sup>	7.62 <sup>b</sup>	6.70 <sup>b</sup>	7.94 <sup>a</sup>	9.38 <sup>c</sup>
	B	10.54 <sup>a</sup>	10.92 <sup>a</sup>	11.44 <sup>a</sup>	14.04 <sup>a</sup>	6.76 <sup>b</sup>	14.56 <sup>a</sup>
	C	9.22 <sup>a b</sup>	10.88 <sup>a</sup>	9.00 <sup>a b</sup>	10.98 <sup>a</sup>	7.84 <sup>a</sup>	10.48 <sup>c</sup>
	D	8.24 <sup>b</sup>	9.30 <sup>a</sup>	10.60 <sup>a b</sup>	13.10 <sup>a</sup>	7.72 <sup>a</sup>	14.00 <sup>a b</sup>
	E	10.34 <sup>a</sup>	9.66 <sup>a</sup>	7.80 <sup>b</sup>	11.94 <sup>a</sup>	7.62 <sup>a</sup>	11.80 <sup>b c</sup>
		**	NS.	**	**	**	**
Chlorophyll content (mg/g)	A	1.538 <sup>c</sup>	1.325 <sup>b</sup>	0.686 <sup>b</sup>	1.707 <sup>a</sup>	1.450 <sup>b</sup>	1.117 <sup>a</sup>
	B	2.101 <sup>a b</sup>	2.078 <sup>a</sup>	1.049 <sup>a</sup>	1.795 <sup>a</sup>	1.460 <sup>b</sup>	1.302 <sup>a</sup>
	C	2.111 <sup>a b</sup>	2.198 <sup>a</sup>	0.874 <sup>a b</sup>	1.364 <sup>a</sup>	1.727 <sup>a b</sup>	0.983 <sup>a</sup>
	D	1.734 <sup>b c</sup>	2.172 <sup>a</sup>	0.891 <sup>a b</sup>	1.572 <sup>a</sup>	1.605 <sup>a b</sup>	1.331 <sup>a</sup>
	E	2.512 <sup>a</sup>	2.459 <sup>a</sup>	1.054 <sup>a</sup>	1.769 <sup>a</sup>	1.886 <sup>a</sup>	1.318 <sup>a</sup>
		**	**	**	NS.	**	**
Ethylene content (mg/g F.W./hr)	A		0.415 <sup>a</sup>	1.047 <sup>b</sup>	3.275 <sup>b</sup>	0.798 <sup>a</sup>	1.466 <sup>a</sup>
	B		0.666 <sup>a</sup>	2.456 <sup>a</sup>	3.968 <sup>a</sup>	0.973 <sup>a</sup>	0.766 <sup>b</sup>
	C		0.746 <sup>a</sup>	1.800 <sup>a b</sup>	2.889 <sup>b</sup>	0.605 <sup>a</sup>	1.030 <sup>a b</sup>
	D		0.536 <sup>a</sup>	2.550 <sup>a</sup>	2.677 <sup>t</sup>	0.532 <sup>a</sup>	0.771 <sup>b</sup>
	E		0.710 <sup>a</sup>	1.959 <sup>a b</sup>	3.325 <sup>a b</sup>	0.747 <sup>a</sup>	0.691 <sup>b</sup>
		NS.	**	**	**	**	**

A : No nitrogen; B : Ammonium sulfate; C : Urea; D : Ammonium nitrate;

E : Ammonium chloride.

NS. : No significance; \* : 5% level of significance;

\*\* : 1% level of significance.

Significances in an analysis of variance were expressed as a, b and c at LSD 5% level(s).

地上部葉、葉柄の収量は、鹽安區で地上部生育の良好なことに伴って、収量が一層高められ、硫安區、硝安區、尿素區でほぼ同様の傾向を示し、無窒素區で極めて低下することが認められた(Table 2).

一方、地下部の収量は、鹽安區においては側根、ひげ根の収量はやや低くにも関わらず、主根徑はやや大きくなり、主根長が一層長く、主根の肥大に従って地下部全収量は大となり、次いで硝安區、硫安區、尿素區での順、無窒素區で最も低下することが明らかになった(Table 2).

従って、異なる窒素の環境により、トウキ地上部の収量に對しては鹽安區において最も向上することが明らかとなった。地下部については、鹽安ないし硝安の施與が最も有效であることが判明した。

Table 2. Comparison of the plant yields under various nitrogen fertilizers.

	Leaf (g)		Petiole (g)		Main root (g)		Lateral root (g)		Fibrous root (g)		Main root (cm)	
	F.W.	D.W.	F.W.	D.W.	F.W.	D.W.	F.W.	D.W.	F.W.	D.W.	Diameter	Length
A	1.16 <sup>b</sup>	0.25 <sup>b</sup>	0.97 <sup>b</sup>	0.15 <sup>b</sup>	5.55 <sup>c</sup>	1.48 <sup>c</sup>	2.05 <sup>c</sup>	0.55 <sup>c</sup>	4.94 <sup>c</sup>	0.78 <sup>b</sup>	1.47 <sup>d</sup>	7.20 <sup>b</sup>
B	6.94 <sup>a</sup>	1.55 <sup>a</sup>	7.58 <sup>a</sup>	1.19 <sup>a</sup>	43.55 <sup>b</sup>	10.90 <sup>b</sup>	37.83 <sup>a,b</sup>	11.50 <sup>a</sup>	27.96 <sup>b</sup>	4.63 <sup>a</sup>	3.10 <sup>c</sup>	11.86 <sup>a</sup>
C	7.22 <sup>a</sup>	1.50 <sup>a</sup>	7.42 <sup>a</sup>	1.18 <sup>a</sup>	39.06 <sup>b</sup>	10.77 <sup>b</sup>	31.29 <sup>b</sup>	9.41 <sup>b</sup>	26.33 <sup>b</sup>	4.38 <sup>a</sup>	3.31 <sup>b,c</sup>	11.67 <sup>a</sup>
D	6.80 <sup>a</sup>	1.68 <sup>a</sup>	8.60 <sup>a</sup>	1.30 <sup>a</sup>	42.30 <sup>b</sup>	11.59 <sup>a,b</sup>	44.27 <sup>a</sup>	13.67 <sup>a</sup>	39.72 <sup>a</sup>	6.06 <sup>a</sup>	3.57 <sup>a,b</sup>	9.88 <sup>a</sup>
E	8.37 <sup>a</sup>	1.94 <sup>a</sup>	10.94 <sup>a</sup>	1.72 <sup>a</sup>	56.13 <sup>a</sup>	13.90 <sup>a</sup>	39.43 <sup>a,b</sup>	12.06 <sup>a</sup>	34.85 <sup>a</sup>	5.56 <sup>a</sup>	3.80 <sup>a</sup>	11.89 <sup>a</sup>
	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**

A : No nitrogen, B : Ammonium sulfate, C : Urea, D : Ammonium nitrate, E : Ammonium chloride.

F.W. : Fresh weight; D.W. : Dry weight.

\* : 5% level of significance; \*\* : 1% level of significance.

Significances in an analysis of variance were expressed as a, b and c at LSD 5% level(s).

#### ④. エキス含有率に及ぼす影響

日本薬局方11版に従って作製した希エタノール、水、エーテルエキス含有率及び各植物體收量との關係から、エキスの總生産量は地上部、地下部にも問わず、ほぼ鹽安區においてやや高い値を示した(Table 3)。

#### ⑤. キャピラリ - GC によるトウキ中の Ligustilide および Butylidene phthalide の定量

a. キャピラリ - GC 條件 : Fig.3 はトウキエーテルエキスのガスクロマトグラムで、各成分は良く分離した。Butylidene phthalide は 6.9分および Ligustilide は 7.3分に検出された。また、methol のビーグ保持時間は 3.7分で、トウキ中の他の成分の妨害を受けないことを確認した。Ligustilide 及び Butylidene phthalide の定量はこの條件で行った。

#### b. 檢量線の作成結果

Fig.4 には二つ異なる検量線における回帰分析した結果と相関係数を示したものであるが、圖に示すのように Ligustilide は 0.08-12.59mg/g範囲において  $y=-0.0724 + 0.7305 \cdot X$  ( $n=5$ )  $r=0.9998$ 、Butylidene phthalide は 0.02-2.63mg/gの範囲において  $y=-0.0006 + 0.3195 \cdot X$  ( $n=5$ )  $r=0.99989$ 、直線性の良い検量線がえられ、共に満足すべき結果と思われたので定量に用いた。

#### c. Ligustilide 及び Butylidene phthalide 定量結果

キャピラリ - GC で定量した結果は Table 3 に示すように Ligustilide 及び Butylidene phthalide の含有量は、地上部、地下部共に硫安區ないし鹽安區において高いことが認められた。

## 2. 異なる窒素量の影響

#### ①. 地上部の生育に及ぼす影響

地上部の生育は  $N_{1.0}$  区に對し、 $N_{1.5}$  区において最も促進的であり、次いで  $N_{2.0}$  区が生育の良好を示し、 $N_{0.5}$  区で生育前半までやや高く、生育後半から抑制的であることが見られ、 $N_{0.0}$  区は全般的に低下することが認められた(Fig. 5)。従って、地上部の生育について窒素の施與量は標準量の1.5倍 - 2.0倍が適量であると考えられた。

Table 3. Yields of extracts and ligustilide, butylidene phthalide contents of the plant under various nitrogen fertilizers.

		Leaf		Petiole		Main root		Lateral root		Fibrous root	
		(%)	(g)	(%)	(g)	(%)	(g)	(%)	(g)	(%)	(g)
50% Ethanol extract (%)	A	31.65	0.08	31.46	0.047	28.78	0.43	27.48	0.15	7.60	0.059
	B	36.09	0.56	33.49	0.399	35.91	3.91	35.83	4.12	13.83	0.640
	C	41.39	0.62	32.70	0.386	36.17	3.90	35.78	3.37	16.04	0.703
	D	31.49	0.53	32.00	0.416	35.74	4.14	35.65	4.87	16.65	1.001
	E	37.91	0.74	34.44	0.592	37.70	5.24	36.17	4.36	16.17	0.899
Water extract (%)	A	26.17	0.07	22.22	0.033	20.70	0.31	23.65	0.13	12.52	0.098
	B	31.91	0.49	30.00	0.357	40.10	4.37	37.44	4.31	13.74	0.636
	C	33.13	0.50	26.26	0.310	36.78	3.96	33.74	3.17	15.87	0.695
	D	28.35	0.48	24.26	0.315	34.65	4.02	33.17	4.53	14.04	0.851
	E	35.48	0.69	29.65	0.510	40.91	5.69	37.87	4.57	15.35	0.853
Ether extract (%)	A	5.40	0.01	1.60	0.002	2.75	0.04	3.10	0.02	6.35	0.050
	B	6.20	0.10	2.40	0.029	2.95	0.32	4.20	0.48	7.30	0.338
	C	6.00	0.09	2.05	0.024	2.85	0.31	3.95	0.37	7.00	0.307
	D	5.85	0.10	2.00	0.026	3.35	0.39	3.95	0.54	6.85	0.415
	E	6.45	0.13	2.20	0.038	3.40	0.47	4.00	0.48	7.65	0.425
Ligustilide content (mg/g)	A		4.53		0.73		0.52		0.61		0.48
	B		6.84		1.42		1.73		1.37		0.63
	C		5.14		1.23		0.97		1.13		0.56
	D		4.91		1.26		1.45		1.19		0.49
	E		5.12		1.42		1.88		1.35		0.67
Butylidene phthalide content (mg/g)	A		0.61		0.20		0.20		0.23		0.65
	B		1.40		0.41		0.87		0.60		1.58
	C		0.99		0.30		0.45		0.51		1.14
	D		0.91		0.31		0.64		0.50		1.20
	E		1.44		0.46		0.86		0.60		1.44

A : No nitrogen, B : Ammonium sulfate, C : Urea, D : Ammonium nitrate, E : Ammonium chloride.

Yields were calculated against dry-matter weight.

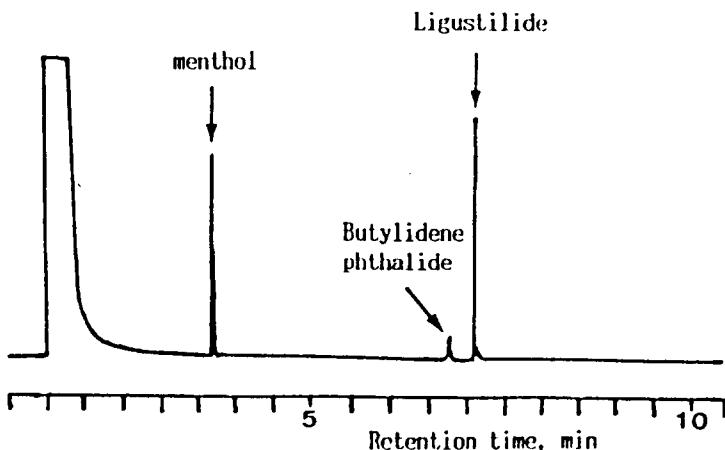


Fig. 3. GC Separation of ligustilide, butylidene phthalide and menthol.

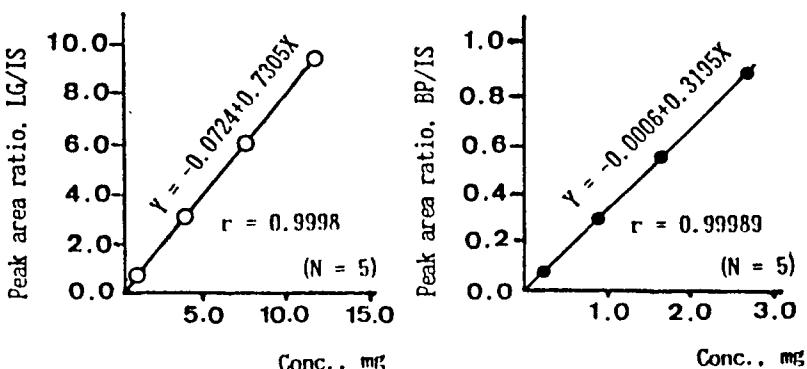


Fig. 4. Regression lines for ligustilide and butylidene phthalide.

施與窒素量の相違がトウキの収量に及ぼす影響は地上部、地下部の収量共に  $N_{2.0}$  区において収量が最も高く、次いで  $N_{1.5}$  区、 $N_{1.0}$  区、 $N_{0.5}$  区、 $N_{0.0}$  区の順であることが明らかになった。したがつて、窒素投入量の増加に伴って収量が増えることが確認され、各處理區間それぞれに有意差認められた。

#### ④. エキス含有率に及ぼす影響

施與窒素量の相違が無窒素區を除き各エキス含有量に對する様ざまな特性及び影響を持っているが、各エキス總生産量は植物體収量との關係から、 $N_{2.0}$  区において最も高いことが認められた (Table 6)。

### ⑤. キャピラリ - GC によるトウキ中の Ligustilide および Butylidene phthalide の定量

Table 6. に示すように Ligustilide の含有量は、生葉の含有量は N<sub>0.0</sub> 区 - N<sub>1.0</sub> 区の間は窒素の投入量が増えると Ligustilide の含有量も増加したが、N<sub>1.0</sub> 区 - N<sub>2.0</sub> 区の間では窒素の投入量が増えると Ligustilide の含有量が減る傾向が認められた。葉柄の含有量は窒素の投入量が増えるに伴って Ligustilide の含有量が増える傾向を示した。地下部の含有量は殆ど差異が認められなかった。

一方、Butylidene phthalide 含有量の変化は、葉の含有量は N<sub>1.0</sub> 区で高かったが、葉柄含有量は窒素の投入量が増えるに伴って Butylidene phthalide の含有量が増える傾向を示した。主根の含有量は N<sub>1.0</sub> 区に對し、N<sub>0.5</sub> 区において同様であり、N<sub>1.5</sub> 区ないし N<sub>2.0</sub> 区でやや低く、N<sub>0.0</sub> 区で最も低くなることが認められた。この事はひげ根においても同様な結果を得られた。側根の含有量は N<sub>1.0</sub> 区に對し、N<sub>2.0</sub> 区及び N<sub>1.5</sub> 区においても同様であることが見られ、N<sub>0.5</sub> 区でやや低く、N<sub>0.0</sub> 区で最も低下することが認められた。

Table 4. Comparison of physiologically-active of the leaves under various amount of nitrogen fertilizers.

		6/ 1	6/27	7/25	8/22	9/19	10/17
Transpiration rate (s/cm)	N0.0	8.81 <sup>b</sup>	9.65 <sup>a</sup>	7.67 <sup>b</sup>	6.70 <sup>b</sup>	7.94 <sup>b</sup>	9.38 <sup>b</sup>
	N0.5	9.25 <sup>a,b</sup>	10.09 <sup>a</sup>	10.29 <sup>a</sup>	7.31 <sup>b</sup>	6.30 <sup>b</sup>	10.82 <sup>b</sup>
	N1.0	10.54 <sup>a,b</sup>	10.90 <sup>a</sup>	11.42 <sup>a</sup>	14.03 <sup>a</sup>	6.76 <sup>b</sup>	14.56 <sup>a</sup>
	N1.5	9.84 <sup>a,b</sup>	10.78 <sup>a</sup>	10.84 <sup>a</sup>	9.31 <sup>b</sup>	8.08 <sup>a</sup>	11.82 <sup>b</sup>
	N2.0	10.99 <sup>a</sup>	12.34 <sup>a</sup>	11.51 <sup>a</sup>	17.45 <sup>a</sup>	6.54 <sup>b</sup>	11.62 <sup>b</sup>
	**	NS.	**	**	**	**	**
Chlorophyll content (mg/g)	N0.0	1.538 <sup>b</sup>	1.325 <sup>b</sup>	0.686 <sup>b</sup>	1.707 <sup>b</sup>	1.450 <sup>a</sup>	1.117 <sup>b</sup>
	N0.5	2.891 <sup>a</sup>	2.281 <sup>a</sup>	1.036 <sup>a,b</sup>	1.797 <sup>a,b</sup>	1.570 <sup>a</sup>	1.210 <sup>a,b</sup>
	N1.0	2.101 <sup>a,b</sup>	2.078 <sup>a</sup>	1.049 <sup>a</sup>	1.795 <sup>a,b</sup>	1.460 <sup>a</sup>	1.302 <sup>a,b</sup>
	N1.5	3.024 <sup>a</sup>	2.220 <sup>a</sup>	0.944 <sup>a,b</sup>	2.096 <sup>a,b</sup>	1.773 <sup>a</sup>	1.472 <sup>a,b</sup>
	N2.0	2.244 <sup>a,b</sup>	2.304 <sup>a</sup>	1.008 <sup>a,b</sup>	2.361 <sup>a</sup>	1.595 <sup>a</sup>	1.660 <sup>a</sup>
	**	**	**	**	NS.	**	
Ethylene content (mg/g F.W./hr)	N0.0	0.415 <sup>a</sup>	1.047 <sup>b</sup>	3.275 <sup>a</sup>	0.798 <sup>b</sup>	1.466 <sup>a</sup>	
	N0.5	0.354 <sup>a</sup>	2.171 <sup>a</sup>	2.910 <sup>a</sup>	0.581 <sup>b</sup>	1.294 <sup>a</sup>	
	N1.0	0.666 <sup>a</sup>	2.456 <sup>a</sup>	3.968 <sup>a</sup>	0.973 <sup>b</sup>	0.766 <sup>a</sup>	
	N1.5	1.202 <sup>a</sup>	2.455 <sup>a</sup>	3.000 <sup>a</sup>	0.806 <sup>b</sup>	1.037 <sup>a</sup>	
	N2.0	0.476 <sup>a</sup>	1.621 <sup>a,b</sup>	4.022 <sup>a</sup>	1.779 <sup>a</sup>	1.330 <sup>a</sup>	
	NS.	**	**	**	**	**	

A : No nitrogen; B : Ammonium sulfate; C : Urea; D : Ammonium nitrate;

E : Ammonium chloride.

NS. : No significance; \* : 5% level of significance;

\*\* : 1% level of significance.

Significances in an analysis of variance were expressed as a, b and c at LSD 5% level(s).

Table 5. Comparison of the plant yields under various amount of nitrogen fertilizers.

	Leaf (g)		Petiole (g)		Main root (g)		Lateral root (g)		Fibrous root (g)		Main root (cm)	
	F.W.	D.W.	F.W.	D.W.	F.W.	D.W.	F.W.	D.W.	F.W.	D.W.	Diameter	Length
N0.0	1.16 <sup>b</sup>	0.25 <sup>b</sup>	0.97 <sup>b</sup>	0.15 <sup>b</sup>	5.55 <sup>d</sup>	1.50 <sup>d</sup>	2.05 <sup>d</sup>	0.58 <sup>d</sup>	4.94 <sup>d</sup>	0.83 <sup>d</sup>	1.47 <sup>d</sup>	7.20 <sup>b</sup>
N0.5	3.26 <sup>b</sup>	0.72 <sup>b</sup>	4.42 <sup>b</sup>	0.68 <sup>b</sup>	24.70 <sup>c</sup>	6.35 <sup>c</sup>	16.37 <sup>c</sup>	4.84 <sup>c</sup>	16.49 <sup>c</sup>	2.81 <sup>c</sup>	2.77 <sup>c</sup>	11.36 <sup>a</sup>
N1.0	6.94 <sup>b</sup>	1.60 <sup>b</sup>	7.58 <sup>b</sup>	1.22 <sup>b</sup>	43.55 <sup>b</sup>	11.33 <sup>b</sup>	37.83 <sup>b</sup>	11.94 <sup>b</sup>	27.96 <sup>b</sup>	4.83 <sup>b</sup>	3.10 <sup>c</sup>	11.86 <sup>a</sup>
N1.5	19.03 <sup>a</sup>	4.49 <sup>a</sup>	22.17 <sup>a</sup>	3.55 <sup>a</sup>	45.08 <sup>b</sup>	12.00 <sup>b</sup>	46.98 <sup>a</sup>	14.39 <sup>a,b</sup>	41.65 <sup>a</sup>	6.08 <sup>a</sup>	3.66 <sup>b</sup>	10.99 <sup>b</sup>
N2.0	20.85 <sup>a</sup>	4.99 <sup>a</sup>	24.29 <sup>a</sup>	4.03 <sup>a</sup>	63.62 <sup>a</sup>	17.20 <sup>a</sup>	52.22 <sup>a</sup>	15.67 <sup>a</sup>	50.76 <sup>a</sup>	7.57 <sup>a</sup>	4.36 <sup>a</sup>	13.09 <sup>a</sup>
	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**

F.W. : Fresh weight; D.W. : Dry weight.

\* : 5% level of significance; \*\* : 1% level of significance.

Significances in an analysis of variance were expressed as a, b and c at LSD 5% level(s).

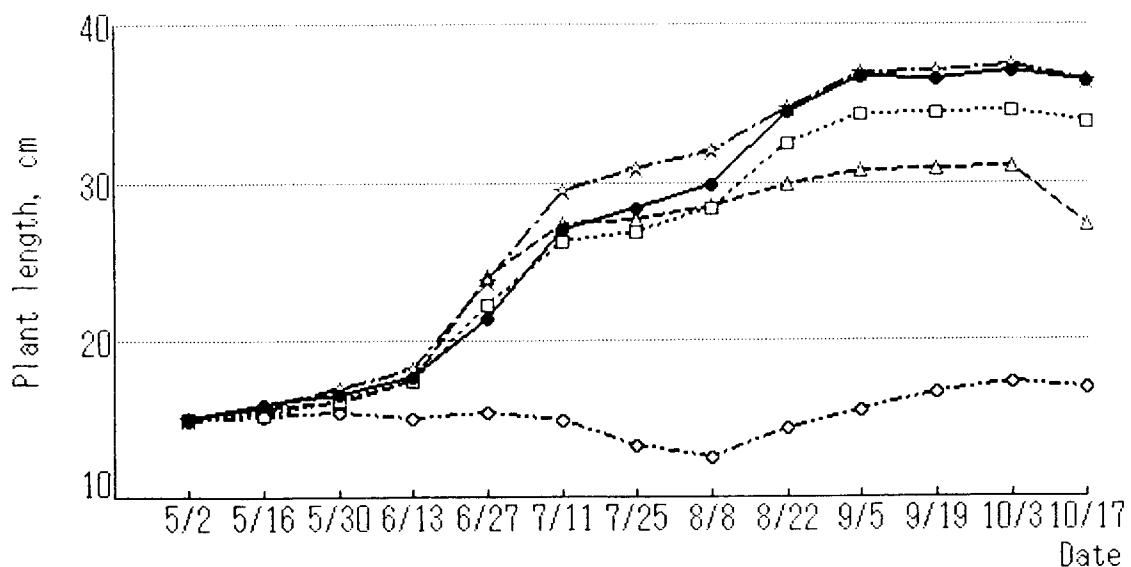


Fig. 5. Effects of various amount of nitrogen fertilizers on plant length.

○--- : N0.0; △--- : N0.5; □--- : N1.0; ☆-•- : N1.5;  
 ●- - : N2.0.

Table 6. Yields of extracts and ligustilide, butyldene phthalide contents of the plant under various amount of nitrogen fertilizres.

		Leaf		Petiole		Main root		Lateral root		Fibrous root	
		(%)	(g)	(%)	(g)	(%)	(g)	(%)	(g)	(%)	(g)
50% Ethanol extract (%)	N0.0	31.65	0.08	31.46	0.047	28.78	0.43	27.48	0.15	7.60	0.059
	N0.5	35.30	0.25	30.96	0.211	35.00	2.22	34.44	1.67	18.44	0.518
	N1.0	36.09	0.58	33.48	0.408	32.91	3.73	28.13	3.36	13.83	0.668
	N1.5	35.17	1.58	32.44	1.152	42.39	5.09	33.74	4.86	14.61	0.888
	N2.0	35.17	1.75	33.09	1.334	38.83	6.68	27.65	4.33	16.61	1.257
Water extract (%)	N0.0	26.17	0.07	22.22	0.033	20.70	0.31	23.65	0.13	12.52	0.098
	N0.5	32.17	0.23	26.78	0.182	34.17	2.17	30.61	1.48	16.78	0.472
	N1.0	31.91	0.51	30.00	0.366	40.00	4.53	27.44	3.28	12.52	0.605
	N1.5	33.30	1.50	27.00	0.959	36.39	4.37	30.09	4.33	14.21	0.864
	N2.0	33.70	1.68	30.61	1.230	31.00	5.33	31.61	4.95	15.09	1.142
Ether extract (%)	N0.0	5.40	0.01	1.60	0.002	2.75	0.04	3.10	0.02	6.35	0.050
	N0.5	5.66	0.04	2.90	0.020	3.40	0.22	3.95	0.19	6.45	0.181
	N1.0	6.20	0.10	2.40	0.029	2.85	0.32	3.10	0.37	6.35	0.307
	N1.5	5.80	0.26	1.65	0.059	2.75	0.33	2.85	0.41	5.85	0.356
	N2.0	6.35	0.32	1.80	0.073	2.15	0.37	4.60	0.72	7.00	0.530
Ligustilide content (mg/g)	N0.0		4.53		0.73		0.52		0.61		0.48
	N0.5		5.06		1.04		1.39		1.44		0.68
	N1.0		6.84		1.42		1.45		1.37		0.63
	N1.5		5.89		2.63		1.20		1.33		0.60
	N2.0		5.89		3.19		1.25		1.36		0.52
Butyldene phthalide content (mg/g)	N0.0		0.61		0.20		0.20		0.23		0.65
	N0.5		0.64		0.26		0.85		0.95		1.50
	N1.0		1.40		0.33		0.87		1.02		1.58
	N1.5		1.39		0.58		0.81		1.03		1.19
	N2.0		1.23		0.79		0.88		1.07		1.23

Yields were calculated against dry-matter weight.

## 結論

地上部の生育は鹽安區ないし硫安區において最も促進され、生育の良好なことを示し、生理的機能の活性が高めたことに伴って、地上部の收量は、鹽安區において一層高くなることが認められた。收穫目標の地下部收量は、鹽安區ないし硝安區においても最も高くなることが明かとなった。各種の窒素質肥料は各エキスおよび Ligustilide, Butylidene phthalide 含有量は硫安區ないし鹽安區で高いことが示された。

一方、施與窒素量の関係から Ligustilide, Butylidene phthalide 含有量は地上部において N<sub>0.0</sub> 区 - N<sub>1.0</sub> 区の間は窒素投入量が増えると含有量が増加したが、N<sub>1.0</sub> 区 - N<sub>2.0</sub> 区の間では窒素の投入量が増えると含有量が減る傾向を示されたが、生育、生理、收量及び各エキス總生産量の結果からいずれも N<sub>2.0</sub> ないし N<sub>1.5</sub> において最も高かった。従つて、窒素量は 1.5 - 2.0 倍量に於て最も高められることが認められた。すなわち、標準量 (10a當り窒素の成分量 41.2kg の 1.5 - 2.0 倍程度が生育、生産における窒素肥料の適量であると考えられた。

**謝 辞:** 本研究を行うに当たり貴重なる御助言、御指導をいただきました元東京農業大學教授 金木良三博士及び東京藥科大學第一生藥教室教授 緋川秀治博士、助教授 竹谷孝一博士並びに定量方法を教授くださいました、東京都立衛生研究所生藥研究室主任研究員 安田一郎博士、同研究室 高野伊知郎研究員、また、實驗材料を提供下さったサラヤ株式會社藥粧事業部 堀越 司部長に御禮申し上げます。

## 参考文獻

- 1) 賴 宏亮 東京農業大學修士論文 (1990).
- 2) Arnon, D. P. Plantphysiol. 24:1 (1949).
- 3) 日本公定書協会編, 第十一改正日本藥局方解説書, 廣川書店, 東京 (1986).
- 4) 山岸 喬, 金島弘恭, 木下良裕, 森三佐雄, 北海道立衛生研究所報, 24:47 (1974).
- 5) 山岸 喬, 金島弘恭, 木下良裕, 森三佐雄, 北海道立衛生研究所報, 25:20 (1975).
- 6) 山岸 喬, 金島弘恭, 木下良裕, 本間正一, 北海道立衛生研究所報, 25:25 (1975).
- 7) 山岸 喬, 金島弘恭, 藥誌, 97:237 (1977).
- 8) 山岸 喬, 本間正一, 北海道立衛生研究所報, 29:40 (1979).
- 9) 高野伊知郎, 安田一郎, 高橋美佐子, 浜野朋子, 濑戸降子, 秋山和幸, 東京都立衛生研究所報, 41:62 (1990).