

寒地におけるダイズ子実イソフラボンの含量・成分組成に及ぼす 登熟気温の影響および品種間差

谷藤健¹⁾・三好智明²⁾・鈴木千賀²⁾・田中義則²⁾・加藤淳³⁾・白井滋久⁴⁾

(¹⁾ 北海道立中央農業試験場, (²⁾ 北海道立十勝農業試験場, (³⁾ 北海道総務部, (⁴⁾ 北海道立北見農業試験場)

要旨：北海道内全域で栽培されたダイズのイソフラボン含量を調査したところ、同一品種でも栽培地によって含量は変動し、登熟期間の平均気温（以下、登熟気温）との間に有意な負の相関が認められた。また、同一栽培地での明らかな品種間差も確認され、「ゆきぴりか」および「音更大袖」の含量が最も高かった。ゆきぴりかは、各適応地帯において標準品種（トヨコマチ）比1.3～1.5倍の高含量を示す一方、栽培地間の変動係数は年次間変動を含めても標準品種より低かった。また、ゆきぴりかの高イソフラボンは、登熟後半におけるダイズイン類の蓄積が一般品種より顕著であることに起因しており、ダイズイン類のゲニスチン類に対する比率（D/DG率）も高まっていたが、品種間および交雑後代系統間にイソフラボン含量とD/DG率の有意な相関は認められず、これらは、独立した遺伝形質であると推察された。一方、D/DG率は同一品種でも栽培地によって変動し、イソフラボン含量と同様に登熟気温と有意な負の相関が見られたことから、イソフラボン蓄積を促進する条件は、D/DG率の決定にも何らかの影響を及ぼしていると考えられた。

キーワード：イソフラボン，含量，気温，ゲニスチン，組成，ダイズ，ダイズイン。

近年の国際穀物価格の高騰、および、食の安全・安心に対する消費者の関心の高まり等によって、国産ダイズが見直されている。こうした状況の中で、各生産地においては、より商品価値の高いダイズの生産に向けた動きが高まることも予想される。北海道は、国内ダイズ生産面積の16%強（平成19年）を占める最大生産地であるが〔農林水産省ホームページ2008〕、産地間競争における優位を確保していくための付加価値創出が今後也不可欠である。

1990年代にアメリカ国立がん研究所で進められた「デザイナーフードプログラム」において、ダイズは発がん予防の上で最重要食品の1つとされ、前後してダイズイソフラボンの機能が注目された（太田2001）。イソフラボンは、エストロゲンと化学構造的に類似し、更年期障害による諸症状（石田ら2001）、乳がんや子宮がん（陳2001）といったエストロゲン依存型疾病の軽減または抑制効果が認められた他、アンドロゲン依存型疾病である前立腺がんの抑制についても報告がある（陳2001）。また、各イソフラボン成分についても、ダイゼインとゲニスチンはエストロゲンレセプターへの親和性等において異なる機能を有する（石田ら2001）ほか、体脂肪および血中脂質の低下（関谷ら2001）や、乳がん発症に関与する酵素の阻害（Chan and Leung 2003）などにおいても作用が異なることが報告されており、イソフラボンの機能性を評価するには、摂取量のみならず、成分組成も重要なファクターであることが示唆されている。

一方、作物学的見地からのダイズのイソフラボン特性への関心も高まり、ダイズ子実中のイソフラボン含量は、各品種固有の形質であるとともに、栽培地や栽培年等の環境

も関与していること（Wangら1994）や、その環境要因としては、登熟期間の気温の影響が大きく、低温環境下での登熟がイソフラボン含量を高めること（Tsukamotoら1995）などが明らかにされた。また、2002年には初の高イソフラボンダイズ品種「ふくいぶき」が育成された（島田ら2004）。イソフラボンの主な成分組成についても、境ら（2005a, b）が、D/DG率として数値化して評価することによって、品種固有の遺伝形質であることを示唆し、今後の育種目標にはイソフラボン含量のみならず成分組成の差別化も視野に入れる必要性を指摘した。しかしながら、イソフラボン含量とは異なり、D/DG率に対する栽培環境の影響については明瞭な傾向が見出されていない。

北海道のダイズ品種は、生育期間の積算温度が2000℃前後、無霜期間が130日に満たない寒地にも適応させた特異なものであり、低温環境下での登熟でイソフラボン含量が高まるという特性は、北海道産ダイズの付加価値向上の面でも有用と考えられた。しかしながら、北海道内の各栽培地帯におけるイソフラボン含量の報告はなく、地帯別の特性を明らかにする必要がある。また、北海道品種の中では、在来種「音更大袖」の高含量が報告されている（木村・永草1997, 川原・永草1998）が、2006年には、北海道立十勝農業試験場において、高イソフラボン品種「ゆきぴりか」が育成された。同品種には、育成品種としての高い普及性が望まれ、より詳細にイソフラボン特性を検討する必要がある。本研究では、北海道で栽培されるダイズ品種のイソフラボン特性について、含量と組成の両面から検証し、寒地における品種ならびに栽培環境の影響を明らかにすることを目的として検討を行った。

材料と方法

1. 試験1 北海道内の各栽培地域におけるダイズのイソフラボン特性と、栽培気象条件および主要子実成分との関係

2001年に北海道全域（渡島・檜山・日高・根室除く10支庁管内）の28市町村、並びに北海道立十勝農業試験場（十勝支庁管内芽室町、以下十勝農試）で栽培された「ユキホマレ」（試験当時は「十育233号」、各適応地帯における試験栽培生産物、以下同じ）30点について、タンパク質、脂質、全糖含有率（以下、主要成分含有率）、イソフラボン含量、およびイソフラボン成分組成を分析した。子実約20gをRetch粉砕機にて粉砕して分析用試料とし、タンパク質含有率はマクロケルダール法（窒素換算係数6.25）、脂質含有率はソックスレー抽出法（ジエチルエーテルを溶媒とし、80℃・7時間抽出）によりそれぞれ分析した。全糖含有率は、試料1gを0.7N塩酸中で98℃・4時間加水分解、濾過後、フェノール硫酸法で分析した。イソフラボン含量および成分組成の分析は後述の通りである。

2. 試験2 北海道栽培品種のイソフラボン特性の品種間差

2003、2004年に、北海道立中央農業試験場（空知支庁管内長沼町、以下中央農試）圃場において「ゆきぴりか」（供試当時は「十育241号」、以下同じ）およびその両親を含む20品種・系統を、中央農試系統選抜圃場における慣行法にて栽培した。各年とも播種日は5月20日、施肥は全量基肥（15 kg-N ha⁻¹, 10 kg-P₂SO₄ ha⁻¹, 75 kg-K₂O ha⁻¹, エコーブ高度化成S325）である。完熟子実を収穫、乾燥後、粉砕試料を調製してイソフラボン含量および成分組成を分析した。

3. 試験3 「ゆきぴりか」のイソフラボン特性

(1) 各栽培地におけるイソフラボン含量

2004、2005年の全道各地の奨励品種決定基本試験および現地試験（以下、「奨決試験」、栽培条件は各地慣行）に供試されたゆきぴりか、および、標準品種トヨコマチ（2004年14ヶ所、2005年20ヶ所）のイソフラボンを分析した。

(2) 登熟期間のイソフラボン蓄積過程

2004、2005年に、中央農試圃場において、ゆきぴりか、および、比較品種トヨムスメを栽培し（栽培条件は試験2と同じ）、開花日に、花柄基部にビニールテープでマーキングした。これらの中で結実した莢を、開花20日後から4日おきに各10~20莢ずつサンプリングし、完熟したとみられた開花68日後まで継続した。各サンプルは採取直後に莢ごと-80℃フリーザーに保存後、凍結乾燥した。子実は莢から分離し、全量粉砕後均一に攪拌混合し、イソフラボンを抽出、分析した。

(3) 交雑後代のイソフラボン含量

2003年に中央農試において交配したゆきぴりか×トヨハルカ（交配当時は「十育237号」、以下同じ）の交雑後代系統（F₃, 99系統、イソフラボン特性では無選抜）を、2005年に中央農試圃場に栽植し（栽培条件は試験2と同じ）、各系統内の任意の10個体から種子1粒ずつ採取、混合したものを当該系統のサンプルとした。これらは全量を粉砕し、均一に攪拌混合後イソフラボンを抽出、分析した。

4. 登熟期間の気象環境の解析

試験1および試験3(1)においては、各栽培地における登熟期間（開花期から成熟期、以下同じ）各日の平均気温、降水量および日照時間を、各栽培地直近アメダスのデータベース〔気象庁ホームページ2001, 2004, 2005〕から取得し、各々の平均値を登熟期間の気象環境の値として用いた。

5. イソフラボンの抽出および分析

(1) 試験1

木村・永草(1997)、川原・永草(1998)および川原ら（注：私信2002）の方法に基づいて行った。すなわち、粉砕試料1gに70%エタノール25mLを加え、80℃・16時間振盪抽出後、遠心分離（3,000rpm, 10分）、濾過（45μmメンブランフィルター）し、10μLを高速液体クロマトグラフィー（HPLC、島津10Avp、カラム：KANTO Mightysil RP-18）に供試した。測定条件は、流速1mL/分、カラム温度40℃、測定波長254nm、測定時間は1点あたり75分である。なお、移動相（水-アセトニトリル）のアセトニトリル濃度は、0-50分：14-34%、50-65分：50%、65-75分：14%である。イソフラボングリコシド（ダイズイン、グリシチン、ゲニスチン（以下Daidzin, Glycitin, Genistin））を検出し、標品（各和光純薬製）による検量線に基づき、濃度を算出した。なお、80℃で長時間抽出した本条件では、Kudouら（1991）が示した通り、生子実中イソフラボンの大部分を占めるマロニル体グリコシド（マロニルダイズイン、マロニルグリシチン、マロニルゲニスチン（以下m-Daidzin, m-Glycitin, m-Genistin））が、ほぼ全量グリコシドに分解されていたことから、試験1におけるイソフラボンはすべてグリコシドとして求め、子実乾重100gあたりmgに換算した合計を総イソフラボン含量とした。なお、アグリコン（ダイゼイン、グリシテイン、ゲニステイン（以下Daidzein, Glycitein, Genistein））、および、加熱により生じたアセチル体グリコシドと見られるピークも検出したが、微量であったことから除外した。

(2) 試験2および試験3

Kudouら（1991）による室温抽出法およびHPLC分析法を基本としたが、抽出濃度および測定条件（移動相勾配、測定時間等）を調整し、以下に改変して行った。すなわち、粉砕試料0.5gに70%エタノール10mLを加え、20℃・24時間抽出後、試験1と同様に遠心分離、濾過し、10μL

第1表 北海道内の各地帯で栽培されたユキホマレの総イソフラボン含量の分布 (2001年産).

総イソフラボン含有量 (mg/100 g)	度 数 分 布									最小値	最大値	平均値
	~ 200	~ 250	~ 300	~ 350	~ 400	~ 450	~ 500	~ 550	550 ~			
栽培地数	1	3	6	3	7	6	1	2	1	195	551	359

n=30. イソフラボン含量は子実乾物 100 g 当たり. 熱抽出によるグリコシドとしての分析値.

第2表 子実中の主要成分含有率, 登熟中の気象環境¹⁾, イソフラボンの含量ならびに成分組成の相関関係 (2001年産ユキホマレ).

	タンパク質 (%)	脂質 (%)	全糖 (%)	平均気温 (°C)	降水量 (mm)	日照時間 (hrs.)
平均気温 (°C)	-0.31	0.86**	-0.60**	-	-	-
日照時間 (hrs.)	-0.27	0.23	-0.23	-	-	-
降水量 (mm)	0.15	0.13	-0.36	-	-	-
Daidzin	0.07	-0.61**	0.56**	-0.76**	-0.30	0.00
Glycitin	-0.23	0.14	0.14	-0.04	-0.24	-0.11
Genistin	-0.34	-0.14	0.46**	-0.49**	-0.40*	0.21
総イソフラボン	-0.25	-0.41*	0.56**	-0.68**	-0.38*	0.10
D/DG 率 ²⁾	0.44*	-0.78**	0.38*	-0.67**	-0.02	-0.18

n=30, *: 5%水準で有意, **: 1%水準で有意.

¹⁾: 各栽培地における開花期~成熟期の平均値. 各気象データは直近のアメダスから取得.

²⁾: Daidzin / (Daidzin+Genistin) × 100 (%).

を HPLC (同上. カラム: YMC-Pack ODS-AM/AM-303) に供試した. 流速 1.5 mL/分, カラム温度 40°C, 測定波長 260 nm で, 測定時間は 1 点あたり 20 分, 移動相 (3% メタノールおよび 0.5% 酢酸を含む) のアセトニトリル濃度は, 0-10 分: 15-23%, 10-12 分: 23-36.2%, 12-14 分: 36.2-50%, 14-16 分: 50%, 16-16.5 分: 50-15%, 16.5-20 分: 15% である. 本条件では, グリコシド, マロニル体グリコシド, アグリコンの全 9 種類のイソフラボン類のうち, ピークが検出されなかった Glycitein を除く 8 種類について, 標品による検量線に基づき, 子実乾重 100 g あたり mg に換算した. ただし, m-Glycitin のみは標品を用いず, Daidzin 標品に対する Glycitin 標品の等 mol ピーク面積比に基づく係数を用いた換算値として求めた.

(3) イソフラボン成分組成の評価

境ら (2005a) による評価法に倣い, ダイズイソフラボンの主成分である 1 Daidzin, m-Daidzin, Daidzein (以下 Daidzin 類) および 2 Genistin, m-Genistin, Genistein (以下 Genistin 類) の含量比 (1/1+2 × 100 (%)), D/DG 率) を求めてイソフラボン成分組成の指標とした. ただし本研究では, D/DG 率を分子数比で評価するため, 境らが用いたアグリコン換算重量比に代えて mol 換算比とした.

結 果

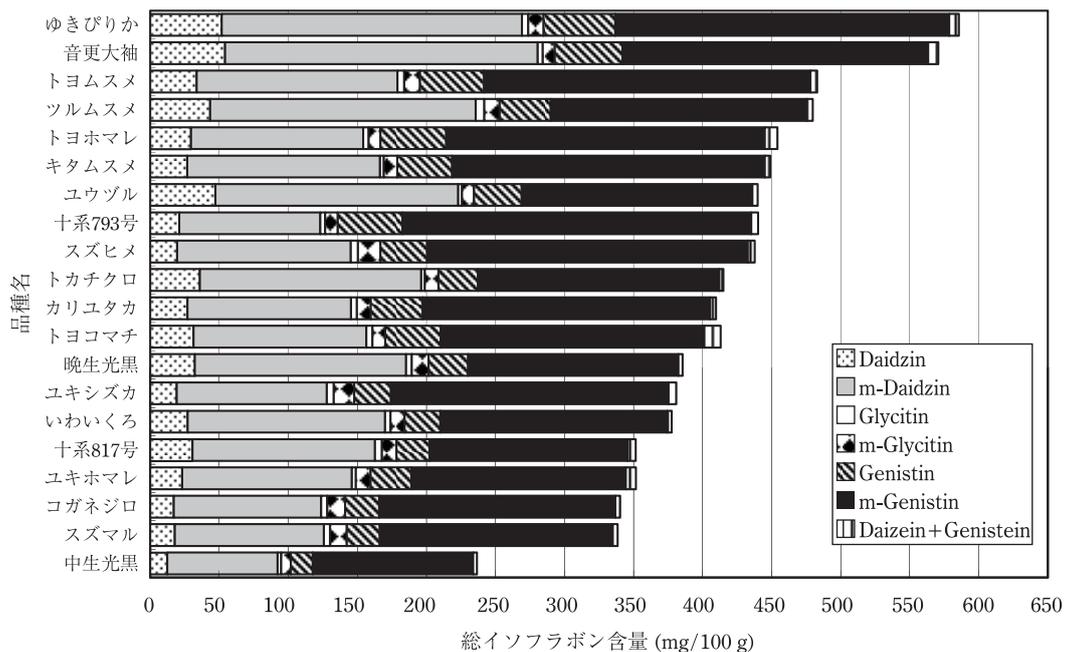
1. 北海道全域で栽培された同一品種のイソフラボン含量および成分組成

試験 1 では, 全道で栽培されたユキホマレの総イソフラボン含量は, 子実乾重 100 g あたり (以下同じ) 195 mg か

ら 551 mg で, 同一品種でも栽培地によって広範囲の値に分布していた (第 1 表). また, 第 2 表に, これらの主要成分含有率, 登熟期間の気象環境, イソフラボンの含量ならびに成分組成の相関関係を示した. 総イソフラボン含量はタンパク質含有率との間に有意な相関はなかったが, 脂質含有率, 全糖含有率との間にはそれぞれ有意な負の相関および正の相関が認められた. イソフラボン成分別では, Daidzin は脂質および全糖いずれとも有意な相関があった一方, Genistin は全糖とのみ有意であった. イソフラボン含量と気象環境との関係では, 平均気温と Daidzin, Genistin および総イソフラボンとの間で有意に高い負の相関が認められた. しかし, 降水量との相関はやや低く, 日照時間とはいずれも有意な相関は認められなかった. 主要成分含有率と気象環境の間では, 平均気温が脂質および全糖とそれぞれ有意な正および負の相関を示した. D/DG 率は, 全ての主要成分含有率と平均気温との間に有意な相関が認められたが, 特に脂質, 平均気温との相関係数が高かった. これは, 平均気温と脂質含有率, および Daidzin 含量の間で, 互いに密接した関連があったことに起因する.

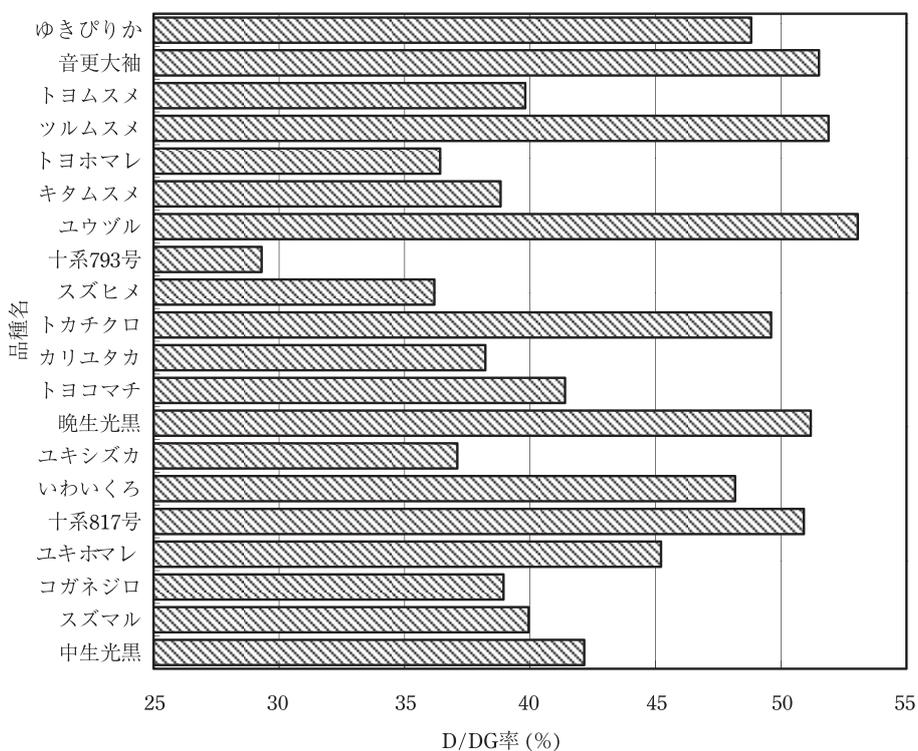
2. イソフラボン含量および成分組成の品種間差

試験 2 の結果から, 20 品種・系統のイソフラボン含量の 2 カ年平均値を第 1 図に示した. 成分別では, いずれの品種も m-Genistin および m-Daidzin が最も高い割合を占め, 続いて Genistin および Daidzin であった. Glycitin 類は Daidzin 類や Genistin 類に比べ大幅に少なく, 品種間差にはほとんど影響していないとみられた. また, アグリコン



第1図 北海道大豆品種・系統のイソフラボン含量の比較。

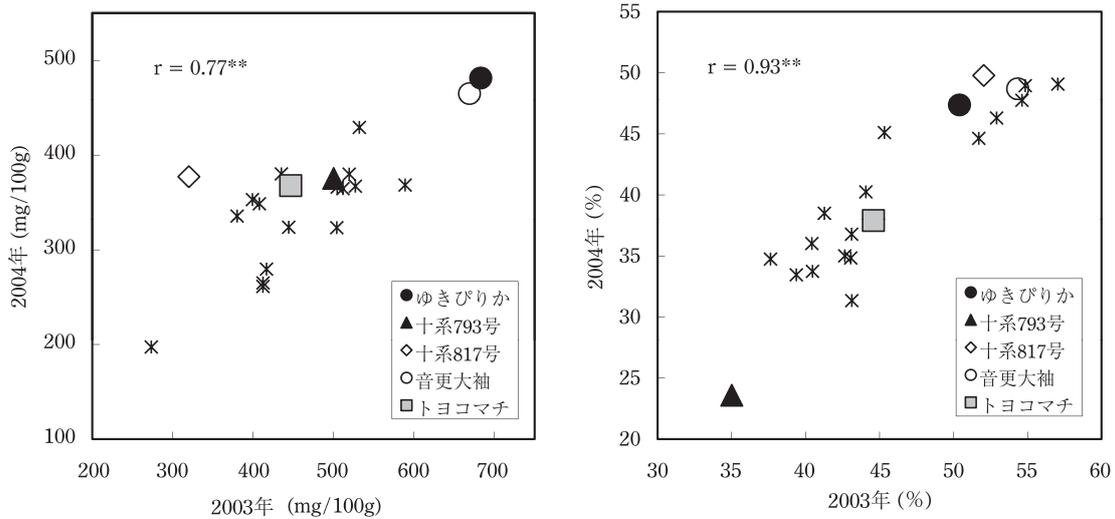
イソフラボン含量は子実乾物 100 g 当たり、中央農試産の2カ年（2003年および2004年）平均値。Glycitein含有量は極めて微量であったことから除外した。十系793号、十系817号はそれぞれゆきびりかの両親。



第2図 北海道大豆品種・系統のイソフラボンのD/DG率の比較。
中央農試産の2カ年（2003年および2004年）平均値。

含量はいずれもごく微量であった。総イソフラボン含量で比較すると、ゆきびりか (582 mg) および音更大袖 (567 mg) が最も高い値を示し、トヨムスメ (481 mg)、ツルムスメ

(478 mg) が続いた。以下、350 mg~450 mg の間で連続的に分布したが、中生光黒のみ特異的に低かった (235 mg)。なお、ゆきびりかの両親 (十系793号、十系817号) のイ



第3図 総イソフラボン含量 (左図) および D/DG 率 (右図) の年次間相関。

2003年および2004年に中央農試に栽植した20品種・系統の比較。イソフラボン含量は子実乾物100g当たり。

** : 1%水準で有意。

第3表 ゆきびりか、トヨコマチのイソフラボン含量の栽培地¹⁾間および年次間変動。

	2004 (n=14)		2005 (n=20)		栽培地×年次 (n=34)	
	ゆきびりか	トヨコマチ	ゆきびりか	トヨコマチ	ゆきびりか	トヨコマチ
総イソフラボン含有量平均値および標準偏差 (mg/100g) ²⁾	482 ± 51	372 ± 57	456 ± 40	300 ± 48	467 ± 46	330 ± 62
変動係数 (%)	10.6	15.2	8.8	16.0	9.9	18.9

¹⁾ 奨励品種決定基本試験および現地試験実施箇所。

²⁾ イソフラボン含量は子実乾物100g当たり。

ソフラボン含量はいずれも中程度であり (各々, 438 mg, 349 mg), ゆきびりかの高含量との関連は認められなかった。また, 各品種の D/DG 率を, イソフラボン含量の順位に従って第2図に示した。35%~40%程度の品種がほぼ半数を占めた一方で, 50%前後の品種も認められ, ゆきびりか (48.8%), 音更大袖 (51.5%) はいずれも高かった。ただし, 第1図と比較すると, 高 D/DG 率すなわち高イソフラボンという傾向を示すものではなかった。なお, ゆきびりかの両親には極端な差が認められ (十系793号: 29.3%, 十系817号: 50.9%), D/DG 率については特異な組合せであったことが判明した。

また, イソフラボン含量と D/DG 率の供試2ヶ年の相関図を第3図として示した。いずれも, 2003年が2004年を上回る傾向が認められたが, 年次間相関は有意に高く, 主な品種間の順位変動は小さかった。

3. ゆきびりかのイソフラボン特性

(1) 各栽培地におけるイソフラボン含量, および登熟期間の平均気温との関係

試験3(1)では, 2004年, 2005年の2カ年, ゆきびりかの各地奨決試験生産物の総イソフラボン含量を標準品種

トヨコマチと比較し, 平均値および変動係数を第3表に示した。ゆきびりかは, トヨコマチの1.3~1.5倍の高含量を示す一方で, 栽培地間の変動係数はトヨコマチより明らかに低かった。栽培地と年次を込みにした場合も同様であり, ゆきびりかのイソフラボン含量は, トヨコマチよりも高位かつ安定した傾向を示した。

また, これらのゆきびりかの総イソフラボン含量について, 開花期以降の気温との関連を10日区分で解析し, 各区分の平均気温と最終的な総イソフラボン含量との関係を第4表に示した。しかし, 2004年には各区分とも平均気温とイソフラボン含量との相関は低く, 2005年においても, 開花後41~50日の平均気温と有意な負相関が認められたのみであった。登熟期間全体では, 両年とも総イソフラボン含量と登熟期間中の平均気温との間に有意な相関はなく, 第1表で見られた2001年産ユキホマレの傾向とは異なっていた。

(2) 登熟期間のイソフラボン蓄積過程

試験3(2)において, ゆきびりか, トヨムスメの開花後のイソフラボン成分の蓄積を追跡し, 2ヶ年平均値の比較を第4図に示した。分析値は8種類のイソフラボン成分について求めたが, 比較を容易にするため, Glycitin 類は

第4表 ゆきぴりか開花後の各期間の平均気温と総イソフラボン含量との相関.

栽培年	開花後日数						全登熟期間
	0-10 d	11-20 d	21-30 d	31-40 d	41-50 d	51-60 d	
2004 ¹⁾	0.14	-0.00	-0.02	0.36	-0.16	0.13	0.09
2005 ²⁾	0.11	-0.09	-0.18	-0.12	-0.59**	-0.36	-0.32

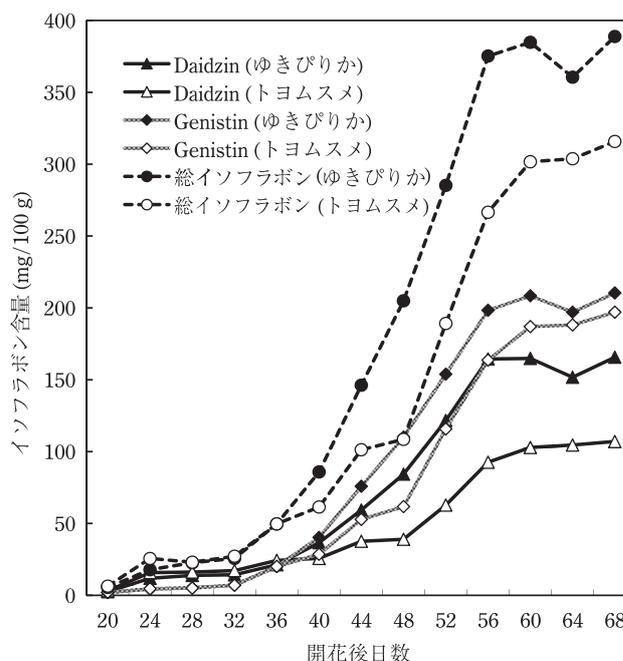
^{1,2)}: n=14 (2004), n=20 (2005).

** : 1%水準で有意.

除外し、さらに、Daidzin類とGenistin類はすべて分子量比からDaidzinおよびGenistinに重量換算した。総イソフラボンについても、分析した8成分のグリコシド重量換算値の合計で示した。なお、供試した2ヶ年いずれも両品種の開花期は同一日(2004年:7月20日, 2005年:7月19日)であった。総イソフラボン量で両品種を比較すると、調査を開始した開花20日後では、どちらもほとんど蓄積は認められないが、開花32日以後から増加が始まり、40日後にはすでに品種間差が生じていた。これ以降、差を拡大しつつ、両品種とも56日後まで急速な増加を示した後、値は安定した。しかしながら、この変化をイソフラボン成分別に見た場合、Daidzin類とGenistin類は異なる傾向を示した。すなわち、Genistin類の蓄積では両品種の差は比較的小さかったのに対し、Daidzin類では、開花後40~56日のゆきぴりかの増加はトヨムスメより明らかに大きく、両品種の最終的な含量は1.5倍程度の差(59 mg)にまで拡大した。これは、総イソフラボン量の差(73 mg)のほぼ8割に相当し、ゆきぴりかの高イソフラボンは、登熟後期における、Daidzin類の顕著な蓄積に起因することが示された。

(3) ゆきぴりか交雑後代のイソフラボン特性

ゆきぴりか×トヨハルカのF₃世代99系統の子実中イソフラボン含量およびD/DG率の度数分布を第5表に示した。これら交雑後代系統は、総イソフラボン含量、D/DG率ともに、平均値付近にピークをもつ単項分布を示したが、両親の値と比較した場合、総イソフラボン含量の平均値はゆきぴりかに近く、ゆきぴりか並以上と見られる系統数は20を上回っていたのに対し、トヨハルカ並以下は10系統前後であった。また、交雑後代系統の総イソフラボン含量とD/DG率の関係において、有意な相関は認められなかった(第5図)。



第4図 ゆきぴりか、トヨムスメの、登熟中のイソフラボン蓄積過程(中央農試、2004年および2005年の2か年平均値)。イソフラボン含量は子実乾物100g当たり。マロニル体グリコシド、アグリコンはグリコシド重量に換算し、グリコシドに加えた。総イソフラボンはグリコシド換算重量の合計とし、Glycitinの蓄積過程は表示から除いた。

考 察

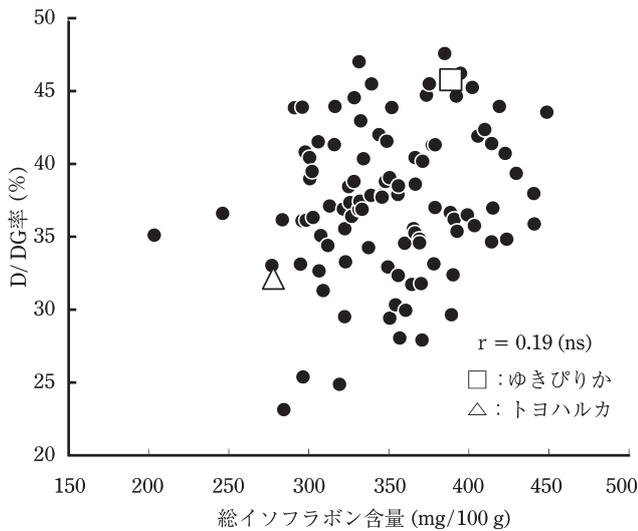
1. 北海道のダイズ栽培地において登熟気温がイソフラボン含量に及ぼす影響

北海道内の大豆栽培地帯は、主に積算気温(6~9月)と無霜期間からI~VIに区分され(北海道農政部1994)、積算気温の比較では概ね(I, II) < (III, IV) < (V) < (VI)の順である。また、区分ごとに品種選択の目安が定められ、試験1

第5表 イソフラボン特性が異なる品種間の交雑後代のイソフラボン含量およびD/DG率の分布.

	度 数 分 布							最小値	最大値	平均値	両親の値	
	~240	~280	~320	~360	~400	~440	440~				ゆきぴりか	トヨハルカ
総イソフラボン含量 (mg/100g)	~240	~280	~320	~360	~400	~440	440~	203	449	350	389	278
系統数	1	2	22	33	27	11	3					
D/DG率 (%)	~26	~30	~34	~38	~42	~46	46~	23.1	47.6	37.0	45.8	32.1
系統数	3	6	12	37	23	15	3					

n=99 (2005), イソフラボン含量は子実乾物100g当たり。両親の値は2反復の平均値。

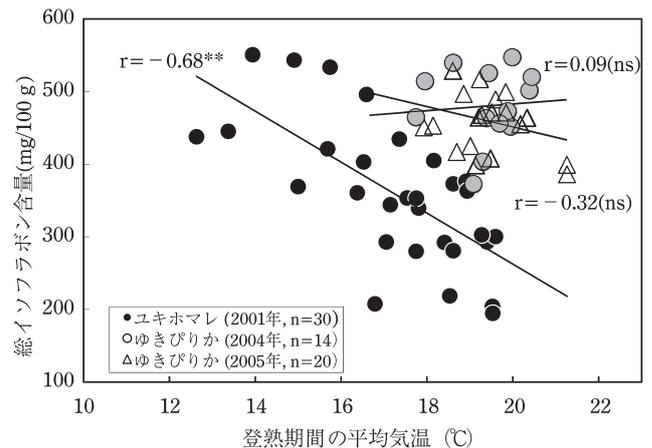


第5図 交雑後代系統のイソフラボン含量と D/DG 率の相関。
ゆきぴりか×トヨハルカ，中央農試 2005 年産（種子世代は F₄，n=99）。イソフラボン含量は子実乾物 100 g 当たり。

において供試した 30 点のユキホマレは、いずれも同品種の適応地帯である区分 I~IV で栽培されたものである。これらのイソフラボン含量は、第 2 表および第 6 図に示す通り、登熟気温と高い負の相関が認められ、また、概ね地帯区分に従った分布を示した（各区分の平均値（±標準偏差）I：435 ± 12 mg（n=3），II：403 ± 99 mg（n=13），III：345 ± 38 mg（n=3），IV：291 ± 77 mg（n=11））。低温登熟によるイソフラボンの増加は、これまでの研究（Tsukamoto ら 1995，遠藤ら 2004）でも明らかにされているが、北海道内の栽培地域間においても同様の差異が確認された。しかしながら、ゆきぴりかを供試した試験 3（1）においては、試験 1 と同様、地帯区分 I~IV での栽培であったにもかかわらず、気温とイソフラボン含量の関係は判然としなかった（第 4 表）。その要因としては、試験 1 を行った 2001 年は、夏季が低温傾向で推移したことに加え、栽培地間の成熟期の幅が 9 月中旬～10 月末と長期間にわたったことから、登熟気温の地域間差も 12.6℃～19.6℃に拡大したのに対し、試験 3（1）を実施した 2004，2005 年はいずれも高温年で、イソフラボン含量が高まりにくい条件であったことに加え、栽培地間の成熟期の幅が短く（9 月中旬～10 月初旬）、登熟気温の地域間差は 17.7℃～20.4℃（2004 年），17.9℃～21.3℃（2005 年）と、2001 年に比べて大幅に小さかったことも影響したと考えられた（第 6 図）。

2. イソフラボン含量に関する北海道ダイズ品種の特徴、および新品種「ゆきぴりか」のイソフラボン特性

ダイズ加工実需者の中には、以前より「北海道産ダイズのイソフラボン含量は高い」という評価がある。そこで、試験 2 の品種比較と並行し、福岡県産フクユタカ、および、新潟県産エンレイ（各 2004 年産）のイソフラボンもそれ



第 6 図 ユキホマレ（2001 年），ゆきぴりか（2004，2005 年）の登熟期間の平均気温とイソフラボン含量の相関。イソフラボン含量は子実乾物 100 g 当たり。ユキホマレとゆきぴりかは、イソフラボンの分析および含量評価の方法がそれぞれ異なることから、本図は両品種の含量の差異を示すものではない。**：1%水準で有意。

ぞれ分析したところ、総イソフラボン含量は、フクユタカ 259 mg，エンレイ 180 mg に対し、同年中央農試産トヨコマチ（368 mg），トヨムスメ（429 mg）など、北海道産には明らかな高含量が認められた。しかしながら、これらは栽培環境が大きく異なっており、品種の遺伝的能力の差のみに起因するとは判断できない。境ら（2005b）は、同一箇所（東北農業試験場刈和野試験地（試験当時）圃場）で栽培した約 2,000 点の国内外ダイズ遺伝資源のイソフラボン含量を比較しているが、その中では、音更大袖も含め、北海道品種が特に高含量という特徴は認められていない。北海道で栽培される品種は、いわゆる夏ダイズの中でも、開花および結実までの日数が特に短い Ib 型または Ia 型が主体である（斉藤・橋本 1980）。これらの品種は、夏ダイズでも開花・結実日数が比較的長い品種や秋ダイズが主体の他府県で栽培された場合には、極早生の特性を示し、まだ気温が下がらない環境下で成熟を迎えることから、仮にイソフラボン生成能が高い品種であっても、結果的に含量は高まらなると推察される。すなわち、高イソフラボンダイズといえども、登熟において一定以上の低温期間が得られる条件が第一であり、品種の遺伝的能力は、こうした環境においてはじめて発揮されると考えられた。山川ら（2007a，b）も、播種期が遅く登熟期間がより低温となる品種でイソフラボン含量は高まること、および、登熟期間を低温に保つことで品種のイソフラボン生成能を最大限に引き出せる可能性を示唆した。しかしながら、これは 12 月近くまで登熟期間を確保しうる西南暖地において可能な条件であり、短い生育期間内での栽培が前提の北海道では、登熟期間の延長には限界があることから、イソフラボン生成能の高い品種の導入が最も有効な手段となる。その点においてゆきぴりかは、道内全ての試験地で、登熟期間が同

程度のトヨコマチを上回り、遺伝的能力の高さが実証された。さらに、第3表に示すように、栽培地・年次間の変動係数が低いことから、ゆきぴりかには、従来の北海道産ダイズと比較しても、高位かつ安定したイソフラボン含量が期待できると考えられた。

ゆきぴりかの高イソフラボンは、当初の育種目標に掲げて選抜された形質ではなく、育成後期の実需者加工試験において判明した特性であることから、初期世代のイソフラボン含量の分離パターンは確認されていない。イソフラボン含量の遺伝様式としては、ポリジーン支配の可能性が示されており（境ら 2000）、本研究でも、ゆきぴりかを片親に用いた交雑後代を調べた結果、連続的な単項分布が認められ（第5表）、この可能性を支持した。しかし、本研究では同時に、ゆきぴりかの両親はいずれも高イソフラボンの形質を有していないことも確認されており（第1図、第3図）、イソフラボン含量の遺伝は単純な集積型のポリジーンとは異なる、複雑な様式であることもあわせて推察された。

また、前項に述べたように、ゆきぴりかの登熟気温とイソフラボン含量との関係は全体として明瞭ではなかった（第4表）が、2005年には開花41~50日の気温とのみ有意な負の相関を示しており、また、イソフラボンが急激に蓄積する時期（第4図）から判断して、「ゆきぴりか」においても、既往の報告（Tsukamotoら 1995、遠藤ら 2004）と同様、特に登熟後半の気温はイソフラボンの蓄積に影響すると考えられ、今後、低温年も含めて検証を重ねる必要がある。

3. イソフラボン成分組成への栽培環境および品種の影響

境ら（2005a, b）は、各イソフラボン成分組成は品種固有の特性であり、また、イソフラボン含量とは遺伝的に独立であることを示唆している。本研究でも、試験2で供試した20品種・系統の2ヶ年のD/DG率は極めて高い年次間相関を示した（第3図）一方、イソフラボン含量との関係においては、2ヶ年とも有意な相関は認められなかった（ $r=0.21$ （2003年）、 $r=0.15$ （2004年））。さらに、イソフラボン含量、D/DG率の特性が共に異なる2品種の交雑後代系統間でも両形質に有意な相関は認められず（第5図）、上述の示唆が裏付けられた。しかしながら、D/DG率はイソフラボン含量と同様、環境要因によって変動することも示された（第2表）。すなわち、登熟気温との有意な負の相関であり、低温によるユキホマレのイソフラボン含量の増加には、Daidzinの増加が大きく寄与していた。また、第4図に示す通り、ゆきぴりかの高イソフラボン特性は、Daidzin類の蓄積が一般品種よりも優ることに起因していた。以上の点は、イソフラボン生合成とD/DG率の決定は、異なるメカニズムの制御下にあるながらも、イソフラボン含量を増加させる要因に対して何らかの関連性をもって応答している可能性を示唆するものである。イソ

フラボン合成は、Phenylpropanoid pathwayにおいて、Chalcone synthase (CHS) を介した p-Coumaroyl-CoA からの Chalcone 合成によって導かれ、さらに Daidzein と Genistein の合成系に分岐後、いずれも Isoflavone synthase (IFS) により合成される (Dixson and Paiva 1995, Jung ら 2000)。D/DG 率の増加を伴って高イソフラボン化する条件下では、CHS や ISF に加え、Daidzein 合成系を分岐させる Chalcone reductase の活性も高まった可能性などが考えられる。最近では、とうもろこしのアントシアン合成に関与する転写因子のダイズへの導入によって Daidzein の増加および Genistein の減少が確認され (Yu ら 2003)、Phenylpropanoid pathway 酵素群の遺伝子操作によって D/DG 率を制御し得るなど、遺伝および環境によってイソフラボン組成が変化する意味を解明する上で有益な知見が得られている。育種による D/DG 率制御の実用的価値については今のところ未知数であるが、緒論にも述べたように、イソフラボンの成分組成によって機能性は多様である可能性が示唆されており、将来、ダイズイソフラボン組成の遺伝的改変がこれら機能性に及ぼす影響が明らかになれば興味深い。

引用文献

- Chan, H.Y. and L.K.Leung 2003. A potential protective mechanism of soya isoflavones against 7, 12-Dimethylbenz [a] anthracene tumour initiation. *British J. Nutr.* 90 : 457-465.
- 陳瑞東 2001. 大豆イソフラボンの発がん抑制. 家森幸男・太田静行・渡邊昌編, 大豆イソフラボン. 幸書房, 東京. 107-125.
- Dixon, R.A. and N.L. Paiva 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 7 : 1085-1097.
- 遠藤浩志・大野正博・丹治克男・境哲文・金子憲太郎 2004. ダイズ品種の収量およびイソフラボン含量に及ぼす播種期および登熟環境条件の影響. *日作紀* 73 : 293-299.
- 北海道農政部 1994. 道産豆類地帯別栽培指針. 北海道農政部, 札幌. 151.
- 石田均司・家森幸男・陳瑞東 2001. 大豆イソフラボンのホルモン作用と臨床への応用. 家森幸男・太田静行・渡邊昌編, 大豆イソフラボン. 幸書房, 東京. 61-106.
- Jung, W., O. Yu, S.C. Lau, D.P. O'Keefe, J. Odell, G. Fader, and B. McGonigle 2000. Identification and expression of isoflavone synthase, the key enzyme for biosynthesis of isoflavones in legumes. *Nat. Biotechnol.* 18 : 208-212.
- 川原美香・永草淳 1998. 大豆を用いた機能性食品の開発に関する研究 (第2報). 北海道立十勝圏地域食品加工技術センター平成9年度事業報告・平成10年度事業計画 : 6-7.
- 木村美香・永草淳 1997. 大豆を用いた機能性食品の開発に関する研究 (第1報). 北海道立十勝圏地域食品加工技術センター平成8年度事業報告・平成9年度事業計画 : 6-7.
- 気象庁ホームページ 2001, 2004, 2005. 過去のデータ検索. <http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php> (2008/1/15閲覧)
- Kudou, S., Y. Fleury, D. Welti, D. Magnolato, T. Uchida, K. Kitamura and K. Okubo 1991. Malonyl isoflavone glycosides in soybean seeds (*Glycine max* Merrill). *Agric. Biol. Chem.* 55 : 2227-2233.
- 農林水産省ホームページ2008. 統計情報. <http://www.maff.go.jp/tokei/>

- index.html (2008/1/15閲覧)
- 太田静行 2001. 大豆と大豆イソフラボン. 家森幸男・太田静行・渡邊昌編, 大豆イソフラボン. 幸書房, 東京. 1-6.
- 齊藤正隆・橋本鋼二 1980. 品種の分類・分布と栽培特性. 齊藤正隆・大久保隆弘編. 大豆の生態と栽培技術. 農山漁村文化協会. 東京. 37-62.
- 境哲文・菊池彰夫・島田尚典・高橋浩司・高田吉丈・島田信二 2000. だいで種子中におけるイソフラボン含量の変異と遺伝学的考察. 育種学研究 2(別2): 162.
- 境哲文・菊池彰夫・島田尚典・高田吉丈・河野雄飛・島田信二 2005a. ダイズ子実中のイソフラボン含量および組成の品種・系統間差異と子実特性および播種時期との関係. 日作紀 74: 156-164.
- 境哲文・菊池彰夫・島田尚典・高田吉丈・河野雄飛・島田信二 2005b. ダイズ遺伝資源の子実中イソフラボン含量およびその組成. 東北農研研報 104: 83-149.
- 関谷敬三・武部実 2001. 大豆イソフラボン投与による更年期障害モデルラットの体重, 血中脂質の低下. 肥満研究 7: 287-290.
- 島田信二・高田吉丈・境哲文・河野雄飛・島田尚典・高橋浩司・足立大山・田淵公清・菊池彰夫・湯本節三・中村茂樹・伊藤美環子・番場宏治・岡部昭典・高橋信夫・渡辺巖・長沢次男 2004. 耐病虫性・多収・高イソフラボン含量ダイズ新品種「ふくいぶき」の育成. 東北農研研報 102: 41-56.
- Tsukamoto, C., S. Shimada, K. Igita, S. Kudou, M. Kokubun, K. Okubo and K. Kitamura 1995. Factors affecting isoflavone content in soybean seeds: Changes in isoflavones, saponins, and composition of fatty acids at different temperatures during seed development. J. Agric. Food Chem. 43: 1184-1192.
- Wang, H., P.A. Murphy 1994. Isoflavone composition of American and Japanese soybeans on Iowa: Effects of variety, crop year, and location. J. Agric. Food Chem. 42: 1674-1677.
- 山川武夫・仲野快恵・山田亜里砂・梶原さゆり・望月俊宏 2007a. ダイズ種子中のイソフラボン含有率の品種・収穫年度による差異. 土肥誌 78: 33-38.
- 山川武夫・仲野快恵・梶原さゆり・望月俊宏 2007b. 登熟温度がダイズのイソフラボン含有率の推移に及ぼす影響. 土肥誌 78: 39-44.
- Yu, O., J. Shi, A.O. Hession, C.A. Maxwell, B. McGonigle and J.T. Odell 2003. Metabolic engineering to increase isoflavone biosynthesis in soybean seed. Phytochemistry 63: 753-763.

Effect of Temperature during the Seed-filling Period and Varietal Differences in Soybean Isoflavone Content and Components in Cold Districts: Ken TANIFUJI¹⁾, Tomoaki MIYOSHI²⁾, Chika SUZUKI²⁾, Yoshinori TANAKA²⁾, Jun KATO³⁾ and Shigehisa SHIRAI⁴⁾ (¹⁾Hokkaido Central Agr. Exp. Stn., Naganuma 069-1395, Japan; ²⁾Hokkaido Tokachi Agr. Exp. Stn.; ³⁾Department of General Affairs in Hokkaido Government; ⁴⁾Hokkaido Kitami Agr. Exp. Stn.)

Abstract: The isoflavone content of soybeans cultivated in Hokkaido was investigated, in terms of varietal and local differences. There was a significant negative correlation between isoflavone content and temperature during the seed-filling period, in each cultivar cultivated in various experimental locations in Hokkaido. "Yukipirika" had the highest isoflavone content, followed by "Otofuke-Osode". "Yukipirika" had a 1.3-1.5-fold higher isoflavone content than the standard cultivar in any experimental location, and had lower coefficients of variation among locations and years. In "Yukipirika", the accumulation of daidzin (and its relatives) was especially high, and the ratio of daidzin to genistin (D / DG ratio) was high. However, the isoflavone content and D / DG ratio did not significantly vary with the cultivar and progeny. On the other hand, the D / DG ratio in the same cultivar cultivated in various locations negatively correlated with the temperature during their seed-filling period, suggesting that the conditions that accelerate the isoflavone accumulation would also affect the D / DG ratio.

Key words: Component, Content, Daidzin, Genistin, Isoflavone, Soybean, Temperature.