

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

境哲文¹⁾・菊池彰夫¹⁾・島田尚典²⁾・高田吉丈¹⁾・河野雄飛¹⁾・島田信二³⁾

(¹⁾農業・生物系特定産業技術研究機構・²⁾北海道立十勝農業試験場・³⁾作物研究所)

要旨：ダイズ子実に含まれているイソフラボンは、様々な薬理効果が報告されており、イソフラボン含量が高い高機能性の品種開発が期待されている。そこで、子実中のイソフラボン含量と組成の遺伝的改良が可能かどうかを明らかにするため、1996～2002年の7年間に、ダイズとその野生種であるツルマメの遺伝資源延べ約2,000点を供試し、イソフラボン含量の品種・系統間差および年次間変動について解析した。その結果、イソフラボン含量は23.5～848.5 mg/100 gDWに分布し、一般に早生群は低く、中生～晩生群では品種・系統間差が顕著であった。イソフラボンの総アグリコンに占める総ダイゼインの割合は18.6～81.7%と品種・系統間の変異幅が大きく、かつ安定していた。また、18品種・系統を6年間供試しイソフラボン含量の年次間変動係数を調査したところ13.1～60.7%であり、含量と年次間変動係数に相関関係はみられなかった。このうち15品種・系統の2ヶ年にわたる平均イソフラボン含量は標播区より晩播区で高くなる傾向にあり、両区の含量には高い有意な正の相関関係が認められた。また、供試した遺伝資源において含量と種皮色、子葉色、百粒重および粗蛋白質含有率には相関が認められなかった。以上のことは、子実の外観、大きさが変異に富み、高含量かつ安定してイソフラボンを含む品種育成と栽培による高含量化の可能性を示している。
キーワード：イソフラボン、遺伝資源、含量、組成、ダイズ

イソフラボンはフラボノイドの一種として広く植物界に分布しており、マメ科植物、特にダイズ子実に多く含まれ、その大部分は配糖体として存在する。現在までにダイズ子実ではダイゼイン、ゲニステイン、グリシテインの3種類のアグリコンとそれぞれの配糖体であるダイズイン、ゲニスチン、グリシチンおよび各々にマロニル基が付加したマロニル化配糖体、アセチル基が付加したアセチル化配糖体の3群12種類の存在が確認されている (Kudou ら 1991)。

近年、植物由来の女性ホルモン様物質 (フィトエストロゲン) としてのダイズイソフラボンには、更年期女性におけるホルモンバランスの乱れによる骨粗鬆症等の更年期障害に対する改善効果が報告されている (Messina 1995, Arjmandi ら 1996)。この他、発ガン・ガン細胞増殖抑制 (Akiyama ら 1987, Coward ら 1993)、心疾患予防効果 (ジェームス 2000)、抗酸化作用 (Naim ら 1976)、等の薬理効果が報告されており、現在、アメリカ合衆国、日本を中心に食品や医学分野で様々な疫学調査、臨床実験を含めた機能解明が試みられ、食品の持つ機能性成分として大きく注目されている。既に米食品医薬品局 (FDA) や (財) 日本健康栄養食品協会がイソフラボンの日常的な摂取を推奨しているが、ダイズ以外の食物が含むイソフラボン含量はごく僅かであり、日常的な摂取はダイズ以外では困難である。

一方で、イソフラボン含量には品種・系統間差があり、かつ同一品種・系統でも栽培地および登熟期間の気温等で変動する (Tsukamoto ら 1995, Carrao-Panizzi ら 1998)。また、年次間変動も大きいためダイズ品種自体の付加価値として十分定着しているとは言い難く、食品・医学分野における消費面の研究に対し供給面における育種・栽培法の研究は

立ち遅れている。

本研究では、イソフラボン含量が高い高付加価値品種の育成とその生産技術を確立することを目的とし、2,000点を超えるダイズとその近縁野生種であるツルマメ遺伝資源について子実中イソフラボン含量、組成および年次や栽培条件による変動等の評価を行い、その特性の解析を行った。

材料と方法

1. 供試材料及び処理条件 {ダイズおよびツルマメの品種・系統のイソフラボン含量と組成の解析}

ア) イソフラボン含量および組成の品種・系統間差異と栽培年次の影響 (試験 I)

1996～2002年に独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構東北農業研究センター刈和野試験地 (秋田県大仙市刈和野) および独立行政法人農業生物資源研究所ジーンバンクで収集・保存されていた野生ダイズ (*Glycine soja* Sieb. et Zucc., ツルマメ) 41点を含む国内外のダイズ (*Glycine max* (L.) Merr.) 品種・系統を評価対象とした。延べ調査点数は国内からの導入遺伝資源が1,775点、同国外が347点、来歴不明が5点の計2,127点で、そのうち、ジーンバンク保存番号の重複分を除いた品種・系統数はそれぞれ1,515, 328, 5点の計1,848点であった (第1表)。重複した供試品種・系統279点は供試年次が異なる場合は個別のデータとして扱い、成熟期が不明もしくは未成熟の品種・系統47点を除く延べ2,080点を用いて、子実中のイソフラボン含量と成熟期の関係およびその成分組成について解析を行った。各年度における供試数は第2表に示した。

供試材料は刈和野試験地普通畑圃場 (洪積土壌) で畦間

第1表 供試材料の来歴およびイソフラボン含量の分布.

来歴 ¹⁾	供試系統数	イソフラボン含量 mg/100gDW ²⁾	来歴	供試系統数	イソフラボン含量 mg/100gDW	来歴	供試系統数	イソフラボン含量 mg/100gDW
一国内一			岐阜	5	211.7~352.8	一国外一		
北海道(樺太)	2	43.0, 69.3	三重	1	274.6	中華人民共和国	55	59.1~848.5
北海道	239	28.1~379.7	滋賀	3	168.2~319.0	朝鮮半島	27	145.4~401.8
青森	99	23.5~497.4	京都	1	52.7	大韓民国	21	126.1~385.3
秋田	542	54.2~615.3	大阪	1	248.4	インドネシア	2	365.9, 394.2
山形	69	76.9~537.8	兵庫	2	167.8, 267.1	ネパール	27	250.9~561.3
岩手	47	72.5~433.1	奈良	2	302.7, 320.5	パキスタン	3	256.6~511.7
宮城	30	105.7~415.9	鳥取	2	185.1, 416.2	オーストラリア	3	109.5~437.5
福島	46	84.7~795.2	岡山	2	265.3, 384.2	アメリカ	91	57.2~843.2
茨城	62	78.5~645.4	広島	2	297.8, 438.2	カナダ	8	89.7~188.8
栃木	8	113.9~311.1	山口	1	266.2	ブラジル	6	162.7~658.8
群馬	6	100.0~433.9	徳島	2	319.5, 427.6	スウェーデン	1	99.5
埼玉	11	100.5~323.0	愛媛	1	156.7	旧ソビエト	1	68.8
千葉	26	81.1~648.2	福岡	3	106.9~224.2	ドイツ	20	51.9~287.8
東京	1	137.6	佐賀	7	112.8~300.1	フランス	8	39.1~160.7
神奈川	7	149.8~456.6	長崎	2	202.4, 202.5	ハンガリー	18	40.5~331.1
山梨	7	204.4~599.4	熊本	13	55.5~419.3	旧ユーゴスラビア	23	36.9~255.7
長野	54	74.7~585.9	宮崎	2	144.5, 156.3	ポーランド	4	44.8~295.0
新潟	34	44.3~520.7	鹿児島	3	158.7~232.3	ルーマニア	8	45.2~227.2
富山	1	241.0	国内(導入先不明)	139	45.6~585.4	外国(導入先不明)	2	45.3, 105.1
石川	2	344.3, 403.8	東北(導入先不明)	10	102.3~482.5			
福井	7	111.3~328.4	北陸(導入先不明)	3	220.0~352.1	導入先不明	5	69.0~478.0
静岡	2	85.3, 135.5	関東東山(導入先不明)	4	104.7~201.2			
愛知	1	208.8	近畿(導入先不明)	1	417.3	合計	1,848	

1) 原産地あるいは取り寄せ先. 農業生物資源研究所ジーンバンクの表記法に従った.
 2) イソフラボン含量は1997から2002年にわたり毎年75~598系統を供試し測定した.

75 cm, 株間 12 cm の 1 本立ての栽植密度で 5 月下旬に播種を行い, 同試験地の標準的耕種方法で栽培した. 各個体を成熟期に達し次第, すみやかに収穫して風乾したが, 11 月中旬迄に成熟期に達しなかった品種・系統は収穫後に通風乾燥 (約 30℃) した. ツルマメは同一個体内でも莢毎に成熟期が異なるため, 全体の 2 分の 1 以上が完熟した時点で収穫, 風乾した.

イ) イソフラボン含量の年次間変動に及ぼす品種・系統の影響 (試験Ⅱ)

1996~97 年と 1999~2002 年の計 6 ヶ年にわたり極早生から晩生を含む 18 品種・系統を供試し, イソフラボンとイソフラボンの糖鎖部分を除いたアグリコンの総量, およびその成分組成について年次間変動を解析した. 試験地における早晩性の分類基準に基づく供試材料の成熟期と品種・系統名は, 極早生 (成熟期: 9 月 10 日以前) が B51 で, 以下同様に, 早生 (9 月 11~20 日) が西海 20 号, 早生の晩 (9 月 21~30 日) が滝谷 560 号, 刈羽滝谷, 集体 3 号, 鼠莢, Blackhawk, 中生の早 (10 月 1~7 日) が鉄豊 8 号, Sherwood, 中生 (10 月 8~14 日) が黄金豆, 秋田兄, 交 103 号, 白毛 9 号, 東北 100 号, 中生の晩 (10 月 15~21 日) が岩手 2 号, 黒砂糖豆, 晩生の早 (10 月 22~28 日) が, ミヤギシロメ, 晩生 (10 月 29 日~11 月 7 日) が Lee である. 栽植密度は畦間 75 cm, 株間 12 cm の 1 株 2 本立て, その他の栽培条件は試験Ⅰと同じである.

ウ) 播種期がイソフラボン含量に及ぼす影響の品種・系統間差異 (試験Ⅲ)

試験Ⅱで供試した 18 品種・系統のうち, 黒砂糖豆, ミヤギシロメ, Lee を除く 15 品種・系統を用い, 標播区と晩播区を設け, 播種期がイソフラボン含量およびその成分組成に及ぼす影響について 2001, 2002 年度の 2 ヶ年の結果を元に解析した. 播種期は 2001 年度の標播区 5 月 24 日, 晩播区 7 月 2 日, 2002 年度はそれぞれ 5 月 23 日, 7 月 1 日とした. 播種期以外の栽培条件は, 試験Ⅱと同じである.

エ) 子実の外観および成分とイソフラボン含量の関係 (試験Ⅳ)

試験Ⅰに供試した 2001 年度の材料から, 東北地域の作付けダイズとほぼ同じ 9 月下旬~11 月上旬に成熟期に達する 195 点を用いて子実の主要形質である種皮色, 子葉色, 百粒重, 粗蛋白質含有率, 粗脂肪含有率とイソフラボン含量の関係について統計解析を行った. 種皮色, 子葉色の分類はダイズ調査基準 (1974, 農水省農業技術研究所編) に従い, 粗蛋白質含有率, 粗脂肪含有率は粉碎試料を近赤外分光分析器 Infracore 1241 (FOSS) で測定した. 統計処理は SPSS ver. 10.0J (SPSS Inc.) を用いて行った.

2. イソフラボン含量および成分の測定法

ダイズ子実約 10 g を振動ミル (平工製作所 TI 200) で 2 分間, 均一になるよう粉碎し, その粉碎試料約 20 mg を 1.5 ml マイクロチューブに入れて 0.1% 酢酸含有 70% エタノール

ルを加え、25°C、48時間静置して総イソフラボン抽出した。その抽出液をHPLC [WATERS LC-1 Module (1996～1998年), HITACHI L-7000 series (1999～2002年), column: YMC-Pack ODS-AM/AM-303 (AM12S05-2546WT)], 測定波長260 nmで水-アセトニトリル (0.1%酢酸含有) 濃度勾配によって分離し、イソフラボン画分 (ダイゼイン, マロニルダイゼイン, ゲニステイン, マロニルゲニステイン, ダイゼイン, ゲニステイン) の標品 (nacalai tesque) のピーク面積を元に各成分量を算出し、さらに総イソフラボン含量はそれらを合計して求めた。グリシテインをアグリコンとする配糖体は胚軸部分にしか存在せず、配糖体全体の約5%しか含まないため (Kudou ら 1991) 解析対象から除いた。また、粉碎試料の一部を用いて含水量を測定し、乾物100 gあたりの換算値を総イソフラボン含量として表示した。

結果および考察

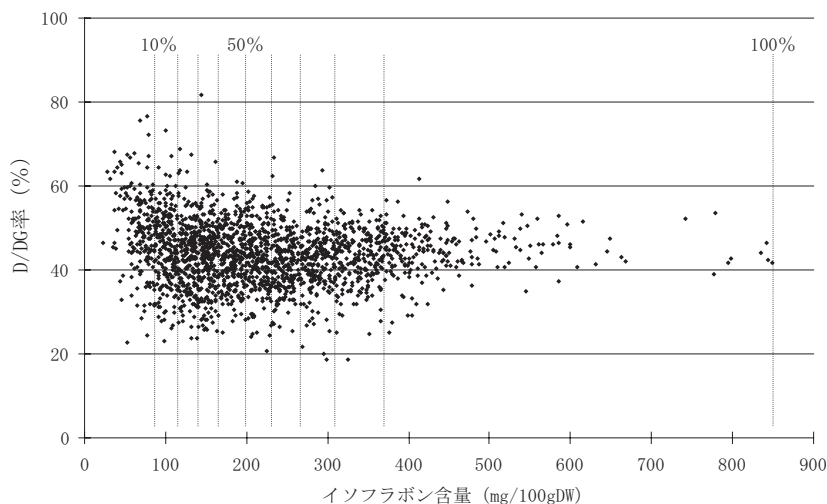
1. イソフラボン含量の遺伝的変異と栽培年次の影響 (試験 I)

供試した延べ2,080点の品種・系統のうち、国内の中部地方以西、国外ではネパール等の低緯度地域に由来する品種・系統では、本試験の栽培条件では晩生になりすぎ、降霜等により正常に成熟しないものが多くみられた。

イソフラボン含量は全ての品種・系統および栽培年次を込みにして評価すると23.5～848.5 mg / 100 gDW の範囲に分布し、200～500 mg / 100 gDW の品種・系統が全体の約50%を占めた (第1図)。イソフラボン含量が特に高かった徽州大豆 (848.5 mg / 100 gDW) と Foster (843.2 mg / 100 gDW)、および3ヶ年以上の評価データを持つ品種・系統のなかで年次間変動が少なく比較的含量的高い岩手2号 (平均361.5 mg / 100 gDW, CV 5.8%), 東北101号 (平

均318.4 mg / 100 gDW, CV 12.5%) 等が育種素材として有望と考えられる。供試数の多い東北地方の品種・系統は幅広い含量変異を示し、国外でも中国、アメリカ品種には高低品種・系統間で十数倍の含量差が認められた。500 mg / 100 gDW 以上含む高含有品種・系統は青森以北および中部・東海地方以西にはみられず、全体でも3%以下に過ぎなかった。イソフラボン含量は環境変動が大きく、特に登熟期の気温が高めに推移すると低下することが報告されており (Tsukamoto ら 1995)、感温性の高い北海道品種が比較的低含量を示した理由として、遺伝的要因の他に次のことが考えられる。すなわち、本試験の実施場所が北海道よりも低緯度であるため、これら品種の成熟期が早まり、比較的気温が高い9月20日頃までに成熟に達したことから、イソフラボンの合成および蓄積に大きく影響する登熟期の気温が高く推移し、含量が低下したのであろう。逆に、中部東海地方以西の品種・系統はより高緯度地域で栽培したため十分な登熟温度が確保できず、成熟期が遅延したことが低含量化の一因と考えられるため、高イソフラボン含有ダイズの生産には生産地に適合した生態型の品種選択が重要である。

供試した品種・系統の成熟期とイソフラボン含量の関係について成熟期を旬毎に分けて相関係数を求めた (第2表)。全成熟期を込みにした場合は、1996年度を除き成熟期との間には正の相関関係がみられる。また、成熟期毎の比較では9月下旬迄に成熟する早生品種・系統群のイソフラボン含量は概して低く、この低含量に関与する要因として中生・晩生品種よりも比較的高い登熟期の気温が考えられる。1998年度で有意な相関関係がみられなかったのは、早生品種・系統群の登熟期間にあたる8月中旬～9月中旬の気温、日照時間、降水量は他の試験年度と顕著な差は無



第1図 イソフラボン含量とD/DG率の関係 (n=2,080)。

縦の破線はイソフラボン含量の頻度分布を示す。

D/DG率は今回測定したダイゼイン、ゲニステインの2種のアグリコンからなる6種類のイソフラボンをそれぞれ分子量換算後、次式を用いて算出した。

$D/DG率(\%) = \frac{\text{総ダイゼイン}}{\text{総ダイゼイン} + \text{総ゲニステイン}} \times 100$

第2表 各試験年次における成熟期別イソフラボン含量の評価。

供試年次 成熟期	1996	1997	1998	1999 ³⁾	2000	2001	2002
	----- 成熟期別含量 ¹⁾ -----						
～9.30	277.5±119.8 (22)	211.9±75.5 (17)	140.7±44.2 (21)	119.2±64.5 (52)	146.1±84.7 (189)	115.5±42.9 (165)	143.4±57.3 (200)
10.1～10.10	377.4±111.8 (10)	291.4±103.3 (20)	148.9±50.2 (70)	196.3±63.9 (48)	275.1±85.3 (40)	173.4±60.7 (104)	234.5±82.6 (146)
10.11～10.20	370.7±130.1 (20)	307.4±103.6 (91)	155.8±49.3 (135)	209.1±76.8 (53)	367.2±115.7 (23)	248.5±70.4 (41)	282.2±81.2 (163)
10.21～10.31	315.9±88.5 (19)	281±91.3 (50)	157.6±67.6 (3)	289.3±86.6 (143)	417±150.9 (32)	248.9±66.8 (23)	338.7±103.5 (42)
11.1～11.20	303.8±94.3 (4)	347.7±114.8 (19)	- (-)	332.5±72 (21)	459.4±185.2 (29)	346.4±76.5 (6)	372.6±98.7 (18)
全成熟期間	326.8±117.7 (75)	294.7±103.5 (197)	152.3±49.3 (229)	236.7±102.3 (317)	235.4±161.1 (313)	162.5±78.1 (339)	228.2±103.8 (569)
	----- 相関係数 ²⁾ -----						
～9.30	0.611**	0.686**	0.020	0.633**	0.654**	0.369**	0.279**
10.1～10.10	-0.390	0.535*	0.124	0.173	0.313*	0.395**	0.069
10.11～10.20	-0.040	0.088	0.195*	0.518**	0.268	0.038	0.138
10.21～10.31	-0.094	-0.158	-	0.074	0.021	0.083	-0.039
11.1～11.20	-0.525	-0.416	-	-0.139	-0.005	0.139	0.408
全成熟期間	0.219	0.256**	0.153*	0.668**	0.788**	0.709**	0.659**

1) 上段はイソフラボン含量 (mg/100gDW) のAve. ±S. D., 下段の括弧内は供試数。

2) 播種から成熟期迄日数とイソフラボン含量の相関係数。**, *はそれぞれ1, 5%水準で有意であることを示す。

3) ツルマメはダイズと種が異なり, 成熟日がダイズほど明確でないため解析から除外した。

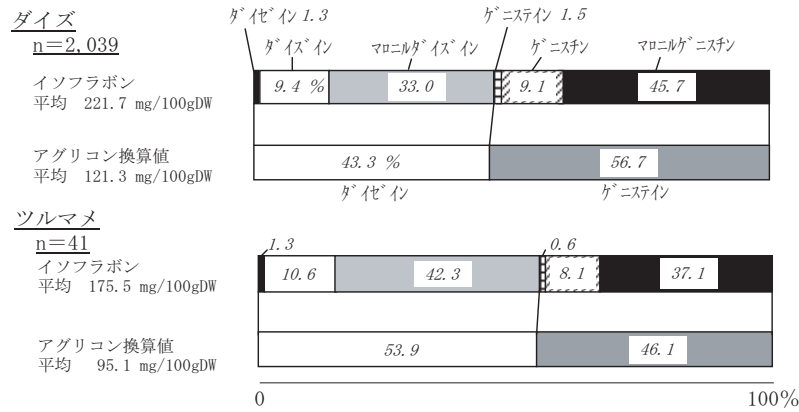
いことから, 登熟期の気象条件よりもこの年度の供試品種・系統の特性に起因するものと推察された。10月中旬以降に成熟する品種・系統はどの試験年度においてもばらつきが大きく, 同一成熟期でも品種・系統間差が大きくなる傾向にあった。

ツルマメのイソフラボン含量は66.3～320.6 mg/100 gDWに分布し, その平均値は175.8 mg/100 gDWで同年産・同一成熟期のダイズ (平均281.3 mg/100 gDW) に比べ低い値を示した。ツルマメは海外および日本全国に自生しダイズとの交雑が可能なことから, 既に国内外で品種育成に積極的に活用されており (王ら2002), これまで高タンパク質 (福井ら1972), β-コングリシニン欠失 (Hajikaら1998) およびグループAサポニン変異系統 (Tsukamotoら1992, 塚本ら1993) 等の成分特性を有する系統が見出されている。イソフラボンの高含量化についてもその活用が期待されたが, 今回の調査で最も高い含量を示した系統で320.6 mg/100 gDWに止まりダイズを上回る系統は見出せなかった。その要因としてイソフラボンをほとんど含まない種皮の割合がツルマメは約18%あり, この値はダイズの中でも比較的種皮率が高い極小粒種の倍近いことや同一個体内で莢の成熟が不揃いであることなどが関係していると推察される。農業特性の著しく劣るツルマメの場合, 高含有ダイズの数倍のイソフラボン含量を示す系統が探索されない限り, 育種素材としての実用性は低いと考えられる。

2. イソフラボンの構成成分組成 (試験I)

各イソフラボン成分はHPLCによりダイズイン, マロニルダイズイン, ゲニスチン, マロニルゲニスチン, ダイゼイン, ゲニステインの順に検出され, 含量は全般にマロニルゲニスチンが最も高く, 以下, マロニルダイズイン, ダイズイン≒ゲニスチン, ダイゼイン≒ゲニステインの順であった。総イソフラボン含量に対して, 約8割弱がマロニル化配糖体であった (第2図)。カナダで育成された「Maple Arrow」では66%がマロニル化配糖体でイソフラボンの大部分を占めることが報告されており (Kudouら1991), ダイズ子実における一般的な存在形態と考えられる。しかし, 配糖体は腸内細菌によってアグリコンまで分解された後に吸収されるのに対し (Sfakianosら1997), アグリコンは直接腸管で吸収されるため吸収速度・量が共に大きいことが報告されている (Izumiら2000)。そこで, ダイズ子実中イソフラボンの含量評価にあたり, そのアグリコン換算量についても考察を加えた。まず, ダイズイン, マロニルダイズインはダイゼインに, ゲニスチン, マロニルゲニスチンはゲニステインにそれぞれ糖鎖部分を除いた基本骨格である2種のアグリコンに分子量換算し, その合計値を用いて再評価した。また, 換算後の全アグリコンに占める総ダイゼインの含有割合をD/DG率(%), 総ダイゼイン(D)/(総ダイゼイン(D)+総ゲニステイン(G))×100で示し, アグリコンの組成比を示す指標とした。

全アグリコン含量は13.4～459.4 mg/100 gDWに分布し, 総イソフラボン含量との間に非常に高い正の相関関係



第2図 ダイズおよびツルマメの子実中イソフラボンおよびそのアグリコン換算値の平均値と成分組成。イタリックは各成分組成の含有割合 (%) を示す。

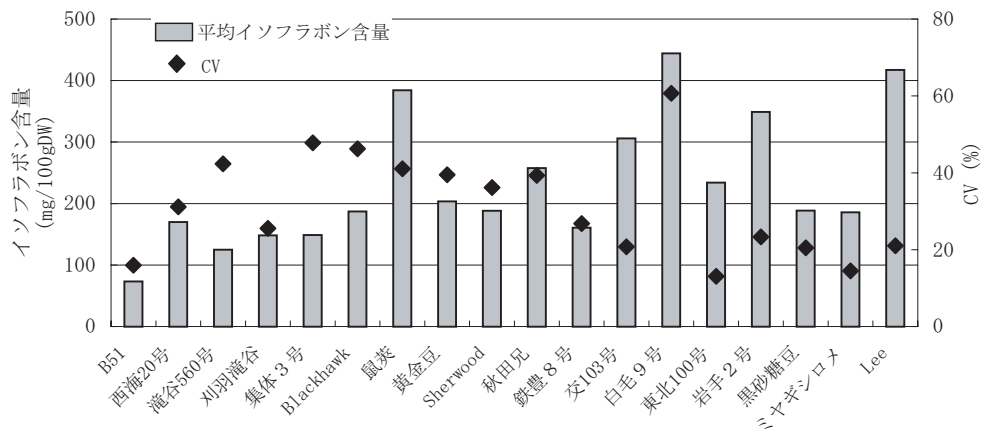
($r = 0.99$, $p < 0.001$, $n = 2,080$) が認められた。総イソフラボン含量が高いダイズはアグリコン含量も高いことを示しており、ダイズ品種のイソフラボン含量の評価にはいずれの測定値を用いても差し支えないと考えられる。

第2図に示すようにダイズの子実に含まれる総イソフラボンの分子量のうち、平均で約54.7%がアグリコンであった。D/DG率(%)は平均で43.4%であるが、供試品種・系統におけるその分布範囲は18.6~81.7%であり、ダイゼインとゲニステインの存在比に大きな品種・系統間差が認められた(第1図)。一方、D/DG率とイソフラボン含量との間に相関はみられなかった($r = -0.093$, $p < 0.001$, $n = 2,080$)。

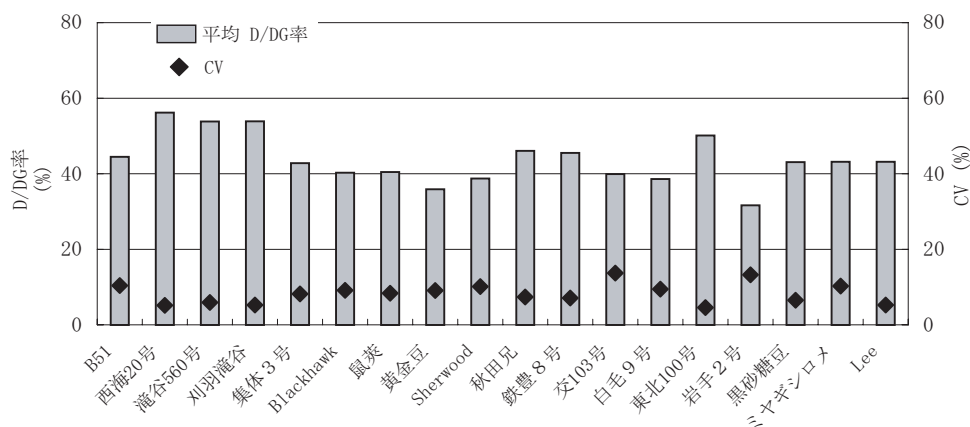
同年産・同一成熟期のダイズのD/DG率は平均43.4%であるのに対し、ツルマメは平均53.9%とその成分組成はゲニステインよりダイゼインが高い傾向を示した。しかし、ゲニステインをアグリコンとする配糖体はダイゼインをアグリコンとする配糖体より登熟後期で蓄積量が増大することが報告されていることから(Kudouら1991)、莢の成熟不揃いによる収穫時の未熟種子混入がツルマメのD/DG率を高くする要因の一つと考えられる。

3. イソフラボン含量の年次間変動の品種・系統間差異(試験II)

計18品種・系統を用いて通算6カ年にわたりイソフラボン含量の年次間変動を調査した結果、変動係数(CV)は13.1~60.7%に分布し、年次における含量の安定度には品種・系統間で大きな差異が認められた(第3図)。また、イソフラボン含量と変動係数間に相関関係は認められなかった($r = 0.21$, $p > 0.1$, $n = 18$)。D/DG率の年次間変動係数は4.6~13.7%と小さく、D/DG率は品種・系統毎に高度に保持されていた(第4図)。イソフラボン含量およびD/DG率の両変動係数間に相関はみられず($r = 0.01$, $p > 0.1$, $n = 18$)、試験Iの結果でもイソフラボン含量とD/DG率に相関は認められなかったことから、両者はイソフラボン生合成経路において異なる制御を受けており、遺伝的にも独立していることが推察された。すなわち、イソフラボンはフェニルアラニンからフェニルプロパノイド生合成経路を経て合成されるが、ダイゼインとゲニステインの合成経路はカルコンシンターゼによりp-クマロイル-CoAからカルコンが合成される際に分岐しており、D/DG率はこの時点で、イソフラボン含量は全合成経路に



第3図 6カ年間における平均イソフラボン含量とその変動係数(CV, %)の品種・系統間差。



第4図 6カ年間に於ける平均D/DG率およびその変動係数(CV, %)の品種・系統間差.

て制御を受けている可能性が高い。また、今回解析に用いた18品種・系統において成熟期と両変動係数間に明確な相関関係は認められなかったことから、イソフラボン含量およびD/DG率の変動幅は登熟期の温度よりも品種・系統の遺伝的特性により大きく依存していると考えられる。一方、含量に関しても品種・系統間序列(順位)に年次間で有意な順位相関がみられることから(第3表)、含量に対する遺伝的要因の影響は明らかである。

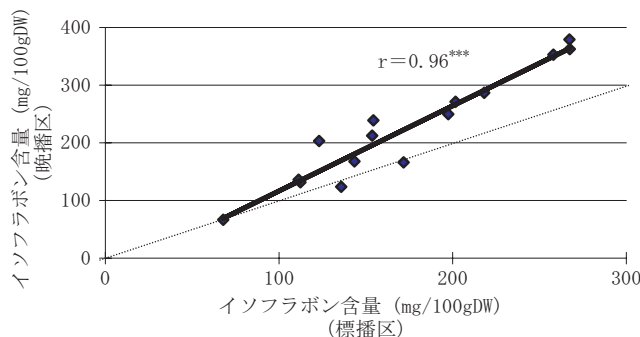
既に述べたようにD/DG率には大きな品種・系統間差が認められ、その年次間変動が小さいことは、イソフラボン含量の年次間変動が少ない高イソフラボン含有ダイズ品種のみならず、高ダイゼインあるいは高ゲニステイン含有性を特徴とするダイズ品種育成の可能性を示している。骨密度減少(Ishidaら1998)、乳ガン抑制(Chanら2003)、チロシンキナーゼ阻害作用(Akiyamaら1987)等に対してダイゼイン、ゲニステイン間に作用力の違いが報告されており、今後の育種研究目標はイソフラボンの高含量化とともに成分組成の差別化も視野に入れる必要がある。

4. 播種期がイソフラボン含量に及ぼす影響の品種・系統間差異(試験Ⅲ)

15供試品種・系統の2ヶ年にわたる平均イソフラボン含量は標播区より晩播区で高くなる傾向にあり、両区の含量には高い正の相関関係($r = 0.96$, $p < 0.001$, $n = 15$)が認められた(第5図)。標播区に対する晩播区の含量増加率は平均29.6%で、特に黄金豆、鉄豊8号の2品

種はそれぞれ54.8%、65.0%と高い値を示した(第4表)。イソフラボン成分組成別にみた含量の増減は、品種・系統平均でいずれの成分も晩播区での増加がみられた。また、ダイゼインとその配糖体を合わせた増加率24.6%に対し、ゲニステインとその配糖体の増加率は32.7%とやや高い値を示したが、各成分の増加率には品種・系統間で大きな差が認められた。

各品種・系統の標播区における播種期から成熟期まで日数と含量増加率は正の相関関係を示し($r = 0.71$, $p > 0.003$, $n = 15$)、成熟期の遅い品種・系統ほど晩播区におけるイソフラボン含量の増加率が大きかった。しかし、成熟期に至る1ヶ月間の平均気温の比較から、晩播による登熟期の温度低下は早生系統ほど大きい。標播区の播種期か



第5図 播種期の違いによるイソフラボン含量の関係。
***: 0.1%水準で有意。破線は $r = 1.0$ を示す。

第3表 イソフラボン含量の18品種・系統間序列(順位)の年次相関。

	1997	1999	2000	2001	2002
1996	0.891**	0.544*	0.966*	0.781**	0.775**
1997		0.696**	0.809**	0.725**	0.787**
1999			0.879**	0.652**	0.900**
2000				0.801**	0.858**
2001					0.754**

Spearmanの順位相関係数。

**、*はそれぞれ1、5%水準で有意差あり。

第4表 晩播による各イソフラボン成分含量の増減率(%)の品種・系統間差異(2001, 2002).

品種・系統名 (早晩性)	成熟期 ¹⁾ 月日	成熟期差 ²⁾ 日	ダゲイン	ダイズイン	マロニル ダイズイン	ゲニステイン	ゲニスチン	マロニル ゲニスチン	total	D/DG率 %
B51(極早)	9.4	20	△22.4	△11.3	7.7	△49.7	△27.5	1.2	△2.1	2.2
西海20号(早)	9.11	18	△13.0	△27.6	1.7	△25.7	△4.2	4.6	△3.3	△2.4
刈羽滝谷(早)	9.20	13	△9.5	△28.8	△4.6	△14.8	△8.8	△4.9	△8.9	△4.2
滝谷560号(早の晩)	9.21	12	17.0	△26.6	21.8	23.7	24.4	29.2	17.1	△1.5
集体3号(早の晩)	9.22	18	△2.1	2.2	5.3	12.9	23.0	42.4	22.2	△6.8
Blackhawk(早の晩)	9.29	17	△13.8	△30.9	14.4	△10.8	17.4	31.3	17.0	△5.1
鼠茨(早の晩)	9.30	15	21.0	26.1	29.3	54.1	66.3	48.2	41.9	△3.9
鉄豊8号(中の早)	10.2	16	34.6	148.8	48.1	51.3	67.8	66.7	65.0	△1.2
Sherwood(中の早)	10.3	13	33.0	61.5	43.6	32.5	40.2	31.3	38.2	2.4
黄金豆(中の早)	10.6	15	34.0	63.6	47.8	29.5	56.2	58.8	54.8	2.0
秋田兄(中)	10.8	10	16.2	51.4	27.6	5.6	21.5	22.4	26.4	△0.5
交103号(中)	10.10	15	41.7	81.2	48.9	22.5	35.5	21.2	35.6	5.5
白毛9号(中)	10.11	7	23.2	△1.1	36.9	20.1	41.4	32.2	31.5	△0.9
東北100号(中)	10.12	7	34.7	35.4	34.9	32.9	44.4	32.0	34.4	0.2
岩手2号(中)	10.14	11	8.7	△4.2	35.1	32.8	46.1	41.1	36.8	△2.5
平均増減率			14.1	15.9	28.2	17.7	35.5	32.9	29.6	△1.5
相関係数 ³⁾			0.75***	0.47*	0.77***	0.72***	0.76***	0.54**	0.71***	0.22

1) 標播区の平均成熟期 (2001, 2002).

2) 標播区と晩播区の成熟期差.

3) 各品種・系統の成熟期と各イソフラボン成分増減率の相関係数. ***, **, *はそれぞれ1, 5, 10%水準で有意差あり.

ら成熟期まで日数と成熟遅延日数には負の相関関係がみられ ($r = -0.73$, $p < 0.002$, $n = 15$), 早生系統ほど晩播により成熟期が遅延する傾向を示すためであるが, 以上のことは登熟期温度が一定水準以下でないと晩播による含量増加効果の小さいことを示唆している. イソフラボン含量増加率と各品種・系統の成熟期前1ヶ月間の平均気温の比較から本試験では晩播区の平均気温が16°C以上の品種・系統で晩播による含量増加率が小さく, また, 年次により異なる傾向, すなわち, 晩播による含量増加を示さない場合があることが分かった. 晩播により B51, 西海20号, 刈羽滝谷の3品種・系統はそれぞれ含量が減少したが, 2ヶ年にわたり減少した品種・系統はなく, B51は2001年度, 西海20号, 刈羽滝谷では2002年度にそれぞれ晩播による含量増加を認めている. 筆者らは前報(遠藤ら2004)で含量増加に対する登熟後期の気温の影響が大きいことを報告したが, これは各生育ステージで温度感受性が異なることを示している. 含量増加率が減少した系統は晩播区においても登熟期の平均気温が約20°Cで推移しており, 温度感受性が高い生育ステージにおいて比較的高温に遭遇した可能性が考えられる.

一方, 播種期による D/DG 率の増減程度も品種・系統毎に異なり, 西海20号, 刈羽滝谷など10品種・系統で減少し, Sherwood, 黄金豆など5品種・系統で増加したが, 平均1.5%程度の減少に留まり, 試験Ⅱの結果とあわせ D/DG 率は環境条件による変動が小さいことが明らかとなった.

本試験の結果は晩播区におけるイソフラボン含量の増加が登熟期の気温低下によりもたらされることを示しており, より高含量で付加価値の高いダイズ生産を行うには晩

播限界まで播種期を遅延させることが考えられる. しかし, 品種の違いによる程度の差はあるが, 晩播栽培では例外なく減収するため(西入1976), 密植等の栽培上の対策を講じる必要がある.

5. イソフラボン含量と粒形質の相関関係(試験Ⅳ)

第5表に子葉色と種皮色がイソフラボン含量に及ぼす影響について解析した結果を示す. 子葉色の違いによるイソフラボン含量には差がないのに対し, 種皮色では10%水準で有意差が認められた. 引き続き行った Tukey の多重比較の結果, 種皮色が黄白色と黄色の群間に5%水準で有意な差があることがわかった. しかし, Kudou ら(1991)は種皮にイソフラボンがほとんど含まれないと報告してお

第5表 イソフラボン含量と種皮色, 子葉色の分散分析 (n=195).

項目	調査 点数	イソフラボン 含量 ¹⁾	
子葉色			
黄	184	186.2±84.8	ns
緑	11	176.6±67.1	
種皮色			
黄白	104	206.7±87.8	a ²⁾
黄	62	154.9±73.5	b
黄緑	5	193.2±36.8	ab
緑	10	162.1±71.3	ab
褐	3	158.1±98.3	ab
黒	11	185.7±73.7	ab

1) Ave. ± S. D. (mg/100gDW).

2) 異なるアルファベット間にはTukeyの多重検定で5%の有意差あり.

第6表 イソフラボン含量と百粒重, 粗蛋白質含有率および粗脂肪含有率間の相関係数 (n=195).

	百粒重 g	粗蛋白質 含有率%	粗脂肪 含有率%
イソフラボン含量	0.037	-0.130	-0.320**
百粒重		0.174*	-0.130
粗蛋白質含有率			-0.701**

**、*はそれぞれ1, 5%水準で有意差あり。

り、種皮色や子葉色がイソフラボン含量に大きな影響を与えるとは考えがたい。今回、黄色群が黄白色群より有意に含量が低かったのは、黄白色群の平均成熟期が10月9日前後なのに対し、黄色群は10月1日と1週間以上早かったことが要因と考えられる。

次に百粒重、粗蛋白質含有率、粗脂肪含有率の各量的形質とイソフラボン含量間の相関係数を求めたところ(第6表)、百粒重と粗蛋白質含有率には正の相関、粗蛋白質含有率と粗脂肪含有率には負の相関がみられ、この傾向は既報の通りであった(平ら1974, 山内ら1977)。イソフラボン含量は粗脂肪含有率と負の相関関係にあり、他の形質とは有意な相関を示さなかった。登熟期の気温が高いと粗脂肪含有率は高くなる傾向にあり(平ら1981)、イソフラボンは粗脂肪の蓄積とは逆の生理特性を示す結果となった。

まとめ

イソフラボン含量の高いダイズの品種・系統を見出すとともに、品種・系統毎に特異なイソフラボン成分組成を示すことを明らかにした。以上の結果は、高イソフラボン含有および異なる機能性が期待できる高ダイゼインあるいは高ゲニステイン組成ダイズ品種育成の可能性を示している。イソフラボン含量の年次間変動の大きさは品種・系統で異なり、年次が異なっても安定的に高い含量を示すものが認められること、品種・系統間の含量の序列(順位)が年次で逆転するケースは少ないことから、子実中のイソフラボン含量は品種・系統の遺伝的特性として評価できると考えられる。イソフラボン含量や成分組成に着目した育種を行う場合、複数年の評価を行い含量の環境条件による変動特性を把握すること、交配後代の選抜時には交配親を同時に栽培して相対評価を行うことが重要である。また、付加価値の高い高イソフラボン含有ダイズの生産では、試験Iで述べたように生産地に適合した生態型の高含有品種を選択すること、播種期の移動で含量を高めるなどの工夫も有効であろう。

また、イソフラボン含量と子実形質の関係についても考察を行った。ダイズには種々の用途があり、それぞれの加工に当たり、豆腐用では加工のし易さ、歩留まりの点から粗蛋白質含有率が、煮豆用は種皮色、百粒重が、きな粉用は種皮色、子葉色がそれぞれ特に重要な子実特性となっている。このようにダイズに求められる特性は用途毎に大きく異なっているが、粗脂肪含有率を除き、これら形質とイ

ソフラボン含量の間に相関関係がみられなかったことから、様々な用途に対応した高イソフラボン含有ダイズ品種の育成は可能であると考えられる。

引用文献

- Akiyama, T., J. Ishida, S. Nakagawa, H. Ogawara, S. Watanabe, N. Itoh, M. Shibuya and Y. Fukami 1987. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *J. Biol. Chem.* 262 : 5592-5595.
- Arjmandi, B. H., L. Alekel, B. W. Hollis, D. Amin, M. Guo, P. Stacewicz-Sapuntzakis and S. C. Kukreja 1996. Dietary soybean protein prevents bone loss in an ovariectomized rat model of osteoporosis. *J. Nutr.* 126 : 161-167.
- Carrao-Panizzi, M.C., K. Kitamura, A.D.P. Beleia and M.C.N. Oliveira 1998. Influence of growth locations on isoflavone contents in Brazilian soybean cultivars. *Jpn. J. Breed.* 48 : 409-413.
- Chan, H. Y. and L. K. Leung 2003. A potential protective mechanism of soya isoflavones against 7,12-dimethylbenz[a]anthracene tumour initiation. *J. Nutr.* 90 : 457-465.
- Coward, L., N. C. Barnes, K. D. R. Setchell and S. Barnes 1993. Genistein, daidzein, and their beta-glycoside conjugates. *J. Agric. Food Chem.* 41 : 1961-1967.
- 遠藤浩志・大野正博・丹治克男・境哲文・金子憲太郎 2004. ダイズ品種の収量性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.
- 福井重郎・平宏和・海妻矩彦・平春枝 1972. ダイズ属植物の子実タンパク質含量とそのアミノ酸組成の亜属間および種間差異について. *育種* 22 : 197-202.
- Hajika, M., M. Takahashi, S. Sakai and R. Matsunaga 1998. Dominant inheritance of a trait lacking beta-conglycinin detected in a wild soybean line. *Jpn. J. Breed.* 48 : 383-386.
- Ishida, H., T. Uesugi, K. Hirai, T. Toda, H. Nukaya, K. Yokotsuka and K. Tsuji 1998. Preventive effects of the plant isoflavones, daidzin and genistin, on bone loss in ovariectomized rats fed a calcium-deficient diet. *Biol. Pharm. Bull.* 21 : 62-66.
- Izumi, T., M.K. Piskula, S. Osawa, A. Obata, K. Tobe, M. Saito, S. Kataoka, Y. Kubota and M. Kikuchi 2000. Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans. *J. Nutr.* 130 : 1695-1699.
- ジェームス, W. A. 2002. 大豆食品は心臓病のリスクを軽減. 蛋白質とイソフラボンに予防効果. *デリーフード冬季増刊号「大豆と技術」* 12-13.
- 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.
- Messina, M. 1995. Modern applications for an ancient bean: soybeans and the prevention and treatment of chronic disease. *J. Nutr.* 125 : 567S-569S.
- Naim, M., B. Gestetner, A. Bondi and Y. Birk 1976. Antioxidative and antihemolytic activities of soybean isoflavones. *J. Agric. Food Chem.* 24 : 1174-1177.
- 西入恵二 1976. 寒冷地における機械化栽培ダイズの生産力解析に関する研究. *東北農試研報* 54 : 91-186.
- 王克晶・高畑義人・海妻矩彦 2002. 中国におけるダイズ野生祖先種

- ツルマメ (*Glycine soja*) 遺伝資源の状況およびその利用. 農業および園芸 77 : 1101–1106.
- Sfakianos, J., L. Coward, M. Kirk and S. Barnes 1997. Intestinal uptake and biliary excretion of the isoflavone genistein in rats. *J. Nutr.* 127 : 1260–1268.
- 平春枝・平宏和・御子柴公人 1981. 大豆の品種および栽培年次が子実の脂質・全カロテノイド含量および色調におよぼす影響. 日作紀 50 : 98–108.
- 平春枝・平宏和・斉藤正隆 1974. 大豆の粒度・品種および栽培年度が化学成分組成におよぼす影響. (第1報) タンパク質・炭水化物および灰分含量. 食総研報 29 : 27–34.
- Tsukamoto, C., A. Kikuchi, S. Kudou, K. Harada, K. Kitamura and K. Okubo 1992. Group A acetyl saponin-deficient mutant from the wild soybean. *Phytochemistry* 31 : 4139–4142.
- 塚本知玄・菊池彰夫・島本義也・金鎮馨・原田久也・海妻矩彦・大久保一良 1993. 大豆種子サポニン成分多型性の地理的頻度分布並びにソヤサボゲノール A 欠変異体の同定. 育種 43(別2) : 161.
- 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.
- 山内富士雄・佐藤正人・山崎昭夫・高城英雄 1975. 高たんぱく質大豆品種の育成における成分検定の効果について. 北海道農試研報 110 : 1–10.

Evaluation of Isoflavone Contents and Compositions of Soybean Seed and Its Relation with Seeding Time : Tetsufumi SAKAI^{*1)}, Akio KIKUCHI²⁾, Hisanori SHIMADA³⁾, Yoshitake TAKADA⁴⁾, Yuhi KONO⁴⁾ and Shinji SHIMADA⁵⁾ (¹⁾*Natl. Agric. Res. Cent. for Kyushu Okinawa Region, Miyakonojo 885-0091, Japan;* ²⁾*Natl. Agric. Res. Cent. for Western Region;* ³⁾*Hokkaido Pref. Tokachi Agric. Exp. Stn.;* ⁴⁾*Natl. Agric. Res. Cent. for Tohoku Region;* ⁵⁾*Natl. Inst. Crop Sci.*)

Abstract : The soybean breeding program for high isoflavone content started in 1996 at the Kariwano Branch of the National Agriculture Research Center for Tohoku Region. The isoflavone content of seeds of more than 2,000 soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] and wild soybean (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) were evaluated using high-performance liquid chromatography (HPLC) from 1996 to 2002 to select parents for cross-breeding and to investigate the yearly change of isoflavone content. Isoflavone content ranged from 23.5 to 848.5 mg/100gDW and was generally lower in early maturing than in medium and late maturing groups. Moreover, the difference in isoflavone content among varieties and lines was small in the early maturing group but was large in the medium and late maturing groups. The ratio of the content of daidzein to that of the total isoflavones ranged from 18.6 to 81.7% and stable in each germplasm. Moreover, the yearly coefficient of variation of total isoflavone content investigated for six years by using 18 varieties was 13.1-60.7%, and did not correlate with isoflavone content. In addition, it did not correlate with the seed coat color, the cotyledon color, the weight of 100 seeds and the crude protein content in all germplasms used. The seeding time, i. e., regular or late season culture, was significantly correlated with isoflavone content in 15 varieties. These results suggest the possibility of the breeding and cultivation of soybean with a high isoflavone content soybean.

Keyword : Germplasms, Isoflavone, Isoflavone compositions, Isoflavone contents, Soybean.